

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790624

研究課題名（和文） 和漢薬が癌に効く：十全大補湯の抗腫瘍効果の分子病理学的解明

研究課題名（英文） oriental medicine has an effect on cancer: Molecular Pathological investigation about antitumor effect of Juzen-taiho-to

研究代表者

高橋 博之 (TAKAHASHI HIROYUKI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：60377330

研究成果の概要（和文）：十全大補湯は腫瘍そのものの遺伝子発現に対しては影響を与えず、直接的な抗腫瘍活性は持たないことが解明された。しかし、十全大補湯は α T3 マウスの肝臓に対して、肝毒性を伴わずに感染防御蛋白質の産生および薬物代謝酵素の産生を誘導していることが分かった。

研究成果の概要（英文）：It was elucidated that Juzen-taiho-to had no influence on gene expression of tumor itself and no direct antitumor effect. But it was clarified that Juzen-taiho-to induced the production of proteins for phylaxis and enzymes for drug metabolism without hepatotoxicity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：病理学

キーワード：十全大補湯・抗腫瘍効果・抗癌剤・SV40 トランスジェニックマウス

1. 研究開始当初の背景

(1) 一般の臨床医が十全大補湯を癌患者に投与する場合、十全大補湯の滋養強壯的作用と免疫賦活作用を期待してのことが多い。しかし、多くの臨床医が十全大補湯の抗腫瘍効果を体験している。

(2) SV40 T 抗原トランスジェニック (TG)

マウスは癌の浸潤・転移の機構の研究に用いることが出来る。その発癌モデルマウスは、眼の水晶体上皮にのみ発現する α クリスタリン・プロモーターを有し、SV40-T 抗原が1コピーないしは2コピーのみ宿主DNAに組み込まれているTGマウスで(α T3) (図1)、2コピー組み込みマウスでは約1年3ヶ月、1

コピー組み込みのマウスでは約1年6ヶ月の経過で、全マウスで眼球から発生した腫瘍が頭蓋内進展・他臓器転移して死亡する。この実験モデルを用いて各種抗癌剤の抗腫瘍効果を判定して良好な成果が得られている。図2は α T3 (2コピー組み込み) の自然経過で、約1年3ヶ月の経過で腫瘍が頭蓋内進展・他臓器転移して死亡する。

図1

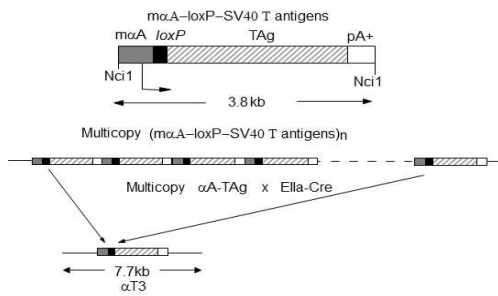
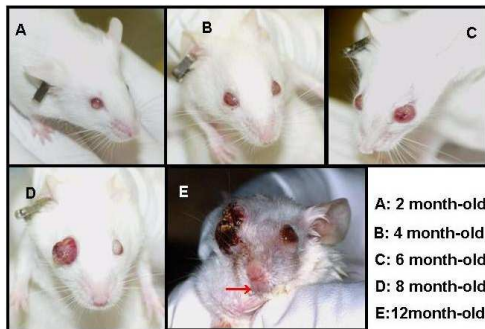
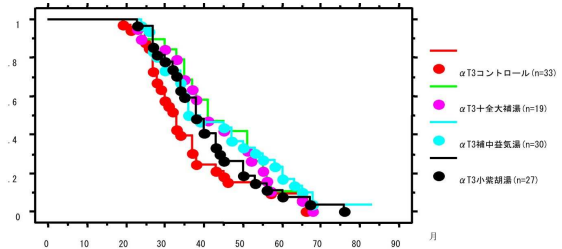


図2



(3) 和漢薬の抗腫瘍効果を証明するために、この実験モデルに、十全大補湯、補中益気湯と小紫胡湯を投与し、左下の図の結果を得た。十全大補湯では20週以上の有意な延命効果を得た(P=0.033)。補中益気湯ではP=0.046であり、小紫胡湯ではP=0.068であった(図3)。十全大補湯に最も抗腫瘍効果が認められた。この抗腫瘍効果に関する免疫学的解析では、宿主のマクロファージが十全大補湯により若干活性化されるとの結果であった。

図3



(4) 和漢薬の抗腫瘍効果を判定するための実験に供した α T3 マウスの発癌、浸潤、転移に係わる遺伝子変異を経時的に cDNA マイクロアレイを用いて検討した。図4は α T3 マウスの自然経過の顕微鏡写真である。図5は cDNA マイクロアレイの結果で、中央に腫瘍の進展を示し、上方に functional network を示し、下方に canonical pathway を示す。様々な遺伝子の functional network と canonical pathway が動いていることが解る。この結果を、real-time PCR, Western blot, 免疫沈降法などで詳細に検討を加え、この実験系が信頼できるものと検証している。

図4

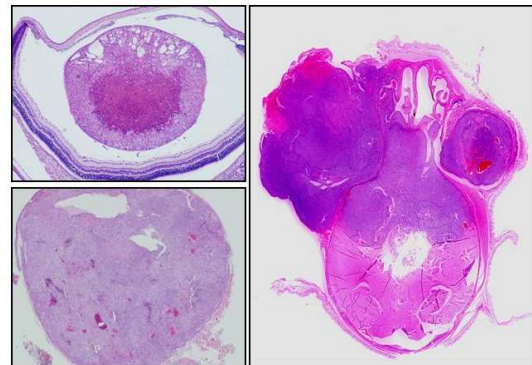
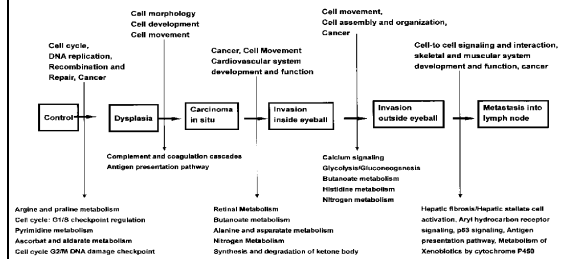


図5



2. 研究の目的

十全大補湯が抗腫瘍効果を示す動物実験モデルを用い、その腫瘍効果を分子病理学的に解析し、和漢薬の抗腫瘍効果を科学的に立証する。その成果で、和漢薬が癌治療での癌化学療法代替医療となり、癌患者の延命効果と余命のQOLに寄与する。

3. 研究の方法

(1) 十全大補湯の抗腫瘍効果を cDNA マイクロアレイとプロテオミックスを用い分子生物学的に解明する。具体的には、どの遺伝子がどのように動いて抗腫瘍効果が出ているかを発見する。

(2) 十全大補湯を構成する成分の内、どの成分に抗主腫瘍効果が高いのかを発見する。

4. 研究成果

(1) 当該実験モデルが本研究計画に分子生物学的論理性に合致するか？については、cDNA アレイを用いた解析により α T3 マウスでは十全大補湯投与により肝臓や脾臓などで臓器特異的に遺伝子の発現上昇が認められ、実験モデルが分子生物学的に妥当であることが実証された。

図 6. 肝臓

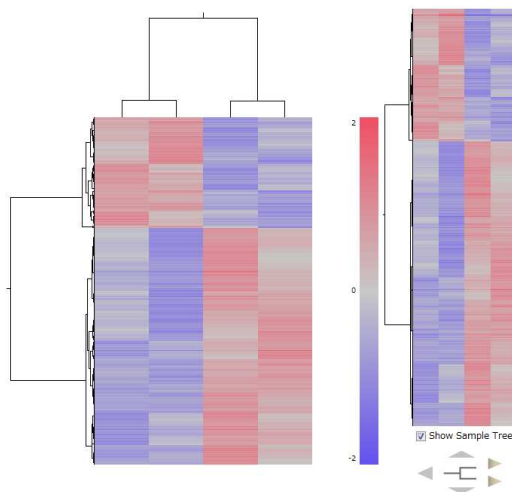


図 7. 脾臓

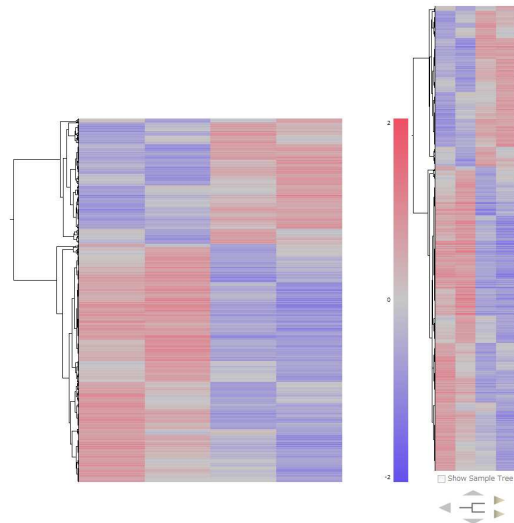


図 8

発現が強い遺伝子のクラスター解析

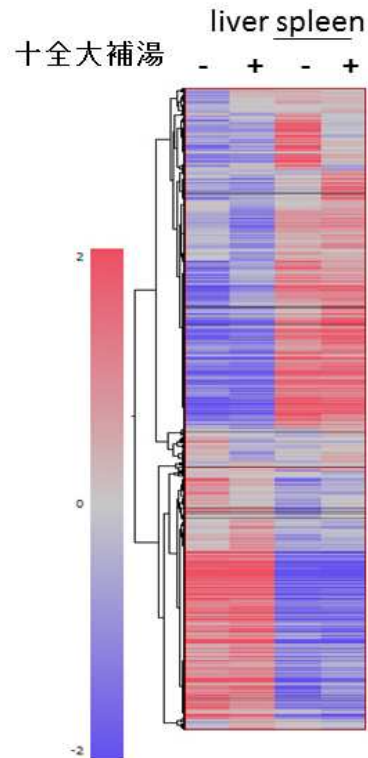
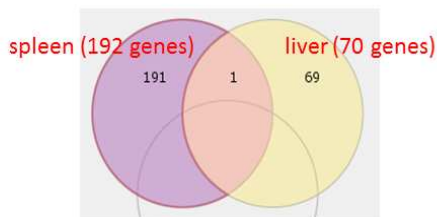


図 9

十全大補湯投与により発現が上昇している遺伝子



(2) 和漢薬の抗腫瘍効果を分子生物学的実証性を以って解明できるか?については、十全大補湯は腫瘍そのものの遺伝子発現に対しては影響を与えず、直接的な抗腫瘍活性は持たないことが解明された。しかし、十全大補湯は α T3マウスの肝臓に対して、肝毒性を伴わずに感染防御蛋白質の産生および薬物代謝酵素の産生を誘導していることが分かった。また、十全大補湯は α T3マウスの脾リンパ球の活性化(増殖)を誘導しているが、必ずしも抗腫瘍免疫に関係しない可能性が考えられた。

以上より、(3)の新規抗癌薬剤の開発に直接的に繋げるのは困難となった。肝毒性を伴わずに薬物代謝酵素の産生を誘導することから、抗癌薬剤との併用でその抗癌薬の効果を高めることが期待された。

図 10

十全大補湯により発現が上昇している遺伝子: 96 遺伝子

- defensin beta 9 (3.7倍)、Leap2 (2.5倍) → 感染防御
- cytochrome P450 family 2 subfamily a polypeptide 4 (3.1倍) → 薬物代謝
- cytochrome P450, family 2, subfamily d, polypeptide 40 (2.3倍)
- UDP glucuronosyltransferase 2 family polypeptide B38 (2.2倍)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

① Takahashi H, Wang JP, Zheng HC, Masuda S, Takano Y. Overexpression of GRP78 and GRP94 is involved in colorectal carcinogenesis. *Histol Histopathol*. 2011

26:663-71.

② Zheng HC, Wei ZL, Xu XY, Nie XC, Yang X, Takahashi H, Takano Y. Parafibromin expression is an independent prognostic factor for colorectal carcinomas. *Hum Pathol*. 2011 42:1089-102.

③ Zheng HC, Xia P, Xu XY, Takahashi H, Takano Y. The nuclear to cytoplasmic shift of ING5 protein during colorectal carcinogenesis with their distinct links to pathologic behaviors of carcinomas. *Hum Pathol*. 2011 42:424-33.

[学会発表] (計 2 件)

① 高橋博之, 三輪重治, 野本一博, 林 伸一, 常山幸一, 高野康雄: 難治性黄疸の原因と考えられた総胆管 peribiliary cyst の一剖検例. 第 99 回日本病理学会総会, 2010. 4. 27-29, 東京.

② 高橋博之, 中嶋隆彦, 藤本 誠, 三輪重治, 野本一博, 林 伸一, 常山幸一, 高野康雄: 鋸歯状ポリープ - 腺癌経路を示唆する癌と臨床病理学的事項の関係の検討. 第 98 回日本病理学会総会, 2009. 5. 1-3, 京都.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 博之 (Takahashi Hiroyuki)

北里大学医学部病理学・講師

研究者番号: 60377330

(3) 連携研究者

高野 康雄 (Takano Yasuo)

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・所長

研究者番号: 60142022