

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：30111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700818

研究課題名(和文) がん化学療法施行時における食品成分併用リスクの免疫学的評価

研究課題名(英文) The effect of food component on anticancer drug-induced alpha-defensin reduction in the intestine.

研究代表者

高橋 夏子 (Takahashi, Natsuko)

北海道薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：60535293

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：がん治療においては、医療費が高額となることから治療と並行して、免疫賦活を目的に機能性食品を使用するケースが増えている。そのため、薬-食相互作用について注意が必要であるが、これらの相互作用についての報告は少ない。本研究では、経口抗がん剤が腸管に与える影響および機能性食品を併用した時の効果を α -defensin の発現を指標にして評価した。テガフルを曝露することにより、HD-5/6 mRNA量は3時間曝露で最も減少した。さらに機能性食品成分を同時添加したところ、HD-5/6 mRNAの減少を回復させる効果が認められた。またテガフルによるHD-5減少に活性酸素が一部関与することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Supplements are being used by many cancer patients to alleviate side effects of chemotherapy and therapy-related symptoms such as immune compromise. Some nutraceuticals have been approved as dietary foods for special medical purposes for cancer patients. The interactions between supplements and anticancer drugs may increase or decrease the pharmacological or toxicological actions. So, we examined the effect of interaction between anticancer drug and food constituent on the expression of alpha-defensins by using a Caco-2 cell line. We detected HD-5 and HD-6 mRNA in Caco-2 cells and evaluated the effects of FT and EGCG, one of food component, on these mRNA levels. HD-5 and HD-6 mRNA levels were decreased by exposure to FT. Production of reactive oxygen species (ROS) was induced by exposure to FT as well as hydrogen peroxide exposure, and EGCG suppressed FT-induced production of ROS. Furthermore, FT-induced decrease in HD-5 and HD-6 mRNA levels was almost completely suppressed by EGCG.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：相互作用

1. 研究開始当初の背景

がんは日本の死亡原因の第一位を占めており、分子標的薬を中心としたがん治療法が急速に発展している現在においても完治は難しく、がん患者の数は今後も増加の一途を辿ることが予想される。

一方、がん患者の多くに、手術および抗がん薬の副作用による侵襲から腸粘膜の萎縮、さらには腸管免疫の機能低下が惹起されることが指摘されている。このような問題を背景に、がん患者の免疫賦活を目的としたサプリメントの市場が拡大しているが、エビデンスに乏しいものが存在するため使用に際しては注意が必要とされる。さらに、近年の医療費の増大や患者の Quality of life (QOL) 向上に対する意識の変化からも機能性食品の使用が増加し、健康被害が報告されるようになった。がん患者の安全の担保および QOL 向上の観点から、経口摂取された機能性食品および薬物が最初に接触する防御機構、すなわち腸管免疫の食-薬間相互作用の科学的検証が極めて重要な因子となる。その様な場合、薬-機能性食品相互作用について留意することが重要であるが、これらの相互作用についての報告は少ないのが現状である。

近年、小腸パネート細胞から分泌される抗菌ペプチド、 α -defensin が腸管免疫の分野で注目されている。このペプチドは、微生物に対する生体防御機構としてだけでなく、クローン病のような腸管疾患との関連や腸管免疫との関連等、生体における重要性が報告されている。しかしながら、このペプチドを用いた免疫評価に関する研究は少ないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、がん患者における機能性食品と経口抗がん剤併用による影響を α -defensin を指標とした免疫能の観点から科学的根拠に基づいて提示するとともに、がん治療における機能性食品成分の影響を評価することを目的とする。

3. 研究の方法

ヒト腸管モデル上皮細胞 Caco-2 細胞にテガフルおよび機能性食品成分として epigallocatechin gallate (EGCG) を曝露後、一定期間培養し、Real-time PCR 法を用いて α -defensin (HD-5: human α -defensin 5, HD-6: human α -defensin 6) の mRNA 量を解析した。また細胞内に取り込まれたテガフル (FT) の取り込み動態の解析は HPLC を用いて行い、reactive oxygen species (ROS) の産生量については DCFH-DA 法により測定した。

4. 研究成果

テガフルおよび食品成分として EGCG を用い、曝露時間を変動させ α -defensin mRNA 量を評価した。

予備培養後、ヒト腸管モデル上皮細胞

Caco-2 細胞にテガフルおよび EGCG を曝露し、一定期間培養して Real-time PCR 法を用いて α -defensin (HD-5, 6) の mRNA 量を解析した。100 μ M テガフルを 3、6、12 時間曝露後の、HD-5 および HD-6 mRNA 量への影響を確認したところ、3 時間曝露で最も減少することが明かとなった (図 1)。

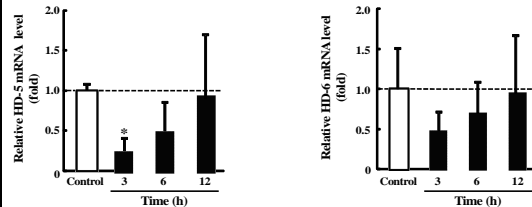


図1 テガフル曝露が HD-5/6 mRNA 発現量に及ぼす影響

上記検討で得られた α -defensin の変動が細胞障害性に起因するものであるか確認するため、テガフルおよび EGCG の曝露濃度、時間を変動させ MTT assay にて評価した。1、10、100 μ M テガフル曝露において細胞障害性は確認されなかった (図 2)。また、テガフルの曝露時間の違いが細胞生存率に与える影響では、12 時間目まで顕著な変動は確認されなかった。EGCG 曝露においても、1 から 100 μ M において細胞障害性は確認されなかった。また、EGCG 曝露において、3 時間から 24 時間まで細胞障害性は確認されなかった (データは示さない)。

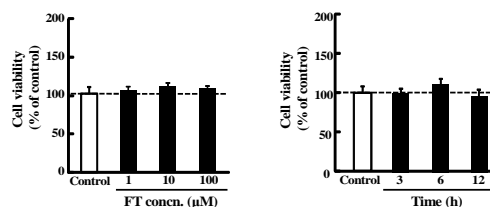


図2 テガフル曝露による細胞障害性

EGCG 併用がテガフルの HD-5 および HD-6 mRNA 量低下に及ぼす影響を評価した。

テガフルおよび EGCG の曝露時間は、テガフル曝露により HD-5/6 mRNA 発現量が最も減少した 3 時間に設定した。また、テガフルの濃度は、上記の検討で変動の見られた 100 μ M とし、1、10、100 μ M の各濃度の EGCG を同時に曝露した時の影響を評価した。EGCG 曝露濃度依存的に、テガフルによる HD-5 および HD-6 mRNA 量減少を抑制する傾向が見られた (表 1)。

表1 テガフル曝露による HD5/6 mRNA 低下に EGCG が及ぼす影響

	Relative mRNA level (fold)	
	HD-5	HD-6
FT	0.21 ± 0.16 *	0.59 ± 0.17 *
FT + EGCG1	0.81 ± 0.24 ns	0.63 ± 0.29 ns
FT + EGCG10	1.11 ± 0.39 ns	0.98 ± 0.34 ns
FT + EGCG100	1.06 ± 0.34 ns	1.29 ± 0.85 ns

Caco-2 cells were treated with 100 μ M FT and 1, 10, 100 μ M

EGCG for 3 h. Each value (n=6-8) is the mean \pm S.D. of 3 independent experiments. *: significantly different from control at $p < 0.05$. ns; not significant.

また、抗がん剤は、ROS の生成を誘導し、深刻な腸管へのダメージを引き起こすことが知られている。そこで、ROS の生成および HD-5/6 mRNA 発現の関連を検討した。ポジティブコントロールとして過酸化水素を用いた。過酸化水素およびテガフルは濃度依存的に ROS の生成を誘導し、100 μ M テガフルによって誘導される ROS は 1 mM 過酸化水素と同程度であることが明らかとなった (図 3)。また、過酸化水素曝露による HD-5/6 mRNA 発現変動を検討したところ、テガフルと同程度に HD-5/6 mRNA を減少させることが明らかとなった (データは示さない)。

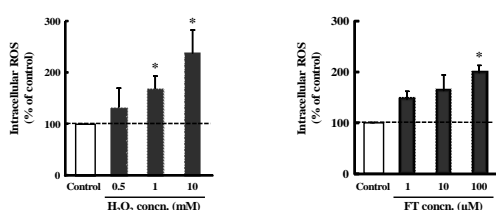


図 3 過酸化水素およびテガフル曝露が ROS 産生に及ぼす影響

さらに、テガフル曝露によって生成する ROS に EGCG が与える影響を検討した。EGCG はテガフルの生成する ROS を減少させた。これらの結果から、抗がん剤の ROS による腸管免疫へのダメージを抗酸化能を有する食品成分が改善する可能性が示唆された (図 4)。

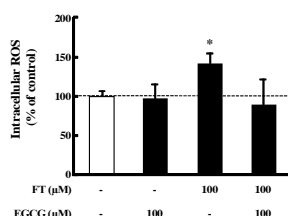


図 4 テガフル曝露による ROS 産生に EGCG が及ぼす影響

以上の結果より、サプリメントや日常的に摂取される食品成分の一つである EGCG が腸管において、テガフルによる -defensin mRNA 量の減少を抑制することが示された。またテガフルによる HD-5 の減少に一部 ROS が関与することを明らかにした。

本検討により、機能性食品成分が抗がん薬治療による免疫低下を改善できる可能性が示唆された。

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 1 件)

1. Takahashi N, Kobayashi M, Ogura J, Yamaguchi H, Satoh T, Watanabe K, Iseki K.

Immunoprotective effect of epigallocatechin-3-gallate on oral anticancer drug-induced α -defensin reduction in Caco-2 cells.

Biol Pharm Bull. 37(3) 490-492. 2014 査読有。

[学会発表](計 2 件)

1. 澤田真衣、高橋夏子、小林正紀、佐々木将太郎、井関健. テガフルの腸管吸収機構に関する研究, 第 26 回北海道薬物作用談話会, 2012 年 7 月 28 日、札幌
2. 高橋夏子、澤田真衣、小林正紀、佐藤隆司、渡辺一弘、井関健. Epigallocatechin gallate が tegafur による腸管免疫低下および吸収に与える影響. 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 10 月 28 日~10 月 30 日、熊本

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 高橋 夏子
(TAKAHASHI NATSUKO)

北海道薬科大学・講師

研究者番号: 60535293

(2)研究分担者 なし

()

研究者番号:

(3)連携研究者 なし
()

研究者番号：