

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：32663

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560040

研究課題名(和文) 分子標的予防の考え方に基づいた新しい癌予防食素材の開発

研究課題名(英文) Establishment of a new food ingredient for cancer prevention based on molecular targeting prevention

研究代表者

矢野 友啓 (YANO, TOMOHIRO)

東洋大学・食環境科学部・教授

研究者番号：50239828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺がんの一次および二次予防の分子標的としてSrcおよびStat3が有用であるかを検証し、その両分子を標的とした新たな有効な前立腺がん一次および二次予防に有効な食素材の開発を目的とした。阻害剤を使った解析から、SrcとStat3を同時に阻害する活性成分が前立腺がん一次および二次予防成分として有望であることが推測された。実際、delta-tocotrienolを90%以上含有するannatto由来のTRFはヒト前立腺がん細胞であるPC3(二次予防モデル)およびLNCaP(一次予防モデル)に対して、SrcおよびStat3を同時に不活性化することで、細胞増殖抑制効果を示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, I investigated whether it was that Src and Stat3 were useful as the primary and second preventive molecular target of the prostate cancer, and the final purpose of this study was to develop the nutriment materials which were effective for the primary and second prevention for prostate cancer, based on the simultaneous inhibition of the both molecules. It was suggested by the analysis using the inhibitors that the active ingredient which inhibited Src and Stat3 at the same time was promising as the prostate cancer first and the second preventive ingredient. Actually, TRF derived from annatto which contained delta-tocotrienol more than 90% showed a cytostatic effect by inactivating Src and Stat3 at the same time in PC3 cells (the second preventive model for prostate cancer) and LNCaP cells (primary preventive model for prostate cancer). These results suggest that TRF acts as a useful preventive ingredient for prostate cancer.

研究分野：癌病態制御学

キーワード：分子標的予防 前立腺癌 癌予防食素材

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えつつある日本で死亡率の第一位を占めるがんの中でも、現在の日本のがんの発生率および死亡率の推移から予測すると、食事の欧米化により増加の一途をたどっている前立腺がんの今後のさらなる増加が懸念されている。さらに、前立腺がんは手術で完全にとりきることが難しく、ホルモン療法である程度制御可能であるが、ホルモン療法が無効になった以降の効果的な治療法が皆無であり、効果的な予防法の構築が急がれている。特に近年、食事の欧米化で罹患率、死亡率の増加が目立つ前立腺がんについて、効果的な予防食品素材を開発するために、前立腺がんの発がんに関与する重要なシグナル分子 (Src と Stat3) に着目して、そのシグナル分子の不活性化を指標にした食品素材のスクリーニングを行い、スクリーニングされた食品素材の組み合わせによる前立腺がんの予防効果を検証する。

2. 研究の目的

前立腺がんについて、効果的な予防食品素材を開発するために、前立腺がんの発がんに関与する重要なシグナル分子 (Src と Stat3) に着目して、そのシグナル分子の不活性化を指標にした食品素材のスクリーニングを行い、スクリーニングされた食品素材による前立腺がんの予防効果の可能性を検証する。

3. 研究の方法

細胞はヒト前立腺がん由来ホルモン依存性細胞株 (LNCaP) とヒト前立腺がん由来ホルモン非依存性細胞株 (PC3) を ATCC から購入し、用いた。細胞培養は RPMI1640+10%FBS の培地を用い、通常の培養条件で行った。培地に添加するファイトケミカルは、delta-tocotrienol の含有率が 90% 以上の annatto 由来の tocotrienol-rich fraction (TRF) を用い、Src 特異的阻害剤として PP2

を、Stat3 阻害剤として AG490 をそれぞれ用いた。

対数増殖期にある各細胞を播種し、24 時間後に RPMI1640+2%FBS の培地に TRF (0-40 μ M)、PP2 (0-20 μ M)、AG490 (0-40 μ M) を加え、細胞増殖は 48-72 時間処理後に、Src および Stat3 の活性化レベルおよび前立腺がんの増殖マーカーである prostate-specific antigen (PSA) mRNA レベルを 12 時間処理後に以下に示す方法で測定した。

細胞増殖能は WST-1 法で、PSA mRNA レベルは、SYBR を用いた RT-realtime PCR 法で測定し、その際 RPL32 の mRNA レベルを用いて補正した。また、Src および Stat3 の活性化レベルは、各リン酸化抗体を用いた Immunoblot 法で行った。

各群間の統計的解析は one-way ANOVA と Dunnett's multiple-range test ないしは Student's t-test で行い、5%水準で統計的有意差ありとした。

4. 研究成果

まず、前立腺がんでは正常前立腺上皮よりも過剰発現ないしは恒常的に活性化されており、前立腺がんの発生・悪性化に強く寄与していることが推測されている Src および Stat3 の活性化レベルを指標にして、前立腺がんの予防食品素材のスクリーニングに最適な細胞株を選定した。その結果、その活性化レベルから、ホルモン依存性の LNCaP 細胞が前立腺がん一次予防モデルとして、ホルモン非依存性の PC3 が前立腺がん二次予防モデルとして、選定した。

次に、前立腺がん一次および二次予防の分子標的として Src および Stat3 の有用性を検証するために、PP2 および AG490 の両細胞株に対する生存活性を評価したところ、両阻害剤共に統計的に有意な抑制効果を示し、Src および Stat3 の両分子が、前立腺がん一次および二次予防の分子標的として有用である

ことが判明した。また、Src および Stat3 それぞれ単独での阻害より、両方同時に阻害することで相乗効果があることが認められ、この両分子を同時に阻害する活性成分が前立腺がん一次および二次予防成分として有効であることが判明した。

そこで次に、Pubmed を用いて Src と Stat3 を同時に抑制する可能性があるファイトケミカルを検索したところ、tocotrienol 類が絞り込まれた。Tocotrienol 類の中で抗がん活性が一番強力とされるのが delta 型であるので、delta-tocotrienol が 90%以上含有する annatto 由来の TRF を用いて、両細胞に対する細胞増殖抑制作用を解析したところ、両細胞共に TRF の用量依存的に抑制効果が認められたと同時に、両細胞とも Src および Stat3 が不活性化されていることが認められた、特にその抑制効果は PC3 に顕著に認められた。

以上の結果をまとめると、annatto 由来の TRF は、Src と Stat3 を同時に阻害することにより、前立腺がんの予防成分として、特に二次予防成分として有望であることは推測された。

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 2 件)

- 1、谷畑尚吾、小林三那子、関根美季、松谷紀枝子、太田昌子、佐藤綾美、矢野友啓、前立腺がん発症率に対するビタミン E の影響 その無作為化比較試験のメタ分析による評価、ビタミン、査読有、2013、87、359-363.
- 2、小林三那子、関根美季、先崎裕美、太田昌子、矢野友啓、卓興鋼、ビタミン E 摂取によるがん発症率及び死亡率への影響 無作為化比較試験のシステマテックレビュー・メタ分析、Clinical and

Functional Nutriology、査読有、2013、5、85-91.

[学会発表](計 4 件)

- 1 . 菅原綾介、佐藤綾美、太田昌子、矢野友啓、前立腺がんに対するトコトリエノール高含有フラクションの抗がん作用の解析、第 26 回ビタミン E 研究会、2015.1.9-10、北里大学薬学部(東京都港区)
- 2 . Ryosuke Sugahara, Ayami Sato, Tomohiro Yano, Tocotrienol-rich fraction from annatto acts as an anti-cancer agent against prostate cancer, 第 73 回日本癌学会学術総会、2014.9.25-27、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- 3 . 谷畑尚吾、矢野友啓、前立腺癌におけるビタミン E の効果 無作為化比較試験と in vitro study、第 72 回日本癌学会学術総会、2013.10.3-5、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- 4 . 小林三那子、佐藤綾美、矢野友啓、ビタミン E 摂取によるがん発症率及び死亡率への影響 無作為化比較試験のシステマテックレビュー・メタ分析、第 72 回日本癌学会学術総会、2013.10.3-5、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

[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：

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[https://www.toyo.ac.jp/site/dfls/yano.](https://www.toyo.ac.jp/site/dfls/yano)

Html

6. 研究組織

(1)研究代表者

矢野 友啓 (YANO TOMOHIRO)

東洋大学・食環境科学部・教授

研究者番号：50239828

(2)研究分担者

無

(3)連携研究者

無