

NEWS LETTER

No.21 Sep.
1999

Japanese Society For Cancer Prevention 日本がん予防研究会

第6回がん予防研究会 を開催して

会長
垣添 忠生
(国立がんセンター中央病院長)



第6回がん予防研究会を平成11年7月16日、17日の両日、東京で開催させていただいた。170名にのぼる多くの会員の皆様のご参加と活発な議論をいただいたことを、まずもって御礼申し上げたいと思う。

広大ながん研究領域の中で、発がん研究はわが国のお家芸の一つであり、これまでに数多くの成果をあげてきた。これらの研究の発展の一つの方向性が動物における発がん予防あるいは発がん抑制研究あるいは発がん物質そのものに関する研究だった。この領域でもわが国の研究水準は高く、国際的にも高く評価されている。

ところがヒトを対象としたがん予防、すなわちがん一次予防研究は、わが国ではとり組みの遅れた研究領域だった。だ

からこそ、がん予防研究会が結成され、基礎研究とヒトを対象とした臨床試験を融合させる努力がいろいろとなされてきた。それでも、被験者からのインフォームド・コンセントの取得の難しさ、薬剤の長期投与による毒性発現の可能性、研究遂行のための費用の問題など多くの障害があり、このがん分野の研究の発展は必ずしも十分なものとはいえなかった。

第6回がん予防研究会をお世話させていただくに当たり、この点にもっとも注目してプランを練ってきた。「動物がん予防の喜びと空虚、ヒトがん予防の喜びと苦しみ」と題するシンポジウムを初日に企画したのはこの意図からである。また2日目の最終に「ヘリコバクター・ピロリの除菌：その期待と不安」と題するパネル・ディスカッションを企画したのも、ヒトを対象とする研究を慎重に進めていく手掛かりとしてヘリコバクター研究をとらえ、問題点を深く掘りさげ、自由に議論し、他のがん予防に向けた臨床研究の参考にしていただくのが願いだっ

た。シンポジウム「動物がん予防の喜びと空虚、ヒトがん予防の喜びと苦しみ」は国立がんセンター研究所のがん予防研究部長、若林敬二先生の司会で行われた。まず、名古屋市立大学病理の白井智之先生に「動物がん予防研究の現状と展望」を、次いで、愛知県がんセンター研究所の富永祐民先生に「ヒトがん予防研究の現状と展望」と題して講演いただいた。この二つの講演は会長から特にその意図を明瞭に演者に依頼して準備いただいたものである。白井先生、富永先生とも、動物およびヒトでこれまで実施されてきた膨大な研究を手際よくレビューいただいた。この知見を共通の認識として、動

物や細胞を使った基礎研究と、ヒトを対象としたがん予防研究が進行中でデータが集まりつつあるもの、あるいは開始された、という観点から三題の発表をいただいた。すなわち、国立がんセンター研究所・化学療法部の津田洋幸先生らによる「ウシラクトフェリン (bLF) によるがん予防」が、国立がんセンター研究所・がん予防研究部の川森俊人先生による「COX-2 選択的阻害剤によるがん予防」が、そして京都府立大学・生化学部の西野輔翼先生による「リコペン、緑茶ポリフェノールによるがん予防」の三題である。いずれも十分な基礎研究の上でヒトを対象とした臨床試験を開始した、あるいは計画中、という段階で、わが国のオリジナルな研究もあり、その最終結果に対する期待はもちろん、基礎研究と臨床研究のつなげ方など活発な議論が展開された。

パネルディスカッション「ヘリコバクター・ピロリの除菌：その期待と不安」は国立がんセンター中央病院・臨床検査部の齊藤大三先生の司会により、三人の演者の基調講演を受け、演者、司会者、聴衆の間できわめて活発な議論が展開された。愛知県がんセンター研究所・病理の立松正衛先生には「除菌によるスナネズミ腺胃がんの抑制」を、順天堂大学・衛生の菊池正悟先生には「胃がん、食道がんと Helicobacter pylori の疫学」を、大分医科大学内科の藤岡利生先生らには「ヒトにおける除菌療法の現状と問題点」をお話いただいた。問題は二つあって、一つは今秋、難治性の胃・十二指腸潰瘍を対象にプロトンポンプ阻害剤と抗生物質の組合せによってヘリコバクターの治療が保険診療上承認される予定であること、いま一つは除菌を受けた3000

NEWS LETTER



例中、10%に1年以内に胸焼けが発生し、逆流性食道炎が確認されること、その結果、食道腺がんの増加が心配されているという欧米の現実がある。ヘリコバクターの除菌をすることは意味のあることなのか、否か、結論の得られる話ではないが、がん予防の臨床試験を実施する際の多様な視点からの盛んな議論が展開された。

この他に一般演題として口演14題、ポスター発表46題が発表された。いずれも基礎、臨床、疫学など多彩な内容で力のこもった発表が多かった。各演題内容については抄録集を御参照いただくこととし、詳細に触れられないのは残念である。

なを二日目の昼に開かれた世話人会で、数人の世話人の交代が承認された。また、ニュースレターの編集委員に新たに名古屋大学農学部、大澤俊彦先生に加わっていただくこと、この編集委員に現会長、次期会長を加えた8名を幹事として、会の運営の実務を進めることも承認された。次々期、第8回会長として愛知

県がんセンター研究所の田島和雄先生が選出された。疫学出身の会長が予定されたことになる。奇しくも、来年の第7回総会が大阪市立大学の福島昭治会長と、日本がん疫学研究会の会長である大阪大学の森本兼曩先生が協同で淡路島で開催される予定とのことであり、日本がん予防研究会、日本がん疫学研究会のより緊密な関係が確立されるものと期待される。さらに、本会長あて、International Society of Cancer Chemoprevention (ISCaC) のNewsletterへの投稿依頼がきていることから、今後はISCaCとの関係も密なものとなる可能性がある。

この第6回がん予防研究会を機に、動物のがん予防研究だけでなく、ヒトを対象とした臨床研究もバランスよく歩み始めるきっかけができた感じがあり、主催者として大きな喜びを覚えている。

本研究会の学術集会が実りある有意義なものとなるよう、会員の皆様のご指導、ご協力に改めて感謝申しあげる。また、本研究会の設営に向けて力を注いできた国立がんセンター研究所、病院の

皆様、アクセスブレインの皆様、そしてご協力、賛助をいただいた多くの企業の方々に感謝しつつ、第6回がん予防研究会の報告とさせていただきます。

訂正

吉田晴彦先生よりNEWS LETTER No.19の2頁の表1の「無効」の値が誤っているので訂正の依頼がありました。

無効
0.07% (1/443)
0.78% (15/568)
2.20% (30/389)
5.32% (30/168)
1.41% (76/1568)

お願い

一般会費（年会費5,000円）未納の方は郵便振替用紙にてお支払い方宜しくお願い申し上げます。退会希望の方はご一報お願い申し上げます。

賛助会員を募集しております。賛助会費は年間10万円ですが、賛助会員は個人会員3名分の年会費が免除されます。

日本がん予防研究会開催予定

第7回日本がん予防研究会（代表世話人・福島昭治大阪大学教授）は2000年7月14日（金）、15日（土）の2日間、淡路夢舞台国際会議場にて開催致します。



日本・ヨーロッパがん 予防研究会共同国際 シンポジウムに出席して

伊東 信行
(名古屋市立大学学長)



Gene-Environmental Interactions in the Digestive Tract: Their Role in Human Cancer の表題のもとに、日本がん予防研究会と European Society for Cancer Prevention との共同になる国際シンポジウムが、ポルトガル第2の都市 Porto で、Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto (IPATIMUP) の主管のもとに行われた。会議場は緑に囲まれた博物館の敷地内で、討論の場として申し分の無い雰囲気であった。日本とポルトガルはともに胃癌の頻度が高いこともあり、地元でも注目され、会議の全期間にわたりそれぞれの日のトピックスが、新聞等で報道されていた。一般参加者数からみると、日本からの参加が地理的に離れていたことと、アメリカの消化器病の会議がかさなり、ヨーロッパ側の参加者が予想よりすくなかったが、IPATIMUP の M. Sobrinho-Simoes 教授のグループにより会議は盛り上げられた。

会議はまずヨーロッパ側より European Society for Cancer Prevention の会長である Dr. Hill、日本側より私との二人での introduction により始まった。Dr. Hill は遺伝子発現と環境の相互作用の複雑さと、腫瘍のプロモーションとの関連に注意を促した。私は、化学予防における物質の作用が、同一固体において臓器により相反(促進と抑制)する結果が、しばしば観察されることより、動物固体における全臓器検索の重要性を強調した。ついで消化器癌の化学予防のための background としての講演へと会議は進められた。まずスイスの Dr. Weil によりバレット食道炎から腺癌発生に対する種々の遺伝子要因

の重要性の問題提起がなされた。胃癌モデルについて、愛知県がんセンターの立松先生が、スナネズミ実験胃癌における *Helicobacter pylori* 除菌の胃癌発生に対する抑制的効果を報告し、炎症と発がんの関連について述べられた。ついで国立がんセンターの牛島先生が、胃癌発生に対する感受性を抵抗性遺伝子のマッピングの検索結果より、発がんとその進展における遺伝要因の重要性を強調された。これらの発表を基礎に自由討論の話題提供として、University of Lisbon の Dr. Monteiro は、胃癌における p53 遺伝子変異と glutathione S-transferase null genotype との相関を、また IPATIMUP の Dr. Carneiro は病理組織学的に異なる胃のポリープにおける microsatellite instability について報告した。

午後からは、午前の基礎的情報をもとに、まず大腸癌のテーマで会議は進められた。Karolinska Institute の Dr. Raftar は、Min mice、APC-knockout mice 等の例を示し、遺伝子変異と環境の相互関係の解析より、化学予防が可能になってきた現状について報告し、金沢医大病理の田中先生は、ラット大腸炎モデルにおける発がんを抑制する遺伝子変異とサイトカインの過剰発現との関連で論じた。さらに自由討論の話題提供として、スペインの大腸がん登録、ノルエーの大腸がんスクリーニングとポリベクトミーによる癌予防について報告された。

会議第2日は、IPATIMUP の Dr. David とその研究グループにより、MUC1、MUC2、MUC5AC、MUC6 等の粘液の分子病理と腸上皮化生や胃癌における発現が詳細に報告された。午前の部で最も注目されたのが、広島大学病理の田原先生の胃癌の genetic model であり、胃癌の発生、発育進展にかかわる遺伝子変異が詳細に報告された。そして、IPATIMUP の Dr. Simoes のグループからも、支持するデータが多数発表され、病理診断と標的遺伝子の接点について熱気ある討論が進められた。

肝臓ではイタリアの Padua University の Dr. Farinati と癌研の樋野先生が肝硬変、HCV と肝癌について述べ、特に樋野先生は肝炎を背景とする肝組織の hypercarcinogenic state から normo または hypocarcinogenic state に導く事が肝癌発生の予防につながる事を強調された。

最終日は、Implication for cancer prevention が主題で、イギリスの Imperial College の Dr. Stamp が、主題である gene-environmental interaction の解明に必要なとされる最新の分子病理学的手法について報告した。一方、日本がん予防研究会の代表と

して小林先生は、癌予防の現状とあるべき将来像までを化学予防と宿主要因としての発がん感受性を中心に種々の最新のデータを含め、的確に紹介された。癌の化学予防について白紙に近かった University of Porto の医学部学生にも深い感銘を与えた事は、彼等の積極的な質問からも明らかだった。最後は、小林先生、Dr. Stamp、Dr. Hill、Dr. Simoes ならびに私らによる、まとめのラウンドテーブルディスカッションが行われた。小林先生より、実際に行うべきがん予防の見地からは、距離のある研究が多く、がん予防をしっかりと見据えた方向性のある研究が、今後、必要である事が述べられた。

今回のシンポジウム参加者にとって、ヨーロッパと日本のがん予防の研究状況を互いに認識できたことが今回の大きな成果の一つであり、がん予防には幅広い研究が必要とされ、今後こうした、国際間の情報交換が必要不可欠であることが強調され、3日間のシンポジウムが終了した。

賛助会員継続のお礼とお願い

さる6月30日に日本化薬(株)より当研究会への賛助会員継続の申し込みを戴きました。この場をかりて厚く御礼申し上げます

既に下記14社から継続加入申し込みをいただき、会費をすでにお納めいただきました。(6月30日現在)。誠に有り難うございました。

- ・アミノアップ化学(株)
- ・エーザイ(株)
- ・江崎グリコ(株)
- ・大鵬薬品工業(株)
- ・協和醗酵工業(株)
- ・呉羽化学工業(株)
- ・日本化薬(株)
- ・日本シヤクリー(株)
- ・萬有製薬(株)つくば研究所
- ・堀井薬品工業(株)
- ・三井農林(株)
- ・(株)ヤクルト本社中央研究所
- ・山之内製薬
- ・湧永製薬(株)

その他の各社もぜひ継続加入賜りますようお願い申し上げます。

また新規加入も歓迎致します。会員のみなさまの積極的なご紹介を期待しております。

DNAチップ技術について

西野 輔翼

(京都府立医科大学大学生化学教室)



DNAチップ技術は最近になって急速に発展し、今後の生命科学を支える基盤技術の1つとして注目されている。

多数の遺伝子を同時に解析できるDNAチップを作成する方法としては、2つが並行して開発されている。すなわち、基板上にオリゴヌクレオチドを合成する方法と、スポットする方法、の2つである。実験目的によってこれら2つの方法を選択して用いることになる。

DNAチップ技術は以下に述べるような分野で利用される。

1. 遺伝子発現モニタリング

DNAチップと蛍光標識したサンプルとをハイブリダイズさせ、そのチップをスキャニングして蛍光強度を読み取ることによって、遺伝子発現のレベルをモニタリングすることができる。さまざまな状況下における多数の遺伝子の発現プロファイルを一度に比較することが可能であるため、細胞機能の発現・調節に関与する遺伝子群の変化を広範囲に明らかにすることができる。

2. DNAチップを用いた遺伝子の塩基配列決定

基板上にオリゴヌクレオチドを合成する方法で作成したDNAチップを用いると、塩基配列決定が可能である。解析する対象が膨大な場合、従来の方法では時間がかかりすぎて現実的には対応不可能であるが、DNAチップを用いた遺伝子の塩基配列決定方法であればこの問題を解決することができる。

DNAチップ技術研究会

【設立総会案内】【入会申込書】【年会費振込みについて】【法人会員】【Hyper Link!!】【会則】
【設立総会】

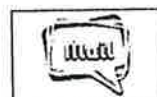
DNAチップ技術研究会の Web サイトへようこそ!

• 日経メディカル DNAチップ最新情報サイト

• Yahoo!

あなたはこのホームページの 3524 番目の訪問者です。

(このページの最終更新日は 99/06/29 です。)



ご意見等は、こちらまでお寄せ下さい。

メールアドレスは dna@basic.kpu-m.ac.jp です。

<http://research.kpu-m.ac.jp/dnachip/home.htm>

99/07/10

図1

3. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) の解析

DNAチップを用いた技術の応用分野で注目されているのがSNPsの解析である。疾患や表現形質のバリエーションは genetic diversity による。その一つが1塩基置換のポリモルフィズムSNPsである。染色体上にマップされたSNPsのセットは、今後最も強力な遺伝学の解析手段となると考えられており、そのデータ収集が競い合われているのが現状である。

4. その他

がん遺伝子やがん抑制遺伝子の同定や遺伝性疾患の原因遺伝子の同定にDNAチップが利用されつつある。

遺伝子の増幅や欠失領域の解析方法として、これまで comparative genomic hybridization (CGH) 法が用いられてきたが、この方法では感度に限界があった。そこで、全染色体領域をカバーするクローン群を基板上にアレイ状に貼り付けたチップを用いる chip-based CGH が開発された。将来的には、1枚の基板に全遺伝子をカバーできるようになるものと予測されており、それが実用化されれば、がんや遺伝子疾患の原因遺伝子の同定に大きな貢献をすることはまちがいない。

以上のように、DNAチップ技術の応用範囲は極めて広い。したがって、それをどのように使いこなすかが重要となっ

てくる。

なお、この新しい技術は開発途上であり、まだまだ完成されたものではないことに対して十分な注意を払う必要があることを指摘しておきたい。たとえば、遺伝子発現モニタリングについてであるが、従来の方法で得られた解析結果と、DNAチップ技術を用いて得られた解析結果とが一致しない場合があることが指摘されている。その理由は今のところ分かっていない。このような基本的なことから解決しなければならない問題点を含んでいるのである。したがって、本技術を利用する場合には、それらの弱点をよく理解した上で使いこなす必要がある。たとえば、個々の遺伝子の発現の変化について論じる場合には、DNAチップ技術を用いて得られた解析結果のみで論じるのではなく、従来の方法で得られた解析結果もみたくうで論じる必要がある。一方、DNAチップで解析可能なすべての遺伝子発現の変化をパターンとして捕らえて、そのパターンの差あるいは同一性を論じる場合には、DNAチップ技術でしか得られないデータを対象としているわけで、現時点ですでに完成された新技術と受け取ることが可能である。

ところで、本年5月15日に、DNAチップ技術研究会の設立総会が開かれたが、大変な盛況であった。この事実から

特集 DNAチップ最新情報サイト (毎日更新)



DNAチップの急速な進展は、医療やバイオ研究を変えようとしている。毎日変化するDNAチップやDNAマイクロアレイの最新情報を全世界からここに集めた。どうぞブックマークして毎日アクセスして下さい。新しい情報がない時は、世界は進歩しなかったと安心下さい。

- V講義・Vセミナー on DNAチップ
先端研究者が皆さんに分かり易く講義。最先端の技術解説も
- HOT/PAPER(最新論文、毎日更新)
- HOT/US/PATENT(最新米国特許、毎日更新)
- 主要リンク
アマシャムファルマシアバイオテク
PEバイオシステムズ
- アンケート
- 問い合わせネットワーク
- 最新ニュース

図2

も、日本における関心の高さがうかがわれる。なお、本研究会のホームページ(図1)が開設されており、活動内容などに関する情報はそこから入手可能である。また、このホームページから、日経バイオテクのDNAチップ最新情報サイト(図2)を見ることもできる。関連したニュースを追いかけることができるため大変参考になる。ぜひ活用していただきたい。

がん予防に関する研究分野においても、この技術が利用価値の高いものであることは明らかであろう。われわれの研究グループも、基板上にオリゴヌクレオチドを合成する方法で作成されたDNAチップを用いるタイプの機器(図3)を導入しており、今後はがん予防研究に広く活用していきたいと考えている。

DNAチップ技術はすでに6年前から報告されているが、その応用は始まったばかりである。最近、DNAチップ技術に関するミニレビューがCell誌に掲載された(Powson, T. and Saxton, T.M., Signaling Networks - Do All Roads Lead to the Same Genes? Cell, 97, 675-678, 1999)が、その末尾に次のような記載があり興味深い。

Oligonucleotide and cDNA arrays are clearly changing the ways we think about cell biology..... Pandora's box has now been opened.

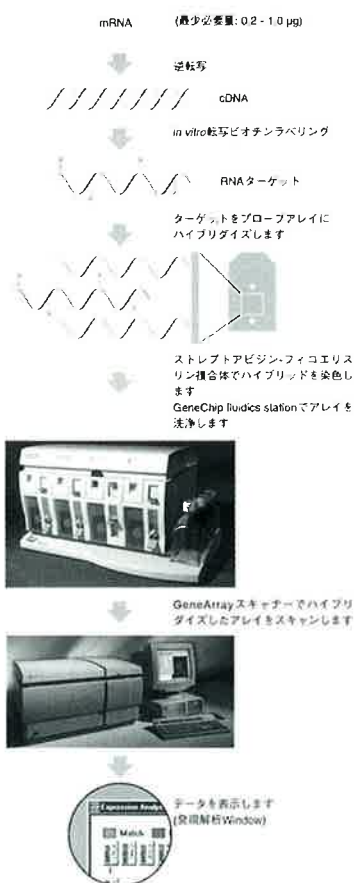


図3

基板上にオリゴヌクレオチドを合成する方法で作成されたDNAチップを用いるタイプの機器

カロテノイドにより発現が変化する細胞周期関連遺伝子の探索 (マクロアレイによる多数の遺伝子の同時解析)

里見 佳子

(京都府立医科大学大学生化学教室)



多くのカロテノイドに発がん抑制作用があることは、よく知られている。しかし、その作用機構については、ほとんど未解明といえる状況にある。我々も、 α -carotene や fucoxanthin が、G1 アレストを起こすこと、c-myc、N-myc の発現を抑制することを見い出しているが、その意義は不明である。今回、そうした状況を乗り越える1つの方法として、最近急速に普及しているマクロアレイを用いて、細胞周期に関連した遺伝子の変化を調べてみた。

1. 方法

ヒト大腸がん由来細胞 COLO320DM を4種類のカロテノイド (THF に溶解) で24時間処理し、RNA を抽出、細胞周期関連遺伝子110ヶが blot されているメンブロンとハイブリダイズした (メンブロンは、Clontech 社の Atlas human cell cycle array を使用)。解析は、BAS2000で行った。カロテノイドは ID50、あるいは、ID50 まで溶けないものは、溶解可能な最大濃度を用いた。調べたカロテノイドは、 β -carotene ($25 \mu\text{M}$, < ID50)、lycopene ($30 \mu\text{M}$, = ID50)、zeaxanthin ($200 \mu\text{M}$, < ID50)、 β -cryptoxanthin ($100 \mu\text{M}$, = ID50) である。

2. 結果と考察

ハイブリダイズしたメンブロンを1例を図1に示した。左の強い spot は house-keeping 遺伝子である。多くの遺伝子が増えていることがわかる。解析結果を表1に示す (control と比べて発現が1.5倍以上、上がったものを誘導された遺伝

NEWS LETTER

子、0.5倍以下になったものを抑制された遺伝子とした)。誘導された遺伝子は少なく、lycopeneを除き3ヶであったが、抑制された遺伝子は多く、 β -cryptoxanthin以外は20ヶ前後であった。

次に個々のカロテノイドについての結果を表2から表5に示した。 β -Carotene (表2) では、p73、MDM2、E2F-5の3つの遺伝子の発現が上昇していたが、明らかといえるのはp73である。p73はp53関連遺伝子であり、細胞増殖を抑制することが知られているので、 β -caroteneの作用機構を考えるうえで興味深い。抑制された遺伝子のうち β -caroteneでのみ抑制されたのは、cdc42 homologであった。Cdc42は、アクチン細胞骨格の形成に必要であることから、この遺伝子の抑制は意味があるかも知れない。

Lycopeneでは、明らかに発現が上昇した遺伝子はなく、減少した遺伝子が多く見られた。そのうち、lycopeneに特異的であったのは、CDC2-related protein kinase CHED、MDMX、cdc25A、PLK-1、Ser/Thr protein kinase PCTAIRE-1の5ヶであった。CDC2-related protein kinase CHED、cdc25A、PLK-1は、M期の進行に関わっており、またSer/Thr protein kinase PCTAIRE-1は、cdc2-related kinaseのsubfamilyに属することから、これらの遺伝子の変化は、注目すべきかも知れない。

Zeaxanthinでは、p73、E2F-1、PCNAの誘導がみられた (表3)。 β -Caroteneと同じく、p73の変化は、はっきりしていた。E2F-1、PCNAの変化は、それほど強くないが、PCNAの上昇は、zeaxanthinでのみ見られた。発現が抑制された遺伝子のうち、CDK5 activator p35は、zeaxanthin特異的であった。Cdk5はCdc-2 like kinaseであるが、神経細胞特異的に発現していると考えられているので、COLO320DMで見られた変化の意義は不明である。

β -Cryptoxanthinでは、CDC42 GAP、

Table 1. Induced or reduced genes by the treatment with a carotenoid

	β -Carotene	Lycopene	Zeaxanthin	β -Cryptoxanthin
Number of genes that are induced to 1.5 fold or more	3	0	3	3
Number of genes that are reduced to 0.5 fold or less	19	20	25	5

Table 2. Induced genes by the treatment with β -carotene

Name of gene	Mean(fold increase)*	(range)
p73	5.3	(2.5-9.2)
MDM2	2.2	(1.7-2.9)
E2F-5	2.1	(1.7-2.4)

*Data shows the results of triplicate experiments.

Table 3. Induced genes by the treatment with zeaxanthin

Name of gene	Mean(fold increase)*	(range)
p73	3.9	(2.1-6.2)
E2F-1	2.2	(1.5-3.0)
PCNA#	1.7	(1.6-1.8)

*Data shows the results of triplicate experiments.

modulated only in the case of zeaxanthin.

Table 4. Induced genes by the treatment with β -cryptoxanthin

Name of gene	Mean (fold increase)*	(range)
CDC42 GAP	9.0	(7.2-10.9)
Glycogen synthase kinase 3	2.4	(1.6-3.6)
MAPKK5(MEK5)	2.1	(1.6-3.0)

*Data shows the results of triplicate experiments.

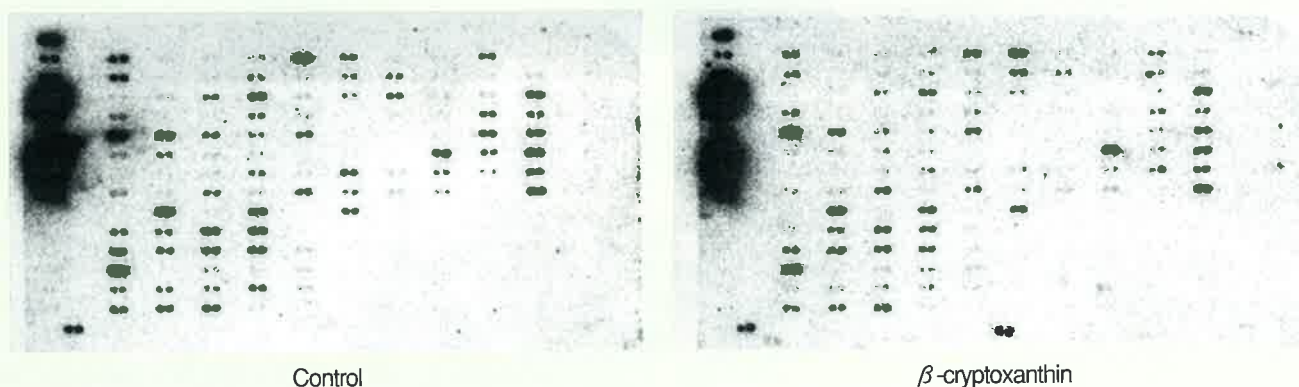
Table 5. Reduced genes by the treatment with β -cryptoxanthin

Name of gene	Mean (fold decrease)*	(range)
p21-RAC1	0.23	(0.18-0.33)
ERK1#	0.28	(0.23-0.30)
Cyclin E	0.37	(0.18-0.47)
CDC27HS#	0.39	(0.34-0.47)
RFC38	0.41	(0.41-0.42)

*Data shows the results of triplicate experiments.

modulated only in the case of β -cryptoxanthin

Fig. 1 Effects of β -cryptoxanthin on the expression of cell cycle related genes



NEWS LETTER

Table 6. Gene that is induced by the treatment with 2 of 4 carotenoids

Name of gene	β -Carotene	Lycopene	Zeaxanthin	β -Cryptoxanthin
p73	↑	(↓)	↑	

Data shows the results of triplicate experiments.

Table 7. Genes that are reduced by the treatment with 3 of 4 carotenoids

Name of gene	β -Carotene	Lycopene	Zeaxanthin	β -Cryptoxanthin
Cyclin E	↓		↓	↓
E2-CDC34	↓		↓	↓
RBA/p48	↓	↓	↓	↓
RBP2	↓	↓	↓	↓
JNK1	↓	↓	↓	↓
JNK2	↓	↓	↓	↓

Data shows the results of triplicate experiments.

Table 8. Reduced genes by the treatment with 2 of 4 carotenoids

	number
β -carotene and lycopene	2
zeaxanthin	9
β -cryptoxanthin	0
lycopene and zeaxanthin	4
β -cryptoxanthin	1
zeaxanthin and β -cryptoxanthin	0

β -cryptoxanthin shows different response from other carotenoids.

Glycogen synthase kinase 3, MAPKK5 (MEK5) の誘導が見られた (表4)。CDC42 GAPの発現上昇は、非常に強いものであった。GAPは、GTP結合蛋白のGTPの加水分解をすすめることにより、細胞内 signal transduction を終了させる役割があることを考えると、 β -cryptoxanthin の作用機構において重要な因子の可能性はある。Glycogen synthase kinase 3, MAPKK5 (MEK5) は、それぞれ、細胞内蛋白のリン酸化、signal transduction に関わっており興味深い、その変化は強くなかった。 β -Cryptoxanthin により抑制された遺伝子は、p21-RAC1, ERK1, Cyclin E, CDC27HS, RFC38の5ヶであり、そのうち、ERK1とCDC27HSは、 β -cryptoxanthin でのみ抑制が見られた (表5)。ERK1は、シグナル伝達系の重要な因子であり、CDC27HSは mitosis をコントロールしていると考えられているので、これらの遺伝子の発現抑制は、意味があるかも知れない。

次に、複数のカロテノイドにより共通に変化が見られた遺伝子についてまとめた。まず、発現が上昇した遺伝子であるが、共通していたのはp73のみであった。p73は β -caroteneとzeaxanthinの両方で、発現が上昇していたが、lycopeneでは、逆に減少していた (表6)。Lycopeneでは、誘導される遺伝子も明らかではなく、他のカロテノイドと異なる作用機構があることが示唆される。表7に3つのカロテノイドにより共通に減少が見られ

た遺伝子を示した。Cyclin Eは、 β -carotene, zeaxanthin, β -cryptoxanthinに共通であった。他の5つの遺伝子 (E2-CDC34, RBA/p48, RBP2, JNK1, JNK2) は、 β -carotene, lycopene, zeaxanthinに共通であった。減少した遺伝子のパターンから、 β -cryptoxanthinには、他の3つのカロテノイドと異なる作用機構があることが示唆される。Cyclin E, E2-CDC34は、G1/S移行に必要であり、JNK1,2は signal transduction の mediator であることから、これら4つの遺伝子の変化が共通に見られたことは、興味深い。しかし、RBA/p48, RBP2の減少は、矛盾する結果であり、その意味は不明である。2つのカロテノイドにより共通して抑制された遺伝子の数を表8に示した。 β -Cryptoxanthinは、他の3つのカロテノイドとは、異なるパターンを示している。

3. まとめ

多くの遺伝子がカロテノイドにより変化することがわかったが、そのパターンは相反する結果もあり、またカロテノイドにより様々であった。変化が見られた遺伝子のうち、CDC42 GAPは、 β -cryptoxanthin の作用において、またp73は β -caroteneとzeaxanthinの作用において、重要な因子である可能性が示唆された。今後、これらの遺伝子の変化を再確認するとともに、より細かく検討する予定である。

抗酸化物質とがん予防

一石 英一郎

(京都府立医科大学第一内科学教室)



はじめに

毎日の食品や、食品因子には様々な抗酸化物質が存在しており、私達は日常の食事からこれらの物質を摂取している。

一方、生体に酸化ストレスを引き起こす活性酸素種 (ROS: Reactive Oxygen Species) の多くはフリーラジカルであり、がんの発生において様々なレベルにおいて関与することが明らかになりつつある。抗酸化物質の中にはROSを捕捉消去することにより生体内抗酸化作用を期待できるものがある。ビタミンEやビタミンCをはじめカロテノイドやフラボノイドの生体内動態の研究は近年盛んに進められている。

がん発生におけるROSの関与は以前から指摘されており、DNA切断作用、塩基の酸化修飾、腫瘍プロモーターや増殖因子のセカンドメッセンジャーとしてなどがあげられる。近年ではoxidative stress responsible genesに関する研究も盛んで、酸化ストレスによる細胞内発現遺伝子群の変動、遺伝子ネットワークの解析とがん遺伝子、がん抑制遺伝子発現の相関などが今後注目されると考えられる。

これらの分野の進展により、抗酸化物質によるがん発生抑制の機序がより明確になり、今後様々な抗酸化物質の作用機序の違いから、がんの種類、進行度の違いによる抗酸化物質の抑制のメカニズムまで、幅広く進展することが期待される。

慢性炎症、化学発がんと抗酸化物質

最近、人体で発生するがんのなかでも胃がん、肝がん、子宮がんなどは細菌、ウイルスによる慢性炎症が原因であろう、という報告が相次いでいる。実際、ヘリコバクターピロリ菌 (HP) に感染

NEWS LETTER

している胃炎は通常の胃炎と比べて、リンパ球、好中球浸潤が著明であることがいわれている。

また、化学発がんの研究は日本では有名なものが数多くあるが、その化学発がんの機序としてヘテロサイクリックアミンのDNA結合作用やベンゾピレンの代謝産物である6-オキシラジカルのDNA切断作用などが知られている。

この両者は一見異なるように見えるが、前号で熊本大学の前田浩教授がご指摘されているように、キーワードとして活性酸素種、活性窒素種、フリーラジカルが共通項でつながる可能性がある。つまり感染時に炎症性に生ずるフリーラジカルがDNAやタンパクと急速に反応することにより、化学発がんと同様の現象が生じているというものである。

また筆者らの研究室では以前から、発がんプロモーター作用で有名な起炎物質TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) によって、ヒト好中球が盛んにフリーラジカル的一种であるスーパーオキシドを産生する現象を利用した実験系を用いている。このように慢性炎症と化学発がんは密接につながっていることは否定できない事象であると考えている。

このような状況の中で、食品因子の有効成分によるヒト好中球からのスーパーオキシド産生抑制について実験を行ってきた。次項にその一部を紹介する。

β-クリプトキサンチンによるヒト好中球スーパーオキシド産生抑制作用

温州みかんに多く含まれているβ-クリプトキサンチンが、発がんプロモーターであるTPAにて刺激したヒト好中球産生スーパーオキシドを濃度依存性に抑制することをESR (Electron Spin Resonance) を用いて見出した(図1)。この現象は、慢性炎症期にしばしば急性増悪して好中球が浸潤する病理像がH.P感染胃粘膜などに見られることがあるが、そのような組織傷害進行時にでも、種々の抗酸化物質によって正常細胞傷害緩和をはかることが可能であることを示唆する有力な手がかりである。

赤ワイン成分レスベラトロールの抗酸化作用と発がん抑制

動脈硬化予防で現在脚光を浴びている赤ワイン中に含まれる活性成分、レスベラトロールについて、各種ROS・フリーラジカル抑制作用をESRにて測定すると、濃度依存性に各種ラジカル(O₂⁻・OH, DPPH)を抑制した。また生化学



図1 βクリプトキサンチンのヒト好中球誘導スーパーオキシド抑制作用

教室の徳田春邦先生との共同研究にて、レスベラトロールの皮膚二段階発がん抑制実験を行ったところ、レスベラトロール添加にて有意に腫瘍発生が抑制された(図2)。

御存じのように以前から健康によいとされている食品因子の活性成分には抗酸化活性が見出されるものも多く、このような抗酸化物質は、動脈硬化をはじめ各種生活習慣病予防にも効果が期待できるが、同様にがん予防にも効果を発揮する機序が存在すると考えられる。そのメカニズムが疾病予防の意味で共通の経路、シグナル伝達かどうかの詳細は今後の更なる研究に委ねられるが、その糸口を開く可能性として事項にあげる実験系並びにその応用を考えてみたい。

発がんプログレッションモデルの開発とその応用

このような状況において、がん進展予防の観点から考えると、腫瘍細胞(良性も含む)の悪性化とROS・フリーラジカルの関与を細胞レベルで解析するモデルは貴重な存在となる。というのも、このようなモデルは抗酸化物質による悪性化の防御の可能性を細胞遺伝子レベルで解明する手がかりを与えてくれる。

北大医学部癌研究施設病理部門の岡田太先生らのグループは、マウス培養細胞を用いてがんの浸潤、転移能の獲得などが観察できるプログレッションモデルを確立している。この系において、炎症(ゼラチンスポンジあるいはプラスチックプレートなどの異物の移入による炎症

INHIBITORY EFFECT OF RESVERATROL ON TWO-STAGE MOUSE SKIN CARCINOGENESIS

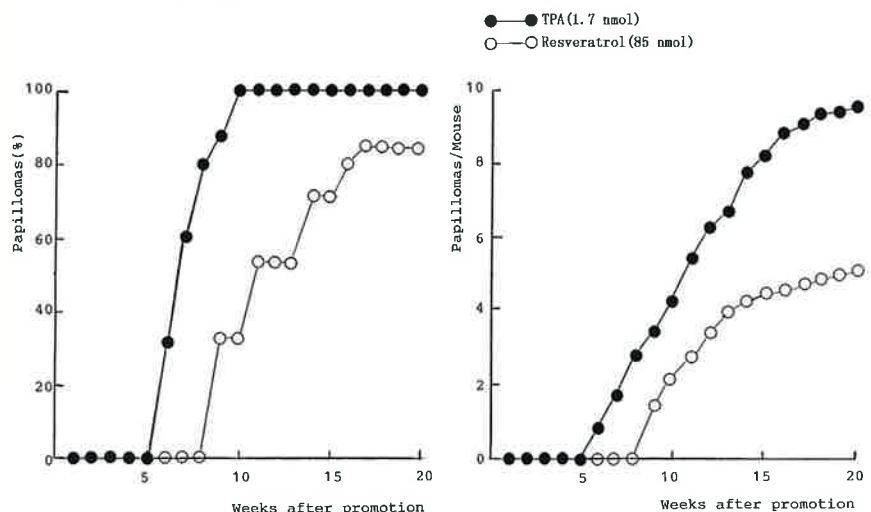


図2 レスベラトロールのマウス皮膚二段階発がん抑制作用