

氏名・(本籍)	吉田 泰一 (北海道)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第1004号
学位授与の日付	平成31年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Dietary intake of pyrolyzed deketene curcumin inhibits gastric carcinogenesis (クルクミンの熱変性体ジケトンクルクミンの経口摂取は胃癌発生を抑制する)
論文審査委員	(主査) 飯島 克則 教授 (副査) 廣川 誠 教授      大森 泰文 教授

## 学位論文内容要旨

### 論文題目

Dietary intake of pyrolyzed deketene curcumin inhibits gastric carcinogenesis  
(クルクミンの熱変性体ジケトンクルクミンの経口摂取は胃癌発生を抑制する)

申請者氏名 吉田 泰一

### 研究目的

胃癌は世界で二番目に死亡者数が多い。治癒を望める治療は外科的切除のみで、ステージIVは化学療法が主な治療となる。化学療法を受ける患者の予後は約1年で、新規薬剤の開発が望まれている。また、発がん予防法の確立も待たれる。以前よりフィトケミカルという食物由来成分の抗腫瘍活性が検証されてきた。ウコンの主成分のクルクミンは、様々ながん腫の増殖を抑制しアポトーシスを誘導する。しかし、クルクミンは生体内有用性が低く、臨床応用可能性は限定的である。我々はより強い抗腫瘍活性を求めてクルクミン類縁体合成を行い、ジアリルペンタノイド型類縁体 (DAPA) にたどり着いた。類縁体の一つ GO-Y031 はβカテニンやリン酸化STAT3 (pSTAT3) の発現抑制を介して胃癌増殖を抑制した。しかし、DAPAは新規の化合物でヒトへの安全性は確立していない。最近、クルクミンの熱変性でDAPAが生ずることが示された。この化合物は我々が合成した 1,5-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) -1,4-pentadiene-3-one (GO-Y022) と同じものであった。そこで、これまでにヒトが経口摂取したことのある GO-Y022 の抗腫瘍活性、安全性、薬物動態などをヒト胃癌細胞株や胃癌マウスモデル (Gan マウス) を用いて検証した。

### 研究方法

ヒト胃癌細胞株 (KatoIII、GCIY、H-111-TC、SH-10-TC) を用いて GO-022 の抗腫瘍活性を調べた。MTT アッセイを用いて生存率を測定して 50%増殖抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) を求めた。βカテニンと pSTAT3 の抑制、およびアポトーシスの誘導能は Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay を用いて測定した。また、FACS を用いてアポトーシスの検討を行った。pSTAT3 阻害薬クリプトタニノン (CTS) による増殖抑制を検討した。さらに Gan マウスを用いて GO-Y022 の有効性と安全性を検討した。Gan マウスは週齢 9 週から高脂肪食のみを投与する群と、高脂肪食に 0.5% の GO-Y022 を加えて投与する群 (GO-Y022 群) に分けて飼育し、16 週で屠殺して胃癌の大きさを測定し、免疫組織化学にてβカテニンと

pSTAT3 を染色した。血中及び各臓器の GO-Y022 濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した。また、B6 マウスに GO-Y022 をゾンデで強制給餌し、0、1、2、4、8、24 時間後に採血し、血中濃度を調べた。屠殺前にマウスを採血し、総ビリルビン、AST、ALT、LDH、クレアチニンを測定した。さらに胃の正常上皮への影響についてヒト HGaEpC 細胞を用いて検討した。9 種類のカレールーの GO-Y022 量を質量解析法にて測定した。

### 研究成果

GO-Y022 の胃癌細胞の IC<sub>50</sub> はクルクミンの 4.1 倍から 9.6 倍で、強い抗腫瘍活性が示された。同じくアポトーシス誘導能は同等から 15.6 倍であった。GO-Y022 は KATOIII と H-111-TC で pSTAT3 を抑制したが、GCIY と SH-10-TC では抑制は認めなかった。CTS は H-111-TC 以外の増殖を抑制し、pSTAT3 の抑制は胃癌細胞の増殖抑制に関与すると思われた。一方、GO-Y022 はβカテニンを抑制しなかった。

Gan マウスの胃癌の平均体積は高脂肪食群では 106.7 ± 115.4 mm<sup>3</sup>、GO-Y022 群では 39.9 ± 41.8 mm<sup>3</sup> であり、統計学的な有意差は無かった (P=0.059) が、GO-Y022 群で小さい傾向にあった。免疫組織化学では GO-Y022 群の粘膜上皮細胞で pSTAT3 の発現が有意に抑制されていた。Gan マウスでも pSTAT3 を介する胃癌の抑制が示唆された。GO-Y022 は食道、胃、小腸、大腸といった消化管からは検出されたが、肝臓、腎臓、脾臓などからは検出されなかった。血液中からは代謝物を含めて GO-Y022 は検出されなかった。血清 AST、ALT、LDH、総ビリルビン、クレアチニンの値は高脂肪食群と GO-Y022 群で有意な差はなく、GO-Y022 による肝障害や腎障害は認められなかった。市販のカレーに含まれる GO-Y022 の量はカレールー 100g あたり 0~100 μg であった。

### 結論

GO-Y022 は pSTAT3 の抑制などを介して、胃癌細胞のアポトーシスを誘導した。Gan マウスに投与すると胃癌の増殖を抑制したが、血中移行は認めなかった。GO-Y022 は胃粘膜にて直接作用すると考えられた。マウスモデルでは毒性を認めず、GO-Y022 はカレーに含まれ、すでに人類は GO-Y022 を摂取している。以上から、GO-Y022 には化学発がん予防剤としての機能を期待できるものと思われた。

## 学位(博士一甲)論文審査結果の要旨

主査：飯島克則

申請者：吉田泰一

論文題名：Dietary intake of pyrolyzed deketene curcumin inhibits gastric carcinogenesis (クルクミンの熱変性体ジケトンクルクミンの経口摂取は胃癌発生を抑制する)

## 要旨

胃癌は世界で二番目に死亡者数が多い癌である。胃は、摂取された食物が長く留まる臓器であり、食品による発がん予防が期待される。ウコンの主成分のクルクミンは、様々ながん腫の増殖を抑制しアポトーシスを誘導し、抗腫瘍効果を有する。しかし、クルクミンは生体内有用性が低く、臨床応用可能性は限定的であった。今回の研究では、より強い抗腫瘍活性をもつクルクミン類縁体合成体である 1,5-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) -1,4-pentadiene-3-one (GO-Y022) の抗腫瘍活性、安全性、薬物動態などをヒト胃癌細胞株、胃癌マウスモデル (Gan マウス) を用いて検証した。その結果、GO-Y022 は、細胞株、マウスモデルにおいてアポトーシス誘導を介した発がん抑制効果を認めた。また、GoY022 は、マウスモデルでは毒性を認めなかった。GO-Y022 は、通常のカレー食品にも含まれ、すでに人類はこの合成体を摂取しており、GO-Y022 には化学発がん予防剤としての機能を期待できることが示された。

- 1) 斬新さ：申請者らのこれまで行ってきたクルクミンによる抗腫瘍効果による研究をもとに、今回は、さらに抗腫瘍効果高めるためクルクミン類縁体合成体である GO-Y022 を用いた研究を行った。GO-Y022 は、申請者のグループが独自に模索してきた合成体で斬新さがある。
- 2) 重要性：GO-Y022 は、クルクミンを加熱処理することで、生成され、実際にカレー食品中にも GO-Y022 が含まれていることが示されている。このことは、GO-Y022 という合成体は、すでに食品として、人間が摂取しているものであり、安全性が高いことが示唆される。よって、今後の GO-Y022 のヒトでの臨床応用の実現性が高くなったと考えられ、そこに今回の研究の重要性がある。

## 3) 研究方法の正確性

in vitro の研究では、数種類の細胞株を用い、程度の差はあるが、いずれも GO-Y022 の抗腫瘍効果が示された。また、FACS を用いたアポトーシスの検討や pSTAT3 阻害薬クリプトタンシノン (CTS) による増殖抑制が検討され、多角的に分析されている。さらに、発癌マウスモデルを用いた in vivo の検討でも、同様に、GO-Y022 によって、発がんが抑制される傾向を認めた。以上のように、複数の実験系での同様の結果が示されており、正確性があると考えられる。

## 4) 表現の明瞭さ：クルクミンの熱変性体である GO-Y022 の抗腫瘍効果に関して、研究目的、方法、実験結果、考察を簡潔、明瞭に記載していると考えられる。

以上より、本論文は、学位を授与するのに十分値する研究と判定された。