

## 第3回 米国国際がん予防学会

■2004年10月16日～20日 米国ワシントン州・シアトル

Third Annual AACR International Conference

#A-42

### 「Chemopreventive activity of naturally occurring compounds on nitric oxide donors induced mouse skin carcinogenesis.」

マウス皮膚における一酸化窒素誘発発がんでの天然物由来化合物のがん予防活性について

H. Tokuda

Department of Biochemistry, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan,

The present study was carried out to examine the chemopreventive activity of antioxidants, polyphenols curcumin and Brazilian traditional medicine ext. and its compounds etc. on the nitric oxide(NO) donors induced carcinogenesis. We previously reported that kind of NO donor, peroxyntirite(PN) induced tumor initiating activity using mouse on two-stage mouse skin carcinogenesis. Female SENCAR mouse(6 weeks of age) were treated topically with single dose of PN solution, followed by TPA twice a weekly for 20 weeks. Tumor incidence was 100% with 5 to 6 per mouse at end experiment. Antioxidants and ext. were orally fed with drinking water for only 2 weeks, before and after initiation and following promoting treatment with drinking water only. In our observation, antioxidants and ext. treated group cause about 60% reduction in the average number of tumors per mouse after 20 weeks experiment, respectively. These data suggest that several compounds are promising candidates as chemopreventive agents for infectious and inflammatory induced carcinogenesis. The molecular basis of these differences is being explored by protein inducing levels. Western blotting analysis of qualified epidermal particle protein showed that H-Ras, MEK, Raf-1 and p38 expression in mouse skin were abnormal responsible for PN treatment in a time- and dose- dependent manner. Topical administration of natural source compounds had much influence against PN induced expression stage. We postulate that these data suggest possible role of Ras signaling pathway as a regulatory mechanism of chemopreventive activity in PN induced carcinogenesis.

#### ■日本語訳

本研究は一酸化窒素(NO)で誘発された発がんに対する抗酸化物、ポリフェノール、クルクミンとブラジル伝統生薬についてのがん予防作用について研究したものである。先の研究でわれわれはNOドナーの一種であるパーオキシナイトライト(PN)が、マウス皮膚発がん二段階試験で発がんイニシエーション作用を有することを報告した。雌SENCARマウス(6週令)でPNを一回処理、その一週間後よりTPAを週2回処理した。その結果20週目で腫瘍の発生率は100%、腫瘍数は5から6個であった。抗酸化物等をPN処理前後2週間摂取させ、その後は飲料水にて処理をおこなった。われわれの観察において、20週目で抗酸化物等の処理では腫瘍数がそれぞれ60%減少が認められた。これらのデータは使用した化合物が感染、炎症で誘発されるであろう発がんに対し、がん予防効果のあることが示唆された。さらにこの結果の分子レベルでの解析として、たんぱく質発現の検討を行った。マウス皮膚上皮たんぱく質のウェスタンブロット法による解析として、PN処理による時間的、濃度的な変化をH-Ras, MEK, Raf-1, p38発現を検討したところ、天然物由来化合物の摂取ではPN誘発段階に対して顕著な影響を示した。これらのデータではRas情報伝達系にPN誘発発がんに対し、がん予防作用の役割のあることが推定された。

## 第44回 米国細胞生物学会

■2004年12月4日～8日 米国ワシントンD.C.

### 「Establishment of short term in vitro assay screening method for useful compounds.」

有用物質の探索を目的とした試験管内短期検出法の確立

H. Tokuda, I. F. Enjo, T. Konoshima, A. Kumagai, T. Mukainaka, H. Kushida, M. Takasaki, H. Nishino. Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan, Chiba Science University Chiba, Japan.

The application of a new screening procedure which utilizes the synergistic effect of short-chain fatty acids and tumor promoting diterpene esters enabled rapid and easy detection of tumor promoters and anti-tumor promoters using human lymphoblastoid Raji cell. Several tumor promoters are able to activate the Epstein-Barr virus early antigen (EBV-EA) induction in both latently and productively infected cells, Raji cells.

The EBV activating effect of tumor promoters can be synergistically enhanced through protein kinase c pathway if they are administered together with n-butyric acid. N-butyric acid is itself a potent activator of infected virus in Raji cell when used at higher concentrations.

Interestingly, the EBV-EA activation induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA), can be diminished by the addition of chemopreventive agents, ascorbic acid, curcumin and herbal plant, Tabebuia avellanedae to the culture medium.

These samples are an inhibitor of tumor promotion, chemopreventive agents.

In this present study, we tried to arrange the screening and detection of chemopreventive agents.

#### ■日本語訳

発がんプロモーターと短鎖脂肪酸の相乗効果を利用し、ヒト由来リンパ芽腫細胞Rajiを用いた抗発がんプロモーターの早期、簡易的な新しい検出法に関する報告である。

この方法を用いることで、がん予防剤とされる抗発がんプロモーターを簡単に検出することが可能で、多くの有用物質の生物活性を検討した。発がんプロモーターと短鎖脂肪酸の作用により、Raji細胞中のエプスタイン・バールウイルスの早期抗原が発現し、それを測定することで活性を観察するものである。

興味のある事実として、発がんプロモーターであるTPAを用いた早期抗原の発現作用に対し、がん予防剤として開発中のブラジル産薬用植物であるタバペイア・アベラネダエ(TA)の抽出液ならびに、そこに含まれるナフトキノン化合物を同時に作用させると、その発現の抑制が観察された。

また現在、がん予防剤としてよく知られているアスコルビン酸、クルクミン等多くの化合物についても同様にその発現の抑制を認め、このことから現在、化学的予防物質として知られ、市販されている化合物を含むTAにがん予防剤としての可能性が示唆された。

さらにこの方法により多くの化合物の試験を進めた結果、この方法ががん予防剤の評価法として有用であることが確認できた。