

International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics 2007

## 「Screening method of short term *in vitro* assay for anti-tumor promoters, (chemopreventive reagents)」

### 抗発がんプロモーター(がん予防剤)のスクリーニングを目的とした試験管内短期検出法

Harukuni Tokuda (Department of Biochemistry, Kyoto Prefectural University of Medicine), Masafumi Kaneko and Akira Iida (Faculty of Pharmacy, Takasaki University of Health and Welfare)

#### [Materials and Methods]

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 including naphthoquinones to the culture medium. These samples are an inhibitor of tumor promotion, chemopreventive agents and inhibited promoting stage of DMBA-TPA induced carcinogenesis in mouse.

#### [Results]

TA ess. and NQ801 inhibit the EBA-EA activation in a time and dose dependent manner. Inhibitory activity was higher in NQ801 compared to TA ess. , and the structure elucidation and biological activity were identified. In the course of *in vivo* studies, female SENCAR mouse (6 weeks of age) were treated topically with TA ess. followed by TPA twice a weekly for 20 weeks. Tumor incidence were 60-70% with 4 to 5 per mouse at end of experiment as positive control group.

#### [Conclusion]

This study demonstrates that a) TA ess. and NQ801 inhibit the TPA induced EBV-EA activation, *in vitro* anti-tumor promoter assay b) TA ess. leads to decrease of papillomas production. A new chemopreventive agent was discovered that shows potential for the treatment of tumor promoting stage.

#### ■日本語要約

##### 【序説】

この研究の目的は、ブラジル産薬用植物であるタバブイア・アベラネダエについて、試験管内、小動物試験を行い、がん予防効果について検討するものである。タバブイア・アベラネダエ (TA) は、南米のブラジルから北部アルゼンチンにかけて自生する樹木で、薬用植物として、500年以上に亘って種々の疾患に対して伝承薬物として使用されてきた。ブラジル産であるこの樹木の内部樹皮は、アジアでは主に飲料茶として供給されている。TAとそこに含まれるナフトキノン化合物NQ801に対してその生物活性を評価することを目的とするので、この物質についてわれわれが確立した方法にて試験、すなわち抗発がんプロモーター(がん予防剤)の試験管内での検査方法と、小動物での皮膚での発がんに対する抑制試験である。

##### 【材料与方法】

ヒト由来リンパ種であるRaji細胞を用いて抗発がんプロモーター、発がんプロモーターを短鎖脂肪酸と発がんプロモーターの相乗効果を用いて迅速で簡単にスクリーニングをする方法である。発がんプロモーターがEBVに感染しているRaji細胞にて、その細胞表面に初期抗原(Early Antigen EA)を発現する発がんプロモーターによるEBVの活性化効果は酪酸と同時に反応させるとPKCを介して、相乗的に促進する。興味あることにTPAによりEBV-EAが活性化されると、同時にがん予防剤であるビタミンC、クルクミンや薬用植物であるTAとそれに含まれるナフトキノン類を同時に培養するとその活性が減少する。これらの試薬は、発がんプロモーター段階の阻害剤で、がん予防剤としてマウスでのDMBA誘発発がんプロモーターも阻害する。

##### 【結果】

TA抽出液(TAess)とNQ801は、時間と濃度に依存してEBV-EA活性を抑制した。抑制活性はTAess.に比較してNQ801が高く、また構造相関も生理活性も一致した。動物を用いた試験として、雌SENCARマウス(6週令)にTAess.を塗布に続いてTPA塗布で20週間続ける試験を行った。発生した腫瘍数は60~70%、個数もマウスあたり4から5の減少を無処理と比較して、実験終了時に示した。

##### 【結論】

この研究は  
a) 試験管内試験においてTAess.とNQ801がTPAによるEBV-EA活性を抑制した。  
b) 動物実験ではTAess.でも腫瘍発生を抑制した。そのことから、新しく示したがん予防剤は、腫瘍のプロモーション段階の処理で活性を示した。