第9回 国際細胞生物学会

■ 2008年10月7日～10日 韓国・ソウル

The 9th International Congress on Cell Biology

「CONVENTIONAL SCREENING METHOD OF SHORT TERM IN VITRO ASSAY FOR CHEMOPREVENTIVE AGENTS」

がん予防のための短気試験管内分析の簡単なスクリーニング法

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

We designed a short-term *in vitro* assay for detecting tumor promoters, utilizing the activation of Epstein-Barr virus Early Antigen(EBV-EA) expression in EBV genome-carrying human lymphoblastoid cells, Raji cell. The application of a new screening procedure which utilizes the synergistic effect of short-chain fatty acids and tumor-promoting diterpene esters, 12-0-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate(TPA) enabled rapid and easy detection of naturally occurring substances(anti-tumor promoters, chemopreventive agents) with inhibition of Epstein-Barr virus(EBV) activation/tumor-promoting potency, using human lymphoblastoid cell, Raji cells. Over 500 samples were tested, using this short term *in vitro* assay system and more than about 100 substances with such activities were identified. We found that one of the Brazilian medicinal plants, extract of *Tabebuia avellanedae*(TA) show the potent inhibitor whose action was enhanced by healthy subject in cancer and also show the inhibitory effects against EBV-EA. In addtion, we have now extended these investigations to a new tumorigenesis model in which we initiated the tumors with DMBA initiation and promoted with 1.7 nmol of TPA in two-stage mouse skin test. These results provide a basis for further development of these botanical supplements for human cancer chemoprevention and its possible use in the field of chemoprevention.

■日本語訳

我々はEpstein-Barr Virus(EBV)の遺伝子を有するヒトリンパ腫Raji細胞を用いた、EBV-Early Antigen(EBV-EA)発現現象を指標として、発がんプロモーターを検索する短期的試験管内法を考えた。さらに短鎖脂肪酸と発がんプロモーターであるTPAを利用する新しいスクリーニング法として、Raji細胞内での発がんプロモーターによるEBV-EA発現に対して、その活性を抑制する天然物由来化合物を抗発がんプロモーターとして特定することが、この方法により可能となった。500以上の試料をこの方法によりスクリーニングして、約100物質に活性のあることを確認した。

我々はブラジル産の薬用植物であるタベブイア・アベラネダエの抽出物が、がん疾患における健康維持に有用で、がん細胞の増殖抑制効果を有することから、この試験法で解析を進めてところ、EBV-EAに対して同様に抑制作用を示した、さらに詳細な検討としてDMBA-TPAによるマウス皮膚二段階発がん抑制試験を試み、その試験でも評価できる効果を示した。これらの結果はヒトのがんに対するこの植物抽出物質のより応用発展の基礎として、がん予防領域でのその可能性を示唆している。

第11回 日本補完代替医療学会学術集会

■ 2008年11月8日～9日 神奈川県・横浜市

The 11th Annual Meeting of the Japanese Society for Complementary and Alternative Medicine

P-F-1

「Chemopreventive effects of Tabebuia avellanedae as natural original source against AGE induced carcinogensis and its analysis」

天然資源である*Tabebuia avellanedae*成分を用いた後期段階生成物誘発発がんに対する予防作用とその解析

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

【目的】

糖尿病性合併症を起こすとされる後期段階生成物の進展予防が,最重要な課題となってきている。そこでその予防の試験モデルとして後期段階生成物を作成し,合併症のひとつとされる発がん性に対して,天然伝統薬用植物として知られている,*Tabebuia avellanedae*成分を用いてその作用を検討した。

【方法】

市販のヒトアルブミンとグルコースを用いた後期段階生成物,Advanced glycation end-products(HAGE)を非酵素的に作成し,それを発がんイニシエーションとした。その予防の検討として,*Tabebuia avellanedae*成分として市販されている“TAHEEBO ESSENCE” HAGEが産生する段階を紫外線吸収スペクトルで検討するとともに,マウスを用いたHAGEによる発がんに対する効果を検討した。HAGEをアルブミン量として換算,100μgをマウス皮膚に塗布,その1週間後よりTPAを1μg,週2回,20週間継続処理して腫瘍の発生を観察した。HAGEを処理する前後1週間,合計2週間,を予防処理として“TAHEEBO ESSENCE” マウスに摂取させ,無処置群と比較した。またさらに詳細な検討として,タンパク質発現レベルでの検討も既存の方法を用いて解析した。

【結果・考察】

“TAHEEBO ESSENCE” をもちいて,後期段階生成物の産生段階,また産生物での発がん段階での効果を検討したところ,産生段階では吸収スペクトルによる差が認められ,メイラード反応段階での効果が確認できた。腫瘍発生の検討でも発生腫瘍の減少が認められ,その特異タンパク質レベルでも変動を確認できた。このことは従来のがん予防効果とともに,現在,注目されてきている糖尿病合併症により誘発されるがんに対しても,作用することが示唆される。

■English abstract

It has been reported that a history diabetes is associated with an increased risk of liver, colorectal, pancreatic, and an other cancers, although there is no clear explanation for this increased risk. When proteins are exposed to including sugars, such as glucose, they undergo non-enzymatic glycation and oxidation. The ultimate result of non-enzymatic glycation and oxidation of protein is the formation of advanced glycation end products(AGEs). AGEs concentrations can be markedly elevated in diabetic patients as a result of sustained hyperglycemia. As the test, SENCAR mice were initiated with single does of 100μg HAGE and promoted with 1μg TPA twice a week for 20 weeks. In the current work, ursolic acid and traditional plant, Tabebuia avellanedae ext. were examined to their inhibitory effect against HAGE induced carcinogenesis.