

食品中のステロイドスルファターゼ阻害物質による乳癌抑制に関する研究 (第1報)

バイオスタッフ 岩原健二 室伏敬太

Study on control of breast cancer by steroid sulfatase inhibitors in food (1st Report)

Kenji Iwahara and Keita Murofushi

1. 緒言

閉経後の乳癌細胞においては、E2(エストラジオール)がエストロゲンレセプターに結合し、乳癌細胞自身の増殖が亢進される。E2は17HSD1(17 β ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼタイプ1)によりE1(エストロン)から生成される。E1はSTS(ステロイドスルファターゼ)によりE1S(エストロン3硫酸)から生成され、このSTSの活性は高くなっている⁴⁾。このSTSの反応経路を阻害することにより乳癌の増殖の抑制が期待できる。現在、STS阻害剤についての研究がされているが、化学的に合成されたステロイド構造に似たものが多く、他器官等への副作用も懸念される。

そこで、日常摂取するような食品中に存在する阻害物質であれば作用も穏やかで副作用も少ないと考え、乳癌の予防・抑制に有効なSTS阻害物質を天然の食品から検索することを目的とした。阻害物質の検索には、*Flavobacterium sp.* 由来のE1SからE1を特異的に生成するステロイドスルファターゼを用いた^{1),2)}。

これまでの検討から日常摂取する食品のエタノール抽出画分の中にES-1を阻害する成分が野菜、果物、きのこ、水産物において認められた³⁾。これら阻害効果の認められた食品のうち阻害効果が高かったパブリカ中の阻害成分をHPLCにより分離し、いくつかの成分を確認した³⁾。今回の報告では、日常摂取する食品の成分でES-1を阻害するものがヒト乳癌細胞の増殖を阻害するかについて検討した。

2. 実験方法

2.1 ヒト乳癌細胞の培養

ヒト乳癌細胞はMCF-7を用いた。培養は、Dulbecco's modified Eagle's medium、DMEM (+) 培地および増殖因子である性ステロイドやステロイド様作用をするフェノールレッドをチャコール・デ

キストラン処理して取り除いたDMEM (-) 培地を用い、37°C、5%CO₂で行った。

2.2 食品成分による乳癌細胞の生育阻害試験

培養5日目のMCF-7を回収し、遠心分離しDMEM (+) を捨ててDMEM (-) に懸濁させ、96 ウェルプレートに1×10⁴cell/cm²になるように播種し、37°C、5%CO₂インキュベーターに入れた。培地を吸い取り、各種食品のエタノール抽出液(食品乾燥重量3gに対して100mlのエタノールで抽出したもの)の100 μ lを凍結乾燥し、20 μ lのDMSO溶液とした。このDMSO溶液1.5 μ lを増殖因子であるE1Sを100nM含むDMEM (-) 培地1,500 μ lに添加し、DMSOの最終濃度0.1%になるようにした。これらを96ウェルプレートに各抽出物につき5ウェルに100 μ l加えた。2日後同培地にて培地交換してさらに3日後それぞれセルカウントキットにて生細胞数を測定した。

3. 結果と考察

3.1 食品成分によるES-1活性およびMCF-7の生育阻害

日常摂取するような食品(野菜、果物、水産品、きのこ類)中のエタノール抽出画分にステロイドスルファターゼ(ES-1)を阻害する成分が広く存在していることをすでに報告した³⁾。これら食品について、ステロイドスルファターゼを高発現しているヒト乳癌細胞であるMCF-7の増殖に及ぼす影響について検討した。その結果、表1のように野菜、果物、キノコ、魚類などにおいて生育阻害効果を示した。阻害効果の大小については、阻害成分の濃度や作用強度が異なると考えられるために単純比較はできないが、ES-1活性およびMCF-7生育の両方を阻害するものが認められた。特に、果物においては、ほとんどが両方を阻害することが分かった。

しかし、必ずしもES-1の阻害効果が認められたものがMCF-7の阻害効果を有するとは限らなかった。

ES-1は単純な1つの酵素反応系の阻害であるため様々な成分が混在している抽出成分の中でES-1阻害物質以外の影響を受けにくいと考えられる。

一方で、MCF-7は細胞であり種々の反応系を有しており、様々な種類の物質によりその生育が大きく影響されることが考えられる。MCF-7の細胞中に存在する成長因子の1つであるステロイドスルファターゼを阻害していたとしても、その他成分によりMCF-7の増殖が促進されることも考えられる。実際にES-1を阻害するがMCF-7の生育は阻害しないものは多いが、その逆はほとんど認められなかった。例えば、ES-1阻害効果の高かったパプリカの抽出液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分離して、ES-1を阻害する効果の高かった成分についてMCF-7の阻害効果を検証した結果、ES-1活性と乳癌細胞の生育の両方を阻害するものも認められた。

これら結果から、ES-1活性阻害とMCF-7生育阻害の検証を組み合わせることにより、ステロイドスルファターゼが関与している乳癌細胞の増殖を阻害する効果のある物質の検索が効果的にできるのではないかと考えられる。

表1 食品抽出液によるES-1活性およびMCF-7生育阻害

野菜	阻害 (%)		果物	阻害 (%)	
	ES-1*	MCF-7		ES-1*	MCF-7
パプリカ	60	-5	レモン果肉	38	0
ネギ(緑色部分)	60	-22	レモン皮	22	14
ブロッコリー	36	13	グレープフルーツ	16	29
トマト	33	-11	カキ(くだもの)	14	12
ニンジン	30	-1	イチゴ	11	2
カリフラワー	22	26	オレンジ	11	9
ダイコン	16	36	三ヶ日ミカン	5	13
ジャガイモ	15	-33	海産物		
ネギ白	15	-28	カツオブシ	26	-45
ショウガ	15	-7	シラス	14	-26
タマネギ	13	20	アジ	2	34
ゴボウ	10	-12	マグロ	4	-12
キャベツ	10	-27	サクラエビ	-5	-12
カボチャ	8	-6	メカブ	6	-9
キュウリ	8	36	ワカメ	1	-34
ナス	8	13	きのこ		
セロリ	3	4	エノキ	22	11
にんにく	0	3	マイタケ	9	-17
ゴーヤ	1	2	エリンギ	5	-10
ダイズ	0	-33	シメジ	5	23
エシャロット	-3	11	シイタケ	2	-13
ピーマン	-4	6			
シソ	0	-38			

*参考文献, 3)

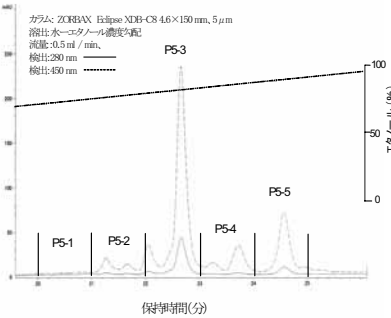


図1 パプリカ-抽出液のHPLCによる分画

表2 パプリカ-エタノール抽出区分のHPLCによる分画物によるES-1活性およびMCF-7生育阻害

阻害物質	阻害 (%)	
	ES-1*	MCF-7
無	0	0
P5-1	34	0
P5-2	22	26
P5-3	18	15
P5-4	28	0
P5-5	22	-6

*参考文献, 3)

4. まとめ

微生物由来のES-1を阻害する成分を含む日常摂取するような食品(野菜、果物、水産品、きのこ類)のうちヒト乳癌細胞MCF-7の生育も阻害するものが5割程度見いだされた。しかし、ES-1の阻害効果が高いものが必ずしもMCF-7の阻害効果が高くはなかった。例えば、ES-1を阻害する効果の高かったパプリカ抽出液は、MCF-7の増殖を阻害しなかったが、その抽出液中の成分を高速液体クロマトグラフィーにより分離した数種の成分はES-1活性とMCF-7の生育を阻害した。

謝辞

本研究を進めるにあたり、実験方法などご指導いただきました静岡県立大学環境科学研究所 大学院生活健康科学研究科 生体機能学研究室 下位香代子教授に感謝いたします。

参考文献

- 1) 岩原健二、山岸政昭：微生物の生産する酵素を利用した乳癌予防食品の開発研究(第1報)、静岡県沼津工業技術センター研究報告、13号、p 19-21 (2005)
- 2) 岩原健二、山岸政昭：微生物の生産する酵素を利用した乳癌予防食品の開発研究(第2報)、静岡県沼津工業技術センター研究報告、14号、p 1-5 (2006)
- 3) 岩原健二、山岸政昭：微生物の生産する酵素を利用した乳癌予防食品の開発研究(第3報)、静岡県沼津工業技術センター研究報告、15号、p 7-9 (2007)
- 4) M. J. Reed, A. Purohit, L. W. L. Woo, S. P. Newman and B. V. L. Potter (2005) Steroid Sulfatase: Molecular Biology, Regulation and Inhibition, Endocrine Reviews. 26(2), 171-20