

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2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 foods (2nd Report)

Kenji Iwahara and Keita Murofushi

1. 緒言

閉経後の乳癌細胞においては、エストラジオール (E2) 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 17β 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から生成される。また、エストロン (E1) は、ステロイドスルファターゼ (STS) によりエストロン3硫酸 (E1S) から生成され、このSTSの活性は高くなっている¹⁾。このSTSを阻害することにより乳癌の増殖の抑制が期待できる。

これまでに、日常摂取する食品 (野菜、果物、水産品、キノコ) のエタノール抽出区分にE1SからE1への反応を特異的に触媒する微生物由来のSTSを阻害する成分が広く存在していることを見出した。また、阻害効果のあった食品のうちE1Sの取り込み能力があり、STSを発現しているヒト乳癌細胞株、MCF-7の増殖も阻害するものが5割以上見いだされた²⁾。

今回の報告では、日常摂取する食品のエタノール抽出液でSTSを阻害し、ホルモン依存性乳癌細胞株であるMCF-7、及びT47D (MCF-7よりもE1Sの取込み能力が高く、STSを高発現している) の増殖も強く阻害する食品中の阻害成分の分離を試みた。

2. 実験方法

2.1 食品成分による乳癌細胞の増殖阻害試験

ヒト乳癌細胞は凍結保存してあるT47Dを用いた。培地は、非働化したFBSを10%含むDulbecco's modified Eagle's medium、DMEM (+) 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 (-) を用いた。

継代5日目のT47D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 1×10^4 cell / cm²になるように播種し、37℃、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を生育因子である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 食品抽出成分によるT47Dの生育阻害

日常摂取する食品 (野菜、果物、水産品、キノコ) のエタノール抽出画分のT47Dの増殖阻害について検討した。その結果、表1に示したように、MCF-7と同様に増殖が阻害されており、同時にSTSも阻害している抽出液も認められた。

この中で、シメジ抽出液は、STS活性、MCF-7の増殖も阻害し、T47Dはシメジ抽出液によりもっとも強く阻害された。また、このシメジ-エタノール抽出区分は、図1に示したように濃度依存的に増殖阻害が認められた。そこで、シメジ抽出液中の阻害成分の分離を試みた。エタノール抽出区分の中に

含まれる阻害成分を高速液体クロマトグラフで逆相クロマトグラフィーにより水-エタノール濃度勾配により分離を行った。その結果、脂溶性の高い区分において阻害効果の高いフラクション (Fr 5) が得られた。Fr 5 は濃度依存的にT47Dの増殖を阻害し、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以下においても阻害効果を示した。また、乳癌細胞中のSTSを低濃度で強く阻害し、乳癌増殖阻害効果を有する物質として開発されているエストロンスルファメート¹⁾と同程度の阻害効果を示した (図2)。

表1 食品-エタノール抽出物によるSTS活性およびT47D、MCF-7の増殖阻害

野菜	阻害 (%)			果物	阻害 (%)		
	STS*	MCF-7*	T47D		STS*	MCF-7*	T47D
パプリカ	60	-5	6	レモン果肉	38	0	11
ネギ(緑色部)	60	-22	-8	レモン皮	22	14	23
ブロッコリー	36	13	6	グレープフルーツ	16	29	16
トマト	33	-11	-3	カキ(くだもの)	14	12	7
ニンジン	30	-1	8	イチゴ	11	2	13
カリフラワー	22	26	15	オレンジ	11	9	34
ダイコン	16	36	14	三ヶ日ミカン	5	13	18
ジャガイモ	15	-33	9	海産物			
ネギ(白)	15	-28	10	カツオブシ	26	-45	15
ショウガ	15	-7	34	シラス	14	-26	19
タマネギ	13	20	13	アジ	2	34	22
ゴボウ	10	-12	-4	マグロ	4	-12	4
キャベツ	10	-27	8	サクラエビ	-5	-12	-2
カボチャ	8	-6	3	メカブ	6	-9	-3
キュウリ	8	36	1	ワカメ	1	-34	0
ナス	8	13	2	きのこ			
セロリ	3	4	12	エノキ	22	11	6
にんにく	0	3	14	マイタケ	9	-17	15
ゴーヤ	1	2	6	エリンギ	5	-10	11
ダイズ	0	-33	13	シメジ	5	23	61
エシャロット	-3	11	15	シイタケ	2	-13	11
ピーマン	-4	6	10				
シソ	0	-38	11				

*参考文献3)

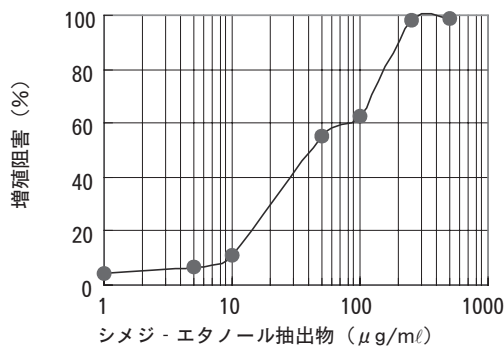
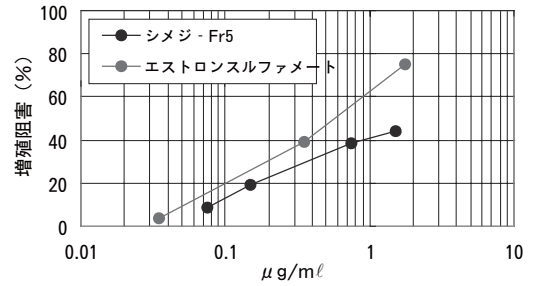


図1 シメジ-エタノール抽出画分によるT47Dの増殖阻害



E1S存在でのFr5およびエストロンスルファメートによるT47Dの阻害

図2 シメジ-Fr5およびエストロンスルファメートによるT47Dの阻害

4. まとめ

シメジのエタノール抽出画分を高速液体クロマトグラフィーにより分離した成分の中には、ホルモン依存性乳癌細胞株 (T47D) の増殖をかなりの低濃度 (数 $\mu\text{g}/\text{mL}$) において阻害効果を示すものが認められた。

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) 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):171-2.
- 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3報), 静岡県沼津工業技術センター研究報告, 15号, p7-9 (2007).
- 3) 岩原 健二, 室伏 敬太: 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), 静岡県工業技術研究所研究報告, 第1号, p55-56 (2008).