

<平成20年度>

## 発がん物質の無毒化を促進する異物代謝系酵素を誘導するがん予防食品の開発

大沼友和  
(東京薬科大学薬学部)

### 1. 緒言

日本のがん登録によればがんの罹患は増え続けており、1年間にがん罹患する人は現在約50～60万人とされ、2020年には84万人に及ぶと推計されている<sup>1)</sup>。このままの状態が続くと、日本は世界最長寿命の看板を降ろさざるを得ないかもしれない。このような背景も重なり、欧米のみならず日本でも注目されているのが伝統的な天然物素材の持つ疾病予防効果であり、特にがん予防の可能性を持つ物質は最も注目されているものの一つである。実際にはがん予防物質といわれるものは、化学的に合成された医薬品と食品および動物成分に由来する天然由来物質の2種類に大別される。前者の例としては、乳癌における抗エストロゲン剤のタモキシフェンや<sup>2)</sup>、大腸癌における多

種のシクロオキシゲナーゼ-2阻害剤がある<sup>3)</sup>。しかしながら、これら薬剤を長期間投与する場合には、副作用に対する注意が必要であり、現在では主として治療後の再発や家族性腫瘍の予防の範囲で使用されている<sup>4)</sup>。

一方、後者の天然由来物質の効果は医薬品ほどの切れ味はみられないが、がん予防における作用機序は多面的である。それらを整理すると、1) 抗酸化、2) 抗炎症、3) 免疫能増強、4) がんおよび前がん細胞に対するアポトーシス誘導、および5) 異物代謝系酵素の修飾などに分類される。上記作用のなかで筆者はがん予防の作用機序として発がんの初期段階で生体を保護する異物代謝系酵素に注目した。異物代謝系酵素は医薬品のみならず内因性・外因性異物を代謝する酵素群である(Fig.1)。異物代謝系酵素のなかでも glutathione

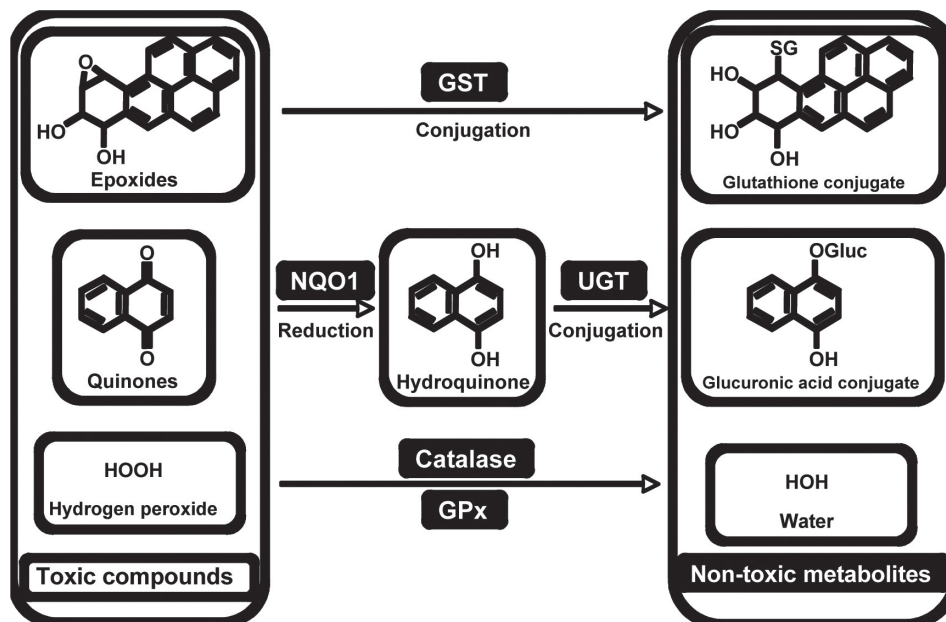


Fig.1 Role of xenobiotic-metabolizing enzymes and antioxidant enzymes

S-transferase (GST), UDP-glucuronosyltransferase (UGT) や NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1 (NQO1) などは抱合反応やキノン化合物の還元反応を触媒し、種々の発がん物質の低毒化または無毒化を促進することが知られている<sup>5, 6)</sup>。Catalase や glutathione peroxidase (GPx) は活性酸素種の一つである過酸化水素を無毒化する抗酸化酵素である。さらに、生体内抗酸化物質である glutathione (GSH) およびその合成関連酵素は生体内の還元性を維持するのに大変重要である。これら抗酸化酵素を含めた一連の異物代謝系酵素の発現は転写因子 nuclear factor-E2-related factor 2 (Nrf2) によって統括的に制御されていることが明らかとなっている<sup>7)</sup>。事実、野生型マウスと比較して Nrf2 遺伝子を破壊したマウスは化学物質に対する感受性が高まっており、発がん物質を投与すると、腫瘍形成率が著しく増加する<sup>8)</sup>。

対照的に、GST や NQO1 などの異物代謝系酵素をあらかじめ発現誘導させておくと、発がん物質による腫瘍形成が低下することも知られている<sup>8)</sup>。つまり、GST や NQO1 などの酵素の発現を誘導する物質は発がんを抑制する能力を持つと考えられている。これまでの研究により明らかにされた代表的な異物代謝系酵素の誘導剤としては、アブラナ科ブロッコリーに含まれる sulforaphane やショウガ科ウコンに含まれる curcumin などが知られている<sup>9)</sup>。多くの誘導剤は野菜や果物など、天然植物から同定されている。筆者も約 80 種類の漢方生薬を対象に異物代謝系酵素の誘導作用を調査した結果、セリ科羌活にその誘導作用があるという知見を得た<sup>10)</sup>。しかしながら、漢方生薬は一般的にあまり身近なものではなく、むしろより日常的に摂取する機会の多い食品中から GST や NQO1 の誘導剤を探索する方が、結果的にはがん予防としての恩恵を受けると考

えた。そこで本研究では、漢方生薬を用いた検討で誘導作用を示したセリ科およびその近縁のウコギ科の食品を対象を絞り、*in vitro* および *in vivo* の両面から異物代謝系酵素を誘導する食品を見出すことを目的とした。

## 2. 方 法

### 2.1 材 料

セリ科の食品であるパセリ、セロリ、ニンジンおよびミツバは八王子市内のスーパーマーケットで購入した。動物実験に用いたミツバは農事組合法人大久保園芸から恵与されたものを使用した。ウコギ科の食品であるウドは 2009 年 7 月に長野県で採取したものを実験に用いた。

### 2.2 セリ科およびウコギ科食用植物の抽出

新鮮な植物を水で洗い水分を拭き取った後、その植物の重量を測定し、ミキサーに移した。なお、ウドについては葉および茎の部分を抽出に用い、それ以外の植物は市販品の状態のまま抽出に用いた。植物湿重量の 4 倍量のメタノールをミキサーに加え、植物が完全に切断されるまでミキサーを回転させた。得られたメタノール抽出液をろ過し、ろ液をエバポレーターにより減圧留去した。残渣物を少量のメタノールに溶解することで最終的に 40 倍濃縮液 (10 g/ml) とした。これら食用植物メタノール抽出液は -20℃ にて保存した。

動物実験に使用したミツバおよびウドの投与液は以下のように調製した。各メタノール抽出液を 3 倍量のヘキサンで 3 回洗浄し、その後メタノール層をエバポレーターで減圧留去した。残渣物をヘキサン/酢酸エチル (2 : 1, v/v) の溶媒で再溶解し、その等量の飽和食塩水で 2 回、ついで水で 2 回有機層を洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させた有機層を再びエバポレーターで減圧留去し、残渣物を投与開始日にコーンオイルに再溶解した。

### 2.3 細胞培養

ラット正常肝臓由来の細胞株 Clone 9 細胞細胞は American Tissue Culture Collection 社より購入し、5% CO<sub>2</sub>/95% air の気流下、10% fetal bovine serum, 100 U/ml ペニシリン G, 100 μg/ml ストレプトマイシンおよび 0.25 μg/ml アムホテリシン B を含んだ Dulbecco's modified Eagle's medium で培養を行った。

### 2.4 細胞生存率の測定

Clone 9 細胞を 24 ウェルプレートに  $4 \times 10^4$  cells/well で播種し、24 時間培養した。その後、500-1000 倍希釈した各濃度の食用植物メタノール抽出液を含む無血清培地に置換し、24 時間インキュベートした後、MTT 試薬を用いて細胞生存率の測定を行った。

### 2.5 酵素活性測定

Clone 9 細胞およびマウス臓器における各異物代謝系酵素の活性測定は以下のように行った。Clone 9 細胞を  $6 \times 10^5$  cells/90 mm dish で播種し、48 時間培養した。その後、無血清培地にて 1000 倍希釈した食用植物メタノール抽出液に培地を置換し、24 時間インキュベートした。細胞を回収した後、125 mM スクロースおよび 2 mM EDTA を含む 50 mM Tris-HCl (pH 7.4) バッファー (Buffer A) 中にて細胞を超音波処理し、10000g × 15 分の遠心分離により、細胞ライセートを調製した。マウス各臓器のサイトゾールおよびミクロソームは臓器湿重量の 4 倍量の Buffer A にて各臓器を均質化し、105000g × 1 時間の超遠心によりそれぞれの画分を分離することで調製した。得られた酵素画分 (細胞ライセート, サイトゾールおよびミクロソーム画分) における GST, NQO1, UGT, catalase, GPx, および cytochrome P450 (CYP) 1A の活性測定ならびに GSH 含量の測定はすべて既報に従った。GST には 1-chloro-2,4-dinitrobenzene を、NQO1 には

2, 6-dichloroindophenol を、UGT には 4-methyl umbelliferone を、catalase および GPx には hydrogen peroxide を、CYP1A には ethoxyresorfin を基質に用いた。

### 2.6 動物と食用植物メタノール抽出液の投与

本動物実験は本学設置動物実験委員会の承認の下で行われた。

5 週齢雄性 C57BL/6J マウスは東京実験動物より購入した。実験期間中の水および餌は自由摂取、日照サイクルは 12 時間とし、投与開始までに 1 週間の馴化を行った。2.2 項で調製した食用植物メタノール抽出液はミツバ 500 g/kg またはウド 100 g/kg の投与濃度で 1 日 1 回 4 日間強制経口によりマウスに投与した。対象にはコーロオイルを 4 日間投与した。最終投与 24 時間後、エーテル麻酔下マウスを脱血死させ、直ちに各臓器を摘出した。摘出した臓器は使用時まで  $-80^{\circ}\text{C}$  にて保存した。

### 2.7 統計解析

Table 1 におけるデータは平均 ± 標準偏差 ( $n = 3$ ) を表し、Table 2 から 7 におけるデータは平均 ± 標準誤差 ( $n = 3$ ) を表す。有意差検定は Dunnett 検定を用い  $p < 0.05$  を統計学的有意差とした。

## 3. 結 果

### 3.1 細胞生存率に及ぼす食用植物メタノール抽出液の影響

Clone 9 細胞を用いた *in vitro* 異物代謝系酵素の誘導試験を行うにあたり、高濃度処理による食用植物メタノール抽出液の殺細胞効果が現れない濃度を設定するため、種々の濃度の抽出液で Clone 9 細胞を処理し、MTT 試薬による細胞生存率の測定を行った。処理 24 時間後における細胞生存率が 90% 以上であれば合格とした。その結果、パセリは 5 mg/ml 以下、セロリは 10

mg/ml 以下, ニンジン は 10 mg/ml 以下, ミツバ は 6 mg/ml 以下, ウド は 1 mg/ml 以下の濃度で 90% 以上の細胞生存率を示し, それ以上の高い濃度では細胞生存率が 90% を下回った (data not shown)。よって以降の各植物メタノール抽出液による *in vitro* 誘導試験は 90% 以上の細胞生存率を維持することができる上記最高濃度を用いて行った。

### 3.2 食用植物メタノール抽出液による *in vitro* 酵素誘導試験

Clone 9 細胞に食用植物メタノール抽出液を添加し, 発がん物質の解毒代謝関わる異物代謝系酵素である GST, NQO1, および UGT, 抗酸化酵素である catalase, 生体内抗酸化物質である GSH に及ぼす影響を調べた。異物代謝系酵素の誘導剤として広く認知されている sulforaphane を陽性対象として Clone 9 細胞に添加し, 同様に測定を行った。Table 1 に示したように, 調査対象とした植物メタノール抽出液は程度の違いはあるものの, いずれも溶媒対象と比較して有意に GST, NQO1, および UGT 活性を上昇させた。ニンジンメタノール抽出液は有意差を得られなかったものの, それ以外の植物メタノール抽出液は細胞内 GSH 含量も有意に上昇させた。また, パ

セリとセロリを除くその他の植物メタノール抽出液は抗酸化酵素 catalase 活性を上昇させた。ミツバおよびウドメタノール抽出液は測定した全ての酵素活性ならびに抗酸化物質 GSH の含量を有意に増加させ, その増加率は陽性対象とした sulforaphane とほぼ同程度であった。ニンジンメタノール抽出液はミツバとウドに次いで高い誘導能を示し, パセリとセロリの抽出液による誘導は調査対象とした食品の中では低いものであった。

### 3.3 ミツバおよびウドメタノール抽出液によるマウス *in vivo* における異物代謝系酵素の誘導

Clone 9 細胞を用いた *in vitro* 酵素誘導試験の結果より, ミツバとウドメタノール抽出液が異物代謝系酵素の強い誘導作用を持っていることが示された。次の段階として, その誘導作用が *in vivo* でも発揮されるかどうかを実証することはヒトへの適用を考える上で重要である。1 週間の馴化の後, 抽出液をコーンオイルに再溶解し, マウスに 4 日間連続経口投与した。投与後, マウスの肝臓, 小腸, 腎臓, および肺における異物代謝系酵素の活性測定を行った。ミツバおよびウドメタノール抽出液を投与したマウスの肝臓, 小腸, 腎臓, および肺における GST と NQO1 の活性は,

**Table 1** Effect of methanol extracts of Apiaceae and Araliaceae food plants on xenobiotic-metabolizing enzymes and antioxidant enzymes activities in Clone 9 cells.

Treatment	GST activity (nmol/min/mg)	NQO1 activity (nmol/min/mg)	GSH content (nmol/mg)	Catalase activity ( $\mu$ mol/min/mg)	UGT activity (nmol/min/mg)
Control	9.27 $\pm$ 1.93 (100%)	217 $\pm$ 50.8 (100%)	7.13 $\pm$ 2.11 (100%)	7.04 $\pm$ 2.20 (100%)	1.29 $\pm$ 0.18 (100%)
Sulforaphane (2 $\mu$ M)	20.7 $\pm$ 1.00* (223%)	541 $\pm$ 42.4* (249%)	9.45 $\pm$ 1.54 (133%)	17.6 $\pm$ 0.49* (250%)	2.76 $\pm$ 0.33* (214%)
パセリ (5mg/ml)	17.4 $\pm$ 2.18* (188%)	327 $\pm$ 6.60* (151%)	14.5 $\pm$ 1.76* (203%)	8.24 $\pm$ 0.01 (117%)	1.95 $\pm$ 0.24* (151%)
セロリ (10mg/ml)	14.2 $\pm$ 1.67* (153%)	383 $\pm$ 31.7* (176%)	13.6 $\pm$ 1.92* (191%)	7.51 $\pm$ 1.19 (107%)	2.01 $\pm$ 0.20* (156%)
ニンジン (10mg/ml)	20.7 $\pm$ 2.53* (223%)	472 $\pm$ 56.7* (218%)	11.1 $\pm$ 1.52 (156%)	13.4 $\pm$ 2.43* (190%)	2.05 $\pm$ 0.26* (159%)
ミツバ (6mg/ml)	24.0 $\pm$ 1.82* (259%)	661 $\pm$ 62.6* (305%)	16.9 $\pm$ 2.43* (237%)	14.9 $\pm$ 2.15* (212%)	2.42 $\pm$ 0.11* (188%)
ウド (1mg/ml)	21.4 $\pm$ 1.21* (231%)	569 $\pm$ 46.3* (262%)	15.3 $\pm$ 3.16* (215%)	14.1 $\pm$ 1.80* (200%)	2.84 $\pm$ 0.32* (220%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.

\*,  $p < 0.05$ .

**Table 2** GST activities in the cytosol of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	GST activities (nmol/min/mg)			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	1858 ± 125 (100%)	180 ± 37.2 (100%)	712 ± 38.0 (100%)	173 ± 46.4 (100%)
ミツバ	3190 ± 191* (172%)	573 ± 139 (318%)	1415 ± 79.5* (199%)	256 ± 1.99 (148%)
ウド	2830 ± 367* (152%)	413 ± 189 (229%)	1462 ± 188* (205%)	245 ± 15.1 (142%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.  
\*,  $p < 0.05$ .

**Table 3** NQO1 activities in the cytosol of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	NQO1 activities (nmol/min/mg)			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	23.0 ± 5.32 (100%)	75.3 ± 25.5 (100%)	192 ± 91.5 (100%)	16.5 ± 2.25 (100%)
ミツバ	65.3 ± 2.43* (284%)	163 ± 23.2 (216%)	363 ± 31.4* (189%)	26.2 ± 2.99* (159%)
ウド	52.8 ± 3.35* (230%)	111 ± 53.7 (147%)	305 ± 9.44* (159%)	25.2 ± 2.57* (153%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.  
\*,  $p < 0.05$ .

**Table 4** UGT activities in microsomes of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	UGT activities (nmol/min/mg)			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	23.6 ± 0.75 (100%)	11.9 ± 0.70 (100%)	12.8 ± 1.39 (100%)	7.84 ± 3.06 (100%)
ミツバ	20.1 ± 3.65 (85.2%)	22.0 ± 2.65 (185%)	9.85 ± 1.80 (77.0%)	11.1 ± 0.40 (142%)
ウド	32.1 ± 2.74 (136%)	30.1 ± 5.39* (253%)	9.23 ± 1.39 (72.1%)	12.3 ± 0.70 (157%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.  
\*,  $p < 0.05$ .

有意差の有無はあるが、全ての臓器で約 1.4 倍以上上昇していた (Tables 2 and 3)。UGT 活性は小腸、ついで肺の順に上がっていた (Table 4)。Catalase 活性は四つの臓器の中でもともと同酵素活性の一番高い腎臓においてのみ有意に上昇した (Table 5)。ミツバおよびウドメタノール抽出液による各臓器の GPx 活性の顕著な変動は認められなかった (Table 6)。CYP1A サブファミリーは多環状芳香族炭化水素やヘテロサイクリックアミンなどの代謝的活性化に関与し、むしろそれら化合物による発がんを促進する異物代謝系酵素として知られている<sup>11)</sup>。Ethoxyresorfin

*O*-deethylase (EROD) 活性を指標に CYP1A 活性を測定した結果、いずれの臓器も有意な上昇は認められなかった (Table 7)。測定した異物代謝系酵素および抗酸化酵素の誘導パターンは本研究における投与濃度ではミツバとウドメタノール抽出液ともに類似していた。

#### 4. 考 察

本研究では異物代謝系酵素の誘導を介したがん予防の可能性を示す食品を見出すことを目的とした。異物代謝系酵素の全てが発がん物質の解毒に関わるわけではないが、本研究で測定を行った

**Table 5** Catalase activities in the cytosol of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	Catalase activities ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ )			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	75.1 $\pm$ 13.7 (100%)	2.48 $\pm$ 0.55 (100%)	118 $\pm$ 6.74 (100%)	3.20 $\pm$ 0.95 (100%)
ミツバ	78.7 $\pm$ 10.2 (105%)	4.01 $\pm$ 0.44 (161%)	192 $\pm$ 7.23* (163%)	41.7 $\pm$ 0.14 (130%)
ウド	107 $\pm$ 24.0 (142%)	1.57 $\pm$ 0.40 (63.3%)	166 $\pm$ 7.53* (141%)	4.27 $\pm$ 0.40 (133%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.  
\*,  $p < 0.05$ .

**Table 6** GPx activities in the cytosol of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	GPx activities (nmol/min/mg)			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	43.7 $\pm$ 1.32 (100%)	38.7 $\pm$ 13.2 (100%)	137 $\pm$ 12.6 (100%)	23.1 $\pm$ 2.19 (100%)
ミツバ	44.6 $\pm$ 2.38 (102%)	52.2 $\pm$ 6.83 (135%)	164 $\pm$ 8.43 (120%)	30.8 $\pm$ 2.21 (133%)
ウド	41.7 $\pm$ 16.0 (95.4%)	32.2 $\pm$ 10.0 (83.2%)	159 $\pm$ 1.94 (116%)	29.5 $\pm$ 3.15 (128%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.

**Table 7** EROD activities in microsomes of C57BL/6J mice treated with methanol extracts of Mitsuba and Udo.

Treatment	EROD activities (pmol/min/mg)			
	Liver	Small intestine	Kidney	Lung
Control	56.1 $\pm$ 5.29 (100%)	2.28 $\pm$ 0.17 (100%)	3.77 $\pm$ 1.63 (100%)	3.30 $\pm$ 0.76 (100%)
ミツバ	36.2 $\pm$ 7.86 (64.5%)	3.52 $\pm$ 1.00 (148%)	3.34 $\pm$ 0.08 (88.6%)	3.65 $\pm$ 0.59 (111%)
ウド	37.7 $\pm$ 14.8 (67.2%)	2.20 $\pm$ 0.78 (96.5%)	3.16 $\pm$ 1.26 (83.8%)	2.84 $\pm$ 0.03 (86.1%)

The number in parenthesis was expressed as a percentage of each control.

GST, NQO1, および UGT は発がん物質を含む多くの化合物の解毒に関与する。そのため、これら酵素を誘導することで発がん物質に対する解毒活性を上げることはがん予防に繋がると考えられている。そこで本研究では著者が注目しているセリ科およびその近縁のウコギ科の食用植物の中から、異物代謝系酵素の誘導を引き起こすものを見出し、培養細胞を用いた *in vitro* からマウス *in vivo* までの研究開発を行った。

Clone 9 細胞に各種食用植物メタノール抽出液を添加したところ、いくつかの植物では高濃度処理による細胞毒性が現れた。これを回避するため、

全ての植物メタノール抽出液は Clone 9 細胞の生存率に影響を与えない濃度以下で実験を行った。設定した濃度の植物メタノール抽出液で細胞を処理した結果、誘導能に大小関係は認められるものの、対象とした食用植物の全てが GST, NQO1, および UGT の活性を上昇させた (**Table 1**)。特にミツバとウドメタノール抽出液での処理は Clone 9 細胞中の GST, NQO1, catalase, および UGT 活性、さらに GSH 含量を有意に上昇させた。これら酵素はいずれも転写因子 Nrf2 による制御を受けることから、ミツバおよびウドのメタノール抽出液には Nrf2 を活性化する成分が含

まれていると思われる。さらに、ミツバとウドのメタノール抽出液は陽性対象として用いた sulforaphane と同程度の誘導能を示したことから、ミツバとウドによる異物代謝系酵素の誘導作用は比較的強いかもしれない。

Clone 9細胞を用いた *in vitro* スクリーニングにおいて、異物代謝系酵素の誘導作用が強かったミツバとウドのメタノール抽出液は、マウスを用いた *in vivo* での誘導作用についても検討を行った。測定対象とした臓器は化合物の吸収・代謝・排泄に関わり、Nrf2 の mRNA 発現レベルが高いとされる肝臓・小腸・腎臓・肺とした。ミツバおよびウドメタノール抽出液の投与により、GST および NQO1 活性はいずれの臓器でも上昇していた (Tables 2 and 3)。GST や NQO1 は異物代謝系酵素のなかでも Nrf2 による発現制御が効率的に行われており、Nrf2 高発現臓器におけるミツバおよびウドメタノール抽出液による両酵素活性の上昇は十分予想される結果であると言える。一方で、UGT 活性の上昇は臓器によって異なっており、同酵素活性は小腸および肺で上昇していた (Table 4)。UGT には多くの分子種が存在し、その誘導発現は Nrf2 だけでなく AhR (aryl hydrocarbon receptor) や PXR (pregnane X receptor) による制御も受けるとされている<sup>12)</sup>。AhR や PXR に与えるミツバおよびウドメタノール抽出液の影響は本研究からではわからないが、両植物メタノール抽出液による異物代謝系酵素の誘導はおそらく Nrf2 を介した機構で行われるため、小腸および肺には Nrf2 によって制御を受ける UGT 分子種が多く存在するのではないかと推測する。抗酸化酵素 catalase および GPx 活性は両植物メタノール抽出液の投与により多くの臓器で上昇傾向を示したが、GST や NQO1 のような異物代謝系酵素と比べると際立って目立つほどではなかった (Tables 5 and 6)。 $\beta$ -Naphthoflavone

は異物代謝系酵素の誘導剤として古くから知られている化合物であり、GST や UGT を誘導するが、一方で発がん物質の代謝的活性化に関与する CYP1A も強力に誘導してしまう。このタイプの化合物は二機能性誘導剤とされ、がん予防剤としては好ましくない。しかしながら、ミツバやウドメタノール抽出液は CYP1A 発現量の最も多い肝臓での活性に影響を及ぼさなかったため、両メタノール抽出液は sulforaphane と同様に発がん物質の解毒に関わる異物代謝系酵素を選択的に誘導する一機能性誘導剤としてみなすことができる。

以上の結果よりセリ科ミツバおよびウコギ科ウドは GST, NOQ1, および UGT のような異物代謝系酵素を誘導し、がん予防活性を有する可能性が示された。しかしながら、本研究はマウスを用いたわずか4日間の検討であり、長期間投与による影響は全くわからない。長期間の投与により、蓄積されたそのもの自身の毒性が現れるかもしれない。さらに、ミツバやウドのメタノール抽出液の投与濃度を考慮しても、通常我々が摂取し得るミツバやウドの量でヒトにおいて本研究で得られた異物代謝系酵素の誘導作用を発揮する可能性は残念ながら低いと思われる。今後、ミツバおよびウドをがん予防食品として開発をするのであれば、ミツバやウドに含まれる酵素誘導成分を明らかにし、その成分のみによる異物代謝系酵素の誘導作用を検討する必要がある。日常の摂取量で補うことが困難であれば、濃縮抽出物を調製し、サプリメントとして開発するか、酵素誘導成分の含量を高めるようなミツバやウドの品種改良を行う必要もあるかもしれない。いずれにしても、本研究によりがん予防食品としてミツバおよびウドが異物代謝系酵素の発現を促進するという新しい知見を得ることができた。

## 謝 辞

本研究を遂行するあたり、多大な研究助成を賜りました浦上食品・食文化振興財団に心より感謝の意を表しますとともに貴財団の益々のご発展をお祈り申し上げます。また、実験に協力してくださいました東京薬科大学薬学部 中山 慎司氏ならびに阿南 鋭三郎氏、さらに、ミツバを御供与いただきました農事組合法人大久保園芸 佐野 公彦氏に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) 国立がんセンター, *がんの統計* (2005)
- 2) Henderson B. E., Ross R. K., and Pike M. C., *Science*, **259**, 633-8 (1993)
- 3) Wakabayashi K., *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **1**, 97-113 (2000)
- 4) IARC, *IARC Handbooks of Cancer prevention*, **1** (1997)
- 5) Hays J. D. and Pulford D. J., *Crit. Rev. Biochem. Mol. Bio.*, **30**, 445-600 (1995)
- 6) Nioi P. and Hayes J. D., *Mutat. Res.*, **555**, 149-71 (2004)
- 7) Thimmulappa R. K., Mai K. H., Srisuma S., Kensler T. W., Yamamoto M., and Biswal S., *Cancer Res.*, **62**, 5196-203 (2002)
- 8) Iida K., Itoh K., Kumagai Y., Oyasu R., Hattori K., Kawai K., Shimazui T., Akaza H., and Yamamoto M., *Cancer Res.*, **64**, 6424-31 (2004)
- 9) Chen C. and Tony Kong A. N., *Free Radic. Bio. Med.*, **36**, 1505-16 (2004)
- 10) Ohnuma T., Nakayama S., Nishiyama T., Ogura K., and Hiratsuka A., *Drug Metab. Rev.*, Supplement I, **39**, 217 (2007)
- 11) Gonzalez F. J. and Gelboin H. V., *Drug Metab. Rev.*, **26**, 165-183 (1994)
- 12) Bock K. W. and Köhler C., *Methods Enzymol.*, **400**, 57-75 (2005)



## Development of cancer preventing foods that induce xenobiotic-metabolizing enzymes that detoxify carcinogens

Tomokazu Ohnuma

(School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences)

Chemoprevention comprises multiple intervention methods using either pharmacological or dietary agents to impede, arrest, or reverse carcinogenesis at various stages. Development of cancer preventing foods is highly desirable, due to their safety, low toxicity, and general acceptance as dietary supplements. The purpose of this study is to find the dietary xenobiotic-metabolizing enzyme (XME) inducers for chemoprevention. Overall, the XME system plays an important role in determining the final fate of carcinogens and their subsequent impact on carcinogenesis. Glutathione S-transferase (GST), NAD (P) H : quinone oxidoreductase 1 (NQO1), and UDP-glucuronosyltransferase (UGT) are major XMEs, which are expressed in various tissues and involved in the detoxification of carcinogens.

When Clone 9 cells, a cultured cells line from normal rat liver, were incubated with several methanol extracts of edible plants from Apiaceae and its closely related family Araliaceae, the methanol extracts of *Cryptotaenia japonica* (Mitsuba in Japanese) and *Aralia cordata* (Udo in Japanese) significantly induced the antioxidant protein catalase as well as GST, NQO1, and UGT. The XME-inducing potency of the two methanol extracts in Clone 9 cells was almost equivalent to that of sulforaphane, an isothiocyanate compound known to be a potent inducer of XME *in vitro* and shown to be protective against carcinogen-induced tumorigenesis in laboratory animals.

To investigate the effect of the methanol extract of Mitsuba or Udo on the induction of XMEs *in vivo*, the two extracts were administered orally to mice for 4 consecutive days. GST and NQO1 activities were increased in liver, small intestine, kidney, and lung of mice treated with the methanol extract of Mitsuba or Udo. In contrast, UGT activity was increased only in small intestine. Although cytochrome P450 (CYP) 1A subfamily, which is also one of the major XMEs, is known to be involved in metabolic activation of carcinogens such as polycyclic aromatic hydrocarbon and heterocyclic arylamine, the methanol extract of Mitsuba or Udo did not alter CYP1A activity. These results indicate that the methanol extract of Mitsuba or Udo may contain constituents that induce carcinogen-inactivating XME such as GST and UGT rather than carcinogen-activating XME such as CYP1A.

This study suggested that Mitsuba and Udo, edible plants, might be expected to have chemopreventive properties. However, further studies on adsorption and toxicity of Mitsuba and Udo are needed.