



がんフォーラム2004

統合医療によるがん治療
—いのちといやしの現場から—

開催日：7月25日(日)

場 所：東京商工会議所・東商ホール

JAFRA
Japan Functional Food
Research Association



マンドゥ・ゴナム (Mamdooh Ghoneum) 博士)

アメリカ、UCLA/Drew医科大学教授

エジプト出身。エジプトMansoura大学卒業後、東京大学にて放射線免疫学の理学博士号取得。カリフォルニア大学ロサンゼルス校 (UCLA) の細胞分子免疫学部ポスドクターを経て、同大学医学解剖学、神経生物学教授に。UCLA/Drew医科大学教授も兼ねる。

ナチュラルキラー細胞とがん、ストレス、老化等の関係における研究に関しては世界的に認められており、150以上の論文を発表している。国際的ながん・エイズの臨床試験チームの研究主任として積極的に研究を行っている。

1993年にアメリカ栄養大学がん治療センターからがん研究における優れた業績により表彰された。2002年には免疫学における貢献が認められイギリスのInternational Biographical Centreより「INTERNATIONAL SCIENTIST OF THE YEAR 2002」に選ばれた。

ガン治療に対する新しい概念

我々の研究室では、ガン治療の新しい戦略を発見する計画をたてた。この戦略は低用量の化学療法剤とBioBranを併用することにより、高用量の抗がん剤を投与する化学療法と同じ程度の効果を得ようとするものである。この方法により、高用量の薬品投与による深刻な副作用を回避することができる可能性がある。この研究において、我々は他の物質の存在下におけるBioBranのアポトーシス効果を、抗がん剤の相乗作用として応用しようと考え、以下の事柄を明らかにした。

1. BioBranは人の乳ガンのガン細胞に対して、化学療法により誘導されるアポトーシスを増強させた。
2. BioBranは、人間の白血病のHUT78細胞をアンチCD95抗体により誘導されるアポトーシスに対する感受性を高めた。
3. BioBranは多剤耐性 (MDR) 腫瘍細胞の、化学療法剤に対する感受性を高めた。
4. 更に、我々は乳ガンに対する酵母誘導アポトーシスについてのBioBranの効果も明らかにした。

1. BioBranは人間の乳ガン細胞に対して、化学療法によるアポトーシス効果を増強する。

この研究で我々は、乳ガン細胞 (MCF-7) の *in vitro* での化学療法誘導アポトーシスに対して、その感受性を高めるといふBioBranの効果を検証した。乳ガン細胞の生存はMTTアッセイで測定された。この結果、BioBranによる処理は、処理されないガン細胞と比較して、MCF-7細胞の化学療法剤 (ダウノルビシン) に対する感受性を10倍強化させることが実証された。BioBranがその効果をもたらすメカニズムを検討した。フローサイトメトリー分析から、BioBranによる処理は、MCF-7腫瘍細胞の化学療法剤蓄積に影響していることが測定された。

このデータは、化学療法と併用された場合BioBranは効果的な抗腫瘍物質で、乳ガンの治療の新しい治療剤となり得ることを示唆している。

データは 2004年、ワシントンDCで発表。

2. BioBranは、人の白血病細胞の細胞死受容体により促進されたアポトーシスに敏感に反応した。

アポトーシス（計画的細胞死）は、順調な発育、組織の恒常性維持、病理などに重要な役割を果たす細胞死である。CD95（Fas）は細胞死受容体で、腫瘍の壊死因子受容体に属している。CD95リガンド（CD95L）あるいは敵対的な抗CD95抗体によるCD95のオリゴメリゼーションは、Fas依存性アポトーシス関連因子（FADD）であるアダプタープロテインを誘導し、アポトーシスへの経路を活性化させる。細胞死受容体は数々の腫瘍細胞で発現されるが、いくつかの腫瘍細胞はその表面上にかなりの量のCD95を発現しても、死のリガンドに対する抵抗力を有している。これは、細胞死受容体が発現するだけでは、アポトーシス反応をおこさせるのに充分ではない事を示している。現在、細胞死受容体を介したアポトーシスに対するガン細胞の感受性促進物質を解明することに多くの関心が集まっている。

今回の研究において、我々は人の白血病のHUT78細胞に於ける細胞死受容体により誘導されたアポトーシスに対するBioBranの効果を検証した。HUT78細胞をBioBranで前処理した後、それから細胞死受容体（Fas, CD95）に対して敵対的な抗体と培養した。アポトーシスはFACSscanを使用しヨウ化プロビシウム法により判定した。抗CD95抗体と共に培養したHUT78細胞は、ガン細胞のアポトーシスをひきおこした。BioBranの濃度に比例して、その抗CD95促進アポトーシスが增強された。（抗CD95単独のものと比較して200%の増加）観察されたBioBranの効果は、アポトーシスの遂行者であるカスパーゼ3（caspase3）の活性の増加に関係していた。これらの結果はBioBranが、腫瘍細胞を細胞死受容体によるアポトーシスに鋭敏にさせることを明らかにし、BioBranが従来からの化学療法物質による白血病治療の効果を改善するのに有効であることを示唆している。

(Ghoneum & Gollapudi, Cancer Letters 201, 41-49, 2003).

大和薬品株式会社（東京、日本）が上記の研究をサポート。

3. 多剤耐性（MDR）腫瘍細胞に対するBioBranの効果。

最近の考え方では、ガンは正常なアポトーシスとしての細胞死の調節をさまたげる一原因であるとされている。アポトーシスとは、細胞が自ら命を絶つ様にプログラムされている細胞死である。これは炎症を起さずに細胞を減らす遺伝子により定められている経路である。腫瘍細胞は、宿主の防御システムや化学療法剤によってもたらされるアポトーシスを回避する数々の方法をつくり出す。これらの方法には、細胞死受容体（CD95）によるアポトーシスの調整機能の低下や多剤耐性プロテインの活性化がある。

ガン治療の上で、化学療法と免疫療法にとっての最大の問題は抗アポトーシスの表現型が形成されることである。多くの多剤耐性（MDR）腫瘍細胞が、細胞死受容体によるアポトーシスのみならず化学療法剤によるアポトーシスに対しても抵抗力を持っている事が証明されている。従っ

て我々は、細胞死受容体及び化学療法剤により促進されるアポトーシスに対するMDR腫瘍細胞の感受性に影響を与えるBioBranの効果を調べた。これらの実験ではMDR腫瘍細胞（HL60/AR）はBioBranで前処理した後、化学療法剤を加えた。

結果は、HL60/AR細胞に対するアドリアマイシンの抑制濃度（IC₅₀）が20 μ Mであったことに對し、BioBranで処理されたものは、アドリアマイシン（IC₅₀ μ M）に対するHL60/AR細胞のアポトーシスに対する感受性を向上させ、鋭敏性は2.5倍増加した。BioBranがその効果を発揮するメカニズムを検討した。フローサイトメトリー分析の結果、BioBranによる処理は腫瘍細胞の化学療法剤の蓄積に影響していることが測定された。

データは第7回「プレディクティブ・オンコロジー&インターベンション・ストラテジー」国際シンポジウム、2004年2月フランス・ニースで発表。

4. BioBranは、ガン細胞に対して酵母誘導アポトーシスを強化する。

ガン細胞を死滅させる新しい物質を解明することは、新しい治療法の発展に大変効果がある。我々の研究は、ガン治療の新しいアプローチを提案する。人の乳ガンのガン細胞は、熱処理されたパン酵母（*in vitro*での*S.cerevisiae*）に対して高い貪食活性を持っている。興味深いことに、酵母はガン細胞のアポトーシスを促進する。

アポトーシス活性は、米ぬかアラビノキシラン誘導體（BioBran）によって強化される。

アポトーシスあるいは計画的細胞死には、厳格に制御された生化学的なカスケード現象がある。このカスケードのいくつかの要素が、カスパーゼ（caspases）と呼ばれる特異的システインタンパク分解酵素やミトコンドリアが放出する細胞死因子を賦活し、最終的にDNAの断片化を活性化させる。幅広い種類の微生物を含む多くの刺激物が、専門の食細胞の中、貪食を誘導することでアポトーシスを誘導させることができる。

酵母の人のガン細胞に対するアポトーシス効果を明らかにし、BioBranでそのプロセスを強化することは大変重要な事である。BioBranを添加することにより、ガン細胞のアポトーシス経路を加速させ、2時間前に認識された、死細胞のパーセンテージを増加させる。

この研究結果は、ガン治療に新しい治療戦略を開くことを予感させる。

これらのデータは2003年、カリフォルニア州・Huntingtonビーチで行われたAACRで発表。

| New Concepts for the Treatment of Cancer

Mamdooh Ghoneum, Ph.D.

Drew University of Medicine and Science, Department of Otolaryngology
Los Angeles, Ca 90059

In our laboratory, we plan to find a new strategy for the treatment of cancer. The strategy depends on the use of chemotherapy at low concentration in the presence of BioBran to achieve the same effect by high dose of chemo. This strategy may enable us to avoid the severe side effects associated with high dose of chemo. In these studies we plan to synergize the apoptotic effect of BioBran in the presence of other agents. We have demonstrated that ;

- 1- BioBran sensitizes human breast cancer cells to chemo-induced apoptosis,
- 2- BioBran sensitizes human leukemic HUT 78 cells to the anti-CD95 antibody-induced apoptosis,
- 3- BioBran sensitizes multidrug resistant (MDR) tumor cells to chemo.,
- 4- We also evaluated the effect of BioBran on yeast-induced apoptosis in breast cancer cells.

1- BioBran potentiates chemotherapy-induced apoptosis in human breast cancer cells

In this study, we evaluated the ability of BioBran to increase the susceptibility of human breast cancer cells (MCF-7) to chemotherapy-induced apoptosis *in vitro*. Breast cancer cell survival was determined by MTT assay. Results showed that treatment with BioBran increased susceptibility of MCF-7 cells to chemo (daunorubicin) 10 folds as compared to untreated cancer cells. The mechanism by which BioBran exerts its effect was investigated. Flow cytometry analysis demonstrated that treatment with BioBran was associated with increased accumulation of the chemotherapeutic agent in MCF-7 tumor cells. This data demonstrates that BioBran is an effective anti-tumor agent in conjunction with chemotherapy and may represent a novel therapeutic agent for the treatment of breast cancer.

Data were presented at Int. Res. Con. Food, Nutrition and Cancer. Washington, DC 2004.

2- BioBran potentiates death receptor-induced apoptosis in human leukemic cell line

Apoptosis (programmed cell death) is a physiologic form of cell death that plays an important role in normal development, tissue homeostasis and pathological situations. CD95 (Fas) is a death receptor that belongs to the tumor necrosis factor receptor. Oligomerization of CD95 by CD95 ligand (CD95L) or agonistic anti-CD95 antibody activates the apoptotic pathway by recruiting adapter protein Fas associated death domain (FADD). Death receptors are expressed in a variety of tumor cells, but a number of tumor cells are resistant to death ligands, despite expressing substantial amounts of CD95 on their surface. This suggests that the expression of death receptors is not sufficient to allow an apoptotic response. Currently there is much interest in identifying agents that increase the susceptibility of cancer cells to undergo apoptosis mediated by death receptors.

In this study, we investigated the effect of BioBran on death receptor-induced apoptosis in human leukemic HUT 78 cell line. HUT 78 cells were pretreated with BioBran and then were incubated with the agonistic antibody against death receptor (Fas, CD95). Apoptosis was determined by propidium iodide technique using FACScan. Incubation of HUT 78 cells with anti-CD95 antibody resulted in apoptosis in cancer cells. BioBran in a dose-dependent manner enhanced anti-CD95-induced apoptosis (200% increase as compared to anti-CD95 alone). The observed effect of BioBran was associated with increased activation of caspase 3, the executioner of apoptosis. These results show that BioBran sensitizes cancer cells to death receptor-mediated apoptosis and suggest that BioBran maybe useful in improving the efficacy of conventional cancer chemotherapeutic agents in the treatment of leukemia.

(Ghoneum & Gollapudi, Cancer Letters 201, 41-49, 2003).

Daiwa Pharmaceutical Co., Ltd. Tokyo, Japan, supports the above mentioned study.

3- Effect of BioBran on Multidrug resistant (MDR) tumor cells:

According to the current concepts cancer can be partially attributed to defects in the regulation of apoptotic cell death. Apoptosis is an orchestrated form of cell death in which cells commit suicide. It is a gene regulated pathway to eliminate cells without the initiation of inflammation. Tumor cells develop multiple strategies to escape from apoptosis induced by either host defense system or chemotherapeutic agents. These strategies include, down regulation of death receptor (CD95) mediated apoptosis and upregulation of multidrug resistance proteins.

The development of apoptosis resistant phenotype is a major problem for the chemotherapeutic and immunotherapeutic cure of cancer. Many of the multidrug resistant (MDR) tumor cells

have been shown to be resistant to drug-induced apoptosis as well as death receptor-induced apoptosis. Therefore we investigated the effect of BioBran on the susceptibility of MDR tumor cells to death receptor- and drug-induced apoptosis. In these experiments MDR tumor cells (HL60/AR) cells will be preexposed to BioBran and then treated with chemotherapy. Results showed that the inhibitory concentration (IC₅₀) of Adriamycin to HL60/AR cells was 20 μ M. BioBran treatment increased the sensitivity of HL60/AR cells to Adriamycin (IC₅₀ μ M), representing a 2.5 fold decrease in sensitivity. The mechanism by which BioBran exerts its effect was investigated. Flow cytometry analysis demonstrated that treatment with BioBran was associated with increased accumulation of the chemotherapeutic agent in tumor cells.

Data were presented at the 7th Int Symposium on Predictive Oncology & Intervention Strategies. Nice, France. February 2004

4- BioBran enhance yeast-induced apoptosis in cancer cells

Identification of new agents that cause the demise of cancer cells will be useful for the development of new therapeutic approaches. Our study proposes a novel therapeutic approach to cure cancer. Human cancer cells of the breast possess high phagocytic activity against heat-killed Baker's yeast, *S. cerevisiae in vitro*. Interestingly, yeast-induced apoptosis in cancer cells. Apoptotic activity was enhanced by a modified arabinoxylan rice bran (BioBran).

Apoptosis, or programmed cell death involves a cascade of biochemical events that is tightly regulated. Some of the elements in this cascade are the activation of specific cysteine proteases, called caspases, mitochondrial release of death factors, and finally DNA fragmentation. Many stimuli can induce apoptosis including a broad variety of microorganisms that induces apoptosis upon phagocytosis in professional phagocytic cells. It is of great importance to identify apoptotic effects of yeast against variety of human cancer cells and enhance its process by BioBran. The addition of BioBran accelerate the process of cancer cell apoptosis and increased the percentage of dead cells, that was noted as early as 2 hours. Results of this study may lead to a new therapeutic strategy for the treatment of cancer.

These data were presented at the Conference of American Association for Cancer Research (AACR) Huntington Beach, CA. 2003.