

トピックス

ビタミン B₆ のがん予防研究の新展開

Recent advances in anti-cancer research of vitamin B₆

1. はじめに

ビタミン B₆ (B₆) は、アミノ酸代謝などの補酵素としての機能が古くから知られているが、近年、疾病を予防する機能が注目されるようになってきた。その中でもがんとの関連についての研究が大幅に増えている。1997年に Slattery ら¹⁾は疫学的研究で B₆ が大腸がんの予防因子であることを最初に報告した。それ以来、多くの疫学的研究が欧米や我国で展開され、それらの報告は Slattery らの報告とほぼ一致している³⁾⁻⁵⁾。我々の動物実験でも B₆ 摂取の増加により azoxymethane 誘発マウス大腸腫瘍の発現が著しく抑制されることを報告した⁶⁾。疫学的研究では食物繊維やビタミン C、葉酸などの他のビタミンと比べても B₆ と大腸がんとの関連性が高いことが示され¹⁾⁻³⁾、

今や代表的な大腸がんの予防因子とされている。本稿では、B₆ の抗腫瘍作用の最新の研究状況を紹介する。

2. ビタミン B₆ の抗腫瘍作用—動物実験

2001年に Komatsu ら⁶⁾は、B₆ 摂取の増加により、azoxymethane 投与マウスの大腸腫瘍の発現が顕著に抑制されることを報告した。彼らは、マウスに低 B₆ 食 (1 mg pyridoxine HCl/kg 食餌) を与えた群と B₆ を加えた餌 (7 ~ 35 mg pyridoxine HCl/kg 食餌) を与えた群を設け、azoxymethane 投与による大腸腫瘍の誘発実験を行った。その結果、低 B₆ 食群に対して、B₆ が加えられた餌を摂取した群では、大腸腫瘍が顕著に抑制されることが示された (図 1)。1 mg/kg 群は低 B₆ 濃度であるが、成長抑制といった見かけの B₆ 欠乏症は見られないレベルである。7 mg/kg は推奨量である。最も顕著な効果のみられた B₆ 摂取量の範囲は、7 mg/kg から 1 mg/kg 付近であり、B₆ がやや不足する付近での影響が大であることを意味している。この結果は、疫学的研究とも一致している。7 週間の短期飼育の実験でも B₆ の摂取増加は azoxymethane 投与マウスの大腸前がん病変と大腸粘膜の細胞増殖を抑制し、特にその抑制効果は高脂肪食で著しいことが報告されている⁷⁾。

大腸がん以外にも、乳がんの発現も B₆ の多量摂取により抑制されることが、7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA) 投与ラットの実験で報告されている⁸⁾。彼らの実験では、7 mg pyridoxine HCl/kg の B₆ 摂取と比較して、35 mg pyridoxine HCl/kg の多量の B₆ 摂取により腫瘍の発症率が減少していた。我々の DMBA 投与ラットを用いた実験では、7 mg pyridoxine HCl/kg の B₆ 量の通常食と比較して、1 mg pyridoxine HCl/kg の低 B₆ 食では乳がんの発症率には全く差はみられなかったが、腫瘍の大きさが 30% の有意な増大を観察している (加藤ら、未発表)。ただ、いずれの実験でも大腸がん発現に対する B₆ 摂取の顕著な抑制効果と比べると軽微であった。

3. ビタミン B₆ の抗腫瘍作用のメカニズム

発がんのメカニズムには、細胞増殖や酸化ストレス、炎症、血管新生などが関わる。そこで、Komatsu ら⁹⁾は、B₆ の細胞増殖抑制作用の可能性を調べるために、解剖直前に azoxymethane 投与マウスに BrdU を投与し、その

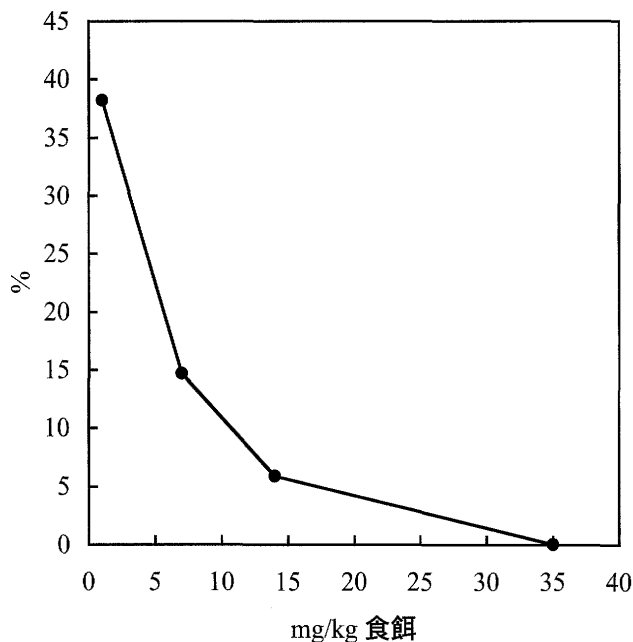


図 1 Azoxymethane 誘発マウス大腸腫瘍の発現に対する食餌ビタミン B₆ の抑制効果

異なる量のビタミン B₆ (1 ~ 35 mg pyridoxine HCl/kg 食餌) の実験食をマウスに与え、azoxymethane 投与により大腸腫瘍を誘発させた。値は発症率 (%) (n = 34) を示している。低ビタミン B₆ 食 (1 mg pyridoxine HCl/kg 食餌) に対し、ビタミン B₆ 添加食群 (7 ~ 35 mg pyridoxine HCl/kg 食餌) では有意に大腸腫瘍の発現が低下していた (P < 0.05)。

BrdU の大腸粘膜細胞の核への取り込みや細胞増殖に関わる転写因子の c-myc と c-fos について免疫組織化学的手法により検討を行った⁹⁾。その結果、高 B₆ 摂取群では BrdU の取り込みや c-myc と c-fos のタンパク質発現が低下していた。in vitro の実験でも PLP は細胞増殖 (DNA 複製) に関与し、抗がん剤の標的である DNA polymerase α , DNA polymerase ϵ , DNA topoisomerase などの活性を強く阻害することが報告されている¹⁰⁾。さらに、大腸の酸化ストレスの指標である 8-hydroxyguanosine (8-OHdG : DNA の酸化産物) や 4-hydroxynonenal (4-HNE : ω -6 系多価不飽和脂肪酸の過酸化産物) レベルも B₆ 摂取量の増加に伴い減少していることも示された⁹⁾。また、炎症性のメディエーターであり、発がん促進因子でもある inducible nitric oxide synthase (iNOS) や cyclooxygenase-2 (COX-2) の発現誘導も pyridoxal (PL) や pyridoxal 5'-phosphate (PLP) により阻害されることがリポポリサッカライド (LPS) 刺激したマクロファージで示されている¹¹⁾。

この阻害には、転写因子である NF κ B の活性化の抑制が関与している¹¹⁾。Matsubara ら¹²⁾ は、ラット動脈片をコラーゲンゲル中で培養する in vitro の血管新生解析系を用いて B₆ の血管新生抑制作用について検討した¹²⁾。その結果、PLP と PL に強い血管新生の抑制作用が明らかになった。この血管新生抑制作用には、血管内皮細胞の遊走抑制が関与している (松原ら、未発表)。さらに、近年新たな抗がんのターゲットとされている大腸の heat shock protein (HSP) である HSP70 や hemeoxygenase-1 (HSP32) のタンパク質発現が B₆ 摂取の増加に伴って減少していることが、1,2-dimethylhydrazine 投与ラットで示されている (ビタミン B 委員会シンポジウム, 2009 年)。大腸がん と B₆ との関連性については、アルコール摂取や p53 に遺伝子変異を有する患者で特に関連性が高いことが報告されている^{3) 13) 17)}。これらの知見と B₆ の抗腫瘍作用のメカニズムとどのような関連があるのか興味のあるところである。

4. ビタミン B₆ の抗腫瘍作用の大腸特異性

以前、我々は B₆ 摂取によりマウス大腸腫瘍の発現が著しく抑制されることを明らかにした⁶⁾。さらに、最近 B₆ が大腸がんの予防因子であることを示す疫学的研究が大幅に増えている^{3) 5) 13) 17)}。一方、肺がんや乳がん、前立腺がんなど他の臓器のがんと B₆ との関係については、B₆ が予防因子とする報告や無関係であるとする報告と一定の見解が得られていない^{18) 25)}。上述の動物実験でも B₆ 摂取の大腸がん発現に対する効果は乳がん発現に対する効果より顕著であった。これらのことは、B₆ の抗腫瘍作用は特に大腸で顕著であることを示唆している。そこで、我々は B₆ の抗腫瘍作用は大腸に特異的にみられる現象ではないかと考え、大腸の B₆ 代謝の特性を他の臓器の B₆ 代謝と比較することにした (ビタミン B 委員会シンポジ

ウム, 2009 年)。ここで設けた作業仮説は、大腸の B₆ 代謝物の濃度は B₆ 欠乏食による影響を受けやすいのではないかとするものである。実験食として、B₆ (pyridoxineHCl) を 0, 1, 7, あるいは 35 mg/kg 添加した食餌をマウスに 35 日間自由摂取させた。その結果、血清の PLP 濃度は 0 - 1 mg/kg と比べ他の群では著しく増加していた。肝臓の PLP 濃度は 0 mg/kg 群でのみ、他の群と比べ減少していたが、筋肉では 4 群間で PLP 濃度に変化はみられなかった。大腸の PLP 濃度は B₆ 摂取の増加に伴い、用量依存的に顕著に増加していた。興味あることに、小腸や胃の PLP 濃度についても大腸と同様な顕著な変動を示した。脳、肺、腎臓、心臓などの PLP 濃度も B₆ 摂取量にตอบสนองして用量依存的に増加していたが、消化管と比べるとその変化は少なかった。以上の結果は、消化管の PLP 濃度は B₆ 欠乏の影響を特に受けやすいことを示し、B₆ の抗腫瘍作用が何故に大腸で現れやすいのかを説明している。

Key Words : anti-cancer Vitamin B₆ PLP, PL

Graduate School of Biosphere Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

Norihisa Kato

広島大学大学院生物圏科学研究科 加藤 範久

文 献

- 1) Slattery ML, Potter JD, Coates A, Ma K, Berry TD, Duncan DM, Caan BJ (1997) Plant foods and colon cancer: an assessment of specific foods and their related nutrients (United States). *Cancer Causes Control* **8**, 575-590
- 2) Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M (1999) Methylene tetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **8**, 513-518
- 3) Ishihara J, Otani T, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Tsugane S (2007) Low intake of vitamin B-6 is associated with increased risk of colorectal cancer in Japanese men. *J Nutr* **137**, 1808-1814
- 4) Spinneker A, Sola R, Lemmen V, Castillo MJ, Pietrzik K, Gonzales-Gross M (2007) Vitamin B₆ status, deficiency and its consequence. an overview. *Nutr Hosp* **22**, 7-24
- 5) Lee JE, Li H, Giovannucci E, Lee I-M, Selhub J, Stamper M, Ma J (2009) Prospective study of plasma vitamin B₆ and risk of colorectal cancer in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **18**, 1197-1202
- 6) Komatsu S, Watanabe H, Oka T, Tsuge H, Nii H, Kato N (2001) Vitamin B-6-supplemented diets compared with a low vitamin B-6 diet suppresses azoxymethane-induced colon tumorigenesis in mice by reducing cell proliferation. *J Nutr* **131**, 2204-2207
- 7) Komatsu S, Isobe M, Yanaka N, Kato N (2005) A high-fat diet enhances the inhibitory effect of dietary vitamin B₆ on colon cell proliferation. *Oncol Rep* **14**, 265-269
- 8) Shimada D, Fukuda A, Kawaguchi H, Kato N, Yoshida H, Kanouchi H, Oka T (2005) Effect of high dose of pyridoxine on mammary tumorigenesis. *Nutr Cancer* **53**, 202-207

- 9) Komatsu S, Watanabe H, Oka T, Tsuge H, Kato N (2002) Dietary vitamin B₆ suppresses colon tumorigenesis, 8-hydroxyguanosine, 4-hydroxynonenal, and inducible nitric oxide synthase protein in azoxymethane-treated mice. *J Nutr Sci Vitaminol* **48**, 65-68
- 10) Mizushima Y, Xu X, Matsubara K, Murakami C, Kuriyama I, Oshige M, Takemura M, Kato N, Yoshida H, Sakaguchi K (2003) Pyridoxal 5'-phosphate is a selective inhibitor in vivo of DNA polymerase α and ϵ . *Biochem Biophys Res Commun* **312**, 1025-1032
- 11) Yanaka N, Koyama T, Komatsu S, Nakamura E, Kanda M, Kato N (2005) Vitamin B₆ suppresses NF-kappa B activation in LPS-stimulated mouse macrophages. *Int J Mol Med* **16**, 1071-1075
- 12) Matsubara K, Mori M, Matsuura Y, Kato N (2001) Pyridoxal 5'-phosphate and pyridoxal inhibit angiogenesis in serum-free rat aortic ring assay. *Int J Mol Med* **8**, 505-508
- 13) Schernhammer ES, Ogino S, Fuchs CS (2008) Folate and vitamin B₆ intake and risk of colon cancer in relation to p53 expression. *Gastroenterology* **135**, 770-780
- 14) Theodoratou E, Susan M, Farrington SM, Albert Tenesa A, McNeill G, Cetnarskyj R, Barnetson RA, Mary E, Porteous ME, Dunlop MG, Campbell H (2008) Dietary vitamin B₆ intake and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 171-182
- 15) Figueiredo JC, Levine AJ, Grau MV, Midttun O, Ueland PM, Ahnen DJ, Barry EL, Tsang S, Munroe D, Ali I, Haile RW, Sandler RS, Baron JA (2008) Vitamins B₂, B₆, and B₁₂ and risk of new colorectal adenomas in a randomized trial of aspirin use and folic acid supplementation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 2136-2145
- 16) Schernhammer ES, Giovannucci E, Fuchs CS, Ogino S (2008) A prospective study of dietary folate and vitamin B and colon cancer according to microsatellite instability and KRAS mutational status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 2895-2898
- 17) Weinstein SJ, Albanes D, Selhub J, Graubard B, Lim U, Taylor PR, Virtamo J, Stolzenberg-Solomon R (2008) One-carbon metabolism biomarkers and risk of colon and rectal cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 3233-3240
- 18) Hartman TJ, Woodson K, Stolzenberg-Solomon R, Virtamo J, Selhub J, Barrett MJ, Albanes D (2001) Association of the B-vitamins pyridoxal 5'-phosphate (B(6)), B(12), and folate with lung cancer risk in older men. *Am J Epidemiol* **153**, 688-694
- 19) Zhang SM, Willett WC, Selhub J, Hunter DJ, Giovannucci EL, Holmes MD, Colditz GA, Hankinson SE (2003) Plasma folate, vitamin B₆, vitamin B₁₂, homocysteine, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* **95**, 373-380
- 20) Lajous M, Lazcano-Ponce E, Hernandez-Avila M, Willett W, Romieu I (2006) Folate, vitamin B₆, and vitamin B₁₂ intake and the risk of breast cancer among Mexican women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**, 443-448
- 21) Weinstein SJ, Hartman TJ, Stolzenberg-Solomon R., Pietinen P, Barrett MJ, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2003) Null association between prostate cancer and serum folate, vitamin B(6), vitamin B(12), and homocysteine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **12**, 1271-1272
- 22) Weinstein SJ, Stolzenberg-Solomon R, Pietinen P, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2006) Dietary factors of one-carbon metabolism and prostate cancer risk. *Am J Clin Nutr* **84**, 929-935
- 23) Schernhammer E, Wolpin B, Rifai N, Cochrane B, Manson JA, Ma J, Giovannucci E, Thomson C, Stampfer MJ, Fuchs C (2007) Plasma folate, vitamin B₆, vitamin B₁₂, and homocysteine and pancreatic cancer risk in four large cohorts. *Cancer Res* **67**, 5553-5560
- 24) Zhang SM, Cook NR, Albert CM, Caziano JM, Buring JE, Manson JE (2008) Effect of combined folic acid, vitamin B₆, and vitamin B₁₂ on cancer risk in women. *JAMA* **300**, 2012-2021
- 25) Garcia-Closas R, Garcia-Closas M, Kogevinas M, Malats N, Silverman D, Serra C, Tardon A, Carrato A, Castano-Vinyals G, Dosemeci M, Moore L, Rothman N, Sinha R (2007) Food, nutrient and heterocyclic amine intake and the risk of bladder cancer. *Eur J Cancer* **43**, 1731-1740