

# 試験報告書

## 第一報

### 純パプラール水のヒトがん細胞増殖抑制効果に関する検討

(ヒト胃がん細胞・結腸がん細胞の増殖に対する純パプラール水の

抑制効果に関する多面的検討)

試験実施責任者

東海大学医学部基礎医学系・教授

北里大学・北里研究所病院臨床環境医学センター・センター長

坂 部 貢

sakabek@tokai-u.jp

sakabek@pharm.kitasato-u.ac.jp

報告書作成日：平成 27 年 5 月 1 日

## 【要約】

東洋厚生製薬所から供与を受けた純パプラール水の各種ヒトがん細胞の増殖抑制効果について検討した。実験 1. : ヒト胃がん細胞 (KATOIII) に対する増殖抑制効果を検討した。その結果、純パプラール水の培養液中濃度 0.1% において、対照群と比して増殖抑制傾向を示し、0.5% 以上で、強い抑制効果を認めた。また、細胞増殖シグナル活性に対する影響を評価するために、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (以下、MAP キナーゼ) 活性を評価した結果、濃度依存的に MAP キナーゼ活性を抑制した。実験 2. : ヒト結腸 (大腸) がん細胞 (SW1116) に対する増殖抑制効果を検討した。その結果、純パプラール水の培養液中濃度 0.1% において、対照群と比して増殖抑制傾向を示し、0.5% 以上で、強い抑制効果を認めたが、その効果は、培養液添加後 48 時間以上で有意に認められた。また、MAP キナーゼ活性を評価した結果、濃度依存的に MAP キナーゼ活性を抑制したが、KATOIII と比してその作用は弱かった。

本試験結果より、供与を受けた純パプラール水は、がん細胞抑制効果を有し、その作用は、MAP キナーゼ活性を制御する可能性が示唆された。今後はさらにその詳細な作用機構を検討する予定である。

## 【材料】

- 1) パプラール水 : 東洋厚生製薬所より供与を受けた。
- 2) 細胞名 : KATOIII 由来 : ヒト胃がん細胞 (鎖骨下リンパ節・腋窩リンパ節より樹立) 入手先 : ATCC
- 3) 細胞名 : SW1116 由来 : ヒト結腸 (大腸) がん細胞 (Duke's type A grade III より樹立) 入手先 : ATCC
- 4) 培養関係 : DMEM (12430 Gibco 社製)、FCS (AHM9479)
- 5) 細胞生存率評価系 : Cell Counting Kit (同仁化学)

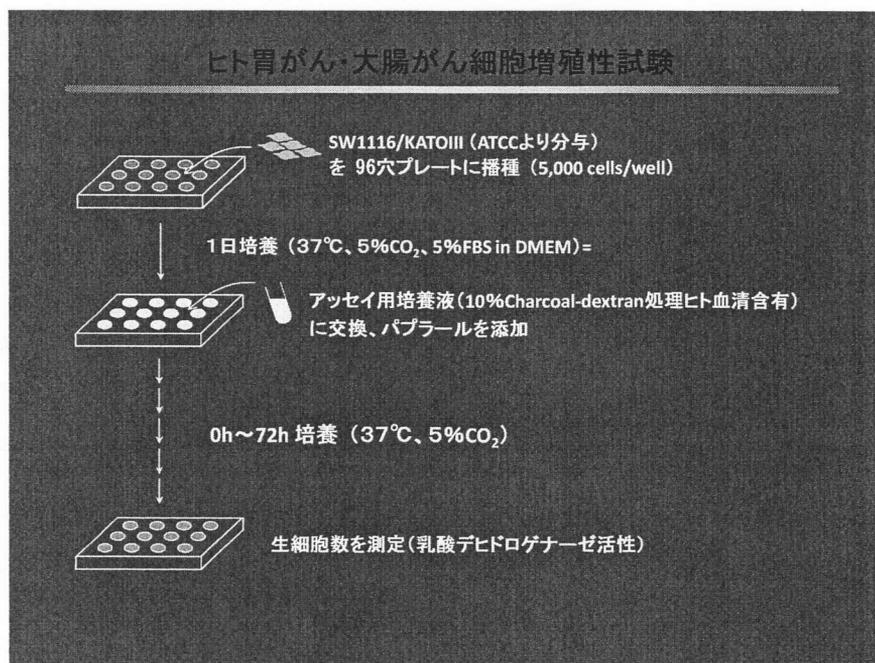
## 【方法】

### 実験 1. : ヒト胃がん細胞 (KATOIII) に対する増殖抑制効果の検討

- ・ 細胞数を  $5 \times 10^3$  個に調整し、96 穴プレートに播種、10% FCS 加 DMEM にて 24 時間培養、培養液中に純パプラール水をそれぞれ、0.1%、0.5%、1% の濃度になるように添加した。添加後 0h、24h、48h、72h 培養後に細胞数を計測した。
- ・ 72h 培養したものについては、常法通りに細胞抽出物の MAP キナーゼ発現量をウェスタン・ブロット法にて評価した。

## 実験 2. : ヒト結腸 (大腸) がん細胞 (SW1116) に対する増殖抑制効果の検討

- 細胞数を  $5 \times 10^3$  個に調整し、96 穴プレートに播種、10%FBS 加 DMEM にて 24 時間培養、培養液中に純パプラール水をそれぞれ、0.1%、0.5%、1%の濃度になるように添加した。添加後 0h、24h、48h、72h 培養後に細胞数を計測した。
- 72h 培養したものについては、常法通りに細胞抽出物の MAP キナーゼ発現量をウェスタン・ブロット法にて評価した。



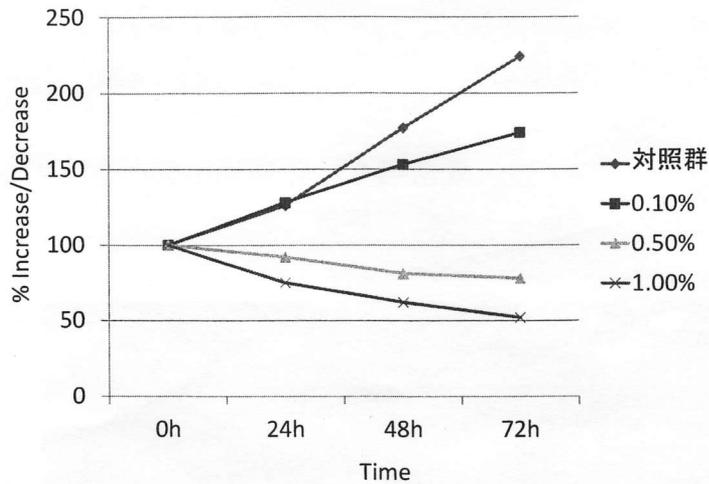
細胞増殖性試験手順

### 【結果】

#### 結果 1. ヒト胃がん細胞 (KATOIII) に対する増殖抑制効果の検討 (図-1)

各種濃度に調整 (0.1%~1%) したパプラール水は、いずれも対照群と比べて添加後 24h、48h、72h において、KATOIII の増殖を抑制した。またその強さは、濃度に依存していた。

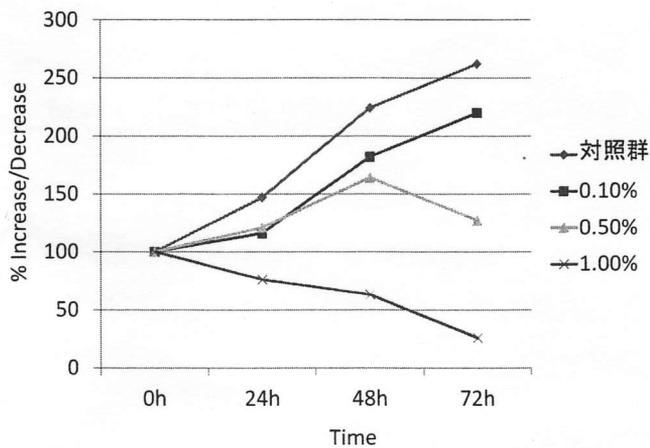
## KATO III に対する効果(図-1)



## 結果 2. ヒト結腸 (大腸) がん細胞 (SW1116) に対する増殖抑制効果の検討 (図-2)

各種濃度に調整 (0.1%~1%) したパプラー水は、いずれも対照群と比べて添加後 24h、48h、72h において、SW1116 の増殖を抑制した。またその強さは、濃度に依存していた。

## SW1116 に対する効果(図-2)

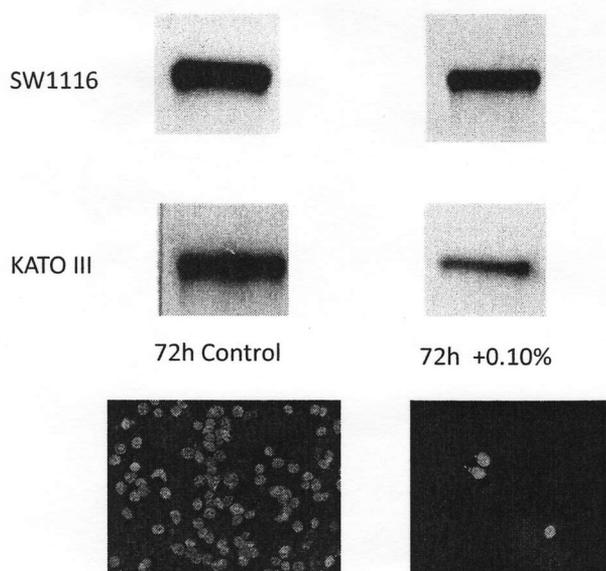


### 結果 3. MAP キナーゼ活性に及ぼす影響 (図-3)

各種濃度に調整 (0.1%~1%) したパプラール水は、いずれも対照群と比べて添加後 24h、48h、72h において、SW1116 及び KATOIII の MAP キナーゼ活性を抑制した。図-3 では、0.1%・72h 後を代表例として提示した。

SW1116、KATOIII いずれにおいても MAP キナーゼの発現量は、対照群と比して減少した。またその抑制作用は、KATOIII において顕著であった。

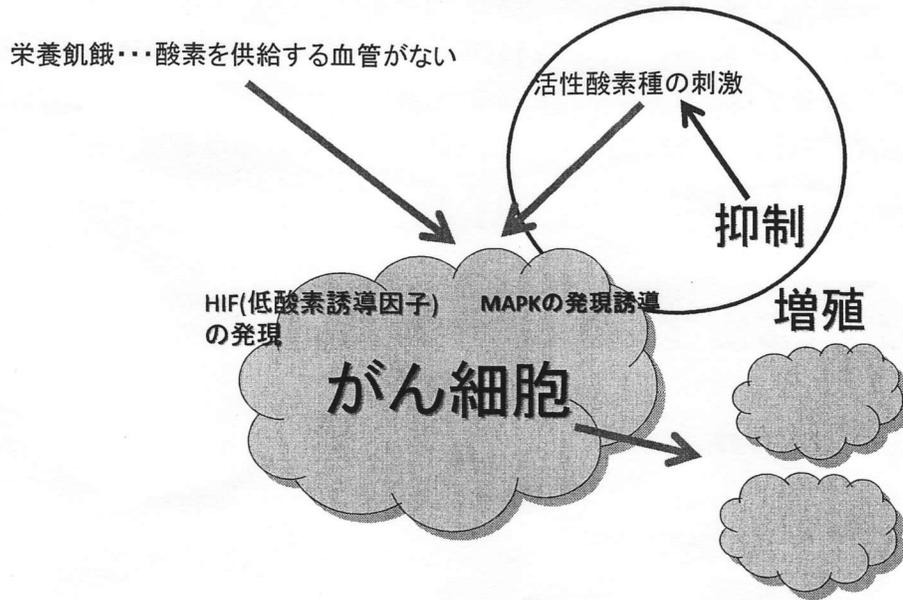
#### MAPキナーゼ活性: 細胞増殖シグナル活性(図-3)



#### 【まとめ】

本試験結果より、東洋厚生製薬所から供与を受けた純パプラールは、がん細胞の増殖に対して抑制作用を有することが確認された。その抑制作用は、活性酸素種的作用を、強い還元反応により抑制することで、活性酸素種により誘導される MAP キナーゼの発現・活性を間接的に制御する可能性が示唆された (図-4)。また、0.1%~1%の濃度でその作用は完全ではないものの、濃度依存的であった。 今後はさらにその詳細な作用機構を検討する予定である。

## 示唆されるパプラール®の作用機構



試験実施・責任者

坂 部 貢