

ビタミン B₆ 研究の新展開：抗腫瘍作用と血管新生抑制作用

松原 主典^{*1}、小松 俊一朗²、加藤 範久³

(2002年2月27日受付；2002年6月13日受理)

要旨：ビタミン B₆ を大量に投与するとがんの増殖や転移が抑制されると考えられていた。しかしながら最近、実際の食生活に近い適量のビタミン B₆ を食餌に加えると大腸腫瘍の発現が抑制されることがマウスを使った実験によって明らかになった。その作用は、大腸の細胞増殖や酸化ストレス、一酸化窒素 (NO) 産生の抑制によるものであることが示唆された。さらに、ビタミン B₆ には、がんの成長や転移に重要な役割を果たす血管新生を抑制する作用があることも明らかになった。これらの結果は、ビタミン B₆ が大腸がん予防に有効な栄養素であることを示唆するものとして注目される。

キーワード：ビタミン B₆、大腸がん、細胞増殖、酸化ストレス、血管新生

わが国において以前は塩分の多い日本型食事では胃がんの発症率が高かったが、近年減塩型食生活への指導や食生活の変化に伴いその発症率は減少傾向にある。一方、高脂肪、低食物繊維食という食生活の欧米化により大腸がんが急速に増加しつつある。その大腸がんの予防成分として食物繊維が注目されたのは、英国の Burkitt による疫学調査結果が 1971 年に発表されてからである。その後は、食物繊維が大腸がん抑制食品成分として有効であると長い間受け入れられてきた。しかしながら、最近食物繊維を多く摂取しても大腸がんの再発予防に効果がないという、食物繊維の大腸がん抑制効果について否定的な論文が相次いで報告された¹⁻³⁾。それでは、一体何が腸がんを抑制しているのでしょうか？ 現実に、大腸がんの少ない地域では、確かに食物繊維を多く摂取していることには間違いはないのであるが…。この疑問に関連して最近、Slattery らが興味ある疫学的調査結果を発表した⁴⁾。その論文の中で、彼らはビタミン B₆ (B₆) や食物繊維の摂取と大腸がんの発症との間に逆相関の関係があることを報告している。彼らの報告で注目すべき点は、B₆ 摂取と大腸がんの間の逆相関が食物繊維の摂取と大腸がんの間の逆相関よりも高いという結果である。そこで、我々が着目したのが、B₆ である。B₆ は穀物や豆類に多く、それらの食品は一般に食物繊維に富んでいる。つまり、食物繊維に富む食品を多く摂取することは、B₆ を多く摂取することになる。摂取した B₆ に大腸がん抑制作用があれば、見かけ上、食物繊維を多く摂取すれば大腸がんが抑制されると考えても不思議で

はない。こうして、我々は B₆ 摂取により大腸腫瘍の発現が抑制されるのではないかと作業仮説を設け、アゾキシメタン誘発大腸がんモデルマウスを用いて検討をはじめた。その結果、B₆ 摂取による大腸腫瘍の発現の顕著な抑制作用が実験的に明らかとなった¹⁵⁾。また、B₆ の大腸腫瘍抑制作用に細胞増殖や酸化ストレス、血管新生の抑制⁶⁾が関与していることも推定された。本稿では、B₆ の抗腫瘍作用に関する最近の動向について紹介する。

1. ビタミン B₆ による大腸がん抑制

小松らは、マウスに低 B₆ 食 (1 mg ピリドキシン塩酸塩/kg 食餌) を与えた群と B₆ を加えた餌 (7-35 mg ピリドキシン塩酸塩/kg 食餌) を与えた群を設け、アゾキシメタン投与による大腸腫瘍の誘発実験を行った⁵⁾。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 AIN-93 の推奨量であり、ヒトの摂取量もこの濃度に近いレベル (3-5 mg/kg) である。添加された B₆ の量は、非現実的な量ではなく、十分に日常生活で摂取可能な量であり、Slattery *et al.*⁴⁾ の疫学的調査結果とも一致した。以前は培養細胞を用いた実験から B₆ を大量に投与してはじめてがんやがんの転移が抑制されると考えられていたが⁸⁻¹⁰⁾、我々の実験結果は B₆ の現実的な摂取量で抗腫瘍作用を示すもので、栄養学的に意義深いものである。

* 連絡者・別刷請求先

¹ 岡山県立大学保健福祉学部栄養学科 (719-1197 岡山県総社市窪木 111)

² 中外製薬株式会社安全性研究所 (412-8513 静岡県御殿場市駒門 1-135)

³ 広島大学大学院生物圏科学研究科 (739-8528 広島県東広島市鏡山 1-4-4)

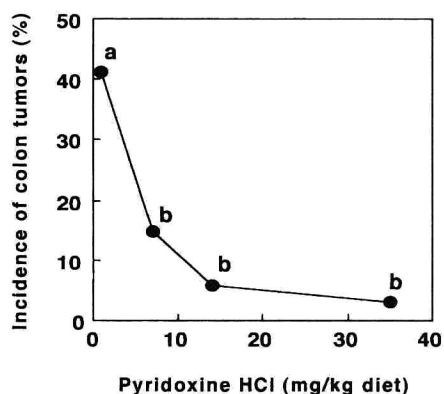


図1 アゾキシメタン誘発マウス大腸腫瘍の発現に対する食餌ビタミンB₆の抑制効果

異なる量のビタミンB₆ (1-35 mg ピリドキシン塩酸塩/kg 食餌) の実験食をマウスに与え、アゾキシメタン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 ピリドキシン塩酸塩/kg 食餌) に対し、ビタミンB₆ 添加食群 (7-35 mg ピリドキシン塩酸塩/kg 食餌) では有意に大腸腫瘍の発現が低下していた ($p<0.05$)⁵⁾。

次に、当然、何故B₆の摂取が大腸腫瘍を抑制するのかという疑問に答える必要がある。がん化した細胞は無限に細胞増殖し、ヒトを死にいたらしめる。そこで、まず小松らは、B₆の細胞増殖抑制作用について、投与した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*c-myc*と*c-fos*について免疫組織化学的手法により検討した⁵⁾。その結果、高B₆摂取群では、BrdUの取り込みや*c-myc*と*c-fos*のタンパク質の発現が低下していた。さらに、小松らは⁶⁾、細胞のがん化要因である酸化ストレスに対するB₆の予防効果も関与しているのではないかと考え、生体内の酸化指標である8-ヒドロキシグアノシン (8-OHdG)、4-ヒドロキシノネナール (4-HNE)、そして誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) のタンパク質発現についても検討した。8-OHdGはDNAが、4-HNEは ω -6系多価不飽和脂肪酸が、それぞれ酸化障害を受けると生じ、酸化ストレスの指標として広く利用されている。また、iNOSも細胞が酸化ストレス状態に置かれると誘導されることが知られており、しかもNOの過剰産生が発がんを促進するという報告も増えている¹¹⁾。本実験の結果、B₆摂取の多い群では、これらの酸化ストレスに関連する指標が全て有意に低下していた。B₆の抗酸化作用はごく最近報告されたばかりであり¹²⁾¹³⁾、今回の実験でも、体内において抗酸化作用があることが*in vivo*で示されたことになる。

2. ビタミンB₆の血管新生抑制作用

現在、がんに対する治療方法は急速に発展し、多くのがんは以前に比べ治療可能なものとなった。しかし、依

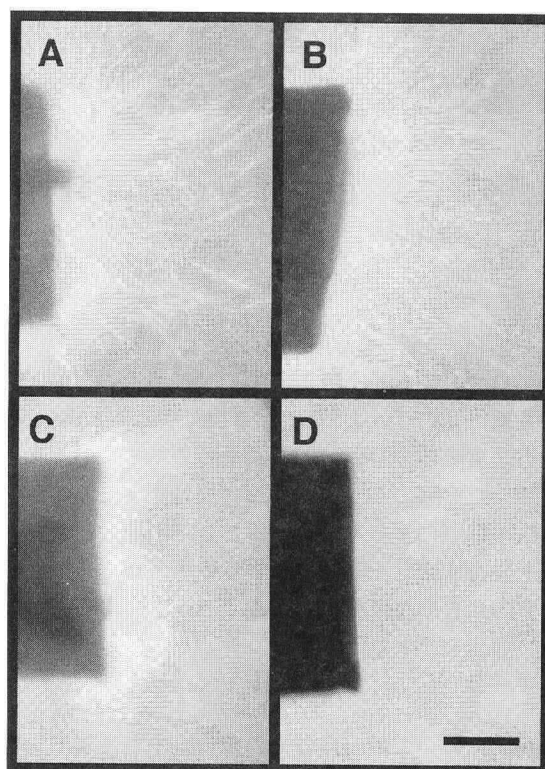


図2 ピリドキサル5'-リン酸 (PLP) の血管新生抑制効果

ラット動脈片をコラーゲンゲル中で7日間培養した。コントロール (A) に対し、PLP存在下 (B, 50 μ M; C, 500 μ M; D, 5 mM) では微小血管の成長が濃度依存的に抑制された⁷⁾。

然としてがんが恐れられているのは、現在の医療技術では治療が困難なものが存在するからである。その一つが、固形がんである。それらの多くは、抗がん剤に対して耐性を持ち、他の臓器へ転移する等、治療を困難にしている。そこで、これらのがんに対する治療方法の一つとして注目されているのが、血管新生の抑制である。がんは急速に成長するために、大量の栄養素を必要とする。そこで、がんは自己組織の周りに新たに血管を作り (血管新生)、栄養を得る。このがんによる血管新生を阻害すれば、がんは成長できずに休眠状態になる。また、がん組織の周りの血管数が減少することは、がんの転移抑制にも繋がる。この血管新生抑制方法は、1994年にハーバード大学のFolkmanのグループが血栓溶解酵素であるプラスミンの前駆体プラスミノゲンのフラグメント (アンジオスタチン) に血管新生抑制作用があることを発表し¹⁴⁾、その有効性を示して以来急速に高い関心が持たれるようになった。

B₆の大腸腫瘍の抑制作用が明らかになり、その機構として細胞増殖抑制や酸化ストレスの抑制などによるものであることは既に述べた。これらの機構に加え、血管新生抑制もB₆の大腸腫瘍抑制作用に関与しているのか明らかにする必要がある。そこで、松原らは、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⁷⁾。その結果、B₆ には血管新生抑制作用があることが明らかになった (図 2)⁷⁾。さらに、詳細に検討したところ、ピリドキサル 5'-リン酸とピリドキサルに強い血管新生抑制作用があることを明らかにした。現在、その作用機構についてヒト血管内皮細胞を用いて詳細に検討中であり、血管新生抑制作用は血管内皮細胞の増殖抑制によるものであることを明らかにしている (平成 14 年 7 月、日本栄養・食糧学会発表)。最近、イソフラボノイドやカテキン、ビタミン D₃ などに血管新生抑制作用が報告され¹⁵⁻¹⁷⁾、注目されているが、ここで新たに B₆ もこのリストに加わることになった。

3. 終わりに

Slattery *et al.* の報告⁴⁾ に続いて、最近、B₆ の摂取と大腸がん発症率との間に負の相関があることがヨーロッパ 7 ヵ国における大規模な疫学的調査により確認された¹⁸⁾。また、我々が行った一連の研究で、B₆ の摂取が大腸がんの予防に繋がる可能性が実験的に明らかになった。これらの研究成果は、食品中の発がん予防因子を新たに特定したという点で、重要な意味を持つ。

さらに、B₆ が他のがんにおいても有効である可能性を示すデータが発表されつつある。最近、肺がん患者では血中の B₆ 濃度が正常者に比べ低いという疫学データも発表された¹⁹⁾。肺がんはたばこや大気汚染などにより増加傾向にあり、今後その予防はますます重要になる。その際に、B₆ が果たす役割は大きいかも知れない。さらにごく最近、B₆ 摂取が DMBA (7,12-Dimethylbenz[a]anthracene) 誘発ラット乳がんの発現を抑制することが鹿児島大の岡らによって発表された (平成 14 年 2 月ビタミン B 研究協議会発表)。今後は、B₆ の抗腫瘍作用の機構を分子・細胞レベルで詳細に研究すると共に、疫学的調査や各種腫瘍を発現するモデル動物を用いて、B₆ が有効ながんを特定することが必要である。近年、B₆ には抗腫瘍作用以外に抗動脈硬化作用²⁰⁾ やグリケーション阻害作用²¹⁾ も報告されており、従来の補酵素としての作用に加え、生活習慣病予防作用という B₆ 研究の新時代が到来したといえる。

最後に、当然であるが、B₆ を毎日摂取すれば、脂質の多い食事を続けても大腸がんにならないといっているわけではないし、遺伝的リスクの高い人についてはその有効性は不明である。しかし、一般には、脂質をなるべく控え、B₆ を含む食物繊維の多い食品 (一般に B₆ も多い) を十分に摂ることが、大腸がんのリスクを低下させると考えても良いことが一連の研究から判断できる。

文 献

- 1) Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer F, Willett WC (1999) Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women. *N Engl J Med* **340** : 169-76.
- 2) Schatzkin A, Lanza E, Corle D, Lance P, Iber F, Caan B, Shike M, Weissfeld J, Burt R, Cooper MR, Kikendall W, Cahill J, the polyp prevention trial study group (2000) Lack of effect of a low-fat, high-fiber diet on the recurrence of colorectal adenomas. *N Engl J Med* **342** : 1149-55.
- 3) Albert DS, Martinez ME, Roe DJ, Guillen-Rodriguez MG, Marshall JR, van Leeuwen JB, Reid ME, Ritenbaugh C, Vargas PA, Bhattacharyya AB, Earinest D, Sampliner RE, the phoenix colon cancer prevention physicians network (2000) Lack of effect of high-fiber cereal supplement on the recurrence of colorectal adenomas. *N Engl J Med* **342** : 1156-62.
- 4) Slattery ML, Potter JD, Coates A, Ma KN, Berry TD, Ducan DM, Caan DJ (1997) Plant foods and colon cancer: An assessment of specific foods and their related nutrients (United States). *Cancer Causes Control* **8** : 575-90.
- 5) 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 suppress azoxymethane-induced colon tumorigenesis in mice by reducing cell proliferation. *J Nutr* **131** : 2204-7.
- 6) Komatsu S, Watanabe H, Oka T, Tsuge H, Kato N (2002) Dietary vitamin B₆ suppresses colon tumorigenesis, 8-hydroxyguanosin, 4-hydroxynonenal and inducible nitric oxide synthase protein in azoxymethane-treated mice. *J Nutr Sci Vitaminol* **48** : 65-8.
- 7) Matsubara K, Mori M, Matsuura Y, Kato N (2001) Pyridoxal 5'-phosphate and pyridoxal inhibit angiogenesis in the serum-free rat aortic ring assay. *Int J Mol Med* **8** : 505-8.
- 8) DiSorbo DM, Litwack G (1982) Vitamin B₆ kills hepatoma cells in culture. *Nutr Cancer* **3** : 216-22.
- 9) Disorbo DM, Nathanson L (1983) High-dose pyridoxal supplemented culture medium inhibits the growth of a human malignant melanoma cell line. *Nutr Cancer* **5** : 10-5.
- 10) Disorbo DM, Wagner R, Jr, Nathanson L (1985) *In vivo* and *in vitro* inhibition of B16 melanoma growth by vitamin B₆. *Nutr Cancer* **7** : 43-52.
- 11) 加藤範久, 万 光華 (2000) 一酸化窒素による発がんの増大と脂肪. *ビタミン* **74**, 15-6.
- 12) Ehrenschaft M, Bilski P, Li MY, Chignell CF, Daub ME (1999) A highly conserved sequence is a novel gene involved in *de novo* vitamin B₆ biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **96** : 9374-8.
- 13) Jain SK, Lim G (2001) Pyridoxine and pyridoxamine inhibits superoxide radicals and prevents lipid peroxidation, protein glycosylation, and (Na⁺+K⁺)-ATPase activity reduction in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Rad*

1) Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer F, Willett

- Biol Med* **30** : 232-7.
- 14) O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, Chen C, Rosenthal RA, Moses M, Lane W, Cao Y, Sage EH, Folkman J (1994) Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* **79** : 315-28.
 - 15) Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L (1993) Genistein, a dietary-derived inhibitor of *in vitro* angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **90** : 2690-4.
 - 16) Cao Y, Cao R (1999) Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature* **398** : 381.
 - 17) Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE (2000) $1\alpha, 25$ -Dihydroxyvitamin D_3 inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res* **87** : 214-20.
 - 18) Jansen MC, Bueno-de-Mesquita HB, Buzina R, Fidanza F, Menotti A, Blackburn H, Nissinen AM, Kok FJ, Kromhout D (1999) Dietary fiber and plant foods in relation to colorectal cancer mortality: The seven countries study. *Int J Cancer* **81** : 174-9.
 - 19) 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** : 688-93.
 - 20) Cattaneo M (2001) Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Lipids* **36** : Suppl S13-26.
 - 21) Onorato JM, Jenkins AJ, Thorpe SR, Baynes JW (2000) Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, also inhibits advanced lipoxidation reactions. Mechanism of action of pyridoxamine. *J Biol Chem* **275** : 21177-84.

J Jpn Soc Nutr Food Sci **55** : 287-290 (2002)

Recent Development in Vitamin B_6 Research: Anti-tumorigenic and Anti-angiogenic Effects

Kiminori Matsubara,^{*1} Shun-ichiro Komatsu,² and Norihisa Kato³

(Received February 27, 2002; Accepted June 13, 2002)

Summary : It has been considered that supraphysiological doses of vitamin B_6 suppress tumor growth and metastasis in rodents. However, our recent studies have demonstrated that azoxymethane-induced colon tumorigenesis in mice is markedly suppressed by moderate doses of dietary vitamin B_6 similar to the dietary level for humans. The anti-tumorigenic effect of vitamin B_6 appears to be mediated by suppressing cell proliferation, oxidative stress and nitric oxide (NO) synthesis in the colon. Furthermore, we have found that vitamin B_6 inhibits angiogenesis, which plays an important role in tumor growth and metastasis. Taken together, vitamin B_6 would be an attractive nutrient to prevent the development of colon cancer.

Key words : vitamin B_6 , colon cancer, cell proliferation, oxidative stress, angiogenesis

* Corresponding author

¹ Department of Nutritional Science, Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University, 111 Kuboki, Soja, Okayama 719-1197, Japan

² Safety Assessment Laboratory, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., 1-135 Komakado, Gotemba, Shizuoka, 412-8513, Japan

³ Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University, 1-4-4 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan