

# *Uncaria tomentosa* (キャッツクロー) の抗腫瘍効果 メカニズムに関する研究

山下 剛範<sup>1)</sup>, 具 然和<sup>2)</sup>

1) 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部

2) 純真学園大学 保健医療学部

原著論文

# Uncaria tomentosa (キョウツクロー) の抗腫瘍効果 メカニズムに関する研究

山下 剛範<sup>1)</sup>, 具 然和<sup>2)</sup>

1) 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部

2) 純真学園大学 保健医療学部

キーワード: *Uncaria tomentosa*, 抗腫瘍効果, 7, 12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA),  
12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), Malondialdehyde (MDA)

## 要 旨

我々は、放射線、化学物質およびウイルスのような環境中の様々な発がん性物質に曝露されている。DMBA などの多環芳香族炭化水素は、環境汚染物質としてよく知られているが、それはまたヒトとマウスにおいて突然変異の源となることや発がん性物質であることが認められている。

本研究では、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルマウスを用いて、*Uncaria tomentosa* の抗腫瘍効果を検討した。*Uncaria tomentosa* は、我々も以前その抗リウマチ効果を報告したように、関節炎治療やがん治療のために南アメリカの民間療法で使用されているアカネ科の植物である。さらに抗腫瘍効果のメカニズム解明のために、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルにおける皮膚組織中の MDA レベルおよび TPA 誘発性耳介浮腫モデルによる抗炎症効果を検討した。

その結果 *Uncaria tomentosa* は、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルと TPA 誘発性耳介浮腫を抑制した。この抑制効果は、MDA レベルの抑制と関連していた。本研究により、*Uncaria tomentosa* は良好な抗酸化効果と抗炎症効果を有し、そのことが *in vivo* での強力な抗腫瘍効果につながることを示唆された。

## 背景

高齢化に伴い、がん罹患者数が増加している。がん治療法は、手術療法・化学療法・放射線療法の3種類が主に用いられている。この中の化学療法で用いられる薬として知られている抗がん剤は、非常に有効であるが使用期間により副作用のリスクも増大するため、使用方法に注意が必要である。天然物質から新しく有望な薬を発見し開発する努力がなされている。我々の研究室は、天然物質の有効性と毒性について生化学的に探索してきた<sup>1)</sup>。今回、がんの発生を抑制する抗腫瘍効果を有する天然物質として、*Uncaria tomentosa* に着目した。*Uncaria tomentosa* は4種類の毒性試験の結果、毒性を示さないことが報告されており<sup>2)</sup>、がんや関節炎治療として南アメリカの民間療法で、せんじ薬として使用されるアカネ科の植物である<sup>3)</sup>。猫の爪のような特徴的な形状をした棘を有しているため、キャッツクローの名で知られている (Figure 1)。

抗腫瘍効果を検討するうえで、発がん要因と過程を無視することはできない。第1の発がん要因には、活性酸素や炎症の影響が知られている。生体内の脂質やDNAは特に活性酸素の影響を受けやすい。そのため、活性酸素や過酸化脂質は抗腫瘍効果の検討に用いられることが多い。また悪性度の低い炎症は、がん、肥満および骨粗鬆症を含む様々な疾患の誘発に関係する重要な因子であることが広く知られている。

第2の発がん過程には、3段階あることが知られている。イニシエーション期、プロモーション期およびプログレッション期である。発がん要因である活性酸素は、その最初の2段階にあたるイニシエーション期とプロモーション期に関与するとされている。

そこで我々は、これら2段階を含む7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA) / 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 誘発性2段階皮膚発がんモデルを用いた。このモデルでは、DMBAの塗布によりイニシエーションを誘発する。その後TPAを継続的に塗布することによりプロモーション期を誘発し腫瘍を形成させる方法である。

*Uncaria tomentosa* による治療は経口投与が一般的であ

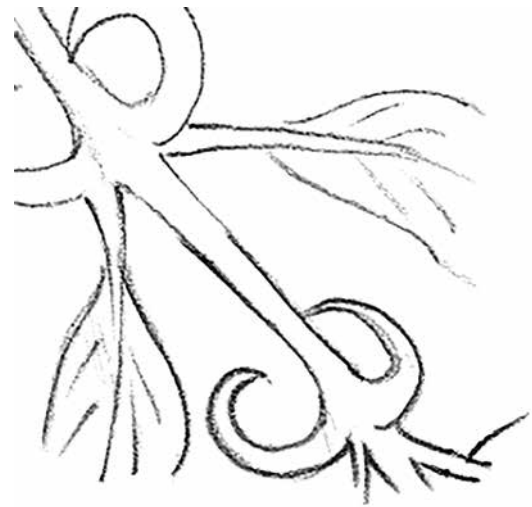


Figure 1

*Uncaria tomentosa* は葉に小さい曲がったとげがあるため、キャッツクローとして知られている。

り、局部塗布による腫瘍や浮腫の抑制効果を検討した報告はない。しかし、天然物質による抗腫瘍や抗炎症効果では局部塗布による効果を示す報告が多い。そこで本研究では、*Uncaria tomentosa* の局部塗布による検討を行うこととした。塗布時期を変更することでイニシエーション期、プロモーション期またはその両時期に抗腫瘍効果をもたらすか検討した。

また抗腫瘍メカニズムを解明するため、抗酸化効果と抗炎症効果について検討することとした。第1に抗酸化効果について、DMBA/TPA 誘発性2段階皮膚発がん試験マウス皮膚組織中の malondialdehyde (MDA) レベル(過酸化脂質濃度)を検討した。第2に抗炎症効果について、TPA 誘発性耳介浮腫試験にて検討した。

以上の検討により、局部塗布による *Uncaria tomentosa* の抗腫瘍効果の有無と抗酸化効果ならびに抗炎症効果の関係を明らかにすることを目的とした。

## 使用機器および方法

### 試薬

7, 12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA), 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA),

Malondialdehyde (MDA) は東京化成工業株式会社より購入した。その他の試薬、溶媒はすべて一級のグレードを用いた。

## 研究試料

### *Uncaria tomentosa*

南米に自生する天然の *Uncaria tomentosa* から樹皮とつる部分を使用した。水とアルコールにより抽出・濃縮した液状の抽出物を乾燥させて得られた粉末試料を、南米薬用植物研究会より入手した。

## 実験動物

動物実験方法は、鈴鹿医療科学大学の動物実験倫理委員会によって承認されている（承認番号 203）。雄性 ICR マウス（5 週齢）は日本エスエルシー株式会社から購入し、本学動物室にて 1 週間馴化させたのち無作為に振り分け研究に用いた。飼料と水は自由に摂取させ、室温は  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  に設定し、明期 12 時間、暗期 12 時間サイクルとした。

## DMBA/TPA 誘発性 2 段階発がん試験

馴化後のマウスを 1 群 10 匹に無作為に振り分け研究に用いた。発がん処理として全てのマウスの背部を剃毛し、2 日後にイニシエーターとしてアセトンに溶解した 200nmol DMBA 0.2ml を全てのマウス背部に 1 回塗布した。DMBA 塗布 1 週間後から、プロモーターとしてアセトンに溶解した 10nmol TPA を週 2 回 0.2ml ずつ計 23 週間全てのマウス背部に塗布し腫瘍を誘発した。発がん処理のみの群を Group A, DMBA 塗布後 TPA を塗布する前に *Uncaria tomentosa* を毎回塗布したものを Group B, DMBA 塗布前および TPA を塗布する前に毎回 *Uncaria tomentosa* を塗布したものを Group C とした。

*Uncaria tomentosa* はアセトンと蒸留水の混合液に溶解し 0.2ml (15mg/mouse) とした。マウス背部への塗布は DMBA と TPA またはその片方を塗布する 15 分前に行っ

た。腫瘍発生数は個々のマウスごとに TPA 処置後、毎週肉眼的に観察した。

## 組織の MDA レベル

DMBA / TPA 誘発性 2 段階皮膚発がん試験終了日に、背部皮膚を一部採取し、採取重量の 9 倍の冷 KCl (1.15%) 溶液 (10% w/v) を加えた。テフロンホモジナイザーで皮膚組織をホジネートし、ホモジネートの 0.5ml を取り試験管に入れた。3.0ml の 1%リン酸を加え、1.0ml の TBA 試薬を加え混合し、沸騰水浴中で 45 分過熱後、冷却水槽に入れ速やかに室温まで冷却した。試験管から試薬を 2.0ml とり、4.0ml の n-ブタノールを加え、振盪抽出した。遠心分離 (3000rpm, 10 分間) 後、ブタノール層を取り、吸光度を測定した。吸光度は 535nm と 520nm の 2 か所で測定し、その差 ( $A_{535-520}=f$ ) を求めた。

次に MDA を 110mg 正確に秤量し、全量をメスフラスコに移して 50ml のメタノール溶液とした。そこから 0.1ml を正確に取り、メスフラスコで 100ml のメタノール液とした (標準液)。標準液を 0.5ml 取り試験管に入れ、3.0ml の 1%リン酸を加え、1.0ml の TBA 試薬を加え混合した。沸騰水浴中で 45 分過熱後、冷却水槽に入れ速やかに室温まで冷却した。試験管から試薬を 2.0ml とり、4.0ml の n-ブタノールを加え、振盪抽出した。遠心分離 (3000rpm, 10 分間) 後、ブタノール層を取り、吸光度測定を行った。吸光度は 535nm と 520nm の 2 か所で測定し、その差 ( $A_{535-520}=F$ ) を求めた。

MDA レベルは次式で計算した。

$$\text{MDA レベル (n mol / ml, protein)} = f / F \times 10$$

## TPA 誘発性耳介浮腫試験

馴化後のマウスを 1 群 6 匹に無作為に振り分け、浮腫誘発前の耳介皮膚の厚みを測定した。炎症処理として 50 $\mu\text{g/ml}$  の TPA アセトン溶液 20 $\mu\text{l}$  (1.0 $\mu\text{g/ear}$ ) を耳介の内側および外側に、それぞれ 10 $\mu\text{l}$  ずつ耳介皮膚全体に塗布した。炎症処理のみの群を TPA control 群、*Uncaria tomentosa* 塗布 30 分後に、炎症処理をした群を UT 群と

した。UT 群は 1.5mg の *Uncaria tomentosa* を 20 $\mu$ l のアセトンに溶解した *Uncaria tomentosa* アセトン溶液 20 $\mu$ l (1.5mg/ear) を耳介の内側および外側に、それぞれ 10 $\mu$ l ずつ耳介皮膚全体に塗布した。TPA を塗布してから 4 時間, 5 時間, 6 時間, 7 時間, 8 時間後にダイヤルシックスネスゲージ (Mitutoyo) を用いて耳介の厚みを測定した。

## 統計処理

データは平均値±標準誤差で示した。腫瘍発生数については、連続変数ではなく正規分布に従わないためノンパラメトリックな多重比較検定である Mann-Whitney U 検定を用いた。組織の MDA レベルおよび TPA 誘発性耳介浮腫試験については、連続変数であり正規分布に従うためパラメトリックな検定を行った。2 群間の平均値比較検定には T-検定を用いた。3 群間の比較検定には分散分析 (ANOVA) を用い有意差がある場合には、post-hoc 検定で比較した。どの検定も動物実験においてよく利用される方法である。個々のマウス対象群に対して 5% 以下の危険率で有意になった場合を有効とした。

## 結果

### DMBA/TPA 誘発性 2 段階発がん試験

局部塗布による *Uncaria tomentosa* の抗腫瘍効果を検討するため、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルを用いた。DMBA は、ヒトおよびげっ歯類において突然変異の源となることや発がん性物質であることが認められている<sup>4)</sup>。本法は、アロエベラエキスなどの皮膚発がんに対する天然薬の防護効果を評価するために十分確立したモデルとして知られている<sup>5)</sup>。図に DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルによる腫瘍発生数の経時変化を示す (Figure 2)。処置 11 週から腫瘍発生が認められる。処置 16 週より Group A に比較し、Group C は腫瘍発生数を有意に抑制していた。Group B に比較し Group C の抑制が強く、イニシエーション期とプロモ-

ーション期の両時期に *Uncaria tomentosa* を塗布することで、より高い効果が得られた。この結果は、*Uncaria tomentosa* が DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルにおける腫瘍発生を強く抑制することを示している。

### 組織の MDA レベル

*Uncaria tomentosa* の DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がん抑制効果が得られたことから、その抗腫瘍メカニズムを検討するため、発がん誘発 23 週のマウス背部皮膚を一部採取し検討に用いた。本法は、メシマコブなど天然薬の抗酸化効果を評価するために十分確立したモデルとして知られている<sup>6)</sup>。図に発がん誘発後の皮膚 MDA レベルを示す (Figure 3)。Group A に比較し、Group C は MDA レベルを有意に抑制していた。また MDA レベルと腫瘍発生の抑制は関連していた。この結果は、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がん発生の抑制に、*Uncaria tomentosa* の抗酸化効果が強く関与したことを示している。

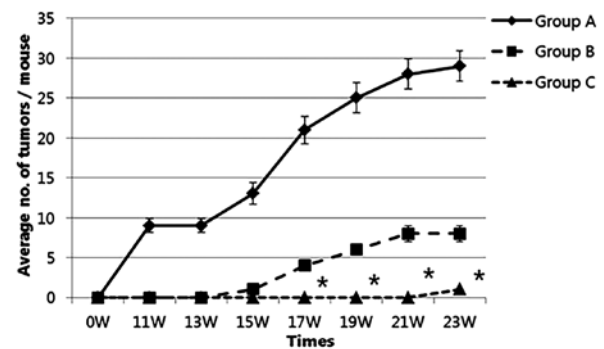


Figure 2

DMBA/TPA 処置は、マウスの皮膚発がんを誘発する。皮膚発がんは、*Uncaria tomentosa* により処理する。雄性 ICR マウス背部の皮膚発がんは、1 回の 0.2ml のアセトンに溶解した 200nmol DMBA の塗布に続いて 23 週間の 0.2ml のアセトンに溶解した 10nmol TPA の週 2 回の塗布により誘導する。Group A: マウスは DMBA および TPA 塗布の 15 分前にアセトンの局所塗布で処理する。Group B: マウスは、DMBA を塗布し TPA 塗布の 15 分前にアセトン 200 $\mu$ L に溶解した 15mg のキャッツクローで処理する。Group C: マウスは、DMBA および TPA 塗布の 15 分前にアセトン 200 $\mu$ L に溶解した 15mg のキャッツクローで処理する。データは、平均値±SEM ( $n=10$ ) として示す。Group C は、Group A よりも皮膚発がん発生数を抑制する (\* $p<0.05$ )。

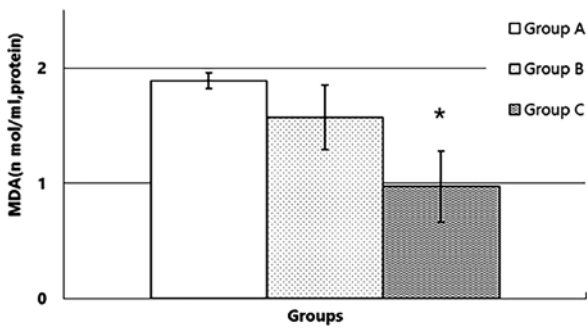


Figure 3

DMBA/TPA 処置は、マウスに皮膚の炎症を誘発する。MDA のレベルは、*Uncaria tomentosa* により処理する。Group A：マウスは DMBA および TPA 塗布の 15 分前にアセトンの局所塗布で処理する。Group B：マウスは、DMBA を塗布し TPA 塗布の 15 分前にアセトン 200 $\mu$ L に溶解した 15mg のキョウツクローで処理する。Group C：マウスは、DMBA および TPA 塗布の 15 分前にアセトン 200 $\mu$ L に溶解した 15mg のキョウツクローで処理する。データは、平均値  $\pm$  SEM ( $n=10$ ) として示す。Group C は、Group A よりも MDA のレベルを抑制する (\* $p<0.05$ )。

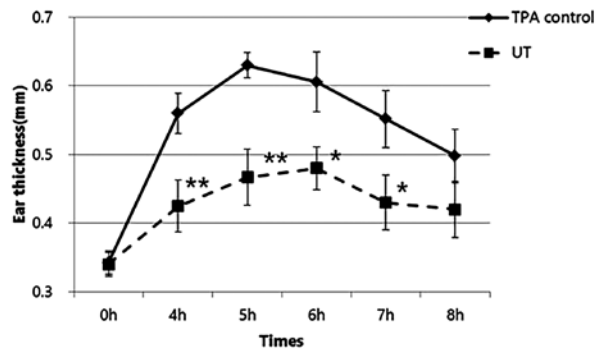


Figure 4

TPA 処置は、マウスに皮膚の炎症を誘発する。マウスの耳浮腫は、*Uncaria tomentosa* により処理する。雄性 ICR マウスの耳浮腫は、右耳の内部および外部表面にアセトンの 20 $\mu$ L に溶解した 1.0 $\mu$ g の TPA の塗布により誘導する。TPA control：マウスは TPA 塗布の 30 分前にアセトン 20 $\mu$ L の局所塗布で処理する。UT：マウスは TPA 塗布の 30 分前にアセトン 20 $\mu$ L に溶解した 1.5mg の *Uncaria tomentosa* の局所塗布で処理する。データは、平均値  $\pm$  SEM ( $n=6$ ) として示す。UT は、TPA control よりも TPA によるマウスの耳浮腫を抑制する (\* $p<0.05$  and \*\* $p<0.01$ )。

### TPA 誘発性耳介浮腫試験

*Uncaria tomentosa* の *in vivo* での抗炎症効果を検討するため、TPA 誘発性耳介浮腫モデルマウスを用いた。本方法は、イタドリエキスなどの皮膚炎症に対する天然薬の防護効果の評価するために十分確立したモデルとして知られている<sup>7)</sup>。図に TPA 処置後の耳介肥厚の経時的変化を示す (Figure 4)。処置 4 時間から 7 時間まで TPA control 群に比較し、UT 群は肥厚の増加を有意に抑え最大で 74% に抑制した。この結果は、*Uncaria tomentosa* が TPA 誘発性耳介浮腫を強く抑制することを示している。

### 考 察

*Uncaria tomentosa* の研究は、我々が過去に報告したように強力な抗酸化効果と抗炎症効果に関して多く報告されている<sup>8)</sup>。その抗腫瘍効果にも多くの注目が集まっており、*in vivo* および *in vitro* で多くの報告がされている<sup>9)</sup>。*in vivo* において抗腫瘍薬を評価する方法の一つに、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がんモデルがある。このモデルで発生するマウスの皮膚腫瘍形成は、生体内での自然・合成物質の化学予防効果を検討するための非

常に優れたモデルとなっている<sup>10)</sup>。このモデルによる腫瘍の発生は、イニシエーターである DMBA 塗布後、腫瘍プロモーターである TPA などの塗布によってゆっくりと引き起こされ、過形成および炎症性応答を誘導することによって、マウスの皮膚腫瘍につながるとされている<sup>11)</sup>。DMBA は、皮膚中の IL-1 $\alpha$ mRNA およびタンパク質を誘導し、血清 IL-1 $\alpha$  レベルを増加させる<sup>12)</sup>。同様に TPA は表皮中に IL-1 $\alpha$ mRNA を誘導する<sup>13)</sup>。IL-1 $\alpha$  は、IL-6、シクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) および誘導型一酸化窒素合成酵素 (i-NOS) など、さらなる炎症誘発性遺伝子の発現を誘導するために隣接する細胞や離れた細胞上の IL-1 $\beta$  を活性化する<sup>14)</sup>。DMBA 処理後の TPA 塗布は、DMBA 単独塗布に比較し腫瘍発生までの期間を減少させることが報告されている<sup>15)</sup>。TPA は、プロモーション段階に関連する細胞および分子変化を理解するため、広く使用されている促進剤である。

本研究では、*Uncaria tomentosa* では報告のない局所塗布による抗腫瘍効果を検討した。結果は経口投与を用いた先行研究と合致した。Group A では、炎症因子による継続的な炎症が、腫瘍形成につながった。一方 Group B では腫瘍形成が阻害された。Rojas らは *Uncaria tomentosa* が炎症因子である IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-17 および

TNF- $\alpha$  の放出を阻害すると報告している<sup>16)</sup>。このことから TPA による炎症因子の放出を阻害したことが抗腫瘍効果につながったと推察される。さらに Group C ではその効果が強く、DMBA および TPA により誘発される IL-1 $\alpha$  レベルを抑制したことが関与すると考えられる。しかしその効果が非常に強いことから、他因子も関与すると推察される。Sharma らは、亜麻仁油の経口投与により、DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚がんを抑えると報告している。その抑制メカニズムは、活性酸素種 (ROS) を抑える抗酸化効果や解毒酵素レベルを調整することだと述べている<sup>17)</sup>。つまり ROS の生成は、発がんに関与している。ROS は、腫瘍プロモーターである TPA によって直接的に標的細胞内で産生される<sup>18)</sup>。TPA はプロテインキナーゼ C (PKC) の活性により、白血球の浸潤および ROS の生成を介して局所の炎症を発症する<sup>19)</sup>。このように抗腫瘍効果のメカニズムの一つに、ROS の生成を阻害する抗酸化効果の存在が知られている。抗酸化効果の測定<sup>20,21)</sup>には SOD 法、化学ラジカル計測法および MDA レベル計測など、多くの方法が確立されている。MDA とはフリーラジカルによって誘発される過酸化物質である<sup>22)</sup>。MDA は体内で細胞膜の破壊、蛋白質や酵素を失活・変性させ、DNA 鎖切断や架橋形成により、細胞の構造的・機能的障害を引き起こし、細胞や組織におよぼす毒性発現の重要なメカニズムの一つとみなされている。MDA は抗酸化効果や細胞損傷の指標として、広く用いられている<sup>23)</sup>。

先に得られた抗腫瘍効果は、MDA レベルの抑制と合致した。Gonçalves ら同様に強い抗酸化効果を得た<sup>24)</sup>。このことから *Uncaria tomentosa* の抗酸化効果が抗腫瘍効果のメカニズムの一因であることが明らかとなった。

さらに炎症が発がんに関与する。TPA により引き起こされる浮腫にともなう短時間の耳介肥厚は、TPA モデルにおける皮膚炎症や局所炎症反応の一般的な特徴である。急性炎症モデルであるこの方法は、*in vivo* において抗炎症薬を評価する方法として確立されている<sup>7)</sup>。TPA による炎症は、初期反応と後期反応の二段階に分けられる。初期反応では、TNF- $\alpha$  発現による炎症と浮腫が関与する<sup>25)</sup>。後期反応では、白血球の浸潤および ROS

の生成による炎症や血管拡張を引き起こす<sup>19)</sup>。TPA により誘導される IL-1 $\beta$ 、COX-2 および i-NOS は、核内因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) の活性化に依存する機構を介して調整される<sup>26)</sup>。COX-2 によって生成されるプロスタグランジン E2 は、炎症、血管拡張および血管透過性に関与している<sup>27)</sup>。

我々は以前、*Uncaria tomentosa* の TNF- $\alpha$  産生抑制を報告している<sup>8)</sup>。このことは TPA 誘発炎症の初期段階において有効であることを示唆している。さらに *Uncaria tomentosa* は NF- $\kappa$ B を抑制し TNF- $\alpha$  の産生を強力に阻害すると報告されている<sup>28)</sup>。このことから *Uncaria tomentosa* の抗炎症効果は、TPA 誘発性耳介浮腫の初期反応と後期反応それぞれに有効であると考えられる。Aquino らは、*Uncaria tomentosa* の活性成分が生体内外の様々な条件において 46~69% 炎症を抑制すると報告している<sup>29)</sup>。局部塗布による本研究においても最大 74% の抑制を示し高い抗炎症効果を認め、経口投与で検討した先行研究の見解と一致した。TPA モデルを用いた経口投与と局部塗布における有効性の検討では、黒茶葉による検討において、経口投与と局部塗布のどちらの試験においても抗炎症効果が報告されている<sup>30)</sup>。さらに TPA モデルによる検討の多くは局部塗布によるものである。

*Uncaria tomentosa* の成分は、6 種類のアルカロイド、に抗炎症作用を促すキナ酸や抗潰瘍、抗酸化作用を示すポリフェノール系成分である。Zeng らは、*Uncaria tomentosa* に含まれるキナ酸が NF- $\kappa$ B を阻害すると報告している<sup>31)</sup>。Rojas らは *Uncaria tomentosa* の樹皮より抽出したアルカロイドである Mitrephylline が IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-17 および TNF- $\alpha$  放出の 50% を阻害したと報告している<sup>16)</sup>。

抗炎症効果を有するアルカロイドを含む植物にはナス科、マメ科、ユリ科など多くが存在する。アルカロイドを含むナス科の植物抽出液を用いた TPA 誘発性耳介浮腫試験において、局部塗布による抗炎症効果が報告されている<sup>32)</sup>。このようにアルカロイドは塗布によってもその抗炎症効果を発揮することが知られている。このことから本研究において、局部塗布においても経口投与と同様に *Uncaria tomentosa* の成分が有効に働いたと推察される。

以上の結果から、*Uncaria tomentosa* が DMBA/TPA 誘

発性 2 段階皮膚発がんを抑制したメカニズムは、抗酸化効果、NF- $\kappa$ B の活性阻害および TNF- $\alpha$  等の炎症性のバイオマーカー産生の抑制による抗炎症効果が強く関与したと考えられる。

## 結 論

DMBA/TPA 誘発性 2 段階皮膚発がん と TPA 誘発性耳介浮腫は、先行研究と同様に *Uncaria tomentosa* の抑制効果が確認できた。発がん抑制効果は、MDA レベルの抑制と関連していた。さらに *Uncaria tomentosa* は、局部塗布によっても経口投与と同様の効果が得られることが明かとなった。本研究により、*Uncaria tomentosa* は良好な抗酸化効果と抗炎症効果を有し、そのことが *in vivo* での強力な抗腫瘍効果につながることを示唆された。

## 参考文献

- 1) Yeunhwa Gu, Takenori Yamashita : Radioprotection effect and anti-tumor immunity by *Fuscoporia oblique* in mice. *Med. Bio* 157, 53-60, 2013.
- 2) Santa Maria A, Lopez A, Diaz MM et al: Evaluation of the toxicity of *Uncaria tomentosa* by bioassays in vitro. *J Ethnopharmacol* 57, 183-187, 1977.
- 3) Riva L, Coradini D, Di Fronzo G et al: The anti-proliferative effects of *Uncaria tomentosa* extracts and fractions on the growth of breast cancer cell line. *Anticancer Res* 21, 2457-2461, 2001.
- 4) Pugalendhi P, Manoharan S, Panjamurthy K et al: Antigenotoxic effect of genistein against 7,12-dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene induced genotoxicity in bone marrow cells of female Wistar rats. *Pharmacol Rep* 61, 296-303, 2009.
- 5) Saini M, Goyal PK, Chaudhary G : Anti-tumor activity of Aloe vera against DMBA/croton oil-induced skin papillomagenesis in Swiss albino mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 29, 127-35, 2010.
- 6) Ajith TA, Janardhanan KK: Medicinal Mushroom Cracked-Cap Polypore, *Phellinus rimosus* (Higher Basidiomycetes) Attenuates Acute Ethanol-Induced Lipid Peroxidation in Mice. *Int J Med Mushrooms* 17, 1061-1067, 2015.
- 7) Wu X, Song M, Rakariyatham K et al : Inhibitory Effects of 4'-Demethylnobiletin, a Metabolite of Nobiletin, on 12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-Induced Inflammation in Mouse Ears. *J Agric Food Chem* 63, 10921-10927, 2015.
- 8) 山下剛範, 具然和 : Cat's-claw, Iporuru, Chuchuhuasi, Devil's-claw 配合物による鎮痛, 消炎および抗リウマチ効果に関する研究. *医学と生物学* 149, 204-210, 2005.
- 9) Dreifuss AA, Bastos-Pereira AL, Fabossi IA et al: *Uncaria tomentosa* exerts extensive anti-neoplastic effects against the Walker-256 tumour by modulating oxidative stress and not by alkaloid activity. *PLoS One* 8, e54618, 2013.
- 10) Afaq F, Saleem M, Krueger CG et al: Anthocyanin and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF- $\kappa$ B pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1mice. *Int J Cancer* 113, 423-433, 2005.
- 11) Sulaiman H, Hamid RA, Ting YL et al: Anti-tumor effect of *Ardisia crispa* hexane fraction on 7, 12-dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene-induced mouse skin papillomagenesis. *J Cancer Res Ther* 3, 404-410, 2012.
- 12) Li X, Eckard J, Shah R, et al: Interleukin-1 $\alpha$  up-regulation in vivo by a potent carcinogen 7,12-dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA) and control of DMBA-induced inflammatory responses. *Cancer Res* 62, 417-423, 2002.
- 13) Lee W.Y, Fischer S.M, Butler A.P et al: Modulation of interleukin-1 $\alpha$  mRNA expression in mouse epidermis by tumor promoters and antagonists. *Molec. Carcinogenesis* 7, 26-33, 1993.
- 14) Apte R.N, Krelin Y, Song X et al: Effects of micro-environment- and malignant cell-derived interleukin-1 in carcinogenesis, tumour invasiveness and tumour-host interactions. *Eur. J. Cancer* 42, 751-759, 2006.



- 15) Suhail N, Bilal N, Hasan S et al: Chronic unpredictable stress (CUS) enhances the carcinogenic potential of 7,12-dimethylbenz( $\alpha$ )anthracene (DMBA) and accelerates the onset of tumor development in Swiss albino mice. *Cell Stress Chaperones* 20, 1023-1036, 2015.
- 16) Rojas-Durana R, Gonzales-Aspajoa G, Ruiz-Martel C et al: Anti-inflammatory activity of Mitrephylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. *J Ethnopharmacol* 143, 801–804, 2012.
- 17) Sharma J, Singh R, Goyal PK : Chemomodulatory Potential of Flaxseed Oil Against DMBA/Croton Oil-Induced Skin Carcinogenesis in Mice. *Integr Cancer Ther* 15, 358-367, 2016.
- 18) Rundhaug JE and Fischer SM: Molecular mechanisms of mouse skin tumor promotion. *Cancers* 2, 436–482, 2010.
- 19) Sadeghi H, Zarezade V, Sadeghi H et al: Anti-inflammatory Activity of *Stachys Ptilifera* Benth. *Iran Red Crescent Med J* 16, e19259, 2014.
- 20) Yeunhwa Gu, Takenori Yamashita, Masami Oshima et al : Radioprotection effect on the combination medication of propolis and agaricus blazei murrill. *Int J Med Mushrooms* 7, 413-418, 2005.
- 21) Takenori Yamashita, Yeunhwa Gu : Radioprotection and Immune Activation by American Herb (*E. purpurea*). *J Med Bio* 148, 30-37, 2004.
- 22) Montuschi P, Barnes P, Roberts LJ : Insights into oxidative stress: the isoprostanes. *Curr Med Chem* 14, 703–717, 2007.
- 23) Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S et al : Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. *J Pharm Biomed Anal* 43, 619–624, 2007.
- 24) Gonçalves C, Dinis T, Batista MT : Antioxidant properties of proanthocyanidins of *Uncaria tomentosa* bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity. *Phytochemistry* 66, 89-98, 2005.
- 25) Murakawa M, Yamaoka K, Tanaka Y et al: Involvement of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  in phorbol ester 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice. *Biochem. Pharmacol* 71, 1331–1336, 2006.
- 26) Yamamoto Y, Gaynor R.B: IkappaB kinases: Key regulators of the NF-kappaB pathway. *Trends Biochem. Sci* 29, 72–79, 2004.
- 27) Funk C.D: Prostaglandins and leukotrienes: Advances in eicosanoid biology. *Science* 294, 1871–1875, 2001.
- 28) Allen-Hall L, Arnason JT, Cano P et al: *Uncaria tomentosa* acts as a potent TNF-alpha inhibitor through NF-kappaB. *J Ethnopharmacol* 17, 685-693, 2010.
- 29) Aquino R, De Feo V, De Simone F et al: Plant metabolites. New compounds and anti-inflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *J Nat Prod* 54, 453-459, 1991.
- 30) Huang MT, Liu Y, Ramji D et al: Inhibitory effects of black tea theaflavin derivatives on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and arachidonic acid metabolism in mouse ears. *Mol Nutr Food Res* 50, 115-122, 2006.
- 31) Zeng K, Thompson KE, Yates CR et al: Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorg Med Chem Lett* 15, 5458-5460, 2009.
- 32) Gutiérrez A DM, Bah M, Garduño R ML et al: Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities of Methanol Extracts and Alkaloid Fractions of Four Mexican Medicinal Plants of Solanaceae. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 3, 259-267, 2014.

## Anti-cancer effects of *Uncaria tomentosa* in DMBA/TPA induced skin carcinogenesis

Takenori YAMASHITA<sup>1)</sup>, Yeunhwa GU<sup>2)</sup>

1) Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science

2) Faculty of Health Science, Junshin Gakuen University

**Key words:** *Uncaria tomentosa*, Anti-cancer effects, DMBA (7, 12-Dimethylbenz [ $\alpha$ ] anthracene), TPA (12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate), MDA (malondialdehyde)

---

### Abstract

We are increasingly exposed to various carcinogens such as radiation, chemicals, and viruses in the environment. Polycyclic aromatic hydrocarbons such as 7, 12-Dimethylbenz [ $\alpha$ ] anthracene (DMBA) is known environmental contaminants. *Uncaria tomentosa* is Rubiaceae species widely used in South-American folk medicine for the treatment of arthritis and cancer. We reported previously that anti-rhumatoidal effect of *Uncaria tomentosa*.

In this study, we studied the anti-cancer effects of *Uncaria tomentosa* in DMBA/12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) induced skin carcinogenesis and TPA induced skin inflammation in mice. We also measured malondialdehyde (MDA) protein levels in mouse skins to see the mechanism of anti-cancer effects.

*Uncaria tomentosa* decreased skin carcinogenesis and ear edema in mice. This inhibitory effect was associated with inhibition of MDA protein levels. This suggests that *Uncaria tomentosa* had the most intense of antioxidant effects and may have strong anti-cancer effects *in vivo*.

---

略 歴

---

**山下 剛範**（保健衛生学博士） 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 放射線技術科学科 准教授

学 歴：

平成 17 年 鈴鹿医療科学大学大学院 博士後期課程修了

職 歴：

平成 17 年 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 放射線技術科学科 助手

22 年 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 放射線技術科学科 助教

27 年 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 放射線技術科学科 准教授

主な研究内容：

放射線・化学物質影響に有効な天然物質の探索

抗炎症効果を有する天然物質の探索

骨密度を改善する天然物質の探索