

学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	分子細胞医学
学籍番号	12D733	氏名	片木 絢子
論文題目	Inhibitory effect of isoamericanol A from <i>Jatropha curcas</i> seeds on the growth of MCF-7 human breast cancer cell line by G2/M cell cycle arrest		
(論文要旨)			
[目的]			
<p>ジャトロファ(<i>Jatropha curcas</i>)は、和名をナンヨウアブラギリと言い、中南米原産の落葉低木であり、世界中の熱帯・亜熱帯地域に広く分布する。その種子は油分に極めて富むことから、主にバイオディーゼルの使用されている。また、石けんやロウソクのほか、下剤や解熱剤などの医薬品にも利用されている。種子から油を搾り取った後に残る搾りカスの利用が検討されているが、我々のグループは既に搾りカスの酢酸エチル抽出物からイソアメリカノールA(isoamericanol A(IAA))を精製した。IAAの生理機能の解析を行っているが、そのひとつとして抗癌作用について調べた。</p> <p>ヒト癌細胞に対するIAAの増殖抑制効果を調べたところ、MCF-7(ヒト乳癌)、MDA-MB231(ヒト乳癌)、HuH-7(ヒト肝癌)、そしてHeLa(ヒト子宮頸癌)細胞に対し、濃度依存的な増殖抑制が認められた。今回、調べたヒト癌細胞の中からMCF-7を選択し、IAAの乳癌細胞抑制メカニズムの更に詳細な解明を目指した。</p>			
[方法]			
<p>25μg/ml IAAを3日間作用したMCF-7細胞を用いて、マイクロアレイ解析、Flow cytometryによる細胞周期解析、さらにTUNEL染色法によるアポトーシス解析を行った。マイクロアレイで大きな変化が見られた細胞周期関連遺伝子は、Western blot法やQuantitative real-time PCR法で発現の変化を確認した。</p>			
[結果]			
<p>マイクロアレイ解析の結果、IAA処理で2倍以上に変化した遺伝子は51個、1/2倍以下になったものは137個あった。我々はこれらのうち、BTG2 (B-cell translocation gene 2)、GADD45A (growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha)、p21 (p21WAF1/CIP1)、CDK1 (cyclin-dependent kinase 1)、cyclin B1、cyclin B2など特に細胞周期関連の6遺伝子に注目した。BTG2、GADD45A、p21、CDK1、cyclin B1とcyclin B2のタンパク質やmRNAの変化をみた結果、マイクロアレイ解析結果と同様、IAA処理によりBTG2、GADD45Aやp21の発現は増加し、またCDK1、cyclin B1やcyclin B2が減少することが確認された。一方、フローサイトメトリー解析ではIAAによる細胞周期のG2/M期での停止効果が見られた。また免疫蛍光細胞染色によつ</p>			

ても、G2/M期での細胞分裂阻害効果が確認できた。一方、IAAがMCF-7に対してアポトーシスを誘導するかどうかを調べたところ、増殖抑制を示す濃度ではアポトーシス誘導効果を示さなかった。

[考察・結語]

IAAはヒト癌細胞に濃度依存的に増殖を抑制する働きを持つ。またヒト乳癌細胞(MCF-7)ではIAAの細胞増殖抑制作用機序として、以下の2つのメカニズムによりG2/M期での停止を促す可能性が高いことが分かった。

- 1) IAAはG2/M期を進めるのに必要なCDK1、cyclin B1、cyclin B2の発現を減少させる。
- 2) IAAにはBTG2、GADD45Aやp21の発現増加によりcyclin B/CDK1 complex形成を阻害する。

このようにIAAは、cyclin B1,B2/CDK1の働きを、これらの3種の蛋白質の発現減少で直接的に、cyclin B1,B2/CDK1抑制蛋白質の発現増加で間接的に活性を阻害することで、G2/M期を止め、細胞増殖を阻害すると推測される。ジャトロファの種の抽出物IAAによる癌細胞抑制の報告は我々が初めてであり、今後IAAを使用した癌の治療への応用を目指して研究を進める。

掲 載 誌 名	Heliyon (査読有)		
(公表予定) 掲 載 年 月	2015年12月 掲載受理	出版社(等)名	Elsevier
Peer Review	(有) . 無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。