




学位論文審査の結果の要旨

平成 28 年 2 月 10 日

審査委員	主査	平野 勝也			
	副主査	中村 隆範			
	副主査	秦 利之			
願出者	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				
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	・	<input type="radio"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)	

〔 要 旨 〕

申請者らはジャトロファ(*Jatropha curcas*)の種から取られるディーゼルオイルの搾りカスの再利用を検討している。香川大学農学部のグループが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、その一つとして抗癌作用について発表した。

25 μ g/ml IAAを3日間作用したMCF-7細胞で、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。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。これらのうち、BTG2 (B-cell translocation gene 2)、GADD45A (growth arrest and DNA-damage-inducible, alpha)、p21 (p21WAF1/CIPI)、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期での移行阻害効果が見られた。またaurora B kinase、染色体と微小管 (tubulin) に対する三重免疫蛍光細胞染色によっても、M期での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、25µg/mlと50µg/ml IAAの濃度ではアポトーシス誘導効果は弱かった。

これらの結果から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ち、IAAの細胞増殖抑制作用機序として、cyclin B1, cyclin B2およびCDK1の蛋白質の発現を減少し直接的にcyclin B1,B2/CDK1の活性を下げるとともに、cyclin B1,B2/CDK1の抑制蛋白質の発現増加を起こし間接的に活性を阻害することで、G2/M期の移行阻害を起こし細胞増殖を阻害すると推測された。またIAAはM期においても、微小管や染色体、紡錘体の正常な構造や動きを阻害する働きがあるようだ。その時見られる構造として、Monopolar spindlesがあった。よってG2/M期停止作用とM期の細胞分裂阻害によって細胞増殖がおさえられると結論した。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成28年2月10日に行われた。

審査においては、

1. 将来ジャトロファの抽出物をどのように生かすのか？
2. フローサイトメトリー解析で25µg/ml IAAを添加3日後の細胞ではsub G1の細胞があるように見られるがG2/M期停止によるアポトーシスの誘導があったと考えられるか？
3. マイクロアレイ解析でIAAの効果を見るには添加3日後より早い作用をみる必要があったのではないか？
4. IAAの純度はどうか？
5. IAAの安定性はどうか？
6. IAA作用に可逆性はあるのか？
7. IAAのエストロゲン作用はあるのか？
8. IAAの微小管形成への直接の影響はあるのか？
9. IAAの主たる作用は何か？

など多数の質問が行われた。申請者はいずれにも適確に解答し、十分な見識と能力を有することが認められた。

本研究はIAAの持つ抗がん作用に関して細胞周期G2/M期での進行抑制、またM期の細胞分裂を示したもので、結果に対する十分な考察もあり、今後の発展が期待できる。本研究で得られた成果はIAAのもつ抗癌作用のメカニズムを明確化することにおいて意義があり、学術的価値が高い。以上の審査を踏まえ、委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判定した。

掲載誌名	Heliyon 第2巻, e00055		
(公表予定) 掲載年月	平成28年2月	出版社(等)名	Elsevier

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。