

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	平良直幸
審査委員	主査 琉球大学教授 屋 宏典
	副査 琉球大学准教授 高良 健作
	副査 鹿児島大学教授 侯 徳興
	副査 佐賀大学教授 永尾 晃治
	副査 琉球大学准教授 岩崎 公典
審査協力者	印
題 目	植物アルカロイド Nitidine の腫瘍選択的細胞毒性に関する研究 (Studies on tumor selective cytotoxicity of plant alkaloid nitidine)
<p>がんの根治において化学療法は重要であるが、その成否を左右する要因の一つとして薬剤耐性細胞の存在が挙げられる。本研究においては、薬剤耐性がん細胞に対する植物アルカロイド ニチジン (NTD) の作用機構を解明し、新たな化学療法の開発に資する基礎知見を提供することを目的とした。</p> <p>これまでの研究により、NTDはがん細胞に選択的に蓄積することで毒性を発現することが明らかにされているが、細胞内局在については不明であった。本研究においては、NTDが細胞内のミトコンドリアに蓄積することで膜電位を消失させ、がん細胞特異的にアポトーシスを誘導することを明らかにした。さらに、がん細胞パネルに対する毒性発現パターン (Finger Print) の比較から、NTDはこれまでに知られていない作用機序によりがん細胞を死滅させる可能性が示唆された。</p> <p>次いで、薬剤耐性がん細胞に対するNTDの毒性を細胞試験により評価した。モデル系作成のため、肺腺がん細胞A549をカンプトテシン (CPT) で1週間処理し、生存した細胞が薬剤耐性形質を有しているのかを検証した。その結果、生き残った細胞では、薬剤耐性形質の指標であるABC transporterの発現がA549と比べて高く、CPTに対してA549よりも耐性であることが確認された。よって、本研究においては</p>	

この細胞を CPT 耐性株 (CRC) として実験に供した。CRC は CPT に対しては耐性である一方、NTD に対しては A549 とほぼ同様の感受性を示した。NTD の細胞毒性は細胞内蓄積に起因することが知られていることから、A549 と CRC の細胞内 NTD 蓄積量と細胞毒性を比較した。NTD は A549 よりも CRC において短時間で細胞内に蓄積する傾向が認められ、A549 に比べて CRC においてより強い細胞毒性を発揮した。CRC では特に ABCC 群の発現増加が顕著だったことから NTD の蓄積および半数阻害濃度 (IC_{50}) と ABCC 群の発現の相関を種々のがん細胞を用いて調べた。その結果、ABCC2 の発現は NTD の蓄積とは正に相関、 IC_{50} とは負に相関することが明らかとなり、ABCC2 の発現が高い細胞ほど NTD の効果が表れやすい可能性が示された。

次にマウスの皮膚下に移植した A549 と CRC に対する NTD の効果を比較した。マウスに NTD100 μ g を連日腹腔内投与すると A549 では 14 日目に有意な抗腫瘍効果が確認されたのに対し、CRC では腫瘍形成早期である 4 日目において既に抗腫瘍効果が認められ、その効果は 14 日目まで継続した。これは細胞試験で確認された CRC における NTD の腫瘍選択的な細胞内蓄積に起因しているのではないかと考えられた。

NTD の抗腫瘍効果は腹腔内投与においてのみ確認されており、経口投与によって証明されていない。NTD はサルカケミカンをお茶として飲むことにより、日常的に NTD を経口摂取可能である。そこで、経口投与したサルカケミカン抽出物の抗腫瘍効果を次に検証した。A549 を移植したマウスに NTD1mg を含有するサルカケミカン粗抽出物を連日経口投与すると腫瘍の増殖が抑制され、経口投与した抽出物の抗腫瘍効果が確認された。この抗腫瘍効果が NTD の腫瘍組織特異的な蓄積によるものかを検証するため、組織への NTD の蓄積を LC-MS/MS により分析した。NTD は正常組織では殆ど検出されず、腫瘍組織でのみ検出され、この結果から NTD は経口投与においても腫瘍特異的に蓄積し、抗腫瘍効果を示す可能性が示された。

以上、本研究は薬剤耐性がん細胞に対しても NTD は毒性を有すること及びその作用機構を明らかにしている。薬剤耐性がん細胞はがん根治における大きな障害となっており、本研究の成果はその克服に資する基礎知見を提供している判断された。よって、本論文は博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判定した。