

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	上村 美優
審査委員	主査 鹿兒島大学 教授 橋本 文雄
	副査 鹿兒島大学 准教授 岡本 繁久
	副査 佐賀大学 教授 石丸 幹二
	副査 鹿兒島大学 准教授 加治屋 勝子
	副査 鹿兒島大学 助教 坂尾 こず枝
審査協力者	
題目	カツラウリ由来の香気成分による大腸癌細胞の分化誘導に関する研究 (Studies on the differentiation-inducing ability of the aroma compounds isolated from <i>Cucumis melo</i> var. <i>conomon</i> on RCM-1 colorectal cancer cells)
<p>大腸癌は性別を問わず発症数が多いがんで、100種類以上あるがんの中で死因4位に位置する。また、早期発見が困難ながんの一つである。これまで治療には、がん細胞の除去や死滅を目的とした外科的手術や化学療法、放射線療法などが使われ、多くの患者を救ってきた。しかし、副作用に苦しめられる患者も多い。このような背景の下、副作用が少ない治療法や抗がん剤の開発が求められている。その代替治療法の一つが「分化誘導療法」である。分化誘導療法の原理は、薬剤を用いてがん細胞の異常な代謝や増殖機構を再プログラミングし、正常細胞がたどるプロセス、すなわち統制の取れた増殖、終末分化、老化、そしてアポトーシスなどの細胞死をもたらすことである。これにより、がんの進行遅延や症状の緩和が見込まれる。</p> <p>申請者が所属する研究グループは、ヒト大腸癌細胞株RCM-1が作るドームの数を指標として分化誘導療法に適用可能な植物化学物質候補を探索してきた。この研究を通じて京都の伝統野菜カツラウリ (<i>Cucumis melo</i> var. <i>conomon</i>) から含硫化合物2種、3-methylthiopropionic acid ethyl ester (MTPE) とmethylthioacetic acid ethyl ester (MTAE) が単離された。しかし、これら含硫化合物がRCM-1のドーム形成を導く機構は分かっていない。そこで、申請者は分子機構の</p>	

理解を目的として、これら化合物の化学特性、並びにドームの生理学・生化学的特性を明らかにするための研究を行い、以下のような知見を得た。

まず、構造活性相関解析により MTPB/MTAE の類似化合物 37 種の中で methylthioacetic acid (MTA) が最も強いドーム誘導能を持つこと、また分子量が最も小さいことを明らかにした。結果は、調べた含硫化合物の中で MTA がドーム形成に必要な最小ユニットであることを示唆する。次に DNA マイクロアレイ解析により MTA が細胞周期や DNA 複製に関連する多くの遺伝子の発現を低下させること、中でも *cell division cycle 25A (CDC25A)* や *cyclin E2 (CCNE2)* の発現低下が著しいことを明らかにした。さらに薬理的解析により CDC25A の阻害剤 NSC95397 が RCM-1 細胞株のドーム形成を促進させることを明らかにした。結果は、*CDC25A* の発現抑制及びその後起こる細胞周期の停止が MTA によるドーム形成誘導の重要ステップであることを示唆する。

ドームは、腸に由来するいくつかの細胞株において形態的分化マーカーとして認知されているが、RCM-1 細胞株ではまだ完全に証明されていない。申請者は、ドームを誘導する条件で MTA を処理すると、RCM-1 細胞で腸分化に関する分子マーカー (ALP 活性及び DPP4、villin、KLF4 のタンパク質量) が上昇することを見出した。結果は RCM-1 細胞株で形成されるドームが分化様組織であることを強く示唆する。さらに申請者は、MTA (0.1-2 mM) が濃度依存的にドーム分化を促進すること、MTA が既知の分化誘導物質・酪酸と同一または類似の経路を介して RCM-1 細胞の分化を誘導することを明らかにした。また、興味深いことに高濃度の MTA (2 mM 以上) はアポトーシスの分子マーカー 3 種 (DNA 断片化、カスパーゼ 3/7 活性、PARP 切断) の値を上昇させた。以上の結果を総合すると、MTA は RCM-1 細胞のドーム分化を誘導するのみならず、アポトーシスを誘導すると考えられた。加えて、申請者は既知の分化誘導剤 (酪酸と 15d-PGJ2) とアポトーシス誘導剤 (AD と 5-FC) が RCM-1 細胞に対してアポトーシスとドーム形成をそれぞれ引き起こすことを見つけた。この結果は、MTA のそれと合わせて分化誘導とアポトーシス誘導の間には密接な関連があることを示唆する。

以上のように申請者が得た数々の結果は、カツラウリ由来の含硫化合物の類縁物質 MTA が腸細胞の分化とアポトーシスを引き起こすことをはじめて証明したもので、MTA やこれをリード化合物として作られる誘導体が、大腸癌に対する分化誘導療法や従来 of 化学治療法の新規薬剤候補になりうることを示唆する。また、RCM-1 で形成されるドームが形態的分化マーカーとして利用できることが分かったので、同細胞株を用いた検定系が新規の分化誘導物質を探索する上での優良ツールであることも証明された。そこで、審査委員会は、本研究が博士 (農学) の学位論文として十分価値あるものと判定した。