九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

新規抗癌剤スクリーニングシステムの開発およびヒト胎盤抽出物の癌細胞増殖抑制効果に関する研究

山口，慶枝

https://doi.org/10.15017/1500795

出版情報：九州大学，2014，博士（農学），課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏　　名　：山 口　慶 枝

論文題名　：新規抗癌剤スクリーニングシステムの開発およびヒト胎盤抽出物による癌細胞増殖抑制効果に関する研究

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

3 次元（3D）*in vitro* 細胞培養系は、*in vivo* 微小環境を生理的に模倣することが可能である。本研究において、シリカファイバー（SFs）をスキャホールドとして用いた 3D 培養系を確立し、抗癌剤候補薬剤のスクリーニングのために最適化した。

SFs スキャホールド上において、12 種のヒト癌細胞株を培養したところ、形態学的に 4 つのカテゴリーに分類される特徴的な 3D 構造が構築され、これらの細胞は 2 次元（2D）培養系の細胞と比較して高い薬剤耐性能を示した。さらに、薬剤耐性に関連のある転写因子 Nuclear factor kappa B (NF-κB) の下流の関連遺伝子発現を調べたところ、B cell lymphoma 2 (BCL2)、Cyclooxygenase 2 (COX-2)、Vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現は、2D よりも 3D 培養系において、高いことが分った。また、3D 培養系の方が解糖系亢進による Lactate 生産が高いことも明らかになった。これらの結果は、SFs スキャホールドを用いた 3D 培養系は、2D 培養系と比較して癌特有の性質をより生理的に模倣できることを示しており、優れた *in vitro* 抗癌剤評価系であることを示唆している。

新規抗癌剤の開発を目指して、肝癌細胞株の増殖抑制効果を示す指標に、ヒト胎盤抽出液から癌細胞増殖抑制因子の単離・同定を試みた。その結果、ヒト胎盤由来の肝癌細胞増殖抑制因子の本体は、グルタミン酸（Glu）とアスパラギン酸（Asp）であることが判明した。これらのアミノ酸にナトリウム、カルシウムを添加した混合物（EDSCA ; 3 mM Glu、3 mM Asp、12 mM NaCl、3 mM $CaCl_2$）は、今回調べた条件下では肝癌細胞に対して既知抗癌剤のシスプラチン、フルオロウラシルを上回る増殖抑制効果を示したが、一方、正常肝細胞の増殖には殆ど影響を与えなかった。この癌細胞選択制が EDSCA の 1 つの特長である。EDSCA の癌細胞増殖抑制効果は、乳癌細胞、肺癌細胞、膵臓癌細胞、大腸癌細胞に対しても認められたが、肝癌細胞に対する効果が最も顕著であった。EDSCA によって誘導される細胞死について解析した結果、後期アポトーシスを示す細胞数の増加が観察された。しかし、カスパーゼ非依存的であること、アポトーシスで一般的に観察されるヌクレオソーム単位の DNA 断化が見られないこと、細胞の形態がネクローシス細胞に近いことなどからアポトーシスとネクローシスの混合形態ではないかと推測された。また、Glu と Asp 投与による細胞死は、PI3K/Akt/mTOR を介すことが示唆された。

肝癌細胞の 3D 培養系に EDSCA を添加したところ、抗癌剤のマイトマイシンと同様に肝癌細胞の崩壊が観察された。Glu、Asp と混合促進剤リピオドールを VX2 肝臓担癌兎の肝動脈に投与したところ、肝腫瘍の有意な縮小が認められた。

本研究において、ヒト胎盤抽出物の癌細胞増殖抑制作用を示す有効成分として、Glu と Asp を同定した。肝癌細胞の増殖抑制効果を指標に、これらのアミノ酸とミネラルの最適な組み合わせを検討し、EDSCA を調整した。EDSCA は、3D 肝癌細胞培養系および肝臓担癌兎を用いた *in vivo* 系において癌細胞に特異的な増殖抑制効果を示し、肝癌治療に有効な抗癌剤候補として期待される。