

吉本美和 学位論文審査要旨

主 査 清 水 英 治
副主査 難 波 栄 二
同 池 口 正 英

主論文

Anti-proliferation activity of fucoidan in MKN45 gastric cancer cells and downregulation of phosphorylated ASK1, a cell cycle-regulated kinase

(胃癌細胞MKN45に対するフコイダンの抗細胞増殖作用及び細胞周期制御機能を司るリン酸化ASK1の発現抑制)

(著者：吉本美和、檜垣克美、難波栄二、池口正英)

平成27年 Yonago Acta medica 掲載予定

参考論文

1. Effectiveness of the LigaSure Small Jaw vessel-sealing system in hepatic resection
(肝切除におけるLigaSure Small Jawの有用性)

(著者：吉本美和、遠藤財範、花木武彦、渡邊浄司、徳安成郎、坂本照尚、本城総一郎、
廣岡保明、池口正英)

平成26年 Yonago Acta medica 57巻 93頁～98頁

学 位 論 文 要 旨

Anti-proliferation activity of fucoidan in MKN45 gastric cancer cells and downregulation of phosphorylated ASK1, a cell cycle-regulated kinase

(胃癌細胞MKN45に対するフコイダンの抗細胞増殖作用及び細胞周期制御機能を司るリン酸化ASK1の発現抑制)

フコイダンの抗がん作用としての研究についてはこれまでも多く報告されているが、その分子生物学的作用機序については明らかにされていない。今回、フコイダンの胃癌細胞に対する増殖抑制作用に注目し、フコイダン投与時の胃癌細胞に出現する遺伝子異常を *in vitro*において検証した。

方 法

フコイダンのMKN45の細胞増殖に対する影響を検証するため、BrdUアッセイ及びコロニーアッセイを用いた。フコイダンの細胞障害性の検証にはLDHアッセイを用いた。MKN45にフコイダンを作用させmRNAマイクロアレイアッセイにより遺伝子変化を確認した。その結果、優位に遺伝子量が増加した遺伝子の一つである *ASK1* に注目し、またその関連遺伝子の量的変化をウェスタンブロットによりフコイダンの濃度を変えて検証した。更にウェスタンブロットの結果を蛍光免疫染色にて再確認した。最後に、siRNAにより *ASK1* の発現を抑制したMKN45の細胞増殖作用の変化をBrdUアッセイにて検証した。

結 果

BrdUアッセイにてフコイダンがMKN45の細胞増殖を約50%抑制することが確認された。またコロニーアッセイでも同様に抗細胞増殖作用が確認された。mRNAマイクロアレイではフコイダンにより *ASK1* の発現が有意に増加していた。ウェスタンブロットにてリン酸化ASK1及びリン酸化p38の発現がフコイダンにより抑制されていることが分かった。また、リン酸化P-38の抗体を用いた蛍光免疫染色では5 mg/ml以上の濃度のフコイダンの作用でMKN45の核の染まりが著しく損なわれていたことを確認した。最後に、*ASK1* の発現を遺伝子的に抑制したMKN45をBrdUアッセイで測定すると細胞増殖が明らかに抑制されていることが確認された。

考 察

フコイダンによりMKN45の細胞増殖が抑制することが確認されたが、その作用機序としてはフコイダンによるリン酸化ASK1発現の抑制が示唆される。

フコイダン作用機序を検証する際、その作用点を検証することが重要であると考え、そのヒントを示唆するP-selectinという物質がある。P-selectinは血小板を活性化する物質であるが、フコイダンと親和性が高く、フコイダンとの結合の結果、血小板を不活性化して心疾患等抑制する事が確認されている。この場合フコイダンの作用点は細胞膜表面であり、以上によりフコイダンの抗ガン作用の作用点が細胞膜表面であることが考えられる。

結 論

フコイダンが胃癌細胞MKN45の細胞周期を抑制することによる抗細胞増殖作用が確認された。その機序としてフコイダンによるリン酸化ASK1の抑制が示唆された。この結果はフコイダンが抗がん作用を有する物質としての強い可能性を示している。