

氏名	楊 祺福		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	学 術		
学位授与番号	博甲第	5 8 4 3	号
学位授与の日付	平成30年 9月27日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Synergistic antiproliferative effects of benzyl isothiocyanate in combination with methyl- β -cyclodextrin and MK571 in human colorectal cancer cells (ベンジルイソチオシアネートの、メチル- β -シクロデキストリン及びMK571との組合せによるヒト大腸がん細胞での相乗的増殖抑制作用)		
論文審査委員	教授 田村 隆	教授 中村 宜督	教授 村田 芳行
	教授 木村 吉伸		
学位論文内容の要旨			
<p>Drug resistance often limits the efficacy of chemotherapy. The activation of cellular survival signaling pathway and the increasing efflux of the anti-cancer drugs through ATP-binding cassette (ABC) transporters mediate resistance against chemotherapy drugs and radiation therapy in a variety of cancer types. In this study, I have been focusing on the synergistic antiproliferative effects of benzyl isothiocyanate in combination with methyl-β-cyclodextrin and MK571 in human colorectal cancer cells.</p> <p>In the Chapter 1, I examined the modulating effects of methyl-β-cyclodextrin (MβCD) on the antiproliferation induced by BITC. MβCD dose-dependently increased the cholesterol level in the medium, possibly through its removal from the plasma membrane of human colorectal cancer cells. The pretreatment with a non-toxic concentration of MβCD significantly enhanced the BITC-induced cytotoxicity and apoptosis induction, which was counteracted by the cholesterol supplementation. Although BITC enhanced the phosphorylation of Akt, MβCD dose-dependently inhibited the phosphorylation level of Akt. On the contrary, MβCD significantly enhanced the phosphorylation of mitogen activated protein kinases (MAPKs), but did not enhance their phosphorylation induced by BITC. These results suggested that MβCD potentiates the BITC-induced antiproliferation, possibly through cholesterol depletion and thus inhibition of the PI3K/Akt-dependent survival pathway.</p> <p>In the Chapter 2, I investigated the role of the multidrug resistance protein 1 (MRP1). The MRP1 inhibitor (MK571) significantly enhanced the BITC cellular accumulation. And MK571 synergistically potentiated BITC-induced antiproliferation and apoptosis induction in human colorectal cancer cells. MK571 also enhanced the BITC-induced phosphorylation of MAPKs, including the p38 MAPK, c-Jun N-terminal kinase (JNK), members involved in the apoptosis-inducing signaling pathways. Furthermore, MK571 enhanced the BITC-induced activation of caspase-3. Taken together, these results suggested that MRP1 plays a negative role in the BITC-induced antiproliferation in human colorectal cancer HCT-116 cells.</p> <p>In conclusion, the present study provides two prospective strategies to overcome the drug resistance against BITC in human colorectal cancer cells; 1) the combinatory treatment of MβCD with BITC induces cholesterol depletion and thus inhibition of the PI3K/Akt-dependent survival pathway, 2). Inhibition of MRP1 significantly enhances the BITC accumulation and then potentate the apoptosis-inducing pathways.</p>			

論文審査結果の要旨

薬剤耐性は化学療法の効果を減弱させる大きな要因であるが,ABCトランスポーターが関与する薬剤排出の亢進と生存に関わるPI3K/Akt経路の活性化が重要な役割を果たしていると考えられている。パパイヤ種子に由来するベンジルイソチオシアネート (BITC) は,大腸がん細胞において細胞増殖を抑制する一方で,グルタチオン抱合化により代謝,排出されること,また上記の生存経路をさらに活性化することが報告されている。そこで本研究は,これらの耐性機構を減弱させる薬剤とBITCとの併用の大腸がん細胞の増殖に与える影響を調査した。

まず,細胞膜コレステロール量を減少させる薬剤のmethyl- β -cyclodextrin (M β CD) を大腸がん細胞株に前処理したところ,BITCの細胞増殖抑制作用及びアポトーシス誘導作用を増強した。また,この効果はコレステロール添加で解除された。BITCはAktのリン酸化を増強したが,M β CDはこのリン酸化を有意に低下させた。以上の結果から,M β CDは細胞膜コレステロールを減少させることにより,生存経路を抑制し,BITCのアポトーシス誘導作用を増強することが示唆された。

続いて,ABCトランスポーターの一つであり,グルタチオン抱合体の排出に関わるMRP1に着目し,その阻害剤であるMK571を前処理した結果,BITCの細胞内蓄積量を有意に増加させた。さらに,MK571はBITCの細胞増殖抑制作用及びアポトーシス誘導作用を相乗的に増強するだけでなく,アポトーシス誘導に関わるMAPキナーゼ群のリン酸化,カスパーゼ-3切断及びカスパーゼ-3活性を増強した。以上の結果から,MRP1はBITCの抗がん作用を負に制御する因子であることが示唆された。

本研究成果は,食品成分 BITC のもつ機能性の科学的な根拠を提供すると共に,その機能性をより効果的に発揮させる方策を新たに提案した。従って,本研究内容は,学術的な価値のみならず,実用に結びつく技術の礎となるものであり,本審査委員会は,本論文が博士 (学術) の学位論文に値するものと判断した。