




## 学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 498 号	氏 名	石井 照和
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	三 股 浩 光	
	副査氏名	守 山 正 胤	
	副査氏名	松 浦 寛 子	
<p>論文題目 Cucurbitacin D induces growth inhibition, cell cycle arrest, and apoptosis in human endometrial and ovarian cancer cells. (Cucurbitacin Dはヒト子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株に対して細胞増殖抑制、細胞周期停止、アポトーシス誘導効果を持つ)</p> <p>論文掲載雑誌名 Tumor Biology published online: 14 November 2012.</p> <p>論文要旨 緒言 子宮内膜癌および卵巣癌は婦人科領域ではよくみられる悪性腫瘍で、近年罹患率が増加しているが、進行癌や再発癌に対する化学療法の効果は十分ではない。Cucurbitacinはウリ科やアブラナ科の植物から抽出されたtriterpenoidで、現在12種類が報告されており、そのうちCucurbitacin Dは肝細胞癌細胞株やT cell白血病細胞株など種々の癌細胞に対して増殖抑制効果やアポトーシス誘導効果が報告されているが、婦人科癌での検討はなされていない。 対象および方法 子宮内膜癌細胞株(HHUA, Ishikawa, HEC59)と卵巣癌細胞株(SK-OV-3; OVCAR-3, TOV-112D)にcucurbitacin Dを添加し、WST-1 assayにて細胞増殖抑制効果を検討し、Flow cytometryにて細胞周期を解析した。さらにannexin V assayおよびミトコンドリア膜電位解析にてアポトーシス誘導効果を、western blotting法にて細胞周期関連蛋白およびアポトーシス関連蛋白の発現変化を検討した。 結果 Cucurbitacin Dを添加し、48時間培養後、すべての子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株の細胞増殖が抑制されていた。細胞周期解析ではG2/M arrestが生じており、annexin V assayおよびミトコンドリア膜電位解析にてアポトーシスが誘導されていた。Western blotting法にて、細胞周期関連蛋白のp21<sup>WAF1</sup>とp27<sup>KIP1</sup>の発現が増加し、cyclin Aとcyclin Bの発現が減少していた。アポトーシス関連蛋白では、子宮内膜癌細胞株においてBcl-2とBcl-xLの発現が減少しており、また子宮内膜癌および卵巣癌の両者の細胞株においてcaspase-3, caspase-9およびcleaved PARPの増加がみられた。 考察 Cucurbitacin Dは子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株において細胞増殖抑制効果とアポトーシス誘導効果を有することが明らかになった。またwestern blotting法によりcucurbitacin Dがp21<sup>WAF1</sup>とp27<sup>KIP1</sup>の発現を増加させて、細胞周期のG2/M arrestと細胞増殖抑制を惹起していること、さらにcaspase-3, -9の活性化を介してアポトーシスを誘導している可能性が示唆された。 今後さらにcucurbitacin Dの抗腫瘍効果の機序を検討することにより、子宮内膜癌および卵巣癌に対する新規抗癌薬剤の開発につながることを期待される。</p> <p>本論文は、正常細胞に毒性の少ないCucurbitacin Dの子宮内膜癌細胞株と卵巣癌細胞株に対する抗腫瘍効果を初めて証明したもので、現在まで有効な治療法のない両婦人科癌の進行癌や再発癌に対する新規抗癌剤の開発に有用な研究である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

# 学 位 論 文 要 旨

氏名 石井 照和

## 論 文 題 目

Cucurbitacin D induces growth inhibition, cell cycle arrest, and apoptosis in human endometrial and ovarian cancer cells.

(Cucurbitacin D はヒト子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株に対して細胞増殖抑制、細胞周期停止、アポトーシス誘導効果を持つ)

## 要 旨

### 緒言

子宮内膜癌および卵巣癌は婦人科癌として最も一般的な悪性疾患であり、近年罹患率の増加が問題となっている。進行癌および再発癌に対しては化学療法が行われるが、現在のところその効果は満足のものではない。Cucurbitacin はウリ科やアブラナ科の植物から抽出された triterpenoid であり現在までに 12 種が報告されている。このうち cucurbitacin D は肝細胞癌細胞株や T cell 白血病細胞株など種々の癌細胞株に対し細胞増殖抑制効果およびアポトーシスの誘導効果が報告されている。これまで婦人科癌に対する検討はなされていないため、今回子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株に対する cucurbitacin D の抗腫瘍効果について検討した。

### 研究対象および方法

子宮内膜癌細胞株(HHUA、Ishikawa、HEC59)、卵巣癌細胞株(SK-OV-3、OVCAR-3、TOV-112D)に cucurbitacin D を添加し、WST-1 assay を用いて細胞増殖抑制効果を検討した。ついで、Flow

cytometry を用いて、cucurbitacin D の細胞周期に対する影響を検討した。また、annexin V assay、ミトコンドリア膜電位解析を行い、アポトーシス誘導効果の検討を行った。さらに、細胞周期関連タンパクおよびアポトーシス関連タンパクの発現変化を western blotting 法を用いて検討した。

#### 結果

Cucurbitacin D を添加し 48 時間培養した後、WST-1 assay を行ったところ、すべての子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株において細胞増殖の抑制が生じていた。細胞周期解析では G2/M arrest が生じており、annexin V assay およびミトコンドリア膜電位解析ではアポトーシスが誘導されていた。Western blotting 法において細胞周期関連タンパクでは p21<sup>WAF1</sup>、p27<sup>KIP1</sup> の発現が増加し、cyclin A、cyclin B の発現が減少していた。アポトーシス関連タンパクでは子宮内膜癌細胞株において Bcl-2、Bcl-xL の発現が減少していた。また、両者において caspase-3、caspase-9、cleaved PARP の発現が増加していた。

#### 考察

Cucurbitacin D が子宮内膜癌細胞株および卵巣癌細胞株に対して in vitro において細胞増殖抑制効果およびアポトーシス誘導効果を有することが明らかとなった。さらに、western blotting 法により cucurbitacin D が p21<sup>WAF1</sup>、p27<sup>KIP1</sup> を介して細胞周期の停止、細胞増殖の抑制を生じている可能性が示唆された。また、cucurbitacin D が caspase-3、-9 を介してアポトーシスを誘導している可能性が示唆された。今後さらに Cucurbitacin D の抗腫瘍効果の機序を検討することにより子宮内膜癌および卵巣癌に対する新規抗腫瘍剤の開発につながることを期待される。