

酵素消化低分子化フコイダン抽出物 と抗ガン剤との組合せによる ガン細胞アポトーシス増強効果

九州大学大学院農学研究院
生命機能科学部門
白畑 實隆

酵素消化低分子フコイダン抽出物と 抗ガン剤併用による抗腫瘍効果の増強

・ シスプラチン

白金を含む抗ガン剤。

がん細胞の2本のDNA鎖と結合することで、DNAの複製を妨げ、がん細胞を死滅させる。細胞周期阻害。

適応となるがん

肺がん、膀胱がん、前立腺がん、卵巣がん、食道がん、胃がん、子宮頸がん、悪性リンパ腫など。

主な副作用

激しい副作用がある。もっとも深刻なものは腎不全などの腎臓機能の障害。

・ マイトマイシン

抗がん性抗生物質。

アルキル化剤と同じようにDNAの分裂阻止や、活性酸素によるDNA鎖切断などによってDNAの複製を阻害し、抗がん作用を発揮する。細胞周期阻害。

適応となるがん

慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、頭頸部がん、肺がん、胃がん、大腸、肝臓がん、膵臓がん、子宮頸がん。

主な副作用 骨髄抑制。腎障害。

・ タモキシフェン

乳がん細胞のエストロゲン受容体をブロックし、細胞の増殖を抑制する。ホルモン療法として使用。

適応となるがん

乳がんなど。

主な副作用

強くない。目のかすみなど。

・ パクリタキセル（タキソール）

微小管に結合して安定化させ脱重合を阻害することで、腫瘍細胞の分裂を阻害する。細胞周期阻害。

適応となるがん

卵巣がん、非小細胞肺がん、乳がん、胃がん、子宮体がんなど。

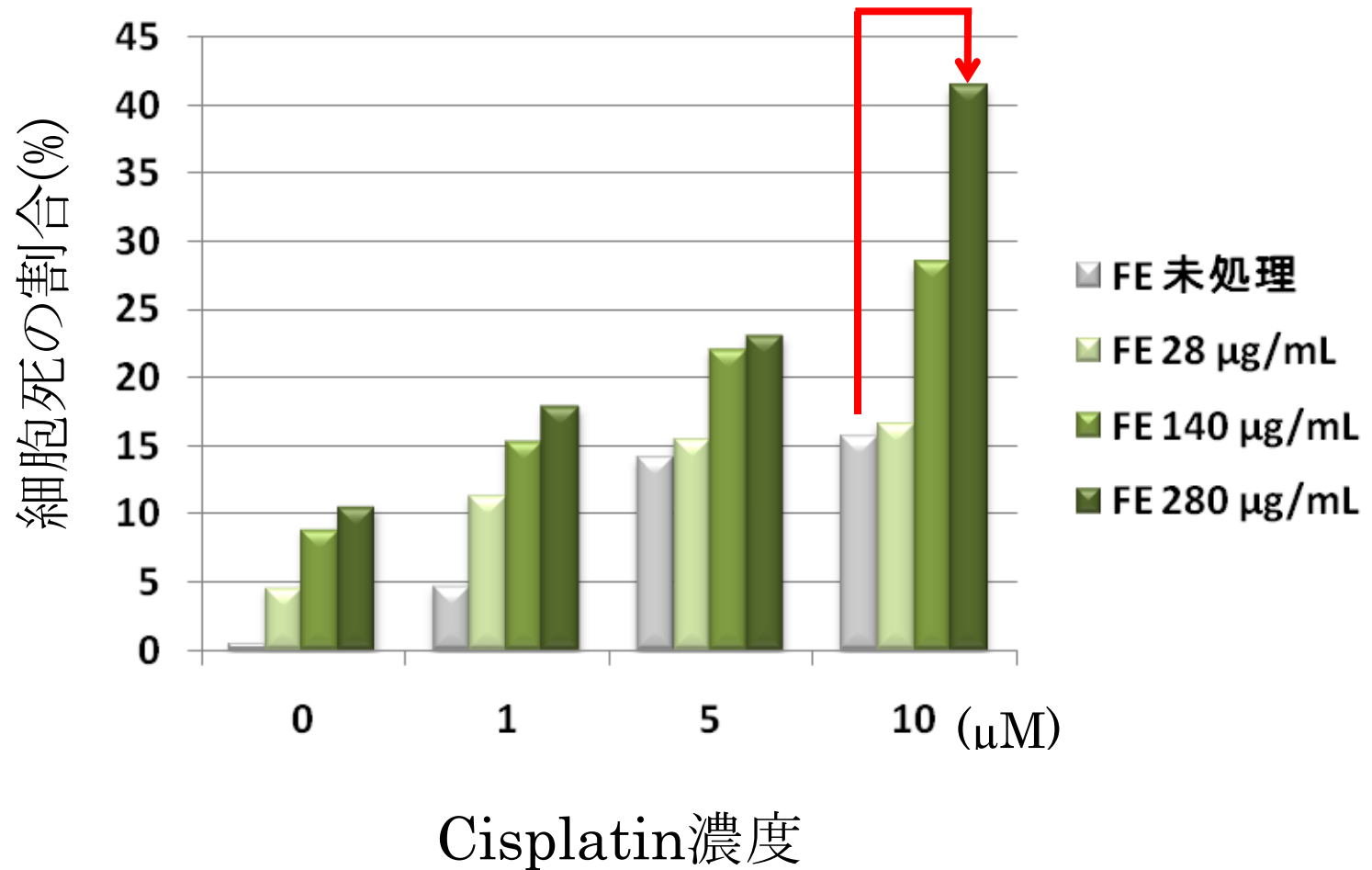
主な副作用

発熱、骨髄抑制、関節や筋肉の痛み、比較的軽い吐き気や嘔吐、そして頭髪以外の体毛を含めた全身的な脱毛。深刻なアレルギー症状が現れることもある。

ヒト線維肉腫細胞(HT1080)における低分子化フコイダンの効果

48 時間処理

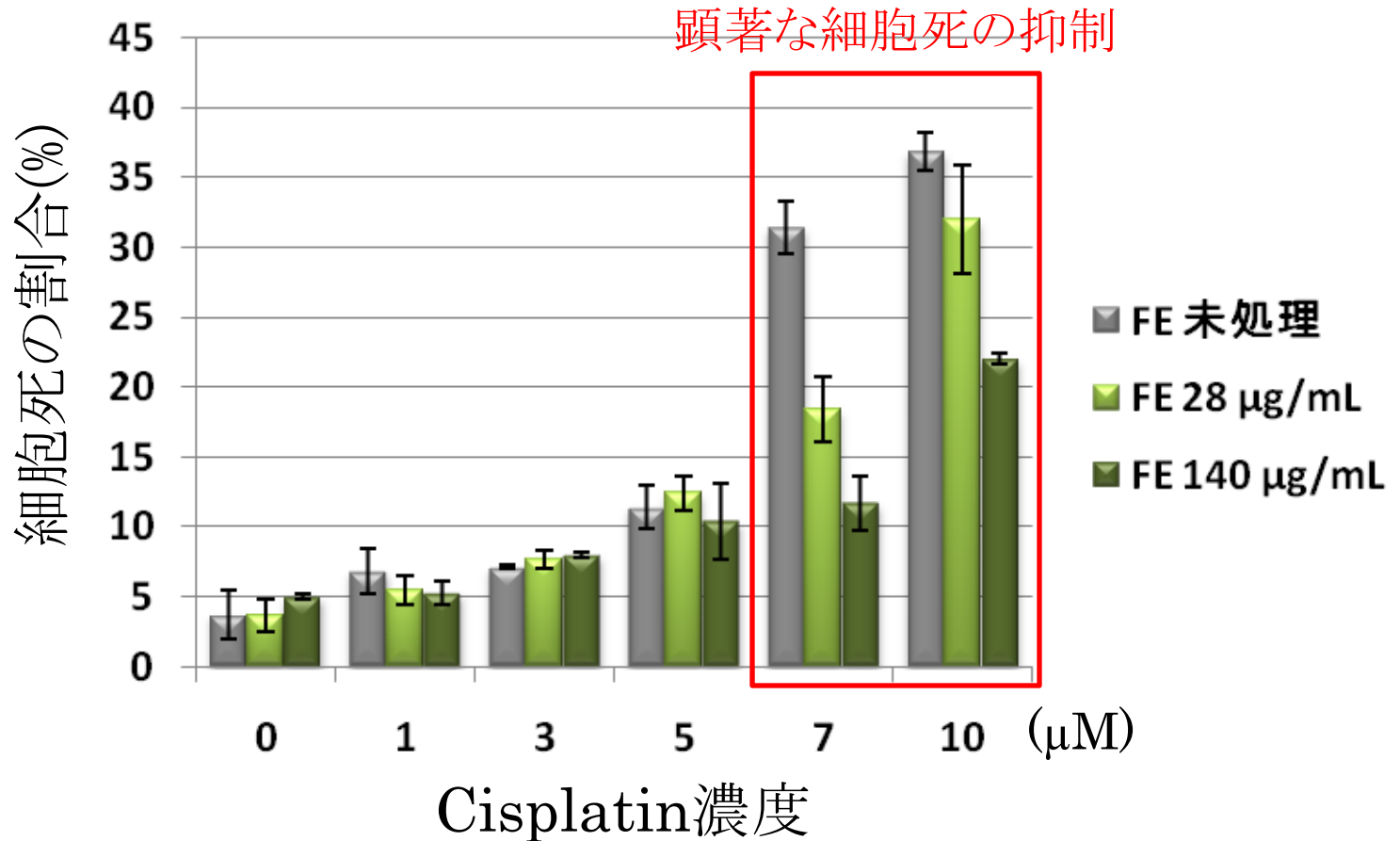
顕著な細胞死誘導



酵素消化低分子化フコイダン抽出物が、抗ガン剤cisplatinによる細胞死誘導を増強

正常細胞(TIG-1)における低分子化フコイダンの効果

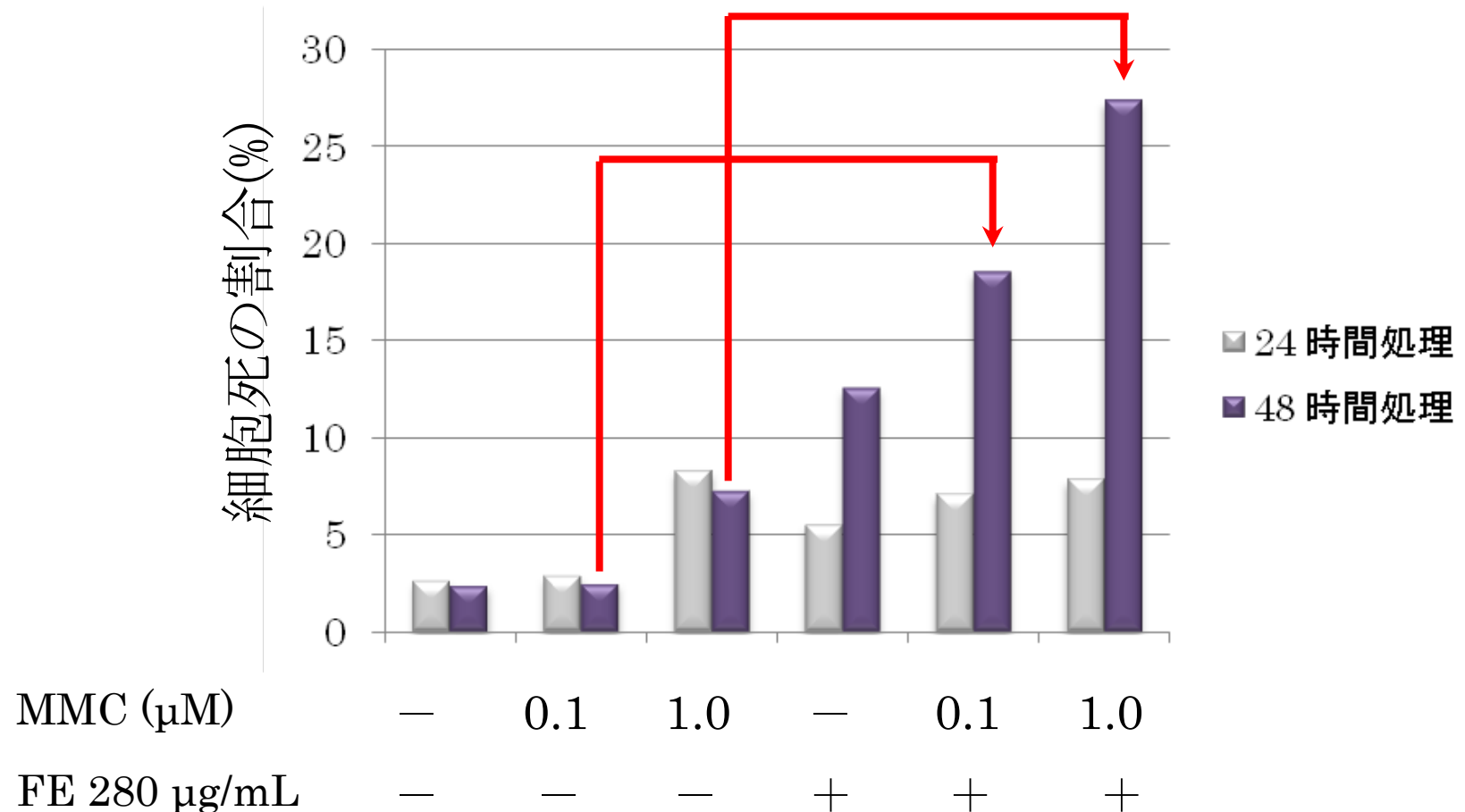
48 時間処理



酵素消化低分子化フコイダン抽出物が、抗ガン剤cisplatinによる細胞死誘導を抑制

ガン細胞(HT1080)における低分子化フコイダンの効果2

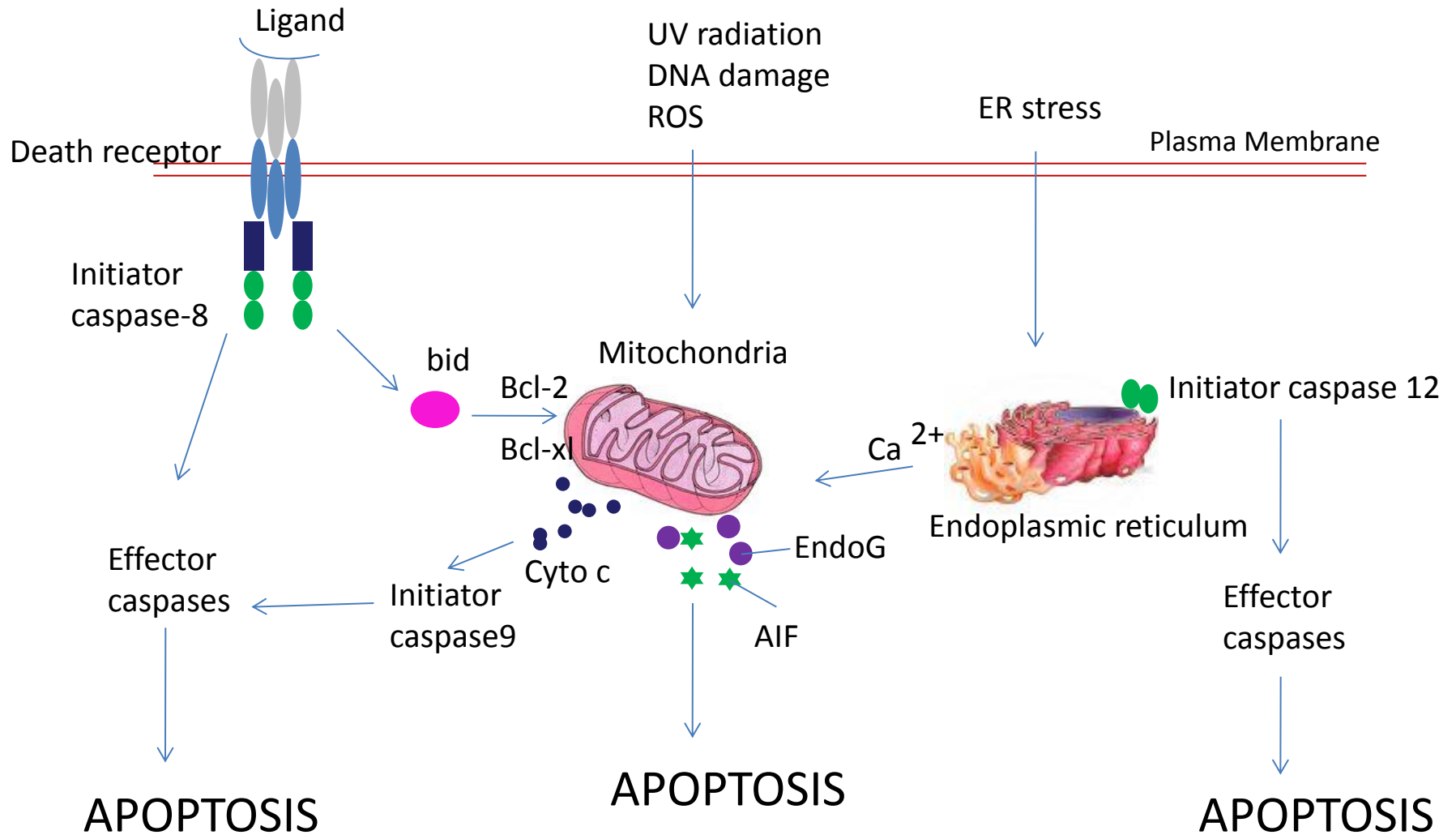
抗ガン剤MitomycinC(MMC)使用



酵素消化低分子化フコイダン抽出物が、
抗ガン剤MitomycinCによる細胞死誘導も増強

EXTRINSIC PATHWAY

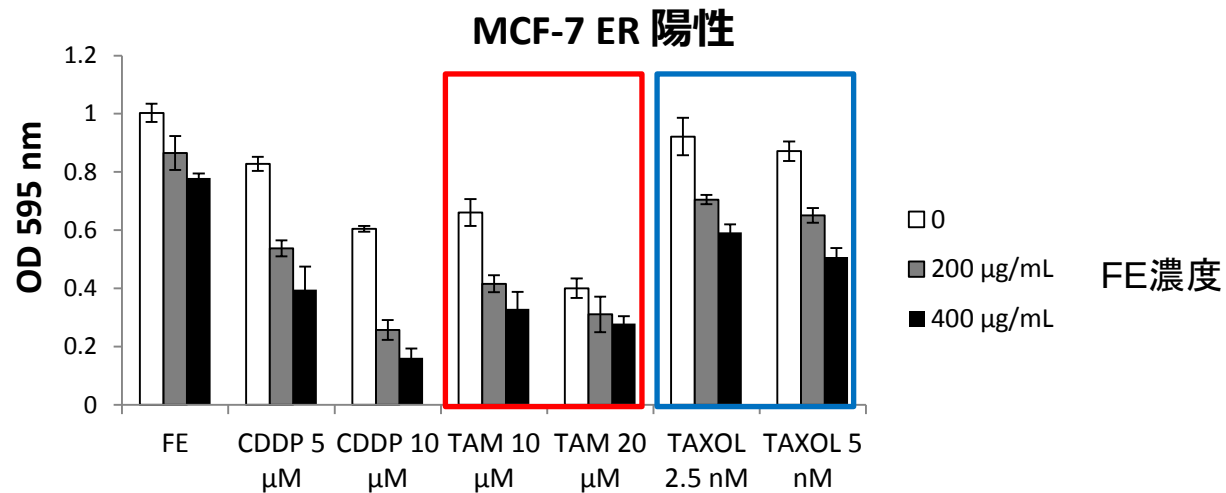
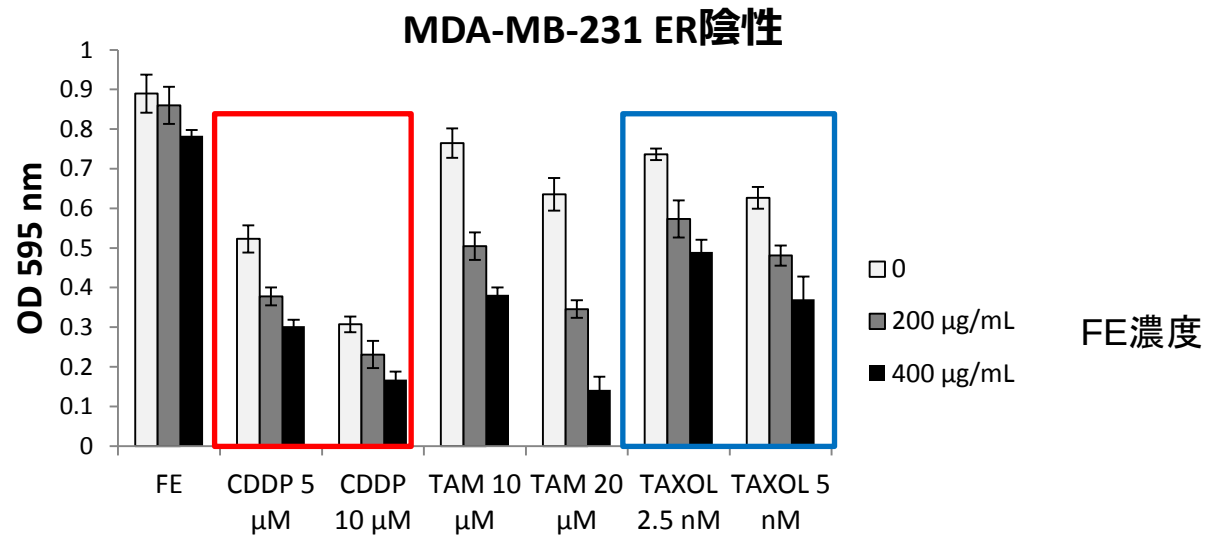
INTRINSIC PATHWAY



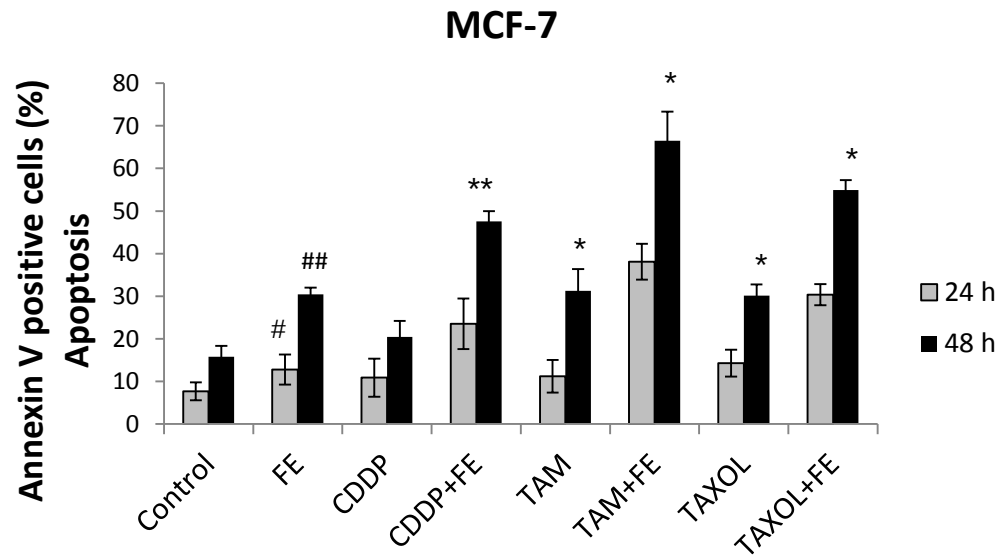
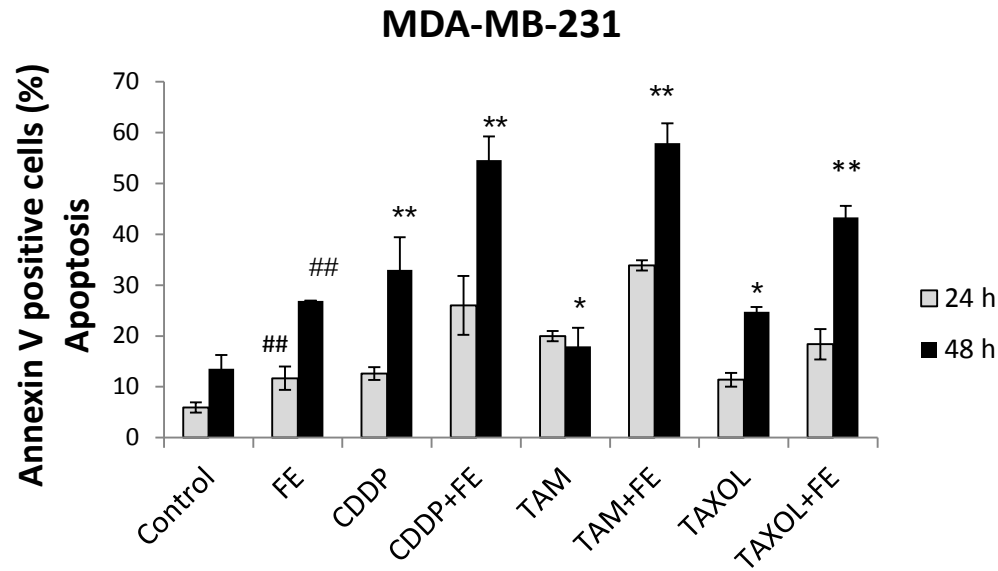
Materials and Methods

- **Cell lines:** MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells
- **Cell proliferation assay:** MTT assay
- **Flow cytometric analysis:** Sub-G1 assay
- **Apoptosis assay:** Annexin-V/PI double staining
- **Measurement of intracellular ROS:** DCFH-DA probe
- **Proteins assay :** Western blotting assay
- **Glutathione assay:** Glutathione assay kit

FEと抗ガン剤の組合せによる細胞毒性増強効果



FEと3種の抗ガン剤の組合せは乳ガン細胞の増殖を相乗的に抑制する。



FEは抗ガン剤による乳ガン細胞のアポトーシス誘導を相乗的かつ時間依存的に増強する。

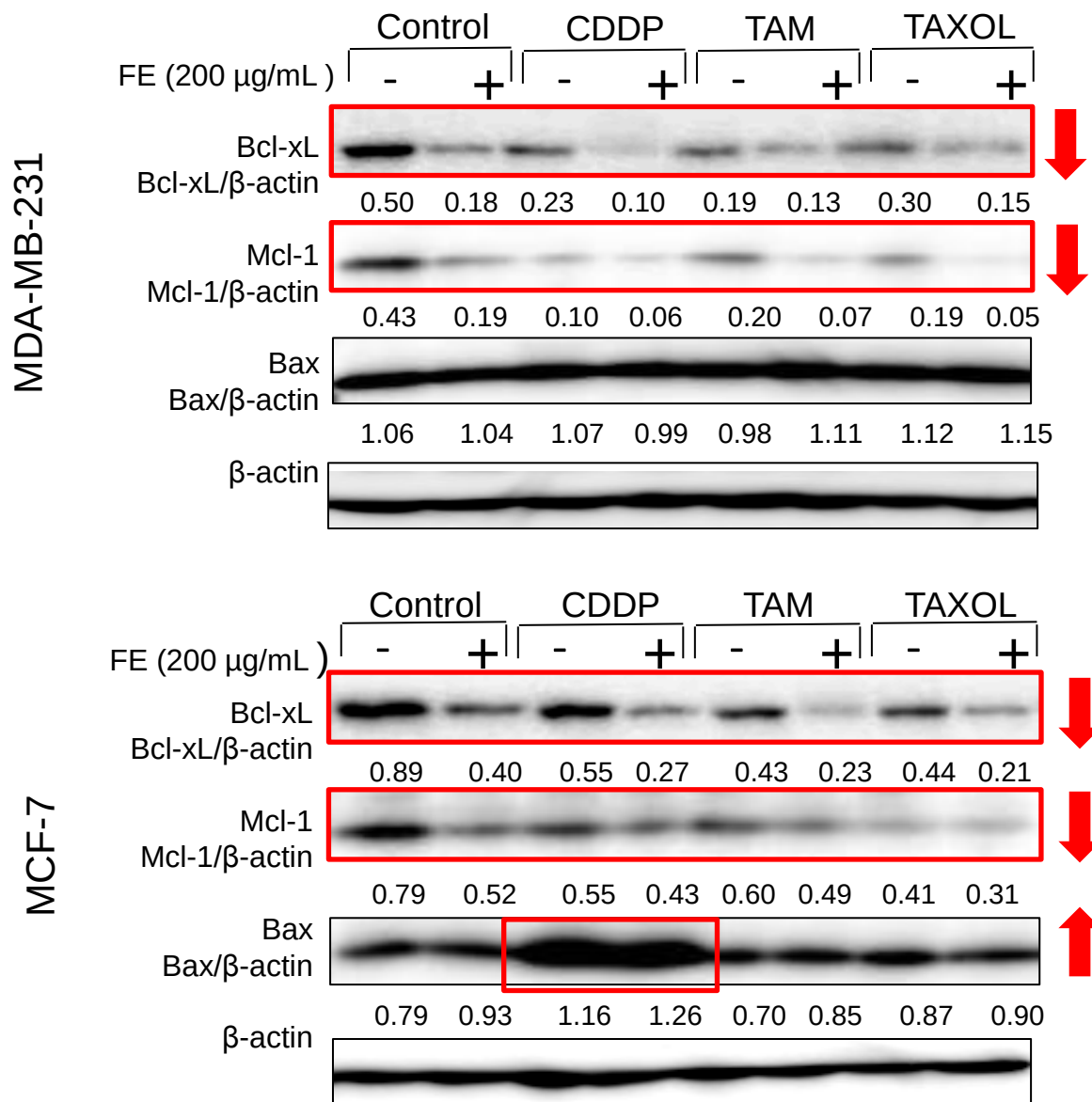
FEと抗ガン剤による細胞周期拘束の相乗的誘導

Treatment	MDA-MB-231				MCF-7			
	G1	S	G2/M	Sub-G1	G1	S	G2/M	Sub-G1
Control	65.9±2.8	21.9±2.0	12.2±1.8	1.9±0.2	54.6±5.2	31.7±2.5	13.7±0.5	5.0±0.2
FE(200 µg/mL)	68.7±1.0	18.8±1.6	12.5±0.9	10.7±0.8	57.3±4.8	27.5±1.5	15.2±1.2	13.6±1.0
CDDP(5 µM)	13.7±0.3	29.4±3.5	56.9±3.2	17.5±4.3	37.1±1.4	14.1±1.0	48.8±1.5	8.9±1.5
CDDP+FE	19.9±0.7	21.4±0.6	58.7±0.4	37.8±6.2	26.2±2.5	29.0±2.6	44.8±2.0	32.4±3.6
TAM(10 µM)	66.6±3.6	23.3±2.1	10.1±1.6	4.9±0.6	63.7±2.2	18.9±1.5	17.4±0.9	12.6±0.9
TAM+FE	60.8±2.0	22.7±1.5	16.5±1.5	18.3±2.1	67.8±2.4	17.6±1.6	14.6±1.1	46.5±4.3
TAXOL(2.5 nM)	54.5±2.0	20.5±1.5	25±0.8	6.4±0.4	54.2±2.2	16.9±1.3	29.1±0.8	8.4±0.6
TAXOL+FE	53.7±1.9	22.1±2.1	24.2±1.6	25.8±2.4	49.8±2.6	21.8±1.0	28.4±0.7	20.6±0.3

☆併用処理は細胞周期の相乗的変化を誘導する。

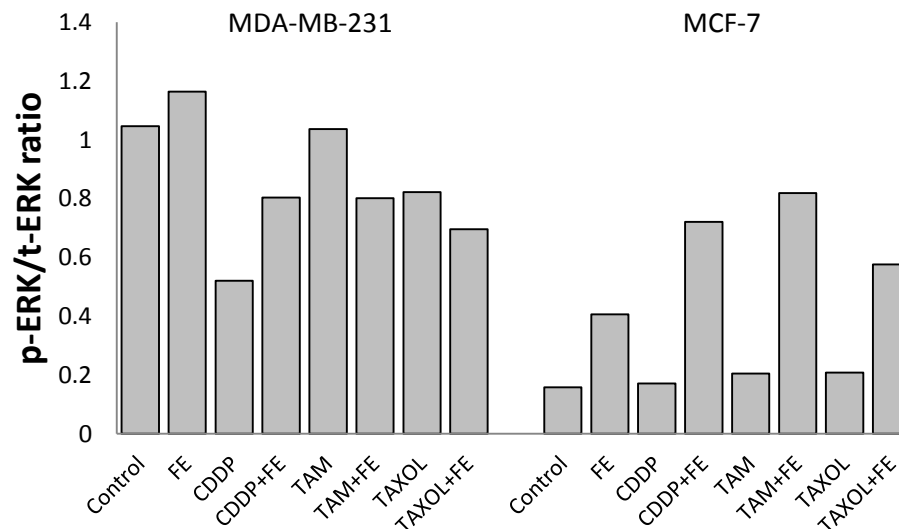
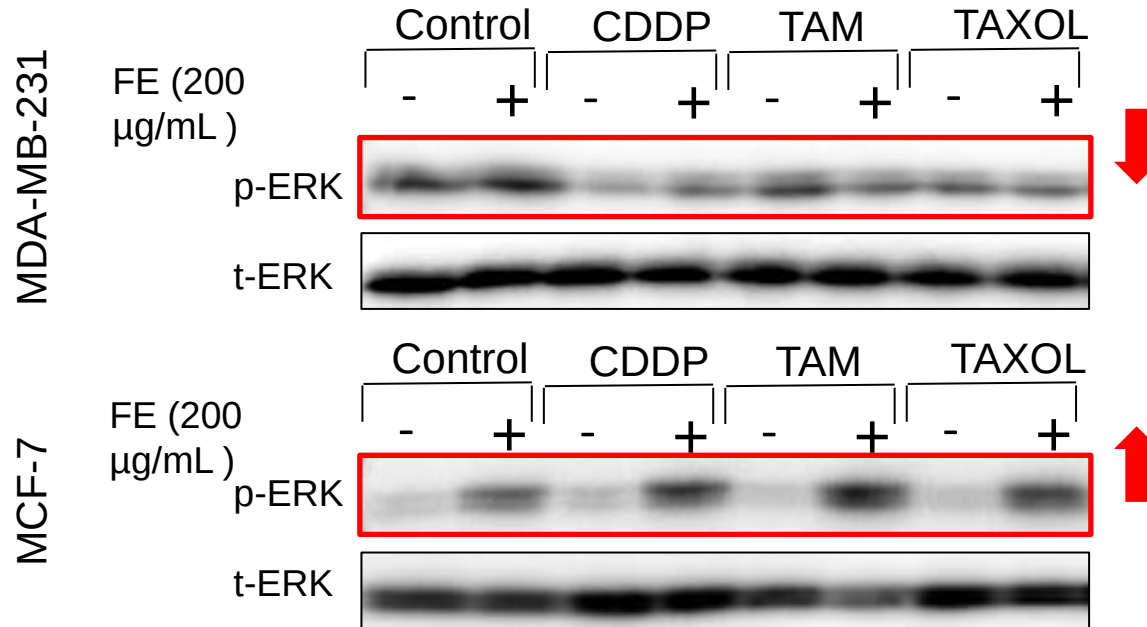
☆FEと抗ガン剤の併用は単独処理の場合よりもより効率的に細胞死を誘導する。

抗アポトーシスタンパク質Bcl-2ファミリー発現の相乗的抑制

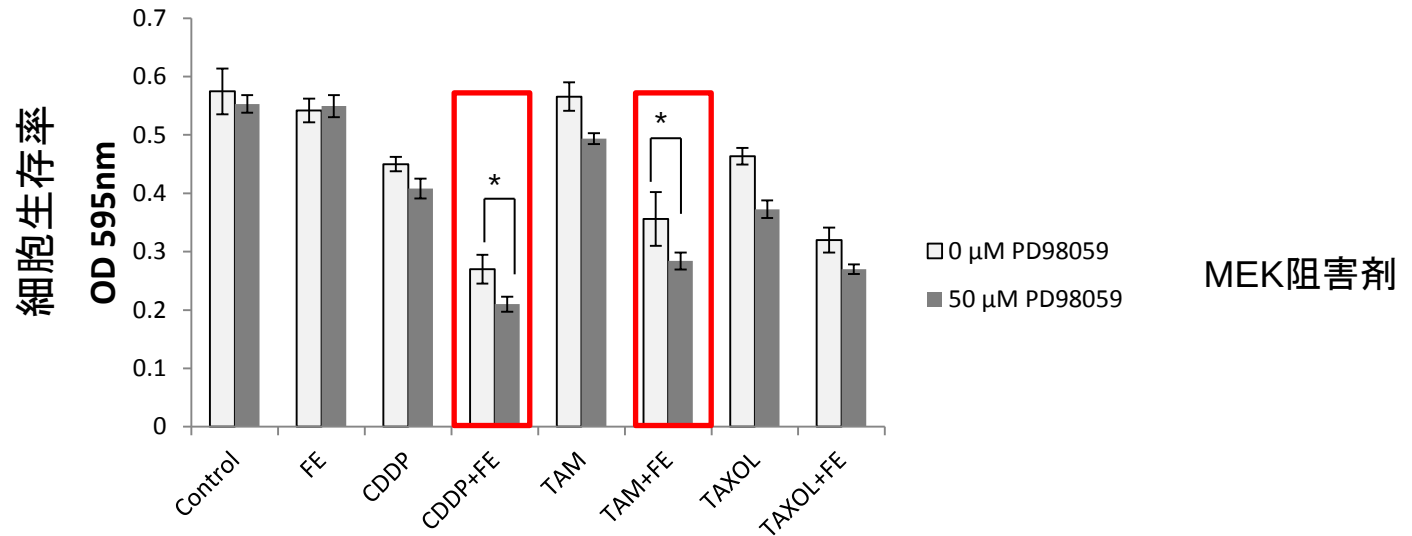


FEと抗ガン剤の併用処理はBcl-2ファミリータンパク質の相乗的な発現変化を誘導する。

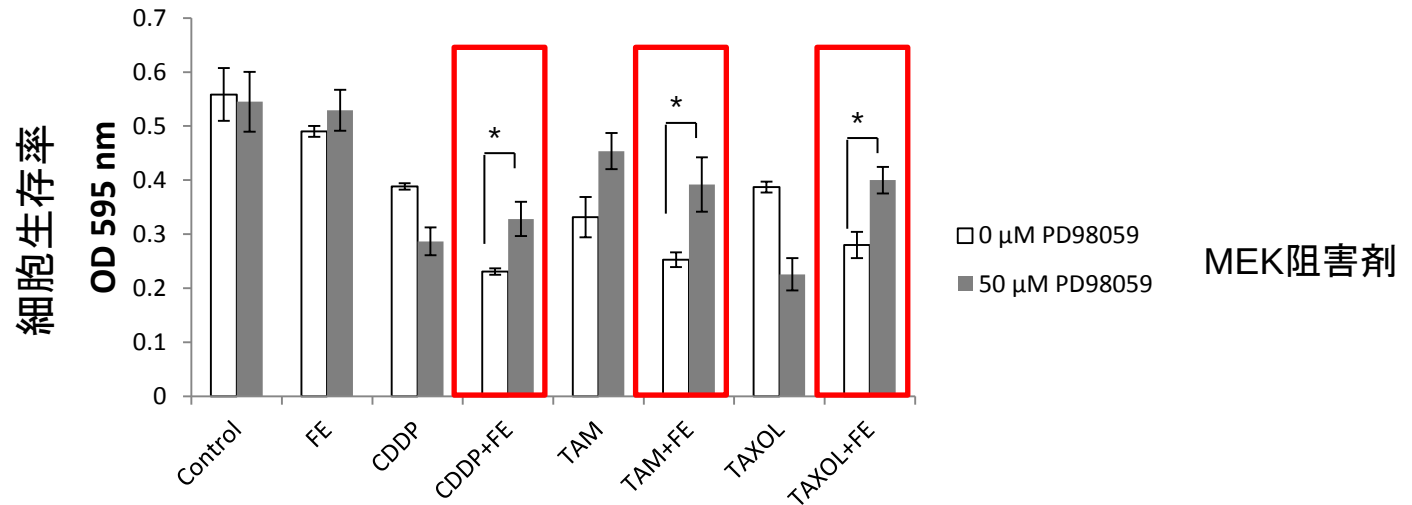
FEと抗ガン剤の併用処理はガン細胞の種類により異なるERKリン酸化の変化を起こす。



MDA-MB-231

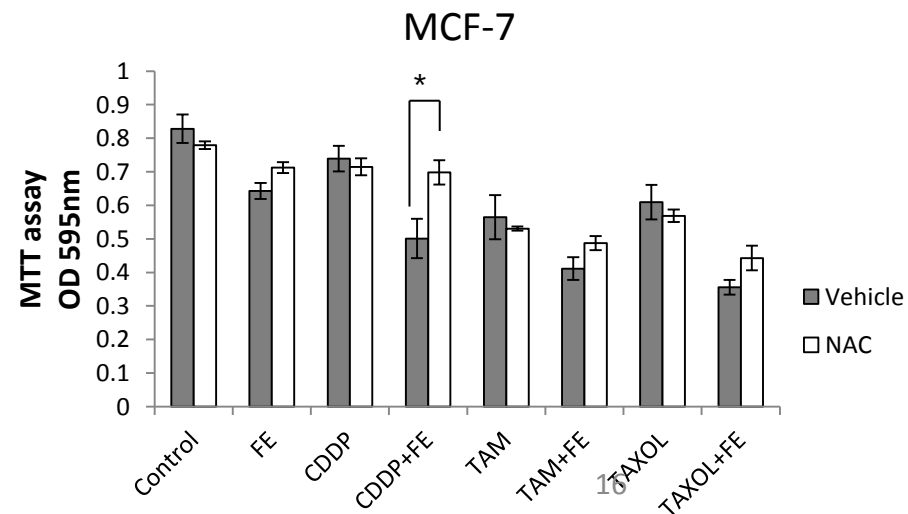
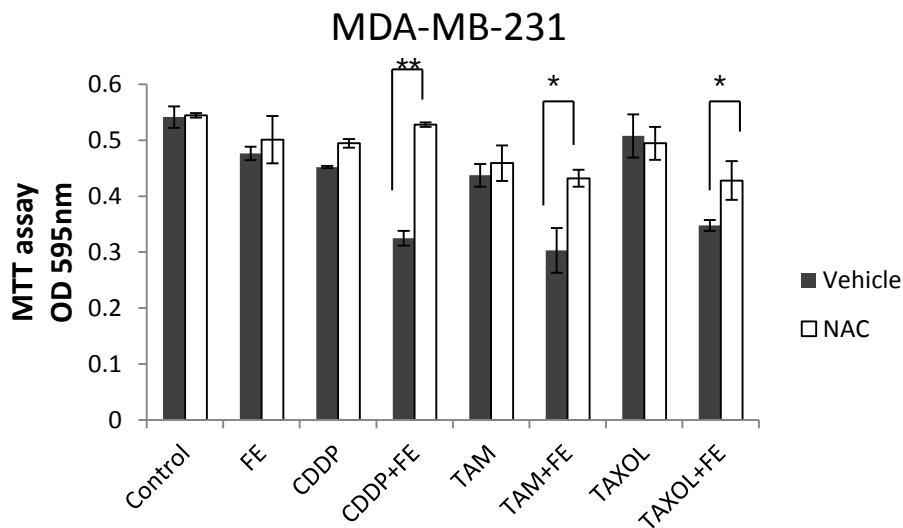
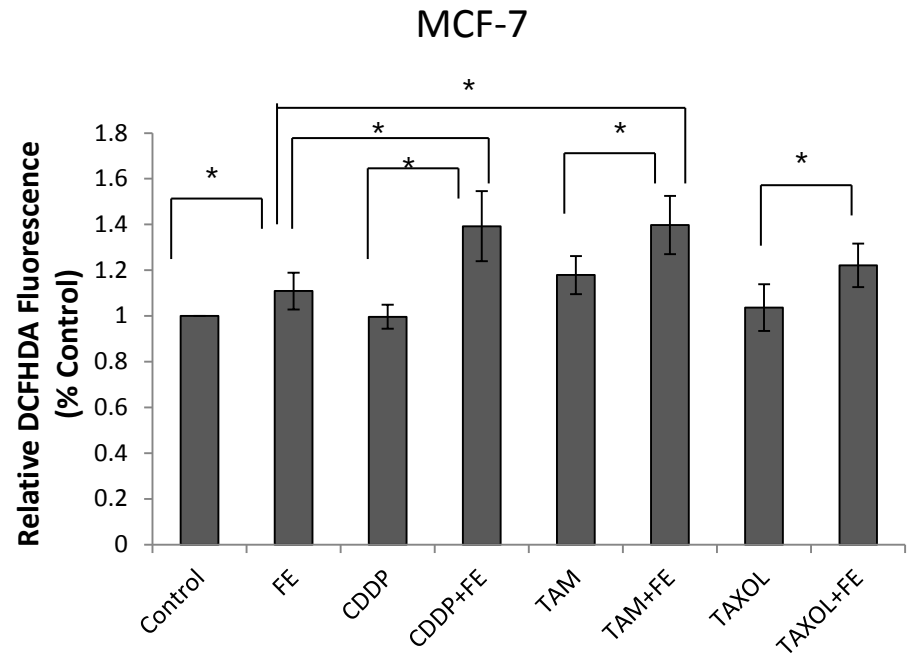
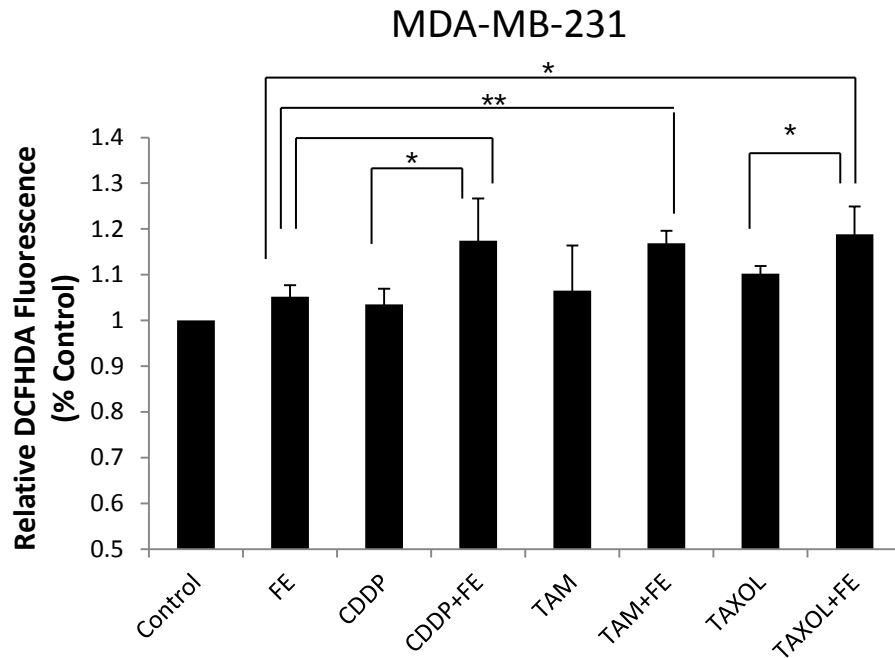


MCF-7



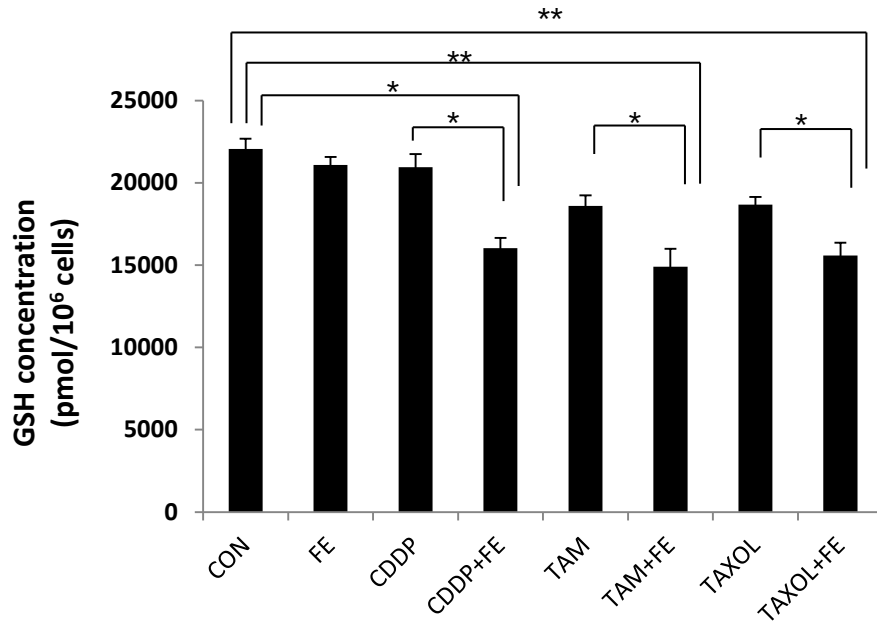
MEK阻害剤存在下で、MDA-MB-231乳ガン細胞はFEと抗ガン剤の併用処理で細胞生存率が低下したが、MCF-7細胞では逆に生存率が上昇した。併用処理によりシグナル伝達経路への影響が異なるものと推測される。

活性酸素種(ROS)レベルの相乗的誘導

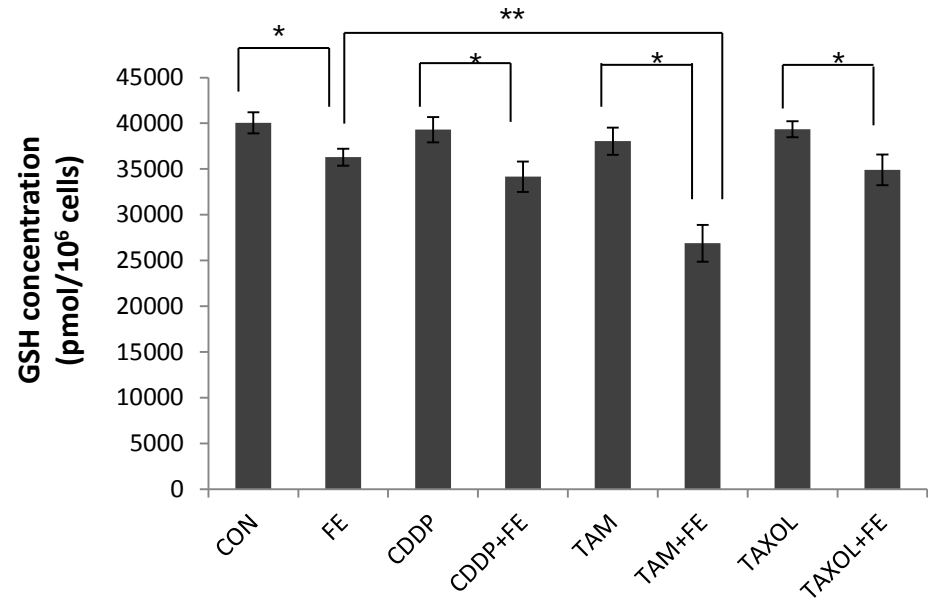


グルタチオンGSHレベルの相乗的誘導

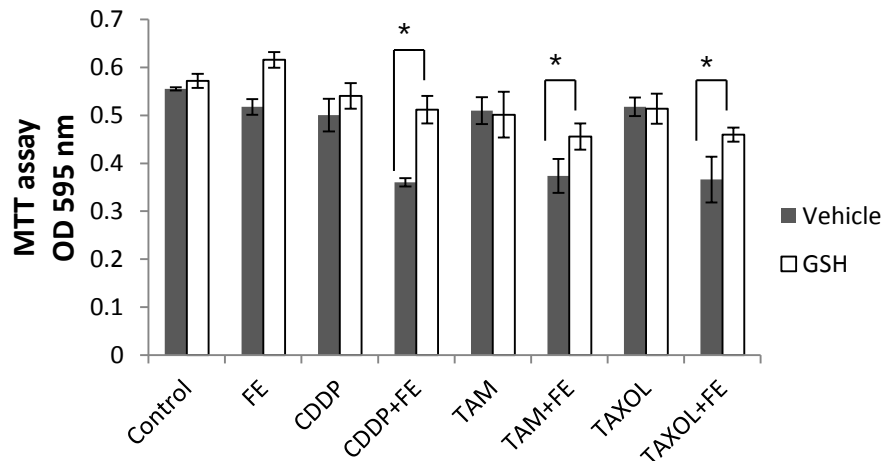
MDA-MB-231



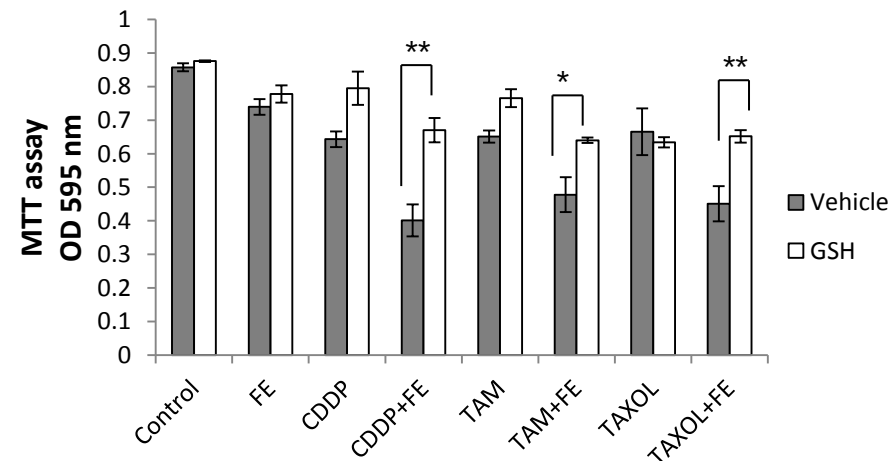
MCF-7



MDA-MB-231



MCF-7



併用処理による細胞死誘導には酸化ストレスが関与していることを示唆している。

ディスカッション

- フコイダンと3種の抗ガン剤の併用はガン細胞の増殖を相乗的に抑制した。
- 併用処理はガン細胞の細胞周期分布を変化させた。
- 併用処理はFEによるBcl-2発現、及びERKとAktのリン酸化を修飾し、MDA-MB-231細胞とMCF-7ではアポトーシス経路において異なる影響を示した。
- 細胞内ROSの産生とGSHの枯渇は併用処理乳ガン細胞における細胞死に関係している。