

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Licochalcone A inhibits BDNF and TrkB gene expression and hypoxic growth of human tumor cell lines
別タイトル	リコカルコンAはBDNFとTrkBの遺伝子発現ならびにヒト癌由来細胞株の低酸素下での増殖を抑制する
作成者（著者）	有田, 通恒
公開者	東邦大学
発行日	2020.08.27
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：三上哲夫 / タイトル：Licochalcone A inhibits BDNF and TrkB gene expression and hypoxic growth of human tumor cell lines / 著者：Michitsune Arita, Junichi Koike, Nobuji Yoshikawa, Motonari Kondo, Hiromichi Hemmi / 掲載誌：International Journal of Molecular Sciences / 巻号・発行年等：21(2):506, 2020
著者版フラグ	none
報告番号	32661乙第2931号
学位記番号	乙第2773号
学位授与年月日	2020.08.27
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD18445385

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

有田通恒より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2773 号

学位申請者 : あり 有 田 通 恒

学位論文 : Licochalcone A inhibits *BDNF* and *TrkB* gene expression and hypoxic growth of human tumor cell lines

(リコカルコン A は BDNF と TrkB の遺伝子発現ならびにヒト癌由来細胞株の低酸素下での増殖を抑制する)

著者 : Michitsune Arita, Junichi Koike, Nobuji Yoshikawa, Motonari Kondo, Hiromichi Hemmi

公表誌 : International Journal of Molecular Sciences 21 (2): E506, 2020
DOI: 10.3390/ijms21020506

論文内容の要旨 :

外科的切除が困難な進行癌を治療する上で、腫瘍の特性に根ざした化学療法や分子標的療法の開発に寄せられる期待は依然として大きい。進行癌克服の端緒として着目されている特性のひとつが、腫瘍細胞の低酸素性環境への適応である。腫瘍塊を構成する腫瘍細胞が低酸素性の癌微小環境に適応して増殖・生存する特性は固形腫瘍に共通して見られ、腫瘍悪性の進展に大きな役割を果たしている。低酸素環境に適応するために、個々の腫瘍細胞は遺伝子発現パターンを変えることで、細胞外での活発な血管新生に加えて、細胞内での解糖優位なエネルギー産生を実現している。低酸素下での代謝系のシフトは細胞外環境を酸性に傾かせるとともに、腫瘍細胞の上皮間葉転換を介した浸潤と転移を誘導する。これらの過程で中心となるシグナル伝達系として phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/AKT/mTOR) とその上流のレセプター型チロシンキナーゼ (RTK) で構成される経路が知られている。

PI3K/AKT/mTOR 経路は上流に位置する RTK にリガンドが結合することで活性化されるが、腫瘍でしばしば活性化している RTK の一つが tropomyosin receptor kinase B (TrkB) である。当初、TrkB はその高親和性リガンドである brain-derived neurotrophic factor (BDNF) とともに神経芽腫の予後不良因子として見いだされたが、その後、子宮癌、乳癌、大腸癌など種々の癌種での高発現が報告された。現在では、TrkB と BDNF がこれら癌の予後不良と相関する知見が蓄積してきている。また、TrkB は癌の転移

でも主要な働きをすることが種々の実験モデルで確かめられてきた。ラットの小腸上皮細胞株の系やヒト癌移植担癌モデルマウスなどがその例である。これらに加えて、TrkB の発現が低酸素下で亢進する知見を考え合わせると、低酸素下での BDNF/TrkB の発現亢進は、神経芽腫や大腸癌など種々の進行癌の治療標的として期待できる。

Licochalcone A (LicA) は甘草由来のフラボノイドであり、胃癌や肺癌、子宮癌などのヒト癌由来細胞株を用いた複数の研究からその抗腫瘍効果が報告されている。これまでの研究では、LicA が PI3K/AKT/mTOR パスウェイ上に位置するシグナル伝達物質の活性化を抑制することは示されているものの、これら伝達物質上流の TrkB や BDNF への影響や低酸素下での細胞増殖に関する知見はない。そこで、本研究では、低酸素下での細胞増殖に対する LicA の作用を評価するところから始めた。神経芽腫や大腸癌など種々の癌種を由来とするヒト細胞株を用いて、これら細胞株の低酸素下での増殖に対する LicA の影響を調べたところ、すべての細胞株で増殖抑制活性を示した。低酸素下での TrkB やそのリガンドの発現パターンを調べると、TrkB のみならずリガンドである BDNF の mRNA 量も経時的に上昇することがわかった。そして、LicA は TrkB と BDNF のいずれの mRNA 亢進も抑制することが明らかとなった。また、TrkB と BDNF 各々のプロモーター活性に対する LicA の影響から、LicA による mRNA 量の低下は転写レベルでの抑制によることを見いだした。一方、TrkB の低親和性リガンド neurotrophin-4 や低酸素下で発現が亢進する glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase に対しては LicA の抑制活性が認められなかったことから、LicA による TrkB と BDNF の転写抑制活性にはある種の選択性があると考えられた。さらに、LicA が低酸素下での AKT のリン酸化を抑制したことと、TrkB のノックダウンでも AKT リン酸化と細胞増殖が抑制されたことから、低酸素下における LicA の細胞増殖抑制活性は TrkB-AKT シグナル伝達経路の抑制を経て発揮されることが明らかとなった。

本研究論文では、固形腫瘍が低酸素性微小環境で悪性化する特性に着目し、低酸素下での腫瘍細胞の増殖に寄与する BDNF/TrkB の発現を転写レベルで抑制することで LicA が低酸素下でも抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。今後、LicA による遺伝子転写抑制のメカニズムが解明されれば、低酸素下で悪性化する進行癌の新たな治療標的分子へと繋がることが期待できる。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2773 号	氏 名	有 田 通 恒
学位審査担当者	主 査	三 上 哲 夫
	副 査	船 橋 公 彦
	副 査	高 橋 啓
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	内 藤 篤 彦

学位論文の審査結果の要旨：

癌を治療する上で、腫瘍の特性に根ざした化学療法や分子標的療法の開発に寄せられる期待は大きい。腫瘍細胞には低酸素性環境への適応現象があり、それは腫瘍塊を構成する腫瘍細胞が低酸素性の癌微小環境に適応して増殖・生存する特性であり、腫瘍の進展に大きな役割を果たしている。低酸素下での腫瘍細胞の変化において中心となるシグナル伝達系として phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/AKT/mTOR) とその上流のレセプター型チロシンキナーゼ (RTK) で構成される経路が知られている。PI3K/AKT/mTOR 経路は上流に位置する RTK にリガンドが結合することで活性化されるが、腫瘍で活性化している RTK の 1 つが tropomyosin receptor kinase B (TrkB) である。Licochalcone A (LicA) は甘草由来のフラボノイドであり、ヒト癌由来細胞株においてその抗腫瘍効果が報告されている。そこで、低酸素下での細胞増殖に対する LicA の作用を検討したところ、神経芽細胞腫由来株、大腸癌由来株、子宮頸癌由来株すべての細胞株で増殖抑制活性を示した。低酸素下では TrkB のみならずリガンドである BDNF の mRNA 量も経時的に上昇するが、LicA は TrkB と BDNF のいずれの mRNA 充進も抑制した。TrkB と BDNF 各々のプロモーター活性は LicA により抑制された。さらに、LicA は低酸素下での AKT のリン酸化を抑制するが、TrkB のノックダウンでも AKT リン酸化と細胞増殖が抑制されたことから、低酸素下における LicA の細胞増殖抑制活性は TrkB-AKT シグナル伝達経路の抑制を経て発揮されると考えられた。LicA による遺伝子転写抑制のメカニズムの解明は、低酸素下で悪性化する進行癌に対する新たな治療戦略の開発に繋がるのが期待できる。

学位審査会は、6 月 23 日に審査委員全員の出席により開催された。学位論文についてのプレゼンテーションののち、質疑応答に移った。主に神経芽細胞腫由来株 SK-N-SH を使用して解析した理由、mRNA の減少と増殖抑制にずれがあるのはどう解釈するか、腫瘍内部の低酸素環境では血管が少ないが薬物をどのように腫瘍細胞に到達させるべきか、低酸素環境での培地交換はどのように行ったか、AKT のリン酸化のデータの解釈について、今後、薬として展開させる方向性は、など多岐にわたる質問がなされたが、自身の実験と解釈に基づき的確に返答した。審査委員の全員一致で学位に値する論文と認め、医学研究科委員会に報告することとして、学位審査会を終了した。