



Carrageenan cytotoxic effects in human cells

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2019-01-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Eka Sunarwidhi Prasedya メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000212

論文内容要旨

しめい 氏名	えか すなるういち ぷらせぢあ Eka Sunarwidhi Prasedya
学位論文題名	海藻由来硫酸化多糖類カラギーナンの抗腫瘍効果
<p>背景：カラギーナンは紅藻類に含まれる硫酸化多糖類である。これまでの研究でカラギーナンがヒト細胞において抗腫瘍効果を持つことが報告されてきた。本研究では、ヒト癌細胞に対するカラギーナンの増殖抑制効果の機構について明らかにすることを試みた。</p> <p>手法：κ-カラギーナン(κ-CGN)とλ-カラギーナン(λ-CGN)の HeLa 細胞に対する細胞傷害効果を 250 $\mu\text{g/ml}$ から 2500 $\mu\text{g/ml}$ までの濃度範囲で調べた。細胞の生存率はヘモサイトメーターを用いて計測し、死細胞率の判定は Calcein-AM と PI の二重染色により行なった。細胞周期と増殖の判定は Fucci(Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator)プローブを発現した HeLa 細胞 (HeLa-Fucci)を用いた。カラギーナンの細胞傷害性に対するアニオンチャネル阻害剤の効果については、HeLa 細胞と Caco2 細胞を用いて調べた。この場合のカラギーナンについては、κ-CGN より細胞傷害性が高いことが報告されているλ-CGN を用いた。さらに酸処理により低分子量の水解したλ-CGN と紅藻類 Halimena より抽出したλ-CGN を用いて細胞傷害性の効果を比較した。</p> <p>結果：κ-CGN とλ-CGN に対して 250 $\mu\text{g/ml}$ から 2500 $\mu\text{g/ml}$ までの濃度範囲で HeLa 細胞の細胞増殖、細胞傷害、細胞周期についての影響を調べたところ、両者には違いが認められた。両者とも軽度な細胞傷害性をもつが、細胞傷害性の程度についてはλ-CGN の方がκ-CGN より強い効果があった。細胞増殖抑制効果については、両者ともに認められるがλ-CGN のほうがκ-CGN より抑制効果が高かった。HeLa-Fucci 細胞を用いて細胞周期を観察したところκ-CGN においては、G2/M において細胞周期が停止する傾向にあり結果として細胞周期の遅延が認められた。それに対して、κ-CGN では、G1 と G2/M 期の延長が認められ結果としてより長い細胞周期の遅延が認められた。加水分解したλ-CGN については、加水分解していないλ-CGN に比べより強い細胞増殖抑制効果が HeLa 細胞と Caco2 細胞で認められた。更に、海藻が抽出したλ-CGN については、ヒト細胞において細胞傷害性を示さなかった。また、アニオンチャネル阻害剤の投与により、HeLa 細胞と Caco2 細胞におけるλ-CGN の細胞傷害性が軽減した。</p> <p>結論：これらの結果から、カラギーナンが細胞周期に作用することで増殖抑制が起きることが明らかとなった。λ-CGN は、κ-CGN より強い HeLa 細胞に対する傷害性をもつ。加水分解により低分子量となったλ-CGN は HeLa 細胞と Caco2 細胞に対する細胞傷害性が高まるがアニオンチャネル阻害剤でその効果が抑制されることから、λ-CGN がある種のアニオンチャネルを介して細胞内に入ることにより効果が現れることが示唆された。</p>	

学位論文審査結果報告書

平成 29 年 9 月 1 日

大学院医学研究科長

下記の通りに学位論文の審査を終了したので報告します。

審査結果要旨

氏名 Eka Sunarwidhi Prasedya

学位論文題名

Carrageenan cytotoxic effects in human cells

(海藻由来硫酸化多糖類カラギーナンの細胞傷効果)

審査要旨

本論文は、食品添加物として広く使用されている海藻由来の硫酸化多糖類であるカラギーナン(CGN)の細胞に対する作用について検討した研究であり、主要部分は BMC Complement Altern Med.(2016) 16:270. doi: 10.1186/s12906-016-1199-5)に発表された既発表論文として、審査会は平成 29 年 7 月 19 日に行われた。CGN は食品添加物として汎用されると同時に、抗腫瘍活性を初めとした様々な生理作用を持つことが報告されている。CGN は複雑な構造多様性を持つ多糖類の総称であることから、本研究では、複数の特性を持つ CGN を用いて、HeLa 細胞、HUVEC 細胞に添加した場合の影響について、細胞増殖、細胞周期への影響が調べられた。

審査に先立って、提出された論文に対して、データ表記、統計、細胞画像解析について、審査員より修正が求められた。審査会では、それらを修正されたものに対して質疑が行われ、質疑に対応した修正稿が 8 月 18 日に再度提出された。最終稿では、主に問題とされた統計処理、データの一貫性、予備的データの取り扱い、また、記述も修正された。

この研究の結果、CGN はその種類と細胞種によっては細胞傷害を示すことが明らかにされた。この最終稿を持って、本論文は博士（医学）号授与に値すると判断された。

論文審査委員 和田郁夫

論文審査委員 大平弘正

論文審査委員 千葉英樹