

大学名	北陸先端科学技術大学院大学		
University	Japan Advanced Institute of Science and Technology		
外国人研究者	エーエイチエム クルシッド アラム		
Foreign Researcher	AHM Khurshid Alam		
受入研究者	塚原 俊文	職名	教授
Research Advisor	Toshifumi Tsukahara	Position	Professor
受入学部/研究科	先端科学技術研究科		
Faculty/Department	Graduate School of Advanced Science and Technology		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	バングラデシュ
Nationality	Bangladeshi
所属機関	ラジシャヒ大学
Affiliation	Rajshahi University
現在の職名	教授
Position	Professor
研究期間	平成30年12月15日～平成31年3月13日(89日間)
Period of Stay	89days (12, 15, 2018 - 3, 13, 2019
専攻分野	薬学
Major Field	Pharmacy



96ウェルプレートを利用した実験の準備

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

①研究課題 / Theme of Research
Prevention of Cancer by natural antioxidants
②研究概要 / Outline of Research
Cancer is one of the leading causes of death globally with an increasing trend in developing countries, including Bangladesh. Globally 1 in 6 deaths is due to cancer and will be approximately twice by 2030. In this study, two purified compounds (characterized as 7-O-methylmearnsitrin (named as7-OM) and resorsenoid A, (named as RA) with the collaboration of Dr. Kyoko Nakagawa-Goto, Associate Professor, School of Pharmacy, Kanazawa University, Japan) and 120 extracts (plants, vegetables, fruits and spices) were considered and their cytotoxicity as well as apoptotic activities were tested in different cancer cell lines such as HeLa, HEK-293, H3122 and H2228.
③研究成果 / Results of Research
Among the extracts and compounds, Sam-12, 25, 31, 35, 41 (P), Sam-45 (V-10), Sam-67 (F-02), Sam-75 (F-14a), and Sam-105 (S-7) showed moderate cytotoxicity. Interestingly, Sam-3, 6, 16, 7-OM, RA, and VS showed strong dose-dependent inhibition of HeLa cells proliferation with an IC50 of 125, 20, 21, 22, 20, and 15 µg, respectively Next, the effect of the samples (Sam-6 &16, 7-OM, and RA) on HeLa cells apoptosis was evaluated using DAPI, Annexin-V FITC, and PI triple florescence staining. Annexin-V FITC and PI signals could barely be detected in control cells (without treatment), while strong fluorescence densities were observed in response to treatment of 20 µg of each sample, indicating that these samples have capacity to induce HeLa cells apoptosis.
④今後の計画 / Further Research Plan
Further study is necessary to insight the mechanism of apoptosis induced by these compounds and samples by doing the following experiments: 1. Degree of apoptosis with and without treatments by flow cytometry 2. In which stage, the cells are arrested (cell cycle analysis) due to induction of apoptosis by treatment using FACS analysis 3. Role of pro-and anti-apoptotic genes and proteins involved in apoptotic process by RT-PCR and western blot analysis, respectively? 4. Changes of oxidative stress in the cells happened in response to treatment compared to cancer cells? 5. Structural analysis of the remaining compounds by collaborative research

①研究課題 / Theme of Research

がんは世界的に主要な死因の一つであり、発展途上国においても増加傾向にあるが、がんの死亡率は早期診断と適切な薬物治療によって減少する可能性がある。現在使用されている抗がん剤の多くは重篤な副作用のために使用が制限されており、より副作用の少ない薬剤の開発が求められている。既存の抗がん剤の60%以上は天然物由来であり、特に植物では3000種以上が強い抗がん作用を持っているとされている。本研究では、植物由来の2つの精製化合物【7-O-methylmearnsitrin (7-OMと略称)とresorsenoid (RA略称)】を、金沢大学薬学部准教授の後藤(中川)享子博士と共同で構造解析すると共に、4種の細胞株における細胞毒性ならびにApoptosis誘導活性を調べた。

②研究概要 / Outline of Research

化合物の細胞毒性を評価するため、HeLa細胞を用いたMTTを用いて細胞増殖アッセイを行った。化合物のうち、Sam-3、6、16、7-OM、RAおよびVSIは、HeLa細胞増殖に対する強い用量依存的な阻害活性を示した。それぞれの化合物のIC50は125、20、21、22、20および15μgであった。

次に、これら化合物が他の細胞株(HEK293、H3122およびH2228)に対する細胞増殖の阻害の有無を同様に調べた。化合物試7-OM、RA、Sam-6および16は、上記3種の細胞に対して有意な用量依存的阻害を示した。さらにこれら4種の化合物のHeLa細胞に対するApoptosis誘導能をAnnexin V-FITCを用いて調べた。化合物による処理により強い蛍光シグナルが観察され、これらの化合物はHeLa細胞にApoptosisを誘導する能力を有することが示された。

③研究成果 / Results of Research

1. 植物由来の2つの精製化合物を、金沢大学薬学部准教授の後藤(中川)享子博士と共同で構造解析し、7-O-methylmearnsitrinとresorsenoidであることを突き止めた。
2. Sam-3、6、16、7-OM、RAおよびVSIは、IC50がそれぞれ125、20、21、22、20および15μgとHeLa細胞増殖に対する強い用量依存的な阻害活性を示した
3. 7-OM、RA、Sam-6および16はEK293、H3122およびH2222に対しても有意な用量依存的阻害を示した
4. 上記化合物はHeLa細胞に対するApoptosis誘導能を示した

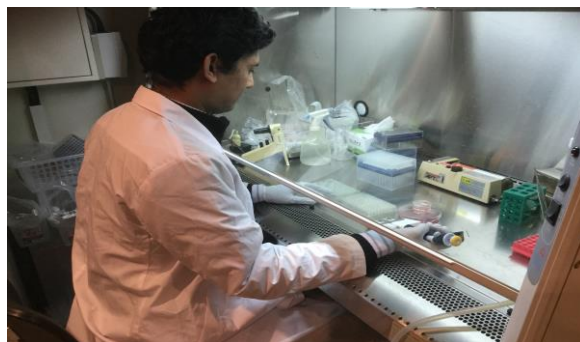
④今後の計画 / Further Research Plan

これらの化合物によって誘導されるHeLa細胞のApoptosisのメカニズムを解明するため、以下の実験を行うことが必要と考えている。

1. 化合物による処理によるApoptosisのフローサイトメトリーでの解析
2. Apoptosisが誘導される細胞の細胞周期の解析
3. RT-PCRとウエスタンブロット解析によるApoptosis過程に関与するpro-apoptosis遺伝子とanti-apoptosis遺伝子の発現およびタンパク質の解析
4. 細胞内の酸化ストレスの変化とがん細胞死の関連に関する研究
5. 共同研究によって残りの化合物の構造を決定する



96ウェルプレートでの化合物添加細胞の形態観察
Morphology check of compounds added cells by using 96-well plate



MTT細胞生存試験による抗がん作用評価
MTT assay for cell viability to check anticancer activities