

## 論文内容の要旨

氏名	友岡 文優
Sulforaphane Potentiates Gemcitabine-Mediated Anti-Cancer Effects against Intrahepatic Cholangiocarcinoma by Inhibiting HDAC Activity  (和訳) スルフォラファンは HDAC 活性阻害を介してゲムシタビンの肝内胆管癌に対する抗癌効果を増強させる	

### 論文内容の要旨

【目的】肝内胆管癌は原発性肝癌で2番目に多い癌であり、切除不能肝内胆管癌に対してゲムシタビン(GEM)を軸とした化学療法が施行されているが、予後不良である。スルフォラファン(SFN)はブロッコリースプラウトであり、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害や抗癌作用などを示し、HDACは腫瘍増殖・細胞周期・アポトーシス・腫瘍浸潤・血管新生において重要な役割を果たすと報告されている。今回我々は、SFNとGEMの併用による肝内胆管癌に対する効果を評価した。

【方法】In vitro 実験系では control 群、SFN 群、GEM 群、併用群の4群に分け、ヒト肝内胆管癌細胞(HuCCT1、HuH-28)増殖、細胞周期、アポトーシス、腫瘍浸潤、上皮間葉転換(EMT)、血管新生に対する影響を検討した。SFN 群での HDAC 活性阻害作用、総ヒストン H3 のアセチル化、ヒストン H3 アセチル化の結合特異性のプロファイリングは ELISA を用い検討した。In vivo 実験では上記の細胞株を用いた Xenograft モデルを作成し、無治療群、SFN 群、GEM 群、併用群の4群に分け、腫瘍体積、腫瘍内 HDAC 活性、細胞増殖、細胞周期、アポトーシス、EMT、血管新生に関して評価した。

【結果】In vitro 実験系では、SFN は両細胞株において細胞周期の G2/M 停止およびアポトーシスを誘導し、GEM による腫瘍増殖抑制効果を増強した。HuCCT-1 および HuH28 の両細胞において SFN 処理で control 群と比較し、HDAC 活性は濃度依存的に低下、総ヒストン H3 のアセチル化は濃度依存的に増加、結合特異性のプロファイリングでは特に H3K9 および H3K27 でのアセチル化が特に増加した。また、SFN は両胆管癌細胞における浸潤能、血管新生を抑制するとともに、GEM による EMT の誘導を阻害した。In vivo 実験では SFN と GEM が腫瘍増殖を抑制、Ki67 陽性細胞を減少、TUNEL 陽性細胞を増加させ、その効果は併用でより増強された。腫瘍内の HDAC 活性は SFN 投与により抑制された。In vitro 細胞周期解析の結果と同様に、併用群で腫瘍内の G2/M 停止が促進されていた。さらに、SFN 投与により、腫瘍内の CD34 陽性血管新生が阻害され、GEM により誘導された EMT が抑制されていた。

【結論】GEM による化学療法に SFN を併用する事で、肝内胆管癌に対する抗癌効果が増強された。その機序として HDAC の阻害により、G2/M 停止、アポトーシス、腫瘍浸潤抑制、GEM 誘発 EMT の抑制、血管新生の抑制等の機序が考えられた。