

フコイダン(フコース硫酸含有多糖)及びその酵素分解物により誘導されたヒト癌細胞株のアポトーシス

フコイダンは褐藻類由来のフコース硫酸含有多糖であり、血液凝固阻止作用、抗高脂血症作用、抗癌作用などの生理活性を持つことが報告されている。我々はガゴメコンブからグルクロン酸含有フコイダン(Fd-U)とグルクロン酸非含有フコイダン(Fd-F)をそれぞれ分離し(酒井他、本シンポジウムでポスター発表)、これらのフコイダンおよびその酵素分解物がいくつかのヒト癌細胞株に及ぼす影響について研究を行った。

【方法】急性リンパ芽球性白血病細胞株 MOLT-3、急性前骨髄性白血病細胞株 HL-60、胃癌細胞株 AGS、結腸癌細胞株 HCT116、結腸腺癌細胞株 SW 480、結腸腺癌細胞株 WiDr (全ての細胞株はヒト由来のもの)をそれぞれ適当な培地で培養し(以下培養温度は 37°C)、24-well プレートに 1.8ml/well (1×10^4 cells/1.8 ml) となるように分注した。

4時間培養後、0.2ml の様々な濃度の各種フコイダン液 (50mM HEPES-100 mM NaCl

(PH7.2) に溶解) を各 well に添加し、一定時間後、細胞を回収し、生存細胞数をトリパンブルー染色法で測定した。また、フコイダンにより誘導された細胞死のメカニズムを解析するため、9ml の培地を入れた 25 cm² のフラスコに 5×10^5 cells を入れて 4時間培養後、1ml のフコイダン液(終濃度 1 mg/ml, 5 μ M) を添加し、一定時間培養後、細胞を回収し、DNA の断片化の有無をギムザ染色とアガロース電気泳動で調べた。

【結果・結論】

1、フコイダンおよびその酵素分解物は実験に用いたすべての細胞株の増殖を濃度依存的に阻害した。ある濃度以上では細胞を死滅させることが確認された。

2、フコイダンに対する感受性は細胞によって異なった。同濃度のフコイダンの存在下で、血球系細胞(MOLT-3、HL-60)に対する阻害活性は上皮系の接着細胞より強かった。

3、細胞によって時間が異なるが、例えば、SW480 の場合、フコイダンを培地に添加して、40時間経過すると、細胞が丸くなり、接着面から離れ、遊離状態になった。また、細胞の縮小、核の凝集が観察された。

4、フコイダンと一定時間インキュベートした細胞をギムザ染色して観察した結果、核の断片化が認められた。また、それらの細胞の DNA をアガロース電気泳動で解析した結果、アポトーシスの特徴である DNA ラダーが観察された。

以上のことから、フコイダンおよびその酵素分解物により誘導されたヒト癌細胞株の死はアポトーシスによるものと判明した。