

ブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*) 由来ポリテルペンの HL-60 細胞におけるアポトーシス誘導機構

【目的】我々はブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*) に特有のポリテルペン (hypsiziprenol A₉) が担がん動物への経口投与において強い抗腫瘍作用を示すことを報告している (第63回日本癌学会学術総会 (2004))。今回、hypsiziprenol A₉の抗腫瘍作用をさらに解明することを目的としてヒト由来がん細胞株に対するアポトーシス誘導作用の機構を解析した。

【方法】がん細胞の増殖能に hypsiziprenol A₉ が与える影響を WST-1 法で評価した。hypsiziprenol A₉による HL-60 細胞におけるアポトーシス誘導の現象を、ヘキスト染色した核の蛍光顕微鏡観察、DNA のアガロースゲル電気泳動、フローサイトメトリーによる細胞周期解析によって評価した。

アポトーシス誘導シグナルにおけるカスパーゼカスケードの関与を調べるために、各カスパーゼの活性を測定し、カスパーゼ阻害剤 (Z-VAD-FMK) 添加による増殖抑制能への影響を調べた。また、hypsiziprenol A₉がミトコンドリアの膜電位差に与える影響を、蛍光染色試薬 (JC-1) を用いて検討した。さらに、hypsiziprenol A₉の増殖抑制能に対する種々のシグナル伝達関連試薬の影響を調べた。

【結果と考察】HL-60 細胞、Jurkat 細胞、HCT116 細胞、HT-29 細胞のうち、HL-60 細胞が最も hypsiziprenol A₉に対して感受性を示した。HL-60 細胞に hypsiziprenol A₉を添加して培養すると、核の断片化が観察され、電気泳動において DNA ラダーが検出された。細胞周期解析においては経時的な hypodiploid 細胞の増加が認められた。また、hypsiziprenol A₉の濃度依存的に細胞中のカスパーゼ-2、-3、-8、-9の活性の増加が認められ、hypsiziprenol A₉の増殖抑制能はカスパーゼ阻害剤によって緩和された。さらに、hypsiziprenol A₉によってミトコンドリアの膜電位の低下が認められた。hypsiziprenol A₉の増殖抑制能は cAMP 類似体である DBcAMP の添加により低下した。

これらの結果から、hypsiziprenol A₉ は cAMP 経路の抑制やミトコンドリアの膜電位の低下を引き起こし、カスパーゼカスケードを活性化することで HL-60 細胞のアポトーシスを誘導していると考えられた。