

29【P1】 I -147

グリチルリチン刺激マウス肝細胞内アポトーシス抑制関連タンパク質の変動解析

○山田 憲治¹, 石渡 俊二¹, 池川 繁男¹(¹近畿大薬)

【目的】最近、肝機能改善薬として用いられるグリチルリチン(GL)が肝がん細胞の TNF- α 介在アポトーシスを抑制する一方、白血病細胞ではこれを促進することが示され、その実行に関わる種々の酵素、転写因子等を明らかにすることが強く求められている。そこで今回、GL 刺激マウス肝細胞内のアポトーシス関連タンパク質の解析を試みた。

【方法】まず、BALB/c マウスの初代培養肝細胞に、TNF- α 及びアクチノマイシンドでアポトーシスを誘導させ、その評価を LDH 活性に基づいて行い、これらアポトーシス誘導因子の至適濃度を設定した。ついで、GL の存在又は非存在下で培養し、ELISA によるモノクレオソームの定量、並びに TUNEL 染色によってアポトーシスを調べた。一方、GL の刺激によって変動した細胞内タンパク質は、細胞融解後、二次元電気泳動を用いる differential display によって特定するとともに、ターゲットスポットを切り出し、トリプシンによるゲル内消化後のペプチド混合物を MALDI-TOFMS 分析に付しデータベース検索にて解析した。

【結果及び考察】GL による細胞の刺激は、TNF- α が誘導する細胞外の LDH 漏出量を減少させるとともに、核内 DNA の断片化を抑制した。この抑制効果は、培養細胞を GL で前処理すると増大した。これらの結果は、GL が TNF- α 介在アポトーシスを抑制したことを示すものである。一方、タンパク質レベルでは、Bcl-10 の発現量が增大していることが判った。Bcl-10 は NF- κ B を活性化するアダプタータンパク質としてアポトーシスに重要な役割を果たしていることが推測されており、今後更に GL による Bcl-10 の発現調節機構に検討を加えて行く予定である。