

30-0325 W102-3

核小体型PHGPxのアクチノマイシンDによるアポトーシス抑制機構の解析
○喜来 望¹, 今井 浩孝¹, 綱島 尚美¹, 中川 靖一¹ (¹北里大薬)

<目的>リン脂質ヒドロペルオキシドグルタチオンペルオキシダーゼ (PHGPx) にはミトコンドリア型、非ミトコンドリア型以外に核小体型PHGPxが存在する。しかし、核小体型PHGPxの細胞内での機能は全く明らかにされていない。そこで今回、核小体型PHGPx高発現株を用いて、細胞障害について検討したところ、核小体に障害を与えるアクチノマイシンD (AMD) に対して細胞死を抑制することを見だし、その抑制機構の解析をおこなった。<方法>核小体型PHGPx高発現株 N63, N120 とベクターのみを RBL2H3 細胞に導入した S1 細胞を用いた。<結果>AMD 処理後、S1 細胞ではチトクローム C (cyt. c) の放出が 9 時間後からみられ 12 時間後には顕著な DNA のラダーの形成、核の断片化がみられた。しかし、N63 細胞では 9 時間後には cyt. c の放出は全く観察されず、DNA のラダーの形成は著しく抑制されていた。そこで、cyt. c の放出以前の核小体の崩壊について、核小体特異的蛋白質 C23 に対する抗体による核小体の染色像にて検討を行ったところ、S1 細胞では AMD 処理後、2 時間後から C23 の核小体から核質への放出がみられたのに対し、N63 細胞では 4 時間後でも核小体の崩壊は抑制されていた。核小体は細胞周期制御に関わっていることから、フローサイトメトリー法を用いて細胞周期変動について解析したところ、S1 細胞では 6 時間後に G2/M 期停止が起きたのに対し、N63 細胞では G2/M 期停止が抑制されていた。<考察>以上の結果から核小体型 PHGPx は AMD 処理による核小体の崩壊を抑制し、G2/M 期停止を抑制することでアポトーシスを抑制していることが明らかとなった。