

30T-am04

カタラーゼと NADPH はディーゼル排ガス微粒子成分 9,10-phenanthraquinone による HepG2 細胞の細胞死を抑制する

○喜多 秀樹¹, 岩本 典子², 熊谷 嘉人², 山野 茂¹ (¹福岡大薬, ²筑波大院医)

【目的】ディーゼル排ガス微粒子成分 9,10-phenanthraquinone (PQ) は、ヒト肝癌由来 HepG2 細胞に酸化ストレスを誘導し、細胞死を引き起こすことを第 22 回日本薬学会九州支部大会で報告した。今回は、PQ による細胞死のメカニズムを解明する研究の一環として、カタラーゼおよび NADPH の PQ による細胞死に及ぼす影響について検討を行った。

【方法】細胞生存率の測定：細胞の生存率は、WST-8 Cell Counting Kit (Dojindo) を用いて求めた。活性酸素種 (ROS) の検出：細胞に 2',7'-dichlorodihydrofluorecein (DCFH) を前処理し、一定時間 PQ 処理した後に、蛍光顕微鏡にて観察した。

【結果・考察】HepG2 細胞に 5 μ M PQ を 4 時間曝露すると、細胞生存率は対照の 50% に低下し、凝集した細胞が認められた。また、PQ 曝露細胞では DCFH から蛍光物質が生成し、ROS の産生が確認された。カタラーゼを前もって培地に添加し、同様の実験を行ったところ、細胞生存率は 90% の値を示し、細胞の形態にも変化が見られず、ROS 産生を示す蛍光もほとんど確認できなかった。PQ 10 μ M 以上の濃度を曝露した細胞では、10% 以下の生存率しか示さず、カタラーゼは細胞死抑制効果を示さなかった。NADPH を添加した場合でも、PQ による細胞死は抑制され、高濃度 PQ 曝露でも弱いながら、細胞生存率の低下を抑えた。興味あることに、カタラーゼと NADPH を同時に添加すると、100 μ M PQ を曝露しても 90% の生存率を示した。以上のことから、カタラーゼは PQ により産生する ROS を消去することで、細胞死を抑制していることが示唆された。現在、NADPH による細胞死抑制および両者併用による相乗的な細胞死抑制効果について詳細に検討を進めている。