

28N-pm03

DNA 傷害性シグナル伝達を阻害する pycnidione の作用機構に関する研究

○金子 真弓¹, 松田 大介¹, 大多和 正樹¹, 内田 龍児¹, 長光 亨¹, 針谷 義弘¹, 大村 智², 供田 洋¹(¹北里大院薬, ²北里大生命研)

[目的] がん細胞選択的に細胞死を誘導する G2 期修復機構阻害物質探索において、真菌 *Gloeotinia* sp.FKI-3416 株より既知化合物 pycnidione を見出した。本化合物は 5 つの連続した環状構造からなり、その両端に tropolone 環を有するという非常に珍しい構造をとり、そのような化合物は本化合物を含め 2 種類しか報告されていない。今回はその生物活性および作用機序解析について報告する。

[方法] 細胞周期は、propidium iodide (PI) で DNA 染色後、フローサイトメーター (FACS) で検出した。Jurkat 細胞 (ヒトリンパ腫由来) に bleomycin (30 μ g/ml) を作用させると、G2 期修復機構が働き、全細胞数の約 70% が G2 期で停止する。この時薬剤を添加して、細胞死を誘導する作用を G2 期修復機構阻害活性とした。細胞死は常法に従い、MTT 法で評価した。Histone H2A.X のリン酸化は、Jurkat 細胞を FITC で標識した抗体および PI で二重染色し、FACS で検出した。Western blotting には、Triton X-100 (1.0%) で可溶化して調製した Jurkat 細胞のライセートを用いた。

[結果および考察] Pycnidione は、bleomycin によって誘導される G2 期停止を濃度依存的に阻害し、bleomycin 単独での作用を 9.2 倍増強することが明らかとなった。DNA damage シグナル伝達経路に着目して作用機序を解析したところ、ATM を起点とするシグナルが histone には正常に伝達されるものの、一連の伝達経路の末端に存在する Cdc2 には伝達されず、G2 期停止が阻害されることが明らかとなった。そこでこれらの間に位置するシグナル伝達分子である Chk2 および Cdc25C タンパク質量を定量したところ、その量が低下していることが明らかとなった。現在、Chk2 および Cdc25C タンパク質量減少の原因を解析している。