

22PO-am215

ゲムシタピンによるオートファジー発現への PI3K/Akt 経路の関与

○稲村 明洋¹, 平山 早苗¹, 桜井 光一¹ (¹北海道科学大薬)

【目的】抗悪性腫瘍剤ゲムシタピン (GEM) は、副作用として血糖値上昇を引き起こす。我々は以前の研究で、培養膵β細胞株 INS-1 を GEM で処理すると、Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt 経路の活性化を介したアポトーシス性細胞死とオートファジーが発現することを報告した。しかしながら、PI3K/Akt 経路、オートファジー発現とアポトーシス誘導の関係は不明である。今回、GEM によるオートファジー発現に PI3K/Akt 経路が関与する可能性について検討する。

【方法】INS-1 細胞は、10%ウシ胎児血清を添加した 10 mM HEPES を含む RPMI-1640 培地を用いて培養した。INS-1 細胞を 500nM GEM で 24 時間処理した後、オートファジー関連タンパク質の Atg5 のタンパク質発現は免疫染色法で観察した。細胞核は Hoechst33258、ミトコンドリアは MitoTracker Red 蛍光法、マイトファジーは Mitophagy detection kit で検出した。オートファジー及びミトコンドリア膜電位 ($m\Delta\psi$)、マイトファジーは、共焦点レーザースキャン顕微鏡で観察し、各蛍光強度及び細胞核数は Cytell Cell Imaging System を用いて解析した。PI3K 阻害は 1.2 μ M wortmannin または 10 μ M LY294002 処理によって行われた。

【結果及び考察】INS-1 細胞を GEM で 24 時間処理すると、高い $m\Delta\psi$ を伴ったオートファジー発現が観察された。しかしながら、オートファジー誘導剤ラパマイシン処理は低い $m\Delta\psi$ を伴うオートファジーを誘導した。PI3K/Akt 阻害剤 wortmannin 及び LY294002 は GEM 誘導オートファジーを阻害したことから、高い $m\Delta\psi$ を伴うオートファジーの発現に PI3K/Akt 経路が関与することが示唆された。