

23R-am05

Morphine の親電子性代謝物 Morphinone のヒト肝由来細胞株 HepG2 に対する細胞毒性

○松尾 康平¹, 舟橋 達也², 山野 茂¹ (¹福岡大薬, ²松山大薬)

【目的】我々は、ヒト肝臓に発現する 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2 (17 β -HSD2) が morphine (MOR) から morphinone (MO) を生成する morphine 6-dehydrogenase (M6DH) 活性を有することを報告している。本研究では、ヒト肝癌由来 HepG2 細胞における M6DH 活性および親電子性代謝物 MO の細胞毒性について検討した。

【方法】MO の生成は、HPLC を用いて調べた。細胞死は、ミトコンドリア脱水素酵素に基づく Cell Counting Kit を用いて判定した。LDH 活性は、Cytotoxicity Detection Kit を用いて測定した。細胞内 GSH 及びタンパク質性 SH 基量は、DTNB を用いる方法によって測定した。【結果・考察】HepG2 細胞に 17 β -HSD2 が発現していることが mRNA 及びタンパクレベルで明らかになった。また、HepG2 細胞のライセートで、NAD 存在下 MOR から MO が生成することが HPLC により明らかになった。そこで、MOR 代謝物である MO の HepG2 細胞に対する毒性について検討した。MOR を 100 μ M で 24 時間曝露した細胞では、細胞生存率の大きな低下は認められなかったが、MO を 100 μ M で 24 時間曝露した細胞では、ほとんどの細胞が死滅していた。このことから、MOR の代謝物 MO は強い毒性を示すことが明らかになった。MO 曝露細胞の形態を観察すると、細胞の凝縮が認められた。また、MO を 6 時間曝露した細胞の生存率は 50% 以下に低下したにも関わらず、培養液中への LDH の漏出はほとんど認められなかった。さらに、MO 曝露細胞では細胞内 GSH が枯渇し、タンパク質性 SH 基量も低下していた。以上の結果から、HepG2 細胞は、M6DH 活性を有していることが明らかになった。また、MO は細胞内の GSH を枯渇させ、タンパク質と結合することなどによってアポトーシス様の細胞死を引き起こしていることが推察される。今後、MO による細胞死誘導機構について解明を試みる予定である。