

Inhibition of apoptosis induced by serum deprivation in PC12 cells by phloretin
(PC12細胞におけるフロレチンによる無血清により誘導されたアポトーシスの抑制)

北海道大学大学院環境科学院
環境起学専攻 環境適応科学コース
瀧澤 亮太

フロレチンはリンゴの根や皮に多く含まれるポリフェノールであり、抗酸化作用を持つことが知られている。近年では、フロレチンががん細胞にアポトーシスを誘導することにより、抗がん作用を発揮することでも注目を集めている。アポトーシスとは細胞が自ら死に至る現象であり、がんの抑制において重要な役割を果たしている。一方で、過剰なアポトーシスはアルツハイマーなどの疾患を引き起こすことも報告されている。フロレチンは抗酸化作用をもつことから、アポトーシスを抑制する効果が期待されるが、がん細胞の場合では矛盾する現象が観察されている。本研究では未分化細胞を用いて、細胞に予めアポトーシスを誘導し、フロレチンの挙動を明らかにし、その機構を解明することを目的とした。

ラット副腎褐色細胞腫に由来するPC12細胞は、栄養因子であるウシ胎児血清 (FBS) を欠乏させた状態で培養するとアポトーシスが誘導される。未分化細胞におけるフロレチンのアポトーシスへの影響を評価するため、フロレチンを添加した血清欠乏培地で、PC12細胞を2日間培養した。また、アポトーシスが誘導されない通常条件でのフロレチンの影響も併せて確認するため、血清を含んだ培地でもPC12細胞を培養した。培養後に細胞を回収し、トリパンブルー染色による細胞生存率の測定、アガロースゲル電気泳動によるDNA断片化の測定、培地中の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性測定による細胞毒性評価、細胞内グルタチオン (GSH) レベルの測定による細胞内酸化ストレス状態の評価、およびウェスタンブロッティングによるアポトーシス関連タンパク質の発現量の測定を行った。なお、フロレチンを投与せずに培養した細胞をコントロールとして、フロレチンの影響を評価した。

通常条件では、フロレチンは細胞生存率に影響を与えず、アポトーシスによるDNAの断片化もみられなかったため、フロレチン自体はアポトーシスを誘導しないと考えられた。しかし、LDH活性が増加し、細胞内GSHレベルが減少したことから、フロレチン量を増加させれば、PC12細胞にアポトーシスを起こす可能性があると考えられた。血清欠乏条件では、フロレチンを加えない場合と比べて、細胞生存率の増加とDNA断片の減少が確認され、フロレチンが血清欠乏によるアポトーシスを抑制すると考えられた。GSHレベルが増加したことから、細胞内酸化ストレスの抑制がアポトーシス抑制に起因していることが示唆された。LDH活性は有意な増加を示さなかった。また、アポトーシス阻害に関与するタンパク質であるBcl-2とAktの発現量を測定したところ、いずれも増加する傾向にあった。一方で、アポトーシス誘導に関与するBaxの発現量は減少した。以上の結果から、フロレチンはそれ自体がPC12細胞に弱い毒性を示すが、血清欠乏により誘導されたアポトーシスを阻害する効果があることが明らかになった。