

Effects of furanocoumarins on apoptosis induced by serum deprivation in PC12 cells

(PC12 細胞における無血清下に誘導されたアポトーシスに及ぼすフラノクマリンの影響)

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
三浦 友視

【背景・目的】

日本は食品ロス大国であり、食べ残し等が問題となっている。飲食店ではパセリの食べ残しが目立っており、残されたパセリの有効利用法が求められている。パセリには、キサントトキシンやイソピムピネリンといった、ポリフェノールの一種であるフラノクマリン類が含まれており、抗酸化作用に期待が寄せられている。一方、細胞は酸化ストレスを受けると遺伝子で定められた細胞死アポトーシスが起きることが報告されている。よって本研究では、無血清培地を用いてアポトーシスを誘導する細胞と通常培地を用いてアポトーシスを誘導しない細胞におけるフラノクマリン類の作用を調べることで、フラノクマリン類が酸化ストレスに及ぼす影響を評価することを目的とした。

【方法】

10%FBS 培地を用いて前培養した PC12 細胞の培地を新しい 10%FBS 培地または無血清培地に交換した。その後、それぞれにキサントトキシンまたはイソピムピネリンを様々な濃度で添加した後、37°C、5%CO₂の条件下で 48 時間培養した。培養後に細胞を回収し、トリパンブルー染色法にて細胞生存率を測定した後、DNA の損傷を調べるために細胞より抽出された DNA のアガロースゲル電気泳動を行った。さらに、アポトーシス誘導下における細胞毒性を培地中の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性の測定で、細胞内酸化ストレスを細胞内の還元型グルタチオン (GSH) を測定することで評価した。さらにそれらのアポトーシス機構に対する影響を調べるために、ウェスタンブロッティング法により Caspase-3 および Bax の量の変化を確認した。

【結果・考察】

10%FBS 培地を用いた通常培養条件下ではフラノクマリン類を添加したことによる細胞生存率の有意な変化は見られなかったが、無血清培地を用いた培養条件下ではフラノクマリン類を添加することで細胞生存率が有意にさらに減少した。アガロースゲル電気泳動では、アポトーシスの特徴であるラダー状バンドの増加が確認される場合もあり、フラノクマリンの添加量依存的に LDH 活性は増加し、GSH は有意に減少した。アポトーシス促進タンパク質である Bax の発現量が増加したこともあわせて、フラノクマリン類が無血清培地により誘導されたアポトーシスを促進することが確認できた。このことより、フラノクマリン類が細胞内酸化状態をより亢進することが推測された。