

Chlorogenic acid inhibits apoptosis induced by serum deprivation

(クロロゲン酸による無血清誘導アポトーシスの阻害)

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

【背景】

近年、カフェやコンビニなどで手軽に飲めるコーヒーが増え、我々がコーヒーを飲む機会は増えてつある。コーヒーには、カフェインだけでなくカフェストールやトリゴネリン、クロロゲン酸などの成分が含まれており、クロロゲン酸はポリフェノール類に含まれる。ポリフェノール類の効果として、一般的に抗酸化作用やホルモン促進作用などが挙げられるが、クロロゲン酸には細胞内においてどのような効果・効能があるかについては他のポリフェノール類に比べてあまり研究がなされていない。そのため本研究では、PC12細胞(ラット副腎褐色細胞腫)を無血清培地によりアポトーシスを誘導させ、アポトーシス条件下におけるクロロゲン酸の挙動について検討した。

【方法】

10%FBS培地またはFBS(-)で培養したPC12細胞を用いて、それぞれにクロロゲン酸を0、0.02、0.2、0.5 mMとなるように添加した後、さらにCO₂インキュベーター(37℃)内にて48時間もしくは72時間培養した。培養後に回収した細胞の生残率をトリパンブルー染色法を用いて測定した。また得られた細胞からDNAを抽出し、アガロース電気泳動法によりDNA損傷の程度を観察した。さらに、細胞の培地の乳酸脱水素酵素(LDH)活性を測定することで細胞毒性の程度を、細胞内のグルタチオン(GSH)濃度を測定することで細胞内酸化状態を評価した。添加したクロロゲン酸のアポトーシス機構に及ぼす影響を調べるためにアポトーシス誘導条件下におけるAkt、Caspase-3およびCaspase-7の量の変化をウェスタンブロットティング法にて測定した。

【結果・考察】

アポトーシスが起きない通常状態の培養条件では48、72時間いずれの場合もクロロゲン酸を加えたことによる細胞生存率の低下は見られなかった。またアポトーシスが起きる条件下においては48、72時間いずれの場合も無血清培地によって細胞生存率が有意に減少するが、クロロゲン酸添加72時間後には細胞生存率が回復する傾向が観察された。また、DNA電気泳動の結果、アポトーシスに特徴的なラダーがクロロゲン酸添加により減少する傾向が認められた。この現象はアポトーシス促進因子および実行因子であるCaspase-3及び7の発現量がクロロゲン酸の添加量の増加に伴い低下することにより説明できた。以上、LDH活性およびGSH濃度の結果と合わせ、クロロゲン酸が無血清培地により誘導されたアポトーシスを阻害することが確認できた。