

ヒト白血病NB4細胞に対する2-methylthio dihydropyrimidineに惹起される細胞毒性におけるCaspasesおよびMAP kinaseの関与

Involvement of Caspases and MAP kinase in 2-methylthio dihydropyrimidine-triggered cytotoxicity against human leukemia NB4 cells

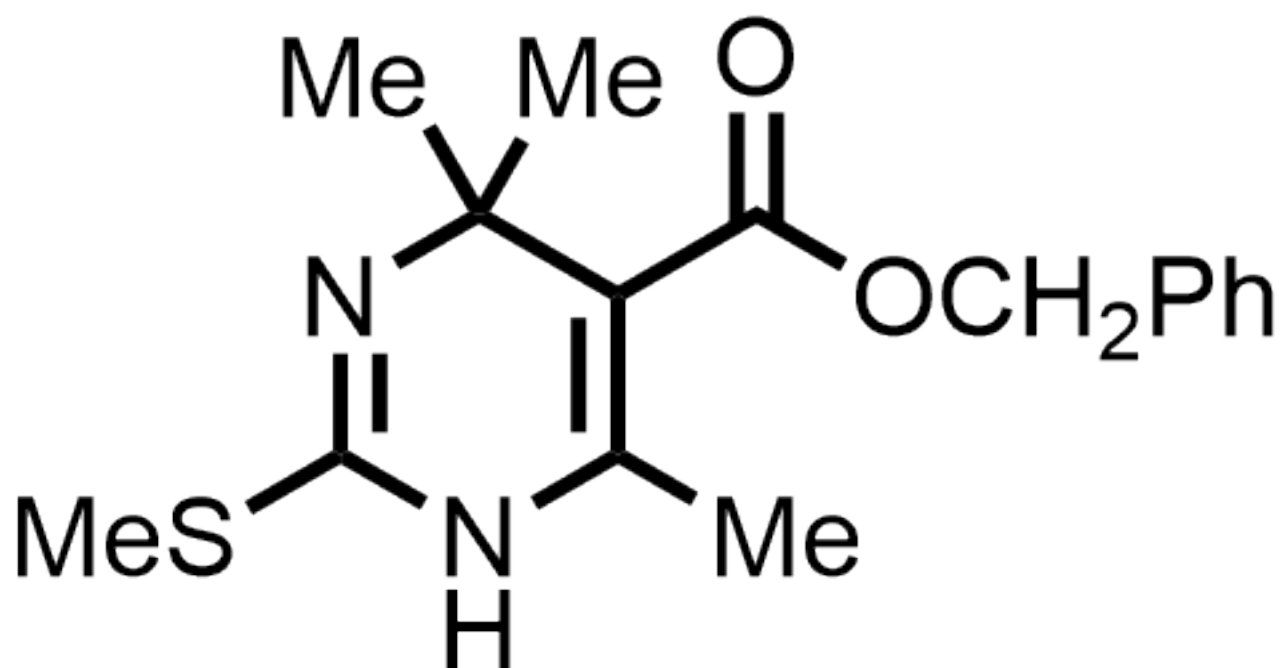
○菊地 秀与¹、渡口 由姫¹、西村 良夫²、袁 博¹、新井 理絵³、長 秀連⁴、須永 克佳¹

○Hidetomo Kikuchi¹, Yuki Toguchi¹, Yoshio Nishimura², Bo Yuan¹, Rie Arai³, Hidetsura Cho⁴, Katsuyoshi Sunaga¹

1. 城西大院薬、2. 奥羽大薬、3. 杏林大医、4. 東北大院薬

1. Grad. Sch. Pharmaceut. Sci., Josai Univ., 2. Fac. Pharm., Ohu Univ., 3. Kyorin Univ. Sch. Med., 4. Grad. Sch. Pharmaceut. Sci., Tohoku Univ.

【背景・目的】これまで2-methylthio dihydropyrimidineのうち、#3がヒト白血病NB4細胞に対して主にアポトーシスに起因する細胞毒性を誘導することを明らかにした。アポトーシス誘導には、Caspase-9活性化を介した内因性経路とCaspase-8活性化を介した外因性経路により実行CaspaseであるCaspase-3活性化が知られている。また、MAP kinaseは細胞の増殖・分化・細胞死といった細胞恒常性の維持に関わるシグナル伝達経路として知られていることから、NB4細胞に対して#3に惹起されるNB4細胞のアポトーシスへのCaspaseおよびMAP kinaseの関与を検討することを目的とした。【実験方法】NB4細胞 (1×10^5 cells/mL) に対して96時間処理時のIC₅₀値である10 μ M #3を処理した。Caspase-8、-9、-3の活性は、各蛍光基質を用いた測定キットを用いた。Western Blotを行い、細胞内のMAP kinaseであるp38 MAPK、JNK、ERKの発現変動およびリン酸化について検討した。さらに、#3に誘導されるNB4細胞のアポトーシスに対する広域CaspaseおよびMAP kinase各阻害剤の影響をAnnexin V/PI法により測定した。【結果】#3の処理は、Caspase-8、-9、-3の活性を有意に上昇させた。リン酸化p38 MAPKおよびリン酸化JNKはコントロールおよび#3処理では検出されず、p38 MAPKおよびJNKの発現量に影響はなかった。一方、リン酸化ERKの発現および経時的な発現の減少傾向が#3処理で検出された。広域Caspase阻害剤の併用は、#3に惹起されるアポトーシスを有意に抑制した。MEK阻害剤 (PD 98059) 単独処理は、10 μ M処理でアポトーシスを誘導し、さらに#3との併用はPD 98059ならびに#3単独時のアポトーシス誘導よりも有意に増強された。【考察】#3に惹起されるアポトーシスは、内因性および外因性経路を介することが示唆された。また、NB4細胞の生存にERKの活性化が重要な役割を果たしており、#3はERKのリン酸化を阻害することでアポトーシスを誘導すること、ERK阻害剤との併用により#3の効果を増強できる可能性が考えられた。



#3