

Title	Induction of Apoptosis in Leukemic Cells by Homovanillic Acid Derivative, Capsaicin, through Oxidative Stress: Implication of Phosphorylation of p53 at Ser-15 Residue by Reactive Oxygen Species.
Sub Title	ホモバニリンサン誘導體カプサイシンによる白血病細胞のアポトーシス誘導: 活性酸素によるp53セリン15リン酸化の意義
Author	伊藤, 圭介
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.20-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0020

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Induction of Apoptosis in Leukemic Cells by Homovanillic Acid Derivative, Capsaicin, through Oxidative Stress : Implication of Phosphorylation of p53 at Ser-15 Residue by Reactive Oxygen Species.

(ホモバニリン誘導体カプサイシンによる白血病細胞のアポトーシス誘導：
活性酸素によるp53セリン15リン酸化の意義)

伊 藤 圭 介

内容の要旨

ホモバニリン酸誘導体カプサイシンは唐辛子に含まれる成分であり、これまで疫学的には大量の経口摂取により胃潰瘍・胃がんの発症頻度を高めるとの報告がある。一方で、実験的には神経芽細胞腫に対してカプサイシンは細胞増殖を抑制するとの報告もあり悪性細胞に対する薬理作用に関しては結論が得ていない。また、現在まで白血病細胞に対する効果に関しては検討されていない。今回我々は各種白血病細胞に対するカプサイシンの効果につき検討を行ったところ、カプサイシンは正常の骨髄単核細胞には影響を与えないものの白血病細胞に対し時間及び濃度依存性に細胞増殖を抑制することを見出した。細胞周期及びAnnexin-Vを用いた早期アポトーシスの検討から、カプサイシンはG1期細胞周期停止およびアポトーシスを介して細胞増殖を抑制することが判明した。カスパーゼ活性の測定・ミトコンドリア膜電位等の検討から、カプサイシン誘導アポトーシスはBaxの細胞質分画からミトコンドリア分画へのTranslocation、cytochrome Cのミトコンドリアから細胞質への遊離、カスパーゼ3の活性化を介する事が分かった。さらに、フローサイトメトリーを用いた細胞内活性酸素の検討より、カプサイシン誘導アポトーシスは細胞内活性酸素が上昇することが契機となっていることが判明した。興味深いことに、塩基配列の検討・野生型p53認識抗体を用いた検討よりカプサイシン感受性の白血病細胞株は野生型p53を発現しており、カプサイシン投与によりp53セリン15残基のリン酸化が誘導される。アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてp53の発現を抑制すると、カプサイシン誘導細胞周期停止及びアポトーシスは抑制されることが判明した。また、還元剤であるN-acetyl-L-cysteinおよびカタラーゼの前投与によりカプサイシン誘導p53セリン15リン酸化及びアポトーシスは完全に抑制された。臨床応用を目的に患者検体におけるカプサイシンの抗腫瘍効果につき検討を行ったところ、患者検体においてもカプサイシン感受性と野生型p53発現に相関性を認めた。さらにカプサイシンはNOD/SCID mouseを用いたin vivo白血病マウスモデルにおいても腫瘍増殖抑制、アポトーシスを誘導を介し、抗腫瘍効果を示すことが判明した。

論文審査の要旨

ホモバニリン酸誘導体カプサイシンは、多量経口摂取にて胃潰瘍・胃癌を発生させるといわれる、一方で、癌細胞の細胞増殖を抑制するとの報告もあり、腫瘍細胞に対する薬理作用については一定の見解が得られていない。そこで、本研究では、カプサイシンの各種骨髄球性白血病細胞株に対する薬理作用につき検討し、濃度および時間依存性に細胞増殖抑制を誘導することを見出した。癌抑制遺伝子p53の発現およびカプサイシン感受性につき検討したところ、p53欠失および変異株と比較し野生型p53発現白血病細胞株がカプサイシンに高感受性であることが判明した。カプサイシンによるアポトーシス誘導機構の解析から、活性酸素の産生、p53誘導およびSer15リン酸化を認め、p53標的蛋白であるBaxおよびp21の誘導が見られた。さらに、還元剤N-acetyl-L-cystein (NAC) 及びカタラーゼにてカプサイシン誘導アポトーシスは抑制され、さらに、p53アンチセンスオリゴヌクレオチドによるp53発現抑制にてカプサイシンによるアポトーシス誘導が認められなくなった。また、白血病患者検体においてもp53依存性細胞増殖抑制を認め、白血病モデルマウスにおいても抗腫瘍効果が見られた。以上の結果より、カプサイシンが白血病細胞株に対し、活性酸素を産生しp53依存性にp53 Ser15残基のリン酸化を介してG₀/G₁期細胞周期停止及びアポトーシスを誘導することを見出した。

審査では、まず、カプサイシンの正常造血細胞の増殖に対する影響についての質問があった。増殖因子添加培養し正常造血細胞が増殖させる条件下にても正常細胞増殖に影響を及ぼさないことが示された。また、Colony assayにおいてもカプサイシン投与にて正常細胞のコロニー形成能に影響を及ぼさず、少なくとも前駆細胞レベルにおいてもカプサイシンは細胞増殖に影響を及ぼさないことが示された。次に、白血病細胞株以外の腫瘍細胞株におけるカプサイシンの抗腫瘍効果及びp53との関連についての質問には、大腸癌細胞株であるHCT116細胞において、野生型p53発現HCT116細胞がp53欠失HCT116細胞と比較し、有意にカプサイシンに対する感受性が高いことを挙げた。本結果より、白血病細胞株以外においてもカプサイシンの抗腫瘍効果の可能性を示唆するとともに、野生型p53発現とカプサイシン感受性の相関性がより強く示されると回答された。本研究ではin vivoにおけるカプサイシンの抗腫瘍効果の検討において、腫瘍の増殖抑制・アポトーシス誘導効果を認めるもの、腫瘍消失に至っていない点の指摘もあったが、今後、製剤化を目標としていく上でも、投与方法・投与量の問題を含めin vivoにおけるカプサイシンの抗腫瘍効果の更なる検討が必要であると結論づけた。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき点を残しているが、抗がん作用をもつ天然生理活性物質を簡易的にかつ効率よくスクリーニングする系の確立及びカプサイシンのp53を標的分子とした新たな造血器腫瘍に対する治療法への応用の可能性を示した点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫
先端医科学 河上 裕 発生・分化生物学 須田 年生
医化学 末松 誠
学力確認担当者：
審査委員長：河上 裕

試問日：平成16年2月16日