

平成 27 年度修士論文

ヴィオラセインによるヒト白血病細胞の アポトーシス誘導機構

～Akt キナーゼシグナル伝達経路へのヴィオラセインの効果～

Mechanisms of violacein-induced apoptosis of human leukemia cells: Effects of violacein on the Akt kinase signaling pathway

2016 年 3 月

高知工科大学大学院 工学研究科 基盤工学専攻

物質生命システム工学コース

学籍番号 1185004

面迫智美

指導教員 榎本恵一

要約

ヴィオラセインとは、*Chromobacterium violaceum* を始めとする細菌が産生する青紫色の色素である。ヴィオラセインは、ヒト白血病細胞（HL60、U937）に対して細胞毒性を示し、その細胞死はアポトーシスであることが分かっている。HL60 細胞のアポトーシスは、ヴィオラセインにより細胞外に出現した可溶性 TNF- α が、細胞膜にある TNF 受容体と結合し、シグナル伝達経路を活性化することで起こることが報告されている (Ferreira *et al.* 2004)。しかし、U937 細胞においてはヴィオラセインを添加しても可溶性 TNF- α は出現しなかった。このことから、U937 細胞のアポトーシスは、受容体経路ではなく、ミトコンドリアを介した経路で起きる可能性が考えられた。ミトコンドリアを介した経路は、ミトコンドリアからシトクロム c が放出されることでアポトーシスを誘導する。このシトクロム c の放出には、アポトーシス促進因子の Bad タンパク質やそれをリン酸化することによってアポトーシスを抑制する酵素である Akt が関与している。Akt 自体もリン酸化によって活性化されるが、大腸癌細胞では、ヴィオラセインが Akt の Thr308 残基のリン酸化を阻害することでアポトーシスを誘導するという報告がある (Kodach *et al.* 2006)。このことより、ヒト白血病細胞 U937 においても Akt のリン酸化をヴィオラセインが阻害することでアポトーシスを起こしていることが考えられた。そこで、本研究では、リン酸化された Akt および Bad に特異的に働く抗体を用いてウェスタンブロッティングを行い、ヴィオラセインを U937 細胞に加えた際のそれぞれのリン酸化量を調べた。その結果、最終濃度 2 μ M のヴィオラセインを添加すると、Akt の Ser473 残基のリン酸化が 1 時間以内に著しい減少を示した。また、Bad のリン酸化においても Akt からリン酸化を受ける Ser136 残基のリン酸化が 1 時間以内に減少した。さらに、プロテインキナーゼ C (PKC) の基質である p90RSK からリン酸化を受ける Bad の Ser112 残基のリン酸化も同じく 1 時間以内に減少した。以上のことより、U937 細胞のヴィオラセインによるアポトーシスは、ヴィオラセインが Akt の Ser473 をリン酸化する mTORC2 経路を阻害することにより引き起こされている可能性が考えられた。