

P-B-3

A β -40 によって誘発される細胞障害に対する 抑肝散 (TJ-54) の制御効果

The Protective Effect of YOCU-CAN-SAN (TJ-54) on β -Amyloid protein-induced Apoptosis in PC12 cells.

○劉 園英^{1, 2)}, 李 代偉²⁾

1) 北陸大薬, 2) 北陸大フロンティア

The protective effect of YOCU-CAN-SAN (TJ-54, Tsumura & Co., Tokyo, Japan) were investigated on β -Amyloid protein (A β -40) -induced apoptosis in PC12 cells. In our study, TJ-54 significantly inhibited the increase in LDH release following β 40-induced cell injury and significantly increased MTT reduction, significantly inhibited caspase-3 activation and the increase of ROS due to β 40-induced cell injury. These results suggest the pathway via caspase-3 activation is one of the mechanisms of the protective effects of TJ-54. The activation of caspase-3 and the apoptotic death is controlled due to the removal and produced troubles of ROS.

【目的】

酸化ストレスが様々な細胞でアポトーシスを引き起こすということは、よく知られている。今回われわれは β -amyloid protein (A β -40) によって誘発される酸化ストレス障害に対する抑肝散 (TJ-54) の防護効果を検討したので報告する。

【方法】

ラット副腎髄質褐色細胞腫由来 PC12 細胞を血清を含む培地で培養し、24 時間後無血清培地に交換し、 β -Amyloid (1-40, 0~20 μ M) を添加して細胞死を導入した。細胞死は LDH release assay (LDH) と MTT reduction assay (MTT) により測定した。caspase-3 活性は Apo-ONER Homogeneous Caspase-3/7 Assay (Promega) キットを用いて測定した。H2DCFDA 検出試薬を用いて細胞内 ROS の定量を蛍光マイクロプレートリーダーで測定した。TJ-54 を A β -40 添加 1 時間前に添加した。神経細胞障害の程度を顕微鏡で観察した。

【結果】

1) A β -40 は濃度依存的に細胞外 LDH を増加させ、A β -40 処理群は、control より有意な増加が認められた。MTT も有意に減少した。細胞形態は control に比べて細胞縮小化傾向が観察された。2) TJ-54 単独投与群は、細胞外 LDH を control に比べて有意に減少させ、MTT を control に比べて有意に増加させた。control と同程度の細胞形態が観察された。3) TJ-54 (50 μ g/mL) 共存下では、細胞外 LDH は、A β -40 単独処理群に比べ、その増加は時間依存的に有意な抑制効果が認められた。MTT は A β -40 単独処理群に比べ、その減少は時間依存的に有意な抑制効果が認められた。細胞形態は TJ-54 共存下では、A β -40 単独処理群に比べ、細胞形態の縮小化の抑制傾向が観察された。4) A β -40 単独処理群は、control より caspase-3 活性を有意に増加し、TJ-54 共存下では、A β -40 単独処理群より caspase-3 活性を有意に抑制した。TJ-54 単独処理群では control と同様の caspase-3 活性を示した。5) A β -40 単独処理群は、control より ROS 値は有意に増加し、TJ-54 共存下では、A β -40 単独処理群より ROS の生成を有意に抑制した。

【結論】

TJ-54 は、A β -40 による細胞内の ROS の生成を有意に低下させるとともに、caspase-3 の活性化を有意に抑制したことから、TJ-54 の A β -40 によって誘発される細胞障害の防護作用機序の 1 つとして、ROS の除去や産生阻害により、caspase-3 の活性化を抑制し、アポトーシス死が抑制することが考えられる。