

●ヒト単球性白血病細胞株を用いたセンシンレン(ハーブ)に含まれているアンドログラフォリドの作用効果について

土井洋輝¹⁾、秋山秀彦¹⁾、勝田逸郎²⁾、鈴木一春³⁾、谷口利幸³⁾

¹⁾ 藤田保健衛生大学大学院保健学研究科、²⁾ 藤田保健衛生大学医学部血液内科

³⁾ 一般社団法人健康免疫研究機構

【目的】

センシンレン (*Andrographis paniculata*) とは、中国、タイおよびインドなどで病気治療に使用されてきたハーブであり、アンドログラフォリド (Andro) がその薬効の主成分と考えられている。昨年度の本学会において、Andro のエタノール抽出液添加による白血病細胞株での抗腫瘍効果は、アポトーシスであることを報告した。Andro はジテルペン構造を含んでおり、抗細菌性または抗炎症性があることが知られている。今回は Andro による単球性白血病細胞株での作用効果について検討結果を報告する。

【方法】

アンドログラフォリド ($C_{20}H_{30}O_5$: MW=350.46) は東京化成工業より購入し、エタノールで溶解して 10mM (3.5mg/mL) とし、培養液中の終濃度を 1~50 μM となるように添加した。LPS (リポ多糖) は PBS で溶解後、5.0 ~ 10.0 $\mu g/mL$ の濃度で使用した。Andro との比較のために、抗がん剤であるシタラビン (Ara-C: 代謝拮抗薬)、植物アルカロイドであるビンクリスチン (VCR: 微小管重合阻害薬) を使用した。白血病細胞株は、ヒト由来の単球性白血病細胞株である U937 および THP-1 を使用した。細胞培養液は、RPMI1640 培養液を使用し、10%FBS と抗生物質 (ペニシリン、ストレプトマイシン) を添加したものを使用した。抗腫瘍効果の測定として、メルク社の Muse Cell Analyzer を使用して Annexin V 陽性率を測定した。また、R&D 社のエライザ法にて炎症性サイトカインである IL-6 および TNF- α の測定を行った。

【結果】

各細胞株に対し Andro 添加 (50 μM) 24 時間後の Annexin V 陽性率は、U937 では無添加 (7.4%) に対して 55.1%、THP-1 では無添加 (5.4%) に対して 80.1% であり、明らかな抗腫瘍効果が確認された。次に、各細胞株に LPS (10 $\mu g/mL$) を添加 24 時間後の IL-6 の値は、U937 (1pg/mL)、THP-1 (123pg/mL)、TNF- α の値は U937 (3pg/mL)、THP-1 (159pg/mL) であり、U937 が低値であるため、THP-1 で炎症性サイトカインの抑制効果を検討した。Andro による抗炎症効果を検討するために、THP-1 に低濃度の Andro (3, 5, 10 μM) 添加 1 時間後、LPS (10 $\mu g/mL$) 添加 24 時間後の IL-6 および TNF- α を測定した。Andro 10 μM 添加 1 時間後に LPS で刺激した IL-6 は 39pg/mL であり、LPS のみで刺激した IL-6 に対して、Andro 添加による抑制効果は 68.3% であった。また、TNF- α についても同様に Andro 10 μM 添加 1 時間後に LPS で刺激した TNF- α は 50pg/mL であり、LPS のみで刺激した TNF- α に対して、Andro 添加による抑制効果は 68.6% であった。

【考察・結語】

ヒト単球性白血病細胞株である U937 および THP-1 において、高濃度 Andro 添加後では高い抗腫瘍効果が認められた。また、抗炎症効果として、THP-1 細胞株にて低濃度 Andro 添加後、LPS 刺激後では炎症性サイトカインである IL-6 および TNF- α の抑制効果が認められた。今後は抗炎症効果について、そのメカニズムの詳細な検討を行う予定である。