

7. UVA 照射で惹起される正常ヒト由来線維芽細胞の小胞体ストレスからのアポトーシス誘導と海洋深層水の添加効果

○柴田雄次・山田勝久（株式会社ディーエイチシー）

1. はじめに

多様な疾病に対して海洋深層水（DOW）の飲用による多様な疾病に対する症状改善の臨床的知見が多く存在するが、その作用機序に言及した報告はほとんど見られない。また最近の研究から、多様な疾病の根底には小胞体（Endoplasmic reticulum, ER）ストレスが存在することがわかってきている。環境ストレスを受けたER内で不良タンパク質が生成、蓄積するとERストレスが生じ、これを解消するための反応（Unfolded protein response, UPR）が活性化される。しかし、UPRでも解消できないほどの過度のERストレスではアポトーシスが誘導される。

本研究では、培養細胞に環境ストレスを負荷し、ERストレス惹起からアポトーシス誘導に至る経路について検討するとともに、この経路におけるDOW添加の影響を検討した。

2. 材料と方法

培養正常ヒト由来線維芽細胞（Normal human dermal fibroblast, NHDF）に環境ストレスとして長波紫外線（UVA）を照射した。UVA照射したNHDFから分子生物学的手法に従ってRNAを抽出し、ERストレス惹起からアポトーシス誘導に至る経路のマーカ遺伝子の発現変動を調べた。また、ERストレスに誘導されるアポトーシスについて、その実行因子の1つであるカスパーゼ3（CASP3）の活性を市販のキットを用いて測定するとともに、アポトーシスに起因する細胞の石灰化をアリザリンレッド染色で検討した。さらに、ERストレス惹起からアポトーシスに至る経路におけるDOW添加の影響を検討した。

なお、DOWの代わりに精製水または表層水（SSW）を添加したほかは、同様に操作したもの

をそれぞれ陰性対照、比較対照とした。

3. 結果

NHDFに対するUVA照射は、ERストレス惹起からアポトーシス誘導に至る経路の上流マーカー遺伝子である*CHOP*とその下流にある*GADD34*の発現を有意（ $p < 0.05$ ）に増大させた。さらに、ERストレスの惹起で誘導されるアポトーシスのマーカー遺伝子である*CASP3*、4および9の発現も有意（ $p < 0.05$ ）に増大させた。また、UVA照射はアポトーシス関連遺伝子の発現変動だけに留まらず、実行因子である*CASP3*の活性を有意（ $p < 0.05$ ）に亢進させた。このUVA照射に伴う*CASP3*活性の亢進はDOWとSSWの添加により抑制された。その作用は、SSWよりもDOWの方が有意に（ $p < 0.05$ ）高かった。また、DOW添加により、有意（ $p < 0.05$ ）に細胞の石灰化が抑制された。

4. 考察

UVA照射によりNHDFのERストレスが惹起されてアポトーシスが誘導されることがわかった。この経路において、DOWにERストレスの惹起に対する直接的な作用は確認できなかったが、それによって誘導される*CASP3*活性および石灰化を抑制することが確認された。これらのことは、DOWがアポトーシスを制御することを示していた。

今後は、ERストレス惹起からアポトーシス誘導に至る経路におけるDOWの作用を詳細に検討し、DOWの作用機序を解明するとともに、作用物質の解明についても並行して検討を進める予定である。