

論文内容要旨

報告 番号	甲 葉 第 228 号	氏 名	津田 勝範
学位論文題目	抗マラリア薬アルテスネートによる水素イオンおよび酸素分子依存 活性酸素種生成機序の解明と細胞毒性に関する研究		
<p>アルテスネートはマラリアの民間治療薬であるアルテスマシニンの水溶性誘導体であり、分子内に endo-peroxide bridge を持つ化合物である。近年、アルテスネートは抗マラリア活性だけでなく抗腫瘍活性を発揮することが見出されたことから、創薬シーズとしても注目を集めている。アルテスネートの抗腫瘍活性機序として、活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)生成を介したアポトーシスの誘導、血管新生抑制作用、Hif-1α 活性化の阻害、直接的 DNA 障害が報告されているが、アルテスネートからの ROS 生成メカニズムや ROS の種類等、十分に解明されていないことから検討を行った。</p> <p>アルテスネートの抗腫瘍活性は 2 価鉄が必要という先行報告があったことから、ヒト肝癌細胞株である HepG2 に 2 価鉄とアルテスネートを作用させたところアルテスネートおよび培養環境の酸素濃度依存的に細胞障害活性を示した。そこでアルテスネートと 2 価鉄からの ROS 生成を、ROS による酸化で特異なスペクトルを与える TPC(2,2,5,5-tetramethyl-3-pyrroline-3-carboxamide)を用い電子スピン共鳴(electron paramagnetic resonance: EPR)装置で検討したところ、好氣的条件下では 2 価鉄-アルテスネート > 3 価鉄-アルテスネート ≫ アルテスネート単独の順で TPC ラジカルの生成が観察された。一方、嫌氣的条件下では TPC ラジカルは観察されなかった。このことから TPC ラジカルの生成には溶存酸素が必要であることが示唆された。このとき好氣的条件下で 3 価鉄-アルテスネートによる TPC ラジカル生成が経時的に増大したことからその機序を 2 価鉄指示薬のビピリジルを用い検討した結果、アルテスネートが 3 価鉄を 2 価鉄に還元していることを見出した。そしてこの 3 価鉄の還元は、溶液の水素イオン濃度に依存しており、酸性側で促進されることを明らかにした。次に、2 価鉄-アルテスネートから生成する ROS をスピントラップ剤 DMP0 (5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide)を用い EPR スピントラップ法で検討したところ、hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) と DMP0 の付加物による EPR シグナルが確認された。そこで 3 価鉄-アルテスネートによる HepG2 細胞への細胞障害について、$\cdot\text{OH}$ の消去剤であるエダラボンを共存させておくと、エダラボンの濃度依存的に細胞障害が抑制された。以上の結果により、アルテスネートの細胞障害には 2 価鉄だけではなく 3 価鉄でも引き起こされること、アルテスネートの抗腫瘍活性には $\cdot\text{OH}$ が関与しており、その生成を促進するには溶存酸素、鉄、そして低 pH の環境が必要であることが示唆された。</p>			