

フィチン酸とフィチン酸部分分解物による大腸がん細胞株の 増殖抑制作用とその作用機構の相違

食品安全・機能性開発学講座 機能性食品健康科学分野
斎藤憲一

【背景・目的】

フィチン酸(IP₆;イノシトール 6 リン酸)は消化管内で亜鉛をはじめとする二価の金属イオンと不溶性の塩を形成し、これらの吸収阻害を引き起こすことが知られている。その一方で IP₆ は大腸がんの発症抑制作用を示すことも報告されている。本研究では、大腸で産生される、一部のリン酸基が IP₆ より脱離した部分分解物(IP_x)が大腸がん抑制の作用本体であるとの仮説を立て、培養がん細胞を用いてその細胞周期、増殖動態に対する IP_x の作用を解析することでこれを検証した。

【方法】

用いた IP_x はイノシトール 3リン酸を主成分とし、イノシトール 2リン酸や 4リン酸を含む混合物である。IP₆ のナトリウム塩を酢酸緩衝液中で酵素分解した後、強酸性陽イオン交換樹脂で脱塩、遊離のリン酸を除去したものである。ヒト結腸腺ガン細胞由来株 HCT116 を使用し、24 時間基本培養した後 0.25–3.0 mM の IP_x、IP₆ をそれぞれ添加した試験培地で 24、48 時間培養して実験に用いた。生細胞数測定は WST アッセイを用いた。また、細胞周期の解析は、その細胞の DNA をプロピジウムアイオダイド(PI)で蛍光染色し、フローサイトメトリーで測定した。また、BrdU 標識した細胞をフローサイトメトリーで解析することで、DNA 合成の頻度を検討した。加えて、細胞周期の調節に関与する遺伝子の発現量の変化を RT-PCR で調べた。

【結果・考察】

IP_x、IP₆ を添加した培地でそれぞれ培養した細胞では共に、無添加の培地で培養した細胞と比較して生細胞数が少なかった。0.25 mM–0.5 mM の低濃度では、IP_x の方が IP₆ よりも効果が強く、1.5 mM 以上の高濃度では IP₆ でより強い抑制効果がみられた。IP₆ 添加培地で培養した細胞では、濃度依存的な BrdU 取込の低下やアポトーシスの著名な誘導がみられた。一方で、IP_x 添加培地で培養した細胞においては、測定した各々の濃度において異なる細胞周期の挙動を示し、低濃度では細胞数の大きな低下にもかかわらず、アポトーシスや BrdU 取込低下は見られなかった。高濃度の IP_x 処理に伴う増殖抑制作用は、DNA の合成阻害に伴う S 期の遅延や細胞周期全体の速度を低下させることに起因することが推測された。加えて、IP_x、IP₆ で処理した細胞の両方で細胞周期調節因子の発現に変化がみられたが、その挙動は異なっていた。

【結論】

IP_x の細胞増殖抑制機構は IP₆ のそれとは異なることが示された。IP_x は添加濃度によってその作用機構が異なると思われるが、低濃度での強い増殖抑制作用から、IP_x は大腸がん発症抑制に寄与する可能性が示された。