

クロロキンのラット培養肝細胞リソソームに対する破壊的な効果

道原明宏、戸田 憲、久保卓雄、藤原嘉輝、赤崎健司、辻 宏

Biological & Pharmaceutical Bulletin, **28**, 947-951 (2005)

Disruptive effect of chloroquine on lysosomes in cultured rat hepatocytes

Akihiro Michihara, Ken Toda, Takuo Kubo, Yoshiteru Fujiwara, Kenji Akasaki,
and Hiroshi Tsuji

ABSTRACT : Chloroquine has been used as an anti-malarial drug and is known as a lysosomotropic amine as well. The effects of chloroquine on lysosomal integrity in cultured rat hepatocytes were studied by measuring lysosomal enzyme beta-glucuronidase (beta-G) or lysosomal membrane glycoprotein (lamp-1) in Percoll density gradient fractions, in the cytosolic fraction obtained from cells permeabilized by digitonin or in the cytosolic fraction obtained by conventional cell fractionation. The distribution of beta-G on a Percoll density gradient in chloroquine-treated cells was approximately similar to that of a cytosolic protein, mevalonate pyrophosphate decarboxylase, in nontreated cells. Lamp-1 was decreased in the lysosomal fractions on a Percoll density gradient in chloroquine-treated cells, and was increased in the plasma membrane fraction, as compared with the levels in nontreated cells. Furthermore, after cells were cultured in the presence and absence of chloroquine, the proportions of beta-G activity in the cytosolic fraction obtained from the digitonin-permeabilized cells were 19% and 4%, while those in the cytosolic fraction obtained by conventional cell fractionation were 54% and 26%, respectively. From these findings, we infer that chloroquine caused the disruption of lysosomes in the living cells, and that lysosomes treated with chloroquine were easily disrupted by homogenization or centrifugation during cell fractionation.

抄録 クロロキンは抗マラリア薬として用いられてきたが、リソソーム配向性アミンとしても知られている。本論文ではクロロキンのリソソームの完全性に及ぼす影響を次の方法で調べた。1) パーコール密度勾配遠心法によって得られた細画分のリソソーム酵素である β -グルクロニダーゼ(β -G)とリソソーム膜糖タンパク質(lamp-1)を定量する。2) ジギトニン処理した細胞から得られたサイトゾル画分の β -Gを定量する。3) 通常の細胞分画法で得られたサイトゾル画分の β -Gを定量する。クロロキン処理細胞から得られたパーコール密度勾配上の β -Gの分布は未処理の細胞から得られた勾配上のメバロン酸二リン酸脱炭酸酵素(細胞質のタンパク質)の分布と類似していた。クロロキン処理細胞でリソソームのlamp-1は減少し、それに伴い形質膜画分で増加した。ジギトニン処理法ではクロロキン存在下で培養した細胞の細胞質画分の β -Gの割合は19%であったが、ク

クロロキン非存在下培養した細胞では4%であった。一方、通常の細胞分画法では、クロロキン処理細胞と非処理細胞の細胞質画分の β -Gの割合はそれぞれ54%と26%であった。これらの結果からクロロキンは生きた細胞のリソソームを破壊するが、細胞をホモジナイズする際または遠心分離によって分画する際にクロロキン処理されたリソソームは容易に壊れると推論された。