

Effects of isoflavone on viability and proliferation of cells exposed to nonylphenol

(ノニルフェノールに曝露された細胞の生残率と増殖に対するイソフラボンの影響)

北海道大学大学院環境科学院

環境起学専攻 環境適応科学コース

江良 宙夢

内分泌攪乱物質であるノニルフェノールはエストロゲン作用を攪乱する外因性の化学物質である。ノニルフェノールの曝露は細胞増殖もしくはプログラムされた細胞死であるアポトーシスを引き起こし、細胞の正常な維持に異常を起こすことが報告されている。しかし、これまでの先行研究では癌細胞や生殖細胞に対しての影響を評価するものが多く、胎児期等の影響も考慮できる未分化細胞への影響を報告するものは特に少ない。一方で、日本人には馴染みの深い大豆に含まれるポリフェノール類であるイソフラボンはアポトーシスや癌細胞の増殖作用を抑制することが報告されており、ノニルフェノールの細胞への影響を抑制する効果が期待される。よって本研究では、神経細胞のモデルとしても用いられる PC12 細胞に対してノニルフェノールおよびイソフラボンを単独あるいは同時に曝露し、その影響と機構を解明することを目的とした。また、それぞれの単独曝露の影響がすでに明らかにされているヒト結腸癌由来の caco-2 細胞に対しても同様の実験を行い手技の正確さを確認しつつ実験を行なった。

ノニルフェノールは環境中に最も存在するとされる p-ノニルフェノール (NP) をイソフラボンは大豆に多く含有するゲニステイン (GE) を用いた。細胞増殖とアポトーシスを含む細胞毒性の影響を評価するために PC12 細胞と caco-2 細胞に NP および GE を様々な濃度で添加し、2 日間培養後、細胞を回収し、セルカウンターによる細胞の増殖率と生存率の測定、培地中の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性測定による細胞毒性評価、アガロースゲル電気泳動による DNA 断片化の測定、細胞内グルタチオン (GSH) レベルの測定による細胞内酸化ストレス状態の評価、およびウェスタンブロットティング法による細胞増殖・アポトーシス関連タンパク質の発現量の測定を行った。

その結果、PC12 細胞では、NP および GE は細胞生存率、LDH 活性、GSH レベルに影響を与えず、アポトーシスの特徴である DNA の断片化も確認できなかったため、どちらも単独では毒性が低くアポトーシスを誘導しないと考えられた。しかし、NP は細胞増殖率を増加させ、GE はその増加を有意に減少させた。また、NP 単独曝露時は増殖に関与する $\text{NF-}\kappa\text{B}$ の発現量が増加し、GE との同時投与ではその増加を減少させた。Caco-2 細胞では、これまでと同様に NP および GE のどちらも生残率、増殖率、GSH レベルが減少し、LDH 活性が増加していた。また、アポトーシス誘導に関与する Bax および mTOR の発現量が増加していた。以上の結果より、NP は胎児期の正常な分化過程に影響を及ぼし、GE はその異常を抑制する可能性が示唆された。また、結腸癌細胞では NP および GE 単独曝露でのアポトーシス誘導を確認することができた、ウェスタンブロット他の結果から反応機構には違いがある可能性が示唆された。