

Aspartame induces apoptosis in PC12 cells

(PC12 細胞におけるアスパルテームのアポトーシス誘導)

北海道大学大学院 環境科学院

環境起学専攻 統合コース

堀尾 由香莉

現在、美容や健康志向から糖分の代用として人工甘味料が大量に使用されている。本研究では人工甘味料として多用されているアスパルテームに着目した。アスパルテームは甘味が砂糖の約200倍であることから、低カロリー食品に用いられている。人工甘味料であることから、安全性を立証するための実験が数多く行われてきたが、脳腫瘍、白血病などの危険性が報告されており、今でも安全性について数多く論議されている。これまで食品添加物の生体へのリスク評価として、実験動物を用いた動物実験が行われてきたが、投与から影響をみるまでに多大な期間、費用を要することなどが問題となっている。また、動物実験では日常摂取する微量での影響評価が難しくなっている。そこで、本研究ではアスパルテームの微量曝露による生体影響を評価する方法として、生体の発生と分化に着目し、PC12細胞を用いてアスパルテームの細胞毒性・アポトーシスへの影響を評価し、アポトーシスへの作用機構を明らかにすることを目的とした。

PC12細胞はラット副腎髄質腫細胞であり、栄養成分である血清を培地中から除去することにより、生体の発生・分化段階に必須な細胞死であるアポトーシスを誘導することが可能である。また、アポトーシスを起こした細胞のDNAを電気泳動すると、ラダー状DNAが観察されることがよく知られている。このPC12細胞に血清有無の各条件下で0-8 µg/mlの様々な濃度のアスパルテームを添加し、72時間培養後、トリパンブルー染色法およびLDH法による細胞毒性評価を行った。次にアポトーシスへのアスパルテームの影響を電気泳動法で確認し、さらにTUNEL法によりDNA損傷の定量化を行った。また、このアポトーシス経路へのアスパルテームの作用機構を明らかにするために、RT-PCR法、ウェスタンブロット法によりアポトーシス因子の発現量の増減を調べた。

その結果、電気泳動法およびTUNEL法によりアスパルテームの曝露で濃度依存的にアポトーシスを増強させるだけでなくアスパルテーム自体がアポトーシスを誘導することが明らかになった。アポトーシス因子のウェスタンブロット解析およびRT-PCR解析により、タンパク質分解酵素であるカスパーゼ8、9、およびアポトーシスシグナル伝達分子であるシトクロムCの発現量の増加が認められた。これらのことから、アスパルテームの添加によって誘導されるアポトーシスの経路には2通りの経路があることが考えられた。デスレセプターを介する経路ではカスパーゼ8が活性化し、ミトコンドリアを介する経路ではシトクロムCがミトコンドリア膜外に放出されカスパーゼ9が活性化することでアポトーシスが誘導されることが推察された。