

Effects of environmental contaminants on DNA damage in BeWo cells

-For development of risk assessment for future generation-

(BeWo 細胞における環境汚染物質の DNA 損傷に及ぼす影響

～次世代のリスクアセスメントの構築に向けて～)

北海道大学大学院 環境科学院

環境起学専攻 統合コース

坂田 梨紗

科学技術の発展により、我々の周りには様々な化学物質が存在する。従来の化学物質による生体への影響は、中毒作用や発病といった量が増える程毒性が強まるという比較的分かりやすいものであった。しかしながら、環境ホルモンの発見以来、化学物質による生体への影響は複雑で、外見上異常が見られない場合にも細胞内の代謝等に異常が起こることも数多く見受けられている。またこの影響を最も受けるのは、発生・発達の途中にある胎児（胎仔）である。しかしながら化学物質の胎児（胎仔）に及ぼす影響を正確に評価する方法は未だ確立されていない。

今回、ノニルフェノール (NP)、ビスフェノール A (BPA)、6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA) および硫酸銅の 4 種の化学物質に着目した。広く使われている界面活性剤の成分であるノニルフェノールや、ポリカーボネート樹脂・エポキシ樹脂の原料であるビスフェノール A は環境ホルモンとして疑われ、6-OHDA は薬害としても騒がれている神経毒であり、また硫酸銅は農薬として使用されているなど胎児（胎仔）にも影響を与え得る環境汚染化学物質と考えられている。

本研究ではこれらの化学物質の次世代への影響を評価するという観点から、これらの化学物質がヒト胎盤絨毛由来細胞である BeWo 細胞にどのような影響を及ぼすのかを研究し、胎盤細胞である BeWo 細胞を用いた次世代影響評価法を構築するための基礎資料となることを期待した。

方法として、F12K 培地-15%FBS で培養した BeWo 細胞に NP および BPA は 0-10 ppm、6-OHDA および硫酸銅は 0-200  $\mu\text{M}$  の範囲で 24-72 時間暴露したのち、細胞生残率はトリパンブルー染色法、DNA 損傷は電気泳動法および TUNEL 法を用いて評価し、当研究室で化学物質の影響評価法として確立された PC12 細胞系における結果と比較した。

その結果、NP および BPA では 1 ppm 以上の暴露で、6-OHDA および硫酸銅では 200  $\mu\text{M}$  の曝露で有意に生残率が低下した。この結果は PC12 細胞での結果とよく一致していた。しかしながら PC12 細胞では上記濃度において有意な DNA 損傷、また血清非存在下培地でアポトーシスの誘導等が認められたが、BeWo 細胞では若干の DNA 損傷の増加が認められたが、一部の化学物質の 0.1 ppm 以上の曝露を除き、アポトーシスによる影響は認められなかった。

これらのことから、本 BeWo 細胞を用いて化学物質透過実験を行う上で、細胞内蓄積した化学物質によるアポトーシスの影響を考慮しないでその構築が行えることが明らかとなった。