

## Depression effect of Vitamin E on oxidative stress

(ビタミン E の酸化ストレス抑制効果)

北海道大学大学院 環境科学院

環境起学専攻 先駆コース

石渡 沙織

ビタミン類は、体内の代謝に重要な働きをする生命に必須の微量化合物である。しかし、生体自らが作る事の出来ない化合物でもある。本研究では、ビタミン類の中でも近年、健康・美容志向からサプリメント等に多く含まれている脂溶性ビタミンの一種であるビタミン E に着目した。ビタミン E の主な働きは、抗酸化作用であることが良く知られている。この事から食品や医薬品などの酸化防止剤として広く用いられており、さらに体内の活性酸素を抑制する事から老化防止剤としても注目されている。一方、生体内において酸化ストレス下では活性酸素種等の作用により DNA の傷害が起こり、細胞の機能障害が起こる事が知られている。近年、この酸化ストレスによってアポトーシスが引き起こされる事も明らかにされており、ビタミン E がこの反応を抑制する効果があるとされているが、その詳細は明らかとはなっていない。そこで、本研究では PC12 細胞を用いて酸化ストレス下において細胞毒性・アポトーシスへのビタミン E の影響を評価する事で、ビタミン E の酸化ストレス抑制効果を明らかにする事を目的とした。

方法として、培地 10%FBS で培養したラット副腎髄質腫細胞の PC12 細胞を用い、過酸化水素を添加する事で酸化ストレスを与えた。様々な濃度の過酸化水素を添加し、トリパンブルー染色法による細胞生残率、さらにその細胞より DNA を抽出して DNA 電気泳動を行いアポトーシスが起きているか否かを確認した。アポトーシスを起こした細胞の DNA を電気泳動すると、ラダー状の DNA が観察される事がよく知られている。本研究では、アポトーシスが確実に誘導される過酸化水素濃度 750  $\mu$ M 添加を酸化ストレス条件として以下の全ての実験を行った。ビタミン E は 8 種の同族体の中でも最も大きな生理活性を示す  $\alpha$ -トコフェロールを用いた。ビタミン E 濃度は最終濃度が 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 1 mM となるように細胞に添加し、48 時間曝露した後、トリパンブルー染色法、DNA 電気泳動法、ウェスタンブロット法を用いてビタミン E の抗酸化作用を評価した。

その結果、過酸化水素によるアポトーシス誘導が、ビタミン E 添加により改善する傾向が認められた。つまり、1  $\mu$ M 以上のビタミン E 添加により過酸化水素曝露で低下した細胞生残率が有意に上昇する結果となった。また、ビタミン E 添加によりアポトーシスシグナル伝達分子であるシトクロム C の細胞質への放出量の減少が認められた。このことから、ビタミン E は過酸化水素による酸化ストレス下において、誘導されたアポトーシスを抑制する事で細胞死を減少させる効果があることが明らかとなった。