

Evaluation of the toxicity of the sorbic acids using PC12 cells (PC12細胞を用いたソルビン酸類の毒性の評価)

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
井上 祥太郎

【背景】食品添加物である保存料は、様々な食品において微生物による腐敗、変敗を防止し食品の保存性を向上する目的で使用されている。保存料の中には、ニトロフルリルアクリル酸アミドなどのように安全性に問題があるとして食品添加物としての指定を削除された物質がある。現在指定されている品目に関しては、様々な方法で安全性の確認が行われており、使用基準を守って使われる限り問題はないと考えられているが、静菌性や防カビ性を有することから、人体への安全性が疑われることもある。ソルビン酸類は、世界各国で使われている代表的な保存料の一つであり、カビ、酵母類、好気性菌に一樣に静菌効果を持つため、幅広い食品群の保存性向上の目的で使用されている。ソルビン酸類のうち、ソルビン酸カリウムは指定添加物として記載されているが、ソルビン酸ナトリウムは強い遺伝子毒性を持つとされ削除されている。しかし現在、その毒性の違いのメカニズムについては不明瞭で、それに関する研究はあまり行われていない。そこで本研究では、ソルビン酸カリウムとソルビン酸ナトリウムの毒性の差の要因を、ラット副腎髄質腫細胞である PC12 細胞を用いて調べることを目的とした。

【方法】10%FBS 培地で培養した PC12 細胞にソルビン酸カリウム、ソルビン酸ナトリウム、塩化カリウム、塩化ナトリウムを 0-20 mM の濃度で添加し、添加後 72 時間培養した後、トリパンブルー染色法を用い細胞の生残率を測定し細胞に対する毒性の評価を行った。またその細胞より DNA を抽出し、DNA 電気泳動解析法により DNA 断片化の度合いを調べ、細胞に誘発された DNA 損傷の状態を観察し、また DNA 損傷度の定陵をデンストメトリーにより試みた。

【結果と考察】トリパンブルー染色法および DNA 電気泳動解析法により、細胞にソルビン酸カリウムおよびソルビン酸ナトリウムを 20 mM の濃度で暴露すると、どちらの細胞も生残率が 30%程度まで低下し、電気泳動でも DNA ラダーが確認でき、細胞にアポトーシスが誘導されたことがわかったが、ナトリウムおよびカリウム塩の差異は認められなかった。先行研究によりナトリウム塩のソルビン酸が遺伝子変異などを誘発しやすいことがわかっているため、塩化ナトリウムおよび塩化カリウムを用い、ソルビン酸カリウム+ナトリウムおよびソルビン酸ナトリウム+カリウムの組み合わせでも調べてみたが細胞毒性では大きな違いが認められなかった。今後 DNA 損傷の検討および pH との関連を調べていく予定である。