

Effects of catechin on copper toxicity in PC12 cells

(PC12細胞における銅毒性に対するカテキンの影響)

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

中野 紘希

【背景】 地球上に存在する様々な重金属は人体に悪影響を与える有害重金属と人間が生命を維持していくために必要な必須微量重金属に大別される。有害重金属の例としては、日本において過去にイタイタイ病や水俣病の原因としているカドミウムおよび水銀が挙げられる。必須微量重金属の例としては生体内で様々な酵素の補因子となって生体機能を果たしている鉄、銅および亜鉛が挙げられる。このうち銅は必須と微量のバランスが極めてデリケートであり、不足すると欠乏症を引き起こすが、適量以上に摂取すると過剰症を引き起こす。過剰な銅が生体内に取り込まれると活性酸素など産生し重篤な障害を生体を与えると考えられている。この銅の細胞毒性機構に関する先行研究として当研究室においても銅がアポトーシスを誘導する機構の解明等行って来たが、その毒性を抑制する機構に関する研究は余り行われていない。そこで本研究では銅の細胞毒性を抑制する物質として活性酸素を取り除き、酸化を抑える働きを持つ抗酸化物質に着目した。その抗酸化物質の中でも協力的な抗酸化作用を持ちかつ日常的に我々が摂取しているカテキンを取り上げ、銅の毒性に対してカテキンがどのような抑制効果を示すのかをラット副腎髄質腫細胞、PC12細胞を用いて調べた。

【方法】 10%FBS培地で培養したPC12細胞に銅およびカテキンを様々な濃度で添加し、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、銅により細胞に誘発されたアポトーシスに対するカテキン投与の影響を観察した。さらに銅により誘導されたアポトーシス発現経路と、それに及ぼすカテキンの影響を調べるためRT-PCR法を用いてアポトーシス発現因子の量の変化を調べた。

【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、細胞に銅を曝露することにより先行研究と同様に銅濃度依存的に細胞にアポトーシスが誘導され細胞死が引き起こされることが確かめられた。また銅により誘導されたアポトーシスはカテキンを添加することにより軽減する、またアポトーシスに由来するDNAラダーの量が減少する等銅による毒性が抑制される傾向が認められた。同様に銅によるアポトーシス因子増加に及ぼすカテキンの影響をRT-PCR法を用いて検討中である。

本研究の結果により、銅はPC12細胞に対しアポトーシスを誘導するが、1 μ g/mlカテキンを添加することで誘導されたアポトーシスを抑制することが示唆された。