

Effects of ascorbic acid on apoptosis enhanced by aspartame in PC12 cells  
(PC12細胞におけるアスパルテームにより増幅されるアポトーシスに対する  
アスコルビン酸の影響)

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  
山中 秀太郎

【背景】人工甘味料とは、天然には存在しない甘味成分を人工的に合成したものである。現在、美容や健康志向の高まりにより、人工甘味料は天然甘味料の代わりとして様々な食品や飲料に使用されている。本研究では人工甘味料の中でも特に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、砂糖の200倍の甘さを持つことや、非う蝕性であることから多くの低カロリー食品や飲料に用いられている。日本やアメリカで使用が認可された1983年以降も安全を立証するための研究が多数行われているが、精子に障害を与える可能性や発ガン性などが報告されており、今もなお議論の余地がある。当研究室の先行研究においても、アスパルテームの曝露によって濃度依存的にアポトーシスが增強されるだけでなく、アスパルテーム自体がアポトーシスを誘導するという、およびアポトーシスにアスパルテームが用いる経路が2通り存在すること等が明らかにされた。しかし、增強あるいは誘導されたアポトーシスを抑制する機構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、抗酸化物質がアスパルテームによって增強されたアポトーシスを抑制する物質として用いることができるのではないかと考えた。その中でも日常的によく摂取されるアスコルビン酸(ビタミンC)に注目し、アスパルテームによって增強されたアポトーシスに対して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であるPC12細胞を用いて調べた。

【方法】10%FBS培地よりFBSを除いた培地で培養したPC12細胞にアスパルテーム、アスコルビン酸、また、比較のための過酸化水素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、アポトーシスに及ぼす影響の評価を行った。またその細胞から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、アスパルテームにより增強されたアポトーシスに対する抗酸化物質(アスコルビン酸)及び酸化促進物質(過酸化水素)投与の影響を評価した。

【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って、FBS不添加培地で培養した細胞にアスパルテームを曝露することで、先行研究同様、アスパルテームの濃度依存的にアポトーシスを增強し、細胞死が増えることが確かめられた。またアスパルテームで增強されたアポトーシスはアスコルビン酸を添加することで抑制されるが、過酸化水素を添加すると更に增強される傾向が認められた。

これらのことからアスパルテームにより增強されたアポトーシスに対しての、アスコルビン酸による緩和効果は生体内の酸化ストレスの減少によるものと推定された。