

PCB 暴露による細胞内分子動態に関する研究

分担研究者 中西洋一 九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授

研究要旨 PCB/ダイオキシン類暴露による気道上皮細胞の細胞内分子動態に関して検討を行った。TCDD 暴露により気道上皮の細胞周期は進行することか示された。細胞周期に関する各種蛋白の発現を検討したところ、Rb 蛋白のリン酸化レベルの変化が認められた。

A. 研究目的

油症の症状の一つに気管支炎があり、咳、痰などの症状がみとめられる。PCB/ダイオキシン類の暴露により気道上皮の障害が起るものと考えられる。気道上皮細胞株を用いてダイオキシン類の暴露による細胞内分子動態を明らかにするために今回の研究を行った。

B. 研究方法

気道上皮由来の細胞株 A549 細胞に 2,3,7,8-TCDD を暴露し、細胞周期の変化、DNA 合成の変化を検討した。細胞周期はフローサイトメトリーにて検討し、DNA 合成能は BrdU の取り込みにて検討した。また細胞周期に関連する各種蛋白の発現の変化をウエスタンブロットにて検討した。TCDD 暴露による転写因子 E2F の活性の変化をルシフェラーゼアッセイにて検討した。

C. 研究結果

A549 細胞に TCDD を 48 時間暴露した後細胞周期を検討した結果、コン

トロールと比較して細胞周期は進行していることが判明した (図 1)。また BrdU を用いて DNA の合成に関して検討を行ったところ TCDD 暴露により細胞の DNA 合成は上昇しており (図 2)、フローサイトメトリーの結果と合致するものであった。次に細胞周期に関連する蛋白についてウエスタンブロット法にて検討を行った。TCDD の暴露により p53 の発現は変化が認められなかった (図 3A)。また p53 関連蛋白である MDM2 の発現も変化が認められなかった。一方 Rb 蛋白に関して検討を行ったところ TCDD の暴露により Rb 蛋白のリン酸化レベルの上昇が認められた (図 3B)。また Rb と結合する転写因子 E2F の転写活性をルシフェラーゼアッセイにて検討した。TCDD 暴露により E2F の転写活性が上昇することか示された (図 4)。

D. 考察

ダイオキシン類が細胞周期に与える影響はこれまでも報告があるか、使用する細胞株によって結果は異なってい

た。このことはチオキシソール類が各臓器特異的に毒性を発揮することを示唆すると考えられるか、今回用いた気道上皮由来の細胞株 A549 において細胞周期は進行した。今回の結果からは TCDD の曝露により Rb 蛋白のリン酸化レベルの上昇、転写因子 E2F 蛋白の活性化という経路をとり細胞周期が進行することか示唆された。

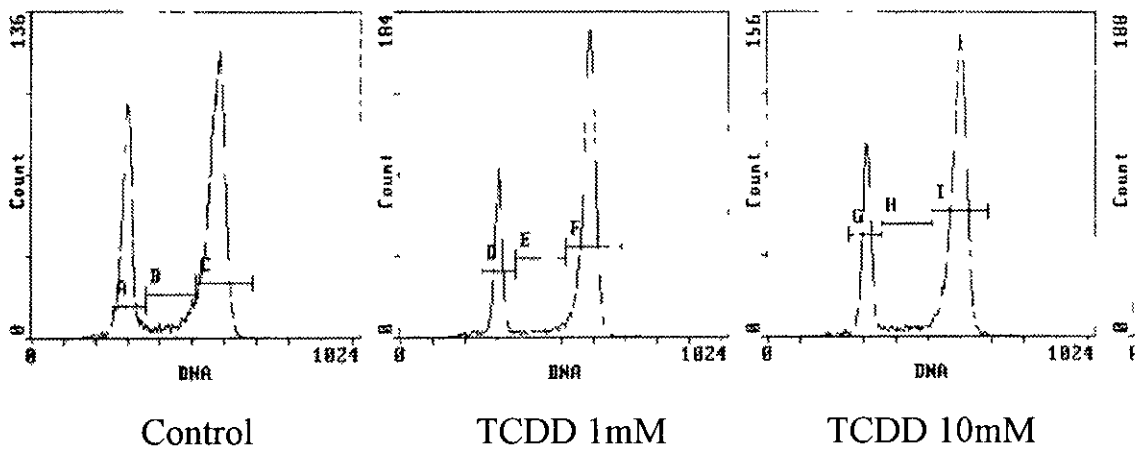


図1 TCDDをA549 に曝露し24時間後にPI染色を行った。フローサイトメトリーにて細胞周期を検討した。TCDD曝露にて細胞周期が進行した。

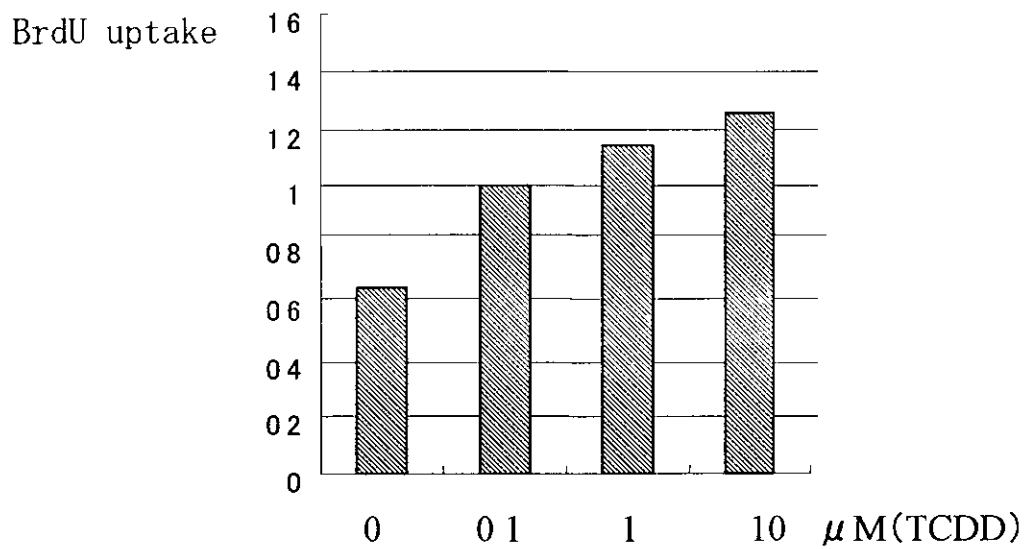


図2 TCDD曝露後のDNA合成能の変化をBrdUの取り込みにて検討した。BrdUの取り込みの測定はマイクロプレートリーダーを使用した。TCDD曝露にてDNA合成能は上昇した。

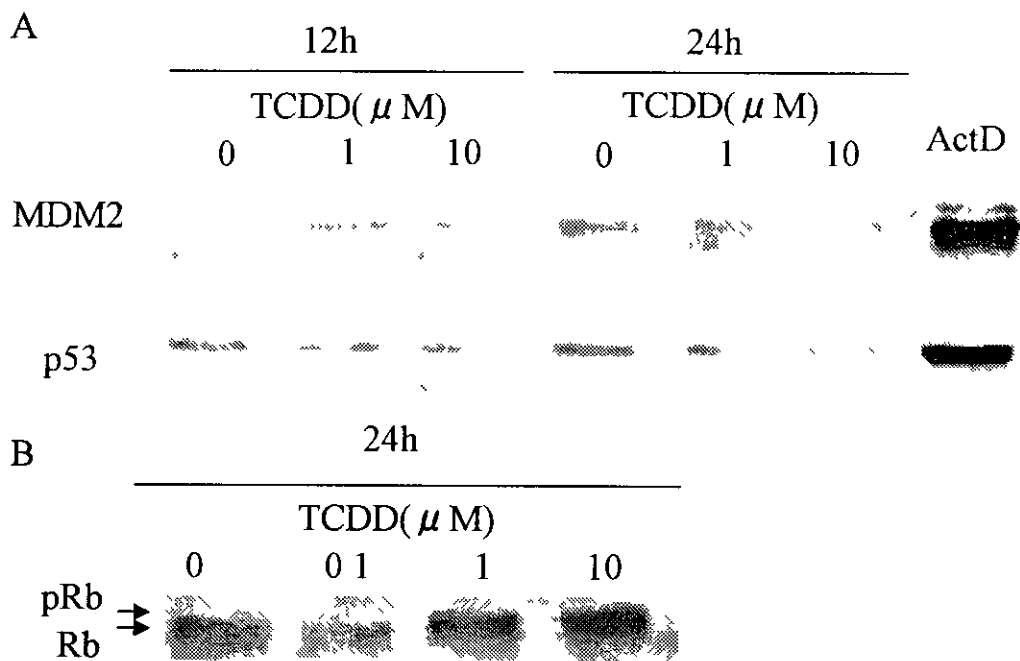


図 3. 細胞周期に関連する蛋白をウエスタンブロットにて検討した。A)TCDDの曝露によりp53、MDM2は変化しなかった。 B)TCDDの曝露によりRbがリン酸化レベルの上昇が認められた

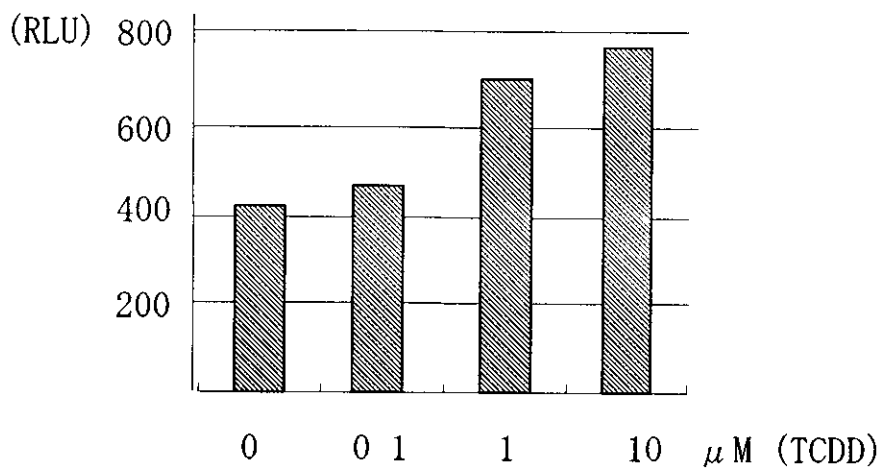


図4 TCDD曝露後にE2Fの転写活性をルシフェラーゼアッセイにて検討した。TCDD曝露によりE2Fの転写活性は上昇した。

研究成果の刊行に関する一覧表

(2003 年度分)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
YOSHITO MASUDA	The Yusho Rice Oil Poisoning Incident	Edited by A Schecter and T A Gasiewicz	Dioxins & Health, Second Edition, Chapter 21	John Wiley & Sons, Inc	Hoboken, New Jersey, USA	2003	855-891

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
古江増隆	序言	福岡医学雑誌	94(5)	79-80	2003
Hashiguchi I , Yoshimine Y , Gotou Y , Maeda H , Wada N and Akamine A	An epidemiologic examination on the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in Yusho patients in 2002	Fukuoka Acta Medica	94(5)	81-86	2003
上ノ土武、古賀哲也 古江増隆、中山樹一 郎、旭正一	2001 2002 年度の福岡県年次検診による皮膚症状	福岡医学雑誌	94(5)	87-96	2003
吉村俊朗、沖田実 中 野次郎 白石裕一 岩 永洋、友利幸之助、岡 本真澄	カネミ油症検診者に見られる血清クレアチンキナーゼとアルトラーゼの異常。	福岡医学雑誌	94(5)	97-102	2003
辻 博、伊東靖夫	油症患者における甲状腺機能の検討	福岡医学雑誌	94(5)	103-107	2003
小川文秀 清水和宏 片山一朗	油症患者における皮丘 皮野面積の検討	福岡医学雑誌	94(5)	108-109	2003
Tokunaga S, Kataoka K	A Longitudinal Analysis on the Association of Serum lipids and Lipoproteins Concentrations with Blood Polychlorinated Biphenyls level in Chronic "Yusho" Patients	Fukuoka Acta Medica	94(5)	110-117	2003

J Nagayama, T Takasuga, H Tsuji M Uehara, T Sada, and T Iwasaki	Active Elimination of Causative PCDFs/DDs Congeners of Yusho by One Year Intake of FBRA in Japanese People	Fukuoka Acta Medica	94(5)	118-125	2003
飯田隆雄、戸高 尊、 平川博仙 飛石和大 松枝隆彦 堀 就英 中川礼子 古江増隆	油症患者血中ダイオキシン類レ ベルの追跡調査(2001年)	福岡医学雑誌	94(5)	126-135	2003
増田芳人 原口浩一 古野純典	油症患者における PCB 異性体の 30 数年間にわたる特異な残留	福岡医学雑誌	94(5)	136-143	2003
中川礼子 芦塚由紀 堀 就英 平川博仙 飛石和大 飯田隆雄	血中 PCB ハターン判定における従 来法と異性体別分析法の同等性に ついて	福岡医学雑誌	94(5)	144-147	2003
T Todaka, H Hirakawa, K Tobiiishi and T Iida	New Protocol of Dioxins Analysis in Human Blood	Fukuoka Acta Medica	94(5)	148-157	2003
J Nagayama, M Nagayama, T Iida, H Hirakawa, T Matsueda and J Fukushige	Frequency of SCEs in Japanese Infants Exposed to Dioxins and PCBs through the Breast Milk	Fukuoka Acta Medica	94(5)	158-165	2003
J Nagayama, M Nagayama, R Nakagawa H Hirakawa, T Matsueda T Iida and J Fukushige	Frequency of SCEs in Japanese Infants Lactationally Exposed to Organochlorone Pesticides	Fukuoka Acta Med	94(5)	166-173	2003
古賀信幸 金丸知代 黒木広明 原口浩一、 加藤善久 木村良平	2,3,3',4,4'-五塩素化ヒフェニル (CB105)のハムスターにおける代謝	福岡医学雑誌	94(5)	174-182	2003
石田卓巳 益崎泰宏、 西村嘉雄 山田英之	ダイオキシン類の生殖毒性と後世 代への影響並びにその機構	福岡医学雑誌	94(5)	183-195	2003
Yoshimura, T	Yusho in Japan	Industrial Health	41	139-148	2003
Yoshito Masuda	Health Effect of Polychlorinated Biphenyls and Related Compounds	Journal of Health Science	49(5)	333-336	2003
Y Kato, K Haraguchi, T Yamazaki, Y Ito, S Miyajima, K Nemoto, N Koga, R Kimura and M Degawa	Effects of polychlorinated biphenyls, Kanechlor-500, on serum thyroid hormone levels in rats and mice	Toxicol Sci	72	235-241	2003