

回実施した。

8. 細胞死評価実験

化学物質で曝露した細胞を 96 穴プレートに 1 穴当たり約 1,000 個/100 μ l の細胞濃度で播種した。翌日、無血清 D-MEM で細胞を洗浄し、100 μ l の無血清 D-MEM にてさらに 2 日間培養した。細胞死を誘導するための過酸化水素の添加は、無血清 D-MEM に交換して 1 時間後行った。細胞数は Cell counting kit-8 (CCK-8) を用いて測定した。実験は 1 濃度につき 3 サンプル以上で行い、同じ実験を 3 回以上実施した。

9. データの統計学的解析

得られた結果は統計解析ソフト StatView を用いて分散分析を行い、多重比較検定を実施した。

C. 研究結果

1. マウス大脳皮質神経上皮細胞の自己増殖に対する化学物質の効果

マウス胎令 12-13 日は大脳皮質形成初期にあたり、この時期の大脳は自己増殖能の盛んな神経上皮細胞を多く含む。この細胞を単一にして成長因子存在下、非接着性のプラスチックシャーレ内で培養すると、自己複製が進行し浮遊細胞塊が形成される (図 1、[18])。この細胞塊は自己増殖能を維持した神経上皮細胞を含んでいるが、プラスチックシャーレ上に接着させて培養すると神経細胞およびグリア細胞に分化する。これらの事実から細胞塊培養系は神経上皮細胞の自己増殖や神経分化の調節機構を調べる有用な実験系として広く用いられ、さらに生理活性物質や化学物質の作用が検討されている [14, 19, 20]。そこで本研究では、ビスフェノール A の神経上皮細胞の自己増殖に対する作用を検討した。

胎令 13 日のマウス大脳を分散単離し、EGF および bFGF とともに 10 pM-100 nM のビスフェノール A 存在下で 1 週間培養した。培養最終日に BrdU を取込ませ DNA への BrdU 取込み量を比較したところ、化学物質非添加のコン

トロール細胞と比べて、いずれの濃度のビスフェノール A も BrdU 取込み量に影響を及ぼさなかった (図 2)。10 nM のノニルフェノールおよび 0.1 pM の DES もまた無作用であった。これらのことから、今回検討した濃度ならびに曝露期間では神経上皮細胞の自己増殖能に影響しないことが示された。

これらの神経上皮細胞におけるエストロゲン受容体 ER α 、ER β および GPR30 の遺伝子 (それぞれ *Esr1*、*Esr2* および *Gpr30*) の発現を RT-PCR により調べた。胎令 13 日大脳皮質において *Esr1* の発現が認められたが、7 日間神経上皮細胞を細胞塊で培養すると消失した (図 3)。ビスフェノール A で処理をした細胞塊においても *Esr1* の発現は認められなかった。*Esr2* の遺伝子発現もまた同様に 7 日間の培養により消失し、ビスフェノール A は発現に影響しなかった。これに対して *Gpr30* の発現は胎令 13 日大脳皮質のみならず 7 日間の細胞塊培養においても維持されており、ビスフェノール A 処理で顕著な発現変動も認められなかった。

2. PC12 細胞の神経分化に対する化学物質の効果

PC12 細胞は NGF により神経分化するため、その調節機構の検討や分化に影響する物質の評価に広く用いられている。ビスフェノール A またはノニルフェノール存在下で PC12 細胞を NGF により神経分化させると、神経突起伸長の抑制が生じることが報告されている [8, 16]。我々もビスフェノールおよびノニルフェノールを用いて同様の検討を行ったところ、両者が PC12 細胞の神経分化を抑制する結果を得た (図 4)。このことはビスフェノール A が NGF シグナル経路に抑制的に作用していることを示唆しているが、それが直接的なのか 2 次的に作用しているのかは不明である。

この点を検討するために、PC12 細胞をビスフェノール A で曝露した後、ビスフェノール A 非存在下で NGF を添加し、神経分化に対する影響が生じるかどうかを調べた。ビスフェノール A を 5 μ M の濃度で 3 日間前処理したところ、NGF と同時投与したときと同様に PC12 細

胞の神経分化の抑制が認められた (図 5)。さらに低濃度長期曝露の作用を検討するために、PC12 細胞を 100 pM~100 nM のビスフェノール A で 1 ヶ月曝露した。この細胞に NGF を加えて分化誘導を行ったところ、神経分化した PC12 細胞の割合が有意に低下した (図 6、7)。ビスフェノール A の神経分化抑制効果は、1 週間曝露した PC12 細胞においても見られたが、1 日間の曝露では認められなかった (結果示さず)。同程度の低下は 100 pM~100 nM のノニルフェノールや 1 nM の β エストラジオールを処理した細胞においても生じた (結果示さず)。

PC12 細胞における *Esr1*、*Esr2* ならびに *Gpr30* の発現を調べた。正常の PC12 細胞では *Esr2* および *Gpr30* の発現が認められた (図 8)。

3. 3T3 線維芽細胞の増殖と細胞死に対する化学物質の効果

化学物質の評価を比較的簡便に行うには、取り扱い易い細胞を用いた簡素な実験系を確立することが重要である。このため 3T3 線維芽細胞を用いた細胞増殖および細胞死を指標としてビスフェノール A およびノニルフェノールの影響を検討した。3T3 線維芽細胞をビスフェノール A で 1 ヶ月間曝露し、その後の細胞増殖を経時的に調べた。ビスフェノール A で曝露しなかった細胞は経時的に増加し、培養 3 日目では 1 日目の 6 倍となった (図 9)。1 nM または 100 nM のビスフェノール A で 1 ヶ月曝露した 3T3 線維芽細胞の増殖は、曝露しなかったコントロール細胞のそれとほぼ同程度であった。

3T3 線維芽細胞は無血清培地で培養すると栄養飢餓状態となり細胞死が誘発される。この細胞死に対するビスフェノールの長期曝露の影響を調べた。ビスフェノール A で曝露しなかった細胞は無血清培養 1 日目では約 50% が死滅し、培養 2 日目では 1 日目よりも若干の細胞死増加が見られた。10 pM~100 nM のビスフェノール A で 1 ヶ月曝露した 3T3 線維芽細胞はコントロール細胞とほぼ同程度の細胞死を生じたが、1 nM で処理をした細胞においてのみ、培養 2 日目で細胞死増加が認められ

た (結果示さず)。

続いて酸化ストレスによる細胞死に対してビスフェノール A の長期曝露がどのような影響を及ぼすのかを調べた。酸化ストレスの誘発は過酸化水素の添加により行った。過酸化水素は広く使用されているラジカル発生源であり、これで細胞を処理するとミトコンドリアの傷害、細胞膜脂質の過酸化、DNA の切断などが生じ、最終的に細胞死に至る。無血清培地で培養した 3T3 線維芽細胞に 1~300 μ M の過酸化水素を添加すると、濃度に依存した細胞死が認められ、その時の EC_{50} 値は 10 μ M であった (図 10)。ビスフェノール A で 1 ヶ月曝露した 3T3 線維芽細胞を 10 μ M の過酸化水素で処理をしたとき、ビスフェノール A の濃度に依存した、しかしながらベル型の細胞死抑制作用が見られた (図 11)。曝露期間を 1 週間としても同様の細胞死抑制作用が認められた。さらに 10 pM~100 nM のノニルフェノール、1 nM の β エストラジオールおよび 0.01 nM のジエチルstilbestrol で曝露した 3T3 線維芽細胞においても過酸化水素誘発細胞死に対する抵抗性が観察された (結果示さず)。これに対してビスフェノール A の 1 日曝露ではそのような酸化ストレス抵抗性が観察されなかった (図 11)。

3T3 線維芽細胞における *Esr1*、*Esr2* ならびに *Gpr30* の発現を調べたところ、*Esr1* および *Esr2* のいずれも検出されず、*Gpr30* の発現が認められた (図 12)。

D. 考察

1. 神経上皮細胞の自己増殖

神経細胞が誕生する時期の脳には神経上皮細胞が多量に含まれており、これらを一度分散単離して成長因子存在下で浮遊培養することにより、自己増殖能を有する神経上皮細胞からなる細胞塊が形成される [18]。このとき成長因子とともに様々な因子を加え、自己増殖に対する当該因子の影響を調べることができる。さらにその後の神経細胞やグリア細胞への分化を定量評価することにより、神経上皮細胞分化への影響を分子および細胞レベル

で明らかにすることが可能となる。今回ビスフェノール A、ノニルフェノール、 β エストラジオールのいずれも自己増殖には顕著な影響を及ぼさなかった。同様の結果を古川らも報告している[14]。また妊娠マウスへビスフェノール A を投与したとき、胎仔マウスの大脳皮質神経上皮細胞への BrdU 取込みは非投与群のそれと差異が認められなかったことが報告されている[6]。しかしながら、同じ報告においてビスフェノール A 投与は神経分化を促進することが示されている。したがって、今後、本実験系を用いて神経細胞およびグリア細胞への分化に低濃度ビスフェノール A 長期曝露の影響が表れるのかどうかを調べる必要がある。

2. PC12 細胞の神経分化抑制

PC12 細胞は NGF により交感神経様細胞に形態ならびに形質が変化する。これまで複数の報告においてビスフェノール A およびノニルフェノールが PC12 細胞の神経分化を抑制することが示されている[8, 16]。これらの実験で用いられている濃度はビスフェノール A の場合、40 nM および 2 μ M であり、ノニルフェノールは 5 μ M である。我々が検討した結果においてもほぼ同等の抑制作用が認められた。これらのことは両化学物質が NGF 神経分化誘導機構に対して抑制的に作用することを確認している。しかしながら、NGF で分化を誘発するよりも前に、ある一定期間これらの化学物質で曝露をすることにより、同様の神経分化抑制が認められた。したがって化学物質の作用は NGF の神経分化誘導機構に対して直接的ではない可能性を示唆している。

3. 酸化ストレス誘発細胞死に対する抵抗性

3T3 線維芽細胞は取り扱いが非常に簡便な細胞であり、細胞内情報伝達経路の解析、酸化ストレス応答、細胞のがん化などのメカニズム研究によく用いられている。本実験では細胞死に及ぼす影響を検討するため過酸化水素により細胞死を誘発させた。過酸化水素は細胞内の多様な分子や器官に対して酸化スト

レスを与える。たとえば、細胞膜脂質の酸化、DNA 損傷、ミトコンドリア傷害などが生じ、最終的に細胞は死に至る。またこれらの反応には細胞内情報伝達系の変動も関与しており、キナーゼ経路の活性化などが報告されている[21]。低濃度のビスフェノール A およびノニルフェノールで前処理をした 3T3 線維芽細胞は、過酸化水素処理により生じる細胞死に対して抵抗性を獲得したことは、PC12 細胞の場合と同様に、両化学物質の作用が過酸化水素による細胞傷害活性化経路を直接抑制するものではないと考えられる。

ビスフェノール A およびノニルフェノールの作用機構

近年ビスフェノール A が DNA メチル化やヒストン化学修飾を変動させることが指摘されている[22, 23]。このようなエピジェネティックな変化が臓器および時期特異的遺伝子の発現を変化させ、その結果、神経系を含む様々な臓器の発達や機能に影響をもたらしていることが示唆されている。一方、このようなエピジェネティックな変化だけではなく、DNA 損傷を引き起こすことも示されており[24, 25]、このような損傷による異常が細胞分裂と共に継続維持されている可能性も考えられる。ノニルフェノールの場合、これらの作用は未だ調べられていない。本研究において認められたビスフェノール A およびノニルフェノールの長期曝露の細胞機能に及ぼす影響が、これらのエピジェネティックな作用によるものか、DNA 損傷によるものか、あるいはその他の機構によるものか、今後明らかにする必要がある。

このような問題に対する解決の糸口は化学物質の受容機構の解明と考えられる。ビスフェノール A もノニルフェノールも核内受容体である ER α および ER β に結合するのみならず、アゴニストとして作用する[26, 27]。さらに近年見出された、細胞膜のエストロゲン受容体と考えられている GPR30 にもアゴニストとして作用することが報告されている[28, 29]。また、エストロゲン関連受容体 (Esrr β 、Esrr

γ) の存在やエストロゲン受容体を介さない作用の報告もあり[30]、これらの化学物質の受容機構は混沌としている。しかしながら、我々の検討では PC12 細胞では ERβ および GPR30 が、3T3 線維芽細胞では GPR30 のみが発現していたことから、両化学物質の作用は少なくとも ERα を介したものではないと考えられる。ビスフェノール A およびノニルフェノールの神経分化抑制作用、細胞死抑制作用が ERβ、GPR30 あるいはその他の機構を介しているのかどうかを明らかにするために、これら受容体アンタゴニストの使用や遺伝子発現のノックダウンなどを取り入れた実験を進める予定である。

E. 結論

ビスフェノール A の低濃度 (100 pM~100 nM) の長期曝露 (1 週間以上) は PC12 細胞の神経分化や 3T3 線維芽細胞の酸化ストレスによる細胞死に影響を及ぼすことが示された。これらの分子機構を明らかにし、化学物質の簡便な評価系確立に役立てる。また、マウス神経上皮細胞の分化モデルを利用したこれら化学物質の評価を継続して進めていく。

F. 引用文献

- [1] K. Kubo, O. Arai, R. Ogata, M. Omura, T. Hori and S. Aou, *Neuroscience Letters* 304 (2001) 73-76.
- [2] K. Kubo, O. Arai, M. Omura, R. Watanabe, R. Ogata and S. Aou, *Neuroscience Research* 45 (2003) 345-356.
- [3] C.A. Richter, L.S. Birnbaum, F. Farabollini, R.R. Newbold, B.S. Rubin, C.E. Talsness, J.G. Vandenbergh, D.R. Walser-Kuntz and F.S. vom Saal, *Reproductive Toxicology* 24 (2007) 199-224.
- [4] K. Nakamura, K. Roh, T. Sugimoto and S. Fushiki, *Neuroscience Letters* 420 (2007) 100-105.
- [5] K. Nakamura, K. Itoh, K. Yoshimoto, T. Sugimoto and S. Fushiki, *Neuroscience Letters* 484 (2010) 66-70.
- [6] K. Nakamura, K. Itoh, T. Yaoi, Y. Fujiwara, T. Sugimoto and S. Fushiki, *Journal of Neuroscience Research* 84 (2006) 1197-1205.
- [7] M. Aoki, M. Kurasaki, T. Saito, S. Seki, T. Hosokawa, Y. Takahashi, H. Fujita and T. Iwakuma, *Life Sciences* 74 (2004) 2301-2312.
- [8] C.L. Bevan, D.M. Porter, C.R. Schumann, E.Y. Bryleva, T.J. Hendershot, H. Liu, M.J. Howard and L.P. Henderson, *Endocrinology* 147 (2006) 4192-4204.
- [9] L. Imamura, K. Kurashina, T. Kawahira, M. Omoteno and M. Tsuda, *Neurotoxicology* 26 (2005) 17-25.
- [10] C. Kudo, K. Wada, T. Masuda, T. Yonemura, A. Shibuya, Y. Fujimoto, A. Nakajima, H. Niwa and Y. Kamisaki, *Journal of Neurochemistry* 88 (2004) 1416-1423.
- [11] H.H. Le, E.M. Carlson, J.P. Chua and S.M. Belcher, *Toxicology Letters* 176 (2008) 149-156.
- [12] M. Miyatake, K. Miyagawa, K. Mizuo, M. Narita and T. Suzuki, *Journal of Neuroendocrinology* 18 (2006) 434-444.
- [13] T. Negishi, Y. Ishii, S. Kyuwa, Y. Kuroda and Y. Yoshikawa, *Neuroscience Letters* 353 (2003) 99-102.
- [14] M. Okada, K. Murase, A. Makino, M. Nakajima, T. Kaku, S. Furukawa and Y. Furukawa, *Biomedical Research-Tokyo* 29 (2008) 163-170.
- [15] M. Okada, A. Makino, M. Nakajima, S. Okuyama, S. Furukawa and Y. Furukawa, *International Journal of Molecular Sciences* 11 (2010) 4114-4123.
- [16] S. Seki, M. Aoki, T. Hosokawa, T. Saito, R. Masuma, M. Komori and M. Kurasaki, *Chemico-Biological Interactions* 194

- (2011) 23-30.
- [17] Y.B. Wetherill, B.T. Akingbemi, J. Kanno, J.A. McLachlan, A. Nadal, C. Sonnenschein, C.S. Watson, R.T. Zoeller and S.M. Belcher, *Reproductive Toxicology* 24 (2007) 178-198.
- [18] N. Fukushima, S. Shano, R. Moriyama and J. Chun, *Neurochemistry International* 50 (2007) 302-307.
- [19] D. Moses, Y. Teper, I. Gantois, D.I. Finkelstein, M.K. Horne and J. Drago, *Experimental Neurology* 199 (2006) 209-221.
- [20] C. Camarillo and R.C. Miranda, *Gene Expression* 14 (2008) 159-171.
- [21] H.R. Luo, H. Hattori, M.A. Hossain, L. Hester, Y.F. Huang, W. Lee-Kwon, M. Donowitz, E. Nagata and S.H. Snyder, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (2003) 11712-11717.
- [22] M. Kundakovic and F.A. Champagne, *Brain Behavior and Immunity* 25 (2011) 1084-1093.
- [23] D.C. Dolinoy, D. Huang and R.L. Jirtle, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (2007) 13056-13061.
- [24] P. Allard and M.P. Colaiacovo, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (2010) 20405-20410.
- [25] T. Iso, T. Watanabe, T. Iwamoto, A. Shimamoto and Y. Furuichi, *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 29 (2006) 206-210.
- [26] G. Kuiper, J.G. Lemmen, B. Carlsson, J.C. Corton, S.H. Safe, P.T. van der Saag, P. van der Burg and J.A. Gustafsson, *Endocrinology* 139 (1998) 4252-4263.
- [27] G. Kuiper, B. Carlsson, K. Grandien, E. Enmark, J. Haggblad, S. Nilsson and J.A. Gustafsson, *Endocrinology* 138 (1997) 863-870.
- [28] P. Thomas and J. Dong, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 102 (2006) 175-179.
- [29] P. Thomas, Y. Pang, E.J. Filardo and J. Dong, *Endocrinology* 146 (2005) 624-632.
- [30] Y.M. Lee, M.J. Seong, J.W. Lee, Y.K. Lee, T.M. Kim, S.-Y. Nam, D.J. Kim, Y.W. Yun, T.S. Kim, S.Y. Han and J.T. Hong, *Journal of Veterinary Science* 8 (2007) 27-38.

表1 PCRに使用したプライマー

遺伝子名	プライマー名	配列 (5'→3')	PCR産物サイズ
<i>Esr1</i>	ER α -s1	TGCCCTACTACCTGGAGAAC	579 bp
	ER α -as1	CCAACAAGGCACTGACCATC	
<i>Esr2</i>	ER β -s1	CAGCCCTGTTACTAGTCC	264 bp
	ER β -as1	TCTCTCCTGGATCCACAC	
<i>Gpr30</i>	mrhGPR30-s1	GGCTTTGTGGGCAACATCC	219 bp
	mrhGPR30-as1	GACGCTGCTGTACATGTTGATCTG	
<i>β-actin</i>	mrhB-actin-s1	GCCAACACAGTGCTGTCT	193 bp
	mrhB-actin-as1	TGCTGATCCACATCTGCT	

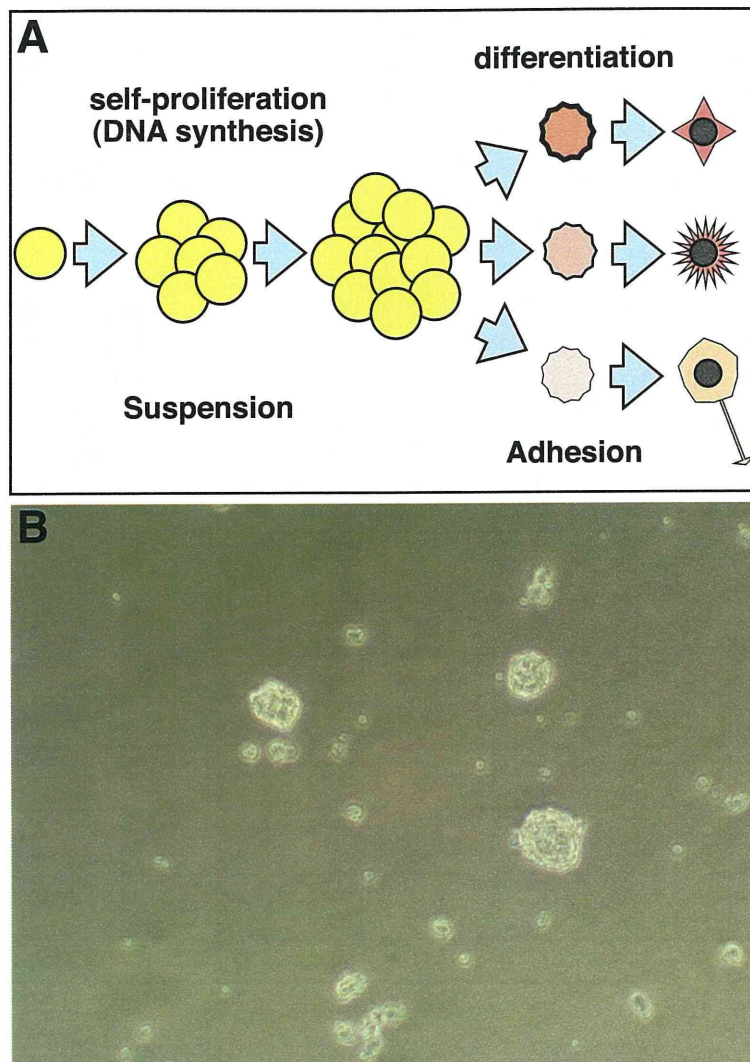


図1 マウス胎仔大脳皮質由来の神経上皮細胞塊の培養
 (A) 神経上皮細胞塊の培養の模式図。神経上皮細胞を浮遊培養することにより細胞塊が形成される。この細胞塊は自己複製能を持つ神経上皮細胞から構成される。これを単一細胞にして接着性基質上で培養すると、神経細胞ならびにグリア細胞に分化する。(B) 胎生13日令マウス大脳皮質の神経上皮細胞を5日間培養して形成された細胞塊の位相差顕微鏡写真。

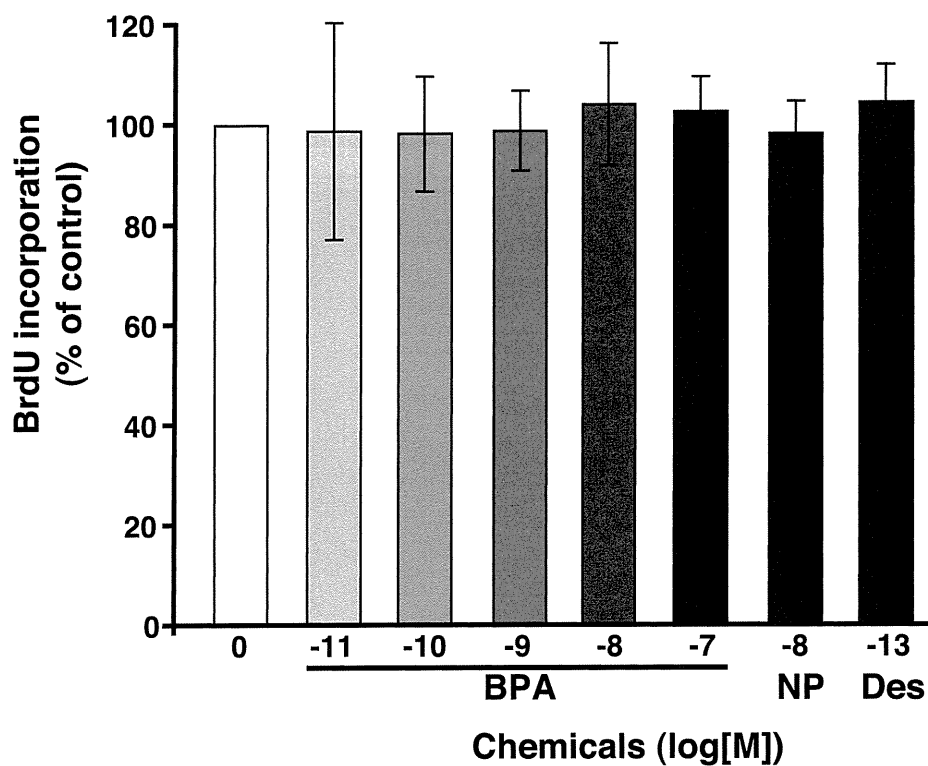


図 2 大脳皮質由来神経上皮細胞におけるブロモデオキシウリジン (BrdU) 取込み マウス胎仔大脳皮質より神経上皮細胞を調製し、種々の濃度の化学物質 (BPA; ビスフェノール A、NP; ノニルフェノール、DES ; ジエチルスチルベストロール) 存在下で 7 日間培養を行った。培養最終日に BrdU を加え取込み量を測定した。細胞から調製した DNA 量により補正し、化学物質を加えない細胞塊の BrdU 取込み量 / 全 DNA 量を 100%として相対表記した。

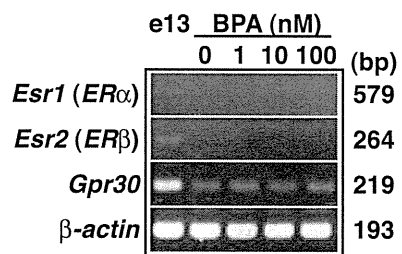


図 3 大脳皮質神経上皮細胞由来細胞塊におけるエストロゲン受容体遺伝子の発現 0~100nM のビスフェノール A (BPA) 存在下で 7 日間培養した神経上皮細胞塊および胎生 13 日令 (e13) マウス大脳皮質 (陽性対照) より RNA を調製し、RT-PCR に使用した。

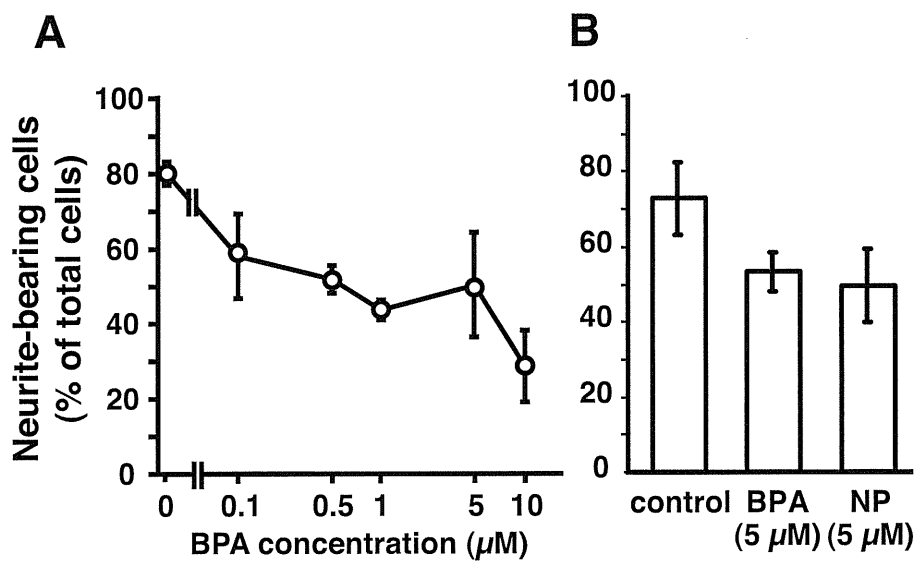


図4 PC12細胞の神経分化 (A) PC12細胞に0.1~10 μM のビスフェノールA (BPA) とともにNGFを添加し神経分化を誘導した。(B) PC12細胞にBPA (5 μM) またはノニルフェノール (NP、5 μM) とともにNGFを添加し神経分化を誘導した。細胞体よりも長い神経突起を有する細胞を数え、全細胞に対する割合を算出した。1回の実験について2例ずつ行い、それぞれで100~150個の細胞について調べた。この実験を3回繰り返し、平均±標準誤差として表した。

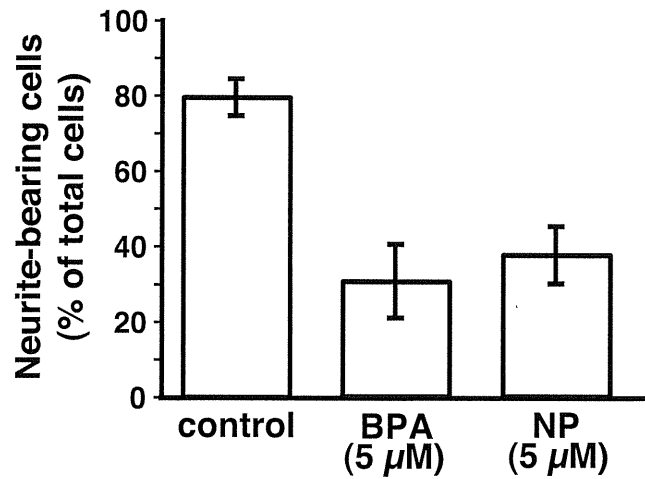


図 5 PC12 細胞の神経分化 PC12 細胞をビスフェノール (BPA) またはノニルフェノール (NP) 存在下で 3 日間培養したのち、無血清培地にて NGF により神経分化を誘導した。細胞体よりも長い神経突起を有する細胞を数え、全細胞に対する割合を算出した。1 回の実験について 2 例ずつ行い、それぞれで 100 ~150 個の細胞について調べた。この実験を 3 回繰り返し、平均 ± 標準誤差として表した。

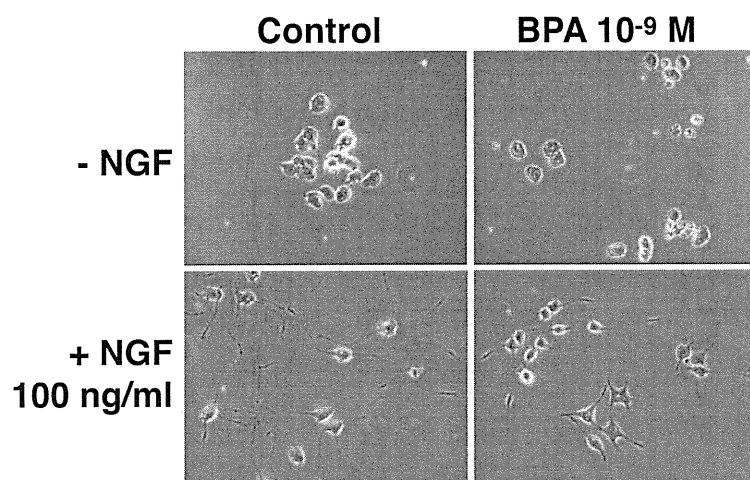


図 6 PC12 細胞の細胞形態 PC12 細胞をビスフェノール A (BPA) 存在下で 1 ヶ月間培養したのち、無血清培地にて NGF 存在下あるいは非存在下でさらに 3 日間培養した。

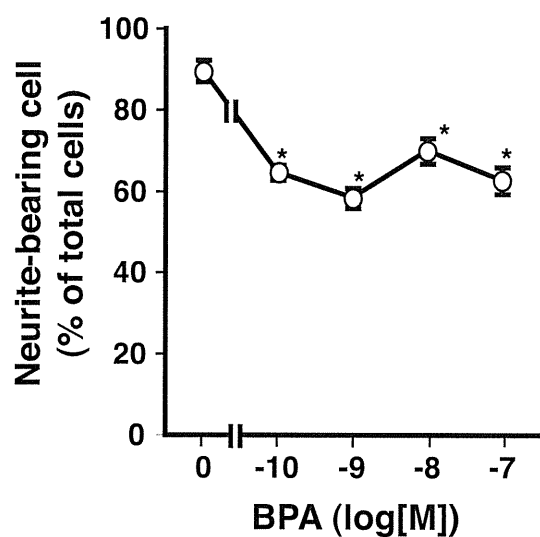


図 7 PC12 細胞の神経分化 PC12 細胞を 10^{-9} ~ 10^{-7} M のビスフェノール A (BPA) 存在下で 1 ヶ月間培養したのち、無血清培地にて NGF により神経分化を誘導した。細胞体よりも長い神経突起を有する細胞を数え、全細胞に対する割合を算出した。1 回の実験について 2 例ずつ行い、それぞれで 100~150 個の細胞について調べた。この実験を 3 回繰り返し、平均 \pm 標準誤差として表した。*; $p < 0.05$ vs コントロール。

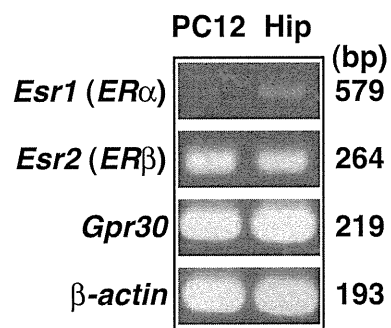


図 8 PC12 細胞におけるエストロゲン受容体遺伝子の発現 未分化の PC12 細胞およびマウス胎仔海馬 (Hip、陽性対照) より RNA を調製し、RT-PCR に使用した。

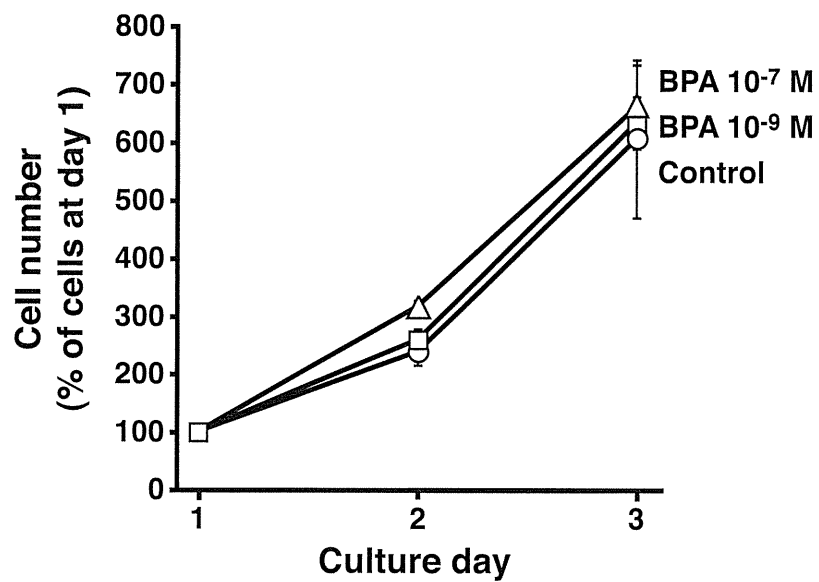


図9 3T3 線維芽細胞の細胞増殖 3T3 線維芽細胞を 10^{-7} あるいは 10^{-9} M のビスフェノール A (BPA) で 1 ヶ月培養維持し、そのご細胞増殖を調べた。細胞を播種した翌日 (day1) の細胞数を 100%としてその後の細胞数を相対表記した。

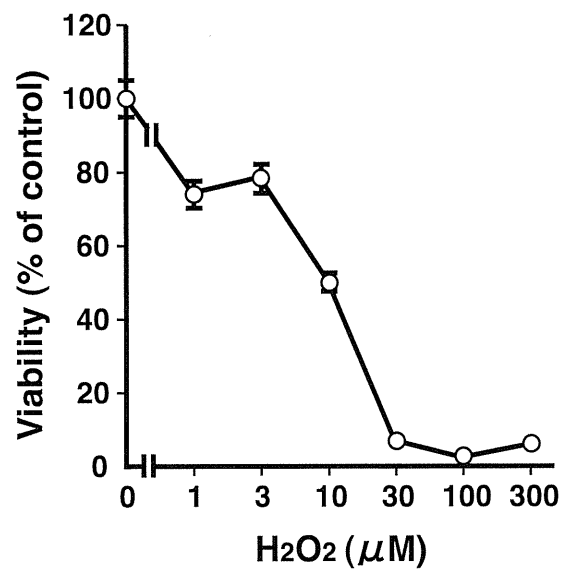


図 10 3T3 線維芽細胞の生存に対する過酸化水素の作用 3T3 線維芽細胞を無血清下で種々の濃度の過酸化水素に曝露し、翌日の細胞数を測定した。過酸化水素を加える直前の細胞数を 100%とし、過酸化水素処理をした細胞数を相対表記した。

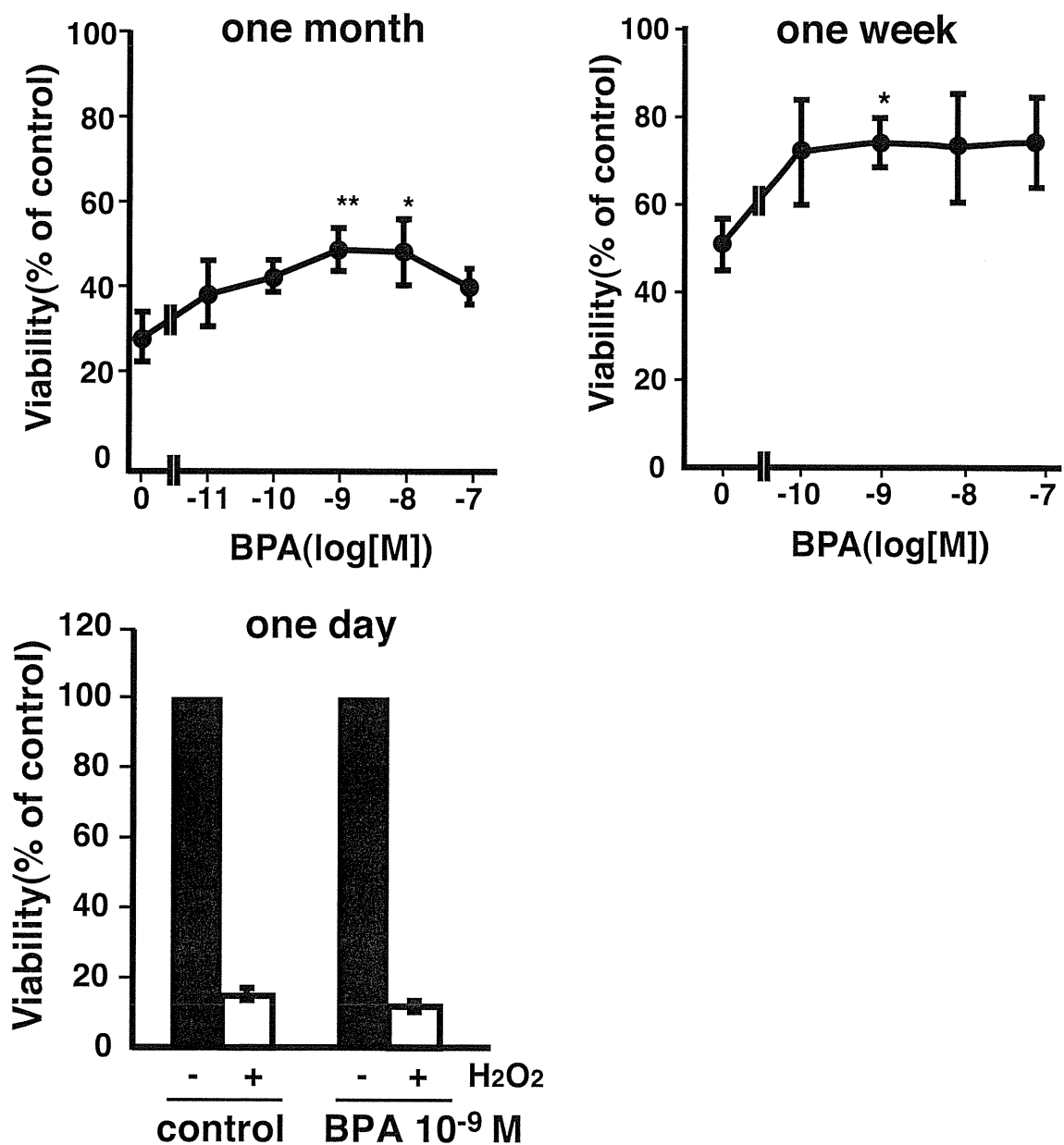


図 11 3T3 線維芽細胞における過酸化水素誘発細胞死に対するビスフェノール A (BPA) の長期曝露の効果 3T3 線維芽細胞を 0 または 10^{-11} ~ 10^{-7} M の BPA で 1 ヶ月、1 週間あるいは 1 日培養し、無血清下で 10 μ M の過酸化水素を添加した。2 日後に細胞数を測定し、過酸化水素を加えない細胞数を 100% として相対表記した。得られたデータは平均 \pm 標準誤差で表した。1 回の実験につき 3~4 例実施し、これを 4 回以上繰り返した。*; $p < 0.05$ vs コントロール。

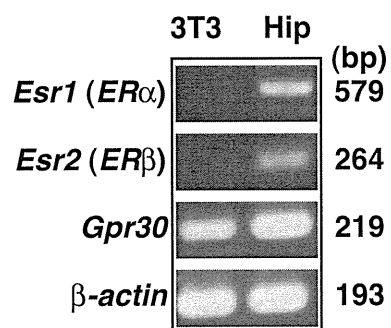


図 12 3T3 線維芽細胞におけるエストロゲン受容体遺伝子の発現 3T3 線維芽細胞およびマウス胎仔海馬 (Hip、陽性対照) より RNA を調製し、RT-PCR に使用した。

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業
化学物質の子どもへの影響評価に関する研究
ー発生・発達期の脳や免疫系が示す高感受性の責任標的の同定と
それに基づく試験スキームの最適化ー (H23-化学-一般-002)

-低用量曝露の標的臓器としての神経系への影響評価系の確立-

2. 低濃度化学物質で曝露した培養細胞の 機能に関する研究

長尾 哲二 近畿大学工学部 生命科学科
福嶋 伸之 近畿大学工学部 生命科学科

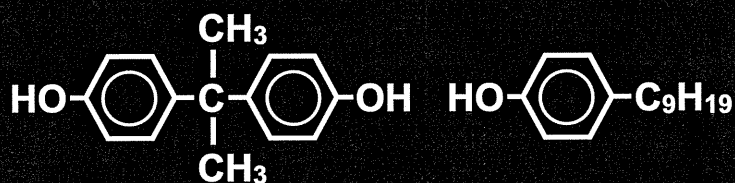
培養細胞の機能の変化



- ◆化学物質の作用機序
- ◆標的分子の同定



評価系の確立



Bisphenol A (BPA) Nonylphenol (NP)

- ・ラット副腎髄質クロム親和性腫瘍細胞 (PC12細胞)
- ・マウス大脳皮質由来神経幹細胞
- ・マウス線維芽細胞 (Swiss 3T3細胞)

神経系細胞における BPAまたはNPのin vitro作用

- ・スタウロスポリンによる海馬、大脳皮質神経細胞の細胞死の抑制
- ・副腎髄質、PC12からのカテコールアミン分泌促進
- ・小脳顆粒細胞におけるc-fos発現抑制
- ・PC12、大脳皮質細胞の細胞死を誘発
- ・大脳皮質細胞のオリゴデンドログリア分化を促進
- ・PC12細胞の分化を抑制