JAIST Repository
https://dspace.jaist.ac.jp/

Title	ビスフェノールAによる細胞毒性
Author(s)	嵯峨，礼美
Citation	
Issue Date	2005-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/3166
Rights	
Description	Supervisor:高木　昌宏，材料科学研究科，修士

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY

Japan Advanced Institute of Science and Technology

B14a8

ビスフェノール A がもたらす細胞毒性

嵯峨　礼美（高木研究室）

【目的】　ビスフェノールA（BPA）は工業的にポリカーボネートなどのプラスチック材料や塩化ビニル製品の添加剤として大量に使用されている。近年、BPA は口や皮膚から体内に入り、生体内においてホルモンに似た働きをし、生物の生殖機能などを乱す内分泌攪乱物質として知られ、その安全性に疑問が持たれている。これまでに生体への影響として、ラットのセルトリ細胞（精子細胞の育成細胞）でアポトーシスを誘導することや、細胞内Ca^{2+}濃度を増加させること、精巣上体の精子や肝臓で活性酸素種の発生を誘導することなどが報告されている。このように、 BPAは生殖系細胞に多くの影響を及ぼしているとの報告がなされている。そこで、本研究では、生殖細胞以外にどのような影響を与えるかについて興味を持ち、ヒト白血病性T細胞株Jurkatを用いて、BPAが細胞に与える影響を解析した。

【実験方法】　Jurkat細胞をBPA処理し、24 時間後、細胞増殖試験（MTSアッセイ）により生存率曲線を作成した。BPAが引き起こした細胞死がアポトーシスによるものかを調べるために、細胞死に関する形態学的特徴や生化学的特徴の観察、ウエスタンブロッティングによるMAPK（p38、JNK）活性化の解析、Jurkat-Bcl-2 細胞（Bcl-2 を過剰発現させた細胞）における細胞増殖試験をした。また、BPA処理による細胞内Ca^{2+}の濃度変化をCa^{2+}蛍光試薬Fura 2-AMを用いて調べた。BPAはDMSO 0.2%に溶かして使用し、DMSO処理をBPA濃度 0 μ Mとした。

【結果と考察】　BPA 処理細胞の生存率は 1～3 μM で増加し、5～10 μM で減少した後、25～50 μM で再び増加し、100 μM 以上になると死滅に向かった（Fig. 1）。DNA ラダーの結果、BPA 7、150 μM でスメアなバンドが認められたが、DNA 断片化は明瞭に現れなかった。また、MPAK の活性化は p38 及び JNK の両方とも認められなかった。Jurkat-Bcl-2 細胞による生存率曲線は、Jurkat 細胞及び Jurkat-Control 細胞（ベクターのみの組換え体）でみられたような低濃度での細胞死はみられなかった。それゆえ、低濃度の細胞死はアポトーシスによるものと考えられた。

細胞内Ca^{2+}濃度変化を測定した結果、BPA 3～7 μM、100～150 μMで増加し（Fig. 1）、細胞死を引き起こしている濃度と一致した。150 μM以上での増加がみられないのは、細胞自体が破壊されているためと考えられる。つまり、低濃度のBPA刺激では、細胞内Ca^{2+}ストアである小胞体から細胞内へCa^{2+}が放出し、細胞内Ca^{2+}濃度が増加することによってアポトーシスが引き起こされたと考えられる。一方、高濃度のBPA刺激では、細胞外のCa^{2+}が細胞内へ入り、ネクローシスが引き起こされたと考えられる。

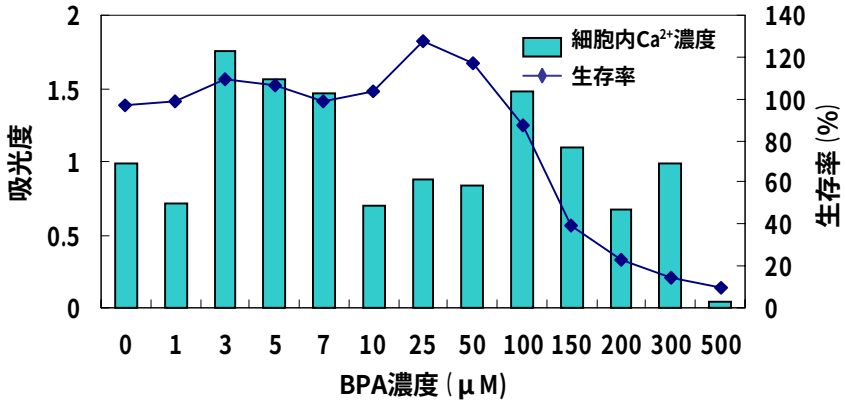

Fig. 1　BPAによるJurkat細胞の生存率と細胞内Ca^{2+}濃度変化

キーワード：BPA、細胞内Ca^{2+}濃度、アポトーシス