

海馬由来培養神経系前駆細胞の生存に対する 3-メチルコランスレンの影響
○後藤 由佳¹, 眞田 法子¹, 山本 枝理¹, 中野 博子¹, 山本 梨紗¹, 木津 良一¹
(¹同志社女大薬)

【目的】ダイオキシンはアリル炭化水素受容体 (AhR) を介して、発がん性、内分泌攪乱作用など多様な有害作用を示す。近年、中枢神経系への影響の一つに、胎生期ダイオキシン暴露が記憶・学習機能を障害することが報告された。そこで本研究では、AhR アゴニストである 3-methylchlanthrene (3MC) を用い、胎児マウス脳海馬由来培養神経系前駆細胞の増殖および細胞死に対する影響について検討した。【方法】胎生 15 日齢マウス脳内から海馬を単離し、酵素処理して得られた細胞懸濁液に塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) および上皮細胞増殖因子 (EGF) を添加した DMEM/F12 培地で 9 日間培養した。3MC は播種直後に添加し、9 日間連続暴露した。生細胞数は MTT assay、細胞増殖能は 5-bromo-2'-deoxy-uridine (BrdU) の取り込み、細胞死は細胞の trypan blue 染色、propidium iodide (PI) 染色および培養液中の lactate dehydrogenase (LDH) 活性によりそれぞれ解析した。

【結果・考察】マウス脳海馬から調整した細胞を bFGF および EGF 存在下で培養したところ、neurosphere と呼ばれる細胞塊が形成された。生細胞数 (MTT assay) は、培養 6 日目および 9 日目において 3MC 処置群で有意な減少が認められたが、細胞増殖能 (BrdU 取り込み) は培養 3、6、9 日目において対照群と 3MC 処置群で有意な差は認められなかった。一方、trypan blue 染色細胞 (死細胞) 数と生細胞数あたりの LDH 活性は対照群と比較して 3MC 処置群で高くなった。以上の結果より、3MC は神経系前駆細胞の細胞死を引き起こすことが示唆された。