

# 29amE-001

DNA 付加体形成によるマウス胚性幹細胞の未分化状態および自己複製への影響  
○山田 育代<sup>1</sup>, 近藤 沙和美<sup>1</sup>, 岡本 誉士典<sup>1</sup>, 高田 達之<sup>2</sup>, 小嶋 仲夫<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名城大薬,<sup>2</sup>立命館大薬)

【目的】近年がん幹細胞形成経路の 1 つに幹細胞のがん化が考えられている。われわれは、代謝活性化を介して DNA 付加体形成するジメチルベンズ(*a*)アントラセン (DMBA) およびその対照として 3-メチルコラントレン (3-MC) を用いて化学物質による幹細胞発がん機構について検討した。これまでに、DMBA 処理により未分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 陽性コロニーの減少、コロニーサイズの低下を確認している。本研究では、細胞内における未分化マーカー遺伝子の変動およびアポトーシスの有無について検討した。

【方法】使用細胞：mES 細胞は D3 細胞株，マウス胎児性線維芽細胞 (MEF) は妊娠 ICR マウスより調製した初代培養細胞を使用。薬物処理：各細胞へ DMBA または 3-MC 処理 (50-500 nM, 24 h) により DNA 付加体形成や異物代謝酵素誘導を確認。遺伝子発現：異物代謝酵素 (*Cyp1a1*, *Cyp1b1*) および未分化マーカー (*Sox2*, *Oct4*, *Nanog*, *Dppa5*) の発現をリアルタイム RT-PCR 法により相対定量。ALP 染色：mES 細胞の未分化状態を評価。TUNEL 法：mES 細胞のアポトーシスを評価。

【結果および考察】*Sox2* と *Oct4* については、両化学物質において濃度依存的に発現減少傾向が見られた。*Nanog* と *Dppa5* については、DMBA 処理において高濃度で減少が見られたが、3-MC 処理では明らかな変動は確認されなかった。したがって、DNA 付加体形成が未分化状態の変動に影響していると考えられる。このとき TUNEL 陽性コロニーは見られなかったことから、ALP 染色によるコロニー増殖抑制はアポトーシスではなく細胞周期停止が強く関係していると考えられる。