

GT1-7 細胞を用いたカドミウムの細胞死誘導作用の解析

○大河原 晋¹, 前田 浩貴¹, 大山 敦子¹, 小山 裕也¹, 川原 正博², 伊藤 潔¹
(¹九州保福大薬, ²武蔵野大薬)

【目的】カドミウム (Cd) は、腎臓をはじめ骨、生殖器などに障害を引き起こすことが知られているが、近年、神経発達及び神経行動に対してもその影響が懸念されている。しかしながら、Cd の中枢系への影響については不明な点が多い。そこで本研究では、神経内分泌系のモデルとして広く使用されているマウス不死化視床下部神経細胞 (GT1-7) を用い、細胞毒性および作用機序について検討した。

【方法】GT1-7 を 10%FBS 含有 DMEM 培地中でコンフルエントまで培養した。その後、無血清 DMEM 培地に交換し、塩化 Cd (CdCl_2) の存在下でインキュベートし、細胞生存率を WST-1 法で評価した。さらに calcein-AM、propidium iodide (PI) hoechst33342 で細胞を染色し、蛍光顕微鏡を用いて形態観察を行い、細胞内 ROS 産生量については、蛍光プローブ (CM- H_2DCFDA) を用いて解析した。

【結果および考察】Cd (0.5-10 μM) を曝露することにより、濃度依存的かつ時間依存的な GT1-7 の細胞生存率の低下が認められた。細胞生存率の減少は、他の 2 価の重金属 (亜鉛、マンガン、鉛、ニッケル、銅) においては認められなかった。また、形態学的観察の結果、Cd 曝露によって calcein-AM 陽性生細胞数の減少および PI 陽性死細胞数の増加が確認され、hoechst33342 を用いた核染色によりアポトーシスの特徴である核のクロマチン凝集が観察された。さらに、Cd による細胞生存率の低下に相関して細胞内 ROS 量の増加が認められ、細胞生存率の低下は抗酸化剤である *N*-アセチルシステインおよび細胞質 Ca^{2+} キレート剤である BAPTA-AM の前処理によりほぼ完全に回復した。これらの結果から、Cd による GT1-7 の細胞生存率の低下は、酸化ストレスおよびそれに連動した細胞内 Ca^{2+} 量の増加に起因するものと考えられるが、詳細については現在検討中である。