

「内分泌攪乱化学物質の肺培養細胞を用いた評価システムの構築 ～Di-n-butyl Phthalate の細胞分化抑制効果について～」

◎井口孝一、吉見立也、三浦卓

東京薬科大学・生命科学部・環境分子生理生態学研究室

<背景・目的>内分泌攪乱化学物質(EDC)の影響を、分子レベルで評価することを目的とし、細胞分化マーカーと分化に関わる転写調節因子への影響を検討した。

<方法>クララ細胞及び、Neuroendocrine cell 様に分化可能な胎仔肺由来 M3E3/C3 細胞*の分化システムを用いて、分化培地に Di-n-butyl Phthalate (DBP)、Nonyl-Phenol(NP)を添加し、肺の調節因子発現への影響を定量 PCR 法により解析した。

<結果>肺における転写調節因子である HNF3 α の発現への影響を検討したところ、DBP 暴露サンプルで 2 日目と 5 日目において 20nM の低濃度で誘導され、NP の比較的低濃度の暴露についても、長期的暴露(5 日目)において誘導されることが確かめられた。これらの影響は E2 暴露と似た傾向であった。また、HoxA5 の発現は E2 暴露により誘導される傾向があったが、DBP の影響はみられなかった。

<結論>この細胞系において、分化調節因子が低濃度の EDC 暴露による影響を受けることが明らかになった。発生・分化に対する内分泌攪乱化学物質の影響を、分化段階における調節因子レベルにおいて検出することが可能になり、今後、このような影響を排除するような薬剤の研究に役立つものと考えられる。

Biological assessment of endocrine disrupter using lung epithelial cell culture system. - Suppression of cell differentiation by addition of Di-n-butyl Phthalate -

©Koichi Iguchi, Tatsuya Yoshimi, and Takashi Miura.

Environmental Molecular Physiology, School of Life Sciences,

Tokyo University of Pharmacy and Life Science, Tokyo 192-0392.

We have studied on the mechanism of endocrine disrupting chemicals (EDC) to lung cell differentiation using *in vitro* cell culture system. The cell line, M3E3/C3, appeared to have phenotype of lung epithelial cells*. In the present study, we added the culture media low concentration of EDCs, and searched for molecules influenced by the treatment using real time RT-PCR method.

We have detected the influence of EDC in the course of differentiation using cellular marker and lung-related transcription factors. One of the transcription factor, HNF3 α , was increasingly expressed by the addition of low concentration of Di-n-butyl Phthalate (DBP) or Nonyl-Phenol (NP). These results are similar to that obtained by addition of estradiol. Expression of homeobox A5 mRNA was enhanced by addition of estradiol, but not influenced by the DBP exposure.

Expression profile of some transcription factors were influenced by the EDC. These molecules may have potential to assess the early effects of EDCs in the developing embryo.

*Yoshimi, T. et al. Biochem. Cell Biol. 78: 659-666 (2000). Changes in lung-specific molecular expression during differentiation of hamster embryonic M3E3/C3 cell line.