

DNA Chip を用いた内分泌攪乱作用の解析—がん細胞と正常細胞の比較—

辻本善政¹、榎 由樹¹、高嶋良吉¹、水谷滋利¹、近藤昭宏²、井口泰泉³、武田 健⁴、加藤郁之進¹
 (1 タカラバイオ㈱、2 大阪大学 (医)、3 岡崎基生研 (統合バイオ)、4 東京理科大学 (薬))

【目的】内分泌攪乱化学物質の生物に与える影響を評価する手段の一つとして遺伝子発現解析が挙げられる。我々はこれまでに、DNA チップを用いてエストロゲンレセプター(ER)を有する乳がん由来細胞株である MCF7 および T-47D 細胞を研究材料として被験物質の添加で変動する遺伝子の解析を行ってきた(1)-3)。しかし、がん細胞は刺激に対するレスポンスが低いとの報告もされており、ER を有する正常細胞が同じ遺伝子発現を示すとは限らない。そこで我々は、ER を有する正常細胞を用いて被験物質の添加によって変動する遺伝子のがん細胞の場合と比較した。

【方法】正常細胞は、ヒト乳腺上皮細胞である HMEC およびヒト子宮平滑筋細胞である UtSMC を用いた。また、種々の細胞に添加する被験物質は、内分泌攪乱作用が疑われている物質のうち環境省が定めた優先 8 物質(TBT, OP, NP, DBP, OCS, DCHP, BP, DEHP) および E₂, DES を用いた。まず、HMEC にこれらの物質を添加し細胞増殖試験を行い細胞毒性の出ない濃度を決定した。次に、これらの正常細胞に被験物質を添加し 6 時間処理後、total RNA を回収し DNA chip の解析を行い、以前の MCF7 や T-47D のデータと比較した。更に、これらの実験で発現変動が多く確認された DCHP については、経時変化および添加濃度についても調べた。

【結果および考察】HMEC の細胞増殖試験の結果、若干ながら細胞増殖を示すものが存在していたが、全てが MCF7 と同じ結果にはならなかった。また、がん細胞と正常細胞について得られたデータの比較解析を行った結果、影響を受ける遺伝子の数は一部の化学物質を除けばがん細胞が正常細胞より多いことが明らかとなった。また、共通して変動する遺伝子はほとんど見られなかった。DCHP における経時変化では、6 時間から 8 時間処理で変動する遺伝子が多く確認された。また、DCHP の処理濃度が高くなるにつれ変動する遺伝子が増加したが、低用量で反応した遺伝子が高用量で反応していないものも存在していた。(本研究は平成 13 年度の環境省請負事業として行った)。

【参考文献】1)辻本ら、第 2 回環境ホルモン学会、91、1999、2)辻本ら、第 3 回環境ホルモン学会、68、2000、3)辻本ら、第 4 回環境ホルモン学会、236、2001、

Analysis of Endocrine-Disrupting Chemicals Using a DNA Chip — Comparison of cancer cells and normal cells—

Yoshimasa Tsujimoto¹⁾, Yuki Enoki¹⁾, Ryokichi Takashima¹⁾, Shigetoshi Mizutani¹⁾, Akihiro Kondo¹⁾²⁾, Taisen Iguchi³⁾, Ken Takeda⁴⁾, Ikunoshin Kato¹⁾

1) Takara Bio Inc., 2) Osaka University School of Medicine, 3) Okazaki National Research Institutes, 4) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

In order to study endocrine disruption, we have observed gene expression/suppression using microarray technology (DNA chip). We examined the gene expression profiles of the breast cancer cell lines, MCF7 and T-47D, upon treatment with eight priority substances defined by the Ministry of Environment, E₂ and DES using a DNA chip. In this experiment, we used normal cell lines, normal human mammary epithelial cells (HMEC) and normal uterine smooth muscle cells (UtSMC), and compared the gene expression profiles of normal cells with that of cancer cells.

The cell proliferation assay showed that growth of normal cells was not equal with cancer cells. The number of genes that were expressed/suppressed in cancer cells were more than that of normal cells. Moreover, there were almost no common genes in cancer cells with normal cells. On the time course experiments treated with DCHP to normal cells, many genes were expressed/suppressed for 6h or 8h incubation. On the dose-response experiments treated with DCHP to normal cells, the number of expressed/suppressed genes increased as the concentration became higher, but several genes expressed/suppressed at low dose were not expressed/suppressed at high dose of DCHP.