

Neuro2a 細胞における 2,3,7,8-TCDD の遺伝子発現に及ぼす影響(1)

○菅野美津子 赤星英一

㈱東芝 研究開発センター 新機能材料デバイスラボラトリー

ダイオキシンをはじめとする内分泌攪乱物質は、脳神経系の発達・機能発現に悪影響を与えることが懸念されている。脳では発生過程において、甲状腺ホルモンが、シナプス形成関連遺伝子の発現制御に関与するという知見が得られており、ダイオキシン類は、甲状腺ホルモン作用を攪乱し、遺伝子発現を介して、脳神経系に影響を与えている可能性が示唆されているが、その詳細な作用機序に関しては不明な部分が多い。そこで、我々は、遺伝子発現レベルから、神経系におけるダイオキシンの毒性メカニズムを解析するために、ダイオキシン応答遺伝子の探索を行ったので報告する。

ダイオキシンの神経毒性影響のモデル系として、マウス神経芽細胞腫 Neuro2a をもちいた。Neuro2a は、甲状腺ホルモン(T3)存在下で MAP1B を発現する Neurite-like extensions を示すことが知られている。ダイオキシン応答遺伝子の探索には、DNA マイクロアレイを用いて、T3 存在下で 10nM 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)添加/非添加条件で 72 時間培養した Neuro2a から抽出した mRNA に対する差次的発現を解析した。DNA マイクロアレイ解析で 2 倍以上あるいは、0.5 倍以下の発現差が見られた遺伝子について、RT-PCR 解析を行い、最終的に 26 個をダイオキシン誘導性/抑制性遺伝子であると判断した。これらの中には、Mcl-1、Tia-1 などアポトーシス関連の遺伝子が 7 つ含まれていた。

この結果は、ダイオキシンの Neuro2a に対する神経毒性の一部がアポトーシスによるものであることを示唆するものであり、Neuro2a では、TCDD 存在下/非存在下いずれの条件下でも、AhR は発現していないことから、同時に、AhR 非依存的アポトーシスの可能性を示唆するものである。

Identification of 2,3,7,8-TCDD inducible/suppressive genes in Neuro2a cells (1)

Mitsuko Ishihara-Sugano and Eiichi Akahoshi

Advanced Materials & Devices Laboratory, Corporate Research & Development Center, Toshiba Corporation.

The exposure to endocrine disruptors including dioxins can lead to neurological damages. Dioxins may affect the neural development by altering the thyroid hormones status, because thyroid hormones play a crucial role in the neuronal development with the regulation of the gene expression. To elucidate the neurotoxic mechanism of dioxins on the gene expression, we have searched for dioxin-responsive genes.

To determine the neurotoxicity, we use a culture system of mouse neuroblastoma cell; Neuro2a in this study. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)-inducible/suppressive genes in Neuro2a cells were comprehensively screened by DNA microarrays coupled with the RT-PCR method. Using the poly(A)⁺RNA extracted from the cells with or without 10 nM TCDD, we performed the microarray analysis followed by RT-PCR and identified 26 genes as TCDD-inducible/suppressive genes. They included some apoptosis related genes such as Mcl-1 and Tia-1. Our study reveals that apoptosis can play a role in the neurotoxic mechanism of dioxins.