

ヒト臍帯静脈内皮細胞へ化学物質が与える影響

足達哲也¹、西村太輔¹、高島杏佳¹、櫻井健一²、小宮山政敏¹、森千里¹

¹千葉大学大学院医学研究院環境生命医学、²千葉大学大学院医学研究院 SRL 環境健康科学寄付講座

【目的】臍帯中に多種の化学物質が存在するということが見いだされたが、化学物質曝露による胎児および新生児に与える影響は十分解明されていない。そこで我々は、基礎的研究としてヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を対象とし、化学物質曝露の影響を検討した。

【方法】HUVEC に 17 β -estradiol(E2)、diethylstilbestrol(DES)、bisphenol A(BPA)をそれぞれ 1pM～100 μ M と濃度を振って投与し、MTS assay による細胞増殖試験から細胞毒性を検討した。各濃度で物質を投与した際に、性ホルモン受容体(SHR)である estrogen receptor α 、 β 、androgen receptor、progesterone receptor 及び薬物代謝酵素(CYP)、サイトカインである endothelin-1、endothelial nitric oxide synthetase (eNOS)の発現量変化について Real-time RT-PCR を用い検討した。

【結果】MTS assay において、いずれの化学物質を投与した際も細胞増殖に差異が認められなかったことから、細胞毒性はほとんどないことが分かった。また、HUVEC に物質を投与し遺伝子発現量変化を測定した結果、BPA100 μ M を添加した場合に estrogen receptor β の発現量が上昇することを確認した。さらに、CYP と endothelin-1、eNOS にも発現量の変化が認められた。今回の我々の研究で HUVEC において化学物質曝露による遺伝子発現変化の解析が可能であることがわかった。また、細胞毒性がないか非常に少ない曝露量でも遺伝子発現量に変化し、生体に何らかの影響を与えうることが示唆された。

The effect of endocrine disruptors on human umbilical vein endothelial cells

Tetsuya Adachi¹, Daisuke Nishimura¹, Kyoka Takashima¹, Kenichi Sakurai², Masatoshi Komiyama¹, Chisato Mori¹

¹Department of Bioenvironmental Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University,

²Department of Environmental Medical Science (SRL), Graduate School of Medicine, Chiba University

It has been reported that multiple chemicals are detectable from human umbilical cords. As umbilical cord is a part of fetus, this means that human fetuses are contaminated by these chemicals. Since umbilical vein is the route of chemicals from mother to fetus, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) can be a useful tool to investigate the effect of chemicals on fetus. In the present study, we examined response of HUVEC to endocrine disruptors at molecular level by measuring mRNA expression of sex hormone receptors, drug metabolizing enzymes and cytokines. Also cytotoxicity was detected indirectly by measuring cell proliferative activity. The MTS assay revealed that there was no cytotoxicity of the chemicals used in this study. Alteration of mRNA expression levels in HUVEC by chemicals is summarized as follows. 1) Sex hormone receptors; mRNA of ER- β was up-regulated by bisphenol A (100 μ M). 2) Drug metabolizing enzymes; 2-fold increase of CYP1A1 expression was induced by treatment of 17 β -estradiol (1 nM) and bisphenol A (100 μ M). CYP2E1 expression was increased by 2.4-fold after treatment with bisphenol A (100 μ M). 3) Cytokines; expression levels of eNOS (endothelial nitric oxide synthetase) and endothelin-1 were changed. Our present study suggests that chemicals examined can change the gene expression level of sex hormone receptors, drug metabolizing enzymes and cytokines at non-cytotoxic concentration.