

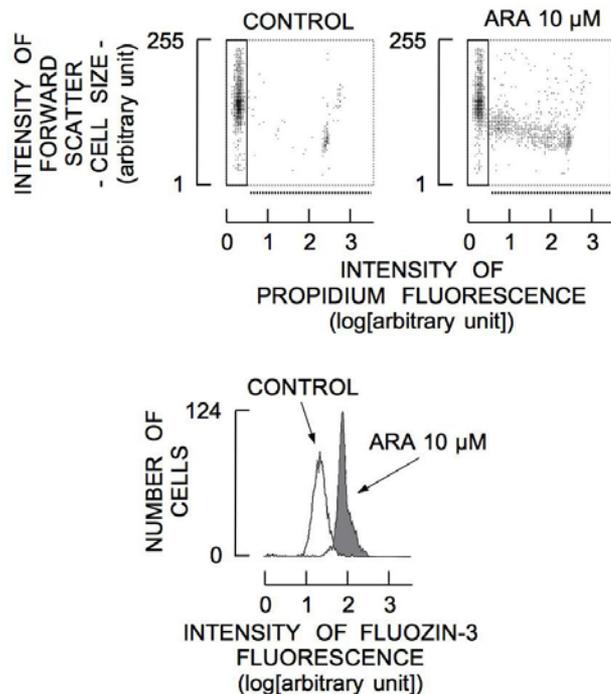


FACULTY OF
BIOSCIENCE &
BIOINDUSTRY
TOKUSHIMA UNIVERSITY

化学物質（食品成分から環境汚染物質）の 細胞レベルでの作用・影響解析 〔細胞薬理学，細胞毒性学〕 教授 小山 保夫

図：

上の図は不飽和脂肪酸のアラキドン酸（ARA）の細胞毒性を調べた結果である。図中の点は1個1個の細胞、縦軸は細胞サイズを表す前方散乱、横軸は細胞生死を判別するプロピジウム蛍光を示す。ARAでラット胸腺細胞（リンパ細胞）を処理すると、前方散乱が減少したプロピジウム蛍光を呈する細胞（萎縮した死細胞）が増加した。これはARAの細胞毒性を示す。下の図は細胞内Zn²⁺濃度を示すFluoZin-3蛍光ヒストグラムである。縦軸に細胞数、横軸にFluoZin-3蛍光強度を示し、2500個の細胞からヒストグラムを構築した。ARAにより蛍光は増強し、細胞内Zn²⁺濃度の上昇を意味する。



内容：

○化学物質（食品成分から環境汚染物質まで）の作用を細胞レベルで非侵襲的に計測・解析している。研究対象の化学物質は多岐にわたり、研究論文は下記のWebサイトに掲載している。○その中の実験例として、不飽和脂肪酸の一種のアラキドン酸（ARA）の細胞毒性を左図に示す。ARAは生体内で重要な役割を果たすが、細胞レベルでは細胞内Ca²⁺濃度の持続的上昇と活性酸素種の増加（酸化ストレス）を起こす。これらは細胞死に繋がる要因である。さて、化学物質によって酸化ストレスが起こっている細胞では細胞内Zn²⁺濃度が持続的に増加し、それが細胞毒性に繋がる可能性がある。そこで、ラット胸腺細胞に蛍光プローブを適用し、細胞生存率および細胞内Zn²⁺濃度変化からARAの細胞毒性を検討した。

○亜鉛とARAは抗老化サプリメントとして市販されている。また、これらは乳幼児の補助栄養品としても利用されている。しかし、ARAと亜鉛を併用した場合に起こる副作用の可能性については全く論じられていない。細胞レベルで観察した現象ではあるが、ARAで酸化ストレスが起こり、細胞内Zn²⁺濃度上昇を緩衝する機能が低下している可能性がある。そこに亜鉛が供給されると、細胞内Zn²⁺濃度の著明な上昇が起こり、それがARAの細胞毒性をさらに増強する可能性が考えられる。○このように細胞レベルの実験ではあるが、化学物質の作用影響評価が迅速かつ簡便にできる。

分野：環境科学・細胞薬理学・細胞毒性学
専門：化学物質の作用／影響解析学・細胞計測学
E-mail: oyamay@tokushima-u.ac.jp
Tel: 088-656-7256 (No Fax)
Web: <http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/person/60453/profile-ja.html>

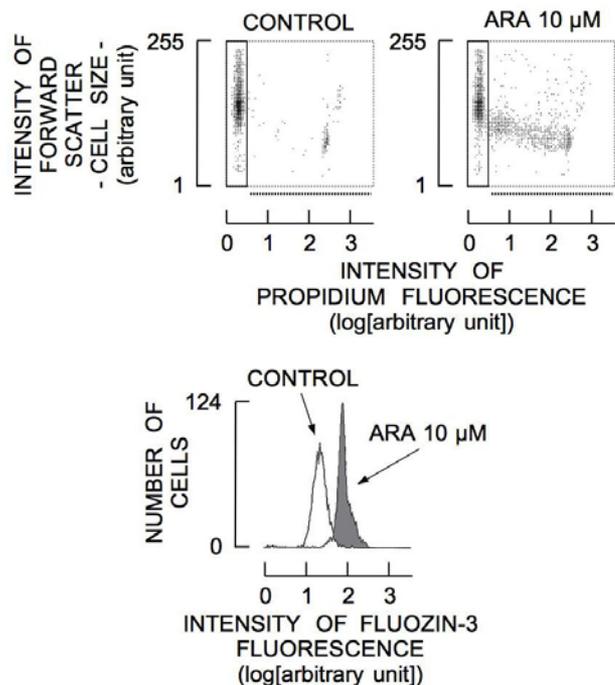


Cytometric analysis on food and chemical toxicity

Professor Yasuo Oyama, Ph.D.

Figure:

Changes in the population of cells exhibiting propidium fluorescence after treatment with arachidonic acid (ARA). (Upper panel) Cytogram of ARA-induced change (ordinate: forward scatter, abscissa: propidium fluorescence). Each cytogram was constructed with 2500 cells. Dotted line indicates the population of cells exhibiting propidium fluorescence. (Lower panel) Change in intensity of FluoZin-3 fluorescence by ARA. (A) ARA-induced shift of the FluoZin-3 fluorescence histogram. Each histogram was constructed with 2500 cells.



Content:

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) are essential fatty acids that humans cannot synthesize and have a variety of nutritional and biochemical properties. However, some PUFA exert cytotoxic actions. Such PUFA kill rat thymic lymphocytes by inducing the release of Ca^{2+} from the endoplasmic reticulum, which causes the release of reactive oxygen species from mitochondria. Oxidative stress and/or excessive elevation in intracellular Ca^{2+} level are involved in the cell death induced by PUFA. In our previous study, the application of ZnCl_2 at low micromolar concentrations exerted cytotoxic action under oxidative stress induced by hydrogen peroxide, in rat thymic lymphocytes. Zn^{2+} is released from cellular thiols under oxidative stress conditions, which then convert thiols to disulfides. Thus, the buffering ability that maintains physiological intracellular Zn^{2+} levels appears to decrease in the presence of PUFA that induce oxidative stress. Therefore, the cytotoxicity of PUFA might be related to Zn^{2+} if PUFA induce oxidative stress. To test this hypothesis, the effect of arachidonic acid (ARA), one of PUFA, on rat thymic lymphocytes was cytometrically examined using appropriate fluorescent probes for cell viability and intracellular Zn^{2+} levels because the usage of ARA and zinc as supplements expands for their beneficial effects in the elderly and infants.

Keywords: Cytometric analysis; Cytotoxicity; Cell death; Fluorescent Probes; Chemicals; Bioactive substances
E-mail: oyamay@tokushima-u.ac.jp
Tel: +81-88-656-7256 (No Fax)
Web: <http://pub2.db.tokushima-u.ac.jp/ERD/person/60453/profile-en.html>