



Title	Ameliorative mechanism of dietary components on cadmium or mercury-induced toxicities in PC12 cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Mst., Kaniz Fatima Binte Hossain
Citation	北海道大学. 博士(環境科学) 甲第14191号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/79631
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Hossain_Mst.Kaniz_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士 (環境科学)

氏名 Mst. Kaniz Fatima Binte Hossain

審査委員	主査	特任准教授	藏 崎 正 明
	副査	教 授	沖 野 龍 文
	副査	教 授	露 崎 史 朗
	副査	教 授	鈴 木 仁
	副査	准教授	藤 井 賢 彦
	副査	特任教授	斎 藤 健 (大学院保健科学研究院)

学位論文題名

Ameliorative mechanism of dietary components on cadmium or mercury-induced toxicities in PC12 cells

(PC12細胞におけるカドミウムまたは水銀によって引き起こされる毒性に対する食物成分の改善メカニズム)

有毒重金属による環境汚染による人の健康に及ぼす影響が懸念されています。近年、重金属（水銀 (Hg) やカドミウム (Cd) 等）の環境汚染とそれに関連する健康リスクが広範囲に報告されており、重金属によって誘発される毒性を緩和できる化学物質を探索することに関心が集まっています。申請者は、食品の構成成分が重金属毒性を緩和する可能性があるとの仮説を立てました。本学位論文研究では、必須微量栄養素であるセレン (Se) と亜鉛 (Zn)、栄養補助食品のジヒドロリポ酸 (DHHA)、および食品添加物であるブチル化ヒドロキシトルエン (BHT) を使用して、PC12細胞における重金属による細胞毒性に対する保護作用を検討し、そのメカニズムを明らかにしました。以下、「食品成分は細胞レベルで重金属が媒介する毒性に規制効果がある」との命題が各章において検証されました。

第2章の目的は、Cd (CdCl_2 ; Cd^{2+}) による細胞毒性に対するSe (Na_2SeO_3 ; Se^{4+}) による細胞保護のメカニズムを解明することでした。まず、Se (5、10、20、40 μM) による細胞毒性が測定されました。細胞毒性試験とウエスタンブロット分析により、Se ($\geq 10\mu\text{M}$) が、細胞の酸化ストレスの増加によるmTOR活性化とp62蓄積の阻害を介してオートファジー由来の細胞死を促進することが確認されました。一方、非毒性範囲のSe (5 μM) と毒性を示すCd (5 μM) の共曝露は、Cd処理 (5 μM) 細胞のみと比較したところ、細胞生残率、グルタチオンおよびグルタチオンペルオキシダーゼ1 (GPx1) レベルを増加させ、DNA断片化と培地中への乳酸脱水素酵素 (LDH) の漏出を減少させることを示しました。さらに、SeとCdの共曝露は、シトクロムcのミトコンドリアから細胞質への放出を大幅に減少させ、ERK1タンパク質を上方制御することによりCd誘導アポトーシスを抑制しました。結論として、Se ($\geq 10\mu\text{M}$) はPC12細胞に細胞毒性を示しますが、Cd (5 μM) とSe (5 μM) の共曝露は、Cdによって誘発される酸化ストレスを抑制し、その後のミ内因性のアポトーシス経路の因子

を抑制することにより、Cdによって誘発されるアポトーシスを阻害します。

第3章の目的は、Hgの細胞毒性の機構と、PC12細胞を使用したHg誘発毒性に対するDHLAの細胞保護機構を明らかにすることでした。PC12細胞をHgCl₂ (Hg²⁺) (0 - 2.5 μM) で48時間処理すると、細胞生残率の低下、高レベルの乳酸脱水素酵素 (LDH) 培地への漏出、DNA損傷、細胞グルタチオン (GSH) レベルの低下などの重大な毒性を生じます。さらに、水銀曝露により細胞におけるakt, p-akt, mTOR, GR, NFkB, ERK1, Nrf2およびHO-1のタンパク質の発現が下方制御されました。また、切断されたカスパーゼ3およびチトクロームcの細胞質への放出は、Hg²⁺ (2.5 μM) への曝露後に上方制御され、アポトーシスが誘導されたことがフローサイトメトリーを用いた実験でも確認されました。しかし、Hg²⁺ (2.5 μM) の曝露の3時間前にDHLA (50 μM) で細胞を前処理すると、上記のタンパク質レベルが水銀による変化と逆の変化を示し、アポトーシスを阻害しました。また細胞内に蓄積する水銀量を測定することによりDHLAがHgをキレートし、Hg²⁺誘発細胞毒性を抑制することが示されました。結論として、DHLAは、抗酸化防御を強化し、水銀の蓄積を制限することにより、Hg²⁺によって誘発される細胞毒性を減衰させることが明らかにされました。

第4章では、PC12細胞における水銀毒性に対するSeの改善効果が示されました。Se (5 μM) と水銀の共曝露は、GPx 1およびGSHレベルの上昇、DNA分解の制限およびmTORおよびaktのタンパク質発現を増加することにより、ERK1, 切断されたカスパーゼ3およびチトクロームcを減少させ、Hg²⁺ (5 μM) によって引き起こされるアポトーシスおよび酸化ストレスを阻害することが示されました。結論として、Seの共曝露は、その抗酸化特性を通じてHg細胞毒性を減衰させました。

第5章では、無機Hg誘発細胞毒性におけるBHTの役割が、共曝露によって評価されました。BHT (100 μM) とHg²⁺ (5 μM) の共曝露は、細胞生残率、LDHの培地への漏出、DNA損傷、細胞質内GSH量およびakt, mTOR, ERK1, Nrf2およびHO-1のタンパク質発現を上方制御することにより、切断されたカスパーゼ3および細胞質内のチトクロームc量を減少させることでHg²⁺に由来する毒性に対する防御効果を示しました。結論として、BHTは抗酸化防御を強化してHg²⁺による細胞毒性を抑制しました。

第6章では、水銀によって誘発される細胞毒性に対するZnの影響が調べられました。Hg²⁺ (5 μM) を曝露する前にZn²⁺ (100 μM) で前処理した細胞は、細胞生残率、DNA損傷、細胞質内のGSHレベルおよびアポトーシス細胞数の大幅な改善を示し、mTOR, akt, ERK1, Nrf2およびHO1を上方制御し、内因性アポトーシスの経路の各因子を阻害しました。結論として、Zn²⁺前処理は細胞毒性を抑制し、水銀によって誘発される内因性アポトーシスを阻害しました。

以上、まとめますと、重金属 (CdおよびHg) は微量でも曝露されると人体に有害な健康影響や病気を引き起こす可能性があります。しかし、本研究で明らかにされたように、食品の構成成分 (Se, DHLA, BHTおよびZn) には生体系における重金属誘発毒性を緩和する効果があり、将来重金属毒性の治療薬として使用できる可能性が示されました。

審査委員一同は、これらの成果を評価し、また研究者として誠実かつ熱心な人柄であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士 (環境科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定しました。