

ミドリゾウリムシと共生藻の共生機構に及ぼす神経毒アクリルアミドの影響

高橋利幸, 小阪敏和, 細谷浩史 (広島大・院理・生物科学)

Effects of acrylamide on the symbiotic association of algae with the ciliate
Paramecium bursaria

Toshiyuki TAKAHASHI, Toshikazu KOSAKA and Hiroshi HOSOYA

(Department of Biological Science, Graduate School of Science, Hiroshima University)

SUMMARY

The monomeric, but not the polymeric, form of acrylamide induces carcinogenic or neurotoxic effects in both humans and laboratory animals. However, the mechanism of acrylamide toxicity to living organisms, including humans, is poorly understood. The present study aimed to investigate the mechanisms of acrylamide toxicity using a green paramecium, *Paramecium bursaria*. A previous report revealed that acrylamide induces a decrease in endosymbiotic algae in *P. bursaria* (Takahashi *et al.*, *Toxicol. in Vitro*, 2005). In the present study, we monitored the proliferation of endosymbiotic algae throughout the host cell cycle in the presence of acrylamide to quantify the toxicity of acrylamide on the endosymbiotic algae. The results demonstrated that treatment with acrylamide (10 µg/ml) suppressed algal proliferation in the host cell. After treatment with acrylamide, several larger algal cells were observed in the host cells. This suggests that acrylamide induces multinuclear cells by interfering with algal cytokinesis.

[目的] 糖質の豊富な食品を高温で加熱処理すると、食品中に発ガン性物質アクリルアミドが生成されることが報告された (WHO, 2002)。このことは、我々が日常の食生活を通してアクリルアミドを取り込む危険性が高いことを示しており大きな社会問題となっている。従って、アクリルアミドの毒性の作用機序の解明とその毒性を抑制する物質の探索は緊急の課題である。既に、我々の研究室では、ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) に対するアクリルアミドの効果を調べており、アクリルアミド処理したミドリゾウリムシでは、ミドリゾウリムシの増殖阻害や共生藻数の減少が観察されることを報告した (Takahashi *et al.*, *Toxicol. in Vitro*, 2005)。本研究では、アクリルアミドによるミドリゾウリムシ細胞内の共生藻数減少のメカニズムを解明するために、アクリルアミド存在下で、宿主細胞及び共生藻それぞれの分裂頻度を経時的に測定したので、その結果を報告する。

[材料と方法] 実験には *P. bursaria* MBr-1系統 (野外

から採集したミドリゾウリムシ MB-1 株の共生藻を除草剤パラコートを用いて除去した後、クローン化共生藻 SA-2株を再感染させた系統) を用いた。アクリルアミドを含む培養液に対数増殖期のミドリゾウリムシを加え細胞密度20 cells/ml で培養を開始した。ミドリゾウリムシをアクリルアミド存在下で23±1°C、全明条件下 (照度1500 lux) で5日間培養し、ミドリゾウリムシ数及び共生藻数を顕微鏡下で測定した。共生藻のアクリルアミド存在下での分裂頻度を調べるために、細胞分裂中のゾウリムシ内の共生藻数をアクリルアミド存在下及び非存在下で比較した。

[結果と考察] ミドリゾウリムシをアクリルアミド存在下で培養すると、アクリルアミド濃度依存的な宿主ゾウリムシの増殖阻害及び共生藻の減少が観察される。また、宿主の増殖阻害が生じるよりも共生藻の減少が起こるアクリルアミド濃度の方が低濃度である。本研究では、アクリルアミドによる共生藻数減少のメカニズムを明らかにするため、宿主ゾウリ

ムシの増殖に対する影響は小さく、共生藻数のみを大きく減少させるアクリルアミド存在下 (10 µg/ml) での宿主細胞分裂時の共生藻の分裂頻度を測定した。その結果、アクリルアミド存在下では、宿主の細胞分裂中に共生藻が倍加せず、そのため、宿主の細胞分裂に伴い共生藻が減少することが分かった。また、アクリルアミド処理後の宿主細胞内の共生藻を観察したところ、コントロールと比べて大きな細胞が観察された。アクリルアミド処理後にみられる大きな共生藻は、共生藻の細胞分裂が阻害された結果生じた多核細胞である可能性がある。現在、これらの巨大細胞が、多核細胞であるか解析中である。アクリルアミドは微小管や複数の微小管結合タンパ

ク質と結合できる事が知られている。微小管は、細胞分裂時に染色体を分配する際に重要な役割を果たすなど細胞分裂の進行に欠かせない因子の一つである。細胞分裂において、微小管は Aurora キナーゼや微小管依存性モータータンパク質など多数の因子によって調節を受けていることが明らかにされている。これらの因子を念頭に、微小管の重合・脱重合に及ぼすアクリルアミドの影響について、今後詳しく検討する予定である。

[文献]

- 1) Press Release WHO / 32, 26 April 2002
- 2) Takahashi *et al.*, (2005) *Toxicol. in Vitro* 19, 99-105.