

薬学研究科 応用医療薬科学専攻 生体機能解析学講座 毒性学分野



研究室紹介

田 中 慶 一*

Laboratory of Toxicology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Osaka University

Key Words : Toxicology, Biological Defense Systems

毒性学分野

我が国の薬学部には欧米とは異なり基幹分野の一つに「衛生化学」という領域があり、古くから食品衛生や環境問題など公衆衛生学領域の課題を主として化学的に取り扱ってきた。本学の薬学部においても当初より衛生化学講座が設けられ歴代の教授が栄養化学、環境科学あるいは環境微生物学などの分野で活躍されてきた。とくに2002年には大学院薬学研究科に国立大学としては初めて環境生物薬学専攻(独立専攻)が設置されたが、この時私どもの研究室が環境毒性学講座としてスタートした。その後1998年の大学院重点化に伴って改組され、応用医療薬科学専攻生体機能解析学講座の毒性学分野と名を変えたが、薬学研究科の運営組織である化学・生物・環境の3系の中では環境系に所属している。

毒性学は生体異物(xenobiotics)である化学物質の有害作用について研究する分野であるが、このような作用は単に化学物質の持っている毒性という一方的な意味でとらえるのではなく、生体との相互作用にもとづき発現すると見るべきものである。毒性は化学物質の負の作用に対して生体が反応し、そこではじめてあらわれてくる現象であり、化学物質と生体との相互作用を検討してきた毒性学は分子レベ

ルでの毒性発現機構を解明する学問として発展しつつある。またこのような化学物質の作用を生体の側からみると、生体では恒常性からの逸脱から自らを守るために様々な機構が働いている。このような化学物質と生体とのダイナミックな関係を明らかにすることは、化学物質の有害作用の解明にとどまらず、化学物質を用いて生理現象を理解するという分子生物学的研究あるいは生体防御の科学につながるものである。

私どもはこのような観点から以下のような研究を展開している。

多機能生体防御タンパク質メタロチオネインに関する研究

ストレス応答タンパク質であるメタロチオネインは、それ自身が重金属の毒性も含めて種々のxenobioticsの毒性に対して防御因子として機能する。メタロチオネインに関する研究は、研究室開設当初からの主要テーマとして取り組んで来た。我々はメタロチオネインの発現調節の細胞外分子機構と細胞内分子機構を解析すると共に、防御因子としてのメタロチオネインの新たな側面を明らかにしてきた。例えば、エンドトキシン/D-ガラクトサミン誘発肝障害・致死モデルで、メタロチオネイン欠損マウスは顕著に高い肝障害・致死感受性を示す。メタロチオネインが細胞・生体の機能を調節することも明らかにしている。例えば、マクロファージのTNF等のサイトカイン産生がメタロチオネイン欠損で低下し、メタロチオネインの過剰発現で線維芽細胞のM-CSF発現は亢進する。サイトメガロウイルス前初期遺伝子プロモーターの活性は亜鉛で誘導され、この現象にもメタロチオネインが関わっている。また



* Keiichi TANAKA
1942年4月生
1970年大阪大学大学院薬学研究科博士課程修了
現在、大阪大学大学院・薬学研究科・毒性学分野、教授、薬学博士、毒性学
TEL 06-6879-8230
FAX 06-6879-8234
E-Mail k-tanaka@phs.osaka-u.ac.jp

虚血再環流による心筋障害は、転写因子STAT3によるメタロチオネイン誘導で効果的に防御できるなど、メタロチオネインの新たな働きを見出すことで、多機能生体防御タンパク質としての位置づけを明確にしたいと考えている。また、ストレス応答システムの進化過程での保存性に注目した、水棲生物における化学的ストレス検出に関する研究も行っている。

化学物質の胎盤機能修飾による 内分泌攪乱作用に関する研究

内分泌攪乱物質を初めとする化学物質の発生毒性評価は、胎児に対する直接的な影響を中心に行われてきたが、我々は胎盤機能に着目した検討を行っている。胎盤は一つの臓器でありながら、母体からの栄養素の供給(消化器)、ガス交換(呼吸器)、老廃物の排泄(泌尿器)、外来異物等の代謝(肝臓)、母体免疫系の制御臓器などとして機能をしている。さらに胎盤は、胎児の発育に必要不可欠な種々のホルモンを胎児に供給する第2の視床下部-下垂体-性腺複合体としての機能を有している。このことから、estrogen receptor(ER)やandrogen receptor(AR)に直接的な影響がなくとも、胎盤の機能、特にホルモン産生系に影響を与える化学物質は、結果的に胎児に致命的な影響を与える可能性が考えられることから、我々は化学物質の発生毒性評価には胎盤に対する影響の評価も必要不可欠であると考えている。しかし、胎盤に対する毒性の評価には、胎盤が非常に種差の大きな組織であるという問題があり、特に内分泌機能においてはその差が顕著である。例えばヒトにおいて胎盤は、妊娠期間における主要なestrogen供給臓器であるが、実験動物として汎用されている齧歯類では、胎盤にaromataseが存在しないためestrogen産生は行われず、妊娠期間中も主に卵巣から供給される。したがって、化学物質の胎盤に対する内分泌攪乱作用は、実験動物だけでは正確に評価することができない。このような背景から、ヒト及び齧歯類の胎盤細胞を用いて、内分泌機能に与える化学物質の影響やその種差による感受性の違い、また遺伝子改変動物などを用いて胎盤の内分泌機能の変動が与える胎児への影響についての研究を行っている。

tributyltin(TBT)やtriphenyltin(TPT)などの有機スズ化合物は、イボニシなど一部の腹足類の雌において雄の性徴発達を示すimposexと呼ばれる現象

を誘導することから、内分泌攪乱物質としての疑いが持たれている。これらの有機スズ化合物は、ERやARには全く親和性を示さないことから、androgenをestrogenに変換する酵素であるaromataseの活性を阻害してandrogen濃度を上昇させることで、雄性化を起こすと考えられてきた。しかし、腹足類におけるステロイドホルモンやaromataseの存在は不明であり、有機スズ化合物の腹足類に対する内分泌攪乱作用機構は不明な点が多く残されていた。またこれらの背景から、有機スズ化合物はヒトにおいても内分泌攪乱作用が疑われているものの、その作用機構は全く予測がつかない状態であった。そこで、ヒト絨毛細胞株の内分泌機能に対する有機スズ化合物の影響について検討を行ったところ、TBTとTPTはヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)産生およびaromatase活性を上昇させ、またその上昇はmRNAの発現上昇を伴うものであった。このことは、これまでに腹足類で予想されていた結果とは正反対であり、少なくともヒトの胎盤に対する作用機構は腹足類に対するものとは異なる可能性が示唆された。そこで、有機スズ化合物の詳細な作用機構を明らかにする目的で、TBTやTPTと類似構造を有する十数種類の有機スズ化合物のヒト胎盤の内分泌機能に対する影響について検討を行ったところ、有機スズ化合物の作用には明確な構造活性相関が認められ、その作用点はヒト胎盤のhCGおよびaromataseのmRNAの上昇に共通している経路にあることが示唆された。さらに検討を進めた結果、TBT、TPTを含む一部の有機スズ化合物が、RXR ligandとしての作用を有することが明らかとなり、TPTのRXRに対する親和性は、RXRのnatural ligandである9-*cis*レチノイン酸(9cRA)と比較して1/5~1/15程度、また転写活性化能についてはほぼ同等であった。これらの結果は、今までヒトにおける内分泌攪乱作用が不明であった有機スズ化合物がRXRのligandとして作用することで、胎盤の内分泌機能を攪乱する可能性を示唆するものである。

その一方で最近イボニシにもRXRが存在することが発見され、ligand結合部位のアミノ酸配列はヒトRXRの約84%の相同性であることや、興味深いことに、イボニシに9cRAを投与すると、TPTと同様にimposexが誘導されることから、イボニシのimposexもRXRを介して誘導されることが示唆さ

れた。従って、生物種によって誘発するフェノタイプは異なるものの、有機スズ化合物は様々な生物種に対して、RXRを介した内分泌攪乱作用を引き起こす可能性が明らかになった。

アスコルビン酸および亜鉛と骨代謝に関する研究

アスコルビン酸は胃内でニトロソアミン消去等を介して生体防御因子として機能すると考えられている。我々は、胃内アスコルビン酸分泌系を新たに見出し、その分泌系や副交感神経による調節を明らかにして来た。また膜輸送に関わる複数の機構の存在を想定して検討を行い、アスコルビン酸の膜輸送に関わる分子(Na依存性アスコルビン酸トランスポーター, SVCT)をマウスでクローニングした。本分子はまた、骨代謝とも密接に関わることを見出して

いる。アスコルビン酸は、骨マトリックスの合成・成熟等と密接に関わる骨代謝に重要なビタミンである。亜鉛を含むいくつかの因子にSVCT2誘導およびアスコルビン酸取り込み促進作用を見出し、その機序と意義を明らかにした。また、亜鉛の骨芽細胞分化促進作用はアスコルビン酸依存的であり、これらのビタミンや必須金属にはまだ知られていない側面が存在すると考えられる。研究の過程で作成したSVCT2過剰発現骨芽細胞は、分化マーカー発現が亢進しておりハイドロキシアパタイトを顕著に沈着する。この細胞は骨石灰化の迅速な*in vitro*評価に応用できると考えられ、化学物質および薬物の骨代謝に対する作用を検討する新たな系ができるものと期待される。

この記事をお読みにになり、著者の研究室の訪問見学をご希望の方は、当協会事務局へご連絡ください。事務局で著者と日程を調整して、おしらせいたします。

申し込み期限：本誌発行から2か月後の月末日

申し込み先：生産技術振興協会 tel 06-6395-4895 E-mail seisan@maple.ocn.ne.jp

必要事項：お名前、ご所属、希望日時(選択の幅をもたせてください)、複数人の場合はそれぞれのお名前、ご所属、代表者の連絡先

著者の都合でご希望に沿えない場合もありますので、予めご了承ください。