

各種水銀化合物の複合曝露による中枢神経障害発症における メタロチオネイン-IIIの関与

研究代表者：李辰竜（生命薬学ユニット）

中枢神経障害を主症状とする水俣病が発生して以来、水銀の環境汚染に伴う健康被害は世界各国で大きな関心事になっている。最近、ブラジル・アマゾン川流域において金採掘に伴う水銀汚染によって健康被害が発生しており、アフリカ、アジア、東欧の金産出国でも同様な問題を抱えている。アマゾン川流域の小規模金採掘場において、金抽出に使用される金属水銀（水銀蒸気）による環境汚染、そしてそれを使用する作業員への水銀蒸気曝露による健康影響や、その地域に住む幼少児の健康影響が問題視されている。また、大型魚介類の一部にはメチル水銀が高濃度に蓄積されており、微量ながら人々へ取り込まれている。近年、「魚類を介してメチル水銀を比較的多く摂取した女性から生まれた子供に運動や精神の発達障害が認められる」との疫学調査結果が発表されたことから、2001年に米国は妊婦や乳幼児などに対して魚類の摂取を制限する国家警告を発し、日本をはじめ英国、カナダ、オーストラリア、ノルウェーなどでも同様の警告が出された。このように、金属水銀およびメチル水銀による健康影響が世界的に懸念されているにも関わらず、それらの毒性の発現機構は現在も不明のままであり、解明のための糸口さえほとんど得られていない。

一方、生体内防御因子の一つであるメタロチオネイン（4種のアイソホーム）のうち、メタロチオネイン-III（MT-III）は様々な脳疾患（カイニン酸による痙攣発作、脳虚血による脳梗塞、家族性筋萎縮性側索硬化症）に対して保護作用を有することが明らかとなっている。しかしながら、水銀化合物による中枢神経障害におけるMT-IIIの役割はほとんど明らかにされていない。特に、メタロチオネインはSH基を豊富に持つため、カドミウムのような重金属を除去可能な分子構造を持っており、強力な毒性軽減作用を示す。さらに、メタロチオネインは、酸化ストレスを誘発するラジカル種も除去でき、抗酸化作用を有する。

これまでに、メチル水銀が脳特異的にいくつかのケモカイン遺伝子の発現を上昇させることが報告されている。そこで本研究では、MT-III欠損マウスを用いて、大脳並びに小脳における各種水銀化合物によるケモカイン遺伝子発現の変動およびその作用におけるMT-IIIの関与

について検討した。

3週齢のMT-III欠損マウスおよび野生型マウスに、金属水銀を水銀蒸気として $0.121 \pm 0.028 \text{ mg/m}^3$ で毎日8時間ずつ4週間、メチル水銀（5 mg/L）含有飲料水の自由摂取で4週間、それぞれ曝露した。曝露終了後、大脳および小脳を摘出して各脳組織の水銀濃度を還元気化原子吸光度法を用いて測定するとともに、ケモカイン遺伝子のmRNAレベルをリアルタイムRT-PCR法で測定した。

メチル水銀曝露による野生型マウスおよびMT-III欠損マウスの体重変化は認められなかったが、水銀蒸気曝露により両マウスの体重が有意に減少した。ただし、水銀蒸気曝露による体重減少において、両マウス間で差はなかった。各組織中の水銀濃度を調べたところ、いずれの組織においても水銀蒸気曝露群よりメチル水銀曝露群の方が水銀濃度が高かった。なお、野生型マウスとMT-III欠損マウスの間で水銀濃度に差は認められなかった。以上の結果より、MT-III欠損は各種水銀曝露による体重変動および脳内水銀濃度に影響を与えないことが明らかとなった。

次に、各種ケモカイン遺伝子の発現を調べたところ、メチル水銀を曝露した野生型マウスの大脳中では変動しなかった*Ccl3* mRNAレベルが、MT-III欠損マウスでは有意に増加し、メチル水銀を曝露した野生型マウスで増加した*Ccl12*および*Cxcl10*のmRNAレベルがMT-III欠損マウスでは変動しなかった。一方、小脳において、水銀蒸気曝露した野生型マウスで変動しなかった*Ccl7* mRNAレベルと、メチル水銀曝露した野生型マウスで変動しなかった*Cxcl10* mRNAレベルがともにMT-III欠損マウスでは、有意に増加した。興味深いことに、メチル水銀による*Cxcl10* mRNAレベルの増加は、大脳では野生型マウスで、小脳ではMT-III欠損マウスで認められた（Table 1）。以上の結果より、MT-IIIは、脳内水銀蓄積には影響を与えないものの、マウス脳において各種水銀化合物による一部のケモカインの遺伝子発現に影響を及ぼすことが明らかとなった。

本研究から、水銀化合物による脳内ケモカインの遺伝子発現にMT-III欠損が一部関与していることが明らかとなった。水銀化合物による脳内ケモカインの遺伝子発現

Table 1. Scheme of the change mRNA levels of *Ccl3*, *Ccl4*, *Ccl7*, *Ccl12* and *Cxcl10* in brain of mice exposed to mercury compounds.

		Cerebrum		Cerebellum	
		Wild type	<i>MT-III</i> K.O.	Wild type	<i>MT-III</i> K.O.
<i>Ccl3</i>	MeHg	-	↑	↑	↑
	Hg ⁰	-	-	↑	↑
<i>Ccl4</i>	MeHg	-	-	↑	↑
	Hg ⁰	-	-	-	-
<i>Ccl7</i>	MeHg	↑	↑	↑	↑
	Hg ⁰	↑	↑	-	↑
<i>Ccl12</i>	MeHg	↑	-	↑	↑
	Hg ⁰	-	-	↑	↑
<i>Cxcl10</i>	MeHg	↑	-	-	↑
	Hg ⁰	-	-	-	-

におけるMT-IIIの関与は世界で初めての知見であり、水銀毒性発現におけるMT-IIIの役割の解析への新たな突破口になると期待される。なお、金採掘地域の河川や土壌中からは、メチル水銀が検出され、この地区で採取された穀類のメチル水銀濃度が高いことが報告されていることから、魚介類摂取とともに米食によるメチル水銀曝露も懸念されている。したがって、小規模金採掘場周辺に住む幼少児は水銀蒸気曝露に加えてメチル水銀曝露も受けることになる。このように、水銀蒸気またはメチル水銀単独曝露による影響評価のみならず、それらの複合曝露による健康影響に関する研究が今後必要とされている。

謝辞

本研究は、愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療薬学助成を受けて実施した。

学会発表

木俣隆太郎、李 辰竜、徳本真紀、佐藤雅彦. 水銀化合物による脳内ケモカインの遺伝子発現に及ぼすメタロチオネイン - III の影響. 第 62 回日本薬学会東海支部総会・大会, 名古屋, 2016 年 7 月.