

キンギョのウロコの骨芽細胞・破骨細胞に対する多環芳香族炭化水素類の影響

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2024-06-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/0002000735

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.



キンギョのウロコの骨芽細胞・破骨細胞に対する多環芳香族炭化水素類の影響

中野 淳¹, 鈴木信雄², 早川和一¹

¹〒920-1192 金沢市角間町, 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 環境衛生化学; ²〒927-0553

鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Jun NAKANO¹, Nobuo SUZUKI², Kazuichi HAYAKAWA¹: Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on osteoblasts and osteoclasts of goldfish

【背景・目的】

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbon : PAH) 類は原油中に含まれており、タンカー等の原油流出事故は大規模な海洋汚染を引き起す。実際に原油汚染海水で孵化した稚魚に脊柱彎曲が観察されているが、その発症機序は不明である。そこで魚の骨代謝に及ぼす PAH の影響を評価する方法として、魚類のウロコに注目した。魚類のウロコは、骨基質タンパク上に骨形成を行う骨芽細胞と骨吸収を行う破骨細胞が共存しており、シンプルな骨のモデルである。したがってウロコを用いれば、PAH が魚類の骨代謝に与える影響を評価できる可能性が高い。本研究では、以下の項目について研究した。

- ① 魚の骨芽細胞及び破骨細胞に対する PAH の作用を解析するためのバイオアッセイ系の開発
- ② 開発したバイオアッセイ系を用いた PAH の魚の骨代謝に対する作用の解析
- ③ PAH 代謝物の解析 : PAH を投与したキンギョの胆汁中の代謝物の測定

【実験① : 魚の骨芽細胞及び破骨細胞に対する PAH の作用を解析するためのバイオアッセイ系の開発】

ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞活性のより精度の高い測定法として、従来の単位体積あたりの活性測定法ではなく、単位面積あたりの活性測定法を開発した。また、ウロコは非常に再生能力の高い器官であり、抜去しても再生する。再生ウロコの形態学的観察から、通常ウロコでは見られない多核の破骨細胞が誘導され、骨代謝が活性化していた。この再生ウロコを用いて骨形成過程の骨芽細胞及び破骨細胞活性の変化を解析できるモデルとして最適な条件を決定した。

その結果、従来の重量当たりの酵素活性測定では、できるだけ同程度の大きさのウロコを選別して使用する必要があっが、単位面積当たりの活性で表すと、ウロコの面積に関係なくほぼ一定の値となった。またウロコを採取する部位による活性の違いも見られ、比較するウロコの位置も重要だということがわかった。また、再生ウロコの方が通常のウロコよりも E₂ の影響をより感度良く評価できることが分かった。さらにこれらの作業をコンピューターにより自動解析ができるようにした結果、感度、精度及び再現性が向上したシステムを構築できた。

【実験②：開発したバイオアッセイ系を用いた PAH の魚の骨代謝に対する作用の解析】

PAH はヒトエストロゲン受容体 (Human estrogen receptor : hER) に結合しないが、モノヒドロキシ多環芳香族炭化水素 (OHPAH) 類は結合活性を示すことを明らかにした¹⁾。そこで①で開発したウロコのアッセイ系を用いて、E₂ と OHPAH の作用を比較した。

再生ウロコを10⁻⁶ mol/L の濃度の E₂ で処理すると骨芽細胞活性は 6 時間後に上昇し、破骨細胞は 10⁻⁸~10⁻¹⁰ mol/L で活性が上昇した。また 4-Hydroxybenz[a]anthracene (4-OHBaA) は 6 時間で骨芽細胞、破骨細胞ともに活性が上昇し、破骨細胞で10⁻¹⁰ mol/Lの濃度まで変化を感知することができた。一方 4-OHBaA の未代謝物である Benz[a]anthracene (BaA) は6 時間より遅れて、12 時間で破骨細胞活性の上昇が起こった。さらに、4-OHBaA は、ウロコの細胞には毒性を示さなかったことから、4-OHBaAのエストロゲン様作用はエストロゲン受容体等を介した内分泌かく乱作用の可能性が高い。

【実験③：PAH 代謝物の解析：PAHを投与したキンギョの胆汁中の代謝物の測定】

②において、4-OHBaAが内分泌かく乱作用を持つことが判明した。そこで次に、この代謝産物が実際にキンギョの体内で産生されることを証明した。即ち、キンギョに BaA (5 µg/g BW) を腹腔内投与して、胆汁中の 4-OHBaA 濃度を HPLC を用いて測定した。

その結果、4-OHBaA は、BaA 投与後 12時間でも検出され、48 時間で最も高い濃度 (16.96 mol/L) が検出された。したがって、代謝酵素 (CYP1A1) によりBaA が 4-OHBaA となり、魚の骨代謝に影響を及ぼしている可能性がある。

【結論】

重油中には BaA を含む多量の PAH が含まれている。本研究の結果より、重油中の PAH が体内に入り、CYP1A1により生じた水酸化体が内分泌攪乱作用を持ち、それが重油による魚の骨代謝異常の原因の一つであると推測された。

【引用文献】

- 1) Hayakawa, K. et al. J. Health Sci., 53: 562-570 (2007)

【謝辞】

本研究の一部は、科学研究費補助金、厚生労働省科学研究費、(財)クリタ水・環境科学振興財団助成金、環境省 地球環境推進費及びExtend 2005の研究助成、宇宙航空研究開発機構の研究助成の援助により行われた。

(本研究は、金沢大学大学院 自然科学研究科 薬学系の中野 淳君の修士論文の一環として行われた)