

# 無機水銀のキンギョの骨芽細胞及び破骨細胞活性に及ぼす影響：ウロコのアッセイ系による解析

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/0002000738">http://hdl.handle.net/2297/0002000738</a>

## 無機水銀のキンギョの骨芽細胞及び破骨細胞活性に及ぼす影響： ウロコのアッセイ系による解析

谷内口孝治<sup>1</sup>，鈴木信雄<sup>2</sup>，早川和一<sup>3</sup>，服部淳彦<sup>4</sup>

<sup>1</sup>〒927-0552 石川県鳳珠郡能登町字越坂，のと海洋ふれあいセンター；<sup>2</sup>〒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；<sup>3</sup>〒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；<sup>4</sup>〒272-0827 千葉県市川市国府台，東京医科歯科大学 教養部 生物学教室

Koji YACHIGUCHI<sup>1</sup>, Nobuo SUZUKI<sup>2</sup>, Kazuichi HAYAKAWA<sup>3</sup>, Atsuhiko HATTORI<sup>4</sup>: Effects of inorganic mercury on osteoblastic and osteoclastic activities in goldfish: Analysis by a scale *in vitro* assay system

### 【はじめに】

水俣病は、新日本窒素肥料（現在のチッソ）水俣工場が、アセトアルデヒドの生産に触媒として使用した無機水銀(硫酸水銀)により海洋が汚染され、その海域に生息した魚に水銀が蓄積・濃縮され、それを食した地域住民の脳-神経系に蓄積して、中毒性の中枢神経疾患になった。このような背景から、水銀に対する作用については、神経系に対する作用を中心に解析が進んでいる<sup>1)</sup>。一方、水銀の骨に対する作用については報告が少なく、*in vivo*での解析が多い<sup>2,3)</sup>。骨芽細胞に関する報告はあるが<sup>3)</sup>、破骨細胞に対する作用を解析した報告は、これまでにはない。骨芽細胞との相互作用により、単核の破骨細胞が融合して多核の破骨細胞になり、分化・活性化しないと骨吸収能がない。株化した骨芽細胞があるため、骨芽細胞の培養は容易であるが、破骨細胞の培養は容易ではない。したがって、容易に破骨細胞の作用を解析するモデルシステムの開発が求められている。

### 【目的】

魚類のウロコは、石灰化した骨質層の上に骨芽細胞と破骨細胞が共存して、ヒトの骨と同様に骨代謝をしている。魚類の椎骨には骨髄に相当する構造がなく、造血は腎臓の一部で行っている。また、骨とウロコがカルシウムの貯蔵庫であるが、魚類にとって、ウロコがヒトの骨と同様の役割を持つことは、放射性同位元素 ( $^{45}\text{Ca}^{2+}$ ) を用いた実験で証明されている。そこで我々は、ウロコを用いて *in vitro* の培養システムを開発した<sup>4)</sup>。本研究では、このシステムを用いて無機水銀の作用を解析した。

### 【実験方法】

実験材料として、淡水魚のキンギョ (*Carassius auratus*) を用いた。キンギョからウロコを麻酔下で採取した。次に、採取したウロコを Suzuki and Hattori (2003) の方法<sup>4)</sup> に従い *in vitro* で6及び18時間培養して、無機水銀の骨代謝に及ぼす影響を評価した。また、長時間 (18, 36及び64時間) の培養に対する影響も調べた。

さらに、水銀で18時間処理したウロコから mRNA を抽出して、破骨細胞のマーカー (酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ: TRAP、カテプシンK)、骨芽細胞のマーカー (インスリン様成長因子I:

IGF-I)、重金属の解毒に関与する遺伝子(メタロチオネイン:MT)の発現に対する影響を無処理のウロコと比較した。

### 【実験結果】

無機水銀 ( $10^{-5} \sim 10^{-3}$  M) は6時間の培養で破骨細胞の活性を抑制した。一方、骨芽細胞の活性は6時間の培養では変化しなかった。

そこで次に、長時間の培養を行った。18時間の培養で $10^{-4}$  Mの無機水銀が破骨細胞の活性を抑制した以外は、破骨細胞の活性は減少傾向であるが、有意差は認められなかった。一方、骨芽細胞の活性は無機水銀 ( $10^{-6} \sim 10^{-4}$  M) により36時間以降において有意に低下した。

遺伝子発現の変化を調べると、破骨細胞のマーカであるTRAPとカテプシンK、さらに骨芽細胞のマーカであるIGF-Iの発現は低下していた。一方、重金属の解毒に関与するMTの発現が有意に上昇していた (Figure 1)。

### 【考察】

本研究により初めて無機水銀の破骨細胞に対する作用(細胞活性及び遺伝子発現の変化)を証明した。さらに無機水銀の破骨細胞に対する作用は、短時間の培養で顕著に現れることもわかった。水銀は魚の背骨ではなく、ウロコに蓄積するという報告があり<sup>5)</sup>、ウロコは非常に感度がよい骨のモデルである可能性が高い。

一方、骨芽細胞の活性は、短時間ではなく長時間の培養で低下することが判明した。18時間の培養でMTの発現量が有意に上昇したので、MTを作ることで骨芽細胞は無機水銀の作用を防御している可能性がある。しかし高濃度の場合は、IGF-Iの発現が有意に低下して、36時間以降に骨芽細胞の活性が下がったと推測される。

### 【引用文献】

- 1) Castoldi, A.F., et al., Brain Res. Bull., 55: 197-203 (2001)
- 2) Yonaga, T., et al., Anat. Anz., 159: 373-383 (1985)
- 3) Jin, G.-B., et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 185: 98-11 (2002)
- 4) Suzuki, N. and Hattori, A., Life Sci., 73: 2237-2247 (2003)
- 5) Lake, J.L., et al., Arch. Environ. Contam. Toxicol., 50: 539-544 (2006)

### 【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の研究助成の援助により行われた。

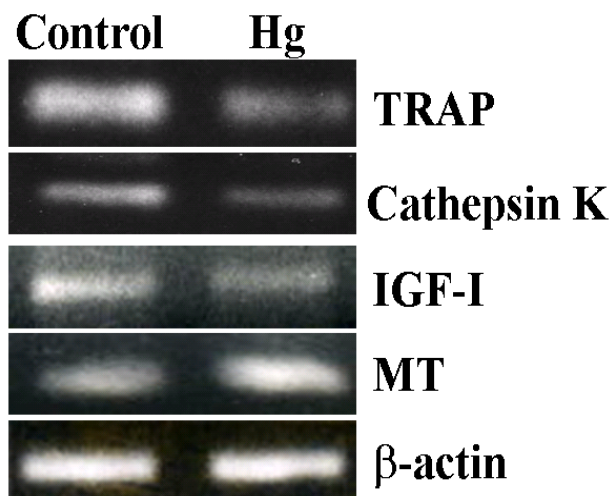


Figure 1 Expression analysis of osteoclastic markers (TRAP and cathepsin K) and osteoblastic marker (IGF-I) in control scales and mercury-treated scales.