水生動物における多環芳香族炭化水素類の毒性に関する研究

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2017-10-05
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 川部, 季美, 鈴木, 信雄, 早川, 和一
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/45456

水生動物における多環芳香族炭化水素類の毒性に関する研究

川部季美[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
Kimi KAWABE[1], Nobuo SUZUKI[2], Kazuichi HAYAKAWA[1]: Study on toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic animals

【背景・目的】

多環芳香族炭化水素（Polycyclic aromatic hydrocarbon：PAH）類はタンカー油流出事故等を通じて海洋を広域に汚染する。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。これまでに早川らは、酵母 two-hybrid 法を用いて、PAH 類はヒトのエストロゲン受容体（Estrogen receptor：ER）に結合しないが、モノヒドロキシ多環芳香族炭化水素（Hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbon：OHPAH）類は結合活性を示すことを明らかにした。骨代謝を調節する因子の一つとしてエストロゲンがあることから、PAH 類が代謝されて生じた OHPAH 類が ER を介して、魚類の骨代謝に影響を与える可能性が考えられる。そこで、本研究では重油汚染海水中に含まれる PAH 類の代謝物が上述の魚の脊柱湾曲を発症させる本体の可能性があると考え、水生動物に対する PAH 類とその代謝産物である OHPAH 類の作用を解析する為に、以下の研究を行った。

【実験1：PAH類とOHPAH類の魚類の骨代謝に対する作用】

1-1）キンギョのウロコの再生に対するPAH類の影響（*in vivo*解析）

試験物質として、Benz[*a*]anthracene（BaA）とBenzo[*c*]phenanthrene（BcP）を用いた。まず化合物を投与する前にウロコを抜き、再生前のウロコとした。その後、3日おきに腹腔内にBaA又はBcPをそれぞれ0.1 ng/g投与し、対照群にはエタノールを投与した。その後、12日目の再生ウロコを採取し、骨芽及び破骨細胞の活性を測定し、PAH類の影響を比較した。その結果、再生ウロコの骨芽細胞活性には影響がみられなかったが、12日目の再生ウロコの破骨細胞活性が，BaA及びBcPの両投与群ともに対照群と比較して上昇し、ウロコの再生率が低下していた。このウロコ再生の抑制傾向は、BcP投与群の方が顕著であった。また、BaA投与キンギョの18日目の胆汁を採取し、代謝物を測定した結果、4-Hydroxybenz[*a*]anthracene（4-OHBaA）、さらにBcP投与キンギョの胆汁中から3-Hydroxybenzo[*c*]phenanthrene（3-OHBcP）、4-Hydroxybenzo[*c*]phenanthrene、及び5-Hydroxybenzo[*c*]phenanthreneが検出された。これらの結果から、Cytochrome P450によってPAH類から代謝されたOHPAH類が破骨細胞を活性化して、ウロコの再生をかく乱する可能性が示された。

1-2）キンギョのウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対するOHPAH類の影響（*in vitro*解析）

次に、*in vitro*のアッセイ系により、2～6環の合計48種類のOHPAH類について、ウロコの骨芽細胞と破骨細胞の活性に及ぼす影響を評価した。その結果、48物質の中でエストロゲン様作用あるいは抗エストロゲン作用を示すものがあることが判明した。その中でも4-OHBaAは当研究室のこれまでの研究結果と同様に、エストロゲン様作用を示した。さらに4-OHBaAの作用を詳細に解析した結果、骨芽細胞のマーカーではⅠ型コラーゲン、破骨細胞のマーカーでは酒石酸抵抗性酸フォスファターゼmRNAの発現が有意に上昇し、細胞活性の結果とも一致した。以上より、4-OHBaAはエストロゲン様作用を示すことがわかった。

1-3）ゼブラフィッシュのウロコに対するPAH類のGeneChip解析（*in vitro*解析）

次に、ウロコに存在する細胞の遺伝子に及ぼすBaA及び4-OHBaAの作用を網羅的に解析する為に、全ゲノム解析が終了しているゼブラフィッシュのウロコを用いて、GeneChip解析を行った。その結果、4-OHBaAで処理することにより、細胞周期に関連する遺伝子が変化することがわかった。しかもその親化合物であるBaA処理の場合は、それとは異なった遺伝子が変化していることも明らかになった。即ち、4-OHBaAは、BaAとは異なった経路で魚のウロコに作用している可能性が示された。

【実験2 : PAH類とOHPAH類の水生動物の胚発生に対する作用】

実験1において、4-OHBaAが細胞周期に関連する遺伝子発現に影響を及ぼすことがわかった。そこで、水生動物の発生の初期段階に及ぼす作用に注目し、PAH類及びOHPAH類のメダカ及びウニの胚発生に対する影響を評価した。なお、試験物質は実験1と同じくBaA、BcP及びそれらの代謝産物の4-OHBaAと3-OHBcPとした。

2-1）PAH類とOHPAH類のメダカの受精卵に対する影響（*in vivo*解析）

PAH類及びOHPAH類のいずれも致死率は高く、孵化率は低下した。特に4-OHBaA投与群の方が影響が大きかった。さらに、PAH類及びOHPAH類両投与群ともに、孵化遅延、眼の発達異常、及び卵黄の委縮などの奇形が見られた。

2-2）PAH類とOHPAH類のウニの受精卵に対する影響（*in vivo*解析）

ウニの胚発生における骨片形成が観察し易いことに着目し、PAH類及びOHPAH類がウニの胚発生に及ぼす影響を調べた。その結果、PAH類及びOHPAH類両群ともに同程度の骨片形成遅延を引き起こし、骨片形成に影響を及ぼすことがわかった。

【結論】

本研究の結果より、水生動物に対する毒性発症の機構として、水生動物の体内に入った原油や重油中のPAH類が代謝されてOHPAH類となり、次いで、ERに結合してエストロゲン様若しくは抗エストロゲン作用を引き起こす経路と、OHPAH類がERを介さず直接的に魚の骨組織若しくは水生動物の細胞に作用する経路の2つある可能性が示された。

（本研究は、金沢大学大学院　自然科学研究科　薬学系の川部季美氏の修士論文の一環として行われた）