



## 多機能生体防御タンパク質メタロチオネイン

伊藤 徳夫\*, 田中 慶一\*\*

### Toxicological Roles of Metallothionein

**Key Words :** Metallothionein, Biological Defense System, Acute Phase Protein, Induction of Metallothionein Synthesis, Cytoprotection

#### 1. はじめに

生体は様々な生体防御システムを具備しており、これらは特異性は低い広範な異物に対応可能な系と、免疫系に代表される特異性の高い系とに分類できる。広範な異物に対応可能な生体防御システムは進化の過程の早い段階から生物が獲得したものであり、生体防御応答の初期段階で作動する基本的かつ重要な機構である。われわれは異物に対する生体防御システムの応答を細胞と分子のレベルで理解すること、および生体防御因子とされているいくつかのタンパク質について、その誘導意義を明らかにすることを目標に研究している。そして究極的には、生体防御機構をより良く理解することによって薬・毒物の毒性発現制御や軽減に応用できる可能性をも意識している。本稿では広範な異物に対応可能な生体防御タンパク質の一つと考えられているmetallothionein(MT)に関して、われわれの研究経過を中心

に紹介する。

#### 2. メタロチオネイン

MT研究の歴史は古く、1958年に発見されてから今日まで多くの生物種に広く見いだされてきた。このタンパク質は高いシステイン含量と芳香族アミノ酸を含まないという特異なアミノ酸組成、重金属親和性など、際だった特徴を有する。重金属による誘導とグルコルチコイドによる誘導は以前からよく知られており、この現象で最終的に機能する転写因子とその標的DNA配列が明らかにされた。誘導条件は他にも多く報告されており、種々雑多な化合物の投与、拘束、飢餓等のストレスのように様々である。これらの誘導機序は不明であったが、種々雑多な化合物の投与による誘導の多くの部分がわれわれの研究で説明できるようになった。

MTは生体防御因子として、古くから重金属毒性を軽減することが知られているが、ラジカル産生が毒性発現と関係するとされている多くの薬・毒物に対しても毒性軽減因子として機能すると報告されてきた。しかし、オールマイティーな防御因子などそうそうは無いもので、われわれの研究も含めて最近では防御因子として機能できるか否かを、それぞれの化合物に対して再評価すべき時期と考えられる。この分子は従来考えられているような単純な細胞質タンパク質ではなく、一部の細胞ではその状態(増殖、細胞周期)によって細胞質局在性、あるいは、核局在性を示すユニークな分子である。また、哺乳動物では現在のところ4種のアイソフォームの存在が報告されており、それぞれの役割の違いは興味あるところである。I型、およびII型のアイソフォームは、ほとんどすべての細胞で普遍的に発現しており、III型、およびIV型は、それぞれ脳、および味蕾で発現している。III型、およびIV型の役割は、I型、およびII型の場合とは異なっており、それぞれの



\* Norio ITOH  
1959年1月30日生  
1985年富山医科薬科大学大学院・薬学研究科・博士後期課程中退  
現在、大阪大学大学院・薬学研究科・毒性学分野、講師、薬学博士、毒理学  
TEL 06-6879-8231  
FAX 06-6879-8234  
E-Mail n-itoh@phs.osaka-u.ac.jp



\*\* Keiichi TANAKA  
1942年4月6日生  
昭和45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、毒理学  
TEL 06-6879-8230  
FAX 06-6879-8234  
E-Mail k-tanaka@phs.osaka-u.ac.jp

発現組織で特異な機能を果たしていると考えられるが詳細については明らかではない。本稿での記述は、I型、およびII型のアイソフォームに関するものである。

### 3. 発現制御機構

重金属による誘導とglucocorticoidによる誘導の機構は、転写因子であるmetal responsive transcriptional factor(MTF)とDNA上の被認識配列metal responsive element(MRE), あるいはglucocorticoid receptor(GR)とglucocorticoid responsive element(GRE)の関係として説明される。一見明瞭に解明されたように思えるが、まだまだ不明な点が残されている。例えば、*in vivo*で金属処理(例えばMTを誘導できるCd)した細胞から調製した核抽出液のMTF活性は対照と比較して顕著に活性化されている。しかし、核抽出液を*in vitro*で金属処理してもMTFは何ら活性化されず、むしろ阻害されるくらいである。MTFは亜鉛結合蛋白質であるが、これは金属に対するセンサー分子としてとらえるよりも、他の多くの転写因子が亜鉛結合蛋白質であることと同等の扱いをすべきであろう。MT誘導能を示すカドミウムのような金属で活性化される真の金属センサー分子が発見され、MTFへのシグナル伝達のルートが解明された時に、はじめて「金属による誘導の分子機構が明らかになった」と記述すべきであろう。一方glucocorticoidによる誘導機構では、金属の場合とは異なってセンサー分子とエフェクター分子は同一であり機構に不明瞭なところはない。われわれが主張したいのはその位置づけの認識である。

glucocorticoidはストレスに応答して作動する生体防御系の一つ、下垂体副腎系のエフェクター分子である。かつては、「化学的、物理的ストレスによるMT誘導現象は、glucocorticoidの分泌を介して生じるストレス応答である」との捉え方があった。しかし、特に齧歯類にglucocorticoidを投与した場合のMT誘導の程度は、化学物質投与によるMT誘導現象を説明できないほどに小さい。さらに、副腎摘出動物でも化学物質投与によるMT誘導現象が観察された。したがって、従来からのglucocorticoidによるMT誘導経路の位置づけは改める必要があると考えられる。それでは、ストレス、特に化学的ストレスによるMT誘導現象を説明可能な機

構としてどのようなものを提示できるのであろうか。われわれがいくつかの可能性・仮説を考慮して検討した結果、多くの場合「化学物質の刺激が発端となって生じた内因性のMT誘導性メディエーターにより標的細胞のMT遺伝子の転写が促進される」との結論に至った。このメディエーターの中で同定された分子は多機能サイトカインであるインターロイキン(IL)-6である。興味あることに、glucocorticoidはIL-6によるMT遺伝子転写活性化に必須な補助・増強因子として機能していたのである。数種のサイトカイン(IL-1, IL-6, TNF, IFN)に*in vivo*, あるいは*in vitro*でMT誘導作用が認められることは以前から報告されていた。しかし、外来異物による誘導現象において標的細胞に対する最終エフェクター分子が同定され、そのglucocorticoidとの関係が分子レベルで説明可能となったことで、生体防御因子であるMTが他の生体防御系と密接に関連した発現調節を受けることが示されたのである。

このIL-6をメディエーターとする誘導は、炎症急性期反応と類似の現象と考えられ、血漿タンパク質ではないもののMTは炎症急性期タンパク質の一種としてとらえられるようになった。事実、典型的な起炎刺激を与えることによって顕著なMT誘導が観察される。われわれは、未同定(既知の炎症性サイトカインではない)のサイトカイン様メディエーターによる誘導現象も見いだしている。例えば、コルヒチン投与による誘導現象は、glucocorticoid要

表1 MT誘導性の化学物質とその誘導機序

化合物名	機序
カドミウム、亜鉛等の重金属	MTF活性化によるMRE刺激(MTF活性化の機構は不明)
グルココルチコイド	受容体活性化とGRE刺激
n-ヘキサン、ヘプタン等の有機溶剤	IL-6がメディエーター
テルペン油、エンドキシン等の起炎剤	IL-6がメディエーター
コルヒチン	未知サイトカイン様血中因子がメディエーター
IL-1	標的細胞の受容体を介するが、 <i>in vivo</i> ではIL-6やTNF産生を介する機序がメイン
TNF, IFN	標的細胞の受容体を介する
IL-6	標的細胞の受容体を介するシグナル伝達とSTAT3活性化によるIL-6RE type2刺激(同時にGR/GREの活性化が必要)

求性のサイトカイン様血清因子による。この因子を同定することにより、他の生体防御系との接点がさらに明らかになるものと思われる。

#### 4. 細胞・組織障害に対する防御作用の再検討

最近、MTが細胞・組織障害に対する防御因子として実際に機能しうるか否かを、種々の薬・毒物に対して再検討する必要性を感じている。以前より、亜鉛のような典型的なMT誘導剤を投与した動物は、重金属毒性のみならず、複数種の化合物の臓器・細胞毒性に対して耐性を獲得することが指摘されていた。この現象はMTと関連付けて説明され、この解釈は広く受け入れられてきた。ところが最近、われわれは意外な結果を得た。

四塩化炭素による肝障害が亜鉛の前処置によって軽減されることが以前より複数報告されており、また、われわれが強力なMT誘導活性を見いだしたある種のサポニンによっても顕著な保護を認めていた。この現象は当然MT誘導と関連付けて説明され、そのことを支持する知見もいくつか得ていた。しかし、MT遺伝子欠損マウスを用いた実験でも、亜鉛やMT誘導性サポニン投与による四塩化炭素抵抗性、それも野生型マウスとはほぼ同等の抵抗性獲得が観察されたのである。他の検討結果も総合し、四塩化炭素抵抗性の獲得とMTとは無関係であるとの結論に至った。他の薬・毒物の場合、例えばわれわれの行ったドキソルビシン(抗ガン剤の一種)を用いた検討のように、MT遺伝子欠損マウスを用いた実験で従来の説が肯定された例も当然のことながら複数ある。

MT欠損による何らかの代償機構の存在を意識する必要があるため結論は慎重に出すべきであるが、薬・毒物感受性の修飾については多くの化合物・事象との関連が可能性として考察されてきただけに、

先の四塩化炭素の場合のように無関係な事柄も他に存在するのではないかと考えている。MTが抗ガン剤等の医薬品の毒性に対する感受性、抵抗性と密接に関連する分子の一つであると位置づけられているので、このような観点からも関与する反応、分子と、関与しない反応、分子を明確にすることは重要であろう。

表 2 MTとの関連が指摘されている薬・毒物

薬・毒物名	感受性とMTとの関連
カドミウム	有り
シスプラチン	有り
ドキソルビシン	有り
四塩化炭素	なし
アセトアミノフェン	有り
t-ブチルヒドロペルオキシド	有り
パラコート	有り
UV, X線	有り

#### 5. おわりに

私たちはMTが実際に関与する現象を明確にして、さらに、この分子の誘導機構と細胞内局在の分子機構を解明することによって、メタロチオネインの生体防御系における位置づけを明確にできると考えている。さらに、このような機構や役割を明らかにすることによって、薬・毒物の毒作用・副作用軽減に応用する道も開けるものと期待している。

平成11年11月24～25日、メタロチオネイン'99(第2回メタロチオネイン研究会)を大阪大学医学部銀杏会館で開催します。御興味のある方は筆者までご連絡ください。

