

ヒトと地球のウェルネスをめざして



研究室紹介

西原 力*

Environmental Biochemistry for Wellness of the Human and the Earth

Key Words : Endocrine Disruptor, Environmental Hormone,
Nuclear Receptor, Risk Assessment

1. はじめに

化学物質による環境汚染問題は21世紀において解決すべき最大の課題のひとつである。この問題の解決法のひとつはリスクを予測し、科学的なその対応策をとることである。すなわち、医薬品を含む化学物質については、開発、生産から使用、リサイクル、廃棄に至るまでの全ライフサイクルにおいて、リスクアセスメントを実施することである。

そのためには、「ヒト」と「モノ」の両方の視点から、影響評価と暴露評価について研究する必要がある。その目的で本大学院に平成4年に国立大学の薬学部としてははじめて環境系の専攻が設置された。そのとき私は新設された環境代謝化学講座に移籍した。その後、大学院重点化に伴い講座名等も新たな名称となった。ただし、Environmental Biochemistry(環境生化学)の方が内容的に適切であるので、英文名はこれを使っている。

以下に、この数年前から研究を進めている内分泌攪乱化学物質(ED; Endocrine Disruptor)、いわゆる「環境ホルモン」に関する研究成果を中心に紹介し、環境問題の解決のためには私たちの知識と意識が重要であることを述べてみたい。

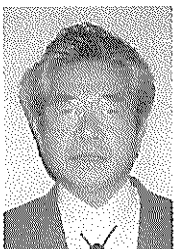
2. ED問題とは

1990年頃から環境から検出される一部の化学物質が野生生物の生殖系に影響を及ぼしていることが学会で注目され始め、1996年春に出版された「Our Stolen Future(奪われし未来)」がきっかけとなり、EDによる環境汚染問題が一般にも知られるようになった。問題となった理由は、①影響が暴露を受けた個人や個体に現れるのではなく、第二、第三世代に現れるので従来の毒性試験では見逃していた可能性が高く、②さらに生体には多数のホルモンがあり、生殖や成長といった生命維持の基本システムにおいて重要な働きをしているため、対象となる物質が多数あり、③作用機構も現れる影響も多様である。つまり、不明な点が多く、多くの人が不安を覚えるからである。したがって、ED問題の解決には多くの研究が必要であり、特に薬学の分野である「ヒト」と「モノ」の両面からの検討が重要となる。

3. EDスクリーニング手法、
酵母 Two-Hybrid 試験の開発

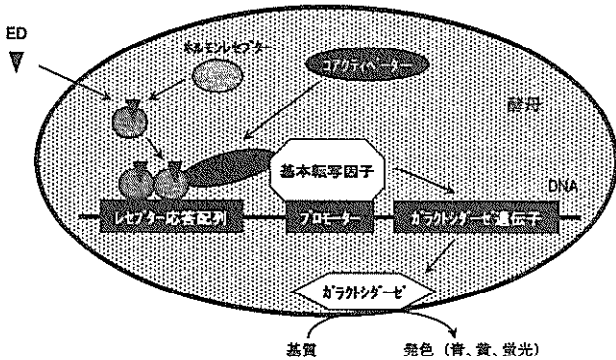
ED問題の緊急課題としてED物質のリストアップがあり、そのための簡易検出法の開発が挙げられた。短時間で検出できるスクリーニング手法の開発が急がれたのである。

私自身大学院生のころからPCBなどによる環境汚染と微生物による分解等の研究を行っていたこともあり、環境影響評価に関心が高く、基礎的な生化学関係だけではなく環境関係の学会にも参加していた。そして1995年の米国での学会でED問題について知った。一方、私どもの研究室ではそれまで西川淳一助教授を中心としてビタミンDの作用機構について研究をしていた。ビタミンDの作用機構はまっ



* Tsutomu NISHIHARA
1941年10月22日生
1970年大阪大学大学院薬学研究科・
応用薬学専攻修了
現在、大阪大学大学院・薬学研究科・
生命情報環境科学専攻・微生物生態
学講座・微生物動態学分野、薬学博
士、環境生化学
TEL 06-6879-8240
FAX 06-6879-8244
E-Mail nishihara@phs.osaka-u.
ac.jp

たくステロイドホルモンと同一であり、ホルモンの1種ともいわれている。そこで、EDの主な作用機構が核内ホルモンレセプターを介する遺伝子発現調節であると考え、その当時発見されつつあった転写共役因子(コアクチベーター)がリガンド(ホルモン)依存的にレセプターと反応することに着目して酵母Two-Hybrid Systemを用いて開発を進め、約半年間で酵母Two-Hybrid試験をほぼ完成させることができた。



Nishikawa, J. et al.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 154, 76-83(1999)

図1 酵母Two-Hybrid試験の原理と概要

本試験の原理と概要を図1に示した。すなわち、本酵母はテスト物質がホルモンレセプターと結合すると、その情報がコアクチベーターを介して基本転写装置群に伝えられ、ホルモン活性に依存してβ-ガラクトシダーゼ遺伝子の発現が上昇するような組換え酵母である。すなわち、ガラクトシダーゼ活性を測定することによりED(アゴニスト)活性が数時間で検出できた。

4. 酵母Two-Hybrid試験を用いた成果

本試験は操作が簡便であり、数時間でホルモン様活性を再現性よく検出できることから、国内の多くの試験・研究機関で活用されている。図2はエストロゲンレセプター(ER)系の用量反応曲線の一例である。エストラジオール(E2)は 10^{-10} Mから活性が検出され、医薬品のジェチルスチルベステロールやエチニルエストラジオールはE2とほぼ同じ程度の強さで、E2の代謝物は1/100、ノニルフェノール(NP)は1/2,000、ビスフェノールA(BPA)は1/100,000程度と他の試験で報告されている強さとほぼ一致した。本試験の欠点は酵母を使っているために化学物質の膜透過性が動物細胞の場合と異なる可能性が否定できないことである。なお、NPやBPAではピークに達したのち

活性が減少したが、酵母細胞への毒性等によると考えられ、一般化学物質の場合このようなパターンを示すことも多い。

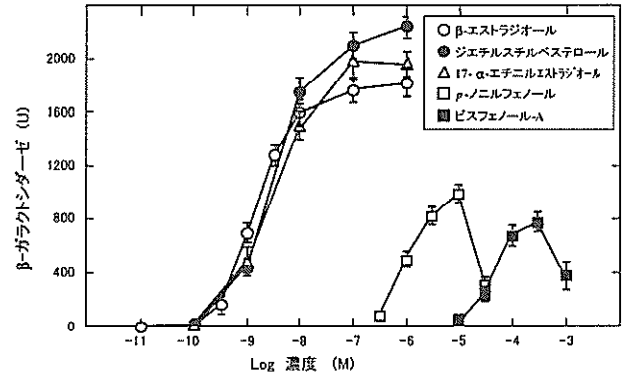


図2 エストロゲン様作用の検出(液体法)

本試験でテストした534物質中64物質が陽性であり、それらは4物質を除いてすべてフェノール骨格をもち、そのパラ位に適度の脂溶性構造をもっていた。このようなデータを蓄積すれば構造活性相関の開発も期待できる。

さらに、本法では体内で代謝活性化されて陽性となる物質や環境中で代謝活性化あるいは不活化するような物質の場合は肝臓代謝酵素あるいは活性汚泥で前処理すると検出できた。また本来のホルモン存在下に試験すればアンタゴニストも検出できることが確認されている。コアクチベーターとレセプターの種類を選択することにより、各種ホルモンについても試験できる酵母も作成した。図3にフィルター法で行った例を示した。それぞれの列のフィルター上にERおよびアンドロゲン(AR), プロゲステロン(PR), グルココルチコイド(GR), ミネラルコル

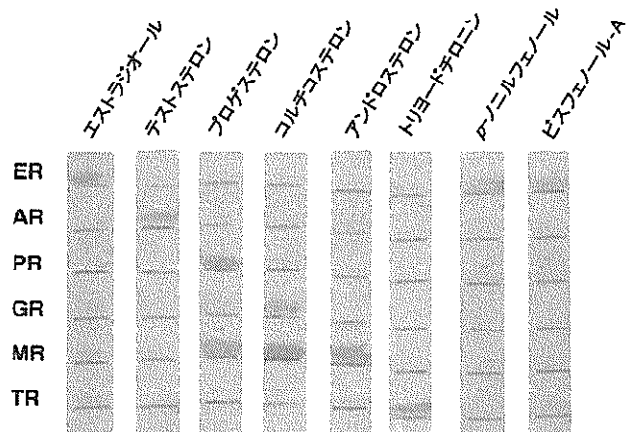


図3 エストロゲン様作用の検出(フィルター法)

チコイド(PR), 甲状腺ホルモン(TR)の各レセプターを導入した酵母を増殖させ, 上段の化学物質で処理した。その結果, それぞれのレセプターを持つ酵母は対応するリガンドで発色が見られ, NPとBPAではERの系のみで反応が見られ, これらはエストロゲン様作用のみを示すことがわかった。この方法は半定量ではあるが, 環境試料などのホルモン様活性を一度に多種類のレセプターに対して試験できるという利点がある。

5. おわりに

化学物質のリスクアセスメントでは暴露量と安全量を比較する指数法が一般的である。EDの暴露量に関しては体内動態と環境動態研究が, また安全量に関しては低用量域における反応相関性, 複合作用, 暴露時期による感受性差, 種差などに関する研究が重要であるが, これらの課題においても本試験法の活用が期待される。

環境問題の解決には私たちの正しい知識と的確な

意識が重要である。知識は化学物質の性状に関する「モノ」と生体の防御機構などの「ヒト」に関する知識である。特に, 量的な知識や定量的な考え方である。また, 個人は健康に, 環境はグリーンに保つように心がけることである。これにより安全量(自然治癒力と環境の自浄能力)が大きくなるからである。そして, 暴露量(環境濃度)を小さくするために, 3R [Reuse(再利用); Recycle(再資源化); Reduce(節約)]を意識して生活をするべきであると私は思う。

以上, EDに関連する研究を中心に紹介してきたが, その他の主な研究課題は, ビタミンDの細胞分化誘導機構, 化学発ガン機構, 脂肪細胞の分化機構, 化学物質の分解性, 蓄積性の構造活性相関である。EDに関する課題と前3課題は核内レセプターを介する転写調節に焦点を合わせており, 共通する課題であるともいえる。またすべての課題は分子レベルあるいは細胞レベルで生体と環境の持つネットワークシステムを理解することを最終目標にしている。

