

私の環境ホルモン研究における様々な『出会い』



若 者

中 西 剛*

Encounter of a turning point in my endocrine disruptor research

Key Words : endocrine disruptor, placenta, organotin, retinoid X receptor, aromatase

はじめに

私は、大学院では薬剤学の研究室に所属しており、リポソームのDrug Delivery Systemに関する研究で学位を取得した。幸いなことに、その後直ぐに、当時田中慶一先生（現・大阪大谷大学）が主催していた現研究室に着任することができた。当初は、研究内容が全く異なる分野であったので、壁にぶつかったり、とまどったりすることの連続であった。最近、やっと毒性学という学問を理解できるようになってきたように思うが、時が経つのは早いもので、私が現研究室に着任して今年でもう10年目を迎える。既に『若者』というコーナーに寄稿するの少々はばかられる年齢になってきてはいるが、今回このような機会を与えていただいたので、大学院卒業後の私の研究経緯について紹介させていただくと共に、その鍵となった様々な『出会い』について紹介させていただこうと思う。

胎盤毒性研究との出会い

現研究室に配属してしばらくの間は、毒性学に関する研究をどこからどう手を付けて良いか見当もつかなかった。その当時、世間では環境ホルモン問題が非常に注目されており、毒性研究者のみならず、

それ以外の研究者もこぞって様々な化学物質の新たな内分泌攪乱作用を発見しようとしていたように思えた。私も環境ホルモン研究に興味はあったが、新参者が今さら化学物質のエストロゲン作用やアンドロゲン作用について研究をしても、後追いになるだけだ・・・と思い敬遠していた。そんなある日、大学院生時代の研究室の先輩であった宇都口直樹先生（現・帝京大学）が留学から帰国し、研究室のOB会でヒトの胎盤細胞を使った薬物動態に関する研究を紹介してくれた。私はそれまで胎盤という組織についての知識がほとんどなかったが、哺乳動物の発生段階に非常に重要な組織であることから、化学物質による発生毒性の作用点になるのではないかと強く感じた。

胎盤は、母体血と胎児血を隔てることで母体から胎児が拒絶されることを防ぐ物理的関門を形成している。そのため、母体血中から胎児の成長に必要な必須栄養素の供給を行ったり、ガス交換などを行う重要な臓器として機能している。また胎盤は、胎児の器官形成に重要な種々のホルモンを供給する最も重要な組織の一つとして機能している。特にヒトにおいて胎盤は、妊娠期間中の主要なエストロゲン産生（アンドロゲン代謝）臓器であり、アンドロゲンをエストロゲンに変換する酵素であるアロマターゼ（図）が欠損した女兒では、胎盤からエストロゲン



* Tsuyoshi NAKANISHI

1970年3月生
大阪大学大学院薬学研究科課程修了（1998年）
現在、大阪大学、大学院薬学研究科生体機能解析学講座毒性学分野、助教、薬学博士、毒性学
TEL : 06-6879-8232
FAX : 06-6879-8234
E-mail : nakanishi@phs.osaka-u.ac.jp



図．コレステロールから性ステロイドホルモンまでの合成経路

が全く供給されないために仮性半陰陽（内生殖器は女性様であるが、外生殖器は男性様を示す症状）が起こる。このことは、ステロイドホルモンがヒトの胎児の生殖器官形成に多大な影響を与えることを示しており、また化学物質が胎児に直接的な影響を与えなくとも、胎盤の内分泌機能を修飾することで、胎児に少なからず影響を与える可能性を示唆している。このような背景から、私は、ヒト絨毛細胞株をモデル胎盤細胞として用い、内分泌攪乱作用が疑われている化学物質のヒト胎盤内分泌機能への影響についての検討を開始したのである。

有機スズ化合物との出会い

早速私は、ヒト絨毛細胞株をモデルヒト胎盤細胞株として用い、ヒト胎盤の内分泌機能に対する様々な化学物質の影響を、各化学物質が細胞毒性を示さない低濃度域で検討を行った。高々数種類の化学物質を検討しただけであったが、偶然にもトリブチルスズ（TBT）とトリフェニルスズ（TPT）が、数nM～100nMでアロマトラーゼの活性をmRNAの発現上昇を伴って促進することを見いだした¹⁾。

TBTやTPTに代表される有機スズ化合物は、藻類や軟体動物などへの強力な殺傷力を有することから、船底塗料、漁網防汚剤などに積極的に用いられてきた。しかしながらTBTやTPTが、イボニシなどの巻貝類の雌に対して雄の性徴発達を示すインボセックスと呼ばれる内分泌攪乱作用を誘導することが明らかとなってからは、雄性化を引き起こす代表的な環境ホルモンとしてヒトへの影響も懸念されるようになってきた。これらの有機スズ化合物は、性ステロイドホルモン受容体には親和性がないことから、当時、インボセックスの分子メカニズムは、有機スズ化合物が雌の貝のアロマトラーゼ蛋白質の酵素活性を阻害することにより体内のアンドロゲン濃度が上昇し（図）、雄性化を起こすという『アロマトラーゼ阻害説』が圧倒的に支持されていた。しかし、有機スズ化合物がアロマトラーゼ蛋白質の酵素活性を阻害する濃度は10 μ M以上と非常に高く¹⁾、また元来殺傷力の強い有機スズ化合物は、この濃度域においてはほとんどの細胞や生物が死滅させてしまうという矛盾があった。また貝類におけるアロマトラーゼの存在は明確でない上に、無脊椎動物には性ステロ

イドホルモン受容体は存在しないことが報告されたことから、私は『アロマトラーゼ阻害説』には非常に懐疑的であった。その後の我々の検討により、TBT、TPTを初めとする有機スズ化合物が、アロマトラーゼのみならず不活性型エストロゲンであるエストロンを、活性型であるエストラジオールに変換する酵素（17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I；type Iはヒト胎盤特異的に発現しているアイソタイプ；図）の発現も上昇させ、胎盤のエストラジオール産生を促進することが確認された^{1,2)}。すなわち有機スズ化合物は、ヒト胎盤に対してはエストロゲン産生を亢進させ、雄性化を引き起こすとは言い難い反応を示したのである。

この結果は、その後1ヶ月ほどは有機スズが雄性化を引き起こす典型的な内分泌攪乱物質であるという当時の定説を覆すものであり、社会的にも非常に関心の高い問題としてNHKニュース7や読売新聞を初めとする新聞数社にも取り上げられた。特にNHKニュース7では、30分の放送時間中に私の研究成果が3分も取り上げられたことは本当に驚きであった。もちろんこの成果が、私の研究キャリアにおいてブレイクスルーになったことは言うまでもない。しかしながら、本結果は、単にヒト胎盤細胞という特殊な細胞を用いて得られた『まれな結果』という評価がもっぱらであり、マスコミの間で騒がれたほど専門家の間では取り上げられなかったように思う。逆に、有機スズ化合物の新たな毒性を発表したことで、その後1ヶ月ほどは有機スズ製造会社の関係者と称する人たちからの嫌がらせの電話に悩まされる羽目になったのは記憶に新しい（苦笑）。

分子生物学会での出会い

我々は、有機スズ化合物のヒト胎盤での影響が、『特殊な細胞を用いて得られたまれな結果』であるという評価を払拭するために、分子レベルでの作用点の解明を試みた。有機スズ化合物は、エストロゲン合成酵素以外にも、ヒト絨毛性ゴナドトロピンなどのmRNA発現も上昇させることから、我々はこれらの分子の発現を調節している共通のpathwayに作用していると考えた。その候補として挙がったのが、性ステロイドホルモン受容体と同じ核内受容体スーパーファミリーの一つであり、ビタミンAの代

謝物(9-cisレチノイン酸; 9cRA)をリガンドとするretinoid X receptor (RXR)であった。

その一方で、当時、同じく薬学研究科におられた西川淳一先生(現・武庫川女子大学)が、我々とは別に酵母two-hybrid法等を用いて様々な化学物質の核内受容体に対するアゴニスト活性を検討していた。その結果、TBTおよびTPTが、RXR以外にも、2型糖尿病のインスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体をリガンドとするperoxisome proliferator-activated receptor (PPAR) のアゴニストとしての作用を有する可能性を見出した³⁾。実はその発見直後、我々は2002年に横浜で開催された分子生物学会の環境ホルモン関係のシンポジウム会場で偶然出会ったのである。日頃から西川先生には懇意にしていたが、薬学研究科内で研究室が遠く離れていたため、それまではお互いの研究について特に話し合うことはなかった。そのときはなぜか、シンポジウム後に休憩所で缶コーヒーを飲みながらお互いの研究成果を話し合った。そこから共同研究が始まり、有機スズ化合物の作用機構に関する研究は飛躍的に進んだ。

我々は学会から帰ってから、早速、これらの受容体に対する有機スズ化合物の影響について検討を行った。培養細胞を用いた検討の結果、TBTとTPTは各受容体を介する転写を活性化し、そのEC₅₀は10~20 nMであった^{3,4)}。また精製タンパク質を用いた各受容体のリガンド結合部位に対する解離定数は、RXRに対しては9cRAの各々約5倍程度⁴⁾、またPPAR に対してはチアゾリジン誘導体であるロジグリタゾンとほぼ同等であった(中西ら未発表データ)。また先述のヒト胎盤内分泌機能に対する影響は、やはりRXRを介したものであることも明らかとなった。これらの成果により、私は日本薬学会・環境衛生部会賞や日本トキシコロジー学会奨励賞をいただいた。

一方で、西川先生らはイボニシのインボセックスにおける有機スズ化合物の作用メカニズムについても検討をしている。RXRは核内受容体ファミリーの中でも例外的に種を超えて保存されている受容体であるが、西川先生らはイボニシにも哺乳動物と同じように9cRAに反応するRXRが存在することを発見した⁵⁾。また興味深いことに、イボニシに9cRAを投与すると、有機スズ化合物と同様にイン

ボセックスが誘導されたことから、イボニシのインボセックスはアロマトーゼ活性阻害ではなくRXRを介して誘導されている可能性が示唆された⁵⁾。すなわち、ヒト胎盤と貝類では正反対であるように思われた有機スズ化合物の内分泌攪乱作用は、実はどちらもRXRを介して誘導されていたのである。もちろん有機スズ化合物やRXRアゴニストを妊娠マウスなどに投与しても、インボセックスのようなフェノタイプは認められないが、おそらくそれは、生殖器官形成等におけるRXRの生理的意義が、生物種によって大きく異なるからであると考えられる。

しかし本来リガンドとなることを意図されていない合成化学物質が、生理的リガンドに匹敵するような影響を示す例は極めてまれであり、化学物質の作用点がここまでクリアーに示される例はそう多くはない。あの分子生物学会での偶然の出会いがなければ、私はここまでのデータには遭遇できなかったかもしれない……。

おわりに

本稿では、私のこれまでの研究経緯とその過程における重要な『出会い』について紹介させていただいた。まだまだ私の研究は発展途上であり、今後、さらに発展させるにはもっとたくさんの『出会い』が必要であると思う。この先どんな驚くべき『出会い』に遭遇できるのかを楽しみにしながら研究を続けたいと思う。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、種々ご助言を賜りました大阪大谷大学薬学部 田中慶一先生、および武庫川女子大学薬学部 西川淳一先生に深謝致します。

参考文献

- 1) Nakanishi T. *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87, 2830 (2002).
- 2) Nakanishi T. *et al.*, *Biochem. Pharmacol.*, 71, 1349 (2006).
- 3) Kanayama T. *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, 67, 766 (2005).
- 4) Nakanishi T. *et al.*, *Mol. Endocrinol.*, 19, 2502 (2005).
- 5) Nishikawa J. *et al.*, *Environ. Sci. Technol.*, 38, 6271 (2004).