

# 博士論文要旨

## カドミウム毒性発現機序の解明に向けた メタロチオネイン発現と細胞分化への影響に関する研究

小串 祥子

カドミウム (Cd) は環境中に広く分布する有害な重金属である。生物学的半減期が極めて長く、日常的に曝露したCdは体内に蓄積されるため、長期曝露による影響が懸念される。実際に、生活レベルでのCd曝露がリスク因子となる可能性を指摘した疫学調査が複数存在するが、血中濃度程度の低濃度Cdによる毒性発現機序についてはほとんど明らかにされていない。Cdは体内でメタロチオネイン (MT) 発現を誘導し、複合体となることで毒性が軽減される。CdのMT誘導機構としては、転写因子MTF1による経路が知られている他、DNAメチル化などエピジェネティック変化も報告されている。MTは金属解毒以外にも、生体防御において重要な役割を担っており、Cd曝露によってMT発現が過剰に誘導されることで、それらを攪乱する可能性も考えられる。本研究では、血中Cd濃度が高めの一般人において認められる程度のCdがもたらす生体影響を明らかにするため、Cd毒性発現に深く関わりと考えられるMTの発現制御機構の解明を試みた。また、この濃度域のCdによるMT発現誘導やエピジェネティック変化が、細胞分化に与える影響についても検討した。

### 1. メタロチオネイン遺伝子発現に対する制御機構

MTアイソフォームのうち、多くの組織で発現しているMT1A、MT1E、MT1G、MT1X、

MT2Aについて亜鉛応答性を比較し、MT1AはMTF1による制御が他のアイソフォームに比べて乏しいことを見出した。MT1AプロモーターのMTF1結合配列MREにはMTF1が結合しづらい可能性を考えて、MT2AプロモーターのMRE配列との競合実験を行い、MT1AのMREはMTF1との結合親和性が低いことを明らかにした。

## 2. カドミウムの白血病細胞に対する影響とメタロチオネイン発現変化

急性骨髄性白血病細胞HL60を低濃度Cdで14日間処理すると、顆粒球への分化が阻害された。通常細胞では分化誘導時にMT1G発現が低下するが、Cd処理細胞では発現が上昇しており、未処理細胞程には低下しなかった。つまり、CdはMT1G発現誘導を介して血球細胞の分化を阻害すると考えられる。

MT発現が恒常的に抑制されているマウスリンパ肉腫細胞P1798において、脱メチル化剤処理後にCd処理すると、MT1低発現細胞と高発現細胞とに分かれ、後者では特定の領域が必ず脱メチル化されていることを見出した。MT1プロモーターレポーターベクターの一部を欠失もしくはCGに変異導入して、メチル化処理の影響を解析し、その領域のメチル化が特に発現に寄与していることを示した。

## 3. カドミウムの胎盤細胞に対する影響とメタロチオネイン発現変化

胎盤絨毛癌細胞株BeWo、胎盤幹細胞モデルCT27を分化誘導時にCd処理すると、高濃度のみで分化阻害が見られた。一方、Cdで8日間前処理すると、低濃度でEVTへの分化のみが阻害された。EVTで発現が高い遺伝子HLA-Gのプロモーター領域におけるメチル化状態を調べたところ、Cd処理による変化を見出した。EVTのMT発現、は低濃度Cdの影響がなかったSTと比較すると低く、Cd感受性の違いに繋がっていると考えられる。

以上、本研究では、プロモーター領域の特定の配列やメチル化の差異がMT発現に寄与していることを明らかにするとともに、Cdは血中濃度程度でも長期曝露することでMT発現やDNAメチル化の変化を介して、細胞分化を阻害するなど、生体に悪影響を及ぼす可能性が十分にあることを示した。



## 論文審査結果の要旨

|         |   |     |
|---------|---|-----|
| 氏名（本籍）  | 小串 祥子                                       | 茨城県 |
| 学位の種類   | 博士（薬学）                                      |     |
| 学位記番号   | 乙 第422号                                     |     |
| 学位授与年月日 | 令和6年9月27日                                   |     |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第2項該当者                               |     |
| 学位論文の題名 | カドミウム毒性発現機序の解明に向けたメタロチオネイン発現と細胞分化への影響に関する研究 |     |
| 論文審査委員  | （主査） 檜井 栄一                                  |     |
|         | （副査） 小林 亮                                   |     |
|         | （副査） 栗田 尚佳                                  |     |

本研究では環境中に広く分布するカドミウム (Cd) の毒性発現機序の解明を目指し、各種細胞分化への影響と Cd の毒性軽減分子であるメタロチオネイン (MT) の発現制御について解析を行っている。MT 発現制御に関しては、複数の MT 分子種でプロモーター領域 DNA への金属応答転写因子 MTF1 の結合親和性と転写活性を比較し、MT 分子種の発現量の差異が MTF1 結合親和性で説明できることが示された。細胞分化に関しては、健常人の血中でも認められる Cd 濃度域であっても、1~2 週間の曝露でヒト骨髄性白血病細胞 HL60 の分化が阻害されることが明らかとなった。この阻害は、Cd が誘導した MT1G の血球分化抑制作用によるものである可能性も示された。ヒト胎盤栄養膜幹細胞の分化に対しては、絨毛外性栄養膜細胞 (EVT) への分化を阻害する Cd 曝露条件にでも、EVT よりも分化の過程で MT 発現量が高くなる合胞体性栄養膜細胞の分化は阻害しないことが示された。また EVT への分化の阻害と、ヒト白血球抗原 (HLA) -G プロモーター領域の DNA メチル化変化の関連性も示された。以上本研究は、健常人が曝露しうる濃度域でも Cd が MT の発現や DNA メチル化状態の変化を介して各種細胞分化を阻害する可能性を示唆するものであり、Cd 毒性研究の新たな方向性を示す知見として、博士 (薬学) 論文として価値あるものと認める。