

化学物質が引き起こす野生動物の病態と感受性決定機構の解析 Environmental impact of toxic substances on wildlife differences

石塚 真由美 (ISHIZUKA MAYUMI)

北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授



研究の概要

環境化学物質の曝露が野生動物や飼育動物にどのような毒性学的影響を与えるのかを明らかにすることを目的として、フィールドにおける調査を行う。またどのような種が化学物質に高い感受性を持つのか、ハイリスクグループの同定のために、化学物質感受性を決定する因子の種差について明らかにする。

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：トキシコロジー

1. 研究開始当初の背景

環境化学物質は、日常的な曝露レベルであっても、長期曝露によって、ヒトや野生動物に様々な病態を引き起こすことが懸念されている。化学物質に対する感受性は生物種間で大きく異なることが予測される。環境化学物質の解毒や異物のクリアランスに関わる重要な生体防御機構を担っているのは第I相酵素シトクロムP450であるが、野生動物のP450の情報は殆ど無く、化学物質の引き起こす病態リスク評価を難しくしている。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、化学物質の感受性を決定するP450およびxenobiotics受容体の種差・系統差を解析し、恒常的な環境化学物質への曝露が引き起こしている野生動物の病態を、発癌リスクを中心に明らかにすることを目的とする。また、野生動物の環境汚染リスクについて国内における調査はもとより、高次捕食者の多様性に富むアフリカについて、初めて汚染物質の実態の把握と、野生動物に対する影響の調査を行う。

3. 研究の方法

国内及びアフリカ（ザンビア・エジプトを中心）における野生動物・飼育動物を採集し、蓄積する汚染物質とその影響の解析を行う。また、動物園より希少動物の試料提供を受け、広範囲な生物種の試料バンクを構築し、P450やその発現調節因子のクローニングとキャラクテリゼーションを行う。

4. これまでの成果

これまでの研究において、1) 国内に棲息する野生動物の化学物質汚染と生体リスク、2) アフリカに棲息する野生動物と飼育動物の化学物質汚染と生体リスク、3) 化学物質の感受性を決定するP450の動物種差、4) 癌原物質の感受性を決定する重要因子AhRの動物種差、について、下記のことを明らかにした。

1) 国内では、鳥類および海棲哺乳類を北海道を中心とした北方圏より採集した他、野生げっ歯類(*Rattus*属)を日本各地より採集し、蓄積する環境汚染物質とその生体影響について解析した。*Rattus*属、特にドブネズミには、様々な環境汚染が蓄積していた。ダイオキシン類やDDT等の有機塩素系化合物の他、ジフェニルエーテルなどの難燃剤も高濃度に蓄積していることが明らかとなった。また重金属の中でもカドミウムなどは、肝臓および腎臓に高濃度に蓄積しており、これらの環境化学物質に対する恒常的な曝露が推察された。実験室で飼育した非汚染個体に比べて、汚染域より採集した個体では、メタロチオネインやヘムオキシゲナーゼなど、環境ストレスによってその発現が上昇するバイオマーカーが上昇していることが明らかとなった。

2) アフリカでは、ザンビアおよびエジプトを中心に、タンザニア、ガーナ、ケニアなど5カ国において、野生動物および飼育動物、土壌や底質等の環境試料を集め、環境汚染の影響について解析を行った。

ザンビアではカブエの鉛鉱床付近では鉛による環境汚染が起こっており、そこに棲息および飼育する動物に高濃度の鉛を中心とする重金属類が蓄積し始めていることを明らかにした。特に、野生のラット (*Rattus* 属) では、鉛の蓄積とともにメタロチオネインなど重金属で発現が変動する生化学的マーカーについても変化が認められ、重金属蓄積の生体影響が起こっている可能性が示唆された。またコッパーベルト州では河川に道をはじめとする重金属類が流出しており、棲息する魚にも蓄積が認められた。特に鉱床から 500km 下流の国立公園内の湖にも、棲息する魚類には銅流出の影響が認められた。

エジプトでは、飼育動物を中心に解析を行ったところ、可食部のほとんどの臓器に多環芳香族類や重金属の蓄積が認められた。

3) 癌原物質の発がんリスクを決定する CYP1A1 について、有蹄類が高活性を持ち、癌原物質の代謝的活性可能が高いことを明らかにした。これらの中間体を消去する第二相抱合酵素についても同様に有蹄類では高活性を有することが明らかとなった。鳥類では農薬に対する代謝活性に関して大きな種差が認められた。化学物質感受性に関する原因の一つであることが明らかとなった。

また、動物は通常環境汚染物質に曝露される際には、経口による摂取が主要な曝露系路であるため、肝臓に至るまでの臓器は常に環境汚染物質に曝露されることとなる。しかしながらこれまでにこの観点からの研究はほとんどない。特に、複胃をもつ生物では、反芻による食物由来化学物質の継続的な曝露を消化管および舌で受けていることになる。そこで、各種生物における P450 などの発現様式を調べたところ、偶蹄類に特異的な CYP1A1 の発現プロファイルを得ることができた。また、舌に発現する P450 が実際に食物に含まれる環境汚染物質を代謝的に活性化することを初めて直接的に示すことができた。

4) 鳥類には AhR1 および AhR2 が発現している。そこで、系統樹から 20 種程度の鳥類を選出し、AhR のクローニングを行い、その塩基配列の解析、AhR リガンドとの親和性、AhR1 および 2 の発現比等に関する解析を行った。その結果から、AhR リガンド (多環報告族などの癌原物質やダイオキシン類など平面構造を持つ環境化学物質) に高い感受性を持つハイリスクグループの鳥類を同定することができた。

また、鳥類・哺乳類について、CYP1A1 の発現に大きな種差があることを明らかにした。その原因の一端として、カロテノイドの摂取が特に草食性の動物において AhR を活性化し、CYP1A1 の発現の種差を作り出していることを明らかにした。

5. 今後の計画

アフリカにおいて、ザンビア、エジプトを中心に、国立公園の野生動物および飼育動物に環境汚染の影響が出ているかどうかについて、毒性学的影響を明らかにする。

また化学物質の感受性の種差を決定する因子を同定するために、系統樹からピックアップした種について、化学物質結合受容体、環境化学物質を代謝するシトクロム P450 および第二相抱合酵素の性状同定を行い、環境化学物質に対するハイリスクグループを同定する。

6. これまでの発表論文等

Watanabe KP, Saengtienchai A, Tanaka KD, Ikenaka Y, Ishizuka M. Comparison of warfarin sensitivity between rat and bird species. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. (in press)

Takiguchi M, Darwish WS, Ikenaka Y, Ohno M, Ishizuka M. Metabolic activation of heterocyclic amines and expression of CYP1A1 in the tongue. *Toxicol. Sci.* (in press)

Nakayama MMS, Ikenaka Y, Muzandu K, Choongo K, Oroszlany B, Teraoka H, Mizuno N, Ishizuka M. Heavy metal accumulation in lake sediments, fish (*Oreochromis niloticus* and *Serranochromis thumbergi*) and crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in Lake Itzhi-tezhi and Lake Kariba, Zambia. *Arch Environ Contam Toxicol*. (in press)

Darwish WS, Ikenaka Y, Eldaly EA, Ohno M, Sakamoto KQ, Fujita S, Ishizuka M. Cytochrome P450 1A dependent activities in deer, cattle, and horses. *J Vet Med Sci.* (in press)

Darwish WS, Morshdy AE, Ikenaka Y, Ibrahim ZS, Fujita S, Ishizuka M. Expression and Sequence of CYP1A in Camel. *J Vet Med Sci.* 2010 Feb;72(2):221-4.

Sakai N, Ishizuka M. Impact of rat P450 genetic polymorphism on diazepam metabolism. *Expert Opinion On Drug Metabolism and Toxicology* 2009. 5(11):1421-33.

Sakai N, Sakamoto KQ, Fujita S, Ishizuka M. The importance of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K on Cytochrome P450 2D2 gene regulation: its binding is reduced in Dark Agouti rats. *Drug Metab Dispos.* 2009. 37(8):1703-10.

【受賞】: 科学技術分野の文部科学大臣表彰・若手科学者賞 (2009年) 野生動物のシトクロムP450と汚染環境適応能力解明の研究
ホームページ:

<http://www.vetmed.hokudai.ac.jp/organization/toxicol/index.html>