

学 位 論 文 要 旨

氏 名 高 橋 尚 史

題 目 ヒ素およびヒ素を含む木材防腐剤による酸化ストレス
関連毒性に関する病理学的研究

(Pathological studies on oxidative stress-related toxicity induced by arsenic
and arsenic-containing wood preservative)

ヒ素は環境中および食品中に広く存在し、皮膚疾患や神経疾患、免疫抑制、発がんなど種々の健康被害をもたらす。特に井戸水の汚染による慢性ヒ素中毒は東南アジア、中南米を中心に大きな環境問題の一つになっている。またヒ素は過去に木材防腐剤の成分として使用され、大量の建築廃木材による環境汚染が懸念されている。このようにヒ素は身の回りに常に存在し、健康被害を起こす可能性があるため、生体への影響を正しく評価するための毒性作用機序の解明は重要な課題である。本研究では、ヒ素およびヒ素を含む木材防腐剤の毒性影響について、特に酸化ストレスに着目し、メカニズムの解明を試みた。

第1章では、ヒ素による膀胱発がんメカニズムについて検討した。ヒトにおけるヒ素の膀胱発がん重要な役割を果たす主要尿中代謝物ジメチルアルシン酸(DMA[V])をラットに経口投与すると膀胱がんが誘発される。本研究ではDMA(V)自体が直接、膀胱に及ぼす影響を評価するため、ラットにおける膀胱内投与法を確立し、酸化ストレスの関与を検討するため抗酸化剤である*N*-アセチルシステイン(NAC)の低用量あるいは高用量を併せて膀胱内投与する群を設けた。膀胱内曝露時間は2時間とし、3日間隔で2回投与し、最終投与の1日後に採材した膀胱を検索した。その結果、DMA(V)投与群およびNAC高用量群では、軽度の好中球浸潤、細胞増殖活性の亢進および酸化ストレスマーカーである3-ニトロクロシンの発現増加がみられた。DMA(V)とNACの同時曝露では、これらの影響が予想に反し増強した。さらにDMA(V)+NAC高用量群では、強い炎症がみられた個体に一致して移行上皮過形成がみられ、サイクリンD1およびリン酸化MAPK(ERK1/2)の発現が認められた。以上の結果、DMA(V)をラット膀胱内に投与すると、炎症および細胞増殖活性の増加が誘発され、その影響には酸化ストレスの関与が示唆された。本実験条件下ではDMA(V)とNACの同時曝露により、移行上皮への傷害作用の増強が示され、抗酸化剤による酸化ストレスの増強作用が生じることが明らかとなった。

第2章では、ヒ素を含む木材防腐剤であるクロム・銅・ヒ素化合物系木材防腐剤(CCA)に着目した。CCAは過去に世界中の木材建造物で広く使用されていた

ため、現在でもそれらの多くが撤去されずに残存し、2011年に発生した東日本大震災では、住宅土台に使用されたCCA処理木材が災害廃棄物として大量に発生するなど、その廃材からヒ素等の排出およびそれに伴うヒトへの曝露が社会問題となっている。このような状況にも関わらず、CCAの毒性評価は構成要素のクロム(CrO₃)、銅(CuO)、ヒ素(As₂O₅)それぞれの毒性情報を参考になされているに留まり、CCA全体としての毒性は基本情報すら乏しい。そこで一般的な毒性情報を得る目的で雌雄のラットを用い、4週間反復経口投与試験を実施した。CCA投与ラットの血漿からは、クロムおよびヒ素が用量依存的に検出され、特にヒ素はクロムの約10倍のレベルで検出された。一般状態観察では、雄雌ともに鎮静、流涎がみられ、雄では動物の死亡、体重増加抑制が認められた。臨床検査では雌雄で小球性低色素性貧血、肝機能障害(タンパクの低値、GGTP、総ビリルビン、AST、ALTの高値)、腎機能障害、脂質および糖の変化が観察された。病理組織学的には、雌雄で前胃角化亢進、小腸粘膜上皮過形成、直腸杯細胞肥大、腎尿細管褐色色素沈着、雄で胸腺皮質萎縮、雌で酸化ストレスの産物である8-OHdGの増加を伴う慢性肝細胞肥大が確認された。以上の結果から、CCAをラットに4週間経口投与すると、ヒ素およびクロムの毒性により、主に血液、肝臓、腎臓および消化管に悪影響を及ぼすことが明らかとなった。

第3章では、ヒ素曝露によるヒトの肝障害・肝発がんを考慮し、第2章でみられた8-OHdGの増加を伴う雌の肝毒性に着目し、肝毒性発現機序の解明を試みた。肝臓におけるヒ素分析の結果、代謝物であるDMAが高濃度に検出され、第1章における主要な尿中代謝物とした仮説と一致した。CCA投与により肝臓では細胞増殖とアポトーシスのアンバランスが示唆された。マイクロアレイ・遺伝子発現解析では主に抗酸化、グルタチオンS-トランスフェラーゼ、熱ショックタンパクおよびユビキチン・プロテアソーム系、細胞増殖、DNAメチル化、P450および糖・脂質代謝に関連する遺伝子の変動が認められた。このうち抗酸化に関わるメタロチオネインの発現抑制機序解明のため、転写関連領域のDNAメチル化を解析したが関連する変動はみられなかった。グルタチオン化タンパクはCCA投与により増加し、還元型GSHが消費されていることが示唆された。以上の結果から、CCA投与では解毒および活性酸素の消去のためGSHが消費され、さらにメタロチオネインの発現抑制によりレドックス制御の破断がおり、肝毒性を誘発する可能性が示唆された。

本研究では、ヒ素の主要代謝物の膀胱内投与による影響と抗酸化剤の併用による病態悪化を見出し、ヒ素を含む木材防腐剤により誘発される種々の臓器の生体影響について検索し、毒性発現には酸化ストレスが関与することを明らかにした。これらの情報はリスク評価上、有用な基礎情報となり得るものと考えられた。

(備考) 1 学位論文題目が日本語の場合は英訳を、英語の場合は和訳を

() 内に記入すること。(英語の表記は、論文目録と同じ。)

2 日本語の場合は、2,000字程度とする。

3 英語の場合は、1,200語程度とする。

4 図表は、この要旨には記載しないこと。

5 枚数は1枚を超えても差し支えありません。