



NIES RESEARCH BOOKLET

環境儀

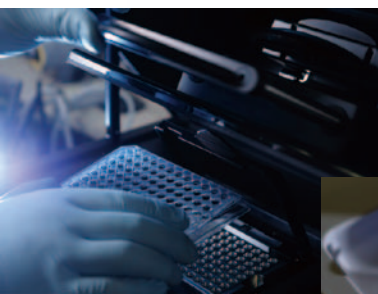
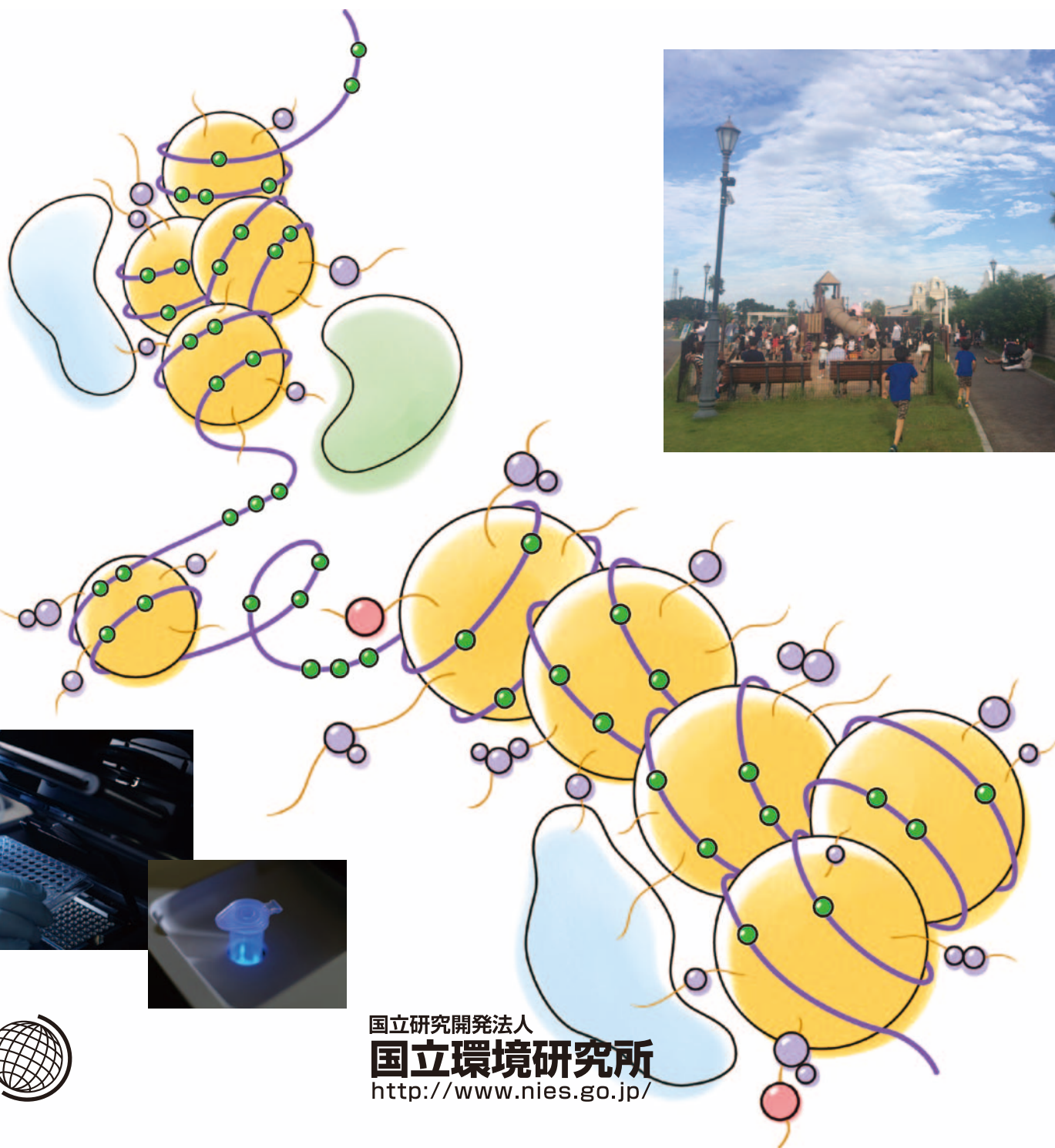
NO.59

DECEMBER 2015

国立環境研究所の研究情報誌

未来に続く健康を守るために

環境化学物質の継世代影響とエピジェネティクス



国立研究開発法人
国立環境研究所
<http://www.nies.go.jp/>



私たちが生活する環境中には、さまざまな化学物質が存在しています。その中には、微量であっても日常的に摂取することによって健康に悪影響を及ぼすものがあります。

最近、母親が妊娠中に体内に取り込んだヒ素が胎盤を通過して胎児に影響を及ぼし、生まれた子の成長後に各種の疾患リスクを高めるという現象があることがわかってきました。さらに、胎児期に受けた影響は、孫世代の成長後にも影響を及ぼすという、これまでに考えられなかった可能性が指摘されています。このように化学物質の影響が世代を越えて伝えられる(継世代影響)という未知の現象を理解し、人々に悪影響を与えることを防ぐためには、化学物質の毒性の作用メカニズムを解明することが重要です。近年では、このメカニズムを解くカギとして「エピジェネティクス」が注目されています。

国立環境研究所では、化学物質のひとつであるヒ素の毒性メカニズムの研究に取り組んできました。本号では、「エピジェネティクス」というメカニズムを中心としたヒ素の継世代影響についての研究を紹介します。

環境中の化学物質が健康へ与える悪影響が何世代にもわたって受け継がれる可能性が懸念されています。未来に続く人々の健康を守るために、今、そのメカニズム研究が必要です。

CONTENTS

未来に続く健康を守るために 環境化学物質の継世代影響とエピジェネティクス

- Interview 研究者に聞く
ヒ素曝露による世代を越える影響と
そのメカニズムを探る p4 ~ 9
- Summary
継世代影響のメカニズムを探る
— 妊娠期ヒ素曝露による発がんを中心に —
..... p10 ~ 11
- 研究をめぐって
環境化学物質による次世代・継世代影響
..... p12 ~ 13
- 国立環境研究所における
「環境化学物質の次世代・
継世代影響研究」のあゆみ p14

ヒ素曝露による世代を越える影響とそのメカニズムを探る

ヒ素は生体に対する有害性が高く、世界でさまざまな健康被害をもたらしています。近年、マウスの実験で、胎児期にヒ素に曝露すると成長後のがんの発症率が増加するという結果が報告されました。環境健康研究センターの野原恵子さん、鈴木武博さん、岡村和幸さんのグループでは、この報告を背景に、胎児期ヒ素曝露の影響が孫の世代にまで及ぶという現象を発見し、そのメカニズムの解明に向けて研究を進めています。

自然界に広く存在するヒ素

Q：研究を始めたきっかけは何ですか。

野原：10年ほど前、アメリカの研究グループが、妊娠中のマウスに無機ヒ素を含む水を10日間だけ与えると、そのマウスから生まれた子が中年期以降に肝がんを高率に発症すると発表しました。その論文を読み、世代を越えてヒ素の影響が現れるという現象に強い衝撃を受け、そのメカニズムを解明しようとしたのが研究を始めたきっかけです。

Q：ヒ素とはどんな物質ですか？

鈴木：ヒ素と聞くと、1955年の森永ヒ素ミルク事件や1996年の和歌山のヒ素カレー事件などを思い

出す方がいるかもしれません。猛毒というイメージがありますが、ヒ素にはいろいろな化学形態があり、毒性もそれぞれ異なります(コラム①参照)。かつては、毒性の強いタイプのヒ素が木材の腐食剤や殺虫剤、農薬などに使われました。現在は半導体の材料にも使われています。また、薬としての作用もあり、急性前骨髄球性白血病の治療薬として使われています。

岡村：実は、ヒ素は自然界に広く存在しています。もともと地球の地殻に無機ヒ素が分布しており、そのヒ素が地表に放出されて、岩石や土壤に含まれるようになりました。海水にもヒ素が含まれており、海水を通じて海藻や魚介類の体内にヒ素が蓄積されています。

鈴木：バングラデシュなどの世界各地では、岩石や土

コラム① 環境中のヒ素と毒性

ヒ素は単体として、またはさまざまな無機ヒ素化合物や有機ヒ素化合物として、自然界の鉱物、水、堆積物、また食べ物などに含まれ、環境中に広く分布しています。生体内にはppb(10億分の1)のオーダーで存在し、生命の維持に必要な「超微量元素」とも考えられています。しかしながら、ヒ素は有害性が高く、微量であっても長期間摂取すると、角化症などの皮膚疾患や発がん、および代謝疾患、神経疾患、免疫抑制など、慢性ヒ素中毒による健康被害をもたらすことが知られています。

現在、大きな環境問題の1つになっているのが、東南アジアをはじめ世界各地で発生している井戸水の無機ヒ素汚染です。たとえば、バングラデシュではかつてため池などの表層水を利用していましたが、1970年代からより衛生的な水を得るために井戸を掘って地下水を利用したところ、地層から高濃度の無機ヒ素が混入し、健康被害が発生しています。場所によっては、1ppm(100万分の1)以

上の高濃度のヒ素が検出されています。このようにヒ素の健康被害が確認されてもなお、技術的、経済的な理由から安全な水の確保が実現できない地域が多く、慢性ヒ素中毒の患者数は世界で数千万人にも上るといわれています。

我が国では、水道法によって、水道水に含まれるヒ素およびその化合物は0.01ppm以下でなければならないと水質基準値が定められています。しかし井戸水については、それより高濃度のヒ素が含まれるケースが見つっています。また、日本人はヒ素の含有量が高い海藻や魚介類を食べる習慣があり、一部の高曝露集団では健康に悪影響を及ぼす量のヒ素を摂取している可能性が指摘されています。

ヒ素は私たちの身の回りに常に存在し、健康被害をおこす可能性のある元素です。このような状況から、生体への影響を評価するために、曝露の実態調査、毒性メカニズムや代謝機構の研究が必要であると考えられています。

左：鈴木 武博（すずき たけひろ）
環境健康研究センター
分子毒性機構研究室 主任研究員
中央：野原 恵子（のほら けいこ）
環境健康研究センター センター長
右：岡村 和幸（おかむら かずゆき）
環境健康研究センター
分子毒性機構研究室 研究員



壤から高濃度の無機ヒ素が地下水に混入し、ヒ素に汚染された水を飲み続けることによって慢性中毒が発生しています。岩石などに含まれているヒ素は無機ヒ素、魚介類などに含まれているヒ素は主に有機ヒ素です。水による慢性中毒をひきおこしているのは主に無機ヒ素です。

Q：慢性中毒の症状にはどんなものがあるのでしょうか。

岡村：色素脱色や角化症などの皮膚疾患や、皮膚や肺、肝臓、前立腺などがんをひきおこすこと、また心血管系や代謝系の疾患、神経疾患、免疫抑制などをひきおこすことが報告されています。

Q：私たちは水や食品を通じて環境中のヒ素を摂取する機会があるのですね。

野原：そうですね。特に日本人は魚介類や海藻などを食べる習慣があるので、諸外国と比較してヒ素の摂取

量が高い傾向があると報告されています。先ほどお話があったバングラデシュなどの地下水のヒ素汚染の量よりは摂取量はずっと少ないのですが、それでもヒ素を多く含む海藻をたくさん食べる集団では注意が必要と考えられています。

孫まで伝わる？

Q：論文でインパクトを受けた「世代を越えてヒ素の影響が現れる」とはどういう現象でしょうか。

野原：例えば、妊娠中にヒ素を体内にとりこむと、生まれた子供に何らかの影響があるとします。その影響が子供だけでなく、孫の世代や、さらにその後の世代に伝わるということです。そのメカニズムとして、私が最初に読んだ論文では、「エピジェネティクス」が関与する可能性が指摘されており、世界中で注目され



■ 図 1：ヒ素の分析に使用する誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）



■ 図 2：バングラデシュの井戸

ています。

Q：エピジェネティクスとはどういうことですか。

鈴木：遺伝情報は基本的にはアデニン(A)、チミン(T)、グアニン(G)、シトシン(C)という4種類の塩基の連なり(塩基配列)としてDNAに書き込まれています。エピジェネティクスでは、塩基配列を変化させることなく、遺伝子の働きを変化させ、この変化は子や孫にまで伝わります。この仕組みには、DNAやDNAが巻き付いているヒストンというたんぱく質のメチル化やアセチル化などの化学修飾が関与しています。化学修飾とはDNAやたんぱく質の官能基を化学的に変化させて、機能を変化させることで、メチル化はメチル基をつけること、アセチル化はアセチル基を付けることです(コラム②参照)。ただ、どのように伝わるかという、詳しい仕組みはまだわかっていません。

Q：どのような化学物質がエピジェネティクスをひきおこすのですか。

岡村：ヒ素の他にもダイオキシンやたばこの煙、ディーゼル排気の粒子、カドミウムなどによって、DNAのメチル化に変化がおこることが報告されています。

遺伝子への影響

Q：どのように研究を進めていますか。

野原：ヒ素によって発がんが増加するという機構を解明するためには、DNAの塩基配列を変化させないエピジェネティクスと、塩基配列を変化させる突然変異



マウスケージ



パイロシークエンサーによるDNAメチル化測定

の両面から検討することが必要だと考えて研究しています。先にお話ししたように妊娠中のマウスに無機ヒ素を含んだ水を飲ませると、生まれた子が大人になったときに肝がんを高率に発症するという現象を使って実験をしています。最近、この実験で、妊娠中にヒ素を摂取することによって、子供の世代ばかりでなく、さらに孫世代でもがんの発生が高くなるという、驚くべき結果を得ることができました。

Q：環境影響が世代を越えて伝わることを実際に実験によって確認したのですか。

野原：そうです。そして、この結果が意味することは、大変な問題であるだけに、よく理解する必要

コラム② エピジェネティクス

「エピジェネティクス」という言葉は、個体発生に関する説の1つである「エピジェネシス(後成説)」と、「ジェネティクス(遺伝学)」を起源としています。「エピ」はギリシャ語で「後で」や「上に」という意味の接頭語であるため、「エピジェネティクス」は「遺伝子の上にさらに修飾が入ったもの」などという概念です。ジェネティクスでは、DNAを構成するA(アデニン)、T(チミン)、G(グアニン)、C(シトシン)という4種類の塩基の並び方、すなわち塩基配列を遺伝情報の基本とします。一方エピジェネティクスでは、DNAの塩基配列は変えずに、あとから加わった修飾が遺伝子機能を調節する制御機構となります。

エピジェネティクスは、個体発生や細胞分化の過程をはじめとして、重要な生命現象における必須のメカニズムです。エピジェネティクスの主要な制御機構は、DNAメチル化とヒストン修飾です。これらのエピジェネティックな修飾が、何らかの原因で変化すると、さまざまな疾病につ

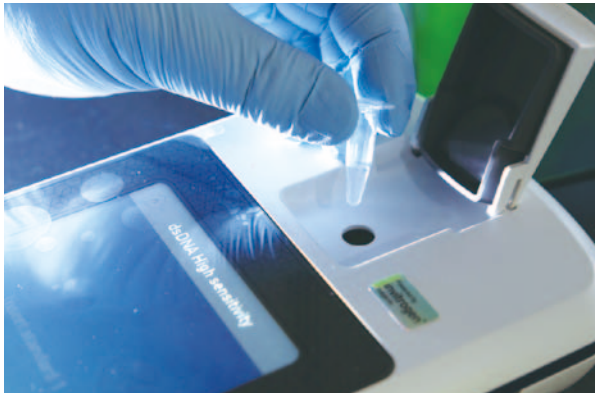
ながることがわかってきています。

(1) DNAメチル化：4つの塩基の組み合わせの中で、シトシンの次にグアニンが続く配列のシトシンにメチル基(-CH₃)が付加され、5メチルシトシンになることをDNAメチル化といいます。哺乳類では3種類のDNAメチル化酵素と3種類のDNA脱メチル化酵素が見つかっています。DNA配列のなかには、CG配列が集まって密に存在する領域(CpG island)があり、CpG islandのDNAメチル化は、遺伝子が働きはじめる過程に深く関与することがわかっています。

(2) ヒストン修飾：ゲノムDNAはヒストンというたんぱく質に巻き付いた状態で核内に収納されています(この構造をクロマチンといいます)。ヒストンがアセチル化、メチル化、リン酸化やユビキチン化などの修飾を受けると、クロマチン構造が変化し、DNAと転写因子などの核内因子との接近のしやすさが変化し、遺伝子の発現制御が可能



解剖実験



DNA 濃度測定装置

があります。胎児期に対する環境の影響に関しては、最近、Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) という考え方が注目されています。DOHaDとは、胎児期から乳幼児期の環境が成人期の慢性疾患リスクに影響を与えるという概念です。ここで重要なのは、胎児期だけでなく、生後の環境も重なり合って影響が出るという点です。すなわち、胎児期に悪影響につながる化学物質の曝露を受けたとしても、生後の環境次第で悪影響を打ち消すことができるのです。胎児期のみならず、生後までの環境影響を研究することが必要です。

Q：胎児のときに受けた影響がどうして疾患につなが

るのでしょうか。

野原：胎児期に化学物質に曝露されると、化学物質がエピジェネティクスを介して遺伝子機能を変化させ、それが成長後の疾患につながるのではないかと考えています。

Q：エピジェネティクスの関与はわかりましたか。

鈴木：私たちは、胎児期にヒ素を曝露し、肝がんを発症したマウスとヒ素を曝露していない対照群のゲノムを比べました。その結果、メチル化の程度が変化したがん遺伝子をいくつか見つけました。また、ヒ素曝露により肝がんを発症したマウスでは、これらがん遺伝子の発現量も増えていることがわかりました。現在、がん遺伝子のメチル化と肝がんの発症率の増加の関係を明らかにするための検討をしています。

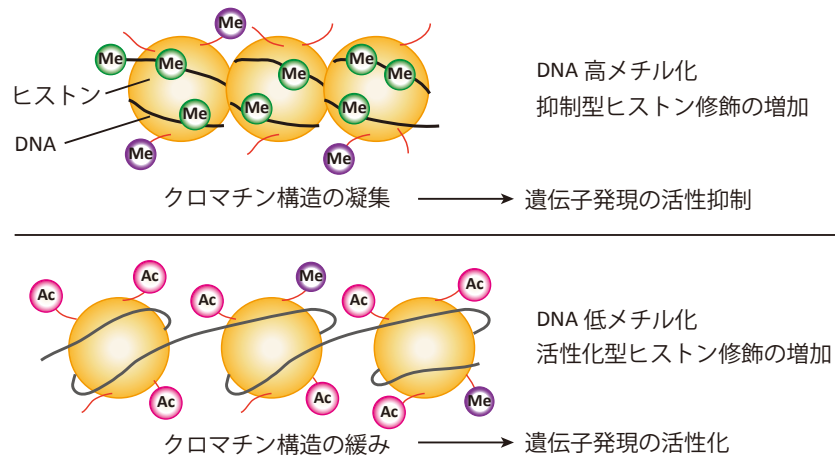
Q：発がん以外にどんな影響がありますか。

岡村：私は白血球やリンパ球など免疫に関わる免疫細胞に対するヒ素の慢性中毒の影響について調べています。マウスのリンパ球細胞に無機ヒ素を長時間曝露したところ、短時間のヒ素の曝露では現れなかった「細胞老化」をおこした細胞が新たに出現することがわかりました。

Q：細胞老化とは何ですか。

岡村：細胞は細胞分裂を繰り返しながら、増殖しますが、分裂回数には限界があります。細胞老化は、細胞が細胞分裂をやめ、自分自身は不可逆的な増殖の停止状態になることです。また、リンパ球の話ではないですが、体内でヒ素によって発がんが生じる組織と細胞老化が蓄積される組織が比較的一致しています。細胞老化は、周囲の細胞のがん化を促進することも報告さ

となります。アセチル化は遺伝子発現の活性化に関与します。またメチル化については、メチル化を受けるリジンの位置が遺伝子の発現制御に重要であることが明らかになっています。ヒストンのアセチル化酵素や脱アセチル化酵素、特定の位置のヒストンメチル化酵素や脱メチル化酵素が同定されています。



■ 図3：遺伝子発現調節に関わるエピジェネティック修飾変化の模式図

上：DNAの高メチル化や抑制型ヒストン修飾の増加によりクロマチン構造が凝集すると、遺伝子発現の活性が抑制されます。

下：DNAの低メチル化や活性化型ヒストン修飾の増加によりクロマチン構造が緩むと遺伝子発現が活性化されます。

れているので、ヒ素が細胞の老化をひきおこし、それによってがんなどの疾患が誘導されるのではないかと考えて、研究を進めています。

研究は粘り強く

Q: 研究ではどんな苦労がありましたか。

野原: 私たちの研究は、非常に時間がかかります。まずマウスを妊娠させてヒ素を含む水を飲ませ、その孫世代が中年期以降になってから肝がんを発症しているかを調べるまでには約2年かかります。そのため、大学院生が研究したいといっても、2年間しかない修士課程では、最初から最後まで実験はできません。追試をするとさらに2年かかります。将来は子供の生殖細胞で実験しようと考えているので、時間がだいぶ短縮されると思いますが、発がん影響を調べるためには、このような長期の実験をする必要があるのです。

鈴木: 長い動物実験を終えると、こんどはすぐに解析できないほど膨大な量のサンプルが生じます。以前、解析用サンプルを冷凍庫に保存し、解析を始めようしたところで、東日本大震災が発生しました。あのときは、停電で大事なサンプルがダメになってしまうのではないかと、あせりました。ドライアイスを買集めることができ、なんとかサンプルが持ちこたえて、ほっとしました。それから、新たにDNAメチル化の解析を始める時は、実験条件の検討にはかなり時間がかかりました。この解析に次世代シーケンサーなど最新の装置を用いると大量のデータが出るので、解析ソフトを扱うためのPC言語の勉強まで必要で、これも時



Bangladesh 住民からの生体試料採取



実験技術指導の1コマ

間がかかりましたね。

岡村: 私は現在、国立成育医療研究センターの先生方に教わりながら、次世代シーケンサーによるゲノムワイドなDNAメチル化測定の結果を解析していますが、網羅的な解析に必要なバイオインフォマティクスの習熟に苦労しています。PC言語はたった1つのスペースが入っていたり、1文字違うだけで全く動作しないことがあるので大変です。

Bangladesh との共同研究も

Q: ヒ素汚染地域と連携はありますか。

コラム⑩ 継世代影響のメカニズム：エピジェネティクスと突然変異

母親(図のF0)が妊娠中に化学物質の曝露を受け、その化学物質が胎盤を通る場合には胎児(F1)にまで到達し、胎児も曝露を受けます。さらに、胎児に到達した化学物質は胎児の体内の生殖細胞、すなわち孫世代(F2)をつくる細胞にも到達し、そこで曝露を受けた生殖細胞に何らかの変化をおよぼす可能性があります。その後は、ある量の化学物質がF1の生殖細胞内に存在しても、その生殖細胞が受精してF2が生まれると体の体積は生殖細胞とは比べられないほど大きくなるため、F2体内の化学物質の濃度は無視できるほど低くなり、F0世代が曝露された化学物質そのものはその後の世代に伝わりません。一方、直接曝露を受けたF1の生殖細胞から生まれたF2世代には化学物質は伝わらなくても、何らかの影響があらわれる可能性があります。さらに、母親(F0)の妊娠中に化学物質の曝露を受けたことによって、F3以降の世代にも影響が出る例が報告され始めています。F2にあらわれる影響を継

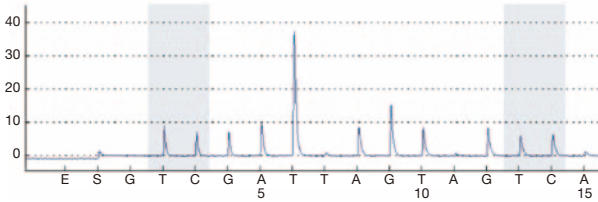
世代影響ということもありますが、最近の整理では、妊娠中に曝露を受けた母親のF2世代にあらわれる影響を多世代影響、F3以降に現れる影響を継世代影響ということが多いようです。それらの多世代・継世代影響のメカニズムとして可能性が高いと考えられるのが、化学物質によってF1胎内の生殖細胞のゲノムでひきおこされるエピジェネティック修飾変化です。また頻度は低いものの突然変異の関与も示唆されています。

F1生殖細胞でおこった突然変異は、そこから生まれるF2個体の、生殖細胞を含むすべての細胞で複製されるため、F2生殖細胞に引き継がれ、F3以降の世代にも受け継がれます。遺伝子の突然変異によって、そこからつくられるタンパク質の機能が変化し、その機能が個体にとって重要だった場合、その個体に突然変異の影響が出ることになります。

一方、近年注目されているのが、化学物質のエピジェネ



国際協力セミナー



パイロシークエンサーで得られたデータ

野原：バングラデシュにあるラージシャーヒ大学のフセイン教授からDNAのメチル化解析してほしいというメールがきたのがきっかけで、共同研究をしています。

鈴木：共同研究では、フセイン教授がヒ素汚染の深刻な地域の住民から採取した血液をサンプルにして、メチル化解析をしています。血液からDNAを抽出し、すでに80サンプルほど測定しましたが、ヒ素で汚染されていない地域と汚染地域の間には、特定の遺伝子のDNAメチル化に違いがありそうなことがわかっています。昨年は、国立環境研究所にフセイン教授やラージシャーヒ大学の研究者を招へいし、DNAメチル化測定の技術指導を行いました。

岡村：東南アジアのヒ素研究者を招いてシンポジウムも行いました。シンポジウムでは、汚染地域の現状が

よくわかり、とても有意義でした。来年は、ミャンマーで行われる学会で、ヒ素を研究するグループのシンポジウムがあります。

将来の健康な生活を守っていくために

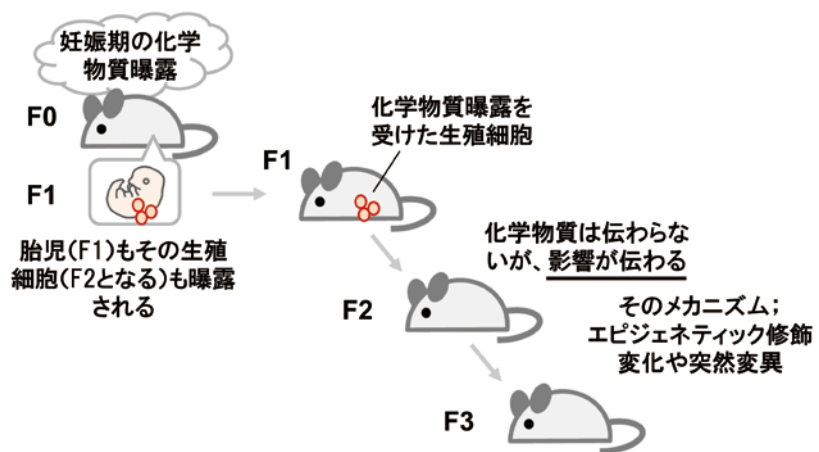
Q：今後の抱負をきかせてください。

野原：現在、私たちはマウスを使って実験をしていますが、マウスはヒトに比べてヒ素に対する耐性が高いため、実際にヒトが摂取しているよりもかなりたくさんの量のヒ素を投与して実験しています。今後は、ヒトの摂取レベルでも同様のことがおこるかどうかを調べる必要があります。そこで、マウスでメカニズムを明らかにすることによって、DOHaDの考え方のように、生後の環境を見直し、悪影響が及ぶのを防ぐ方法を見つけることもできると思います。

鈴木：ヒ素の毒性のメカニズムを明らかにし、さらにヒ素の悪影響を早期発見するためのマーカーも見つけたいです。マーカーがあれば、病気の予防や健康の維持に大いに役立ちますからね。どの実験を行うのも時間がかかるし、苦勞がありますが、私たちの研究は国立環境研究所だからこそできる研究だと思っています。

岡村：妊娠中に受けた影響が孫の世代に伝わると聞くと、不安に思われる方も多いと思います。私たちの研究は人々の不安をあおるために行っているわけではありません。私たち研究者の使命は、過度な不安を払しょくし、誤解を生まないようにするために、正確な科学データを提示することだと思っています。今後もこのような姿勢で研究を続けていきたいです。

ティック作用です。胎児(F1)の体内で生殖細胞ができる際に、エピジェネティック修飾が一度リセットされ、また再構築されます。これらのエピジェネティック修飾は生殖細胞の発生をプログラムしていると考えられます。この時期に化学物質によってエピジェネティック修飾が書きかえられ、発生プログラムが書きかえられ、F2に影響がでると考えられます。ところがこの生殖細胞のエピジェネティック修飾変化は、F3やそれ以降の生殖細胞に受け継がれることが報告されています。しかしその具体的な分子メカニズムはまだ明らかにされていません。



■ 図 4：継世代影響のメカニズム

化学物質に曝露された胎児の生殖細胞のゲノムでひきおこされるエピジェネティック修飾などの変化が継代的に引き継がれ、影響を及ぼす可能性があります。

継世代影響のメカニズムを探る — 妊娠期ヒ素曝露による発がんを中心に —

環境化学物質の悪影響が世代を越えて伝わるという、継世代影響が懸念されています。私たちの使命は、環境化学物質によるヒトの健康への悪影響を防ぐために、「なぜ継世代影響がおこるのか」、そのメカニズムを科学的に明らかにすることであると考えています。

ヒ素の健康影響と発がん性

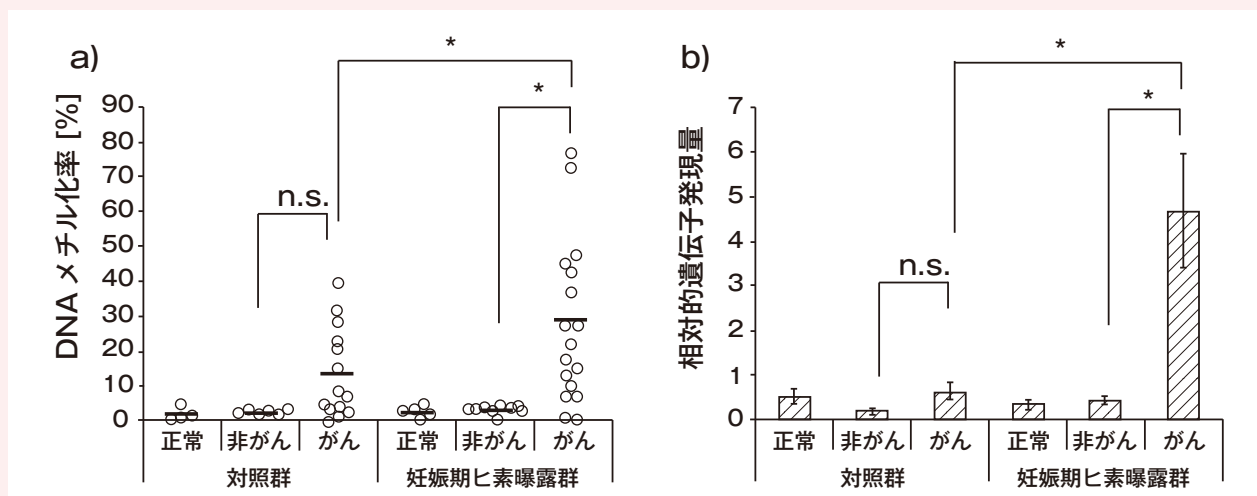
ヒ素による健康被害が世界各国で大きな環境問題となっています。特に、中国やインド、バングラデシュなどアジア諸国では、天然由来の無機ヒ素が地下水に混入し、その水を飲んでいる住民に大きな被害を与えています。ヒ素を連続的に摂取すると、皮膚疾患を特徴とする慢性ヒ素中毒がおこります。さらに、肝障害や心血管系障害や、長い期間を経て各種臓器における発がんが増加することが疫学研究によって明らかにされています。さらに、胎児期などの発達期のヒ素曝露によって、成人後に各種臓器の発がんが増加するという疫学研究の結果も報告されています。

国際がん研究機関も、ヒ素およびヒ素化合物を人に対して発がん性のある物質に分類しています。ヒ素による発がん増加のメカニズムは明らかになっていませんが、近年、ヒ素による発がんのエピジェネティックなメカニズム、特にDNAメチル化変化の関与が示唆されています。

妊娠期のヒ素摂取による子の発がん増加メカニズムの検討

ヒ素による発がん増加メカニズムを検討する動物実験系として、アメリカのWaalkesらのグループは、オスが肝がんを発症しやすいC3Hマウスを用いた実験系を報告しました。これは、妊娠中のマウスに10日間のみ無機ヒ素を含む水を飲ませると、母親の体内で胎児期にヒ素曝露を受けたオスが、成長後74週齢で対照群と比べて肝がんを高率に発症するというものです。そのメカニズムとして、妊娠中の母親への無機ヒ素投与によってひきおこされた、子の肝臓でのある遺伝子のDNAメチル化変化の関与が示唆されました。

私たちはこの実験系を用いて、胎児期のヒ素曝露による成長後の肝がん増加のメカニズムについて研究を行っています。私たちの研究では、胎児期のヒ素曝露によって成長後に肝がんが増加することは確認できましたが、先に述べたようなある遺伝子のDNAメチル



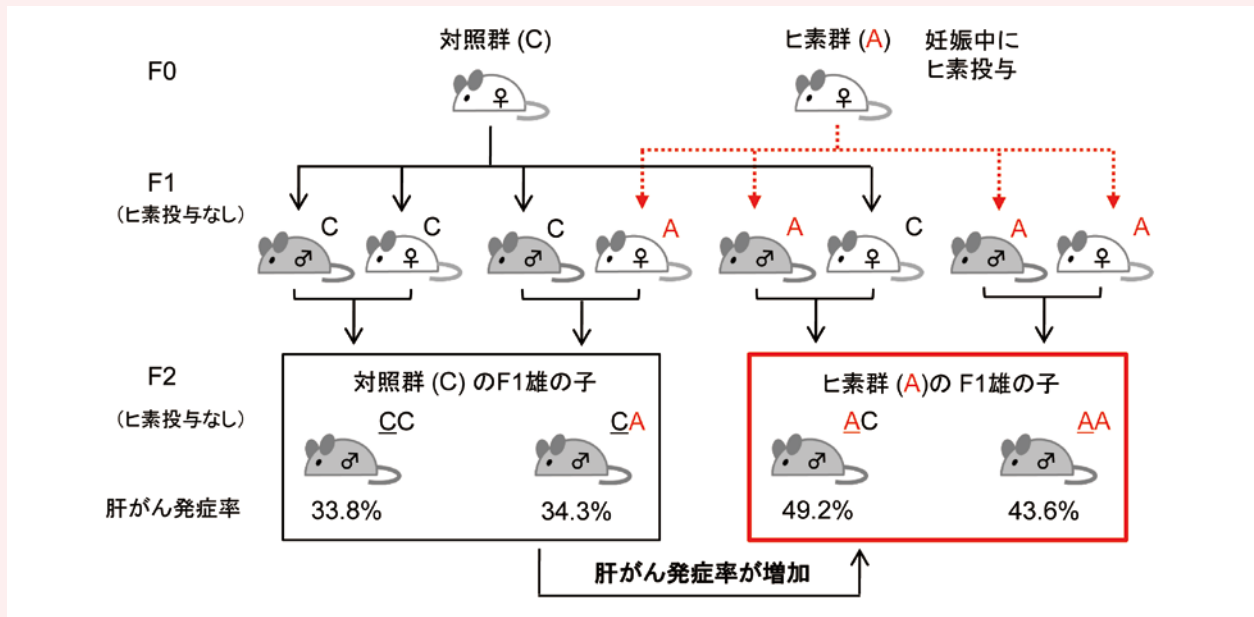
■ 図5：妊娠期ヒ素曝露により増加した肝がんにおけるDNAメチル化率と遺伝子発現変化

a) *Fosb* 遺伝子領域内部のDNAメチル化率

正常な肝臓、がんがある肝臓の非がん部、がんがある肝臓のがん部の各サンプルについて *Fosb* のDNAメチル化率を示しています。○は各サンプルのメチル化率、横棒は平均値、*は有意差あり、n.s.は有意差なし、をあらわしています。妊娠期ヒ素曝露群のがん部のDNAメチル化率は、対照群のがん部と比べて、有意に増加しました。

b) *Fosb* 遺伝子の発現変化

正常な肝臓、がんがある肝臓の非がん部、がんがある肝臓のがん部にわけて、それぞれの部位での *Fosb* 遺伝子の発現量を示しています。*は有意差あり、n.s.は有意差なし、をあらわしています。DNAメチル化率に対応して、遺伝子発現量も変化していることがわかります。



■ 図6：F2マウスの作成と肝がん発症率

ヒ素曝露された母親 (F0, A) から産まれたオスの子 (F1, A) を父親とする世代のオス (F2, AC と AA) は、ヒ素曝露されていない母親 (F0, C) から産まれたオスの子 (F1, C) を父親とする世代のオス (F2, CC と CA) と比較し、生後 74 週程度で肝がんの発症率が増加することがわかりました。

化変化は検出されませんでした。妊娠中のヒ素曝露による子の肝がん増加に関する他のメカニズムがあると考えられたため、私たちは、ゲノム全体のDNAメチル化解析を行いました。その結果、がん遺伝子として知られている *Fosb* 遺伝子の遺伝子領域内部のDNAメチル化が、胎児期のヒ素曝露による肝がんが増加することを明らかにしました (図5)。また同時に、*Fosb* 遺伝子の発現も増加することがわかりました (図5)。以上の研究から、*Fosb* 遺伝子のように胎児期のヒ素曝露でDNAメチル化変化が起こり、発現が増加する遺伝子を明らかにすることができました。現在、DNAメチル化変化を介した肝がん増加のメカニズムを解析中です。

発がんには多くの要因が関与し、エピジェネティック修飾変化のみでがんができるわけではありません。ヒ素はバクテリアや細胞株を用いた研究から、DNAに突然変異をひきおこす作用 (変異原性) がほとんどないと言われていましたが、私たちのマウスの研究ではヒ素には変異原性があるという結果が出ています。そこで私たちは、C3Hマウスの肝がんの一部では *Ha-ras* というがん遺伝子が突然変異によって活性化している、という報告に着目しました。そして肝がんの *Ha-ras* の突然変異を調べたところ、胎児期ヒ素曝露を受けたマウスでは、突然変異によって活性化した *Ha-ras* をもつがんが増加していることを明らかにしました。すなわち、*Ha-ras* 変異の増加も、胎児期ヒ素曝露による肝がん増加のメカニズムに関与することが考えられました。

ヒ素の継世代影響

最近私たちは、妊娠中の母親 (F0) に無機ヒ素を投与すると、孫の世代 (F2) においても、対照群と比べて肝がんの発症率が増加することを見出しました。具体的には、ヒ素を摂取した母親から産まれたオスの子 (F1) を父親とする孫世代 (F2) のオスが、中年期以降に対照群と比べて肝がんを高率に発症するという結果が観察されました (図6)。この結果は、妊娠期のヒ素の摂取がF2世代まで影響をもつということを世界で初めて明らかにしたものです。

マウスはヒ素に対する耐性が高いことから、上記の実験はヒトが摂取するよりも高い濃度のヒ素を用いて実験しています。今後はメカニズムやさらに低い濃度のヒ素の影響を検討し、妊娠中のヒ素曝露のヒトへの影響の予見や有効な予防法を可能にしたいと考えています。

胎児期の化学物質曝露は、F1の生殖細胞への曝露を介してF2に影響を与えられられるため、そのメカニズムについて、私たちはF1の精子に着目して研究を進めています。現在、国内の他機関と共同で、次世代シーケンサーを用い、精子の全ゲノムDNAを対象にしたDNAメチル化解析や突然変異解析を行っているところです。このような研究から、ヒ素の継世代影響のメカニズムを明らかにし、さらに化学物質の悪影響を予防する方法を明らかにすることにつなげていきたいと考えています。

環境化学物質による 次世代・継世代影響



世界では

かつて胎児は子宮内で化学物質などから守られていると考えられていました。しかし1950年代を中心にわが国で発生した水俣病は、メチル水銀が胎盤を通過して胎児に影響を与えることを示しました。その後一般の環境中のメチル水銀やさまざまな化学物質が臍帯血に送られることが世界各国の研究で報告され、最近では、臍帯や臍帯血から300種近くの化学物質が検出されたという報告もあります。これらの化学物質の妊娠中から出生後の曝露が発達に影響を及ぼすことや、特に胎児期は各種の化学物質に対して感受性が高いことが次々と明らかにされています。

一方、1962年に発表されたRachel Carson氏の著書『沈黙の春』は、農薬などの環境中に放出された化学物質がホルモン作用をかく乱することによって、すなわち内分泌かく乱化学物質として、ヒトや野生生物に影響を及ぼす危険性を指摘しました。2002年にWHOが中心となって発表したレビューでは、内分泌かく乱化学物質のヒトへの影響に関しては十分な証拠が得られていないということが報告されました。しかしWHOとUnited Nations Environment Program (UNEP) がその後の実験的研究や疫学研究をレビューした最近の報告書(2013年)では、内分泌かく乱化学物質の曝露が、野生生物だけでなく、ヒトの疾患にも関与している証拠が得られていると述べています。現在では内分泌かく乱化学物質は800種類にのぼるとされています。例えば、かつて絶縁体などとして大量に使用され今なお環境中に相当量が残存しているPCBや、プラスチックの可塑剤のフタル酸エステル、有機リン系殺虫剤のクロルピリホスなどの母

親を介しての胎児期曝露が、子どもの注意欠陥・多動性障害(ADHD)や神経発達に影響することや、さまざまな化学物質の胎児期曝露による生殖系、免疫系、代謝系などへの影響が明らかにされています。

2007年にデンマークのフェロー諸島で開かれた国際会議 International Conference on Fetal Programming and Developmental Toxicity (PPTOX)では、発達期の化学物質曝露が生後や成長後にあらわれる遅発性の影響によって、生涯にわたる疾患のリスクを高めるという概念を支持する実験的データや疫学データが数多く発表されました。この会議では、これらの現象の分子的基盤として、新たにエピジェネティクスの関与が実験的研究で示され、その作用は次の世代に受け継がれる可能性がある、ということが重要なトピックスの一つとしてとりあげられました。

この会議に先立つ2005年に、米国のMichael Skinnerのグループは、殺菌剤のピンクロゾリンを妊娠中のラットに1週間だけ投与すると、その母親から生まれた子を含めて4代目の子孫まで、オスの精子形成能の低下や不妊が継世代的に続くという実験結果を発表し、研究者に強いインパクトを与えました。そのメカニズムとして、母親の体内で胎児の生殖細胞(将来孫世代となる)のゲノムでおこったエピジェネティック変化が孫世代で生殖機能を低下させること、および生殖細胞のエピジェネティック変化は4代目の生殖細胞まで引き継がれ、同様に生殖機能の低下を招くことを示唆しました。この研究に続いて、最近ではビスフェノールAやダイオキシン類、農薬のメトキシクロルなどの継世代影響が報告されています。また、その分子メカニズムとして、ゲノム全体にわたる

胎児が母親からの栄養を受け取る臍帯血からは多種類の環境化学物質が検出され、母親が取り込んだ環境化学物質に胎児が曝露されていることが示されています。胎児期は化学物質の影響を特に受けやすい時期です。その影響は生涯にわたってさまざまな形であらわれます。さらに、その後の世代に受け継がれる場合があることもわかってきました。一方で、胎児期に受けた悪影響を、生後の環境によって改善できる可能性も指摘されています。



DNAメチル化変化やヒストン修飾変化の解析などが続けられています。しかしまだ、確定的な証拠は得られていないと考えられます。

なお胎児期などの発達期に対する影響が成人後にあられるという概念は、発達期の栄養状態に注目したDOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 学説でも指摘されました。この考え方のもとになったのは、英国のDavid Barker博士が疫学データをもとに1986年に提唱した「胎児期・乳児期の低栄養が後年生活習慣病のリスクを高める」という説でしたが、現在では発達期の栄養と生活習慣病の関係に限らず、「胎児期や乳児期における栄養状態や環境因子などの影響が、生後の生活環境と相まって、各種疾患のリスクを高める」というように、環境因子の関与を含めたより広い考え方となっています。

日本では

1990年代後半に、有害性が高く内分泌かく乱作用ももつダイオキシンや、ビスフェノールAなどの内分泌かく乱化学物質、いわゆる環境ホルモンの生体への悪影響についての社会的関心が高くなり、その影響とメカニズム研究が盛んに行われました。その後、ダイオキシン類の排出等に関する法律が施行され、日本の環境中のダイオキシン量は大きく減少しました。また上述した2002年のWHOを中心とした報告書の、内分泌かく乱化学物質のヒトへの影響に関しては十分な証拠が得られていないという報告などにより、その研究が収束の方向に向かうかとも見える時期があったように思いますが、2013年のWHOとUNEPの報告書では、日本からの、ダイオキシンやカドミウム、樹脂

原料である4-tert-オクチルフェノールなどの発達期曝露の研究結果が収録され、証拠の蓄積に貢献しています。

国立環境研究所では

1995年に、極めて厳しい管理のもとで有害性の高い化学物質を用いた動物実験や細胞レベルの実験を安全に行うことができる施設が完成し、ダイオキシン類などが脳・神経系、生殖系、免疫系に与える影響に関して研究が開始されました。2000年前後から、世界では遺伝子解析技術が飛躍的に進歩し、生体反応を遺伝子レベルで容易に解析することが可能になりました。私たちのグループも、2004年から環境化学物質の生体影響をゲノムの網羅的遺伝子発現解析を利用して解析する「トキシコゲノミクス研究」を行いました。さらにその遺伝子発現の調節に関して、特に胎児期への化学物質の作用についてはエピジェネティクスが重要な役割をすることが明らかにされはじめ、私たちの研究もエピジェネティクスを包括した研究へと展開しました。

現在はマウスの実験系において、無機ヒ素の妊娠期曝露が雄の子の生殖細胞を通して孫世代に肝がん増加という形質を伝えるという、これまで想像しなかった現象をみつけたため、そのメカニズム解析に取り組んでいます。肝がんや精子において、全ゲノムの遺伝子発現解析や、次世代シーケンサーによるDNAメチル化解析・突然変異解析などを含め、国内の国立研究機関や大学の先生方と共同で研究を進めています。また、海外の研究者とのディスカッションも活発に進め、現象の理解を目指しています。

国立環境研究所における 「環境化学物質の次世代・継世代影響研究」のあゆみ

国立環境研究所では、環境化学物質の次世代・継世代影響に関する研究を行っています。
これまでの研究のあゆみを紹介します。

年度	課題名
1998 - 2003	リスク評価のためのダイオキシンによる内分泌かく乱作用の解明 ^(*1)
2004 - 2006	トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究
2007 - 2010	エピジェネティクス作用を包括したトキシコゲノミクスによる環境化学物質の影響評価法開発のための研究
2007 - 2008	ヒ素の転写因子調節作用に着目した免疫細胞特異的作用メカニズムと免疫毒性の解明 ^(*2)
2008 - 2009	グローバルな DNA メチル化変化に着目した環境化学物質のエピジェネティクス作用スクリーニング法の開発 ^(*3)
2011 - 2015	小児・次世代環境保健研究プログラム、プロジェクト2 環境汚染物質曝露による小児・次世代への健康影響の機構解明と評価システムの構築に関する研究
2013 - 2015	環境化学物質の「多世代にわたる後発影響」の機序に関する研究
2014 - 2016	妊娠期の化学物質曝露による孫世代での体細胞突然変異の増加を誘導するエピ変異の探索 ^(*2)
2015 - 2016	妊娠期ヒ素曝露による F2 肝腫瘍増加機序解明のための精子の網羅的 DNA メチル化解析 ^(*2)

*1: 科学技術振興機構 CREST

*2: 文部科学省(日本学術振興会)科学研究費補助金

*3: 環境省 環境技術開発等推進費

本号で紹介した研究は、以下の機関、スタッフにより実施されました(所属は当時、敬称略、順不同)。

〈研究担当者〉

国立環境研究所: 野原恵子、鈴木武博、岡村和幸、内匠正太、前川文彦、道川武紘、佐野友春、青木康展、古山昭子、鎌迫典久、宇田川理、西村典子、村井 景、松本みちよ、石塚文人、大和田美佳

〈共同研究者〉

国立がん研究センター研究所: 牛島俊和、山下 聡

国立成育医療研究センター: 秦健一郎、中林一彦

農研機構食品総合研究所: 小堀真珠子

熊本大学: 伊藤隆明

名古屋市立大学: 近藤 豊、新城恵子

群馬大学: 畑田出穂

Rajshahi大学 (Bangladesh): MD Khaled Hossain

● 過去の環境儀から ●

これまでの環境儀から、健康影響と健康リスク評価に関するものを紹介します。

NO.56 大気中の化学物質の健康リスク評価

— 実験研究を環境施策につなげる

国立環境研究所が取り組んできた、大気環境中に存在する化学物質の有害性とそのリスク評価に関する研究、特にがんの原因となる突然変異の体内での発生を定量的に評価する基礎的な研究について紹介しています。また、国内外の知見を総合的に検討して大気中の化学物質のリスクを評価し、指針値設定などの環境施策につなげる研究を紹介しています。

NO.54 環境と人々の健康との関わりを探る —環境疫学

国立環境研究所では、環境と健康との関わりについて、実験研究と疫学研究の二つの異なる手法を用いた研究に取り組んでいます。本号では、「環境疫学」が、人々の健康状態と環境との関わりを探ることによって、人の集団における健康問題に対する予防や対策に役立つことを解説しています。また、大気汚染の健康影響に関する疫学研究と、子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）を紹介しています。

NO.46 ナノ粒子・ナノマテリアルの生体への影響

— 分子サイズにまで小さくなった超微小粒子と生体との反応

ナノマテリアルとは、非常に小さなサイズの物質をいいます。きわめて分子に近い生体内挙動を示すので、人体に対して、これまでの粒子とは異なる影響を及ぼす可能性があります。国立環境研究所が取り組む、ナノ粒子やナノマテリアルのヒトの健康への影響を中心とした安全性評価に関する研究について紹介しています。

NO.27 アレルギー性疾患への環境化学物質の影響

近年、アトピー性皮膚炎やアレルギー性喘息、花粉症など、アレルギー性疾患が小児を中心に急増しています。国立環境研究所では、アレルギー性疾患への環境化学物質の影響を研究し、低濃度の曝露でもアレルギー症状を悪化させる化学物質が存在することなどの成果を得ています。これらの研究成果を紹介しています。

NO.22 微小粒子の健康影響 —アレルギーと循環機能

国立環境研究所では、2001年度から大気中微小粒子状物質（PM2.5）・ディーゼル排気粒子（DEP）等の大気中粒子状物質の動態解明と影響評価の研究を行っています。本号では、DEPなどの微小粒子のアレルギーや免疫機構に及ぼす影響や循環機能に関する研究の成果を紹介しています。

NO.1 環境中の「ホルモン様化学物質」の生殖・発生影響に関する研究

化学物質の中には、ヒトや動物のホルモンに類似した構造を持つものがあり、低い濃度でも影響を及ぼすことが心配されています。本号では、環境ホルモン（内分泌かく乱物質）の一つであるダイオキシンがラットの生殖や発生に及ぼす影響を中心に紹介しています。

環境儀 No.59

—国立環境研究所の研究情報誌—

2015年12月28日発行

編集 国立環境研究所編集委員会

（担当 WG：小林弥生、野原恵子、鈴木武博、岡村和幸、田中嘉成、竹内やよい、青野光子、滝村 朗）

発行 国立研究開発法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

問合せ先 国立環境研究所情報企画室 pub@nies.go.jp

編集協力 有限会社サイテック・コミュニケーションズ

印刷製本 朝日印刷株式会社 つくば支社

「環境儀」既刊の紹介

No.13 2004年 7月	難分解性溶存有機物—湖沼環境研究の新展開	No.36 2010年 4月	日本低炭素社会シナリオ研究—2050年温室効果ガス70%削減への道筋
No.14 2004年 10月	マテリアルフロー分析—モノの流れから循環型社会・経済を考える	No.37 2010年 7月	科学の目で見える生物多様性—空の目とミクロの目
No.15 2005年 1月	干潟の生態系—その機能評価と類型化	No.38 2010年 10月	バイオアッセイによって環境をはかる—持続可能な生態系を目指して
No.16 2005年 4月	長江流域で検証する「流域圏環境管理」のあり方	No.39 2011年 1月	「シリカ欠損仮説」と海域生態系の変質—フェリーを利用してそれらの因果関係を探る
No.17 2005年 7月	有機スズと生殖異常—海産巻貝に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響	No.40 2011年 3月	VOCと地球環境—大気中揮発性有機化合物の実態解明を目指して
No.18 2005年 10月	外来生物による生物多様性への影響を探る	No.41 2011年 7月	宇宙から地球の息吹を探る—炭素循環の解明を目指して
No.19 2006年 1月	最先端の気候モデルで予測する「地球温暖化」	No.42 2011年 10月	環境研究 for Asia/in Asia/with Asia—持続可能なアジアに向けて
No.20 2006年 4月	地球環境保全に向けた国際合意をめざして—温暖化対策における社会科学的アプローチ	No.43 2012年 1月	藻類の系統保存—微細藻類と絶滅が危惧される藻類
No.21 2006年 7月	中国の都市大気汚染と健康影響	No.44 2012年 4月	試験管内生命で環境汚染を視る—環境毒性の <i>in vitro</i> バイオアッセイ
No.22 2006年 10月	微小粒子の健康影響—アレルギーと循環機能	No.45 2012年 7月	干潟の生き物のはたらきを探る—浅海域の環境変動が生物に及ぼす影響
No.23 2007年 1月	地球規模の海洋汚染—観測と実態	No.46 2012年 10月	ナノ粒子・ナノマテリアルの生体への影響—分子サイズにまで小さくなった超微小粒子と生体との反応
No.24 2007年 4月	21世紀の廃棄物最終処分場—高規格最終処分システムの研究	No.47 2013年 1月	化学物質の形から毒性を予測する—計算化学によるアプローチ
No.25 2007年 7月	環境知覚研究の勧め—好ましい環境をめざして	No.48 2013年 4月	環境スペシメンバンキング—環境の今を封じ込め未来に伝えるパトシリレー
No.26 2007年 10月	成層圏オゾン層の行方—3次元化学モデルで見るオゾン層回復予測	No.49 2013年 7月	東日本大震災—環境研究者はいかに取り組むか
No.27 2008年 1月	アレルギー性疾患への環境化学物質の影響	No.50 2013年 10月	環境多媒体モデル—大気・水・土壌をめぐる有害化学物質の可視化
No.28 2008年 4月	森の息づかいを測る—森林生態系のCO ₂ フラックス観測研究	No.51 2014年 1月	旅客機を使って大気を測る—国際線で世界をカバー
No.29 2008年 7月	ライダーネットワークの展開—東アジア地域のエアロゾルの挙動解明を目指して	No.52 2014年 4月	アオコの有毒物質を探る—構造解析と分析法の開発
No.30 2008年 10月	河川生態系への人為的影響に関する評価—よりよい流域環境を未来に残す	No.53 2014年 6月	サンゴ礁の過去・現在・未来—環境変化との関わりから保全へ
No.31 2009年 1月	有害廃棄物の処理—アスベスト、PCB処理の一翼を担う分析研究	No.54 2014年 9月	環境と人々の健康との関わりを探る—環境疫学
No.32 2009年 4月	熱中症の原因を探る—救急搬送データから見るその実態と将来予測	No.55 2014年 12月	未来につながる都市であるために—資源とエネルギーを有効利用するしくみ
No.33 2009年 7月	越境大気汚染の日本への影響—光化学オキシダント増加の謎	No.56 2015年 3月	大気環境中の化学物質の健康リスク評価—実験研究を環境行政につなげる
No.34 2010年 3月	セイリング型洋上風力発電システム構想—海を旅するウインドファーム	No.57 2015年 6月	使用済み電気製品の国際資源循環—日本とアジアで目指す E-waste の適正管理
No.35 2010年 1月	環境負荷を低減する産業・生活排水の処理システム—低濃度有機性排水処理の「省」「創」エネ化～	No.58 2015年 9月	被災地の環境再生をめざして—放射性物質による環境汚染からの回復研究

●環境儀のバックナンバーは、国立環境研究所のホームページでご覧になれます。
<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/index.html>

「環境儀」



地球儀が地球上の自分の位置を知るための道具であるように、「環境儀」という命名には、われわれを取り巻く多様な環境問題の中で、われわれは今どこに位置するのか、どこに向かおうとしているのか、それを明確に指し示すべしという意図が込められています。「環境儀」に正確な地図・行路を書き込んでいくことが、環境研究に携わる者の任務であると考えています。

2001年7月 合志 陽一
 (環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)



このロゴマークは国立環境研究所の英語文字 N.I.E.S で構成されています。N=波(大気と水)、I=木(生命)、E=Sで構成される○で地球(世界)を表現しています。ロゴマーク全体が風を切った左側に進もうとする動きは、研究所の躍動性・進歩・向上・発展を表現しています。

リサイクル適性 (A)

この印刷物は、印刷用の紙へリサイクルできます。