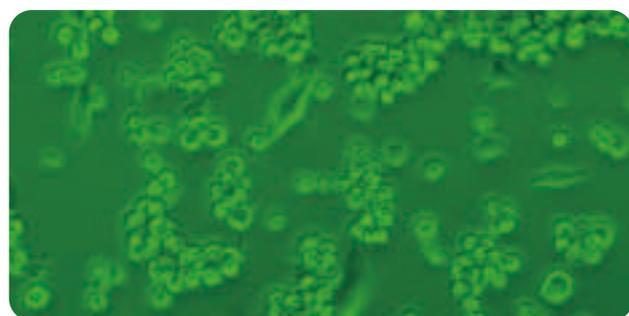
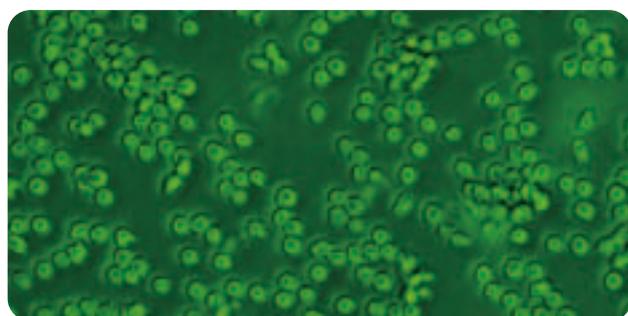
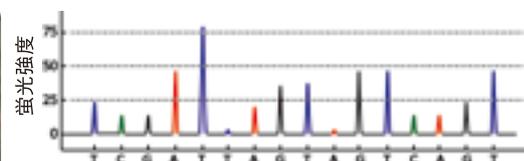


国立環境研究所 ニュース

National Institute for Environmental Studies

Vol.34 No.3

平成27年(2015)8月



(左上)バングラデシュの井戸
(右上)DNAメチル化測定機器(パイロシークエンサーとそのデータ例)
(下)長期ヒ素曝露によるリンパ球細胞の形態変化

特集 | ヒ素の健康影響研究

環境中のヒ素とその健康影響 | 2

妊娠期ヒ素曝露の後発影響に関連するDNAメチル化変化 | 3

長期間の無機ヒ素曝露によるリンパ球での細胞老化の誘導 | 6

ヒ素化合物の化学形態と生体影響 | 9

アポトーシス、反発性アポトーシスと脳の発達障害 | 12

国立環境研究所公開シンポジウム2015開催報告 | 14

環境中のヒ素とその健康影響

野原 恵子

ヒ素は地球を構成する元素としては微量成分ですが、単体やさまざまな無機ヒ素化合物、有機ヒ素化合物として、自然界の鉱物、水、堆積物や、また食べ物などに含まれ、環境中に広く分布しています。生体内では ppb オーダーで存在して生命機能の維持に働く超微量元素のひとつとも言われていますが、有害性が高く、ヨーロッパなどでは古くから毒薬として使用されてきました。また微量であっても長期間摂取することによって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。

ヒ素は生物に対する毒性も強いことから、殺虫剤や除草剤、防カビ剤などとして世界中で多用され、環境中に放出されてきました。その結果、職業的に曝露された人や周囲の住民に慢性ヒ素中毒が発生し、角化症などの皮膚疾患や発癌、および代謝疾患、神経疾患、免疫抑制など、生涯にわたる深刻な健康被害が報告されています。これらのヒ素を含む農薬の使用は日本ではすでに禁止されていますが、世界ではいまだに使用されている地域があります。日本での事例としては、宮崎県土呂久鉱山および島根県笹ヶ谷鉱山で鉱石からの亜ヒ酸の製造によって環境汚染がおこり、住民に慢性ヒ素中毒がおこっていたことが 1970 年代初めに報告されています。

また現在大きな環境問題の一つになっているのが、バングラデシュとその周辺地域や台湾、中国など世界各地で発生している井戸水の無機ヒ素汚染です。バングラデシュの例では、1970 年代からため池などの表層水よりも「衛生的」な水を得るために井戸を掘って地下水を利用し始めたところ、その水に地層から高濃度の無機ヒ素の混入があり、健康被害が発生しています。濃度の高いところでは、1 mg/L 以上のヒ素が検出されています。しかし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。また井戸水の過剰なくみ上げなどが地層中のヒ素の地下水への溶出を促進することによってヒ素汚染を拡大させることから、ヒ素による健康被害

は今後さらに広がる可能性も指摘されています。

我が国では、水道水についてはヒ素（ヒ素およびその化合物）に対して水道法水質基準値（0.01 mg/L）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かっています。また日本人はヒ素の含有量が高い海藻や魚介類を食する習慣があることから諸外国と比較してヒ素を多く摂取しており、一部の高曝露群では健康に悪影響を及ぼしうる量のヒ素を摂取している可能性も指摘されています。

このようにヒ素は私たちの身の回りに常に存在し、健康被害をおこしうる元素です。このような状況から、ヒ素の健康へのリスクを評価するために、曝露の実態調査や、また生体への影響を評価するために必要な毒性メカニズム研究や代謝機構の研究がさらに必要であると考えられています。

私たちは先導研究プログラム「小児・次世代環境保健研究プログラム」をはじめとしたプロジェクトにおいて、ヒ素の健康影響に関する研究を進めています。特に、胎児期などの発達期は化学物質に対する感受性が高いことが示されており、この時期の曝露が生まれた子の成長後に生涯にわたる影響をもたらすことや、さらに継代的に影響を及ぼすことが懸念されています。このような現象には「エピジェネティクス」という遺伝子機能の調節機構が関係することが明らかにされつつあります。私たちは特にこれらの新たな問題に着目し、ヒ素の作用メカニズムの解明を目指して研究を行っています。本特集号では、ヒ素の発がん増加作用について、エピジェネティクスの関与に着目した研究を【シリーズ先導研究プログラムの紹介】で紹介します。また、ヒ素が「細胞老化」という現象を引き起こすことが免疫系の抑制につながることを明らかにした研究を【研究ノート】で紹介します。これらのヒ素の毒性や生体影響は、実はヒ素の化学形態によって大きく異なります。この点については【環境問題基礎知識】で詳しく解説しました。

これらの研究結果からヒ素が生体にいかに作用す

るかを明らかにすることによって、ヒ素の健康影響をより確実に把握することが可能になります。そこから、ヒ素の悪影響を効果的に防ぐ方法へとつなげていきたいと考えています。

(のはら けいこ、環境健康研究センター長)

執筆者プロフィール：

スポーツ観戦が好きで、テレビで見かけるとほぼどの競技でもはまります。最近では研究室や身の回りのアスリートたちの筋肉論がおもしろいです。



【シリーズ先導研究プログラムの紹介：「小児・次世代環境保健研究プログラム」から】

妊娠期ヒ素曝露の後発影響に関連する DNA メチル化変化

鈴木 武 博

はじめに

妊娠期や乳幼児期にあたる発達期の環境が、成人後の疾患リスクに影響を与えるという概念である DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 説が注目されています。これまでに、発達期での低栄養による発育遅延が、心疾患、糖尿病をはじめとする生活習慣病、発がん等のリスクを増加させることが報告されています。このような後発的な影響を引き起こすメカニズムのひとつとして、DNA メチル化をはじめとするエピジェネティクスという分子機構が関与していると考えられています。小児・次世代環境保健研究プログラムのサブテーマ 1 では、妊娠期ヒ素曝露による成長後の肝臓腫瘍の増加に関連する DNA メチル化変化およびそのメカニズムを解明することを目的に研究を行っています。本稿では、多くの方が聞きなれない言葉と思われる「エピジェネティクス」の用語の簡単な説明とともに、現在までに行っている研究をご紹介します。

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付加されたものについての学問」「従来の遺伝学の上にあるもの」などという概念から、DNA の塩基配列の変化をとまわずに、遺伝子のはたらきをオンやオフにする現象の総

称として使われており、多くの環境因子の影響を受けやすいことが報告されています。エピジェネティクスを制御する分子メカニズムの 1 つに「DNA メチル化」があります。

DNA メチル化と DNA メチル化マーカー

DNA は、アデニン (A)、チミン (T)、グアニン (G)、シトシン (C) という 4 つの塩基で構成されています。この 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 CG 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 (図 1)。DNA 配列のなかには、CG 配列が集まって密に存在する領域があり、この領域のことを CpG island とよびます。CpG island の DNA メチル化は、遺伝子が働き始める過程に深く関与することがわかっています。

DNA のメチル化は、個体発生や細胞分化の過程を

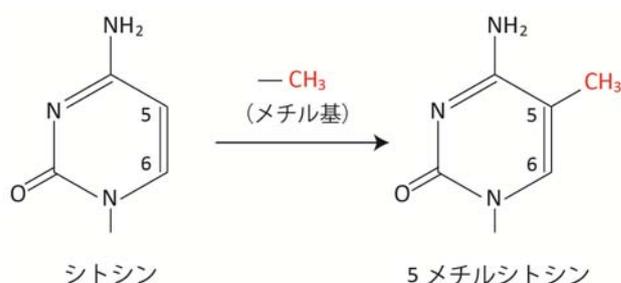


図 1 DNA メチル化反応

DNA メチル化とは、シトシンの 5 位の炭素に -CH₃ という分子 (メチル基) がつく反応のことを指します。

特集 ヒ素の健康影響研究

はじめとし、生物にとって必須なメカニズムのため、DNA がメチル化されることが悪影響を及ぼすということではありませんが、何かの原因で、正常な DNA メチル化状態が維持できなくなると、さまざまな疾患につながるということがわかってきています。さらに、DNA メチル化変化は、突然変異よりも頻度が高く、誘発要因や生体内組織により特異的で蓄積性があります。したがって、それぞれの疾患において DNA メチル化状態が変化する領域を明らかにできれば、その領域の DNA メチル化変化を疾患のマーカーとして使用できる可能性が高いと考えられます。

マーカーとしての DNA メチル化変化は、DNA がメチル化しているか否かだけではなく、DNA メチル化の程度（DNA メチル化の割合；DNA メチル化レベル）も重要であることがわかってきています。これは、メチル化の程度が、疾患のリスクと対応することが明らかになってきているからです。さらに、DNA メチル化変化は、前述したように環境要因の影響を受けやすいことも報告されているため、化学物質の曝露影響評価などに応用するための研究も盛んに行われており、CpG island 以外でも喫煙などとの相関が高い DNA メチル化変化が報告されています（図 2）。

妊娠期ヒ素曝露により増加した肝臓腫瘍における DNA メチル化変化

ヒ素は発がん物質であり、妊娠期から小児期にヒ素を摂取すると、成人後に皮膚、膀胱、肝臓などで発がんを増加させることが疫学研究により明らかに

されています。ヒ素による発がんメカニズムの詳細は明らかにされていませんが、近年、ヒ素による発がんにはエピジェネティックなメカニズムの関与が示唆されています。

アメリカの Waalkes らグループは、オスが肝臓腫瘍を発症しやすい系統である C3H マウスを使用したヒ素発がんの実験系を報告しました。これは、C3H マウスの妊娠 8 日から 18 日の 10 日間のみ 85 ppm の亜ヒ酸ナトリウム (NaAsO₂) を含む水を自由に摂取させると、生まれたオスの仔が 74 週令において、対照群と比較して肝臓腫瘍の発症率が増加するという実験系です（図 3）。肝臓腫瘍の発症率が増加する、という現象について注意していただきたいことは、妊娠中にヒ素を摂取したマウスから生まれた仔がすべて肝臓腫瘍を発症するのではなく、肝臓腫瘍を発症しない仔もいること、また、前述したように、もともと肝臓腫瘍を発症しやすいマウスですので、ヒ素を摂取していないマウスから生まれた仔も肝臓腫瘍を発症するということです。私たちはこの実験系を用いて、妊娠中にヒ素を摂取したマウスの仔（ヒ素群）およびヒ素を摂取していないマウスの仔（対象群）から、腫瘍がない肝臓、腫瘍がある肝臓の腫瘍部と非腫瘍部を分けて採取し、対照群腫瘍部と比べてヒ素群腫瘍部で DNA メチル化が大きく変化する CpG island の領域を、さまざまな手法を用いて探索しました。その結果、がん遺伝子として知られている *Fosb* 遺伝子領域を同定することができました（図 4）。以上の結果から、*Fosb* 遺伝子領域の DNA メチル化は、ヒ素が原因で発症した腫瘍とその他の

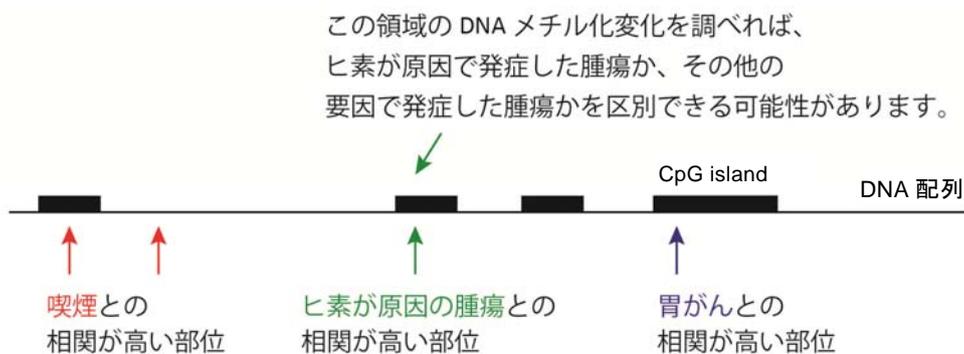


図 2 DNA メチル化マーカーのイメージ図
疾患と対応する DNA メチル化変化領域は、その疾患の DNA メチル化マーカーとして使用できる可能性があります。

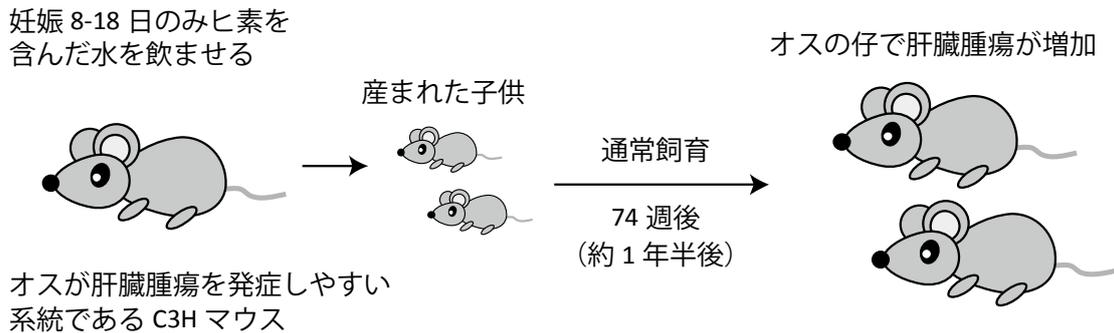


図 3 ヒ素による肝臓腫瘍増加の実験系

オスが肝臓腫瘍を発症しやすい系統である C3H マウスの妊娠 8 日から 18 日の 10 日間のみ 85 ppm の亜ヒ酸ナトリウム (NaAsO₂) を含む水を自由に摂取させると、生まれたオスの仔が 74 週令において、対照群と比較して肝臓腫瘍の発症率が増加しました。

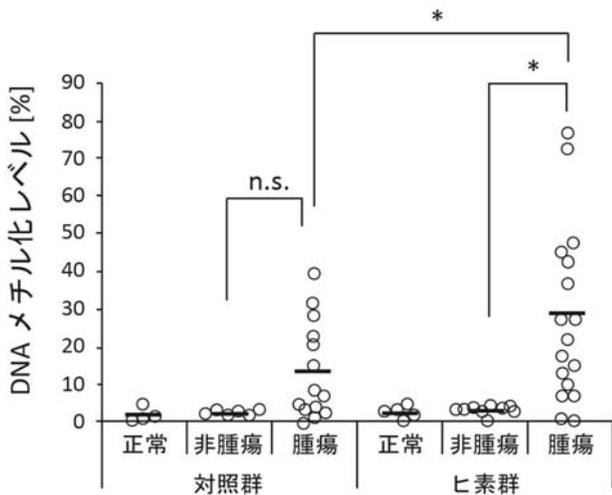


図 4 Fosb 遺伝子領域の DNA メチル化レベルの変化

○は測定したサンプル、太い横線はメチル化レベルの平均値、*は統計的有意差あり、n.s.は統計的有意差なし、を示します。縦軸のメチル化レベルは、値が大きいほどメチル化されている割合が高いことを示すので、Fosb 遺伝子領域は、対照群の腫瘍部と比較して、ヒ素群の腫瘍部でメチル化レベルが高いことがわかりました。

要因で発症した腫瘍を区別可能な DNA メチル化マーカーとして使用できる可能性が示唆されました。

おわりに

エピジェネティックなメカニズムの重要な特徴の一つに、化学物質の曝露や生活環境など、環境要因の変化が反映されやすいことが挙げられます。DNA メチル化変化は、すでに疾患のマーカーとして診断や治療への応用が開始されていますが、環境要因変化のマーカーとしての応用可能性も期待されていま

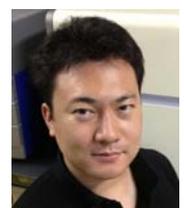
す。現在、私たちは、バングラデシュの研究者との共同研究において、ヒトを対象にしたヒ素曝露の DNA メチル化マーカーを探索する目的で、ヒ素汚染地域と非汚染地域の住民の血液 DNA を用いて、特定領域のメチル化変化と、飲水中のヒ素濃度、生体中のヒ素濃度、その他の因子とに連関があるかどうかの検討を開始しています。予備的な検討においては、血液 DNA の特定領域の DNA メチル化と、飲水中や生体中のヒ素濃度に有意な連関があることを明らかにしており、今後さらに検体数を増やし、疾患との連関も含めて詳細な解析を行う予定です。

現在、国立環境研究所では、環境要因が子どもの成長・発達に与える影響を明らかにするための大規模な疫学調査「子どもの健康と環境に関する全国調査」(エコチル調査)が行われています。私たちは、環境要因の変化が誘導した疾患の治療や予防につながるような新たな DNA メチル化変化領域を探索し、将来的にエコチル調査に資する実験的データの蓄積に貢献していきたいと考えています。

(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)

執筆者プロフィール:

数年前の国環研ニュースのプロフィール写真をみて、現在とあまりに変化が大きくがっかりしました。小さいころから続けているバイオリンの音色にはあまり変化がなく残念なのですが、たまに弾いて気分をリフレッシュしています。



【研究ノート】

長期間の無機ヒ素曝露によるリンパ球での細胞老化の誘導

岡村 和幸

はじめに

環境化学物質であるヒ素は、古くは暗殺のための道具（現代では容易に検出できるため患者の毒と呼ばれています）や化学兵器（ジフェニルアルシン、トリクロロアルシン）として使用されてきました。現在私たちの身の回りでは、ヒ素は一部地域の地下水、石炭、温泉水中に存在するほか、ガラスの消泡剤、魚、米、海藻中に含まれ、急性前骨髄性白血病の治療薬としても使用されています。特に無機ヒ素による地下水汚染は、バングラデシュ、中国を初めとするアジア諸国やアルゼンチン、チリなど世界各国で深刻な健康被害を引き起こしています。具体的には、無機ヒ素が含まれる地下水を継続的に摂取することで慢性ヒ素中毒がおり、その症状として皮膚の色素脱色や角化症、皮膚、肺、肝臓など各臓器の発がん、免疫抑制が知られています。

私は慢性ヒ素中毒による症状の中でも、免疫抑制の機序を研究してきましたので、今回はその成果をご紹介します。免疫はウイルスや細菌など、生体が異物と判断するものから身を守るために必要な生体のシステムです。その種類は大きく分けてふたつあり、特異性は高くはないですが異物に対してすぐに反応する自然免疫と、異物の特徴を認識して特異的に反応する獲得免疫があります。ヒトを含む脊椎動物は特に獲得免疫を発達させてきましたが、この際重要な役割を果たすのがリンパ球です。成熟したリンパ球は「抗原」として認識した異物によって刺激され、活性化、増殖をし、炎症性サイトカインや、それぞれの抗原に特異的に反応する「抗体」というタンパク質を産生し、生体を守ります。このリンパ球の増殖が抑制されると、免疫抑制につながります。私達の研究室ではこれまでに、無機ヒ素曝露による免疫抑制の作用機序として、リンパ球の増殖抑制が関与することをマウスの実験で明らかにしています。そこで、どのように増殖抑制がおこるのか、さらに詳細なメカニズムの検討を行うために研究を行いました。

長期ヒ素曝露により誘導されるリンパ球の細胞老化

細胞は細胞周期を繰り返すことで増殖します。細胞周期は DNA 合成準備期の G0/G1 期、DNA 合成期の S 期、分裂準備期の G2 期、分裂期の M 期に分類され、G0/G1 期 → S 期 → G2 期 → M 期 → G0/G1 期・・・と繰り返されます。この繰り返しの途中で何か所かチェックポイントがあり、分裂に不適と判断された細胞は、途中で細胞周期が停止することがあります。また、細胞内の DNA 量は、G0/G1 期を 1 とすると、S 期の間に 1 から 2 に増え、G2/M 期では 2 の状態を保ちます。M 期に細胞が分裂すると、1 細胞あたり DNA 量は 1 に戻り、細胞周期は G0/G1 期に戻ります。これまでに当研究室において、リンパ球はヒ素が含まれる培地で 24 時間培養すると細胞周期進行が阻害され、G0/G1 期の停止によって細胞の増殖が抑制されることを明らかにしました。しかし、慢性ヒ素中毒は長期間の継続した曝露によっておこるので、その機序を明らかにするためには細胞への曝露実験においても長時間の曝露が必要であると考えました。そこで、これまでの 24 時間よりも長い 8 日間、14 日間のヒ素曝露（長期ヒ素曝露）実験を行い、24 時間曝露の結果と比較しました。

その結果、長期ヒ素曝露によって、24 時間ヒ素曝露の際に観察された G0/G1 期での細胞周期の停止が顕著になりました（図 1a）。また、顕微鏡観察によって細胞の形態を経時的に観察したところ、24 時間曝露では曝露なしと比較して形態学的な変化は全く見られませんでした。長期ヒ素曝露によって細胞の巨大化や扁平化が観察されました（図 1b）。これらの特徴は不可逆的な細胞増殖の停止である細胞老化（セネッセンス）の特徴と一致していました。さらに、その後の研究で長期間ヒ素曝露でのみ各種の細胞老化マーカーが検出されることを明らかにしました。以上のことから、リンパ球への長期ヒ素曝露は細胞老化を誘導することが示されました。

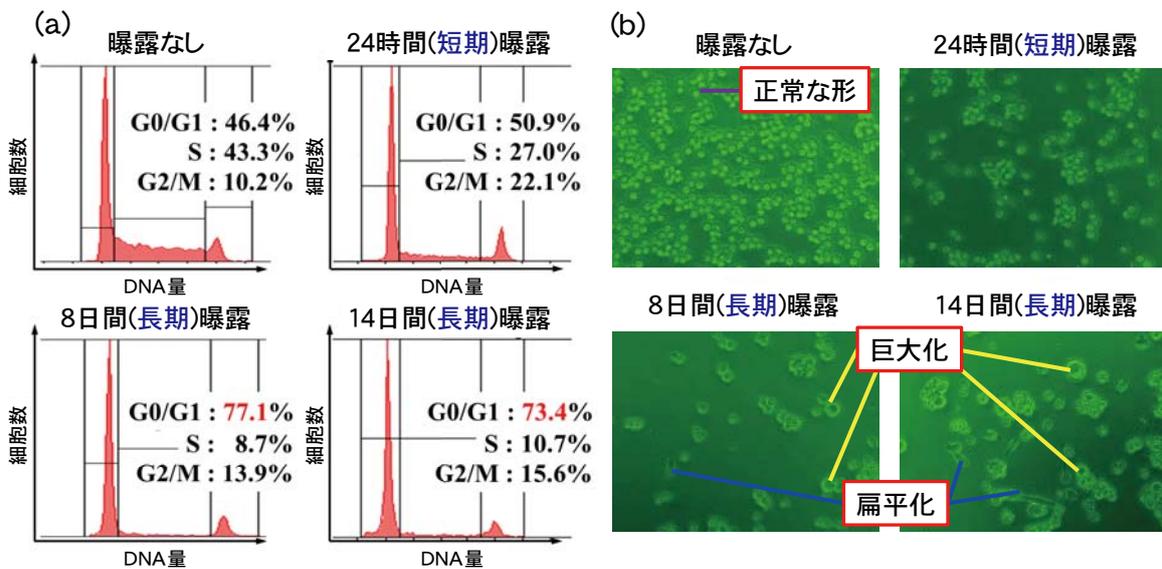


図 1 長期ヒ素曝露によるリンパ球の G0/G1 期増加と形態学的変化

- a) リンパ球における長期ヒ素曝露による顕著な G0/G1 期停止の増加
縦軸は細胞数、横軸は DNA 量です。細胞内の DNA 量が異なることを利用して細胞周期を測定しており、細胞周期が停止すると、停止した期の細胞の割合が増加します。リンパ球へ長期 (8, 14 日間) ヒ素曝露を行うと、短期 (24 時間) 曝露よりも顕著な G0/G1 期の停止が観察されました。
- b) 長期ヒ素曝露による形態学的変化
長期 (8, 14 日間) ヒ素曝露を行うと、短期 (24 時間) 曝露では見られなかった細胞の巨大化や扁平化といった形態学的な変化が観察されました。

長期ヒ素曝露によるリンパ球の DNA 損傷誘導

次に、長期ヒ素曝露によってどのようなメカニズムで細胞老化が誘導されるか検討を行いました。細胞老化は大きく分けて「複製老化」と「早期細胞老化」に分類されます。前者は生殖細胞を除くすべての体細胞において、細胞分裂に伴って DNA の染色体末端に存在するテロメアと呼ばれる TTAGGG (哺乳類の場合) の繰り返し配列が短縮し、ある程度まで短くなると増殖を停止する現象です。後者は、酸化ストレスや DNA 損傷によって、テロメア短縮による増殖停止がおこるよりも早期の段階で増殖の停止がおこる現象です。今回観察された現象は、ヒ素曝露を行った細胞では、ヒ素曝露を行わなかった細胞よりも細胞分裂の回数は少ないにもかかわらず、細胞老化がおこったことから、早期細胞老化であると考えられます。ヒ素は他の細胞において DNA 損傷を引き起こすことが報告されていたので、細胞老化を誘導する要因として特に DNA の損傷に着目しました。DNA の損傷が誘導される場合には、DNA の損傷を誘導する因子が増強すること、もしくは DNA の損傷を修復する能力が低下することが要因として

考えられます (図 2a)。そこで、DNA の損傷を誘導する要因として、DNA 脱アミノ化酵素に着目しました。脱アミノ化酵素は DNA の塩基配列のうち、シトシンを脱アミノ化によってウラシルに変えてしまう酵素です。ウラシルに変わった塩基は、DNA が複製される時に相補鎖側にアデニンが結合し、さらにもう一度複製がおこるとアデニンの相補鎖側にチミンが結合するので、結果としてシトシンからチミンへの塩基置換 (DNA 損傷のひとつ) が起こります。この脱アミノ化を誘導する酵素のうち Aid と Apobec1 と呼ばれる遺伝子の発現変化を観察しました。その結果、どちらの酵素も長期間のヒ素曝露によって、顕著に遺伝子発現量が増加することが明らかになりました (図 2b)。一方、DNA の損傷修復に関しては、脱アミノ化による DNA 損傷に対して修復を行う Ung, Tdg, Ape1 と呼ばれる遺伝子についても発現量を検討しました。その結果、ヒ素曝露を行うことによって発現が抑制されることがわかりました (図 2c)。これらの変化はヒ素曝露 24 時間の段階から観察されていました。

以上のことから長期ヒ素曝露によってリンパ球は、

特集 ヒ素の健康影響研究

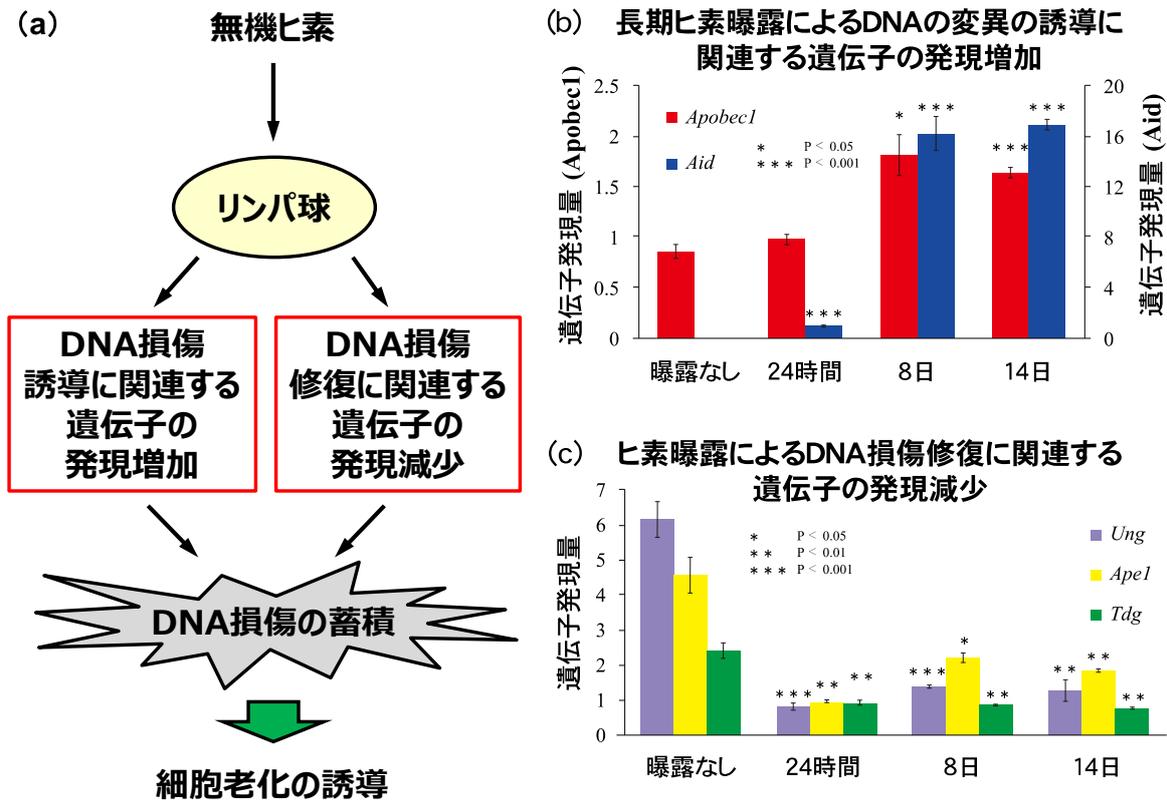


図2 リンパ球における長期ヒ素曝露による DNA 損傷の誘導
 (a) 長期ヒ素曝露による DNA 損傷を介した細胞老化誘導のイメージ図
 (b) ヒ素曝露による DNA 変異の誘導に関連する遺伝子の発現増加
 (c) ヒ素曝露による DNA 損傷修復に関連する遺伝子の発現減少

まず DNA 損傷修復能力が低下し、その状態において後に DNA 損傷を誘導する因子が増加することで、DNA の損傷がおき、細胞老化が誘導されることが示唆されました。

おわりに

本研究では、長期ヒ素曝露によってリンパ球で細胞老化がおこるといふヒ素の新たな作用機構を明らかにしました。細胞老化は自身の増殖を停止しますが、近年細胞老化をおこした細胞が、炎症性サイトカインなどを産生し、その刺激によって周囲の細胞をがん化させることが報告されています。私たちの研究室では、現在胎児期ヒ素曝露によって生まれた仔が成長後に肝腫瘍を高率に発症するという現象の機序を研究しています。その腫瘍形成の際に細胞老化マーカーが増加する結果が得られていますので、細胞老化の腫瘍増加における役割についてさらに詳細に検討したいと考えています。

また、その言葉から細胞老化は年齢を重ねた場合にしかおきない現象と考えられがちですが、実は胎児期の発達過程でも同様の現象がおこることも報告され始めています。様々な環境化学物質が細胞老化の誘導に寄与する酸化ストレスや DNA 損傷を引きおこすことが報告されています。そこで、環境化学物質により攪乱された細胞老化機構が、生体における疾患とどのように関連しているか将来的に明らかにしていきたいと考えています。

(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)

執筆者プロフィール：

物理学科から分子生物学の扉を叩いてから今年で7年目。まだまだ勉強不足ですが、衰え気味の体力を趣味のバドミントンの頻度を少し(?) 上げることでカバーしつつ、日々気持ちを新たに頑張りたいと思うアラサーです。



【環境問題基礎知識】

ヒ素化合物の化学形態と生体影響

小林 弥 生

ヒ素の毒性が高いことは古くから知られており、古代ギリシアや古代ローマ時代にすでに暗殺や自殺に用いられていたと言われていました。日本でも、森永ヒ素ミルク中毒事件や和歌山毒物カレー事件等のヒ素中毒事件が起こっています。一方で、毒と薬は表裏一体と言われるように、古くから農薬、医薬品として使用されてきました。中国医学では、硫化ヒ素化合物が解毒剤や抗炎症剤として製剤に配合され、有機ヒ素化合物であるサルバルサンは、ペニシリンが発見される以前は梅毒の治療薬として用いられました。最近では、2004年に無機ヒ素化合物である亜ヒ酸製剤が白血病治療薬として厚労省より承認され、再発又は難治性の急性前骨髄球性白血病に使用されています。また、有機ヒ素化合物のダリナパルシンは、末梢性T細胞リンパ腫治療薬として米国で実施された第II相臨床試験において、リンパ腫、特に再発・難治の末梢性T細胞リンパ腫に対する有効性が示されました。ヒ素は地殻中に広く分布しており、火山活動等の自然現象や微生物による土壌からの溶出等の生命現象により環境中に放出される為、土壌や水中には天然由来のヒ素が含まれています。ヒ素は単体ヒ素、無機（炭素を含まない）および有機（炭素を含む）ヒ素化合物として自然界に存在しているため、水、土壌、大気、食品中にも存在し、我々は食品や飲料水から日々ヒ素化合物を体内に摂取し、代謝および排泄しています。ヒ素の毒性は、一般的には有機ヒ素化合物よりも無機ヒ素化合物の方が、また5価よりも3価ヒ素化合物の方が高いことが知られています。このように、ヒ素の毒性はその化学形態により大きく異なるため、生体への影響を評価するためには、ヒ素の総濃度だけでなくヒ素の化学形態を明らかにすることが重要となってきます。

図1に自然界および生体内に存在するヒ素化合物の一部を示しました。食品中には無機および有機ヒ素化合物が含まれています。特に魚介類や海藻類は陸上生物よりも高濃度のヒ素を含んでいます。しかし、魚介類や海藻を好んで食する習慣をもつ我々日

本人において、これらの海産物摂取によるヒ素中毒事例は現在のところ報告されていません。それは、魚介類には主にアルセノベタイン、海藻類には主にアルセノシュガーといった、無機ヒ素化合物よりも毒性の低い有機ヒ素の形態で海産物中に存在しているからです。例えば、1985年に発表された Kaise らによるマウスをもちいた急性毒性試験（急性毒性の強さの尺度として LD₅₀（50%致死量）が用いられる）の結果によると、三酸化二ヒ素（水溶液中では水和して3価無機ヒ素（亜ヒ酸; iAs^{III}）として存在します）の LD₅₀ は 34.5 mg/kg、一方で有機ヒ素化合物であるアルセノベタインは 10 g/kg 以上の経口投与群でも死亡がみられませんでした。1983年に Vahter らは、ヒトにおいて投与されたアルセノベタインの大部分が48時間以内に尿中に排泄されることを報告しています。しかし、有機ヒ素化合物であるアルセノシュガーの毒性や体内動態に関する情報は、無機ヒ素化合物に比べて限られています。2005年に報告された Raml らの研究によると、アルセノシュガー（oxo-Gly）（図1アルセノシュガー骨格中の R₁ が OH、R₂ が OCH₂CH(OH)CH₂OH）をヒトに経口投与した場合、投与したヒ素の81%が尿中に排泄され、少なくとも12種類のヒ素代謝物が検出されました。細胞を用いたアルセノシュガー（oxo-Gly）の毒性試験はいくつか報告があり、いずれも無機ヒ素化合物より毒性が低いことが報告されていますが、アルセノシュガーは異なる側鎖を持った化学種が存在するため、それらの毒性や体内動態など不明な点が多く残されています。

飲料水には主に無機ヒ素化合物が含まれています。生体内に摂取された無機ヒ素化合物はメチル化代謝されて、主として有機ヒ素化合物である5価のジメチルアルシン酸（DMA^V）やモノメチルアルソン酸（MMA^V）として尿中に排泄されます。米国国立労働安全衛生研究所が1976年に公表したラットを用いた毒性試験では経口投与で iAs^{III}では LD₅₀ が 41 mg/kg、MMA^Vでは 790 mg/kg、DMA^Vでは 2,600

特集 ヒ素の健康影響研究

mg/kg となっています。このように、尿中に排泄される MMA^Vや DMA^Vの毒性が iAs^{III}よりも低いことから、メチル化はヒ素の解毒機構であると考えられてきました。ところが、代謝の過程で生成する有機ヒ素化合物のモノメチルアルソナス酸 (MMA^{III}) やジメチルアルシナス酸 (DMA^{III}) の毒性が iAs^{III}よりも高いことが報告されたことから、近年、メチル化代謝はむしろ代謝活性化機構であると考えられるようになってきました。また、ヒ素汚染地域の住民の尿からはジメチルモノチオアルシン酸 (DMMTA^V) などの含硫ヒ素化合物が検出され、DMMTA^Vは5価の有機ヒ素化合物でありながら、無機ヒ素化合物よりも毒性が高いことが報告されています。この他にも、動物実験の結果から有機ヒ素化合物である3価ヒ素化合物ーグルタチオン抱合体が胆汁中に排泄されることが明らかとなっています。このように、高性能の分析機器の開発や分析技術の進歩から無機ヒ

素化合物の代謝過程において、生体内で様々な中間代謝物が生成することがわかってきました。

ヒ素の毒性はヒ素化合物の化学形態に依存することから、ヒ素による生体への影響を評価する上で、ヒ素の濃度だけでなく、化学形態も明らかにすることが重要となります。この目的に用いられるのが元素の化学形態別分析と言われる手法です。ヒ素の化学形態別分析には、高速液体クロマトグラムで試料中のヒ素化合物を分離し、元素を特異的にまた高感度に検出できる誘導結合プラズマ質量分析計に直接導入する手法が最も汎用性が高い分離・検出手段として使用されています。一方で、この手法は元素特異的に検出するため、標準物質のない未知の化合物の同定ができないことが最大の欠点です。この欠点を補い、未知の化合物を同定するために相補的に質量分析装置が用いられます。

近年、海産物から種々の脂溶性ヒ素化合物（アル

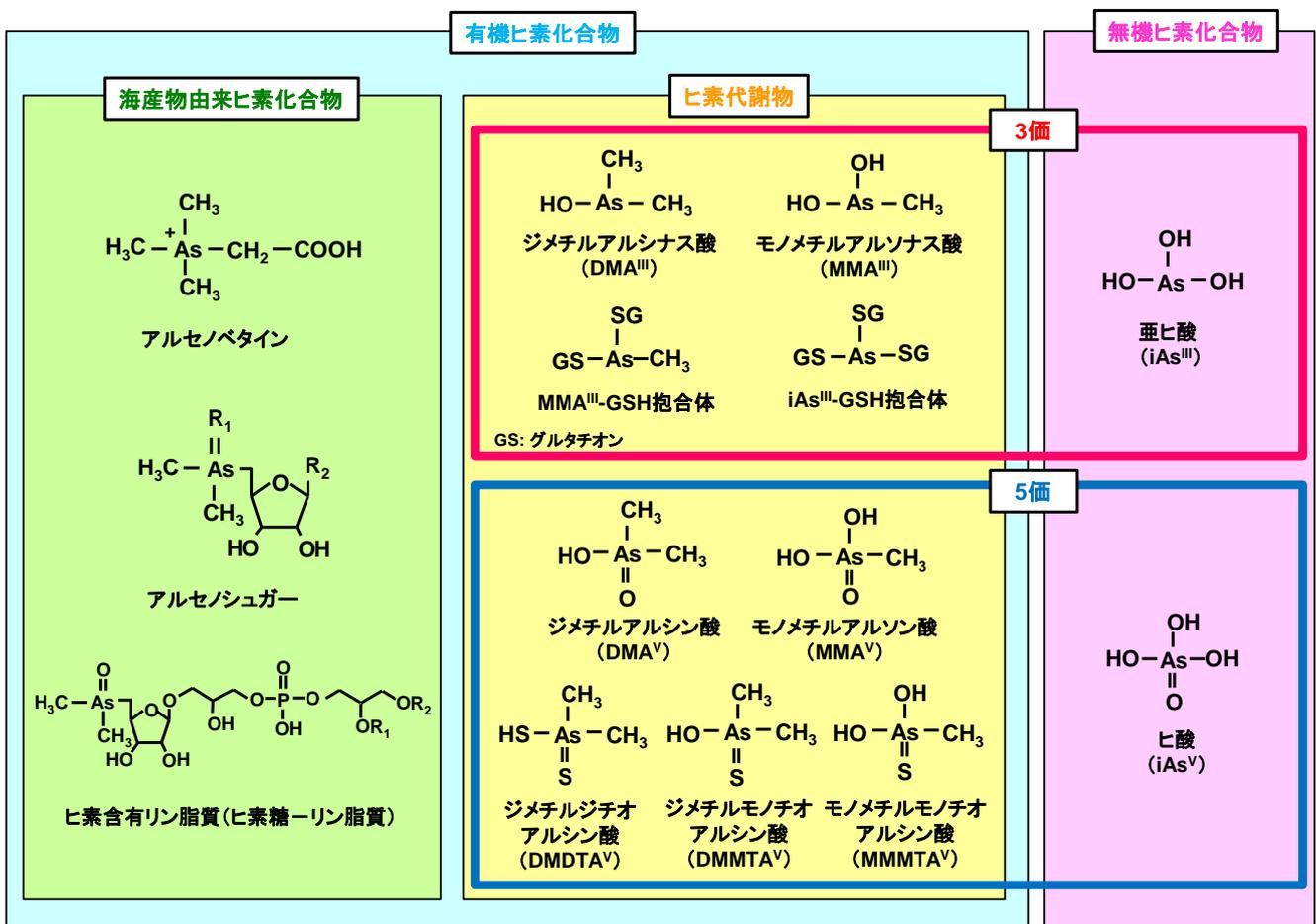


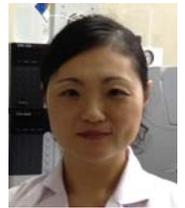
図1 自然界および生体内に存在するヒ素化合物の例示

セノリピッド)が報告されています。これらの中にはアルセノシュガーが結合しているリン脂質も報告されていることから、その生合成についても注目されています。しかしながらそれらの毒性に関しては現在のところ未解明です。ある種の海産物では、無視できない量のアルセノリピッドが含まれていることが報告されていることから、今後体内動態および毒性についての知見の蓄積、生体への曝露および影響評価が必要となります。

(こばやし やよい、環境健康研究センター
分子毒性機構研究室 主任研究員)

執筆者プロフィール：

ヒ素化合物の多様な化学形態と生体への作用の違いに興味を持ち早十数年。追いかければ追いかけるほど、知れば知るほど謎は深まるばかり。ころころ変化して気難しいけれど、気付いたらどっぷりとその魅力にはまっていました。



木漏れ日便り

トンボの幼虫はヤゴです。ヤゴは水中で暮らすので、トンボの親は水辺で産卵します。夏、研究所構内の池でもいろいろなトンボが見られます。一番よく見られるのはシオカラトンボ(写真①)。ショウジョウトンボは目玉から腹の先まで真っ赤です(写真②)。コシアキトンボは名前の通り、腰のところが白く抜けています(写真③)。ギンヤンマは池をグルグルと周回し続けて止まってくれないので、写真を撮るのに苦労します(写真④)。このほか、池の縁の植物に目を凝らすと、アオモンイトトンボ(写真⑤)やアジアイトトンボ(写真⑥)など細い体のイトトンボの仲間も見られます。(竹中明夫)



【シリーズ重点研究プログラムの紹介：「化学物質評価・管理イノベーション研究プログラム」から】

アポトーシス、反発性アポトーシスと脳の発達障害

石 堂 正 美

アポトーシスという言葉はギリシャ語に由来し apo（離れて）と ptosis（落ちる）の合成語で木の葉や花卉がおちるという意味をもち、一つの細胞死を表す言葉として 1972 年スコットランドの病理学者によって提唱されました。彼らがアポトーシスという細胞死を提唱する前まではネクローシス（壊死）という細胞死についての研究がなされてきました。正常な組織や器官が退縮するときや、発生過程の組織、病理的な組織変化などを顕微鏡による観察を通じてネクローシスとは異なる細胞死像に彼らは気付いたのです。彼らが提唱したアポトーシスという細胞死が俄然注目されることになったのは、アポトーシスに関連する哺乳類遺伝子が 1993 年に見つかったことに因ります。細胞の死の運命はもともとプログラムされているというのですから、強烈なインパクトを与えました。

一方で、重金属や化学物質による細胞レベルでの細胞死は従来ネクローシスとして研究されてきました。1950～60 年代に深刻化したイタイイタイ病の原因物質であるカドミウムも水俣病の原因物質であるメチル水銀も標的臓器の細胞をネクローシスにより損傷を与えるものとして研究報告されてきました。顕微鏡で見たネクローシスの形態変化は、細胞質の細胞小器官が膨らみ、細胞全体も膨らみやがて細胞の内容物が漏出するように観察されます。こうした背景の中、カドミウムの毒性を研究することになった筆者は、カドミウムによるアポトーシスの誘導を見出しました。ちょうど、1993 年のことで、発生学分野では個体発生におけるプログラムされたアポトーシス研究が急速な進展を見せた頃です。この新たな知見が国内外の毒性学分野を席卷したことを思いだします。1 つの重金属がアポトーシスとネクローシスを誘導しますが、重金属の毒性が弱いときや毒性発現の初期段階でアポトーシスが観察されると考えられており、DNA の断片化やクロマチンの凝縮が観察されます。したがって、今日では重金属に限らず化学物質の毒性の早期検出の指標としてのアポトーシスが活用されています。

さて、反発性アポトーシスは、筆者の造語で、英語は repulsive apoptosis として論文は受理されました。具体的には、神経系細胞が移動しているときナノ材料である銀ナノ粒子との接触によりアポトーシスが誘導され結果的に神経系細胞の移動が後退し、この時のアポトーシスを反発性アポトーシスと呼びました。この知見は、本重点プロジェクトにおいてナノ材料の神経系毒性評価を行った際に見出したものです。ナノは長さを表し (10^{-9}m)、この領域で行われている科学技術がナノテクノロジーですが、物理学的にも特異的な位置づけがなされています。これまでの物理学の成果は自然の普遍的構造の統一的理解ではなく、自然をサブ構造的に理解することでした。内容的には、古典力学、量子力学、熱力学そして統計力学といったものによりそれぞれの側面の普遍的構造が記述されてきました。ナノ領域はちょうど古典力学と量子力学の境界に位置し、量子力学的物性が表れはじめるとされ、新たな研究領域として注目され続けてきています。

ナノ材料では結晶のサイズが小さくなることにより、電子状態が変化し、通常の大きな物質にはないような性質が現れます。化学反応は、基本的に物質の表面で起こりますが、物質がナノサイズになることにより単位質量当たりの表面積が大きくなります。この比表面積の増大が化学的反応性を高めます。その他、小さくなることにより多くの物理化学的な変化が知られてきていますが、身体の中での生物学的な作用は必ずしも明らかになっていません。そこで、本プロジェクトでは神経系細胞の根幹と考えられている神経幹細胞を用いたニューロスフェア法で銀ナノ粒子の神経系発生毒性評価を行いました。

神経幹細胞は自己増殖能をもち、様々な神経系細胞に分化できる多分化能を有し中枢神経系の発生に重要な役割を演じています。脳・神経系が構築されるには、発生過程において神経系細胞が移動し精緻な組織構造を形成し、維持されることが必要です。胎児期から生後にわたるこうした組織構造、回路形成と維持に異常をきたすと、脳の発達障害を生じます。

はじめにラット胎生 15~16 日の中脳胞から神経幹細胞を単離し、その培養系を確立しました。中脳胞から取り出した神経幹細胞は、自己組織化により培養 7 日ぐらいから塊を形成しはじめ、2~3 週間で直径 100~200 ミクロンの球状の塊を形成します(これをニューロスフェアと呼びます)。今回は、このニューロスフェアを用いて実験を行いました。ニューロスフェアを培養系に静置すると、表面から細胞が飛び出てきます。ニューロスフェアが培養皿に接着していると、飛び出てくる細胞も底皿を外側に向かって移動していくことが観察されました。脳内の細胞移動と培養系の細胞移動が同義的とは考えにくいですが、現象的に模倣します。

次に、こうした系に銀ナノ粒子を曝露し、その影響を調べました。ある濃度以上の銀ナノ粒子を曝露すると、ニューロスフェアから移動してくる細胞が少なくなることに気づきました。細胞の移動距離を測定し、銀ナノ粒子濃度との関係を調べてみますと、直線関係を得ることができました。50%阻害率(IC₅₀)

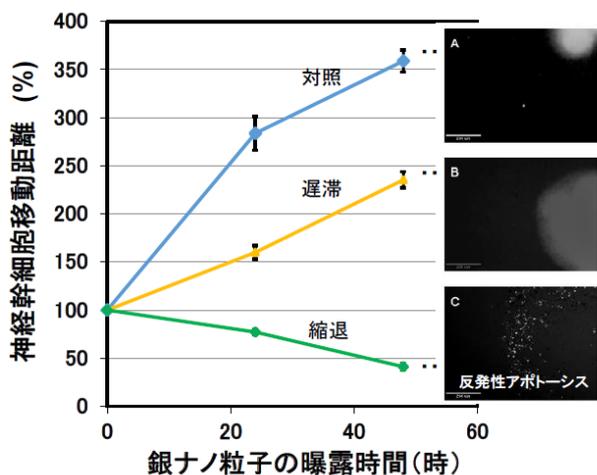


図 ニューロスフェアアッセイ法を活用した銀ナノ粒子の神経系発生毒性評価

左図：予め神経幹細胞が十分に移動した時点(100%)とし、銀ナノ粒子を曝露しない細胞や低濃度銀ナノ粒子(0.31 µg/ml)と高濃度銀ナノ粒子(2.5 µg/ml)をそれぞれ最大 48 時間曝露した細胞において、細胞の移動距離を測定した。その結果、対照細胞はさらに約 3.5 倍移動し続け(対照)、低濃度銀ナノ粒子の曝露では 2.3 倍に移動が遅くなり(遅滞)、高濃度銀ナノ粒子曝露では半分以下に後退した(縮退)。

右写真：アポトーシスが誘導されると断片化した DNA が標識される方法を用いて、それぞれの場合でのアポトーシス誘導の有無を調べてみると、縮退の時のみにアポトーシス誘導が観察された(写真 C)。スケール・バー 200 µm。

を見積もると、約 400 ng/ml でした。これは他の細胞を用いた研究報告よりも大変感度の良い評価系であることを示しています。

また、銀ナノ粒子を曝露する前に予めニューロスフェアから神経幹細胞を十分に移動させておき、それから銀ナノ粒子を曝露する実験を行いました。そうしますと、ある濃度以上の銀ナノ粒子は、移動した神経幹細胞のアポトーシスを誘導させることが明らかになりました(図)。結果的に移動した神経幹細胞が反発し縮退したかのようになります(反発性アポトーシス)。細胞骨格を調べてみますと細胞の形態が変化し、細胞内小器官の一つであるミトコンドリアの膜電位の異常も付随して観察されました。

一般的に、アポトーシスは不要になった細胞の除去機構として考えられてきました。近年ではアポトーシス現象に代償性増殖という現象が付随することがわかり、アポトーシスは損傷修復による恒常性の維持機構に関与していることが示唆され、その概念が拡張してきています。反発性アポトーシスの意義については現在のところ不明です。脳の形成にとって最も重要なことは組織構造と神経回路が精緻に形成されることです。そのために脳の中には誘導性因子や反発性因子が存在し正しいガイドがなされています。この類似性から、銀ナノ粒子には細胞移動に対して反発させる性質があることが示されたわけです。このことは、脳の発達過程で銀ナノ粒子が脳内に取り込まれたときに精緻な組織構造や神経系回路網が障害されることを容易に想像させます。

神経細胞移動障害として滑脳症や脳の発達障害が注目されてきており、実際、銀ナノ粒子を新生期の仔ラットの口に含ませると、脳の発達障害がみられることも私たちの研究からもわかってきました。この点の詳細はまたの機会に紹介したいと思います。

(いしどう まさみ、環境リスク研究センター 健康リスク研究室 主任研究員)

執筆者プロフィール：

学術的な情報が惜しみなく提供されているインターネットは新しい学びの場で、現代版リベラル・アーツになっています。閲覧フリーが多い中、書籍代の経費節約にはならず逆に出費がかさんでいますが、広く自然科学を学ぶための power on。



国立環境研究所 公開シンポジウム 2015 「最新技術で迫る環境問題—テクノロジーで環境を読み解く—」開催報告

国立環境研究所セミナー委員会

国立環境研究所では、毎年6月の環境月間に合わせて公開シンポジウムを開催しています。本年は、6月19日（金）メルパルクホール（東京都港区）において、また6月26日（金）には松下IMPホール（大阪市）において、公開シンポジウム2015「最新技術で迫る環境問題—テクノロジーで環境を読み解く—」を開催いたしました。東京会場では435名、大阪会場では253名の方々にお越しいただきました。スタッフ一同、心より御礼申し上げます。

今回のシンポジウムでは、現在明らかになりつつある身近な問題から地球規模の問題に対して、最新の科学的手法や技術（テクノロジー）を適応しつつ、問題や現象の把握、モデル化、解決への提案などの研究について、来場者の方々にはわかりやすくご報告いたしました。

おかげさまで講演会、ポスターセッションとも活発で有意義な意見交換を行うことができました。皆様からいただいた貴重なご意見は、今後の研究活動に大いに役立ててまいりたいと思っております。まことにありがとうございました。



東京会場

《講演の部》

当研究所の調査・研究の進捗状況や得られた成果を中心に、以下の5件の講演を行いました。

- 講演 1 「湖水から読み取る生き物情報 —環境DNAとその解析技術—」
生物・生態系環境研究センター 今藤夏子
- 講演 2 「ヒ素で呼吸する微生物 —土壌浄化技術への応用を目指して—」
地域環境研究センター 山村茂樹
- 講演 3 「有害化学物質と心の発達 —心の萌芽への影響を評価する—」
環境健康研究センター 前川文彦
- 講演 4 「カメラがとらえた摩周湖の底 センサーがとらえた摩周湖の水」
環境計測研究センター 田中 敦
- 講演 5 「多媒体モデルを用いて放射性物質の動きを予測する」
環境リスク研究センター 今泉圭隆



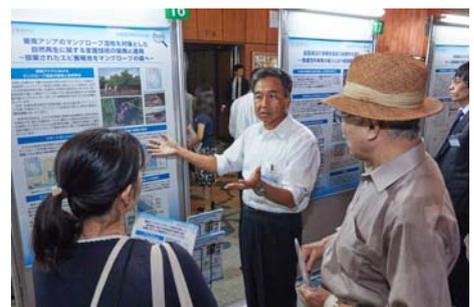
大阪会場

《ポスターセッション》

講演の前後にポスターセッションの時間を設けました。当研究所が取り組んでいます環境研究の最新の成果 19 課題についてパネルで展示し、研究担当者にご参加の皆様にご説明しました。

講演やポスターセッションの発表資料やビデオ映像については、当研究所のホームページにおいて公開しますので是非ご活用ください。

<http://www.nies.go.jp/event/sympo/2015/index.html>



ポスターセッションの様子

表彰

第 59 回日本応用動物昆虫学会賞

受賞者：五箇公一

受賞対象：Biosecurity measures to prevent the incursion of invasive alien species in Japan and to mitigate their impact (Rev.Sci.Tech., 29(2), 299-310, 2010)

受賞者からひとこと：この度、国立環境研究所生物多様性プロジェクト、環境省環境研究総合推進費、および農水省農林水産技術高度化事業等のプロジェクト研究として実施して参りました「特定外来生物セイヨウオオマルハナバチの生態リスク評価および対策」が当該学会の学会賞をいただけることとなりました。農業用生物資材として導入され国内のトマト生産にも多に貢献している外国産マルハナバチが野生化とともに在来種に悪影響を及ぼし、侵略的外来生物としてのレッテルが貼られ、農業 VS 環境という図式ができてしまった中で、我々研究チームは生態リスクを科学的に検証するとともに、その具体的管理対策を提言し、これらの成果に基づき、国内初の産業管理外来種として特定外来生物に指定されることとなりました。本研究課題を皮切りに当研究チームは、様々な外来生物研究を推進し、その成果は国際的な評価を受けるとともに、環境省をはじめとした様々な省庁の環境政策にも貢献を果たしてきました。今後も日本および世界の生物多様性保全を目指して生態リスク管理研究を発展させて参りたいと思います。

第 24 回地球環境大賞 審査員特別賞（フジサンケイグループ）

受賞者：町田敏暢

受賞対象：CONTRAIL プロジェクト

受賞者からひとこと：CONTRAIL プロジェクトチーム（国立環境研究所、気象研究所、日本航空、ジャムコ、JAL 財団）が、フジサンケイグループの主催する第 24 回地球環境大賞の特別賞を受賞しました。地球環境大賞は持続可能な社会の実現に寄与する技術・製品開発、環境保全活動・事業の促進、地球環境保全に対する意識の向上を目的とした活動を顕彰する制度です。CONTRAIL プロジェクトは、民間航空機を使った温室効果ガスの広範囲にわたる 3 次元分布とその長期変動の観測が地球規模での炭素循環メカニズムの解明に欠かせないデータを提供するなど、この分野での研究を支えていることが評価されました。授賞式は 2015 年 4 月 9 日に明治記念館にて行われ、臨席された秋篠宮ご夫妻からも激励をいただきました。

平成 26 年度一般社団法人日本リモートセンシング学会 優秀論文発表賞

受賞者：SHI YUSHENG、松永恒雄

受賞対象：High-resolution mapping of biomass burning emissions in Southeast Asia during 2001-2010

受賞者からひとこと：この度、バイオマス燃焼排出量の高解像度マッピングの研究で、日本リモートセンシング学会優秀論文発表賞を受賞したことは私にとって大変な名誉です。本研究では、2001 年から 2010 年の東南アジアのバイオマス燃焼について、1 km メッシュの高解像度で新たな排出インベントリを開発しました。このインベントリは、熱帯域の火災が炭素収支に及ぼす潜在的な影響の総合的な評価を可能にするものであると同時に、東南アジアの発展途上国が適切な地球温暖化の影響緩和策を策定するために必要な基盤的情報も提供します。また、これらの国々の政策立案者が陸域生態系の管理や大気汚染防止のガイドラインを立案する際にも本インベントリは役立つことでしょう。今後は地球温暖化や大気質に対するバイオマス燃焼排出の寄与に関する研究を進める予定です。

新刊紹介

国立環境研究所年報 平成 26 年度

本年報は、第 3 期中期計画（平成 23～27 年度）の 4 年目にあたる平成 26 年度の活動状況を取りまとめ、(1)環境研究の柱となる 8 つの研究分野、(2)緊急かつ重点的な対応が求められている課題、あるいは次世代の環境問題に先導的に取り組む課題を扱う 10 の課題対応型研究プログラム、(3)環境研究の基盤となる長期的な取り組みが必要な研究基盤の整備、(4)災害環境研究の研究成果を報告しています。また、本年報には、環境情報の収集・提供業務活動の概要、研究施設・設備の状況、研究成果発表、その他研究所の活動の全体像を知る上で役に立つ様々な資料が掲載されています。

○<http://www.nies.go.jp/kanko/nenpo/h26/h26all.pdf>



環境儀 No.57 「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～」

国立環境研究所では、国際資源循環研究として、国内外で発生し、国を越えて移動する使用済み電気製品 (E-waste) を対象として、フローや適正管理のあり方を調べ、政策提言を行ってきました。

また、アジア各国研究機関との共同研究により、アジア諸国の使用済み電気製品の処理状況とその健康や環境への影響などの調査研究にも取り組んでいます。

本号では、これらの研究活動と研究成果を紹介しながら、日本とアジアの使用済み電気製品の適正管理と資源循環について考えています。

○<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/57/02-03.html>



環境報告書 2015

本報告書は、2014 年度における国立環境研究所及びその職員が取り組んだ環境配慮や環境負荷低減等の活動状況を取りまとめたものです。「地球温暖化防止」や「循環型社会形成」などの環境配慮の項目ごとに、図表や写真等を用いつつ取組結果や取組内容を紹介するとともに、今後に向けた取組の概要も記載しています。

また、「環境コミュニケーション」の重要な手段の一つである環境報告書をより多くの方に読んでいただけるよう、本報告書は環境配慮等の活動状況の説明だけでなく、環境問題を研究している研究者によるコラムなど、研究所ならではの情報も広く紹介しており、読み物として楽しんでいただけるような構成になっています。

是非ご一読いただき、忌憚のないご意見をお寄せくださるようお願いいたします。

○<http://www.nies.go.jp/kankyokanri/ereport/2015.html>



編 集 後 記

子供のころ読んだ本に、太陽はしだいに膨張し、50 億年後には地球が飲み込まれると書かれていた。そのころは自分の人生がいつかは終わることを受け入れられていなかったのが、50 億年後であっても地球の終わりがあるというのがショックだった。何十億年生きるつもりだったのか。

それよりはずっと短い時間スケールだが、日本では平均して 1 万年に一回ぐらいの頻度で破局噴火と呼ばれる火山の大噴火があるという。最近では 7300 年前に鹿児島県南方沖で鬼界カ

ルデラ噴火があった。九州の縄文文化が壊滅し、関東でも 10 センチほども火山灰が積もったらしい。

いつかは死ぬと分かっている、生きていてうれしいと思いつつ日々を過ごしたい。自然や社会がいずれ壊滅的な打撃を受けるとしても、いま、この地上で暮らせてほしいと思いつつ日々を過ごしたいし、そう思える地上であってほしい。噴火警戒レベルが 3 に引き上げられた箱根でプチ夏休みを過ごしながら、そんなことを考えた。(T)

国立環境研究所ニュース Vol. 34 No. 3 (平成 27 年 8 月発行)

編 集 国立環境研究所 編集委員会
 ニュース編集小委員会
 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 番 2
 問合せ先 国立環境研究所情報企画室 pub@nies.go.jp

●バックナンバーは、ホームページからご覧になれます。
<http://www.nies.go.jp/kanko/news/>

無断転載を禁じます



この印刷物は、印刷用の紙へリサイクルできます。