

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32619

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H02962

研究課題名(和文) 重金属誘導性皮膚癌発症機構の解明と予知・予防への応用

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of heavy metal-induced skin cancer and its application to prediction and prevention

研究代表者

矢嶋 伊知朗 (Yajima, Ichiro)

芝浦工業大学・システム理工学部・教授

研究者番号：80469022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：全世界で2億人以上の人々がヒ素を含む重金属に汚染された飲用水を利用し、その多くが皮膚において良性疾患(黒皮症)・前癌状態(表皮過形成・角化症)・皮膚癌を発症し、極めて重大な問題となっているにも関わらず、効果的な予知・予防法は確立しておらず、早急の確立が求められている。この問題を解決するべくその端緒として曝露試験による新たなヒ素を含む重金属誘導性皮膚癌発症機構の解明を試みた。ヒ素を含む様々な重金属元素を単体及び複合形式での曝露し、新規関連分子を同定、それらの新たな機能を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究計画で着目している環境健康問題は対象が2億人以上であり、且つ世界の様々な地域で起きている問題についてその解決に取り組んでいる。今回得られた成果は、これまで不明だったヒ素を含む重金属誘導性皮膚癌発症機構の一部が解明されたことを意味しており、この機構をターゲットとして有効な予知・予防法の開発が期待される。このようなことから、本研究成果は学術的にも社会的にも非常に意義のある成果であると言える。

研究成果の概要(英文)：More than 200 million people worldwide have access to drinking water contaminated with heavy metals, including arsenic, and many of them have skin Benign diseases, premalignant conditions, and skin cancer may occur in the United States and are extremely serious. Despite the fact that this is a serious problem, effective methods of prediction and prevention have not yet been established and must be established as soon as possible. In order to solve this problem, it has been reported that heavy metal-induced skin cancer, including heavy metal arsenic, has been detected by new exposure tests. In order to solve this problem, we have been investigating a new type of arsenic-induced skin cancer (arsenic-containing skin cancer) by means of exposure tests. We attempted to elucidate the pathogenic mechanism of arsenic. By exposing various heavy metal elements, including arsenic, in both single and combined forms, we identified new related molecules and elucidated their new functions.

研究分野：毒性学および腫瘍学・発生生物学・皮膚科学

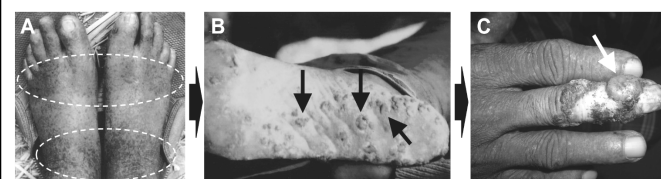
キーワード：ヒ素 メラノサイト 皮膚がん 重金属

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1) 東アジアを中心に、管井戸と呼ばれる飲用井戸水の多くがヒ素を含む重金属で高濃度に汚染されており、世界で2億人以上の人々が飲用水として利用することでヒ素による長期暴露のリスクに晒されている。バングラデシュでは、2500万人もの人々が慢性ヒ素中毒を発症していることが報告されている。慢性ヒ素中毒では、黒皮症(良性)→表皮過形成・角化症(前癌状態)→皮膚癌(悪性)(図1)という多段階で癌が発症している。井戸水汚染はヒ素だけでなく他の重金属に汚染され、且つ世界的規模の問題でもあるにもかかわらず、予知・予防に有効な知見はほとんど無い。

図1) 慢性ヒ素中毒による多段階発癌



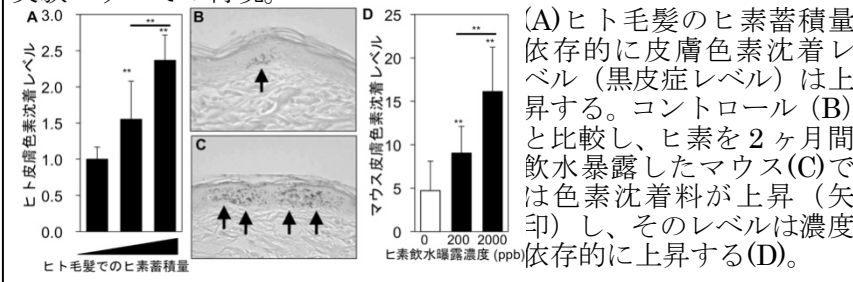
慢性ヒ素中毒患者では、黒皮症(A白破線部)→表皮過形成・角化症(B黒矢印)→皮膚癌(C白矢印)という多段階で癌が発症する。

2) 代表者はこれまでに、ヒ素曝露によってヒト尿中に分泌されるPIGFがヒ素誘導性皮膚癌発症機構に関与する因子であり、PIGFをバイオマーカーとした予知・予防法開発に寄与できることを発見した

(Yajima, et al., J Invest Dermatol, 2015¹⁾)。これは現在の研究アプローチ方法が重要な因子を発見・解析し、予知・予防に繋げるための極めて有効な手法であることを示しており、同様の方法でより多くの重要な因子の発見・解析を達成可能であると期待できる。また、代表者の予備的検討により、ヒ素汚染水を飲用しているバングラデシュ在住者のヒ素曝露レベル(毛髪内ヒ素含有量)依存的に黒皮症レベル(皮膚色素沈着量)が上昇していることが明らかとなった(図2A)。

また、実験マウスへのヒ素飲水曝露の結果、曝露濃度依存的にマウス表皮の色素沈着レベルが上昇(図2B-D)し、実験マウスでの黒皮症の再現に成功した。

図2) ヒトにおけるヒ素曝露レベル依存的色素沈着レベルの上昇と実験マウスでの再現。



(A)ヒト毛髪でのヒ素蓄積量依存的に皮膚色素沈着レベル(黒皮症レベル)は上昇する。コントロール(B)と比較し、ヒ素を2ヶ月間飲水曝露したマウス(C)では色素沈着料が上昇(矢印)し、そのレベルは濃度依存的に上昇する(D)。

この結果により、ヒ素誘導性多段階発癌の初期症状である黒皮症を実験的に再現することができると着想した。この再現システムに、代表者が開発したバイオマーカー探索の手法を取り入れることで、ヒ素誘導性の多段階皮膚癌発症機構全体を分子生物学的に解析し、より多くの関連分子の同定やその機能を解明することが可能になると考えた。

2. 研究の目的

全世界で2億人以上の人々がヒ素を含む重金属に汚染された飲用水を利用し、その多くが皮膚において良性疾患(黒皮症)・前癌状態(表皮過形成・角化症)・皮膚癌を発症(図1)し、極めて重大な問題となっているにも関わらず、効果的な予知・予防法は確立しておらず、早急の確立が求められている。代表者の予備的研究により、実験マウスにてその現象の一部を再現させることに成功し、いくつかの分子がこれらの現象に関与している可能性を示した。本研究では、これら新規モデルマウス及び新規関連分子の解析によってヒ素を含む重金属誘導性皮膚癌発症機構の解明を行うとともに、重金属中毒症の予知・予防への応用に向けた研究を行い、将来の予知・予防法開発に有用な知見を提供することを目的とする。

3. 研究の方法

実験マウスにおけるヒ素誘導性黒皮症の発症機構解析: ヒ素飲水曝露によってマウス皮膚に誘導された黒皮症の発症機構を、実験マウスを用いて分子生物学的に解析する。特にメラニン産生に関連することが報告されている分子ET-1, ET-2, ET-3, POMC, SCFに着目し、その分子機構を解明する。

培養細胞を用いたヒ素誘導性黒皮症発症の解析: 皮膚黒皮症は皮膚メラノサイトによるメラニン産生によって生じるが、皮膚でのメラニン産生刺激は、周辺に存在する角化細胞からの様々な刺激によって生じており、ヒ素誘導性黒皮症も角化細胞へのヒ素曝露が原因となっている可能性が高い。そこで、実験マウスにこの結果より得られた可能性の高い候補分子を初代培養正常ヒト皮膚メラノサイト(NHEM)に曝露し、分子機構の解明を行う。

4. 研究成果

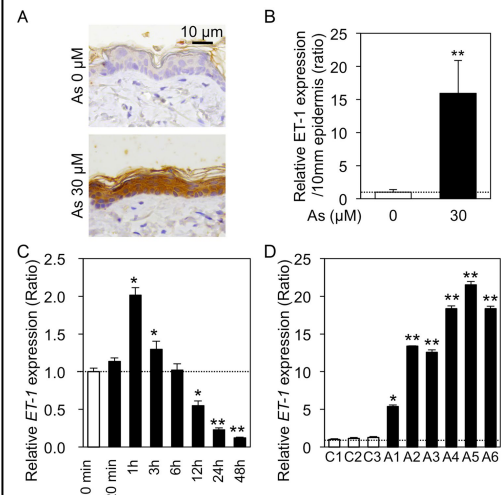
ヒ素曝露を行ったマウス上皮における免疫組織染色解析では、ET-1タンパク質の極めて強い発現上昇が観察された(図3A, B)。この発現上昇は、ヒ素曝露による皮膚メラニン沈着量の上昇が、ET-1の発現量上昇に起因している可能性を示唆している。より詳細な発現パターン解析を

行うため、ヒト正常皮膚角化細胞株 (HaCaT) へのヒ素曝露における ET-1 の発現解析を行った (図 3C, D)。HaCaT への短期的なヒ素曝露では、曝露後 1 時間で ET-1 発現量の上昇が認められるが、その後減少へと転じることが明らかとなった (図 3C)。一方、4 ヶ月間継続してヒ素を曝露し続けた HaCaT 細胞クローン (図 3D, A1-A6) 細胞は、コントロールクローン (図 3D, C1-C3) 細胞と比較して ET-1 発現量が有意に且つ強く発現していた。また、このクローン細胞では、ヒ素曝露中止後でも ET-1 の強い発現は維持されていた。この結果は井戸水の飲水のような長期間ヒ素に曝される状況では、特に ET-1 発現が強く誘導されることを示唆している。さらには、HaCaT 細胞への長期曝露を停止しても ET-1 発現は減少しなかったことから、たとえ井戸水の飲水を停止しても、その後の黒皮症の発症リスクは維持される可能性が高いことを示唆している。

メラニン産生を行う皮膚メラノサイトの、ヒ素曝露及び ET-1 投与における細胞増殖、メラニン産生量、関連遺伝子発現レベルを検証するため、初代培養正常ヒト皮膚メラノサイト (NHEM) にヒ素及び ET-1 を添加した (図 4)。ヒ素曝露は NHEM の細胞増殖を抑制するものの、ET-1 との同時曝露では増殖は活性化された (図 4A)。NHEM 細胞あたりのメラニン産生量は、やはりヒ素曝露によって抑制されたが、ET-1 との同時曝露によって産生量はコントロールと比べて大きく増加した (図 4B)。また、メラノサイトの増殖や生存、メラニン産生に重要な役割を果たす MITF 転写調節因子及びエンドセリンレセプター B をコードする MITF-M 及び EDNRB の発現量はヒ素による発現量の変化はないが、同時曝露によって発現量が上昇した (図 4C, D)。これらの結果は、ヒ素曝露そのものはメラニン産生やメラノサイトの増殖を抑制する方向に働くが、ヒ素曝露は近隣の細胞である角化細胞に対して ET-1 発現上昇を誘導する。角化細胞からの ET-1 発現上昇とレセプターである EDNRB の発現上昇 (メラノサイト) は、メラノサイト内での EDNRB を介したシグナル経路を活性化し、メラノサイトの増殖やメラニン産生に関連する多数の遺伝子の発現を制御する転写因子 MITF-M の発現量も上昇させる。その結果ヒ素による毒性よりも ET-1 によるメラノサイト増殖及びメラニン産生の活性化が引き起こされ、結果として皮膚でのメラニン沈着が亢進すると考えられる (Yajima, et al., Arch Toxicol. 2017²⁾)。

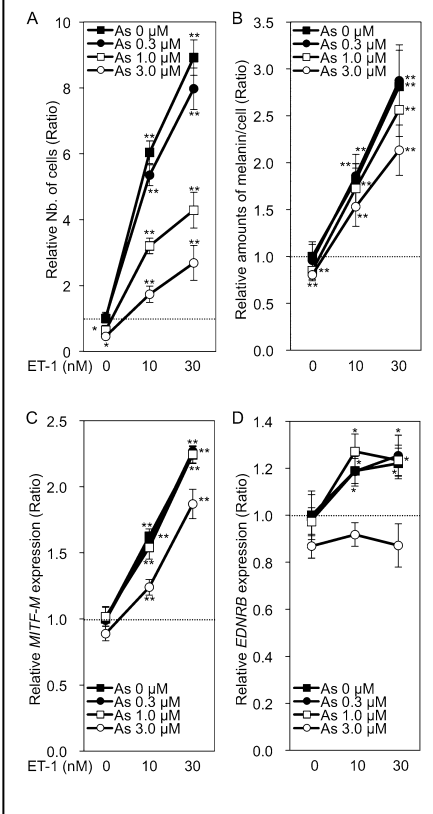
本研究成果はこれまで知られていなかった重金属誘導性皮膚疾患の一つである黒皮症の新たな発症機構を解明したものであり、ヒ素を含む重金属によって誘発される皮膚疾患の将来における予知・予防開発への貢献が期待される。

図 3) ヒ素曝露による ET-1 発現



マウスへのヒ素曝露後の ET-1 タンパク質の発現 (A) とその定量化。HaCaT 細胞への短期ヒ素曝露 (C) と長期曝露における ET-1 mRNA 発現量の変化。

図 4) 慢性 NHEM のヒ素曝露及び ET-1 処理による変化



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kato Masashi, Ohgami Nobutaka, Ohnuma Shoko, Hashimoto Kazunori, Tazaki Akira, Xu Huadong, Kondo-Ida Lisa, Yuan Tian, Tsuchiyama Tomoyuki, He Tingchao, Kurniasari Fitri, Gu Yishuo, Chen Wei, Deng Yuqi, Komuro Kanako, Tong Keming, Yajima Ichiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Multidisciplinary approach to assess the toxicities of arsenic and barium in drinking water	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12199-020-00855-8	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Al Hossain M.M. Aeorangajeb, Yajima Ichiro, Tazaki Akira, Xu Huadong, Saheduzzaman Md, Ohgami Nobutaka, Ahsan Nazmul, Akhand Anwarul Azim, Kato Masashi	4. 巻 229
2. 論文標題 Chromium-mediated hyperpigmentation of skin in male tannery workers in Bangladesh	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 611 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2019.04.112	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kato Masashi, Ohgami Nobutaka, Ohnuma Shoko, Hashimoto Kazunori, Tazaki Akira, Xu Huadong, Kondo-Ida Lisa, Yuan Tian, Tsuchiyama Tomoyuki, He Tingchao, Kurniasari Fitri, Gu Yishuo, Chen Wei, Deng Yuqi, Komuro Kanako, Tong Keming, Yajima Ichiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Multidisciplinary approach to assess the toxicities of arsenic and barium in drinking water	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12199-020-00855-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iida Machiko, Tazaki Akira, Deng Yuqi, Chen Wei, Yajima Ichiro, Kondo-Ida Lisa, Hashimoto Kazunori, Ohgami Nobutaka, Kato Masashi	4. 巻 235
2. 論文標題 A unique system that can sensitively assess the risk of chemical leukoderma by using murine tail skin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 713 ~ 718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2019.06.185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 He Tingchao, Ohgami Nobutaka, Li Xiang, Yajima Ichiro, Negishi-Oshino Reina, Kato Yoko, Ohgami Kyoko, Xu Huadong, Ahsan Nazmul, Akhand Anwarul Azim, Kato Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Hearing loss in humans drinking tube well water with high levels of iron in arsenic polluted area	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-45524-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yajima, I., M. Y. Kumasaka, M. Iida, R. Oshino, H. Tanihata, A. Al Hossain, N. Ohgami and M. Kato	4. 巻 91
2. 論文標題 Arsenic-mediated hyperpigmentation in skin via NF-kappa B/endothelin-1 signaling in an originally developed hairless mouse model.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Archives Toxicology	6. 最初と最後の頁 3507-3516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00204-017-1975-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohgami, N., R. Oshino, H. Ninomiya, X. Li, M. Kato, I. Yajima and M. Kato	4. 巻 11
2. 論文標題 Risk Assessment of Neonatal Exposure to Low Frequency Noise Based on Balance in Mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 e-pub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2017.00030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ilmiawati C, Thang ND, Iida M, Maeda M, Ohnuma S, Yajima I, Ohgami N, Oshino R, Al Hossain MM, Ninomiya H, Kato M.	4. 巻 14
2. 論文標題 Limited effectiveness of household sand filters for removal of arsenic from well water in North Vietnam.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Water Health	6. 最初と最後の頁 1032-1040
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohgami Nobutaka, Yajima Ichiro, Iida Machiko, Li Xiang, Oshino Reina, Kumasaka Mayuko Y., Kato Masashi	4. 巻 6
2. 論文標題 Manganese-mediated acceleration of age-related hearing loss in mice	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep36306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大神 信孝 (Ohgami Nobutaka) (80424919)	名古屋大学・医学系研究科・講師 (13901)	
研究分担者	吉永 雅史 (Yoshinaga Masafumi) (80754978)	名古屋大学・医学系研究科・助教 (13901)	