

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05889

研究課題名(和文) 新生子腎が化学物質に脆弱である原因の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanisms of vulnerability of neonatal kidney

研究代表者

吉岡 亘 (Yoshioka, Wataru)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：80425496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,300,000円

研究成果の概要(和文)：芳香族炭化水素受容体(AhR)はダイオキシン類等に結合することで活性化し、水腎症等の毒性現症を発達段階特異的に引き起こす。本研究ではAhRの下流でフォスホリパーゼcPLA2aが重要な役割を果たすこと明らかにした。また、新生子でcPLA2a/COX-2/mPGES-1経路亢進が尿濃縮障害と多尿を引き起こすことを発見した。成体でこれらの機序が作動しないことが水腎症の時期特異的発症の原因と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学物質の生体影響について、発達段階のある時期には悪影響が生じて別の時期には影響が生じないことがある。このように発達段階特異性があることは化学物質の影響評価を困難にする問題であるが、その原因はよく分かっていない。本研究では、芳香族炭化水素類等がマウス新生子に引き起こす水腎症をモデルとして、発症機序をまず解明し、次いで水腎症が生じない時期にこの機序が作動しないことを明らかにした。機序を解明することで発達段階特異性が生じる原因が明らかにできることが示された。

研究成果の概要(英文)：Arylhydrocarbon receptor (AhR) is a ligand-dependent transcription factor that is responsible for dioxin toxicity. The mechanisms linking AhR and dioxin toxicity has been largely unknown. In this study, we found that a phospholipase cPLA2a has a potential to link AhR and dioxin toxicity. In addition, we found that an increase and dilution of urine is a direct mechanism of hydronephrosis, one of developmental-stage specific dioxin toxicity, and that the mechanism is not induced in adults. These findings offered important insights into the problem of developmental-stage specific toxicity of dioxins as well as mechanisms of vulnerability of neonatal kidney.

研究分野：毒性学

キーワード：水腎症 多尿 尿濃縮障害 プロスタグランジン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

腎臓は出生後に組織学的また機能的に発達を続けることが知られており、この時期は化学物質に脆弱であると考えられる。実際に、ダイオキシン類は新生子期特異的に進行性の実質菲薄化を特徴とする水腎症を引き起こすことがマウスを用いた動物実験で示されている。より具体的には、生後数日のマウス新生子にダイオキシン曝露すると水腎症を発症するが、生後 1 週を超えた時期に曝露すると自然発症レベルの発症率になることが報告されている。このように新生子期の腎が化学物質の曝露影響を受けやすい原因はよく分かっていなかった。また、化学物質の毒性影響に発達段階特異性があることは影響評価を難しいものにする問題であると考えられる。

## 2. 研究の目的

発達段階特異的な化学物質曝露による腎異常のモデルとして、ダイオキシン曝露がマウス新生子に引き起こす水腎症を選択した。このモデルにおいて発症の原因をできるだけ網羅的に発見し、さらに、曝露と個々の原因と発症を経路として明らかにすることを目指した。発症に至る原因を経路として解明することで発症の原因に影響する発達段階の違いが判明する可能性があると考えてこの方針を採った。さらに、曝露影響の一般性と臓器特異性についても知見が得られるように肝臓と心臓の影響についても検証することを目指した。

## 3. 研究の方法

C57BL/6 系統のマウスに対してダイオキシンとして 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)を曝露した。水腎症の研究においては生後 1 日目から系母乳曝露し生後 7 日と 14 日に各種解析を実施した。心臓については同生後 7 日と 21 日に各種解析を実施した。肝臓については 10-12 週齢のマウスに腹腔内投与し 8 日後に各種解析を実施した。

## 4. 研究成果

尿路の通過障害は水腎症の原因になるとされているが、TCDD 曝露による水腎症については腎盂以下の尿路の形態及び蠕動運動に異常が観られなかった。一方で著明な尿量増加と尿浸透圧低下が生じることを発見した。抗利尿薬によって尿量増加を抑制したところ、水腎症の発症率ならびに重篤度が顕著に改善した。このことから TCDD 曝露による水腎症は尿量の異常な増加が原因であると考えられた。TCDD 曝露された腎においては生理活性物質 PGE2 の合成酵素である cPLA2 $\alpha$ , COX-2, mPGES-1 の mRNA 量が増加し、尿中 PGE2 量も増加した。PGE2 が尿濃縮を妨げるという過去の知見と総合すると、TCDD 曝露による異常な PGE2 合成亢進が尿濃縮障害による尿量増加を引き起こし尿排出能を上回ったことで腎実質が菲薄化したと考えられた。マウス成体を用いた実

験では PGE2 合成系亢進と尿量増加がみとめられず、このことが TCDD 曝露による水腎症が生じない原因と考えられた。

cPLA2a はこれまでの研究から TCDD 曝露による COX-2 ならびに mPGES-1 遺伝子発現量増加に寄与することが分かっていた。このことから AhR 活性化の下流で cPLA2a が重要な役割を果たしている可能性が考えられた。TCDD 曝露による腎異常以外の毒性現症との機序の異同を検証したところ、体重減少と脂肪肝に cPLA2a が関与し胸腺委縮と口蓋裂には関与しないことを示唆する結果を得た。さらに、AhR の機能自体について検証するために、核移行シグナル配列を欠いた AhR を用いた実験を実施したところ、核移行シグナル配列がないことで cPLA2a リン酸化を含む AhR 活性化に依存する反応が失われることが明らかになった。AhR の核移行と細胞内シグナル伝達の関係について今後検討する必要があると考えらる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujisawa Nozomi, Yoshioka Wataru, Yanagisawa Hiroyuki, Tohyama Chiharu	4. 巻 93
2. 論文標題 Significance of AHR nuclear translocation sequence in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced cPLA2 activation and hydronephrosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 1255-1264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00204-019-02414-9	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 Yoshioka Wataru, Tohyama Chiharu	4. 巻 20
2. 論文標題 Mechanisms of Developmental Toxicity of Dioxins and Related Compounds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 617 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20030617	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nozomi Fujisawa, Wataru Yoshioka, Hiroyuki Yanagisawa, Chiharu Tohyama	4. 巻 92
2. 論文標題 Roles of cytosolic phospholipase A2 in reproductive and systemic toxicities in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-exposed mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Toxicology	6. 最初と最後の頁 789-801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00204-017-2081-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka W, Kawaguchi T, Nishimura N, Akagi T, Fujisawa N, Yanagisawa H, Matsumura F, Tohyama C	4. 巻 311
2. 論文標題 Polyuria-associated hydronephrosis induced by xenobiotic chemical exposure in mice.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 American journal of physiology Renal physiology	6. 最初と最後の頁 752-762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajprenal.00001.2016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nozomi Fujisawa, Chiharu Tohyama, Wataru Yoshioka	4. 巻 44
2. 論文標題 Cardiotoxicity induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure through lactation in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Toxicological Sciences	6. 最初と最後の頁 505-513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.44.505	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 35.Yoshioka W, Kawaguchi T, Nishimura N, Fujisawa N, Yanagisawa H, Tohyama C
2. 発表標題 Molecular basis of resistance to TCDD-induced hydronephrosis in adult mice.
3. 学会等名 SOT2017 (The Annual Meeting of the Society of Toxicology) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔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