

機関番号：16401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890174

研究課題名（和文） 金属による呼吸器炎症発生機序の究明とエピジェネティック制御の関与の検討

研究課題名（英文） Study of pathogenic mechanism of respiratory inflammation and investigation of involvement of epigenetic regulation

研究代表者

栄徳 勝光 (EITOKU MASAMITSU)

高知大学・教育研究部医療学系・助教

研究者番号：50552733

研究成果の概要（和文）：近年有毒性が注目されている酸化インジウム( $\text{In}_2\text{O}_3$ )を用いて、カタラーゼの活性が失活しているアカタラセミアマウスと野生型マウスに  $\text{In}_2\text{O}_3$  の気管内投与を行ったところ、体重増加の抑制、肺相対重量増加、肺組織の変化に有意な差が認められた。

In 化合物の毒性研究において、遺伝子変異マウスを用いて酸化ストレスと肺障害の関係性を示唆する結果が得られたことにより、今後の研究の指針を示す重要な手がかりを得ることができたといえる。

研究成果の概要（英文）：I performed intratracheal instillation of indium oxide ( $\text{In}_2\text{O}_3$ ) using acatalasemic mice which lack the activity of catalase. Comparison of acatalasemic and wild-type mice showed significant difference in body weight change, increasing of relative lung weight and damage of lung tissue after 9 weeks, twice in a week instillation.

In the field of the indium-compound toxicity study, these results showed the involvement of oxidative stress to lung damage caused by exposure to indium compounds and gave us novel cue for future research.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,060,000	318,000	1,378,000
2010年度	960,000	288,000	1,248,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,020,000	606,000	2,626,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：インジウム化合物、産業医学、エピジェネティクス、酸化ストレス、呼吸器炎症

## 1. 研究開始当初の背景

呼吸器疾患を引き起こす環境因子の中には、ニッケルやカドミウム、マンガンなど多くの金属単体や化合物の粉塵が含まれることが知られている。これら既知の有害性金属化合物などについては環境中の許容濃度が調べられており、これらを扱う作業環境や生活環境の安全が確保されている。しかし、産

業社会では絶えず新たな工業製品が創出されており、その材料として多様な新規金属化合物が応用される中で、一度は安全であるとみなされた金属化合物が有害性を示す事例が見られるようになってきている。そのような金属化合物の一つとして、2001年に亜急性の間質性肺炎による死亡事故が起きた酸化インジウム( $\text{In}_2\text{O}_3$ )がある。インジウムは世

界中で日本が最も多く消費するレアメタルで、コンピュータや携帯電話のフラットパネルディスプレイに広く用いられている酸化インジウム錫(ITO)の消費量は、全インジウム消費量の80%を占めている。ITOの主成分である $\text{In}_2\text{O}_3$ は、長らく安全であると考えられてきたものの、2001年の事故後その認識が大きく変化した。2002年に田中らによりその有害性が明らかにされ、環境中の許容濃度が引き下げられたことにより、高濃度曝露による間質性肺炎の発症は今後抑えられると考えられるものの、カドミウムなどの金属では低濃度曝露により高濃度曝露とは異なる症状が現れることが知られていることから、引き続き低濃度曝露の危険性について検討することが重要になってくる。

また、既に多くの $\text{In}_2\text{O}_3$ 曝露者が存在していることが予想されるため、診断法や治療法の開発も併行して進める必要があるが、そのためには疾患の発症機序を明らかにすることが重要になってくる。ニッケルやクロム、コバルトなどの金属化合物では、ヒトないし実験動物の肺に癌を引き起こすことが知られているが、その作用機序として金属を触媒とすることで過酸化水素などから反応性に富む活性酸素(ヒドロキシルラジカルや一重項酸素)が発生し、それらがDNAを損傷して癌化に至るというモデルが考えられている。 $\text{In}_2\text{O}_3$ の高濃度曝露によって引き起こされる間質性肺炎に関しても、炎症で早期に死亡するため癌化は確認されていないものの、他の多くの金属による癌と同様に活性酸素の関与が予想される。しかしながら、 $\text{In}_2\text{O}_3$ による間質性肺炎の発症機序に関する研究はこれまでなされておらず、その進展が待たれている。

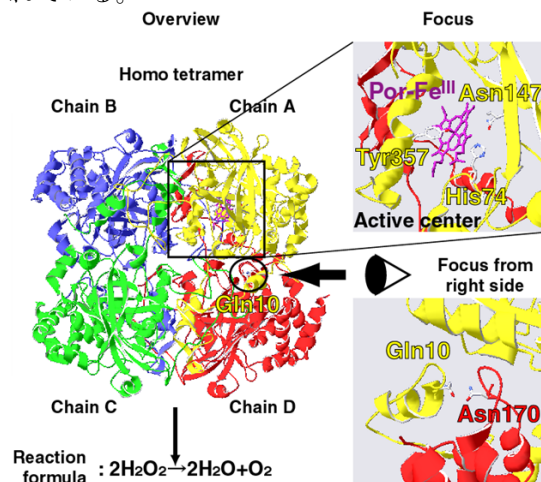


図1. アカタラセミアマウスのカタラーゼ変異導入部位

## 2. 研究の目的

本研究では遺伝的解析に有利なマウスを用いた気管内投与系を確立して、酸化インジ

ウム錫の主成分である酸化インジウム( $\text{In}_2\text{O}_3$ )曝露によって引き起こされる肺障害の発症機構解明に向けて、過酸化水素分解酵素の変異系統であるアカタラセミアマウスを用いて、酸化ストレスの肺障害への関与を検討する。

## 3. 研究の方法

アカタラセミアマウスとその野生型マウスを5群に分けて(1群につき6~7匹)、それぞれ5種類の $\text{In}_2\text{O}_3$ 懸濁液(0, 1.25, 2.5, 5, 10 mg In/kg、各4.0 ml saline/kg)を投与した。投与は週2回、9週行い、投与期間中は毎週体重測定を行った。投与終了後翌々日にマウスから血液、肺、精巣等の臓器を摘出し、臓器湿重量を測定した。肺等の臓器は摘出後に10%ホルマリンで固定し、組織標本を作製した。精巣は摘出後、ブアン液に一昼夜浸して固定し、80%EtOHで洗浄して組織標本を作製した。200ulの血清に5mlの68%硝酸と0.5mlの35%過酸化水素を混合し、マイクロウェーブで分解した。分解産物は20mlの超純水に希釈し、ICP-MSで分析した。

## 4. 研究成果

野生型においては $\text{In}_2\text{O}_3$ 投与群と $\text{In}_2\text{O}_3$ 非投与群(0 mg In/kg投与群)の間で体重の変化に顕著な差は認められなかった。これまでに行われたハムスターを用いたITOの気管内投与実験でも、体重変化の点ではITO投与群とITO非投与群の間で顕著な差は見られなかったが、その結果は今回の結果を支持している。

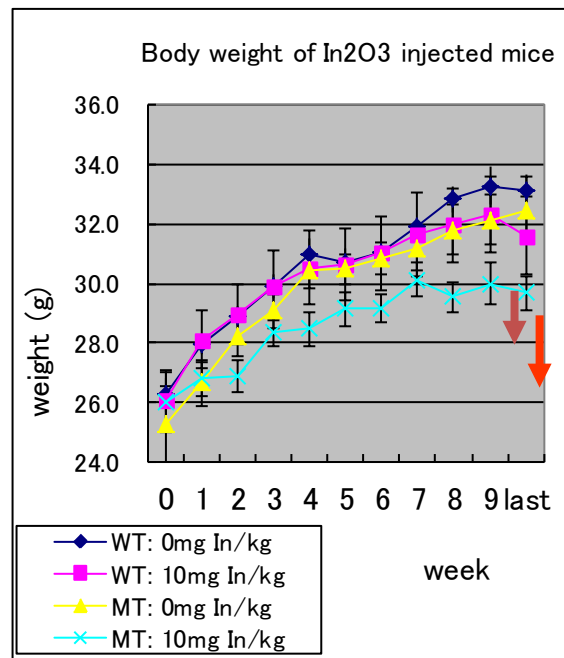


図2.  $\text{In}_2\text{O}_3$ 気管内投与による体重変化 (WT:野生型, MT:アカタラセミアマウス)

一方、アカタラセミアマウスにおいては  $\text{In}_2\text{O}_3$  投与群と  $\text{In}_2\text{O}_3$  非投与群の間で体重の変化に顕著な差が認められた。

また、 $\text{In}_2\text{O}_3$  の投与により肺相対重量が増加したが、アカタラセミアマウスの方が増加の割合がより大きかった。さらに、肺組織標本を観察した結果も、アカタラセミアマウスの  $\text{In}_2\text{O}_3$  投与群でより重度な障害を示した。これらの変化は量に依存してより顕著に現れた。その際に採取した血清を用いてインジウム濃度を測定したところ、投与量の増加に伴い血清インジウム濃度(In-Se)が上昇したものの、アカタラセミアマウス、野生型マウスの間で有意な差は認められなかった。

これらの結果から  $\text{In}_2\text{O}_3$  の毒性に酸化ストレスが関与していることが示唆された。それと共に、インジウム化合物の生体内影響に関する分子機構解明に、遺伝子操作技術や遺伝子改変体が充実したマウスの系が有用であることも改めて示された。

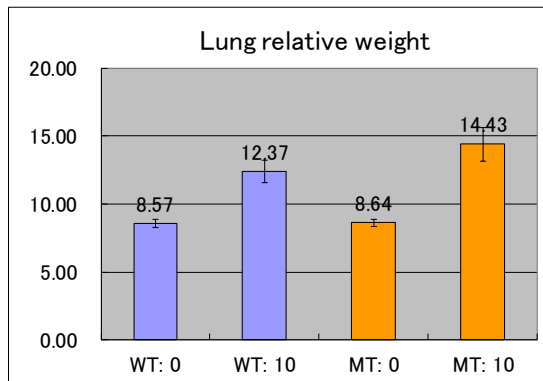
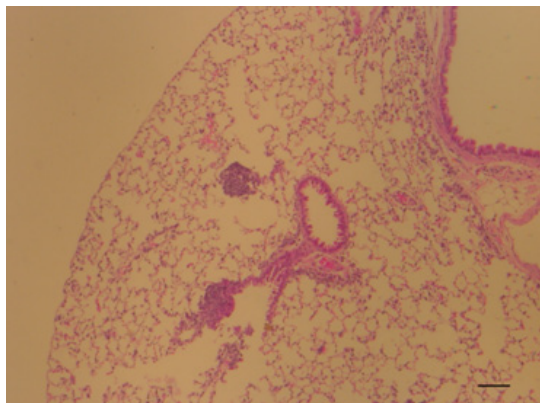


図3.  $\text{In}_2\text{O}_3$  気管内投与後の肺相対重量 (WT: 野生型、MT: アカタラセミアマウス)

野生型



アカタラセミアマウス

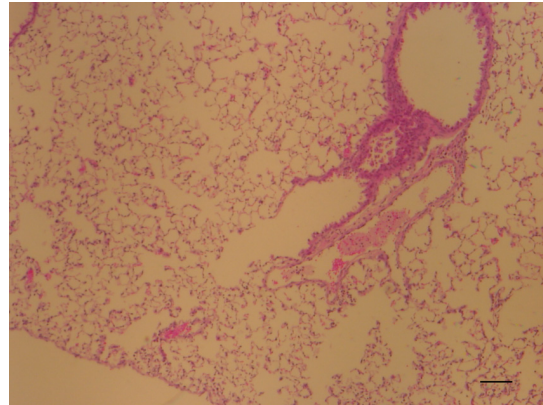


図4.  $\text{In}_2\text{O}_3$  気管内投与後の肺組織画像

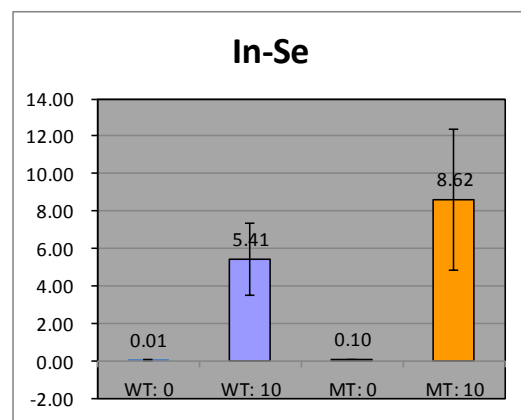


図5.  $\text{In}_2\text{O}_3$  気管内投与後の血清インジウム濃度 (WT: 野生型、MT: アカタラセミアマウス)

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Akai Y, Adachi N, Hayashi Y, Eitoku M, Sano N, Natsume R, Kudo N, Tanokura M, Senda T, Horikoshi M. Structure of the histone chaperone CIA/ASF1-double bromodomain complex linking histone modifications and site-specific histone eviction. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、査読有、Vol. 107、No. 18、2010、pp.8153-8158

〔学会発表〕（計 5 件）

- ① Eitoku M、Effect of intratracheal instillation of Indium oxide to acatalasemic mice、The International Symposium on Occupational and Environmental Allergy and Immune Diseases 2010、2010 年 4 月 8 日、京都府
- ② Eitoku M、酸化インジウムの気管内投与によるアカタラセミアマウスへの健康影響の検討、第 83 回日本産業衛生学会、2010 年 5 月 26 日、福井県
- ③ Eitoku M、Effect of intratracheal instillation of Indium oxide to acatalasemic mice、The 21st Japan China Korea Joint Conference on Occupational Health、2010 年 6 月 11 日、栃木県
- ④ Muzembo B、Effect of intratracheal instillation of Indium oxide to acatalasemic mice、第 54 回中四国合同産衛学会、2010 年 11 月 28 日、山口県
- ⑤ 栄徳勝光、「こうちエコチル調査」の実施に向けて、第 60 回日本産科婦人科学会高知地方部会学術集会、2010 年 12 月 18 日、高知県

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

栄徳 勝光 (EITOKU MASAMITSU)  
高知大学・教育研究部医療学系・助教  
研究者番号：50552733