

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名：ダイオキシン受容体の生体における本来的機能の解明

2. 研究代表者：藤井 義明（筑波大学 先端学際領域研究センター 客員教授）

3. 研究概要：

ダイオキシンは様々な生体毒性を示す化学物質であるが、近年内分泌攪乱物質としての作用が注目されている。通常、ダイオキシンは転写因子であるダイオキシン受容体(AhR:アрил hidrocarbon 受容体)との結合を介して、その作用を発揮する。実際に、外来異物の代謝に関与する様々な遺伝子はダイオキシンを含む外来異物と AhR による制御を受けていることが知られている。しかしながら、本来 AhR は動物界に広く保存されているので、このような外来異物(外環境)に対する応答以外に、生体内の環境(内環境)や応答系の構築因子として AhR が機能する側面があるはずであり、このような機能こそが内分泌攪乱物質としてのダイオキシンの作用点ならびに作用メカニズムを明らかにする上で極めて重要であると思われる。CREST研究の時点で、AhR は生殖サイクルと免疫Th細胞の分化に関わっていることが分かってきた。SORSTではそれら機能の解析や皮膚における役割等も明確にしていった。また AhR の転写系はインターフェロンなどの転写因子等と相互に作用し合うことなどから、AhR シグナル伝達系の本来的機能の追求も行ってきた。

研究チームは AhR の機能を追求する研究代表者藤井グループの所属する筑波大学先端学際領域研究センターを中核に、東大分子細胞生物研、埼玉県立がんセンター、持田製薬が共同研究に加わり、一方生殖との関わりは岡崎基礎生物研の諸橋教授と共同で行ってきた。

以下、進捗状況と成果の要点をまとめる。

3-1 AhR の作用メカニズムと生理機能(藤井グループ 他)

生体内で重要な働きを有するAhRの作用を調べるため、AhRあるいはその類縁因子遺伝子の欠失マウス、あるいは条件欠失マウスの機能欠損を分子生物学的、細胞生物学的方法によって解析し、AhRの生理機能及び機能の分子メカニズムを明らかにしてきた。

これまで以下のような結果が得られた。

(1)化合物 M50367 は CD4+T細胞の Th1/Th2 分化を Th1 優位にシフトさせることによって抗アレルギー作用を示すことが分かり、AhR 欠失マウスではこの作用が失われることにより、AhR を介する作用であることが示された。

(2)AhR 欠失マウスは7週令を経ると脾臓が肥大することが観察され、炎症がおこっていることが考えられた。7週令マウスにおける大腸粘膜上皮細胞のDNAマイクロアレイによる解析の結果 AhR 欠失マウスでは、IFN- γ 誘導性の一群のタンパク質の mRNA が顕著に上昇していることが観察され、炎症性の病変が起きていることが示された。さらに、硫酸デキストラン処理による腸炎の起こる感受性が野性型マウスに較べて亢進していることが分かった。チオグリコール酸処理による腹腔内マクロファージでも AhR 欠失の場合に IFN- γ 誘導性の GBP-1の発現感受性の亢進が認めら

れた。

(3) AhR 欠失マウスの11週令で殆どすべてのマウスの大腸回盲部を中心に癌が発生することが明らかになった。癌は8週令から発生し、多くは高分化型あるいは中分化型の管状腺癌で、30週令を過ぎると低分化型癌も稀に見られるようになり、筋肉層への浸潤癌も多く見られるようになる。現在 APC、 β -カテニン、cMyc などの遺伝子発現の変化と関連して癌化の過程を追求している。

(4) AhRとER(エストロゲン受容体)の相互作用では AhRのリガンド依存的にERの分解が促進され、この分解は AhR が Cul4B、DDB1、Roc1やプロテアソームの構成成分と複合体を形成したユビキチン・プロテアソーム系によって行われることが明らかになった。

(5) AhRの類縁因子で Arnt とヘテロ2量体を形成する低酸素応答 HIF 転写因子については HIF-3 α のスプライシング変異体(NEPAS)が発見され、胎生後期から新生児期の心肺の発生に負の調節因子として重要な働きをしていることが分かった。NEPAS 欠失マウスは若令で肺高血圧症を発症し、肺のリモデリングの不全と右心室の肥大がおこり、心不全に陥ることが分かった。NEPAS が欠失すると、HIF2 α の活性が亢進し、ET-1(エンドセリン)の過剰発現によって肺高血圧症が起こり、右心室の肥大をきたすことが分かった。

3-2 生殖における AhR の役割(諸橋グループ)

雌個体における機能を解析した結果、AhR がアロマトラーゼ(女性ホルモン転換酵素)遺伝子の転写を通じ、卵巣における女性ホルモン(E₂)産生を制御していることが明らかになった。一方、AhR 遺伝子破壊雄マウスの生殖能の低下についてはその原因が不明であったが、老化に伴う精囊の顕著な萎縮が観察された(24 週 50%、32 週 67%)。そこで、精巣における男性ホルモン産生に関わる酵素の一つである3 β HSD の mRNA の発現を野生型と遺伝子破壊マウスで比較したところ、遺伝子破壊マウスにおいてその発現は顕著に低下しており、AhR は精巣における男性ホルモン産生において重要な役割を果たしていると考えられた。

以上の結果から、AhR は生殖腺における性ホルモンの産生制御を通じ、動物個体の生殖活動に深く関わるようになった。また、ダイオキシンの内分泌攪乱作用は性ホルモンの産生調節がその作用点であり、通常は視床下部-脳下垂体-性生殖腺による内分泌調節系によって調節される性ホルモンの産生がダイオキシンならびに AhR によって不定期的に活性化されることで内分泌攪乱作用を引き起こすと考えられる。

本SORST研究を通じ、AhR の炎症への関わり、AhR 欠失マウスの大腸癌発生、内分泌攪乱物質の生殖への影響等が明確になってきた。なかでも AhR 欠失マウスは単独遺伝子の欠損で癌の発生率が高いことなど、大腸癌を研究するために有用なモデル動物になる可能性がある。炎症と癌の関係を研究する良い材料となるであろう。

4. 中間評価結果

4-1 研究の進捗状況と今後の見込み

ダイオキシン受容体(AhR)の生体における本来的機能の解明として、AhR を介した E2 生合成の律速酵素であるアロマトラーゼ発現制御、IFN- γ 感受性への関与、がん抑制因子として働く可能性、

自然免疫への関与を明らかにした。なかでも、AhR 欠損マウスにおける大腸がんの発症は極めて興味深く、「炎症と発癌」の研究における新たな展開が期待出来る。

以上のような分子生物学的展開に対し、生殖との関わりに関する研究チーム(基礎生物研・諸橋教授)が特定領域研究(性分化機構)の成立のために抜けてしまったことは、内分泌攪乱物質に関してそれらがどのような作用を生体に及ぼすかについての研究に対する大きな影響が考えられる。今後この研究をどのように進めて行くかが問われるところである。

4-2 研究成果の現状と今後の見込み

分子生物学上では AhR 欠損マウスをフルに解析し、AhR が持つ生殖能、発がん、免疫・炎症といった多面的な機能の解析で大きな成果が出つつある。大腸がんに関する成果はインパクトが高い。また、ヘルパーT細胞が Th1 と Th2 に分化する時の因子としての AhR の役割を解明した点はすばらしい。ただ、そこから先の展開(内分泌攪乱物質との相互作用の研究)がされていないのは残念である。

4-3 総合的評価

AhR の作用機構の解明などを理解すればリガンドの効果が分かるという立場で研究を推進しており、成果が得られているが、ダイオキシンの受容体の研究と結びつけた本課題研究に関しても具体的な研究の方向性を示す必要がある。仮に研究内容を現在の研究代表者の方針・方向で進めるのなら、体制・組織も再考すべきと思われる。