ザンビア共和国カブウェ鉱床地域の子どもの血中鉛濃度とDNA メチル化レベルとの関係性を調査

ポイント

- 高濃度の鉛暴露下に暮らす子どもの血中鉛濃度と異常な DNA メチル化の関係性を明らかにした。
- 鉛暴露のレベルが高いほど，ALAD 遺伝子や p16 遺伝子のメチル化レベルが高いことが判明。
- 異常なメチル化は鉛中毒によるリスクにつながることが示唆された。

概要

北海道大学大学院獣医学研究院の石塚真由美教授，中山翔太助教，ヨハネス・ヤレド博士研究員，中田北斗博士研究員とザンビア大学獣医学部のジョン・ヤベ講師らの研究グループは，ザンビアのカブウェ地域にて，鉛暴露環境下の子どもの血中鉛濃度と遺伝子上流域における DNA メチル化レベル*1 との関係を明らかにしました。

鉛は毒性のある金属として有名であり，深刻な健康被害を及ぼすことが危惧されます。しかしながら，ヒト，特に子どもに対する血中鉛濃度の安全な基準値（危険となる閾値）は設定できないのが現状です。また，鉛暴露と DNA のメチル化との関連性について子どもを対象として調査した研究例はほとんどありませんでした。

研究グループは，ザンビアのカブウェ地域の鉱山に近いエリア（2～3km）に住んでいる子ども（102 人）と，鉱山から遠いエリア（6～7km）に住んでいる子ども（38 人）を対象に調査を行いました。子どもの血中鉛濃度を LeadCare II というポータブル測定機器により測定し，ヘモグロビンを合成する酵素である ALAD 遺伝子とがん抑制遺伝子（p16 遺伝子）のプロモーター領域*2 におけるメチル化頻度について，メチル化特異的 PCR 法（メチル化及び非メチル化されている塩基を特異的に PCR 増幅してメチル化の程度を解析）により解析しました。

解析の結果，鉱山に近いエリア（2～3km）に住んでいる子ども（102 人）の血中鉛濃度の平均値は 23.7 μg/dL，鉱山から遠いエリア（6～7km）に住んでいる子ども（38 人）は 7.9 μg/dL でした。ALAD 遺伝子のメチル化の割合は高レベルの鉛暴露下では 84.3%，低レベルの暴露環境下では 42.1%でした。一方，p16 遺伝子のメチル化の割合は高レベルの鉛暴露下では 67.7%，低レベルの暴露環境下では 44.7%でした。

これらの結果より，鉛暴露のレベルが高いほど，ALAD 遺伝子や p16 遺伝子のメチル化レベルが高いことがわかりました。本結果は，ヘモグロビンを合成する酵素である ALAD 遺伝子とがん抑制遺伝子である p16 遺伝子の発現量が鉛暴露により抑制され，鉛暴露による貧血などの血液毒性や発がんリスクの上昇の可能性を示唆するものでした。今後は，実際の貧血などの症状や発がんリスクへの影響を調査する予定です。

なお，本研究成果は，環境化学誌「Environmental Research」のオンライン版に近日中に掲載されます。

【背景】

鉛中毒*3は現在でも世界中で起きている環境汚染問題であり，鉛中毒によって幼少期の子どもの発達障害，IQ 値低下，けいれんや昏睡状態，死亡といった深刻な影響を引き起こすことがわかっています。特に乳幼児期における発達中の脳及び神経系は，鉛暴露による毒性影響が大人よりも起こりやすいと考えられています。また，鉛は大人にも血圧上昇や生殖器の異常といった様々な健康影響を及ぼすことが指摘されています。

研究グループが研究対象とした DNA メチル化は，転写調節，及びゲノムの安定性に関与する最も広く研究されているエピジェネティック修飾*4の一つです。ヒトを対象としたこれまでの研究では，環境要因が DNA メチル化の頻度を変化させ，それがヒトの健康影響と関連している可能性が示されています。

研究グループが研究対象としたザンビア共和国のカブウェ市は20世紀に鉱山街として発展しました。現在鉱山は閉鎖されていますが，今も鉱山の廃棄物などが由来となる鉛暴露による住民の鉛中毒が深刻な問題となっています。

これまで研究グループはザンビア大学と国際共同研究を行い，カブウェ市の住民の各家庭で親子の血液を採取し，血液中の鉛濃度をそれぞれ測定しました。これによって，住民の体内に含まれる鉛の量を明らかにし，早急な治療が必要な住民がどの程度いるのかを明らかにしました。

上記のように鉛中毒は深刻な健康被害を及ぼすことが危惧されます。しかしながら，ヒト，特に子どもに対する血中鉛濃度の安全な基準値（危険となる閾値）は設定できないのが現状です。また，鉛暴露と DNA のメチル化との関連性について子どもを対象として調査した研究例はほとんどありませんでした。

そこで，本研究では，ザンビアのカブウェ地域にて，子どもの血中鉛濃度を調査し，遺伝子上流域における DNA メチル化レベルとの関係を解析しました。

【研究手法】

研究グループは，ザンビア共和国保健省の研究倫理委員会の許可の下に，2016 年 7 月にカブウェ市の 2 ～10 歳の子ども 140 人を対象とした調査を行いました。鉱山に近いエリア（2～3km）に住んでいる子ども（102 人）と鉱山から遠いエリア（6～7km）に住んでいる子ども（38 人）から現地クリニックにおいて採血を行い，血中鉛濃度を LeadCare II という現地クリニックで測定可能なポータブル機器を用いて測定しました。また，ALAD と p16 遺伝子プロモーターのメチル化レベルをメチル化特異的 PCR 法*5によって解析しました。

【研究成果】

鉱山に近いエリア（2～3km）に住んでいる子ども（102 人）の血中鉛濃度の平均値は 23.7 μg/dL，鉱山から遠いエリア（6～7km）に住んでいる子ども（38 人）は 7.9 μg/dL でした。ALAD 遺伝子のメチル化の割合は高レベルの鉛暴露下では 84.3%，低レベルの暴露環境下では 42.1%でした。一方，p16 遺伝子のメチル化の割合は高レベルの鉛暴露下では 67.7%，低レベルの暴露環境下では 44.7%でした。これらの結果より，鉛暴露のレベルが高いほど，ALAD 遺伝子や p16 遺伝子のメチル化レベルが高い可能性がわかりました。本結果は，ヘモグロビンを合成する酵素である ALAD 遺伝子とがん抑制遺伝子である p16 遺伝子の発現量が鉛暴露により抑制され，鉛暴露による貧血などの血液毒性や発がんリスクの上昇の可能性を示唆するものでした。今後は，実際の貧血などの症状や発がんリスクへの影響を調査す

る予定です。

【展望】

本研究の調査結果から，鉛暴露と DNA メチル化というエピジェネティック修飾との関連性が示唆されました。鉛をはじめとする金属汚染による毒性メカニズムの解明につながることが期待されます。

【謝辞】

本研究は，国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）と独立行政法人国際協力機構（JICA）の連携事業である地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム（SATREPS）「ザンビアにおける鉛汚染のメカニズムの解明と健康・経済リスク評価手法及び予防・修復技術の開発」（研究代表者：石塚真由美）の支援を受けて行われました。

論文情報

論文名　Blood lead levels and aberrant DNA methylation of the ALAD and p16 gene promoters in children exposed to environmental-lead（鉛暴露環境下における子どもの血中鉛濃度と ALAD 及び p16 遺伝子上流域の DNA メチル化）

著者名　ヤレド ベイエネ・ヨハンネス [1,2]，中山翔太 [1]，ジョン・ヤベ [3]，中田北斗 [1]，豊巻治也 [1]，アンドリュー・カタバ [1,3]，カアンプウェ・ムザンドゥ [3]，池中良徳 [1]，ケネディ・チョンゴ [3]，石塚真由美 [1]（[1] 北海道大学大学院獣医学研究院，[2] ゴンダール大学自然・計算科学部，[3] ザンビア大学獣医学部）

雑誌名　Environmental Research（環境化学の専門誌）

ＤＯＩ　10.1016/j.envres.2020.109759

お問い合わせ先

＜研究内容について＞

北海道大学大学院獣医学研究院　助教　中山翔太（なかやましょうた）

ＴＥＬ　011-706-5105　　メール　shouta-nakayama[at]vetmed.hokudai.ac.jp

プロジェクト URL　http://satreps-kampai.vetmed.hokudai.ac.jp/

研究室 URL　http://tox.vetmed.hokudai.ac.jp/

北海道大学大学院獣医学研究院　教授　石塚真由美（いしづかまゆみ）

ＴＥＬ　011-706-6949　　メール　ishizum[at]vetmed.hokudai.ac.jp

プロジェクト URL　http://satreps-kampai.vetmed.hokudai.ac.jp/

研究室 URL　http://tox.vetmed.hokudai.ac.jp/

＜JST 事業に関すること＞

科学技術振興機構国際部 SATREPS グループ

ＴＥＬ　03-5214-8085　　メール　global[at]jst.go.jp

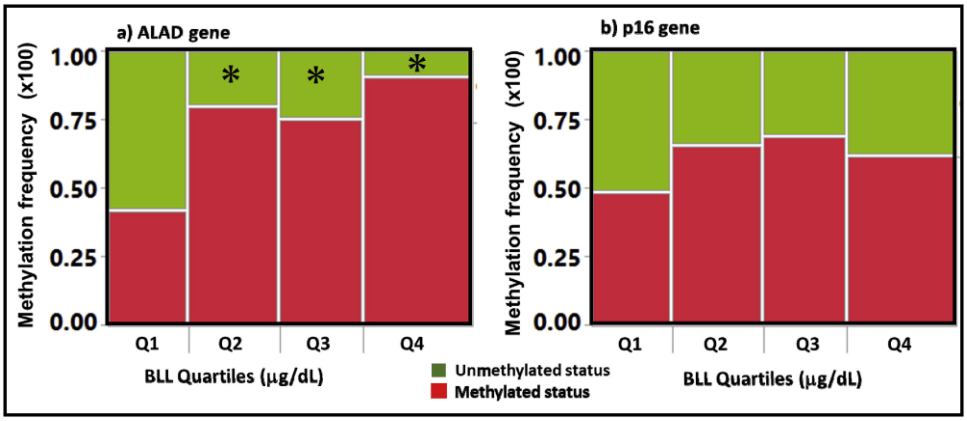
＜JICA 事業に関すること＞

国際協力機構（JICA）　社会基盤部 資源・エネルギーグループ

ＴＥＬ　03-5226-8066　　メール　ilgne[at]jica.go.jp

配信元
北海道大学総務企画部広報課（〒060-0808 札幌市北区北８条西５丁目）
ＴＥＬ　011-706-2610　　ＦＡＸ　011-706-2092　　メール　kouhou[at]jimu.hokudai.ac.jp
科学技術振興機構広報課（〒102-8666 東京都千代田区四番町５番地３）
ＴＥＬ　03-5214-8404　　ＦＡＸ　03-5214-8432　　メール　jstkoho[at]jst.go.jp

【参考図】



子どもの血中鉛濃度と ALAD，p16 遺伝子上流域におけるメチル化レベルとの関連性を解析した。横軸は血中鉛濃度（Q1: x ≤ 10 μg/dL; Q2:10 < x ≤ 19 μg/dL; Q3: 19 < x ≤ 25 μg/dL; Q4: x > 25 μg/dL)）を，縦軸はメチル化頻度を示す。鉛濃度が高いほど，特に ALAD 遺伝子におけるメチル化の頻度が高い。

【用語解説】

＊1 DNA メチル化 … DNA 鎖の塩基の一つにメチル基を付加する反応。ほとんどは，5'- CG -3' （CpG と書くこともある）という塩基配列中の C（シトシン）塩基の５位の炭素にメチル基が付加される。

＊2 プロモーター（Promoter）領域 … 転写（DNA から RNA を合成する段階）の開始に関与する遺伝子の上流領域のこと。

＊3 鉛中毒 … 鉛の摂取を原因とする中毒のこと。重金属中毒の一種に分類される。鉛中毒の典型的な症状として，頭痛，感覚の消失，脱力，口の中の金属味，歩行協調障害，食欲減退，嘔吐，便秘，けいれん性の腹痛，骨や関節の痛み，高血圧，貧血などがある。

＊4 エピジェネティック修飾 … DNA の塩基配列の変異を伴わずに，遺伝子の発現量や機能を調節する制御機構。主な機構として DNA メチル化とヒストン修飾が知られている。

＊5 メチル化特異的 PCR 法 … バイサルファイト処理後に CpG 配列のメチル化状態に応じて配列が変わる塩基部位に，メチル化 DNA 検出用プライマーと非メチル化 DNA 検出用プライマーを用いた PCR を行い，PCR 増幅の有無によりメチル化または非メチル化を識別する方法。