The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒト胎盤内分泌機能に対する有機スズ化合物の影響およびその分子機構に関する研究
Author(s)	廣森, 洋平
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47234
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【17】

氏　　名	廣　森　洋　平（ひろ もり よう へい）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　２１１０４　号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学　位　論　文　名	**ヒト胎盤内分泌機能に対する有機スズ化合物の影響およびその分子機構に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　那須　正夫 （副査） 教　授　山本　　弘　　教　授　高木　達也　　教　授　平田　收正 講　師　伊藤　徳夫

論　文　内　容　の　要　旨

哺乳動物における化学物質の生殖発生毒性評価は、被験個体が母体－胎盤－胎児複合体であり、化学物質の毒性発現部位が複雑で多岐に渡る可能性があることから、一般的に他の毒性試験よりも評価が困難である。このような問題に加え、昨今の内分泌撹乱物質問題においては、化学物質がホルモン受容体などに作用することで、これまで無作用域とされていた低濃度においても生殖器官形成等に異常を来す可能性が提唱されており、化学物質の生殖発生毒性評価はより困難になっている。

哺乳動物においては、妊娠時に母体と胎児との間に胎盤が形成される。胎盤は、一つの臓器でありながら様々な機能を有する臓器であり、胎児の成長にとって必要不可欠なものである。したがって、胎盤の内分泌機能が化学物質によって何らかの修飾を受けた場合、その影響が少なからず胎児に及ぶ可能性が十分に考えられる。

有機スズ化合物は、藻類、軟体動物などへの強力な殺傷力と、熱および光に対する安定性が着目され、船底塗料、魚網防汚剤、農薬、木材処理、塩化ビニル樹脂安定剤として利用されてきた化合物である、しかしながら近年、tributyltin（TBT）や triphenyltin（TPT）が、ごく低濃度で巻貝類のメスに雄性生殖器を発生させる明確な内分泌撹乱作用（インポセックス）を誘導することが明らかとなったことから、ヒトを含む哺乳動物についても有機スズ化合物の雄性化作用等が懸念されるようになってきた。有機スズ化合物によるインポセックスは、androgen を estrogen に変換する aromatase の酵素活性を阻害し、体内の androgen 濃度が上昇することで誘発されると考えられている。aromatase は、ヒトの発生段階にも重要な分子の一つであり、中でも胎盤の aromatase は、妊娠期間中の胎児および母体の性ホルモンバランスの維持に重要な役割を果たしている。現に胎盤の aromatase が欠損した症例においては、母体および胎児血中の androgen 濃度が上昇するため、母体、胎児共に強い男性化作用を示し、出生した女児が仮性半陰陽（内生殖器は女性様であるが、外生殖器は男性様）になることから、胎児の正常な生殖器官形成にも極めて重要であるといえる。有機スズ化合物による貝類のインポセックスにおいて予測されている作用機構から、有機スズ化合物がヒト胎盤の aromatase を阻害することによって同様の作用を示す可能性が考えられる。

そこで本研究では、ヒト胎盤細胞株を用いて、有機スズ化合物のヒト胎盤の内分泌機能、特に estrogen 産生に対する影響について検討を行った。その結果、有機スズ化合物がヒト胎盤細胞株の aromatase 活性およびその mRNA 発

現を上昇させ、estradiol の産生を促進するという、貝類で予測されている影響とは逆の作用を示した。さらに、有機スズ化合物は核内受容体である retinoid X receptor（RXR）を介した転写活性化に関与し、有機スズ化合物による aromatase mRNA 発現上昇は RXR を介したものであった。貝類のインポセックスは aromatase 阻害により引き起こされると考えられていたが、本研究と平行して、有機スズ化合物がイボニシの RXR にも結合し、また、RXR のリガンドである 9-*cis* retinoic acid（9cRA）が有機スズ化合物と同様にインポセックスを誘導することが明らかとなった。このことから、インポセックスは aromatase 阻害によって起こるのではなく、RXR を介した経路によって引き起こされる可能性が考えられる。したがって、イボニシでもヒト胎盤細胞でも、RXR が作用点であるという点は同一であるものの、RXR 活性化以降の過程が異なるため、有機スズ化合物による影響が異なるものと思われる。

有機スズ化合物が RXR リガンドとなることが示唆されたため、有機スズ化合物について RXR リガンドという観点からさらに解析を行った。その結果、TPT が RXR に対して強い親和性を示すこと、TBT、TPT が内因性の RXR リガンドである 9cRA と同等の転写活性能を持つことを明らかにした。有機スズ化合物と既知の RXR リガンドの構造は大きく異なっていることから、有機スズ化合物は既知の RXR リガンドとは異なった形で RXR に結合している可能性が考えられる。そこで、既知の RXR リガンドと RXRα が結合した際に、既知の RXR リガンドのカルボキシル基の近傍に位置することが予想される RXRα の 275、316、326 番目のアミノ酸に変異を導入し、それによる既知の RXR リガンドおよび有機スズ化合物に対する反応性の変化について検討を行った。その結果、RXRα の 316 番目の arginine と 326 番目の leucine を alanine に置換することで、9cRA や LG100268 といった既知の RXR リガンドの反応性はほとんど無くなる一方で、有機スズ化合物の反応性は維持されることを明らかにした。また、このことから有機スズ化合物と他の RXR リガンドとでは結合様式が異なる可能性が示唆された。

有機スズ化合物は古くから毒性の強い化合物であることが知られているが、本研究では、有機スズ化合物は RXR を介してヒト胎盤細胞株の内分泌機能を変動させる事を明らかにした。また、有機スズ化合物は核内受容体リガンドとなることを意図して合成された化合物でないにもかかわらず、内因性のリガンドである 9cRA と同等の活性を示す事を明らかにした。本研究で得られた知見は毒性学的に重要なものといえる。一方で、有機スズ化合物は医薬品のリード化合物候補となりうると考えられる。現時点では、有機スズ化合物は環境汚染物質という認識でしかないが、今後は、核内受容体リガンドという観点からの解析が進むことによって、有機スズ化合物の新たな可能性が開けるものと期待される。

論文審査の結果の要旨

哺乳動物における化学物質の生殖発生毒性評価において、胎児に対する影響は母体および胎盤を介して生じるため、化学物質の毒性発現部位が複雑で多岐に渡る可能性があり、一般に他の毒性試験よりも評価が困難である。胎盤は胎児の成長にとって重要であり、内分泌臓器としても位置づけられる。胎盤の内分泌機能が化学物質によって修飾を受けた場合、その影響が胎児に及ぶ可能性がある。有機スズ化合物は、藻類、軟体動物などへの殺傷力を期待され、船底塗料、魚網防汚剤、農薬、木材処理、塩化ビニル樹脂安定剤として利用されてきた化合物である。しかしながら近年、トリブチルスズやトリフェニルスズの巻貝類に対する有害作用、すなわちメスに雄性生殖器を発生させる作用（インポセックス）が明らかとなったことから、哺乳動物に対する類似の作用が懸念されている。有機スズ化合物によるインポセックスは、アロマターゼの酵素活性阻害により誘発されると想定されていた。アロマターゼはヒトの発生にも重要な分子の一つであり、中でも胎盤のアロマターゼは重要な役割を果たしている。

申請者は、ヒト胎盤由来絨毛細胞株を用いて、有機スズ化合物のヒト胎盤内分泌機能、特にエストロゲン産生に対する影響について検討を行った。その結果、有機スズ化合物がヒト胎盤細胞株のアロマターゼ活性およびその mRNA 発現を上昇させ、エストラジオール産生を促進するという、貝類で予測されていたことと異なる作用を見出した。この作用は核内受容体である RXR を介したものであり、アゴニスト作用は数 nM から数 100 nM の濃度域で認められ、既知の RXR アゴニストと比較して遜色無い活性であった。類縁化合物 17 種の活性を比較し、その規則性を見出すと共に、RXR による認識が、既知の RXR リガンドとは異なることを、レセプター結合実験と変異型 RXR 導入細胞で

のレポーターアッセイにより示した。本研究は、有機スズのヒト胎盤内分泌機能に対する撹乱作用を新たに見出し、その機序を明らかにした点で毒性学的に意義のある研究である。

本研究成果の主要な部分は、審査のある海外英文誌３報にて既に公表されていることも含めて、博士の学位に値するものと判断した。