

財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 金岡 純二 殿

## 助成研究成果概要報告書

教育機関名：富山大学	助成金額：800 千円
研究代表者：崔正国	所属：医学部 公衆衛生学講座
職位：助教	
研究題目：低濃度カドミウム長期曝露による発癌リスクの解析、miRNA 発現とアポトーシス感受性変化	

## 【研究概要】

カドミウムは工業生産材料としてよく使われている。しかし、カドミウムは有毒な環境汚染物質であり、腎臓機能に障害を生じ、また発癌性が指摘されている。

特に、カドミウムは生体内で蓄積しやすく、その半減期が十年以上になっており、低濃度であっても暴露時間により生体と与える影響が異なり、一旦暴露されるとその影響は長期化する。富山は数十年前神通川のカドミウム汚染によりイタイイタイ病を経験しており、汚染地区農地の土入れ替え作業は 33 年も及んだ。

カドミウムは、低濃度でも長期曝露は発癌につながるの指摘もあるが、その生物影響については未だに不明なところが多い。一方、アポトーシスは多細胞生物の恒常性を保つための能動的な細胞死である。アポトーシスの誘導に欠損が生じると、生体は不要になった異常な細胞を取り除くことができなくなり、アポトーシスは発癌とも密接な関連があると考えられている。カドミウムによる発癌がアポトーシス誘導の機能不全と関係するという報告も散見されるが、その詳細な分子メカニズムにはまだ不明な点が多い。

本研究では、我々が見いだした低濃度カドミウムの長期曝露が高濃度カドミウム処理により誘発される細胞のアポトーシス感受性を変化させる現象について、遺伝子発現の変化、およびタンパク質の活性化、さらには遺伝子発現に重要な影響を及ぼすマイクロ RNA (miRNA) の発現変化などについて検討し、その分子機構の解析を行った。

## 【成果要約】

低濃度カドミウム曝露は、 $1 \mu\text{M}$  の低濃度カドミウム存在下でヒト白血病細胞株 U937 細胞を 72 時間培養することでおこなった。その後、 $50 \mu\text{M}$  の高濃度カドミウム添加によりアポトーシスを誘発し、アポトーシス誘導率の変化とその分子機序を検討した。

その結果、U937 細胞に  $50 \mu\text{M}$  の  $\text{CdCl}_2$  を 12 時間添加すると、細胞内の活性酸素 (ROS) 生成、JNK のリン酸化による活性化、アポトーシス抑制機能を果たす Mcl-1 タンパク質の発現抑制及び Noxa、Bim、tBid などアポトーシス促進作用を持つ BH3-only タンパク質の発現増加、さらには caspase-3 の活性化によりアポトーシスが顕著に誘導された。一方、 $1 \mu\text{M}$  の  $\text{CdCl}_2$  による前処理は、その後の  $50 \mu\text{M}$   $\text{CdCl}_2$  添加によるこれらの変化を減弱し、アポトーシスを有意に抑制した。JNK の特異的な抑制剤、SP600125 による前処理も  $50 \mu\text{M}$  の  $\text{CdCl}_2$  によるアポトーシスを有意に抑制した。

低濃度カドミウム処置により細胞内 ROS 生成が抑制され BH3-only タンパク質へのシグナルが減弱するため、アポトーシス発現が抑制されると推測される。また、JNK の活性化による Bim の活性化がアポトーシスに寄与することが報告されており、JNK 活性化の抑制もアポトーシスの抑制に寄与するものと推測された。

さらに低濃度  $\text{CdCl}_2$  処理によるアポトーシスの修飾に、マイクロ RNA (miRNA) の発現変化が関与していないかを調べた。低濃度  $\text{CdCl}_2$  で前処理した細胞と、処理していない細胞および、それぞれに高濃度  $\text{CdCl}_2$  処理したものについて、マイクロアレイ法およびリアルタイム PCR 法で、発現の変化を調べた。その結果、miR-643 が、前処理しない細胞で高濃度処理をすると発現が増え、前処理下細胞で高濃度処理をすると発現が減少することを見いだした。また、tBid の遺伝子に標的配列を持つ miR-506 が、細胞の前処理による tBid の発現の減少にあわせて発現が増加することが示された。現在、それぞれの miRNA が低濃度 Cd によるアポトーシスの修飾に関与する可能性を探るため、miR-643 では過剰発現、miR-506 では機能を抑制した細胞株をそれぞれ作成中である。

本研究はカドミウムによる発癌機構の一端を明らかにすることで、カドミウム汚染から人の健康を守るために貢献できる。また、カドミウム汚染のリスクがある発展途上国にも大変重要な情報を提供できると考えられる。本研究の一部の成果は、既に第 81 回日本衛生学会学術総会で発表し、論文として毒性学関連の国際ジャーナル Toxicology In Vitro に発表した。

## 論文

1. **Cui ZG**, Ogawa R, Piao JL, Hamazaki K, Feril LB Jr, Shimomura A, Kondo T, Inadera H. Molecular mechanisms involved in the adaptive response to cadmium-induced apoptosis in human myelomonocytic lymphoma U937 cells. *Toxicol. In Vitro*, 2011, 25:1687-93

## 学会発表

1. **崔正国**, 小川 良平, 浜崎 景, 寺西 秀豊, 近藤 隆, 稲寺 秀邦. 低濃度カドミウム (Cd) 前処理による高濃度 Cd 誘発アポトーシス抵抗性の獲得機構の検討. 第 81 回日本衛生学会学術総会, 2011 年 3 月, 東京