

審査の結果の要旨

氏名 阪田 佳紀

本研究は、環境汚染物質であるダイオキシン類がダイオキシン受容体 (AhR) の活性化以降のような分子メカニズムで毒性を発現させるのかを解明する一環として、ダイオキシン類の高用量曝露による急性毒性の消耗性症候群と関連する肝臓内グリコーゲン量減少のメカニズム解明を目的として行い、下記の結果を得ている。

1. BALBc/AJcl (11 週齢の雄) マウスにダイオキシン (TCDD) を 50 µg/kg bw の用量で経口単回投与したところ、投与 24 時間後に肝臓中のグリコーゲン量が減少した。また、投与 24 時間後にアミノレブリン酸合成酵素 (ALAS) 1 mRNA が誘導されていたため、両者の関連が示唆された。
2. ヒト肝臓ガン細胞株 HepG2 をグルコース・牛胎仔血清不含培地で 24 時間馴化させ、その後 TCDD を 24 時間曝露したところ、細胞内のグリコーゲン量が用量依存的に減少した。この結果より、TCDD は肝細胞に直接作用し、細胞内のグリコーゲン量を減少させることが示された。
3. HepG2 に対し ALAS1 特異的な siRNA を一過性導入し、10 nM の濃度で TCDD を 24 時間曝露したところ、細胞内のグリコーゲン量に変化はなかった。さらに、ALAS1 強制発現ベクターを HepG2 細胞に安定導入し株化した細胞をグルコース・血清不含培地で 24 時間馴化させ、さらに 24 時間培養したとき、細胞内のグリコーゲン量が減少した。これらの結果より、ALAS1 発現量が増加することで細胞内のグリコーゲン量が減少することが示された。
4. HepG2 に対し CYP1A1 特異的 siRNA を一過性導入し、10 nM の濃度で TCDD を 24 時間曝露したところ、細胞内のグリコーゲン量に変化はなかった。またこの時、コントロール siRNA 導入細胞では TCDD により ALAS1 mRNA が誘導されたが、siCYP1A1 導入細胞では誘導されなかった。また CYP1A1 強制発現ベクターを HepG2 細胞に安定導入し株化した細胞をグルコース・血清不含培地に交換し 24 時間馴化させ、さらに 24 時間培養したとき、細胞内グリコーゲン量が減少した。この時 CYP1A1 強制発現細胞の定常状態における ALAS1 mRNA の発現量は、対照群に比べ有意に高くなっていた。これらの結果より、TCDD による ALAS1 の誘導は、CYP1A1 の誘導を介していると考えられた。

5. siALAS 及び siControl 細胞におけるグリコーゲン合成酵素 Glycogen Synthase (GS) のタンパク質量及びリン酸化状態を測定したところ、10 nM TCDD 24 時間曝露により、siControl 導入細胞では TCDD による不活性型 GS (p-GS) が増加したが、siALAS 導入細胞では増加しなかった。この結果から、TCDD 曝露細胞では ALAS1 依存的に活性型 GS が減少し、グリコーゲンの合成量が減少したと考えられた。

本研究の結果、ダイオキシンは CYP1A1 を介して ALAS1 を誘導することにより GS を不活性化させ、肝細胞内のグリコーゲン量を減少させると考えられた。本研究で明らかとなった CYP1A1 の誘導による ALAS1 の誘導は、今後 TCDD 毒性の分子メカニズムの解明に繋がることが期待でき、学位の授与に値するものと考えられる。