

3 価の金属によるメタロチオネインの誘導

姫野 誠一郎¹⁾, 志田 留美¹⁾, 小林 一男²⁾

長谷川 達也³⁾, 瀬子 義幸³⁾, 井村 伸正¹⁾

(¹⁾北里大・薬・公衆衛生*, (²⁾キッセイ薬品**, (³⁾山梨県環境科学研究所***)

Induction of Metallothionein by Trivalent Metals

Seiichiro HIMENO¹⁾, Rumi SHIDA¹⁾, Kazuo KOBAYASHI²⁾, Tatsuya HASEGAWA³⁾,

Yoshiyuki SEKO³⁾, and Nobumasa IMURA¹⁾

¹⁾ *Kitasato University, School of Pharmaceutical Sciences*

²⁾ *Toxicology Research Laboratory, Kissei Pharmaceutical Co. Ltd.*

³⁾ *Department of Environmental Biochemistry, Yamanashi Institute of Environmental Sciences*

Metallothionein (MT) is a low molecular weight, metal-binding protein that is characterized by having a high cysteine content. The synthesis of MT is induced by heavy metals, hormones, cytokines and a variety of stressors. Monovalent and divalent metals such as silver (Ag), cadmium (Cd), zinc (Zn), copper (Cu) and mercury (Hg) are known to induce MT synthesis and bind to this protein. Among trivalent metals, bismuth is known to induce MT synthesis, but little is known about the induction of MT by other trivalent metals. In the present study, we investigated the induction of MT synthesis by trivalent metals including cerium (Ce), lanthanum (La), and antimony (Sb) in mice. We found that administration of Ce as CeCl₃ induced MT as efficiently as Zn or Cd in the liver, but not in the kidney, of mice. Specific induction of MT in the liver was explained by preferential accumulation of Ce in the liver. Speciation of the form of Ce in the soluble fraction of mouse liver demonstrated that Ce was not bound to MT-I or MT-II. Zn was the major binding metal to the MT induced by Ce. We found that Ce increased plasma GPT activity dose-dependently, suggesting that the inflammatory cytokines may be involved in MT induction by Ce in mice.

* 所在地：東京都港区白金5-9-1 (〒108-8641)

** 所在地：長野県南安曇郡穂高町大字牧2320-1 (〒399-8305)

*** 所在地：富士吉田市上吉田字剣丸尾5597-1 (〒403-0005)

メタロチオネイン (MT) は、Hg, Cd, Zn, Cuなどの2価、あるいは銀などの1価の重金属により誘導合成され、システインのSH基を介してこれらの重金属と強く結合することが知られている。しかし、3価の金属については、これまでビスマスが腎臓でMTを誘導することが知られているものの¹⁾、それ以外の3価の金属がMTを誘導するか否かについてはほとんど調べられていない。そこで、我々はビスマスと同族のアンチモン (Sb)、及びランタン系列に属する3価の金属であるランタン (La)、セリウム (Ce) に注目し、これらの金属がMTを誘導するか否かを検討し、Ceが極めて有効なMT誘導剤であることを見いだした。そこで、Ceによって誘導されたMTの性状についても検討した。

実験方法

塩化セリウム (CeCl_3)、塩化ランタン (LaCl_3)、および酒石酸アンチモンカリウム ($\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2$) を、それぞれ生理食塩水に溶解してICR系雄マウスに腹腔内投与し、24時間後の肝臓ならびに腎臓を採取した。組織中MT濃度はHg-binding assayにより測定した²⁾。また、マウスの肝臓、腎臓を硝酸で湿式灰化後、ICP-MSによりCe, La, Sb, ZnおよびCuの濃度を測定した。Ceを投与したマウスについては、肝臓の可溶性画分をHPLC/ICP-MSを用いて分離分析することにより³⁾、Ce, Zn, Cuの存在状態を検討した。

結果と考察

Ce, La, Sbを投与したマウスの肝臓、腎臓のMT濃度を測定したところ、特にCeを投与した際に、肝臓において顕著なMTの誘導合成が認められた (Fig. 1)。この時誘導合成されたMTの最大レベルは、ZnやCdを投与してMTを誘導した場合とほぼ同じレベルに達していた。しかし、腎臓においては、ほとんどMTの誘導は認められなかった。一方、La, およびSbを投与した場合、わずかに肝臓でMTの誘導が起こったが、そのレベルはCeに比べると、極めてわずかなものであった。

そこで、これらの金属化合物を投与後の各金属の臓器中への蓄積量を測定したところ、Ceを投与したマウスの肝臓中のCe濃度は投与量に依存して肝臓中に顕著に蓄積されていた (Fig. 2)。しかし、本実験

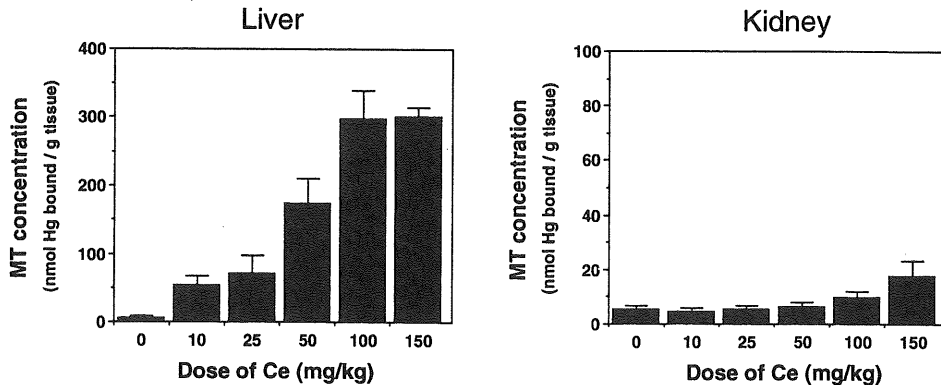


Fig. 1 Induction of metallothionein by CeCl_3 in mice.

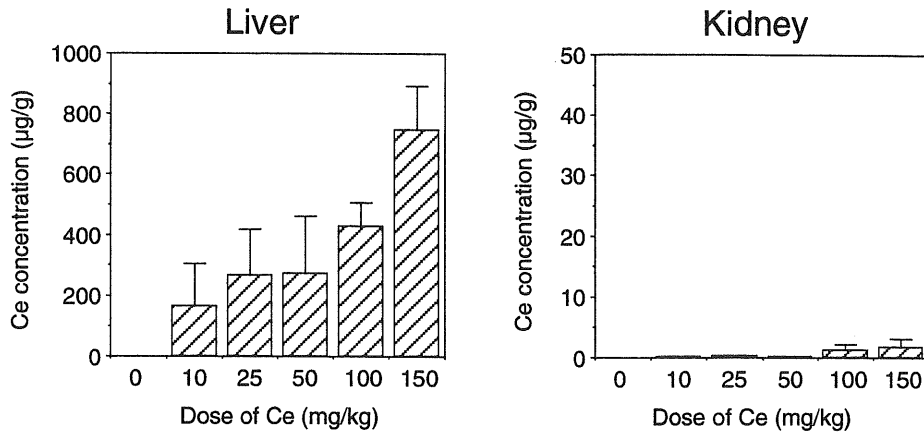


Fig. 2 Accumulation of Ce in liver and kidney of mice given $CeCl_3$

条件下では腎臓へのCeの蓄積は、極めてわずかであった。Ceが肝臓に特異的に蓄積したために、MTもほぼ肝臓でのみ誘導合成されたものと考えられる。また、La, Sbを投与した場合にも、これらの金属は肝臓に多く蓄積した。

そこで、CeによるMTの誘導に注目し、Ceを投与したマウス肝臓の可溶性画分における各金属の存在状態について、HPLC/ICP-MSにより測定した。その結果、Ceを投与したマウス肝臓の可溶性画分において、Ceは高分子量画分のみ存在し、MT-I, MT-IIのいずれの画分にもまったく検出されなかった。一方、MT-IとMT-IIの位置にZnの明確なピークが認められ、CuもわずかにMTに結合していた。したがって、Ce投与によってマウス肝臓にMTが誘導されるものの、誘導されたMTにはCeは結合せず、主にZnが結合していることが明らかになった。

CdやZnなどのMT誘導剤は、誘導合成されたMTと結合するが、CeはMTに結合しないことから、他の金属とは異なるメカニズムによってMTを誘導合成している可能性が示唆された。これまでの動物実験などの報告により、Ceの投与によって肝障害が起こることが知られている⁴⁾。そこで、Ceを投与して24時間後のマウスから血漿を採取し、肝障害の指標であるGPT活性を測定した。その結果、Ceの投与量に依存して血漿中GPT活性の上昇が認められた。金属による肝障害には直接的な障害作用と炎症反応を介した二次的な障害作用が考えられており、また、種々の炎症性サイトカインが肝臓でMTを誘導合成することも知られている。おそらく、CeによるMTの誘導に炎症性サイトカインが関与している可能性が高い。

以上の結果から、3価の金属のうち、ランタン系列に属するCeの投与により、マウスの肝臓においてMTが顕著に誘導合成されること、しかし、Ceにより誘導されたMTにCeは結合しておらず、主にZnが結合していることが明らかとなった。今後、どのような機構によってCeがMTを誘導しているのか、詳細に検討する予定である。

文 献

- 1) A. Naganuma, M. Satoh and N. Imura (1987) *Cancer Res.* 47 : 983-987
- 2) S. Himeno, Y. Yamazaki and N. Imura (2000) *J. Health Sci.* 46 : 149-152
- 3) K.T. Suzuki (1991) *Methods Enzymol.* 205 : 198-205
- 4) P. Arvela et al. (1991) *Toxicology*, 69 : 1-9