

財団法人日中医学協会
2004年度共同研究等助成金－調査・共同研究－報告書

17年 3月 13日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 熊谷 嘉人 
所属機関名： 筑波大学
所属部署： 社会医学系 職名： 教授
〒 305-8575
所在地： 茨城県つくば市天王台 1-1-1
電話： 029-853-3133 内線： _____

1. 助成金額： 900,000 円

2. 研究テーマ

中国の慢性ヒ素汚染地域における中毒症状の個体差とヒ素体外排泄関連遺伝子多型との関係

3. 成果の概要 (100字程度)

中国内モンゴル自治区のヒ素汚染地域において、ヒ素曝露患者の中毒症状および血液中ヒ素濃度と GSTM1 の遺伝子多型との関係を調べたところ、男性において GSTM1 野生型群の血中ヒ素濃度は GSTM1 欠損型群のそれと比較して約 2 倍の高い値を示した。しかし中毒症状の発症率に差は認められなかった。

4. 研究組織

日本側研究者氏名： 熊谷 嘉人 職名： 教授
所属機関： 筑波大学 部署： 社会医学系
中国側研究者氏名： 孫 貴範 職名： 院長 (教授)
所属機関： 中国医科大学 部署： 公衆衛生院

中国の慢性ヒ素汚染地域における中毒症状の個体差と

ヒ素体外排泄関連遺伝子多型との関係

研究者氏名 熊谷嘉人
所属機関 筑波大学大学院人間総合科学研究科 教授
共同研究者 孫貴範

要旨：

1980年代以降、中国では地域性のヒ素中毒が多発している。慢性ヒ素中毒は皮膚疾患、末梢血管障害や種々の癌などを引き起こすが、その症状には個人差が見られる。最近、ヒ素の解毒排泄にはそのグルタチオン抱合化が重要であることが明らかにされた。一般に、異物のグルタチオン抱合反応にはグルタチオン S-転移酵素 (GST) が触媒として働く。興味有ることに、GST の分子種 M1 の遺伝子にはホモ欠失変異が知られており、アジア人の約半数が欠損型である。そこで本研究では、中国内モンゴル自治区のヒ素汚染地域において、ヒ素曝露患者の中毒症状および血液中ヒ素濃度と GSTM1 の遺伝子多型との関係を調べた。その結果、男女共に GSTM1 野生型群と欠損型群では中毒症状の発症率に差は認められなかった (GSTM1 の欠損率は全体の 41%)。しかし女性より男性の方がヒ素中毒症状の発症率が高く、血液中ヒ素濃度も男性の方が高い傾向にあった。また男性においてのみ、GSTM1 野生型群の血中ヒ素濃度は GSTM1 欠損型群のそれと比較して約 2 倍の高い値を示した。これはメチル化ヒ素およびジメチル化ヒ素の濃度が高いことに由来していたことから、男性の場合 GSTM1 野生型は欠損型よりヒ素のメチル化能が高いのかもしれない。今後は GSTM1 以外のヒ素解毒遺伝子の多型を解析して、ヒ素中毒症状の個体差との関係を明らかにすることが期待される。

Key Words：

慢性ヒ素中毒症、個体差、性差、遺伝子多型、GSTM1

目的：

ヒ素は地球上に普遍的に存在する元素であり、その環境汚染による地域性のヒ素中毒が世界各地で生じ問題となっている。特に中国における地域性慢性ヒ素中毒は深刻であり、その曝露人口は 300 万人を超えるとされ、数万人を超える中毒患者が認定されている¹⁾。中国のヒ素中毒の原因は、ヒ素に汚染された井戸水の摂取に起因する飲水型とヒ素を含有した石炭を燃やすことに起因する石炭燃焼型の 2 つに大別される。内モンゴル自治区、ウイグル自治区、山西省などでは飲水型の汚染が多く、貴州省では石炭燃焼型の汚染が多い。一般にヒトが慢性的にヒ素に曝露されると、色素沈着や色素脱落、手のひら・足の裏の角質変性などの皮膚疾患、レイノー症候群のような末梢血管障害、循環器疾患や種々の癌などが生じるが、それぞれの発症機序は明らかにされていない。しかしながら我々は内モンゴル自治区で行ったフィールド調査において、ヒ素に汚染された同じ水源の井戸水を飲んでいる患者でもその中毒症状に個体差があることを見出した。このことは、ヒ素中毒の発症には遺伝子多型が少なからず関与していることを示唆している。

ところで、生体にとって毒であるヒ素を速やかに解毒・排泄する生体防御のメカニズムが近年明らかになりつつある。先行研究により、ヒ素の解毒には GST によるグルタチオン抱合化、ヒ素メチルトランスフェラーゼ (CYT19) によるメチル化、並びに異物排泄トランスポーターである多剤耐性関連タンパク質 (MRP) による細胞外へのくみ出しが重要であることが示唆されている²⁾。またこれらの遺伝子には多型が存在する事も知られており、特に GST 分子種の変異型は野生型より発癌のリスクが高いなどの報告がなされている³⁾。

そこで我々は「ヒ素の中毒症状の個体差は、ヒ素解毒遺伝子の多型に起因するのではないか」との作業仮説を構築

した。本研究ではヒ素解毒遺伝子の中でも特に、アジア人において約半数の人がホモ欠失変異を示す GSTM1 遺伝子に着目し、飲水型慢性ヒ素汚染地域として知られている内モンゴル自治区包頭市缸房営 (Gangfangying) 村の住民を対象にして、中毒症状の個体差並びに生体内ヒ素濃度との因果関係を明らかにすることを目的とした。

対象と方法：

対象：中国内モンゴル自治区包頭市の飲水型慢性ヒ素汚染地域である缸房営村の住人に対してインフォームドコンセントを行い、慢性ヒ素曝露患者として 56 名（男性 25 名、女性 31 名）を抽出した。年齢は 8-65 歳（平均年齢 36.8 歳）で、彼らを使用している井戸水のヒ素濃度は 180 ± 60 ($\mu\text{g/L}$) ($n=37$) と中国の飲料水基準値を上回っていた。井戸の使用期間は平均 18 年程度である。**症状：**手足の痺れ等の末梢血管障害に関しては問診票より、皮膚疾患は検診により調査した。**サンプル：**前日午後 9 時から絶食を行い、翌朝 9 時に採血および採尿した。**血液中及び尿中ヒ素濃度：**超低温-還元気化-原子吸光法を用いて決定した。**遺伝子多型解析：**Wako 社より市販されている DNA 抽出キットを用いて血液サンプルより DNA を採取後、TaKaRa 社より市販されている GSTM1 欠失多型タイピングキットを使用して決定した。

結果：

ヒ素曝露患者において色素沈着（全体の 17.3%）、色素脱落（全体の 17.3%）、手の角質変形（全体の 42.3%）、足の角質変形（全体の 28.8%）、末梢血管障害（全体の 3.6%）等の症状が認められた。これらのヒ素中毒症状は男性（色素沈着、34.8%；色素脱落、30.4%；手の角質変形、69.6%；足の角質変形、39.1%；末梢血管障害、8%）の方が女性（色素沈着、3.5%；色素脱落、6.9%；手の角質変形、20.7%；足の角質変形、20.7%；末梢血管障害、0%）と比べて顕著であった。この結果に一致して、血液中および尿中のヒ素濃度は男性（血液中ヒ素濃度、 9.8 ± 1.9 ng/ml；尿中ヒ素濃度、 440 ± 149 $\mu\text{g/g} \cdot \text{Cr}$ ）の方が女性（血液中ヒ素濃度、 6.2 ± 0.7 ng/ml；尿中ヒ素濃度、 290 ± 82 $\mu\text{g/g} \cdot \text{Cr}$ ）と比較して高い傾向を示した。GSTM1 の遺伝子多型を調べたところ、男性で 10 名（全体の 40%）、女性で 13 名（全体の 42%）が欠損型を示した。GSTM1 の欠損比率には男女差は見られなかった。また、男女共に GSTM1 野生型群と欠損型群では中毒症状の発症率に差はほとんど認められなかった。しかし興味深いことに、男性における GSTM1 野生型群の血中ヒ素濃度は GSTM1 欠損型群のそれと比較して約 2 倍の高い値を示した（全ヒ素、 12.1 ± 2.9 ng/ml vs. 6.3 ± 1.0 ng/ml）。このような GSTM1 野生型群での血中ヒ素濃度増加は無機ヒ素ではなく、その解毒代謝物であるメチル化ヒ素やジメチル化ヒ素の濃度に由来していた（メチル化ヒ素、 5.4 ± 1.6 ng/ml vs. 1.9 ± 0.6 ng/ml；ジメチル化ヒ素、 3.8 ± 1.1 ng/ml vs. 1.8 ± 0.3 ng/ml）。しかしながら男性で認められた差異は女性においては観察されなかった（全ヒ素、 5.3 ± 0.6 ng/ml vs. 7.5 ± 1.5 ng/ml）。また男女共に、GSTM1 野生型群と欠損型群の尿中ヒ素濃度にはあまり変化は見られなかった（結果はすべて mean \pm SEM）。

考察：

今回の結果より、ヒ素の中毒症状の発症に GSTM1 遺伝子の多型は関与していない事が明らかとなった。しかし、女性より男性の方が臨床症状の発症が顕著であったことから、ヒ素の中毒症状には性特異性が存在することが示唆された。この結果に一致して、血液中のヒ素濃度も女性より男性の方が高い傾向を示した。更に、男性においてのみ GSTM1 野生型群の血中ヒ素濃度は欠損型群のその約 2 倍高い値だった。それにも関わらず臨床症状に差がなかったのは、無機ヒ素より毒性の低いメチル化ヒ素やジメチル化ヒ素の濃度が高かったためであると思われる。これまでの報告によると、井戸水を介して生体内に摂取されたヒ素は消化管から効率良く吸収され肝臓等に分布される。哺乳類では AQP9 のような浸透圧に係るトランスポーターを介して組織中に取込まれた無機ヒ素は CYT19 によりメチル化を受ける^{4,5)}。一方、無機ヒ素はグルタチオン抱合され、それが CYT19 によるメチル化の中間体になるという事実も最近明らかにされている⁶⁾。この知見と今回の研究結果から判断すると、男性において GSTM1 野生型であることは、解毒反応と考えられているヒ素のメチル化を促進することを示唆している。この仮説と良く一致して、GSTM1 野生型の方はその欠損型より血中ヒ素のメチル化代謝物量が多かった。

GST 分子種の遺伝子多型には GSTM1 の他にも GSTP1、GSTT1 などがよく知られている。また最近 CYT19 にも遺伝子多型が存在することが報告された⁷⁾。組織中に取込まれた無機ヒ素を胆汁中や血液を介して腎臓を経て尿中に排泄されるには、細胞外への掃出しポンプとして知られている MRP が無機ヒ素ではなくそのグルタチオン抱合体として認識することが報告されている⁸⁾。すなわち、無機ヒ素の体外排泄に係る解毒反応にはメチル化だけでなく GST 分子種によるグルタチオン抱合が重要であるといえる。したがって、今後は GSTM1 以外のこれらの遺伝子多型を解析し、ヒ素の中毒症状の個体差との因果関係を調べる研究が要求される。

謝辞：

本研究は臨床医を含めて中国医科大学公衆衛生院孫貴範教授の研究グループと内モンゴル地方病研究所の支援により行った。また、聖マリアンナ大学医学部予防医学と旭川医科大学医学部健康科学の研究グループの協力を感謝する。

参考文献：

- 1) Sun Guifan et al. ENDEMIC ARSENICOSIS a clinical diagnostic manual with Photo illustrations. 2004
- 2) Rosen BP. Biochemistry of arsenic detoxification. FEBS Lett. 2002; 529: 86-92
- 3) Strange RC et al. The glutathione S-transferases: influence of polymorphism on cancer susceptibility. IARC Sci. Publ. 1999; 148: 231-49.
- 4) Liu Z et al. Arsenite transport by mammalian aquaglyceroporins AQP7 and AQP9. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002; 99: 6053-8.
- 5) Lin S et al. A novel S-adenosyl-L-methionine:arsenic(III) methyltransferase from rat liver cytosol. J. Biol. Chem. 2002; 277: 10795-803.
- 6) Hayakawa T et al. A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19. Arch. Toxicol. 2004; 4.
- 7) Drobna Z et al. Interindividual variation in the metabolism of arsenic in cultured primary human hepatocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2004; 201: 166-77.
- 8) Kala SV et al. The MRP2/cMOAT transporter and arsenic-glutathione complex formation are required for biliary excretion of arsenic. J. Biol. Chem. 2000; 275: 33404-8.

作成日：2005年3月11日