

エストロゲンによるビタミンA作用の攪乱

松田 学

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

はじめに

多細胞生物にとってホルモンをはじめとする細胞間の情報伝達系が重要な働きを担っています。特に、生殖や発生に関わる情報は、ある程度のゆらぎを許容しつつも、厳密に伝達されるべき進化的必然性があると思われま。さて、物質文明はいろいろな化学物質を生産し役立ててきましたが、その一方で、人間活動により産生される物質の中には、正常な生体情報伝達系を阻害するものが含まれ、ヒトや野生動物において個体の健康や種の存続を脅かしている例は、枚挙に暇がありません。中でも、ノニルフェノールやベンゾフェノンなどの工業材料やステルベストロール薬剤などは、エストロゲンに類似した作用をもち、脊椎動物に強い生殖毒性を示します。現在、これらの物質の環境中への排出をできるだけ減らすための施策とともに、曝露予防策や曝露による毒性を最小限に止めるための善後策を立てることが、早急に求められています。後者に先立って、まず毒性の作用機構を理解する必要があります。私たちは周生期マウスの生殖輸管をモデルに用いて、エストロゲン様内分泌攪乱物質の毒性作用機構の解明を目指しています。

エストロゲンによって生じる膣の不可逆的变化

ホルモンの作用は個体の発生段階によって異なることが多く、特に器官が形作られる時期には、特定のホルモンの非常に敏感に反応する特定の期間、いわゆる「臨界期」が存在します。たとえば、哺乳類の成体において生殖輸管の機能調節に重要な役割を担うエストロゲンも、胎児期・周生期には強力な毒として同器官に作用してしまいます。器官形成期の性ホルモン内分泌系の攪乱に関する実験形態学の歴史は「内分泌攪乱」という概念の歴史より長く、たとえば1936年にPfeifferらは、新生児マ

ウスへの精巣片移植による生殖腺機能調節システムの雄性化を報告し [1], その後の脳や生殖腺などの性分化に関する研究の礎を築きました。この研究に刺激を受けた高杉らは、周生期マウスのエストロゲン曝露が、2つの経路で成熟後の膣上皮の連続的な異常増殖を引き起こすことを発見しました [2]。つまり、脳機能の異常によるエストロゲン分泌過剰と、膣自体の異常です。後者は卵巣非依存性の膣上皮の異常、もしくは単に膣の不可逆的变化と呼ばれていて、エストロゲンが周生期膣に直接作用して引き起こされる変化です (図1)。のちにCunhaらにより、この不可逆的变化は膣の間充織に生じることが示されました [3]。こうした周生期エストロゲン曝露による膣の不可逆的变化という現象は、その後日本でも守・井口ら '第二世代' の研究者により精力的に研究が進められ [4, 5], さらに現在、佐藤友美博士 (横浜市大) や筆者らに引き継がれています。さて、エストロゲン様物質がどのように周生期の膣組織に働いて、膣の不可逆的变化を引き起こすのでしょうか。その情報伝達機構を分子の言葉で説明することが私たち '第三世代' に課せられた当面の課題であります。

エストロゲン作用に対するビタミンAの修飾作用

周生期膣に対するエストロゲンの毒性作用機構の理解に向けて、先達によって明らかになった2つのヒントを

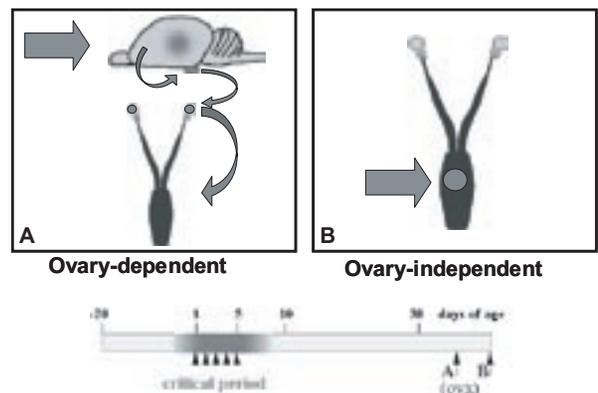


図1 周生期エストロゲン様物質曝露によってマウス膣上皮の異常増殖を生じる2つの作用経路

連絡先: 松田 学, 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻, 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1
TEL: 03-5841-4436
FAX: 03-5841-4439
E-mail: matsudam@biol.s.u-tokyo.ac.jp

私たちは拠り所としています。1つは、ビタミンAをエストロゲンと同時に周生期マウスに投与するとエストロゲン単独投与でみられるような腔の不可逆的变化が生じないこと、つまり、ビタミンAがエストロゲン作用を抑制するという現象 [6]。もう1つは、周生期マウスにFGF7を投与すると、エストロゲン曝露時と同様、卵巣非依存性の腔上皮の異常増殖が生じる、という知見です [7]。前者の現象をもう少し詳しく調べてみると、母親に妊娠後期からビタミンA欠乏餌を与えてエストロゲン毒性作用の臨界期にビタミンA欠乏状態に置かれた個体では、毒性作用が発現するエストロゲン濃度閾値が低下すること、すなわち、エストロゲンに対する感受性が高まることが分かりました [8]。周生期腔におけるエストロゲンとビタミンAの関係を整理してみると(図2)、腔上皮の異常が発現するかどうかは、エストロゲンとビタミンAとの微妙なバランスで決まることが想像されます。このことは、「ビタミンAがエストロゲン作用を抑制する」という現象を、「エストロゲンがビタミンA作用を抑制する」という文脈に置き換えて説明が可能であることを示しています。それまで「ビタミンAによるエストロゲン作用の抑制」という考えに固まっていた私たちにとっては [9]、この発想の転換は小さな「発見」でした。そこで、後者の視点に立って、エストロゲンによってビタミンAの代謝になんらかの変化があるのではないかと、エストロゲン投与後の周生期マウス腔におけるビタミンA代謝関連遺伝子の発現変化を調べるに至ったわけです。

ビタミンA結合タンパク質

ビタミンAは、植物由来のβカロチンや動物のレチニ

		Estrogen level		
		normal	high	very high
Vitamin A level	low	—	☠	☠
	normal	—	—	☠
	high	—	—	—

図2 周生期マウス腔の不可逆的变化の発現に対するエストロゲンとビタミンAの影響

ルエステルから、レチナールやその還元型であるレチノールとして腸から吸収されたのち、多くはレチニルエステルに変換されてキロミクロンに取り込まれ、肝臓を經由して各組織に遊離レチノールとして分配されます。細胞内に取り込まれたレチノールは、エステル化されて貯蔵されるほかは、そのまま、もしくは酸化酵素によりレチナールやレチノイン酸へとかたちを変えた後、膜成分や核内受容体転写因子のリガンドとして働き、さまざまな細胞生理の機能調節に関わっています。さて、こうしたビタミンA類は、細胞内外で特異的な結合タンパク質に結合して存在しています。このレチノイド結合タンパク質は、単に脂溶性の強いビタミンAを血液や細胞質中に安定に存在させる働きをもつばかりではなく、ビタミンAの各種酵素へのアクセシビリティを制御して、ビタミンA代謝を調節しているようです [10]。私は、これらビタミンAの代謝関連酵素、結合タンパク質、核内受容体のなかで、周生期マウス腔組織においてエストロゲンを作用させた時に発現量が変化するものがないか、調べてみました。すると、泥臭いスクリーニング作業が功奏し、2型細胞内レチノール結合タンパク質 (RBP2) の mRNA 量が、エストロゲン刺激により著しく増加することが分かりました。RBP2は小腸の吸収上皮に特異的に発現するタンパクとして知られていたため [11]、私はなんらかのコンタミネーションではないかとの不安に駆られて何度も確認作業を行いました。結果は覆りませんでした。そればかりか、エストロゲンによる腔RBP2遺伝子発現の誘導は、エストロゲンが腔に不可逆的变化を引き起こすことのできる臨界期に特異的な現象であることや、エストロゲン用量依存的事であることが次々と明らかになりました。RBP2は小腸上皮で食物から吸収したレチナールを捕捉して、その還元やエステル

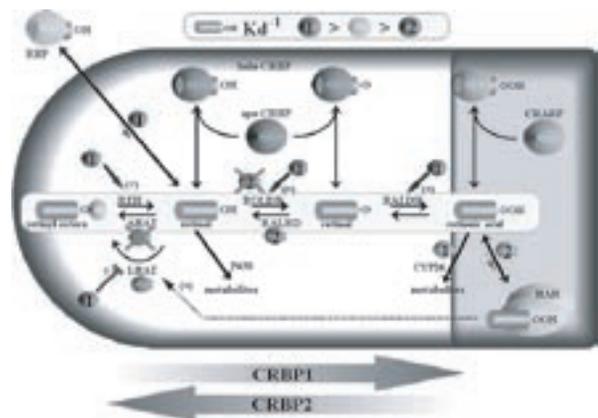


図3 ビタミンAの細胞内代謝とビタミンA結合タンパク質の働き

化を促します(図3)。RBP2の腔での作用は推測の域を出ませんが、1. エストロゲン曝露による急激なRBP2発現誘導により細胞は酸化型ビタミンAの欠乏状態に陥る、もしくは、2. エストロゲン曝露によりなんらかの細胞内ビタミンA利用の必要性が生じてRBP2発現が誘導されるが細胞外からの取り込みが追いつかない、などの事由により細胞内ビタミンAの欠乏状態が生じることが、腔の分化を狂わせるのではないかと考えると、図2に示したビタミンA作用とエストロゲン作用の相互関係と符合します。

FGF7と上皮 - 間充織相互作用

前述しましたが、エストロゲン様物質が周生期腔に引き起こす不可逆的変化の最終的な作用点は間充織だと思われます。一方、RBP2の発現部位を調べてみると、上皮細胞に発現しているという知見が得られました。上皮の変化が、腔の不可逆的変化にほんとうに関与しているのでしょうか。この問いには、2つめのヒント、すなわちFGF7に関する研究結果が光を投げてくれました。FGF7を周生期マウスに投与すると腔に不可逆的変化が生じ、卵巣非依存性の上皮の連続増殖が起こります。私たちの最近の研究により、このFGF7の作用が腔組織に対する直接作用であり、また、エストロゲン様物質による腔の不可逆的変化も、じつはFGF7の仲介により生じるという証拠が得られました[12,13]。さて、このFGF7は主に間充織で産生されますが、その受容体は上皮にのみ局在しているようです。つまり、FGF7によって生じる上皮の変化が、やがて間充織に不可逆的な変化をもたらすことを示唆しています。このことはまた、まだ知られていない、上皮から間充織への分化シグナル因子が存在することを暗示しています。

雄性生殖管に対するエストロゲン毒性

RBP2は周生期マウスの雄の生殖管上皮でも、エストロゲンにより発現が誘導されました。生殖管は雌雄で発生の由来が異なるものの、器官形成期のホルモン応答能に関して、かなり似た性質をもつようです。実際、周生期マウスのエストロゲン様物質への曝露は、雌において腔の分化を狂わせるのと似たように、雄においても生殖管の機能不全が生じ、やがて精子の量的・質的劣化を引き起こすに至ると考えられています。面白いことに、こうした雄でのエストロゲン様物質の毒性作用の一部は、高濃度のビタミンA存在下では抑制されました

[14,15]。器官形成期にエストロゲンが示す毒性の作用機構は、雌雄でかなり共通していることが予想されます。

これからの展望

エストロゲン様物質の生殖管系に対する直接的毒性作用の分子機構に関する私たちの理解は、一定の進展をみせました。しかし、これは未知の情報仲介物質の存在という、新たな問いを浮き彫りにしたにすぎないとも言えます。今後はDNAマイクロアレイなどの技術を取り入れて、スクリーニングの速度を速め、近い将来、さらに深い理解の地平に到達できるものと期待しています。他方、エストロゲン毒性に対する感受性をビタミンA欠乏が高めるという事実は、複合汚染による内分泌攪乱物質の環境毒性の相乗効果を示唆しています。ビタミンA情報伝達系を攪乱する物質に関する研究報告を私はまだ知りませんが、環境汚染の進んだ地域で体内ビタミンA量の低下がみられるとの不穏な情報もあり、今後のより詳細な調査が待たれるところです。将来、ビタミンA代謝を調節することによりエストロゲン様物質の環境毒性を軽減する手法が考案されるかもしれません。私たちの基礎研究が、エストロゲン様内分泌攪乱物質による毒性作用の発現予防や中和、あるいは生殖管の正常発生の理解に役立てば幸いです。

謝辞

学会の奨励賞をいただき、またこのたび学会雑誌の誌面にて研究紹介をする機会までいただきましたこと、学会広報担当理事の西原真杉先生をはじめ諸先生方に感謝いたします。このレビューを執筆して、先人による開拓と導きと同僚の協力があってこそ私の研究が成り立っていることを、改めて実感した次第です。とくに、この現象を紹介してくださった守隆夫博士と、私と一緒に研究に取り組んでいる大学院生の増井藤子氏に、この場をお借りしてお礼申し上げます。

文献

1. Pfeiffer CA (1936) Am J Anat 58, 195-226.
2. Takasugi S, Bern HA, DeOme KB (1962) Persistent vaginal cornification in mice. Science 138, 438-439.
3. Cunha GR, Lung B, Kato K (1977) Role of the epithelial-stromal interaction during the development and expression of ovary-independent vaginal hyperplasia. Dev Biol 56, 52-67.
4. Mori T (1975) Effects of postpubertal oestrogen injections on mitotic activity of vaginal and uterine epithelial cells in mice treated neonatally with oestrogen. J Endocrinol 64, 133-140.

5. Iguchi T, Ostrander PL, Mills KT, Bern HA (1985) Induction of abnormal epithelial changes by estrogen in neonatal mouse vaginal transplants. *Cancer Res* 45, 5688-5693.
6. Mori T (1968) Effects of neonatal injections of estrogen in combination with vitamin A on the vaginal epithelium of adult mice. *Annot Zool Japan* 41, 113-118.
7. Hom YK, Young P, Thomson AA, Cunha GR (1998) Keratinocyte growth factor injected into female mouse neonates stimulates uterine and vaginal epithelial growth. *Endocrinology* 139, 3772-3779.
8. Matsuda M, Masui F, Mori T (2002) Toxicity of endocrine disruptor via the disruption of vitamin A metabolism. *Folia Endocrinol Jpn* 78, 396.
9. Masui F, Matsuda M, Akazome Y, Imaoka T, Mori T (2001) Prevention of neonatal estrogen imprinting by vitamin A as indicated by estrogen receptor expression in the mouse vagina. *Cell Tissue Res* 306, 441-447.
10. Noy N (2000) Retinol-binding proteins: mediators of retinoid action. *Biochem J* 348, 481-495.
11. Folli C, Calderone V, Ottonello S, Bolchi A, Zanotti G, Stoppini M, Berni R (2001) Identification, retinoid binding, and x-ray analysis of a human retinol-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 3710-3715.
12. Masui F, Matsuda M, Mori T (2003) Inhibition of KGF-induced ovary-independent cornification of vaginal epithelium by vitamin A in neonatally estrogenized mice. *Cell Tissue Res* 311, 251-258.
13. Masui F, Matsuda M, Oka Y, Mori T (2003) Estrogen requires FGF7-FGFR2 (IIIb) signalling to induce ovary-independent proliferation of vaginal epithelium in neonatal mice. *Zoolog Sci* 20, Suppl (abstract).
14. Nakahashi K, Matsuda M, Mori T (2001) Vitamin A insufficiency accelerates the decrease in the number of sperm induced by an environmental disruptor, bisphenol A, in neonatal mice. *Zoolog Sci* 18, 819-821.
15. Aikawa H, Koyama S, Matsuda M, Nakahashi K, Akazome Y, Mori T. Relief effect of vitamin A on the decreased motility of sperm and the increased incidence of malformed sperm in mice exposed neonatally to bisphenol A. *Cell Tissue Res* (in press).