

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ヒ素の体外排泄解毒因子の特定およびそれらの発現亢進に係る生体防御 機能性食品の探索			
研究テーマ (欧文) AZ					
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) クマガイ	名) ヨシト	研究期間 B	2004 ~ 2006 年
	漢字 CB	熊谷	嘉人	報告年度 YR	2006 年
	ローマ字 CZ	Kumagai	Yoshito	研究機関名	
研究代表者 CD 所属機関・職名		筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>現在、自然界に幅広く存在するヒ素の環境汚染による健康被害は世界的な規模で発生している。井戸水を介したヒ素の曝露人口は世界中で一億人を超えるとされ、人類が直面している最も深刻な環境化学物質による人体汚染の問題であると言える。しかし、ヒ素中毒疾患(皮膚疾患、循環器疾患、末梢神経障害等)の発生機序ならびに解毒機構が必ずしも明らかにされていないため、未だに十分な予防・治療措置がとられていない。</p> <p>本研究では、まずヒトにおけるヒ素の解毒機構を明らかにするために、生体防御に働く転写因子である Nrf2 に注目して遺伝子欠損マウスを用いた解析を行った。その結果、野生型マウスの初代肝細胞にヒ素を曝露すると Nrf2 は活性化し、下流の遺伝子産物である <math>\gamma</math>-GCS や GST、MRP のようなヒ素の細胞外解毒排泄に関わるタンパク質の発現上昇が観察された。しかしそれに対して、Nrf2 欠損マウスの肝細胞ではヒ素曝露による <math>\gamma</math>-GCS や GST、MRP の発現亢進は見られなかった。更に、ヒ素曝露によって野生型マウスでは細胞内グルタチオン量は上昇するのに対して、Nrf2 欠損マウスでは細胞内グルタチオン量は逆に低下した。このようにヒ素に対するストレス応答能が消失した Nrf2 欠損マウスの初代肝細胞は、野生型マウスのそれよりもヒ素に対する感受性が増加した。以上の結果から、Nrf2 がヒ素からの毒性防御において重要な役割を果たしていることが示された。</p> <p>次に、無機ヒ素の解毒排泄を促し生体防御に働く機能性食品を見出すために、食品中成分に注目して検討を行った。その結果、ブロッコリー中に多く含まれる Nrf2 活性化剤スルフォラファンが、無機ヒ素によって引き起こされる細胞死を軽減できる機能性を発見した。野生型マウスの肝細胞にスルフォラファンを曝露すると、Nrf2 が活性化し、その下流の <math>\gamma</math>-GCS ならびに GST、MRP の発現が亢進した。同条件下で、細胞内グルタチオン量の増加が観察された細胞にヒ素を曝露して細胞内のヒ素の蓄積量を調べたところ、スルフォラファンを前処理した細胞内のヒ素濃度は未処理のそれと比べて有意に低下していた。以上より、スルフォラファンは Nrf2 を活性化し、<math>\gamma</math>-GCS や GST、MRP などの発現を協調的に亢進させることによりヒ素の細胞外排泄を促し、ヒ素の毒性を軽減する働きがある事が示唆された。現在、このスルフォラファンを多く含む機能性食品であるブロッコリースプラウトを用いて、個体レベルでのヒ素に対する化学防御効果について引き続き研究を行っている。</p>					
キーワード FA	ヒ素	Nrf2	スルフォラファン	化学防御	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Arsenic: Signal Transduction, Transcription Factor, and Biotransformation Involved in Cellular Response and Toxicity							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kumagai and Sumi	雑誌名 <sup>GC</sup>	Annu Rev Pharmacol Toxicol.					
	ページ <sup>GF</sup>	243~262	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	7	巻号 <sup>GD</sup>	4 7
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Sulforaphane, an activator of Nrf2, suppresses cellular accumulation of arsenic and its cytotoxicity in primary mouse hepatocytes.							
	著者名 <sup>GA</sup>	Shinkai et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	FEBS Letters					
	ページ <sup>GF</sup>	1771~1774	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	6	巻号 <sup>GD</sup>	5 8 0
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 E Z

Inorganic arsenic is a metalloid that is ubiquitously distributed in the earth's crust. High levels of arsenic contamination of groundwater in an endemic area of chronic arsenic poisoning in East Asia have led to severe environmental problems. It is well recognized that glutathione (GSH), which synthesized by  $\gamma$ -glutamylcysteine synthase ( $\gamma$ -GCS), GSH *S*-transferases (GSTs) and multidrug resistance-associated protein (MRP) proteins are required for excretion of inorganic arsenic. Because cytotoxicity of arsenic is thought to be associated with its accumulation in cells, it is postulated that a possible approach to chronic arsenic poisoning is activation of transcription factors that control proteins such as  $\gamma$ -GCS, GSTs and transporters associated with arsenic excretion.

Nrf2 has been identified as a transcription factor regulating proteins that participate in metabolism and excretion of organic chemicals. For this reason, treatment with chemicals activating Nrf2 before exposure to carcinogens has been attempted. Sulforaphane (SFN), a compound found in broccoli sprouts and broccoli, is also known to be a potent Nrf2 activator and is capable of preventing toxicity of organic chemicals. To our knowledge, however, the protective effect of Nrf2 activators on arsenic-mediated cytotoxicity has not been reported. Our rationale was that up-regulation of proteins responsible for excretion could lead to substantial reduction of steady-state levels of arsenic in cells, thereby diminishing cellular toxicity caused by arsenic exposure.

Exposure of primary mouse hepatocytes to SFN resulted in activation of Nrf2 and significant elevation of protein expressions responsible for arsenic excretion. Pretreatment with SFN 24 hr prior to arsenite exposure reduced not only arsenic accumulation in the cells but also cellular toxicity. Therefore, our findings indicate a potential function of SFN in reducing cellular arsenic levels, thereby diminishing arsenic toxicity. Currently, we are examining chemical protection of functional food such as broccoli sprouts against arsenic-induced disorders with animal model.