

連 載

出生時体質と環境要因 AHR protein： 発がん化学物質と細菌毒素の解毒

青木 國雄

はじめに

諸種の事情で健康文化への連載を前号で終了していただくようお願い申し上げた。しかし新しい編集委員長から再び寄稿のお誘いがあった頃、A h Rという遺伝要因が化学物質の解毒と同時に結核菌の代謝産物の病原作用も抑制するという論文を目にし、驚いていた時期でもあった。いろいろ考えて、これは健康文化でご紹介申し上げておかないといけないと判断し、掲載をお願いすることになった。それは以前、健康文化誌上に掲載させていただいた拙著「結核とがん」の関連についての補足になるのではないかと考えたからである。その内容は、「中高年で活動性肺結核患者には肺がんのリスクが高い」という疫学的知見であり、生物学的証拠が十分とは言えなかった。もっとも、その後、この関連を裏づける生物学的証拠として、結核菌の培養液中にあらわれる毒性の強いコード・ファクターが発がんに関連するのではないかと考え、その成分であるミコール酸の発がん作用について、分子生物学者藤木博太教授に解明していただいた。動物実験結果は、ミコール酸は肺組織での強力ながんプロモータと判明し、その結果は国際的医学誌に発表された。結核菌を長く排出続ける患者は、こうした菌体からのがんプロモータの作用を受け、発がんに至る可能性があったからである。1960年代の米国では慢性活動性肺結核患者の70%は非結核死で、その中で肺がんが多く観察された。追試した1970年代の日本では、肺がん発生率が極めて低く、肺がんを合併する患者は確率論的に多くても数は極めて少なかった。因果関係を疑う結核病学者が多いのも当然であった。喫煙原因説が大きいので、その後、筆者らは特に女性の結核患者に絞って追跡すると、やはり肺がんリスクは有意に高く、がんの組織所見も腺癌が中心であった。しかし、さらなる生物学的証拠が必要と考えていた。

今度発表されたA h Rという細胞内のreceptorの働きは、結核など慢性細菌性感染と発がんとの関連を裏づける一つの証拠と判断したからである。

なお、A h RはAHRとも記号化されているが、ここでは最近の文献に準じてA h Rで統一して記述した。また、分子生物学でのreceptorの機能は、細胞

外分子と結合し、その情報を細胞質あるいは細胞核に伝達するもので、タンパク質である。receptor は細胞外膜に多いが、この Ah R は細胞内の遺伝要因である。

ダイオキシン、PDCBなどの解毒と Ah R

体内に入った毒性のある化学物質が代謝され解毒される機序は、1960年代から70年代にかけ、世界中で研究された。そして Ah R の機能についても多くの報告がなされたが、ここでは Nguyen のすぐれた展望、総括をもとに手短かに紹介したい。

よく知られた環境性毒物である PHAs (多環性芳香性炭水化物) の解毒機序については、細胞内で cytochrome 450-dependent monooxygenases が誘導されることや UDP-glucuronosyltransferase, glutathione-S-transferase のような酵素により解毒される機序が報告されている。その後、解毒には、別の機序が介在することが明らかにされ、その遺伝子 locus の研究がなされた。PHAs の解毒機能を持つマウスと持たないマウスでの比較実験で、解毒能を持つマウスでは、解毒活性部分の一つの常染色体上にある receptor であることが確認され、aryl hydrocarbons を解毒する receptor の locus であることから、Ah R、つまり aryl hydrocarbon receptor としてコード化されたとある。代表的な環境由来の毒性物質 TCDD (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) をモデルにした研究では、Ah R receptor は TCDD の chlorinated dioxin 類とつよい親和性をもち結合し、monooxygenases を誘導する。その後結合物は細胞核へ転送される。細胞核内に入ると、毒物と結合した Ah R は分離し、別の遺伝子と結合、そこで誘導された特異的な酵素系で解毒され、TCDD は水溶性となり排出されるという機序がわかった。Ah R 活性の程度はマウスの genotype で異なる。個体差があるわけである。

Ah R の Signal transduction 機能

細胞内の Ah R は、Ah R と 2 つの Hsp90 (シャペロン分子—未成熟のポリペプチッドに一時的に結合、その folding, unfolding を助けて、完成成熟したタンパク質から解離させる機能をもつ) と、ARA9、さらに P23 も結合した複合物であり、helix-loop-helix の構造がわかっている。細胞外の毒物 (ligand) は、この複合体の Ah R のみに結合する。結合物は前述のように細胞核へ移送されると、毒物と結合した Ah R のみが分離し AHR nuclear translocator (A

RNT) と再結合し、その複合体は dioxin responsive elements (DRE) に結合し、ここで target genes が活性化され、CYP1A1, CYP1A2, CYP1b1 などで代謝され、毒物は分解・排泄させられる。その後の AhR は不活性化されるが、それは毒物による過大な刺激から組織を保護することを意味するという。なお、AhR の作用機序は、AhR 欠損マウスとの比較実験で、説得性のある多くの証拠が出されている。

前述した Ligand とは、細胞表面の receptor に結合する物質で、サイトカインなどの情報伝達物質、抗原、酵素にくっつく基質、補酵素などをさす。AhR は細胞内の receptor であるが、同様な意味でつかわれている。

AhR と結合する外部毒性物質 (Agonist) には 前記 TCDD のほか、ベンゾパイレン、メチルコラントレン、PCBs、PHAs (Polycyclic aromatic hydrocarbons) などがあり、いずれも同様な機序で解毒される。なお、Agonist は 作動薬 作用薬と訳されているが、前記のように receptor に結合し、生理的反応を引き起こす物質である。結合すると構造が変わることがある。

内因性物質と AhR

外部からの毒性物質だけでなく、体内でできる内因性物質とも AhR は結合し、代謝を促進したり解毒したりする。内因性物質としては Indigoids (Indigo, indirubin)、Equilenin (卵胞ホルモン、これはホルモン補充療法にもつかわれる)、Arachidonic acid metabolites (lipophilic substances)、Heme metabolites、Bilirubin metabolite、Tryptophan metabolites などがある。その作用機序は略する。

食餌性要因と AhR

食餌性としては、AhR 欠損マウスに毒性のあるインドール類、ケルセチンなどが研究されているが、一方、果物野菜などからの Flavonoids, Polyphenols などとも結合する。これは、AhR 活性を高める作用を持っている。これらを含む果物、野菜成分の生体防御機能と考え合わせ興味深い。

AhR と結合しない要因

AhR と結合しなくても AhR の活性を高める要因がある。LDL (low density cholesterol) もその一つである。結合せずに、単に Cell to cell contact で活性を高める。つまり AhR は予想外に幅広い機能を持つ遺伝子である。

その他 proagonists, weak agonists, non-specific ligands などに分類されるい

くつかの要因とも関連し、機能する。Benzimidazoles という化学物質は、A h R と結合はしないが、A h R を活性化するという。

生物の発育と A h R

A h R は生物の発育と密接に関連しており、内因性の agonist と関係して作用する。A h R 欠損マウスでは、A h R ありのマウスに比べ、致命率が高く、胆道炎、脾臓リンパの減少、心肥大、皮膚障害、門脈肥大 幽門肥大を呈し、また Ductus Venosus(DV)の開存も報告されている。

A h R の細菌からの毒性物質の解毒作用

2014年、Nature に発表された A h R に関する新知見は、A h R は環境化学物質だけではなく、細菌感染を防御するという内容である。

細菌が細胞内に侵入すると、菌体外分泌物が代謝され、新しい病原性物質が出現する。すると細胞内の A h R が、自身のポケット状のくぼみを利用してこの毒物と結合する。ligand binding pocket docking である。結合した複合体は、細胞核へ転送され、そこで酵素群により無毒化され、排泄される。つまり T C D D と同じ機序で無毒化されるわけで、免疫学的な反応の機能が認められたのである。この論文では緑膿菌と結核菌についての詳細な実験研究を記述している。2つの細菌に共通した細菌からの代謝物は pigmented virulence factors と呼ばれる物質であり、A h R 系ではそれと結合し、細胞核へ転送して無毒化する。

着色有毒物は、緑膿菌では phenazines 類であり、結核菌では phthiocol(Pht) である。これら着色毒物は、細胞内で活性酸素を発生させ、組織を傷害することが明らかにされている。Phenazines*は直接肺の組織傷害をするほか、サイトカインを産生、気管支上皮の繊毛運動や粘液の分泌を抑制するいくつかの報告がある。

*Phenazines には pyocanin(Pyo),hydroxyphenazines(1-HP),phenazine-1-carboxylic acid(PCA), phenazine-1-carboxamide(PCN)などがある。

結核菌では naphthoquinon phthiocol(Pht) である。興味あることは、これらの細菌性毒物の構造式は T C D D と類似した多環構造であり、分子量が小さいので細胞膜を通過しやすく細胞内で拡散しやすい。これら毒物の A h R との結合の仕方も T C D D と類似している。A h R には前述したようにポケットがあり、そこに病原物質の親水性部分が結合、嫌水性のひも状の部分はポケットを取り巻くように付着する。これら agonists と結合した A h R の活性は毒物の

dose と dependent している。

緑膿菌感染ではA h Rの無いA h R⁻のマウスでは、普通のWTマウスにくらべ、病の進展も早く、肺機能低下も大きく、白血球数もすくなく、短期間で死亡し、死亡率も有意に高い。骨髓像の変化も異なる。普通、肺の細胞上皮は細菌侵入の最初のバリアーであり、異物には粘液や表面活性剤で防御するが、A h R⁻のマウスではほとんどそれがみられない。A h Rは骨髓や細胞質の中で、免疫体制を準備して、炎症反を防ぐわけである。

結核菌の場合でもA h R⁻マウスでは低菌量の感染でも、より短期間で、高率に死亡する。ただ、肺に炎症性マクロファージが増え、TNF- α が減少するほかは、組織の破壊度には対照と差はない。高菌量の感染実験では両者の死亡率の差は拡大するが、骨髓の変化は差がない。死亡の機序についての記載はない。A h R⁻のマウスでは、結核菌の増殖抑制や、炎症性サイトカイン類の分泌が障害されている。Phtは結核菌のlipid fractionにある。A h Rが活性化されると、肺への炎症性白血球の遊走を調整し、菌の増殖を抑制するするといっている。

こうした免疫的な作用は、結核症の場合、Pht以外の要因も関与している可能性も否定できない。すでにDorthoiは結核感染を細胞、組織、分子生物レベルで検討しており、病変成立や免疫状態の変化を報告、いったん病変が成立すると極めて複雑な反応が生起するとして、その機序の解明は難しいとしている。Weinerらは結核菌の代謝物を検討、少なくとも20種類の特異的物質が結核病変進展と関連するとしている。また、A h Rがリンパ組織を通して腸内免疫とも関連するという報告もある。もっとも、筆者にの調べた範囲では、他の要因はあるとしても、A h Rが結核感染防御に重大な役割を果たしていることは間違いないと思われた。

なお、naphthoquinonesは原始核細胞や、動・植物に広く分布しており、外部からの障害に対する防御機構として存在しており、A h Rは進化が続いたという解釈である。

まとめ

細胞内にあるA h Rというreceptorが環境汚染のような化学的毒性物質の解毒や細菌の放出する毒性代謝物質の免疫反応に深く関連していることは、分子生物学に無学な著者には衝撃であり、またダイオキシンなど化学物質と細菌類の有毒成分が類似した化学構造式を持っていることも驚きであった。ダイオキシンなど化学物質はがん原性物質としても知られており、細菌からの代謝産物も、

類似した構造式をもち、発がん性を持つ可能性があったことは重要な知見である。

先に述べたように、慢性活動性肺結核患者に肺がんのリスクが高い理由としてミコール酸を上げたが、結核菌体からの異なる毒物である Pht にも発がん作用の可能性があったわけである。もちろんこれら以外の要因の関与についても、さらなる研究が必要であろう。一方、防御要因としての AhR の存在と、その活性には種族差があること、つまり人では遺伝的多形の存在は当然考えられるので、慢性活動性肺結核患者の一部が長期生存の中で発がんに至るのであろう。AhR 研究の新しい展開でこうした疑問が解決されることを強く期待している。

謝辞：この AhR の論文はかつての共同研究者、藤木博太前徳島文理大学副学長から教示を受けたものであり、また多くの文献収集は、名古屋大学予防医学教室の若井健志教授、渡辺優子氏のご厚意によるもので、あわせて御礼申し上げます。

参考文献

1. Nguyen LP, Bradfield CA: The Search for Endogenous Activities of the Aryl Hydrocarbon Receptor Chem Res. Toxicol ,21:102-116, 2008
2. Wilson R, Sykes DA, Watson D et al: Measurement of Pseudomonas aeruginosa Phenazine Pigments in Sputum and Assessment of Their Contribution to Sputum Sol Toxicity for Respiratory Epithelium Infection & Immunity 56: 2515~2517, 1988
3. Gardner PR: Superoxide Production by the Mycobacterial and Pyocyanine in Human Lung Cells Arch. Biochem. & Biophysics 333 267~274, 1996
4. Jensen BA, Leeman RJ, Schlezinger JJ, Sherr DH: Aryl hydrocarbon receptor(AhR) Agonists suppress interleukin-6 expression by bone marrow stromal cells: an immunotoxicology study Environ Health: a Global Access Science Source 16~28, 2003
5. Cheon HJ, Woo Y-S, Lee J Y Etal: Signaling pathway for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced TNF-a production in differentiated THP-1 Human macrophages Experimental. & molecular Med. 39: 524~534, 2007
6. Leland S, Pierson III, Pierson EA: Metabolism and function of phenazines

- in bacteria: Impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes Appl Microbiol Biotechnol 86:1659~1670, 2020
7. Casado FL, Sing KP, Gasiewicz TA: The Aryl hydrocarbon receptor: Regulation of hematopoiesis and involvement in the progression of blood diseases Blood Cells Mol Dis. 44:199~206, 2010
8. Opitz CA, Litztenburger UM, Sahm F et al: An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor Nature 478: 197~203, 2011
9. Kiss EA, Vonarbourg C, Kopfmann S et al: Natural Aryl Hydrocarbon Receptor Ligands Control organogenesis of Intestinal Lymphoid Follicles Science 334: 1561~1565, 2011
10. Qiu J, Heller JJ, Guo X et al: The Aryl Hydrocarbon Receptor regulates Gut Immunity through Modulation of Innate Lymphoid Cells Immunity 36: 92~104, 2012
11. Vogel CFA, Matsumura F: A new cross-talk between the aryl hydrocarbon receptor and RelB, a member of the NF- κ B family Biochemical Pharmacology 77: 734~745, 2009
12. Dorhoi A, Reece ST, Kaufmann SHE: For better or for worse: the immune response against Mycobacterium tuberculosis balances pathology and protection Immunological Reviews 240: 235~251, 2011
13. Weiner J, 3rd. Parida SK, Maertzdorf J et al: Biomarkers of Inflammation, Immunosuppression and Stress with Active Diseases are revealed by metabolomic Profiling of Tuberculosis Patients PLoS One 7:e40221 1-14, 2012
14. Alves PM, Kellen F, Houthuys E et al: AhR sensing of bacterial pigments regulates antibacterial defence Nature August 51 :387~392

(名古屋大学名誉教授、愛知県がんセンター名誉総長)