

ゲノム編集技術を用いたカドミウム毒性に対する 魚類メタロチオネインの機能解析

相澤 陽太 谷口 善仁

杏林大学医学部 衛生学公衆衛生学教室

【目的】

カドミウムは亜鉛族に属する重金属で、環境水では主に底質や懸濁物質として存在している。水質環境基準は0.01 mg/L以下であったが、平成23年に0.003mg/L以下とより厳しくなった。この基準は人の近位尿細管障害に関する疫学調査を主たる根拠とした耐用週間摂取量に基づいている。

カドミウム毒性はこれまで主に人間を含めた哺乳動物で研究がなされてきたが、ヒトやマウスではメタロチオネイン遺伝子が複数ある。本研究ではメタロチオネイン遺伝子が一つしかないニホンメダカに着目し、ゲノム編集技術を含む遺伝学的・分子生物学的手法を用いて、魚類におけるメタロチオネインの役割を検討した。

【方法】

実験には、配列特異的にゲノムを切断する人工酵素によりメタロチオネイン遺伝子を破壊した系統、および、対照として野生型メダカのOK-cab系統を用いた。カドミウムへの曝露は、飼育水中に段階希釈した塩化カドミウムを加える浸漬法により行った。胚と稚魚に、0.003ppmから500 ppmの濃度のカドミウム溶液による持続曝露を行い、48時間ないし96時間後に生死判定をした。

【結果及び考察】

本研究で作成した個体は、重金属を結合する20個のシステイン残基のうち18個を欠いているため、機能のあるタンパク質は産生されないと考えられる (Fig. 1)。これらの個体の重金属への感受性を調べるためにカドミウムへの曝露実験を行った。3.5日胚における実験では、ノックアウトは野生型より有意に低い濃度のカドミウムで死亡した。また、孵化直後の仔魚は胚より感受性が高く、ノックアウト仔魚のLC50は、同じ遺伝子型の胚のLC50の100分

の1程度の0.18ppmであった。これは我が国において定められている水質環境基準の約60倍に相当する。以上の結果より、メタロチオネインは魚類においてもカドミウムの急性毒性に対して生体防御的に働くということがわかった。

【おわりに】

本稿は、杏林医学会の学生トラベルアワードを拝受し、平成28年5月11日～13日に開催された第86回日本衛生学会学術総会（旭川市民文化会館）において発表した内容をまとめたものである。通常、毒性試験は野生型の個体を用いるため、大学および研究機関に所属する学会関係者から本研究で用いたゲノム編集動物についての分子生物学的な質疑があり、本演題への強い関心が示された。このような学生発表を経験することができたことは、きわめて有意義なものであった。

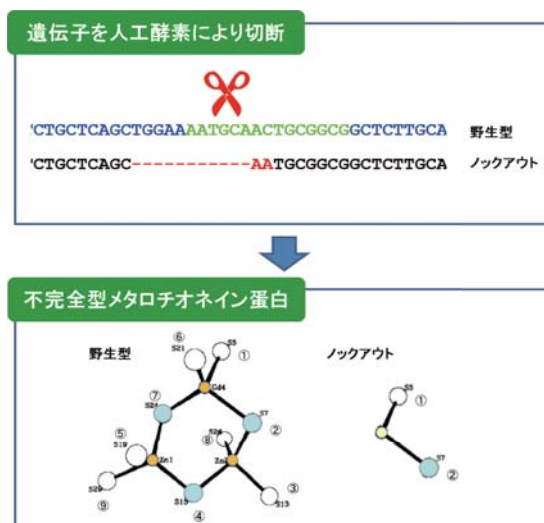


Fig. 1 Disruption of medaka metallothionein gene.