

A-4. 紫外線の増加が人の健康に及ぼす影響に関する研究

(3) 紫外線に対する防御機構の研究

～UVB 照射による皮膚細胞の代謝障害に伴う蛋白変化の研究～

労働省産業医学総合研究所 職業病研究部

山田博明

平成5年度－7年度合計予算額 18,661千円

(平成7年度予算額

4,193千円)

[要旨] UVB は、35 nm の帯域に過ぎない 280-315 nm の波長の紫外線をさす用語である。この為か、UVB の生体への影響を論ずる際、UVB はまとめて取り扱われる例が多くみられる。しかし実際に、モノクロメータで分光した特定波長の紫外線を細胞に照射してみると、UVB の短波長側成分を照射した時のみ、重金属やデキサメサゾンによるメタロチオネイン (MT) の誘導が強く阻害されることを見いだした。この阻害は皮膚由来細胞以外の細胞 (HeLa) を用いても観察され、紫外線による MT の誘導阻害が、普遍的なものであることが窺える。ノーザンプロットで検出したところ、Cd 添加後、4 時間で誘導されてくる MT-II_A-mRNA の量は、紫外線照射により著しく減少しており、MT 誘導の阻害の作用点が、転写の段階である事が判明した。

以上のように、紫外線が MT-mRNA の誘導レベルの上昇を抑え、細胞内での MT の合成を阻害するならば、紫外線を照射された細胞は重金属に対して耐性が弱まっていることが推定される。本研究の結果は、この推定どおり、紫外線と重金属の複合曝露が、各々の単独曝露より、細胞に与える損傷が大きいことを示した。紫外線による重金属耐性の低下は、これまで紫外線の生命に対する影響として、想定されることのなかった現象である。MT は、重金属以外にも、ラジカル等の様々な刺激に対する防衛に関与すると考えられている蛋白である。従って、紫外線が地球上の生物に与える障害の中には、単純な物理的有害因子としての作用によって引き起こされる障害以外にも、種々の有害刺激に対する防御蛋白と考えられる MT の mRNA の誘導レベルの低下を介して、これまで考慮されていなかったような生命活動の局面に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

[キーワード] UVB 照射、ヒト皮膚由来細胞、メタロチオネイン、mRNA 誘導抑制、重金属耐性低下

1. 序

南極上空のオゾン層¹⁾は 1980 年代以降、一貫して減りつづけ、今やフロンによるオゾン層破壊は理論の段階ではなく、一般社会においても健康に対する現実の脅威として認識されるようになってきた。オゾン層の減少で透過量が大きく影響されるのは 280-315 nm の波長の紫外線 (UVB) である。紫外線は、表皮中の芳香族アミノ酸 (λ_{max} ; 275 nm) やウロカニン酸 (λ_{max} ; 264 nm at pH 5) により吸収されてしまうため浸透力は一般に弱く、UVB は真皮乳頭の血管層までしか到達しないが、そこでは細胞が生命活動を営んでおり、紫外線による障害が起こる可能性がある。本研究は、ヒト皮膚由来の培養細胞が紫外線照射を受けた時の蛋白合成の変化や、紫外線に起因する細胞内の変動について研究を進めてきた。これまでに、280 nm の紫外線照射が細胞の総

蛋白合成を阻害するだけでなく、低線量照射により特定の誘導蛋白の合成を阻害することを見いだした。その中で最も大きな変動を示したのは重金属により誘導される MT であった。MT は重金属やラジカル等の様々な刺激に対する防衛に関与すると考えられている -SH 基に富んだ低分子量の蛋白である^{2) -6)}。紫外線による防御蛋白の誘導の阻害は、紫外線によって起こされる細胞の様々な障害の一因となりうる。従って、MT 誘導の阻害の機構と、細胞障害の発現との関連について検討を行った。

2. 研究方法

(1) 細胞とその培養

ヒト皮膚由来細胞として NB1RGB (繊維芽細胞)、NCTC 2544 (上皮性細胞) を、またヒト由来細胞として標準的な HeLa S3 を実験に用いた。NB1RGB には MEM α 、NCTC 2544 には NCTC 135、HeLa S3 には MEM を培地として使用し、10 % の血清 (前二者には牛胎児血清 (FCS)、後者には牛血清 (CS))、100 単位/ml ペニシリン、100 μ g/ml ストレプトマイシン、0.25 μ g/ml フェンジゾン を添加した。本報告中の培地にはすべてこのような添加が行われている。細胞は ϕ 35 mm 培養皿を用いて 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 存在下で培養した。

(2) 紫外線照射

細胞は ϕ 35 mm 培養皿に蒔いて (NB1RGB: 1.8×10^5 、NCTC2544: 3.5×10^5 、HeLa: 1.2×10^5) 3 日後、semi-confluent になったものを用い、PBS(-) (NaCl 8 g/l, KCl 0.2 g/l, Na₂HPO₄ \cdot 12 H₂O 2.9 g/l, KH₂PO₄ 0.2 g/l) で二回洗った後、1 ml PBS(-) 存在下において紫外線を照射した。

紫外放射細胞曝露装置は、「紫外線の増加が人の健康に及ぼす影響に関する研究 / (2) ③ 光アレルギー反応の促進影響」の初年度 (平成 2 年度) に、株式会社オプトサイエンスの協力を得て設計・製作したものを利用した。本装置ではキセノン・ランプを光源として紫外線を発生させ、それをモノクロメーターで分光して、特定の波長の紫外線を選択できる。紫外線量は光度計でモニターしながら、ND フィルターで調節し、同時に 2 枚の ϕ 35 mm 培養皿上の細胞に紫外線を照射する構造になっている。この装置を用いることにより、分解能 17 nm の任意の波長の紫外線を正確な量、細胞に照射することが可能である。

(3) 細胞内蛋白の標識

細胞内の総蛋白合成を観察する場合には 20 μ C の ³⁵S-Methionine を含む 500 μ l の培地中で 2 時間標識した。MT を検出する場合には 7 μ C の ³⁵S-Cystein を含み、かつシステイン量を通常の 20 % に下げた 700 μ l の MEM 中で 18 時間標識した。MT を誘導する物質は ³⁵S-Cystein と同時に添加した。細胞は 100 μ l の Lysis buffer (10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.15 M NaCl, 3 mM MgCl₂, 0.5 % NP-40) 中に 0 $^{\circ}$ C、5 分放置後、マイクロ遠心機で、2 分間、15 kr pm 遠心して細胞抽出液を得た。

(4) カルボキシメチル化

この操作の目的は Cystein 残基を介する MT 蛋白間の会合を防ぐことにある⁷⁾。得られた粗抽出液 10 μ l に 5 μ l の 4 x buffer (8 % SDS, 50 % グリセリン、0.2 M Tris-HCl, pH 8.8) と 2 μ l の 0.2 M dithioerythritol (DTE) を加え、100 $^{\circ}$ C、5 分間加熱する。室温にもどした後、3 μ l の 1 M ヨード酢酸溶液 (予め pH 8 になるように NaOH で調製しておく) を加

え、50 °Cで 15 分間反応させた。

(5) MT の定量

厚さ 1 mm の平板 SDS ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) を Laemmli の方法にしたがって調製、泳動した⁶⁾。紫外線照射による全体的な蛋白合成の低下を補正するため、各レーンに TCA 不溶性放射能でノーマライズした試料をのせた。ゲルの濃度は 15 %を用いた。泳動後、40 %メタノール-10 %酢酸で固定し、エンハンサー (EN³HANCE, New England Nuclear 社) 処理を行い、乾燥後、X 線フィルムを密着感光させた。MT を定量する場合には、そのようにして得られた X 線フィルム上の像を、デンストメーターで読みとった。

(6) RNA の測定

MT-mRNA の検出は、Cd 添加後 4 時間に、RNA probe として degoxigenin 標識したヒトの MT-II_A 特異的な 3'-untranslated region (~200 bp) を用いたノーザンプロットで行った。同様に、アクチンの probe により、アクチン mRNA レベルも調べた。

Total RNA の合成は³H-Uridine の取り込みにより測定した。

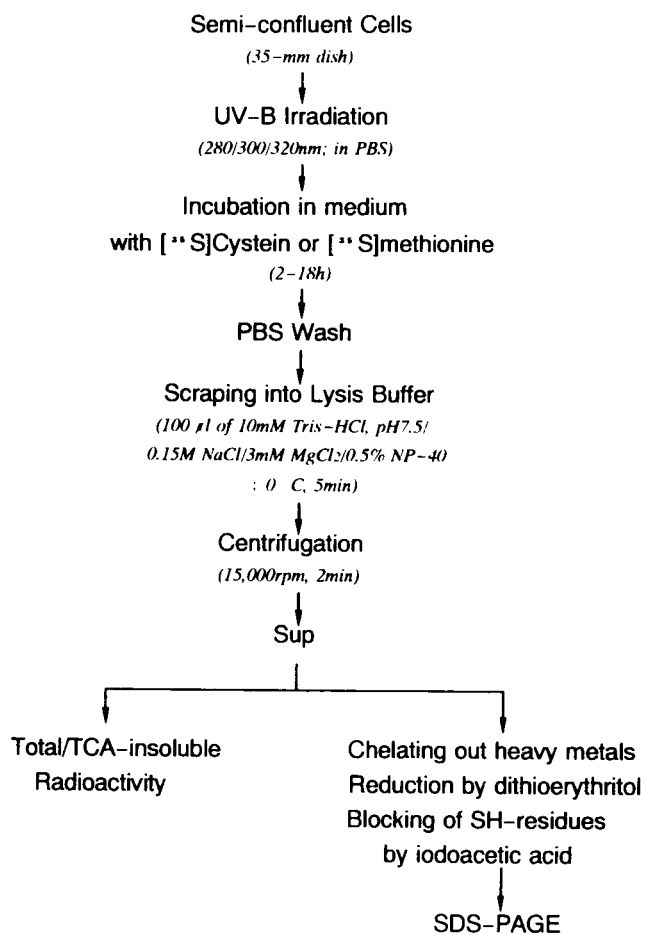
3. 実験結果

図 1 は、本研究で行った及び、ゲル電気泳動の手順を示している。この様な手順に従って、対数増殖期の NB1RGB に 260、280、300、320 nm の紫外線を照射し、照射直後から 2 時間、細胞を³⁵S-Methionine で標識した後、抽出液を調製し、TCA 不溶性の放射能を総蛋白合成の指標とした。各波長の紫外線を 50 J/m²あるいは 200 J/m²の線量照射し、総蛋白合成への影響を調べた (図 2)。図中の右上の黒四角は紫外線照射無しのコントロールを示す。この波長領域内では短波長の紫外線ほど総蛋白合成の阻害効果が大きく、特に UVB と UVC の境界である 280 nm 付近でその効果に急激な変化が起こっている。また、特定の蛋白合成に対する UVB の影響を検討するため、生体防衛蛋白の一つである MT に対する効果を調べたところ、重金属による MT の誘導は、低線量の紫外線により特異的に阻害されることが見いだされた。図 3 はゲル電気泳動の結果を示すが、紫外線照射による全体的な総蛋白合成の低下は、TCA 不溶性放射能でノーマライズする事により補正した。紫外線照射を行った細胞に Cd を与えて MT の誘導を見ると、いずれの Cd 濃度においても、非照射の対照実験にくらべて線量に依存した MT 誘導の阻害が見られた。この阻害は他の蛋白の合成にほとんど影響の見られない低線量の照射 (20 J/m²) でも起っているが、高線量域においても、一般的に起こる全体的な蛋白合成の阻害とは別に、MT が特異的に阻害されているのが認められる。図 4 は細胞に横軸に示す各波長の紫外線を一定線量 (100 J/m²) 照射した時の、MT 誘導に及ぼす効果を示している。左の 1 対は紫外線照射無しのコントロールを示す。260 および 280 nm の紫外線は MT 誘導を強く阻害するが、300-320 nm の波長では阻害が見られず、むしろこの例のように若干の促進効果を示すこともある。UVB がわずかに 35 nm の波長帯にすぎないとしても、図 2 や図 4 の結果は、波長を指定しない実験は混乱を招くことを意味している。従って、図 5 以下は UVB の中では最も阻害効果の大きい 280 nm の紫外線を用いて実験を行った。図 5 は MT 量をデンストメトリーにより定量化したものである。20 J/m² の照射で MT 誘導は 50 % 抑えられ、100 J/m² では誘導されていない時のレベルにまで低下した。

カドミウム (Cd) 以外の MT の誘導剤についても紫外線照射の効果を調べたところ、280nm の UVB が 20 J/m² の照射で、100 μM 亜鉛、5 nM デキサメサゾンにより誘導されてくる MT を阻

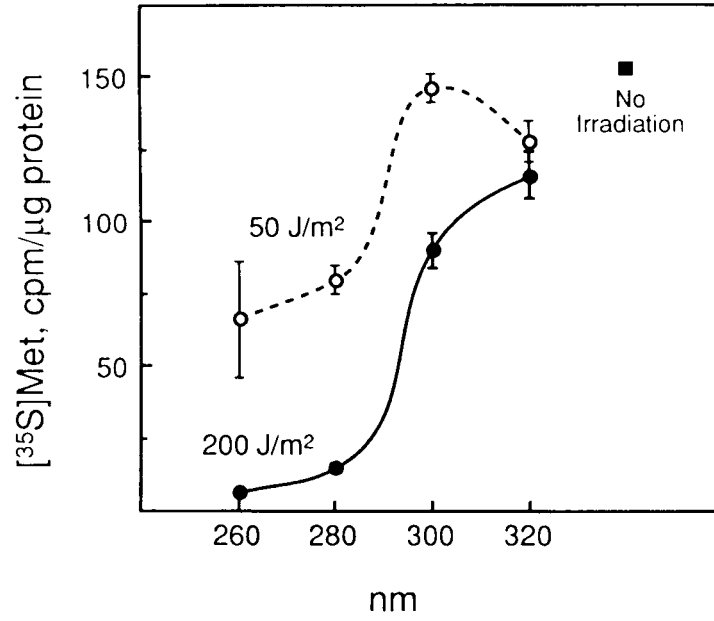
Analysis of Proteins from Cells Irradiated by UV-B

☒ 1



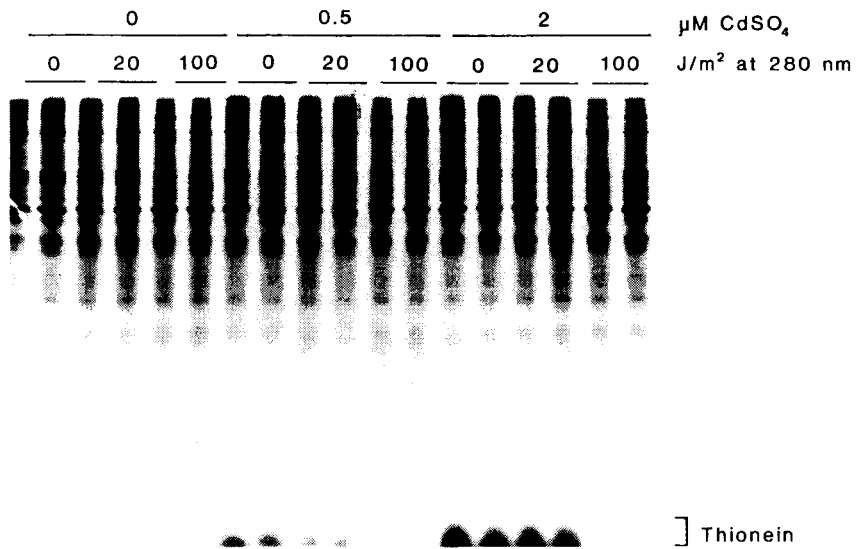
☒ 2

Inhibition of NB1RGB Cell Protein Synthesis by UV Irradiation

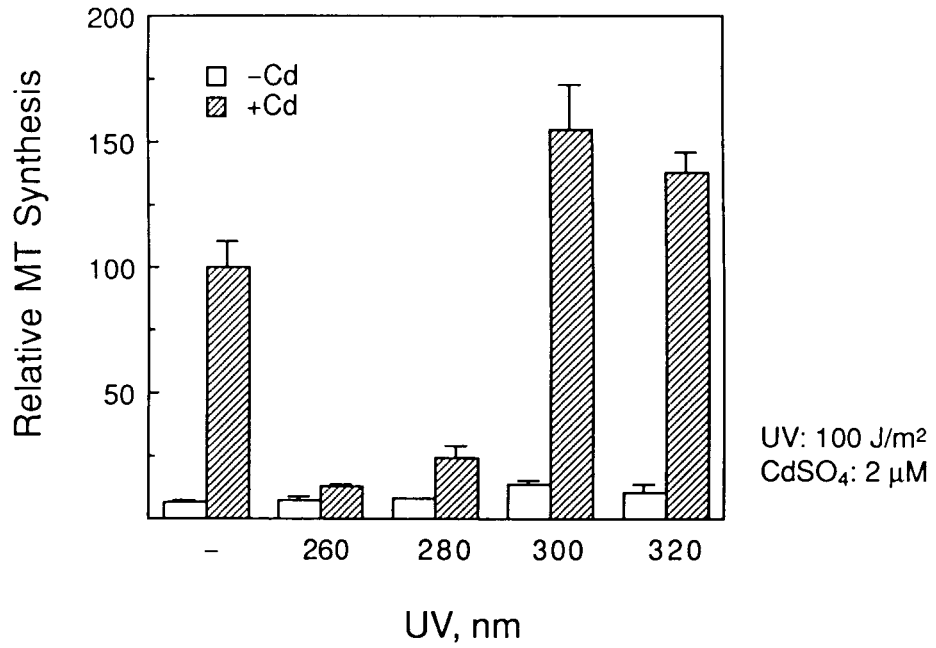


☒ 3

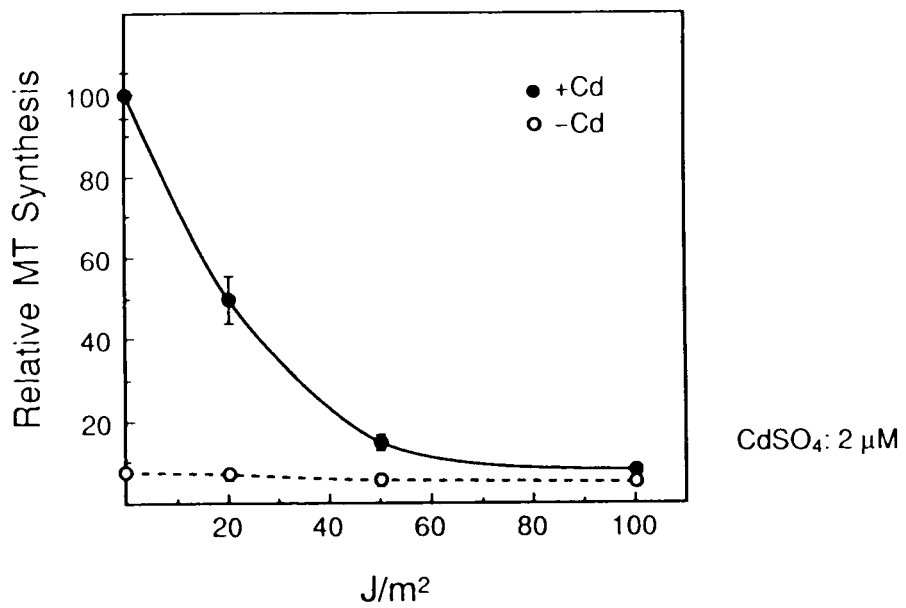
Inhibition of Metallothionein Synthesis by UVB



4 Inhibition of MT Synthesis in NB1RGB Cells by UV Irradiation

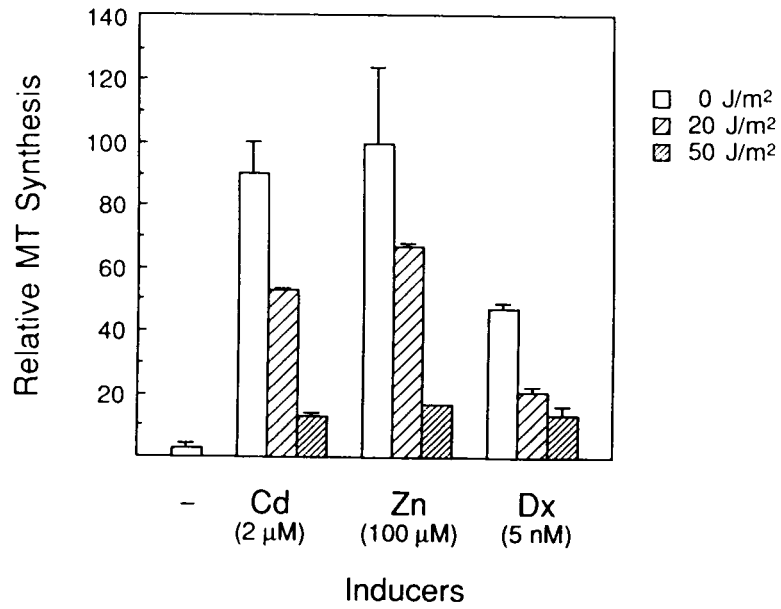


5 Inhibition of NB1RGB Cell MT Synthesis by UV Irradiation at 280 nm



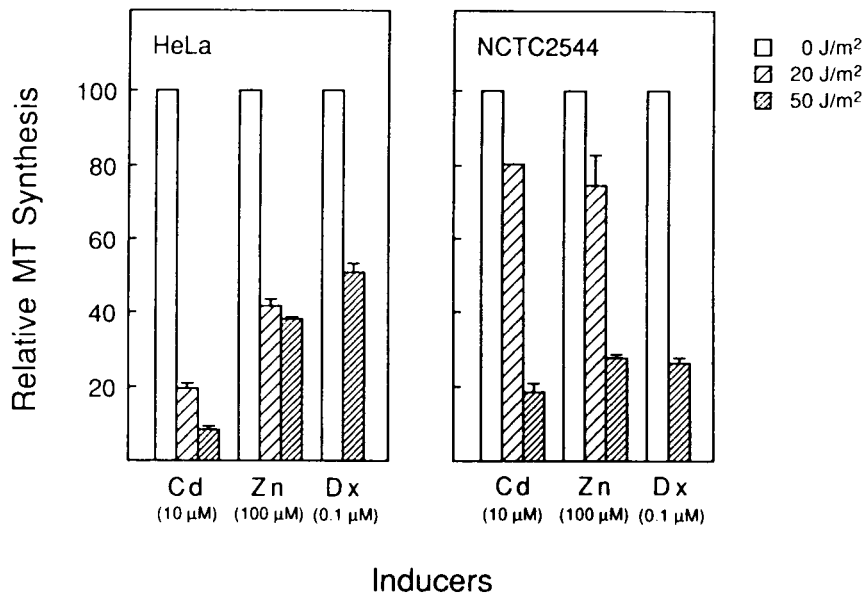
☒ 6

Inhibition of Cd-, Zn- and Dexamethasone-induced MT Synthesis in NB1RGB Cells by UV₂₈₀ Irradiation



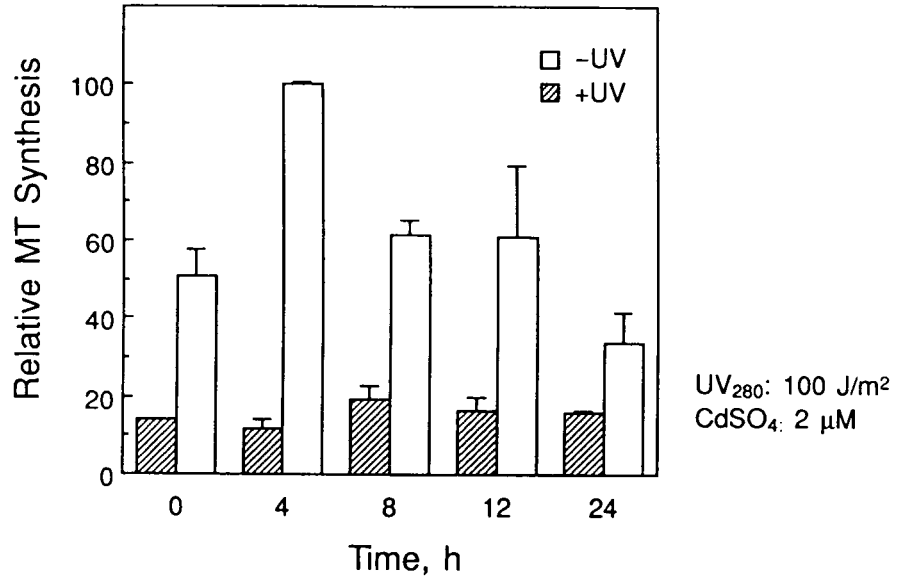
☒ 7

Inhibition of MT Induction in HeLa and NCTC2544 Cells by UV Irradiation



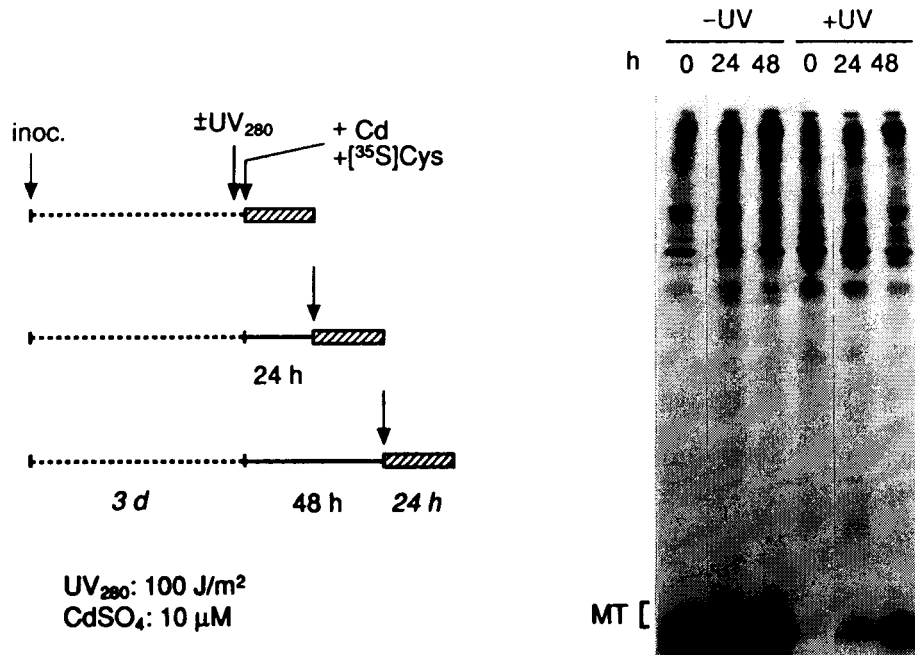
☒ 8

Time Course of the Inhibition of NB1RGB Cell MT Synthesis after UV₂₈₀ Irradiation

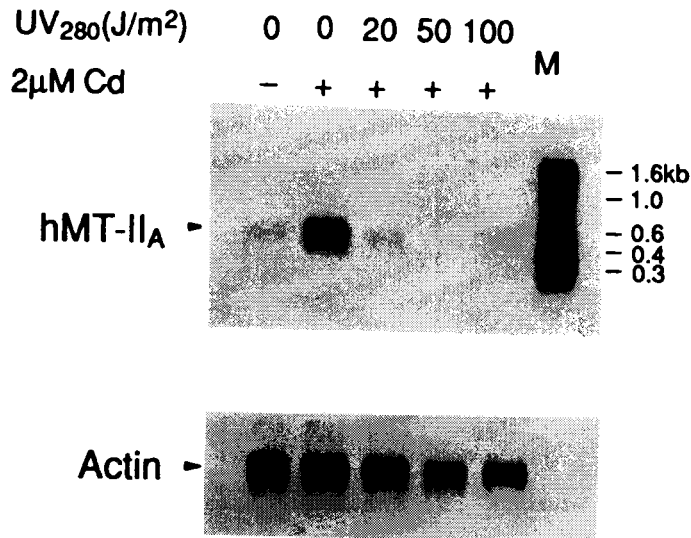


☒ 9

Recovery of MT Induction in NB1RGB Cells after UV Irradiation



☒ 1 0 Inhibition of hMT-II_A mRNA Synthesis in NB1RGB Cells by UV Irradiation at 280nm



☒ 1 1

UV Irradiation at 280 nm Enhances Cd Toxicity in NB1RGB Cells

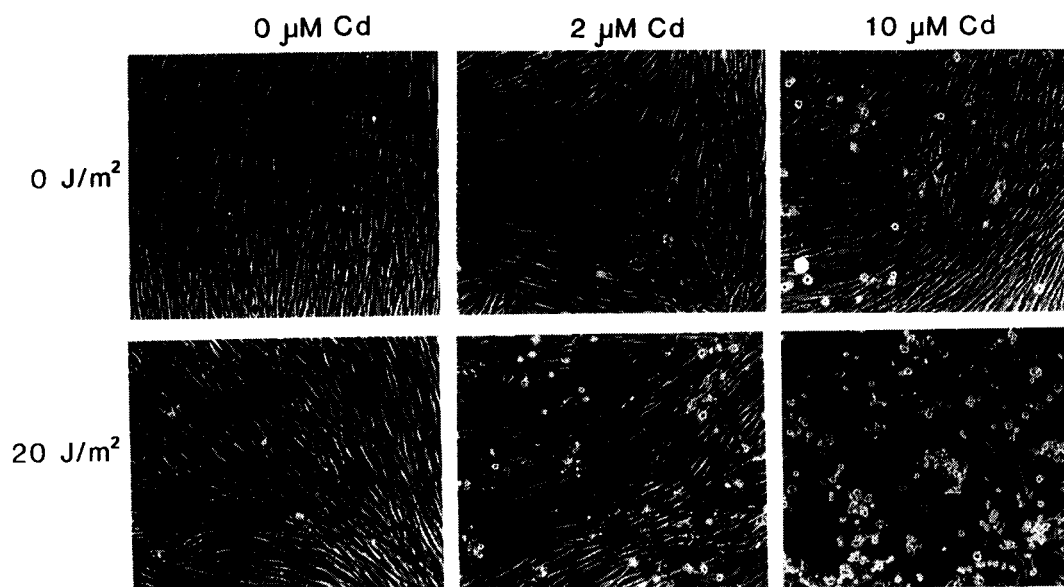
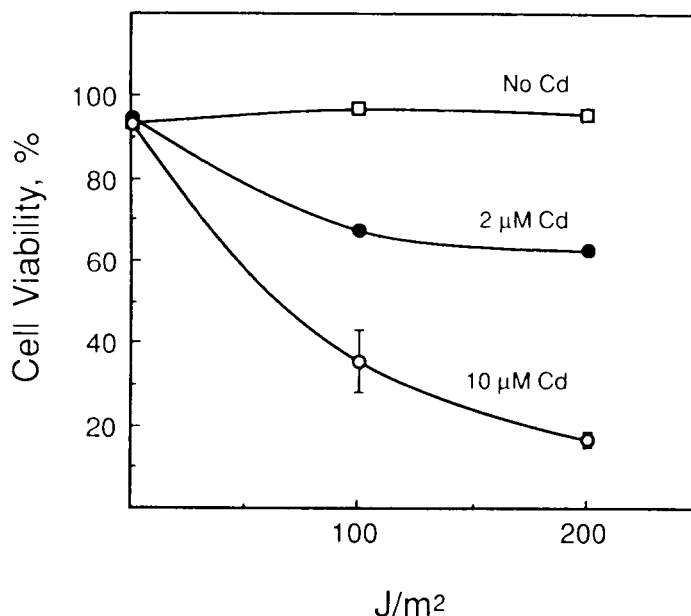


図12

Enhancement of Cadmium Toxicity
in NB1RGB Cells by UV₂₈₀ Irradiation



害した(図6)。

これまでに示した MT の誘導阻害に関するデータは、ヒト皮膚由来の繊維芽細胞・NB1RGB を用いたものである。他の細胞についても効果を見たところ、ヒト皮膚由来の上皮性細胞・NCTC2544、や子宮頸部癌由来の HeLa を用いても、NB1RGB で見られたのと同様の誘導阻害が、いずれの誘導剤についても観察された(図7)。

図8は、各々2時間のパルス・ラベルによる紫外線照射後の MT 合成の経時変化を示している。紫外線による阻害効果は、照射直後から認められ、この阻害が非常に速やかな反応であることを示している。次に、紫外線による MT 合成の抑制が、どの程度の時間範囲で解除されるかを見た。図9は、280 nm の紫外線を 100 J/m²照射して MT 合成を抑えた後、照射直後、あるいは 24 時間、48 時間後に Cd と ³⁵S-Cystein を培地に加えて更に 24 時間培養し、誘導されてきた MT の量を測定したものである。照射直後から 24 時間の標識ではほとんど検出されない MT の合成が、24 時間、48 時間と時間の経過とともに回復し、この阻害が一過性のものであることを示している。

以上のように、紫外線による MT 誘導の阻害は誘導剤の種類によらず起こり、紫外線照射直後から抑制され、時間の経過とともに回復した。このような MT 誘導の阻害の作用点を明らかにするために MT-mRNA のレベルを調べた。MT-II_A-mRNA をノーザンプロットで検出したところ、Cd 添加後、4 時間で誘導されてくる MT-II_A-mRNA の量は、紫外線照射により著しく減少した。構成的に合成されている蛋白の対照として調べたアクチン mRNA のレベルも、Total RNA の合成も、MT の場合の様な顕著な変化はなかった。このことから、MT 誘導の阻害の作用点が、転写の段階

である事が判明した(図10)。

この様に、UVB が何らかの過程を経て MT-mRNA の誘導レベルの上昇を抑え、細胞内 MT の合成が阻害されるなら、紫外線を照射された細胞は重金属に対して耐性が弱まっていることが考えられる。従って図11では、紫外線による細胞の重金属耐性に与える影響をみた。NB1RGB 細胞は、2 ないし 10 μ M の Cd 存在下に 48 時間培養しても、あるいは 20 J/m²の紫外線を照射後 48 時間培養しても、対照に比べ細胞の形態的变化は殆ど認められなかった。しかし、紫外線照射後 Cd を添加すると、Cd 濃度に依存して細胞の損傷が大きくなっているのが観察された。図12は図11と同様の実験をして、トリパン・ブルー染色により細胞の生存率を計測したものである。紫外線と重金属に対する二重曝露は、各々に対する単独曝露時より、はるかに大きく細胞の重金属耐性が低下しているのが認められた。

4. 考察

UVB は 280-315 nm の波長の紫外線をさす用語である。UVA (315-400 nm) や UVC (100-280 nm) に比べても狭い 35 nm の帯域巾であるが、実際に、モノクロメータで分光した特定波長の紫外線を細胞に照射してみると、総蛋白合成に対する影響は、短波長側と長波長側では、大きく違うことが判った。これまでに、UVB の短波長側成分の照射により、細胞の総蛋白合成が阻害されるだけでなく、いくつかの特定の蛋白(60, 48, 44, 42 kd)の合成が阻害されることを見出した。これらの中で最も顕著な変化をしたのは、重金属により誘導される MT であった。260-320 nm の紫外線を細胞に一定量照射した時の、MT 誘導に及ぼす効果を調べると、260 nm および 280 nm の紫外線は MT 誘導を強く阻害するが、300-320 nm の波長では阻害が見られず、むしろ若干の促進効果を示すこともある。このことは、紫外線を波長の指定をせず、UVB 領域の光線の照射として実験を行うと、データの信頼性を失う危険性を示唆している。紫外線による MT 遺伝子活性化⁹⁾や、Cd 前処理による MT を介した紫外線に対する防御効果の報告⁹⁾もあるが、本研究で用いた 280 nm の紫外線の照射では、いずれの線量においても MT の誘導は認められず、Cd による防御効果も認められなかった。MT バンドの定量化によると、MT 誘導を 50 % 抑えるには 20 J/m²で充分であった。総蛋白合成では阻害が顕著でないような低線量の照射でも、明らかな阻害が認められ、MT 誘導の紫外線に対する感受性が極めて高いこと確認された。具体的な気象庁の観測データ¹⁰⁾によると、1990 年 6 月 23 日・快晴の日の筑波に於ける正午の UVB の実測値は 3 KJ/m²/10 min であった。UVB における 300 nm 以下の成分はおよそ 3 % であるので、300 nm 以下の照射量は 90 J/m²/10 min である。バイオプシー等で切りとったヒト皮膚(白人)を用いて紫外線の吸光度を実測したデータによれば¹¹⁾、UVB 領域の紫外線は 5 % 程度しか表皮を貫通して細胞層には到達しないと報告されている。ある個人が、培養細胞や切除された皮膚のように、太陽に真正面を向いて定量的に太陽光を浴びることにはないにせよ、日光浴や屋外活動によって MT 合成を抑制し得る量の紫外線を太陽から浴びる事は、それほど困難な事ではないと思われる。

MT はカドミウム(Cd)以外の物質によっても誘導が起こることはよく知られている。その他の MT のインデューサーについて、紫外線照射の効果を調べたところ、280nm の UVB (20 J/m²) が、100 μ M 亜鉛、5 nM デキサメサゾンにより誘導されてくる MT を阻害した。ヒト皮膚由来の繊維芽細胞・NB1RGB 以外の細胞についても紫外線の効果を見たところ、ヒト皮膚由来の上皮性細

胞・NCTC2544、や子宮頸部癌由来の HeLa を用いても、NB1RGB で見られたのと同様の誘導阻害が、いづれの誘導剤についても観察された。短波長 UVB による MT の誘導阻害が、誘導剤や細胞の種類を問わない普遍的なものであることが窺える。MT の誘導は紫外線照射直後から抑制され、時間の経過とともに回復した。このような MT 誘導の阻害の作用点を明らかにするために MT-mRNA のレベルを調べた。ノーザンブロットによると、Cd 添加後、4 時間で誘導されてくる MT-II_A-mRNA の量は、紫外線照射により著しく低下した。構成的に合成されている蛋白の対照として調べたアクチン mRNA のレベルも、Total RNA の合成も、MT の場合の様な顕著な変化はなかった。このことは、MT 誘導の阻害の作用点が、転写の段階である事を示している。

以上のように、紫外線が MT-mRNA の誘導レベルの上昇を抑え、細胞内での MT の合成を阻害するならば、紫外線を照射された細胞は重金属に対して耐性が弱まっていることが推定される。細胞の顕微鏡写真や生存率の結果は、推定どおり、紫外線と重金属の複合曝露が、各々の単独曝露より、細胞に与える損傷が大きいことを示している。この紫外線による重金属耐性の低下は、これまで紫外線の生命に対する影響として、想定されることのなかった現象である。MT は、重金属以外にも、ラジカル等の様々な刺激に対する防衛に関与すると考えられている蛋白である²¹⁻⁶⁾ので、紫外線照射によって細胞の有害刺激に対する耐性全般が低下していることも予想される。また重金属により誘起される突然変異¹²⁾や発癌¹³⁾の頻度は、細胞の MT 遺伝子活性や蛋白の誘導能が抑えられると、高くなると報告されている。従って、紫外線が生命に与える障害の中には、種々の有害刺激に対する防御蛋白と考えられる MT の mRNA の誘導レベルの低下を介して、これまで想定されてこなかった生命現象にまで影響を及ぼしているものが存在する可能性が考えられる。

5. まとめ

紫外線によってヒトの細胞が損傷を受ける事は広く知られているが、特定波長の UVB が個々の蛋白の合成にどのような影響を与えるかはほとんど知られていない。本研究では主にヒトの皮膚由来細胞を研究材料に用いて、特定波長の UVB が特定の蛋白の合成にどのような影響を及ぼすかについて研究を行ってきた。UVB は、35 nm の帯域に過ぎない 280-315 nm の波長の紫外線をさす用語である。この為か、UVB の生体への影響を論ずる際、UVB はまとめて取り扱われる例が多くみられる。しかし実際に、モノクロメータで分光した特定波長の紫外線を細胞に照射してみると、総蛋白合成に対する影響は、同じ UVB に属していても短波長側と長波長側では、大きく違うことが判った。これまでに、UVB の短波長側成分の照射により、細胞の総蛋白合成が阻害されるだけでなく、いくつかの特定の蛋白 (60, 48, 44, 42 kd) の合成が阻害されることを見出した。これらの中で最も顕著な変化をしたのは、重金属により誘導されるメタロチオネイン (MT) であった。MT は、重金属やラジカル等の様々な刺激に対する防衛に関与すると考えられている -SH 基に富んだ低分子量の蛋白である。この様な蛋白の紫外線による特異的な合成の阻害は、紫外線によって起こされる細胞の様々な障害の一因となりうると思われる。260-320 nm の紫外線を一定量照射した時の、MT 誘導に及ぼす影響を見たところ、260 nm および 280 nm の紫外線は MT 誘導を強く阻害するが、300-320 nm の波長では阻害が見られず、むしろ若干の促進効果を示した。このことは、この領域の紫外線を波長の指定をせず、UVB としてまとめて扱おうと、実験結果に混乱が起こる危険性を示唆している。紫外線による MT 遺伝子の活性化や、Cd 前処理による MT を介した紫外線に対する防御効果の報告もあるが、本研究で用いた 280 nm の紫外線の照射では、い

ずれの線量においても MT の誘導は認められず、Cd による防御効果も認められなかった。しかし MT の誘導阻害は、総蛋白合成が大きく影響されないような低線量照射でも、明らかに認められ、MT 誘導の紫外線に対する感受性が極めて高いこと確認された。

カドミウム (Cd) 以外の MT のインデューサーについても紫外線照射の効果を調べたところ、280nm の UVB (20 J/m^2) が、 $100 \mu\text{M}$ 亜鉛、 5 nM デキサメサゾンにより誘導されてくる MT を阻害した。また、これまでの MT の誘導阻害に関するデータは、ヒト皮膚由来の繊維芽細胞・NB1RGB を用いて得られたものである。他の細胞についても効果を見たところ、ヒト皮膚由来の上皮性細胞・NCTC2544 やヒトの細胞のモデルとしてよく使用されている子宮頸部癌由来の HeLa を用いても、NB1RGB で見られたのと同様の誘導阻害が、いづれの誘導剤についても観察された。紫外線による MT の誘導阻害が、普遍的なものであることが窺える。

このような MT 誘導の阻害の作用点を明らかにするために MT-mRNA のレベルを調べた。MT-II_A-mRNA をノーザンプロットで検出したところ、Cd 添加後、4 時間で誘導されてくる MT-II_A-mRNA の量は、紫外線照射により著しく減少した。構成的に合成されている蛋白の対照として調べたアクチン mRNA のレベルも、Total RNA の合成も、MT の場合の様な顕著な変化はなかった。このことから、MT 誘導の阻害の作用点が、転写の段階である事が判明した。

以上のように、紫外線が MT-mRNA の誘導レベルの上昇を抑え、細胞内での MT の合成を阻害するならば、紫外線を照射された細胞は重金属に対して耐性が弱まっていることが推定される。本研究の結果は、推定どおり、紫外線と重金属の複合曝露が、各々の単独曝露より、細胞に与える損傷が大きいことを示した。この紫外線による重金属耐性の低下は、これまで紫外線の生命に対する影響として、想定されることのなかった現象である。MT は、重金属以外にも、ラジカル等の様々な刺激に対する防衛に関与すると考えられている蛋白である。従って、紫外線が地球上の生物に与える障害の中には、単純な物理的有害因子としての作用によって引き起こされる障害以外にも、種々の有害刺激に対する防御蛋白と考えられる MT の mRNA の誘導レベルの低下を介して、これまで考慮されていなかったような生命活動の局面に影響を及ぼしている可能性が考えられる。

6. 本研究によって得られた成果

UVB に属する各波長の紫外線のヒト皮膚由来細胞に対する効果を詳細に調べたところ、280-290 nm の紫外線が蛋白合成を阻害することが判った。この波長域の UVB は、総蛋白合成に対する影響が少ない低線量の照射でも、重金属やデキサメサゾンによる MT の誘導を強く阻害した。この現象は HeLa 細胞においても同様に観察され、短波長 UVB による MT の誘導阻害は、普遍的なものであると考えられる。ノーザンプロットの実験結果は、MT 誘導の阻害点が転写の段階であることを示すものであった。

紫外線が MT-mRNA の誘導レベルの上昇を抑え、細胞内での MT の合成を阻害する結果、紫外線を照射された細胞は重金属に対して耐性が弱まっていることが判明した。紫外線による重金属耐性の低下は、これまで紫外線の生命に対する影響として、想定されることのなかった現象である。本研究が明らかにした例は、紫外線は有害な光線としての直接的な作用以外にも、生体防御蛋白の誘導レベルの低下を介して、様々な生命活動の局面に影響を及ぼしている可能性を示唆している。

7. 文献

- 1) M.R. Schoeberl and D.L. Hartmann (1991) *Science* 251, 46-52
- 2) P.J. Thornalley and M. Vasak (1985) *Biochim. Biophys. Acta* 827, 36-44
- 3) D.H. Hamer (1986) *Ann. Rev. Biochem.* 55, 913-951
- 4) J.H.R. Kagi and A. Schaffer (1988) *Biochemistry* 27, 8509-8515
- 5) H. Yamada, S. Minoshima, S. Koizumi, M. Kimura and N. Shimizu (1989) *Chem. Biol. Interactions* 70, 117-126
- 6) H. Yamada and S. Koizumi (1991) *Chem. Biol. Interactions* 78, 347-354
- 7) S. Koizumi, N. Otaki and M. Kimura (1982) *Ind. Health* 20, 101-108
- 8) U.K. Leamli (1970) *Nature* 227, 680-685
- 9) P. Angel, A. Poting, U. Mallick, H. Jobst, M. Schorpp and P. Herrlick (1986) *Mol. Cell. Biol.* 6, 1760-1766
- 10) J. Suzuki, Y. Hirota, S. Kobayashi, H. Nishimura, N. Nishimura and C. Toyama (1990) The 62nd Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society #3020
- 11) T. Ito, T. Ueno, R. Kajihara, M. Shitamichi, T. Uekubo, M. Ito and M. Kobayashi (1991) *J. Meteorolog. Res. (気象庁研究時報)* 43, 213-273
- 12) W.A.G. Bruls, H. Slaper, J.C. van der Leunand and L. Berrens (1984) *Photochem. Photobiol.* 40, 485-494
- 13) E. I. Goncharova & T.G. Rossman (1994) *Cancer Res.* 54, 5318-5323
- 14) T.P. Coogan, N. Shiraishi & M.P. Waalkes (1994) *Environ. Health Perspect.* 102 Suppl 3, 137-139

[研究発表の状況]

- 1) 山田博朋、小泉信滋、「B領域紫外線によるヒト皮膚由来細胞でのメタロチオネイン誘導の阻害」日本薬学会第114年会 講演要旨集3 p69 #29-26-13-3 (平成6年3月29日)
- 2) 山田博朋、小泉信滋、「紫外線によるメタロチオネイン誘導の阻害」第67回日本生化学会(平成6年9月10日) 生化学 66巻7号 p753 #4379
- 3) 小泉信滋、鈴木薫、山田博朋、「紫外線によるメタロチオネインの特異的阻害」第20回トキシコロジー・シンポジウム(平成6年9月22日)
- 4) S. Koizumi, K. Suzuki & H. Yamada (1995) *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 41 p37
- 5) 山田博朋、小泉信滋、「紫外線によるヒト皮膚由来細胞でのメタロチオネイン誘導の阻害」日本薬学会第115年会(平成7年3月30日) 講演要旨集3 p174 #30-D6-13-4