

<研究課題代表者>

東京農工大学 大学院共生科学技術研究院 准教授 渡邊 泉

<研究参画者の所属機関>

東京農工大学、琉球大学、鹿児島大学

<研究の概要(背景、目的、内容)>

本研究は南西諸島の生態系を攪乱する水銀濃縮種・ジャワマングースの水銀濃縮メカニズムを明らかにすることを目的としており、大きく二つの方向から行う。一つはマングースへの水銀インプットの現状を解明するため、生態系構成種の分析から、水銀動態を明らかにする(以下3)。もう一つは、マングースの細胞レベルにおける蓄積・解毒メカニズムの解明を目的とし、より明確な用量-応答関係を明らかにする初代肝細胞の培養法の向上、慢性毒性を評価する不死化細胞を樹立し、水銀応答性酵素の究明を行う(以下1および2)。

- 1)水銀濃縮機序解析ツールとして不可欠なマングース由来細胞の安定供給をめざす戦略
本チームはこれまで困難とされてきた野生動物(マングース)肝臓の初代培養に成功しており、また次ステップともいえるマウスでの初代培養肝細胞の不死化にも成功している。本申請では、マングース細胞を安定してin vitro解析に供する系を、細胞生物学的手法および分子生物学的手法を用いて新たに確立する。
- 2)水銀濃縮機構の解析と重金属解毒系遺伝子の発現評価系の作製と個体での発現評価
マングースの培養肝細胞を用い、マングースの水銀解毒・蓄積の詳細を探る。具体的には、細胞内での動態(分布・排泄能)を確認し、それによって生じる各種遺伝子群の発現パターンを解析する。また、水銀投与により誘導される酵素・タンパクの特定を行う。
- 3)食物網を通じた水銀取込み・排泄に関する研究
マングースまで濃縮される水銀の、食物網における経路特定を行う。どのような動態(食物網)、また化学形態(有機態・無機態など)でマングースへ濃縮されるか、大気(降雨)・土壌から、各種低次生物(無脊椎動物)、また貴重な両生類・爬虫類・鳥類・哺乳類を通じ、どのような化学形態で水銀がマングースへ至るかを解明する。

<研究終了時の達成目標>

- ・これまで困難とされる野生動物(マングース)肝臓の初代培養に成功しており、また本チームは、次ステップともいえるマウスでの初代培養肝細胞から不死化にも成功している。本申請では、マングース細胞を安定してin vitro解析に供する系を細胞生物学的手法および分子生物学的手法を用いて新たに確立することを目標とする。
- ・マングースの初代培養肝細胞を用い、マングースの水銀解毒・蓄積の詳細を探る。具体的には、細胞内での動態(分布・排泄能)を確認し、それによって生じる各種遺伝子群の発現パターンを解析する。水銀投与により誘導される酵素・タンパクの特定を行う。これらの成果により、野生動物で水銀曝露に晒されている種が、潜在的に危険な状態かどうか、それぞれの種による感受性チェックから評価できる可能性があり、生態系の保全対策に具体的な提言「ある種の餌生物の排除」などが可能と考えられる。
- ・マングースまで濃縮される水銀の、食物網における経路特定を行う。どのような動態(食物網)、また化学形態(有機態・無機態など)でマングースへ濃縮されるか、大気(降雨)・土壌から、各種低次生物(無脊椎動物)、また貴重な両生類・爬虫類・鳥類・哺乳類を通じ、どのような化学形態で水銀がマングースへ至るかを解明する。このことにより、やんばらの生態系保護に、具体的な提言「希少な高次生物保護のため、特定の餌生物対策」などが可能と期待される。

<平成21年度計画(11,700千円)>

- ・細胞の単離・回収に必要な試薬量と反応時間などを算出することにより、個体差によらない安定した細胞単離・培養プロトコルを確立するとともに、不死化肝細胞株の樹立を最終目的として、マングースTert遺伝子をクローニングする。
- ・マングースの肝臓細胞と線維芽細胞を用いて、水銀に対する感受性、取り込み・排泄の実験を行い、肝臓の蓄積重金属量、年齢、性別などとの相関について検討する。
- ・表層土壌や大気サンプリングを連動させ、より包括的な生態系での水銀挙動の解析を行う。とくにヒ素やカドミウムなど汚染元素との相関解析は、水銀起源の推定に有効となることが期待される。

<平成22年度計画>

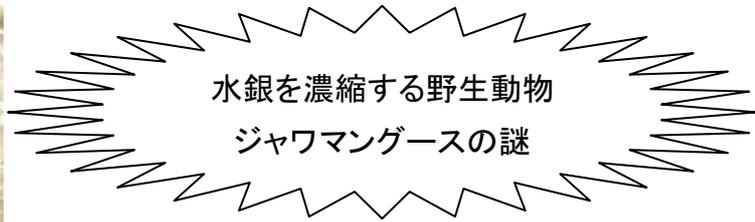
- ・初代培養細胞の細胞分裂限界、至適細胞増殖条件を検討し、増殖させた細胞の凍結・融解条件を確立後、ロット管理体制を整え、不死化細胞株樹立に最適な遺伝子配列を有するTert遺伝子を選択するために、テロメラーゼ活性を測定する。
- ・定量可能な遺伝子の数を10個に増やすことを目標とする。遺伝子の発現と肝臓の蓄積重金属量、年齢、性別などとの相関について検討する。
- ・有機水銀および多元素(セレンなど必須元素)の分析を重点的に行い「取込み時の化学形態」「排泄時の化学形態」について解析を行う(本種の妊娠・出産時期が春から初夏のため二年目以降の課題となる)

<国外の協力・連携機関、研究計画名>

US Dept. of Agriculture, Animal & Plant Health Inspection Service (米国)

研究参画者一覧（平成21年度）

研究課題名	RF-098 南西諸島のマンガースの水銀濃縮解明に関する研究
＜研究体制・組織＞	
研究代表者 渡邊 泉 東京農工大学大学院准教授（38才）	
○	(1) 水銀濃縮機序解析ツールとして不可欠なマンガース由来細胞の安定供給をめざす戦略 柳 久美子 琉球大学医学部助教
○	(2) 水銀濃縮機構の解析と重金属解毒系遺伝子の発現評価系の作製と個体での発現評価 山本 雅達 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科助教
◎	(3) 食物網を通じた水銀取込み・排泄に関する研究 渡邊 泉 東京農工大学大学院共生科学技術研究院准教授



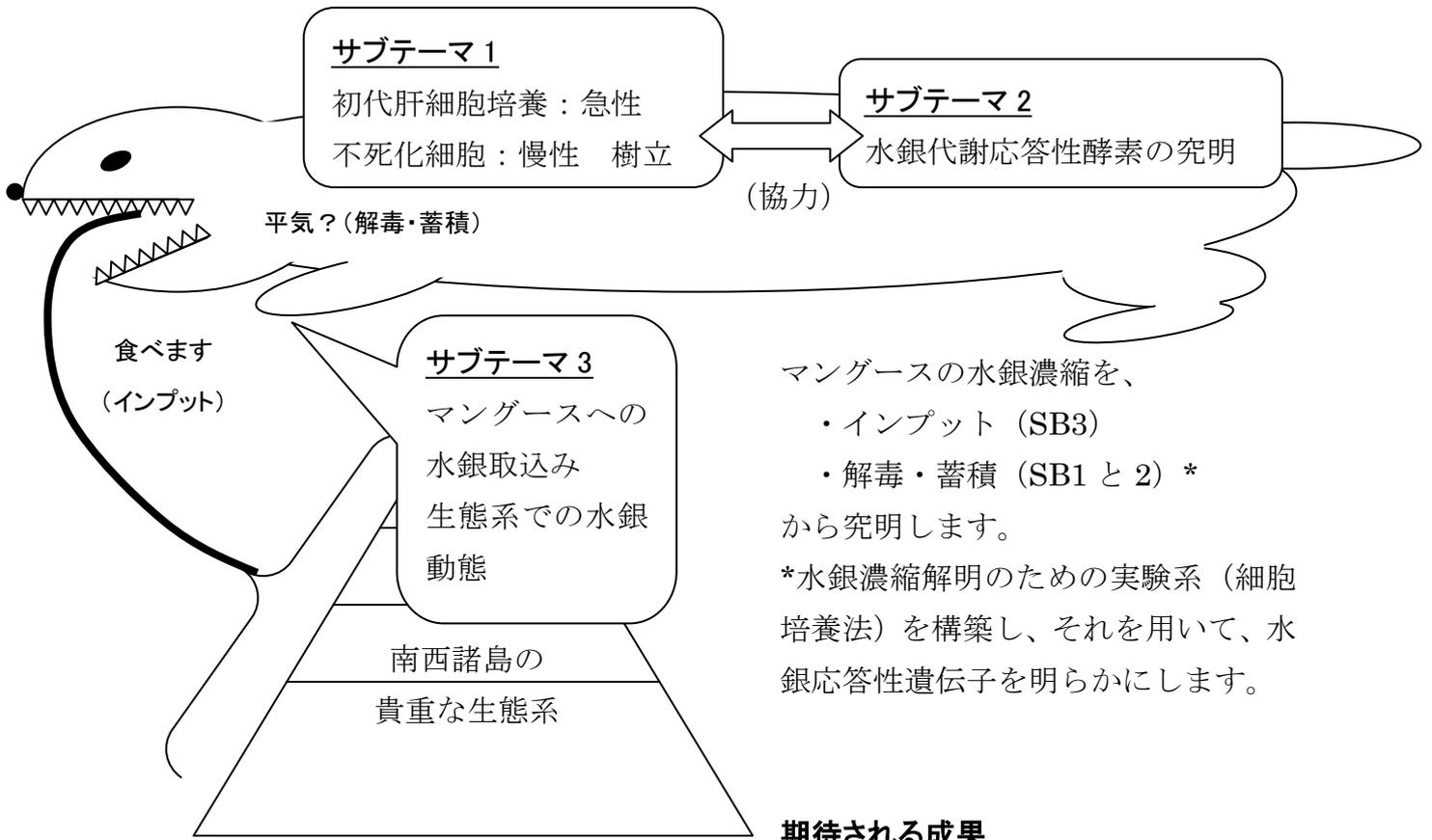
水銀を濃縮する野生動物
ジャワマンガースの謎

なにが問題か……

「その水銀はどこから来ているのか？」

「毒物をためて、なぜ平気なのか？」

(海生哺乳類や海鳥で知られる水銀濃縮ですが、その詳しいメカニズムはまだわかっていません。本種は陸上哺乳類のなかで、唯一ともいえる濃縮種です)



期待される成果

南西諸島の生態系における水銀の動態 (分布と挙動) が明らかにします。

野生動物がもつ「水銀濃縮」を明らかにし、野生動物保全へ。