

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名

リスク評価のためのダイオキシンによる内分泌かく乱作用の解明

### 2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者	遠山 千春	（独）国立環境研究所	環境健康研究領域長
主たる研究参加者	大迫 誠一郎	（独）国立環境研究所	主任研究員
〃	曾根 秀子	（独）国立環境研究所	主任研究員
〃	野原 恵子	（独）国立環境研究所	室長
〃	米元 純三	（独）国立環境研究所	総合研究官
〃	馬場 忠	筑波大学応用生物化学系生殖発生学研究室	教授
〃	池田 雅彦	静岡県立大学大学院生活健康科学研究科	助手
〃	前田 秀一郎	山梨大学 医学部	教授
〃	和泉 博之	（株）新日本科学	主任研究員（平成13年4月～）
〃	平塚 秀明	（株）パナファーム・ラボラトリーズ	研究次長

### 3. 研究内容及び成果：

世界保健機構（WHO）は、1998年5月に「ダイオキシン類の耐容1日摂取量に関する見直し」のための諮問委員会を開催した。見直し作業を通して、リスク評価に使用し得る科学的知見が不足している事、個人差に関する不確定係数1.0を安易に適用できない事、感受性が高い時期にある子供達に適用すべき新規なリスク評価法を開発する必要がある事、等が明らかになった。また同時に、我国からの研究成果の発信が不十分である事も明らかになった。比較的低濃度のダイオキシン類曝露による健康影響に関しては、内分泌かく乱作用を示唆する報告が蓄積しつつある。しかし、ダイオキシン類の内分泌かく乱作用の実態とその作用機構に関しては、殆ど解明が進んでいないのが現状である。学術的水準の高い研究成果を挙げると共に、現実にも求められているリスク評価に資する研究成果を挙げる事が望まれている。

これらの背景から、本研究では、実験動物を用いて受精卵から出生までの期間にダイオキシン類を曝露して、①生殖機能、②脳機能・行動、③免疫機能への内分泌かく乱作用を把握し、その作用機構を解明すると共に、④リスク評価の視点から曝露量、代謝産物量、体内負荷量と上記の影響との関係を取り纏め、我国からの情報発信を飛躍的に高める、事を目標とした。

本研究の成果概要は以下の通りである。

#### （1）生殖機能に及ぼす影響（生殖機能（大迫／馬場）グループ）

##### 1）受精卵、初期胚への影響

TCDD曝露1-8細胞期胚を仮親に胚移植し胎仔重量を測定した所、有意な体重減少が認められた。

H19-Igf2遺伝子のゲノミックインプリント領域のメチル化パターンを解析した結果、

父系メチル化DNAの比率が増加しており、メチル化酵素活性も有意に上昇している事が確認された。初期胚への曝露がゲノムのメチル化に影響を与える事を示しており、エピジェネティックスの重要性を示唆しているものと考えられる。

## 2) 雄性生殖機能への影響

低用量 (12.5~800ng/kg/BW) TCDD母体曝露により、前立腺重量、精嚢重量に減少を認め、肛門生殖突起間距離に有意な減少が確認された。前立腺重量減少の原因は、アンドロゲン受容体 (AR) の減少である事が示唆された。この現象は妊娠15日目 (GD15) 以降では認められず、「クリティカルウィンドウ」の存在が示唆された。GD13での応答遺伝子セットはGD17と異なっており、この中に原因遺伝子が存在する事が示唆された。げっ歯類の精子発生過程は、ダイオキシン曝露に対し、胎生期、新生仔期、成熟期の何れにおいても、比較的耐性である事が確認され、疫学的知見をも加味すると、少なくともダイオキシン単独では、ヒト集団の精子減少を誘起するとは考えにくい。

## 3) 胎盤機能への影響

TCDD曝露を受けた胎盤は、血管の成熟が阻害され、低酸素状態に置かれる事を明らかにした。胎仔期の大脳発達への低酸素状態の及ぼす影響と知能発達の観点から興味を持たれる。胎盤機能不全の現象は糖尿病患者の胎盤で起きている現象に酷似しており、産婦人科学上でも重要な知見である。胎盤機能不全、胎仔死亡にはラットで著しい系統差が見られ、ダイオキシン受容体 (AhR) 以外の遺伝的要因に依るものである事が示唆された。

# (2) 脳機能・行動に及ぼす影響 (脳機能・行動 (曾根/池田/前田) グループ)

## 1) 脳の性分化・性成熟への影響

低用量、経胎盤・経母乳曝露により、胎仔の発育初期脳で性ホルモンレベルが変化し、成熟後の脳に影響が及ぶ可能性が強く示唆された。雄の脳の性分化が阻害されるが、比較的低用量の限られた範囲でのみ影響が現れ、「逆U字曲線」を示す事が明らかとなった。雄仔では性行動発現に変化が生じるが、前頭皮質の刺激応答性が阻害された結果であり、雌仔では性成熟促進が見られるが、視床下部も含めた中枢性早熟化である事が示唆された。性ホルモン系を攪乱した結果として脳機能に影響を及ぼすのとは別に、それとは異なる機序で脳の発達に影響を及ぼしている可能性を強く示唆するものである。

## 2) 甲状腺ホルモン代謝への影響

妊娠期における低濃度TCDD単回投与が、新生仔ラット血清T4レベルの低下、血清TSH上昇を引起し、甲状腺過形成をもたらす事を明らかにした。肝UGT-1 (UDP-glucuronosyltransferase 1) 誘導による、T4排泄促進に基づくものである事が示唆された。胎仔期脳の甲状腺ホルモンはT4であり、脳の発達過程でのT4減少は脳に障害を引起すものと考えられ、ダイオキシン類が甲状腺ホルモン代謝への影響を介して、中枢神経系発達に影響を及ぼす可能性が示唆された。

## 3) 脳発達過程における毒性発現機構

TCDD曝露を受けた胎仔脳第三脳室周辺で、Wntシグナル伝達系の調節に関与するSFRP2 (secreted frizzled-related protein 2) mRNAが、非曝露群とは異なり、非対称的に局在する事、雌でより顕著である事を明らかにした。海馬が関与する学習行動である

contextual fear conditioning には顕著な雌雄差が有る事が知られているが、経胎盤・経母乳曝露により雌雄差が認め難くなる事が確認された。周産期曝露により、胎仔の脳の分化・発達に深刻な影響を与える可能性を示唆するものである。ダイオキシン類は、脳中でのアストロサイトの発生・分化を阻害する可能性が示唆された。

### (3) 免疫機能に及ぼす影響（免疫機能（野原／和泉）グループ）

#### 1) 免疫臓器に及ぼす影響と作用機構

低用量経胎盤・経母乳曝露が、胸腺萎縮、T細胞構成・機能の変化を引起す事を明らかにした。T細胞分化がCD8側に偏るのは、ERK (extracellular signal-related kinase) 経路の活性化によるものである事が示唆された。また、思春期前後に特異的に脾臓に影響が現れる事を明らかにした。免疫系への影響が急性的にではなく、ある時期に特異的に発現する影響として発育初期段階でインプリントされる、という可能性を示唆するものである。

#### 2) 抗体産生抑制機構

TCDDは、T細胞のAhR活性化を介して増殖を抑制し、サイトカイン産生低下をひきおこして、抗体産生を抑制する機構が示唆された。経胎盤・経母乳曝露が、雌性マウスのIL-4及びIgE産生を亢進させ、免疫系への影響に雌雄差が認められる事を明らかにした。

### (4) リスク評価（リスク評価（米元／平塚）グループ）

#### 1) 体内負荷量

離乳時には仔一個体当たり、母体に投与した4～5%が移行しており、妊娠期間よりも授乳期に、母乳を介して母から仔に移行する事が明らかとなった。この移行にはAhRが大きく関与しており、体内分布に顕著な差が見られた。AhRを持つ個体では肝臓に蓄積し、他臓器の濃度はAhRを持たない個体よりも低い事が確認された。

#### 2) 曝露量と反応・影響の関係

極めて低い用量で観察された影響指標は、前立腺ARmRNA発現量や肛門生殖器間突起距離であり、ヒトの1日摂取量の10倍程度で到達する体内負荷量でひきおこされる事が示された。生殖発生、脳機能・行動、免疫系に係るその他の多くの指標は、およそ100ng/kg～1,000ng/kg体重で観察された。胎仔期・授乳期の感受性が高い事が再確認されたが、今回のデータから、現行の耐容1日摂取量の強化／緩和を提案するのは早計と判断された。単回曝露実験のデータであり、食事からの摂取が主体であるヒトの場合と異なる事を考慮すべきである。実験動物では、同じ体内負荷量であっても慢性曝露の方が影響が弱く、異なった影響指標が観察される、という報告がある。また、種差の問題は依然として大きく、実験動物で得られた影響指標をヒトのリスク評価に適用する事の是非について、さらなる検討が必要である。

## 4. 事後評価結果

### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

ダイオキシンが生物に何を引き起こすか、という大きな主題に真正面から取り組み、これまで乏しかった我国からの研究成果発信を飛躍的に高め、レギュラトリー・サイエンス分野でのインパクトの高い成果を挙げ、各種国際学会等でのプレゼンスを高めた努力は高く評価される。

研究開始時点での学問的状況から、ダイオキシンの作用をどう理解し本質に迫るか、仮説を十分に考え、詰める事が困難であったと思われる。研究の本質的方向が、これまでに成されて来た研究に新しい工夫・成果を付け加える、と言うものであった様に思われる。広い学問分野で様々な観点から行われてきた研究に、幾つかの新たな知見を追加する事が出来たが、結果として、研究はその範囲に終止しており、多くのことが個別の専門的見地から見ると中途半端に残されてしまった感が否めない。取り扱った研究領域が広すぎ、一つ一つの研究に対して、今の時点で期待される画期的な科学的結論を導くに至らない場面も認められた。

研究成果は論文（国内14報、海外43報）、学会（国内99件、国際学会56件）発表されている。

「内分泌かく乱物質問題」に対する啓蒙的論述も多く、ダイオキシンの「母乳問題」、「アトピー発症問題」等に対してもタイムリーな情報発信を行っており、レギュラトリー・サイエンスの観点から高く評価される。

#### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

本研究に対する評価は、純科学技術的観点に重点を置くか、レギュラトリー・サイエンス的観点に重点を置くか、によって大きく異なるものと思われる。前者の観点に立てば、前述の如く、インパクトの大きな成果を挙げ、科学技術に大きく貢献したとはいえないが、領域の特性及び本研究の研究目標を斟酌すれば、後者の観点からの評価を重視したい。

本研究の成果の一つである、雄性生殖器への影響のデータが、2001年のWHO/FAOでの耐容摂取量（TDI）設定の根拠データとして採用された。レギュラトリー・サイエンスの分野で我国からもTDIの根拠文献として取り上げられる論文が出てきたことは喜ぶべき事であり、本研究の最大の成果であろう。ダイオキシンの幅広い影響の概略を把握した事は高く評価されるが、作用機構解明及びリスク評価等の研究目標は多くの問題が残されたままになっているのも事実である。TDI根拠文献として採用された論文で問題提起している、PCB類の非AhR依存的毒性に対する新たなリスク評価手法の開発の必要性も含め、今後のさらなる進展に期待したい。

#### 4-3. その他の特記事項（受賞歴など）

研究代表者は、国際組織委員会から、2007年のダイオキシン国際会議を日本で開催するよう直接要請されている。

研究代表者は米国毒性学会誌Toxicological Sciences や米国神経毒性学会誌Neurotoxicology の野原氏は Journal of Immunotoxicology 誌の Editorial Board の一員にノミネートされた。

チーム主催国際シンポジウムを3回開催した。