

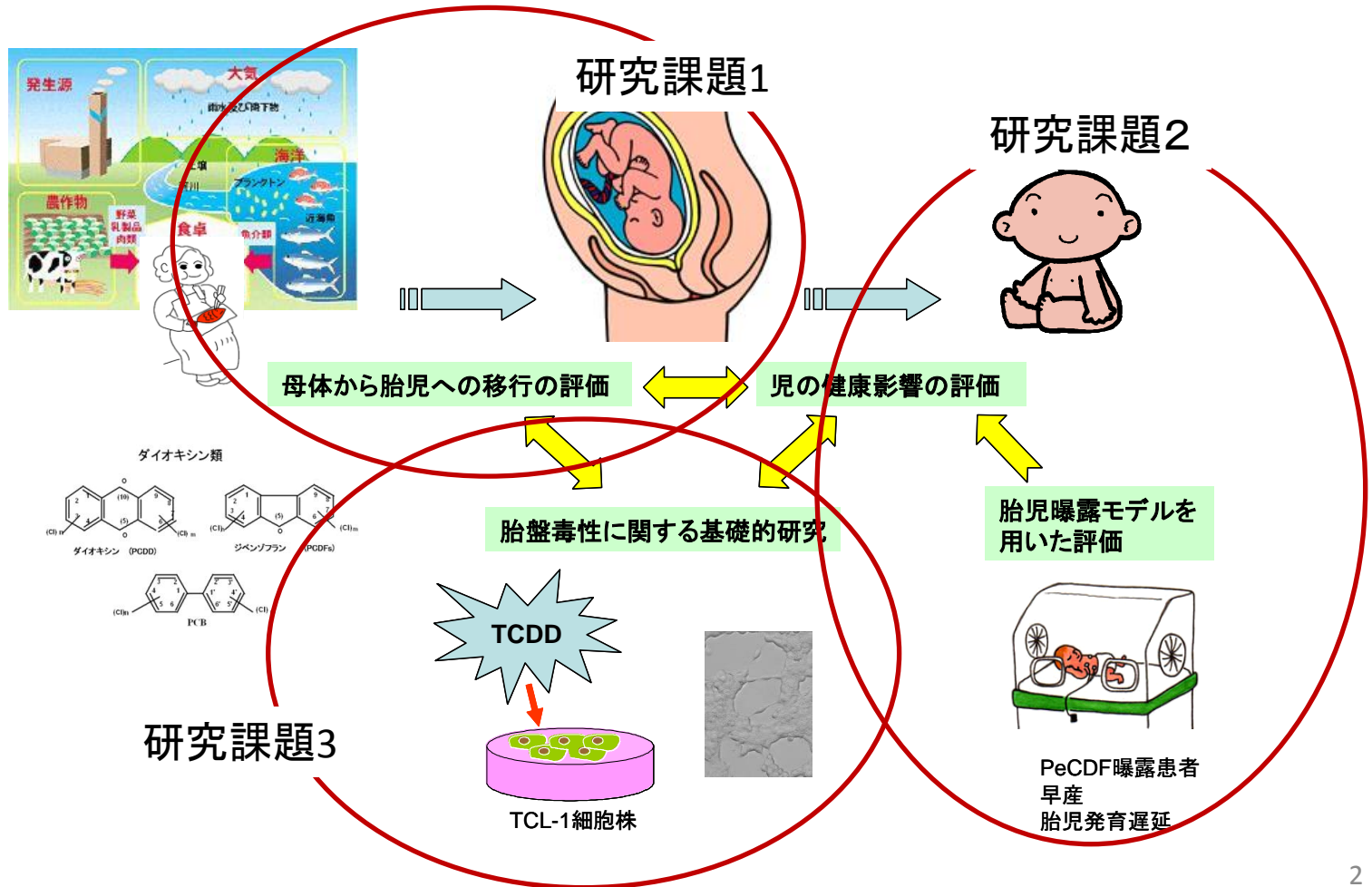
環境研究総合推進費
平成23年度環境研究総合推進費成果報告会

妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究

研究代表者 月森 清巳
福岡市立こども病院

研究の目的

妊婦におけるダイオキシン類摂取が胎児の発育・発達に及ぼす影響のリスク評価を行うことを目的とした



研究課題2. 子宮内ダイオキシン類曝露とそれによる児の健康影響との関連に関する研究

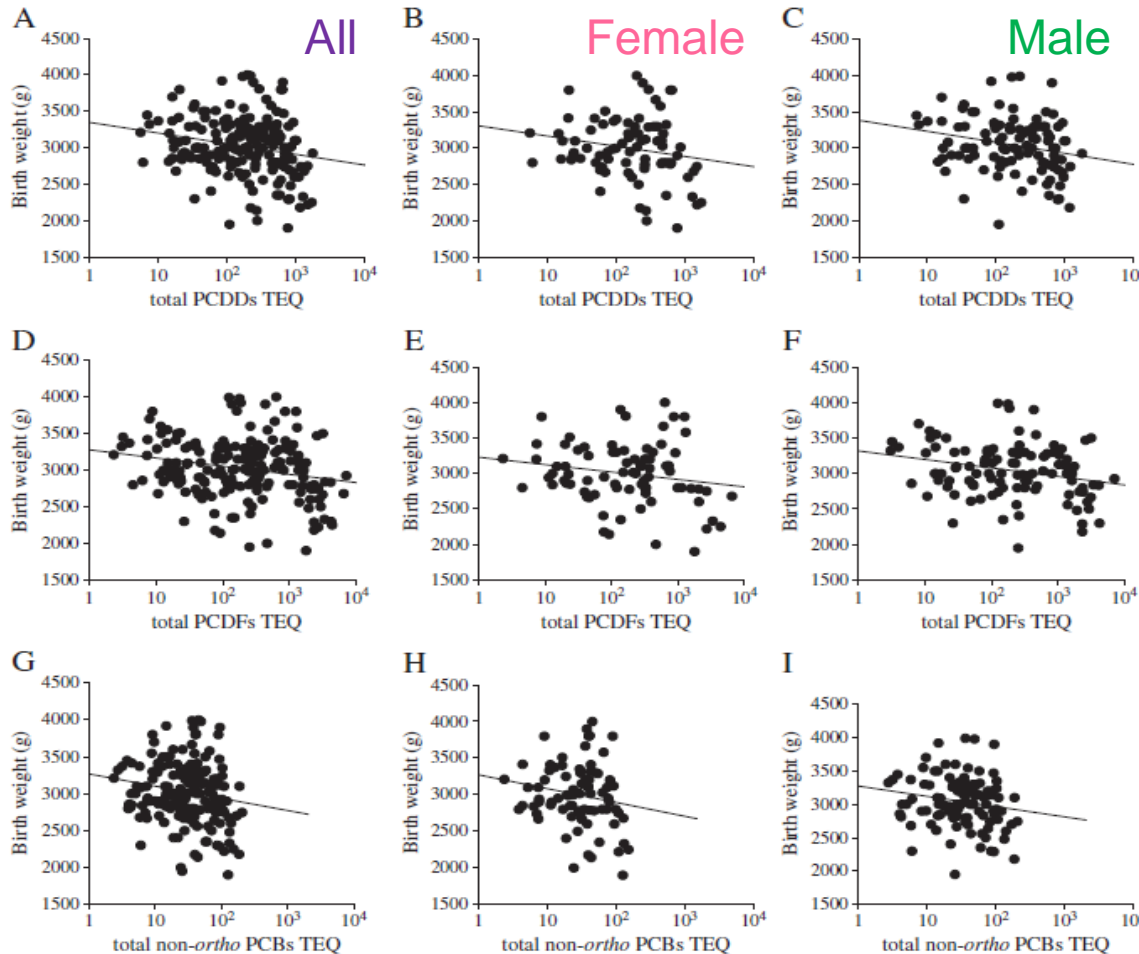
- 油症患者より出生した児の健康状態と母体出産時血中ダイオキシン類推定濃度との関連を解析した。

児の健康状態の指標

- 出生体重
- 皮膚色素沈着(black baby)
- アレルギー疾患: 気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アトピー性鼻炎
- 代謝内分泌疾患: 甲状腺機能低下症
- 生殖機能: 出生児の性別

油症患者における次世代への影響 (出生体重)

- 児の出生体重は母体血中ダイオキシン類濃度と有意に負の相関を示し、この胎児発育抑制効果は男児に特異的である。



児体重減少の影響は
PCDD>PCDF
最大 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD
最小 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF

油症患者における次世代への影響(色素沈着)

● 母体血中ダイオキシン類濃度の上昇は児の色素沈着(Black baby)の発症リスクを増加させる。

Black babyの有無と出産時母体血中ダイオキシン類推定濃度の関連

	n	発症 頻度	Total TEQ				Total PCDDs				Total PCDFs				Total coplanar PCBs			
			Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p
Black Baby あり	10	8.5%	1969.1	117.2	8926.9	0.0019	647.0	68.8	1775.5	0.0004	1313.1	23.3	7155.5	0.0090	45.6	16.5	108.3	0.0022
なし	107		410.8	10.6	8038.6		139.0	5.5	1336.1		141.6	2.3	6514.0		27.1	2.4	184.2	

出産時母体血中ダイオキシン類推定濃度が10倍上昇した場合のBlack babyの発症リスク

	Total TEQ			Total PCDDs			Total PCDFs			Total coplanar PCBs						
	odds	95%CI	p	odds	95%CI	p	odds	95%CI	p	odds	95%CI	p				
Cola Baby	8.56	1.47	49.83	0.0169	26.86	2.04	354.46	0.0124	3.76	1.11	12.80	0.0338	39.45	1.65	945.80	0.0234

OR for 10-fold increase in lipid blood level (95% CI) adjusted for gestational age, maternal age at delivery, parity, smoking status during pregnancy, birth weight and infant gender.

(Tsukimori K et al, Submitted)

油症患者における次世代への影響(アレルギー)

- 児のアレルギー疾患では母体血中ダイオキシン類濃度は低い傾向を示す。

児アレルギー疾患の有無と出産時母体血中ダイオキシン類推定濃度の関連

アレルギー疾患	n	発症頻度	Total TEQ				Total PCDDs				Total PCDFs				Total coplanar PCBs				
			Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p	Median	Min	Max	p	
喘息	あり	11	9.4%	254.1	13.9	1367.4	0.5438	151.1	7.4	556.6	0.8518	46.0	3.0	1050.4	0.2624	23.2	2.7	105.6	0.5626
	なし	106		466.0	10.6	8926.9		162.2	5.5	1775.5		181.5	2.3	7155.5		29.1	2.4	184.2	
アトピー性皮膚炎	あり	16	13.7%	331.1	13.9	2886.0	0.1522	110.2	7.4	494.5	0.1615	74.9	3.0	2356.2	0.1522	24.2	2.7	40.4	0.1787
	なし	101		482.2	10.6	8926.9		169.9	5.5	1775.5		178.3	2.3	7155.5		29.8	2.4	184.2	
アレルギー性鼻炎	あり	11	9.4%	68.4	13.9	1293.5	0.1303	32.5	7.4	797.0	0.2177	28.9	3.0	1050.4	0.0631	11.2	2.7	74.2	0.0892
	なし	106		475.5	10.6	8926.9		162.2	5.5	1775.5		196.2	2.3	7155.5		30.1	2.4	184.2	

出産時母体血中ダイオキシン類推定濃度が10倍上昇した場合の児アレルギー疾患の発症リスク

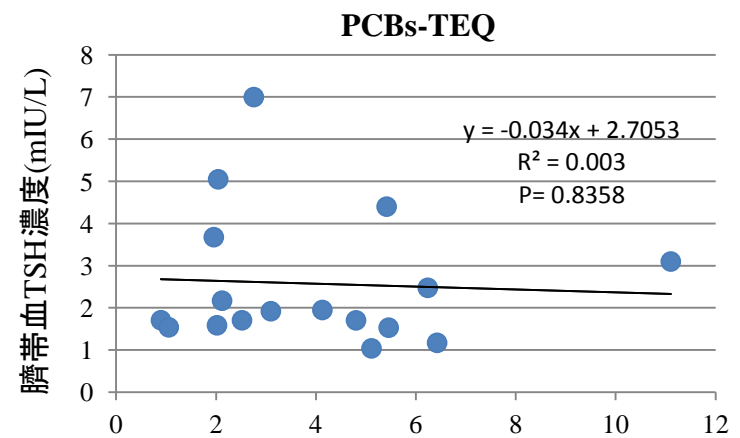
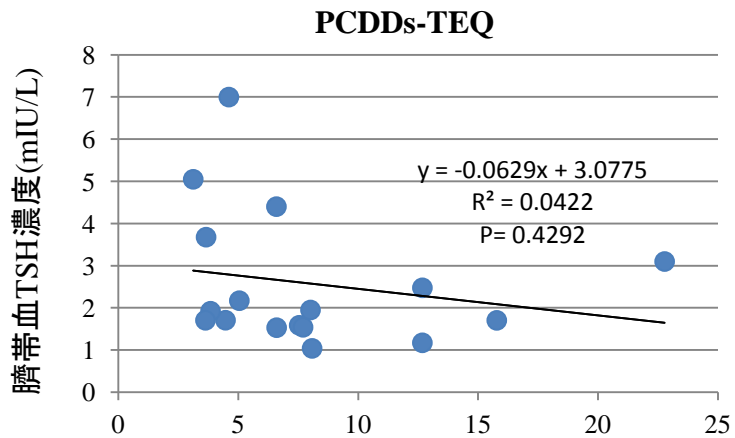
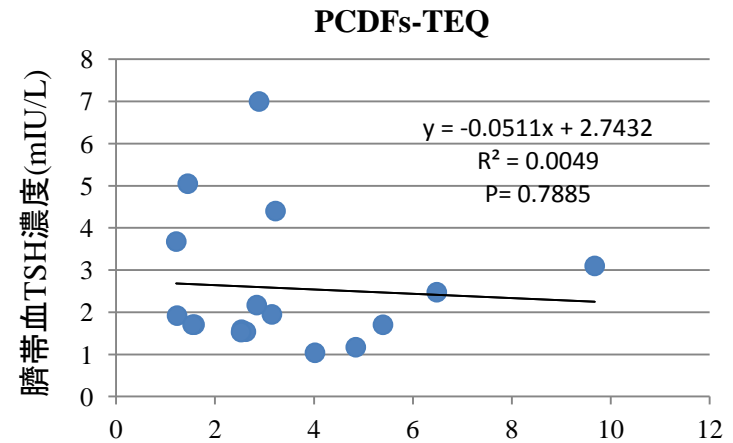
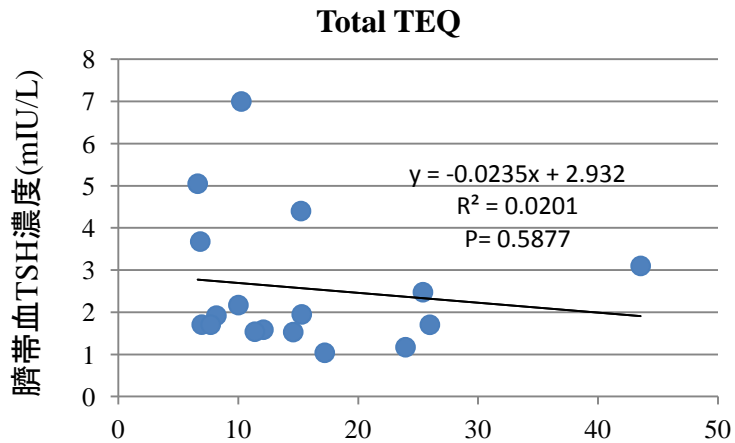
アレルギー疾患	Total TEQ				Total PCDDs				Total PCDFs				Total coplanar PCBs			
	odds	95%CI		p	odds	95%CI		p	odds	95%CI		p	odds	95%CI		p
喘息	0.76	0.28	2.11	0.5988	0.98	0.32	3.05	0.9775	0.65	0.28	1.52	0.3213	0.85	0.17	4.14	0.8398
アトピー性皮膚炎	0.59	0.24	1.48	0.2613	0.54	0.19	1.49	0.2318	0.63	0.30	1.34	0.2336	0.49	0.12	2.00	0.3177
アレルギー性鼻炎	0.37	0.12	1.13	0.0795	0.37	0.11	1.27	0.1144	0.43	0.17	1.09	0.0752	0.20	0.04	1.16	0.0735

OR for 10-fold increase in lipid blood level (95% CI) adjusted for gestational age, maternal age at delivery, parity, smoking status during pregnancy, birth weight and infant gender.

油症患者における次世代への影響(甲状腺)

●油症患者より出生した児117例のなかで、甲状腺機能低下症を合併したものは1例(0.8%)であった。

正常妊娠における母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血TSH濃度との関連



油症患者における次世代への影響 (性差)

- 母親が20歳未満で曝露した場合、
女系の2世、3世では男児出生率が低下する。

Exposure status	Generation	No. children	sex ratio (95%CI)	p ^a
Exposed at any age				
Maternal exposure	F ₁	373	0.501 (0.451-0.552)	0.62
	F ₂	264	0.470 (0.409-0.530)	0.15
	F ₂ (F ₁ -mothers)	136	0.441 (0.358-0.525)	0.09
	F ₂ (F ₁ -fathers)	128	0.500 (0.413-0.587)	0.75
Paternal exposure	F ₁	313	0.505 (0.449-0.560)	0.74
	F ₂	270	0.489 (0.429-0.549)	0.41
	F ₂ (F ₁ -mothers)	146	0.473 (0.392-0.554)	0.32
	F ₂ (F ₁ -fathers)	124	0.508 (0.420-0.596)	0.89
Exposed at age < 20years				
Maternal exposure	F ₁	220	0.450 (0.384-0.516)	0.06
	F ₂	70	0.443 (0.326-0.559)	0.23
	F ₂ (F ₁ -mothers)	46	0.348 (0.210-0.485)	0.02
	F ₂ (F ₁ -fathers)	24	0.625 (0.431-0.819)	0.28
Paternal exposure	F ₁	215	0.465 (0.398-0.532)	0.15
	F ₂	79	0.532 (0.422-0.642)	0.75
	F ₂ (F ₁ -mothers)	55	0.491 (0.359-0.623)	0.73
	F ₂ (F ₁ -fathers)	24	0.625 (0.431-0.819)	0.28

2世 ↓

3世 ↓↓

^a χ^2 test against an expected sex ratio (proportion of male births) of 0.514.

F₁ indicates first generation, F₂, second generation.

(Tsukimori K et al, Epidemiology 2012)

油症患者より出生した児の健康影響は・・・

● 出生体重の減少

母体血中ダイオキシン類濃度は出生体重と有意に負の相関
出生体重に及ぼす影響; PCDDs>PCDFs、男児>女児

● 色素沈着(Black baby)

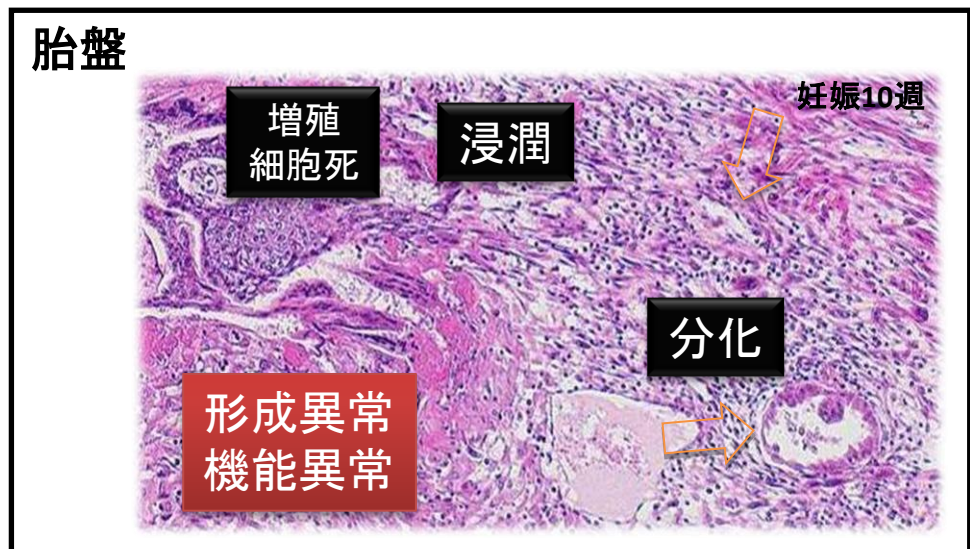
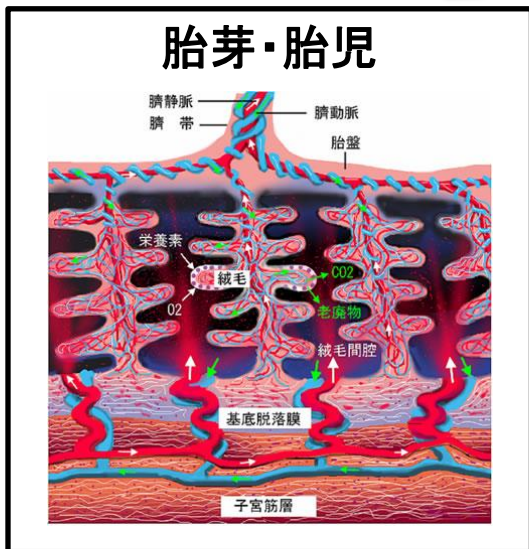
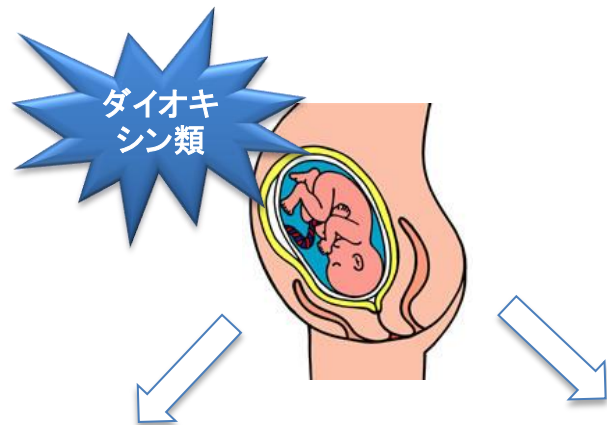
母体血中ダイオキシン類濃度の上昇はBlack baby発症リスクを増加

● 男児出生率の低下

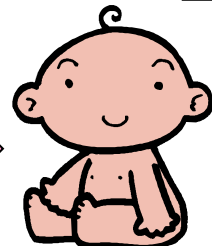
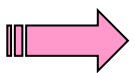
女系の2世、3世では男児出生率が低下

● アレルギー疾患と甲状腺機能低下症の発症との関連はなし

ダイオキシン類曝露による次世代への健康影響をきたす機序は・・・



経胎盤移行
(直接的影響)



胎盤機能障害を介する
発育・発達の障害
(間接的影響)

研究課題1. ダイオキシン類の母体から胎児への移行に関する研究

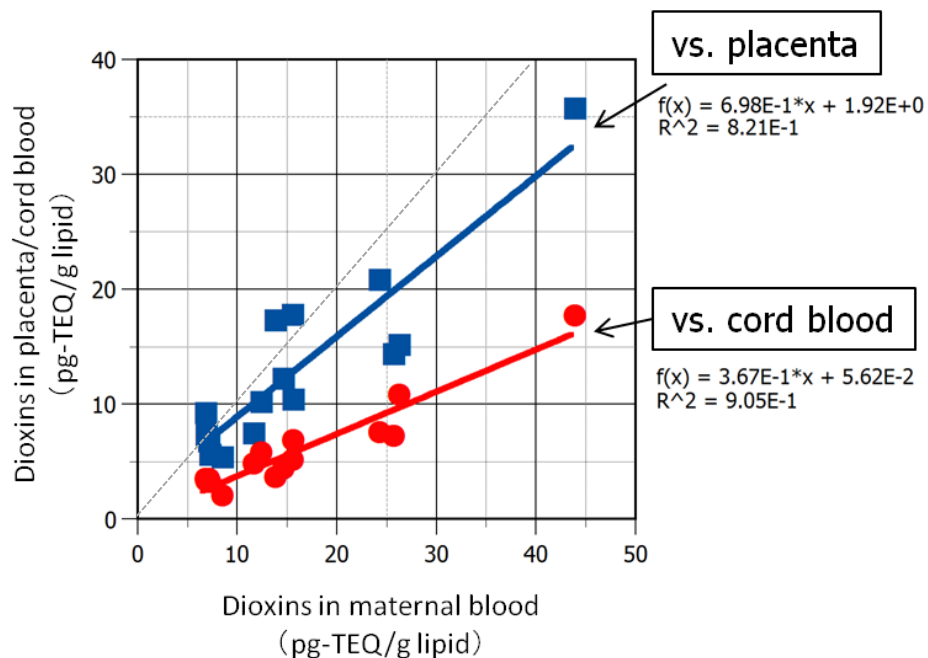
- 大容量型高速溶媒抽出装置を使用した生体試料中のダイオキシン類分析法を順次構築し、母体血、母体脂肪組織、胎盤組織、臍帯血、羊水、胎脂、胎便、母乳中のダイオキシン類分析を行った。

試料採取開始:平成21年10月
平成24年2月13日現在

	人数	胎盤	母体脂肪	胎脂	臍帯	母体血	胎便	羊水	新生児尿	臍帯血		母乳	計
										V血	A血		
正常例	H21(2009)	16	15	13	15	16	15	14	13	16		14	146
	分析実施済み		[15]	[13]	[3]	[15]	[16]	[3]	[3]		[16]	[12]	[96]
正常例	H22(2010)	3				3			2	3	3	1	12
	分析実施済み					[3]				[3]	[3]	[1]	[10]
FGR症例	H21(2009)	-											
	H22(2010)	10	9	1	1	9	10	3	3	1	10	8	59
	分析実施済み		[9]	[1]		[9]	[10]				[10]	[8]	[51]
計		29	24	14	16	24	29	18	17	16	29	11	217
	分析実施済み		[24]	[14]	[3]	[24]	[29]	[3]	[3]		[29]	[11]	[157]

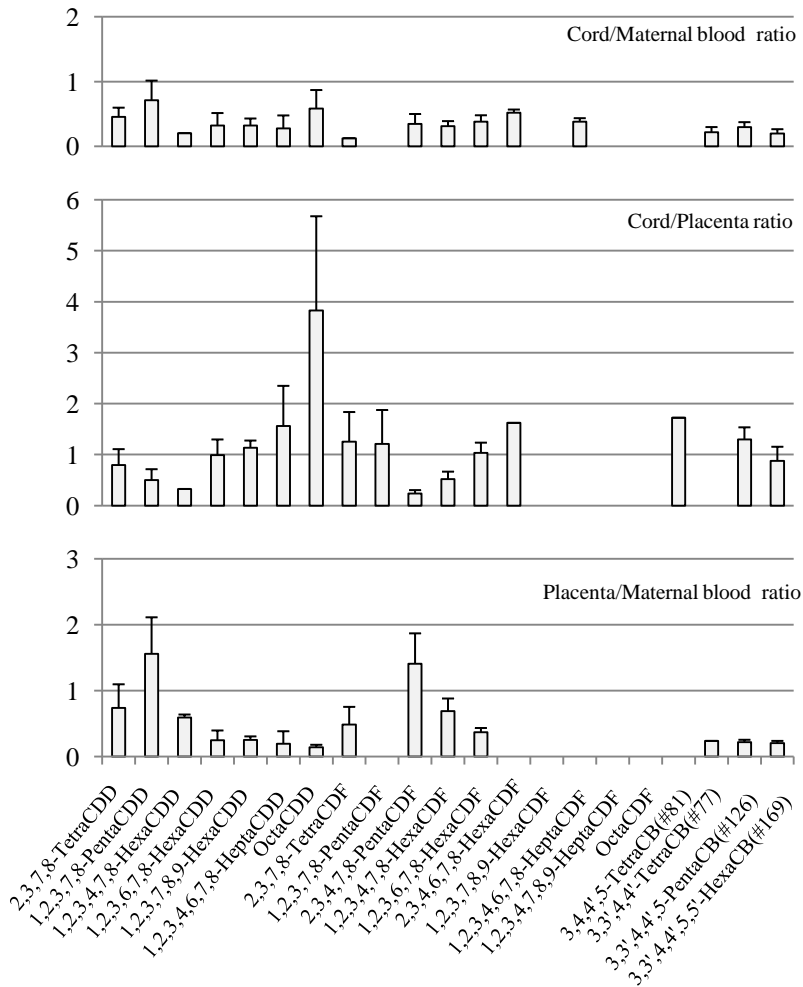
正常妊娠における母体血、臍帯血、胎盤組織中ダイオキシン類濃度(Total TEQ)の比較

No.	Total dioxins (pg-TEQ/g lipid)															min.	max.	mean
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			
Maternal blood	25	24	14	6.6	6.8	15	6.9	8.2	12	11	15	26	44	13	6.5	6.5	44	16 (100)
Placenta	14	21	12	7.1	6.6	18	5.4	5.2	10	7.3	10	15	36	17	9.1	5.2	36	13 (82)
Umbilical cord blood	7.1	7.4	4.2	3.2	3.3	5.0	3.1	1.9	5.6	4.7	6.7	11	18	3.5	3.4	1.9	18	5.8 (37)



➤ 臍帯血のダイオキシン類平均濃度は母体血に対して約60%低い値を示した。平均濃度は、母体血、胎盤、臍帯血の順に低くなり、胎児側に近い組織ほどダイオキシン類濃度は低くなる傾向が認められた。

正常妊娠におけるダイオキシン類異性体の母児間移行



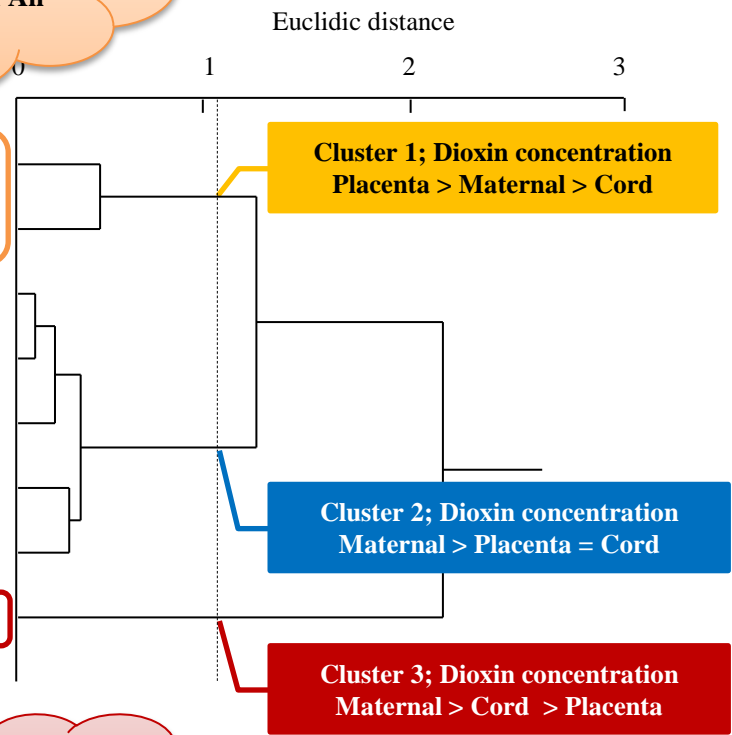
Characteristics;
 * higher value of TEF
 = high affinity of Ah receptors

1,2,3,7,8-PeCDD
 2,3,4,7,8-PeCDF

1,2,3,6,7,8-HxCDD
 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)
 1,2,3,6,7,8-HxCDF
 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
 3,3',4,4',5-PeCB(#126)

OCDD

Characteristics;
 * Higher Kow
 * Lower binding capacity to lipoprotein



ダイオキシン類の母児間移行の特徴は・・・

- **臍帯血ダイオキシン類濃度は母体血の約60%**

血中ダイオキシン類濃度：母体血 > 胎盤 > 臍帯血

- **ダイオキシン類異性体により母児間移行は異なる**

母体血から臍帯血への移行：PCDDs > PCDFs

TEF値が高い異性体：胎盤 > 母体血 > 臍帯血

OCDD：母体血 > 臍帯血 > 胎盤

研究課題3. ダイオキシン類の胎盤毒性に関する基礎的研究

- ヒト正常胎盤から樹立した不死化絨毛細胞株(TCL-1細胞)を用いて、TCDDの胎盤に及ぼす影響について検討した。

指標

- TCL-1細胞株へのTCDDの直接の生物学的作用
- 絨毛幹細胞の増殖能に対するTCDDの効果
- ヒト胎状奇胎のAhRプロモーター領域SNP解析

ヒトEVT由来細胞株へのTCDDの直接の生物学的作用



Effect of transient TCDD exposure on immortalized human trophoblast-derived cell lines

Human and Experimental Toxicology

1-7

© The Author(s) 2011

Reprints and permission:

sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/0960327111424305

het.sagepub.com



K Fukushima¹, K Tsukimori², D Li¹, T Takao¹,
S Morokuma¹, K Kato³, H Seki⁴, S Takeda³,
S Matsumura⁵ and N Wake¹

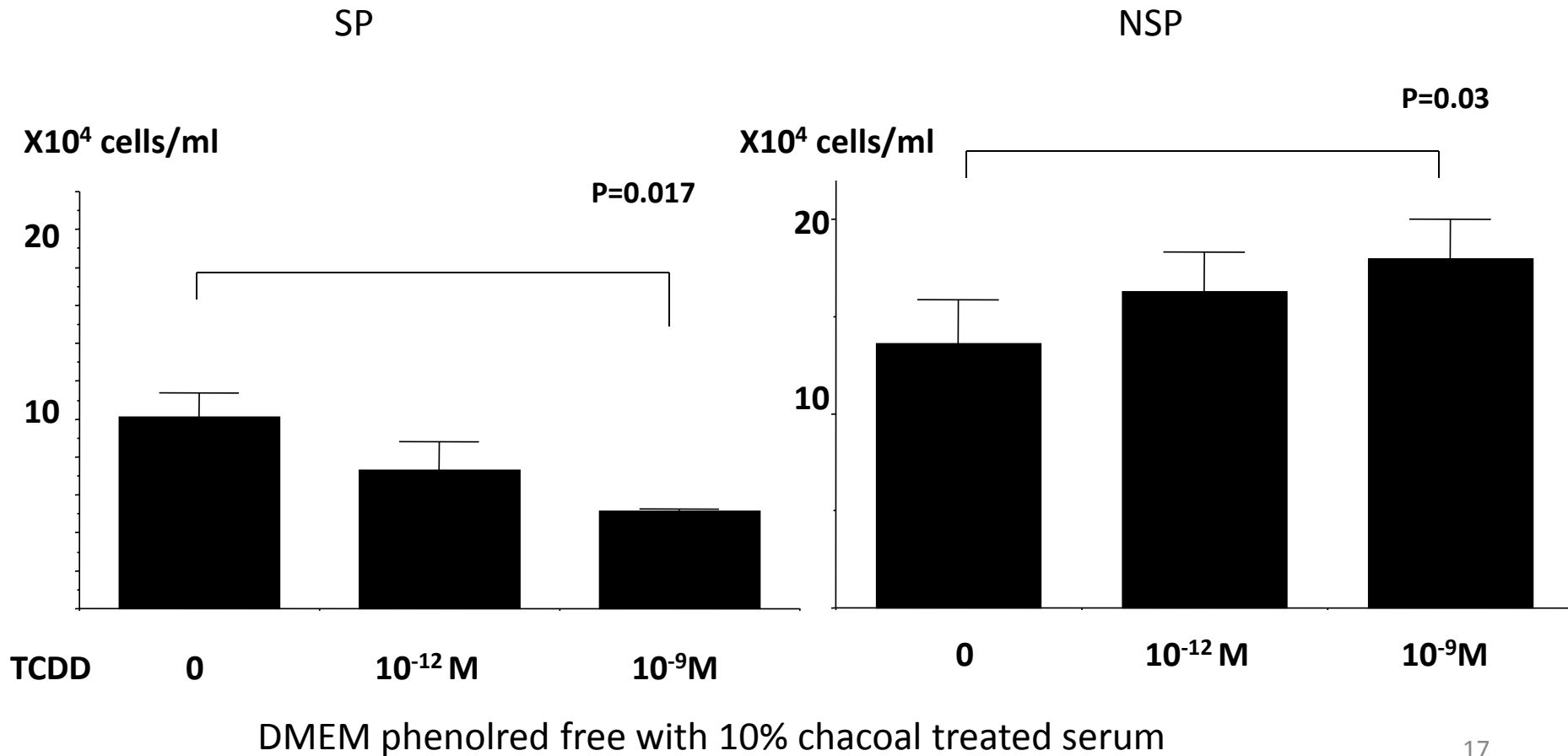
Abstract

Low level, antenatal exposure to dioxins is associated with low birth weight, which in turn is associated with long-term sequelae. We exposed the human extravillous cytotrophoblast (EVT) lines HTR-8/SV40 and TCL1 to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and assessed cell growth, invasion, and differentiation. TCDD had no effect on cell proliferation, invasion, or tube formation in Matrigel. The EVT-derived cells expressed a functional aryl hydrocarbon receptor protein; however, TCDD exposure did not alter expression levels of proteins involved in EVT differentiation in early pregnancy, including hypoxia-inducible factor 1A (HIF1A), vascular endothelial growth factor (VEGF), Integrin A1, A6, and AVB3. These results suggest that the reduction in fetal weight induced by dioxin is not the result of vascular remodeling via EVT dysfunction.

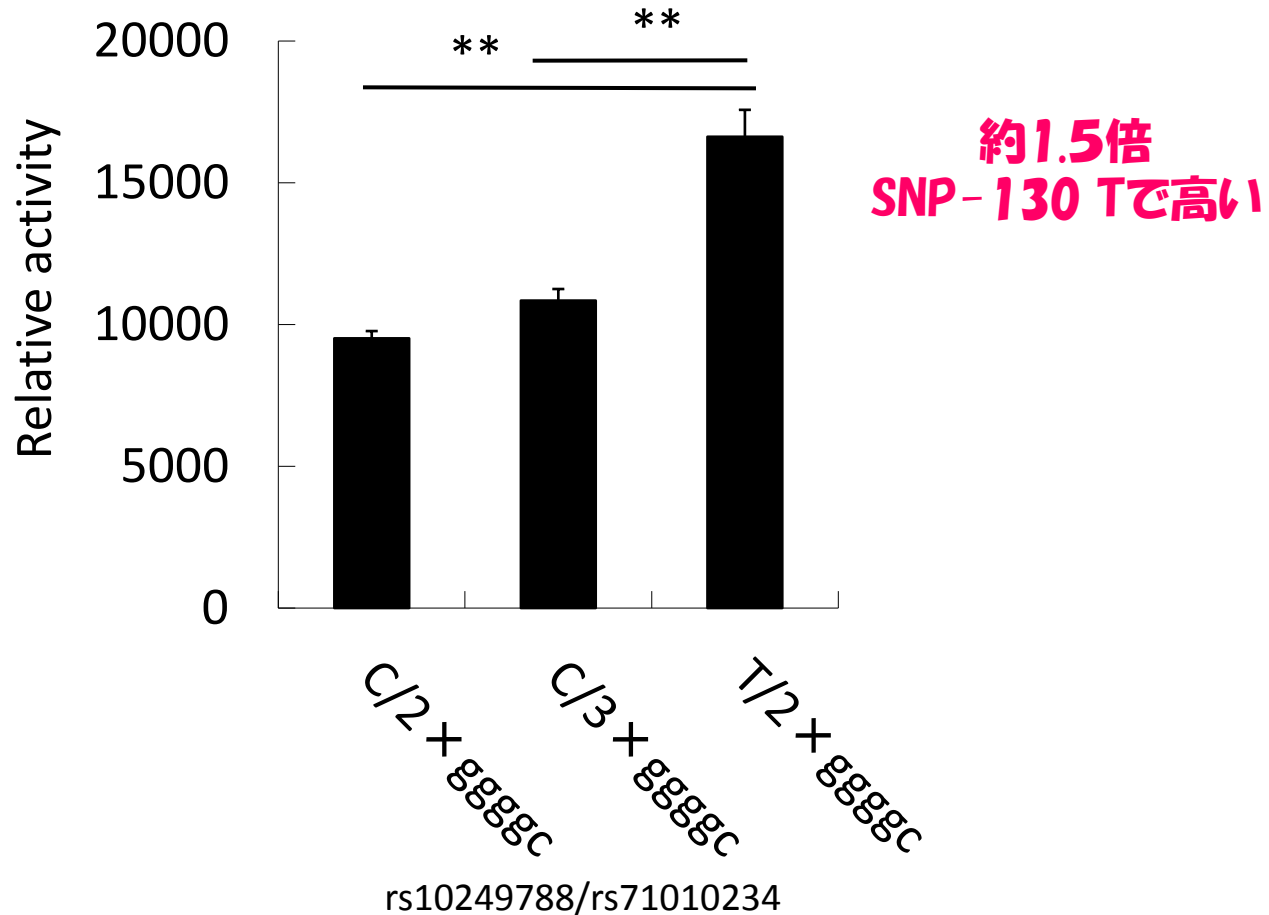
10nMまでのTCDD添加は ヒト絨毛由来培養細胞株の
増殖、浸潤、血管内皮様分化(Tube-formation)、
分化関連タンパク(HIF1A, ITG A1,5,6, AVB3)発現に変化を与えない

Human and Experimental Toxicology
2011, DOI: 10.1177/0960327111424305

**E2低下条件培地では、
SP細胞(幹細胞)は増殖が抑制、NSP細胞は増殖が促進される。**



AHRプロモータ領域のSNPsによる 転写活性の違い

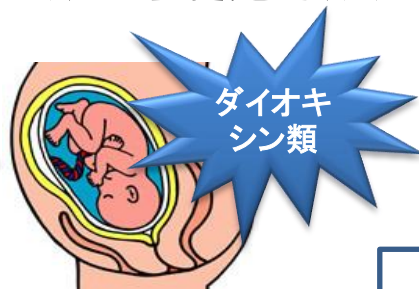


特徴的なSNPsはTSSより-59bpにあるGGGGCリピートと-130bpにあるC/Tであり、GGGGCリピートの数は転写活性には関係なく、C/Tの違いがAHR転写活性を制御していた。

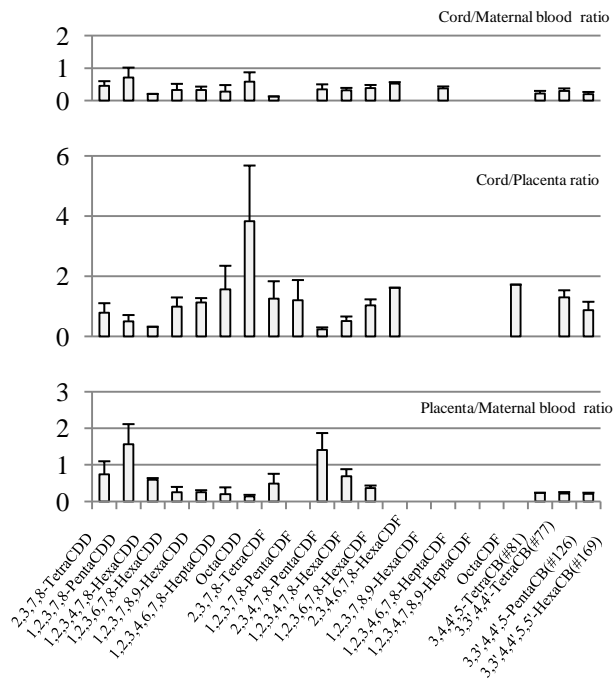
ダイオキシン類の胎盤(絨毛細胞)に及ぼす影響は・・・

- TCDDはEVT由来株の増殖や細胞死、分化マーカータンパク発現に有意な影響をあたえない。
一方、絨毛幹細胞の増殖や維持には有意な影響を与えること、その過程にエストロゲンが関与する可能性がある。
- AhRプロモーター領域のSNPはダイオキシンの生物学的作用に影響を与えうる。

ダイオキシン類曝露による次世代健康影響の発現機序は・・・



経胎盤移行による直接的影響



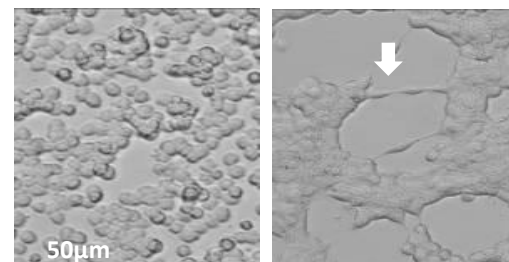
胎盤へのDioxins取り込みはAHR親和性の高いものが多い。

臍帯血へのDioxins移行;PCDDs > PCDFs

(Tsukimori K, et al. JOGR. 2012 revised)

- 出生体重減少
- 色素沈着
- 男児出生率低下

胎盤障害による間接的影響



TCDDはヒト胎盤トロホプラストの増殖能、浸潤能、Tube formationに影響を及ぼさない。
(Fukushima K, et al. Hum Exp Toxicol. 2012 in press)

油症における児の健康影響の特徴

- PCDDs > PCDFs
- 男児 > 女児

胎盤の器質的な障害ではなく、
経胎盤移行による児への直接的影響

今後検討すべき課題

- 児の血中ダイオキシン類濃度は、母親に比べて有意に低く、正常健常人と比して有意な差を認めない。

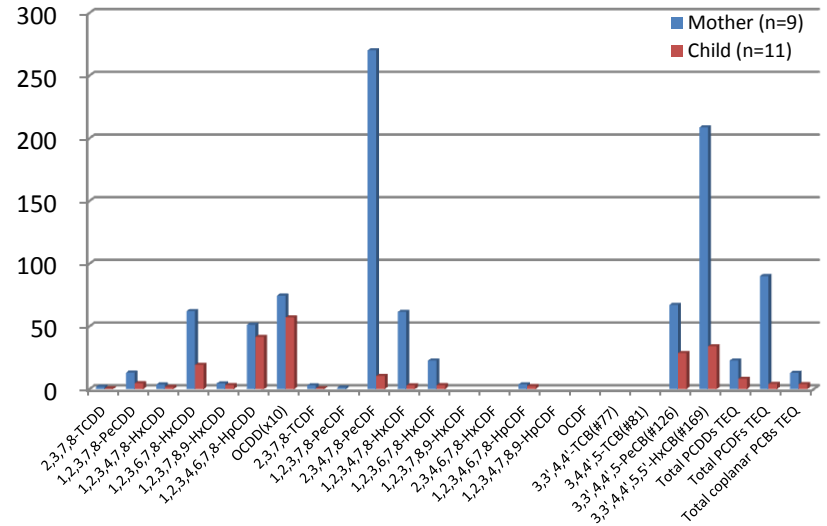
(Tsukimori K et al. Chemosphere 2011)

- 次世代健康影響の発現には性差がある。

(Tsukimori K et al. Environ Int 2012)

- 次世代、次々世代にわたる健康影響がある。

(Tsukimori K et al. Epidemiology 2012)



▼ 継世代影響の発現は、高濃度ダイオキシン類の母児間移送によるものとは異なる機序が存在することが推察される。

ダイオキシン受容体を介する細胞内毒性シグナル伝達機構の個体差(遺伝子多型)やエピジェネティックな遺伝子発現制御の破綻の解析