内分泌かく乱化学物質等の作用メカニズムの解明等基礎的研究

2005 年 3 月 8 日
環境安全課

1. 平成 15 年度研究課題の評価

平成 17 年 1 月 13 日に検討会を開催し、平成 15 年度に実施された下記 10 課題について検討委員による評価を行い、各課題について今後の課題・方針を決定した。

検討委員

委員長	高杉 暹	横浜市立大学名誉教授
委員	有蘭 幸司	熊本県立大学環境共生学部教授
	井口 泰泉	大学共同利用機関法人自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター教授
	堤 治	東京大学医学部教授
	長濱 嘉孝	大学共同利用機関法人基礎生物学研究所 発生生物学領域教授

平成 15 年度実施課題

(参照：平成 16 年度第 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料 3-3)

ラットの生殖腺の器官培養系におけるトリブチルスズの影響

(日本獣医畜産大学獣医畜産学部 鈴木勝士)

内分泌かく乱化学物質による雄性生殖器への影響の分子細胞生物学的メカニズムの解明

(千葉大学大学院医学研究院 森 千里)

内分泌かく乱化学物質の性腺ホルモン作用機構の解明に関する研究

(名古屋大学大学院医学系研究科 那須民江)

フタル酸エステル吸入暴露による生体影響の解明とリスク評価

(北海道大学大学院医学研究科 岸 玲子)

核内受容体ファミリーを介する化学物質の生体影響に関する研究

(大阪大学大学院薬学研究科 西川淳一)

ビスフェノール A 膜受容体の分子生物学的検討と作用機序の解明に関する研究

(大阪市立大学大学院医学研究科 船江良彦)

甲殻類(ミジンコ)におよぼす内分泌かく乱化学物質の作用メカニズムに関する研究

(岡崎国立共同研究機構 渡邊 肇)

内分泌かく乱化学物質問題に係る遺伝子技術を用いた試験法開発

(岡崎国立共同研究機構 渡邊 肇)

無脊椎動物への内分泌かく乱作用に関するスクリーニング試験開発のための基礎的研究

(独立行政法人国立環境研究所 鑑迫典久)

前鰓類(海産巻貝類)の性及び生殖に関わる内分泌機構の解明に関する基礎的研究(独立行政法人国立環境研究所 堀口敏宏)

2. 平成 16 年度の研究方針について

平成 16 年度研究については、上記平成 15 年度実施課題のうち、検討委員が研究継続の必要性を認めかつ研究者より継続の意志が示された下記 4 課題を選定し、検討会での検討結果として示された研究の方向性に沿って研究を実施するとともに、これまでの研究成果の総括を行うこととした。研究結果は平成 17 年 6 月を目途に開催する検討会において評価する。

内分泌かく乱化学物質による雄性生殖器への影響の分子細胞生物学的メカニズムの解明

主任研究者

森 千里（千葉大学大学院医学研究院環境生命医学 教授）

研究協力者

深田 秀樹（千葉大学大学院医学研究院環境生命医学 特任助教授）

精巣に影響を与える物質として、 17β -estradiol (E_2)、エストロゲン様作用をもつ diethylstilbestrol (DES)、bisphenol A (BPA)、抗アンドロゲン作用をもつ flutamide (Flu) や抗エストロゲン作用をもつ ICI 182.780 (ICI) などを用い、セルトリ細胞や精子形成における発達障害や細胞分化遅延の機構について分子・細胞レベルでの解析を行ってきた。本研究では、これらの影響が精子形成にどのような作用をし、形態変化などの悪影響を与えているのかを解析する。これまでの研究において、 E_2 、BPA、FLUT は精子細胞の核やアクロソーム、セルトリ細胞 - 精子細胞の特殊接合装置 (apical ES) の形成不全、ICI では特殊接合装置の形成不全、そして DES では血液精巣閉鎖に存在する特殊接合装置 (basal ES) の形成不全を誘導することが、電子顕微鏡などを用いた解析により明らかになっている。

平成 15 年度の結果より、不妊を示すトランスジェニックマウスで発現が減少していることがわかったアクチン結合タンパク質の 1 種が特殊接合装置形成に関係していることから、平成 16 年度は、化学物質に暴露された精巣中の同タンパク質発現量、およびその発現が精子形成に関与する時期などをそれぞれの化学物質に暴露されたマウスの精巣で解析する。また、 E_2 と Flu では作用機序が異なっていると考えられるが、形態変化は類似していたことから、精巣中のホルモン動態について液体クロマトグラフィータンデム型質量分析 (LC-MS/MS) によって、正確なホルモン測定を行う。加えて、化学物質により精巣でしばしば誘発されるアポトーシスの制御メカニズムを遺伝子発現調節レベルで解析する。また、これまでの研究の総括を行う。

フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの生殖・発達毒性のメカニズムの解明およびリスク評価に関わる研究

主任研究者

那須 民江（名古屋大学大学院医学研究科環境労働衛生学 教授）

研究協力者

山ノ下 理（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学 受託研究員）

伊藤 由起（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学 大学院生）

柳場 由絵（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学 大学院生）

張 淑芸（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学 大学院生）

古橋 功一（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学 大学院生）

本研究では DEHP の生殖・発達毒性（胎仔・新生仔死亡率の増加、雄のテストステロンの低下）のメカニズムと種差についてまとめる。胎仔・新生仔死亡率の増加は、野生型マウスの胎仔・新生仔の体重が低く、PPAR・ノックアウトマウスにはこのような変化が見られないことから、PPAR・標的遺伝子産物の発現について解析した結果から考察する。雄のテストステロン濃度の低下はライディッチ細胞のテストステロン合成系への影響から考察する。種差に関しては、キネティクスとダイナミクスに分け、キネティクスは DEHP から MEHP への代謝を触媒するリパーゼの種差を、ダイナミクスに関しては PPAR・標的遺伝子産物発現の種差を考察する。これらの結果を総合して、リスク評価において、DEHP のキネティクス・ダイナミクス種差、生殖・発達毒性の種差をどのように考え、不確実係数を決定すべきか考察する。

フタル酸エステル吸入曝露による生体影響の解明とリスク評価

主任研究者

岸 玲子（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授）

研究協力者

佐田 文宏（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授）

西條 泰明（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助手）

近藤 朋子（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 研究員）

森 ゆうこ（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 研究員）

倉橋 典絵（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 大学院生）

馬 明月（北海道大学医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 大学院生）

平成 15 年度に引き続き、吸入曝露実験を行い、次世代影響、生殖毒性、内分泌系への影響の検討を行う。平成 16 年度は平成 15 年度からの雄ラット精巣への影響の検討を行うと同時に、雌への影響を検討することで、影響の雌雄差についても検討を行い、総括する。

i) 妊娠ラットへの DEHP 吸入曝露による雄仔ラット精巣への影響

ア．精巣、精巣上部、前立腺重量の計測、組織学的変化の検討、

イ．精巣中の血漿テストステロン濃度、テストステロン合成酵素 mRNA の発現量の検討を行う

ii) 幼若雌ラット吸入曝露による生殖への影響

ア．性周期の観察

イ．子宮、卵巣、肝臓、腎臓の重量、組織学的検討

ウ．卵巣中のステロイド合成酵素 mRNA 発現量の測定。cytochrome P450 cholesterol side-chain-cleavage enzyme (P450scc), 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β HSD), cytochrome P450 17 α -hydroxylase/17, 20 lyase (CYP17), Aromatase (CYP19) を定量

エ．血清中の LH、FSH、estradiol の変化

ビスフェノール A 結合蛋白質の分子生物学的検討と中枢神経系への作用機序の解明

に関する研究

主任研究者

舩江 良彦（大阪市立大学大学院医学研究科生体化学分野 教授）

研究協力者

岡田 和嗣（大阪市立大学大学院医学研究科 大学院生）

今岡 進（関西学院大学理工学部 教授）

ビスフェノール A (BPA) は、プラスチック製品の可塑剤等として使用され、土壌、水、生物生態系内で高頻度に検出されている化学物質である。近年、BPA の内分泌かく乱作用が疑われ、神経伝達物質の変動や行動異常の誘起など、BPA の中枢神経への影響が報告されているが、その作用機序はまだ明らかにされていない。

内分泌かく乱化学物質の中枢神経への作用は、BPA の結合蛋白質 (PDI) を介して甲状腺ホルモンをかく乱することがこれまでの研究で明らかになった。また、甲状腺ホルモン応答性の細胞増殖及び成長ホルモン産生を行うことが知られているラット下垂体由来 GH3 細胞は PDI を高発現していることを明らかにしているため、この細胞を用いて、BPA などの内分泌かく乱化学物質の PDI を介した細胞増殖やホルモン分泌に与える影響を検討する。

さらにアフリカツメガエルの PDI をクローニングし、ノックダウン等によって中枢神経系形成過程での PDI の役割を明らかにする。最終的に、GH3 細胞の増殖・成長ホルモン産生およびアフリカツメガエル胚発生を用いた評価系を確立して、環境省においてリストアップされた「優先してリスク評価に取り組む物質」について、神経細胞への影響及び発生過程特に中枢神経系形成過程への影響を調べ評価を行う。これらの結果を踏まえ、これまでの研究の総括を行う。

* 優先してリスク評価に取り組む物質

トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニフェノール、フタル酸-n-ブチル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジエチル、アジピン-2-エチルヘキシル、トリフェニルスズ、ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノール A、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピル

3 . 平成 17 年度以降の方針について

平成 17 年度以降は、SPEED ' 98 改訂後の「化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針」に沿って事業体系の改組を行うため、本事業は平成 16 年度で終了とする。なお、内分泌かく乱作用の作用メカニズム解明のための研究は基盤的研究の枠組み内で継続されるべきである。