

C-1251

ダイオキシン類曝露による継世代健康影響と 遺伝的感受性要因との関連に関する研究

研究代表者 和氣 徳夫
国立大学法人 九州大学
研究実施期間 平成24年4月～平成27年3月
累積予算額 58,029千円

2015/3/6

サブテーマ(1)

ダイオキシン類曝露による継世代健康影響及び 血中ダイオキシン類濃度との関連に関する研究

地方独立行政法人福岡市立病院機構
福岡市こども病院・感染センター

研究分担者 月森 清美

2015/3/6

サブテーマ1

ダイオキシン類曝露による継世代健康影響および血中ダイオキシン類濃度との関連に関する研究

- 油症患者における世代別の健康影響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。

児への健康影響の指標

- 流産・胎児死亡
- 生殖機能: 出生児の性別
- 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
- AHR-130 C/T SNPと疾患発症との関連

2015/3/6

次世代健康影響(流産・胎児死亡、男児出生割合)

健康影響	油症発生前 10年間	油症発症後			
		総数	発症から10年間	発症から10-20年	発症から20年以降
人工流産	5.9%(6/102)	10.6%(15/142)	13.6%(11/81)	10.0%(4/40)	0%(0/21)
	Ref	1.89(0.71-5.05)	2.51(0.89-7.12)	1.78(0.47-6.67)	NA
		p=0.250	p=0.122	p=0.468	p=1.000
自然流産	8.3%(8/96)	15.0%(19/127)	12.9%(9/70)	13.9%(5/36)	23.8%(5/21)
	Ref	1.94(0.81-4.63)	1.62(0.59-4.44)	1.77(0.54-5.83)	3.44(0.99-11.85)
		p=0.151	p=0.438	p=0.340	p=0.056
胎児死亡	12.5%(12/96)	17.3%(22/127)	15.7%(11/70)	13.9%(5/36)	28.6%(6/21)
	Ref	1.47(0.69-3.14)	1.31(0.54-3.16)	1.13(0.37-3.47)	2.80(0.91-8.61)
		p=0.352	p=0.651	p=0.779	p=0.091
男児出生割合*	0.50(40/80)	0.55(55/100)	0.60(35/58)	0.45(13/29)	0.54(7/13)
	0.95(0.51-1.76)	1.16(0.66-2.01)	1.44(0.69-3.00)	0.77(0.27-2.16)	1.10(0.24-5.15)
	p=1.000	p=0.671	p=0.455	p=0.793	p=1.000

Data are shown as %(n/N) and OR (95%CI) .

*Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.

- 人工流産は1.89倍、自然流産は1.94倍、胎児死亡は1.47倍増加したが、有意な差はなし
- 男児出生割合も一般集団と比較して有意な差はなし

2015/3/6

次世代健康影響(皮膚色素沈着)

母体ダイオキシン類血中濃度が高いと胎児油症発症リスクは増加する。

Estimated maternal blood THQ concentrations (THQ pg g⁻¹ lipid) of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs at delivery.

Variables	Half-life ^{a,b} (years)	TEF ^c	Black baby (n = 10)			Non-black baby (n = 107)			Odds ratio ^d	(95% CI)	p Value ^e		
			% >DL	THQ concentration		% >DL	THQ concentration						
				Mean	SD		Median	Mean				SD	Median
Total levels													
Total PCDDs	7.7 ^a		100	736.5	526.5	647.0	100	243.0	275.9	139.0	21.5	(1.48-310.9)	0.03
Total PCDFs	7.7 ^a		100	1923.9	2273.8	1313.1	100	460.7	905.3	141.6	3.46	(1.07-11.2)	0.04
Total coplanar PCBs	14.6 ^a		100	57.6	30.4	45.6	100	31.8	29.7	27.1	24.0	(1.25-463.6)	0.04
Total PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs TEQ	7.7 ^a		100	2719.7	2706.8	1969.1	100	761.7	1164.0	410.8	7.54	(1.27-44.9)	0.03
Congener levels													
PCDDs													
2,3,7,8-TetraCDD	6.2 ^b	1	70	87.2	60.8	96.9	54	33.6	47.1	14.0	6.55	(1.00-42.8)	0.05
1,2,3,7,8-PentaCDD	8.5 ^b	1	100	213.7	153.1	180.9	100	75.0	78.4	52.4	28.4	(1.48-544.0)	0.03
1,2,3,4,7,8-HexaCDD	8.4 ^b	0.1	70	5.4	3.7	5.4	62	2.8	3.5	1.6	7.83	(0.85-70.9)	0.07
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	13.1 ^b	0.1	100	41.1	34.0	33.8	100	15.2	16.9	10.0	28.6	(1.57-489.9)	0.02
1,2,3,7,8,9-HexaCDD	8.5 ^b	0.1	100	9.0	5.0	8.4	79	4.2	4.8	2.2	10.7	(0.94-122.3)	0.06
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	6.5 ^b	0.01	100	21.8	13.6	19.7	100	9.3	10.2	5.5	17.4	(1.24-242.8)	0.03
OctaCDD	5.6 ^b	0.0003	100	19.2	13.7	16.6	100	7.5	9.2	3.6	21.1	(1.64-271.7)	0.02
PCDFs													
2,3,7,8-TetraCDF	0.4 ^b	0.1	40	NA	NA	NA	50	NA	NA	NA			NA
1,2,3,7,8-PentaCDF	0.9 ^b	0.03	30	NA	NA	NA	24	NA	NA	NA			NA
2,3,4,7,8-PentaCDF	7.7 ^a	0.3	100	1728.4	2032.4	1191.4	100	404.9	805.8	122.8	3.27	(1.06-10.0)	0.04
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	5.1 ^a	0.1	100	689.9	988.9	355.4	90	153.6	350.9	28.5	3.31	(1.09-10.1)	0.04
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	5.1 ^a	0.1	100	254.1	307.2	167.7	90	66.8	117.5	18.6	4.83	(1.13-20.6)	0.03
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	1.1 ^b	0.1	0	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA			NA
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	2.4 ^b	0.1	0	NA	NA	NA	10	NA	NA	NA			NA
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	3.5 ^a	0.01	70	41.2	39.2	27.2	60	11.1	17.9	2.6	4.98	(1.09-22.2)	0.04
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	3.2 ^b	0.01	0	NA	NA	NA	3	NA	NA	NA			NA
OctaCDF	0.2 ^b	0.003	0	NA	NA	NA	4	NA	NA	NA			NA
Coplanar PCBs													
3,3',4,4'-TetraCB (#77)	14.6 ^a	0.0003	0	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA			NA
3,4,4',5'-TetraCB (#81)	14.6 ^a	0.0001	20	NA	NA	NA	8	NA	NA	NA			NA
3,3',4,4',5'-PentaCB (#126)	14.6 ^a	0.1	100	32.5	19.3	27.0	99	20.3	20.4	13.9	14.9	(0.90-246.5)	0.06
3,3',4,4',5,5'-HexaCB (#169)	14.6 ^a	0.03	100	25.1	20.1	23.2	100	11.5	13.6	7.2	9.74	(1.25-75.9)	0.03

^a Half-life data are from Manuda (2001).
^b Half-life data are from Liem and Theelen (1997).
^c WHO 2005 toxic equivalent factor values (Van den Berg et al., 2006).
^d Odds ratio for a 10-fold increase in blood lipid level adjusted for age at delivery, gestational age at birth, birth weight, descendant sex, and consumption of fish (times per week).
^e Calculations were performed when the detection rate in the sample was >50%. DL, detection limit; NA, not applicable; CDD, chlorinated dibenzo-p-dioxins; CDF, chlorinated dibenzofurans; CB, chlorinated biphenyls.

2015/3/6

(Tsukimori K et al, Chemosphere 2013)

次世代健康影響(アレルギー疾患)

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.

母体ダイオキシン類血中濃度が高いと児アレルギー疾患は減少傾向。

油症曝露と児アレルギー疾患発症との関連は？

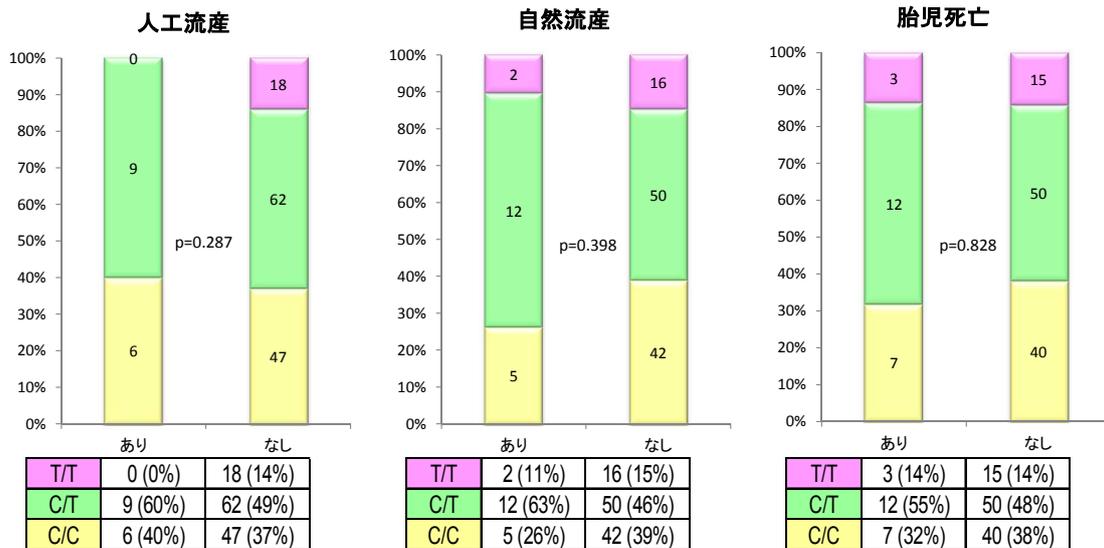
関連なし？

高濃度曝露では発症を抑制？

感受性が関与？

2015/3/6

流産・胎児死亡の有無とAhR遺伝子多型との関連



- いずれの健康影響においても明らかな傾向はみられない。

2015/3/6

AhR遺伝子多型と男児出生割合の継世代影響

AhR SNP	曝露世代 症例数	男児の占める割合		
		次世代	次々世代	うち女系曝露
C/C	13(48.1%)	0.69(11/16)	0.44(12/27)	0.40(4/10)
		2.08(0.49-8.80)	0.76(0.26-2.21)	0.63(0.11-3.71)
		p=0.475	p=0.786	p=1.000
C/T	11(40.8%)	0.75(9/12)	0.56(9/16)	0.40(2/5)
		2.84(0.50-15.98)	1.22(0.30-4.89)	0.63(0.05-7.72)
		p=0.400	p=1.000	p=0.996
T/T	3(11.1%)	0.67(2/3)	0.67(4/6)	0(0/1)
		1.89(0.07-51.26)	1.89(0.18-19.50)	NA
		p=1.000	p=0.992	p=0.500
計	27(100%)	0.71(22/31)	0.51(25/49)	0.38(6/16)
		2.31(0.81-6.59)	0.98(0.45-2.17)	0.57(0.14-2.32)
		p=0.192	p=1.000	p=0.722

Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.

- 次々世代、なかでも女系曝露では男児出生割合が低下する傾向があった。
- AhR遺伝子多型と男児出生割合との間に明らかな傾向はみられない。

2015/3/6

サブテーマ(2)

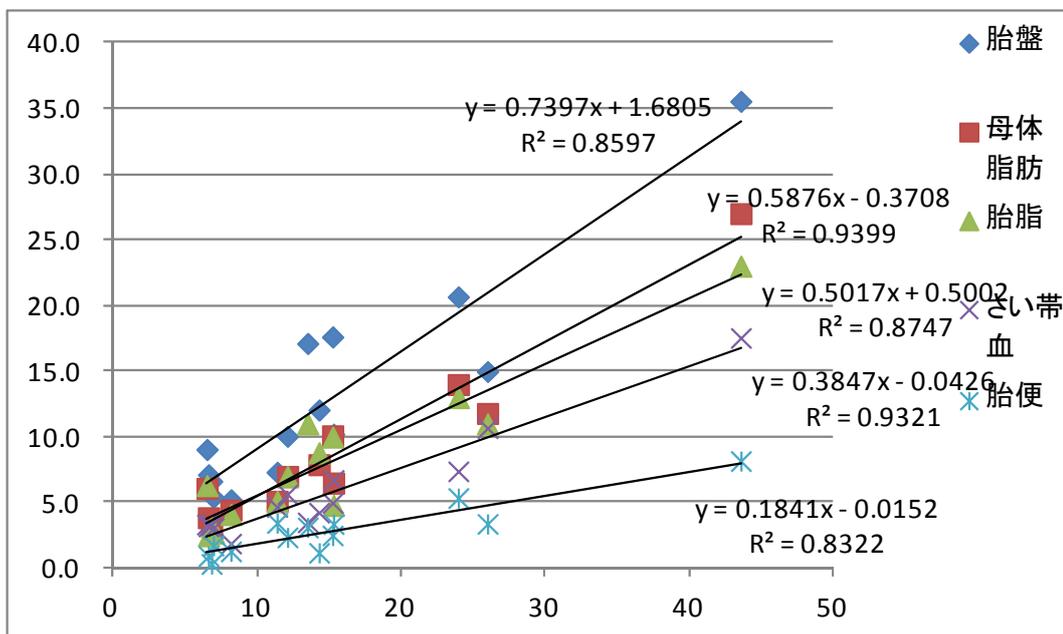
ダイオキシン類曝露量と継世代移行量の評価に関する研究

福岡県保健環境研究所

研究分担者 平田 輝明

2015/3/6

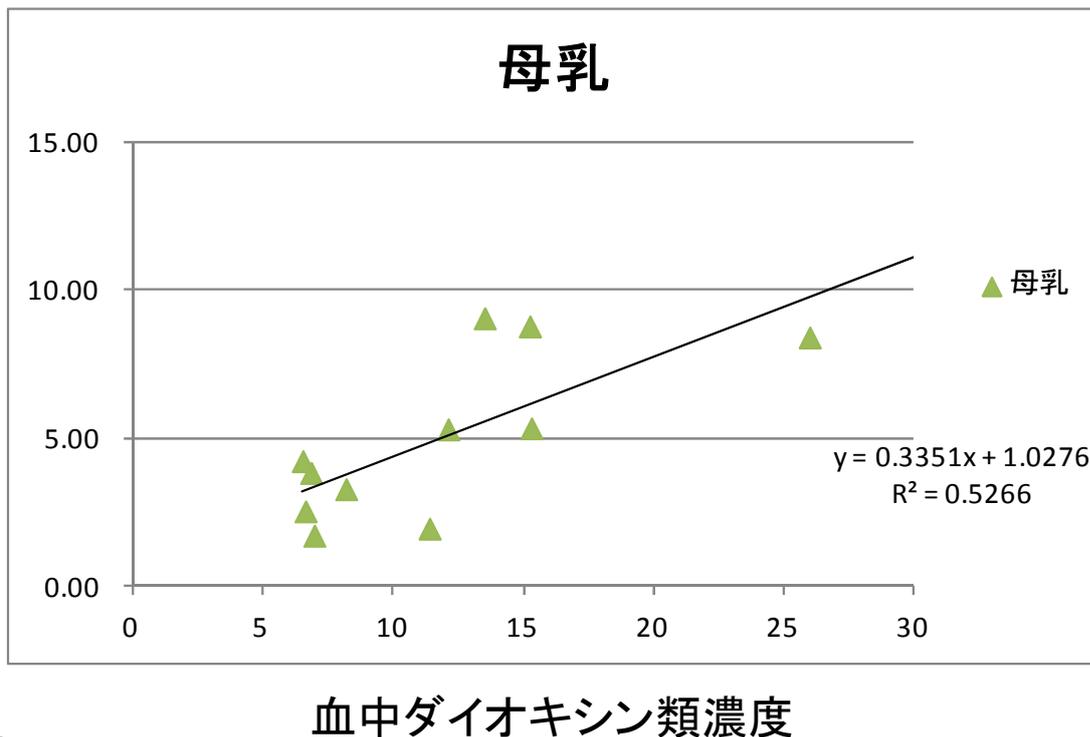
各試料間の濃度相関



羊水、新生児尿
検出感度以下

2015/3/6

母乳中ダイオキシン類濃度



2015/3/6

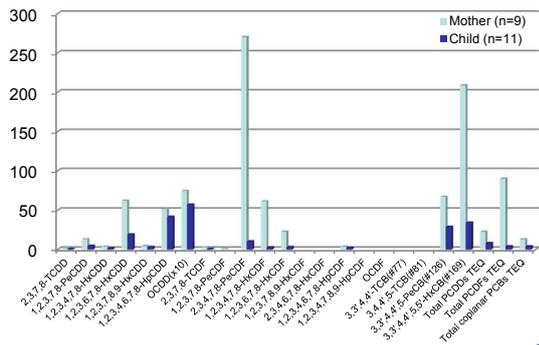
サブテーマ(3)

ダイオキシン類による継世代的健康影響の発症機序に関するゲノム研究

国立大学法人 九州大学
研究代表者 和氣 徳夫
研究分担者 古江 増隆
内 博史
浅野間 和夫
劉 格
福嶋 恒太郎

2015/3/6

● 血中ダイオキシン類濃度は、児が母親に比べて有意に低く、正常健康人と比して有意な差を認めない。
(Tsukimori K et al. Chemosphere 2011)



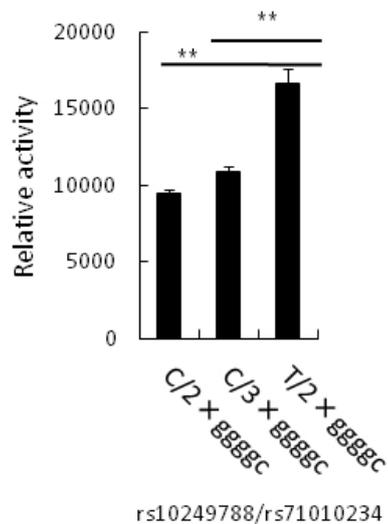
▼ 継世代影響の発現は、ダイオキシン類の母児間移送によるものとは異なる機序が推察される。

ダイオキシン受容体(Arylhydrocarbon receptor, AHR)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)の観点から明らかにする必要性。

2015/3/6

Table 2. Combinations of SNPs in the AHR promoter from CHM

rs10249788	rs71010234	n	ratio (%)
C	3 × ggggc	26	52.0
T	2 × ggggc	12	24.0
C	2 × ggggc	9	18.0
C	1 × ggggc	1	2.0
C	4 × ggggc	1	2.0
C	5 × ggggc	1	2.0

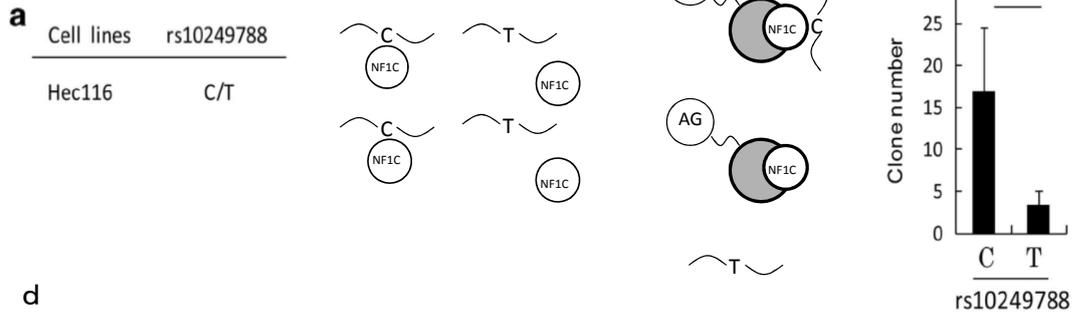


5`-ACGGANNNNNNTCCAG-3`

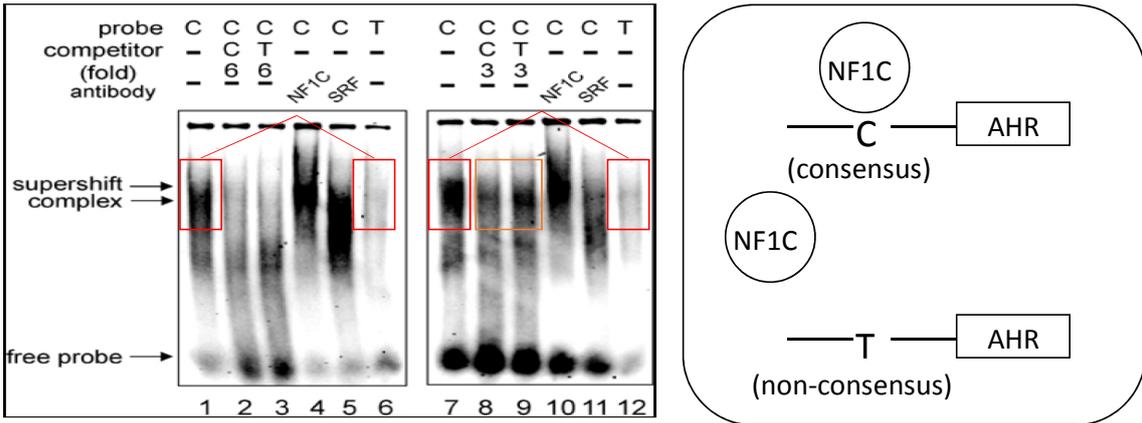
T

2015/3/6

AHR-130bp NF1C (nuclear factor 1 C) 結合サイト



d



2015/3/6

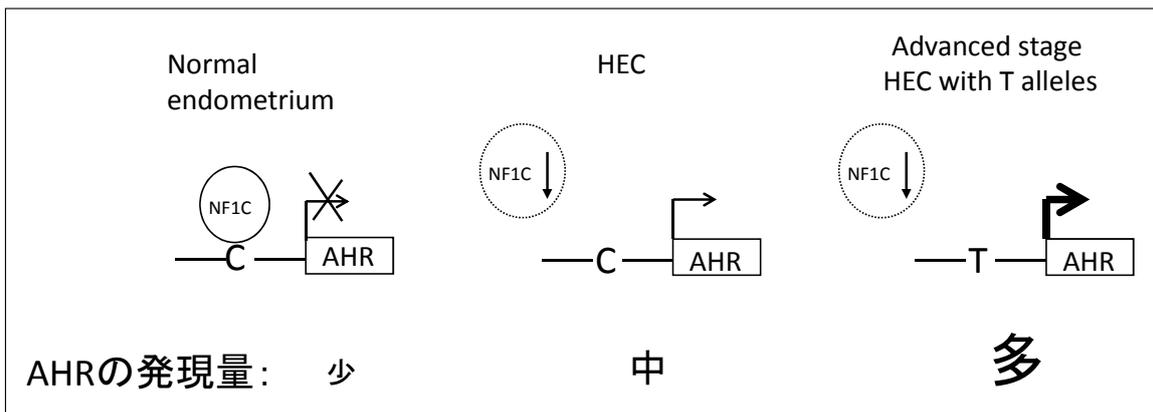
血液サンプルを用いたAhr-130bp C/T SNP遺伝子頻度

Sample group (n)	T/T	non-T/T	P
Healthy women (130)	12 (9.2 %)	118 (90.8 %)	0.724
HEC (121)	15 (12.4 %)	106 (87.6 %)	
Early stages (89)	7 (7.9 %)	82 (92.1 %)	
Advanced stages (32)	8 (25.0 %)	24 (75.0 %)	

0.419

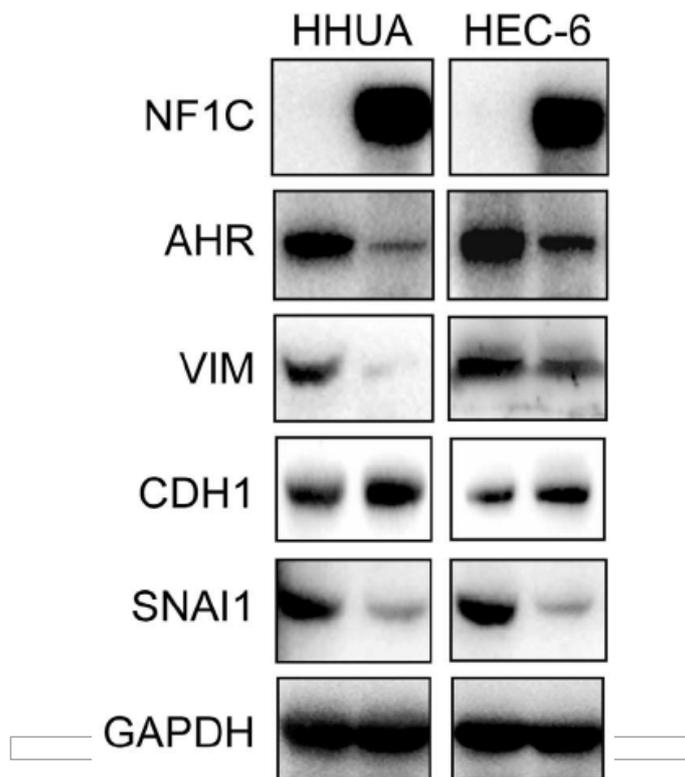
*0.015

HEC, human uterine endometrial cancer.



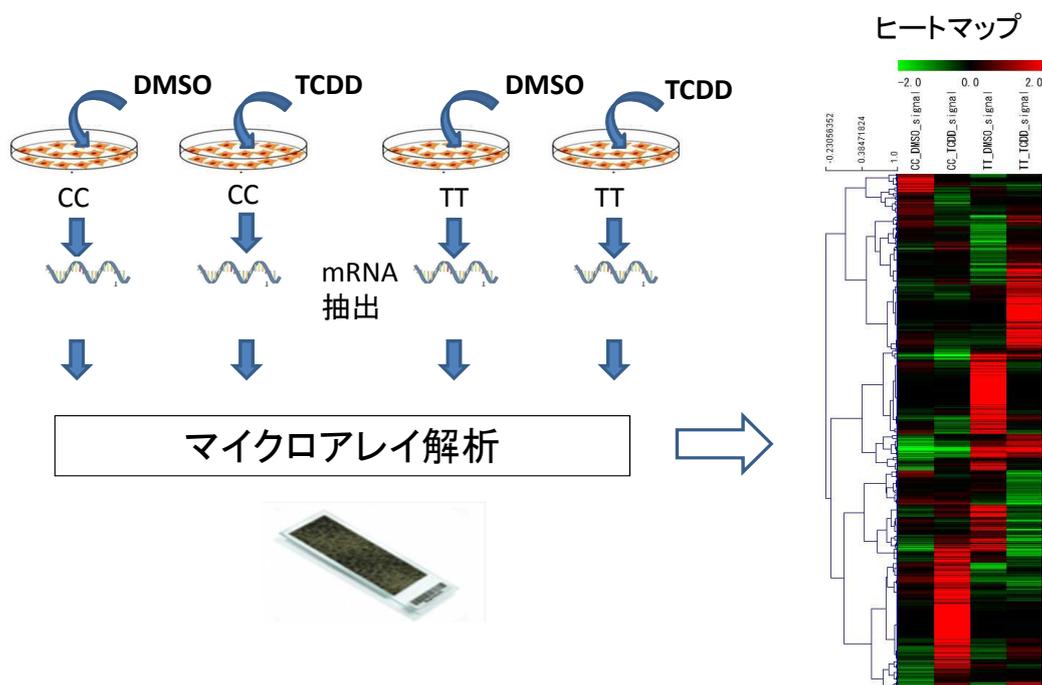
2015/3/6

epithelial-to-mesenchymal transition



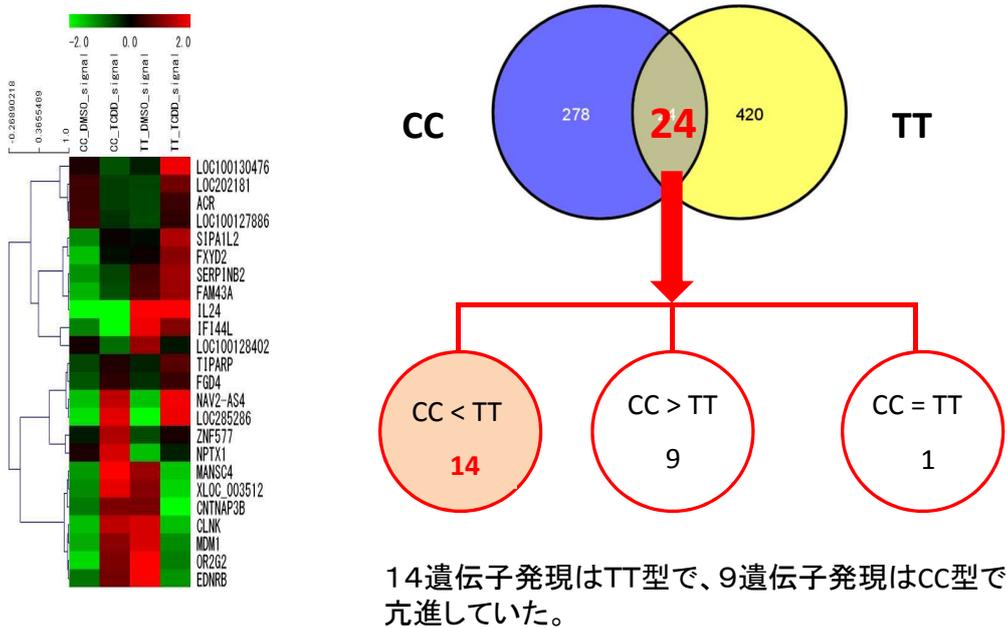
2015/3/6

TCDD存在下遺伝子発現解析(発現変動解析)



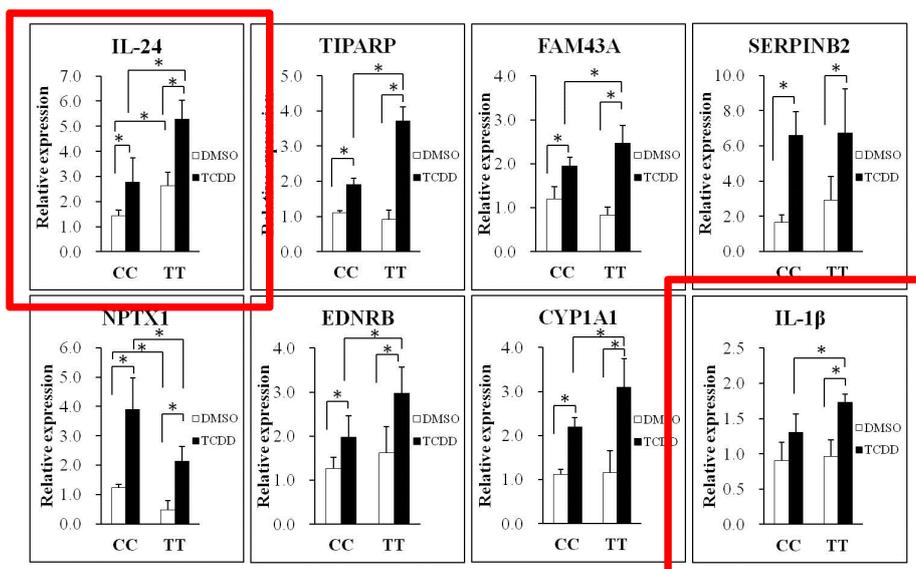
2015/3/6

CC及びTT両遺伝子型でともに発現変化する 遺伝子群(TCDD存在下)の同定



2015/3/6

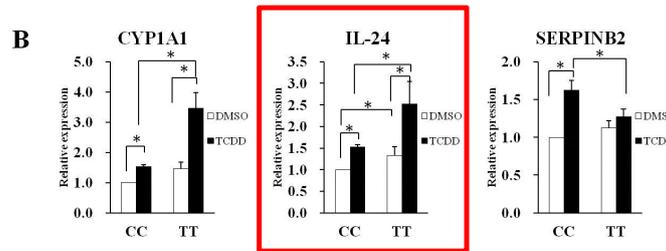
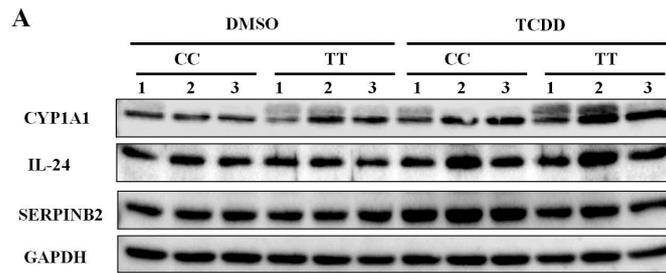
着目する遺伝子発現変動の確認(mRNAレベル)



DMSO処理後のIL-24 basal mRNAレベルはCC遺伝子型に比し、TT遺伝子型で有意に高値であった。TCDD処理により、遺伝子IL-24, TIPARP, FAM43A, SERPINB2, NPTX1, EDNRB, CYP1A1, IL-1βのmRNA発現量が有意に上昇した。NPTX1はTT型で有意に発現低下していた。IL-24, TIPARP, FAM43A, EDNRB, CYP1A1, IL-1β遺伝子はTT型で有意に発現亢進を認めた。

2015/3/6

着目する遺伝子発現変動の確認(タンパク質レベル)

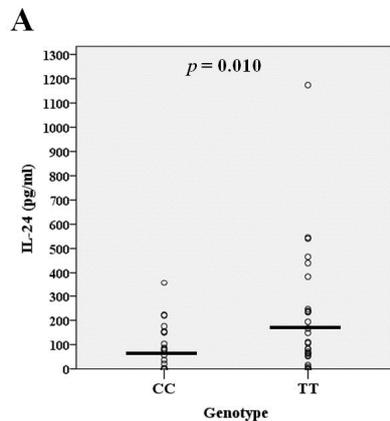


TCDD 処理により、IL-24, SERPINB2, CYP1A1の蛋白発現量が有意に上昇した。SERPINB2はT T型で有意に発現低下した。IL-24, CYP1A1はT T型で有意に発現亢進を認めた。

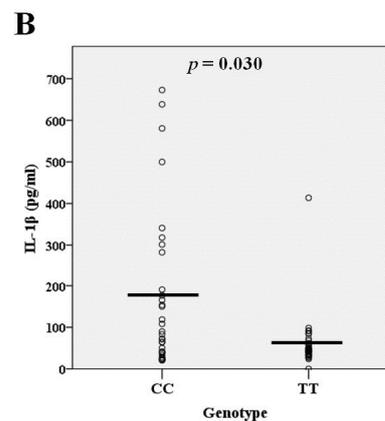
➡ AhR /IL-24シグナルに着目

2015/3/6

油症患者血清中 IL-24 and IL-1 β レベル (ELISA)



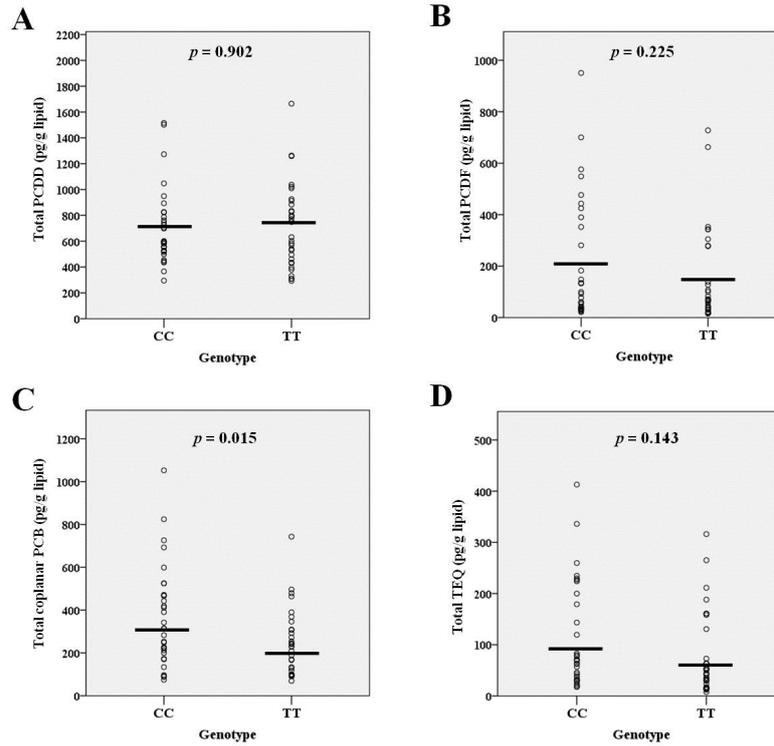
	Mean (pg/ml)	SD
CC (n=32)	59.1	15.8
TT (n=32)	180.9	43.2



	Mean (pg/ml)	SD
CC (n=32)	171.5	188.9
TT (n=32)	61.5	68.0

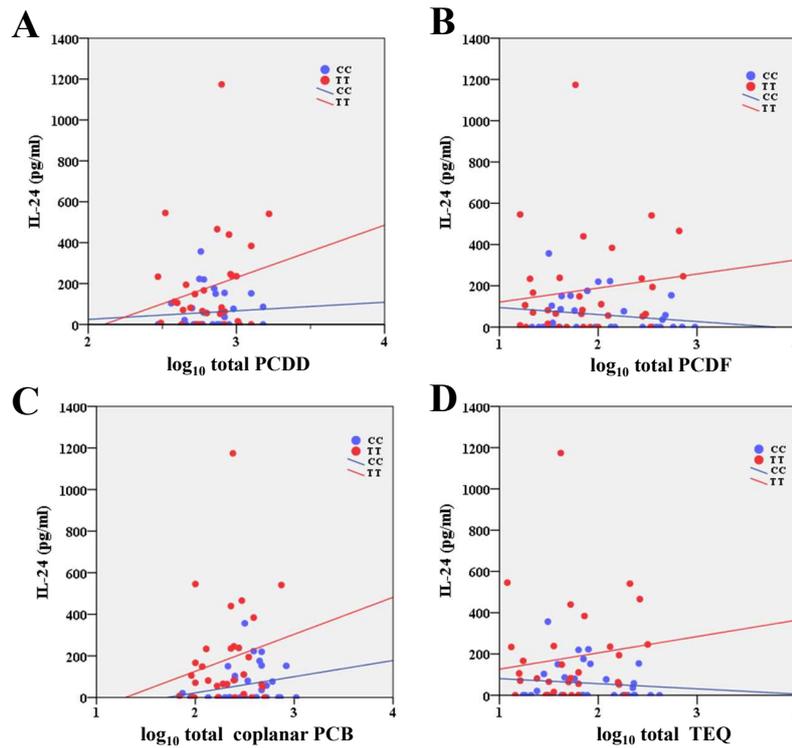
2015/3/6

Fig.5 Total PCDD,PCDF,PCB and TEQ 濃度 in plasma of Yusho patients



2015/3/6

油症患者血中IL-24 と total PCDD, PCDF, PCB and total TEQ レベルの相関



2015/3/6

AHR多型、血中IL24及びIL1 β は
次世代、次々世代に発症する炎症性疾患を
予知するバイオマーカーとして使用できる可
能性がある。

2015/3/6

エコチル調査エントリー症例 2740例

AHR遺伝子型

C/C型	1194例(44%)
C/T型	1291例(47%)
T/T型	255例(9%)

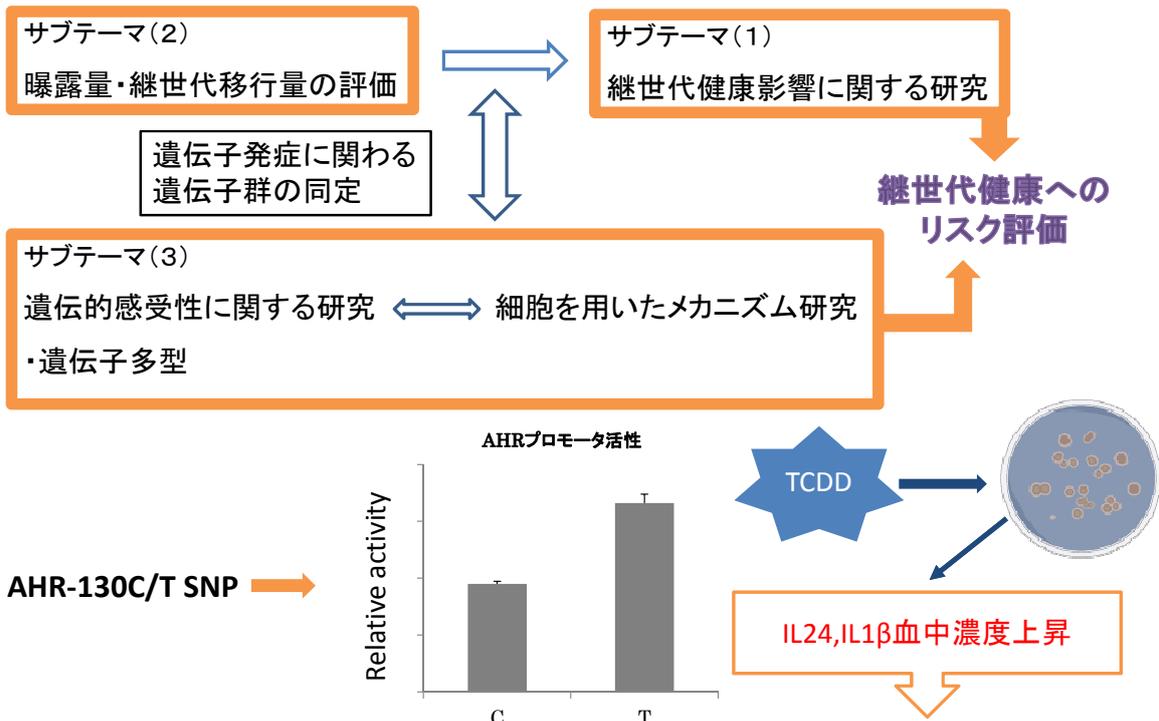
2015/3/6

前方視的解析

- ・AHR C/C型、 C/T型、 T/T型において発症する炎症性疾患の種類及び頻度
- ・ダイオキシン類血中濃度測定
- ・IL24、 IL1 β 血中濃度測定

2015/3/6

ダイオキシン類曝露による継世代健康影響と遺伝的感受性要因との関連に関する研究



低濃度ダイオキシン類曝露による炎症性疾患の予知

2015/3/6