

「内分泌かく乱物質」  
平成10年度採択研究代表者

遠山 千春  
(国立環境研究所 部長)

## 「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」

#### 1. 研究実施の概要

世界保健機関(WHO)は、98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。この見直し作業に参加し感じたことは、第1にリスクアセスメントに使用することができる科学的知見の一層の蓄積が必要であるということである。第2には、これだけ我が国においてダイオキシンの健康リスクが問題になっているにも関わらず、研究面での日本からの発信が極めて不十分であったということである。5年後には改めて見直しの会議が予定されているが、それまでには日本からリスク評価に適用することができる学術的価値も高い研究成果の発信を集中的に行う必然的かつ緊急性があると思われる。また、国際的には97年にG7サミットにおいて環境有害因子の子どもの健康に及ぼす影響に関する研究の必要性が合意された。感受性が高いと予想される胎児から小児のための健康リスク評価が求められている。

それでは、比較的低濃度のダイオキシン類への曝露によって、いかなる健康影響が起こりうるのだろうか。これまでの文献によれば、精子形成能の低下、子宮内膜症の発生、性比の異常、内分泌・免疫系(甲状腺ホルモン・リンパ球サブセットなど)の揺らぎ、脳機能・行動への影響など、内分泌攪乱作用を示唆する報告が蓄積しつつある。しかし、ダイオキシンの内分泌攪乱作用の実体とそのメカニズムについては、ほとんど解明が進んでいない。そこで我々は、今回の研究を単に学術的関心のための基礎研究ではなく、学術的水準の高いアウトプットを出すとともに、現実に求められているリスク評価へつながる研究として位置づけた。98年度の研究成果の一部は、学術雑誌のみならず、99年6月に決定された我が国のダイオキシンの耐容1日摂取量の報告書にも引用された。

本研究により、感受性が高い妊娠から出生までの時期におけるダイオキシンの作用メカニズムの解明とそのリスクアセスメントへの適用が大きく進展するとともに、日本からの学術的寄与も期待できると確信している。

## 2. 研究実施内容

本研究課題は、生殖機能、脳機能・行動、免疫機能という3つの独立したサブテーマ、ならびにこれらに共通するサブテーマとしてリスク評価の計4つのサブテーマから構成され、それぞれが独立した研究グループを構成している。すなわち、対象とする生体反応は様々であるが、可能な限り、ダイオキシンを曝露した共通の動物を共用すること、また、共通の実験技術などはグループを越えて研究者の相互協力体制の元に遂行すること、また、研究結果については、リスク評価グループを中心に、総合的に研究成果のとりまとめができるように構想されている。

全体の研究に共通する事項は、次の通り。

対象物質：2,3,7,8-TCDDを含むダイオキシン類。

実験動物：ラットとマウス。必要に応じて、Ah 受容体あるいはトランスチレチン(TTR)のノックアウトマウス、アトピー性皮膚炎自然発症マウスなどを使用。

曝露時期：受精卵から出生期まで。各実験に共通する投与プロトコールと個別のプロトコールを適宜用いる。

影響指標：影響判定指標に関しては、遺伝子の発現から行動影響まで、内分泌攪乱の揺らぎを特定できる、あるいは反映すると予想される指標を設定。

### (1) 生殖機能に及ぼす影響

- ① 体外授精系において配偶子あるいは受精卵に2,3,7,8-TCDDを曝露し、生まれてくる仔への影響（性比・器官発生異常）を観察するための予備実験を開始した。また、生殖腺の器官培養系にダイオキシン類を添加し、精子発生への影響を観察するための操作手順の検討を開始した。
- ② 2,3,7,8-TCDDを妊娠母体に投与した時の胎仔・胎盤への影響の観察を開始した。分娩直前にその胎盤のRNAを解析したところ、胎盤特異的遺伝子で有意な発現の減少が観察された。また、胎盤由来細胞 Rcho-1 細胞の培養系への曝露実験では、2D-PAGEにおいて明らかに発現が亢進するスポットが確認できた。

### (2) 脳機能・行動に及ぼす影響

- ① ダイオキシン曝露によるエストロゲン受容体への影響を解析するため、妊娠マウス(C57BL/6)に2,3,7,8-TCDDを40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量で経口投与し、妊娠18.5日目に胎仔を採取した。各群雌雄の胎仔より全脳を採取し、RNAを抽出した後、RT-PCR法によりER $\alpha$ のmRNA発現量を解析した。また雌の胎仔の視床下部・視床・視索前野におけるER $\alpha$ 及びER $\beta$ の蛋白の発現分布及び発現量の変動を免疫組織化学的染色法により解析した。一方、ダイオキシン応答遺伝子発現の微量定量の確立、アロマトーゼをノックアウトしたC57BL/6コンジェニックマウ

スの作成に着手した。

- ② 本研究計画には、ダイオキシン類に対する感受性の高い TTR 欠損マウスが必要不可欠である。ダイオキシン類に対する感受性の高い C57BL/6 マウスを遺伝的背景にもつ TTR 欠損マウスの作成に着手した。また、7 週齢の C57BL/6 マウスを用いて、対照と 2,3,7,8-TCDD を曝露したマウスの脳における mRNA 遺伝子発現の差異をディファレンシャルディスプレイ法によって解析する実験を開始した。

### (3) 免疫機能への影響

- ① T細胞の分化、機能に対する影響

ラットおよびマウスに 2,3,7,8-TCDD を経口投与し、胸腺における CYP1A1 等遺伝子の mRNA の発現や胸腺細胞分化および末梢の成熟リンパ球構成に及ぼす影響について検討を開始した。

またマウスの胎児胸腺器官培養系を用いて、ダイオキシンが胸腺細胞の分化および分化関連遺伝子発現に及ぼす影響を検討する系を確立した。

- ② アトピー性皮膚炎自然発症マウスにおけるアレルギーの発症・増悪に対する影響  
NC/Nga マウスの皮膚炎発症過程について予備的検討を開始した。

### (4) 内分泌攪乱作用に基づいたダイオキシンのリスク評価手法の提示

GC-MS によるダイオキシン測定の実験条件検討を行い、各サブテーマの実験から得られたラット、マウスの標的臓器、脂肪組織、血液中のダイオキシン濃度の測定を開始した。また、各サブテーマの実験から得られたサンプルについて病理組織学的検索を開始した。

## 3. 主な研究成果の発表（論文発表）

なし