

機関番号：21102
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：平成21年度 ～ 平成22年度
 課題番号：21790554
 研究課題名（和文） ディーゼル排気微粒子の経気道投与による生殖毒性発現の分子機構と食品成分による改善
 研究課題名（英文） Alleviative effects of food components on male reproductive toxicity induced by diesel exhaust particles.
 研究代表者
 井澤 弘美（IZAWA HIROMI）
 青森県立保健大学・健康科学部・講師
 研究者番号：20315534

研究成果の概要（和文）：

5週齢BALB/c雄性マウスを3濃度（0.01%、0.1%、1%）のケルセチン含有飼料にてそれぞれ飼育し、さらにディーゼル排気微粒子(DEP)懸濁液 0.05ml を2回/週ずつ6週にわたってそれぞれ気管内投与した。

DEP投与群とDEP+ケルセチン1%群の血中テストステロン濃度は、vehicle群と比較してそれぞれ有意に低値を示した。DEPは血中テストステロン濃度に影響を及ぼし、低濃度のケルセチンがその毒性を軽減させていることが示された。高濃度のケルセチンではDEPの毒性を軽減できないことが示された。

研究成果の概要（英文）：

BALB/c mice (5 week age) were fed diets which contained 0.01, 0.1 and 1% quercetin respectively, and 0.05mg/ml diesel exhaust particle (DEP) suspension or vehicle was instilled through an intratracheal cannula under anesthesia with halothane twice per week for 6 weeks.

Plasma concentrations of testosterone in the DEP-treated group and the DEP-treated + 1% Quercetin-fed group were significantly lower than in the vehicle-treated group. This result indicated that DEP decreased the plasma concentrations of testosterone. Low and middle concentration of quercetin diets may alleviate the male reproductive toxicity induced by DEP, but high concentration may not.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成21年度	2,400,000	720,000	3,120,000
平成22年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学・環境保健

キーワード：環境、食品、衛生

1. 研究開始当初の背景

大気汚染物質であるディーゼル排気微粒子 (Diesel Exhaust Particle, DEP) を雄性マウスに皮下投与すると生殖毒性を引き起

こすことを私たちによる動物実験で見出した。

さらに、この生殖毒性の発現にマウスの系統差があり、アリル炭化水素受容体 (Aryl

hydrocarbon Receptor, AhR) の応答性が強い系統のマウスほど毒性が顕著に現れることを私たちは見出した。このことから、DEP による毒性発現には AhR が関与していることが強く示唆された。

事実、DEP には AhR に応答する多環芳香族炭化水素やダイオキシン類が多く含まれていることが私たちの研究をはじめ多くの研究で明らかになっている。さらに私たちはフラボノイド類のひとつであるケルセチンが DEP による AhR の活性化を抑制することを *in vitro* 実験で見出した。

そこで、ケルセチンを摂取しているマウスに DEP を皮下投与したところ、雄性生殖毒性が軽減されたことを私たちは見出した。

これらのことから、ケルセチンが DEP による AhR の活性化を抑制することで雄性生殖毒性を軽減していることが強く示唆された。しかしながらその分子機構は不明である。分子機構が解明できれば、ケルセチンなどのフラボノイド類の新規機能である抗環境ホルモン作用を証明できると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的を以下の2つとした。

(1) DEP による雄性生殖毒性の分子機構の解明

DEP を皮下投与した雄マウスの精子産生能は低下する。しかしながら一般に DEP は呼吸器を介して体内に取り込まれる。そこで雄マウスに DEP を気管内投与して精子産生能が低下するかどうかを確認し、さらに精巣等の生殖器の遺伝子発現および視床下部-下垂体-性腺系のホルモン量がどのように変化するかを検討する。

(2) ケルセチンが DEP による AhR 活性化を軽減する分子機構の解明

ケルセチンを摂取している雄マウスに DEP を気管内投与し、そのマウス精巣等の生殖器の遺伝子やタンパク質の発現および視床下部-下垂体-性腺系のホルモン量がどのように影響を及ぼすかを調べ、それらがケルセチンの摂取により改善されるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1) DEP による雄性生殖毒性の分子機構の解明

5 週齢 BALB/c 雄性マウスを 4 群に分け、吸入麻酔下で各群に 0 (vehicle)、0.005、0.05 および 0.5 mg/ml の濃度に調製したディーゼル排気微粒子 (DEP) 懸濁液 0.05 ml を 2 回/週ずつ 6 週にわたって気管内投与した。溶媒は 0.05% Tween20 含有生理食塩水を用いた。飼育期間中に飼料摂取量と体重を測定した。

最終投与 1 週間後に深麻酔下で心臓全採血し、精巣、精巣上体および肝臓を摘出した。

(2) ケルセチンが DEP による AhR 活性化を軽減する分子機構の解明

5 週齢 BALB/c 雄性マウスを 6 群に分け、それぞれディーゼル排気微粒子 (DEP) 群、DEP+ケルセチン (以下、Q と記す) 0.01% 群、DEP+Q0.1% 群、DEP+Q1% 群、vehicle 群および vehicle+Q1% 群とした。DEP+Q0.01% 群および DEP+Q0.1% 群には 0.01% および 0.1% ケルセチン含有飼料をそれぞれ与えて飼育した。DEP+Q1% 群および vehicle+Q1% 群には 1% ケルセチン含有飼料を与えて飼育した。vehicle 群には標準飼料を与えて飼育した。

前年度の実験で様々な濃度の DEP 懸濁液を投与したところ、0.5 mg/ml に調製した DEP 懸濁液を投与した群の精巣上体中の精子数が、vehicle 群と比較して有意に低値を示したことから、本実験では DEP 群、DEP+Q0.01% 群、DEP+Q0.1% 群および DEP+Q1% 群には、吸入麻酔下で 0.5 mg/ml の濃度に調製した DEP 懸濁液 0.05 ml を 2 回/週ずつ 6 週にわたって気管内投与した。溶媒は 0.05% Tween20 含有生理食塩水を用いた。飼育期間中は飼料摂取量と体重を測定した。最終投与 1 週間後に深麻酔下で心臓全採血し、精巣、精巣上体および肝臓を摘出した。

4. 研究成果

(1) DEP による雄性生殖毒性の分子機構の解明

0.05 および 0.5 mg/ml DEP 投与群の精巣上体中の精子数が、vehicle 群と比較して有意に低値を示した (図 1)。精巣精子数は有意な変化が認められなかった。

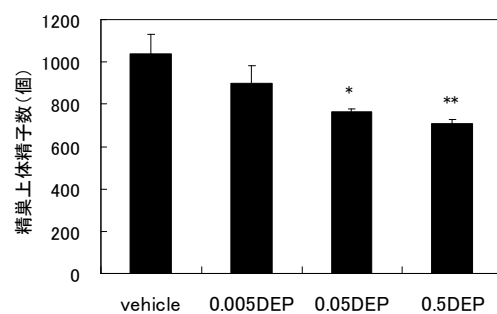


図 1. 精巣上体中の精子数における DEP の毒性影響

平均±標準誤差で表示。vehicle には溶媒を気管内投与した。0.005DEP、0.05DEP および 0.5DEP はそれぞれ 0.005 mg/ml、0.05 mg/ml および 0.5 mg/ml の DEP 懸濁液を気管内投与した。*および**は vehicle に対してそれぞれ $P < 0.05$ および $P < 0.01$ であった。

べてを DEP と仮定した場合、0.05mg/ml DEP 投与群のマウスは、日本の大気環境基準の100倍汚染された環境下で育成しているのと同じ量の DEP を呼吸器から取り込んでいることになる。この環境条件は、急発症している東アジア諸国において日常的であると考えられ、なおかつ現在の日本でも起こりえる。本実験は、このような大気環境で生活することで精子の減少が引き起こることを示唆している。

現在、他の精子産生能の指標や性腺ホルモンを調べて、DEP による毒性発現の詳細な解析を行っている。

(2) ケルセチンが DEP による AhR 活性化を軽減する分子機構の解明

各群の飼料摂取量、解剖時体重、摘出した臓器重量および一日精子生産量は有意差が認められなかった。DEP 群と DEP+Q1% 群の血中テストステロン濃度は、vehicle 群のそれと比較してそれぞれ有意に低値を示した (図 2)。

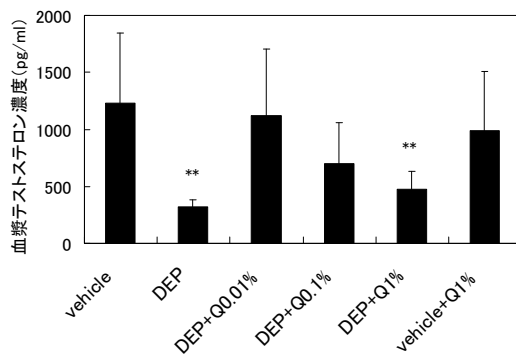


図 2. 血漿テストステロン濃度における DEP の毒性影響とケルセチンの毒性軽減効果

平均±標準誤差で表示。vehicle 群および vehicle+Q1% 群には溶媒を気管内投与した。DEP 群、DEP+Q0.01% 群、DEP+Q0.1% 群および DEP+Q1% 群には 0.5 mg/ml の DEP 懸濁液を気管内投与した。DEP+Q0.01% 群および DEP+Q0.1% 群にはそれぞれ 0.01% と 0.1% のケルセチンが含有している飼料を摂取させた。DEP+Q1% 群および vehicle+Q1% 群には 1% のケルセチンが含有している飼料を摂取させた。**は vehicle に対して <0.01 であった。

Vehicle+Q1% 群の血中テストステロン濃度は、Vehicle 群と比較して有意な差が見られなかったことから、ケルセチン自体には毒性が無いことが示唆された。DEP+Q0.01% 群および DEP+Q0.1% 群の血中テストステロン濃度は、有意な差が見られなかったことから、DEP は血中テストステロン濃度に影響を及ぼすが、低濃度のケルセチンがその毒性を軽減させていることが示された。加えて、高濃度のケルセチンでは DEP の毒性を軽減できないことが示された。

現在、他の精子産生能の指標や性腺ホルモンを調べて、DEP による毒性発現およびケルセチンによる毒性軽減効果の詳細な解析を行っている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- (1) 森永八江、駒田亜衣、齋藤長徳、嵯峨井勝、佐藤伸、井澤弘美、藤田修三、地域住民の健康指標に及ぼす健康教育プログラム実施の影響、*Health Sciences*、査読あり、25(2)、2009、102-112
- (2) 齋藤三季、井澤弘美、戸羽隆宏、柴田浩夫、長田恭一、りんご枝おが屑を利用した鹿角霊芝の脂質代謝調節作用、*日本食品科学工学会誌*、査読あり、56(2)、2009、79-84

[学会発表] (計 4 件)

- (1) 井澤弘美、ディーゼル排気微粒子の経気道投与による生殖毒性発現の分子機構と食品成分による改善、第 81 回日本衛生学会学術総会 生体応答連携研究会、2011 年 3 月、東京
- (2) 山本春江、杉山克己、勘林秀行、佐藤伸、千葉敦子、井澤弘美、廣森直子、グループワークを促進する教育方法の検討—保健医療福祉系大学 1 年前期における課題達成演習の学習効果—、第 69 回日本公衆衛生学会総会、2010 年 10 月、東京
- (3) 山田真司、駒田亜衣、森永八江、佐藤伸、井澤弘美、嵯峨井勝、健康指標と生活習慣病との関連について—北東北 Q 市のデータから—、第 37 回日本行動計量学会、2009 年 8 月、大分
- (4) 山田真司、駒田亜衣、森永八江、佐藤伸、井澤弘美、嵯峨井勝、健康指数の各質問項目に対する荷重についての検討、第 68 回日本公衆衛生学会総会、2009 年 10 月、奈良

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井澤 弘美 (IZAWA HIROMI)

青森県立保健大学・健康科学部・講師

研究者番号：20315534