

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月10日現在

機関番号：34428

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011年度～2012年度

課題番号：23790278

研究課題名（和文） 性ホルモンモニタリングを基礎とした現実のPOPs汚染レベルにおける環境医学的研究

研究課題名（英文） Research of environmental medicine of POPs basis on the steroid sex hormones monitoring

研究代表者

中尾 晃幸（Nakao Teruyuki）

摂南大学・薬学部・講師

研究者番号：20288971

研究成果の概要（和文）：

残留性有機汚染物質（POPs）による性ホルモンかく乱作用の実態をガスクロマトグラフ・質量分析計を駆使したりアルタイムモニターすることで成功した。その内容は、試験動物の血中ステロイドホルモン（17種；アンドロゲン4種、エストロゲン3種、プロゲステロン3種及びその代謝物7種）を検出下限値0.1 pgでモニタリングすることで、生体の微弱なシグナルを高感度に確認することが可能とした。POPsによる内分泌かく乱作用を、血中性ホルモン濃度の測定により明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

I succeeded in monitoring the variation of the sex steroid sex hormones by POPs using GC/MS. It was possible to detect on the high sensitivity in the biological week signals. The detection limited of the sex steroid hormones (17 kinds of androgens, estrogens and progestins) in serum are 0.1 pg/ml. It revealed that POPs indicated the endocrine disruption.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：環境生理学

1. 研究開始当初の背景

ダイオキシン類を含めた残留性有機汚染物質（POPs）に急性かつ大量の曝露があった場合の毒性影響については過去より多くの研究者によって検討されている。事実、マウスを用いた動物実験、あるいは過去の汚染事故などによる曝露等から報告されている健康影響には、生殖機能、甲状腺機能、免疫機能、中枢神経機能への障害が認められている。しかし、一般の生活環境の中で、主に食事や大気を経由して微量に取り込まれ、蓄積したPOPsによる影響は未だ不明な点が多い。POPsはアルドリン、ディルドリン、エンドリン、クロルデン、ヘプタクロル、ヘキサク

ロロベンゼン、マイレックス、PCB、トキサフェン、DDT、ダイオキシン類（PCDDsおよびPCDFs）、テトラブロモジフェニルエーテル及びペンタブロモジフェニルエーテル、ペンタクロロベンゼン、クロルデコン、ヘキサブロモジフェニル、リンデン（ γ -HCH）、 α -ヘキサクロロシクロヘキサン（ α -HCH）、 β -ヘキサクロロシクロヘキサン（ β -HCH）、ヘキサブロモジフェニルエーテル及びヘプタブロモジフェニルエーテル、パーフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）とその塩、及びパーフルオロオクタンスルホン酸フルオリド（PFOSF）の計21種類をいい、これら化学物質による食品汚染レベルでの生体影響、特

に性ホルモンかく乱作用の検討については皆無に等しい。

2. 研究の目的

POPs による食品汚染実態を明らかにすること及び現実の食事での POPs の摂取レベルにおける健康への環境医学的な影響を動物試験において検討することを目的とする。具体的には高分解能ガスクロマトグラフ・質量分析計 (HRGC-HRMS) を駆使し、食品中に含まれる POPs 汚染濃度を明らかにし、POPs 摂取量を推定する。次に、実験動物に現実の食品汚染濃度においてどのような作用を示すのか、ここでは生殖毒性に関連する項目を中心に性ホルモンとその代謝物をモニタリングすることによって内分泌攪乱作用を解明する。

3. 研究の方法

食品中の POPs 汚染濃度を調査するために、トータルダイエツトスタディーを採用し実施する。調査方法としては、HRGC-HRMS を駆使し、アイソトープ希釈法によりピコグラムオーダーでの高感度分析を行い、食事による摂取量を推定する。この知見を基礎として、動物を用いた内分泌攪乱に関する生体影響について検討を行う。この動物実験では、研究代表者が既に開発した HRGC-HRMS によるプロゲステロン、エストロゲン、アンドロゲンの他、それら中間代謝物を含めた全 17 種の性ホルモンの一斉モニタリング法を採用し、各 POPs による内分泌への微少な変動を機器分析的手法により解明、評価する。また、形態学的観察手法による毒性影響評価のアプローチも行い、剖検により精子検査 (精子数、精子運動能、精子奇形等) や各臓器に発現された酵素の活性についても検討を加える。

4. 研究成果

食品中の POPs 汚染濃度を明らかにするため、トータルダイエツトスタディーにより食品の分析を行った。大阪府および京都府のスーパーマーケットから調査に使用する食品を購入した。その内容は、高脂肪含有食品を中心としたものであり、肉類、魚介類、油脂類、乳類 (チーズ、牛乳)、野菜類、いも類である。今回、調査した食品群の中で、高濃度に検出されたのは肉類と魚介類であり、肉類の中で最も高濃度であったのがクジラ肉 (Total POPs 濃度として 9600 pg/g 湿重量) であった。次に、高濃度であった牛肉は、1500~1800 pg/g 湿重量と豚や鶏肉と比較すると約 6~18 倍高濃度であった。一方、野菜類やいも類の汚染濃度は 18~170 pg/g 湿重量と低濃度であった。これらの結果より、各食品群の POPs による汚染実態が部分的に解明さ

れた。

次に、POPs の内分泌攪乱作用の影響評価を行った。C57BL/6 マウスに各 POPs (2,3,7,8-TCDD、マイレックス、リンデン、クロルデン、ヘプタクロール、ヘキサクロベンゼン、ペンタクロロベンゼン、DDT、PFOS、クロルデコン、アルドリソ、ディルドリン、エンドリン) を経口投与し、2 日後の間薬物代謝酵素誘導能と精子数観察を行った。その結果、CYP1A を基質とする EROD 活性が 2,3,7,8-TCDD 投与群でコントロールマウスに比べて 20 倍上昇した。さらに、CYP2B の BROD 活性ではマイレックスが 2,3,7,8-TCDD よりも強く酵素誘導を引き起こすことが明らかとなった。一方、精子数観察では HxCBz とクロルデコンを除くほとんどの POPs で精子数現象が確認され、精子形成に影響を与えることが明らかとなった。

性ホルモンのモニタリングでは、POPs を急性に曝露させた雄性 C57BL/6 マウス (8 週齢) の血中 17 種の性ホルモン (アンドロゲン 4 種、エストロゲン 3 種、プロゲステロン 3 種) 及びその代謝物 (7 種) により行った。2,3,7,8-TCDD、マイレックス (Mirex)、ペンタクロロベンゼン (PeCBz)、パーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) は、コントロール群と比較して血中性ホルモン濃度の変動が顕著であった。性ホルモンの合成は、コレステロールを原料としてプロゲステロン→アンドロゲン→エストロゲンが主な経路である。この合成過程の生成比をコントロールと比較したところ、TCDD、PeCBz 及び PFOS はアンドロゲン/プロゲステロン比が 0.2~0.6 とプロゲステロンからのアンドロゲン合成が減少していることが判明した。しかし、アンドロゲン代謝物/アンドロステンジオン比を確認したところ、大きく増加していたことより、アンドロゲンの合成量が見かけ上、減少しているが、さらに下流のアンドロゲン代謝物への代謝が亢進していることが明らかとなった。デヒドロテストステロン比は顕著に減少していることや、エストロゲンへの生成比が増加していることから、これら POPs による雄の雌性化現象が示唆される結果となった。

研究期間を通じて、食品中に含まれる POPs の汚染濃度が解明された。現実の汚染レベルにおける動物への影響を評価したところ、食品汚染レベルでは顕著な内分泌攪乱作用が確認されなかったものの、高汚染レベルでの曝露の場合、動物実験において、内分泌攪乱作用を示した。この研究成果は、POPs の内分泌攪乱作用をリアルタイム的にモニタリングすることで攪乱メカニズムの解明への基礎的知見になると考えられる。また、現代社会において未解明な内分泌疾患と化学物質との因果関係を解明する一手段とし

て重要な手法であると判断した。

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0件)

[学会発表] (計38件)

- (1) 中尾晃幸、乳幼児食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明とその健康影響評価、第20回日本環境化学会、2011.7.17、熊本県立大学
- (2) 中尾晃幸、臭素系難燃剤TBBPAのペルオキシソーム増殖剤応答性受容体を介した生体影響、第20回日本環境化学会、2011.7.17、熊本県立大学
- (3) 中尾晃幸、高脂肪食含有食品中の塩素化、臭素化および塩素・臭素化ダイオキシン類による汚染実態の究明、第20回日本環境化学会、2011.7.17、熊本県立大学
- (4) 中尾晃幸、市販食品中の17種のPOPsによる汚染実態の解明、第20回日本環境化学会、2011.7.17、熊本県立大学
- (5) 中尾晃幸、種々のプラスチック製品含有化学物質が有するヒトのペルオキシソーム増殖剤応答性受容体活性、第20回日本環境化学会、2011.7.16、熊本県立大学
- (6) Teruyuki Nakao, Contamination levels of seventeen kinds of POPs in Japanese market foods, 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2011.8.22, Belgium
- (7) Teruyuki Nakao, Health assessment of tetrabromobisphenol A as brominated flame retardants through peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2011.8.22, Belgium
- (8) Teruyuki Nakao, Comparison of in vitro and in vivo cytochrome P450-1A activities induced by structural difference of TXDDs and DL-PXBs, 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2011.8.22, Belgium
- (9) 中尾晃幸、高脂肪食含有食品中の残留性有機汚染物質 (POPs) による汚染実態、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、2011.10.22、神戸学院大学
- (10) 中尾晃幸、置換臭素数が異なるビスフェノール系化合物が示すPPAR活性、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、2011.10.22、神戸学院大学
- (11) 中尾晃幸、臭素系難燃剤TBBPAの糖・脂質代謝系への毒性影響、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、2011.10.22、神戸学院大学
- (12) 中尾晃幸、ダイオキシン類が有する免疫攪乱作用の検討—70日間連続投与ダイオキシン類による抗原特異的な抗体産生変動—、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (13) 中尾晃幸、脂肪細胞に対するTBBPAが有する恒常性攪乱作用の解明、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (14) 中尾晃幸、乳幼児食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明及びその健康影響評価 (第2報)、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (15) 中尾晃幸、幹細胞を用いた環境汚染物質の健康影響評価システムの開発—第1報、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (16) 中尾晃幸、Dextran透過を指標としたTCDDとB(a)Pによる生体膜破綻作用、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民

- 文化会館
- (17) 中尾晃幸、臭素化ビスフェノールA蓄積性と核内受容体PPAR活性との相関性、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (18) 中尾晃幸、臭素系難燃剤TBBPAによる肝脂質代謝異常に関する検討、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (19) 中尾晃幸、TBBPAの妊娠期・授乳期曝露による仔マウスの生体影響、第21回環境化学討論会、2012.7.12、愛媛県県民文化会館
- (20) Teruyuki Nakao, Damaging effect of tight junctions as barrier function in Caco-2 cells indicated by dioxins and their related compounds, 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2012.8.28, Australia
- (21) Teruyuki Nakao, Exposure to tetrabromobisphenol A alters hepatic lipid metabolism in C57BL/6N mice, 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2012.8.28, Australia
- (22) Teruyuki Nakao, Tetrabromobisphenol A regulates mRNA expression involved in adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PPAR γ activation, 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2012.8.28, Australia
- (23) Teruyuki Nakao, Contamination levels and health assessment of tetrabromobisphenol A and its related compounds in infant foods, 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 2012.8.28, Australia
- (24) 中尾晃幸、トランス脂肪酸の健康影響評価—食品中に含まれるトランス脂肪酸の定量及びトランス異性体の分離・精製—、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (25) 中尾晃幸、生体膜破綻能を指標とした環境汚染物質の毒性影響、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (26) 中尾晃幸、TCDDの長期連続投与による抗原特異的な抗体産生の推移、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (27) 中尾晃幸、プラスチック工業製品に含まれる難燃化剤TBBPAによる脂肪細胞分化促進作用、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (28) 中尾晃幸、性ホルモンモニタリングを基礎とした環境汚染物質による内分泌攪乱作用、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (29) 中尾晃幸、高残留性有機環境汚染物質(POPs)による市販食品の汚染実態調査、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (30) 中尾晃幸、難燃剤テトラブロモビスフェノールA連続曝露による肝脂質代謝攪乱機構、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (31) 中尾晃幸、臭素化ビスフェノールAのファミリー化合物が有する脂肪細胞分化作用、第62回日本薬学会近畿支部総会・大会、2012.10.20、武庫川女子大学
- (32) 中尾晃幸、POPs投与マウスが示す18種の性ホルモン・代謝物の変動と毒性影響、第15回環境ホルモン学会、2012.12.18、東京大学
- (33) 中尾晃幸、1~4臭素化ビスフェノールA

が有する脂肪細胞分化作用、第15回環境ホルモン学会、2012.12.18、東京大学

(34) 中尾晃幸、TBBPA連続曝露マウスが示す糖・脂質代謝関連遺伝子の発現変化、第15回環境ホルモン学会、2012.12.18、東京大学

(35) 中尾晃幸、ビスフェノール系化合物による乳幼児用食品の汚染実態、日本薬学会第133年会、2013.3.30、パシフィコ横浜

(36) 中尾晃幸、塩素・臭素化ダイオキシン類の薬物代謝酵素誘導能、日本薬学会第133年会、2013.3.30、パシフィコ横浜

(37) 中尾晃幸、性ホルモンモニタリング法によるPOPs曝露マウスの内分泌かく乱作用、日本薬学会第133年会、2013.3.30、パシフィコ横浜

(38) 中尾晃幸、市販食品中のトランス脂肪酸の定量及びトランス異性体の分離・精製方法の検討、日本薬学会第133年会、2013.3.30、パシフィコ横浜

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.setsunan.ac.jp/~p-shokuh/shokuhin/Welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中尾 晃幸 (Nakao Teruyuki)

摂南大学・薬学部・講師

研究者番号：20288971