

環境汚染物質による性未成熟のインプリンティングと育児破綻の分子機構

Molecular mechanisms underlying the imprinting of sexual immaturity and failure of maternal nursing caused by environmental pollutants

課題番号：24221004

山田 英之 (YAMADA HIDEYUKI)

九州大学・大学院薬学研究院・教授



研究の概要

内分泌かく乱物質の次世代影響につき、周産期（出産前後の短期間）に児の脳下垂体ホルモンが一過性に低下することが障害の起点であり、これによって性特異的形質の未分化・未成熟が固着（インプリンティング）されるとの独自の学説の実証と機構解析に挑む。また、内分泌かく乱物質による育児母の母性能力減退とその機構を解明する。

研究分野：複合新領域：環境学；放射線・化学物質影響科学

キーワード：ダイオキシン、性ステロイド、プロラクチン、性未成熟、育児破綻

1. 研究開始当初の背景

内分泌かく乱物質が生物の生殖に無視できない影響を与える可能性は永年にわたって危惧されてきた。しかし、ホルモン作用の亢進や抑制がどのような機構を通して、障害にどのように直結するかは、多くが未解決のままである。

2. 研究の目的

本研究では、1) 周産期（出産前後の短期間）に児の脳下垂体ホルモンが一過性に低下することが障害の起点であり、これによって性特異的形質の未分化・未成熟が固着（インプリンティング）されるとの独自の学説の実証と機構解析に挑む。一方、最近の我々の研究により、内分泌かく乱物質を与えた妊娠動物から出生した児の死亡や成長遅滞は、母の母性能力や育児能力の低下に起因する可能性が示唆されている。そこで、本研究では、2) 内分泌かく乱物質による育児母の母性能力減退とその機構を解明する。

3. 研究の方法

妊娠後期のラットまたはマウスに最強毒性のダイオキシン（2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDD、多くの場合 1 µg/kg の単回経口投与）を与え、出生直前の胎児、出生児、並びに成熟後の児の健康状況や性成熟等を観察するとともに、検出された障害の機構を明らかにするために性ホルモンとその制御系の遺伝子変動等を解析した。TCDD 以外の内分泌かく乱物質では、妊娠ラットに妊娠時から出産直前まで、被検物質含有水を飲用させ、

胎児の性ホルモンとその制御系に及ぼす影響を観察した。

4. これまでの成果

成果1：妊娠ラットへの TCDD 曝露は、出生前後の一時期（臨界期）に、胎児／新生児の脳下垂体の luteinizing hormone (LH) を抑制することにより、性腺ステロイド合成を低下させることを見い出した。この障害は、児の成長後の交尾不全の原因であることも実証できた。LH が抑制される分子機構も更に追求し、脳下垂体を制御する視床下部のエネルギー生産抑制が結果として脳下垂体の histone deacetylase を誘導し、これによって LH 遺伝子の沈静化が起こるものと推定された。また、これらの機構には aryl hydrocarbon receptor が関与することも明らかにできた。

TCDD 曝露胎児の成長遅滞には胎児／新生児の growth hormone (GH) 低下が寄与することも明らかにできた。この機構としては、GH 産生細胞の分化・増殖が TCDD によって抑制されるためであることを明らかにできた。

成果2：臨界期の一過性の LH 低下が交尾不全を引き起こす要因を解析し、成長後にまで継続する gonadotropin-releasing hormone (GnRH) 低下によって説明できることが判明した。

成果3：内分泌かく乱物質9種について、妊娠後期の単回経口投与方法で調査した結果、TCDD と同様に LH 抑制を介して性腺ステロイド系を障害する物質は無かった。しかし、

フタル酸エステルと bisphenol A は、性腺のステロイド合成律速過程に関わる steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) を抑制した。また、単回投与法では効果を示さなかった CdCl₂ も含有水の継続摂取法では、低濃度の飲用で StAR 抑制を惹起した。このことから、カドミウムのような体内貯留性を示さない物質については、慢性飲水法での解析が有効であることを見出した。**成果 4** : 妊娠ラットへの TCDD 曝露は、児への影響のみならず、出産後の母の prolactin (PRL) を低下させることを発見した。PRL は母の乳汁生産や育児行動誘発に必須なホルモンである。このことと符合して、TCDD 曝露母から出生した児の一部は死亡し、また、成長後にも学習記憶能力等に障害を残すことを明らかにした。更に、TCDD 曝露母から出生した雌児は思春期以降 PRL の低レベル体質に陥り、自身が母となった場合の育児力不足が推定された。

5. 今後の計画

TCDD が胎児/新生児の LH を抑制するのは、AhR 依存的な視床下部エネルギー生産抑制が原因と思われる。具体的にはエネルギー生産の必須因子であるリポ酸が低下するためであることを推定している。しかし、この機構がまだ未解明なので、これの解析を行う。GH の低下については、産生細胞の分化抑制と増殖抑制のどちらの寄与が大きいかを解明する。

LH の一過性低下が成熟後の GnRH 低水準体質を固着させ、これが交尾不全を惹起する。しかし、胎児/新生児期の一過性の LH 低下が、どのような機構で GnRH を抑制するかは未解明なので、これを解明する。

TCDD 以外の内分泌かく乱物質については、前述の通り、慢性投与法によって検出感度が上昇することが判明し、現実の曝露形態にも近いことから、この投与法に切り替えて再解析を行う。

妊娠期の TCDD 曝露により育児母の PRL が抑制される機構はまだ分からない。脳視床下部のメタボロミクス解析から、PRL 生産促進因子のプレグネノロンやエストロゲン低下が機構として浮上しているため、この役割等を糸口として解析を行う予定である。また、雌児の低 PRL 体質が育児行動減退に直結するか否かは重要な課題なので解析する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Taura, J., Takeda, T., Fujii, M., Hattori, Y., Ishii, Y., Kuroki, H., Tsukimori, K., Uchi, H., Furue, M., and Yamada, H., 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 281: 48-57 (2014).

Takeda, T., Taura, J., Hattori, Y., Ishii, Y., and Yamada, H., Dioxin-induced retardation of development through a reduction in the expression of pituitary hormones and possible involvement of an aryl hydrocarbon receptor in this defect: a comparative study using two strains of mice with different sensitivities to dioxin.

Toxicol. Appl. Pharmacol., 278: 220-229 (2014).

Hattori, Y., Takeda, T., Fujii, M., Taura, J., Ishii, Y., and Yamada, H., Dioxin-induced fetal growth retardation: the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid.

Endocrine, 47: 572-580 (2014).

Takeda, T., Fujii, M., Hattori, Y., Yamamoto, M., Shimazoe, T., Ishii, Y., Himeno, M., and Yamada, H., Maternal exposure to dioxin imprints sexual immaturity of the pups through fixing the status of the reduced expression of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone.

Mol. Pharmacol., 85: 74-82 (2014).

武田知起, 服部友紀子, 藤井美彩紀, 田浦順樹, 石井祐次, 山田英之, ダイオキシン母体曝露による胎児副腎ステロイド合成系への影響と性差。

福岡医誌, 104: 143-151 (2013).

Koga, T., Ishida, T., Takeda, T., Ishii, Y., Uchi, H., Tsukimori, K., Yamamoto, M., Himeno, M., Furue, M., and Yamada, H., Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with α -lipoic acid.

PLoS ONE, 7: e40322 (2012).

Takeda, T., Fujii, M., Taura, J., Ishii, Y., and Yamada, H., Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases: a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin.

J. Biol. Chem., 287: 18440-18450 (2012).

ホームページ等

九州大学大学院 薬学研究院 分子衛生薬学分野ホームページ (和英)

URL: <http://eisei.phar.kyushu-u.ac.jp>

日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究課題の最前線 2012年度 (和文)

URL: http://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/30_front/data/h24/h24_j16.pdf

日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術研究課題の最前線 2012年度 (英文)

URL: http://www.jsps.go.jp/english/e-grants/12_frontline/2012/2012_e14.pdf