

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710069

研究課題名(和文) 臭素系難燃剤が精子の量と質の低下を引き起こす分子機構の解析

研究課題名(英文) Evaluation of the mechanism for low sperm number and quality by decabrominated diphenyl ether

研究代表者

宮宗 秀伸 (MIYASO, Hidenobu)

千葉大学・予防医学センター・特任助教

研究者番号：80422252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：代表者はこれまでに、代表的な臭素系難燃剤の一つであるデカブロモジフェニルエーテル(DecaBDE)への曝露が、マウスにおいて精子数を減少させることを明らかにしてきた。本研究ではDecaBDE曝露が引き起こす精子数減少の分子メカニズムの解析を行った。本研究課題によって、新生児期マウスへのDecaBDE曝露は、1) 血中テストステロン濃度の減少、2) 精巣におけるアンドロゲン受容体や甲状腺ホルモン受容体の減少を引き起こし、さらに3) 甲状腺ホルモンのスプライシング産物の比率に影響をおよぼすことが明らかとなった。これらの結果は、DecaBDEが精子数減少を引き起こす分子機構の一端を明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Principal investigator have clarified that exposure to decabrominated diphenyl ether (decaBDE) cause decreased sperm number in mice. In this study, principal investigator evaluated about the detailed mechanism for such toxicity. Results showed that neonatal exposure to decaBDE causes 1) decreased testosterone level in sera, 2) decreased transcript levels of androgen receptor and thyroid hormone receptor in testes. In addition, data in this study showed that 3) decaBDE affects the ratio of splicing products of thyroid hormone receptors in Sertoli cells. Such data elucidated one of the mechanisms to cause male reproductive toxicity by exposure to decaBDE.

研究分野：発生学 環境医学

キーワード：臭素化系難燃剤 内分泌かく乱物質 雄性生殖 精子形成障害 選択的スプラインシング

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、代表的な臭素系難燃剤である **Deca-brominated diphenyl ether (Deca-BDE)** のヒトへの健康影響が示唆されている。難燃剤とは、工業製品等に耐可燃性を持たせるものであり、世界中で使用されており、生活環境中の様々な物質に含まれている。最近、ヒトは生活環境中から Deca-BDE の曝露を受けており、血液試料中にも Deca-BDE が検出されること、特にそれらは胎盤および臍帯からも検出されることが明らかになった (Kawashiro Y et al. Endocr J. 2008)。一連の報告によると、Deca-BDE は甲状腺ホルモンに構造が類似しており、生体内の甲状腺ホルモンのかく乱作用を有することが報告されている。動物実験では、妊娠中のマウスに投与した Deca-BDE が、胎盤を通じて胎児に移行することや、胎児期、新生児期における Deca-BDE への曝露が、思春期以降に主に神経毒性や行動異常を引き起こすことが示された。これらの結果は、ヒトが胎児期、乳幼児期において Deca-BDE に曝露されており、そのことが種々の疾患の発症と関連している可能性を示唆している。

(2) 近年、先進諸国において **不妊症** 患者の数が増加しており、我が国においても 10 組中 1 組のカップルは不妊症であると推測されている。男性不妊症の原因の一つとして、個体の発生過程において環境ホルモンを始めとする環境化学物質へ曝露することにより、雄性生殖系に影響をおよぼすことが分かってきた。最近研究代表者は、新生児期のマウスに対する Deca-BDE の投与が、思春期以降、精巣および精巣上体の重量減少を引き起こすこと、同時に精巣や精巣上体における **精子数が減少** することを確認した。このよう

に研究代表者は、Deca-BDE が精子形成障害を引き起こすことと、またその作用機序の一端を明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本課題では、Deca-BDE と雄性不妊との関連性をさらに調査するため、Deca-BDE 曝露が引き起こす精子数減少の作用機序について詳細に解析し、雄性生殖の妊孕性低下を予防する一助とする。

3. 研究の方法

Deca-BDE 曝露マウスの作成

新生児期 ICR マウスに対して、Deca-BDE を 0.25 mg/kg body weight で皮下注射によって投与し、12 週齢において雄性生殖系を評価した場合、先述のような障害が生じる。このような曝露マウスを用いて以下の解析を行う。

(1) 精巣における精子形成障害誘発機構の解析

精巣における精子数減少を誘発する原因の一つとして、精巣内特殊接合装置 (**Apical ectoplasmic specialization, Apical ES**) の機能障害が予測される。研究代表者は Deca-BDE 曝露マウスにおいて、Apical ES の障害においてリン酸化レベルが亢進するコートアクチン (CTTN) タンパクの活性化を確認している (図 1)。CTTN のリン酸化は、上流の Src kinase のリン酸化シグナルによるものと予測される (Anahara et al. Reprod Toxicol. 2008)。ES は Src によるリン酸化シグナルカスケードによって制御されることが報告されており、Src シグナル系の詳細な解析は、ES の障害が引き起こされる分子メカニズム同定のために重要である。ここでは Deca-BDE による、Src

リン酸化シグナル伝達系の活性化状態の調査を行う。

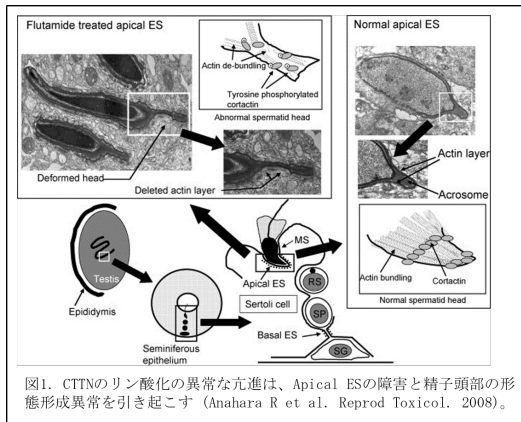


図1. CTTNのリン酸化の異常な亢進は、Apical ESの障害と精子頭部の形態形成異常を引き起こす (Anahara R et al. Reprod Toxicol. 2008)。

(2) Deca-BDE 曝露による、血中ホルモンかく乱作用とについての解析

Apical ES は内分泌かく乱化学物質によるホルモンかく乱によって障害されることが報告されている。一方で、Deca-BDE は構造が甲状腺ホルモンに類似していることから、Deca-BDE 曝露が甲状腺ホルモンを始めとする各種ホルモンのかく乱を生じ、ES を障害する可能性が示唆される。ここでは、かく乱が予測される**甲状腺ホルモン** (T3、T4) について、**血中濃度**とその**レセプター**の発現量測定を行う。

一方で、血中テストステロン濃度の低下は雄性生殖器系の障害と相関することが明らかになっている。このことから、テストステロンなど、精巣機能の制御に特に重要とされる**性ホルモン**と**レセプター**についても評価を行う。

これらによって、Deca-BDE 曝露による内分泌かく乱を評価する。

4. 研究成果

(1) 精巣における精子形成障害誘発機構の解析

本項目における研究代表者のデータは、decaBDE への曝露が、精巣における CTTN、SRC、ERK p44/42 のリン酸化レベルに異

常を引き起こすことを明らかにした。この結果によって、deca-BDE 曝露は Apical ES における Src リン酸化シグナル伝達系に障害を引き起こし、結果として ES の機能障害を引き起こすことが示唆された。

(2) Deca-BDE 曝露による、血中ホルモンかく乱作用についての解析

研究代表者のデータは、新生児期 Deca-BDE 曝露が甲状腺ホルモン T3、T4 血中濃度に有意な影響を生じないことを示した。しかしながら、高濃度域の Deca-BDE 曝露マウスにおいて、やや T3 および T4 の増加傾向が見られた。一方で、精巣における甲状腺ホルモン受容体の発現レベルについては、低濃度域の曝露において、有意な減少が確認された。

さらに本項目において研究代表者は、Deca-BDE によって、精巣における甲状腺ホルモン受容体のアイソフォームならびにバリエーションの発現レベルが有意に変動することを見出した。すなわち Deca-BDE によって、甲状腺ホルモン受容体 の発現減少と同時に、そのスプライングバリエーションである 1型が有意に減少し、2 においては変化が見られなかった。一方で受容体 では、Deca-BDE によって発現の増加が認められた。

また研究代表者のデータは、Deca-BDE 曝露マウスにおいて、血中テストステロ

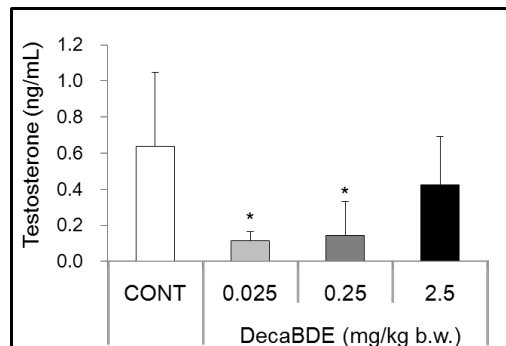
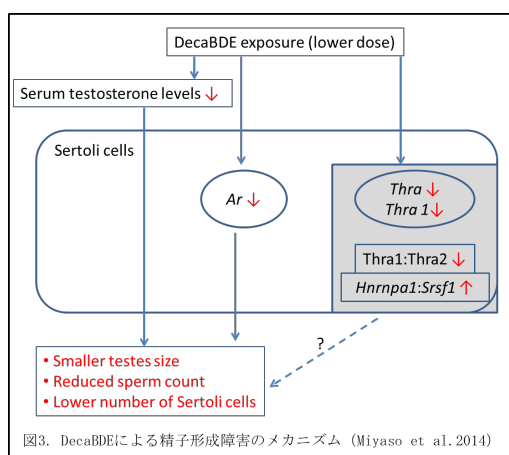


Fig. 2
血中テストステロンはdecaBDE 曝露によって有意に減少した。

ン濃度が有意に減少することを示した
 (図2)。加えて研究代表者は、精巣にお
 けるアンドロゲン受容体の有意な発現減
 少を見出した。興味深いことに、
 Deca-BDE 曝露マウス精巣から単離したセ
 ルトリ細胞においても、ほぼ同様の結果
 が認められた。

これらの結果から研究代表者は、
 Dec-aBDE が精子数減少を引き起こす分子
 機構の一端を明らかとした(図3)。



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 3 件)

Miyaso H, Nakamura N, Naito M, Hirai S, Matsuno Y, Itoh M, Mori C. Early postnatal exposure to a low dose of decabromodiphenyl ether affects expression of androgen and thyroid hormone receptor-alpha and its splicing variants in mouse sertoli cells. PLoS One., 2014 Dec 5;9(12):e114487. doi: 10.1371/journal.pone.0114487. eCollection 2014.
 (査読有)

Nakamoto M, Miyaso H, Komiyama M, Matsuno Y, Mori C. Changes in expression levels of oxidative stress-related genes in mouse epididymides by neonatal exposure to low-dose decabromodiphenyl ether. Reprod Med Biol (2014) 13:127-134 doi 10.1007/s12522-013-0173-x
 (査読有)

Miyaso H, Nakamura N, Matsuno Y, Kawashiro Y, Komiyama M and Mori C. Postnatal exposure to low-dose decabromodiphenyl ether adversely affects mouse testes by increasing tyrosine phosphorylation level of cortactin. J. Toxicol. Sci., 37: 987-999, 2012.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23038006>
 (査読有)

[学会発表](計 10 件)

H. Miyaso, N. Nakamura, Y. Matsuno and C. Mori
 Neonatal exposure to lower dose decabromodiphenyl ether decreases serum testosterone levels in mouse
 54th Society of Toxicology
 San Diego, California, USA. 22 - 26 March 2015

H. Miyaso, N. Nakamura, Y. Matsuno and C. Mori
 Effect of neonatal exposure to decabromodiphenyl ether on transcript levels of thyroid hormone receptor and androgen receptor in mouse Sertoli

cells

53th Society of Toxicology

Phoenix, Arizona, USA. 23 - 27 March

2014

H. Miyaso, N. Nakamura, Y. Matsuno, M.

Komiyama, and C. Mori

Effect of neonatal exposure to decabromodiphenyl ether on transcript levels of splicing factors in mouse testes

52th Society of Toxicology

San Antonio, Texas, USA. 10 - 14 March

2013

M. Nakamoto, H. Miyaso, M. Komiyama, Y.

Matusno, C. Mori

CHANGES OF EXPRESSION LEVELS OF OXIDATIVE STRESS-RELATED GENES IN MOUSE EPIDIDYMIDES BY NEONATAL EXPOSURE TO LOW-DOSE DECABROMODIPHENYL ETHER

52th Society of Toxicology

San Antonio, Texas, USA. 10 - 14 March

2013

H. Miyaso, N. Nakamura, Y. Matsuno, Y.

Kawashiro, M. Nakamoto, M. Komiyama

and C. Mori

Effect of neonatal exposure to decabromodiphenyl ether on serum thyroid hormone levels and thyroid hormone receptor alpha transcript level in mouse testes

15th International Congress on

Hormonal Steroids and Hormones & Cancer

「石川県立音楽堂(石川県金沢市)」. 15 -

17 November 2012

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

宮宗 秀伸 (MIYASO Hidenobu)

千葉大学 予防医学センター 特任助教

研究者番号 : 80422252