

平成30年6月8日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04780

研究課題名(和文) 学童のアトピー性皮膚炎発症へのFLG遺伝子変異と環境化学物質曝露による影響解明

研究課題名(英文) FLG variance and environmental chemical exposure to atopic dermatitis among school children

研究代表者

荒木 敦子 (Atsuko, Araki)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・准教授

研究者番号：00619885

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：FLG変異の有無と環境化学物質曝露によるアレルギー発症や酸化ストレスマーカー8-OHdGへの影響を検討した。FLG変異保有割合は、アレルギーのケース群と対照群で統計学的有意差は認めなかった。ダスト中DINP濃度が高いと湿疹のオッズ比が上昇、特にFLG変異のない群で認められた。8OH-dGによるフタル酸エステル類曝露とアレルギーの介在効果は認められなかった。ヒトマクロファージ様細胞株にDEHPとMEHPを曝露し、マイクロアレイ網羅的遺伝子発現解析では、MEHP曝露がTLR4やIL2などの免疫応答に関わる受容体の遺伝子発現上昇が認められ、MEHPと核内受容体PPAR $\alpha$ との親和性が認められた。

研究成果の概要(英文)：Association between environmental chemicals exposure on asthma and allergies and oxidative stress marker, 8-OHdG, and existence of FLG mutation were examined among 7 years old children. There was no difference on proportion of with or without FLG mutation between allergic cases and controls. When DINP levels in dust was higher, the risk of eczema increased, only those without FLG mutation. There was no significant association between FLG mutation, environmental chemicals and asthma and allergies, and 8-OHdG did not show any modifier effect on exposure and allergies. Studies of in vitro and in silico of DEHP and its 6 metabolites activation on PPAR $\alpha$  / and PXR showed that DEHP and its metabolites have activities that differ from those of the parent compound. The results obtained from the microarray analysis suggest that DEHP and MEHP might affect the gene expression of THP-1 cells via PPAR $\alpha$  and PXR.

研究分野：環境疫学

キーワード：環境化学物質 アトピー性皮膚炎 遺伝子 ハウスダスト 酸化ストレスマーカー

### 1. 研究開始当初の背景

近年、喘息やアトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患の増加が世界的に問題となっている。臨床的に、アトピー性皮膚炎の病因は、皮膚のバリア機能異常、免疫学的要因、環境、の複合要因が関与しているとされる(清水宏 2011)。のバリア機能については、表皮に発現し、角質の形成と皮膚の保湿に重要な役割を果たすフィラグリンをコードする遺伝子 *FLG* 変異がアトピー性皮膚炎患者の 25-50%にみられ(Irvine ら 2006)、皮膚バリア機能の破綻に伴う慢性抗原刺激がアトピー性皮膚炎の発症に極めて重要であることが明らかになった。*FLG* 変異による皮膚のバリア機能障害があると、容易にアレルゲンを角質層に取り込むことで感作が成立しやすく、アトピー性皮膚炎が発症すると考えられる(秋山 2010)。

一方、の環境要因については、様々な要因の一つにフタル酸エステル類やリン酸トリエステル類がある。フタル酸エステル類はポリ塩化ビニルやプラスチックの可塑剤として、リン酸トリエステル類は難燃性可塑剤として製品に含まれる。揮発性が低いため住宅室内ではダストに吸着して存在する。室内ダスト中のフタル酸エステル類濃度やリン酸トリエステル類が高いと子どもの喘息やアトピー性皮膚炎のリスクを上げ、その影響は大人よりも子どもで大きいことを、我々は既に報告している(Ait Bamai ら 2014; Araki et al., 2014)。さらに、フタル酸エステル類と酸化ストレスマーカーとの正の相関により炎症反応が生じている可能性が示唆されている(Ferguson ら 2012, Kim ら 2014)。

加えて、DEHP は体内でいくつかの代謝物に変化することが知られており、これらの化学物質がヒト血中や尿中から高頻度に検出されている。最近の研究により免疫系細胞には他の臓器組織と同様に、化学物質と結合し遺伝子発現制御を担う核内受容体(化学物質応答性転写因子)が多数存在することが明らかにされた。しかしながら、DEHP やその代謝物の免疫系に及ぼす影響やそのメカニズムは不明である。

### 2. 研究の目的

疫学研究で、学童の *FLG* 変異保有とダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類曝露および酸化ストレスマーカー 8OH-dG への影響を明らかにする。

メカニズムとして、免疫系細胞に存在する核内受容体への DEHP とその代謝物の作用、また、作用を認めた核内受容体と DEHP 関連化合物の相互作用、およびヒトマクロファージ様 THP-1 細胞に対する DEHP 及びその主要代謝物モノ-(2-エチルヘキシル)フタル酸(MEHP)の曝露影響を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1)研究対象者は、平成 13 年にリクルートを

開始し、妊婦 20926 人が登録した「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」大規模コーホートの 7 歳児である。本研究では、平成 26 年 3 月までに 7 歳に達した児 7350 人のうち、臍帯血、妊娠初期調査票、新生児個票、ハウスダスト、尿が揃う対象を抽出した。

児の保存臍帯血から DNA を抽出し、日本人で同定された 11 個の *FLG* 変異 3321delA、S1695X、Q1701X、S2554X、S2889X、S3296X、K4022X、新規変異 X について Sanger 法によるダイレクトシーケンシングを行った。

曝露評価は、収集したダストサンプルから、フタル酸エステル類 6 化合物、リン酸トリエステル類 11 化合物を GC/MS (SIM) にて分析したデータを用いた。検出下限値以下の値は半値を代入し、解析に用いた。また、ダニアレルゲン Der p1 および Der f1 を ELISA 法で測定し、その合計 Der1 を求めた。

酸化ストレスマーカーの測定は、収集した 7 歳児の尿を用いて、New 8-OHdG Check ELISA キット(日本老化研究所)にて測定した。

アレルギーの定義は、7 歳時の International Study on Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) 調査票を用いた。「喘鳴」「鼻結膜炎」「アトピー性皮膚炎」のいずれかのある児(ケース群)と、性と両親のアレルギー既往をマッチングさせたアレルギーのいずれもない対照群の各 221 人を対象とした。検出率が 50%以上の化合物について、 $\log_2$  変換後、アレルギーへのリスクをロジスティック分析で 8-OHdG との関連を重回帰分析で検討した。アレルギーとの関連は自宅の喫煙者の有無(2 値)と幹線道路までの距離( $\leq 50m$  と  $> 50m$  の 2 値)、8-OHdG との関連は児の性と BMI で調整した。

(2)免疫系細胞に存在する核内受容体(12 種類)に DEHP とその代謝物が作用するか否かを *in vitro* レポーター遺伝子アッセイ法により検討した。DEHP とその代謝物: DEHP と MEHP は Sigma Aldrich から購入した。MEHP 酸化代謝物の 60H-MEHP, 50H-MEHP, 50xo-MEHP, 5Cx-MEPP, 2Cx-MMHP はそれぞれ合成して試験に供した。レポーター遺伝子アッセイ法: CHO-K1 あるいは COS-7 細胞に核内受容体(ER $\alpha$ , ER $\beta$ , AR, GR, TR, PXR, LXR, PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$ , PPAR $\gamma$ , RXR, AhR)発現プラスミドとそれらに対応するレポータープラスミドを導入し、DEHP とその代謝物を各 24 時間反応させた後、ルシフェラーゼ酵素活性を測定した。

作用を認めた核内受容体と DEHP 関連化合物の相互作用について *in silico* 分子結合シミュレーションによりドッキングデータを取得し比較解析した。分子結合シミュレーション: 化学物質(3D 構造)と核内受容体(結晶構造)の分子結合解析ソフト AutoDock を用いて、それぞれの結合エネルギー量を算出した。

ヒトマクロファージ様 THP-1 細胞に対する

DEHP 及びその主要代謝物モノ-(2-エチルヘキシル)フタル酸 (MEHP) の曝露影響をマイクロアレイ遺伝子発現解析により調べた。マイクロアレイ解析: THP-1 細胞に DEHP、MEHP (各 30 µM) あるいは 0.1%DMSO を添加し、24 時間培養した。Trizol 試薬を用いて Total RNA を抽出し、さらに mRNA を精製した。約 4 万個の遺伝子を搭載したアジレント社製マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。いくつかの変動遺伝子について、RT-PCR 法を用いて mRNA 発現解析を行った。

#### 4. 研究成果

表 1 に対象者の特徴を示す。性、両親のアレルギー既往はマッチングしており、ケース群、対照群とも女兒が 61.5%、両親のアレルギー既往有りが 131 人 (69.5%) だった。ケース群におけるアレルギーは、喘鳴 106 人 (48.0%)、湿疹 133 人 (60.2%)、鼻結膜炎 81 人 (36.7%) だった。FLG 変異保有者はケース群 18 人 (8.5%)、対照群 15 人 (7.4%) で差はなかった。この他、児の体格に有意差はなかった。コーホート参加時の両親の年齢はケース群の方が若く、両親のアレルギー既往歴もケース群で多かった。湿疹がある児はない児よりも自宅の喫煙者 (ETS) がいる割合が多く、親のアレルギー歴が多かった。FLG 変異の保有は男児よりも女児で多かった。FLG 変異のある児のケースは喘鳴 6 人 (18.2%)、湿疹 12 人 (36.4%)、鼻結膜炎 7 人 (21.2%) だった。変異有の児は無い児よりも母の喘息歴が多かった。自宅の特徴はケース群では自宅が 2 車線以上の幹線道路との距離が 50m 以内の家が多い傾向が見られたが (<sup>2</sup>検定 p = 0.097)、その他の項目には差はなかった。

		Case (n=220)		Control (n=221)		p-value
		n (%)	meantsd, median (Q5-75%)	n (%)	meantsd, median (Q5-75%)	
<b>Child characteristics</b>						
Sex	Boys	85	38.5%	85	38.6%	1.000
	Girls	136	61.5%	135	61.4%	
Height at 7y		119.7	±15.6	120.3	±9.9	0.596
Weight at 7y		23.0	±3.8	23.0	±4.0	0.979
BMI at 7y		15.8	±2.0	15.7	±1.7	0.489
Birth weight (g)		3058.4	±411.7	3049.4	±430.4	0.823
gestational age (week)		38.2	±5.3	37.9	±5.9	0.619
First child	Yes	106.0	48.0%	100.0	45.5%	0.444
Eczema	Yes	133	60.2%	0	0.0%	<0.001
Rhino-conjunctivitis	Yes	81	36.7%	0	0.0%	<0.001
Wheeze	Yes	74	33.5%	0	0.0%	<0.001
Any of FLG mutation	no	194	91.5%	189	92.6%	0.719
	Yes	18	8.5%	15	7.4%	
<b>Parental characteristics</b>						
mother age at entry		30.3	±4.2	31.4	±4.0	0.003
father age at entry		31.3	±7.3	32.8	±6.1	0.019
Parent allergy	No	89	40.5%	89	40.5%	1.000
	Yes	131	69.5%	131	69.5%	
W other allergy	No	130	59.1%	127	57.5%	0.772
	Yes	90	40.9%	94	42.5%	
Father allergy	No	156	70.9%	142	64.3%	0.154
	Yes	64	29.1%	79	35.7%	
W other smoking	no smoker	170	76.9%	182	82.7%	0.275
	quit smoker	23	10.4%	15	6.8%	
	smoker	28	12.7%	23	10.5%	
Smokers at home	no	137	62.0%	146	66.4%	0.372
	yes	84	38.0%	74	33.6%	
Father smoking	no smoker	84	38.5%	107	49.8%	0.062
	quit smoker	34	15.6%	27	12.6%	
	smoker	100	45.9%	81	37.7%	
Household income per year	< 3 million	30	14.0%	24	11.6%	0.321
	3-5 million	75	35.0%	72	34.8%	
	5-8 million	85	39.7%	79	38.2%	
	> 8 million	22	10.3%	32	15.5%	

表 2 に化学物質およびダニアレルゲンのダスト中濃度を示す。最も高濃度検出されたのはフタル酸エステル類 DEHP で中央値 (検出率) はケース群・コントロール群それぞれ

1439.15 µg/g (100%)、1384.14 µg/g (99.5%)、次いで DINP 63.91 µg/g (100%)、DnBP 135.62 µg/g (100%)、114.06 µg/g (100%) だった。リン酸トリエステル類は TBOEP 濃度が最も高く 46.13 µg/g (94.6%)、55.12 µg/g (95.6%) だった。ダニアレルゲン Der1 量は、2.45 mg/g、2.78 mg/g だった。いずれの項目にもケース群と対照群に差はなかった。検出率が 50% 未満の DMP、DEP、DEHA、TMP、TEP、TNBP、TCP、NP-4 はこの後の解析は実施しなかった。

	Case				Control				p-value
	>LOD (%)	25%	50%	75%	>LOD (%)	25%	50%	75%	
DMP	24.4	0.14	0.14	0.14	24.1	0.14	0.14	0.14	0.941
DEP	25.3	0.34	0.34	0.71	21.8	0.34	0.34	0.34	0.415
DnBP	76.9	1.07	3.00	6.27	80.9	1.33	2.91	5.85	0.869
DnBP	95.0	22.41	40.45	94.77	99.5	23.78	42.83	80.73	0.757
BBzP	100.0	0.74	1.52	6.02	95.5	0.83	1.83	5.72	0.478
DEHP	100.0	965.43	1439.15	1980.44	99.5	931.98	1384.14	2009.65	0.950
DINP	100.0	55.31	135.62	238.79	100	55.23	114.06	252.01	0.531
DEHA	45.2	0.37	0.37	9.35	53.6	0.37	0.37	8.24	0.500
TMP	0.9	0.20	0.20	0.20	1.8	0.20	0.20	0.20	0.408
TEP	30.3	0.07	0.07	0.18	30.3	0.07	0.07	0.15	0.383
TPP	83.3	0.23	0.36	0.62	83.3	0.22	0.36	0.54	0.412
TNBP	44.8	0.13	0.13	0.68	44.8	0.13	0.13	0.55	0.330
TCPP	95.0	0.48	0.91	2.20	95	0.47	0.90	2.10	0.910
TCEP	84.2	0.35	0.75	1.98	84.2	0.36	0.74	2.02	0.877
TEHP	71.9	0.09	0.35	0.55	71.9	0.18	0.32	0.54	0.983
TBOEP	94.6	13.64	46.13	176.43	95.6	21.18	55.12	179.49	0.312
TDCIPP	62.4	0.14	0.55	1.69	62.4	0.14	0.43	1.71	0.445
TPHP	59.7	0.26	0.63	0.98	59.7	0.26	0.63	1.09	0.844
TCP	25.3	0.12	0.12	0.24	25.3	0.12	0.12	0.28	0.579
NP4	2.7	0.28	0.28	0.28	2.7	0.28	0.28	0.28	0.526
BHT	95.0	0.88	1.23	1.86	95	0.85	1.30	2.00	0.681
S_421	83.7	0.54	1.59	5.36	83.7	0.44	1.72	5.09	0.889
Der1	99.5	0.90	2.45	7.02	99.5	0.97	2.78	7.70	0.461

表 3 に、曝露とアレルギーとの関連を示す。DINP 濃度が 2 倍になると、湿疹の OR(95%CI) が 1.18(1.01-1.34) だった。また、FLG 変異の有無で層別化すると、FLG 変異のある群で TDCIPP 濃度が 2.7 倍になると、OR(95%CI) が 1.22(1.00-1.48) だった。その他のアレルギーと曝露とに有意な関連は認められなかった。

	いずれかのアレルギー		喘鳴		湿疹		鼻結膜炎					
	OR	95%CI	OR	95%CI	OR	95%CI	OR	95%CI				
DIBP	0.98	0.90	1.06	0.96	0.86	1.07	0.99	0.91	1.09	0.98	0.89	1.09
DnBP	1.00	0.89	1.12	0.99	0.84	1.16	1.05	0.92	1.19	0.97	0.84	1.13
BBzP	0.99	0.91	1.07	0.99	0.89	1.11	0.99	0.90	1.08	1.11*	1.00	1.23
DEHP	1.00	0.85	1.18	1.25	0.95	1.63	1.01	0.84	1.22	1.13	0.89	1.44
DINP	1.02	0.91	1.14	1.02	0.88	1.18	1.18**	1.05	1.34	0.97	0.84	1.11
TPP	1.06	0.90	1.24	0.98	0.79	1.21	1.06	0.89	1.25	0.97	0.79	1.19
TCIP	0.97	0.88	1.08	0.99	0.87	1.14	0.94	0.84	1.06	1.03	0.90	1.17
TCEP	0.98	0.90	1.07	1.01	0.90	1.14	0.97	0.88	1.07	1.04	0.93	1.16
TEHP	1.05	0.88	1.26	1.05	0.88	1.26	0.99	0.85	1.15	0.94	0.78	1.13
TBEP	0.96	0.90	1.03	0.99	0.91	1.08	0.95	0.89	1.02	1.02	0.94	1.11
TDCIPP	1.02	0.94	1.10	1.04	0.95	1.16	1.05	0.96	1.14	0.90	0.81	1.01
TPHP	1.01	0.87	1.18	1.07	0.87	1.33	1.05	0.88	1.24	1.02	0.84	1.25
BHT	1.02	0.86	1.22	0.98	0.78	1.23	1.03	0.86	1.25	0.92	0.74	1.15
S_421	1.01	0.94	1.09	0.98	0.89	1.08	0.99	0.92	1.08	1.05	0.95	1.16
Der1	0.99	0.91	1.08	0.99	0.88	1.12	0.98	0.89	1.08	1.03	0.92	1.16

SVOC are log2 transformed, \*p<0.05, \*\*p<0.01  
Adjusted for ETS, distance from main road (2倍)

FLG 変異の有無で層別化したところ、変異のある群で Der1 が 2 倍になると OR=0.41(0.20-0.85) とむしろリスクが有意に下がった。変異がある場合は、幼少時から湿疹などのが多く、症状発症を予防するために自宅環境を清潔に保つなどの対策が既に取られているため、因果の逆転が起こった可能性がある。一方、FLG 変異が無い群では DINP 濃度が 2 倍になると OR=1.25 (1.10-1.42) と湿疹のリスクが増加した。DINP は、過去に実施した戸建て住宅の調査でも、子どもの鼻結膜炎のリスクを上げる関連が見られている (Ait Bamai et al., 2014)。DEHP の代替物質として使用量が増加している可能性が示唆されており (Bizzari et al., 2013)、今

後も健康影響を検討する必要がある。

尿中クレアチニン値で調整した酸化ストレスマーカー8-OHdG 値はケース群、対照群いずれも中央値 8.80 ng/g Cr. で差はなかった。8-OHdG 値は個々のアレルギーとして喘鳴、湿疹、鼻結膜炎、および FLG 変異の有無でも差はなかった。7 歳児の BMI とは負の相関がみられた (Spearman's  $\rho = -0.186, p < 0.001$ )。さらに 8-OHdG と曝露との関連について重回帰分析を行ったところ (表 4)、ケース群では DnBP 濃度と、対照群では TPP と TCEP が、それぞれ 8-OHdG と負の相関を示した。FLG 変異で層別後は、いずれも有意な相関は認められなかった。

	いずれかのアレルギーあり			アレルギーなし				
	B	95%CI	p-value	B	95%CI	p-value		
DiBP	-0.002	-0.023	0.018	0.823	-0.007	-0.029	0.016	0.563
DnBP	<b>-0.029</b>	<b>-0.057</b>	<b>0.000</b>	<b>0.047</b>	-0.006	-0.040	0.028	0.738
BBzP	0.008	-0.013	0.029	0.442	0.011	-0.012	0.033	0.358
DEHP	-0.032	-0.078	0.015	0.183	0.020	-0.022	0.061	0.352
DIINP	0.022	-0.005	0.048	0.109	-0.005	-0.037	0.028	0.779
DEHA	-0.011	-0.028	0.005	0.186	-0.008	-0.028	0.013	0.459
TPP	-0.005	-0.045	0.034	0.797	<b>-0.055</b>	<b>-0.099</b>	<b>-0.012</b>	<b>0.012</b>
TCIP	0.006	-0.021	0.033	0.681	0.002	-0.024	0.028	0.895
TCEP	-0.010	-0.033	0.013	0.384	<b>-0.024</b>	<b>-0.047</b>	<b>-0.001</b>	<b>0.039</b>
TEHP	0.009	-0.024	0.042	0.605	-0.043	-0.083	-0.002	0.040
TBEP	-0.001	-0.017	0.014	0.883	0.003	-0.017	0.022	0.776
TDCPP	-0.006	-0.027	0.014	0.534	-0.005	-0.026	0.016	0.609
TPhP	-0.021	-0.062	0.019	0.304	0.029	-0.012	0.071	0.165
BHT	-0.006	-0.051	0.040	0.800	0.001	-0.045	0.047	0.969
S_421	0.015	-0.004	0.034	0.118	0.010	-0.010	0.030	0.336
Der1	0.011	-0.013	0.036	0.364	0.005	-0.018	0.028	0.655

beta was calculated with log2 transformed 8-OHdG and phthalates, and PFRs.  
Adjusted for children's sex and BMI

本研究では、酸化ストレス反応によって 8OH-dG が上昇することが環境化学物質曝露とアレルギーとの関連において、介在要因になるのではないかと、また FLG 変異によってその影響が異なるのではないかと、という仮説を示すことはできなかった。しかし、FLG 変異保有者の人数が少ないことから、今後サンプルサイズを増やすといった工夫により、さらなる検討が必要と考える。

本研究は横断研究であり因果の逆転が起こる可能性がある事、またダスト中濃度は必ずしも個人の曝露量を反映していない可能性があることが限界である。

レポーター遺伝子アッセイ法を用いて DEHP とその代謝物のヒト核内受容体 12 種類に対する活性を調べたところ、DEHP は ER $\alpha$  及び PXR アゴニスト活性と ER $\beta$  アンタゴニスト活性を示したが、その主要代謝物 MEHP は PPAR $\alpha/\gamma$  及び PXR アゴニスト活性を示した。5 種類の MEHP 酸化代謝物においては PPAR $\alpha$  アゴニスト活性のみが認められた。なお、レポーター遺伝子アッセイ法によるスクリーニング試験の結果、核内受容体 (AR, GR, TR, LXR, PPAR $\beta$ , RXR, AhR) に対する活性は認められなかった。このことから、7 試験物質の PXR 及び PPAR $\alpha$  アゴニスト活性を比較したところ、DEHP が最も強く PXR を活性化し、MEHP は最も強く PPAR $\alpha/\gamma$  を活性化した。しかしながら、5 種類の MEHP 酸化代謝物において

PPAR $\alpha$  アゴニスト活性は MEHP の活性よりも弱く、以下の順位となった (MEHP > 6OH-MEHP > 5Cx-MEPP > 2Cx-MMHP > 50xo-MEHP > 50H-MEHP > DEHP)。さらに、DEHP とその代謝物について PPAR $\alpha$  とのインシリコ分子結合データを解析したところ、MEHP が最も強い親和性を示し、上記レポーターアッセイの結果と良く一致した。in silico 分子結合シミュレーションの結果は、レポーター遺伝子アッセイ法による結果と良く相関し、核内受容体アッセイ法を補完できることを確認した。以上の結果から、DEHP 代謝物の核内受容体活性パターンは DEHP のパターンと異なり、MEHP の核内受容体活性は MEHP 酸化代謝物に比べ強いことが示唆された。このことから、個人的な DEHP 代謝能の違いも間接的に核内受容体応答に影響すると考えられた。

次に DEHP とその主要代謝物 MEHP を THP-1 細胞に曝露し、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。約 4 万個の遺伝子発現を調べた結果、DEHP あるいは MEHP 曝露で上昇あるいは抑制された遺伝子約 800 個をそれぞれ見出した (図 1)。それらの中で、DEHP と MEHP の何れの曝露でも IgE レセプター遺伝子の発現上昇を確認した。また、MEHP 曝露により Toll-like レセプター 4 やインターロイキン 2 レセプターなどの免疫応答に関わる遺伝子の発現上昇が認められた。特に、核内受容体 PPAR $\alpha$  の活性化を介したと考えられる複数の遺伝子が 10 倍以上の発現上昇を示した。両化合物による遺伝子発現はそれぞれ異なるパターンを示しており、核内受容体への作用の違いを反映している可能性が考えられた。

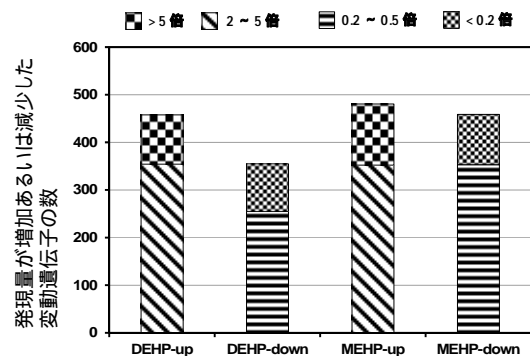


図 1 マイクロアレイ解析による変動遺伝子のスクリーニング

以上の結果から、免疫系細胞が DEHP や MEHP に曝露された場合、遺伝子発現パターンは異なり、この影響は DEHP とその代謝物の核内受容体活性を反映していることが示唆された。さらに、生体における DEHP 代謝能の違いも間接的に免疫系細胞の応答に影響を及ぼし、アレルギー疾患に関連する遺伝子発現に繋がると考えられた。

5. 主な発表論文等  
〔雑誌論文〕(計 24 件)

1. Kono M, (他 2 名), Nomura T, (他 5 人), Shimizu H, (他 3 人). Filaggrin gene mutations may influence the persistence of food allergies in Japanese primary school children. *Br J Dermatol*, in press, 2018. 査読有
  2. Ait Bamai Y, Miyashita C, Araki A, Nakajima T, Sasaki S, Kishi R: Effects of prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on childhood allergies and infectious diseases: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health., *Sci Total Environ*, 618:1408-1415, 2018. 査読有
  3. Kojima H, (他 4 名): A sensitive, rapid and simple DR-EcoScreen bioassay for the determination of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in environmental and food samples. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 25:7101-7112, 2018. 査読有
  4. Araki A, Mitsui T, Goudarzi H, Nakajima T, Miyashita C, (他 6 名), Kishi R. Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and disruption of adrenal androgens and glucocorticoids levels in cord blood: The Hokkaido Study. *Sci Total Environ*, 581-582:297-304, 2017. 査読有
  5. Abe T, (他 11 名), Kojima H, Yoshinari K : Activation of nuclear receptor CAR by an environmental pollutant perfluorooctanoic acid. *Arch. Toxicol.*, 91:2365-2374, 2017. 査読有
  6. Kishi R, Araki A, Minatoya M, Hanaoka T, Miyashita C, (他 8 名); The Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: Cohort profile – updated 2017, *Environ Health Prev Med*, 22:46, 2017. 査読有
  7. Zwart N, Andringa D, de Leeuw WJ, Kojima H, (他 6 名) : Improved androgen specificity of AR-EcoScreen by CRISPR based glucocorticoid receptor knockout. *Toxicology in Vitro*, 45:1-9, 2017. 査読有、
  8. Sekiya A., Kono M, Tsujiuchi H, Kobayashi T, Nomura T, (他 5 名), Shimizu H, Akiyama M. Compound heterozygotes for filaggrin gene mutations do not always show severe atopic dermatitis. *J Euro Acad Dermatol Venereol*. 31:158-162, 2017. 査読有
  9. On HR, Lee SE, Kim SE, Hong WJ, Kim HJ, Nomura T, Suzuki S, Shimizu H, Kim SC. Filaggrin Mutation in Korea patients with Atopic Dermatitis. *Yonsei Med J*, 58:395, 2017. 査読有
  10. Katayama S, Nomura T, (他 7 名), Shimizu H. A severe case of X-linked ichthyosis showing palmar hyperlinearity without FLG mutations. *J Acad Dermatol Venereol*, 31: e119-e120, 2017. 査読有
  11. Kojima H, (他 3 名): Effects of primary metabolites of organophosphate flame retardants on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicol. Lett.*, 245: 31-39, 2016. 査読有
  12. Ait Bamai Y, Araki A, (他 5 名), Kishi R. Exposure to phthalates in house dust and associated allergies in children aged 6-12 years. *Environ Int*, 96:16-23, 2016. 査読有
  13. Mizuno O, Nomura T, (他 9 人), Shimizu H : Loss-of function mutations in the gene encoding filaggrin underlie a Japanese family with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 29:805-808, 2015. 査読有
- 他 11 編
- [学会発表](計 44 件)
1. Kojima H, Okuda K, Uramaru N, Kitamura S, Takeuchi S, Murotomoto R, Sugihara K, Kishi R, Araki A : In vitro and in silico studies on PPAR $\alpha$  and PXR activation by di(2-ethylhexyl) phthalate and its metabolites. ISEE-ISES AC 2018, 2018.6.21-24, Taipei (予定)
  2. 荒木敦子、アイツバマイゆふ、Michiel Bastiaensen、Nele van den Eede、Rahel Ketem Mesfin、伊藤佐智子、宮下ちひろ、Adrian Covaci、岸玲子「尿中リン酸トリエステル類代謝物と児の喘息・アレルギーとの関連 - 札幌市学童調査 -」第 88 回日本衛生学会、東京、(2018.3.22-24)
  3. アイツバマイゆふ、荒木敦子、宮下ちひろ、(他 4 名) 岸玲子; 胎児期の有機フッ素化合物曝露が 7 歳のアレルギーに及ぼす影響 - 北海道スタディ. 第 88 回日本衛生学会学術総会. 東京都, (2018.3.22-24)
  4. Araki A, Ait Bamai Y, Kawai T, Tsuboi T, Miyashita C, Kishi R. Phthalates and organophosphate flame retardants in house dust and their relation to allergies and oxidative stress marker 8-OHdG: the Hokkaido Study: ISES2017 (Research Triangle Park, NC, USA, 15-19 October, 2017)
  5. Kojima H, (他 6 名) : Characterization of the endocrine disruption potential of bisphenol A structural analogues via human nuclear receptors. ISPTS 2017, 2017.9.25, Nagoya
  6. 小島弘幸、武内伸治、室本竜太、岸玲子、荒木敦子 : ヒトマクロファージ様 THP-1 細胞の遺伝子発現に及ぼす DEHP と MEHP の曝露影響、第 24 回日本免疫毒性学会学術年会、十和田市, (2017.9.4)
  7. Bastiaensen M, Van den Eede N, Araki A, Ait Bamai Y, Kishi R, Covaci A. Urinary biomonitoring of organophosphate flame retardants in Japanese children and correlations with house dust concentrations: Dioxin 2017 (Vancouver, Canada: 20-25 August, 2017)
  8. 荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子 ; 「室内環境中のハウスダストによる健康影響」第 87 回日本衛生学会シンポジウム 9、宮崎, (2017.3-26-28.)
  9. Kojima H, (他 4 名) Characterization of

- thyroid hormone receptor and retinoid X receptor activities in 100 hydroxylated polychlorinated biphenyls using CHO-K1 cell-based transactivation assays. The 9th International PCB Workshop, 2016.10.10-12, Kobe
10. 小島弘幸:環境化学物質による核内受容体を介した免疫毒性作用(奨励賞受賞講演) 第23回日本免疫毒性学会、北九州市(2016.9.6-7)
  11. Ait Bamai, Y., Araki A., Sasaki S, Nakajima T, Miyashita C., Kishi R. Prenatal exposure to DEHP and childhood wheeze and atopic dermatitis: The Hokkaido Study on the Environment and Children's Health, ISEE2016., Roma, Italy, (2016.9.1-4)
  12. 小島弘幸:環境化学物質と核内受容体 - Cell-based Assay 法を用いた毒性評価と環境測定 -、第30回薬物作用談話会、2016年7月31日、札幌市
  13. Kojima H., Uramaru N, Kitamura S, Takeuchi S, Kishi R., Araki A.: Comparative study on the in vitro nuclear receptor activities of di-(2-ethylhexyl) phthalate and its five metabolites. ISEE-ISES AC 2016, 2016.6.26-29, Sapporo
  14. Ait Bamai, Y., A. Araki., R. Kishi. Allergic Disease in Relation to Phthalates and Phosphorus Flame Retardants in House Dust and Urine, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
  15. Araki A., Kishi R.: "Symposium-S2-09" Prenatal Di(2-ethylhexyl) phthalate Exposure and Reproductive Hormone in Cord Blood - The Hokkaido Study. ISEE-ISES AC2016 (Sapporo, Japan: 2016年6月25-29日)
  16. アイツバマイゆふ, 荒木敦子, 乃村俊史, 河合俊夫, 坪井樹, 叢石, 宮下ちひろ, 池野多美子, 清水宏, 岸玲子, FLG変異とフタル酸エステル曝露による児のアトピー性皮膚炎への影響:北海道スタディ, 第86回日本衛生学会学術総会, 北海道、旭川, (2016.5.11-13.)
  17. Kojima H.: Endocrine-disrupting potential of environmental chemicals via nuclear receptors. Seminar in NHRI (Taiwan), 2015.11.17., Zhunan
  18. Nomura T.: Comprehensive analysis of long non-coding RNAs in keratinization. The 40<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology、岡山市、(2015.12.11)
  19. Araki A., Ait Bamai Y, Kishi R.: "Symposium-S17" Allergic disease in relation to phthalates in house dust and urine. 27th Annual ISEE Conference (Sao Paulo, Brasil: 2015.8.29 - 9.3)
  20. 吉成浩一、小島弘幸:化学物質による複雑な肝毒性を予測および評価するためのインピトロ・インシリコ統合型システムの開

発、2015年LRI研究報告会、東京都、(2015.8.28)

他20編

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕 出願状況(計 0件)

〔その他〕ホームページ等

北海道大学環境健康科学研究センター:  
www.cehs.hokudai.ac.jp/  
研究成果データベース「環境と健康ひろば」:  
www.cehs.hokudai.ac.jp/hiroba/  
環境と子どもの健康に関する研究:  
www.cehs.hokudai.ac.jp/hokkaidostudy/

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

荒木敦子 (ARAKI, Atsuko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・准教授

研究者番号: 00619885

### (2) 研究分担者

小島弘幸 (KOJIMA, Hiroyuki)

北海道立衛生研究所・生活科学部・部長

研究者番号: 10414286

乃村 俊史 (NOMURA, Toshimui)

北海道大学・医学研究院・講師

研究者番号: 50399911

岸 玲子 (KISHI, Reiko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特別招聘教授

研究者番号: 80112449

宮下 ちひろ (MIYASHITA, Chihiro)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任准教授

研究者番号: 70632389

### (3) 連携研究者

清水 宏 (SHIMIZU, Hiroshi)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号: 00146672

小林 澄貴 (KOBAYASHI, Sumitaka)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任講師

研究者番号: 10733371

湊屋 街子 (MINATOYA, Machiko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任講師

研究者番号: 50733367

### (4) 研究協力者

アイツバマイゆふ (AIT BAMAI, Yu)

伊藤佐智子 (ITO, Sachiko)

武内伸治 (TAKEUCHI, Shinji)

浦丸直人 (URAMARU, Naoto)

奥田勝博 (OKUDA, Katsuhiko)

竹田真衣 (TAKEDA, Mai)

河合俊夫 (KAWAI, Toshio)