

令和元年6月10日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06490

研究課題名(和文)胎児期の環境化学物質曝露が性分化に与える影響と遺伝子多型による修飾

研究課題名(英文) Impacts of prenatal environmental chemical substance exposure on sexual differentiation and its modification by genetic polymorphism

研究代表者

今 雅史 (Kon, Masafumi)

北海道大学・大学病院・医員

研究者番号：40802799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：環境省「子供の健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」3歳時追加調査での、第2・第4指長の比(2D/4D)、性役割行動調査(J-PSAI)において男児と女児の間に有意差を確認し、母体化学物質曝露による層別解析では、2D/4Dと化学物質母体曝露に関して曝露濃度が変化しても2D/4Dに差は認められない事を確認した。

さらに、環境化学物質による性分化への影響を修飾する可能性のあるESR1遺伝子における既報SNPの解析にて、母体MEHP曝露が高く、rs2234693(TC/CC)、rs9340799(AA)、rs2077647(AG/GG)を持つ男児において左手指2D/4Dが女性化を示す結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は胎生期の母体への環境化学物質への曝露が、児への身体や脳の性分化に与える影響について検討すると同時に、環境化学物質による影響が遺伝子多型による修飾によって胎児への発現全集団での母体環境化学物質曝露による胎児への影響は明らかにならなかったが、既報SNPについての解析では母体MEHPとESR1遺伝子上のSNPの存在での女性化傾向を示すことが出来、さらなる網羅的解析の意義もあると確認されたと考える。

研究成果の概要(英文)：This study revealed the significant difference among boys with girls in the ratio of the length of the second finger and 4th finger (2D/4D) and Japanese Pre-school Activities Inventory (J-PSAI) in the additional investigation in "Japan Environment and Children's Study (JECS)". In addition, from the stratified analysis by prenatal environmental chemical substance exposure, there were no difference confirmed relation of prenatal environmental chemical substance exposure and 2D/4D value.

On the other hand, in analysis in polymorphic presence about the known SNPs in the ESR1 gene, which might modify influence to the environmental chemical substance, 2D/4D of left finger got a result indicating the feminization in the boys whose mother's MEHP level was high and had SNPs of rs2234693 (TC/CC), rs9340799(AA), rs2077647 (AG/GG).

研究分野：泌尿器科

キーワード：性分化 性腺機能 胎児期 環境化学物質 遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

胎生期の環境化学物質への曝露が、身体や脳の性分化に与える影響については様々な報告がなされている。また、その影響は一塩基多型などの遺伝子型により化学物質やホルモンへの感受性差などのエピジェネティックな修飾を受けるとの報告が散見されている。諸家の報告では、性分化疾患の表現型である尿道下裂や停留精巣患児において性ホルモン受容体や異物ステロイド代謝酵素遺伝子の一塩基多型がリスク多型として同定され、徐々に性分化と性ホルモン受容体や異物ステロイド代謝酵素遺伝子との関連が明らかになりつつある。しかしながら環境化学物質への曝露とリスクアレルの有無の大規模な検討は見られていない。

北海道大学では環境健康科学研究教育センターが中心となり、全国に先駆けて環境化学物質が次世代に与える影響について明らかにする前向きコホート研究を行い(環境と子どもの健康に関する北海道スタディ; 北海道スタディ) 環境化学物質の影響を明らかにしてきた。また、平成 22 年より環境省「子供の健康と環境に関する調査(エコチル調査)」では、北海道では 8362 人の妊婦を対象として前向き出生コホート調査を展開している。北海道スタディ、エコチル調査を対象として「胎児から小児期にかけての環境化学物質の曝露が子供の健康に大きな影響を与えているのではないかと」という仮説のもと、申請者のグループは環境健康科学研究教育センターと共同で胎児期の環境化学物質曝露が性分化や性腺機能に与える影響とその機序を解明することを目的に研究を行ってきた。(図 1)



図 1

このような研究体制のもと、これまでに環境化学物質の胎児期の曝露は低濃度の一般生活レベルにおいても Leydig 細胞や Sertoli 細胞の機能に影響を与え、臍帯血中のホルモン濃度が低下すること、胎生期の性ホルモンに関連するとされる第 2 指 / 第 4 指比 (2D/4D) と男児における臍帯血中の insulin like factor 3 (INSL3) との負の相関、学童期における性役割行動調査の結果と 2D/4D との関連を示し胎児期の性ホルモンと脳の性分化との関連などを示してきた。

2. 研究の目的

母体が受ける環境化学物質への曝露が胎児のホルモン環境に影響を与えることにより、出生後の様々な側面に影響を与えている可能性が示唆されている。特に胎生期の環境化学物質曝露が性ホルモンを中心としたステロイドホルモンを介して出生後の性腺機能および性分化へ与える影響が懸念される。さらにその影響は、一塩基多型などの遺伝子型による様々な化学物質やホルモンへの感受性差などのエピジェネティックな修飾との関連が推察される。

本研究では、母体の環境化学物質への曝露を評価し、胎児期の環境化学物質曝露が性分化に与える影響を検討すること、さらに環境化学物質による影響が遺伝子多型による修飾によって胎児への発現の差異を出現する可能性について検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

環境省「子供の健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」に参加している対象者のうち、約 1600 組の母児から同意を得て、出生時調査として臍帯血および母体血・母体尿の採取、胎児期の性ホルモンに影響を受けるとされる出生時の肛門性器間距離 (anogenital distance; AGD)、第 2 指・第 4 指の長さの比 (2D/4D)、男児の陰茎長・精巣容積の測定を行った。さらに追跡調査として 3 歳時における児の尿の採取、2D/4D および性役割行動調査 (Japanese-Pre School Activities Inventory: J-PSAI) を行った。

さらに、追加調査の出生時調査のデータが揃いおよび 3 歳時調査の回収が可能であった対象者の妊娠初期の環境化学物質曝露測定を目的に、妊娠初期母体尿の化学物質 (フタル酸エステル類 10 化合物: MEHP/MEHHP/MEOHP/MiBP/MECPP/MBzP/MiNP/cx-MiNP/OH-MiNP、ビスフェノール類 3 化合物: BPA/BPF/BPS) の測定を 105 検体で行った。以前に測定した 514 検体と合わせて、計 619 検体の測定が終了した。

3 歳時調査における、2D/4D および性役割行動調査 (J-PSAI) において、男児と女児の結果に有意差を確認し、さらに環境化学物質の母体曝露により結果に影響を受けるか否かについて層別解析を行った。

さらに、環境化学物質による性分化への影響を修飾する可能性のある性ホルモン受容体遺伝子や異物ステロイド代謝酵素遺伝子の遺伝子多型の解析するため、その対象遺伝子およびその検索範囲について検討を行なっている。全てを網羅する Exome 解析を行うには検体数が多く、さらに先行研究にてイントロン領域の一塩基多型 (SNP) も結果に影響を及ぼす可能性が示唆されたため、対象遺伝子および遺伝子検索範囲について検討を進めている。そのための先行研究として、エストロゲンレセプター-1 (ESR1) 遺伝子における既報 SNP の一部について、多型の有無を解析し、2D/4D および性役割行動調査 (J-PSAI) において、環境化学物質の母体曝露と SNP

による影響を解析した。

#### 4. 研究成果

エコチル調査追跡調査として 3 歳時における尿の採取、2D/4D および性役割行動調査 (Japanese-Pre School Activities Inventory:J-PSAI) を行い、現時点で 986 組より回収が可能であり、回収率は 65.6%であった。

3 歳時調査における、2D/4D および性役割行動調査 (J-PSAI) において、男児と女児の結果に有意差を確認し、さらに環境化学物質の母体暴露により結果が影響を受けるか否かについて解析を進め、2D/4D と化学物質母体暴露に関しての解析が終了し、暴露濃度が変化しても 2D/4D に差は認められない事を確認した。

また、環境化学物質による性分化への影響を修飾する可能性のある性ホルモン受容体遺伝子や異物ステロイド代謝酵素遺伝子の遺伝子多型の解析するため、エストロゲンレセプター1 (ESR1) 遺伝子における既報 SNP の一部について多型の有無を解析した。その結果、MEHP 暴露が高く、かつ rs2234693 (TC/CC)、rs9340799(AA)、rs2077647 (AG/GG) を持つ男児において左手指 2D/4D が女性化を示す結果を得た。本多型の *in silico* 解析および、多型頻度に関する解析は現在施行中である。本結果をふまえ、網羅的な SNP 解析についてその対象遺伝子および検索範囲について引き続き検討を行なっている。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

- 1) Moriya K, Nakamura M, Kon M, Nishimura Y, Kanno Y, Kitta T, Shinohara N. Risk factors affecting post-pubertal high serum follicle-stimulating hormone in patients with hypospadias. *World. J Urol.* Epub ahead of print, 2019 Feb, 査読有, DOI 10.1007/s00345-019-02687-w
- 2) Nishimura Y, Moriya K, Kobayashi S, Araki A, Sata F, Mitsui T, Itoh S, Miyashita C, Cho K, Kon M, Nakamura M, Kitta T, Murai S, Kishi R, Shinohara N. Association between ESR1 polymorphisms and second to fourth digit ratio in school-aged children in the Hokkaido Study. *Steroids.* 141;55-62 2019 Jan, 査読有, DOI 10.1016/j.steroids.2018.11.011
- 3) Igarashi M, Mizuno K, Kon M, Narumi S, Kojima Y, Hayashi Y, Ogata T, Fukami M. GATA4 mutations are uncommon in patients with 46,XY disorders of sex development without heart anomaly. *Asian J Androl.*20; 629-631, 2018 Nov-Dec, 査読有, DOI 10.4103/aja.aja\_20\_18
- 4) Moriya K, Nakamura M, Nishimura Y, Nishida M, Kudo Y, Kanno Y, Kitta T, Kon M, Shinohara N. Impact of Preoperative Ultrasonographic Evaluation for Detection of a Viable Testis in Patients With a Unilateral Nonpalpable Testis. *J Ultrasound Med*,37;1665-1670,2018 Jul, 査読有, DOI 10.1002/jum.14509.
- 5) Miyado M, Muroya K, Katsumi M, Saito K, Kon M, Fukami M. Somatic Acquired Isodicentric Y and Mosaic Loss of Chromosome Y in a Boy with Hypospadias. *Cytogenet Genome Res.* 154; 43-50, 2018, 査読有, DOI 10.1159/000488162
- 6) Nakamura M, Moriya K, Nishimura Y, Nishida M, Kudo Y, Kanno Y, Kitta T, Kon M, Shinohara N. Prevalence and risk factors of testicular microlithiasis in patients with hypospadias: a retrospective study. *BMC Pediatr.*18;179-184, 2018 May, 査読有, DOI 10.1186/s12887-018-1151-6
- 7) Kon M, Mitsui T, Kitta T, Moriya K, Shinohara N, Takeda M, Nonomura K. Impact of posterior urethral diameter/external urethral sphincter diameter as a new tool to predict detrusor pressure in the voiding phase. *Int Urol Nephrol.* 50(2); 211-215, 2018 Feb, 査読有, DOI 10.1007/s11255-017-1770-0.
- 8) Nishimura Y, Moriya K, Nakamura M, Nishida M, Sato M, Kudo Y, Omotehara S, Iwai T, Wakabayashi Y, Kanno Y, Kitta T, Kon M, Shinohara N. Prevalence and Chronological Changes of Testicular Microlithiasis in Isolated Congenital Undescended Testes Operated On at Less Than 3 Years of Age. *Urology.*109;159-164,2017 Nov, 査読有, DOI

10.1016/j.urology.2017.07.035.

- 9) Moriya K, Nakamura M, Nishimura Y, Kanno Y, Kitta T, Kon M, Shinohara N. Prevalence of and risk factors for symptomatic urinary tract infection after endoscopic incision for the treatment of ureterocele in children. BJU Int. 120(3); 409-415, 2017 Sep, 査読有, DOI 10.1111/bju.13884.
- 10) Nishimura Y, Moriya K, Nakamura M, Kitta T, Kanno Y, Chiba H, Kon M, Shinohara N. Laparoscopic ureterocalicostomy for ureteropelvic junction obstruction in a 10-year-old female patient: a case report. BMC Res Notes. 6;10(1)247, 2017 Jul 査読有, DOI 10.1186/s13104-017-2569-x.

〔学会発表〕(計 9 件)

- 1) 今雅史、安部崇重、石川修平、大澤崇宏、松本隆児、菊地央、七戸俊明、村井祥代、篠原信雄、Thiel 法献体における尿管鏡カダバートレーニングの初期経験-ドライボックスとの比較、第 32 回日本泌尿器内視鏡学会総会 2018
- 2) Masafumi Kon, Takashige Abe, Syuhei Ishikawa, Takahiro Osawa, Ryuji Matsumoto, Hiroshi Kikuchi, Toshiaki Shichinohe, Sachiyo Murai, Nobuo Shinohara, Development of ureterorenoscopy simulation training on Thiel-embalmed cadavers. 36th World Congress of Endourology, 2018
- 3) 今雅史、守屋仁彦、西村陽子、中村美智子、篠原信雄、精索捻転をきたした多精巢症の 1 例、第 98 回日本小児外科学会北海道地方会 2018
- 4) 今雅史、堀田記世彦、岩見大基、篠原信雄、移植腎尿管に嵌頓した尿管結石を fTUL にて抽石した一例、第 34 回腎移植・血管外科研究会、2018
- 5) 今雅史、守屋仁彦、樋口まどか、西村陽子、菅野由岐子、中村美智子、橘田岳也、篠原信雄、超音波検査による矮小腎検出において適切なパラメータは何か、第 27 回日本小児泌尿器科学会総会・学術集会、2018
- 6) 今雅史、守屋仁彦、樋口まどか、西村陽子、菅野由岐子、中村美智子、橘田岳也、篠原信雄、超音波検査による矮小腎検出において適切なパラメータは何か、第 404 回日本泌尿器科学会北海道地方会、2018
- 7) 今雅史、堀田記世彦、岩見大基、篠原信雄、移植腎尿管に嵌頓した尿管結石を軟性尿管鏡にて抽石した一例、日本尿路結石症学会第 28 回学術集会、2018
- 8) 今雅史、守屋仁彦、氏橋一紘、樋口まどか、松本隆児、西村陽子、中村美智子、菅野由岐子、橘田岳也、篠原信雄、尿道下裂を合併した Klinefelter syndrome の二例、第 402 回日本泌尿器科学会北海道地方会、2017
- 9) 今雅史、守屋仁彦、氏橋一紘、樋口まどか、松本隆児、西村陽子、中村美智子、菅野由岐子、橘田岳也、篠原信雄、尿道下裂を合併した Klinefelter syndrome の二例、第 82 回日本泌尿器科学会東部総会、2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。