

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 机 直美

ディーゼル排気 (DE) は、国内外で深刻な社会問題となっている大気汚染発生源の一つである。本研究は DE による生体影響として重要視される生殖機能影響および次世代の生後発達に及ぼす影響を多面的に検討したものである。

実験動物として Aryl hydrocarbon receptor (AhR) の機能発現が高いといわれる C57BL/6N 雌マウスを用いた。DE 中の粒子濃度が 0.3、1.0 および 3.0 mg/m³ の 3 群と対照群 (清浄空気のみ) を設け、約 4 ヶ月間にわたって吸入暴露させた。このマウスに対して DE に曝露されていない雄と一週間同居交配させ、妊娠率、妊娠期間中の流産率、営巣行動などを観察した。また、産子については体重および各臓器の変化、生殖器の発達、膈開口日等を調べた。さらに DE に暴露された雌マウスの摘出子宮筋のオキシトシン (OT) 誘発子宮収縮反応を測定した。その結果、母マウスの流産や娩出不全等の繁殖異常は曝露群と対照群との間に有意差は認められなかった。しかし、親の営巣行動は、正常出産雌の 3.0 mgDEP/m³ 群で有意に低下した。また、出生子の体重変化は、成長するにしたがって雌雄ともに高濃度曝露群で有意に減少した。雄子マウスでは生殖突起肛門間距離 (AGD) の有意な短縮、雌子マウスの頭臀長の有意な短縮が示された。一方、雌子マウスの膈開口時期は、0.3 および 1.0 mgDEP/m³ 群で有意に早まった。

ついで、ディーゼル排気微粒子 (DEP) を直接妊娠マウスに皮下投与した際にどのような変化が現れるかについて検討した。その結果、0.006、0.06、0.6、6.0 あるいは 60 mg/mouse の全曝露濃度で有意な流産率の増加が認められた。流産率は高用量投与群よりも低用量投与群に高い傾向がみられた。DEPE 皮下投与群では出生子の体重減少および雌マウスの膈開口時期に対する影響がみられた。また、特に低用量投与群で頭臀長に変化が観察され、雄

の副生殖腺重量の減少も低用量投与群でより明瞭であった。これらの成績により、DEPEの皮下投与によってDEの吸入曝露と同様に出生子（第二世代）への影響、特に生後発達に異常が生じることが明らかとなった。

上述の流産や娩出不全などの生殖機能異常が生じる要因の一部を明らかにするために、雌マウスを卵巢摘出（OVX）群と卵巢非摘出（無処置）群に分け、それぞれDEまたはDEPEに1ヶ月間または4ヶ月間曝露し、子宮収縮反応を調べた。その結果、 3.0 mgDEP/m^3 を含むDEの4ヶ月間曝露群ではOTに対する子宮収縮反応が有意に増大した。さらに、OVXマウスにDEPEを直接皮下投与した実験において、有意な収縮増強が示された。その結果、非経気道的に投与された個体においてもDEPは子宮のOT収縮反応を増強することが明らかになった。さらに、DEPEを子宮筋に対して短時間または長時間直接作用させたときのOT収縮反応を検討した。その結果、OVXマウスの子宮へのDEPE $3 \times 10^{-4} \sim 3 \text{ mg/ml}$ 作用により有意な収縮の増大が示された。

DEPE中には多種多様な生体影響物質が含まれており、そのうちフタル酸エステル類は内分泌攪乱化学物質の観点から重要である。そこで、DEPから抽出分離された4-ヒドロキシフタル酸（以下、free体と略）および4-ヒドロキシイソフタル酸（以下、iso体と略）、また構造類似体の4-ヒドロキシフタル酸-1-メチルエステル（以下、dimethyl体と略）および4-ヒドロキシフタル酸-2-メチルエステル（以下、2Me体と略）の4種類のフタル酸エステル類を用いてこれまでと同様な実験を試みた。その結果、4種類のフタル酸エステル類で母マウスの出産率の変化および異常出産はみられなかった。しかし、営巣行動はiso体や2Me体の非妊娠マウスで有意に評点の高い巣の形成がみられた。出生子マウスの異常個体数は、iso体で有意に増加し特に成長不良が多かった。また、眼の異常やAGDの有意の増大が認められた。最後に上記4種類のフタル酸エステル類における子宮収縮反応についてOVXマウスを用いて観察した。その結果、free体および2Me体を皮下投与したマウスの子宮では最大収縮反応に有意な収縮の増加がみられた。上記の実験成績および考察から、DEPは、それを構成するフタル酸エステル類などの作用を通じて第一世代の生殖機能障害ならびに第二世代の成長、発達障害をもたらす潜在的リスクを有することが明らかになった。

以上を要するに、本論文はディーゼル排気の影響を実験的に証明したものであり、その成果は学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって、審査員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。