

審査の結果の要旨

生 月 弓 子

我々人類は内分泌攪乱物質いわゆる環境ホルモンに曝露されているが、その健康影響、特に生殖機能や胎児・次世代への影響については不明の点が多い。

本研究は内分泌攪乱物質のヒト生殖器官、胎児への暴露状況に関して、エストロゲン作用のある内分泌攪乱物質であり、プラスチック製品に広く使われているビスフェノールA (BPA) と、環境中に残存し高い毒性と催奇形性・発癌性で知られるダイオキシン類を対象として、母児環境の汚染状況を評価し、物質ごとの体内・胎内動態を検討し、下記の結果を得ている。

1,健康な閉経前の女性、妊娠中期の妊婦、妊娠末期の妊婦から得られた血液、体外受精時に得られた卵胞液、分娩時に得られた臍帯血および羊水、妊娠中期の羊水穿刺時に得られた羊水を対象として、BPA 濃度を ELISA 法により測定した。BPA 濃度は血液、卵胞液では 1-2ng/ml であり、胎児血 (臍帯血) や妊娠末期の羊水でもほぼ同レベルの BPA が検出された。驚くべきことに、妊娠中期の妊婦より得た羊水では、他の体液と比べて数倍にもあたる 8.3 ± 8.7 ng/ml という有意に高い ($P < 0.0001$) BPA が検出された。妊娠末期の母体血・臍帯血間に有意な正の相関を認めた ($P < 0.0001$)。

2,分娩時に得られた母体血、臍帯血、羊水を対象として、ダイオキシン類濃度 (PCDDs、PCDFs、Co-PCBs) を高分解能 GC-MS 法により測定した。母体血中 Co-PCBs 濃度と母体年齢の間に有意な正の相関を認めた ($P = 0.0067$)。検体総重量あたりの濃度で比較すると、母体血では、臍帯血、羊水に比べて全てのダイオキシン類濃度が有意に高かった (いずれも $P < 0.0001$)。しかしながら脂肪重量あたりに換算すると数値は逆転し、羊水で、母体血、臍帯血に比べて PCDDs 濃度、PCDFs 濃度、総ダイオキシン類濃度が有意に高かった (いずれも $P < 0.0001$)。PCDDs 濃度、Co-PCBs、総ダイオキシン類濃度において、母体血・臍帯血間で有意な正の相関を認めた (それぞれ $P = 0.0016$ 、 $P < 0.0001$ 、 $P = 0.0020$)。

3,BPA やダイオキシン類 (PCDDs、Co-PCBs) において母体血と臍帯血中濃度に有意な母児間の相関が見られ、経胎盤的な内分泌攪乱物質移行の実態が確

認され、羊水中に内分泌攪乱物質が蓄積することが明らかとなった。

4, マウス 2 細胞期胚を用いて内分泌攪乱物質の 1 つである BPA が初期胚発育に及ぼす影響を明らかにしようとした。2 細胞期胚からの 8 細胞期胚形成率は、対照 (BPA: 0) の 88.0% に対して、3nM BPA 存在下では 94.0% と有意に増加した。また、2 細胞期胚からの胚盤胞形成率は、対照 (BPA: 0) の 58.7% に対して 1nM、3nM でそれぞれ 69.0%、69.2% と有意な発育促進効果が認められた。一方、100 μ M BPA では 31.2% と有意に発育が抑制されたが、8 細胞期胚形成率は対象と差がなかった。10nM から 10 μ M では促進効果も抑制効果も認められなかった。

5, 1nM および 3nM BPA 存在下における胚盤胞への発育促進効果は ER 阻害剤である 100nM tamoxifen の添加で有意に抑制された (49.1% および 52.1%)。一方、100 μ M BPA 存在下における発育抑制効果は、tamoxifen により消失した (72.4%)。tamoxifen 単独では促進効果も抑制効果も認められず、8 細胞期胚への発育率は tamoxifen より影響を受けなかった。得られた胚盤胞は形態的に差がなく、細胞数は対照、1nM、3nM、100 μ M で差がなかった。他方、BPA 曝露下に得られた拡張胚盤胞を BPA 非存在下に 48 時間培養して trophoblast spreading を観察したところ、対照、1nM、3nM では差がなかったが、100 μ M BPA 存在下に得られた胚盤胞では trophoblast spreading が有意に増大した。

以上本論文は世界で初めて羊水中の内分泌攪乱物質 (環境ホルモン) を定量的に測定し、これまでは未知に等しかった内分泌攪乱物質のヒト生殖器官、胎児への暴露状況について明らかにした。また in vitro においてもマウス 2 細胞期胚を用いて内分泌攪乱物質の 1 つである BPA の初期胚発育に及ぼす影響を明らかにした。本研究は内分泌攪乱物質の体内動態や、循環、排出機構の解明、影響についても寄与し、また内分泌攪乱物質の生殖機能、周産期に与える影響や小児の成長などについても重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。