

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 李 輝哲

---

成熟した哺乳動物に見られる性行動の発現パターンや性腺刺激ホルモンの分泌パターンなどの雄雌差は、脳の機能的・形態的な雌雄差に基づいて発現する。このような脳の性分化は、発生過程の特定の時期（臨界期）に脳がアンドロジェンに暴露されることにより起こる。例えば、ラットの場合、出生後数日の特定の時期に精巣から分泌されるアンドロジェンが脳内で芳香化酵素によりエストロジェンへと代謝され、未分化な脳に作用して雄型に分化誘導すると考えられている。申請者の研究室の従来の研究により、グラニューリン遺伝子や p130 遺伝子が新生子の視床下部において性ステロイドにより発現誘導され、脳の性分化に関与することが示唆されている。一方、近年プラスチックの可塑剤等に用いられているフタル酸/アジピン酸エステル類が、生殖毒性を持つことや性ステロイド作用を修飾することなど、内分泌攪乱化学物質として作用する可能性が報告されている。このことはフタル酸/アジピン酸エステル類が脳の性分化にも影響を及ぼす可能性を示唆している。本研究は、母体がフタル酸/アジピン酸エステル類を摂取した場合、新生子の脳の性分化関連遺伝子の発現や、性成熟後の性行動などにどのような影響を与えるかを解析し、これらの物質の脳の性分化過程に対する作用を解明すること目的としたものである。

実験には Wistar-Imamichi 系ラットを用いた。妊娠 15 日目から産後 21 日目まで植物エストロジェンを含まない粉末飼料に di-n-butyl phthalate (DBP) を 20、200、2000、10000 ppm、diisononyl phthalate (DINP) を 40、400、4000、20000 ppm、di-ethylhexyl adipate (DEHA) を 480 ppm、2400 ppm、12000 ppm 含有する餌を与えた。生後 1 日目に、アンドロジェン作用の指標となる肛門生殖突起間距離 (AGD) を測定した結果、雄においては DINP 及び DEHA によって短縮が認められ、また DBP、DINP の最高用量では雌において延長が認められた。このことから、DINP 及び DEHA が雄に対してアンチアンドロジェン作用を持つことが示唆され、高用量の DBP、DINP が雌に対してアンドロジェン作用を持つ可能性が考えられた。生後 3 日目、7 日目の血中の性ステロイドレベルには大きな影響は見られなかった。生後 3 日目の雄においては、DINP、DEHA の一部の用量でグラニューリン遺伝子の発現の抑制が見られ、また p130 の場合はいずれの物質によっても抑制が認められた。雌では、DBP の最低用量でグラニューリン遺伝子の増加、DEHA の最高用量で p130 遺伝子の減少が見られた。生後 7 日目の視床下部におけるグラニューリン遺伝子発現は、雄においては DEHA 群で有意な抑制が、雌においては DBP、DINP 群で有意な増加が見られた。一方、p130 遺伝子発現は、雄の DBP 及び DINP 群で増加が、雌の DEHA 群で抑制が見られた。これらの効果に用量依存性は見られないものの、これらの物質は雄ではアンチアンドロジェン作用を、雌においてはアンドロジェン作用を持つことが示唆された。DBP、DINP 及び DEHA の周産期暴露は性成熟後、一部の用量で雄の性行動を抑制し、全ての用量で雌の性行動を抑制した。しかし、雌

雄ともに、性ステロイド及び性腺刺激ホルモンの分泌パターンには影響を与えなかった。また雌の性周期回帰にも影響を与えなかった。このことから、これらの物質は視床下部下垂体 性腺軸の内分泌系には影響を与えず、行動発現系の性分化に対して影響を及ぼす可能性が考えられた。

以上、AGD に対する効果、及び視床下部遺伝子発現に対する効果より、DBP、DINP 及び DEHA の周産期暴露は雄に対してはアンチアンドロジェン作用、雌に対してはアンドロジェン作用を及ぼすことが示唆された。これらの物質の作用機序については、必ずしも用量依存性が認められないこと、あるいは雌雄で影響が異なることなどから現時点では一定の結論を出すことは困難であるが、それぞれの物質が性ステロイドの作用を修飾し、脳の性分化関連遺伝子の発現に影響を与え、性成熟後の性行動に影響を与える可能性が考えられた。しかし、ホルモンレベルには影響を与えなかったことから、行動発現系と内分泌系の性分化機構が異なること、そして研究で用いた物質は行動発現系の性分化に対して限局的な影響を及ぼすことが考えられた。本研究の結果は、脳の性分化機構の新しいメカニズムを提唱するとともにフタル酸 / アジピン酸エステル類がその過程に影響を及ぼし得ることを示唆するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委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して認めた。