【277】

氏　名（本籍）	本多（福澤）徳　穂（茨城県） （ほんだ　ふくざわ　のり　ほ）
学位の種類	博　　士（農　　学）
学位記番号	博　甲　第　3537　号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	**Analysis of endocrine-disrupting activities of dioxins in spermatogenesis and testosterone production** （ダイオキシン類の精子形成とテストステロン産生における内分泌かく乱作用の解析）

主　査	筑波大学教授	農学博士	馬　場　　忠
副　査	筑波大学教授	農学博士	深　水　昭　吉
副　査	筑波大学教授	農学博士	小　林　達　彦
副　査	筑波大学教授	理学博士	藤　村　達　人

論文の内容の要旨

本研究は，ダイオキシン類の曝露が哺乳類精巣に及ぼす内分泌かく乱作用について解析したものである。ダイオキシンは，人類が作り出した化合物の中で最強の毒性を持つ化合物の一つである。日本人の食生活においては，魚介類を介して摂取するダイオキシン量が欧米諸国に比べ格段に高いことが報告されている。精巣では精子形成や雄性ホルモンであるテストステロンの産生が行われているため，雄の精巣機能がダイオキシン類によってかく乱されると産仔の減少を引き起こすことが推測される。さらに，妊娠期の哺乳動物がダイオキシン類に曝露されると，新生仔は母乳を介してより多量のダイオキシンに曝露される。そこで，新生仔マウス精巣に及ぼすダイオキシン類の影響の直接的な検討を行うため，まず新生仔マウス精巣の器官培養系を確立し，次いでダイオキシン（PCB126）を添加して解析した。

まず，器官培養系の特性を検討するために，精子形成過程で時期特異的に発現する遺伝子を精子分化のマーカーとして調べたところ，この培養系では精原細胞が生体内と同様に増殖を開始することを確認した。また，培養精巣におけるテストステロン合成酵素の発現量を測定したところ，テストステロン合成経路において，律速段階となる酵素反応で機能しているP450sccの発現量が生体内よりも高く維持されていることが明らかとなった。そこで，これらの培養系にPCB126を添加して，ダイオキシン類に対する影響を検討した。その結果，器官培養した新生仔マウスの精原細胞およびセルトリ細胞の増殖率は，PCB126の濃度に関係がなく変化を示さないことが明らかになった。しかし，テストステロン合成酵素のP450sccの発現量がPCB126の濃度依存的に減少し，P450c17の発現量は増加していた。したがって，PCB126は新生仔マウス精巣において，テストステロン合成経路の律速段階となる酵素反応に直接的な影響を与えていることが示唆された。

次に，ダイオキシンがテストステロン産生を抑制する生体メカニズムについて調べるため，成熟マウスを使用して，より毒性の強いTCDDを投与して解析を行った。まず，生体内精巣におけるP450sccの発現量を測定したところ，TCDDの用量依存的に減少した。また，この精巣内で合成されるテストステロン量も減少することを確認した。さらに，精巣と同一なステロイド合成経路を持つ副腎内P450sccの発現と下垂

体で発現する性腺刺激ホルモン（LH）の発現量にはダイオキシンの影響は認められなかった。そこで，精巣に存在するLH受容体に着目し調べてみると，その発現量はTCDDの用量依存的に減少していた。また，エストロゲンのアゴニストであるestradiol - 3 - benzoate（EB）を投与し，TCDDによるホルモン様作用と比較したが，EB投与マウスではLHの発現が完全に消失し，精巣におけるLHRの発現が有意に増加していた。

以上の結果から，TCDDはテストステロン産生機構において，精巣で発現するLHRおよびP450sccを標的とし，精巣内テストステロン合成を抑制することが明確になった。また，ダイオキシンによるLHRとP450sccの発現抑制が，ダイオキシンレセプターであるアリール炭化水素受容体（AhR）を介した毒性応答であることも見いだされた。

審査の結果の要旨

ダイオキシンはダイオキシン特別措置法が制定され，燃焼に伴う環境への放出量は激減しているが，食品に蓄積するダイオキシン類の削減は容易ではない。したがって，食事を介して取り込まれるダイオキシン量は，当面，横ばいであると予測されている。ダイオキシンの生殖機能への影響が憂慮されているが，その影響評価はダイオキシンの動物への直接投与による，個体重量，臓器重量，ホルモン量，特異細胞数の変化などを指標としている。本研究では，このような個体レベルのマクロな毒性影響を分子生物学的な手法を利用して遺伝子レベルで解析しており，毒性学への発展に貢献すると思われる。また，本研究に使用したダイオキシン類は，日本人が食品から多量に摂取しているPCB126と最も毒性の高いTCDDを選択している。PCB126は，ダイオキシン類に含められている物質であり，この化合物を使用した研究意義は大きい。しかし，実験に用いたダイオキシン濃度は，日常，我々が摂取する量よりもかなり高濃度なものである。したがって，本研究で得られたダイオキシン類の生殖系への影響は高濃度のダイオキシン曝露により引き起こされる現象であり，日常生活での摂取では生体へのリスクはほとんど無いと考えられる。一方，ダイオキシンによる遺伝子発現抑制が示された性腺刺激ホルモン（LH）受容体は卵巣にも発現しており，ダイオキシンによる感受性が高い雌性生殖器への内分泌かく乱作用を解析する上でも重要な知見であると思われる。以上のように，本研究は，ダイオキシン曝露が及ぼす生体影響のリスク評価研究に貢献した役割は大きいと判断できる。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。