

Screening by microarray analysis for genes that alter prostate development in C57BL/6J mice exposed in utero to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Organohalogen Compounds*. 66, 3286-3289, (2004)

特に無し
3. その他
特に無し

Faqi, A. S., Dalsenter, P. R., Merker, H. J., and Chahoud, I. (1998). Effects on developmental landmarks and reproductive capability of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in offspring of rats exposed during pregnancy. *Human & Experimental Toxicology* 17, 365-372.

Evans, W. H., and Martin, P. E. (2002). Gap junctions: structure and function (Review). *Mol Membr Biol* 19, 121-36.

Robinson, N. A., Lopic, S., Welter, J. F., and Eckert, R. L. (1997). S100A11, S100A10, annexin I, desmosomal proteins, small proline-rich proteins, plasminogen activator inhibitor-2, and involucrin are components of the cornified envelope of cultured human epidermal keratinocytes. *J Biol Chem* 272, 12035-46.

G. 健康危険情報

特に無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特に無し

2. 実用新案取得

表1 妊娠14日目 (GD14)あるいは17日目 (GD17)に TCDD または PCB153 に曝露した雄胎仔の泌尿生殖洞において遺伝子発現が2倍以上に変動した遺伝子数

		Compounds			
		TCDD (10 μ g/kg)		PCB153 (10 mg/kg)	
		up ^a	down ^b	up	down
GD14 ^d	6 h ^f	17	9	30	8
	24 h ^g	45	20	5	34
GD17 ^e	6 h	39	27	1	15
	24 h	31	11	8	16

a, GCOS 解析により Signal Log Ratio が1以上と判定されたもの(発現レベル2倍以上)。

b, GCOS 解析により Signal Log Ratio が-1以下と判定されたもの(発現レベル1/2以下)。

表2. 妊娠期 TCDD または PCB153 曝露による胎仔泌尿生殖洞における遺伝子発現変動のマイクロアレイ解析結果(いずれかの化合物または曝露後時間において発現上昇した遺伝子(プローブセット数))

Probe Set ID	Gene Title	Gene Symbol	Compounds							
			TCDD (10 µg/kg)				PCB 153 (10 mg/kg)			
			GD14		GD17		GD14		GD17	
6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs			
99979_at	cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1	Cyp1b1	6.6	3.0	2.9	1.6	3.3			
94715_at	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	Cyp1a1	4.6	6.2	5.8	6.1				
101709_at	aryl-hydrocarbon receptor repressor	Ahrr	4.3	3.5	4.4	3.6				
93985_at	TCDD-inducible poly(ADP-ribose) polymerase	Tiparp	2.4	1.6	2.4	1.6				
100690_at	tyrosine hydroxylase	Th	1.2	1.0	1.0					
104165_at	vanin 1	Vnn1	1.0	1.6						
160088_at	flavin containing monooxygenase 5	Fmo5	5.1		2.9	1.7				
97926_s_at	peroxisome proliferator activated receptor gamma	Pparg	2.9		4.0	1.2				
92739_at	involucrin	Ivl	2.3		1.5	1.8				
102571_at	gap junction membrane channel protein β 6	Gjb6(Cx30)	2.2		3.6	2.2				
94391_at	gap junction membrane channel protein β 6	Gjb6(Cx30)	1.8		1.8					
160553_at	lymphocyte antigen 6 complex, locus D	Ly6d	1.7		1.1	1.6				
101025_f_at	small proline-rich protein 2A	Spr2a	1.4		1.3					
98370_at	uroplakin 2	Upk2	1.4		1.0					
101024_i_at	small proline-rich protein 2A	Spr2a	1.3		1.1	1.4				
95706_at	lectin, galactose binding, soluble 3	Lgals3	1.3		1.0	1.0				
161046_at	cytokine receptor-like factor 1	Crlf1	1.3		1.4					
92562_at	nuclear factor, erythroid derived 2, like 2	Nfe2l2	1.1		1.2					
104370_s_at	keratin complex 2, basic, gene 6a	Krt2-6a	1.1		1.1					
97413_at	RIKEN cDNA 1600029D21 gene	1600029D21Rik	1.0		1.2					
103974_at	transmembrane protease, serine 2	Tmprss2	1.0		1.1					
99580_s_at	UDP-glucuronosyltransferase 1 family, member 2	Ugt1a2	1.0		1.0	1.2				
98423_at	gap junction membrane channel protein β 2	Gjb2			1.6	1.8				
93695_at	alcohol dehydrogenase 7 (class IV), mu or sigma polypeptide	Adh7			1.1	1.1				
99701_f_at	small proline-rich protein 2B	Spr2b			1.0	1.3				
103499_at	Von Willebrand factor homolog	Vwf			1.0	1.2				
103887_at	S100 calcium binding protein A9 (calgranulin B)	S100a9			1.5	3.6				
103644_at	dipeptidase 1 (renal)	Dpep1	3.7							
96533_at	torsin family 3, member A	Tor3a	3.5							

161225_r at	cryptochrome 1 (photolyase-like)	Cry1	3.4
101630_f at	vomeranase 2, receptor, 2	V2r2	2.6
98394_at	distal-less homeobox 1	Dlx1	2.2
103826_at	zinc finger and BTB domain containing 7	Zbtb7	1.8
98903_at	RIKEN cDNA 1110006I11 gene	1110006I11Rik	1.7
100450_r at	activin A receptor, type II-like 1	Acvr11	1.4
95305_at	RIKEN cDNA A630098A13 gene	A630098A13Rik	1.3
160413_at	neuron specific gene family member 2	Nsg2	1.1
101742_at	tissue-type vomeronasal neurons putative pheromone receptor V2R2	LOC56544	4.9
92653_at	RIKEN cDNA D530037H12 gene	D530037H12Rik	2.9
162095_f at	growth arrest specific 7	Gas7	2.3
103967_at	midline 2	Mid2	1.9
100593_at	troponin T2, cardiac	Tnnt2	1.9
101162_at	myogenic factor 5	Myf5	1.8
103448_at	S100 calcium binding protein A8 (calgranulin A)	S100a8	1.2
100431_at	leptin receptor	Lepr	1.2
103812_at	chloride channel calcium activated 1	Clca1	1.2
160373_i at	serum deprivation response	Sdpr	1.1
94834_at	cathepsin H	Ctsh	1.1
103053_at	myogenin	Myog	1.1
102986_at	myogenic differentiation 1	Myod1	1.0
92365_at	c-fos induced growth factor	Figf	1.0
97990_at	myosin heavy chain 11, smooth muscle	Myh11	1.0
97581_at	odd Oz/ten-m homolog 4 (Drosophila)	Odz4	1.0
161361_s at	troponin T1, skeletal, slow	Tnnt1	1.0
103215_g at	heat shock protein 2	Hspb2	1.0
100468_g at	lymphoblastic leukemia	Lyl1	1.0

表内の数値は Signal Log Ratio を示す。

表2. つづき

Probe Set ID	Gene Title	Gene Symbol	Compounds							
			TCDD (10 µg/kg)				PCB (10 mg/kg)			
			GD14		GD17		GD14		GD17	
			6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs
94355_at	transformation related protein 53 binding protein 1	Trp53bp1	2.4							
92673_at	SH3-domain GRB2-like 2	Sh3gl2	2.3							
101891_at	hydroxysteroid (17-β) dehydrogenase 2	Hsd17b2	1.9							
97379_at	fructose biphosphatase 2	Fbp2	1.8							
96770_at	deoxyribonuclease 1-like 2	Dnase1l2	1.7							
100685_at	keratin complex 2, basic, gene 1	Krt2-1	1.4							
160909_at	small proline-rich protein 1A	Spr1a	1.3							
97529_at	annexin A8	Anxa8	1.3							
103235_at	neuropeptide Y	Npy	1.3							
99089_at	myelin and lymphocyte protein, T-cell differentiation protein	Mal	1.2							
101465_at	keratin complex 2, basic, gene 1	Krt2-1	1.2							
96122_at	RIKEN cDNA 2310016A09 gene	2310016A09Rik	1.2							
97825_at	PERP, TP53 apoptosis effector	Perp	1.2							
92770_at	S100 calcium binding protein A6 (calcyclin)	S100a6	1.1							
104512_at	uropalakin 3B	Upk3b	1.1							
96704_at	stratifin	Sfn	1.1							
94270_at	keratin complex 1, acidic, gene 18	Krt1-18	1.1							
161647_f_at	keratin complex 2, basic, gene 4	Krt2-4	1.1							
102243_at	ets homologous factor	Ehf	1.0							
103744_at	RIKEN cDNA A930014C21 gene	A930014C21Rik	1.0							
98988_at	expressexpressed sequence AA408868	AA408868	1.0							
92275_at	transcription factor AP-2, gamma	Tcfap2c	1.0							
96085_at	glutathione S-transferase, alpha 4	Gsta4	1.0							
96180_at	regulator of G-protein signaling 5	Rgs5					1.2			
160634_at	Park2 co-regulated	Pacrg					1.1			
103294_at	regulator of G-protein signaling 5	Rgs5					1.0			
96764_at	expressed sequence AW111922	AW111922					1.0			
160946_at	ubiquitin specific protease 12	Usp12			3.8					
99915_at	amphiregulin	Areg			2.2					
160594_at	procollagen, type XVII, alpha 1	Col17a1			1.9					
100828_at	---	---			1.3					
100596_at	selenium binding protein 1	Selenbp1			1.2					

97206_	serine protease inhibitor, Kunitz	Spint1	1.1	
at	type 1			
94370_	oncoprotein induced transcript 1	Oit1	1.1	
at				
92558_	vascular cell adhesion molecule 1	Vcam1	1.1	
at				
96672_	homeobox only domain	Hod	1.0	
at				
101903	SET and MYND domain containing	Smyd1	1.0	
at	1			
161531	early growth response 2	Egr2		4.2
r_at				
98813_	reticuloendotheliosis oncogene	Rel	2.8	
at				
99126_	inactive X specific transcripts	Xist	2.5	
at				
93122_	cysteine-rich secretory protein 1	Crisp1	1.8	
at				
99349_	interleukin 17	Il17	1.6	
at				
96824_	SRY-box containing gene 15	Sox15	1.6	
at				
104369	keratin complex 2, basic, gene 6a	Krt2-6a	1.0	
at				
96549_	cholinergic receptor, nicotinic, delta	Chrnd		1.7
at	polypeptide			
162501	---	---		1.3
at				
161421	glutamate-rich WD repeat	Grwd1		1.2
r_at	containing 1			
104001	replication factor C (activator 1) 5	Rfc5		1.1
at				
96980_	myosin heavy chain 10, non-muscle	Myh10		1.0
at				
94720_	E26 avian leukemia oncogene 1, 5'	Ets1		1.0
at	domain			
97508_	malate dehydrogenase 1, NAD	Mdh1		1.0
at	(soluble)			
93704_	forkhead box F1a	Foxf1a		1.0
at				

表内の数値は Signal Log Ratio を示す。

表 3. 妊娠期 TCDD または PCB153 曝露による胎仔泌尿生殖洞における遺伝子発現変動のマイクロアレイ解析結果 (いずれかの化合物または曝露後時間において発現減少した遺伝子 (プローブセット数))

Probe Set ID	Gene Title	Gene Symbol	Compounds							
			TCDD (10 µg/kg)				PCB 153 (10 mg/kg)			
			GD14		GD17		GD14		GD17	
			6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs
98480_s_at	renin 1 structural	Ren1	-1.0				-1.4			
100593_at	troponin T2, cardiac	Tnnt2	-1.8				-1.0			
102407_at	mast cell protease 5	Mcpt5	-1.8				-1.0			
101354_at	solute carrier family 18 (vesicular monoamine), member 3	Slc18a3	-4.2				-1.5			
92945_at	glutamate receptor, ionotropic, AMPA2 (alpha 2)	Gria2	-1.0				-1.3			
98315_at	tectorin alpha	Tecta	-1.1				-2.3			
102348_at	---	---	-1.1				-1.2			
101828_at	ret proto-oncogene	Ret	-1.5				-1.0			
161101_r_at	---	---	-2.5				-1.7			
95938_at	expressed sequence C80292	C80292	-2.9							
94939_at	CD53 antigen	Cd53	-1.4							
160956_r_at	expressed sequence AA407526	AA407526	-1.3							
96835_at	matrilin 4	Matn4	-1.1							
100481_at	procollagen, type XI, alpha 1	Coll11a1	-1.0							
102614_at	prospero-related homeobox 1	Prox1	-3.0							
97129_at	CDNA clone IMAGE:30046293, partial cds	---	-2.4							
93950_at	forkhead box A2	Foxa2	-1.5							
92988_at	Ca ²⁺ -dependent activator protein for secretion	Cadps	-1.1							
104483_at	procollagen, type IX, alpha 1	Col9a1	-1.0							
101368_at	placentae and embryos oncofetal gene	Pem	-1.8							
96204_at	SH3-binding domain glutamic acid-rich protein	Sh3bgr	-1.5							
98458_at	RIKEN cDNA 1190007F08 gene	1190007F08Rik	-1.5							
96205_at	SH3-binding domain glutamic acid-rich protein	Sh3bgr	-1.3							
101574_at	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade A, member 1a	Serpina1a	-1.2							
102954_at	SRY-box containing gene 5	Sox5	-1.2							
102788_at	paired-like homeodomain transcription factor 2	Pitx2	-1.2							

92920_a t	paired-like homeodomain transcription factor 1	Pitx1	-1.2
92997_g _at	SRY-box containing gene 17	Sox17	-1.1
101753_ s_at	lysozyme	Lyzs	-1.1
93522_a t	RAD9 homolog (S. pombe)	Rad9	-1.1
97717_a t	transcription factor 15	Tcf15	-1.0
100611_ at	lysozyme	Lyzs	-1.0
103394_ at	FXYP domain-containing ion transport regulator 5	Fxyd5	-1.0
102785_ at	matrilin 1, cartilage matrix protein 1	Matn1	-4.3
92407_a t	myomesin 1	Myom1	-3.2
102256_ at	T-box 15	Tbx15	-2.9
161205_ at	cytochrome c oxidase, subunit VIIIb	Cox8b	-2.5
102559_ at	bone morphogenetic protein 2	Bmp2	-2.3
92885_a t	troponin T3, skeletal, fast	Tnnt3	-1.9
92676_a t	runt related transcription factor 2	Runx2	-1.7
98561_a t	troponin I, skeletal, slow 1	Tnni1	-1.4
103214_ at	heat shock protein 2	Hspb2	-1.3
93136_a t	dermatan sulphate proteoglycan 3	Dspg3	-1.2
99667_a t	cytochrome c oxidase, subunit VI a, polypeptide 2	Cox6a2	-1.2
102105_ f_at	prostaglandin D2 synthase (brain)	Ptgds	-1.1
92541_a t	myosin, light polypeptide 1	Myl1	-1.1
98423_a t	gap junction membrane channel protein β 2	Gjb2	-1.1
102351_ at	carboxypeptidase A3, mast cell	Cpa3	-1.0
97155_a t	growth differentiation factor 8	Gdf8	-1.0
99050_a t	caveolin 3	Cav3	-1.0
92881_a t	myosin light chain, phosphorylatable, fast skeletal muscle	Mylpf	-1.0

表内の数値は Signal Log Ratio を示す。

表3. つづき

Probe Set ID	Gene Title	Gene Symbol	Compounds										
			TCDD (10 µg/kg)				PCB (10 mg/kg)						
			GD14		GD17		GD14		GD17				
			6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs	6 hrs	24 hrs			
97180_f_at	hemoglobin Y, β-like embryonic chain	Hbb-y			-2.3								
162007_i_at	signal-induced proliferation associated gene 1	Sipa1			-1.7								
160190_at	synaptotagmin 4	Syt4			-1.6								
92892_at	vesicular membrane protein p24	Vmp			-1.4								
100393_at	vasoactive intestinal polypeptide	Vip			-1.3								
103536_at	transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 2	Tmeff2			-1.3								
104564_at	secretogranin III	Scg3			-1.2								
94564_at	sulfotransferase family 4A, member 1	Sult4a1			-1.2								
92346_at	neurofilament 3, medium	Nef3			-1.2								
104751_at	peripherin 1	Prph1			-1.1								
95436_at	somatostatin	Sst			-1.1								
98473_at	arginase type II	Arg2			-1.1								
161859_f_at	synuclein, gamma	Sncg			-1.1								
98967_at	fatty acid binding protein 7, brain	Fabp7			-1.1								
104280_at	synuclein, gamma	Sncg			-1.1								
160623_at	cyclin-dependent kinase-like 2 (CDC2-related kinase)	Cdkl2			-1.1								
161612_f_at	tubulin, β 3	Tubb3			-1.1								
161902_f_at	guanine nucleotide binding protein, alpha o	Gnao			-1.0								
103575_at	neurofilament, light polypeptide	Nefl			-1.0								
102677_at	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) gamma	Arhgdig			-1.0								
104523_at	RIKEN cDNA E430036I04 gene	E430036I04Rik			-1.0								
92292_at	solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 3	Slc2a3			-1.0								
95347_at	myelin transcription factor 1	Myt1			-1.0								
160899_at	Purkinje cell protein 4	Pcp4			-1.0								
161884_r_at	fragile X mental retardation gene 1, autosomal homolog	Fxr1h											-3.8
102583_at	olfactory receptor 136	Olf136											-3.7
92193_r_at	proprotein convertase subtilisin/kexin type 5	Pcsk5											-3.1
101225_at	DNA segment, Chr 5, ERATO Doi 102, expressed	D5Erd102e											-2.3
92245_at	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box	Ddx50											-2.0

t	polypeptide 50		
98123_a	kynurenine aminotransferase II	Kat2	-1.8
t			
92291_f	complement component factor h-like 1	Cfh1	-1.4
_at			
103045_	mature T-cell proliferation 1	Mtcp1	-1.4
at			
162161_	SAM domain and HD domain, 1	Samhd1	-1.4
r_at			
101972_	kidney-derived aspartic protease-like	Kdap	-1.1
at	protein		
95958_a	expressed sequence C76977	C76977	-1.0
t			
102192_	SA rat hypertension-associated homolog	Sah	-3.7
r_at			
92977_s	H6 homeo box 3	Hmx3	-3.2
_at			
94104_a	telomerase reverse transcriptase	Tert	-2.3
t			
100882_	defensin β 1	Defb1	-2.0
at			
103599_	transformed mouse 3T3 cell double	Mdm1	-1.6
at	minute 1		
97519_a	secreted phosphoprotein 1	Spp1	-1.6
t			
104577_	mutL homolog 1 (E. coli)	Mlh1	-1.2
at			
102577_	potassium voltage-gated channel,	Kcnab3	-1.1
at	shaker-related subfamily, β member 3		
96375_a	DNA segment, Chr 9, ERATO Doi 306,	D9Erd306	-1.1
t	expressed	e	
162379_	vimentin	Vim	-1.0
r_at			
96591_a	reelin	Reln	-1.9
t			
95964_a	RIKEN cDNA A430103N23 gene	A430103N	-1.6
t		23Rik	
93372_a	acidic (leucine-rich) nuclear	Anp32a	-1.2
t	phosphoprotein 32 family, member A		
97157_a	NK-3 transcription factor, locus 1	Nkx3-1	-1.2
t	(Drosophila)		
99937_a	mesenchyme homeobox 2	Meox2	-1.1
t			
160108_	nuclear protein 1	Nupr1	-1.1
at			
92559_a	vascular cell adhesion molecule 1	Vcam1	-1.1
t			

表内の数値はSignal Log Ratioを示す。

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

PCB153 を用いた学習行動における非ダイオキシン様毒性の解析

主任研究者 遠山 千春

東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 教授

（前職： 国立環境研究所環境健康研究領域 領域長）

研究要旨

昨年度までに我々は、ラットの学習行動において、PCB126(TEF=0.1)は TCDD 様毒性にあわせて、非 TCDD 様毒性を示す可能性があることを見いだした。

そこで本年度は、TEF を付与されていない非コプラナーPCB である PCB153 を用い、この異性体の発達期のラットへの曝露が記憶・学習機能に及ぼす影響について検討した。実験群は、母ラットに PCB153 を 2 mg/kg の用量で妊娠 5、15 日目あるいは出産後 3 日目に単回経口投与した曝露群(GD5 群、GD15 群、PND3 群)、ならびに、各日 1 回で計 3 回、合計 6mg/kg を投与した反復曝露群 (GD5+GD15+PND3 群) の 4 群からなる。その母ラットから生まれた仔ラットが成熟したあとに、レバー付きオペラント箱を使用し、学習行動試験を行った。オペラント学習行動試験では、固定比率(Fixed-Ratio ; FR)強化スケジュールを 15 日間行った。その結果、GD5+GD15+PND3 群、GD15 群、GD5 群で有意な学習低下が認められ、PND3 群では影響が観察されなかった。PCB153 の発達期曝露は学習遂行能力の顕著な低下を引き起こすこと、またその発達神経毒性は、胎内曝露によって生じることが示唆された。

研究協力者：

北條理恵子、掛山 正心 国立環境研究所

A 研究目的

我々は昨年度までに、コプラナーPCB である 3,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (PCB126, TEF=0.1) の発達期曝露がラットの学習行動に影響を及ぼすことを明らかにした。PCB126 の発達神経毒性は、TEF の強度をほぼ反映して観察される TCDD 様毒性の他に、TCDD 曝露では検出されない影響が観察されたことから、PCB による非 TCDD 様毒性が存在する可能性も

示唆された。

一方ヒトにおける疫学調査では、母親の臍帯血中の PCB 類濃度と子供の IQ に高い相関関係があることが報告されており(Stewart et al. 2000 など)、またサルを用いた曝露実験でも学習能力低下が確認されている(Rice 2000)。しかしこれらの研究では、コプラナーPCB と非コプラナー PCB の両者の影響を識別できない実験条件となっており、観察された影響が、現

行のリスク評価で用いられている (TEF であらわされる) TCDD 様毒性なのか、あるいは PCB 独自の非 TCDD 様毒性なのかが不明なままである。

そこで本研究は、PCB 独自の発達神経毒性について検証することで PCB による非 TCDD 様毒性の存在を明らかにすることを試みた。TEF を付与されていない非コプラナー PCB である 2,2',4,4',5,5'-六塩素化ビフェニル (PCB153) を母体曝露し、生まれた仔ラットに対してオペラント学習行動試験法を用いて記憶・学習機能を調べた。

B 研究方法

1. 試験材料

曝露群には純度 99.5% 以上の PCB153 粉末をコーンオイル(ノナン 0.5%)で溶解したものを、コントロール群にはコーンオイル液(ノナン 0.5%)を、経口曝露した。

2. 実験動物および飼育条件

Long-Evans ラットは、Charles River (Chicago) から購入した。飼育および処理はすべて国立環境研究所の動物実験手順に従い、特殊化学物質管理区域内にて行った。

3. 曝露方法

妊娠 5、15 日目あるいは出産後 3 日目 (妊娠 25 日目に相当) の母ラットに対して、2 mg/kg の PCB153 を、ラット用ディスポーザブル胃ゾンデを使用して経食道的に単回投与した (それぞれ GD5 群 8 匹、GD15 群 8 匹、PND3 群 6 匹)。また、妊娠 5、15 日目および出産後 3 日目の 3 回

にわたり、PCB153 をそれぞれ 2 mg/kg、合計 6 mg/kg 投与した複合曝露群も作成した (GD5+GD15+PND3 群、8 匹)。コントロール群には妊娠 15 日目に、コーンオイル (0.5%N ノナン含有) を同様の方法で投与した。これらの母ラットから生まれた仔ラットを学習行動試験に用いた。生後 60 日目以降実験終了まで給餌制限を行い (1 日あたり雄 10g、雌 8g)、体重を雄 290-330g、雌 200-255g に維持した。

4. オペラント行動試験用装置

実験にはラット用のレバーつきオペラント実験箱(室町機械、東京)を使用した。実験箱内前面のパネルに、反作用レバーが左右に二つ、その上に刺激提示用ランプ、ボックス中央上部にハウスライト、下部に給餌ボックスが組み込まれていた。ラットが学習課題に応じたレバー押し反応を行うことで報酬(実験用エサ 1 粒 45mg)が給餌ボックスの中に提示される。各実験箱を換気扇つきの防音箱の中に入れて実験を行った。レバー押し反応の記録、報酬の提示などは、コントロールボックス(室町機械と共同開発)にて管理し、10 ミリ秒単位で記録を行い、パーソナルコンピュータで制御した。

5. オペラント行動試験課題

PCB153 に曝露した母ラット、あるいはコーンオイル投与の母ラットから生まれた雄の仔ラットを各腹 1 匹ずつ用い、成熟後 (9-11 週齢) オペラント行動試験を行った (それぞれコントロール群; 8、GD5 群; 6、GD15 群; 8、PND3 群; 8 匹、GD5+GD15+PND 3 群; 8 匹)。試験に入る

前にラットに対し、実験箱への馴化、レバー押し反応を確立するための訓練を行った。その後、学習課題として、定率強化(Fixed Ratio, FR)課題を選択し、その課題に対する訓練を行った。この課題は、一定の回数のレバー押し反応に対して報酬(実験用エサ粒)を一つ与える課題である。本研究で用いた定率強化課題の値は、FR20(20回目のレバー押し反応に対しエサを提示する、以下FR20)で、1日1セッションを連続して15日間行った。最大報酬数50個獲得あるいは実験開始から30分経過した時点のどちらかで、セッションを終了した。

6.分析方法

母獣の体重増加率、産仔数、仔獣の体重増加率は繰り返しのある二元配置の分散分析にて解析を行った。FR20学習課題における曝露影響は、学習基準(1セッションで報酬を43個(85%)以上獲得)に達した動物の数、および報酬獲得率を算出し、それぞれカイニ乗検定と分散分析により調べた。

C 研究結果

母獣の体重増加率、産仔数、仔獣の体重増加率、雌雄仔の比率については、PCB153曝露全群とコントロール群との間に差はみられなかった(表1)。

FR20課題における学習達成基準として、30分以内に43個以上(85%)の餌を報酬として獲得することとした。コントロール群では、FR20開始1日目では50.0%(8匹中4匹)のラットが学習基準に達しており、5日目には有意な上昇がみられ

(75.0%、 $p<0.05, \chi^2$ 検定)、7日目以降はすべての動物が学習基準に達した($p<0.05$) (図1(A))。

他方、胎仔期におけるPCB153の曝露により、成熟後の仔動物におけるオペラント行動試験の成績に影響が観察された。すなわち、GD5曝露群では5日目を過ぎてもスコアが低く、学習基準に達した動物数がコントロール群よりも有意に低い日が、後半のうち3日間、観察された(10、11および13日目)($p<0.05, \chi^2$ 検定)(図1(B))。GD15群では後半で上昇傾向がみられたもののコントロール群よりは低く、7日目と13日目は有意に低かった

($p<0.05, \chi^2$ 検定) 図1(C))。PND3群では有意な違いは認められず、むしろ開始後4日間はコントロール群よりも高い傾向が見られた(図1(D))。反復曝露群であるGD5+GD15+PND3群では最も顕著な影響が観察され、後半のうち9日間(7-14日目)でコントロール群よりも有意な低下がみられた($p<0.05, \chi^2$ 検定)(図1(E))。

15日間中の報酬獲得率は、コントロール群と比較してGD5群、GD15群、GD5+GD15+PND3群が有意に低く

($p<0.01$, two way ANOVA)、PND3群はコントロール群と変わらなかった($p=0.886$, two way ANOVA)(図2)。またGD15群およびGD5+GD15+PND3群は、GD5群と比較しても有意に低かった($p<0.01$, two way ANOVA)(図2)。

D 考察

本実験では、PCB153の母体曝露により、仔動物における成熟後のオペラント行動に影響が認められ、PCB153の発達期曝露

が記憶・学習機能の発達障害を引き起こすことが強く示唆された。

本実験結果には、以下の3つの主要な発見がある。第一に、我々の知る限り、これまで報告された非コプラナーPCB曝露実験よりも遙かに低い曝露量で影響が観察されたことがあげられる。これまでの報告におけるPCB153のLOAELは50 mg/kg (1.25 mg/kg/日、GD3~PND21、海馬におけるLTP (長期増強) の低下) (Hussain et al. 2000)であり、PCB混合物であるAroclor1254のLOAELで210 mg/kg (6 mg/kg/日、GD6~PND21、学習行動の低下)である。これに対し本研究では、2 mg/kgのPCB153母体単回投与(妊娠5日目あるいは15日目)により学習行動に影響が認められた。

第二に、PCB153の曝露は、出生後の曝露開始では影響が極めて弱く、胎仔期曝露で顕著な影響が観察されたことである。本研究では、PND3曝露群の学習基準達成度、報酬獲得率はコントロール群と変わらず、GD5、GD15及びGD5+15+PND3曝露群で有意な影響が見られた。疫学調査では、臍帯血中のPCB濃度と児童のIQに相関が認められるが、臍帯血中に比べて濃度が高い母乳中PCB量とIQとの間に相関が認められなかったことが報告されている(Stewart et al. 2000)。これまでこの疫学調査のデータを裏付ける報告はなかったが、我々の今回の動物実験によって初めて裏付けられた。

第三に、GD15群における報酬獲得率がGD5群よりも有意に低かったことから、PCB153は特に妊娠後期の曝露に強い影響が現れることが示唆されたことである。

すなわち、脳の発達時系列において、胎生後期がPCB153に対する高感受性時期であると考えられる。

今回、学習機能影響におけるPCB153曝露の高感受性時期が特定できたことから、PCB153のLOAELについても新たな考察が可能となる。すなわち、先に述べたHussainら(2000)が報告したPCB153曝露による海馬LTPの低下影響は、妊娠3日目から離乳(PND21)までの期間、1.25 mg/kg/日の用量のPCB153の反復投与で観察された。我々の研究から、PCB153が作用した時期は、高感受性時期の数日の可能性が考えられる。実際に海馬LTPは記憶形成に重要であると考えられているので、我々の成果である学習行動影響とHussainらの観察した電気生理学的変化は、同一の影響である可能性が高い。今後この点についてもさらなる検証が必要であろう。

非コプラナーPCBも甲状腺ホルモン系に影響を及ぼすことが報告されており、PCB153では妊娠直後から離乳まで4 mg/kg/日の曝露により仔動物の血清中T4が顕著に低下する(Collins et al., 1980; Ness et al., 1993)。しかしAroclor 1254の曝露実験では(妊娠6日目から離乳まで、4および8 mg/kg/日)、PCBによる甲状腺ホルモン系への影響は授乳曝露によるものであることが示されており(Crofton et al. 2000)、本研究でみられた学習行動影響は、甲状腺ホルモン系を介したものとは異なる可能性が示唆される。

甲状腺ホルモン抑制のほかに、PCBは神経の情報伝達を直接的に障害することが示唆されており(Kodavanti and Tilson

2000)、PCB153では海馬スライスにおいても *in vivo* 実験と同様に LTP の抑制がみられたことから、甲状腺ホルモン系影響とは異なる神経情報伝達障害作用をもつと考えられる(Hussain et al. 2000)。これらのことから、本研究で見られた PCB153 の学習障害は PCB 特有の毒性機構に基づいた毒性によるものであることが示唆される。

昨年度報告した TCDD、PCB126 曝露実験では、800 ng/kg の TCDD 曝露(妊娠 15 日目の母動物に単回経口投与)では影響が認められなかったが、8000 ng/kg の PCB126 (=800 ng TEQ/kg) では有意な影響が見られたことから、TCDD と PCB126 の毒性メカニズムの違いがあることが示唆された。本実験では、PCB153 でもラットの学習行動に影響を及ぼすことが明らかとなった。以上の結果を考え合わせると、コプラナー PCB も非コプラナー PCB も TCDD とは異なる毒性すなわち非 TCDD 様毒性を持つ可能性が極めて高いと考えられる。

E 結論

PCB153 の発達期曝露が、成熟後の記憶・学習機能に影響を及ぼした。出生後の経母乳曝露は影響がないか極めて弱く、特に妊娠後期における経胎盤曝露が発達神経毒性を示すことが明らかとなった。記憶・学習機能の発達に対して、PCB は非 TCDD 様毒性を持つ可能性が強く示唆された。

F 参考文献

Stewart P, Reihman J, Lonky E, Darvill T,

Pagano J. (2000) Prenatal PCB exposure and neonatal behavioral assessment scale (NBAS) performance. *Neurotoxicol Teratol.* 22(1):21-29.

Rice DC. (2000) Parallels between attention deficit hyperactivity disorder and behavioral deficits produced by neurotoxic exposure in monkeys. *Environ Health Perspect.* 2000 Jun;108 Suppl 3:405-8.

Hussain RJ, Gyori J, DeCaprio AP, Carpenter DO (2000). *In vivo* and *in vitro* exposure to PCB 153 reduces

long-term potentiation. *Environ Health Perspect.* Sep;108(9):827-31.

Ness DK, Schantz SL, Moshtaghian J, Hansen LG (1993) Effects of perinatal exposure to specific PCB congeners on thyroid hormone concentrations and thyroid histology in the rat. *Toxicol Lett* 68, 311-23.

Crofton KM, Ding D, Padich R, Taylor M, Henderson D (2000) Hearing loss following exposure during development to polychlorinated biphenyls: a cochlear site of action. *Hear Res* 144, 196-204.

Kodavanti PR, Tilson HA (2000) Neurochemical effects of environmental chemicals: *in vitro* and *in vivo* correlations on second messenger pathways. *Ann N Y*

G. 健康危険情報

特に無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特に無し

2. 実用新案取得

特に無し

3. その他

特に無し

I. 図の説明

図 1. 学習基準に達した動物数 (%). 各曝露群において、各日 30 分間の中で 43 個以上の報酬を獲得した動物数を百分率で示した。(B)-(E)の点線は、コーンオイルを投与された母親から生まれた仔ラット (コントロール) 群の行動パターンを示す。(A)コントロール群、(B)GD5 単回経口投与群、(C)GD15 単回経口投与群、(D) PND3 単回経口投与群、(E) GD5+GD15+PND3 反復経口投与群

図 2. 全 15 日間の各群における報酬獲得率 (%).

*<0.01, vs. コントロール群、#<0.05, vs. GD5 曝露群。

表 1. 妊娠期・授乳期に PCB153 曝露を受けた母動物の体重、産仔数、仔動物の体重変化

曝露群	母獣体重(g)		妊娠 15 日目		産仔数		仔獣体重(g)														
	妊娠 5 日目	±	妊娠 15 日目	±	雄	雌	PND4	PND21	PND42	±											
コントロール群	362.1	±	19.3	390.1	±	17.2	4.8	±	0.7	4.6	±	0.3	10.3	±	0.6	41.0	±	1.6	206.5	±	3.6
GD5 群	368.5	±	15.3	390.8	±	9.9	6.2	±	0.8	5.3	±	0.7	10.2	±	0.6	43.9	±	0.6	201.4	±	4.8
GD15 群	340.1	±	11.6	359.9	±	8.6	5.0	±	0.6	4.3	±	0.9	10.3	±	0.6	38.5	±	1.3	205.6	±	6.6
PND3 群	314.0	±	22.9	337.8	±	23.4	5.3	±	1.1	5.0	±	0.9	9.9	±	0.4	43.6	±	3.1	210.8	±	4.4
GD5+GD15+PND3 群	340.9	±	13.7	368.0	±	16.4	6.1	±	0.9	4.1	±	0.5	9.3	±	0.4	40.2	±	2.1	201.5	±	8.2

平均値±標準誤差.

図1.

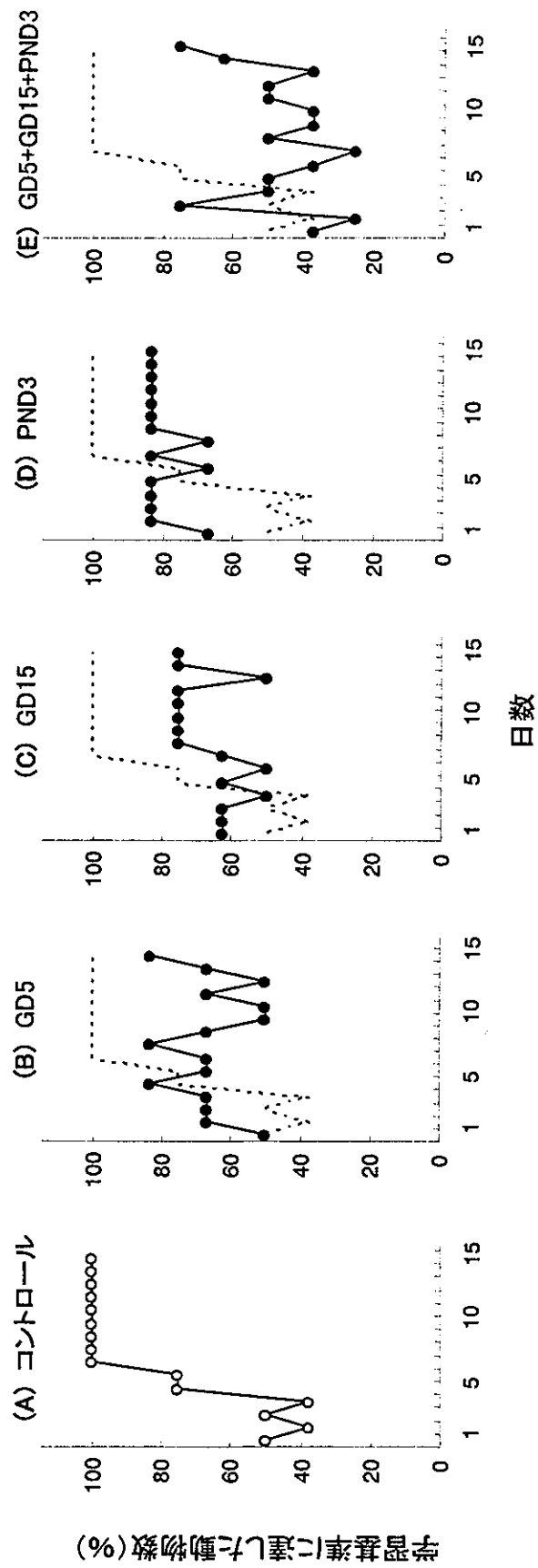
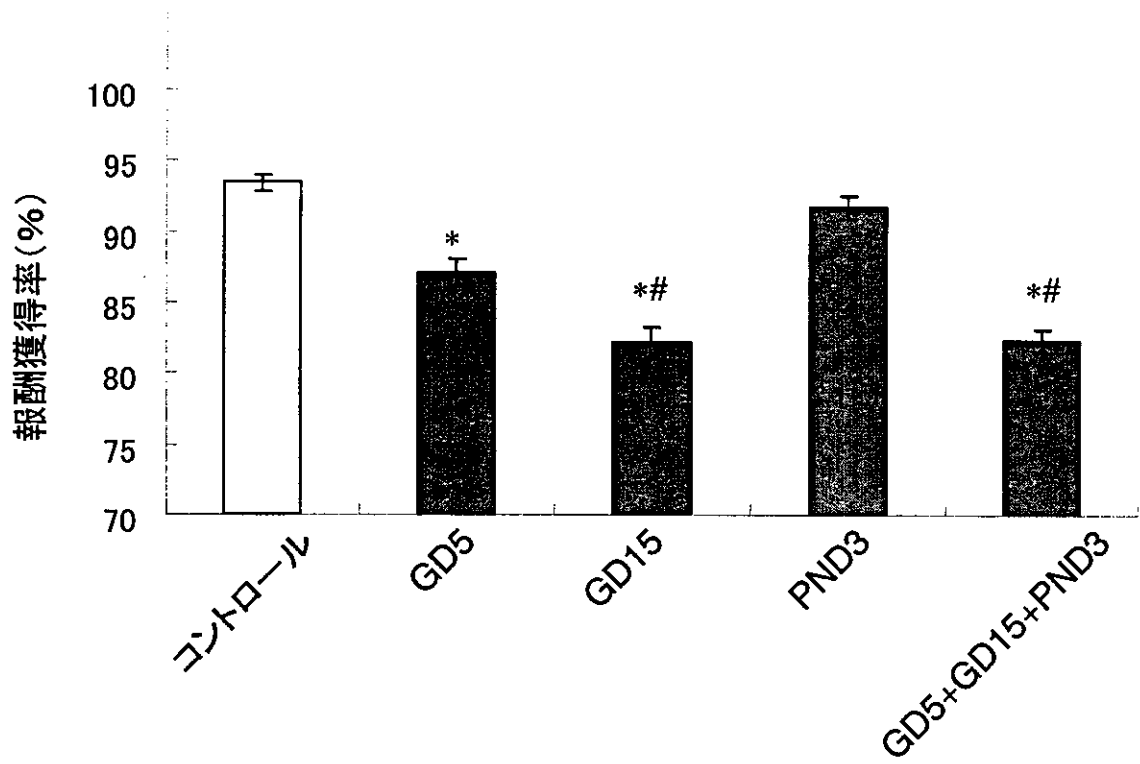


図 2.



PCB の血中甲状腺ホルモン濃度低下作用における TCDD 様作用と
非 TCDD 様作用の識別

分担研究者 加藤 善久

静岡県立大学薬学部 講師

研究要旨

本研究の目的は、異なるタイプのポリ塩化ビフェニル (PCB) による血中サイロキシン (T4)濃度低下作用メカニズムを、aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介した 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)様作用と、それを介さない非 TCDD 様作用とに分けて解明することである。本研究の結果から、異なるタイプの PCB を投与したときの血中 T4 濃度の低下には、いずれの PCB 投与の場合にも、血中 T4 の肝臓への移行量の増加が大きく寄与していることが示唆された。この移行量の増加には、3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (CB77)および 2,3',4,4',5-penta-chlorobiphenyl (CB118)投与では、非 TCDD 様作用である血清中 T4 とトランスサイレチン(TTR)との結合阻害が関与している可能性が示唆された。また、CB118、2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB153)投与では、T4 トランスポーター、モノカルボン酸トランスポーター(MCT8)の関与が考えられる。さらに、CB118 投与では TCDD 様と非 TCDD 様作用により、CB153 投与では非 TCDD 様作用により UGT1A を誘導し、また CB77 投与では未知因子により、T4 のグルクロン酸抱合体の胆汁排泄量の増加が、血清中 T4 濃度の低下に関与していることが示唆された。このように、coplanar PCB、mono-*ortho* PCB、non-planar PCB などの異なるタイプの PCB による血清中 T4 濃度の低下は、AhR を介した TCDD 様作用と、それを介さない非 TCDD 様作用が複雑に絡み合って起こることを明らかにした。

A. 研究目的

ポリ塩化ビフェニル(PCB)には209種の同族体が存在し、その毒性評価には毒性等価量(TEQ)が用いられている。これは、aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介して、作用をおよぼす化合物に付与されている毒性等価係数(TEF)に、個々の化合物の存在量を乗じたものである。PCBには、ラットの血中甲状腺ホルモン濃度を低下させる作用がある。その低下作用メカニズムの1つとして、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)のように AhR を介して肝の

UDP-glucuronyltransferase (UDP-GT)を誘導し、サイロキシン(T4)のグルクロン酸抱合体の胆汁排泄を促進させることが報告されている。一方、PCBには、その特有なメカニズムが存在すると考えられている。このように、PCBにはTCDD様作用と非TCDD様作用があることから、PCBの毒性を正しく評価するためには、各PCB(coplanar PCBや、TEFでは十分に評価されないnon-planar PCBおよびmono-*ortho* PCBなど)に対して新たな指標が必要である。本研究では、異なるタイプのPCBによる血中T4濃度低下作用