

分担研究報告書

油症曝露による継世代健康影響に関する研究 油症 2 世における卵巣機能と油症曝露状況との関連-

研究分担者 月森 清巳 福岡市立こども病院 院長補佐 周産期センター長
研究協力者 加藤 聖子 九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学 教授
研究協力者 諸隈 誠一 九州大学環境発達医学研究センター 特任准教授

研究要旨 カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症 2 世)の卵巣機能と油症曝露状況との関連について検討した。対象は油症 2 世 33 例とし、卵巣機能の指標として卵巣の予備能を反映する血中抗ミュラー管ホルモン (AMH)濃度を測定し、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度に対する標準偏差値 (z-score) を求め、油症曝露状況との関連について単回帰分析を用いて解析した。その結果、油症 2 世の血中 AMH 濃度 (z-score) の中央値 (範囲) は、-0.88 (-2.13-5.56) であった。油症 2 世の血中 AMH 濃度 (z-score) と油症曝露状況との関連では、1) 油症発生から出生までの期間と正の相関を示すこと、2) 油症 2 世の血中 PeCDF 濃度と有意な相関はないが、母親の血中 PeCDF 濃度と有意な負の相関を示すこと、3) 油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度においても有意な負の相関を示すことが分かった。これらの成績から、胎児期における油症曝露が油症 2 世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

A . 研究目的

ダイオキシン類などの化学物質曝露が次世代の健康にどのような影響をいかに及ぼすのかという継代的な健康影響とその発現機序に世界的な関心が高まっている。なかでもダイオキシン類は抗エストロゲン作用や抗アンドロゲン作用などのホルモン様作用を有することから、ヒトの生殖現象に影響を及ぼすのではないかと危惧されている¹⁾。

最近、卵巣機能の予備能を評価するマーカーとして血中抗ミュラー管ホルモン (Anti-Müllerian Hormone; AMH)濃度が用いられるようになってきた。AMH は TGF β superfamily に属する糖蛋白で、卵巣の発育過程の卵胞 (前胞状卵胞と小胞状卵胞) の顆粒膜細胞から分泌され、残っている原始卵胞の量と相関することが報告されている²⁾。血中 AMH 濃度は、血中エストロ

ゲン濃度とは異なり、月経周期に左右されずに測定することができ³⁾、また年齢と共に減少することから早発閉経の診断や不妊の治療方針の決定などに役立つこと⁴⁾が報告されている。

そこで、本研究では、油症曝露が油症 2 世における卵巣機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、油症 2 世における血中 AMH 濃度と油症曝露状況との関連について検討した。

B . 研究方法

1 . 対象 : カネミ油症発生後に油症患者より出生した児 (油症 2 世) 33 例を対象とした。

2 . 方法 :

血中 AMH 濃度の解析 : 油症一斉検診時に対象者より血液を採取し、血清に分離した後、測定まで凍結保存した。

血中 AMH 濃度は化学発光酵素免疫測定法 (アクセス AMH、ベックマン・コールター株式会社) を用いて測定した。得られた血中 AMH 濃度は、健常女性から得られた年齢別平均の血中 AMH 濃度⁵⁾ に対する標準偏差値 (z-score) を求めた。

油症曝露状況の評価: 油症一斉検診で得られたデータより対象者の年齢、身長、体重、BMI、喫煙習慣、油症曝露者 (母親曝露、父親曝露)、油症発生から出生までの期間、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 濃度および母親の血中 PeCDF 濃度を得て、油症曝露状況の指標として用いた。また、出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度を、検査時血中濃度 $\times 2$ [出産から血液検体採取までの期間(年)/PeCDF の半減期(7.7 年)]の式を用いて推定した⁶⁾。

で得られた結果をもとに油症 2 世における血中 AMH 濃度と油症曝露状況との関連について単回帰分析を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究については、福岡市立こども病院倫理委員会(承認番号 29-22) および九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会(承認番号 29-326)の承認を得た後、実施した。

C . 研究結果

1 . 油症 2 世の臨床像 :

油症 2 世の臨床像を表 1 に示す。検査時の年齢の中央値 (範囲) は、37 才 (9-47 才) であった。油症曝露状況では、母親曝露 (両親曝露を含む) が 28 例 (84.8%)、父親曝露 (両親曝露を含む) が 10 例 (30.3%) であった。油症発生から出生までの期間の中央値 (範囲) は、8 年 (0-33 年) であった。油症 2 世およびその母親の血中 PeCDF 濃度の中央値 (範囲) は、各々 8.0 pg/g lipid (2.0-45.6 g/g lipid)、42.0 pg/g lipid (3.7-692.9 g/g lipid) であった。

2 . 血中 AMH 濃度 :

油症 2 世における血中 AMH 濃度の中央値 (範囲) は、1.80 ng/mL (<0.02-11.10 ng/mL) であった。血中 AMH 濃度 (z-score) の年齢別分布を図 1 に示す。油症 2 世における血中 AMH 濃度 (z-score) の中央値 (範囲) は、-0.88 (-2.13-5.56) であった。

3 . 油症曝露状況との関連 :

油症 2 世における血中 AMH 濃度 (z-score) と油症曝露状況との関連を表 2 に示す。油症 2 世の血中 AMH 濃度は、油症発生から出生までの期間と有意に正の相関を認めた。また、血中 PeCDF 濃度との関連においては、油症 2 世の血中 PeCDF 濃度と有意な相関はない ($p=0.5048$) が、母親の血中 PeCDF 濃度と有意な負の相関 ($p=0.0390$) を認めた (図 2)。さらに、油症発生から出生までの期間の影響を取り除いた出生時の母親推定血中 PeCDF 濃度においても、血中 AMH 濃度と有意な負の相関 ($p=0.0052$) を認めた (図 2)。

D . 考察

ダイオキシン類が生殖機能に及ぼす影響については、ラットを用いた動物実験では、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo dioxine (TCDD) 曝露により卵胞形成や排卵を障害すること、また卵巣でのエストロゲンの産生を抑制することが報告されている⁷⁾。さらに、妊娠ラットへの TCDD 曝露により次世代の雌においても血中エストロゲン濃度の低下、卵胞刺激ホルモン濃度の上昇をきたすことが報告されている⁸⁾。

一方、ヒトが高濃度のダイオキシン類に曝露した事例での観察では、Seveso の農薬工場の爆発事故で高濃度の TCDD に曝露した群では対照群と比較して閉経年齢が早くなることが報告されている⁹⁾。油症患者においては、油症曝露女性の血中エストロゲン濃度が低下していること¹⁰⁾、また自然閉経年齢はわが国における平均閉

経年齢と差異はないものの、早発閉経の頻度は高くなること¹¹⁾が報告されている。このようにヒトにおいてもダイオキシン類曝露では、卵胞形成やエストロゲン産生などの卵巣機能を障害する可能性が示唆されている。しかしながら、ダイオキシン類曝露が次世代の卵巣機能に及ぼす影響についてはこれまで検討がなされていない。

今回の観察から、油症2世における血中AMH濃度は、油症2世の血中PeCDF濃度と有意な相関はないが、母親の血中PeCDF濃度、なかでも出生時推定血中PeCDF濃度と有意に負の相関を認めることが明らかになった。われわれは、これまでに油症患者と油症2世双方の血中ダイオキシン類濃度の観察を介して、油症発症後30年以上経過した時点においても油症患者である母親の血中PeCDF濃度は、正常健常人の約30倍の濃度であったが、油症2世の血中PeCDF濃度は、正常健常人の値と有意な差はないことを報告している¹²⁾。今回の検討においても、油症2世の血中PeCDF濃度は、正常健常人の値(17 pg/g lipid)¹³⁾の約0.5倍(範囲0.1-2.6倍)で、その母親の血中PeCDF濃度は、正常健常人の約2.5倍(範囲0.2-41倍)とこれまでの報告と同様の傾向を示した。これらのことから、油症2世のなかで、母親が油症に曝露した場合には、胎児期に高濃度のダイオキシン類の曝露を受け、血中AMH濃度に影響を及ぼしているのではないかと考えられた。

血中AMH濃度は卵巣の原始卵胞の量と相関することが報告されている²⁾。ヒト卵巣における原始卵胞は、胎児期より形成され、妊娠5ヶ月には600~700万個に達するが、その後減少し、出生時には100万~200万個となり、出生後もさらに減り続け、月経のはじまる思春期には約30万個になることが報告されている¹⁴⁾。これらの成績から、胎児期は原始卵胞の形成に

重要な時期であり、この胎児期における油症曝露が原始卵胞の形成障害をきたし、出生後にも血中AMH濃度が低値を示すなど卵巣の予備能に影響を及ぼすことが推察された。

血中AMH濃度は、早発閉経の診断や不妊の治療方針の決定などに役立つことが報告されている⁴⁾。しかしながら、このAMH値は年齢とともに減少する傾向はあるものの、年齢に対しては正規分布を示さず、同一年齢層における標準偏差も非常に大きいことから、AMH値は基準値を設定し、正常か異常かを診断する値ではないと考えられている^{15,16)}。また、AMH値と妊娠しやすさは相関しないことから、AMH値による卵巣予備能の評価は、妊孕性の評価ではなく、残存する卵胞の数の評価であることが報告されている^{16,17)}。油症2世から出生した児(油症3世)においては、母親である油症2世の血中ダイオキシン類濃度が正常レベルであるため胎児期に高濃度のダイオキシン類曝露を受けていないと考えられるが、今後、油症曝露による継世代的な健康影響を観察する上で、油症2世の卵巣機能や生殖機能について注意深く見守ることが重要であると考えられた。

E . 結論

油症2世における血中AMH濃度は、母親の血中PeCDF濃度と有意な負の相関を認めた。胎児期における油症曝露が油症2世の卵巣の予備能に影響を及ぼすことが示唆された。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, Todaka T, Kajiwara J, Shimose T, Akahane M, Imamura T, Furue M. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int.

2017 in press.

- 2) Morokuma S, Tsukimori K, Hori T, Kato K, Furue M. The Vernix Caseosa is the Main Site of Dioxin Excretion in the Human Foetus. *Sci Rep.* 7(1):739, 2017.

2 . 学会発表 なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

- 1 . 特許取得
なし
- 2 . 実用新案登録
なし
- 3 . その他
なし

H . 参考文献

- 1) Ulbrich B et al. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. *Arch Toxicol.* 78:483-487, 2004.
- 2) La Marca A, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod.* 24(9): 2264-2275, 2009.
- 3) Tsepelidis S, et al. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod.* 22(7):1837-1840, 2007.
- 4) Broer SL, et al. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.* 20(5):688-701, 2014.
- 5) Helden JV, et al. Age-independent anti-Müllerian hormone (AMH) standard deviation scores to estimate ovarian function. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 213:64-70, 2017.
- 6) Tsukimori K, et al. Long-Term Effects of Polychlorinated Biphenyls and Dioxins on Pregnancy Outcomes in Women Affected by the Yusho Incident. *Environ Health Persp* 116:626-630, 2008.
- 7) Patel S, et al. Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on the Ovary. *Biol Reprod.* 93(1):20, 2015.
- 8) Myllymäki SA, et al. In utero and lactational exposure to TCDD; steroidogenic outcomes differ in male and female rat pups. *Toxicol Sci.* 88(2):534-544, 2005.
- 9) Eskenazi B, et al. Serum dioxin concentrations and age at menopause. *Environ Health Perspect.* 113(7):858-862, 2005.
- 10) 辻博、池田正春 . 油症における性腺機能の検討 . 福岡医誌 98(5);166-169, 2007.
- 11) 月森清巳 . 油症患者における婦人科疾患の研究 . 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究 . 平成 20 年度分担研究報告書 . 111-113, 2008 .
- 12) Tsukimori K, et al. Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children. *Chemosphere.* 84(7):928-935, 2011.
- 13) Todaka T, et al. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Chemosphere.* 66(10):1983-1989, 2007.
- 14) Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in the human ovaries. *Proc R Soc Biol Sci.* 158:417-433, 1963.
- 15) Seifer DB, et al. Age-specific serum anti-Müllerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil Steril.* 95(2):747-750, 2011.
- 16) 浅田 義正 . 生殖医療における AMH の

臨床応用 . 産婦人科治療 102;781-787,
2011.

- 17) Steiner AZ, et al. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. JAMA. 318(14): 1367-1376, 2017.

表 1 油症 2 世の臨床像

項目	中央値 (範囲)
年齢(才)	37 (9-47)
BMI	20.6 (14.2-27.8)
喫煙習慣あり	10 (30.3%)*
油症曝露状況	
母親曝露	28 (84.8%)*
父親曝露	10 (30.3%)*
油症発生から出生までの期間(年)	8 (0-33)
血中PeCDF濃度(pg/g lipid)	
油症2世血中PeCDF濃度	8.0 (2.0-45.6)
母親血中PeCDF濃度	42.0 (3.7-692.9)
出生時母親推定血中PeCDF濃度	609.2 (3.7-20558.4)

* , 症例数 (%)

表 2 油症 2 世における血中 AMH 濃度に関連する因子 (単回帰分析)

変数	AMH (z-score)		
	回帰係数	相関係数	P
年齢(才)	-0.0461	0.2913	0.1000
BMI	-0.1007	0.1876	0.2957
喫煙習慣あり	0.3223	0.0852	0.6372
油症曝露状況			
母親曝露	-1.3264	0.2737	0.1233
父親曝露	-0.0780	0.2012	0.9069
油症発生から出生までの期間(年)	0.0629	0.3509	0.0453
血中PeCDF濃度(pg/g lipid)			
油症2世血中PeCDF濃度	0.6293	0.1203	0.5048
母親血中PeCDF濃度	-1.0840	0.3854	0.0390
出生時母親推定血中PeCDF濃度	-0.9130	0.5046	0.0052

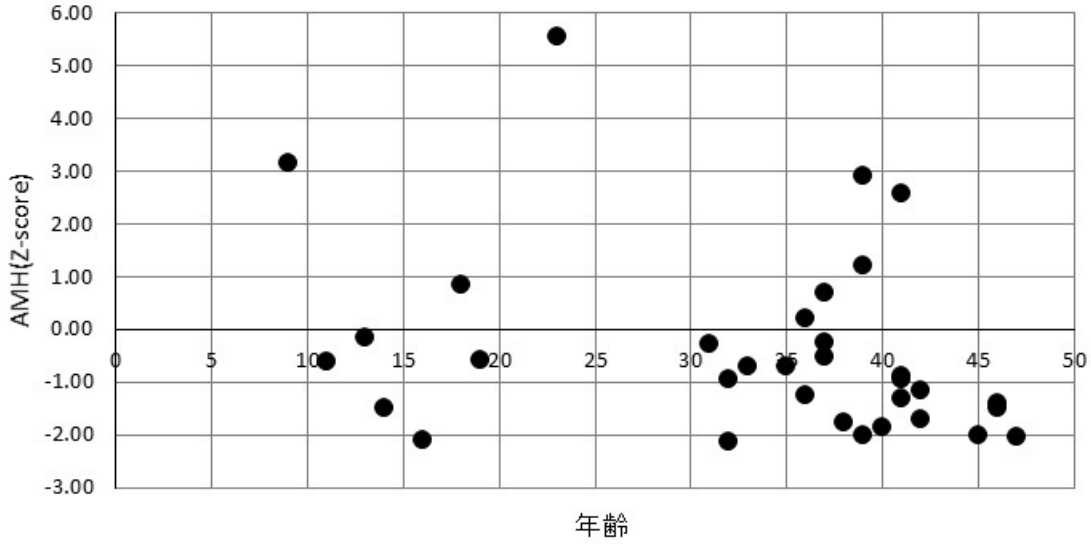


図1 油症2世における血中AMI濃度(z-score)の年齢別分布

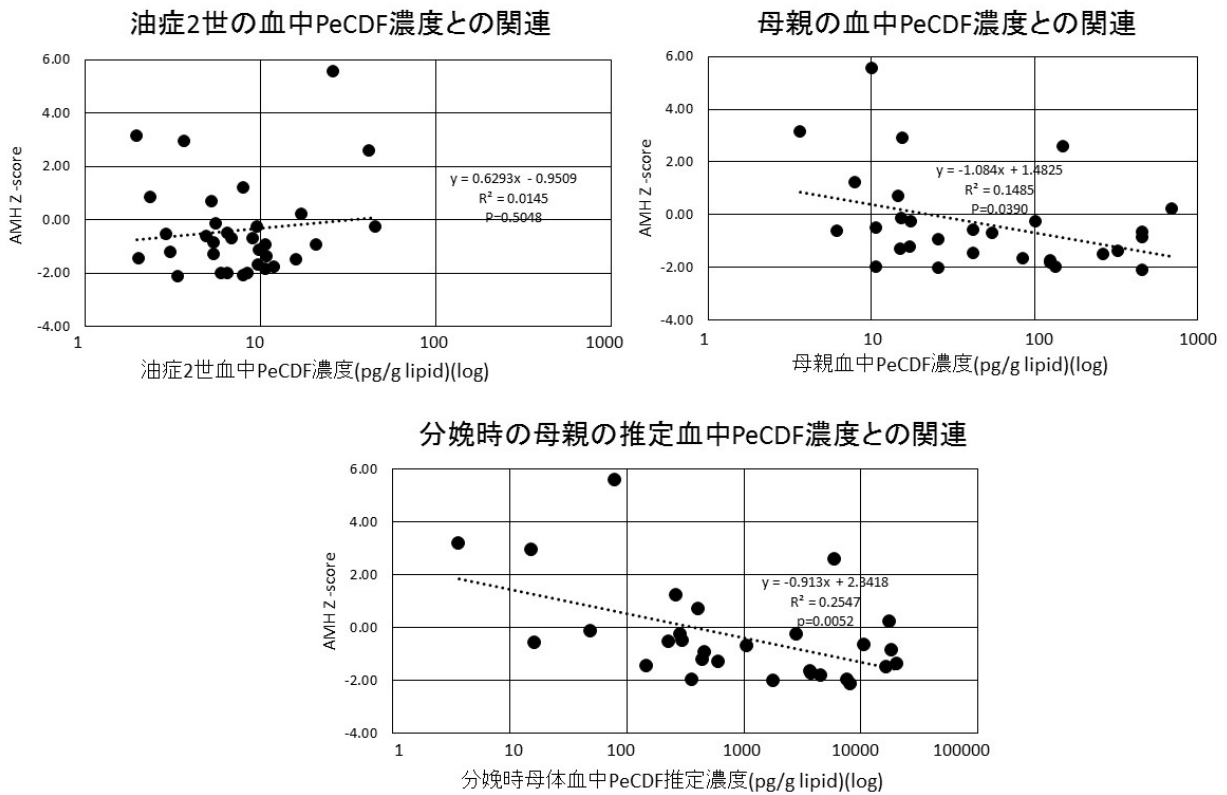


図2 油症2世における血中AMI濃度(z-score)と血中PeCDF濃度との関連