

環境と健康の調和 ～分子から社会へのアプローチ～

名古屋大学大学院医学系研究科

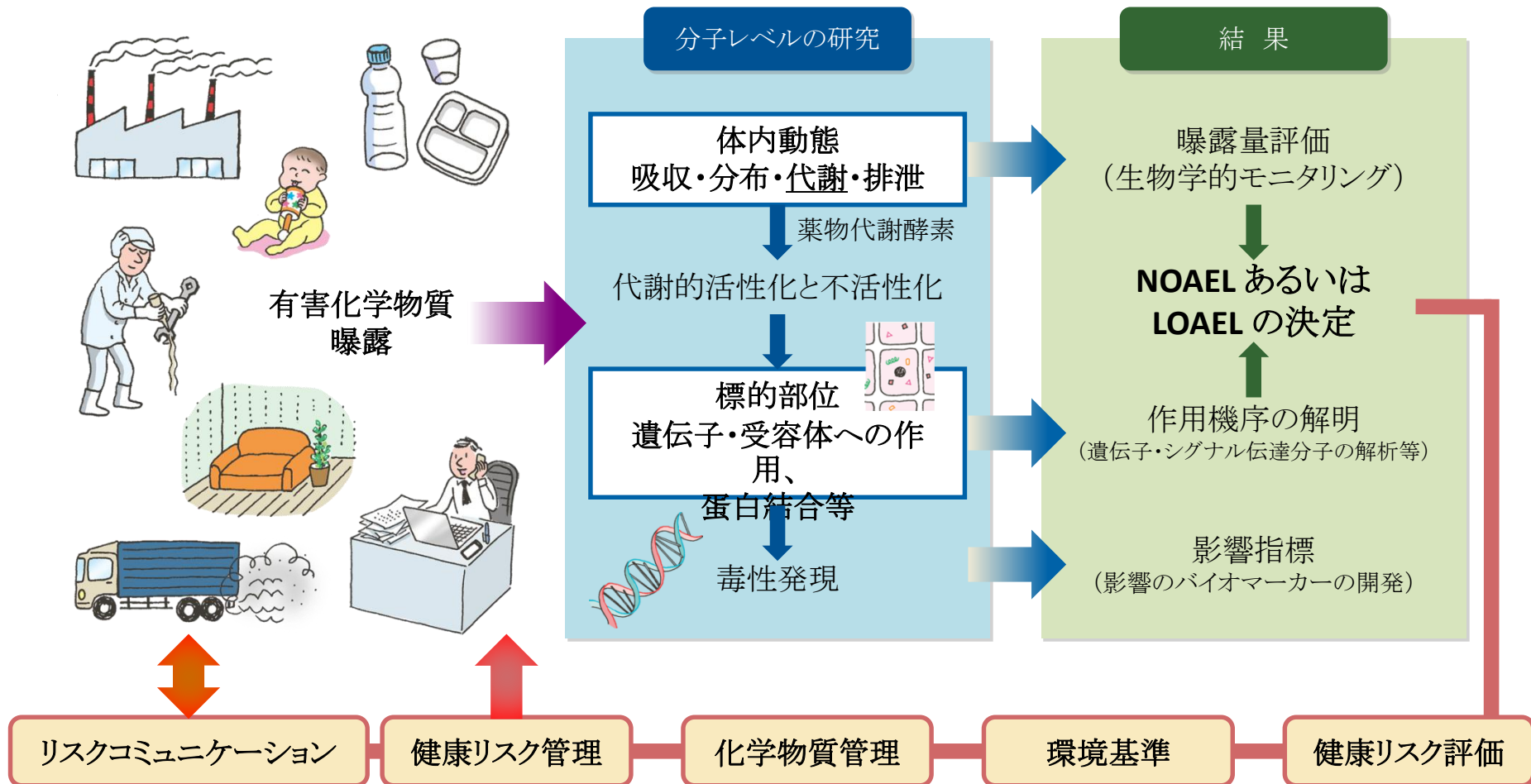
環境労働衛生学

那須 民江

2012.3.29



環境と健康の調和 ～分子から社会へのアプローチ～



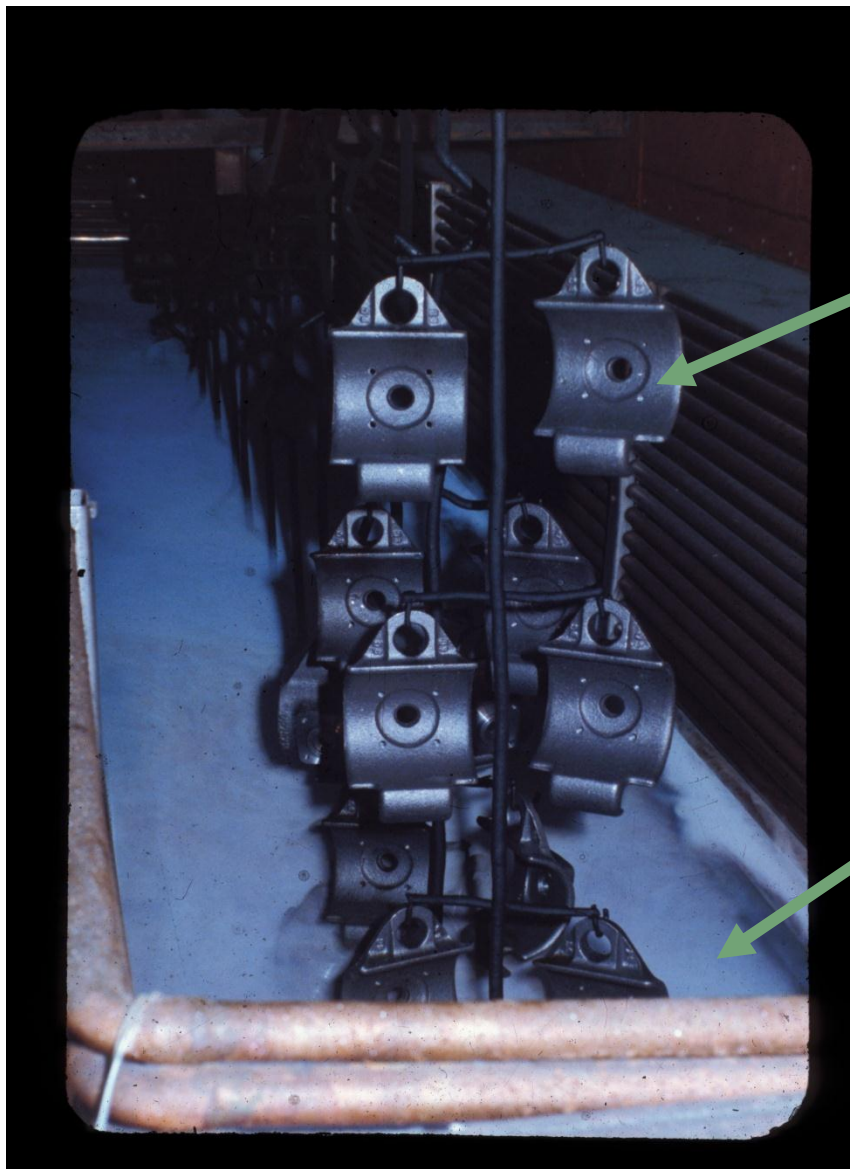
環境化学物質

- トリクロロエチレン (TRI・有機溶剤)
- ベンゼン (有機溶剤)
- フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP・可塑剤)
- スチレントリマー (ST-1・ポリエチレン容器溶出物質)
- ピレン (大気汚染物質)
- ペルメトリン (ピレスロイド系殺虫剤)
- ダイアジノン (有機リン系殺虫剤)
- ビスフェノールA (樹脂原料)
- ペルフルオロオクタン酸 (PFOA・ポリテトラフルオロエチレン合成添加剤)
- ディーゼル排気ナノ粒子 (NR-DE) (大気汚染物質)
- 3-メチル-4-ニトロフェノール (大気汚染物質・農薬代謝物)
- ペンタクロロフェノール (PCP・農薬)
- ヒ素 (2型糖尿病)
- アルコール性 (ASH) ・ 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)



トリクロロエチレンによる 肝障害

事例 トリクロロエチレンによる急性中毒(67歳男性、塗装業)



塗装前の洗浄

トリクロロエチレン蒸気

冷却パイプ

トリクロロエチレンのよる肝障害の事例 (67歳男性、塗装業)

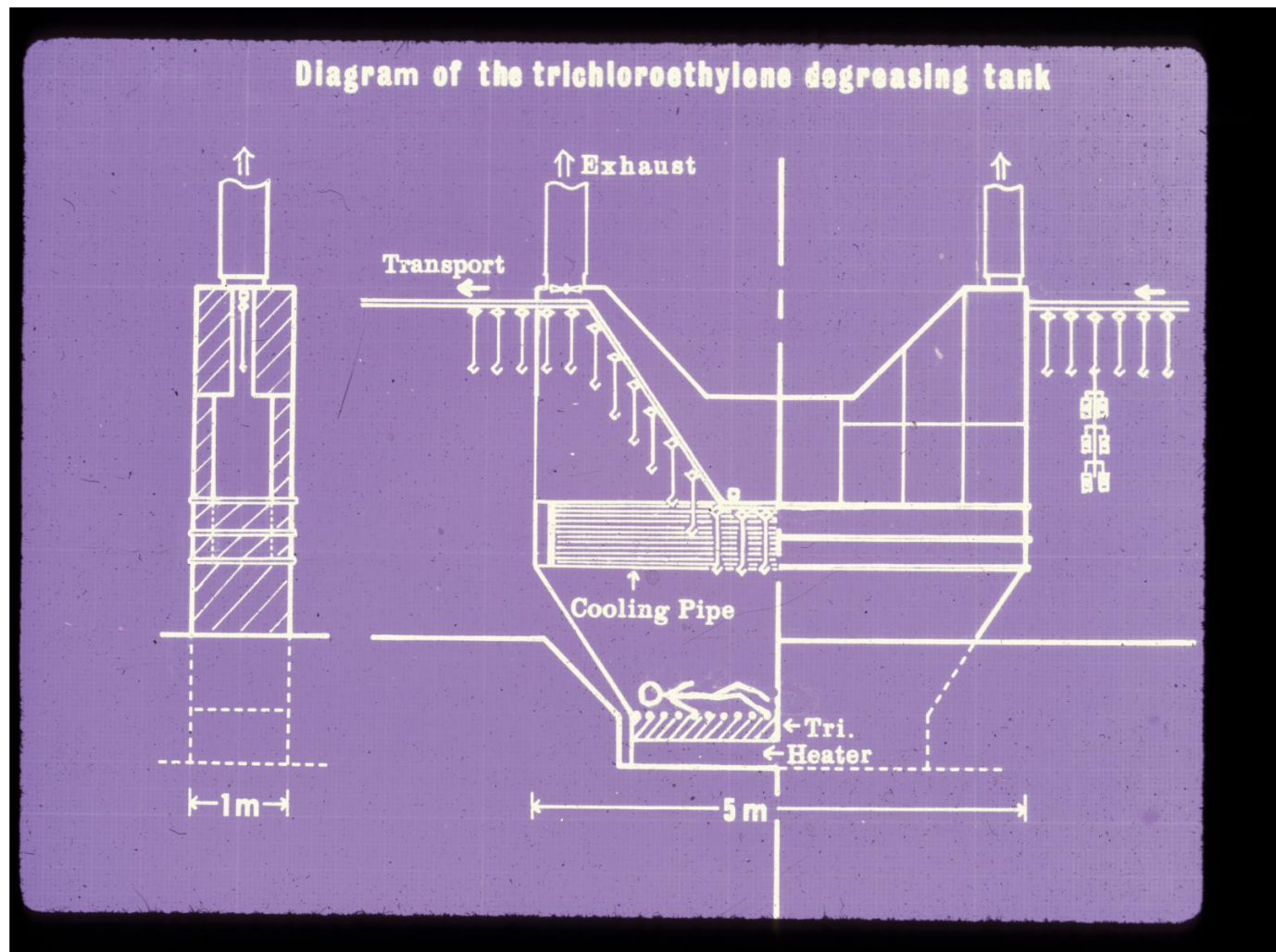


表 1 Laboratory findings on admission

Hematology		Uric acid	6.3 mg/dl	T.Bil.	0.6 mg/dl
RBC	$434 \times 10^4/\text{mm}^3$	Electrolytes		Al-P	5.9 K.A.U.
Hb	13.9 g/dl	Na	144 mEq/L	<u>Amylase</u>	<u>1434 S.U.</u>
Ht	39.7%	K	4.4 mEq/L	<u>GOT</u>	<u>107 K.U.</u>
Plat	$18.3 \times 10^4/\text{mm}^3$	Cl	109 mEq/L	<u>GPT</u>	<u>40 K.U.</u>
<u>WBC</u>	<u>14000/mm³</u>	Ca	3.82 mEq/L	LDH	430 mU/ml
St	38.0%	P	3.3 mg/dl	γ -GTP	29 mU/ml
Sg	53.5%	Fe	110 $\mu\text{g}/\text{dl}$	Ch-E	1.17 ΔpH
Ly	7.5%	T.P.	6.7 g/dl	<u>CPK</u>	<u>2028 mU/ml</u>
Mo	1.0%	Alb.	56.8%	Blood gas	
ESR	16 mm/hr	α_1 -Gl.	2.3%	pH	7.341
Urine	n.p.	α_2 -Gl.	9.8%	PaCO ₂	26.4 mmHg
Stool	n.p.	β -Gl.	12.4%	PaO ₂	70.9 mmHg
Biochemistry		γ -Gl.	18.7%	HCO ₃ ⁻	13.9 mEq/L
BUN	18 mg/dl	T.Chol.	164 mg/dl	BE	-10.0 mEq/L
Creatinine	1.5 mg/dl	T.G.	93 mg/dl		

トリクロロエチレンによる肝障害

- 急性肝障害

- アレルギー性肝障害

 - 〔遅延性 **Hypersensitivity**

 - 〔自己免疫性肝炎

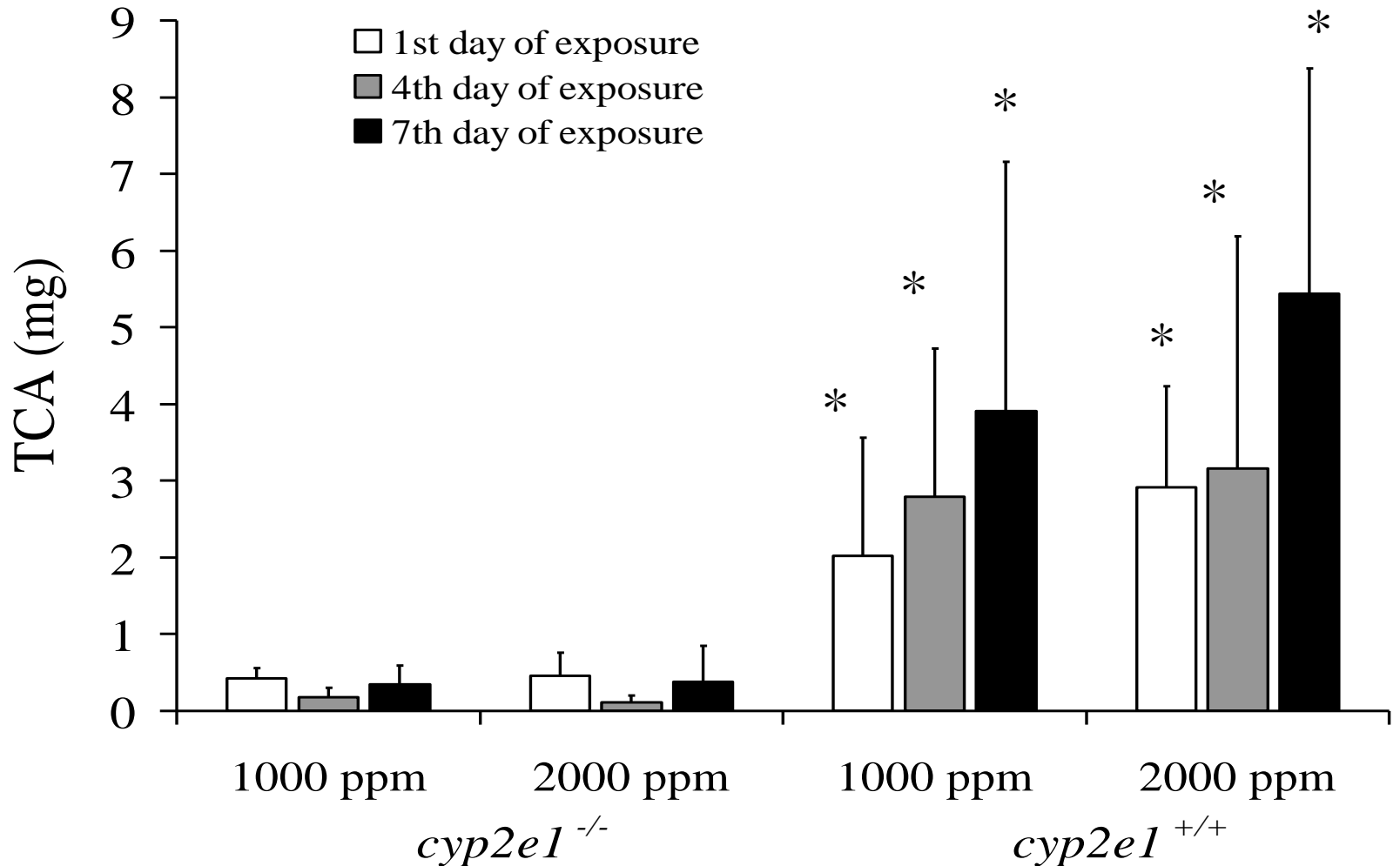




トリクロロエチレンによる 急性肝障害とCYP2E1

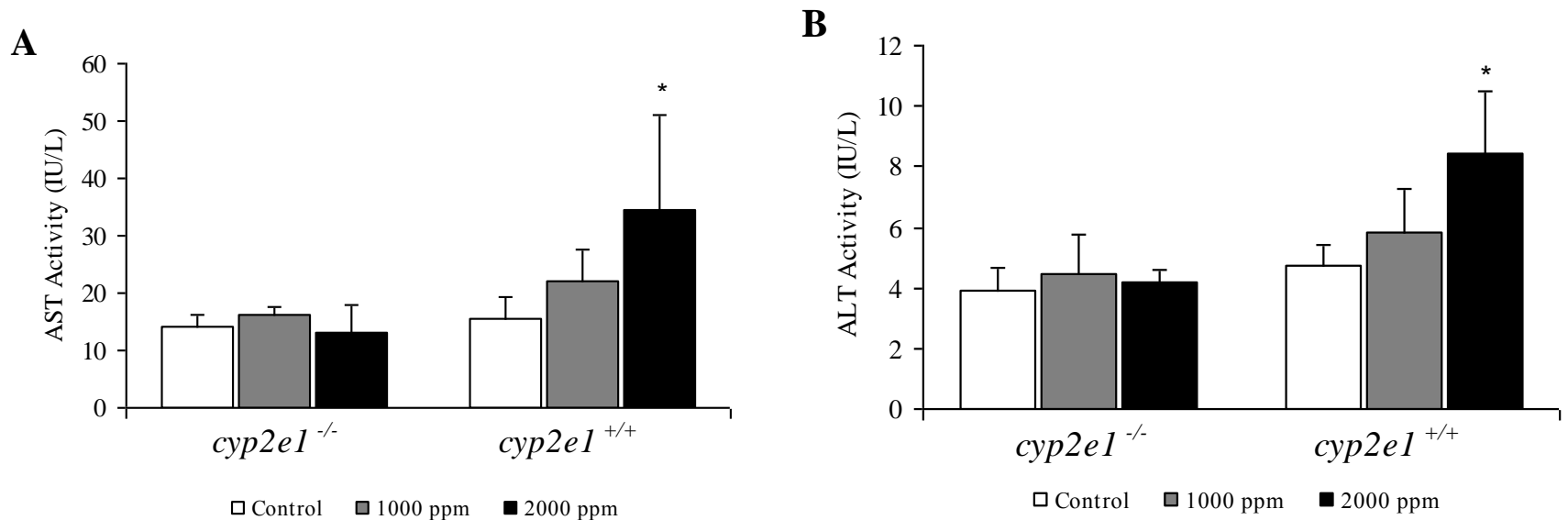
遺伝子改変動物(ノックアウト動物)を使用した研究

B



Ramdhan et al., Toxicol Appl Pharmacol (2008)

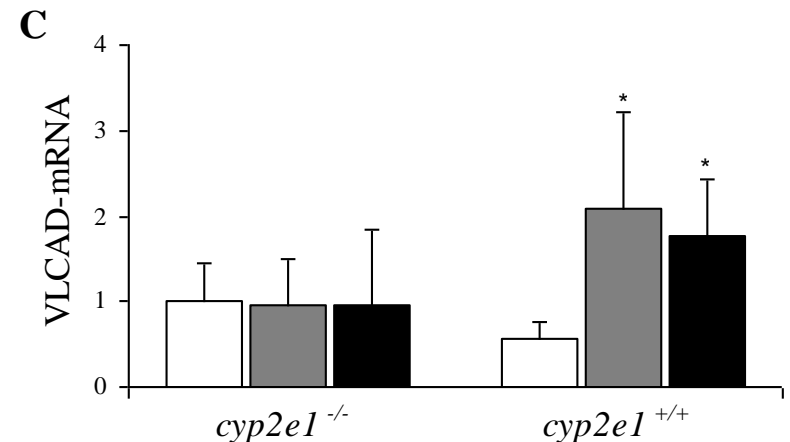
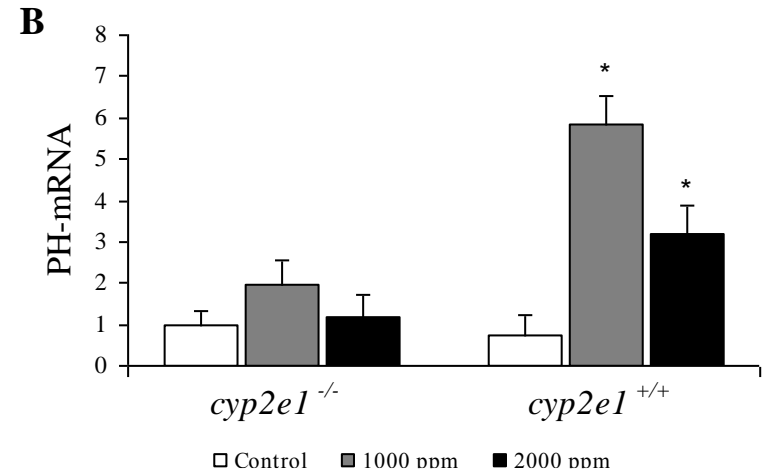
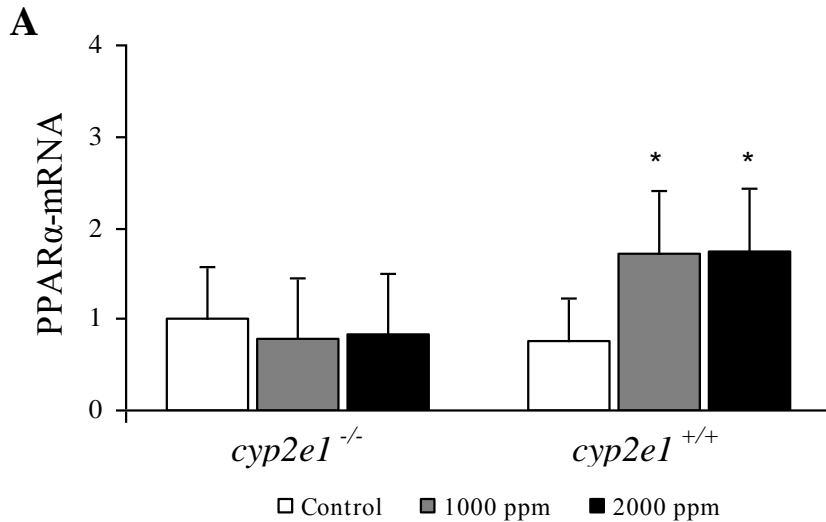
CYP2E1-nullマウスにおける トリクロロエチレン肝障害



野生型マウスでは肝障害が起こるが、CYP2E1ノックアウトマウスでは起こらない

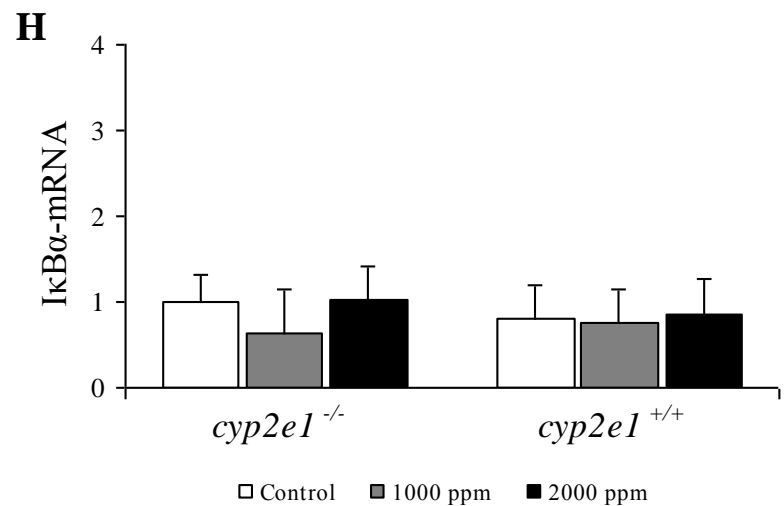
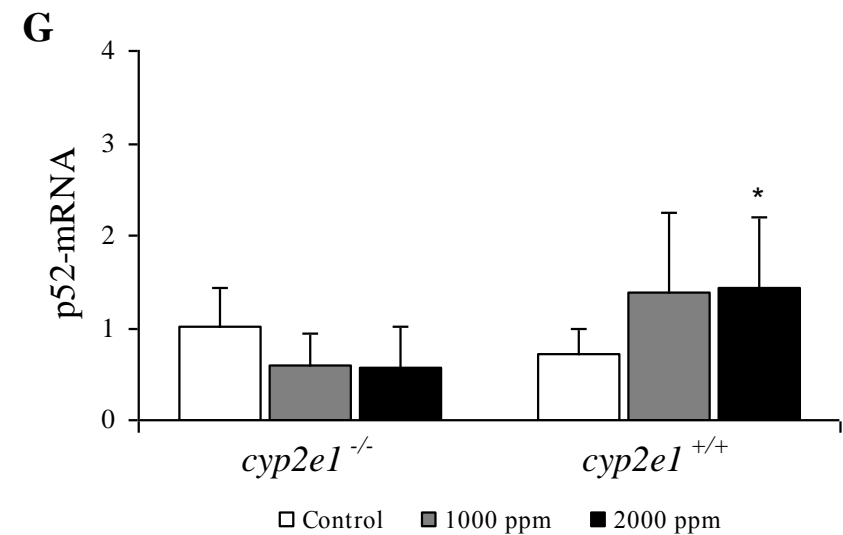
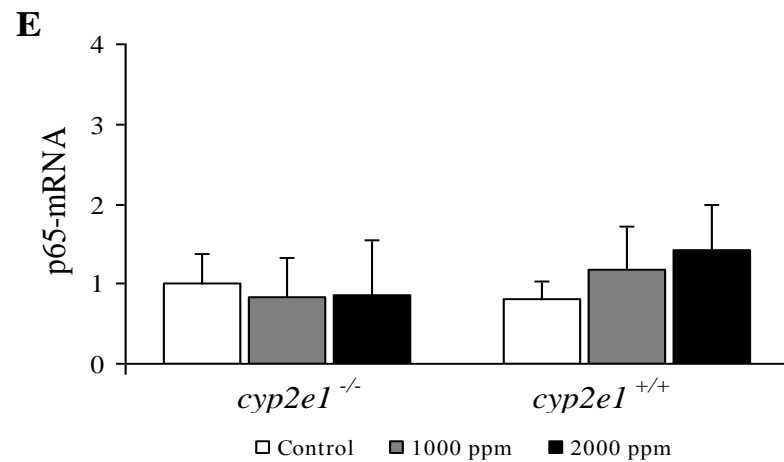
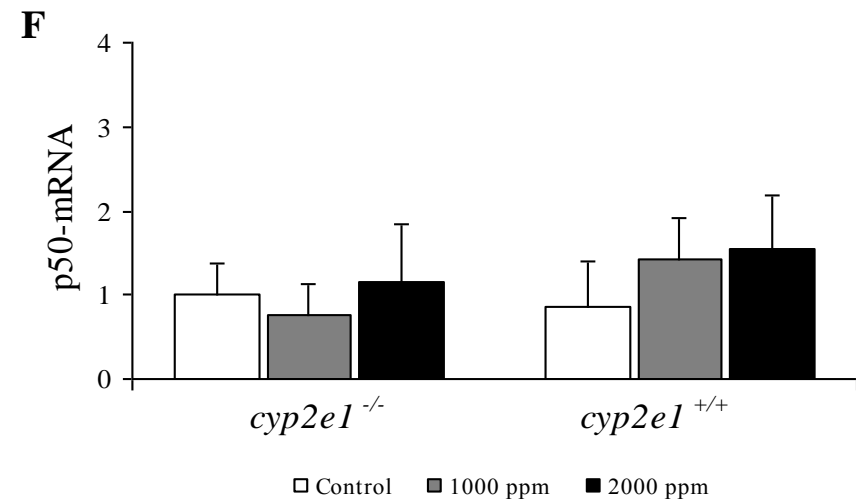
Ramdhan et al., Toxicol Appl Pharmacol (2008)

CYP2E1とトリクロロエチレンによる PPAR α 転写活性化

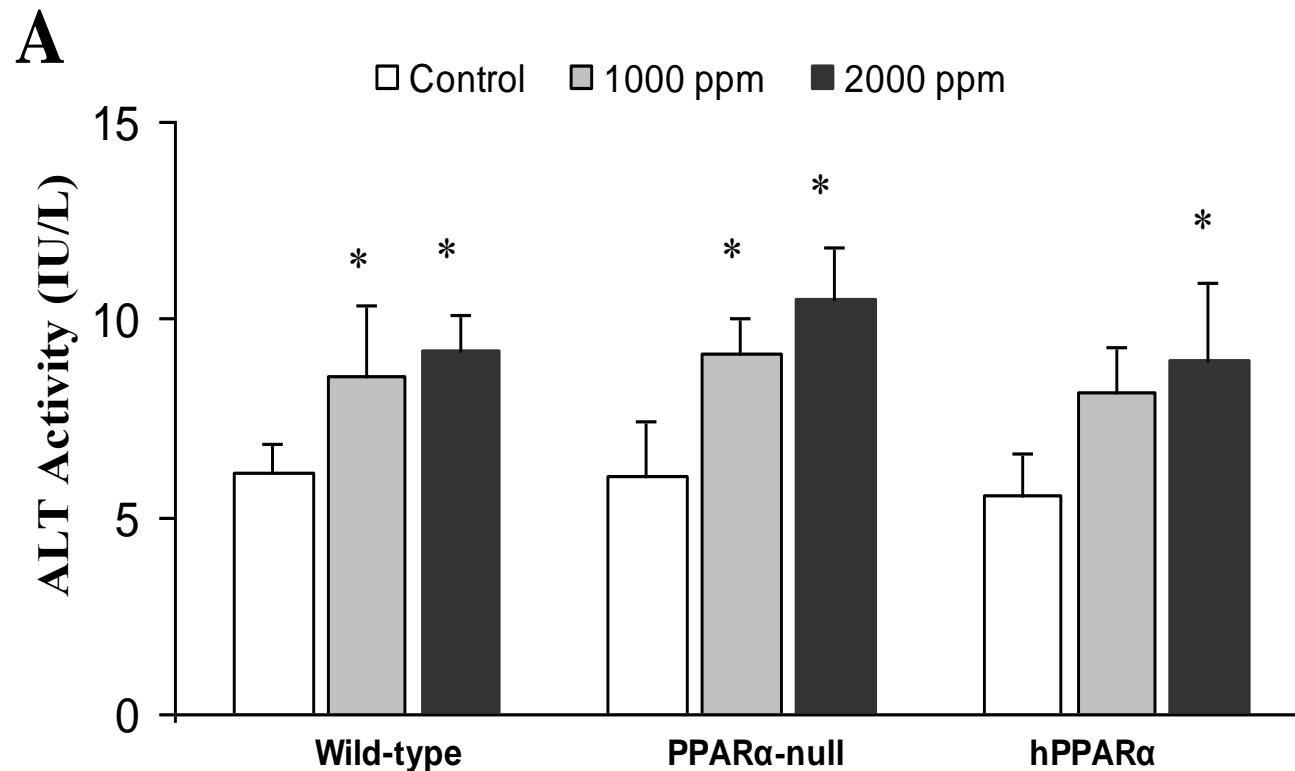


野生型マウスではPPAR α およびその
標的遺伝子発現が誘導される

CYP2E1とトリクロロエチレンによる 肝炎のメカニズム

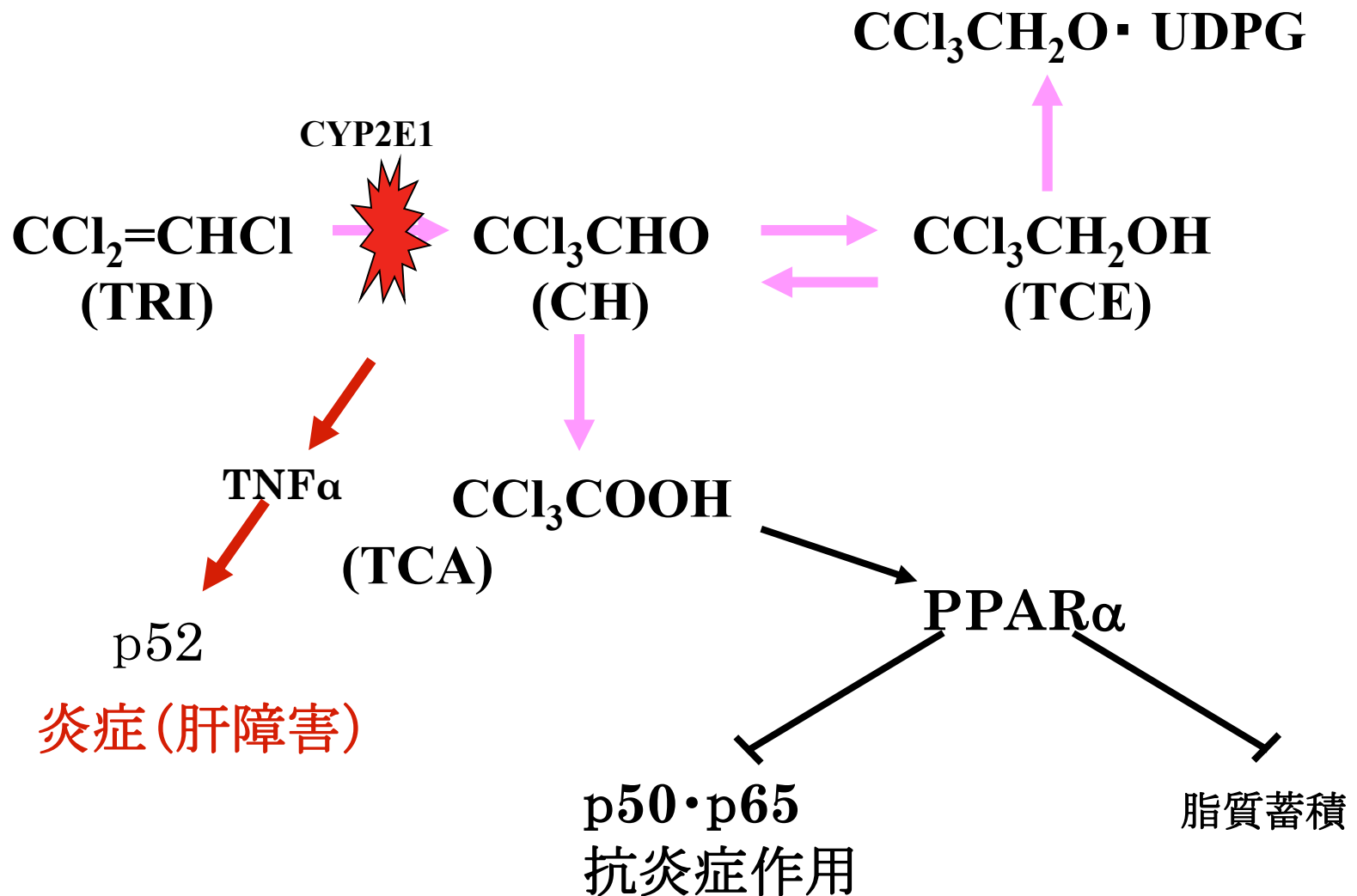


PPAR α とトリクロロエチレンによる 肝障害



Ramdhan et al., Environ Health Perspect (2010)

トリクロロエチレンの代謝と肝障害発生のメカニズム





トリクロロエチレンによる
Hypersensitivity



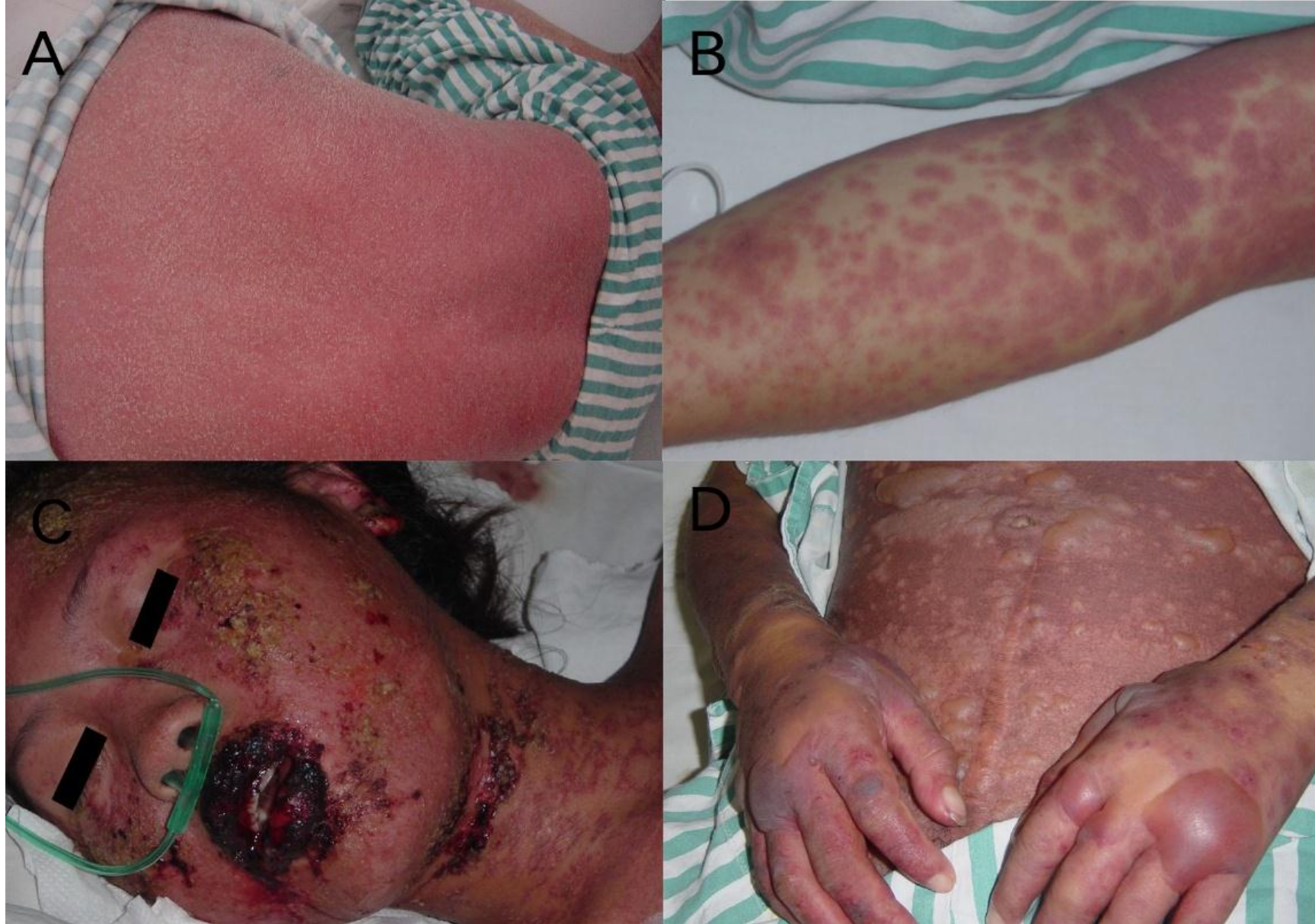


Fig. 1. Typical skin manifestations of TRI-related generalized skin disorders.

(A) 剥脱性皮膚炎; ED. (B) 多形紅斑; EM.

(C) Stevens-Johnson症候群; SJS. (D) 中毒性表皮壞死融解症; TEN.

患者発生職場の労働衛生調査

2002年12月19,20日、中国南部の患者発生職場

A: 洗浄および洗浄後の部品清拭

B: 洗浄機への部品送り出しおよび部品取り出し

C: プレス成型

D: ブラシでの手洗浄

調査項目: 個人曝露濃度、尿中代謝物、自覚症状

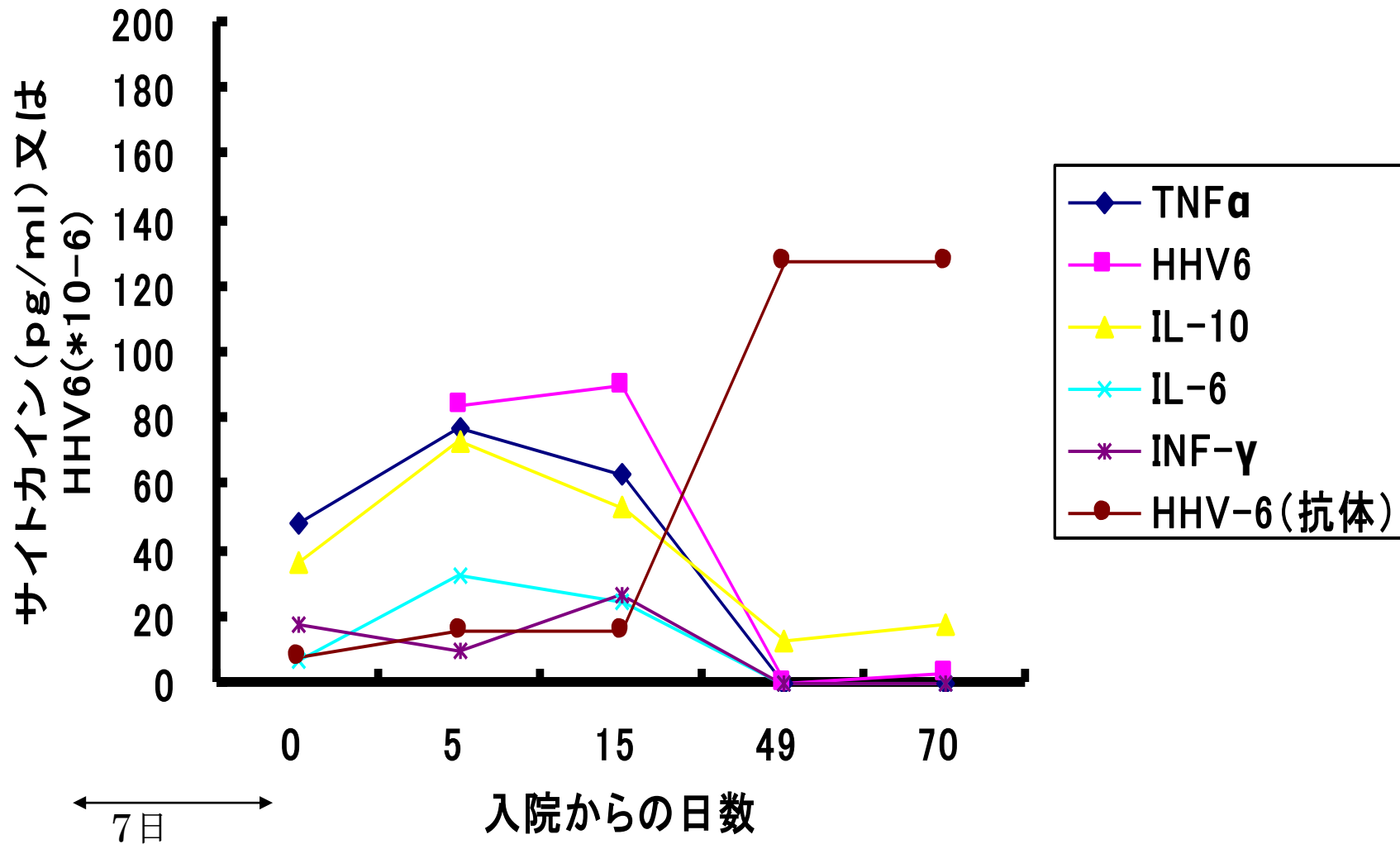


患者に高頻度で見られる所見

- 1) 肝障害
 - 2) 肝(脾)腫大
 - 3) 黄疸
 - 4) 発熱
 - 6) 好酸球増多
 - 7) サイトカイン(TNF α 、IL-10など)の上昇
 - 8) ヒトヘルペルウイルス6型(HHV6)の再活性化
(HHV7も再活性化している)
 - 9) HLA-B*1301が多い
 - 10) トリクロロエチレン使用開始から約1カ月以内に
発症
-

F, 16;AST 989IU/L、ALT 1012IU/L(入院時)

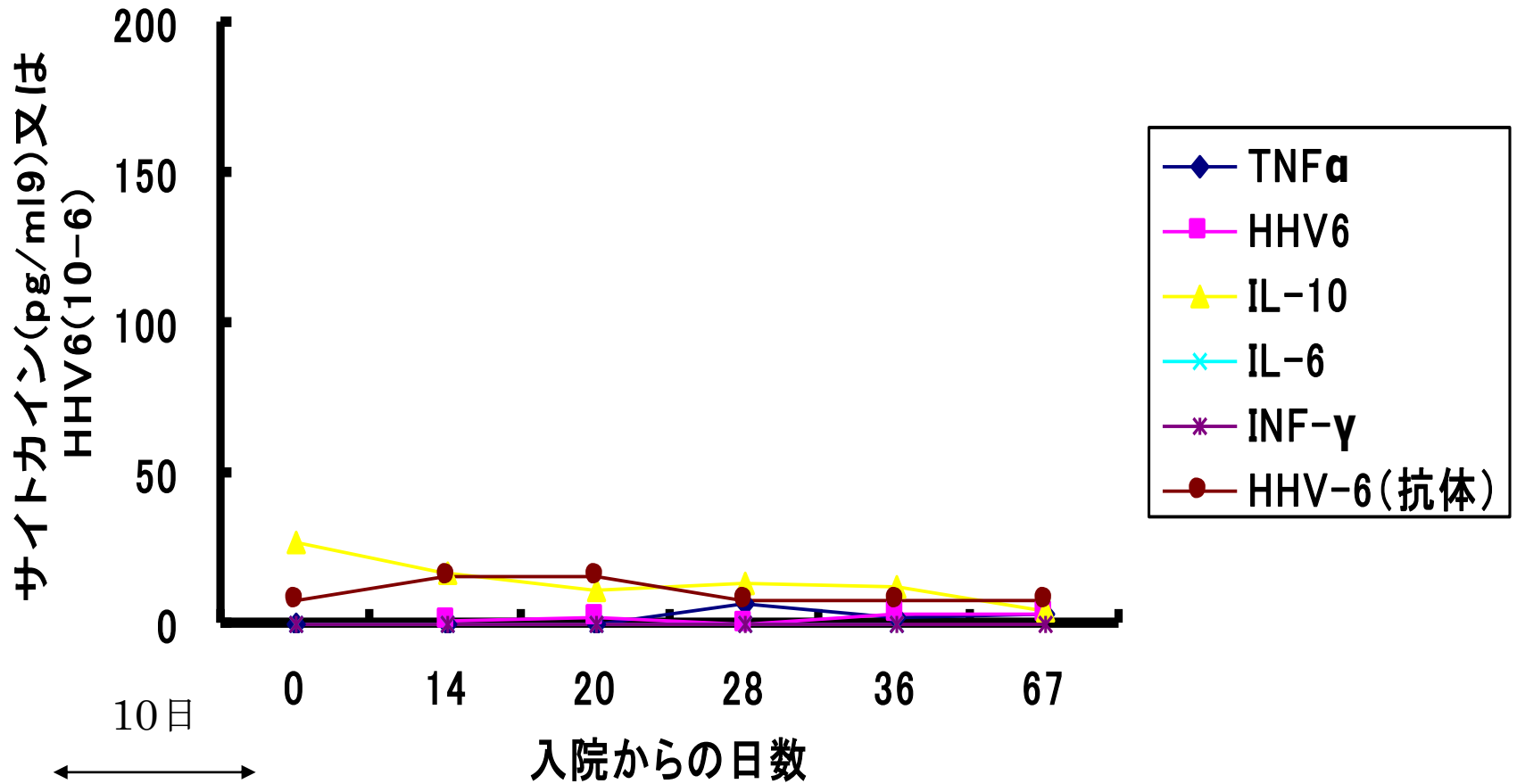
患者<501剥脱性皮膚炎>



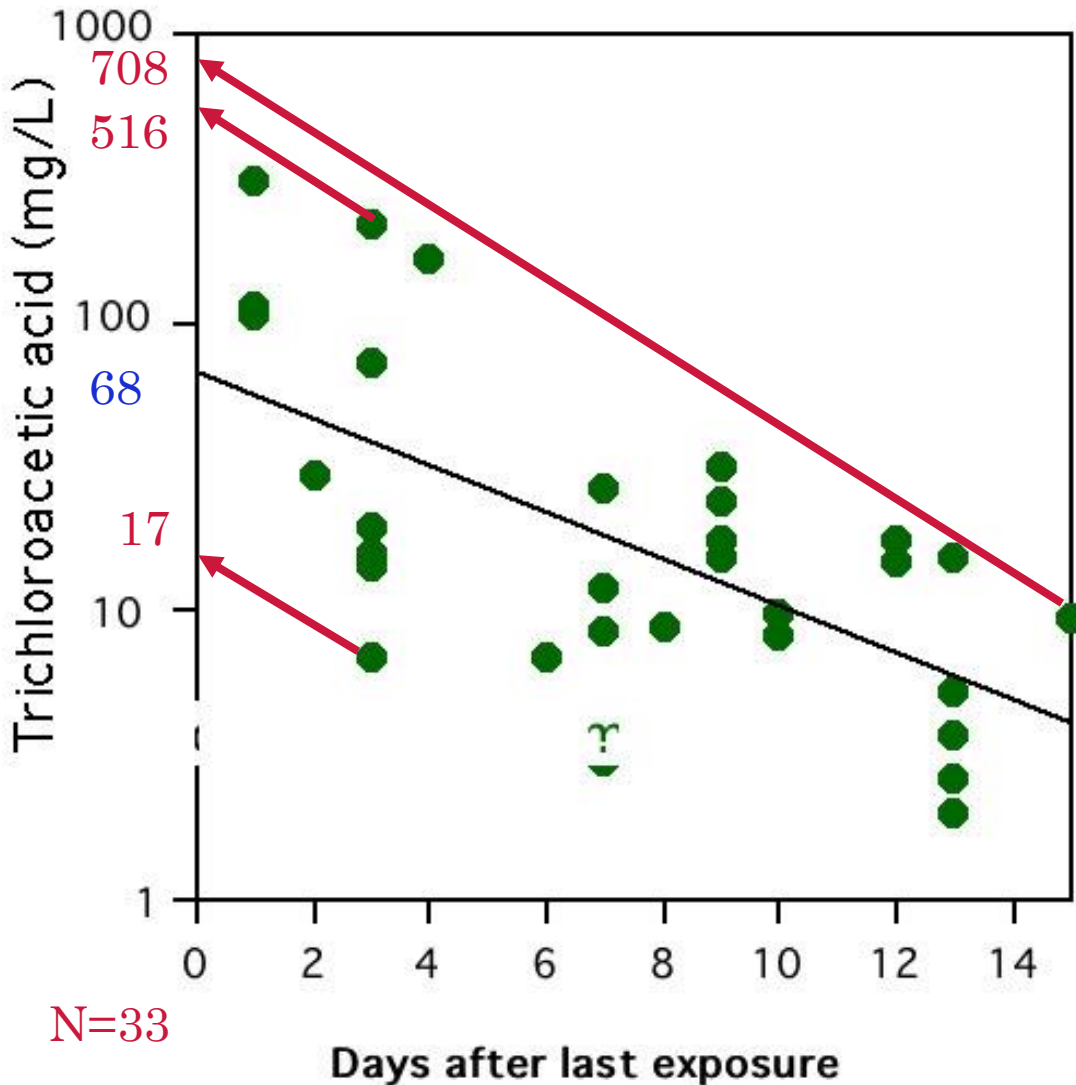
TCA:8.1mg/l



患者(507)多型紅斑 (M32、AST7575、ALT6245),



結果(1)患者の尿中トリクロロ酢酸(2005年)



○ 2005-2006年の患者の推定濃度範囲は17~708 mg/L

(Ikeda and Imamura, 1973の方法)

○ 日本産業衛生学会の生物学的許容値は50mg/L

患者と健康労働者の尿中TCA

尿中TCA

患者

健康労働者

(2002~2009)

(2009)

50mg/L以上

68

28

50mg/L未満

13

42

患者：Ikeda and Imamura, 1973の方法

健康労働者：作業終了後採尿

HLA-B*1301多型

	Hypersensitivity 患者	健康労働者
HLA- B*1301 多型あり	55 (67%)	8 (6%)
HLA- B*1301 多型なし	27 (33%)	123 (94%)


HLA-B*1301のオッズ比は31.3

尿中TCAとHLA-B遺伝子多型

	Case	Control
全遺伝子型	30/38 (480 ± 930)	30/118 (57 ± 159)
HLA-B* 1301	22/27 (525 ± 1058)	0/8 (16 ± 10)

尿中TCAが生物学的許容値50mg/Lを超えた者の数/総数

Caseの尿中TCAは：Ikeda and Imamura, 1973の方法を用いて推測した
括弧内の数値は作業終了後の尿中TCA(mg/L)平均±標準偏差



モルモットを用いたマキシミ ゼーションテスト

Guinea Pig Maximization Test (GPMT)

- Hartleyモルモット(雌雄各曝露群10個体)
- それぞれTrichloroethylene(TRI), Trichloroacetic acid(TCA), Trichloroethanol(TCE)に対する感作試験を行った。



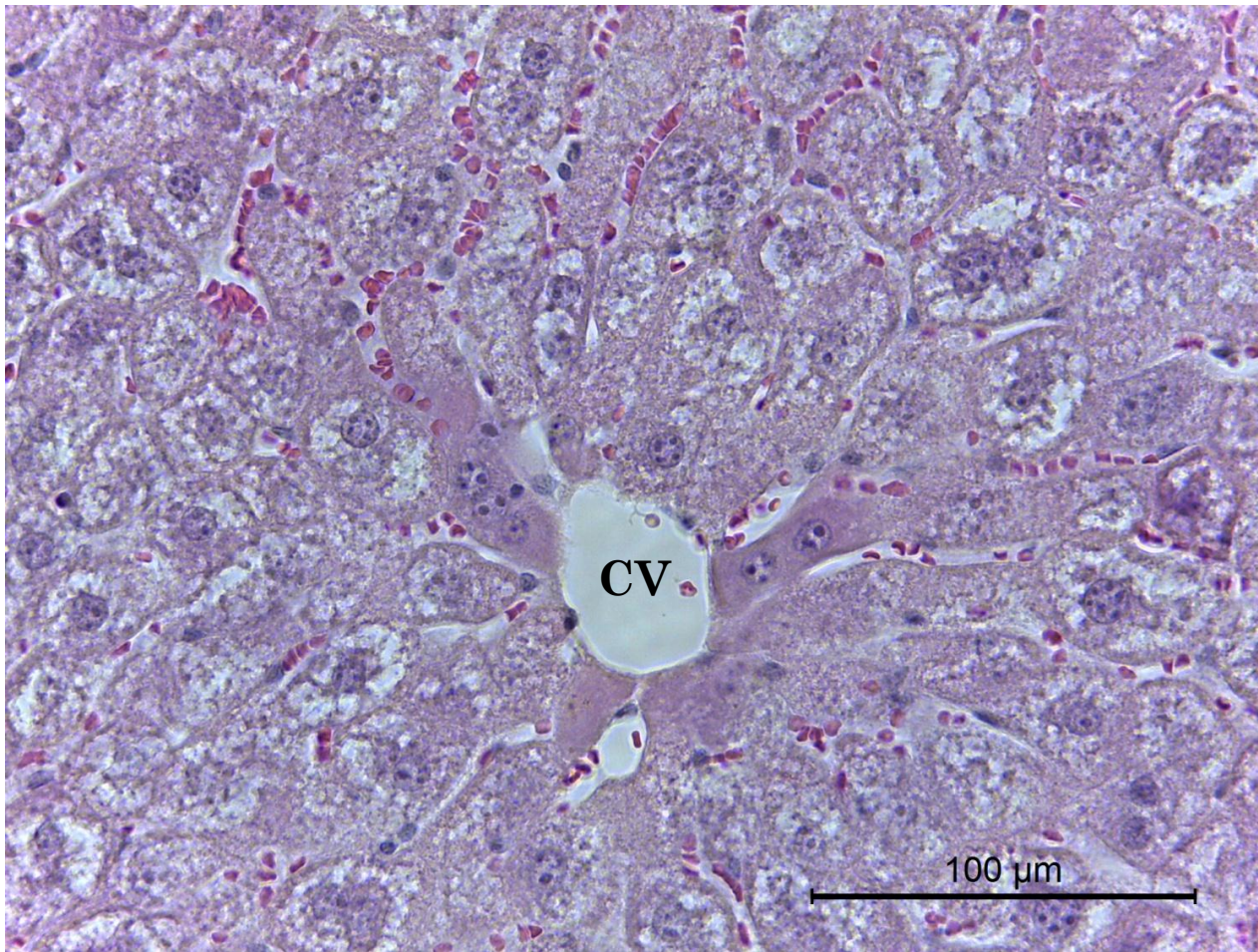
• 化学物質濃度

	TRI	TCA	TCE
皮内注射	5%	0.5%	2.5%
塗布1回目	40%	5%	20%
塗布2回目	20%	2.5%	10%

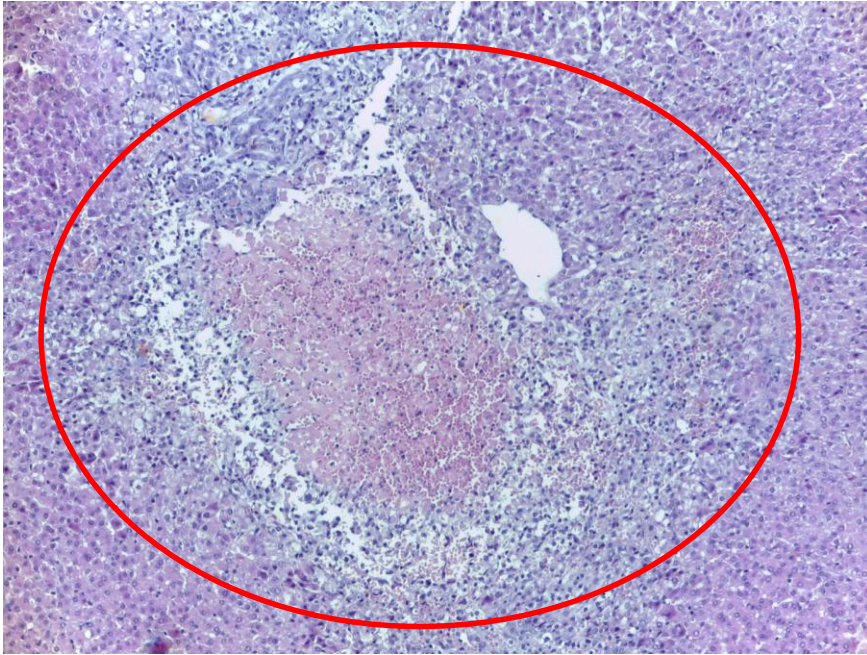
• 皮膚感作率

	Male	Female
TRI	70%	90%
TCA	10%	0%
TCE	20%	50%

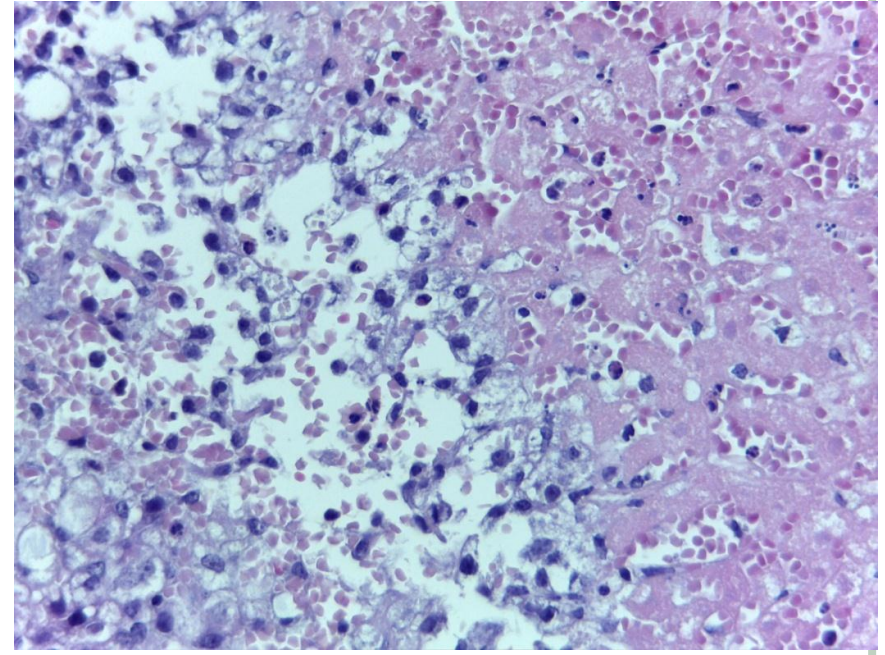
マウス肝病理像 (亜急性曝露実験)



トリクロロエチレン曝露 (マキシミゼーションテストによる肝障害、Male)



壊死とリンパ球浸潤 100倍



壊死とリンパ球浸潤 400倍

リンパ球浸潤を伴う大きな巣状壊死が見られる。

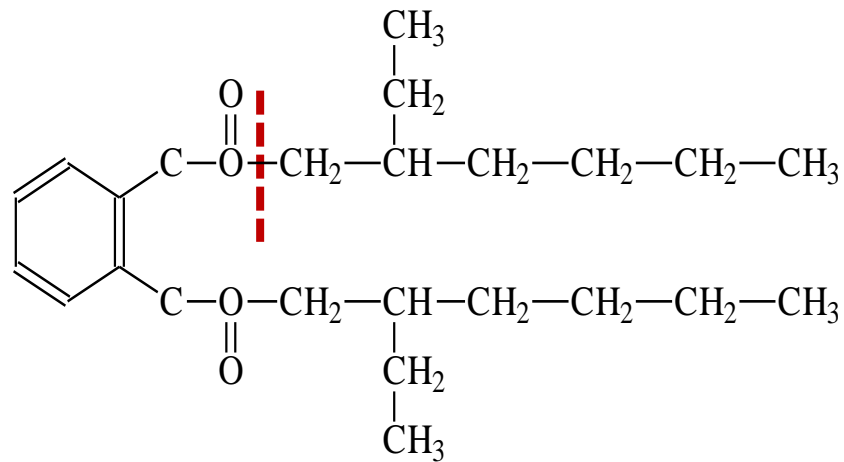




DEHPの肝発がん性

プラスチック可塑剤とは？

- ◆ある材料に柔軟性を与えたり、加工をしやすくするために添加する物質
- ◆可塑剤は主に、塩化ビニル製品を中心としたプラスチックを軟らかくするために用いられ、そのほとんどが酸とアルコールから合成される化合物（一般にエステルといわれるもの）
- ◆代表的な可塑剤はフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP)
- ◆一種の脂質である



極性部分

非極性部分



用途

2000年

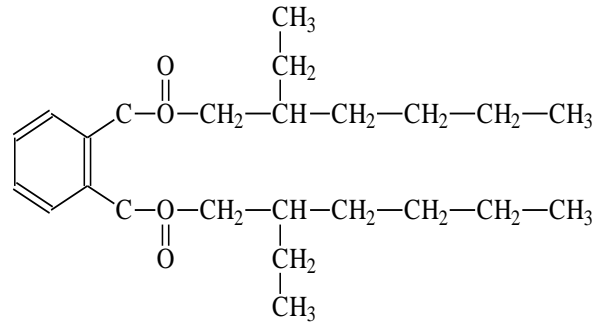
2009年

- | | |
|-----------------|---------------|
| ○ (1)電線被覆 | (1)床材料 |
| ○ (2)床材料 | (2)一般フィルム・シート |
| ○ (3)一般フィルム・シート | (3)壁紙 |
| ○ (4)工業用原料 | (4)電線被覆 |
| ○ (5)農業用ビニルシート | (5)コンパウンド |
| ○ (6)壁紙 | |

特殊な用途として、**医療用プラスチックバック、チューブ、玩具**等に使用されていたが、現在は規制されている



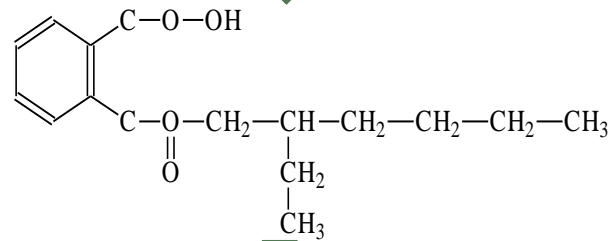
DEHPの生体内代謝



DEHP

リパーゼ

MEHP



UGT

UDPグルクロン酸抱合体

尿中排泄

PPARα(ペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体)

β酸化

ω酸化



DEHPの毒性(動物実験)

- 妊娠率の低下
- 胎仔・新生仔の死亡率増加
- 胚吸収率の増加
- 出産仔体重の低下
- 雌膣開口遅延、雄停留精巢、肛門-性器間距離(AGD)短縮
- エストラジオール減少、テストステロン増加(減少)
- 発がん性(肝細胞がん、肝腫瘍、精巢腫瘍)
- 腎毒性



DEHPと肝がん

(PPAR α -nullマウスの肝発がん性)

Genotype		Wild-type			Ppara-null-type	
Dose	0	0.01%	0.05%	0	0.01%	0.05%
Total liver tumors	0 (0%)	2 (8.7%)	1 (10.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)	8 (25.8%)*

DEHPによる発がんのメカニズム

- PPAR α 依存性のみの発がん作用を念頭においた IARC の DEHP 発がん分類
- PPAR α 依存性だけでは説明できない (Ito et al. 2007)
- 野生型と PPAR α -null マウスの肝臓発がん作用のメカニズムは異なっている (PPAR α -null マウスの肝腫瘍部分は細胞分裂・アポトーシス調節遺伝子が変化、野生型マウスではがん遺伝子の Met の発現が上昇、Takashima et al. 2008)

科学は我々の見方である



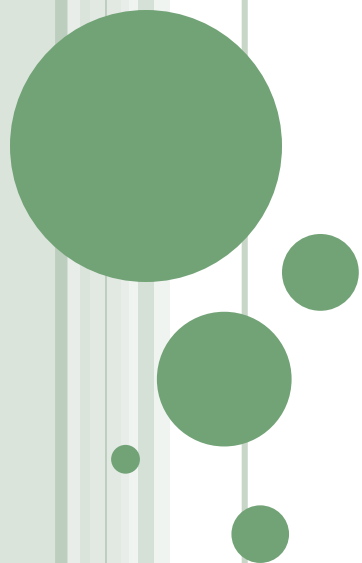


DEHPと生殖・次世代影響

*Mode of actionとしてのPPAR α

*胎生期DEHP曝露の次世代影響

DEHPの胎仔・新生仔への影響



DEHP投与期間と解剖時期

DEHP含有飼料
投与開始

妊娠確認

出産

4週間

交配

妊娠18日目 出産後2日目

母仔マウス解剖

母血漿TG, 必須脂肪酸、肝臓中のこれらの動態関連因子のタンパク及びmRNAの発現を測定

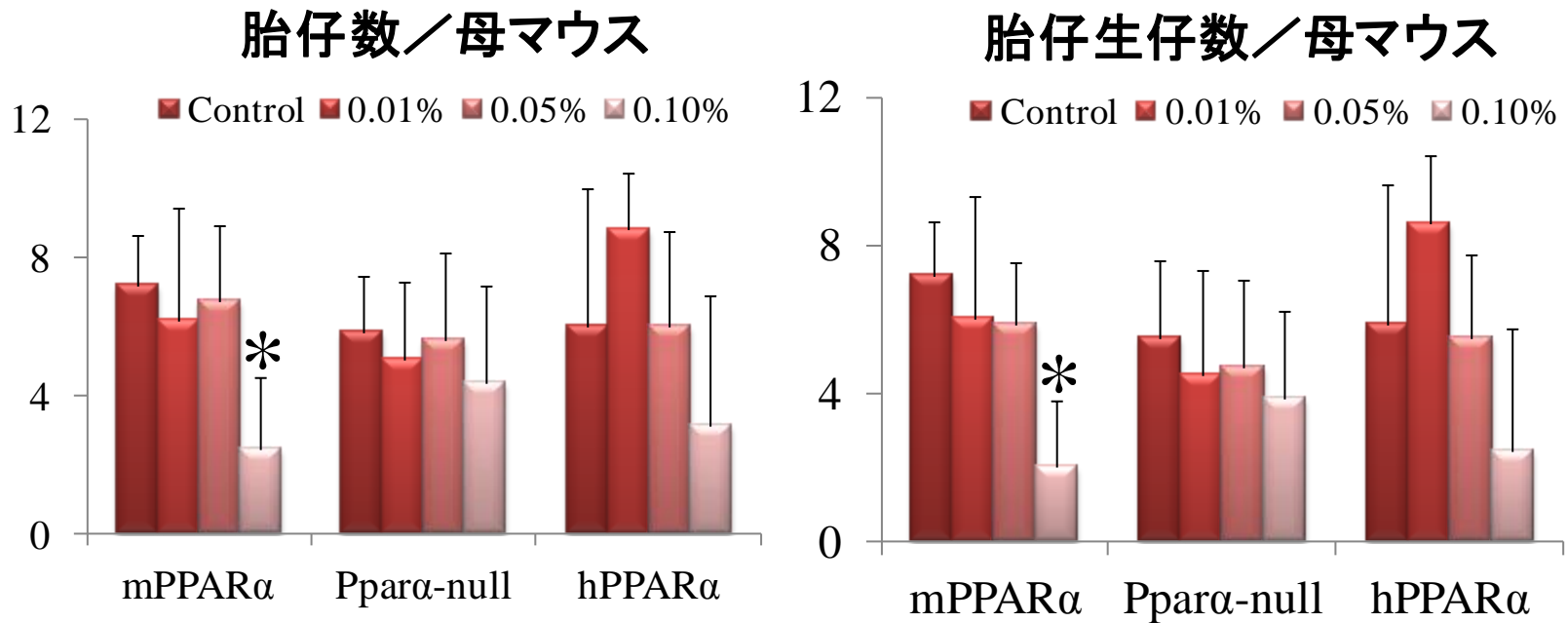
使用マウス: 12週齢Sv/129マウス (雌雄)

遺伝子型: 野生型(Wild)、*Ppar* α -null (KO)、ヒト型PPAR α (hPPAR α)

飼料: DEHP 0, 0.01(low), 0.05(medium), 0.1(high)%含有固形飼料

(DEHP 10-12, 55-64, 119-145 mg/kg body/dayに相当)

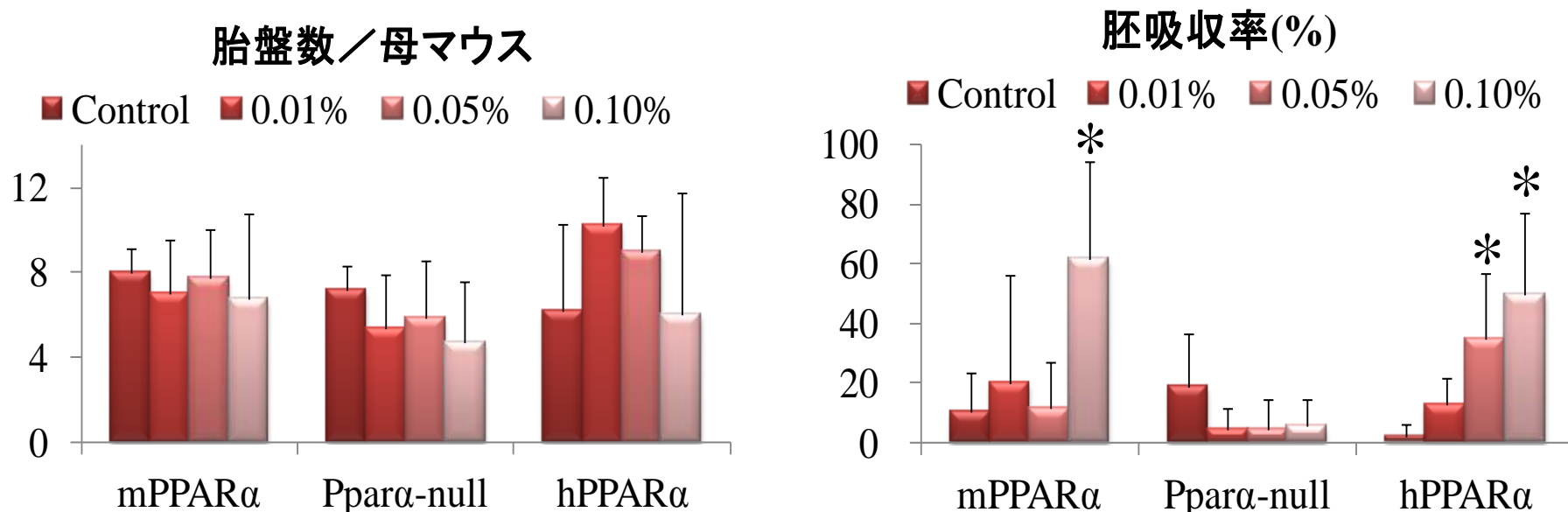
胎生期DEHP曝露の胎仔数および 生存胎仔数(GD18)への影響



*それぞれのControl 群との間に有意差あり (p<0.05)

Hayashi et al, Toxicology (2011)

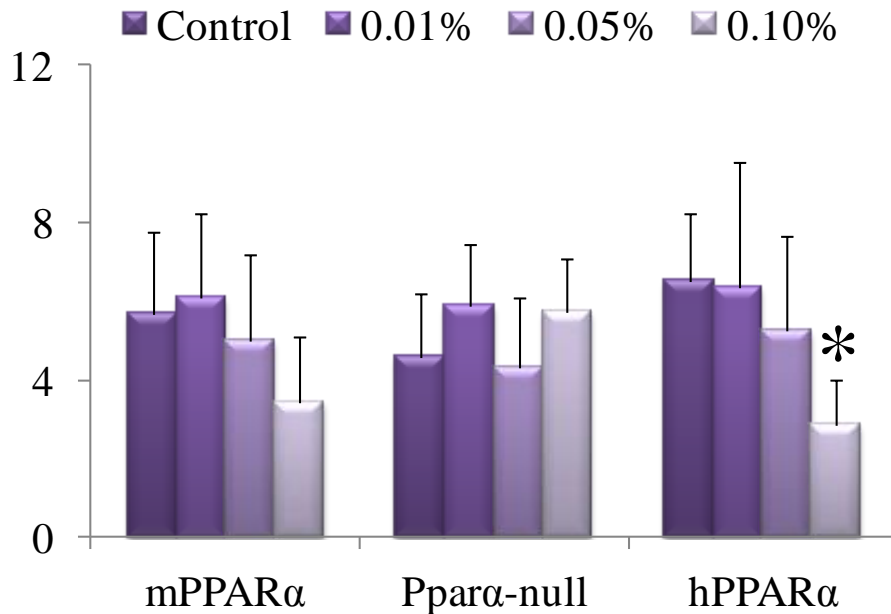
DEHP曝露の胎盤数および胚吸収率(GD18)への影響



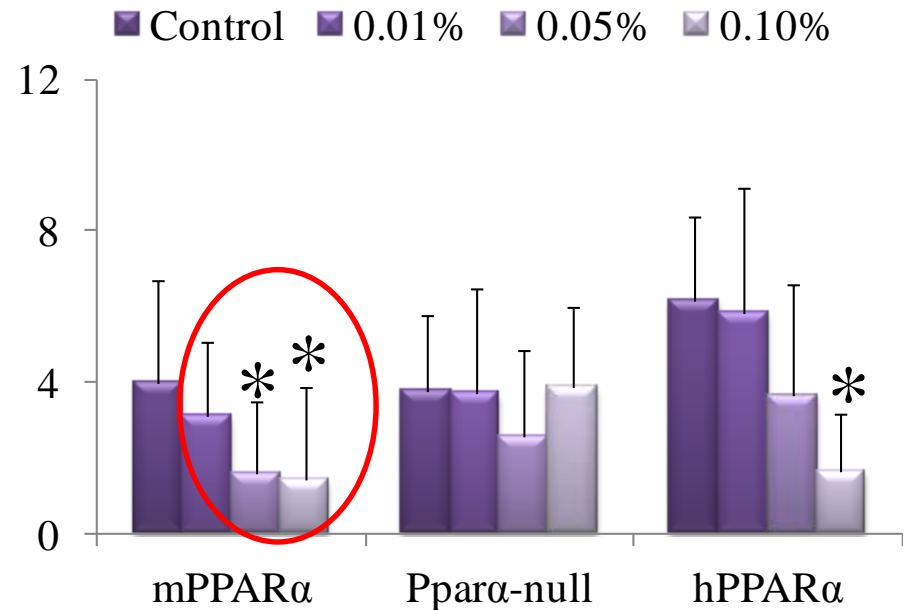
Hayashi et al, Toxicology (2011)

胎生期DEHP曝露の新生仔数および 生仔新生仔数(2日目)への影響

出産数/母マウス(匹)



新生仔生仔数/母マウス(匹)

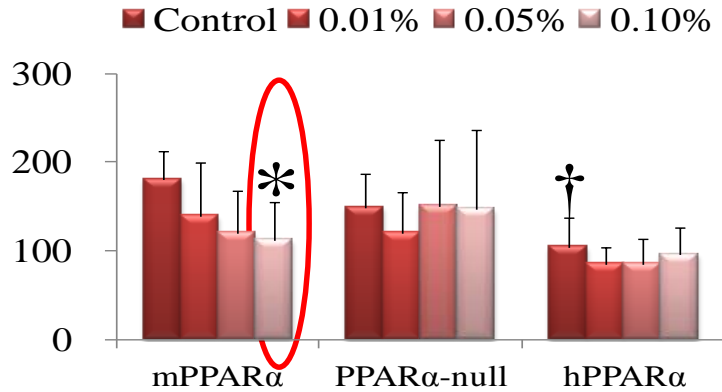


胎仔・新生仔の生存数の減少は肝臓PPAR α に関係している → 母親の栄養状態に着目

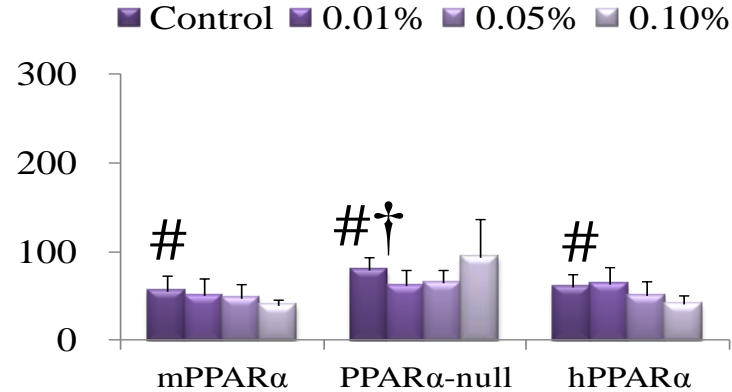
*それぞれのControl 群との間に有意差あり (p<0.05)

DEHP曝露の親マウスへの影響(雌) 血漿トリグリセライド(TG)

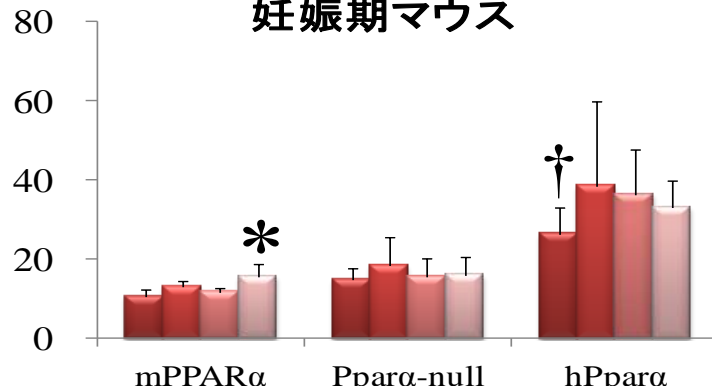
血漿中TG (mg/dl)
妊娠期マウス



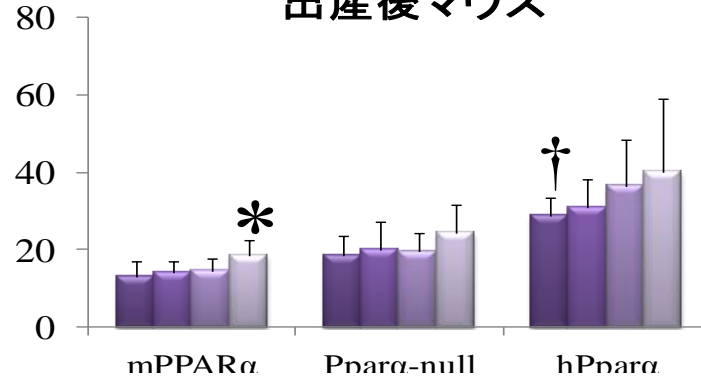
血漿中TG (mg/dl)
出産後マウス



肝臓中TG (mg/g liver)
妊娠期マウス



肝臓中TG (mg/g liver)
出産後マウス

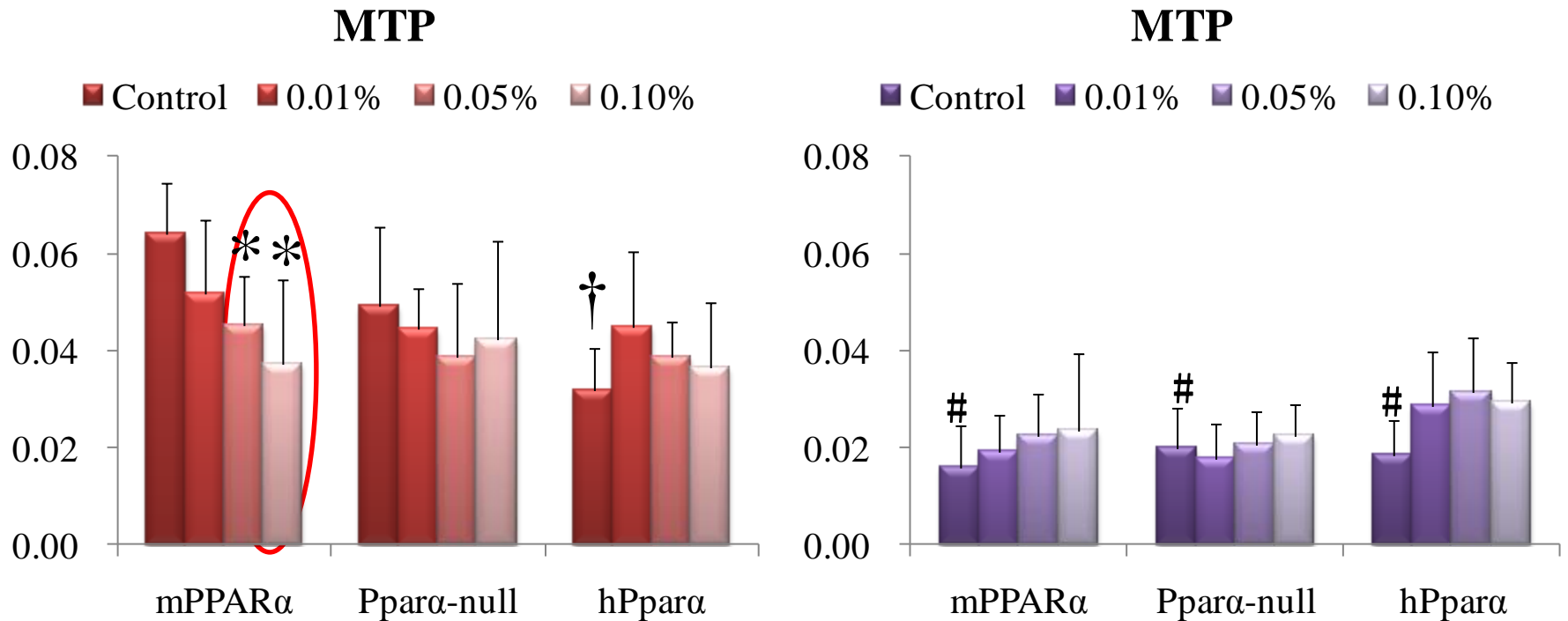


*それぞれのControl 群との間に有意差あり (p<0.05) † Wild-type Control 群との間に有意差あり (p<0.05)

それぞれのpregnant Control 群との間に有意差あり (p<0.05)

TGは野生型のみ減少

肝臓ミクロソームトリグリセライドトランスポーター蛋白 (MTP)



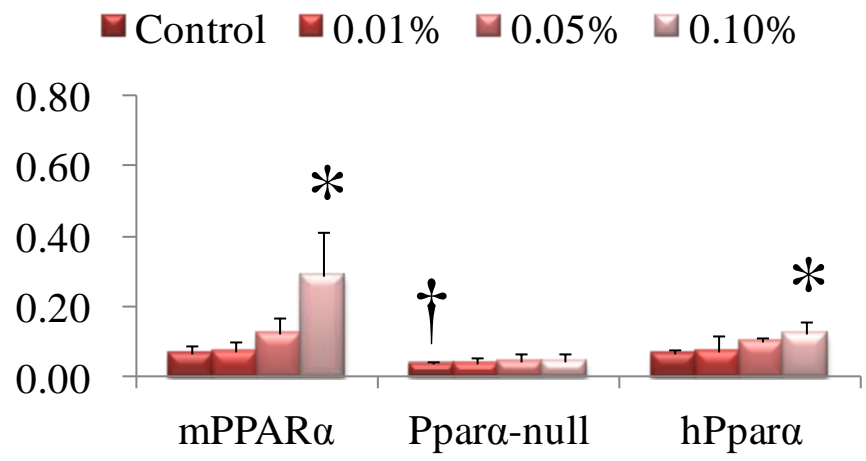
*それぞれのControl 群との間に有意差あり (p<0.05)

† Wild-type Control 群との間に有意差あり (p<0.05)

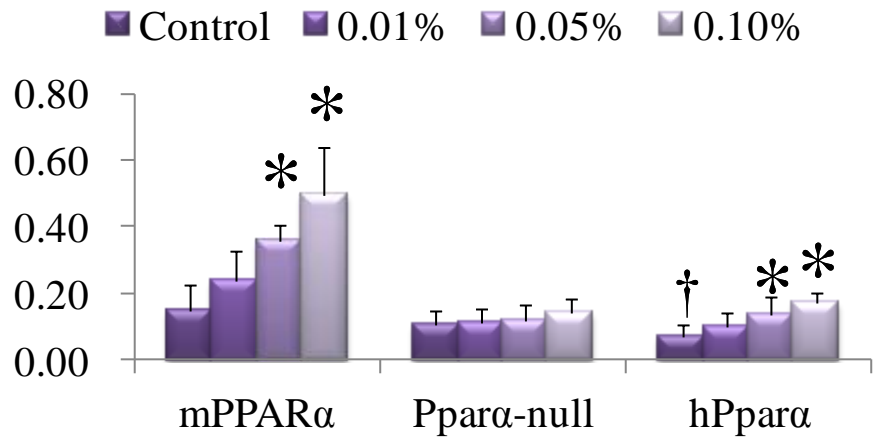
それぞれのpregnant Control 群との間に有意差あり (p<0.05)

DEHP曝露の親動物脂肪酸β酸化(分解)酵素への影響

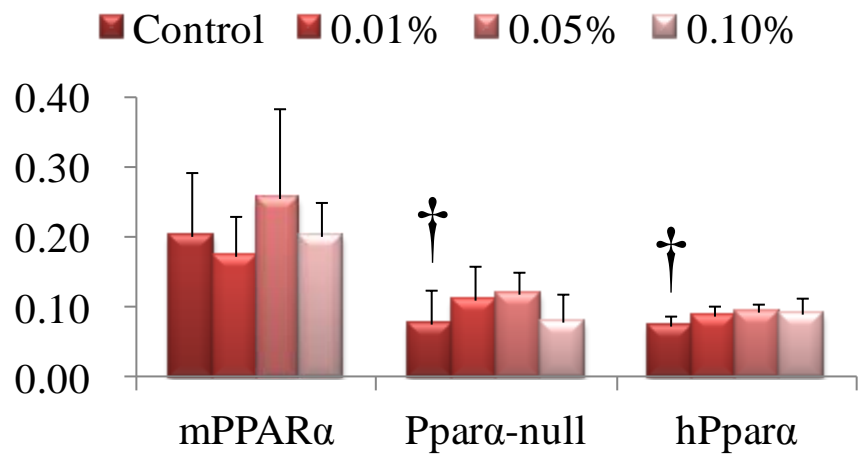
PT
妊娠期マウス



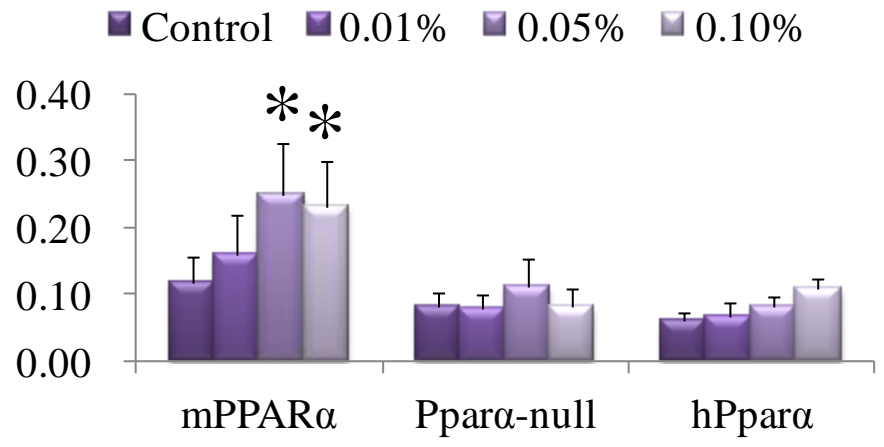
PT
出産後マウス



VLCAD
妊娠期マウス

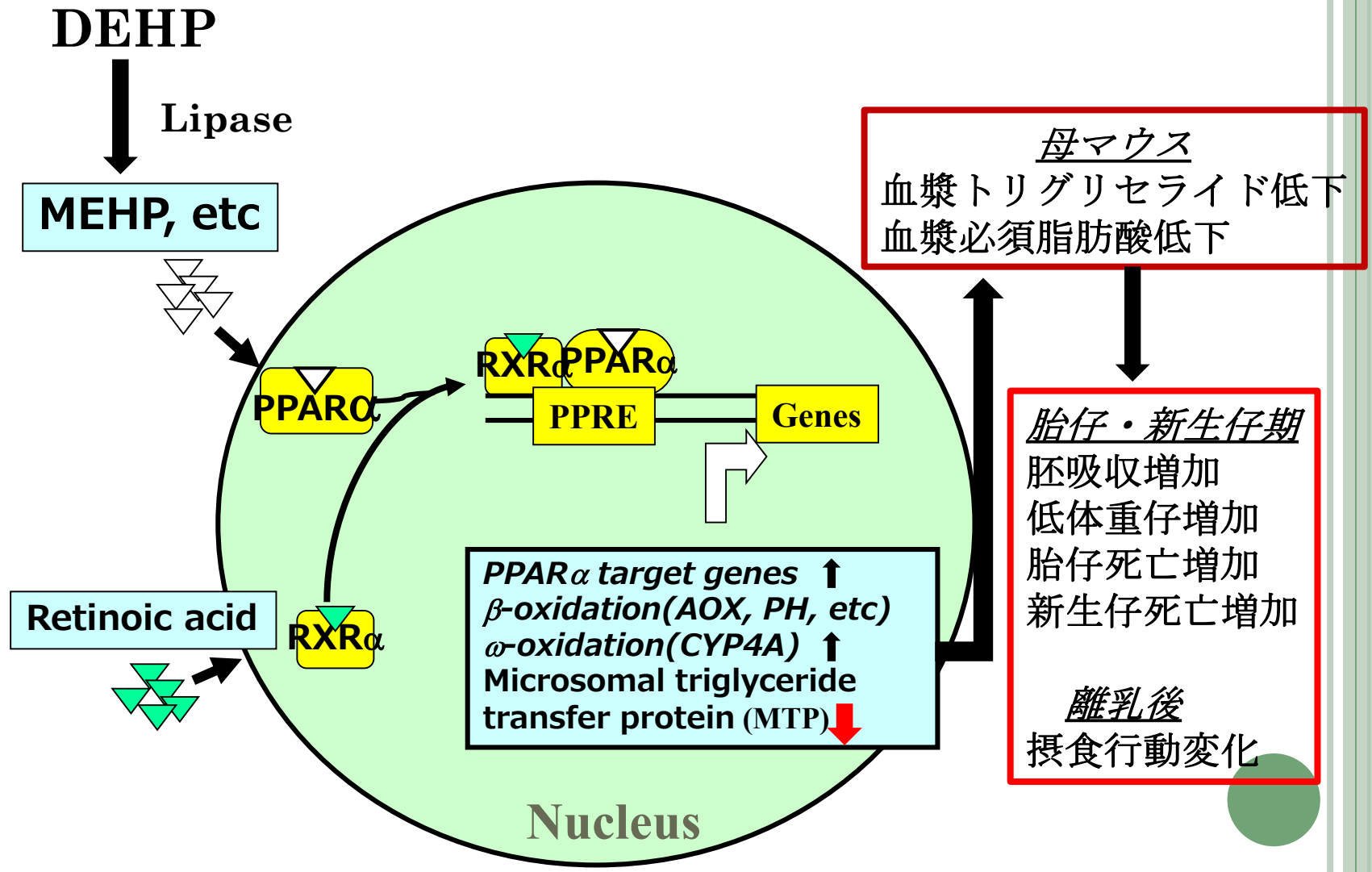


VLCAD
出産後マウス



*それぞれのControl 群との間に有意差あり (p<0.05)
† Wild-type Control 群との間に有意差あり (p<0.05)

胎仔期DEHP曝露の母マウス肝臓PPAR α と仔への影響

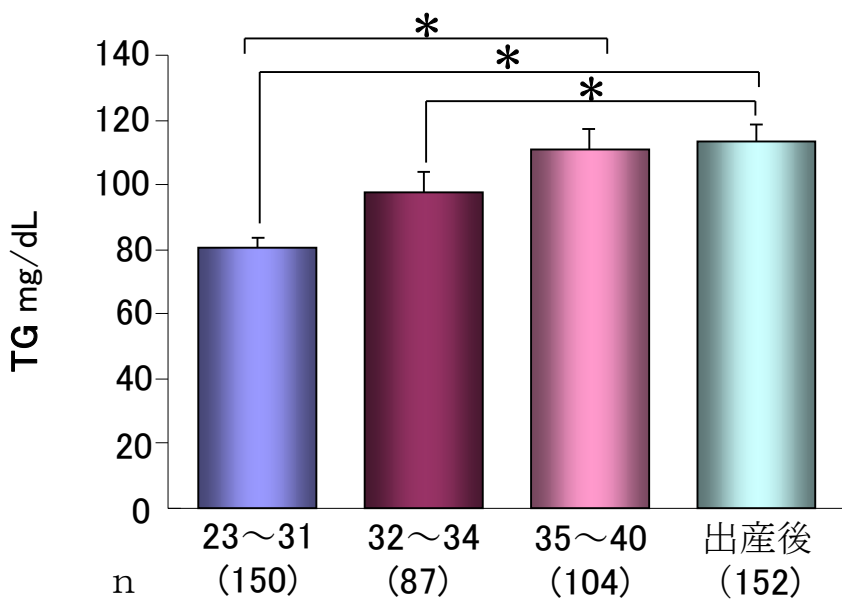
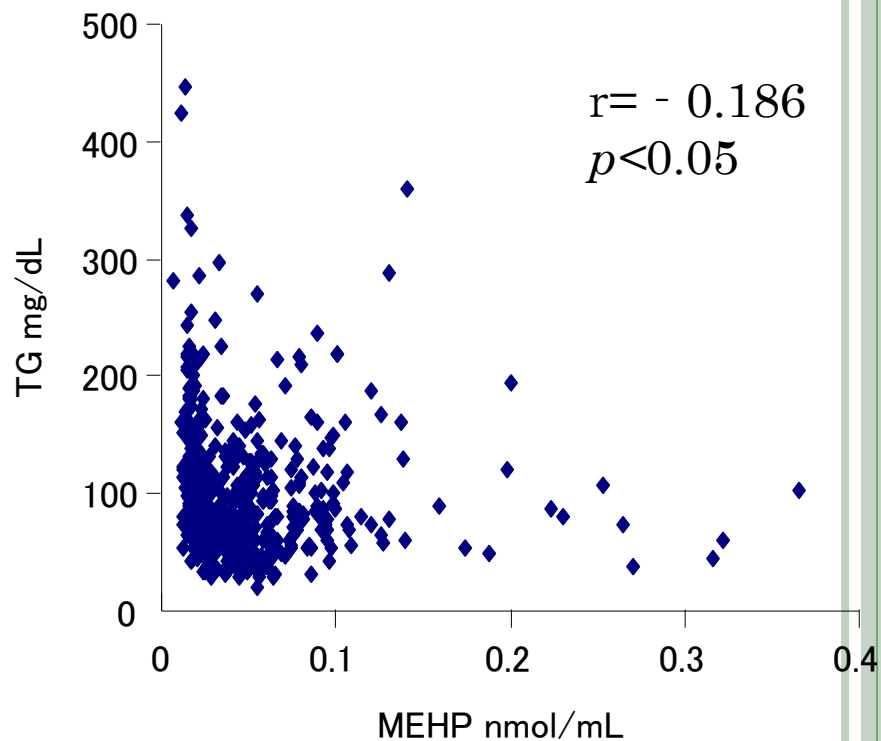
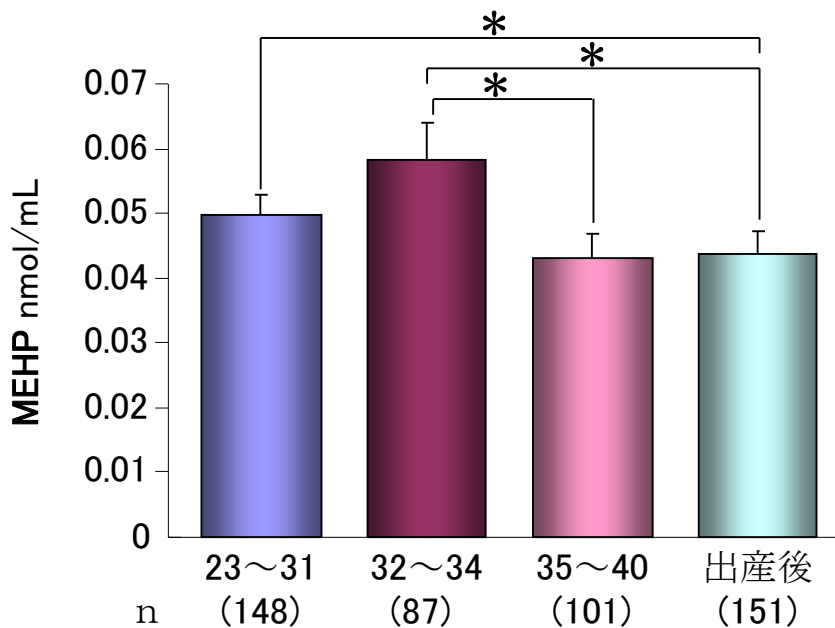


まとめ

- 妊娠時**DEHP**曝露は胎仔や新生仔の生存数を減少させ、胚吸収率を上昇させる
- これには**PPAR α** が関与している
- **DEHP**曝露による胎仔・新生仔の生存数の減少は親の血漿中**TG**の減少による
- **TG**の低下に伴い、**必須脂肪酸**が低下する。出産後も低下する脂肪酸もあり、**TG**より鋭敏に反応する
- **DEHP**の**TG**や脂肪酸の減少の原因は肝臓の**MTP**の発現低下と**PPAR α** を介した脂肪酸の酸化酵素発現上昇による
- ヒト**PPAR α** の転写活性化はマウスより弱い



血液中MEHP濃度とTG濃度



平均±標準誤差

*: $p < 0.05$ (対数変換後Tukey-HSD検定)

私たちの研究室では国に先駆けて化学物質曝露の子供の健康への影響を検討しています

子どもたちは、あしたの地球を生きてゆく。

子どもたちが、次の世代が、

すこやかに成長できる地球環境を未来に残すには

どうしたらよいのでしょうか。

2011年にスタートする「エコチル調査」。

環境が人間の健康にもたらす影響をさぐる、全国的な調査です。

*Barker說

* Developmental Origins of Health and Diseases (DOHaD)

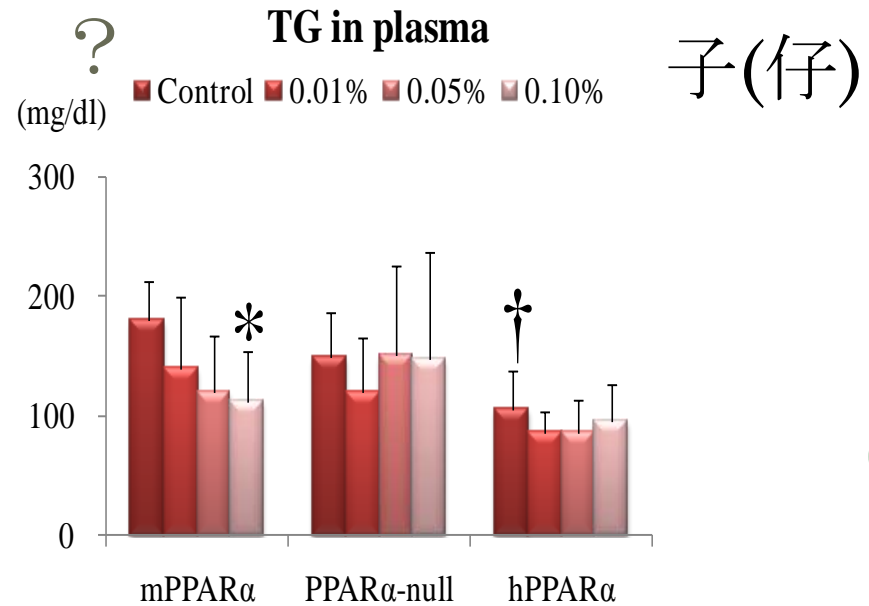
食事由来

低栄養

生活習慣病

母

化学物質由来





胎仔期-授乳期DEHP曝露の 摂食行動への影響

胎生期**DEHP**曝露による低栄養環境下で育った仔が、離乳期から成熟期にかけてどのような影響を受けるのかを明らかにする。



実験方法(胎仔期-授乳期曝露)

12週齢雌雄マウス

129/sv野生型(mPPAR α)

PPAR α -null

ヒト型PPAR α (hPpar α)

DEHP曝露

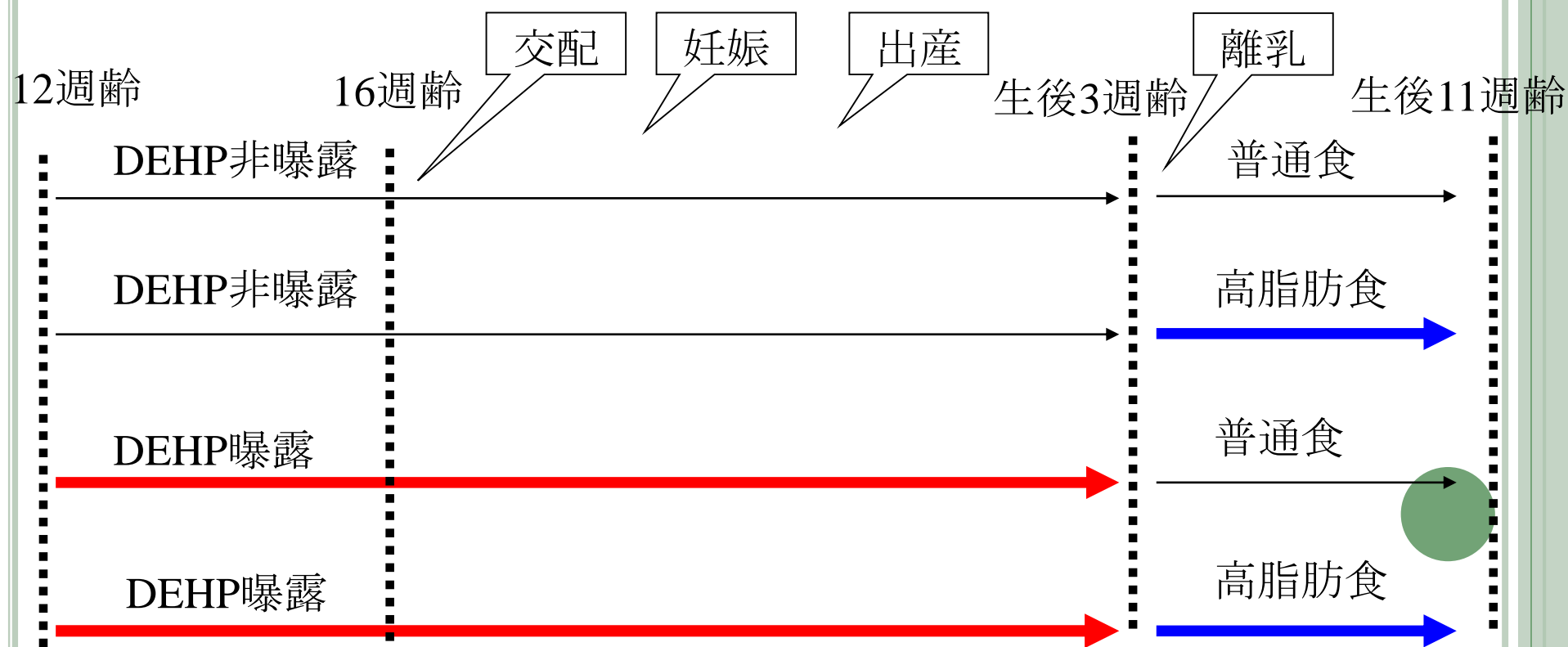
非曝露

0.05%

固形飼料

普通食(CE-2)

高脂肪食(HFD)

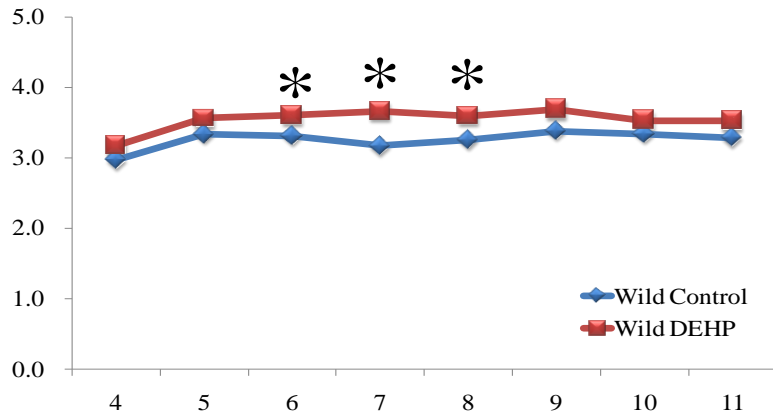


摂餌量の変化

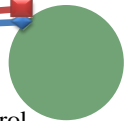
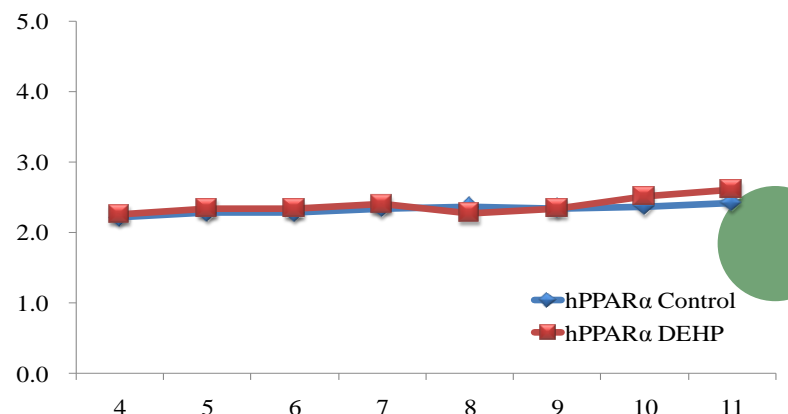
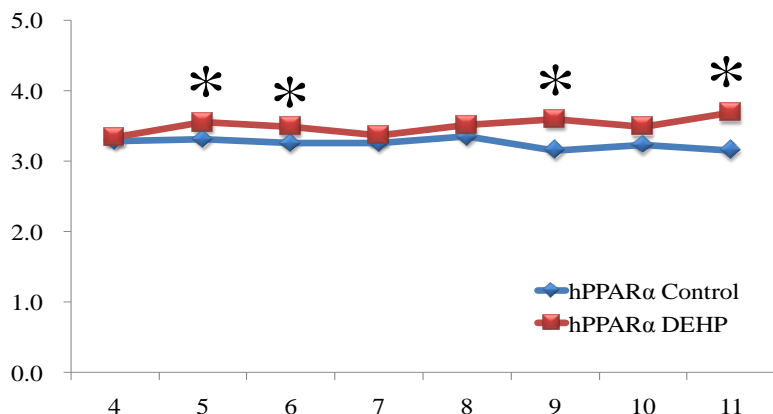
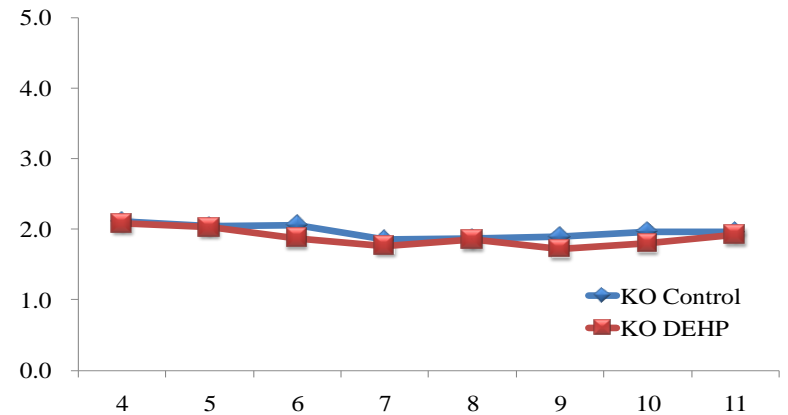
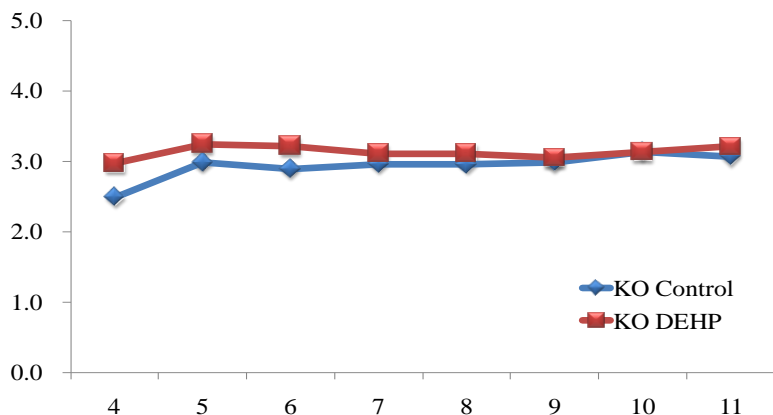
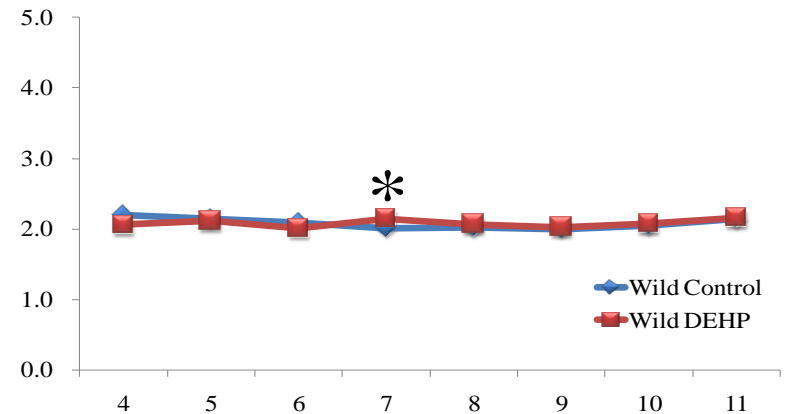


g/day

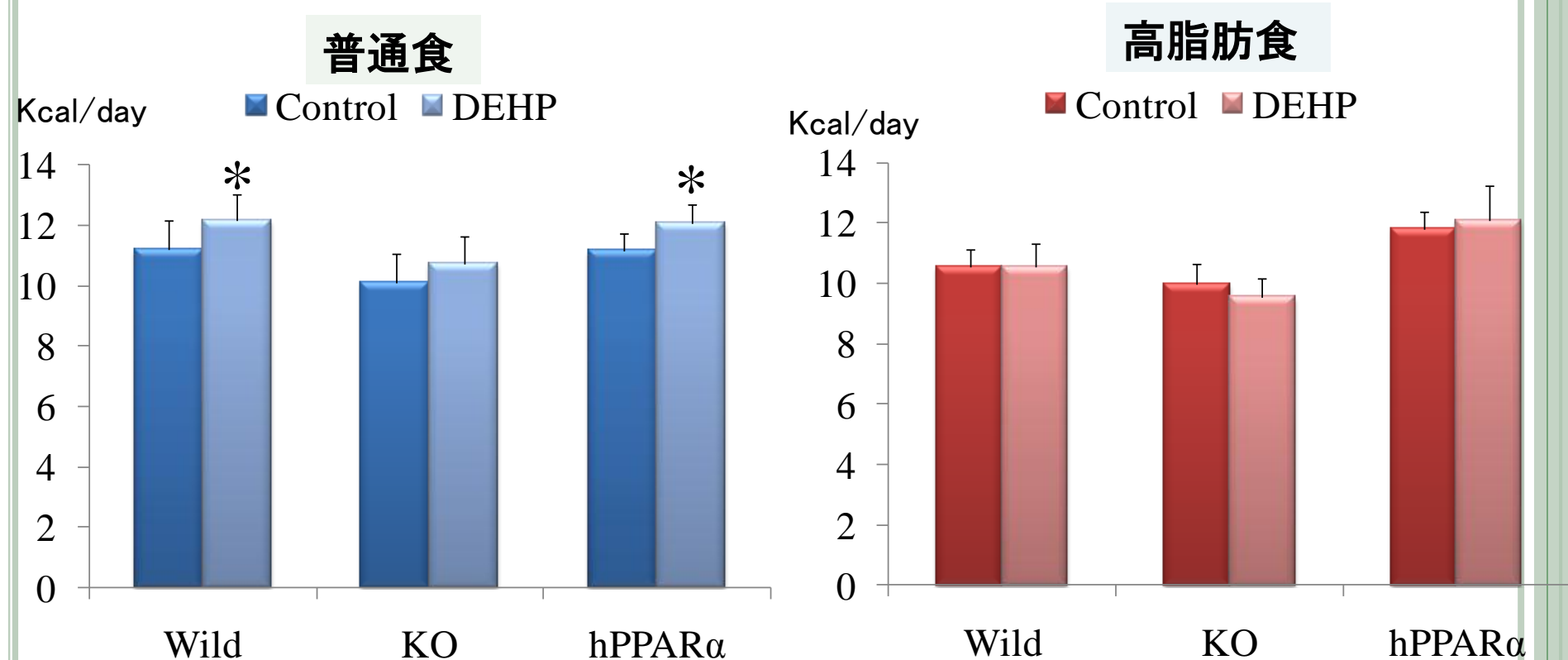
普通食



高脂肪食



摂取カロリー (4 -11 週齡)



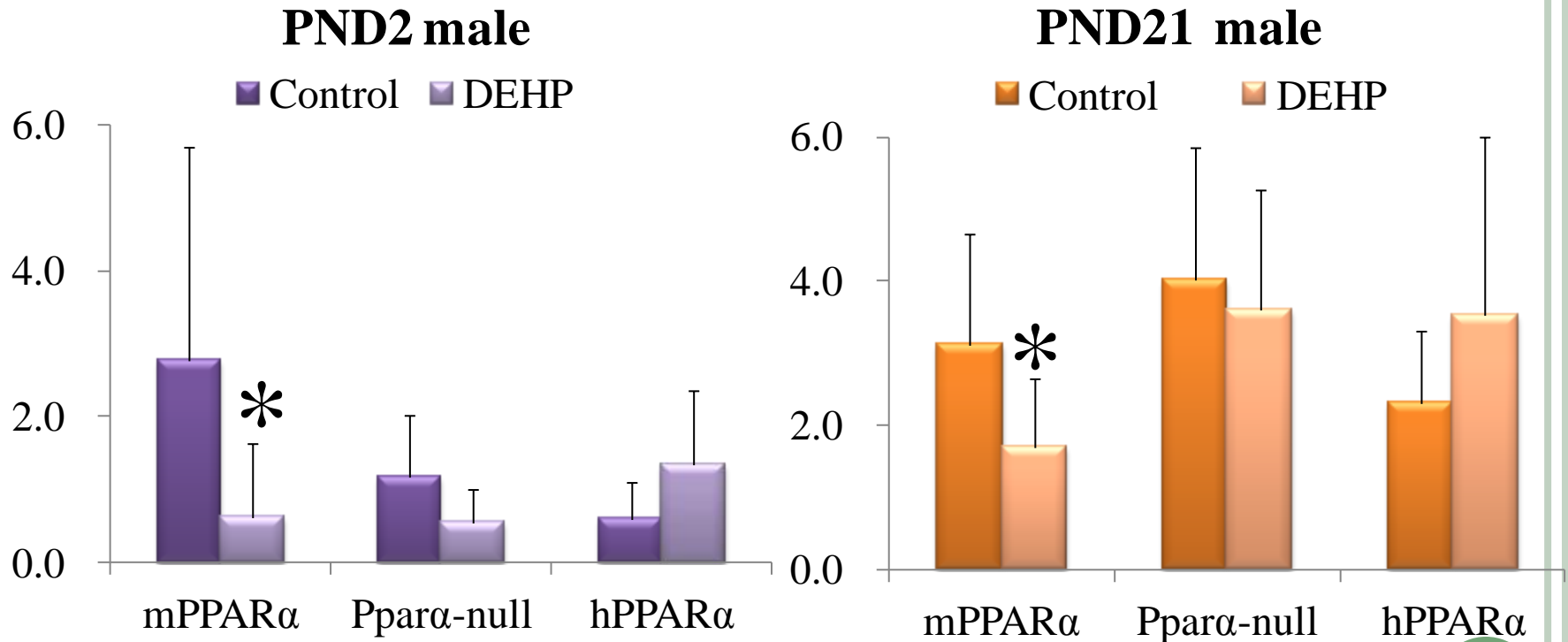
*Significantly different from respective control group.
($p < 0.05$)



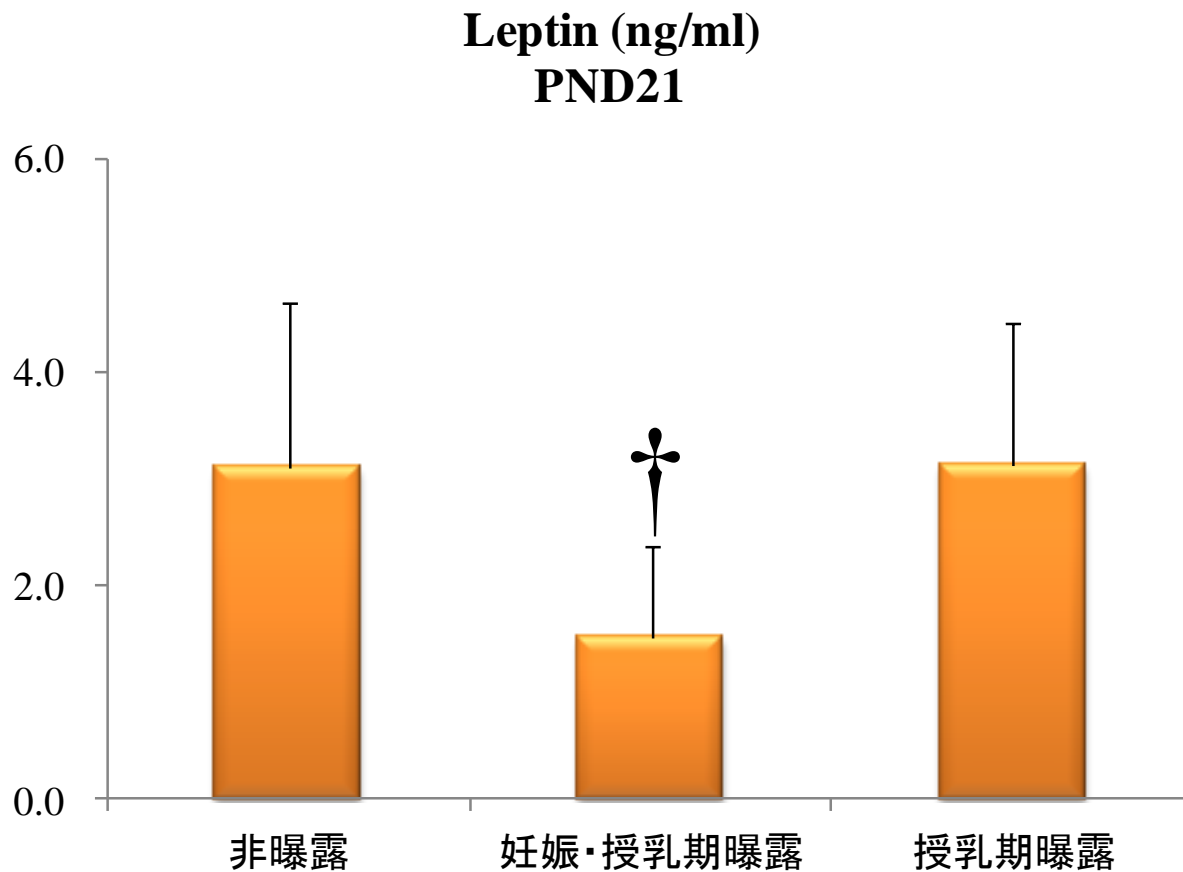


**DEHPの胎生期-授乳期の曝露の
摂食行動変化のメカニズムは？**

DEHP曝露のレプチンへの影響



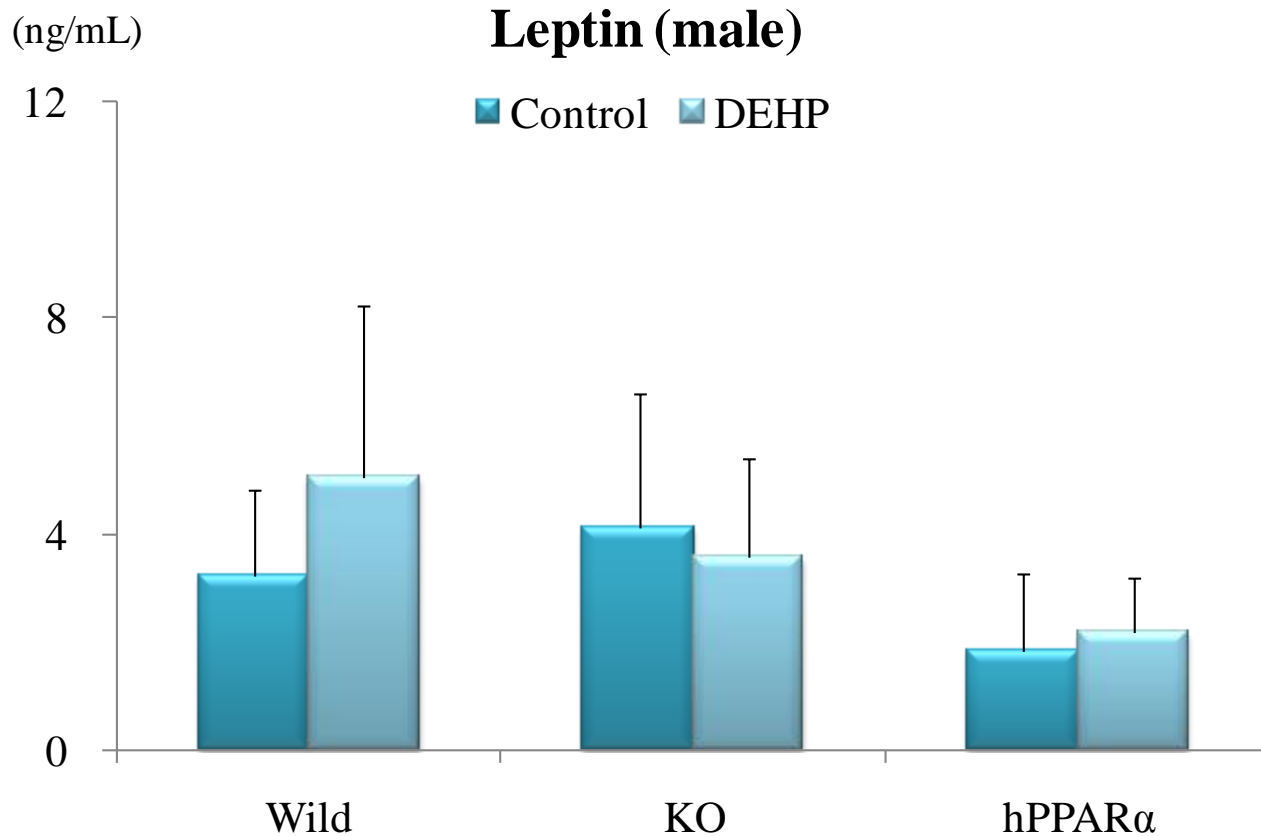
胎仔期と授乳期どちらがDEHP曝露による レプチンへの影響が強いのか？



† 他の群との間に有意差あり p<0.05



成熟雄マウス(12~20週齢)への 0.05%DEHP曝露のレプチンへの影響



➡ PND2やPND21で見られたレプチンの減少は、胎仔期-授乳期のDEHP曝露による影響であることが示唆された。

結論

- 胎仔期-授乳期DEHP曝露は仔の血漿レプチン濃度を低下させ、摂食行動に影響を与える。親動物にはこのような現象は認められない。
- レプチンへの影響という点においては、授乳期曝露より胎仔期曝露の方が重要



DEHPのリスク評価

- 耐容一日摂取量(TDI)=NOAEL/不確実係数
- 動物実験結果からヒトへの外挿(不確実係数)

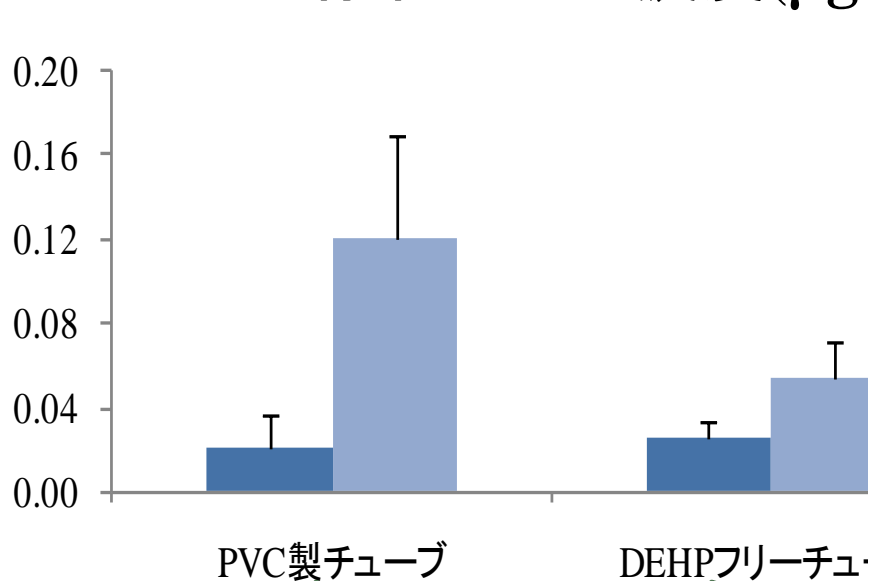
評価機関(年)	実験動物	試験方法	NOAEL (mg/kg/day)
EFSA(2005)	SDラット	多世代試験	5.0
NTP(2006)	SDラット等	多世代試験等	1~10
厚生省(2002)	SDラット・マウス	生殖発生毒性等	14
林ら(2011)	129/Svマウス	胎仔・新生仔毒性	11

EFSA:欧州食品安全機関
NTP:アメリカ国家毒性計画



医療品のDEHP使用の変遷

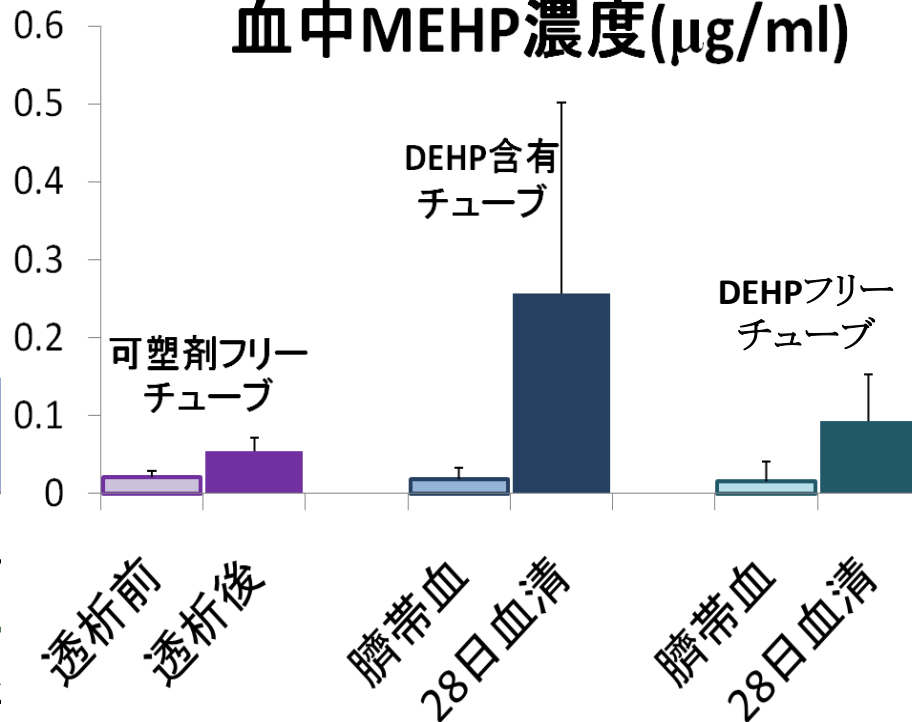
血清中MEHP濃度(μg/ml)



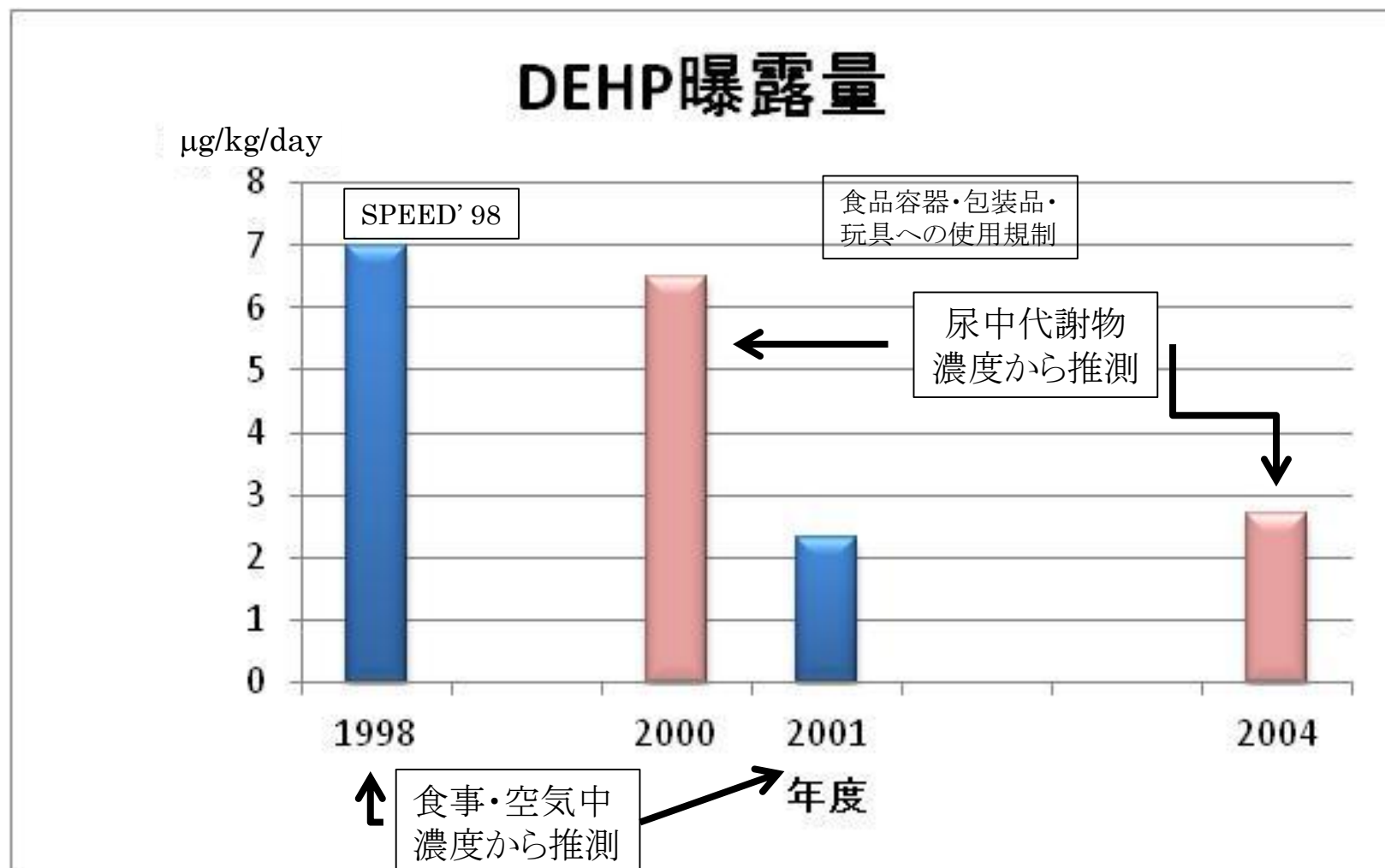
Mettang et al (1996)から引用

2006年患者さんへの家系として例示

血中MEHP濃度(μg/ml)



日本人のDEHP曝露レベル



ディーゼル排気ナノ粒子の健康影響



ディーゼル排気ナノ粒子曝露実験

- 動物：F344雄ラット（7～8週齢、1群8匹）
- 23～27nmに粒径をもつディーゼル排気ナノ粒子（国立環境研究所で曝露実験）
- 曝露期間（22時から3時まで、週5日、1,2,3ヶ月）

曝露濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

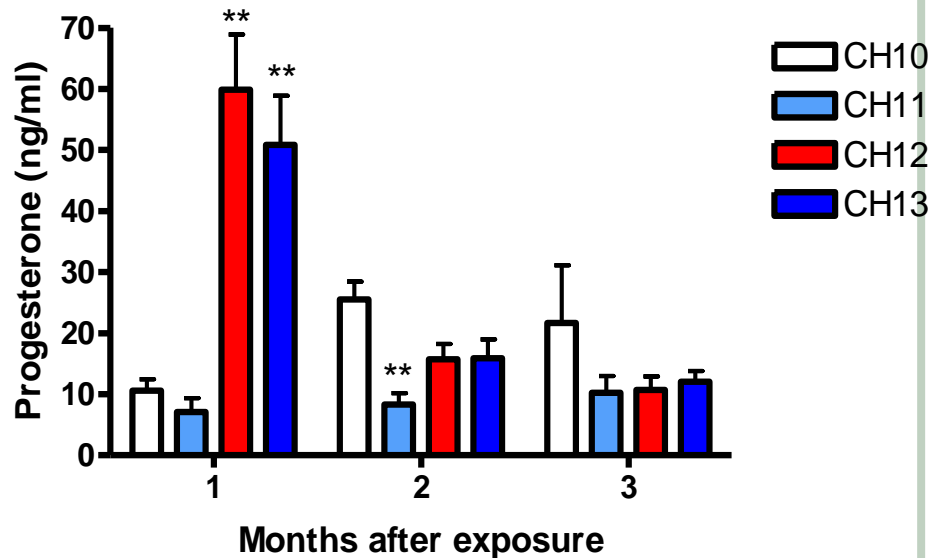
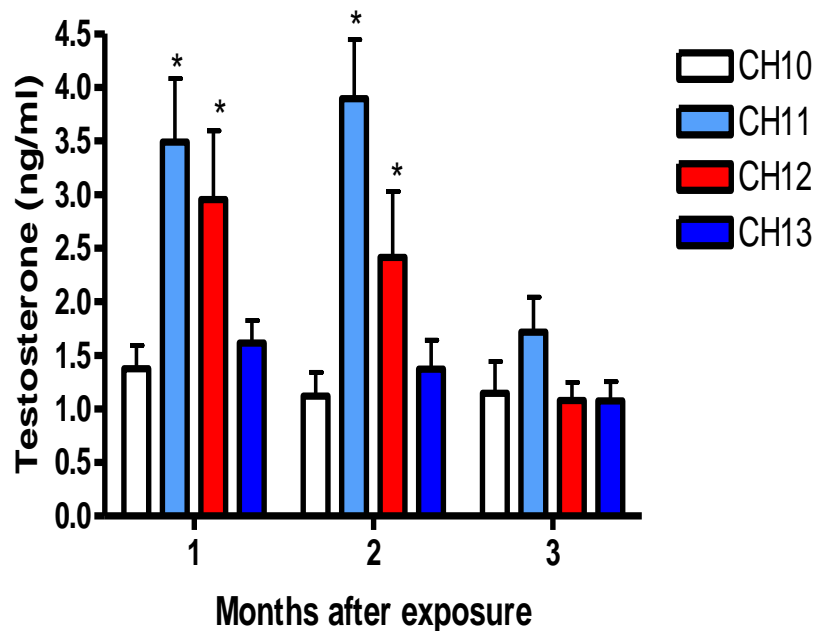
Control(Control)	3.6	PM2.5 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1年平均)
Dose 1(Low)	16.4	PM2.5 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1日平均)
Dose 2(Medium)	36.4	大気環境基準PM10 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Dose 3(High)	168.3	(浮遊粒子状物質)



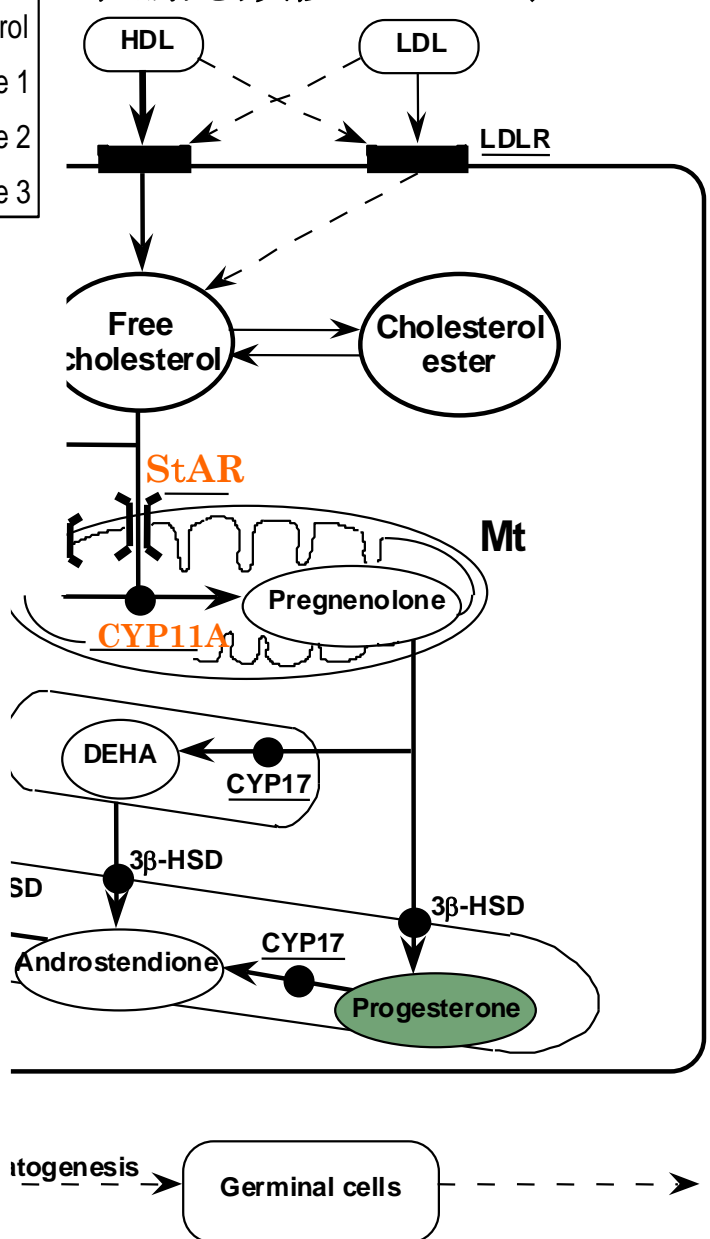
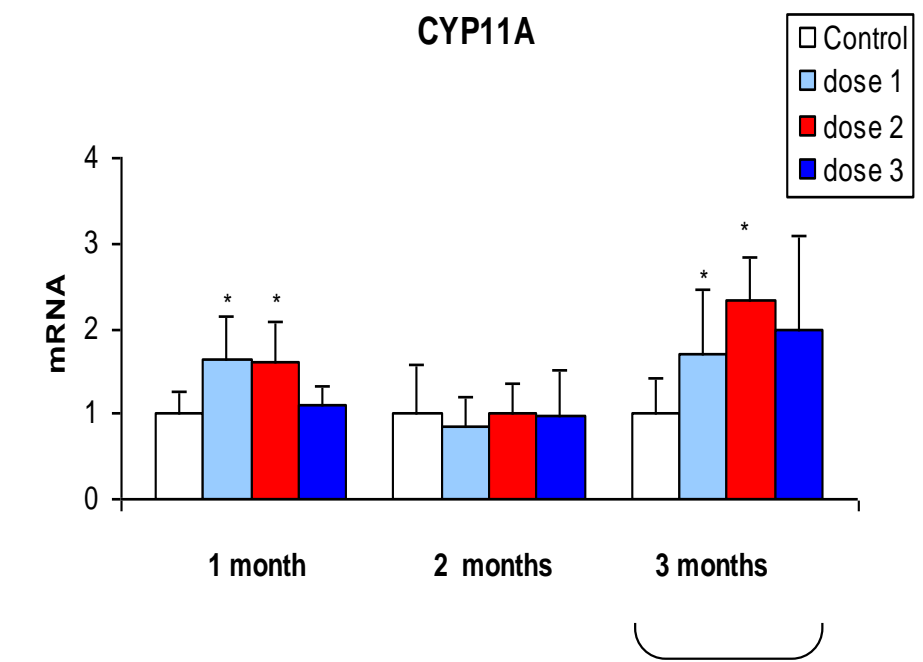
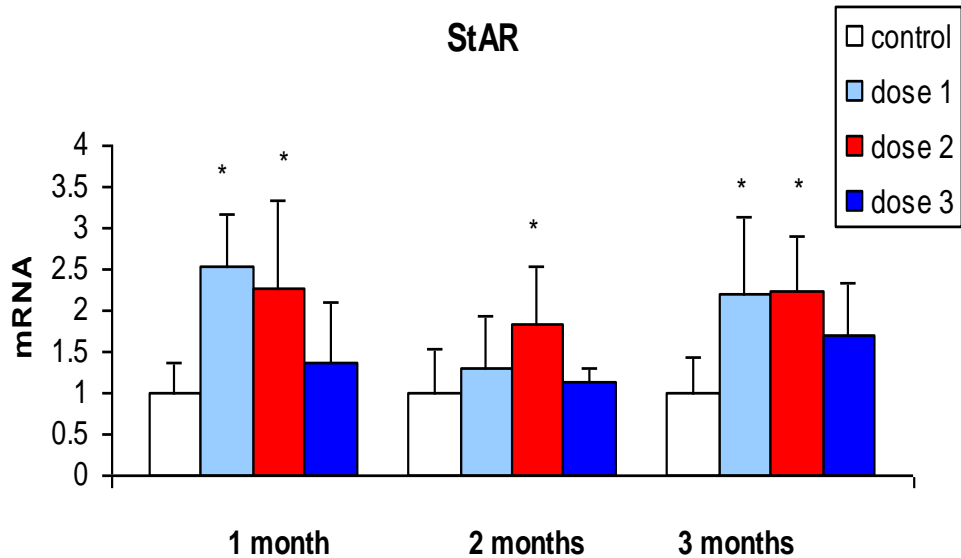
ナノ粒子実験(1)結果

テストステロン

プロゲステロン

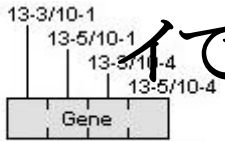


精巣ライディッヒ細胞で想定されるステロイド代謝経路 (海馬におけるニューロステロイド代謝も類似している)



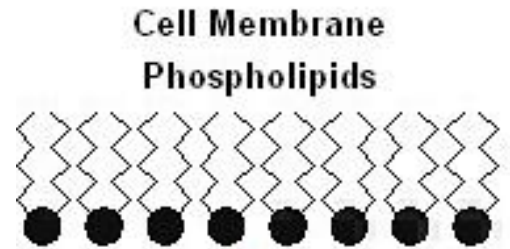
②

NRDE1カ月曝露雄ラット肝臓のDNAマイクロアレイでピックアップされたアラキドン酸カスケード



Legend: 13-3/10-1

- ratio > 8
- ratio > 4
- ratio > 2
- ratio < 0.125
- ratio < 0.25
- ratio < 0.5
- No criteria met
- Not found



- Control
- Standard
- Medium
- High

Pla2g4a

Arachidonic Acid

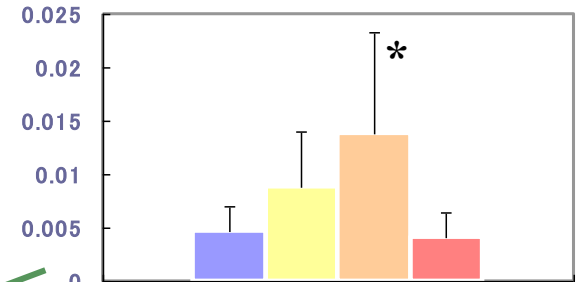
Ptgs1
Ptgs2

Prostaglandin H2

TXA2

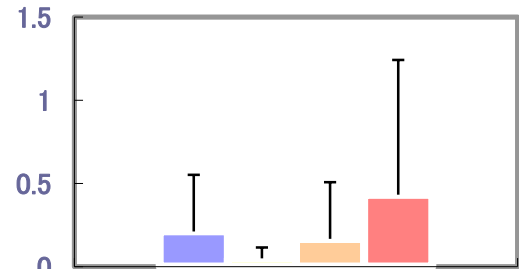
PGE2

PGF2



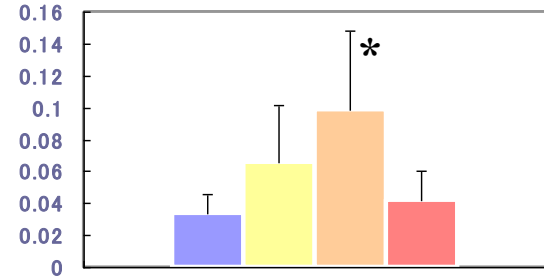
phospholipase A2, group IVA (cytosolic, calcium-dependent) (Pla2g4a)

- Control
- Standard
- Medium
- High



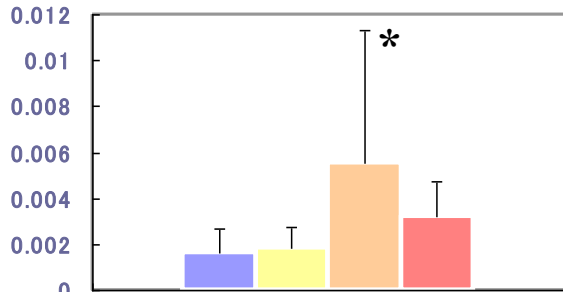
prostaglandin E synthase (Ptges)

- Control
- Standard
- Medium
- High

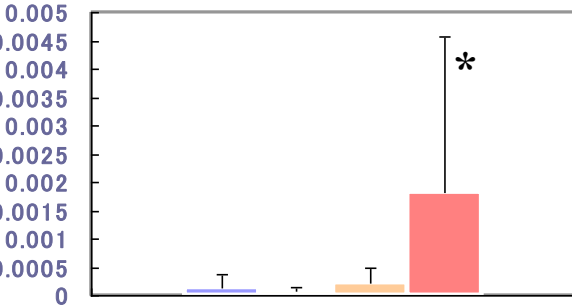


prostaglandin E receptor 3 (subtype EP3) (Ptger3)

- Control
- Standard
- Medium
- High

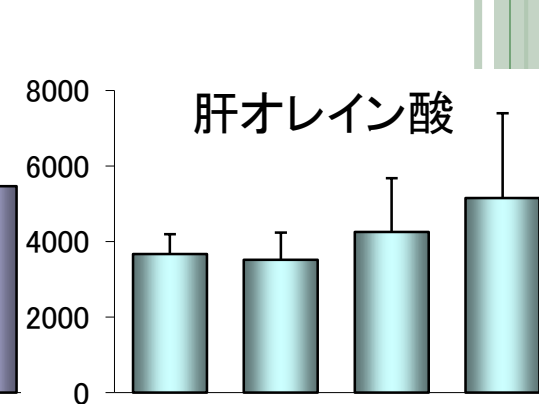
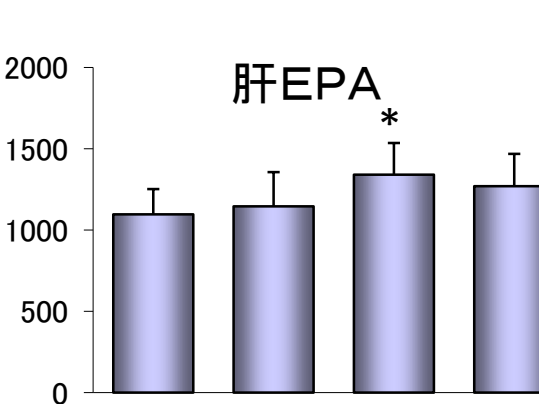
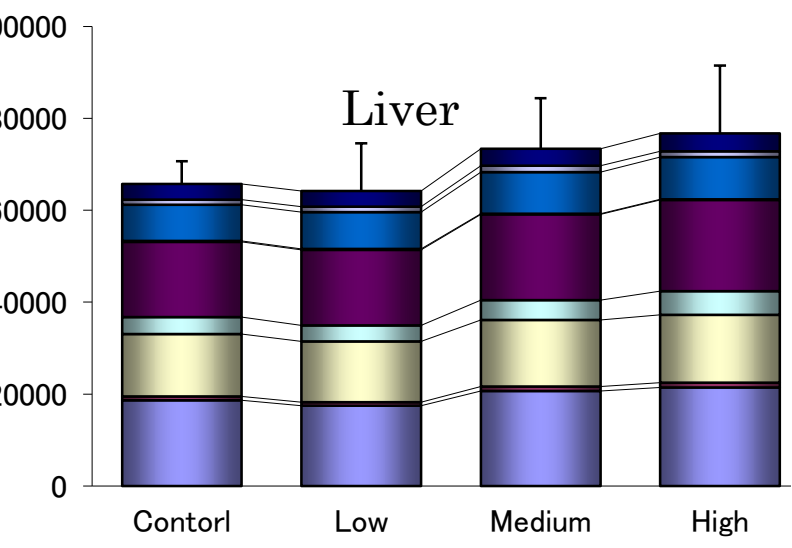
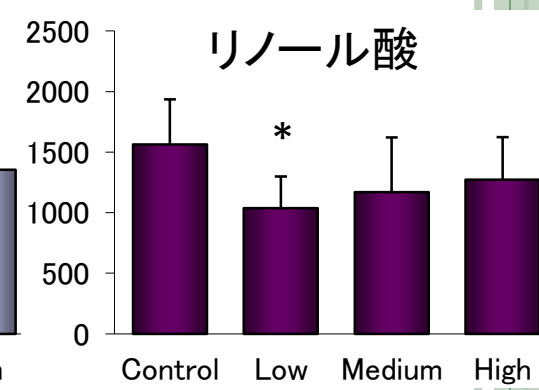
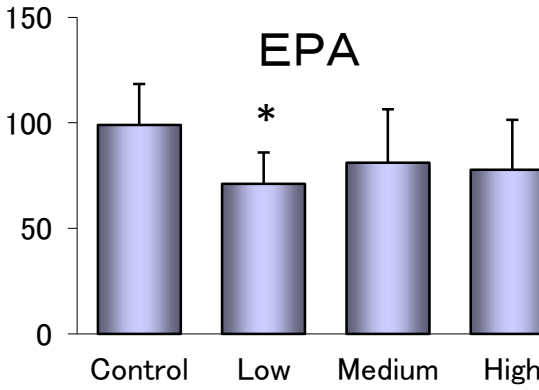
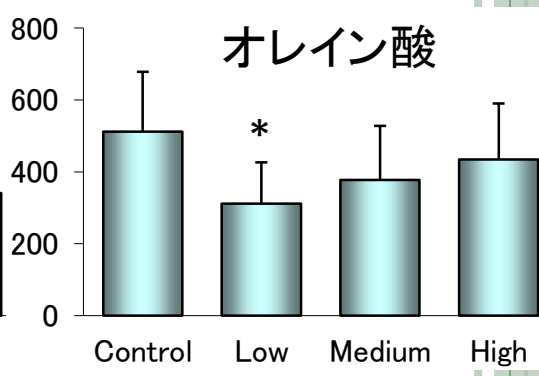
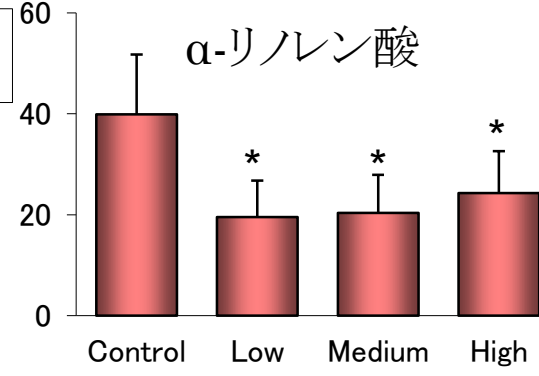
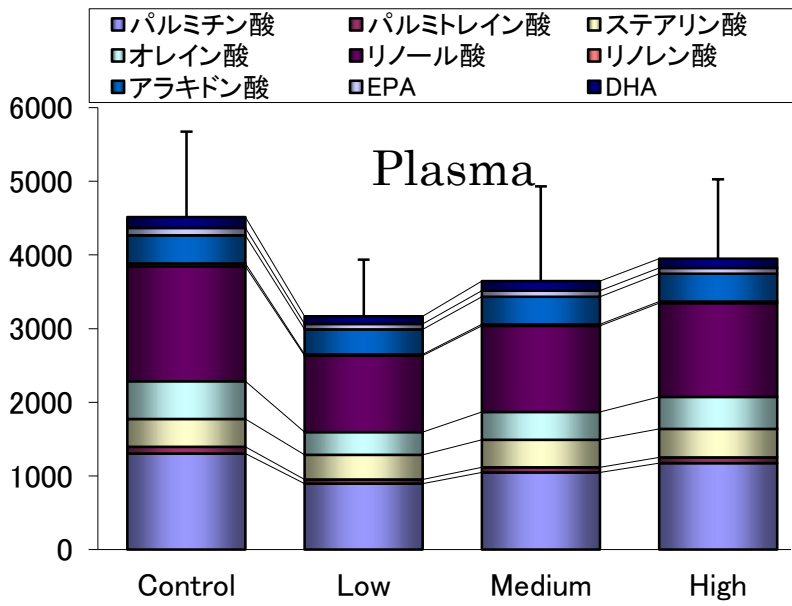


prostaglandin-endoperoxide synthase 1 (Ptgs1)



prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (Ptgs2)

② 脂肪酸分画は血漿において主に低濃度で低下、肝臓においては増加傾向



ディーゼル排気ナノ粒子の健康影響

○生殖器への影響

テストステロン濃度をエンドポイントとすると、NOAELは求められない。

LOAELは16.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

これはPM2.5の1年平均値に相当する

○血清脂肪酸、トリグリセライド、総コレステロール長期実験の**LOAELは25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$**



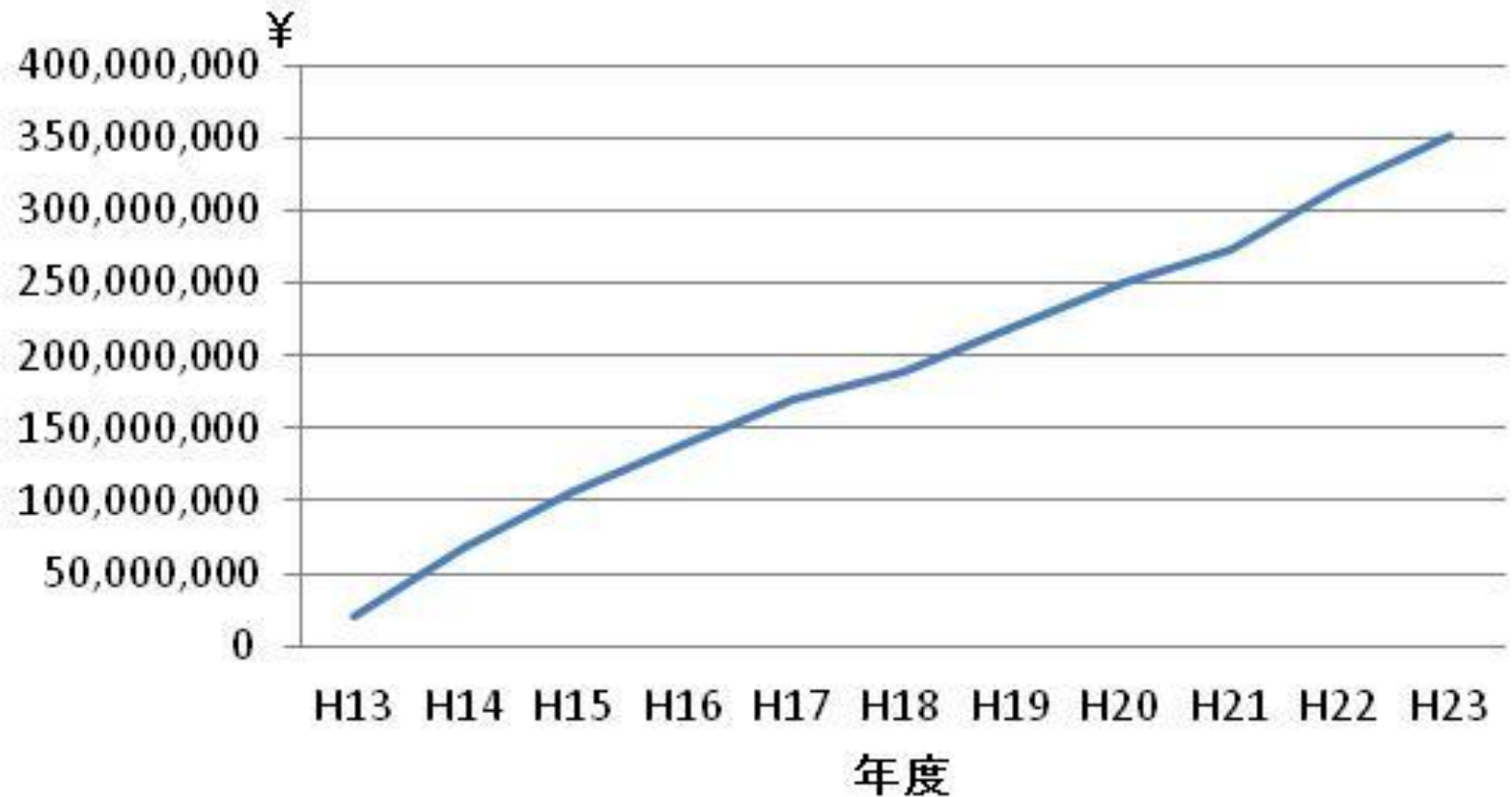
教育活動

- 修士課程 11+2名(保健学科)
- 博士課程学生 15名
- YLP学生
- 学部学生
- 短期留学生4名(中国政府3、笹川1)
- 外国人特別研究員(JSPS)2名
- 外国人研究員(JSPS)1 名
- JSPS特別研究員3名
- 教授1、講師1、助教5 (海外助教1を含む)、海外留学2、研究所研究員1、企業研究職3、企業非研究職4、公務員1



研究活動

研究費の累積



学内貢献

- 医科学修士過程運営委員会
- 安全衛生委員会(ホルムアルデヒド対策等)
- あすなろ保育園運営協議会
- 図書館商議員
- 安全衛生委員会(化学物質対策)
- 環境報告書



社会的貢献・学術貢献

- 愛知県環境部
- 環境省
- 厚生労働省(中央労働災害防止協会)
- 内閣府食品安全委員会
- 日本学術振興会
- 文部科学省(JST)
- 日本学術会議(健康・生活科学委員会)
パブリックヘルス科学分科会、環境リスク分科会、科学者委員会(広報分科会)
- その他



三つのセレンディピティ

- ストーリーのある仕事が出来たか
- 研究の流行を創ることが出来たか
- 国際舞台で活躍ができたか





ありがとうございました
2012.3.29