The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗アンドロゲン剤フルタマイドの臨界期曝露による雄仔ラットへの影響
Author(s)	宮田, かおり
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44580
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　宮　田　かおり（みや　た　かおり）

博士の専攻分野の名称　博　士（薬　学）

学 位 記 番 号　第　18885　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2項該当

学 位 論 文 名　**抗アンドロゲン剤フルタマイドの臨界期曝露による雄仔ラットへの影響**

論 文 審 査 委 員　（主査）
教 授　西原　力

（副査）
教 授　田中　慶一　　教 授　馬場　明道　　教 授　岡部　勝

論 文 内 容 の 要 旨

臨界期（胎児期・新生児期）はED物質に対し感受性が高く、生体は非常に重篤な影響を受け、その影響は一生涯に渡って残ると報告されている。しかしながら、抗アンドロゲン剤に関しては無毒性量、あるいは最低毒性発現用量未満の用量での報告がなく、報告されている事例はほとんどが大量曝露による影響である。このため、抗アンドロゲン剤としてフルタマイドを用い、この時期の暴露による影響と用量反応性を、さらに臨界期曝露の影響の持続性について仔が性成熟齢に達した後のアンドロゲン応答性を検討し、その変化の原因についても明らかにしようとした。

雌ラットに妊娠14日から分娩3日目まで0.15、0.6、2.5、10、100 mg/kg/dayの用量を経口投与した結果、雄の仔への影響には用量相関性が認められ、NOELは0.6 mg/kg/dayであった。また、最も鋭敏なパラメータとしてAGDが挙げられ、これは2.5 mg/kg/day以上の用量で認められた。曝露直後に変動していたホルモンのうち、10 mg/kg/day以上の群の血清Tの増加傾向、10 mg/kg/day/kg群のLHおよびFSHレベルの増加傾向、および100 mg/kg/day群の単位重量あたりの精巣中Tレベルの増加については、60日齢においては認められず、100 mg/kg/day群の血清LHおよびFSHレベルの増加のみが継続して認められたことから、臨界期曝露の影響の可逆性が示唆された。また、既報の影響に加えて、新たに尿道憩室上皮の角化扁平上皮化および粘液円柱上皮化が10 mg/kg/day以上の群で認められた。

次に、雌ラットに妊娠14日から分娩3日目まで10 mg/kg/dayを経口投与し、雄の仔の性成熟齢での性ホルモンに対する応答性を検討した。対照群および10 mg/kg/day群共に、雄の仔を以下の6群に分け36日齢で去勢し、Hershbergerアッセイを実施した。即ち、1群：去勢し46日齢で屠殺、2群：去勢、3群：去勢後2 mg/kg/dayのTestosterone propionate（TP）を皮下投与、4群：去勢後1.25 mg/kg/dayのDihydrotestosterone（DHT）を皮下投与、5群：無処置、6群：1.25 mg/kg/dayのDHTを皮下投与した。TPあるいはDHTは46日齢（去勢後10日後）より10日間投与し、1群以外は56日齢で屠殺し、アンドロゲン依存性器官の重量を測定した。その結果、前立腺腹葉および精嚢で、10 mg/kg/day群の2群に対する3および4群の器官相対重量が対照群に比較し低値であった。このことより、臨界期の曝露が性成熟後のアンドロゲンに対する応答性に影響している可能性が示唆された。しかしながら、その他の器官重量の変動率、血清ホルモンレベルおよび前立腺組織でのアンドロゲンに対して変動する遺伝子mRNA（AR、C3、TGF-β1、-β2、VEGF、CK8およびKGF）の発現に関して影響は認められなかった。

臨界期曝露により認められる器官重量の低値の持続、およびホルモン応答性の変化の原因を明らかにする目的で、前立腺の器官発生過程を遺伝子発現および形態面より検討した。また、性成熟後のレセプター機能への影響を検討し

た。雌ラットに妊娠 12 日から 21 日目まで 10 mg/kg/day を経口投与、あるいは妊娠 14-15、16-17、18-19、20-21 日と各々 2 日間に 30 mg/kg/day を経口投与した。生後 1 日齢で、対照群および 10 mg/kg/day 群の前立腺腹葉組織を用いて AR、TGF-β1、-β2、KGF、EGFR および VEGF の mRNA の発現に関し RT-PCR を実施し、生後 7、14 および 21 日齢で全群の前立腺腹葉組織を摘出後、コラゲナーゼを含む培養液中で樹枝状構造を明らかにし、その構造解析を実体顕微鏡下で実施した。さらに対照群および 10 mg/kg/day 群について 76-78 日齢でアンドロゲンレセプターアッセイを実施した。その結果、曝露直後の生後 1 日齢では前立腺腹葉に AR と KGF mRNA 発現量の高値が認められ、これらの発現増加と形態発生の開運が示唆された。また、構造解析の結果、10 mg/kg/day 群では、main duct の本数の減少、duct の枝分かれ部分の減少、duct 終末部のネットワークの複雑さが減少した。30 mg/kg/day の妊娠 14-15 と 20-21 日に投与した群では、実体顕微鏡下では対照群との間に差が認められなかったが、妊娠 16-17 と 18-19 日に投与した群では main duct 数が減少し、terminal duct も短いものであった。この構造異常は生後回復を認めない不可逆な影響であり、器官重量の低値に大きく関与すると考えられた。一方、性成熟後のアンドロゲンレセプターの結合能および濃度に影響は認められなかった。前立腺のアンドロゲンに対する反応性には部位特異性があり、近位部より末端の遠位部で感受性が高いことが報告されていることから、枝分かれの減少による近位部に対する遠位部の相対量の減少が、性ホルモン応答性の変化に関連している可能性が考えられた。

以上、抗アンドロゲン剤の臨界期曝露により雄の仔は影響を受け、重篤な場合は一生涯にわたる変化となるが、この作用には NOEL があり、またその影替と曝露用量は相関することが確認された。また、臨界期に受けた影響の程度や質によっては消失するものがあると考えられ、特に一旦生じた発生異常（構造異常）は生涯続くが、レセプターの機能面では影響は消失することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

内分泌かく乱物質、特に抗アンドロゲン物質に関する未確定の課題として、臨界期暴露影響の有無、低用量での影響の用量相関性、影響の不可逆性や閾値の有無、高感受性時期の特定などがある。宮田君は、これらの課題に対して、抗アンドロゲン作用物質のフルタマイドを母ラットに投与し、胎生期の雄の仔に及ぼす影響を調べた。その結果、低用量でも雄の仔に用量に依存した影響が見られ、NOEL（0.6 mg/kg/日）が存在すること、発生異常（構造異常）などは不加逆で一生涯続くが、組織中のホルモン濃度や性ホルモンレセプターへの応答性や結合性、アンドロゲン関連遺伝子の発現に対する影響などの機能面への影響は軽微あるいはみられず、またみられた場合も性成熟後には消失することなどを明らかにした。さらに、胎生 16-19 日が前立腺の器官発生に最も感受性の高い時期であり、メインダクトを含む樹枝状構造の異常と器官重量が相関することを示した。

以上の成果は、単にフルタマイドの胎児への不可逆的な影響と可逆的な影響を定量的に示しただけではなく、内分泌かく乱物質のリスクアセスメントに関する有益な知見を明らかにしたものであり、学術的にも社会的にも高く評価され、博士（薬学）学位論文として充分価値あるものと認められる。