

第5章 ヒトの健康

内分泌かく乱化学物質(EDCs)によるヒトの健康への関わりについて様々な懸念が提起されている。内分泌作用を有する化学物質への暴露によってその発達や成長後の機能が影響を受けることがわかってきたため、リスクを受ける可能性が高いと考えられる健康上のエンドポイントが注目されてきた。

本章では、4つの主要分野、すなわち生殖、神経行動、免疫機能、がんについて検討する。各項目は、受胎から成年期までの時間経過にしたがって記載した。性ホルモンと甲状腺ホルモンが、生殖器・中枢神経系・免疫系の発達および機能を決定する主要因であるため、今日までの実験研究のほとんどは、EDCsがこれらの重要なホルモン系とその標的組織へ及ぼす影響やヒトの健康への影響に関連があるかもしれないという点に着目したものであった。内分泌系を介する作用メカニズムはある種のヒトのがんで証明されており、それらについても言及する。

本章で紹介するいくつかの事例は、環境中化学物質への高濃度暴露がヒトの健康に及ぼす有害な影響(中毒事件など)を明示しているが、単一の化学物質や類似作用を有する可能性のある混合物への低濃度暴露データは明らかではない。公衆衛生上最大の問題となるのはこの低濃度暴露である。不妊症や知能指数(IQ)の低下など健康への有害影響の発生数が地域レベルでわずかに変化するだけで、集団全体の健康にかなりの影響を及ぼす可能性があるからである。ヒトを対象とした研究、実験室での研究、疫学研究を比較する場合に、それらの研究が異なる時期、場所、条件で行われたという避けがたい問題が、地球規模の疾病発生動向が存在するという確固たる結論を導き出すことを困難にし、適切な暴露データの欠如が確認された動向の原因特定を大幅に妨げている。同様に、その後の機能に影響を及ぼすような発生の臨界期における暴露データが欠如しており、暴露と影響の因果関係を導き出すことを難しくしている。

したがって本章では、既存のヒト健康データを調べる

だけではなく、EDCsのヒトへの有害作用に関する生物学的蓋然性を支持する、あるいはそれに疑問を投げかける動物実験のデータも引用した。この10年間で実験的な文献は指数関数的に増加しているが、本章ではそれらの包括的な見直しを意図しているわけではない。しかし、基礎となる内分泌学、ヒトのデータ、動物実験結果を総合的に考察することでのみ、内分泌かく乱化学物質説は仮説にすぎないかどうかを評価できると考える。

5.1 生殖

5.1.1 緒言

環境中化学物質への暴露がヒト生殖機能に影響を及ぼす可能性があるとの懸念は新しいものではない。しかし、環境化学物質がEDCsとして作用し、集団レベルでの生殖動向を変化させる原因であるとの仮説は比較的最近のものである。ヒトの生殖能に関する様々な統計上の変化、特に時間的・地域的傾向における変化は、EDCs暴露による影響の可能性を巡る論争において重要な役割を果たしている。これまでは男性の生殖機能に主眼がおかれてきた(Toppiari et al., 1996)が、ここでは男性と女性、両者の生殖機能を対象とする。

男性生殖器系に対する関心の多くは、Sharpe と Skakkebaek (1993)が提唱した仮説に端を発する。この仮説は、内分泌系の作用機序を介して生殖器官の正常な発達を妨げる物質が、長い間に男性の生殖障害を増加させた可能性があるとするものである。特に、精子数の減少や質の低下をもたらす発達時の事象と、精巣がん、停留精巣、尿道下裂といった男性生殖器官の奇形の発生率増加が関連づけられた。これらの障害の根底には、胎生期における性腺発育障害から生じる精巣性発育不全症候群という一つの疾患がある (Skakkebaek et al., 2001)。このような影響とヒトの化学物質暴露を関連付ける根拠はきわめて希薄であるか存在さえしないが、特定の化学物質を雄性生殖器系発生の臨界期に実験動物に投与すると、仮説で示されたタイプの障害が発生することがある(第3章、3.12節参照)。例外は精巣がんの発生である(本

第5章 略語表

2,4-D	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	FSH	卵胞刺激ホルモン	PCBs	ポリ塩化ビフェニル
AhR	芳香族炭化水素受容体	GD	妊娠日	PCDDs	ポリ塩化ジベンゾジオキシン
AR	アンドロゲン受容体	GR	グルココルチコイド受容体	PCOS	多嚢胞性卵巣症候群
CI	信頼区間	HCB	ヘキサクロロベンゼン	PCDFs	ポリ塩化ジベンゾフラン
CIS	上皮内がん	HPOA	視床下部視索前野	PHAHs	ポリハロゲン化芳香族炭化水素
d	日	HRT	ホルモン補充療法	PND	出生後日数
DBCP	ジブロモジクロロプロパン	IARC	国際がん研究機関	RACB	継続飼育繁殖評価
DDE	ジクロロジフェニルジクロロエチレン	Ig	免疫グロブリン	T ₃	トリヨードチロニン
DES	ジエチルスチルベストロール	IPCS	国際化学物質安全性計画	T ₄	チロキシン
DDT	ジクロロジフェニルトリクロロエタン	LA	ロサンゼルス	TCDD	2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン
DHT	ジヒドロテストステロン	LH	黄体形成ホルモン	TEQs	毒性等量
DTH	遅延型過敏症	LOAEL	最小毒性量	TGF	腫瘍成長因子
E ₂	17β-エストラジオール	MRC	英国医学研究協議会	TPOs	甲状腺ペルオキシダーゼ抑制因子
EDCs	内分泌かく乱化学物質	NOAEL	無毒性量	TSH	甲状腺刺激ホルモン
EGCG	(-)-没食子酸エピガロカテキン	NYC	ニューヨーク市	USA	米国
EGF	上皮増殖因子	OECD	経済協力開発機構	US EPA	米国環境保護庁
ER	エストロゲン受容体(, 異性体)	OR	オッズ比	US FDA	米国食品医薬品局
		PBBs	ポリ臭化ビフェニル	wt	重量

章 5.4.4 節参照)。ヒト精巣がんとしては主要なセミノーマ(精上皮腫)は実験動物ではきわめてまれであり、動物モデルは最近まで存在しなかった(本章 5.4.4.2 節参照)。しかし、特にげっ歯類において、ある種の化学物質が雄性生殖機能の正常な調節を障害する間質細胞(ライディヒ細胞)腫を発生させることが示された。

女性の生殖に関する健康における変化の動向は男性と比べると研究がなされていない。しかし、女性の生殖発生も内分泌の障害を受けやすく(第3章参照)、生殖組織と妊娠への影響は環境の影響を表す指標として役に立つ。以下に女性の生殖の健康について様々な角度から考察し、乳がんについては5.4.2 節で論じる。

内分泌かく乱化学物質への暴露が原因となり得る、あるいは内分泌系の作用機序が考えられる、あるいは既に証明されているような、ヒトの生殖の健康における有害作用について、既知文献を以下に要約する。化学物質がヒトの生殖に及ぼす多くの実例を示すが、それらが明らかに内分泌系を介する影響と関連していることを示す証拠が不十分であることに注意する必要がある。考えられるエンドポイントとの関連における内分泌かく乱説の蓋然性と因果関係に重点をおいた。ヒト関連文献を中心に扱うが、内分泌かく乱が関与する仮説の蓋然性とメカニズムを検討するために、実験動物のデータも加えた。

5.1.2 精子の質と精巣機能

5.1.2.1 精巣機能の評価 精子形成とは、精巣の精上皮で精原細胞から正常な精子が形成される過程をいう。最初の有糸分裂で精原幹細胞が増殖して減数分裂前期に入り、精母細胞として形質転換や最終的には減数分裂といった一連の過程を経て、染色体数が半分になり精子細胞が形成される。その後、これらの円形細胞は変形して長円形の精子細胞となり、精巣上皮から放出され、精細管に入り、精巣網、精巣輸出管、精巣上体へと進み、そこで精子は運動能と受精能を獲得する。これらすべての細胞変化は、エンドクリン(内分泌)、パラクリン(傍分泌)、オートクリン(自己分泌)の各レベルで厳密なホルモン調節を受けるため(第3章参照)、(抗)エストロゲン、(抗)アンドロゲン、ステロイド生合成阻害剤、種々の成長因子類似物質などの内分泌作用をもつ化学物質の標的となりうる。

動物においては、これらすべての標的組織は、被験物質を投与して行う標準的な生物試験法と研究計画によって評価可能であり、標的組織中濃度と組織学的所見・細胞機能・生化学的エンドポイントの間の関連性を明らかにすることができる。ヒトの男性ではそのような研究ははるかに難しく、通常、血中ホルモン濃度(検知できないか、重度の低下のみを示す傾向がある)や精子の質(数、運動性、形態、機能)の測定に限定される。ヒトと直接比較するためにこれらの検査項目を動物で測定することは可能であるが、実験動物における精子形成過程の方がはるかに効率的であるため、弱いかく乱では機能低下を引き起こすことは少ない。

精子濃度が非常に低いと男性の受精能は低下するが、この閾値について統一見解はない。妊娠を望むカップル

の調査から、精子濃度が $40 \times 10^6/\text{ml}$ 以下になると男性の受精能は低下することがわかった(Bonde et al., 1998)。 $48 \times 10^6/\text{ml}$ といった同程度の値も報告されている(Guzick et al., 2001)。

精子の他の特性として、運動精子の割合や形態異常の発生率や型などが、男性の受精能と直接的に関連するようである。“正常な”精液の評価を定義づけようとする最近のデータは、たとえば、男性の受精能を識別するには精子濃度より精子の形態の方が適切であることを示している(Guzick et al., 2001)。精子の形態と運動性は、受精能に影響のない場合であっても、毒性影響を示す有用な指標となり得る。精子の受精能は、分子や細胞レベルで起こる多くの事象が関与する複雑な現象である。精子を卵母細胞に到達させ受精能を獲得するための運動機能、透明帯との相互作用や卵母細胞原形質膜との融合に必要な尖体反応など、きわめて重要なものもある。正常な胚発生には核の組成とDNAの完全性も重要である。近年、精子の様々な機能を評価するための精巧な生物学的試験法が開発されているが、男性受精能を測定できる理想的なものはない。

現実的に、異なる時期や場所における異なる集団の受精能比較のために精子数を用いるとすれば、算術平均値や中央値、幾何平均値を比較するよりも、精子濃度分布、とりわけ低値を示す男性の割合を分析する方がより適切であろう。精子濃度は射精時に胚芽細胞が希釈される精漿容量に依存する。精漿容量は変動するので、精子濃度ではなく精子数(濃度 \times 容量)の方がより定量的な精子形成の指標として適切であるが、臨床的には両数値とも用いられている。運動精子および形態異常精子の割合を比較することも有用である。他にも、Irvineら(1996)が算出した運動精子濃度の方が、精子数よりも受精能をより適切に表している可能性がある。運動精子および形態正常精子の割合で表した精子の特性は、精子形成の簡便で有用な定性的指標であるが、精子数のように測定は容易ではない。

最適な男性受精能の指標にならないとしても、精子数は精巣機能の、より正確には精子形成とセルトリ細胞の数・大きさ・活性を示す興味深いバイオマーカーである。セルトリ細胞数と産生される精子数には有意な相関関係がある。したがって、精巣発達期にセルトリ細胞の増殖と分化に影響する、あるいは思春期後にセルトリ細胞を不可逆的に損傷する因子はすべて、精巣での精子形成を減少させることになる。

5.1.2.2 ヒトの精子の質と精巣機能には時間的・地域的傾向が存在するか 特定の地域で精子数と精巣機能が経時的に低下しているかどうかについては、EDCsに関する近年の懸念との関連だけでなく、これまで長い間議論されてきた。“地球規模”すなわち世界的な低下が仮説として取上げられているが、これまでのところこれを裏付ける情報はない。

ヒト精子の質の低下を最初に示唆したのはNelsonとBunge (1974)であり、アイオワ市で精管切除を望んだ受

精能を有する男性390人の平均精子濃度が、当時正常と考えられていた値より低い $148 \times 10^6/\text{ml}$ であると報告した。Rehanら(1975)の報告では、ニューヨーク市(NYC)における同様の男性1,300人の平均精子数は $79 \times 10^6/\text{ml}$ であった。これらの結果と更に米国でのもう1例の研究データ(Zukerman et al., 1977)を合わせて再検討した結果、MacLeodとWang(1979)は、過去30年間にかねらの研究機関を訪れた不妊男性のデータに基づき、ヒトの精子数の経時的減少を裏付けるだけの納得できる根拠はないと結論した。ところが、受精能が立証されている非特定男性の平均精子数について1934から1979年までに発表された17論文のメタアナリシスに基づき、James(1980)は“報告されたかぎりでは、精子数が減少していると推測できる根拠がある”との結論を出した。

この問題については、1992年のメタアナリシスで再び脚光を浴びることになるが、これは61報の論文に基づき、健康男性の平均精子濃度が1938年から1991年までの50年間に $113 \times 10^6/\text{ml}$ から $66 \times 10^6/\text{ml}$ に減少したと結論したものであった(Carlsen et al., 1992)。このメタアナリシスは、いくつかの調査の対象となった男性が、地域、調査の季節、受精能、年齢、社会経済状態という点できわめて異なっていた可能性があり、比較は難しいとの批判を招いた。しかも、多くの研究においてサンプル数が非

常に少なく、有効な比較はできないとも指摘された(Farrow, 1994)。メタアナリシスに用いた統計手法だけでなく、交絡因子や精子分析方法の違いによって、結果が影響を受けた可能性も指摘された。

Carlsenと共同研究者(1992)のメタアナリシスに用いたデータを再分析したBeckerとBerhane(1997)は、精子数が有意に減少したのは、50年間に及ぶデータがメタアナリシスに唯一用いられた米国においてのみであった。Carlsenと共同研究者(1992)のデータをより広範囲に再分析したSwanら(1997)は、米国では1938~1988年に年間1.5%、ヨーロッパでは1971~1990年に年間3.5%という有意な平均精子濃度の減少を認めた。より大規模なデータを新たに再分析したSwanと共同研究者(2000)は、精液の質の低下を確認し、その低下傾向は単に交絡因子によるものではないと結論した。

上記の報告や記録が刺激となって、種々の研究機関が自己のデータの再分析を行った。1ヶ所の機関が長期にわたって集めた、ある程度均一な男性群の精液の特性に関する縦断的後ろ向き分析の結果がいくつか報告されている(表5.1参照)。表5.1に記載された研究は、実験計画およびサンプル数が大幅に異なるため、同じようには扱えない。これらは、Carlsenら(1992)のメタアナリシスほど調査期間が長くなく、過去にまでさかのぼっておらず、

表5.1 同一センターにおける精子数の縦断的後ろ向き調査研究のまとめ

	調査期間	人数	主な精子提供者	精子濃度
1	パリ(フランス)	1973-92	AI用提供者、父親	
2	ガン(ベルギー)	1977-95	AI用提供者、不明	=
3	トゥルク(フィンランド)	1967-94	不妊夫婦	= =
4	エジンバラ(英国)	1984-95	研究用提供者、父親と不明	
5	ツゥールーズ(フランス)	1977-92	AI用提供者、父親	= =
6	ミネソタ(米国)	1970-94	精管切除前、父親と不明	NA
6	ニューヨーク(米国)	1972-94	精管切除前、父親と不明	NA
6	ロサンゼルス(米国)	1978-94	精管切除前、不明	= NA
7	シアトル(米国)	1972-93	研究用提供者	
8	アテネ*(ギリシャ)	1977-93	不妊夫婦	NA
9	フランス**	1989-94	卵管疾患女性の夫	NA
10	ピサ(イタリア)	1970-90	不妊夫婦	NA
11	シドニー(オーストラリア)	1980-95	AI用提供者、父親	= NA
12	オーゼンセ(デンマーク)	1990-96	卵管疾患女性の夫	= NA
13	ミュンスター(ドイツ)	1977-93	研究用提供者	= =
14	エルサレム(イスラエル)	1980-95	AI用提供者、不明	= NA
15	スウェーデン南部	1985-95	不妊者	=
16	カナダ	1984-96	不妊夫婦	= NA
17	コペンハーゲン(デンマーク)	1977-95	AI用提供者、不明	
18	バルセロナ(スペイン)	1960-96	不妊者	= NA
19	スロベニア	1983-96	卵管疾患女性の夫	= =
20	マクデブルク(ドイツ)	1974-94	不妊夫婦	NA
21	ハンブルク(ドイツ)	1956-80	不妊夫婦	
22	ベルリン・ライプチヒ(ドイツ)	1985-96	不妊夫婦	

アテネの3調査研究機関での結果。77センターでの結果。略語: AI 人工授精; 不明 受精能不明者、有意な低下、有意な上昇、= 有意な変化なし、NA 入手不可、参考文献: 1, Auger et al., 1995; 2, Van Waeleghem et al., 1996; 3, Vierula et al., 1996; 4, Irvine et al., 1996; 5, Bujan et al., 1996; 6, Fisch et al., 1996; 7, Paulsen et al., 1996; 8, Adamopoulos et al., 1996; 9, De Mouzon et al., 1996; 10, Menchini Fabris et al., 1996; 11, Handelsman, 1997; 12, Rasmussen et al., 1997; 13, Lemcke et al., 1997; 14, Benshushan et al., 1997; 15, Berling and Wolner-Hanssen, 1997; 16, YoungLai et al., 1998; 17, Gyllenborg et al., 1999; 18, Andolz et al., 1999; 19, Zorn et al., 1999; 20, Glöckner et al., 1998; 21, Licht, 1998; 22, Thierfelder et al., 1999.

大部分が1970年代や1980年代に始められたことにも注目すべきである。サンプルの由来についても考慮すべき重要な点である。たとえば、精管切除を望む男性と望まない男性は比較できない。同様に、不妊カップルの男性を対象とした研究は、不妊基準が年月とともに変化したこと、治療を求めるカップルの割合が現在非常に多いこと、さらに近年では治療上の選択肢も劇的に変化したことから、慎重に扱わねばならない。

9件の研究は不妊男性を対象としており(Vierula et al., 1996; Adamopoulos et al., 1996; Menchini Fabris et al., 1996; Berling and Wolner-Hanssen, 1997; YoungLai et al., 1998; Glöckner et al., 1998; Licht, 1998; Thierfelder et al., 1999; Andolz et al., 1999)、うち1件を除いて1,000人以上の男性を扱っている(表5.1)。精子数は、アテネ、ピサ、フランス、ドイツでは減少し、スウェーデン南部では増加した。トゥルクとバルセロナでは変化せず、カナダでは施設ごとに不変、増加、減少のいずれかが認められた。これらの研究から結論を引き出せないのは、大部分の研究が実施されたヨーロッパ諸国ではここ30年間に不妊治療が受けやすくなり、子供を望むカップルの行動が大いに变化したからである。たとえば、ある施設が男性不妊症を専門にするようになると、対象となる重度の不妊男性の割合が増え、その結果、平均精子数は減少するからである。

6件の研究の対象者は、人工授精のための任意の精液提供者である。そのうち3件(パリ、ツールーズ、シドニー)はすでに子供をもうけた男性(Auger et al., 1995; Bujan et al., 1996; Handelsman, 1997)、残りの3件(ヘント、コペンハーゲン、エルサレム)は受精能が証明されていない若い学生が主であった(Van Waeleghem et al., 1996; Gyllenborg et al., 1999; Benschushan et al., 1997)。これらの研究はすべて、最初の射精のみを対象とし、適切な統計手法を用いるなど、標準化法で行われた。しかし、4件(ヘント、ツールーズ、シドニー、エルサレム)はサンプル数が少なく、対象となったのは平均で年間35人未満であった。2都市(パリ、ヘント)で精子数が有意に減少し、その他の3都市(ツールーズ、シドニー、エルサレム)では変化がなく、コペンハーゲンでは平均精子濃度および総精子数の有意な増加がみられた。総精子数が減少したのはパリのみであった。厳密な方法をとったにもかかわらず、サンプル数が少ないことから明確な結論は得られず、精子の質に地域差があることを示唆するにとどまった。

3件の研究で、研究目的で選んだ提供者の精液の特性から時間的傾向が分析されている。平均および総精子数は、エディンバラでは減少(Irvine et al., 1996)、シアトルでは

増加した(Paulsen et al., 1996)。シアトルの研究には、平均の精液の特性の算出に射精回数が1回と複数回の男性が含まれていた。3件目のミュンスターでの研究では変化はみられなかった(Lemcke et al., 1997)。

米国の3都市において精管切除前に採取し凍結保存した精液の分析が行われた(Fisch et al., 1996)。精子濃度はミネソタとニューヨーク(NYC)で上昇し、ロサンゼルス(LA)では変化がなかった。その上、平均精子数は大きく異なっていたものの(NYCで $131.5 \times 10^6/\text{ml}$ 、ミネソタで $100.8 \times 10^6/\text{ml}$ 、LAで $72.7 \times 10^6/\text{ml}$)、その相違の統計分析は行われていない(Fisch et al., 1996)。それに加え、これら3件の分析では、非常に少ないサンプル数からデータを集めており(NYCとLAのデータは年間20例未満)、受精能の状態は不均一で、不明なものも多い。また、精子数の計数方法が研究の期間中(17~25年)に変化し、精管切除を受ける理由も年月とともに変化したと考えられる。これらの制約を考えると、この3都市で得られた精子数が実際に相違するのかを結論づけることはできない。

ほとんどの後ろ向き研究は、1ヶ所の研究機関からのものである。同じ地域の異なる機関が、同時期あるいは異なる時期に健康な男性で行った結果を比較することは興味深い。NYCにおける3件の研究データにより、精子濃度を経時的に比較することができる(MacLeod and Gold, 1951; Rehan et al., 1975; Sobrero and Rehan, 1975; Fisch et al., 1996) (表5.2参照)。MacLeodとGold (1951)は、妊娠した女性のパートナーから1945~1951年に採取した精子に基づき、精子濃度の算術平均値が $107 \times 10^6/\text{ml}$ で、7%の男性では $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下であったと報告している。最低2人の子供があり、1969~1974年に精管切除を希望した男性を対象としたRehanら(1975)の研究では、精子濃度の算術平均値は $79 \times 10^6/\text{ml}$ に低下し、5%の男性で $20 \times 10^6/\text{ml}$ 以下であった。Fischら(1996)は、1972~1994年の精管切除術前の患者を対象とした研究において、精子濃度の算術平均値 $131.5 \times 10^6/\text{ml}$ を報告した。矛盾した結果が出たのは、次のようないくつかの方法論的な違いによるものと考えられる。第一に、最初の2件の研究では初回射精のみを分析しているが、Fischらは複数回の射精を割合不明のまま平均値をだしているため、精子濃度の高い男性寄りとなってしまった可能性がある(Auger and Jouannet, 1997)。第二に、Rehanらは精液採取時に受精能を調整しなかったため、パートナーが妊娠中の男性100人を対象に二次分析を行い、類似の結果を得ていた。最後に、いずれの研究も精子計数方法における違いを考慮に入れていなかった。

表5.2 米国ニューヨーク市における健常男性の精子濃度

参考文献	調査期間	男性数	特記事項	平均精子濃度 ($\times 10^6/\text{ml}$)	
				算術平均	幾何平均
MacLeod and Gold, 1951	1945-51	1,000	妊婦の配偶者	107	90
Rehan et al., 1975	1969-74	1,300	精管切除前、父親	79	65
Sobrero and Rehan, 1975	1969-74	100	妊婦の配偶者	82	68
Fisch et al., 1996	1972-94	400	精管切除前、父親と受精能不明者	131.5	NA

NA, 記載なし

James(1980)、Carlsenら(1992)、Swanら(2000)の分析研究およびその他最近の研究では、世界各地における健康なあるいは受精能を有する男性集団について報告された平均精子濃度に大きな違いがある(Jouannet et al., 2001)。NYCの $131.5 \times 10^6/\text{ml}$ (Fisch et al., 1996)から、アイオワシティの $48.5 \times 10^6/\text{ml}$ (Nelson and Bunge, 1974)、タイの $52.7 \times 10^6/\text{ml}$ (Aribarg et al., 1986)、ナイジェリアの $54.7 \times 10^6/\text{ml}$ (Osegbe et al., 1986)とさまざまである。このような相違は、ヒトの精子形成に地域的多様性があることを示している。この多様性を理解することで、環境あるいは職業的な要因が精巣機能に及ぼす影響を明確にすることができると思われる。

1984~1996年にカナダの11の大学機関に通った男性の精液特性を分析する研究で、YoungLaiら(1998)は、平均精子濃度が $48.6 \times 10^6/\text{ml}$ から $104.5 \times 10^6/\text{ml}$ と、機関間で有意差があることを認めた。調査期間を通して平均精子数が増加あるいは減少した機関もあり、変化しなかった機関もある。したがって、この研究は、精子数に地域差があるとの仮説を支持しているだけでなく、精子の質を左右する要因は地域が異なれば大きく相違することも示している。

フランスのヒト卵子・精子研究・保存機関(CECOS)の8ヶ所で、任意に選んだ4,710人の受精能を有する精液提供者において、平均精子濃度(n)および総精子数(N)に有意差が認められた(Auger and Jouannet, 1997)。最高値はフランス北部のリール($n = 103 \times 10^6/\text{ml}$; $N = 398 \times 10^6$)、最低値はフランス南部のツールーズ($n = 86 \times 10^6/\text{ml}$; $N = 259 \times 10^6$)であった。すべての機関は大学病院内にあり、提供者募集と精液分析の方法には同一の基準を用いた。年齢と精液採取前の禁欲期間を調整した後も、8機関間の差は統計学的に有意であった。

妊娠した女性のパートナーから構成される同質集団の精液特性を比較し、精液の質における地域差を調べるために特別に設計された初めての研究が最近ヨーロッパで終了した(Jørgensen et al., 2001)。この横断研究において、受精能を有する男性の平均精子濃度は、コペンハーゲン($77 \pm 66 \times 10^6/\text{ml}$)、エディンバラ($92 \pm 63 \times 10^6/\text{ml}$)、パリ($94 \pm 72 \times 10^6/\text{ml}$)、トゥルク($105 \pm 73 \times 10^6/\text{ml}$)で、有意差が認められた。平均総精子数にも、コペンハーゲンの $276 \pm 240 \times 10^6$ からトゥルクの $412 \pm 312 \times 10^6$ と同様の結果がみられた。興味深いことに、年齢、禁欲期間の長さ(abstinence delay)、研究を行った季節を調整した後も、この差は有意であった。ロンドン市内(Ginsburg et al., 1994)やパリ区域内(Auger and Jouannet, 1997)でも有意差が報告されている。

全体としてみると、いくつかの公表されている報告において、精子濃度あるいは(測定されている場合は)精子の運動性・形態に反映されるような精液の質の経時的な低下が少なくとも一部の地域においては認められるとする仮説は支持されているが、世界規模で低下しているとの説は支持されていない。精液の質の有意な地域差は示されているが、これらの結果における生物学的意義やその原因となりうるものはまだ明らかにされていない。

内分泌かく乱との関連は、蓋然性があるものの、現時点では全く推測の域を出ない。

5.1.2.3 ヒトの精子の質を左右する要因と傾向の研究におけるバイアスの解釈 精子濃度は、個人間および個人内で大きく変動し得るという特徴がある。受精能を有する男性においては10パーセントイルと90パーセントイル間で精子濃度に10倍もの開きがある(Jouannet et al., 1981)。受精能に関するこのばらつきの因果関係を十分考察した報告が最近発表されている(Mees et al., 1997; Auger and Jouannet, 1997; Jegou et al., 1999; Jouannet et al., 2001; Weber et al., 2002)。精子数を左右し、ばらつきの一翼を担う要因には3つある。すなわち、研究対象となる男性の特性に関係する要因、精液やデータの分析の手法に起因する要因、精巣機能に影響を及ぼす外部要因である。前2者の要因を表5.3に示す。これらの要因についての情報は、後ろ向き研究の大半の報告では見あたらぬか、データ分析の過程でもほとんど考慮されていない。とりわけ、母集団の定義があいまいである。

遺伝的要因は、報告されている急速な経時変化の説明とはならないが、地域的変動はこれで説明できる。たとえば、Y染色体の欠損は精子形成異常の主要な原因であることが知られている(Ma et al., 1993; Reijo et al., 1995)。同様に、遺伝子の組成や活性の違いも、少なくとも部分的には、健康な男性間での精子形成のばらつきを説明できる。Y染色体の遺伝子多型は、Yハプロタイプによって分類された健康かつ受精能を有する日本人男性の精子濃度に影響を与えることがわかっており(Kuroki et al., 1999)、特定のハプロタイプをもつ男性の比率は民族的出自によってさまざまである(Shinka et al., 1999)。不妊の兄弟のいる受精能を有する男性は、他の受精能を有する男性よりも精子数は少なく質が劣ることが立証されている(Czyglik et al., 1986)。正常なヒトの精子形成に関与する家族的要因を初めて特定したこの調査結果は、その後、Augerら(1995)によっても確認されている。双生児17組(一卵性11組、二卵性6組)を対象とした研究では、精子濃度、総精子数、精巣体積に強い家族的な一致がみられた(Handelsman, 1997)。これらの兄弟を対象とした研究で

表5.3 環境中化学物質以外の、精子特性を左右する要因

母集団の特性	方法
出身地	精液採取方法
職業	精液分析方法
年齢	射精回数
過去の薬歴と既往症	禁欲期間
食・衣・喫煙習慣	分析技術者間及び内の変動
ストレス	季節
受胎能	統計的手法
性的活発性	
熱に対する過剰暴露	

は、遺伝的影響と共有している環境の影響を区別していないが、精子の質を比較するさいに家族的要因をばらつきの原因として考慮すべきであると指摘している。アフリカや東南アジア出身の受精能を有する男性の平均精子数(Osegebe et al., 1986; Aribarg et al., 1986; Chia et al., 1998)が非常に少ないことから、民族的要因が精子形成を左右する可能性が示唆された。しかし、これらのデータでは、民族的要因、環境的要因、あるいは性感染症発生などの他の要因のそれぞれの影響が、報告されている違いにどの程度関与しているかの判断はできない。

種々の研究や単一研究内における精液所見の比較から妥当な結論を導き出すために、分析したサンプル数と精子形成における個人間のばらつきの役割を記述する必要がある。時間的あるいは地域的な変動を判定するためには、非常に大きな男性集団が必要である(Berman et al., 1996)。Carlsenら(1992)のメタアナリシスでは、対象となった男性数は12件の研究で20人未満、29件で50人未満であった。1994年以降に発表された健康な男性を対象とした10件の縦断的後ろ向き研究のうち8件で、男性の年間平均対象者数は50人未満であった(表5.1)。そのような状況では、研究上のわずかな変動やサンプルの特性が時間的傾向に重大な影響を与えかねない(Auger and Jouannet, 1997)。また、分析技術者や研究機関によるばらつきが精液分析結果に影響しないようにすることも重要である。前述の横断的研究にも参加した、ヨーロッパの熟練4グループが行った質評価(Jørgensen et al., 2001)では、サンプル数が100の場合、精子濃度の幾何平均値の26%の差は有意水準5%で統計的に有意となる。サンプル数が500の場合、18%差が統計的に有意である(Jørgensen et al., 1997)。母集団の規模、均質性、種々の要因の標準化は、地域間あるいは時間ごとのデータを比較する際に重要である(表5.3)。

発表されたいずれの研究も一般的集団を代表するものではない(Handelsman, 1997)。自発的被験者は、高学歴の人や自らの受精能を疑う男性であることが多く、その結果自身の健康状態の情報を得るのに意欲的である。一般的な集団では妥当な評価はできないとはいえ、若い徴集兵、受精能をもつ妊娠女性のパートナー、任意の精子提供者、精管切除前に精子を凍結保存した男性、任意の不妊男性など、明確に定義された種々の男性集団において同じ傾向があるかどうかを調べることは有意義だろう。

表5.3に記載した方法論的な要因は、ほとんどの研究で常に考慮されているわけではないが、注意深く対処する必要がある。たとえば、精子濃度は同一個人でも大きなばらつきがあることから、各被験者の射精回数分の平均値に基づいて比較することが望ましい。しかし、これでは精子数の多い男性集団を選ぶことになってしまう(Auger et al., 1995)。

年齢、禁欲期間、季節といった交絡因子の影響を統計解析に組み込むことで、異なる機関や時期のデータをより正確に比較できる。こうした処置は表5.1に示したいくつかの研究で行われているが、データをより適切に比較

できるような補正值の算出には、与えられた条件はおおよそ不十分である。フランスの8機関における精液の質の比較研究(Auger and Jouannet, 1997)では、年齢と精液採取前の禁欲期間のデータ補正により、各機関間の平均値と中央値の変動幅が明らかに小さくなった。このような要因は、種々の集団のデータを比較するため、そして外部要因の影響を評価するために、重回帰モデルに組み込むべきである。

5.1.2.4 ヒトにおけるホルモンおよび化学物質暴露からの証拠 SharpeとSkakkebaek(1993)の仮説は、もし遊離のホルモンが胚や胎児に到達するなら、妊娠中のホルモン活性物質への暴露は、後に精子の質に影響を及ぼすことを予測するものである。Swan(2000)は、ジエチルスチルベストロール(DES)への子宮内暴露が男性の生殖機能に及ぼす影響を検討している。DESを服用した母親の息子では生殖器官異常の発生率が増加するが、精液の質への影響は相反するもので、質低下がある場合とない場合がある。受精能については影響を受けないようである(Wilcox et al., 1995)。フィンランドでは、DES以外のエストロゲン剤やプロゲステン剤に子宮内暴露し、1958~1963年に生まれた次世代の生殖能を、男女1,888人を対象にし、同世代の2,044人を対照群とした後ろ向き研究において調べた(Hemminki et al., 1999)。この研究では、エストロゲンとプロゲステンへの子宮内暴露が次世代の生殖能に及ぼす有意な影響は、結婚1年以内に最初の生産児をもうけた男性の割合が暴露群で少なかったこと以外認められなかった。男性の精液の質は分析されていない。

1990~1991年に、カナダのカルガリーの不妊外来に通院する男性の精液の分析調査で、精子の濃度・運動性の低下と精子奇形率(先細頭)の増加が農業従事者55人で認められた。しかし、精子の濃度差は他の職業的要因の影響と比較して統計的に有意ではなかった。一方で、仕事上感じるストレスの程度と精子の形態および運動性にみられる種々の異常の間に有意な用量-反応関係が認められている(Bigelow et al., 1998)。さらに、不妊外来通院患者すべてが異常精子をもつ可能性があるため、この研究の解釈は難しいものであった。別の研究では、デンマークの農業従事者で精子濃度の中央値が農薬散布期前よりも散布期後に有意に低下したが、農薬散布作業に従事しない対照群でも同様の低下が認められた(Larsen et al., 1999)。

精液特性と精漿中の環境化学物質濃度の相関性を分析した2件の研究がある。Doughertyら(1980)は、132人の健康な学生の精液において、精子数とポリ塩化ビフェニル(PCBs)など有機塩素系化合物の間に逆相関を認めた。受精能にばらつきがある男性170人の研究で、精子濃度が $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満のサンプルにおける精子の運動性とPCB同族体濃度に逆相関がみられた(Bush et al., 1986)。

5.1.2.5 精子の質と精巣機能に関する結論 公表されているデータの詳しい分析から、ヒトの精子形成に時間的、地域的な変動があることが示唆されるが、この現象が実際に起こっているのか、もしそうならば精子数の低下が

どの程度まで生殖に影響を及ぼすのかを結論付けることはできない。データは慎重な解釈を要する。これまでのところ、発表された研究の大部分は後ろ向き研究であり、報告データは時間的・地域的な変動を分析するためというよりも、ほかの目的(不妊カップルや研究のための提供、精管切除前の凍結保存、不妊症診断など)で集められた男性から得られたものである。対象選定基準は種々の研究機関によって大いに異なる。さらに、使用した分析方法や男性の特性によっては、多くのバイアスが結果に影響を与える可能性があるが、ほとんどの研究ではこの点が考慮されていない。明確に定義された集団を用いた横断的研究が数ヶ国ですでに始まっているが、参加率はよくないようである(Jørgensen et al., 2001)。

これまで述べたように、生物学的蓋然性と実験的根拠によって、EDCsとして作用する化学物質が精巣機能不全を誘発するとの仮説が支持される。さらに、精巣がん発生頻度(本章 5.4.4参照)や雄性生殖器官の奇形発生率上昇傾向(本章5.1.6参照)(精巣がんと発生活起源と影響を共有)は、精子の質をはじめとする一連の生殖機能へのEDCs影響の生物学的蓋然性を増大させている。しかし、エストロゲン剤であるDESのヒト精巣機能への明らかな影響はみられず、その他の化学物質への暴露についても現在のところ内分泌かく乱作用は実証されていないことから、確実な結論を導くにはより多くの研究が必要である。EDCsへの暴露に関する影響を、EDCsが精巣や生殖管の発達に変化を与え得る出生前や周産期と、精子形成に障害を与え得る思春期後の異なる2時点で分析する必要がある。

5.1.3 受胎能と生殖能

5.1.3.1 時間的・地域的傾向を明らかにするための方法論
受胎能、生殖能、“精子の質”は別個のパラメータであるが、混同されることが多い。精子の数と質によって、あるカップルが受胎するかどうかは必ずしも予測はできない。“生殖能のあるカップル”とは、少なくとも1人の子供を妊娠した場合である。受胎能とは、カップルが子どもをもうける能力をさし、妊娠するまでに要する期間で評価されることが多い。“妊娠までの期間”はある集団の受胎能を評価する際に疫学上有用な指標である。対象者は生殖可能か否かといった非常に制約のある方法で分類する必要がない。このモデルは、生殖を左右する外因性物質の影響力を判定するための常に有効な手法として認められている。たとえば、非喫煙者と喫煙者の間で妊娠までの期間に明らかな違いがあるとする研究がある(van der Pal-de-Bruin et al., 1997)。

ヒトの生殖は複雑であるために、年齢特異的不妊率が実際に上昇しているか否かを判断するのは、多くの場合困難である。ヒトの受胎能の時間的・地域的傾向に関する研究報告はわずかである。しかし、妊娠までの期間は、英国よりもフィンランドのカップルの方が短いことが認められており(Joffe, 1996)、フィンランドのほうが精子数が高いとするほとんどの調査報告の見解と一致する(Suominen and Vierula, 1993; Vierula et al., 1996; Jensen et al., 2001)。これに対して、英国では精子の質

低下が報告されている(Irvine et al., 1996)が、避妊手段を取らない性交渉で受精したすべての分娩の妊娠までの期間を16~59歳の英国人で調べた1961~1993年の後ろ向き研究では、受胎能は上昇していた(Joffe, 2000)。経産歴および体型指数が母体のエストロゲン濃度を示す指標として用いられており、軽度の肥満の母親から第一子男児として生まれることは停留精巣と精巣がんのリスク因子であることから、このような要因も受胎能の低下と関連していると推測された(Joffe and Barnes, 2000)。1958年生まれの英国人集団を出生時から追跡調査したコホート研究(前向き研究)では、出生時の両親の年齢、ならびに多くの特徴(喫煙、体型指数、身長、母親の経産歴、社会的階層)が及ぼす妊娠までの期間への影響が評価された。合計1,714人の男性と2,587人の女性から、妊娠までの期間に関する情報を入手した。すべてのオッズ比(OR)は0.9~1.1前後であった。これまでの報告とは異なり、タバコの煙で子宮内暴露して成人した女性の妊娠までの期間に影響はみられなかった。これらのデータは、生殖能における不均一性がこの研究で調べたいずれの因子とも関係しないことを示唆している。したがって、時間的傾向とヒトの生殖能に関する明確な実態は把握しにくい。

ヨーロッパの7地域に関する前向き研究で、妊娠までの期間に相違が認められた(Juul et al., 1999)。受胎能は、イタリア南部とスウェーデン北部でもっとも高く、ドイツ東部でもっとも低かった。体型指数・喫煙・性交回数・性感染症の地域差を補正した後でも、有意差が認められた。妊娠までの期間は、パリがもっとも長く、ローマがもっとも短い。しかし、ヨーロッパのこれらの地域からの精子データがないため、妊娠までの期間にみられた相違と男性側の要因を関連づけることはできない。その後ヨーロッパでは、コペンハーゲン(デンマーク)、パリ(フランス)、エディンバラ(スコットランド)、トゥルク(フィンランド)の生殖可能なカップルで、妊娠までの期間および精子の質が比較された(Jensen et al., 2001)。交絡因子を補正した後、妊娠までの期間に差がみられなかった他の3都市に比べて、パリのカップルは妊娠する可能性が低いことが確認された。その相違は、精子の質における地域差によるものではなかった。著者らは、参加率の低さが選択上の偏りを招いた可能性を認めている。

スウェーデンの出生届を分析したところ、生殖能の低下した女性集団(1年を過ぎても妊娠しない人々)が一般集団に占める割合は、1983年の12.7%から1993年の8.3%へと減少していた(Akre et al., 1999a)。この減少は母体年齢と無関係で、精子の質の傾向との関連性もないと思われるが、おそらくスウェーデンにおける性感染症が減少したことによると考えられる。

受胎調節をしようとならない人々の集団において総受胎能を調査することも他の有用な手がかりとなる。たとえば、年代を経ても生殖行為に変化が生じる可能性が低いキリスト教フッター派の信徒では、年齢別生殖能が低下している(Nonaka et al., 1994; Sato et al., 1994)。これらの後ろ向きコホート研究から、総出生児数は1931~1935年コホートから減少し始め、その後も減少が続いている

ことが明らかになった。原因として遺伝的影響、合成化学物質や、隠れた出産調節といった背景因子も排除することはできないが、内分泌かく乱メカニズムとの明確な関係も認められていない。

5.1.3.2 ヒトにおける化学物質曝露からの証拠 職業性曝露は、生殖能への外部からの影響力を示す証拠として挙げられることが多い(Schaumburg and Molsted, 1989; Sitarek and Berlinska, 1997; Feinberg and Kelly, 1998)。化学物質への曝露と他の職業性曝露に関しては多くの資料がある。ここでは、EDCsに関わる研究のみを取り上げる。既に発表されている研究は、女性および男性の職業からの影響に関係している。不妊症と診断された女性281人を分娩後の女性216人と比較した症例対照研究で、不妊のリスクが高かったのは農業に従事したことのある女性であった(Fuortes et al., 1997)。農薬に曝されている農業従事者の受胎能と生殖能を調査するために、いくつかの疫学調査研究が実施されている。男性側が果物を栽培するオランダのカップル43組における後ろ向き研究では、1978～1990年に91例の妊娠が確認された(de Cock et al., 1995)。農薬への曝露は自己申告データに基づいて判断した。その結果、農薬曝露による有害作用が認められ、おもに農薬の散布時期に受胎を試みた高濃度曝露の男性で特に明らかであった。カップルが不妊問題で医師に相談する割合も高濃度曝露群ではるかに高かったが、内分泌かく乱作用メカニズムとの関連は認められていない。不妊外来で診察を受けたカップルを対象として職業性曝露と精子の質に関して継続する症例対照研究の追跡調査では、精子試料を提出した男性899人で精液の質の低下と芳香族溶剤への曝露に関連がみられたが、農薬曝露との関連は認められなかった(Tielemans et al., 1999a)。しかし、男性側が農薬に曝露し、体外受精プログラムに登録しているカップルでは、受精率が有意に低かった(Tielemans et al., 1999b)。父親あるいは母親の喫煙習慣、カフェイン摂取、アルコール消費量、他の職業性曝露に関して補正しても、結果はほとんど変わらなかった。農業に従事するカップル2,012組の後ろ向き研究で、様々な種類の農薬への曝露と妊娠までの期間の間に一貫した強い関連性は認められなかった(Curtis et al., 1999)。同様に、農業従事者を対象としてデンマークとフランスで行った農薬曝露に関する大規模症例対照研究では、農業従事者の農薬曝露が妊娠までの期間に影響を及ぼさないことがわかった(Thonneau et al., 1999)。これまでに行われたいずれの研究においても内分泌かく乱との関連は示されなかったが、合成化学物質に曝露した職業集団の一部でヒトの受胎能と生殖能が低下しており、この関連性を明確にするためにも作用機序の研究を行う必要がある。

職業性曝露を受けた人に加えて、社会的あるいは余暇活動で一般住民より高濃度曝露を受けた人も高リスク群に含まれるかもしれない。ニューヨーク州の釣り人を対象としたコホート研究では、受胎能変化を調査し、汚染された五大湖の魚を摂取した場合の生涯PCBs曝露量も概算した(Buck et al., 1999)。母親が3～6年間魚を摂取し

続けた場合、受胎能の低下との相関性がみられる(OR, 0.75; 95% CI, 0.59～0.91)。しかし、7年以上の摂取例では、この影響はもはや有意ではなかった(OR, 0.75; 95% CI, 0.51～1.07)。母親が魚を主体とした食事を月1回以上摂取すると、受胎能の低下との相関性がみられた(OR, 0.73; 95% CI, 0.54～0.98)が、父親による魚の摂取、あるいは父母の生涯PCBs推定曝露量とは関連性がなかった。これらのデータは、母親による汚染魚の摂取は受胎能の低下につながることを示唆するが、父親による摂取については何らかの結論を出すまでには至っていない。

妊娠までの期間と、スポーツフィッシングで釣ったPCBsおよび水銀汚染された魚類の摂取量との関係について、他の研究者たちが上記とは異なる結果を報告している(Courval et al., 1999)。この研究では、PCBsおよび水銀への生涯曝露量を、魚主体の食事回数から推定した。父親の摂取回数の増加に伴い、妊娠までの期間に延長がみられた(魚主体の食事回数が1年に1～114回では補正オッズ比は1.4、115～270回では1.8、271～1,127回では2.8)。もっとも魚を多く摂取したグループにおいてのみ、オッズ比の95%信頼区間(CI)は1.0が含まれていなかった。母親による摂取では、関連性はみられなかった。これらのデータから、男性における魚の大量摂取と受胎の遅れの間にのみ関連性がわずかにあることが示唆されている。

このような研究の弱点は、魚の汚染濃度が長期にわたり一定で、同種の魚をその間ずっと摂取し、有害作用への個人の感受性が調査期間中一定であるとの一貫した摂取パターンを想定していることである。しかしそれでもなお、これらの研究からは、釣り人が魚由来のEDCsの影響を受けるリスクが高いことがわかる。

食品中の植物エストロゲンから受ける影響も考慮しなければならない。植物エストロゲンの前駆物質を豊富に含むクローバー(ムラサキツメクサ)の多い牧草地で羊を飼育すると、不妊症を起こすことが昔から知られている(Bennetts et al., 1946)。つい最近の研究では、健康な閉経前女性が毎日イソフラボン45mgを含む大豆タンパクを摂取すると、正常な月経中期におけるFSHとLHの分泌が抑制されて卵胞期が延長し、月経周期が長期化することが明らかになった(Cassidy et al., 1994, 1995; Lu et al., 1996)。しかし、亜麻仁(亜麻の種)摂取者を対象とした他の研究では黄体期の延長が報告されている(Phipps et al., 1993)。

生殖能に関する実際の化学物質への曝露データは限られる。新しい生殖技術を用いることによって可能になる一例として、体外受精を受ける女性の卵胞液からの残留性有機塩素系化合物の単離が挙げられる(Jarrell et al., 1993a, 1993b)。卵母細胞発生の臨界期にそのような化学物質を単離することができれば、曝露とその影響の可能性を示す重要な生体内指標となるだろう。

5.1.3.3 動物実験からの証拠 化学物質への曝露が生殖能に及ぼす危険要因を確認するために計画された多数の動物実験プロトコルがある。その一つとして、RACBが広く用いられているが、これは特にEDCs検出のため

に設計されたものではない。生殖能という最重要の問題に対し、確定的な測定尺度(精子数と剖検結果)のうちどちらが高い予測力を示すかを確認するため、RACBデータベースに含まれる72種の化学物質のデータが評価された(Chapin et al., 1997b)。マウスの発情周期の延長は、新生児数の減少と相関しており、この関係はF₀世代よりF₁世代で強く、対照動物では相関性はみられなかった。精子の異常率が15%を上回るか、運動率が37%を下回ると、生殖能が低下した。モデルに精子数を考慮に加えても、これらの推定値は改善されなかった。このデータから、精巣上体の精子数、運動率、発情周期、精巣・精巣上体重量は、生殖機能全体の完全な代替指標とはならないまでも有用であることがわかる。精巣上体精子数は、20%減少すると生殖能が低下するなど、多くの研究において生殖能との相関性が示されている。これらの研究は被験物質によって影響を受ける標的器官に焦点をあてているが、有害作用をもたらす主要な機構の一つに内分泌かく乱が含まれることを示す証拠を提示してはいない。

5.1.3.4 受胎能と生殖能についての結論 以上の研究から、受胎の遅れと高濃度の環境汚染物質への暴露との関連性が明らかになった。しかし、正常なヒトの生殖を変化させ妊娠までの期間を長引かせる一連の複雑な問題が関わっているため、妊娠までの期間の変化と内分泌かく乱との関係は推測にとどまる。その上、妊娠までの期間は両パートナーの特性に負うところが大きい(Weinberg et al., 1994)。しかしながら、妊娠までの期間を表すモデルは、精子の質における地域差の重大さを探る際の補強的証拠として有用である。

5.1.4 自然流産

5.1.4.1 方法論と病理生理学 自然流産とは、生存可能な状態に達する前に、または多くの場合最終月経の初日から数えて20週未満に、体重500g以下の胎児が失われることである。多くの妊娠が臨床的に気付かれずに自然に停止することを想定すると、自然流産の発生率は全妊娠例の50%と推定される。早期胎児死の判定の難しさは、他で検討している(Lasley and Overstreet, 1998)。

自然流産の原因として知られているのは、おもに妊娠第1期における染色体異常である(French and Bierman, 1972)。妊娠第2期の自然流産は、子宮の異常によることが多い。自然流産のリスク因子には、高齢の母親、出産回数増加、高齢の父親、自然流産の既往歴、化学療法などの治療薬、放射線や麻酔薬への暴露などがある。喫煙や飲酒も、単独であるいは組み合わせられることで影響を及ぼし、コカインなどの麻薬による薬物乱用も胎児毒性に関連することがある(Arbuckle and Sever, 1999)。

自然流産へ及ぼす環境の影響を解き明かすのは困難である。最近発表された総説(Arbuckle et al., 1999)では、農業への暴露と自然流産の関連を調べるさいの問題点を解説しているが、方法論の改善の必要性をも明らかにしている。その論点が指摘するのは、他の化学物質への暴露にも同様にあてはまる問題点である。すなわち、女性への暴露の性質、血液の化学分析による暴露の確認、サ

ンプル規模、低参加率による選択の偏り、自然流産女性群と対照群における識別想起率が不十分(poor differential recall rates)、妊娠診断時の症例確認率、妊娠の有無の低確認率、自然流産既往に対する調整が不十分といった、データに関して生ずるずれである。その上、多くの農薬が流産との関連性については研究されていない。これまでのほとんどの研究において、自然流産と関連性を示す暴露濃度については報告がない。(Arbuckle et al., 1999)。

5.1.4.2 ヒトにおける化学物質暴露からの証拠 農業への全暴露例のうち、フェノキシ系除草剤の研究がもっとも進んでいる。Ashengrau & Monson(1989, 1990)は、2,4-D への父親の暴露が流産リスクを高めることを明らかにした。DBCP は主として男性の不妊症を引き起こすと言われてきたが、自然流産との関係も指摘されている(Potashnik et al., 1984)。有機塩素系農薬に暴露した作業員の妻で高い自然流産と死産リスクが確認された(Rupa et al., 1991)。インドにおいては流産や死産を起こした女性で、DDT 濃度が高いことがわかった(Bercovici et al., 1983; Saxena et al., 1983)。有機塩素系およびカーバメート系農薬は、胎盤を通過しおそらくは胎児死亡を起こすとする証拠もある(Arbuckle and Sever, 1999)。

Savitz ら(1997)は、1986年カナダの農業国勢調査の対象であったオンタリオ州の農業に従事するカップル1,898組で、3,984例の妊娠例の結果を分析した。農業の男性への暴露は、受精前3カ月間の体験に基づいた。チオカーバメート、カルバリル、あるいは種類が特定されていない農薬の使用と関連して自然流産を増加していた。アトラジンをはじめとするトリアジン系除草剤や2,4-Dの使用と、早産のリスクとの間にも関連性がみられた。

幼児期に HCB に暴露し、重症の晩発性皮膚ポルフィリン症を発症した女性たちが、およそ40年間にわたって追跡調査された。生存する被害者の多くに HCB は依然として残留している。これらの女性の妊娠経過を調べるうちに、血清 HCB 濃度が高いと自然流産率が高いという想定外の結果が出た。この調査結果を、地域住民を対象とし、2つの対照集団で評価した。すべての観察所見を総合すると、検出限界ぎりぎりの濃度でも影響が認められることが明らかであった(Jarrell et al., 1998)。これらの観察結果は、確認のためさらに調査が必要である。

上記のいずれの暴露例でも農薬暴露と自然流産との間の因果関係を立証できず、内分泌かく乱作用も確認できなかった。しかし、多くの農薬がエストロゲン様、抗アンドロゲン様、抗プロゲステロン様活性を有することがわかった(第3章3.12参照)。自然流産との関連で懸念されるのは、着床とヒトの妊娠を維持する上できわめて重要なプロゲステロンに作用する化合物である(Csapo et al., 1976)。黄体を除去してプロゲステロン産生を阻害(Csapo et al., 1976)、あるいはミフェプリストンのような抗プロゲステロン剤を投与してプロゲステロン機能を障害(RU-486; Scheepers et al., 1999)すると、結果として自然流産を引き起こす。高用量のエストロゲン、いわゆる“性

交後用経口避妊薬”が、避妊手段を取らない性交渉後の着床を防ぐために使用されることはよく知られている。これらの知見から環境化学物質の流産誘発機序説が提唱されるのであるが、用量を検討すると、化学物質が体内に蓄積しないかぎり低濃度暴露でも影響を与え得るとの想定には若干の疑問が残る。

5.1.4.3 動物実験からの証拠 これに関連して、HCB に関する動物とヒトのデータを比較することは興味深い。Foster et al. (1995)はサルにHCBを *in vivo* 投与し、月経周期の黄体期に血清プロゲステロン濃度が低下することを明らかにした。メカニズムはわかっていないが、卵巣や副腎におけるステロイド代謝機能低下の関与が考えられる。おそらく HCB は黄体期の血清プロゲステロンを低下させ、胎児を生存不能にすることにより、内分泌かく乱化学物質として作用しているのであろう。この化学物質が脂肪中に残留していることが、長年女性で観察された影響の説明となる(本章 5.1.4.2 参照)。

げっ歯類において EDCs の着床前喪失への影響が、脱落膜細胞反応モデルを用いて調べられた(Cummings, 1993)。このモデルでは、妊娠ラットに GD1~8 で被験物質を投与し、GD9 に屠殺、着床部位数を記録した。哺乳動物のステロイド合成を変化させることで知られているイミダゾール系抗真菌剤のケトコナゾールが、着床部位数を減少させることがわかった(Cummings et al., 1997)。子宮内膜の脱落膜反応の遮断が、ケトコナゾールによる血清プロゲステロンの抑制に並行して認められた。卵巣を摘出、長期にわたってホルモンを補充したラットではケトコナゾールの影響がみられないことから、脱落膜細胞反応へのケトコナゾールの影響は卵巣におけるステロイド合成への直接作用によるもので、その結果として血清プロゲステロン濃度が特異的に低下すると考えられる。したがって、これらのデータは EDCs が早期流産の一因となり得るメカニズムを示している。

5.1.4.4 自然流産についての結論 要約すれば、環境化学物質への暴露が自然流産率に影響を及ぼすのかについて、我々の知識にはかなりの相違がある。厳密な方法を用いる疫学的研究が必要であるが、臨床的にはっきりわかる自然流産よりも、関連性が高い可能性がある早期流産の検出の困難さについては過小評価してはならない。

5.1.5 性比

5.1.5.1 性比の時間的傾向 性比は、出生男子数を出生女子数で割ったものと定義される。集団の健康分析において、性比は指標になり得るとされている(Davis et al., 1998)。性比が通常長期にわたり安定していることが重要な前提条件となっているが、より長期の集団研究データが得られれば、この直感的な認識が問われる可能性もある。

性比の低下(男性数の減少)が、カナダ(Allan et al., 1997)、米国(Allan et al., 1997; Scialli et al., 1997)、オランダ(Pal de Bruij et al., 1997)、デンマーク(Møller, 1996)など多くの地域で記録されている。追加情報も、スウェ

ーデン、ドイツ、ノルウェー、フィンランドで明らかな低下を示している(Møller, 1996, 1998)。中南米諸国でも低下が認められている(Feitosa and Krieger, 1992, 1993)。対照的に、イタリア、ギリシャ、オランダでは性比の上昇傾向が報告されている(Astolfi and Zonta, 1999)。

1970~1990年の20年間にわたる性比の低下の度合いが北米で推算されたが、男性数がカナダで約8,000人、米国で38,000人減少していた(Allan et al., 1997; Scialli et al., 1997)。しかし、この問題と取り組むためには大規模な集団研究が必要である。Allanら(1997)の調査では、 α 値が0.05、 β 値が0.9としてこの低下を測定するには、20年間に470万人の出生児調査が必要であると述べている。性比傾向についての集団調査では、それほどの検出力を考慮することが重要である。

国内では、性比に人種差があると思われる。1969~1995年に米国で出生した生児の性比動向の回帰分析(Marcus et al., 1998)では、調査対象となった27年間に性比は白人で有意に低下(OR, 0.9935; 95% CI, 0.9919~0.9952)、黒人では有意に上昇した(OR, 1.0208; 95% CI, 1.0162~1.0254)。

この影響は全土で均一でないことも懸念された。Allan et al. (1997)の調査では、カナダ東部で性比はもっとも低下、大西洋沿岸諸州とケベック州が最低の性比を示した。Astolfi & Zonta(1999)は、出生時の性比動向をイタリアの首都圏とそれ以外の地域で比較した。この調査では、首都圏外での増加傾向とは異なり、首都圏内の出生男児に減少傾向がみられた。米国内においても地域差があり、9地域のうち4地域(東北中央部、西北中央部、南大西洋および太平洋沿岸地区)で有意な減少が認められた(Allan et al., 1997)。

5.1.5.2 ヒトにおける化学物質暴露からの証拠 性比を変化させる要因に限ったデータであるが、変化をもたらすのは外因性の影響であるとの明らかな証拠がある。このような要因は、医学、職業、環境に分類できる。性比を低下させる医学的要因として明らかにされたもの、あるいは支持されたものとしては、父母の年齢の高さ、体外受精、排卵誘発、非ホジキンリンパ腫、肝炎、多発性硬化症などである(Ruder, 1985; James, 1976, 1980, 1994, 1995a, 1996, 1997)。

受精時の現象調節に関する理論によると、受胎時の両親のホルモン状況が鍵になる(James, 1986)。臨床所見はこの理論と一致する。たとえば、クエン酸クロミフェンによる排卵誘発では、男児出生数が減少するとの報告が多い。そのような報告がごく最近、大規模なメタアナリシスにまとめられた(Jarrell et al., 1993a, 1993b)。排卵を誘発する処置が、ホルモン恒常性を乱すのは明らかである。排卵誘発に伴う性比の変化は、薬理的濃度や中毒濃度における内分泌かく乱が原因と考えられ、これは薬物自体の直接的な影響や内分泌環境の変化で生じた影響による。これとは別に、妊娠計画中の男性がテストステロンを処方されると性比が高くなるとの報告もある

(Sas and Ezollosi, 1980)。サンプル規模は小さかったが、この所見はエストロゲン：アンドロゲン比と一致する。

出産率の低下、精巣がん、性比の変化には、一つの共通する発現メカニズムがあることが提唱されている (Jacobsen et al., 2000)。この研究では、精巣がん、低出産率、性比には相関性があるという仮定について、1945～1980年に出生のデンマーク人男性の総人口をもとに検討された。1960～1993年に、3,530人が精巣がんを発症した。同期間に出生した1,488,957人とその生物学上の子(1,250,989人)が対照群であった。精巣がん発症群では対照群と比べて、出産率および性比(精巣がん発症群で0.957、対照群で1.053)が有意に低かった。出産率低下は非精上皮腫型で著しかったが、性比低下は腫瘍型の組織所見とは関係していなかった。筆者らは、こうしたデータによってこのような異常が未確認の生物学的メカニズムによってつながっているとの見解が裏付けられたとしている。

一般集団において因果関係を確立することは難しいが、合成化学物質への職業性暴露あるいは暴露事故の研究で得られた証拠は、内分泌かく乱メカニズムによるものかどうかは不確かであるものの、暴露と性比に関する可能性を示している。ある種の職業性暴露は、性比の変化との関連が有意であるといわれている。農薬のDBCPを取り扱う男性には著しい精子減少と受精能に深刻な障害がみられ(Goldsmith, 1997)、パートナーがDBCPに暴露した女性では生まれてくる男児数が有意に減少した(Potashnik et al., 1984)。同一男性群での男児出生率は暴露前には0.5であった。この化学物質が性比を変化させるメカニズムは完全にはわかっていないが、おそらく内分泌系とは関係ないキレート作用による、Y染色体をもつ精子への傷害が提唱されている (Goldsmith et al., 1984)。有機塩素系化合物への職業性暴露も、性比を変化させることが示唆されている。1978～1990年の出生児に関するオランダの研究では、職場で農薬に暴露した男性には女児が生まれる傾向が明らかであった(de Cock et al., 1995)。抗アンドロゲン様化学物質の農薬ピンクロゾリンへの暴露も関連が示唆されている (Zober et al., 1995)。性比を変化させるといわれる他の職業性暴露としては、アルミニウム工業での「炭素設置係(carbon setters)」、「陽極設置係(anode setters)」、「炭素交換係(carbon changers)」としての作業(Milham, 1993)や、廃棄された麻酔ガスへの暴露(Wyatt and Wilson, 1973)が挙げられる。ホウ酸塩、アルコール、鉛、溶剤への暴露も原因として報告されている(Dodds and Armson, 1997)。スコットランドの高汚染地域を対象とした5件の後ろ向き研究も、体内暴露が性比を変化させることを証明している (Williams et al., 1992, 1995)。1975～1983年にスコットランドで関与していた汚染物質は、アクロン精錬所、製鋼所、焼却炉からの排出物などであった。しかし、農薬を含むこれらの職業性暴露や環境暴露のいずれにおいても、影響が内分泌系を介することを示す証拠はまだ見つからない。

環境暴露が性比を左右するさらなる証拠としては、イ

タリアのセベソの化学工場爆発で高濃度のTCDDに暴露した集団の疫学研究の報告がある(Mocarelli et al., 1996, 2000; Signorini et al., 2000)。1976年の爆発で大きな雲が発生し、数キログラムに相当するTCDDが撒き散らされた。TCDDの半減期に相当する1977年4月から1984年12月にかけて、暴露量が最大だった人々の間で性比の低下が認められた(女児48人、男児26人)。重大な影響を受けたのは、TCDDの血清中濃度が最高値の両親であった。実際、血清中濃度がもっとも高い9組のカップルでは男児が1人も生まれなかった。最近の報告(Mocarelli et al., 2000)では、父親の血清TCDD濃度が体重kgあたり20ng未満から上昇するのに応じて、女児出生の確率も上昇することがわかった ($p=0.008$)。その上、父親となる男性のTCDDへの暴露年齢が19歳以下の場合では、男児よりも女児をもうける傾向がかなり強かった(性比0.38; 95% CI, 0.30～0.47)。サンプル規模は同研究チームによる最初の調査よりはるかに大きいものの、この種の調査としては依然として小さい。この研究は、男性239人と女性296人を対象として行われ、1977～1996年にこれらの対象者から女児346人と男児328人が生まれた。この集団では、1985年に性比が予想水準にまで回復していた(Needham et al., 1997)。しかし、これらの知見は少人数に基づいて行われたもので裏付けがまだなく、カザフスタンのTCDD汚染地域(Hooper et al., 1998)、あるいは台湾で汚染料理油の摂取により高濃度PCBsとPCDFへ暴露された住民(Rogan et al., 1999)には、性比の変化がみられなかった点に注目せねばならない。すべての研究で対象者抽出に偏りがあったかもしれない、結果も非常に小さいサンプル規模に基づくものである。TCDDが性比を変化させるメカニズムは解明されていない。他のTCDDに関する研究で内分泌修飾作用が関与するとの説はあるが確認されていない。関連する報告では、親和力は低いもののTCDDと同様にAhRに結合するHCBが性比の低下に関わっている可能性もある(Jarrell et al., 2000)

5.1.5.3 動物実験からの証拠 動物ではいくつかの実験結果が、外部要因が内分泌かく乱作用を介して性比に影響を及ぼしている可能性が示されている。Vandenbergh & Huggett (1994)は、マウスでは雌の子宮内での位置が出生児の性比を左右しており、それが雌の肛門生殖突起間距離と相関することを明らかにした。肛門生殖突起間距離は、子宮内で2匹の雄にはさまれていた雌(2M)の方が、隣に雄がいなかった雌(0M)より長かった。最初の同腹児に占める雄の割合は、2Mの雌で58%、1Mの雌で51%、0Mの雌で42%であった。2番目の同腹児にもこの傾向がみられた。子宮内での位置が異なっても母親から生まれる子どもの数には変化がなかった。

第二は、雌雄胚の発生速度に差が認められることである。これまでの研究ではほとんどすべての動物種において、雄胚の方が雌胚よりも先に胚盤胞の段階に入る。これが着床時に子宮内で雌雄差を発現させるメカニズムであると考えられる。他の研究によると、哺乳動物の胚ではXXとXY間で細胞の増殖と分裂に違いがあり

(Tsunoda et al., 1985)、その差違はY染色体と関係している(Burgoyne, 1993)。マウス(Burgoyne, 1993)、ラット(Scott and Holson, 1977)、ヒト(Pederson, 1980)において雌雄の成長速度の相違が観察されている。このような雄胚の早い成長は着床前段階からみられる(Pergament et al., 1994)。

5.1.5.4 性比についての結論 動物実験から得られた証拠は少ないものの、子宮内で性比変化の原因となる内分泌性の事象が起こっていることが示唆される。雌雄胚の成長速度の相違に関する他の観察結果によれば、エストロゲン、抗エストロゲン、抗アンドロゲンが性差間で統一性を持たせないように影響しているかもしれないというメカニズムが提唱されている。たとえば、子宮に結合して抗エストロゲンとして作用するクエン酸クロミフェンのような薬物は、発生速度が早い雄胚にたいして毒性を発現する可能性が考えられる。

しかし、生物学的蓋然性をもっとも議論されているのは、上記のような時間的傾向に環境化学物質が如何に関わるのかについてである。環境中の内分泌かく乱化学物質は、確かに生物組織に対しごくわずかな影響を長期にわたって及ぼす。しかしこれは、薬物による排卵誘発に起こるホルモン環境の極端なかく乱とは全く違う。最近の報告で、Vartianen ら(1999)がさらなる注意を呼びかけている。フィンランドで分析期間を250年まで拡大した結果、性比変化が環境化学物質への暴露以前に生じていたことがわかった。つまり、この変化のある種の広範な環境暴露の発生と関連づけようとする最近の動きは、分析期間があまりにも短いため誤解を招きやすいということである。とはいえ、社会の一般的傾向として性比の変化をEDCs暴露の結果であるとするには、根拠が限られている。また、性比のわずかな低下が、20世紀における性比の上昇や医療の進歩を反映した再平衡化反応であるというような仮説が存在する(James, 1995b, 1998)。内分泌活性化学物質が性比を左右するとの仮説については、性決定、着床、胚形成のメカニズムにそれらが関わる作用をさらに検討する必要がある。

5.1.6 雄性生殖器官の異常

5.1.6.1 雄性生殖器官の発達 哺乳類では、元々の性表現型は雌である。すなわち、表現型が雄になるには、雄性生殖器官を発達させ第二次性徴を出現させるために一連の性分化イベントを始動し、それらを協調させねばならない。発現すべき遺伝子の発現失敗やホルモンが正常に作用しないと、表現型は雌となる。正常な発達に重要な作用に関する多くの知見は、遺伝子ノックアウト/過剰発現に関する様々な研究から得られたもので、これらの研究は特定の遺伝子の欠損あるいは過剰発現が雄性生殖器官の発達を損ねることを示した。生殖隆起からの生腺発生時に、胚は雌雄いずれの経路もたどる可能性がある。雄になるための決定的要因は、性決定遺伝子(sry)の発現である。この遺伝子が、胎児生腺を精巣へと分化させるようなカスケード的な事象を次々と誘発する(Berta et al., 1990)。ほかに雄性生殖器官の正常な分化に関わる

遺伝子として、ステロイド合成因子-1(Ikeda, 1996; Parker et al., 1996)、DAX-1 (Guo et al., 1995; Parma et al., 1997)、様々なホメオボックス遺伝子(Lindsey and Wilkinson, 1996; Pellegrini et al., 1997)などがあるが、これだけにとどまらない。

胎児生殖腺では、セルトリ細胞の発達が生殖器官系の発生を左右する重要な役割を果たしている。セルトリ細胞は、ミュラー管抑制物質を産生し(Behringer, 1995)、この物質は、子宮、卵管などを形成する雌の構造物(ミュラー管)の排除を開始する。また、セルトリ細胞は、アンドロゲン(テストステロン)の合成部位であるライディヒ細胞の正常な発達を制御している精巣上体、輸精管、精囊の発達においても重要な役割を果たしている。5 α -還元酵素の作用によって生成するテストステロン代謝産物のDHTは、前立腺と外性器の発達にきわめて重要と思われる。これらの事象の大部分は、げっ歯類では妊娠後期に起こる(ラットではGD12~20)が、ヒト胎児では妊娠第1期に起こる。表5.4に、様々な段階における雄性生殖器官の発達をラットとヒトで示した。

5.1.6.2 雄性発生に影響する化学物質を検出する実験プロトコルの検出力

発生毒性の研究において最近まで採用されてきた実験プロトコルでは、妊娠後期(たとえば、ラットではGD16以降)は、暴露期間に通常入っていなかった。したがって、母獣に残留しない化学物質については、雄性生殖器官発生へ影響する可能性が出産間近の胎児検査では見逃されていたかもしれない。現在暴露期間を着床から出産間近までを含めた発生時期に延長するよう、試験ガイドラインの改訂が進められている。

多世代および他の研究プロトコルでは、臨界期がカバーされているため、内分泌活性化学物質が雄の生殖器官の発達に及ぼす影響が検出される可能性が高い。しかし、ホルモンの状態に特に感受性が高いことで現在知られている追加のエンドポイントを、これらの試験プロトコルに組み込むようになったのは、ごく最近のことである(US EPA, 1998a, 1998b; US FDA, 1999; OECD, 1999a, 1999b)。ほとんどの繁殖プロトコルでは、雄の生殖能、産児数、性比を指標としているが、現在では新しいエンドポイントとして、特に肛門生殖突起間距離の測定、胸部乳房量/乳頭遺残、包皮分離などが、外因性の内分泌活性化学物質により影響を受ける可能性をもつ正常な雄性生殖器官発達の指標となっている。標準的な生殖試験では、生殖突起と肛門間の距離を観察してラットの新生児の性判別が行われる。雄では、この距離は雌のおよそ2倍で、雄性ホルモンの状態を知る目安となる。このエンドポイントは、薬物投与により変化し得るもので、通常はPND1に容易に測定できる。また、肛門生殖突起間距離は新生児の大きさも反映しており、このデータの分析には新生児の体重を共変量として用いる。げっ歯類の標準的な新生児の雄では、乳頭遺残はDHTの影響を受けて退化する。発毛(通常はPND14前後)前に新生児を観察し、乳房量・乳頭数を再度計数することが、その動物のホルモン状態を示す指標となる。したがって、たとえば、古典的抗アンドロゲンであるフルタミドを投与すると、雄

表5.4 雄性生殖器官発達の予定時期:ラットとヒトの比較

ラット (GD/PND)	ヒト	事象
GD 8~10	第4週	精子細胞が中腎内側面に移動し、セルトリ細胞や間質細胞の前駆体と共に柔組織に上記過程が完了する
~12	第5週	
~14	第6週	性索の発達開始、セルトリ細胞は確認可能
	第7週	ミューラー管が退行を開始(ミューラー阻害物質の影響)
18	第8週	ウオルフ管の発達開始(テストステロン)、アンドロゲン分泌の開始
	第8週後半	ウオルフ管から精嚢が分化、成長
	第9週	外生殖器が雄性化を開始、妊娠末期まで持続する(DHT)
	第10週	泌尿生殖器腔壁から前立腺を形成する(DHT)
19	第11週	血清FSH濃度が上昇を開始する
	第13週	血清LH濃度が上昇を開始する
21	第40週	誕生
PND 15	12年	セルトリ細胞が分裂停止、最初の精子細胞の出現
±22	妊娠最終期	精巣下降

児は乳頭があらわれ表現型が雌になる(第3章3.12.2.1参照)。アンドロゲン誘発性のアポトーシス後の陰茎亀頭からの包皮分離は、雄のげっ歯類では成熟の指標の一つである。これは、体重変化によって比較的左右されにくいエンドポイントである。包皮分離の著しい遅れや早まりは、被験動物におけるアンドロゲン状態の変化を示すものである。

5.1.6.3 動物実験からの根拠 雄が発生の臨界期においてエストロゲン様および抗アンドロゲン様化学物質への暴露により受ける有害作用については、現在、実験動物を用いた研究から多くの事象が報告されている。雄性生殖器官の発生前においてE₂などエストロゲン様化学物質への暴露が引き起こす影響として、精巣と精巣上体の重量低下、精子数の減少と運動性の低下、前立腺重量の増加、成熟の遅れなどが挙げられる。発生前に抗アンドロゲン様化学物質に暴露された場合の主な症状発現は、肛門生殖突起間距離の短縮、尿道下裂、乳頭遺残、精巣と付随生殖腺の重量低下、精子の生成減少である。

表5.5に、出生前や周産期に内分泌かく乱化学物質に暴露された雄の実験動物における内分泌系への影響例を要約した。実験動物の雄性生殖器官の発達に影響を及ぼすとして知られる内分泌活性を有する化学物質については、第3章(3.12参照)に詳述した。

5.1.6.4 尿道下裂と停留精巣

5.1.6.4.1 既知のリスク因子 精巣の陰嚢内への下降不全(停留精巣)に関連した既知リスク因子には、民族性、停留精巣の家族歴、妊娠中の鎮痛薬使用(Berkowitz and Lapinski, 1996)、出生順位(Møller and Skakkebaek, 1996)、母親の肥満(Berkowitz et al., 1996)などがある。このうちいくつかは、尿道下裂リスク因子でもあり、この発生異常は陰茎または会陰の下側に尿道が開いている(Akre et al., 1999b)。停留精巣の起こる頻度の高い季節があることが様々な研究において報告されているが、その季節は一定しておらず、(Källén et al., 1986;

Berkowitz et al., 1996)、この知見の意義は確認されていない。

EDCsの早期暴露が精子生成の減少のみならず生殖器官の異常を引き起こし、精巣がんを誘発する可能性をもつ(Sharpe and Skakkebaek, 1993)。停留精巣は後に精巣がんを発生させるリスク因子としてよく知られており、最近デンマークで受精能が正常より低い男性は精巣がんになるリスクも高いことがわかった(Møller and Skakkebaek, 1996)。このような所見は、男性の特定の生殖機能障害に発生学的な因果関係があるという仮説を支持するものである

5.1.6.4.2 時間的傾向 尿道下裂や停留精巣などの男性生殖器官発生異常の発生数が増加しているという報告がある。しかし、このような異常の出生時有病率統計には、変動が大きいことに注意すべきである。たとえば、Toppariら(1995)の報告では、乳児10,000人あたりの患者数は、尿道下裂0.37~41人、停留精巣3~1,340人であった。このような差は、診断や報告の基準の相違や民族や遺伝的な相違によると考えられる。このように大きな差があると研究間の比較は信頼性が低くなる可能性があるが、以下に述べる時間的傾向に関するデータの大部分がそのような比較によるものであることを念頭におく必要がある。尿道下裂の症例の約3/4は軽度のものであると一般に考えられており、増加傾向はこの軽度の症例がより高頻度に、かつ、より早期に診断されるようになったこと、あるいはそれらを先天性異常として登録する傾向が強まったことなどを反映しているだけのこともかもしれない(Dolk, 1998)。したがって、あらゆる尿道下裂に関するデータについてはかなり慎重に検討する必要がある。

種々の先天異常監査システム(ハンガリー、スウェーデン、デンマーク、イタリア、スペイン、南米、メキシコなど)から得られたデータを用いた記述的疫学研究によると、尿道下裂有病率が上昇していることが示された(Källén et al., 1986)。システムが異なると報告される発生率にもかなりのばらつきがあり、1980~1981年では、南米とメキシコでもっとも低く、ハンガリーとスウェーデンでもっとも高かった。この研究では、誤診についても評価され、地域が異なると誤診の程度もさまざまであることが明らかとなった。過小確認を補正したところ、汚染濃度のみならず、社会的、経済的、生殖的行為が類似するデンマークとスウェーデンにおける発生率は同程度となった。環境中の残留性化学物質が尿道下裂の発生に関連しているとするれば、体内残留濃度は加齢とともに増加し、母体内残留濃度は授乳により有意に低下するから、以下のように推測できるであろう：

- 1) 尿道下裂の発生率は第1子男児で高い
- 2) 有病率は出産回数とともに低下する
- 3) 有病率の上昇と初回妊娠時の母親の年齢は関連する
- 4) 有病率に接合生殖性は重大な関わりをもたない

Källénら(1986)の研究では、第1子男児における尿道下裂の有病率の上昇、出産回数に伴う有病率の低下、母親の年齢と尿道下裂有病率上昇の関連性が示された。また、

表5.5 出産前後期間に内分泌かく乱化学物質に暴露した雄の実験動物における内分泌系への影響例*

化学物質	作用機序	被験種 暴露期間	投与量と経路	影響**	参考文献
E ₂	ERアゴニスト	ラット 一世代	0.05 ~ 50ppm を餌中濃度 (0.003 ~ 4.12mg/kg/d)	10及び50ppm: 精巣と精巣上体重量減少 および萎縮、精細管の萎縮、精子数の減少 と運動性の低下、セルトリ細胞数には影響なし	Biegel et al., 1998; Cook et al., 1998
E ₂	ERアゴニスト	マウス GD 13 ~ 19	1匹につき25 ~ 300 µg を皮下投与	25及び100 µg: 前立腺の重量増加	Welshons et al., 1999
17-エチニール エストラジオール	ERアゴニスト	マウス GD 0 ~ 17	0.002 ~ 200 µg/kg/d を経口投与	0.02 ~ 2 µg/kg/d: 前立腺の重量増加	Thayer et al., 2001
DES	ERアゴニスト	マウス GD 11 ~ 17	0.02 ~ 200 µg/kg/d を経口投与	0.02 ~ 2 µg/kg/d: 前立腺の重量増加	Vom Saal et al., 1997
ビスフェノールA	弱いERアゴニスト	マウス GD 11 ~ 17	2, 20 µg/kg/d を経口投与	2及び20 µg/kg/d: 前立腺の重量増加	Nagel et al., 1997
ノニルフェノール	弱いERアゴニスト	ラット PND 1 ~ 18	0.08 ~ 8mg/kg/d を腹腔内投与	0.8mg/kg/d: 精巣・精巣上体・精囊・前立 腺の重量減少 8mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短縮、 停留精巣、未分化細精管、精子数・運動 性・受精能の減退	Lee, 1998; Lee et al., 1999
メキシクロル	代謝物はERアンタ ゴニスト、ARアゴニ スト	マウス GD 11 ~ 17	20, 2,000 µg/kg/d を経口投与	20及び2,000 µg/kg/d: 前立腺の重量増加	Welshons et al., 1999
メキシクロル	代謝物はERアゴニ スト、ARアンタゴニ スト	ラット 1世代	25 ~ 200mg/kg/d	25mg/kg/d: 成長抑制 50mg/kg/d: 精巣上体尾部の精子数減少 100mg/kg/d: 成熟の遅れ	Gray et al., 1989
メキシクロル	代謝物はERアゴニ スト、ARアンタゴニ スト	ラット GD14 ~ PND21 または42	5 ~ 150mg/kg/d を強制経口投与	50mg/kg/d: 成長抑制、成熟の遅れ、精 巣・精巣上体・精囊・前立腺の重量減少 150mg/kg/d: 精巣上体尾部の精子数の減 少、精子の運動性低下	Chapin et al., 1997a
DDT	ERアゴニスト	マウス GD 11 ~ 17	18, 180 µg/kg/d	18及び180 µg/kg/d: 萎縮精巣、攻撃行動 や縄張り行動の変化	Vom Saal et al., 1995; Palanza et al.,
p,p'-DDE	弱いARアンタゴニ スト	ラット GD 14 ~ 18	10または100mg/kg/d を強制経口投与	100mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短 縮、乳頭遺残、尿道下裂、前立腺・陰茎龜 頭・精巣上体尾部の重量減少、前立腺萎 縮、前立腺炎	Kelce et al., 1995; You et al., 1995; Gray et al., 1999b
ピンクロゾリン	代謝物ARアンタゴ ニスト	ラット GD 14 ~ PND 3	3 ~ 200mg/kg/d を強制経口投与	3mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短縮、 乳頭遺残 50mg/kg/d: 尿道下裂を伴う陰茎裂、単径 部停留精巣、陰囊、精巣上体肉芽腫、精 子数の減少、受精能の低下 100mg/kg/d: 付属生腺の萎縮と消失	Gray et al., 1994, 1999a
プロシドン	ARアンタゴニスト	ラット GD 14 ~ PND 3	25 ~ 200mg/kg/d を強制経口投与	25mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短縮 50mg/kg/d: 乳頭遺残、尿道下裂、陰囊、 前立腺と精囊の重量減少、前立腺萎縮、 前立腺炎	Ostby et al., 1999; Gray et al., 1999b
リニユロン	ARアンタゴニスト	ラット GD 12 ~ 21 GD 14 ~ 18	12.5 ~ 50mg/kg/d または100mg/kg/d を強制経口投与	12.5mg/kg/d: 乳頭遺残、精巣形成不全 100mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短 縮、乳頭遺残、尿道下裂、精巣・前立腺・ 陰茎龜頭・精巣上体尾部・精巣上体の重 量減少、精巣と精巣上体の萎縮	Gray et al., 1999b; Lambright et al., 2000; McIntyre et al., 2000a, 2000b
リニユロン	ARアンタゴニスト	ラット 一世代	10 ~ 40mg/kg/d を強制経口投与	40mg/kg/d: 成熟の遅れ	Gray et al., 1999b
フタル酸ジブチル	胎児精巣でT低下 継代繁殖		0.1 ~ 1%を餌中濃度 (50 ~ 800mg/kg/d)	餌中濃度1%(800mg/kg/d): 精巣萎縮、精 巣上体の欠損と発育不全、精子細胞数の 減少、交尾回数減少、受精能の低下	Wine et al., 1997
フタル酸ジブチル	胎児精巣でT低下	ラット GD 11 ~ 21	0.5 ~ 2%を餌中濃度 (330 ~ 660mg/kg/d)	餌中濃度1%(555mg/kg/d): 肛門生殖突起 間距離の短縮、停留精巣	
フタル酸ジブチル	胎児精巣でT低下	ラット GD3 ~ PND21 または GD12 ~ 21	100 ~ 750mg/kg/d を強制経口投与	250mg/kg/d: 肛門生殖突起間距離の短 縮、乳頭遺残、尿道下裂、成熟の遅れ、精 巣上体の欠損と発育不全、精細管の萎 縮、精子形成の抑制 500mg/kg/d: 精巣重量の低下、前立腺と 精囊の消失	Mylchreest et al., 1998, 1999; Gray et al., 1999b; Mylchreest et al., 2000
フタル酸ジエチル ヘキシル	胎児精巣でT低下	ラット GD 14 ~ PND 3	750mg/kg/dを強制経 口投与	肛門生殖突起間距離の短縮、乳頭遺残、 尿道下裂、陰囊、精巣・前立腺・陰茎龜 頭・精巣上体尾部・精巣上体の重量減少、 精巣と精巣上体の萎縮	Gray et al., 1999b; Parks et al., 2000
2,3,7,8-TCDD	AhRアゴニスト	ラット GD 15	0.05 ~ 1 µg/kg	0.05 µg/kg: 精子数の減少 0.2 µg/kg: 成熟の遅れ 1 µg/kg: 肛門生殖突起間距離の短縮	Gray et al., 1997a, 1997b

* 引用した低用量の影響の中には、他の研究者(記載なし)による影響確認が不可能であった。 ** 本欄の用量は、影響が現れた最低用量を示す。T低下は、テストステロン生合成の低下を意味する。

一卵性双生児では二卵性よりも尿道下裂有病率が高かったが、有意差はなかった。米国で行われた2件の先天異常監視システムも、1970～1990年代に出生時の尿道下裂有病率が上昇したことを報告している(Paulozzi et al., 1997)。

しかし、英国とウェールズにおいては、尿道下裂の発生率は1965～1983年に着実に上昇した後、減少しているようである(MRC, 1995)。フィンランドでの研究においても発生率の上昇は示されていない。全出生男児549,176人のうち、1970～1986年に生まれ、9歳以下で尿道下裂の外科治療を受けた国立病院退院者記録簿の登録者1,543人に関する分析では、この期間の尿道下裂有病率に変化はみられなかった(Aho et al., 2000)。フィンランドのトゥルクで出生時に診断された尿道下裂に関する別の研究(Virtanen et al., 2001)によると、Ahoら(2000)の報告や1993～1998年の全国規模での調査と比較して、1997～1999年に出生した5,798人の男児コホートにおける尿道下裂の割合(0.3%)に上昇は認められなかった。Ahoら(2000)は、記録方法が完全なものか否かで、尿道下裂の地域的、時期的な違いが生じる可能性があるとして述べている。

停留精巣有病率の傾向分析においても、経時的な上昇が認められている。英国とウェールズにおける1962～1981年の患者退院記録を対象としたコホート分析による調査では、停留精巣有病率(Chilvers et al., 1984)が1952年誕生コホート1.4%から1977年誕生コホート2.9%へ上昇した。この研究は、各年の精巣固定術の実施率によるものであり、記録された有病率の上昇分すべてが、手術のための患者適応基準の変更によるものである可能性がある。

前向き研究(Ansell et al., 1992)においては、1984～1988年にオックスフォードの7,441人の男児が、出生時および生後3カ月の時点で停留精巣の検査を受けた。これを1950年代中頃のロンドンで男の乳児3,612人を対象としたScorer(1964)の調査結果と比較すると、出生時で35.1%、生後3カ月時で92.7%、停留精巣有病率の上昇が認められた。Scorer(1964)が含めた死産児や低体重児が、後の調査との比較で罹患率を高くしたと考えられ、診断基準の違うこの2件の調査研究を直接比較するのは困難だが、停留精巣有病率は英本島において上昇しているように見える。

尿道下裂と停留精巣の傾向について、より網羅的な分析結果が最近報告された(Paulozzi, 1999)。尿道下裂と停留精巣の出生時の有病率が、先天異常監視システムの国際的クリアリングハウスによって集計された。年間計400万件の出生を記録している21カ国29の登録施設から、組織的かつ継続的に有病率が集計された。尿道下裂と停留精巣疾患の有病率は国家間で大きく異なることがわかった。最高罹患数(尿道下裂では米国とイスラエル、停留精巣では米国とカナダ)と最低罹患数(尿道下裂ではフィンランド、日本、中国、南米、停留精巣では南米)には3倍以上の差がみられた。しかし、調査方法や他の要因が

異なるため、比較は困難である。様々な登録施設における経時的な傾向によると、1970～1980年代に米国、スカンジナビア、日本などで尿道下裂の割合が増加しているが、カナダでは変化がみられなかった。停留精巣の有病率の有意な上昇は確認されなかった。1985年以降は両疾患とも有病率の低下傾向を示した。

5.1.6.4.3 環境中化学物質の影響 動物実験では、ラットでのフタル酸モノ-n-ブチル(Imajima et al., 1997)やブタでのフルタミド(McMaon et al., 1995)のように、エストロゲン様および抗アンドロゲン様作用を持つと懸念されている化学物質に妊娠中に暴露すると、停留精巣が誘発される。妊娠中のブタをTCDDに暴露させたところ、停留精巣の発現、生殖細胞数の減少や精巣異常を発症し、それに続いて精巣導帯と副睾丸におけるER α mRNAの発現抑制と、精巣のER α タンパクレベルの上昇が確認された(Barthold et al., 1999)。その他の実験例については表5.5および第3章(3.12参照)に示した。これらの報告すべてが、エストロゲン様あるいは抗アンドロゲン様作用をもつ化学物質は、停留精巣と尿道下裂を誘発しうることを示している。

疫学研究の多くが、農薬への暴露と男性生殖器官異常に関連性があることを報告している。スペイン・グラナダの集約農業で農薬を多量に使用する地域では、精巣固定術を受ける割合が増加していると報告されている(Garcia-Rodríguez et al., 1996)。ノルウェーでは、農薬が使用されている農家で生まれた男児にも、停留精巣とおそらくは尿道下裂のリスクの上昇が報告されている(Kristensen et al., 1997)。米国のコロンビア州(Restrepo et al., 1990)とミネソタ州(Garry et al., 1996)で、農薬に職業性暴露した人にも、泌尿生殖器に異常のある子供の増加している。Møller and Weidnerら(1998)は、デンマークの病院で1983～1992年に停留精巣または尿道下裂と診断されて退院後生存している男児全員のデータを分析したところ、造園業に従事している女性の息子には、停留精巣のリスクの有意な上昇が認められたが、尿道下裂には認められなかった(OR, 1.7; 95%CI, 1.1-2.4)。しかし、その関連性のある症例が、停留精巣の全症例に対して占める割合は非常に少なかった(0.3%)。造園業または農業に従事する男性の息子には、リスクの上昇は認められなかった。

最近、尿道下裂と母親の食事の関連について報告された研究がある(North and Golding, 2000)。この地域住民をベースにした縦断的研究は、7,928人の男児を対象とし、この中から、専門医への紹介や手術の記録、出生届、新生児小児科医による検査記録、死語報告などの基づく母親の報告によって、その中の51例に尿道下裂が確認された。妊娠中野菜のみを食べていた菜食主義の母親は、非菜食主義でサプリメント鉄剤を補給しなかった母親と比較し、尿道下裂の男児を出産するリスクが高く(未補正OR, 4.99; 95%CI, 2.10-11.88)、妊娠前半期にサプリメント鉄剤を補給した非菜食主義の母親でも、リスクは高かった(未補正OR, 2.07; 95%CI, 1.00-4.32)。しかし、オッズ比を補正して計算するとリスクの上昇は除外され

た。妊娠第1期にインフルエンザに罹った女性でも、尿道下裂の男児出産のリスクが上昇した(未補正 OR, 3.39; 95% CI, 1.50-6.78)。肉食主義者のほうが多量の植物エストロゲンに暴露すると考えられるために、肉食群のリスクが高くなったものと思われる。尿道下裂の症例確認の根拠が希薄であることに加え、女性が摂取したあるいは発育中の胎児が暴露した植物エストロゲン量に関するデータもない。この研究では、その他の暴露源についても評価はされていない。

5.1.6.4.4 内分泌への影響 雄の生殖器官の発達は、性ホルモンによって調節されている(本章 5.1.8 参照)。それゆえ、尿道下裂と停留精巣は内分泌かく乱作用示すマーカーと考えることができるであろう。動物試験によれば、発達期にエストロゲンに暴露すると、停留精巣や尿道下裂が誘発されることがある(Grocock et al., 1988; Vorherr et al., 1979)。ヒトにおいては、DES に暴露した母親から生まれた男児に、生殖器官異常(精巣上体嚢胞、停留精巣その他の生殖異常)が誘発されることが十分立証されている(Henderson et al., 1976; Wilcox et al., 1995)が、出生前の DES 暴露は尿道下裂と関連がないことに注意する必要がある。しかし、外因性ホルモン(経口避妊薬、ホルモン妊娠検査、切迫流産や習慣性流産に用いたプロゲステロンなど)の影響をみた 14 件の厳選したヒトでの研究についてメタアナリシスを行ったところ、出生前暴露影響に関する確かな証拠は得られなかった(Raman-Wilms et al., 1995)。

AR をコードする遺伝子の突然変異も、停留精巣や尿道下裂のある小児に起こることはまれであるため、これら症例の大部分を説明できる原因因子であるとはとらえにくい(Bentvelsen et al., 1995; Sutherland et al., 1996)。しかし、停留精巣を有する男児では、妊娠 6~14 週目にかけて血中テストステロン濃度の低いことが報告されている(Garcia-Rodriguez et al., 1996)。テストステロン代謝回転の亢進、アンドロゲン合成の抑制、または受容体レベルでアンドロゲンと拮抗作用する環境汚染化学物質が、多発する停留精巣の原因となり得ると考えられてもよいであろう。

5.1.6.5 前立腺

5.1.6.5.1 発達期のエストロゲン暴露影響 ラットの前立腺は、出生後に分岐形成され(Hayashi et al., 1991)、この時期に外因性や内因性ホルモンによって刷り込み(ホルモン・インプリンティング)が行なわれる可能性がある(Rajfer & Coffey, 1979)。Rajfer と Coffey は、新生児期にエストロゲンに短時間暴露すると、前立腺発育に不可逆的な刷り込みが行なわれ、加齢に伴う過形成、形成異常、腺がんの発生率の上昇がみられることを見出した。ヒト前立腺に対するエストロゲン作用が永続的になるもっとも重要な暴露時期は、出生前から出生後 5 日目までと考えられる(Higgins et al., 1981)。Bellido ら(1985)によりさらに調査研究が行なわれ、生後 1 日目に E₂ ベンゾート 500 µg を雄ラットに注射すると、生後 15 および 22 日目に腹側前立腺と精巣の萎縮、テストステロン濃

度の減少、血漿プロラクチン濃度の一過性上昇などがみられた。生後 1、3、5 日目に E₂ 25 µg を投与した場合でも、成長後の前立腺腹葉及び背葉においてアンドロゲン感受性の低下と AR の減少がみられた(Prins, 1987)。すなわち、エストロゲンは発達途中の分化経路を遮断することが可能であり、その一因として上皮細胞と平滑筋細胞における AR の発現阻害が考えられる。

5.1.6.5.2 プロラクチンと E₂ が成熟前立腺外側葉の成長に及ぼす影響 成熟雄ラットにエストロゲンを投与すると、前立腺の萎縮と肥大の両方がみられることはよく知られている。この違いは、エストロゲンの投与量の他、動物の週齢とホルモン状態に関連する。無処置の雄にエストロゲンを投与すると、前立腺の萎縮が見られるが、これは、下垂体前葉性腺ホルモンであるゴナドトロピンの分泌抑制と、それに続くテストステロン分泌の低下あるいは完全な抑制によって引き起こされる間接的作用である(Price and Williams-Ashman, 1961; Mawhinney and Newbauer, 1979)。対照的に、去勢したラットにエストロゲンを暴露することで、間質の肥大(Thompson et al., 1979)、もしくは上皮過形成(Salander and Tisell, 1976)を伴った、前立腺の成長促進をもたらした。

成熟ラットに E₂ を投与すると、外側葉のみにおいて、重量増加、クエン酸濃度の上昇(Grayhach and Lebowitz, 1967; Walvoord et al., 1976)、亜鉛蓄積量増加(Gunn and Gould, 1956)およびアンドロゲン取り込み量の増加(Tveter and Aakvaag, 1969)がみられた。ラットではプロラクチンは前立腺外側葉に対してエストロゲンと同じ影響を及ぼし(Grayhach and Lebowitz, 1967; Moger and Geschwind, 1972; Negro-Vilar et al., 1977; Holland and Lee, 1980)、エストロゲンは脳下垂体からプロラクチンを著しく放出させるので、前立腺の肥大を促進するエストロゲンの刺激作用は、脳下垂体ホルモンのプロラクチン産生の増加によるものと考えられた(Meites et al., 1972)。

プロラクチンが前立腺を刺激して肥大させ(Grayhach and Lebowitz, 1967; Thomas and Manandhar, 1975; Negro-Villar et al., 1977; Holland and Lee, 1980; Prins and Lee, 1983)、前立腺の退行を遅らせる(Kolbusz and Grayhach, 1982)ことは繰り返し報告されている。去勢雄に脳下垂体を移植するとプロラクチン分泌量を増やすことから、前立腺外側葉に対してプロラクチンが直接作用することが明らかにされた(Prins, 1987; Schact et al., 1992)。しかし、これらの研究では、腹側と背側の前立腺葉は影響を受けなかった。同様の現象は、プロラクチンが DNA 合成を外側葉のみで亢進させた *in vitro* 研究でもみられた(Nevalainen et al., 1991)。

次に前立腺外側葉の肥大に対するプロラクチンの作用、およびこの作用とアンドロゲンとの関係が調べられた。Prins(1987)は、プロラクチンが内因性 DHT の AR への結合を促し、核内への ³H-DHT の取り込みを亢進させることを確認した。血清プロラクチン濃度が上昇するとアンドロゲン結合部位が増加することが示唆された。Prins(1987)はさらに、外側葉でのホルモンによる ARs の調節は、腹側および背側葉のものとは異なることを

見出した。外側葉の AR タンパク質発現はアンドロゲンに依存しないが、腹側および背側葉の AR タンパク質発現はアンドロゲン依存性である。成熟動物におけるエストロゲン暴露では腹側前立腺の AR 発現を抑制するが、他の前立腺葉への影響は認められない。プロラクチンは、外側葉の ARs を特異的に亢進させ、外側葉の肥大と分泌活動を亢進させる。

5.1.6.5.3 前立腺炎 細菌が原因ではないとわかっている前立腺炎(非細菌性前立腺炎)は、一般によくみられるが、ヒトでは解明が進んでおらず、受精能に影響する可能性があるため若年および中年の男性においては特に問題となっている(Mearns, 1998)。前立腺の炎症性浸潤も、良性の前立腺肥大や前立腺がんの多くの症例に認められる(McClinton et al., 1990)。組織学的に見ると、いくつかの系統の老齢ラットにおいて、外側葉の前立腺炎が自然発生し、内腔に好中球が、間質に単核細胞が蓄積するものがある(Aumuller et al., 1987)。1988年にRobinetteは、去勢1週間後に2週間E₂を投与した雄成熟ラットにおいて、前立腺外側葉に炎症反応を引き起こす可能性があることを報告した。ホルモン誘発性の炎症が長期間続くと、上述した老齢ラットの前立腺外側葉に見られた変化に類似した、筋線維性の間質の肥厚がみられた。この炎症は、血清プロラクチンの増加と相関していた(Tangbanluekal and Robinette, 1993)。これらのE₂で処置した雄にプロモクリプチンを投与すると、血清プロラクチン値と前立腺外側葉の炎症反応が抑制され、プロラクチンが炎症反応を誘発することが示唆された(Tangbanluekal and Robinette, 1993)。同じ研究者らにより、外因性プロラクチンの投与量と誘発される炎症の重症度に用量反応関係があることがわかり、この作用の特徴がさらに明らかになった。

出生後のラットにエストロゲンを投与しても、成長後に腹側の前立腺炎を起こすことが報告された(Rajfer and Coffey, 1978; Prins, 1997; Naslund et al., 1988)。新生児期にエストロゲン投与した場合、成熟後の前立腺でみられる他の組織学的変化とは、上皮の発育不全と形成異常、および間質成分の増加などがある(Rajfer and Coffey, 1978; Prins, 1997)。

最近、出生前後、哺乳期あるいは成熟前期にある種の農薬や環境化学物質に暴露すると、雄成熟ラットに前立腺外側葉の炎症または前立腺炎を引き起こす可能性がわかった(Stoker et al., 1999a, 1999b, 1999c)。この時期の暴露では、成熟前にプロラクチンの分泌が亢進すると考えられ、結果として雄成熟ラットの前立腺炎程度と関連があるものと思われる。

5.1.6.5.4 前立腺重量と低用量問題 DESなどのエストロゲン作用をもつとされる環境化学物質の子宮内暴露が、雄マウスにおいて発達中の生殖器官の構造と機能に永続的な変化を誘導する可能性があることが報告されている(Santti et al., 1998)。最近、妊娠後半期の環境中エストロゲンへの低用量暴露と、毒性を示す高用量暴露を比較した議論が盛んである。子宮内での低用量のビスフェノール A や DES 暴露が、成熟後の前立腺重量を増加させる

一方、高用量では逆に重量を減少させた((Gupta, 2000; vom Saal et al., 1995, 1997; Nagel et al., 1997)(表 5.5)。しかし、追試では、両物質とも低用量では有害作用は確認できなかった(Cagen et al., 1999; Ashby et al., 1999)。

5.1.6.6 雄の生殖器奇形についての結論 尿道下裂と停留精巢の発生率の時間的傾向に関するデータは慎重に解釈しなければならない。長期継続研究が欠落し、これらの定義、確認、記録などがかなり異なると思われる試験データを比較するのは困難だからである。ホルモンなどの内分泌系に作用する化学物質が、前立腺の発達に影響を与える可能性があるという実験的証拠はかなり存在するが、ヒトの場合、前立腺の病理学および内分泌を介した障害の傾向に関するデータは、がん以外では不足している。

環境化学物質に関する研究は農薬に集中している。しかし、ヒトの調査研究のほとんどは、職業的に農薬に暴露した少数の症例しか含まれておらず、適切な暴露データに欠けている。いくつかの調査研究では、泌尿生殖器の奇形の増加は、両親が農薬に暴露した場合にみられる先天奇形増加の一部でしかない。農薬暴露との因果関係、あるいは内分泌の関与については結論を出すことはできない。しかし、いくつかのEDCsと性ホルモンに関する動物のデータ、およびDESに関するヒトと動物のデータは、雄の生殖器奇形の病因にホルモンのメカニズムが関与している可能性を明確に示しており、環境化学物質の影響について更なる研究が必要とされることは明白である。

5.1.7 子宮内膜症

5.1.7.1 病理生物学とエストロゲンの役割 子宮内膜症は、子宮内膜と間質が子宮腔外にあるのを特徴とするエストロゲン依存性の疾患で、不妊の主な原因となる一般的な婦人科の障害(Chedid et al., 1995)として、生殖可能年齢の女性の約14%にみられる(Vercillini et al., 1995)。これは内膜性の前駆幹細胞の増殖(Meyer, 1897, 1925)、あるいは子宮内膜細胞の逆行的月経(Sampson, 1927, 1940)、さらには腹膜由来の未分化細胞を子宮内膜へと分化させるような、子宮膜由来の物質などによって、子宮内膜細胞が子宮外で異所性に増殖することで引き起こされるものと考えられている。現時点においては、これらの臨床症状をすべて確認し、説明できる単独の説はないと考えられる。逆行性月経と月経期の腹膜腔への出血が、この疾患の主な原因であると一般に認められているが、これは子宮内膜症のない女性にもよくみられる現象である(Halme et al., 1984)。したがって、子宮内膜症の発生と進行には、逆行性月経以外の要因の関与が考えられる。

子宮内膜症と、内因性および体外から投与されたエストロゲンとプロゲステロンの用量-反応関係は臨床で明らかである。エストロゲンの投与はこの疾患を悪化させることが報告されており、エストロゲンとプロゲステロンのバランスの悪さが病因および病態生理学に關与すると推測されている。経口避妊薬の服用により子宮内膜症の

発生率が低下したという証拠があり、これは明らかにプロゲステロンが含まれていることと子宮内出血量の減少が関係している。経口避妊薬のエストロゲン含有量を着実に減らすことにより、プロゲステロン作用が増大する結果、子宮内膜症の発生率が低下すると推測される。子宮内膜症の発生および進行と、月経機能の継続には関連があり、妊娠すると症状が軽減することがあるが、月経の再開でしばしば再発する。閉経で月経機能が停止すると、この疾患は事実上消失する。すなわち、重症度とエストロゲンには明らかに関連があり、エストロゲンが無ければ決して起こらないことも明確であるが、この疾患はエストロゲンによって特異的に引き起こされるのではなく、エストロゲンの存在によって刺激されるものであると一般に考えられている(Guarnaccia and Olive, 1998)。

5.1.7.2 ヒトにおける化学物質暴露の根拠 一連の臨床的観察や動物実験研究の結果から、病理生理学的に見て子宮内膜症には汚染化学物質が関与するとされた。さらに、月経周期を通してヒトの子宮内膜に AhR が発現するという報告がある(Igarashi et al., 1999)。ヒトでは、子宮内膜症と PCBs(Gerhard and Runnebaum, 1992)およびダイオキシン(Koninckx, 1999)暴露の関係が指摘されている。子宮内膜症の女性 44 人と、対照として同年齢で卵管性不妊症の女性 35 人を比較した唯一の症例対照研究でも、疾患とダイオキシン暴露とに正の相関が報告されている(Mayani et al., 1997)。症例群の女性のほうが血清中にダイオキシンを検出する割合が {8(18%)対 1(3%)} と有意に高かったが($p=0.04$)、疾患の重症度とダイオキシンの濃度には相関関係はなかった。7.6 のオッズ比が得られたが、95%信頼区間 (0.87 ~ 169.7)は 1.0 を含んでいた。もう一つの症例対照研究では子宮内膜症の女性 86 人と、腹腔鏡検査により選んだ 70 人の対照女性とを比較しているが、血漿中有機塩素濃度と子宮内膜症の関連は見られなかった(Lebel et al., 1998)。骨盤痛、不妊症、高周波療法による卵管不妊症などのため来院した、子宮内膜症患者と非子宮内膜症患者で、血漿中有機塩素濃度を比較する調査研究が実施された。疾患の有無で結果に相違はみられなかったが、この結果の信頼性を左右する検出力に関する考察は行われていない(Lebel et al., 1998)。セブソできわめて大量に暴露した女性も、症例対照研究で子宮内膜症の評価を受けたが、ダイオキシン濃度と子宮内膜症の有無あるいは重症度との間に関連性は示さなかった(Mocarelli et al., 1999)。同様に、子宮内膜症の女性 15 人と対照 15 人の予備的研究においても、PCBs またはダイオキシンの血清中濃度とに統計的に有意な相関は認められなかった(Boyd et al., 1995)。これらの研究は比較的小規模であるため、実際に差があってもそれを検出する統計力はないと思われる。有病率 10%、有意水準 0.05、検出水準 90%とすると、2 倍の子宮内膜症発生率を検出するには、被験者として症例群 286 人、対照者 286 人のサンプル規模が必要である (Mayani et al., 1997)。イソフラボンやフラバノンなどの植物エストロゲンがヒトの異所性子宮内膜に与える影響の直接のデータはないが、

大豆のイソフラボンがアカゲザルで E_2 に誘発された子宮内膜の増殖を抑制することを考えると、影響があるとの推察も可能であろう。したがって、現時点でのヒトのデータは、環境汚染物質が病理学的にみた子宮内膜症に関与するという仮説に対し確認も反論もしていない。

5.1.7.3 動物試験からの根拠 子宮内膜症の病理学的所見で示唆されるダイオキシンの役割は、さまざまな動物実験からも推論できる。もっとも注目すべき動物実験は、4 年間アカゲザルの食餌に TCDD を混入した生殖試験である(Rier et al., 2001)。2 匹に重症の子宮内膜症が認められたため剖検が必要になり、残りの動物についても腹腔鏡検査によりこの疾患の有無を調査した。最終的に、0、5、25ppm の TCDD を投与されたサルの子宮内膜症の有病率は、それぞれ 33%、43%、71%と判明した。このデータからは内膜症の発生機序は解明されなかったが、TCDD の子宮内膜症への関与が示唆される。しかし、この研究は Golden ら(1998)から痛烈な批判を受け、McCann と Myers(1970)は、この疾患の研究にアカゲザルを使用したために複雑になったと指摘した。たとえば、子宮内膜症の有病率はヒトよりアカゲザルのほうが高い。また、この研究では、子宮内膜症のバックグラウンドの割合は、過去の剖検記録で確認されているが、被験群の発病率は腹腔鏡で決定されている。アカゲザルの子宮内膜症の発生率を増加させた帝王切開の比率など、他の要素によっても結果が紛らわしくなったと考えられる。免疫メカニズムの関与が提唱されているが(本章 5.4 参照)、これらの動物が免疫を抑制されているとみなすデータは提示されていない。以上のような限界はあるものの、病理学において子宮内膜症への TCDD の関与の可能性は無視できない。Rier ら(2001)が独自の試験でサルに関して発表した詳細な情報によると、TCDD 暴露から 13 年後、子宮内膜症をもつ対象動物で TCDD とダイオキシン様 PHAH 類の血清中濃度が上昇していた。3,3',4,4'-テトラクロロビフェニルと 3,3',4,4',5-ペンタクロロビフェニル同族体の血清中濃度が高く、血清中総 TCDD 当量 (TEQ)の高かった動物では、子宮内膜症の有病率が高く、その重症度は 3,3',4,4'-テトラクロロビフェニルの血清中濃度と相関していた。子宮内膜症発症におけるさまざまな汚染化学物質の役割を解明すべく、他の研究者も Rier ら(2001)の当初の研究に従い同様の研究を行った。

生殖および発生毒性学的研究では、アカゲザルにおける子宮内膜症の発生率と、アラクロール 1254 投与には関連性はみられなかった(Arnold et al., 1996)。カニクイザル(Yang et al., 2000)を用いた別の研究では、TCDD(0, 1, 25ng/kg 体重/日)を投与すると、移植された子宮内膜片の生着と大きさに二峰性の影響が認められた。循環血液中の生殖腺ステロイド濃度と月経周期に変化はみられず、子宮内膜や免疫機能への TCDD の直接の影響についてのデータは提示されていない。

げっ歯類では子宮内膜症が自然に発生することはないが、TCDD に暴露すると外科的に誘発した子宮内膜症が亢進される(Johnson et al., 1997)。この研究のヒトに対す

る重要性は明らかではない。特に、このような影響が比較的高用量のTCDDによって起きていることに注意する必要がある。妊娠8日目における出生前TCDD投与(3または10 μ g/kg体重、強制経口)、さらに成長後、子宮内膜症の外科的誘発前にTCDD投与(3または10 μ g/kg体重、強制経口)した場合も、マウスでは子宮内膜病変の拡大が認められたが、ラットでは認められなかった(Cummings et al., 1999)。

卵巣を摘出しエストロゲンの補充を抑制した同様のラットでのモデル実験では、エストロゲン様化合物4-クロロジフェニルを投与したところ、子宮内膜嚢胞の増大した(Yang et al., 1997)。対照的に、YangとFoster(1997)は、TCDDを投与するとエストロゲンが存在しても子宮内膜嚢胞の増大が抑制されると発表した。実験モデルでは実際にはTCDDはエストロゲン反応性組織に影響を与え得る物質であることを指摘した。TCDDは強力なAhRリガンドである。病理学的にはAhRリガンドの結合は、子宮内膜症で重要な多くの遺伝子に影響を与えるが、特にEGF、インターロイキン-1 β 、TGF- α およびTGF- β に影響を及ぼす(Madhukar et al., 1984; Sutter et al., 1991; Gaido et al., 1992)。さらにTCDDは、ラットではE₂による子宮の湿重量の増加を(Gallo et al., 1986)、マウスではE₂による子宮のEGF mRNAの増加を抑制する。ラットの子宮のER濃度がTCDDにより抑制されたとの報告があるが(Romkes et al., 1987; Astroff et al., 1990)、マウスでは影響がなかったという報告もあり(De Vito et al., 1992)、TCDDの影響や子宮のER濃度について矛盾した報告がある。しかし、TCDDを投与したマウスの卵巣と子宮における、ER mRNAの発現の減少が最近示されている(Tian et al., 1998)。

ヒトの子宮内膜組織を移植したヌードマウスの実験モデルで、TCDDの作用についての分子メカニズムが検討された(Bruner et al., 1997)。E₂下で組織培養したヒトの子宮内膜片は、間質および上皮特異性のマトリクス・メタロプロテナーゼを分泌し、ヌードマウスに注射すると子宮内膜に異所性病変を誘発することがわかった。しかし、E₂にプロゲステロンを加えると*in vitro*のマトリクス・メタロプロテナーゼの分泌と、*in vivo*の病変形成が抑制された(Bruner et al., 1997; Bruner-Tran et al., 1999)。E₂とTCDDを組み合わせると、E₂単独の場合と比較し子宮内膜病変の数と大きさが増すのに対し、TCDDはプロゲステロンのマトリクス・メタロプロテナーゼ分泌抑制と*in vivo*の病変形成抑制を阻害した(Bruner et al., 1997; Bruner-Tran et al., 1999)。

5.1.7.4 子宮内膜症についての結論 結果として、エストロゲンの内因性および治療量で、子宮内膜症に影響を与える可能性のあることが証拠から示唆されている。しかし、おもに研究されている環境化学物質のTCDDには抗エストロゲン作用があり、またげっ歯類による実験で用いた高用量と比較し、環境からの暴露量はきわめて少ないため、TCDDがこの疾患を亢進させるという説の生物学的蓋然性は極めて限定される。低濃度のTCDDがこの

疾患の悪化に関わるとした霊長類による研究には、更なる検証が必要である。高濃度のTCDDに暴露したセブソの生存者の調査研究では関連性が認められていないが、これを含めたヒトの研究はすべて小規模で、さらに詳細な解析が求められる。この疾患において内分泌および免疫系に関連すると考えられるメカニズムについても、更なる研究が必要である。

5.1.8 EDCsに関連する可能性のある生殖への有害な影響

環境化学物質は、思春期開始の低年齢化、多嚢胞性卵巣症候群、乳汁分泌期の短縮などの原因因子である可能性もあると考えられている。

5.1.8.1 思春期早発症 8歳未満の少女および9歳未満の少年に第二次性徴が認められることは、思春期早発症の診断基準に合致すると考えられている。この障害の現行の分類は、1) 中枢性思春期早発症、2) 末梢性思春期早発症、3) 異性化思春期早発症となっている(Bates, 1998)。これらの異常状態は正常な生理的発達と類似しているため、ホルモンのメカニズムについては比較的良好に理解されている。地域住民を対象にした研究では思春期年齢の中央値の低下が示されており、この傾向の原因調査が求められる。

中枢性の思春期早発症を誘発すると想定される外部因子は、視床下部からのゴナドトロピン放出ホルモンの拍動性分泌を早期に開始させることにより、一連のホルモン反応をカスケード的に誘発し、思春期を開始させると考えられる。しかし、文献を検討すると、中枢性思春期早発症と環境化学物質との関連性は確立されていない。

末梢性思春期早発症の場合、少女におけるメカニズムは、エストロゲンまたはエストロゲン様化合物に反応する末梢組織のホルモン受容体を介したものである。乳房の早熟とDES(Hertz 1979)、エチルエストラジオール、およびメストラノールへの暴露との関係を示したいくつかの報告がある。この知見は、汚染した肉への暴露との関連で報告されている(Fara et al., 1979; Kimball et al., 1981)。DESは、子牛の肉や鶏肉入りのベビーフードに混入していた(Hoffmann, 1982)。プエルトリコでは、思春期早発症の多発が報告され、環境に原因があるのではないかと懸念されている(Mills et al., 1981; Nizzoli et al., 1986; Freni-Titulaer et al., 1986; Hannon et al., 1987; Van Winter et al., 1990)。たとえば、1980年代初期にプエルトリコで、少女の乳房の早熟な発達(早発乳房)と少年の女性化乳房の傾向が見られ、これらが環境に増加するエストロゲン様化合物が原因ではないかという懸念が高まった(Mills et al., 1981; Bongiovanni, 1983; Saenz de Rodriguez et al., 1985; Freni-Titulaer et al., 1986)。発生源としては食品に加え、この地域の薬剤生産量が高水準であったことから、製薬会社からの廃棄物も考えられた。最近の報告(Colon et al., 2000)によれば、早発乳房の少女41人と対照の35人について血清中の農薬とフタル酸エステル分析が行なわれ、農薬あるいはその代謝産物はいずれの血清中からも検出されなかったが、フタル酸エステル(フタル酸ジメチル、フタル酸ジエチル、フタル酸

ジブチル、フタル酸ジ-(2-エチルヘキシル))は、対照の6人(17%)に比較し、早発乳房の少女では28人(68%)の血清に測定可能な濃度が検出された。これらのデータは、可塑剤に用いられるフタル酸エステルとこの母集団の早発乳房との関係を示唆しているが、血清中のフタル酸のジエステルは、通常吸収される前にモノエステルに速やかに代謝されるので血清中に検出されるとは考えにくい。このこととサンプル数が少ないことから、解釈は慎重にする必要がある。別の調査では、思春期早発症の少女の血漿中の農薬を調べたところ、ベルギー生まれの特異性または器質性思春期早発症の少女には *p,p'*-DDE が検出されないのに対し、開発途上国からベルギーに移住してきた少女では *p,p'*-DDE 濃度が高く、この物質の早期暴露との関連性が示された(Krstevska-Konstantinova et al., 2001)。

PBBs への子宮内暴露が性的成熟に及ぼす影響を、食事により暴露した母親をもつミシガン州の少女で評価した(Blanck et al., 2000)。1973年、不注意により家畜の餌に栄養補助剤 NutriMaster ニュートリマスターの代わりに難燃剤のファイアマスター FireMaster が添加されたため、ミシガン州の住民は PBBs に汚染された肉類や乳製品を摂取した。最初の暴露の数年後に集められた母親の血液から暴露量を推定し、18歳未満の少女とその母親に別々にアンケートを求め、思春期に関する指標への影響を評価した。データによれば、出生前後に高度に暴露した少女で、初潮と陰毛の生長が有意に早期化していることが判明した[未補正の OR および CI はそれぞれ、0.9, 0.4-1.8(非母乳)および 2.1, 0.9-5.3(母乳)、0.6, 0.1-2.7(非母乳)および 8.4, 1.4-50.5(母乳)；補正済みの OR および CI はそれぞれ、0.8, 0.3-1.9(非母乳)および 3.4, 1.2-9.0(母乳)、0.9, 0.2-4.3(非母乳)および 19.5, 2.8-138.2(母乳)であった]。乳房発達に基づくタナー段階との関連は認められなかった。初潮と乳房発達がエストロゲン依存性であるのに対し、陰毛の生長は非依存性であるので、これらの知見は興味を引かれると同時に当惑させられる。この調査研究には多くの限界があり、特に暴露評価は不十分で誤分類を招きかねないので注意を要する。この研究結果からは、確実な結論を引き出すことはできない。

げっ歯類における性的早熟については、実験動物を用いて雄では包皮分離、雌では膣の早期開口を調べることで研究が行われた。たとえば、Long-Evans ラットの膣開口日齢は、エストロゲン様化学物質の経口暴露によって早まった(Laws et al., 2000b)。特に、膣開口日齢低下は、生後 21-35 日にエチニルエストラジオール(0.01 mg/kg)、メトキシクロル(50 mg/kg)、4-t-オクチルフェノール(200 mg/kg)、または 4-ノニルフェノール(50 mg/kg)を経口投与した場合に認められた。エストロゲン様化合物への暴露は、必ずしもビスフェノール A の投与で示されたように思春期早発症を誘発するわけではない。ビスフェノール A は子宮肥大試験でエストロゲン様反応を誘発したが、400 mg/kg までは膣の開口を促進しなかった(Laws et al., 2000a)。

5.1.8.2 多嚢胞性卵巣症候群(PCOS) PCOS はまだよく理解されておらず、持続する慢性的無排卵状態と説明されている。臨床所見は典型的なスタインレベンタール症候群からはるかに軽度の無排卵までさまざまである(Stein and Leventhal, 1935; Ben Shlomo et al., 1995)。この症候群は通常、思春期の開始と関係がある。月経は最初排卵性であるが、その後すぐに希発月経または無月経になる。軽度から中等度の多毛症が見られ、肥満が一般的である。経口避妊薬を服用すると、症状の発現を遅らせるか軽減する。症状の現れ方が多様で、診断で見落とされる可能性もあるため、実際の発生率は不明であるが、Polson ら(1988)は超音波診断により、多嚢胞性卵巣が若い女性の 22%にみられると指摘している。この症候群を環境化学物質と関連付ける考え方は、動物での文献に基づいたものである。テストステロン暴露は、性周期異常や無排卵の誘発など、雌の発達中の脳にかなりの影響を与えるという科学的根拠がある(第3章 3.3.5 参照)。多嚢胞性卵巣は、エストロゲンの投与によってもさまざまな動物モデルに誘発することができる(Convery and Brawer, 1991)が、PCOS の病態生理に関して一般に受け入れられる動物モデルは存在しない。女性の PCOS 発病率の動向を示すデータもない。

5.1.8.3 乳汁分泌期間の短縮 乳汁分泌は、栄養を新生児に与えるきわめて重要なプロセスである。乳汁分泌には、排乳と射乳という2つの生理学的プロセスがあり、脳下垂体前葉および後葉から出る一連の神経伝達物質のカスケードにより制御される。内分泌かく乱による理論上の問題は、1)母体の内分泌かく乱化学物質の乳児への移行と、その結果の健康への有害作用、2)乳汁の産生または放出における異常の誘発、の2点である。

女性の乳汁分泌はエストロゲンとプロゲスタゲンの混合型経口避妊薬の薬理的用量でも影響を受けることがあり、これらの薬剤は離乳が完了するまでは禁忌である。農業に DDT が多量に使用され、母乳と脂肪に高濃度の DDE が報告されているメキシコ北部の一地方における調査で、母乳中の DDE 濃度が乳汁分泌期間と関連していることが分かった。母乳中の *p,p'*-DDE 濃度が最低の 2.5 ppm 未満の女性で乳汁分泌期間の中央値が 7.5 ヶ月であるのに対し、12.5 ppm 以上の場合は 3.0 ヶ月であった(Gladen and Rogan, 1995)。明らかに外部事情により授乳を中止した女性を除外した後でも、統計学的にこの差は有意のままであった。げっ歯類の場合では、農薬のアトラジン暴露によりプロラクチンが阻害され、乳汁分泌が損なわれることがわかった(Kniewald et al., 1987; Cooper and Kavlock, 1997; Stoker et al., 1999a, 1999b, 1999c)。しかし、これらのヒトと動物の乏しいデータから結論を導くことはできない。

5.1.9 生殖についての結論と勧告

ヒトの生殖機能への影響および想定される EDCs との関連性に関し、結論に限界があるのは暴露データの不足が大きな原因となっている。暴露データはあったにしても

非常に少なく、多くの調査研究で暴露は推測されているだけであって実際に測定されているわけではない。ヒトの調査研究に共通した別の重要な問題点は、影響を検出するにはサンプル数が非常に少な過ぎることである。すなわち、ヒトの生殖能がEDCs暴露によって有害作用を受けているという結論を裏付けるには、現在入手できるヒトのデータでは不十分である。同様に、ヒトの生殖能のある面で地域差や時間的傾向がみられるにしても、変化の背後にあるメカニズムに内分泌系経路が関与している証拠を探る系統だった試みはなされていない。

このような欠点はあるが、1)内因性および外因性ホルモンが、それらの関与する多くの過程に影響を与えることがわかっている、2)EDCsに暴露された野生生物や実験動物で、生殖能に対する有害作用についての検証がある、などの背景を踏まえると、EDCs暴露がヒトの生殖能に障害を与えるという説の生物学的蓋然性は高いと思われる。その上で、ヒトの特定の生殖能がある地域で顕著な変化を示す傾向があれば、注意を怠らずにその地域で研究を優先させるべきである。

化学物質が女性の生殖に与える影響についてのデータは、ヒトの文献でも実験的文献でも非常に少ない。女性に関する問題は、環境化学物質の研究からではなく、むしろ性ホルモンが发育および成熟後の生殖機能に及ぼす影響についての生物学的知見から生じたものである。EDCsとの関連性が性比率の経時的な動向と地域差によって評価できる一方、子宮内膜症の一般的発生率に関しては、他のエンドポイントで必要とされるより少ない対象者数でヒトの研究を行うことができる。妊娠までの期間は、環境化学物質が雌雄の生殖機能に及ぼす影響を幅広く調べるのにもっとも適した指標になりうる。

男性への影響に関して、数件のメタアナリシスと1件の後ろ向き研究で、いくつかの地域でみられる精子の質の経時的な低下に対する懸念が示されているが、低下がみられなかった調査研究もある。これまで得られた証拠では、世界的に精子の質が低下しているという仮説を確実に裏付けることはできない。各個人あるいは個人相互にみられるヒトの精液の多様性、調査研究対象集団の不均質性、調査研究対象集団を定義する情報の欠如、多くの調査研究でのサンプル数の少なさ、公表されたほとんどの調査研究の質と標準化の不確実性などにより、精子の形成と生殖能の地域的な低下の問題は未解明のままである。精子の数と濃度の地域差はさらに現実的な現象である。健康な男性の類似性が高い大規模集団間でみられる相違は、方法論や交絡因子だけでは簡単に説明できない。環境要因や遺伝要因も関連する可能性がある。将来的には、精巣機能が現実に変化しており、それが一般に拡大しているのかどうかを確認するため、明確に定義された集団と同一地域で異なる種類の集団での前向き研究が必要である。既知のEDCsに暴露された男性に関する研究も非常に少ない。男性の健全な生殖の阻害要因を考慮に入れたものであれば、問題の化合物に暴露した男性の縦断的研究あるいは症例対照研究も参考になるであろう。

停留精巣や尿道下裂などの生殖器系疾患の有病率についても、特に多くの国々で著しく増加している精巣がんに関連する可能性があるのをさらに慎重な研究が必要である。動物実験のデータから、成熟した生体でも发育中の生体でも、前立腺は内分泌作用をもつ化学物質の影響を受けやすいことが示唆されている。今日まで、早期または成熟期暴露によるヒト前立腺異常の情報はなく、前立腺の肥大や微妙な細胞の変化などを詳細に研究する難しさを過小評価してはならない。

ヒト精子の質の時間的傾向はEDCsに関する大きな論争を引き起こしてきており、大規模集団の中で生殖能の低いあるいは生殖能のない男性の占める割合をかなり左右する可能性があるため、この分野の研究は優先順位が高い。

5.2 神経行動

5.2.1 緒言

第3章で述べたように、神経系は内分泌や免疫系とともに、身体の重要な生理機能の調整に統合的な役割を担っている。この統合的機能は正常な発達、認知機能、行動などにとって不可欠である。多くの環境中化学物質(潜在的EDCsを含む)が神経毒性を引き起こすことが報告されている(IPCS, 1986; NRC, 1992; IPCS, 2001b)。運動機能障害や記憶喪失から行動の微妙な変化に至るまで、健康へのさまざまな有害影響が観察されている(Spencer and Schaumburg, 2000)。発達中の神経系への暴露で起こりうる影響が特に懸念されるのは、化学物質への暴露によりもたらされる特性や有害性が暴露の起こった時期に左右され、将来における不可逆的な神経行動学的変化につながると考えられるからである。(Tilson, 1998)。

神経系は複雑で調整能力をもち、内分泌かく乱などのさまざまなメカニズムによってかく乱される可能性が高い標的部位が多い。化学物質による誘発作用には、物質または代謝産物が神経系内部に直接作用する場合と、おもに神経系以外の部位と相互作用することによって影響を現す間接的な場合とがある。ホルモンに影響を与えるとわかっている化学物質でも、作用メカニズムがわからないと、その影響が直接的か間接的かの見極めが困難なことが多い(第3章、3.15参照)。多くの場合、神経行動学的機能は化学物質の影響を直接受けるのではなく、化学物質による多様な神経内分泌経路での形態学的変化や機能的変化に起因する。本節では、神経毒性を有する化学物質への暴露後に起こる神経行動学的変化が、内分泌かく乱メカニズムにどの程度関連しているかについて検討する。ここで取り上げるのは、内分泌系への影響が神経行動学的変化によると思われる神経毒性化学物質についてのみで、DDTやその代謝産物のDDEなどの有機塩素系農薬、クロルデコン(ケボン)、クロルデン、防かび剤(メトキシクロルやフェナリモル)、およびPHAH類のポリ塩化ジベンゾジオキシン(PCDD)、ポリ塩化/臭素化ビフェニル(PCB、PBB)、およびポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)が含まれる。

5.2.2 ヒトでのデータ

5.2.2.1 発達過程での神経行動

5.2.2.1.1 PHAHs 1995年までに発表されたPCBsの神経発達影響に関する疫学的文献については、Schantz (1996)が概説している。汚染された米ぬか油により1000~2000人の成人が高濃度のPCBs(やその他のPHAHs)に暴露された、1968年の日本(油症)と1979年の台湾(台湾油症: Yu-Cheng)の大規模な中毒事件のほかに、現在までに別の4件のコホート研究が行なわれ、測定した体液中のPCB濃度が環境バックグラウンドレベルであっても、発生や神経行動的結果と関連することが示された。

日本および台湾での油症事故は、いずれも暴露が高濃度(Guo et al., 1995aによると台湾油症では母体の血清PCB濃度の中央値は26.8 ng/ml)である。PCDFsなど他のPHAHsも関与した可能性はあるが、Schantz(1996)が解説しているように、神経発達に関し分析を進めるのに十分な情報を提供している。油症事故においては、顕著な皮膚影響(痤瘡性病変や褐色皮膚色素沈着)の他に、罹患した成人には中枢および末梢神経に関連した頭痛、記憶障害、感覚鈍麻または四肢の神経痛などの症状が多く認められた。妊娠中に暴露された女性は、暗褐色の皮膚などの異常がある低体重児を出産した。数年間追跡した小児の一部には、持続性の成長遅延、運動障害、全般的な緩慢、IQの大幅な低下(IQ平均値は約70)などが認められた。台湾油症では、妊娠中に暴露された女性が出産した子どもは、より長期にわたり慎重に追跡調査が行なわれ、厳密に選択された対照群と比較された(Rogan and Gladen, 1992)が、全体像は日本の油症と類似していた。行動異常や活動性の亢進の証拠以外に、IQの小幅ながら系統的な低下(標準偏差の1/3)、P₃₀₀潜時の延長、P₃₀₀潜時振幅の低下(P₃₀₀は決定や認知のプロセスに続いて脳に遅れて発現する事象関連の陽性電位で、潜時は刺激発生後約300ミリ秒である)などが報告されている。しかし、異常の程度と母体のPCB濃度とは関連しなかった(Schantz, 1996)。妊婦は医師から母乳を与えぬように忠告されていたため、影響が見られたPCB暴露はおもに出産前までと考えられる。

現在の4件のコホート研究、すなわち米国ミシガン州とノースカロライナ州で行なわれた2件と、ヨーロッパの研究2件(オランダの母乳に関する研究とヨーロッパのPCBを対象とした調査研究)では、体内取り込み量は、出生後のさまざまな年齢で神経行動学的影響と関連していた。ミシガン州での研究では、ミシガン湖の魚の摂取量が異なる家族の中から健康な母親と乳児のペアを募り、他の3研究では一般地域住民を対象とした。すべての研究は、異なった指標、すなわち母体の血清、臍帯血清や初乳などでPCBのバックグラウンドレベルが異なる。ミシガン州の研究(Jacobson et al., 1990)では、健康児を出産した8000人以上の母親の中から、過去6年間に異なる量の魚を摂取したと報告した群と、ミシガン湖の魚を食べていないと自己申告した対照群からなる計313人を研究のために集めた。母体および臍帯の血清のほか、授乳中の母親の母乳からのPCBs測定が試みられたが、臍帯血清で

PCB値が得られたのは約30%に過ぎなかった。平均臍帯血清中濃度は 3 ± 2 ng/ml、平均母乳中濃度は 841 ± 386 ng/g脂肪であった(Jacobson and Jacobson, 1996)。神経行動検査は、出生から11歳までのさまざまな年齢で行なわれた。結果は次のとおりである(Schantz, 1996)：(1)出生時には、魚の摂取が運動機能の発達、反射低下、不安定性と負の相関関係を示したが、臍帯血清中および母乳中PCB濃度とは関連性を示さなかった、(2)生後5ヵ月では、魚の摂取にも臍帯血清中や母乳中のPCB濃度にも、精神または精神運動の発達との関連性は見られなかった、(3)生後7ヵ月では、視覚認識記憶が臍帯血清中のPCB濃度と負の関連性を示したが、母乳中のPCB濃度とは関連性を示さなかった、(4)4歳児では、臍帯血清中および母乳中のPCB濃度が高いほど、McCarthyの言語と数字の記憶小テストの成績が低下した、(5)11歳では、総合IQと言語IQは、母親、臍帯血清中と母乳中のPCB濃度から作成した暴露総合指標と負の相関を示した(Jacobson and Jacobson, 1996)。まとめると、出生後の神経行動の発達はPCBの子宮内暴露とは負の相関を示すが、出生後のPCB暴露とは関連しない。

ノースカロライナ州研究では(Gladen et al., 1988)、一般住民から880組の母親と乳児を集め、このうち700組以上の子供が5歳になるまで追跡調査が可能であった。PCBsが臍帯血清から検出できなかったため、生後間もない時期から12ヵ月後までの、さまざまな時点の授乳中の母親の母乳を測定した(出産直後の中央値は1,770 ng/g脂肪、最大値は16,000 ng/g脂肪)。乳児の神経行動の発達は、出生時から5歳までの間、6または12ヵ月ごとに定期的に測定し、身体測定(身長、体重、頭囲など)も行った。出生時における反射低下と緊張低下および24ヵ月までの運動機能発達の遅れは、初期の母乳試料中のPCBsを指標とした出産前の母体のPCB体内蓄積量と関連があったが、24ヵ月を過ぎると関連性はみられなかった。どの年齢でも認識発達への影響は認められなかった。ここでも神経発達遅延は、ミシガン研究の場合と同様に、出生後ではなく子宮内のPCB暴露と関連があった。

オランダにおける母乳研究では(Huisman et al., 1995; Koopman-Esseboom et al., 1996)、グローニンゲンおよびロッテルダムの大学病院で、それぞれ200組の健康な母親と乳児を集めた。母親の半数は母乳を与え、残りの半数は人工栄養であった。4種類のPCB同族体を母体と臍帯の血漿から、別のPCBsと多数のダイオキシン類を初期の母乳試料から測定した。PCB濃度の中央値(118、138、153、180同族体の合計)は、臍帯血漿で0.43 ng/ml、母体の血漿で2.2 ng/ml、母乳で366 ng/g脂肪であった。神経学的状態、精神運動性および精神発達は生後2週間目と、3、7、18ヵ月において評価した。さらに、生後7ヵ月で視覚認識記憶を測定した。神経学的状態(反射低下ではなく緊張低下)は生後2週間および7ヵ月において母体の血漿中のPCBsと負の関連性を示したが、母乳中のPCBやダイオキシンとの関連性は認められなかった。精神運動遅延は、生後3ヵ月と7ヵ月において母体血漿中のPCBsと関連性を示していたが、精神発達に

は関連が見られず、臍帯血漿や母乳の PCBs との関連も認められなかった。18 ヶ月では、全般的な神経学的状態と動作円滑性は、臍帯血漿の PCBs と負の関連を示した (Huisman et al., 1995)。3 ヶ月と 7 ヶ月では、新生児 PCBs と関連した視覚認識記憶障害はみられなかった。これら 2 つのコホートに対する生後 42 ヶ月時点での追跡調査が、以下に述べるヨーロッパでの PCB 研究で実施されている。

ヨーロッパの PCB 研究では、上述したオランダにおける 2 つのコホートに加え、健康な母親と乳児約 170 組からなる 2 つ、すなわちフェロー諸島のデンマークコホートとデュッセルドルフのドイツコホートが行われた。この 2 つの新たなコホートでは、生後 2 週目と 7 および 18 ヶ月における神経発達と精神運動性や精神の発達が研究され、オランダでの 2 つのコホートでは、生後 42 ヶ月における神経発達、言語発達、認識発達が再評価された。新生児 PHAH 暴露の共通点は、初期の母乳試料だけでなく、臍帯や母体の血漿中の PCBs である。PCB 濃度(オランダのコホートについては、上記参照)は、フェロー諸島コホートでは臍帯血漿中濃度は測定されず、母乳中が 874 ng/g 脂肪(中央値)、デュッセルドルフコホートでは、臍帯血漿中で 0.41 ng/ml(中央値)、母乳では 405 ng/g 脂肪(中央値)であった。以上の結果から以下の所見が示された。(1)生後 7 ヶ月から 42 ヶ月までの精神および運動性の発達は、母乳中の PCBs と負の相関を示すが、臍帯血漿の PCBs とは相関しなかった。また、30 ヶ月からは相関の程度は有意となった(Walkowiak et al., 2001)。(2)生後 7 ヶ月では、視覚認識記憶は新生児 PCB とは関連しない(Winneke et al., 1998)。(3)生後 42 ヶ月では、認知発達と言語発達が母体の血漿中 PCBs と負の相関を示したが、臍帯血漿の PCBs とは相関がなかった(Patandin et al., 1999)。(4)生後 42 ヶ月の神経発達への影響は、新生児 PCBs と関係がなかった(Lanting et al., 1998)。

要約すると、PCBs は神経行動の発達に対し負の影響を与えると報告されている。関連する PCB の指標が研究毎に異なっている(母体血漿、臍帯血漿、初期の母乳など)ものの、認知発達だけでなく新生児の精神運動や神経学的発達の遅延は、新生児 PCB 暴露 (指標同族体は 118、138、153、180)と関連することがわかった。発達遅延の持続の程度については意見が分かれており、このような影響の機構的根拠は不明である。PCBs の甲状腺機能低下の作用機序(おそらく内分泌かく乱に関連する)について以下に述べる。

5.2.2.1.2 甲状腺機能障害の予想される役割 甲状腺ホルモンは発達全般、特に脳の発達(第3章参照)において組織的役割を果たしているため、発達期に PHAHs の甲状腺機能低下作用により、神経行動の機能障害が誘発される可能性がある(Porterfield, 1994)。新生児期における環境バックグラウンドレベルの PCBs / PHAHs への暴露と関連した甲状腺機能低下の変化は、ほぼ一貫して乳児における発達研究で報告されている。オランダにおける母乳の研究では、乳児臍帯血漿中の T_4 および T_3 と母体の(非臍帯)血漿中の PCB / PCDD の TEQ と負の関連にあり、生後

2週間および3カ月の血漿中の TSH とは正の関係にあった (Koopman-Esseboom et al., 1995)。ヒトの母乳中の毒性等価指数(TEQ)に換算した暴露の程度は、総 PCB / ダイオキシンに対して 30.85 ~ 154.21 pg/g 脂肪であった。別のオランダの研究では、幼児期の PCDF / PCDD への暴露と関連して TSH の増加と予期せぬ T_4 の増加がみられ、ダイオキシン TEQ が乳脂肪 1 kg あたり 8.7 ~ 28 ng の場合を “低濃度” 群、29.2 ~ 62.7 ng の場合を “高濃度” 群として 2 群を比較した (Pluim et al., 1993)。日本の研究では、1歳児の血清 T_4 値は、産後 3 カ月目に測定した母乳中 TCDD の TEQ (脂肪重量換算で 15.2 ~ 48.5 ppt) と負の相関を示したが、他の甲状腺機能の指標には変化はなかった (Nagayama et al., 1997)。これらすべての研究で、甲状腺ホルモン濃度は正常範囲内であった。このような無症状の変化が、後に神経行動の異常や遅延を引き起こすか否かは、まだ不明である。別の研究 (Koopman-Esseboom, 1997) によれば、神経学的な正常児 (394 人) と少数の異常児 (23 人) の間では、甲状腺機能指標に差はみられなかった。しかし、妊娠初期の暴露が重要であるならば、これらの研究から該当する時期の甲状腺の状態についての情報は得られない。

5.2.2.2 成人の神経系

5.2.2.2.1 PHAHs: 神経行動と甲状腺への影響 成人の神経行動や甲状腺への PHAHs の影響を、職業性または高濃度の環境暴露との関連から検討した研究は少ない。台湾油症の患者は、神経伝導速度の低下および記憶障害や感覚鈍麻などの多様な神経症状を示し、血液中の PCB 濃度は 39.3 ± 16.6 ng/ml であった (Chen et al., 1985)。4 ~ 20 年間 PCB に暴露された 3 人の蓄電器修理工では、長期にわたる末梢神経障害と脳障害が認められたが、体内暴露量のデータはない (Altenkirch et al., 1996)。おもに外的暴露状況から高濃度 PCBs 暴露したと判定された消防士 (PCB の体内暴露量は、アロクロール 1248 に換算して血清中濃度の中央値で表され、6.0 μ g/g 脂肪であった) は、さまざまな心理検査 (短期記憶、視覚運動能、反応時間) において対照群と異なる結果を示したが、障害の程度と個々の血清 PCB 濃度との間に相関関係は認められなかった (Kilburn et al., 1989)。変圧器の修理工では、甲状腺への影響はなかったが、脂肪組織の PCBs と 17-ヒドロキシコルチコステロイド分泌に正の相関性が認められた (Emmett et al., 1988)。PCB 製造工場の元従業員あるいは周辺汚染地域居住の青年層では、対照群と比較して甲状腺容積が増加したが、他の甲状腺機能指標には変化はなかった (Langer et al., 1998)。

5.2.2.2.3 性ホルモンと性依存性行動 発達期における性腺ホルモンがヒトの性による行動の相違に果たす役割に関し、包括的かつ仮説から導く形で検討した総説が、最近発表された (Collaer and Hines, 1995)。この総説は、DES および プロゲステン (流産を防ぐ目的で投与された) への計画的な出生前暴露とともに、ホルモン平衡異常による臨床的症状を対象とする。DES を投与された母親から生まれた女兒では、性徴と言語の側性の面で男性化も

しくは脱女性化しているように見えるが、他の面(根本的性同一性、小児期の遊び、認識力など)では影響がみられない。DESを服用した母親が産出した男児の場合は、特徴的な行動の変化や、男性的行動が変化したという証拠は少ない。アンドロゲンを基にしたプロゲステロンに出生前暴露された女児では、男性的行動(例えば、男勝りな傾向、男児に特有な玩具や男友達を好む傾向)やより攻撃的であることと関連があった。男児では、影響があったにしても軽微で、例えば、肉体的な攻撃性のわずかな増加と男児に特有な遊びの減少傾向が見られた。プロゲステロンを基にしたプロゲステロンへの出生前暴露による影響は、弱くて一貫性がない。この情報は現在のテーマと関係がある。というのは、性ホルモンとの相互作用およびその結果起こる行動変化の観点からみて、環境中のEDCsへの低用量暴露から予想できることとできないことの枠組みがこの情報により得られるからである。合成エストロゲン(DESなどの)またはアンドロゲンを基にしたプロゲステロンに出生前暴露されると、男児より女児において、より強く特徴的な性行動の影響がみられるようである。

5.2.2.3.1 PHAHs PHAHsと性ステロイドとの相互作用およびその結果行動の混乱が起こることは、実験的にげっ歯類では明らかにされているが、ヒトのデータはほとんどない。PHAHsのエストロゲン様作用については近年報告がある(Lanting, 1999)。この研究では、授乳中の母親の母乳量および脂肪含有量と、母体のPCB蓄積量とは正の相関関係を示した。台湾の油症事故に関連して、陰茎の短小化が報告されている。このコホート中の子どもにおける行動異常を、出生前のPHAH暴露のアンドロゲン様あるいは抗エストロゲン様作用を示すものと解釈できるか否かには、さらに詳細な考察が必要である。

台湾の油症事故コホートの子どもに、性依存的な行動

へのPCBの影響が認められた。段階的に難易度を上げて迷路の問題を解く一般知能試験のための非言語テストで、暴露群の6~9歳の男児の点数は、対照群と比較して有意に低かったが、女児では差が見られなかった(Guo et al., 1995b)。この結果は、出生前のPCB/PCDF暴露が性ホルモンをかく乱することを示唆している。ノースカロライナのコホートを思春期まで追跡調査研究したところ、思春期の開始時期や経過および思春期に現れる行動に関し、影響を示す証拠は見当たらなかった(Gladen et al., 1996)。

5.2.2.3.2 農薬 農薬への職業暴露が、男性においてはホルモン平衡異常を介して不妊症と生殖不能の原因となることが知られている(Strohmer et al., 1993; Straube et al., 1999)。しかし、多くの農薬について既知の神経毒性とホルモンの影響との関連性については、あったとしてもほとんど知られていない。

Gladenら(1988)の報告によれば、母乳中のPCBとDDEの濃度(中央値が1.77µg/g脂肪、最高値で16µg/g)は、両方とも出生時の異常反射および反射減弱と関連を示したが、緊張低下はPCBsに関してのみ報告されている。これを真のDDEの影響と考えてよいか、あるいはPCBsとDDEが同一直線上にあることによる見せかけの相関関係であるのかは不明である。

5.2.3 動物でのデータ

内分泌かく乱化学物質の神経行動への影響に関する疫学的調査研究は、実験研究の結果から裏付けることができる。本書では、内分泌作用をもつ外因性異物による神経行動影響の範囲と、暴露に対し感受性の強い時期とに重点を置く。しかし、内分泌への影響が報告されていても、神経行動への影響は検討されていない物質が多いことも忘れてはならない。

表5.6 内分泌系活性化学物質に発生期暴露したラットでの神経行動に及ぼす影響：性別に依存する影響

化学物質名	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
クロルデン	GD4 ~ PND80に0.1, 0.5, 5 mg/kg	雌の児動物において空間学習能力(シンシナティ迷路)の向上	0.1 mg/kg	-	Cassidy et al., 1994
クロルデコン	PND4に(児)1匹につき1 mg	成熟後の雄の児動物においてハルミン投与後の聴覚性驚愕反応の低下、雌の児動物において同反応の上	1 mg/児	-	Mactutus and Tilson, 1985
ニコチン	GD12 ~ 20に浸透圧小型ポンプにより1時間に0.25 mg/kg	成熟後の雄の児動物において甘味嗜好性が上昇	0.25 mg/kg	-	Lichtensteiger and Schlumpf, 1985
PCB 28	GD10 ~ 16に8または32 mg/kgを PO	雌の児動物における空間変更時間差記憶試験(Delayed Spatial Alternation: DSA)での成績低下	32 mg/kg	8 mg/kg	Schantz et al., 1995
PCB 118	GD10 ~ 16に4または16 mg/kgを PO	雌の児動物における空間変更時間差記憶試験(Delayed Spatial Alternation: DSA)での成績低下	16 mg/kg	4 mg/kg	Schantz et al., 1995
PCB 153	GD10 ~ 16に16または64 mg/kgをPO	雌の児動物における空間変更時間差記憶試験(Delayed Spatial Alternation: DSA)での成績低下	64 mg/kg	16 mg/kg	Schantz et al., 1995
PCB 77	GD7 ~ 18に1.5 mg/kgを SC	雌の児動物での網膜電位図検査でb波振幅の低下	1.5 mg/kg	-	Kremer et al., 1999
PCBs*	交尾の50日間前 ~ PNDに1日4 mg/kg BW等量として飼料1 kgあたり40 mg添加	雄の児動物の出生時に視床下部視索前野におけるアロマターゼ活性が低下、成熟後の雄の児動物において甘味嗜好性が増加、同用量の工業用混合物アロクロール1254ではこれらの評価項目に対する明確な影響は確認できず	4 mg/kg	-	Hany et al., 1999

* 組成に準じた混合物(母乳中)、PO 経口、SC 皮下注射、bw 体重。

5.2.3.1 発生段階における暴露

5.2.3.1.1 性依存性の神経行動への影響 性依存性の神経行動への影響は男女に異なって現れるが、性機能と生殖には直接関連しない。表5.6に発生期暴露後のこのような影響に関する研究を要約する。

ニコチンや再構成PCB混合物暴露後、次世代の雄の甘み嗜好性が増すのは、行動学的雌化を示唆するもので、この雌化は、PCBsについてはアロマトーゼ活性の阻害による可能性が高い(第3章参照)。オルト塩素化PCB同族体への単回暴露後に見られる空間的遅延交替障害は、腹側被蓋から強力なドパミン作動性の投射を受けている前前頭皮質の変化を示唆している。ドパミンの放出はエストロゲン濃度に依存するので、これが雌のみに欠陥が生じる理由と考えられる。しかし、エストロゲンの濃度と周期性に関してはこの実験では調べられていない(Schantz et al., 1995)。雌でみられるクロルデンが誘発する空間学習の向上が雌化を示すものと考えられるのは、雌のほう

がエストロゲンの低い発情静止期にこの種の行動をうまくこなすからである。クロルデコンで見られる聴覚性驚愕反応(Mactutus and Tilson, 1985)、およびコプラナーPCB77での網膜電位図(Kremer et al., 1999)が性によって異なる変化をする理由は不明である。

5.2.3.1.2 性分化および性依存性の行動 性行動と生殖に直接関連する神経発生過程への内分泌活性化学物質の影響を、表5.7に要約する。卵巣を摘出してテストステロンで刺激した次世代雌においては、クロルデコン投与後にマウンティング回数の増加がみられた(LOAEL、一匹あたり0.5 mg; NOAEL、一匹あたり0.25 mg; Gray, 1982)。雄様性行動障害によるTCDDの脱雄化も示唆される(Mably et al., 1992)。またTCDDは、去勢後卵巣ステロイドで刺激した雄の雌化も引き起こす。しかし、TCDDが誘発する影響を調べた別の研究では、影響はそれほど強くないとされているものもある(Gray et al., 1995a, 1995b)。

表5.7 内分泌活性化学物質に発生期暴露したラットでの神経行動影響:性分化と性行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
クロルデン	GD4 ~ PND80に0.1、0.5、5 mg/kg	雄児動物の挿入潜時の短縮、射精前の挿入回数および総挿入回数の増加	0.1 mg/kg	-	Cassidy et al., 1994
フェナリモル	35 mg/kg BW等量として飼料1kgあたり350 mg	雄新生児の視床下部視索前野における核のERs濃度の減少、雌新生児の視床下部視索前野におけるE ₂ およびエストロン濃度の低下	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
TCDD	GD15に64、160、400、1000 ng/kg bwをPO	脱雄性化:雄児動物のマウンティング時間延長、挿入回数増加、射精潜時の延長 雌性化:去勢し卵巣ステロイドを投与された雄児動物の背弓反射指数の上昇と点数/回数の増加	64 ng/kg 160 ng/kg	64 ng/kg	Mably et al., 1992
TCDD	GD15に700 ng/kgをPO	1922年のMablyらの結果の追試、影響はERs数の変化や性的二型脳核容積の変化によるものではない	700 ng/kg	-	Bjerke et al., 1994
TCDD	GD15に1000 ng/kgをPO	母親交換実験で哺乳期暴露により雄の児動物の性行動が雌性化。脱雄性化に対する効果は不明瞭	1,000 ng/kg	-	Bjerke and Peterson, 1994
TCDD	GD8または15に1000 ng/kgをSC	雄の性行動に対するTCDDによる影響はほとんど、もしくは全く影響が見られない。Mablyら(1992)およびBjerkeら(1994)の研究とは対照的	1,000 ng/kg	-	Gray et al., 1995b
TCDD	GD15に1000 ng/kg	Long-Evans雌の児動物において腔内糸状物と、交尾困難に起因する非暴露対照群雄の無挿入マウンティング回数の増加、射精潜時の延長	1,000 ng/kg	-	Gray and Ostby, 1995
TCDD	GD15に1000 ng/kgをPO	成熟期前の雌の児動物においてER mRNAレベルが、視床下部、子宮、卵巣において上昇、下垂体においては低下;DNA結合は子宮で上昇、視床下部で低下、卵巣では変化なし	1,000 ng/kg	-	Chaffin et al., 1996
ピンクロゾリン	GD14 ~ PND3に200 mg/kg	雄の児動物における挿入および射精の消失	200 mg/kg	-	Gray et al., 1994

bw 体重, PO 経口, SC 皮下注射。

表5.8 内分泌活性化学物質に離乳期暴露したラットでの神経行動に及ぼす影響:性別に依存する行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
メトキシクロル	PND22に400mg/kgをPO	暴露雌における卵巣摘出前の車輪走行運動活性の上昇、卵巣摘出対照群とは対照的に卵巣摘出後も同活性の低下は認められない	400 mg/kg	-	Gray et al., 1998
メトキシクロル	PND104からテスト期間中200 mg/kgをPO	プロゲステロン投与による拮抗を受けた暴露雌において卵巣摘出後の車輪走行運動活性	200 mg/kg	-	Gray et al., 1998

PO 経口。

5.2.3.2 離乳後の暴露 内分泌活性化学物質の暴露による、性依存性の行動および性行動への影響に焦点を当てた神経行動学研究の結果を、表5.8と5.9に示す。ラットによる研究のほかにも、メトキシクロルを1日 200mg/kg、2週間経口投与したハムスターに、性行動への影響が認められている。卵巣摘出の雌では、プロゲステロンによる刺激後に脊柱を前弯させる性行動が増えた(Gray et al.,

1988)。性依存性の行動と性行動は双方とも、メトキシクロルのエストロゲン様の影響を示している。同じことがビスフェノールAにも当てはまるが、フェナリモルでは、マウンティング行為の異常と脳内のE₂受容体数減少で示されるように、雄の脱雄化が見られた。このような影響は、発生期の脳におけるアロマターゼ活性の阻害による可能性が高い(第3章参照)。

表5.9 内分泌活性化学物質に離乳期暴露したラットでの神経行動に及ぼす影響:性行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
ビスフェノールA	1日に200 mg/kgをSCにて3日間	卵巣摘出した雌での背弓反射指数=1	200 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
フェナリモル	PND21 ~ 270に4、8、17、35、70 mg/kg	雄でのマウンティング回数の減少とマウンティング潜時の延長	4 mg/kg	-	Gray et al., 1991
フェナリモル3	35 mg/kg bw等量として飼料1kgに50 mgを7日間添加	卵巣摘出した雌での視床下部視索前野および下垂体の核のE ₂ 受容体濃度の僅かな上昇	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
フェナリモル	35 mg/kg bw等量として飼料1kgに350 mgを2週間添加	成熟雄での視床下部視索前野および下垂体の核のE ₂ 受容体濃度の非有意な54%低下	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
メトキシクロル	PND22から成熟まで400 mg/kgをPO	卵巣摘出した雌でのプロゲステロンによるブラッキング後の背弓反射指数(背弓反射行動回数/マウンティング回数)=1、卵巣摘出した対照群では背弓反射指数=0	400 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
メトキシクロル	PND104からテスト期間中200 mg/kgをPO	卵巣摘出した雌での背弓反射指数=1	200 mg/kg	-	Gray et al., 1988
メトキシクロル	PND21から成熟まで50、200 mg/kgをPO	雄のマウンティング回数の増加と精子数の減少	50 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
ポリ塩化ビフェニル	成熟1日に10 mg/kgをPOで30日間	雌の膣スミア内における精子確認率減少(交尾の許容が減少?)	10 mg/kg	-	Brezner et al., 1984

bw 体重, PO 経口。

表5.10 内分泌活性化学物質に発生期暴露したラットの神経行動に及ぼす影響:甲状腺ホルモンを介した影響

物質名	投与量と投与方式	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
PCB 126	交尾の35日前からPND21まで250、1000 ng/kgをPO	低周波音域における聴力閾値の上昇	250 ng/kg	-	Crofton and Rice, 1999
PCB 77	GD7 ~ 18に1 mg/kgをSC	児動物におけるバスピロンによるアポモルフィン反応阻害の低下は甲状腺機能抑制物質の発生期暴露に類似	1 mg/kg	-	Lilienthal et al., 1997
PCB 169	GD1に0.2、0.6、1.8 mg/kgをPO	母動物、胎児(GD20)、児動物(PND7および21)、それぞれの全脳内でII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性が上昇	1.8 mg/kg	0.6 mg/kg (GD 20において1.8 mg/kgで影響なし)	Morse et al., 1993
PCB 77とPCB 169の併用	GD2 ~ 18にPOによる1mg/kgのPCB 77と0.6mg/kgのPCB169	胎児(GD20)の全脳内においてII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性が上昇、雌の児動物(PND21)全脳内においては低下	1 mg/kg PCB 77 + 0.6 mg/kg PCB 169	-	Morse et al., 1995
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6 ~ PND21に1、4、8 mg/kgをPO	児動物(PND24)での聴覚驚愕反応の振幅の減少、低周波音域における聴力閾値の不可逆の上昇	4 mg/kg	1 mg/kg	Goldey et al., 1995
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6 ~ PND21に1、4、8 mg/kgをPO	児動物での低周波音域の聴覚驚愕反応による振幅の低下	4 mg/kg	1 mg/kg	Herr et al., 1996
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6 ~ PND21に8 mg/kgをPO	児動物(PND23)での聴覚驚愕反応の振幅低下と成熟後における同反応の上昇、低および高周波音域における聴力閾値の不可逆の上昇、T ₄ 投与により聴覚閾値は低周波音域では回復するが高周波音域では回復しない、聴覚驚愕反応の振幅には効果なし	8 mg/kg	-	Goldey and Crofton, 1998
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD0 ~ PND21に6.25、12.5、25 mg/kg BWの等量として食餌1kgに62.5、125、250mg	児動物における海馬および前脳基底部下コリンアセチルトランスフェラーゼ活性の低下、T ₄ 投与による海馬での部分的回復	6.25 mg/kg	-	Juarez de Ku et al., 1994
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD10 ~ 16に5、25 mg/kgをPO	胎児(GD20)での前脳基底部下内におけるII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性の上昇、雌の児動物(PND21)における同活性の低下	5 mg/kg	-	Morse et al., 1996

bw 体重, PO 経口。

5.2.4 甲状腺ホルモン

神経発生期(神経発生、中枢神経系における細胞の移動、細胞分化など)における甲状腺ホルモンの役割はよく知られていることから、甲状腺ホルモンに依存した過程を介して神経行動に影響を与えると考えられる内分泌活性化学物質は、発生期の動物で詳細に研究されている。その結果を表5.10に要約する。末梢のI型チロキシン5'-脱ヨード酵素とは対照的に、脳におけるT₄のT₃への変換の減少に対する反作用として、循環T₄が減少するのに応答し、中枢神経系においてII型脱ヨード酵素の活性が上昇する。このような活性の上昇は、発生期に単一のPCB同族体、あるいは工業用混合物に暴露した場合に検出された(Morse et al., 1993, 1996)。PCBの甲状腺ホルモンへの作用によるとされる神経行動への別の影響には、低周波音域での聴力閾値の上昇があるが、発生期にT₄を補充するとPCB暴露の影響が一部改善した(Goldey and Crofton, 1998)。これほどはっきりとはしていないが、同じことがコリンアセチルトランスフェラーゼに対する影響にも当てはまる(Juarez de Ku et al., 1994)。薬物識別学習におけるドパミン作動性/セロトニン作動性相互作用への影響に、PCBによる作用の類似性と甲状腺機能抑制剤による作用が示されているが、T₄の補充による回復は見られない(Lilienthal et al., 1997)。

5.2.5 神経行動についての結論と勧告

PHAHs(主にPCB)への出生前後の暴露と関連し、影響の範囲については相違があるものの、数多くの神経行動の変化が報告されている。出生前後のPHAHsによる甲状腺機能低下の影響については、かなり一貫した報告がなされているが、神経行動への機能障害の原因としての役割を、既存のヒトデータから推論するのは不可能である。この点は、PHAHsと性ステロイドとの相互作用に関しても同様である。生物学的蓋然性は、潜在的内分泌かく乱化学物質を用いた動物実験によりもたらされ、性ステロイドを介した、性依存性の行動や性行動への暴露影響が示される。ヒトの疫学研究では、このようなタイプの行動が測定されることは稀である。例外は台湾油症の小児を対象にした研究で、空間的に構成された特別な知能検査において、男児のみに障害が報告されている。実験的研究では、発生の臨界期に暴露が起こるとかく乱される可能性をもつ、特定の神経行動のエンドポイントへの甲状腺ホルモンによる影響も報告されている。

内分泌かく乱および性腺ステロイドや、注目度は劣るが甲状腺ホルモンへの影響に関する研究が注目を集めている。生合成障害、代謝亢進、あるいは標的的变化などによる、他のホルモンへの考えられる影響についても調べる必要がある。性腺ステロイドは、種々の神経系疾患、神経毒性物質、酸化ストレスなどの有害影響からの保護作用のほかに、発達、傷害後の再生、加齢など、神経の可塑性に関連した多様なプロセスに関わっている。内分泌かく乱化学物質は、これらのすべてのプロセスにおいてホルモンの作用を変化させるため、神経系は他の系よりも有害事象の影響を受けやすくなる。神経の可塑性に

対する影響は、環境変化への成人器官の適応能も妨げているかもしれない。さらに、神経系自体がプレグネノロン、デヒドロエピアンドロステロン、プロゲステロンおよびその代謝産物などのいわゆる神経ステロイドを、末梢での合成と関係なく産生することも知られている。この広範囲のステロイドによる作用に対する内分泌活性物質の影響に関する情報は、現時点では存在しない。

5.3 免疫系

5.3.1 緒言

5.3.1.1 免疫系の構造と機能の概要 免疫系の主な機能は、感染性因子とある種の腫瘍細胞に対する防御である。様々な型の細胞とその分泌する可溶性の伝達物質とが見事に調和して免疫系の機能を司る。宿主の防御は、非特異的すなわち先天的な免疫と、特異的すなわちリンパ球による後天的な免疫とに大別される(IPCS, 1996)。

免疫系を構成する要素は体全体に存在している。リンパ球画分は、骨髄と胸腺からなる一次、すなわち中枢リンパ器官と、リンパ節、脾臓、粘膜関連リンパ組織と呼ばれる分泌面に沿ったリンパ組織からなる二次、すなわち末梢リンパ器官によって構成されるリンパ器官内に存在する。単球/マクロファージ系の食細胞は単核食細胞系と呼ばれ、リンパ器官および肝臓のクッパー細胞、肺の肺胞マクロファージ、腎臓の糸球体間質マクロファージ、および脳のグリア細胞のように、リンパ節以外にも存在する。多形核白血球はおもに血液と骨髄に存在し、炎症部位に集合して非特異的な一次防御を行う。

宿主が最初に病原体と接触した後、特異的な免疫反応が誘発される。この二次防御の特徴は、BおよびTリンパ球の細胞表面受容体による、抗原またはエピトープと呼ばれる病原体の決定基の特異的認識である。受容体をもつ細胞は特異的抗原との相互作用により刺激され、反応を誘発した抗原に特異的な細胞クローンを産生する。この特異的免疫反応は、非特異的免疫の効果を高めることで病原体に対する非特異的防御を助ける。特異的免疫の基本的な特徴は、記憶が形成されることである。同一の抗原に再度接触すると、より早くかつ強力だが、よく調節された応答が起きる。

特異的免疫には、体液性免疫と、細胞(性)免疫の2つが知られている。体液性免疫では、細胞表面の受容体による抗原認識の後、Bリンパ球が刺激を受ける。成熟したB細胞(プラズマ細胞)は、抗原特異的免疫グロブリンの産生を開始し、これが血清中または粘膜表面で抗体として働く。細胞性免疫はTリンパ球による。Tリンパ球は、抗原提示細胞上の組織適合抗原によって提示されると、その抗原を認識する。つまり、これらの細胞は、抗原特異性以外にも拘束がかかる。T細胞は、種々の免疫応答(体液性免疫を含む)のヘルパー細胞として機能し、炎症細胞を動員し、さらに細胞傷害性T細胞として抗原を特異的に認識した後に標的細胞を殺すこともできる(Schuurman et al., 1991; IPCS, 1996; Weigle, 1997による詳細な総説)。

5.3.1.2 EDCsが引き起こす免疫系への毒性影響 免疫系が化学物質による傷害の受動的な標的になると、有害な

反応が生じ免疫機能が変化する。免疫系が、特異的免疫応答の一環として、化学物質に抗原特異的に応答する場合にも、毒性、すなわち過敏症やアレルギーが発症する。化学物質が引き起こす毒性で免疫系が標的となると、免疫が抑制されて疾病に罹りやすくなり、感染症やある種の腫瘍性疾患の発生率が上昇し、アレルギーや自己免疫疾患が悪化する(Schuurman et al., 1991; IPCS, 1996, 1999)。ある種のEDCs暴露後に免疫毒性が起こる場合があるが、免疫系への直接作用と内分泌かく乱後の二次的影響とを区別することが重要である。今のところ、化学物質(EDCsであるなしに関わらず)に対する免疫毒性反応で作用機序が分かっているもののほとんどは、内分泌への影響には関与していない。しかし、免疫系と神経内分泌系は密接に連携し協力して生理的恒常性を維持している(第3章、3.15参照)。化学物質が内分泌系のメカニズムを介して免疫機能に有害な影響を与える可能性があるのは明らかで、このうち判明している数例について後述する。

免疫機能不全の最終結果であるヒトの疾患の増加は、検出可能なエンドポイントであるが、因果関係の特定は困難である。したがって、化学物質の直接的な免疫毒性影響を検出し評価するには、実験モデルに頼らなければならない。免疫機能の評価のために利用できる方法は多岐にわたる。化学物質の免疫毒性の評価では、多くの国の規制当局がラットによる28日間反復投与毒性試験を要求している。この最初のスクリーニング系には、OECDガイドライン407(OECD, 1995a)で採用されているような、特異的および非特異的免疫系に関する一般的指標が含まれている。これらの指標は、リンパ器官の重量や組織学を調べることで、一次および二次リンパ組織内のTおよびBリンパ様細胞に対する毒性を評価するものである。混餌投与試験のように、特に暴露が粘膜部位で起こる場合は、粘膜性のリンパ組織を検査することも有用である。このスクリーニングにおいて、他の有害影響による二次的なものではなく、他の毒性作用を示す用量に近い用量で免疫毒性影響が検出された場合は、第二段階の試験の適用となる。第二段階には、実験用感染モデルにおける細胞性および体液性免疫、マクロファージ機能、ナチュラルキラー細胞活性、宿主の耐性などを評価するため、多様な*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro*検定がある。EDCsの理解が進むにしたがって、免疫能に関する他の検査を組み込んでいくことも必要かもしれない。

宿主抵抗性モデルがあれば、実際の免疫機能損傷の帰結が明らかになるため、リスク評価にとってはきわめて有用であろう。それぞれの宿主抵抗性モデルは、その特定モデルのメカニズムに基づいて、さまざまな免疫系の構成要素に対応している。したがって、免疫毒性物質暴露による免疫能影響評価には、単一の宿主抵抗性モデルだけが用いられることはない(Neumann, 1995; IPCS, 1996)。

5.3.2 ヒトでのデータ

過去 20 年間のヒトおよび実験動物を対象とした研究

から、免疫系が、医薬品や環境への影響が懸念されている化学物質など、多くの化学物質の標的となっていることは明らかである。しかし、内分泌系かく乱メカニズムを介してヒトの免疫系に変化をもたらすことが立証された化学物質は少ない。DES については、そのメカニズムが明らかになっている。PCBs, PCDFs, PCDDs の胸腺に対する毒性は、他の標的器官の場合と同様に、AhR 結合により胸腺ホルモンに作用することで生じると考えられる。ゆえに、免疫毒性は内分泌かく乱メカニズムによると考えることができる。プロゲステロンに早期に暴露されると免疫抑制が誘発されることは知られているが、報告されたメカニズムについては議論を呼んでいる(Siiteri et al., 1977; Schust et al., 1996)。周産期/若齢期にメトキシクロルに暴露された成熟ラットの報告でみられたように、内分泌かく乱作用があっても免疫系には影響を及ぼさない化学物質も存在する(Chapin et al., 1997a)。免疫毒性のメカニズムが知られている数少ない化学物質の大半は内分泌かく乱作用がない。

5.3.2.1 DES DES 暴露によるヒトおよび実験動物の免疫系への影響を Blair ら(1992)および Golden ら(1998)が概説した。子宮内 DES 暴露後のヒトを対象とした長期免疫影響のデータは限られている。免疫刺激の科学的根拠としては、生殖器官奇形、子宮頸部や膣腺疾患が確認されている女性 8 人において、有糸分裂促進因子の PHA(植物性血球凝集素)および PWM(ヨウシュヤマゴボウ有糸分裂促進因子)に反応したリンパ増殖性の亢進が報告されている(Ways et al., 1987)。子宮内 DES 暴露によって生殖器官に変化をきたしたとされる娘たちについての小規模研究では、ナチュラルキラー細胞機能の変化が示唆されている(Ford et al., 1983)。

子宮内暴露による免疫機能への影響の可能性が 2 件の大規模な DES 暴露コホートで調べられた。これらの調査では、一般集団と比較して DES 暴露群で(Wingard and Turiel, 1988)、また、調査に参加した非暴露女性の対照群において(Noller et al., 1988)、気道感染症、喘息、関節炎、および狼瘡などの免疫機能障害の生涯有病率が上昇することが示唆された。それぞれ適切な対照群をもつ 2 つの DES 暴露女性群を追跡調査した結果、よくみられるウイルス性疾患 5 種、およびまれなウイルス性疾患 6 種についての有病率あるいは血清抗体価に差は認められなかった。しかし DES 暴露群において、細菌性疾患(連鎖球菌性咽喉炎)後の比較的まれな免疫反応亢進であるリュウマチ熱の有病率が高かった(Blair et al., 1992)。その後の研究では、自己免疫疾患に関係する因子の有無を DES 暴露群と対照群の血清で調べ、免疫グロブリン濃度も測定した(Blair, 1992)。赤血球抗原への抗体価は、対照群と比較して DES 暴露群で高く、血清 IgA 値も有意に上昇していた。Blair(1992)は、一般にヒトは出生前に DES に暴露されても基礎的免疫機能に重篤な障害は生じないが、自己免疫疾患や免疫調節の障害に関連する他の疾患に罹りやすい傾向にあると結論している。

5.3.2.2 PCBs, PCDFs, PCDDs PCBs, PCDFs, およ

び PCDDs の免疫影響に関する総説に関しては、Blair(1995)、Vosら(1997/98)、Goldenら(1998)を参照。**5.3.2.2.1 暴露事故** イタリアのセブソで一部の住民が比較的高濃度の TCDD に暴露したが、彼らを対象とした疫学研究では、血清免疫グロブリン濃度や、T および B 細胞の細胞分裂誘発反応に異常はみられなかった(Reggiani, 1978)。その他の事故による暴露では、ヒトへの免疫毒性が認められている。1971 年に、米国ミズーリ州で埃対策の目的でトレーラーハウス駐車場の未舗装の道路に散布された、TCDD 含有の廃油に暴露された住民を対象とした総合調査では、免疫系の変化が認められた。暴露住民では、DTH の皮膚テストでのアネルギー(抗原反応不顕性)頻度と相対アネルギーが統計学的に有意に高頻度でみられ、また、異常な T 細胞サブセット試験結果、1.0 未満の T4/T8 比、および T 細胞機能試験結果での異常が、統計学的に有意ではないが高頻度でみられた(Hoffman et al., 1986)。この結果は、長期にわたって TCDD に暴露されると、細胞性免疫の抑制が生じることを示唆しているが、これらの変化に内分泌系が介在するかどうかについては疑問が残る。免疫アネルギーが認められた住民を対象とした追跡調査では、アネルギーが続いているものはいなかった。この現象の説明としては、最初の研究に用いられた皮膚テストの検出力が低いこと、あるいは、最初のテストによって抗原に対する感作が起こったことの二つが考えられるとしている(Evans et al., 1988)。同じ集団を対象に体内 TCDD 蓄積量と臨床症状との相関を調べた別の研究では、CD8 T 細胞の比率および絶対数ともに有意に増大し、CD4/CD8 比が有意ではないが低下していた。妊娠中および出産後にトレーラーハウス駐車場に居住していた母親から生まれた子供 15 人のリンパ球表現型の分析では、ヘルパー T 細胞の誘発因子(CD29/CD4)の発現率が有意に低く、CD8 の発現率が上昇し、L 鎖をもつ B 細胞(CD19)の発現率が低下していた(Smogor et al., 1993)。ミズーリ州の暴露住民を対象にした別の研究では、暴露群では胸腺ペプチドであるチモシン-a1 の平均血清濃度が有意に低く、TCDD 暴露と胸腺上皮の活性に関連性があると示唆された(Stehr-Green et al., 1989)。これらのデータは、免疫毒性の発現に内分泌系が関与するという説を裏付けるものである。

TCDD 関連物質であるポリハロゲン化芳香族炭化水素に暴露された台湾住民の間に、免疫系の変化が認められている。PCDFs および PCBs に偶然汚染された米ぬか油により、座瘡様皮膚疹、皮膚や爪の色素沈着、肝傷害、免疫機能の異常が見られた(台湾油症)。血清 IgM および IgA 濃度、および末梢血の T リンパ球の割合が低下していた(Chang et al., 1981)。DTH 反応を用いた研究では、細胞性免疫の抑制がみられた(Chang et al., 1982)。台湾油症患者の女性が出産した子供の調査も行われている。これらの子供は、出生後の 6 ヶ月までの気管支炎(Rogan et al., 1988)と学齢での中耳炎(Chao et al., 1997)の発生率が対照群に比べて高かった。

台湾油症中毒と同様に、日本でも 1968 年に PCBs および PCDFs に汚染された米ぬか油に暴露されて油症が

発生した。油症患者には呼吸器感染症がしばしば起きる。中毒症状発症開始から 2 年間に渡って血清 IgA および IgM 値が著しく低下したが、ほとんどの患者では正常値に戻った。しかし、呼吸器症状はさらに長期間持続した(Shigematsu et al., 1978)。

フィンランドでの PCB 事故により PCDFs および PCBs に暴露された作業員にも免疫異常が生じた。調査の結果、暴露 5 週後に末梢血の T 細胞数の減少がみられたが、7 週後には大部分が正常値へもどった。ヘルパー T / サプレッサー T 細胞比も低下した。事故後 7 ヶ月間に、暴露者の大部分が少なくとも一回の上気道感染症にかかった(Elo et al., 1985)。暴露者の 17 年後の調査では、TCDD 暴露群の血中抗核抗体および免疫複合体の検出率が対照群と比較して有意に高かった(Jennings et al., 1988)。

5.3.2.2.2 職業暴露 職業暴露における研究では、免疫系の変化はほとんど認められていない。ベトナムで 1962 年から 1971 年にかけて、枯葉剤散布作戦で TCDD 含有の除草剤を散布した退役空軍兵には、免疫系の変化(DTH 反応、リンパ球サブセット、血清免疫グロブリン、自己抗体など)と TCDD 暴露の程度に相関関係は確認されなかった(Michalek et al., 1999)。ある化学工場で除染に関わり、TCDD、PCDDs、および PCDFs の体内蓄積量が軽度上昇した作業員では、対照群と比較しても末梢血リンパ球サブセット(Neubert et al., 1993)、およびリンパ球増殖反応(Neubert et al., 1995)に変化は認められなかった。20 年前に高濃度の TCDD に数年間暴露された工場作業員を調べたところ、血中リンパ球サブセットおよび、T 細胞ないし B 細胞の細胞分裂誘発によるリンパ球増殖応答への影響は認められなかった(Tonn et al., 1996)。しかし TCDD に暴露された被害者では、ヒトリンパ球抗原同種異系リンパ球とインターロイキン 2 による増殖亢進応答の低下が認められた。ヘルパー T 細胞機能の長期にわたる免疫抑制作用は、末梢血の細胞数の絶対的減少ではなく個々の細胞機能低下によると考えられる。

5.3.2.2.3 一般住民の暴露 健康児に対する出生前後の暴露が免疫学的パラメータに及ぼす影響について、出生から 18 ヶ月間母乳栄養と人工栄養で比較する調査(オランダの PCB / ダイオキシン研究)が実施された(Weisglas-Kuperus et al., 1995)。健康な母子 207 組を対象とし、105 人が母乳、102 人が人工栄養であった。出生前の PCB 暴露量は PCB 合計量(118、138、153、180 の PCB 同族体)により推定した。出生後の PCB / ダイオキシン暴露量は、母乳中の総 TEQ(ダイオキシン 17 種およびダイオキシン様 PCB 同族体 8 種)と授乳週を乗じて算出した。出生前後の PCB / ダイオキシン暴露と上・下部気道症状あるいは体液性抗体産生には相関関係はなかった。母乳中の総およびダイオキシン TEQ レベルは、出生児の T 細胞サブセットの増加と有意に相関していた。出生前後の PCBs およびダイオキシン暴露は、生後 3 ヶ月時で単核数および顆粒球数の減少と有意に相関していたが、18 ヶ月時には相関していなかった。また、出生後暴露の母乳栄養群では B 細胞マーカーでも有意な低下が

観察された。これらの変化がその後の小児期まで続くかどうかを追跡した調査では、就学前児童において、出生前 PCB 暴露は T 細胞数の増加、はしか抗体の低下、および喘鳴を伴う息切れの軽減に関与していた。その時点での体内蓄積量は、再発性の中耳炎や水痘の高発生率、およびアレルギー性疾患の低発生率と関わっていた (Weisglas-Kuperus et al., 1995, 2000)。

5.3.3 実験および動物のデータ

5.3.3.1 DES 第3章(3.15 参照)で示したように、Lusterら(1984)は DES などのある種のエストロゲン様化学物質の免疫毒性は、エストロゲン活性と相関している場合が多いことを立証した。外因性エストロゲンの免疫毒性は、主として胸腺および胸腺依存性免疫の変化として薬理作用レベルの濃度で起きるため、弱いエストロゲンへの低濃度暴露で免疫毒性影響が発現されるか否かが問題となる。これは低濃度でも強い免疫毒性を有する TCDD とは対照的である(本章 5.4.3.2 参照)。

胸腺毒性の発生機序は、胸腺細胞や非リンパ系胸腺上皮細胞との直接的な化学的相互作用によるもので、その結果、おそらく ERs や受容体様構造との結合を介して、上皮細胞から可溶性免疫調節因子を放出すると考えられる。Goldenら(1998)は、動物実験の結果は、子宮内暴露されたヒトで報告された影響と概ね一致しているとしている。子宮内 DES 暴露によって、B 細胞および T 細胞の異常応答やナチュラルキラー細胞の活性低下をはじめとする免疫系の多くの変化が起きることが、相当量の動物データによって明らかにされている。これらの影響とげっ歯類の組織異常増殖との関係は明らかにされておらず、これらの所見がヒトの健康へどう関わるかも解明されていない。動物では、子宮内暴露後の免疫系への影響の大部分は死ぬまで続き、加齢とともに悪化する場合さえある。ゆえに、ヒトの DES 子宮内暴露の場合も、免疫系機能に異常をきたす疾患について継続して監視する必要がある。

5.3.3.2 TCDD TCDD が誘発する胸腺萎縮症のメカニズムを調べるために多くの研究がなされている (Vos and Luster, 1989, および De Waal et al, 1997 による総説)。ストレスホルモンのかかわりなど間接的機序のいくつかは、副腎切除あるいは下垂体切除などが TCDD の作用に影響を及ぼさないため除外された。成長ホルモン、摂食量の減少や亜鉛欠乏が果たす役割も除外された。マウスでは TCDD への感受性は遺伝的に決定されることが立証されている。すなわち、アリル炭化水素水酸化酵素活性を誘発する細胞質性受容体タンパク質をコードしている遺伝子座によって感受性が異なる。AhR は TCDD に高い親和性を有し、マウス(応答する系統)の胸腺およびラットの胸腺に、この受容体が多くみられる。胸腺萎縮症は AhR を介するため、TCDD 同族体の毒性等価指数の決定にこの応答が用いられてきた (Safe, 1990; Vos et al., 1997/98)。さらに、やはり AhR を介する胸腺依存性体液性免疫応答である、ヒツジ赤血球に対する脾ブランク形成細胞応答も、同様の目的で用いられている。

骨髄前胸腺細胞もまた TCDD が誘発する胸腺毒性の標的であるとされているが、胸腺への TCDD の影響は上皮細胞への作用を介していると思われる (De Waal et al., 1997)。上皮細胞への影響による胸腺萎縮は、*in vitro* のマウスおよびヒト上皮細胞培養試験および *in vivo* のデータからも指摘されている。胸腺細胞は、上皮細胞と共培養するとリンパ球が増大するが、TCDD で前処理した上皮細胞ではあまり増大しない。さらに、ヒトの胸腺は応答性が高い系のマウスの細胞と同程度の感受性で TCDD の毒性の標的となるため、この研究は、マウスのデータをヒトのリスク評価に適用できることを示している。第二の議論は、TCDD 応答性 C57Bl/6 系統と TCDD 抵抗性 DBA/2 系統マウスの放射線キメラでは、TCDD が誘発する細胞毒性 T リンパ球活性の抑制は、ドナー(骨髄すなわち後の胸腺細胞)によってではなくホスト(上皮細胞)によって決定されていることから提起される。第三に、TCDD はラットの胸腺上皮細胞に作用し、上皮細胞の凝集を引き起こし、異常上皮細胞を出現させ、皮質上皮をさらに分化させることがわかった。最後に、5.4.2.2.1 で述べたように、ミズーリ州で TCDD に暴露された住民の調査から、TCDD 暴露と胸腺上皮のホルモン分泌活性との関連性が示唆された。すなわち、TCDD による胸腺萎縮は、上皮細胞が T 細胞の成熟と分化の誘導に必要な支援を与えられないために起こると説明できる。

胸腺上皮細胞への影響とは別に、TCDD がラットの胸腺細胞に直接作用することが *in vitro* 試験で認められ、カルシウム依存性エンドヌクレアーゼを介した DNA 断片化および細胞死(アポトーシス)が起きる。しかし、TCDD によって著しい胸腺萎縮が誘発された *in vivo* 試験から、アポトーシスは *in vivo* での胸腺細胞減少のメカニズムとしてももっとも可能性が高いわけではないように思われる。また、TCDD が骨髄幹細胞へ直接作用するとの説も出され、それは、TCDD 処理されたドナーの骨髄細胞は放射線照射されたホストの胸腺に定着する能力が減退していることから実証された。TCDD は、胸腺への作用とそれによる胸腺依存性免疫への影響に加えて、胸腺非依存性抗原に対する抗体反応の抑制で明らかのように、B リンパ球にも影響する。より高濃度で起こる抑制にも AhR が介在しているようだ。

前述の研究から、TCDD および関連化合物は免疫、特に胸腺依存性免疫に何らかの変化を引き起こすと結論できる。事故によって中毒が生じた台湾油症および日本での油症では、感染症の発生率の上昇を伴う免疫抑制が明らかにみられる。職業暴露後では、成人作業員のヘルパー T 細胞の機能が対照群に比較して低下したとする研究が 1 件あるのみである。オランダの PCB / ダイオキシン研究の結果からも、バックグラウンド濃度がヒトの胎児および新生児の免疫系に影響を与えていることが示唆されるが、この知見の機能的意義をはっきりさせる必要がある。ヒトでの知見は、発達中の免疫系の感受性も含めて実験動物の知見と質的には関連があり、実験動物での研究がヒトにも当てはまることを示している。しかし、免疫パラメータを調査した人では、これら汚染物質の混

化合物の暴露データが欠けている場合が多く、また、TCDD 毒性の種間での相違が大きいことなどから、これらの化学物質がヒト免疫系に及ぼす影響の可能性を定量的に評価することは難しい。この点に関連したデータとしては、ヒトとマウス由来の細胞が同程度の感受性をもつことを示した上述の胸腺上皮培養細胞を用いた研究がある。TCDD に対するヒト胸腺の相対的な感受性を調査した De Heer ら(1995)の研究では、ヒトの胸腺と Wistar ラットの胸腺で TCDD に対する感受性が同程度あることが示された。また、ヒトの免疫系は、マーモセットのような極めて感受性の高い動物種ほどには TCDD の免疫毒性の影響を受けやすいことが示唆されているが、Golden ら(1998)の結論も同様である。実験動物への TCDD の一般的な有害影響について言えば、成長後および発育期の免疫毒性への影響が、発育期の神経(認知)行動への影響、発育期の生殖器官への影響(精子数、雌の泌尿生殖器系奇形)、およびホルモンへの影響(子宮内膜症)とならび、体内負荷的にもっとも感受性の高いエンドポイントであった(Van Leeuwen et al., 2000)。

5.3.4 免疫系についての結論と勧告

免疫毒性のある多数の化合物のうち、内分泌かく乱メカニズムによって免疫毒性を引き起こす物質はわずかである。これらの中には、エストロゲン受容体に強力に結合する DES や、AhR と結合する PCBs、PCDFs、PCDDs などがある。DES は、子宮内暴露の結果免疫系に軽度の変化をもたらすことが知られており、免疫調節に問題を起こす可能性がある。DES の免疫毒性は薬理作用を示す濃度でみられることから、弱いエストロゲンに対する低濃度暴露で常に免疫毒性が現れるかどうかという疑問がある。メトキシクロルが免疫系へ作用しないことからこの説が支持される。PCBs、PCDFs、PCDDs は、暴露事故、職業暴露、あるいは一般住民暴露によって免疫系のパラメータを変化させることが報告されている。特に一般住民暴露については、胎児や新生児の免疫系がバックグラウンド暴露により受ける可能性がある影響と関連していることから、さらなる研究が必要である。ヒトでの DES、PCBs、PCDFs、PCDDs について報告されたデータは、実験動物での研究と矛盾するものではない。免疫毒性を有する化学物質の大半で、その作用機序が不明であるため、内分泌を介した免疫毒性をはじめとする研究など、今後の研究が求められる。

5.4 がん

5.4.1 緒言

ある種のがんの発生率が先進工業国の多くの地域において上昇していることは、一般住民における EDCs への暴露の広がりがヒトの健康に悪影響を及ぼしてきたことを示す証拠として引き合いに出されることが多い。特に関心が高いのは、ヨーロッパや北米での乳房、子宮、前立腺、精巣などホルモン感受性が高い部位でのがん発生率の上昇である。診断技術の向上だけではこの理由の説明は不可能であり、この傾向が、工業化学製品の使用および環境への放出の増加とほとんど時期を同じくしてい

ると言われている。さらに、ヒトおよび実験動物モデルによる研究で、これらのがんがホルモン環境に依存する、あるいは影響を受けることが明らかになっていることから、こうした関心は妥当性のある作用機序を踏まえたものともいえる。多段階発がんモデル(Russo and Russo, 1996)によれば、化学物質は発がんイニシエーター、あるいは発がんプロモーター、あるいはその両方として作用すると考えられている。このような状況において、エストロゲン作用のある EDCs は、通常発がんプロモーターと見なされる。

本章では、環境中に見出される EDCs と、乳房、子宮、前立腺、精巣、甲状腺がんのリスクとの間に想定される関係についてのヒトのデータに焦点をあてる。これらのがんの生物学的基礎およびホルモンが発症に果たす役割は極めて複雑であり、本総説の範囲を超えるものである。個々のがんの発生部位に関する既知のリスク因子について簡潔に述べ、ホルモン系の変化を起こしうる因子に重点を置く。本章では、ヒトでのデータと動物及び実験発がん試験モデルでのデータを総合した考察も行っている。

5.4.2 乳がん

5.4.2.1 ヒトのデータ

5.4.2.1.1 発生率およびリスク因子 乳がんの発生率は、1940 年代から 1990 年代にかけて多くの工業国で着実に上昇しつづけており、特に西ヨーロッパおよび北米でもっとも高いリスクが見られる。上昇の一因にはスクリーニングの普及もある。相対頻度は、国により 5 倍もの開きがある。地球規模でみると、最も発生率が低いのはアジアの国々で、高いのは米国と北欧である(Kelsey and Berstein, 1996)。日本および中国における乳がんの発生率は米国の半分である(Coleman et al., 1993)。女性が他の国に移住すると、乳がん発生率は 2 あるいは 3 世代のうちに移住先の国の発生率に近づくことから、いくつかの環境要因あるいは生活による要因が少しずつ影響していることが示唆される(Stanford et al., 1995)。

ヒトを対象とした詳細な研究から、乳癌の発生にエストロゲンが関与することが示されているが、すべて内因性エストロゲンへの生涯にわたる暴露の増大と関連している(Hulka and Stark, 1995)。これらには、早い初経や遅い閉経、出産しないこと、末梢脂肪組織でアンドロゲンがエストロゲンに変換されやすくなる閉経後の肥満(Siiteri, 1987)、活性 E₂ 量を増やすアルコール飲料の摂取(Reichman et al., 1993)などが含まれる。他方、若い時に卵巣摘出すると自然閉経した場合に比べて乳がんのリスクは著しく低下するが、このような現象は他の一般的ながんにはみられない(Toniolo et al., 1995)。アジアに居住するアジア系女性の乳がんのリスクが低いのは、米国および英国の女性と比較して血清エストロゲン濃度が 40% 低いことと切り離しては考えられない(Key et al., 1990)。

妊娠回数の減少や高齢妊娠など、過去 50 年に渡る生殖パターンの変化が、現代女性のエストロゲンサージ(大量分泌)の回数を著しく増加させ、そのために乳がんのリスクが上昇していることが示唆されている。内因性の

エストロゲン発生源に加えて、薬理的HRTやホルモン系の避妊薬が現在では多く使用されている。しかし、外因性ホルモンの場合は、HRTでも経口避妊薬でも、使用されたエストロゲンの種類や用量、どんな種類の黄体ホルモン作用薬の拮抗剤を併用したかなどが全てリスクに関連するため、問題は複雑であると認識しておく必要がある。

遺伝的要因も重要である。多くの遺伝子(BRCA1、BRCA2など)が乳がんのリスク上昇に関与するとされている(Miki et al., 1994; Lancaster et al., 1996; Li et al., 1997)。リスクをもつ遺伝子型の保有率には大きなばらつきがあり、人種差、地域差が乳がんリスクに直接関係している可能性がある。乳がん感受性遺伝子変異を持つ高リスクの女性を対象にして、EDCsの影響を調べる集団ベースの研究が始まったところである(Ursin et al., 1997; Jernstrom et al., 1999; Brunet et al., 1998)。こうしたことから乳がんホルモン活性との関連が支持される。

米国国家毒性計画(NTP)は、エストロゲンを「ヒトに発がん性を示す可能性がある化学物質」のリストに追加すべきであると勧告している。IARC(1999)は、経口避妊薬と閉経後のHRTについての研究を以下のようにまとめ、「現在および最近の経口避妊薬服用者においては乳がんの相対危険度が微増するが、服用中止後10年たつとリスク増加はない」との結論を出している。エストロゲン/プロゲステロン混合HRTの長期(5年以上)使用に関するデータをまとめて解析すると、この混合療法は乳がんのリスクを増加させることが示唆されるが(Schairer et al., 2000)、そのデータの解釈は難しい。医師と患者は、HRT、避妊薬あるいは選択的ER調節物質(タモキシフェンなど)のリスクと利益を比較検討しなければならない。混合経口避妊薬の使用で、子宮内膜がんおよび卵巣がんのリスクは約50%低下し、その効果は使用を中止してから少なくとも10年間は持続する。タモキシフェンを使用すると乳がんのリスクを低下させるが、子宮がんのリスクは上昇する(van Leeuwen et al., 1994)。

5.4.2.1.2 植物エストロゲン 食事の内容も乳がんのリスクに関係する要因であることが知られている(Willett, 2001)。食品成分で注目されているのは、植物エストロゲンである。植物エストロゲン、特に大豆製品は西欧にくらべてアジアで多く摂取されており(Messina et al., 1994)、がん予防物質あるいはHRT代用品と宣伝されている。例えば、ヒト乳腺上皮細胞(MCF-7)を用いた*in vitro*研究では、ゲニステイン処理はベンゾ[a]ピレンが誘発する細胞増殖を阻害し、p53を介する経路でアポトーシス誘発を有意に増加させることが認められた。しかし、ゲニステインは、低濃度ではエストロゲン依存性のMCF-7細胞、およびエストロゲン非依存性のヒト乳がん細胞MDA-468に対して細胞増殖阻害剤として働くのに対し、高濃度ではMCF-7細胞に対してエストロゲン作用薬として作用する(Helferich et al., 1998)。他の研究では、腫瘍細胞の種類、使用された植物エストロゲンの用量、暴露時期、種類によって増殖促進あるいは増殖抑制の両

方の作用を示す(Aldercreutz and Mazur, 1997)。これは、植物エストロゲンが、ER経路あるいは受容体を經由しない複数の作用メカニズムを持ち、さらにゲニステインなどの化学物質は、エストロゲン活性および抗エストロゲン活性を併せもつためであろう(第3章参照)。植物エストロゲンを多く含む食品は、乳がんなどの疾患に対し抑制あるいは促進両方の効果を発揮するという複雑な作用をもつかどうかという問題を提起している。またそれは腫瘍のエストロゲン依存性にもよる。

ヒトでも実験動物でも、大豆製品の大量摂取によって、乳がん発生のリスクが低下するという間接的な根拠が得られている(Barnes, 1997)。しかし、その根拠には矛盾もある。閉経前の女性に大豆を摂取させると乳がん細胞の増殖亢進がみられる(Petrakis et al., 1996; McMichael-Phillips et al., 1998)。しかし、これらの研究には交絡因子が含まれる可能性がある。大豆摂取と乳がんリスクの関連についての疫学研究の結果にも矛盾がみられる。シンガポール人女性を対象にした研究では、大豆製品の大量摂取は閉経前女性の乳がんリスクの低下と相関したが、閉経後女性では相関はなかった(Lee et al., 1991)。血中および尿中植物エストロゲン濃度が西洋諸国の女性より高い日本人およびオーストラリア人女性では、乳がんのリスクが低かった(Hirohata et al., 1985)。しかし上海で行った同様の研究では、乳がん患者と対照群との間で大豆タンパク質摂取量に有意差は認められなかった(Yuan et al., 1995)。他の4件の研究でも、大豆摂取と乳がんリスクの低下との関連性は認められなかった(Hirohata et al., 1985; Messina et al., 1994; Yuan et al., 1995)。現在入手し得る研究のメタ解析から、大豆の大量摂取は閉経前の乳がん発症リスクを低下させる可能性があるが、閉経後の乳がんリスクには効果はないことがわかった(Trock et al., 2000)。このようなことから、乳がんに関して、植物エストロゲンの効果を宣伝するには注意が必要である(Bouker and Hilakivi-Clarke, 2000)。

5.4.2.1.3 有機塩素系化合物 乳がんは、明らかにホルモンに関係した疾患であるが、内因性エストロゲンへの生涯暴露による寄与率は全乳がん症例の30~50%に過ぎない(Pike et al., 1993)。原因がわからない乳がんが大半を占めることや、発生率の地域差が大きいことから、環境中暴露の可能性、特にEDCs暴露が果たす役割に関心が向けられるようになった。環境中のEDCsとヒトの乳がんを関連付けるデータの大半は、世界中でヒトの組織、血液、母乳中に検出された残留性有機塩素系化合物に限られる(Adami et al., 1995)。1980年代半ばから、有機塩素系化合物暴露と乳がんとの関連の可能性について多くの症例対照研究がなされてきた。これらの研究については他に包括的解説があるので(Adami et al., 1995; Houghton and Ritter, 1995; NRC, 1999)、ここでは簡単に述べるに留める。1990年以降発表された研究を表5.11にまとめた。表5.11に引用した研究は、症例数、暴露量、暴露期間などが大幅に異なっている。暴露量の詳細については、個々の参考文献を参照されたい。

表5.11 特定EDCsと乳がんの研究についてのまとめ

参考文献 生体試料	調査地	調査方法 症例値/対照値	症例対照におけるオッズ比(95% CI)あるいは平均値差(ρ値)				
			p/p'-DDE	PCBs	-HCH	HCB	Dieldrin
Laden et al., 2000b, 2000a 血清	米国11州	同一集団症例対照 381/381	高対低五分位値 0.82 (0.49-1.37)	高対低五分位値 総PCBs 0.84 (0.4-7.3)			
Wolff et al., 2000a, 2000b 血清	米国 ニューヨーク市	同一集団症例対照 110/213	高対低四分位値 1.30 (0.51-3.35)	高対低四分位値 Total PCBs 2.02 (0.76-5.37)			
Hoyer et al., 2000 血清	デンマーク コペンハーゲン	同一集団症例対照 155/274	高対低四分位値 1.4 (0.7-2.8)	高対低四分位値 1.6 (0.8-3.3)	高対低五分位値 1.2 (0.5-3.0)		
Ward et al., 2000 血清	ノルウェー	同一集団症例対照 150/150	高対低四分位値 1.2 (NI)	高対低四分位値 Total PCBs 0.5 (NI)			
Millikan et al., 2000 血清	米国 ノースカロライナ州	症例対照 292/270 (アフリカ系アメリカ人)	高対低三分位値 1.41 (0.87-2.29)	高対低三分位値 1.74 (1.0-3.01)			
		456/389 (白人)	高対低三分位値 0.98 (0.67-1.43)	高対低三分位値 1.03 (0.68-1.56)			
Demers et al., 2000 血清	カナダ ケベック	症例対照 315/307 (一般住民)	高対低五分位値 1.00 (0.60-1.67)	高対低三分位値 PBC 153 1.28 (0.79-2.19)	高対低三分位値 0.80 (0.47-1.35)		
		症例対照 315/219 (入院患者)	高対低五分位値 1.36 (0.71-2.63)	高対低四分位値 PBC 153 1.07 (0.54-2.12)	高対低三分位値 0.83 (0.43-1.61)		
Wolff et al., 2000a, 2000b 血清	米国 ニューヨーク市	症例対照 151/317	高対低三分位値 0.93 (0.56-1.5)	高対低三分位値 高PCBs: 0.78 (0.45-1.13) 低PCBs: 0.96 (0.53-1.17)			
Stellman et al., 2000 脂肪組織	米国 ニューヨーク州	症例対照 232/323	高対低三分位値 0.74 (0.44-1.25)	高対低三分位値 PCB (14同族体合計) 1.01 (0.60-1.69)			
Aronson et al., 2000 脂肪組織	カナダ オンタリオ州	症例対照 217/213	高対低四分位値 1.62 (0.84-3.11)	高対低四分位値 Aroclor 1260 1.15 (0.58-2.25)	高対低四分位値 0.69 (0.34-1.40)	高対低四分位値 1.15 (0.57-2.34)	
Zheng et al., 2000 脂肪組織	米国 コネチカット州	症例対照 304/186	高対低四分位値 0.9 (0.5-1.5)				
Romieu et al., 2000 血清	メキシコシティー	症例対照 120/126	高対低四分位値 3.81 (1.14-12.80) 傾向のp = 0.02				
Bagga et al., 2000 脂肪組織	米国 カリフォルニア州	症例対照 73/73	DDE単位当たり 1.12 (0.79-1.6)				
Dorgan et al., 1999 血清	米国 ミズーリ州	同一集団症例対照 105/207	高対低四分位値 0.8 (0.4-1.5)	PCB 118: 高対低四分位値 2.7年以内の診断: 1.4 (0.6-3.2) 2.7年より後の診断: 0.9 (0.4-2.4) PCB 138: 高対低三分位値 2.7年以内の診断: 1.9 (0.8-4.8): 傾向のp=0.07 2.7年より後の診断: 0.73 (0.3-1.6) 傾向のp=0.07	高対低四分位値 0.6 (0.3-1.3)	高対低三分位値 2.7年以内の診断: 2.6 (1.1-6.2) 傾向のp=0.07 2.7年より後の診断: 0.6 (0.2-1.7)	高対低四分位値 0.7 (0.3-1.3)
Helzlsouer et al., 1999 血清	米国 ワシントン州	同一集団症例対照 235/235 (1974) 105/105 (1989)	高対低五分位値 0.10(0.40-1.32) 0.58 (0.29-1.17)	高対低四分位値 Total PCBs (1974) 1.13 (0.59-2.15) 高対低三分位値 Total PCBs(1989) 1.10 (0.38-1.51)			
Dello Iacova et al., 1999 血清	イタリア ナポリ	症例対照 170/195	高対低三分位値 1.24 (0.70-2.20)		平均差 0.27		
Mendonca et al., 1999 血清	ブラジル リオデジャネイロ	症例対照 177/350	高対低五分位値 0.83 (0.4-1.6)				
Hoyer et al., 1998 血清	デンマーク	同一集団症例対照 237/469	高対低四分位値 0.88 (0.56-1.37)	高対低四分位値 総 PCBs 1.11 (0.70-1.77)			高対低三分位値 2.05 (1.17-3.57) 傾向のp=0.01

(続)

表5.11 続き

参考文献 生体試料	調査地	調査方法 症例値/対照値	オッズ比(95% CI)あるいは症例対照平均差(ρ 値)				
			p,p' -DDE	PCBs	-HCH	HCB	Dieldrin
Moysich et al., 1998 血清	米国 ニューヨーク州 西部	症例対照 154/192	高対低三分位値 1.34 (0.71-2.55)	高対低三分位値 総 PCBs 1.13 (0.61-2.15) Selected PCBs 1.34 (0.72-2.47)		高対低三分位値 0.81 (0.43-1.53)	
Olaya-Contreras et al., 1998 血清	コロンビア ボゴタ	症例対照 153/153	高対低四分位値 1.95 (1.10-3.52)				
Hunter et al., 1997 血清	米国 ボストン	同一集団症例対照 236/236	高対低五分位値 0.72 (0.37-1.40)	高対低五分位値 総 PCBs 0.66 (0.32-1.37)			
van't Veer et al., 1997 脂肪組織	ドイツ オランダ 北アイルランド スイス スペイン	症例対照 265/341	高対低五分位値 0.48 (0.25-0.95) 傾向の $p=0.02$				
Lopez-Carrillo et al., 1997 血清	メキシコシティー	症例対照 139/139	高対低三分位値 0.76 (0.41-1.42)				
Krieger et al., 1994 血清	米国 カリフォルニア州	同一集団症例対照 150/150	高対低三分位値 1.33 (0.68-2.62)	高対低三分位値 総 PCBs 0.94 (0.48-1.84)			
Wolff et al., 1993 血清	二米国 ニューヨーク州 ニューヨーク市	同一集団症例対照 58/171	高対低五分位値 3.68 (1.01-13.5) 傾向の $p=0.04$	高対低五分位値 総 PCBs 4.35 (0.9-20.0)			
Stellman et al., 2000 脂肪組織	米国 ニューヨーク州 ニューヨーク市	不完全症例対照 5/5	平均差 219	平均差 100	平均差 2.4	平均差 6.1	
Liljegren et al., 1998 脂肪組織	スウェーデン	不完全症例対照 43/35	高対低三分位値 0.4 (0.1-1.2)	高対低三分位値 総 PCBs 0.7 (0.1-2.4)		高対低五分位値 1.3 (0.3-4.5)	
Guttes et al., 1998 脂肪組織	ドイツ	症例対照 45/20	平均差 62 ($\rho=0.01$)	平均差 PCB 118 = 25 ($\rho=0.04$) PCB 153 = 24 ($\rho=0.08$)	平均差 -18 ($\rho=0.36$)	平均差 18 ($\rho=0.40$)	
Schechter et al., 1997 血清	ベトナム	不完全症例対照 21/21	高対低三分位値 1.14 (0.23-5.68)				
Sutherland et al., 1996 血清	米国 サウスカロライナ州	不完全症例対照 20/17	平均差 ER+ 1,366.9 ($\rho=0.01$) ER- 156.4 ($\rho=0.63$)	平均差 PCB 99 = 10.2 ($\rho=0.05$)			
Dewailly et al., 1994 血清	カナダ ケベック州	不完全症例対照 20/17	平均差 ER+ 1,366.9 ($\rho=0.01$) ER- -156.4 ($\rho=0.63$)	平均差 総 PCB ER+ 7.7 ($\rho=0.79$) ER- -65.5 ($\rho=0.39$)	平均差 ER+ 0 ($\rho=0.77$) ER- 5 ($\rho=0.92$)	平均差 ER+ 8.3 ($\rho=0.29$) ER- -2.3 ($\rho=0.53$)	
Falck et al., 1992 脂肪組織	米国 コネチカット州	不完全症例対照 20/20	平均差 703 ($p=0.04$)	平均差 総PCB 570 ($\rho=0.02$)			
Mussalo-Rauhamaa et al., 1990 脂肪組織	フィンランド	不完全症例対照 44/33	平均差 0.02 ($p=0.87$)	平均差 Total PCBs 0.25 ($\rho=0.17$)			
Unger et al., 1984 脂肪組織	デンマーク	不完全症例対照 18/35 (剖検) 14/21 (生検)	平均差 NI (剖検) 0.02 (生検)	平均差 1.35 (剖検) -0.04 (生検)			
Wasserman et al., 1976 脂肪組織	ブラジル サンパウロ	不完全症例対照 9/5	平均差 -3.95	平均差 6.15 ($p<0.01$)	平均差 0.22		平均差 0.616

NI: 情報なし

DDT DDTの主な二つの代謝物である p,p' -DDE および o,p -DDT は、職業暴露歴がない人や長年 DDT が使われていない地域に住む人の血清、脂肪組織、母乳中で確認されている。そのため、食品を介した長期にわたる DDT への暴露、ひいては乳がんなどのエストロゲン依存性腫瘍発生リスクの上昇の可能性についての懸念がもたらされている。

DDT への非職業的暴露と女性の乳がんとの関連を考

察した研究がおよそ 34 件発表されている(表 5.11)。Wolff らが DDT 暴露と乳がんを関連付けた最初の研究を発表した 1993 年までは、手がかりになるのは 4 件の非常に小規模で不完全な症例対照研究だけであり(Wasserman et al., 1976; Unger et al., 1984; Mussalo-Rauhamaa et al., 1990; Falck et al., 1992)、研究計画の不備のためその結果を一貫した方法で解釈することができなかった。最近になって、9 件の前向き症例対照研究がなされたが、DDT、

より厳密には p,p' -DDE が乳がんのリスクを上昇させることを示すには至らなかった(Laden et al., 2001a, 2001b; Ward et al., 2000; Wolff et al., 2000a, 2000b; Hoyer et al., 1998, 2000; Dorgan et al., 1999; Helzlsouer et al., 1999; Hunter et al., 1997; Krieger et al., 1994)。さらに、閉経後女性(乳がんは、よりエストロゲン依存性の傾向がある)を対象にした2件の後ろ向き症例対照研究(vant Veer et al., 1997; Moysich et al., 1998)、および10件の閉経前および閉経後の女性を対象にした後ろ向き症例対照研究(Millikan et al., 2000; Demers et al., 2000; Stellman et al., 2000; Aronson et al., 2000; Wolff et al., 2000a, 2000b; Zheng et al., 1999; Bagga et al., 2000; Mendonca et al., 1999; Dello Iacovo et al., 1999; López-Carrillo et al., 1997)でも DDT 暴露に関連した乳がんのリスクの上昇はみられず、関連性がみられた2件の研究(Romieu et al., 2000; Olaya-Contreras et al., 1998)とは対照的であった。最近の米国での5つの研究を合わせた解析研究では、 p,p' -DDE と乳がんリスクに相関は認められなかった(Laden et al., 2001a, 2001b)。

最近発表された疫学研究のほとんどでは、DDT 暴露と乳がんの関連で混乱を招くような方法論上の問題は適切に処理されている。一般に、授乳は体内に蓄積された DDT を放出する方法の一つで、乳がんに対する予防因子であるとされているため(Zheng et al., 1999)、授乳歴は統計的分析の交絡因子として考慮されている。最近の大半の研究では、血清 DDE 濃度の推定値の精度を高めるため、血清中脂質濃度の補正がなされており、結果の再現性が高まると共に、偶然誤差が小さくなっている。また、閉経後に発症しやすいエストロゲン依存性腫瘍の確認に的をしぼるために、閉経期の状態を層別化する、あるいは閉経後の乳がんに限定するなどの方法もとられている。

もう一つの懸念は、DDE が乳がんに対して閾値効果をもつ可能性である。閾値効果があるとすれば、血清中で 20,667ng を超える DDE 濃度になる量の DDT に暴露された集団からは、乳がんの発症が予想される。この濃度はこれまでに非職業暴露集団において報告された最高暴露濃度である(Dorgan et al., 1999)。しかし、DDT に大量に暴露された作業員において、DDT と乳がんとの関連性の根拠は見出されていない(Cocco et al., 1997)。

PCBs PCB 暴露と乳がんとの関連性についての研究の多くは職業暴露を取りあげているが、正の相関は認められていない(Adami et al., 1995; Houghton and Ritter, 1995; NRC, 1999)。低濃度の PCBs に暴露した一般集団を対象とした研究では、一見するとオッズ比の大きさから何らかの影響があるかに見えるが、統計学的に有意な乳がんリスク上昇は全く認められていない。PCBs は同族体からなる混合物で、エストロゲン活性化合物および抗エストロゲン活性化合物のいずれも含んでいるため、表 5.11 にまとめた研究を評価するのは難しい。数種類の個別同族体濃度(PCB 118, PCB 138 など)に焦点を当てた研究もあれば(Dorgan et al., 1999; Aronson et al., 2000)、エストロゲン活性の強さ(Sturgeon et al., 1998)や、塩素の結合した炭素の割合 (Moysich et al., 1998)に準じて、最も重要な同族体ピークを合計した研究もある。

さらに、特定同族体、あるいは曲線下全面積を合計し、その値を総 PCBs 量とみなすこともある(Hoyer et al., 1998; Hunter et al., 1997; Krieger et al., 1994; Wolff et al., 1993; Moysich et al., 1998; Zheng et al., 1999)。全体として、これらのデータは、PCB 暴露と乳がんリスク上昇との関連性を支持しない。

ディルドリン、HCB と β ヘキサクロロシクロヘキサン 乳がんディルドリン、HCB、 β ヘキサクロロシクロヘキサン暴露との関連性については限られたデータしかない(表 5.11)。268 例の症例を含むデンマーク人女性 7,712 人のコホート研究では、血漿中ディルドリン濃度の最も高い女性に乳がんリスクの二倍の上昇が見出された(Hoyer et al., 1998)。ディルドリンとの相関は用量依存性も示した。測定された他の 45 種の化学物質(内 28 種は PCBs 同族体)と乳がんリスクの間には相関は認められず、内分泌メカニズムも示されなかった。

ある前向き症例対照研究での 9.5 年にわたる追跡調査では、HCB 暴露は、米国人女性の乳がんのリスクを 2 倍にしたが、それは検査のための血液採取と乳がんの診断が時期的に近い場合に限定されており、採取と診断時が離れている場合には関連性は認められなかった(Dorgan et al., 1999)。

TCDD と PBBs 工業的化学汚染物質である TCDD および工業用 PBB 化合物の暴露事故あるいは職業暴露についても、乳がんリスクの増加に関連して調査された。ミシガン州で PBBs 暴露した女性を対象とした 2 つの研究からは、はっきりしない結果が得られている(Henderson et al., 1995; Sinks et al., 1996)。イタリアのセブソで TCDD 暴露された女性の乳がんのリスクは低下していたが、症例数は極めて少ない(Bertazzi et al., 1993)。また、2 つの職業性 TCDD 暴露の研究でも結果ははっきりしない(Manz et al., 1991; Kogevinas et al., 1994)。

5.4.2.1.4 暴露の時期 第 2 章で述べたように、生涯における暴露時期は、EDCs と乳がんあるいはその他の健康影響との用量 反応関係を決定するのに非常に重要である。乳腺は多段階に発達する。胎児期における乳腺原基の発生は、男女とも組織間の相互作用によって支配される。女性では、思春期に乳管の形態発生が盛んになり、妊娠によって乳腺は大きく分化する。このように周産期、および初経から最初の満期妊娠までが乳がんの発生および潜伏期に関して特に重要な時期である(Snedeker and Di Augustine, 1996)。思春期に発がん性化学物質に暴露された若い女性は、思春期がホルモンの変化によって乳房組織が急激に発達する感受性が高い時期であるため、将来乳がんが発生するリスクが上昇する可能性がある。この主張は、20 歳以前に被爆した女性で乳がんリスクが高いという原爆生存者女性を対象にしたデータから支持されている(Tokunaga et al., 1987)。同様に、小児期に医療目的で放射線照射を受けた女性でもリスクの上昇が認められた(Hildreth et al., 1989)。思春期の喫煙も将来の乳がん発生のリスクを上げる可能性がある(Palmer et al., 1991)。リスクの上昇は、女性の喫煙期間よりも喫煙開始年齢に依存している。

出生前後の期間も、暴露と将来の乳がんリスクに対して感受性の高い時期である。妊娠中に流産予防のためにDESを服用した女性では、服用30年後に乳がんになるリスクがわずかに上昇するとの研究がある(Colton and Greenberg, 1993)。最近の二つの女性コホートを組み合わせた解析では、DES暴露と乳がんのリスクには中程度の関連性が認められている(リスク比 1.27)(Titus-Ernstoff et al., 2001)。DESが卵巣がんや子宮内膜がん、あるいは他のがんのリスクと相関性を示す証拠は得られていない。DESに暴露された女性の娘の乳がんリスクに関するデータは、まだ得られていない。

35年の潜伏期を経た日本人女性の研究では、原爆投下時に4歳未満で被爆した女性群では、9倍の乳がんのリスクの上昇が認められた(Tokunaga et al., 1987)。移住者を対象とした研究からも、乳がんへの食事要因の影響は、幼年期から思春期がもっとも大きいことが示唆される(Lipworth, 1995)。

5.4.2.2 動物および実験データ 実験動物モデルは、化学物質暴露のための有用な手段であるとともに、ヒト疾患の妥当性に関連した乳がんの生物学上の特定の疑問に答える手段としても有用である(Russo and Russo, 1996)。しかし、乳腺腫瘍の発生には、種によって、さらに同一種でも系統によって著しい相違があるため、実験データの解釈には注意が必要である。

5.4.2.2.1 合成ホルモン、植物エストロゲン、その他のエストロゲン げっ歯類を用いた実験では、ホルモン処理は乳腺の形態や腫瘍の感受性を変化させ、またその観察される影響は用量依存的であることが明らかである。雌ビーグル犬を使った実験では、プロゲステロン暴露は乳腺上皮細胞過形成を誘発する(van Garderen et al., 1997)とともに、乳がんリスクも上昇させる可能性がある(Skegg, 1995)。げっ歯類、ネコ、サルを対象に酢酸メドロキシプロゲステロンを、単独投与あるいはエストロゲンと同時投与すると乳がん発生のリスクが上昇するという結果が得られた(Rutteman, 1992; Skegg, 1995)。タモキシフェンは様々な系統のラットで乳腺腫瘍を抑制することが知られている(Jordan, 1991; Kotoula et al., 1993; Menard et al., 2000)。

前述したように、植物エストロゲンには種々の内分泌調節影響や特性をもつ場合がある(Barnes, 1998a, 1998b)。動物実験でも、暴露時期は植物エストロゲンの作用を決定するのに重要な要素であるとのヒトでの結果が支持される。例えば、大豆製品中に含まれているイソフラボンは、一般的に乳がんのリスクを低下させると考えられてきた。9件の動物実験中7件で、大豆を加えた食餌を与えたラットでは、腫瘍発生数が少なかった(Barnes, 1997)。しかし、妊娠中にゲニステインを投与したラットでは、F₁世代の乳腺がん感受性が用量依存的に上昇した(Hilakivi-Clarke et al., 1999a, 1999b)。未成熟ラットにエストロゲン活性をもつビスフェノールAを皮下注射あるいは点滴すると乳腺の増殖がみられた(Colerangle and Roy, 1997)。

また実験モデルは、乳がんリスクに与える遺伝要因と環境暴露との相互作用を評価するためにも使える。乳がんに対する感受性の高いBRCA1およびBRCA2遺伝子のヘテロ接合体マウスを使った*in vivo*実験では、DESに26週間(乳管形成開始1週間前から開始)暴露すると、乳管の成長と分化が抑制され、DNA修復過程での障害が示唆された(Bennett et al., 2000)。

5.4.2.2.2 有機塩素系化合物および遺伝毒性物質 げっ歯類を用いた2年間のバイオアッセイによる化学物質評価は、ヒトにがんを引き起こす可能性が高い化学物質を特定する基礎となってきた(Huff et al., 1991a, 1991b)。しかし、これらの発がん性の検定では、乳腺のがん発生に影響を与えらると思われる妊娠期および授乳期の暴露は含まれない(Grubbs et al., 1985)。実験用げっ歯類の乳腺は腫瘍や新生物が発生しやすい部位であり、自然発生のほか、遺伝毒性物質によっても腫瘍が誘発される。乳腺腫瘍症には長い潜伏期間が必要で、さらにげっ歯類の系統による発生率が異なるため、ヒト疾患モデルとしての実用性には限界がある(Neumann et al., 1996)。ジメチルベンズ[a]アントラセンや3-メチルコラントレンなどの遺伝毒性物質は、げっ歯類に乳腺腫瘍を発生させるために一般的に使われる物質である。これらの発がん性化学物質は、多段階発がんモデルでは、イニシエーターとして作用すると考えられている(Russo and Russo, 1996)。このような遺伝毒性物質によるイニシエーションの後、ホルモン因子が腫瘍形成のプロモーターになるのかもしれない。疫学的研究では、これらの化学物質の多くは乳がんとの強い関連性は認められない。

ヒトの乳がんの発生には、有機塩素系化合物の関与が疑われているが、一般に動物ではこれらの化学物質は乳がんを誘発しない。DDT、その主要代謝物であるDDE、クロルデン、HCB、ベンゼンヘキサクロリド(リンデン)などの農薬、およびPCBs、PBBs、TCDDなどのハロゲン化ビフェニルが既に評価されている。DDTを除いて、これらの化学物質はすべて動物で乳がんを誘発しないが、他の部位のがんとの関係が確認されたものはある(Wolff et al., 1996)。

トリアジン系除草剤のアトラジン、ある系統のラットで乳腺腫瘍の成長を促進すると報告されているが、このメカニズムはヒト乳がんにはあてはまらない(第3章、3.13参照)。

5.4.2.3 乳がんについての結論と勧告 ヒト乳がんのリスク上昇に環境中のEDCsが関係するかどうかを判定するために多くの疫学研究が実施されてきたが、結論を出すに至っていない。全般的に、現時点での(ヒトおよび実験動物からの)科学的根拠は、環境中のEDCs暴露と乳がんのリスク上昇を直接結びつけるものではない。しかし、現在までに発表されている研究はすべて、成人女性のEDCs暴露濃度を測定したものである。ヒトの放射線照射と喫煙データ、およびモデル動物での基礎研究から、生涯において暴露される時期(誕生前、新生児期、小児期、あるいは思春期)がもっとも重要な要因であるとする説が

支持される。現時点で乳がん発症リスクのある成人女性は、有機塩素系の汚染レベルが今よりも高かった 1900 年代半ばに、子宮内で、あるいは幼児期、小児期、思春期に、外因性の EDCs に暴露されているかもしれない。暴露時期が果たす役割を解明するための研究が急務である。ヒトの前向き研究は複雑で、時間がかかり、経済的負担も大きいことから、研究者には、この重要問題を解決するための動物モデルを開発し応用すること、あるいは今後血清バンクを用いて後ろ向き追跡研究を実施することが望まれる。

乳がんは、遺伝的特徴、生活様式、食生活、内因性ホルモンの状況、環境要因など、多くの因子によって生じると考えられる。個々の遺伝的感受性因子によって調節されるこれら因子間の複雑な相互作用が、乳がんの発生につながるのかどうかについての研究が極めて重要である。これらの問題について、矛盾のない説得力あるデータが得られるまでは、乳がん発生における EDCs の役割は、激しい論争の種となり続けるであろう。

5.4.3 子宮内膜がん

5.4.3.1 ヒトでのデータ 子宮はホルモンの変化に対して極めて応答性が高い。子宮のがんは、乳がんと類似したホルモン性のリスク要因の傾向をもち、先進国でより多くみられる。子宮内膜がんの主要なリスク要因は拮抗薬を同時投与しないエストロゲンであるという明らかな証拠がある(IARC, 1999; Potischman et al., 1996)。しかし、子宮内膜がんが経時的に増える傾向は見られていない。

環境中 EDCs の子宮内膜がんへの影響に関する疫学的データは限られている。Sturgeon ら(1998)は、PCB 同族体 27 種、DDT 関連化合物 4 種、およびその他の有機塩素系化合物 13 種を調べたが、子宮内膜がんとの関連性を見出せなかった。いくつかの後ろ向き職業別コホート研究でも関連性は認められていない(Bertazzi et al., 1987; Brown, 1987; Sinks et al., 1996)。セベソの工場事故では、TCDD 暴露が子宮がんのリスクを低下させたように見えるが、症例は少ない(Bertazzi et al., 1993)。

イソフラボンを豊富に含む食品を摂っている日本人および米国人(ハワイ住民)の女性に子宮内膜がんの発生率が少ないことからわかるように、食物に含まれるイソフラボンが子宮内膜細胞増殖に対して抑制作用を示すという証拠も存在する。具体的には、大豆製品および他のマメ類の大量摂取は、4 群に分けた上位 1/4 において、下位 1/4 と比較した場合、子宮内膜がんリスクの低下との間に相関が認められた(傾向分析に対する危険率=0.01; OR, 0.46; CI, 0.26 ~ 0.83)。

5.4.3.2 実験および動物でのデータ 環境中化学物質について、*in vitro* 子宮内膜がん細胞モデル、あるいは *in vitro* の古典的の子宮肥大反応試験を用いてエストロゲン活性を測定した研究は多数ある(Klotz et al., 1997; Hunter et al., 1999)。ゲニステインやダイゼイン(Santell et al., 1997; Boetger-Tong, 1998)のような特定の植物エストロゲン、およびある種の環境中化学物質(メトキシクロル、

ノニルフェノール、ビスフェノール A など)はすべてげっ歯類の子宮肥大反応を誘発する(Odum et al., 1997; Ashby, 1998)。新生児マウスに生後 1 ~ 5 日に DES あるいは植物エストロゲンのゲニステインを投与すると、18 ヶ月までに子宮腺がんが誘発される(Newbold et al., 2001)。しかしその他の研究では、大豆イソフラボンが E₂ によるアカゲザルの子宮内膜細胞増殖を抑制することが示されており(Cline and Foth, 1998)、上述したヒトでの研究結果と一致している。植物エストロゲンはエストロゲン活性と抗エストロゲン活性の両方の作用を併せもつため、この結果は驚くにはあたらぬ(Whitten and Patisaul, 2001)。

しかし、第 3 章で述べたように、これらの化学物質の長期低用量暴露により新生物が発生するかどうかについてのデータはほとんどない。ラットにトキサフェン(Reuber, 1979)やメトキシクロル(Reuber, 1980)を長期間暴露すると子宮過形成が誘発される。抗アンドロゲン性除草剤(アトラジンおよびピンクロゾリン)の高濃度暴露では、ラットの子宮腺がんの発生率が上昇した(IARC, 1991; Mellert, 1995)。

他のがんの場合と同様に、子宮がんの発生においても暴露時期が非常に重要である。発生期マウスの DES 暴露は子宮に新生物を発生させるが、成熟マウスの DES 暴露は同レベルであっても子宮に新生物を誘発しない(Newbold et al., 1991)。

5.4.3.3 子宮内膜がんについての結論と勧告 子宮内膜組織は、抗エストロゲン活性およびエストロゲン活性をもつ化学物質への反応性が非常に高いため、EDC 作用に対する高感受性標的組織である。しかし現時点では、限られたヒトのデータも動物実験の結果も有機塩素系化合物への暴露と子宮内膜がんとの関連を支持するものではない。

5.4.4 精巣がん

5.4.4.1 ヒトでのデータ 精巣がんは 25 ~ 34 歳の若い男性に最も多発する悪性腫瘍である(Adami et al., 1994)。若年男性が発症する精巣がんの大部分は、生殖細胞に由来する精上皮腫であるため、若年期の暴露が関係している可能性がある。Toppari ら(1995)は、先進国における 50 歳以下の男性の精巣がんの発生率は、1960 年代から毎年 2 ~ 4 % の割合で上昇していると推定しているが、長期のがん登録歴を持つ国で記録を遡ると、1920 年頃に上昇傾向が始まっていることが判明した(Bergstrom et al., 1996)。精巣がんの発生率には、国や人種によって顕著な相違がある。デンマークの発生率は近隣国フィンランドのほぼ 4 倍であり、このことは、フィンランドでの精子数の多さ、尿道下裂の発生率の低さおよび尿道下裂が経時的に増加していないことと符合している(本章 5.1.3.1 および 5.1.6.4 参照)。米国では、白人での発生率はアフリカ系アメリカ人のほぼ 3 倍である。停留精巣(本章 5.1.7 参照)は精巣がんのリスク因子として知られており、出生前に原因があることが示唆されている(Moss et al., 1986)。あるいは、出生後初期のエストロゲンないし抗アンドロ

ゲン様化学物質への暴露により変調をきたしている可能性を示唆する説もある(Bergstrom et al, 1996; Ekblom et al., 1996; Moller and Skakkebaek, 1999)。

母親が DES に暴露された経験をもつ男性で精巣がんが有意に増加したことを示す研究は 1 件もないが、公表されている研究のメタアナリシスによると、全般的な上昇は、統計学的に有意となるぎりぎりの約 2 倍である(Toppiari et al., 1996)。

環境 EDCs の血中濃度を測定した疫学研究は現在のところない。米国 22 州の白人男性において、精巣がんを予測するために、1968 年に採取されたヒト脂肪組織中の *p,p'*-DDE 濃度を用いて行った最近の回帰分析では、抗アンドロゲン活性のある DDE とおよそ 2~22 年後の精巣がんに関連性は認められなかった(Cocco and Benichou, 1998)。

5.4.4.2 実験データ ヒトで普通に見られる精巣がんである精上皮腫は、CIS と呼ばれる異型管内生殖細胞に引き続いて発生するが、これは実験動物ではめったに起こらない。数種の化学物質によってげっ歯類に誘発される精巣腫瘍は、ライデッヒ細胞腫である(Cook et al., 1999)。そのため、ヒトへのデータ外挿に適した実験動物モデルは最近まで存在しなかった。しかし最近、ヒト CIS 細胞に類似した異型生殖細胞が管状精上皮腫発症と関連して、停留精巣の雄馬(Veeramachaneni and Sawyer, 1998; Veeramachaneni, 2000)、および不妊ウサギ(Veeramachaneni and VandeWoude, 1999)で報告されている。その後の研究では、EDCs であるオクチルフェノール、*p,p'*-DDT/DDE、あるいはゼラノールに子宮内又は新生児期に暴露されたウサギにおいて、類似した CIS 病変が誘発されている(Veeramachaneni, 2000)。この処置では、停留精巣発症率は多様ながら、停留精巣および陰嚢内精巣の両方で CIS 様細胞が見られるが、外科的に誘発した停留精巣では CIS が生じないことから、生殖細胞の異型は化学物質の暴露によって誘発されるもので精巣の腹腔内停留によるものではないことが示される。ウサギの子宮内フタル酸ジブチル暴露でも、ラットにフタル酸エステルを投与した場合と同様に、停留精巣、性判別不明性器、尿道下裂、前立腺萎縮、尿道球腺の欠損が誘発された(Higuchi et al., 1999)(第 3 章参照)。停留精巣はヒトでの CIS のリスク因子であることが知られているため、これらの観察は当を得たものであり、ヒトにおけるこのタイプのがんのモデルにウサギを使うことが妥当であることを示している。

5.4.4.3 精巣がんについての結論と勧告 精巣がんのリスク要因は、アンドロゲン合成や作用の障害と関連する。動物実験からは、雄胎児が高濃度のエストロゲンに暴露されると精巣がんの発生リスクが増加する可能性があるというデータも、少ないながらもある。しかし、エストロゲン様および抗アンドロゲン様化合物(DDE など)暴露と精巣がんとの相関について検討した分析的疫学研究は発表されていない。さらに、ヒトの生殖細胞(精

巣)腫瘍のための有効な動物モデルは現在のところ存在しない。出生前後での EDCs 暴露の影響を調査するためにも、精巣がんの適切な動物モデル開発に向け、さらなる研究努力が必要である。データは限られているが、停留精巣や尿道下裂の発生率は、精巣がんの場合と同様の地域差を示すようである。精巣がん発症に関わる可能性がある環境要因(食物や職業暴露など)の役割は不明であり、解明が必要である。

精子の質の低下、停留精巣、精巣がんなどからなる精巣発育不全症候群が存在する可能性についても、考え得る共通病因に関する研究同様、データを得る努力が必要である。

5.4.5 前立腺がん

5.4.5.1 ヒトでのデータ 前立腺がんは、先進国の男性で診断数が増えつつも多岐にわたる(Parker et al., 1997)。年齢補正をした発生率が 1980 年代半ば以降突然上昇しているが、スクリーニングや診断のための検査の向上に負うところが大きいと考えられる。しかし、発生率および死亡率が長期にわたり上昇している理由は不明である。罹りやすさには人種差があり、アジアでは発生率が低く、白人はその 20~30 倍で、アフリカ系アメリカ人男性ではさらに高い(Crisp et al., 1998)。

前立腺がんの原因についてはほとんどわかっていないが、ホルモン依存性でありホルモン治療により調節できる(本章 5.1.6.5 参照)。日本に住む男性と米国に移住した日本人を対象としたいくつかの小規模な疫学研究では、大豆摂取が多いと前立腺がんのリスクが低下する傾向を示唆している(Morton et al., 1997)。前立腺がんと環境 EDCs 暴露とが関連する可能性を示す疫学調査のデータは限られているが、主に職業暴露からのものであり、全てで体内暴露に関する情報が欠けている。PCB に職業暴露された作業従事者を対象にした研究では、PCBs と前立腺がんとの関連性は認められていない(Bertazzi et al., 1987; Brown, 1987; Sinks et al., 1992)。イタリアのセブソでの TCDD 暴露事故後に、前立腺がんが有意に増加したとの報告はない(Bertazzi et al., 1993)。同様に、TCDD に暴露された労働者の国際登録に基づいたコホート研究でも、前立腺がんによる死亡率の上昇は認められていない(Saracci et al, 1991)。ドイツ(Becher et al., 1996)および米国(Fingerhut et al., 1991)での作業従事者を対象にした他の研究では、限られた症例数ではあるが、前立腺がんの死亡率が統計学的に有意ではない軽度の上昇を示した。脂肪組織(1998 年に採取した)中の DDE 濃度を用いた回帰分析でも、DDE と前立腺がんの死亡率との間に正の相関は認められなかった(Coco and Benichou, 1998)。カナダの農業従事者を対象にした、カナダ死亡統計データベースと連携した後ろ向きコホート疫学研究では、除草剤を散布した面積と前立腺がんによる死亡数との間に弱い統計学的に有意な相関が認められた(Morrison et al., 1993)。しかし、前立腺の腺がんの発症要因の一つとして、化学物質への暴露と内分泌かく乱作用の可能性を除外することはできない。

5.4.5.2 実験データ 前立腺がんの病因についての実験研究は、適切な研究用動物モデルが存在しないため進まなかった(Bosland, 1992)。げっ歯類がヒトのモデルとして妥当かどうか疑わしい。前立腺がんはヒトには頻発するのに対し、実験用のげっ歯類では希である。しかし、ラットの系統や投与量および投与期間によってはホルモン処置により、発症頻度を大きく上昇させることができる(Bosland, 1992)。イヌは前立腺がんになることがあるが、ヒトのモデルとしての妥当性についてはさらに研究が必要である。植物エストロゲンの前立腺がんに与える影響についての実験的研究はほとんどない。動物による3件の研究では、大豆に腫瘍発生を低減させる作用があることがわかった(Lee et al, 1991; Messina et al., 1994)。ゲニステインは、化学物質で誘発したラットの前立腺がんを抑制することが示されている(Pollard et al., 2000)。緑茶のポリフェノールであるEGCGは、ヌードマウスに移植したヒト前立腺がんや乳がんの大きさを急速に縮小させることが知られており、アジアの一部の国々でのこれらの腫瘍による死亡率が低いのは、緑茶を飲んでいるためであるとする仮説もある。最近の研究では、EGCGがAR遺伝子の転写を抑えることによりアンドロゲン作用を阻害する可能性が示されている(Ren et al., 2000)。2年間のバイオアッセイでは前立腺がんを誘発する化学物質はごくわずかしが同定されていない(Huff et al., 1991a, 1991b)。前立腺がんのためのトランスジェニックマウスモデルが開発され、ホルモン応答要素に関する研究や、化学物質が前立腺がんの多段階の進行に及ぼす影響に関する研究に利用されている(Gingrich et al., 1996)。これらのモデルを用いた研究から、今後、前立腺がんの病因についての情報が得られるであろう。

5.4.5.3 前立腺がんについての結論と勧告 実験データ(本章 5.1.6.5.1 参照)から、前立腺の発達あるいは前立腺がんが発生しやすい傾向は、周産期/出生後のエストロゲンおよび植物エストロゲン、そしておそらくアンドロゲンや AhRs への暴露によっても影響を受けることが知られている。数少ない前立腺がんの疫学的研究では、体液中又は組織中の暴露量を測定していない。PCB、TCDD、DDTの暴露研究では、前立腺がん増加との関連は示されなかった。除草剤や多環芳香族炭化水素への暴露は前立腺がんと関係があるとされるが、その根拠は希薄で、メカニズムも解明されておらず、更なる研究が必要である。前立腺がん発症に関わる他の環境要因(遺伝、食事、内分泌の状況など)の影響についてはほとんどわかっていない。

5.4.6 甲状腺がん

5.4.6.1 ヒトでのデータ 第3章と5.3項で述べたように、甲状腺は種々の内分泌機能、代謝機能、生理機能において極めて重要な役割を果たしている。甲状腺ホルモンは、成長および発達過程で特に重要であり、いくつかの環境中化学物質(ある種の PCBs など)は抗甲状腺作用を有することが知られている(Porterfield and Hendry, 1998)。また甲状腺ホルモンは、がんの発生過程にも関与してお

り、腫瘍の形成、進行、転移に影響を及ぼす(Guernsey and Fisher, 1990)。甲状腺がんはまれながんで、死に至ることはめったになく、女性の発生率は男性の2~3倍である(Landi et al., 1998)。北欧諸国における発生率がもっとも高い(Coleman et al., 1993)。臨牀的に明らかな疾患とは別に、剖検で、調べた50%以上に小さな潜在性甲状腺腫瘍が確認されている。ヒトの甲状腺がん誘発因子として知られているのは、X線と電離放射線だけである(NRC, 1990; Lomat et al., 1997)。ヨウ素が欠乏した地域に住む住民は、適切な量の甲状腺ホルモンを産生できず、甲状腺に過形成的病変が生じる。これらのヨウ素欠乏者に甲状腺がんの発生が多いかどうかについては、相反する結果が出ている(Galanti et al., 1995)。疫学研究では、甲状腺腫および甲状腺結節は甲状腺がんのリスク因子とされている(Ron et al., 1987)。グレーヴス病および橋本病は、甲状腺がんに先行して発症することが多く、がんの発症過程の一部である可能性がある。慢性甲状腺腫の患者に甲状腺がんを発生させるには、TSH受容体の持続的な刺激が重要であるという証拠もある(Shi et al., 1991)。ヒトの甲状腺に発がん作用をもつことが確認されている環境中化学物質は、今のところ知られていない。ヒトの甲状腺がんの病因はほとんど解明されておらず、限られた発生動向のデータが入手できるだけである。

5.4.6.2 実験データ げっ歯類とヒトとは、視床下部 脳下垂体 甲状腺フィードバック系が共通の生理機能を有しており、げっ歯類の化学的発がん性試験では、甲状腺は標的器官となりやすい(Huff et al., 1991a, 1991b)。農薬 240種の発がん性に関する総説では、少なくとも24種(10%)がげっ歯類に甲状腺濾胞細胞腫を発生させている(Hurley et al., 1998)。芳香族アミンなど他の化学物質とは異なり、農薬(おそらくアセトクロール以外の)による甲状腺がん発症には、変異原性は主要な決定要因ではないようである(Hill et al., 1989)。遺伝毒性をもたない物質の作用機序は、視床下部 脳下垂体 甲状腺軸の様々な混乱を介して起きる血清中の TSH 濃度の持続的上昇によると考えられる(Kanno et al., 1996)(3.5項参照)。甲状腺に対するもっとも強力な発がん物質は TPO 阻害剤であり、血清甲状腺ホルモン濃度を著しく低下させ、負のフィードバックにより下垂体からの TSH の過剰分泌を誘発する。極めて強い TPOs は、チオナミド(チオ尿素、エチレンチオ尿素、プロピルチオウラシルなど)やアミノトリアゾールである(Hill et al., 1989)。これらの物質が作用する過程でフリーラジカルが発生し、他の酵素を阻害し、タンパク質やおそらく DNA とも結合することも示されている(Krauss and Eling, 1987)。その他の化学物質(農薬のクロフェンテジン、フェンブコナゾール、ペンタクロロニトロベンゼンなど)は、肝での代謝や甲状腺ホルモンの分泌を促進しているようである。

TCDD、PCBs、PBBsのような環境中化学物質も甲状腺ホルモンの代謝を亢進させ、その結果甲状腺新生物を増加させる可能性がある(Barter and Klaassen, 1992)。PCBs は、T₄と血清の輸送タンパク質との結合部位を阻

害し、T₄の血清からのクリアランスの亢進と、組織利用率の低下を引き起こすことも示されている(Brouwer and Van den Berg, 1986)。PCBsは甲状腺受容体に直接結合することはない(Cheek et al., 1999)。

5.4.6.3 甲状腺がんについての結論と勧告 特定のEDCs 暴露と甲状腺がんが直接関係するという証拠はヒトの実験データからは支持されない。しかし、いくつかのEDCsが視床下部 脳下垂体 甲状腺軸に影響することがある。ヒト甲状腺発がん過程を理解するためには、種々のホルモン系の間での基本的な相互作用メカニズムを解明する必要がある。

5.4.7 がんについての結論と勧告

EDCsがホルモン依存性のヒトのがん発生に寄与している可能性については、生物学的蓋然性といくつかの実験的根拠はあるものの、現在の科学水準では、その因果関係を明確にする証拠は得られていない。精巣がんの場合、そのような因果関係はヒトでは検討されていない。EDC暴露との関連が検討されている場合(主に乳がん)でも、全体的な因果関係の根拠の強さは弱い。しかし、PCBs、ディルドリン、あるいは未評価の他の化学物質などの内分泌かく乱化学物質が、(女性あるいは男性で)乳房、子宮内膜、前立腺、精巣での悪性腫瘍の発生率に、なんらかの役割を果たしているとする仮説を完全に排除するのに十分な情報もない。さらなる研究は、小児期あるいはそれ以後の人生における、内分泌の影響を受けやすい部位でのがんの発生に関連して、ヒト発達の重要な時期(胎児期、思春期など)での内分泌かく乱化学物質への暴露を評価することに重点を置くべきである。がん登録制度は、これからも、がん発生に関する地理的および時間的傾向について仮説の検証に役立つ有益な情報を提供するであろう。

5.5 EDCsの有害影響を受ける可能性のある他の内分泌系

本章では、生殖系、中枢神経系、免疫系、内分泌作用部位でのがんが焦点を当ててきた。しかし、広い意味での内分泌かく乱は、これらの標的部位以外も包含し、また、性ホルモンや甲状腺ホルモン以外のホルモンも関係していることは明らかである。成長ホルモン、インスリン、副腎皮質ホルモンのような他のホルモンやその標的器官へのEDCsの影響の可能性については、現在入手できる研究が非常に限られるため、ここでは詳細に取上げない。これらのうちいくつかのホルモンの生理的役割については第3章で概説しているが、これらの系が明らかにEDCsによる有害な影響を受けやすいことを示している。他の内分泌系について進行中の研究の一例として、グルココルチコイドについて以下に簡単に解説する。

視床下部 脳下垂体 副腎軸内分泌系の発達および機能については第3章(3.4参照)で述べた。グルココルチコイドは、性ホルモン受容体と同じ受容体の仲間にも属する細胞内GRsと結合する。この二つの系には、受容体の合成や受容体の機能の調整などに類似点が多く、このため

グルココルチコイド系も外因性化学物質による妨害の影響を受けやすい可能性がある。ほとんどの細胞はGRを有しているが、肝臓、視床下部、脳下垂体、海馬といった標的器官に大量に存在している。グルココルチコイドは体内で多数の機能を持つ(代謝、心血管系、発達、免疫抑制、抗炎症など)ことから、EDCsにより阻害される可能性は高い。例えば、正常な胎児の発達において、グルココルチコイドは肺界面活性物質の分泌および神経系における神経堤細胞の調節/分化にとりわけ重要な役割を果たしている。慢性的なストレスなどで、グルココルチコイドに長期かつ過剰に暴露されると、学習や記憶の過程に関係する海馬の神経変性が引き起こされることが最近示された。また同様に、行動に対する影響がGRノックアウトマウスで観察されている(De Kloet et al., 1998; Sapolsky, 1996)。

実験研究により、外因性化学物質がグルココルチコイドの恒常性を阻害する、いくつかのメカニズムが示されている。もっともよく知られているのは、DDTの代謝物であるDDDが副腎皮質細胞内で細胞毒性を発揮することである(Nelson and Woodard, 1949; Adamson et al., 1973)。そのため過去には*o,p'*-DDDがコルチゾール分泌抑制薬として用いられたこともあった。DDTの別の代謝物であるメチルスルホニル-DDEも副腎毒性を有しており(Lund et al., 1988)、マウスに体重1kgあたり12mgを単回投与すると、コルチコステロンの合成能が低下し、その作用は少なくとも40日間持続した(Jönsson, 1994)。このメカニズムには、CYP11b1(副腎皮質にのみ存在するミトコンドリア酵素)の生物活性化、ミトコンドリア傷害が関与し、最終的に細胞毒性が発現する(Lund and Lund, 1995; Jönsson et al., 1991)。

副腎皮質酵素の阻害によってもグルココルチコイドの恒常性がかく乱される可能性がある。アゾール化合物(アロマトーゼ阻害剤など、第3章3.12.5.2および3.12.5.3参照)については、性ホルモン合成に関与するチトクロームを阻害することは既に述べたが、これらがグルココルチコイド経路にも影響する可能性がある。いくつかの薬剤(ケトコナゾールやメチラボンなど)は、強力なグルココルチコイド合成阻害剤として知られている(Couch et al., 1987)。グルココルチコイドと性ホルモンの合成経路は、コレステロールが17-ヒドロキシプレグネノロンを経て17-ヒドロキシprogesteronへ代謝される最初の段階が同じであるため、相互作用をする可能性がある。17-ヒドロキシprogesteron以降の代謝を行う副腎皮質酵素を阻害すると、性ホルモン産生量が増加するというデータもある。機構論的な*in vitro*研究により、グルココルチコイドからアンドロゲン産生への移行は、性ホルモン産生のための基質の利用が増すことにより起こることが示されている(Mesiano et al., 1999)。従って、副腎皮質でのアンドロステンジオンおよびデヒドロエピアンドロステロンの産生は、通常はあまり重要でないが、病的状態や副腎皮質機能亢進性思春期徴候のような特定の時期においては重要になるかもしれない(Papadimas, 1997)。

最後に、外来性化学物質もまた、GRと結合することに

よってグルココルチコイドの恒常性を阻害する可能性がある。外来性化学物質が器官内の GR の密度を、上向きおよび下向きのいずれにも調整することを示す研究もある(Budziszewska et al., 1995; Bellingham, 1992)。最近の *in vitro* でのデータからは、外来性化学物質が GR に直接結合することも示唆されている。Johansson ら (1998) は、どこにでもある 24 種のメチルスルホニル-PCBs を調べたところ、数種のメチルスルホニル-PCBs は、マイクロモルの濃度で、GR 結合においてデキサメタゾンと競合することを見出した。ヒト GR とレポーター遺伝子を組み込んだチャイニーズハムスター卵巣細胞での研究もその一つであり、3-メチルスルホニル-2,5,6,2',4',5'-ヘキサクロロピフェニルは GR で拮抗作用があることが示された。

このような実験モデルからの結果は野生生物の観察結果からも支持されており、グルココルチコイド系のかく乱が現実には起きていることを示している。カナダにおける研究では、汚染水域の魚類は、ストレスにตอบสนองしてコルチゾールを合成する能力が低下していることを示している (Hontela, 1998)。Lorentzon ら (1999) は、セグロカモメ (*Larus argentatus*) の胎芽中の現在の有機塩素濃度と、血中コルチコステロン濃度およびコルチコステロン依存性中間代謝酵素活性とは、負の相関を示すことを最近発表した。DDT およびコルチコステロンが、オタマジャクシの上顎に類似の病理学的変化を誘発するという所見から、DDT がコルチコステロンと類似しているのか、あるいは DDT がストレスを誘発して濃度が上昇したコルチコステロンを介して作用するのかという疑問が生じている (Hayes et al., 1997)。

上述の実験動物あるいは野生生物の所見から判断すると、DDT や PCBs などある種の EDCs がグルココルチコイドの恒常性に影響を与える可能性があるのは明らかである。ヒト免疫抑制におけるグルココルチコイドの役割の重要性はわかっているものの、環境中 EDCs 暴露と副腎皮質機能に関する研究はまだまだ行われていない (本章 5.4.1.2 参照)。若年期におけるホルモンの恒常性変化が成人以降の疾患発生に果たす役割については、比較的新しい研究領域であるが (Marmot and Wadsworth, 1997)、内分泌かく乱に関する議論に関連することは明確である。例えば、胎児期にグルココルチコイド濃度が高いと、後の糖尿病発症に影響する可能性があることは既に述べた (第 3 章、3.2.3 参照)。この分野において今後さらに研究が必要であることは間違いない。