

研究要旨：

内分泌かく乱化学物質によるヒトへの影響の観点から、影響強度、暴露レベル、メカニズムから考えて、実際に影響の可能性が高いと考えられた植物エストロゲンと、有機錫について、健康影響に関するクリティカルな情報を収集、解析し、リスク・ベネフィットを推測した。この目的のため、植物エストロゲン物質の関連文献 200 件以上を物質の種別、生物種と試験系、影響の種類などにより索引付けし、分類し、データベース化した。

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質に関し関連情報は膨大に存在し種々のかたちで提供されているが、多くは厳密な評価に基づいたものでなく、むしろ事態を混乱させている面もある。情報のデータベース化も進められているが、リスク評価の観点から内容を精査し検討する必要がある。問題とされている物質を中心に、内分泌攪乱化学物質としてのリスク評価にクリティカルな情報を収集、評価し、本研究班における試験法開発を支援する。

B 研究方法

問題とされる主要な物質について、健康影響評価に必要とされる定量的な情報を中心に収集し、試験条件と結果、背景メカニズムの検討、当該物質への日本人の曝露実態について検討する。本プロセスを通して、内分泌攪乱物質のリスク評価に必要なデータの種類と内容、今後必要な試験研究を検討、提示する。

(1) 大豆中の植物ホルモン物質について

人が摂取するエストロゲン作用物質として重要でありながら、影響レベルについて十分

確認されていない植物エストロゲン物質につき、日本人の摂取、体内レベル、人における知見を中心に定量的なデータを収集し、メカニズムの考察を基礎に、リスクとベネフィットの検討を行った。

1998 年 6 月までの MEDLINE 医学文献データベースを用い“Phytoestrogen” (PE) でヒットした 207 文献およびその後の文献と、関連の文献の計、約 300 文献を調査、分類し、データベース化した。生薬、ハーブ、一部の微生物の生産物にも PE は含まれるがこれらの摂取量は相対的に少ない。エストロゲン作用が知られ文献も多く、日本人が多量に摂取する大豆に含まれるイソフラボノイドおよび、亜麻など多くの植物に含まれ、腸内細菌によりエストロゲン作用を持つ物質に代謝されるリグナンを中心に、人での疫学および臨床データ、摂取量、インビボ試験データと背景メカニズムの研究情報を調査した。

(2) 有機すずについて

わが国の環境汚染が環境中生物の生殖に影響を及ぼすレベルにあるとして問題になっている有機すずの健康影響について、同様の検討を行った。

C. 研究結果および考察

(1) 大豆中の植物ホルモン物質について

さまざまな植物ホルモン物質の活性レベルと日本人の摂取量から考え、もっとも影響を及ぼす可能性が高い大豆中のエストロゲン物質を中心に検討した。欧米人での疫学的、臨床的知見と、日本人の摂取量、体内濃度から、日本人の曝露レベルは、健康にベネフィシヤルな影響を与えている可能性が大きいと推定された。これら物質は、エストロゲン作用のほかに、抗酸化作用などの作用も有するため、影響の内容をより多角的に検討すべきこと、またエストロゲン活性の高い代謝物を生成する能力は日本人の中でも個体差が大きく、日本人での臨床、疫学的知見の収集と確認が必要なこと、経胎盤曝露による影響データが限られておりこの方面の研究データが必要なこと、また自己免疫疾患との関連を示唆する報告を考慮すると、より多角的な検討の必要が指摘された。

大豆中の PE には、イソフラボン Daidzein, Genistein がある。日本人の大豆と大豆製品の平均摂取量は 1 日約 65g だが、Daidzein と Genistein は豆腐、味噌、大豆、納豆、油揚げなどにそれぞれ 32-146, 71-366, 22-1915, 199-354, 74-187 および 86-306, 149-524, 200-1897, 374-506, 185-228 μ g/g (湿重当り) 含まれる。日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均一日摂取量は Daidzein 10.2 mg, Genistein 15.4 mg のレベルといえる。他方、日本人男性の血清中の遊離・抱合体合計の Genistein, Daidzein 濃度はフィンランド人男性の各々 44 倍(75 μ g/L)、17 倍(27 μ g/L)であった。

東アジアの人には乳がん、前立腺がんが少な

いが米国へ移住すると増す。大豆摂取により閉経前の女性の乳がんリスクが低下する。乳がんリスクと尿中 Daidzein /Equol 排泄量には量依存の逆相関関係が見られる。動物では発情期前のイソフラボン短期曝露により乳腺上皮細胞の分化が促進され乳がん発生が抑制された。Genistein の抗がん作用はチロシンキナーゼ阻害作用¹⁰⁾と、がん細胞の apoptosis 促進という機作が推測されている。

Daidzein の代謝物 Equol は in vitro で抗酸化作用を示し、大豆蛋白 (38 報告中の平均 47g/日)あるいは大豆 PE(11mg/kg 体重/日)の摂取は、LDL Cholesterol 値を各々高脂血のヒト (平均 22mg/dL 低下) およびサル (36%低下)で低下させた。

Daidzein の前駆体 Ipriflavone (600 mg/日) が骨粗鬆症を含む更年期障害治療に有効と報告されている。Genistein は濃度によりエストロゲンにもアンチエストロゲンにも作用することが、エストロゲン受容体を組み込んだ MCF-7 ヒト乳がん細胞の増殖の低濃度での高進と高濃度での抑制という結果から推測されている。

Daidzein をマウスに経口投与(0-40mg/kg 体重/日)した時に、用量に依存し腹腔マクロファージのファゴサイトーシスと胸腺重量の増大で見た非特異的な免疫活性および、脾臓の IgM 産生細胞による羊赤血球溶血で見た特異的な免疫活性の高進が見られた。

牛乳で下痢を起こす幼児のための大豆食品 (イソフラボン 43-48mg/日) 摂取によるエストロゲン作用が懸念されたが、米国で 50 年間の使用に関わらず内分泌への影響は見られていない。

ヒト血清蛋白の添加時と非添加時のエストロゲン受容体への結合を Estradiol と比べると、Genistein, Equol は相対的により多く受容

体に結合する。また Genistein は β エストロゲン受容体により親和性がある。

環境中に極く微量存在しエストロゲン様作用のリスクが危惧されている他の“環境ホルモン”と共存した時に、PE がエストロゲン受容体結合において競合し保護的な作用を示すか否かは興味あるところである。

日本人における植物由来ホルモン作用物質の役割として、種々のデータからみられるさまざまな作用は、日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均摂取量の同程度から数倍の範囲で観察されている。ヒトにより摂取量や感受性は異なるし、比較的低濃度でもある程度のリスク、ベネフィットがこれまでの日本人集団に見られている筈である。また日本人は昔から多量に摂取しているので、耐性があるのではないかともいわれている。適切な疫学調査を行うか、臨床データを収集すれば、これらは判定可能であろう。

日本人の摂取する植物からのリグナンの摂取量、あるいは植物中物質が腸内細菌により代謝されてできるリグナンの摂取量の定量的なデータはない。しかし伝統的な食品を摂取している日本人の尿中排泄量は少ない。現在、日本人の体内レベルを推測するデータを収集、解析中である。欧米のデータでは植物を多く摂取する女性のリグナンの排泄量は、雑食性の女性や乳がんの女性に比べて有意に高いと報告されている。リグナンの作用もさまざまあるが、生理的に観察されるレベルでの *in vitro* 試験データでエストラジオールのレセプター（タイプ II, bioflavonoid receptor）結合を競合的に阻害し、やや高い濃度ではアロマトラーゼを阻害することが知られている。

いくつかの PE の多様な作用につき一見矛盾する報告もあるが、曝露時期や用量による

違いがありうる。Daidzein は代謝されてより活性の強い Equol を生成するが、日本人の間でも大きな個体差が見られており¹⁹⁾、代謝能力の違いの分布による不確実性を考慮しなければならない。コーバーに含まれる PE の Coumestrol は羊が大量に摂取した時に不妊になる原因物質といわれており、低濃度でアロマトラーゼを阻害するが、大豆には検出されない。PE の種類によって作用は異なり、ポリフェノールの場合はエストロゲン作用だけでなく、抗酸化作用を示したりする。このような作用機作を踏まえた人を主とした定量的なデータを収集解析することにより、日本人が曝露される PE のより正確なリスク、ベネフィットの解明が可能となろう。また乳児に豆乳を与えることと自己免疫疾患との関連を示唆する報告もあるなど、食品中に多量に含まれる活性物質の作用については多面的な作用のチェックが必要であろう。

同様な手法により、現在関心が高く、現実問題となりうるほかの物質についても、調査を進めていく予定である。この調査の中で国内で優先的に調査研究すべき課題が、浮き彫りにできれば幸いである。

(2) 有機すずについて

内分泌攪乱化学物質としてはもっぱら巻貝のイボセックスのみ注目されているが、日本人の平均摂取量は動物での免疫系への影響から設定された安全指針値の6割程度になり、摂取量の個体差を考慮すると注意を要する。細胞レベルでの知見から、有機すずの免疫系への影響と生殖・発達毒性にメカニズム的に共通する背景も考えられ、多様な毒性プロファイルをより統合的に検討する必要性が指摘された。

我が国の有機すず汚染のリスク評価

＜環境中生物への影響＞有機すずは環境中生物への影響において次のいくつかの特徴を持つ。(1) 巻き貝の一部にイボセックスといわれる現象を引き起こし生殖に影響を及ぼす。(2) イボセックスを含む軟体動物や藻類への影響は極低濃度 (1 ng/L 以下) で生ずる。(3) 影響を受ける生物種は微生物、甲殻類、軟体動物、両棲類、魚類まで広範囲である。

環境中生物への影響のうち最も低濃度で影響が見られるのは腹足類のイボセックスである。有機すずがシクロム P-450 依存アロマーターゼの阻害剤またテストステロンとその活性代謝物の硫酸抱合を阻害することによりテストステロンが蓄積して、雌の雄化が促進されイボセックスが生ずるという最近の研究がある。イボセックスは当初腹足類に特殊な現象と考えられていたが、今や有機すずは正式に“環境ホルモン”物質の仲間入りすることになった。＜健康影響＞免疫系への影響が最もクリティカル (低い濃度で起りうる重要な) 影響とされた。ラットの 18 ヵ月長期毒性試験 (投与量: 0, 0.025, 0.25, 2.5 mg/kg 体重) における線虫 (*Trichinella spiralis*) 感染への抵抗性で調べた胸腺依存免疫系の障害が見られた TBTO の最小毒性発現量が 0.25 mg/kg 体重であることから、無毒性量は 0.025mg/kg 体重とされた。この免疫系への影響は出産後、間もない時期が最も感受性が高かった。

生殖への影響は以前は比較的高濃度 (母獣に毒性が見られる) でのみ観察されたので、二次的なものではないかと考えられていた。ラットの妊娠初期 (妊娠 0-3 日目) に TPT を投与 (0, 3.1, 4.7, 6.3 mg/kg 体重投与) すると、妊娠 4-6 日目に投与した時より低い濃度 (4.7 mg/kg 体重) で着床阻害、胎児死亡が見られた。胸腺細胞の apoptosis への影響、

sarcoplasmic reticulum cell による Ca^{++} 取り込みや Ca ATPase の阻害などが報告されている。一見ばらばらに見えるこれらの影響が分子レベルで共通のメカニズムに由来している可能性がある。＜環境リスク評価＞環境中の生物への影響を評価する際には広範な生物種に見られる種々の影響と、その起こりうる濃度の全体像を考慮する必要がある。環境庁のとりまとめによれば、1995 年の東京湾内 5 定点のトリブチルスズ (TBT) の平均水質濃度は $2.7 \mu\text{g/L}$ であり、藻類の孢子形成や一部の巻き貝のイボセックスはこの濃度で起りうるが、稚ガキへの影響や淡水条件でワケギへの影響が起るのは一桁高い濃度である。ヒト、フジツボ、微生物への影響はさらに一桁高い濃度ではじめて起ることが知られている。しかし底質中の TBT 濃度の改善が緩慢であることから、汚染の高い沿岸、感潮域に棲息する生物にとってのリスクはまだ高い。生態系全体になんら影響が見られないようにするには、さらに汚染を低減する必要がある。＜健康リスク評価＞蒸気圧から考えて大気経路曝露の可能性はなく、また飲料水中での検出の報告はない。食品経路の有機すず摂取量がマーケットバスケット法により調査されている。魚介類と野菜類からのみ摂取されており 1991 年を境に漸減傾向にある。マーケットバスケット法による摂取量調査結果によると 1990-1997 年の TBT と TPT の平均一日摂取量は、それぞれ $3.9 \mu\text{g}/\text{人}$ 、および $3.0 \mu\text{g}/\text{人}$ (塩化物として) であった。

TBT の値は、わが国の TBTO 暫定許容一日摂取量評価値の 5.2%、あるいは CICAD で示唆されている TBTO の経口曝露の指針値の 4.7% である。TPT の値は FAO/WHO 合同農業会議の TPT 許容一日摂取量評価値

の12%であった。汚染の高い港や河口で底質中TBT濃度の低下が緩慢であることから、沿岸、感潮域に棲息する魚介類の多量摂取は高リスク要因と推測される。有機錫としての作用が相加的である可能性、汚染魚介類を特に多く摂取する地域や個人の存在が推定され、有機錫の環境中への放出をさらに少なくすべきであろう。

F. 研究発表

1 論文発表

Jun Sekizawa, Health and environmental risk assessment of organotin pollution in Japan, Bull.Natl.Inst.Health Sci.,116、126-131, 1998

2 学会発表

Sekizawa, J.. Uncertainty analysis using database on chemical risk, Proceedings of the First China-Japan Conference on Risk Assessment (November 1998,

Beijing), pp.456-461

内分泌かく乱化学物質学会（環境ホルモン学会）、平成10年12月11日（金）・12日（土）、国立京都国際会館、植物エストロゲン物質の日本人における定量的リスク・ベネフィット解析—Quantitative Risk Benefit Analysis of the Effects of Phytoestrogens、関沢 純、大屋幸江

関沢 純、大屋幸江. 日常摂取する植物由来ホルモン物質の役割. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境・毒性学会合同研究発表会（1998年9月、草津） pp. 26-27

関沢 純. わが国の有機すず汚染のリスク評価. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会（1998年9月、草津） pp. 48-49