

環境ホルモン

日常生活の安全性に関する解決すべき
21世紀当初の課題
～合成化合物のホルモン作用攪乱効果の解明～



一般教養 教授
片瀬 隆雄
(化学研究室)

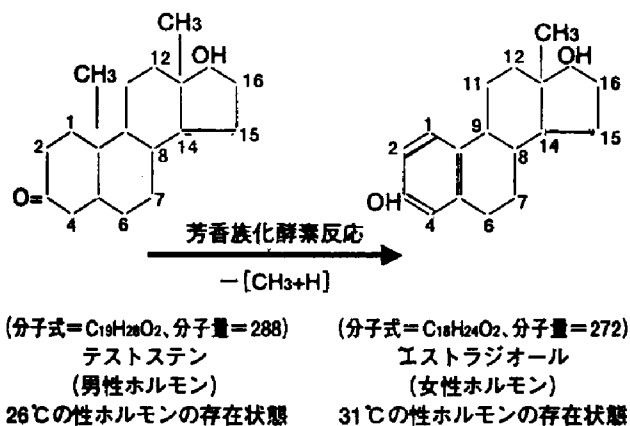
性はどのようにして決まるか

カメの性は、孵化温度で雌雄が決まる

アカミミキバラガメ (Red eared slider turtle) の性は、卵が孵化するときの温度で決まります。例えば、26℃で卵を孵化させるとオスのカメが生まれます。また、31℃で孵化させるとカメはメスとなります。28～29℃の間の場合はオスとメスがまじりあって生まれます。このことは自然をじっくりと観察することによって分かります。では、何故そうなるのでしょうか。まず、実験室に卵を持ち運び、孵卵器のなかでこの現象を再現させます。また、それぞれの孵化温度で卵の中に含まれる性ホルモンを分析します。すると、26℃に維持された卵に含まれているテスト

ステロンが、31℃のときはエストラジオールに変わることが分かります¹⁾。テストステロンは男性ホルモンで、エストラジオールは女性ホルモンのことです。もし、ある温度帯で性比が同じ割合になるなら染色体による性決定があると考えられますが、このカメの場合は、性染色体とは別の機構が働いているように考えられます。同様に外的因子で変わることが魚類でも知られています。つまり、カメは卵のなかの性ホルモンの状態が男性ホルモンか女性ホルモンかによって雌雄が決まり、そのホルモンの状態を温度が決めているわけです。二つの性ホルモンの関係と化学変化の様子を図一1に示します。

カメの性を決める雌雄ホルモンの分子解読の結果、その二つの性ホルモン分子のほんの一部が変化したものであることがわかりました(図1)。物質はすべて分子からできていて、分子は原子の組み合わせでできています。人は言葉によって互いの意志を伝えますが、その言葉は単語を構成する文字の組み合わせです。分子は単語に、原子は文字に相当するといえます。原子同士の組み合わせを示したものが構造式(図一1の分子式の上に図示)、それを原子の種類と数だけにまとめて略記したものが分子式です。分子は分子式(構造式)と分子量で特徴付けられます。



図一1 カメの性が決まる理由：性ホルモンの温度による存在状態

いわば、ヒトの特徴付けを、“身長などの容姿 (=分子式または構造式)”と“体重 (=分子量)”で示すのに相当しています。

いま、温度で変わることがカメの自然の営みによる性決定だとします。もし、この分子解説の結果が事実なら、本来オスの生まれる26℃に実験室の孵卵器の温度を調節し、女性ホルモンのエストラジオールを卵に塗布して入れてやればこの温度であってもメスが生まれてもいいはずで、実験の結果は予想の通りでメスが孵化しました。カメの体内で生じた男性ホルモンではなく外部から人為的に加えた女性ホルモン作用の影響で、本来のカメの性が攪乱された結果生じる現象です。これを外来性ホルモン作用攪乱効果、その能力を持つ物質を攪乱物質と呼ぶことにします。エストラジオールは天然物ですが、女性ホルモンと類似の作用をする合成化合物があったとしたら、類似の現象が起こっても不思議ではありません。たとえば、エチニルエストラジオール(避妊薬ピル)は、天然女性ホルモンの一つを化学的に変化させた合成化合物です。このピルを含む水の中でアカガエル (*Rana sylvatica*) を飼育すると遺伝的にはオスとなるべきものがメス化します。この現象は約40年前の実験で確かめられています²⁾。また、図一1の変化が発生途中の個体で中途半端に起こったとしたら雌雄どちらともつかない性をもつカメが生まれることも理解できます。

米国フロリダ州のアポプカ湖の近くで、かつて化学工場で事故がありDDTなど農薬が湖に大量に流入しました。その後、フロリダ大学のギレット博士は、この湖のカメがメスの生殖器をもち高い濃度の女性ホルモンを分泌し、地域全体の20%のカメがオス・メス両性化していることを明らかにしました。同様に、ワニのオス生殖器にも変化が観察されています¹⁾。このことはDDTなども女性ホルモン作用を有するのかもしれないことを示しています。無論、すべての動物の性がこのカメのようにして決まるわけではありません。

ヒトの性の決定と、女性ホルモン作用攪乱効果仮説

ヒトの性を決定するのは第23番目の性染色体で、それがXXなら女兒、XYなら男児が生まれることが分かっています。受胎後の胎児の原形は女兒で、性を分化する発生段階の受胎後第6週になると、Y染色体をもつ胎児は遺伝子の情報にもとづき、男児の特徴へ展開します。英国・エジンバラ医学研究所のR.シャープ教授とデンマーク・コペンハーゲン大学のN.スカッケベック教授は、米英で過去30年間に精巣腫瘍(睾丸の癌)が3倍増し、デンマークでも過去50年間に3~4倍も増加していることや、その他、停留精巣(Cryptorchidism)や尿道下裂(半陰陽児)(Hypospadias)等の男児の生殖器異常が増加していることに気づきました。また、デンマークの青年の精子の活動や精子の頭部変形や無尾・二尾精子などの形態異常を観察したことを契機に、1930年代から50年間のデータを統計的に分析した結果、この期間で、精子の数が約半減し精液の質が低下しその量も少ないことを1992年の英国の医学雑誌に発表しました³⁾。この結果は文献調査による統計解析でしたが、英国・エジンバラ王立病院のS.アービン博士は、18歳~45歳の500名の男子について実際に測定調査をし、この20年間で25%の精子減少があることを報告しました。すなわち、1950年代生れの人の場合が1億個/mlであったのが、1970年代生の場合7.5千万個と測定されました。この調子では、1990年代生の人には5千万個となり、21世紀生れの人にはさらに2千万個以下になると推定されました。これまでの経験では、2千万個以下になると不妊治療を必要としています。体内での精造過程は明瞭でないのでその原因の解明は重要な課題と考えたシャープ教授とスカッケベック教授は、精子の質と量の減少は胎児の性分化期に過剰な女性ホルモンに暴露されたことによるのではないかとする仮説を1993年に英国医学雑誌に発表しました⁴⁾。これまでに、セルトリ細胞が発育段階で支配的役割を果たし成人したときの精子

の形成過程に重要であることは分かっていました。性分化期に過剰の女性ホルモンにさらされると、セルトリ細胞の分裂が抑制され十分増殖できないまま固定されると考えると、停留精巣—尿道下裂—精巣腫瘍—精子減少が起こる現象を统一的に説明できるとしました。その裏付けとして、1950～80年代に米国で、流産防止薬として服用された合成女性ホルモンのジエチルstilbestrol (DES) を投与された女性から生まれた青年男子に類似の生殖器異常が起こったこと⁵⁾、および胎児発育の重要時期にDESを2日間投与した妊娠ネズミから半陰陽のオスネズミが誕生したことを根拠としました。天然の女性ホルモンは体内で生成され、不用になるとその活性を失わせる機構を動物はもっていますが、この機構では活性を失わない合成ホルモンDESは体内に滞留する時間が長くなります。また、食生活の変化で脂肪・蛋白質の摂取量が増加して、本来排出される女性ホルモンが再吸収されて体内に長く滞留するようになったのではないかとしています。

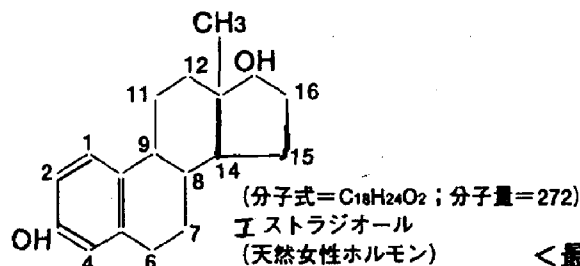
すなわち、遺伝情報で胎児の性分化期に男児となるべき信号を送っても、暴露された過剰な女性ホルモンの攪乱作用によって、指令信号通りにならず誤作動する。その結果、生まれた男児に停留精巣—尿道下裂が観察されるようになり、また大人になったとき結果として精巣腫瘍や精子減少が発現することを统一的に説明できるとしました。人の精子の数を測定することや、その精子数の変動傾向を明らかにすることは容易ではありません。しかし、現時点でどうやら、欧米の白人に限れば男子精液中の精子数が減少しているのは確実であるといえそうです¹⁰⁾。

● 合成女性ホルモン： ジエチルstilbestrol

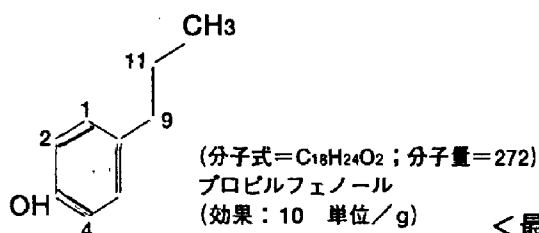
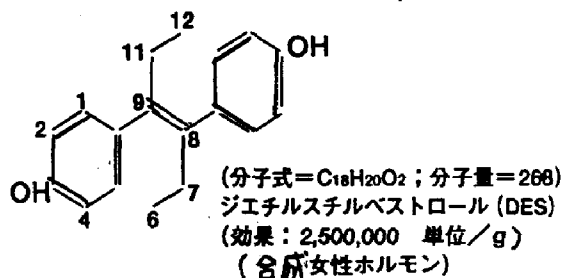
天然の女性ホルモンと同じ効果のある化合物を何とか人間の手で合成することができないか。この課題に取り組んだのは1930年代の英国ロンドン大学の生化学研究所のE.ドックス教授のグループです。人間の手で有機化合物の尿素を最初に合

成したのは、1828年ドイツのヴェラーですから丁度その100年後のことです。1900年代当初、有機化学者と薬学者によって化学構造と生理活性との関連、とりわけホルモン作用の原理に興味を持たれました。最初の成功は甲状腺のチロキシンや副腎髄質のアドレナリンでしたが、女性ホルモンは生理作用の測定法が困難でした。まず、主としてラットを用いた標準化法を作り、それによって約65種類の化合物を検討した結果、40種類の合成化合物にこの作用があり、1938年に、ジエチルstilbestrol (DES) が天然の女性ホルモンと同じ程度の能力をもち、合成女性ホルモンとして最大効果のあることを発見しました⁶⁾。また、これら約40種の合成化合物の女性ホルモン作用の効果は、最大効果のDESから最小効果能力のビスフェノールAなどとの間で、約25万倍の差があることが分かりました。たとえば、DESは約0.0004mgでラットを発情させますが、最小効果のビスフェノールAは約100mgを必要とします。この能力を、グラム当たりで換算すると、DESは2,500,000単位でビスフェノールAは10単位です。DES、ビスフェノールAおよびアルキルフェノール(プロピルフェノール)の構造式を図—2に示します。

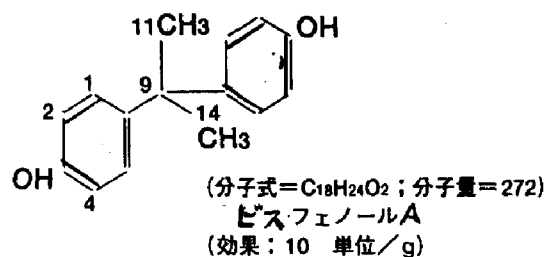
では、何故これらの合成化合物に女性ホルモン作用があるのでしょうか。図—2に示す天然と人工のホルモン作用化合物を比較してみると、分子量はたった4の違いでその差は合成化合物のDESがエストラジオールに比べて4個Hが多いだけであることが分かります。また、その原子の組み合わせの様子(構造式)も、かなり類似しているといえます。そこで、最大効果のDESと最小効果のビスフェノールAについて、亀の甲と通称されるベンゼン環を除いた部分の炭素数の変化と女性ホルモン作用の関係を調べてみました。その結果を図—3に示します。すると、この二つの化合物の関連物質間の効果度は約25万倍も異なりますが、それぞれに効果の最大点をもっていることが分かります。DES関連化合



<最大効果>



<最小効果>



図一 2 最大効果と最小効果の女性ホルモン合成化合物。

物では炭素数が6で最大に、ビスフェノールA 関連では炭素数が7で最大となり、前者の分子量が268で後者は282です。このことから、女性ホルモン作用は分子量が最大でも350程度で、その“容姿 (=構造式)”が類似しているか、その一部と関連している物質がもっているといえます。

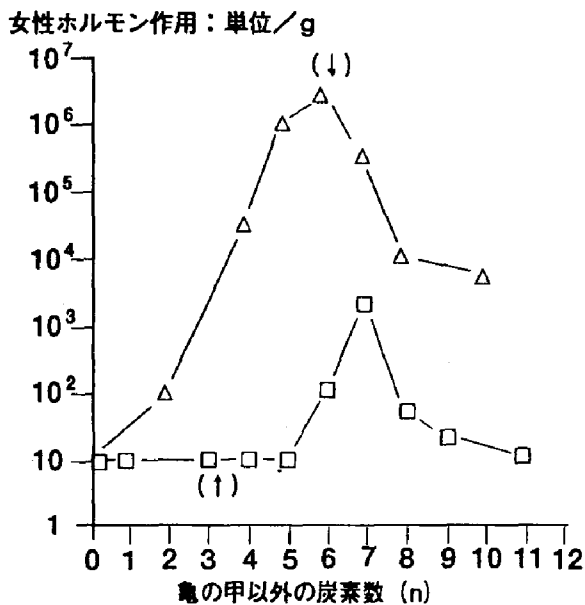
プラスチックから溶出する女性ホルモン効果をもつ合成化合物

1984年頃、米国スタンフォード大学のフェルドマン教授らは実験室で培養した酵母細胞のタンパク質が女性ホルモンと結びつくことを発見した。そこで、酵母はそれに結びつくホルモンを産生できると推測し、この「酵母細胞ホルモン」を追跡し、ついに培養液のなかに存在する女性ホルモンを確認した。しかし、女性ホルモンが含まれていないにもかかわらず、酵母細胞が増殖することことに気づき、その原因が、実験に用いたポリカーボネート製フラスコから溶出していたビスフェノールAであることを示しました⁷⁾。また、女性ホルモンと乳ガンとの関連は多くの研究者に興味をもたれています。1991年頃ころ、米国タフツ大学のソトー準教授のグループもポリスチレン製試験管を使うと、女性ホルモンがあるときだけ感応するヒト乳ガン細胞 (MCF-7) が増殖することに気づき、原因はポリスチレン試

験管から溶出するノニルフェノールにあることをつきとめました⁸⁾。図一2に示すように、ビスフェノールAやノニルフェノールの類似化合物であるプロピルフェノールに女性ホルモン作用のあることは約60年前に分かっていたことです。また、プラスチックを使用すればこれから化学物質が溶出することは至極当然のことです。新しいことはプラスチックに女性ホルモン作用のある合成化合物が使われていることに気づいたことです。従って、重要なことはこれらの化合物以外に女性ホルモン作用のある物質がプラスチックに含まれているかどうかを調べることです。同時に、これまでに分かっている合成化合物を含めて、我々が日常生活で受ける量を推測し、その量によってヒトや野生動物がホルモン作用攪乱効果の影響を受けることがないかどうかをあらかじめ予想することです。

プラスチック中の潜在溶出化合物とホルモン作用攪乱能の微量被曝

プラスチックには潜在的に溶出する化合物が含まれています。フェルドマン教授やソトー準教授は細胞を使って化合物が溶出することを生物学的に再確認したともいえます。これらの溶出物はプラスチックの本体であるポリマー合成過程で残留したモノマーおよびその関連物質 (例えば、



ジエチルスチルベトロール類似化合物 (△) ;
 ビスフェノールA類似化合物 (□)
 最大効果化合物ジエチルスチルベトロール (↓) は、最小
 効果化合物ビスフェノールA (↑) の25万倍である。

図-3 女性ホルモン作用と合成化合物の構造式との関係
 Emmet, Wilson 1944; JACS の Fig.1 の横軸を改変 (片瀬 1999)

ビスフェノールA) と、製品にある目的をもって加えられる添加剤 (例えば、ノニルフェノール) です。ポリカーボネートにはビスフェノールAが300-600ppm残留していることもあります (食品衛生法の規格基準では500ppm以下に制限)。また、ポリスチレンの場合、通常スチレンモノマー (400-1000ppm)、二量体 (400-1000ppm) および三量体 (2500-8000ppm) が本体に残留しています (食品衛生法の規格基準で材料あたり残留物を5000ppm以下に制限)。添加剤の場合、典型的なのが可塑剤です。例えば、本体の30%近く添加されるフタル酸エステルやアジピン酸エステルなどです。軟らかいポリ塩化ビニルを作るときに可塑剤が加えられます。ノニルフェノールは酸化防止や透明性をよくする目的で加えられます。これらの身近にある食品食器、容器・ラップ・缶詰、ほ乳瓶、子供のおもちゃ、文具・雑貨・住宅建材また、洗剤と医薬品・農業をとおして我々はこれらの化合物を摂取します⁹⁾。食品用プラスチックに対して、日本では法的に食品添加物の扱いをしていないので、使用は製造業

者にまかされています。業者の資料などから推定して最低約600種以上の合成化合物が添加されていると予想されます⁹⁾。しかし、これらのプラスチックから溶出する合成化合物、たとえばビスフェノールAやアルキルフェノールの女性ホルモン作用は天然のホルモン作用の約25万分の1程度であることが予想されます。また、その作用は多数の化合物の効果が加算されて影響を与えることも考える必要があります。多数の化合物の攪乱効果の総和 S_n を(1)式で表わしてみます。

$$\text{総攪乱能 } S_n = f s \cdot \sum_{n=1}^n (E_n \cdot A_n) \cdots (1)$$

ここで、 A_n : A_n 化合物の被曝総量、 E_n : A_n 化合物の攪乱能、 $f s$: 安全係数 を示します。

やっかいな課題の浮上 一低濃度被曝の毒性学上の問題

昨年の暮れ、12月11~13日の3日間、日本の環境庁主催の内分泌攪乱作用に関する国際シンポジウムが京都で開催されました。米国ミズーリ大学のフォンサー教授はビスフェノールAがある特定の低濃度領域で突然ラットに影響をあたえる現象があると報告しました¹⁰⁾。通常の毒性学では、高濃度領域から濃度を下げていくとその影響が小さくなります。これを投与量効果(S字型対応)と言います。これまでの毒性学ではこの傾向を確認することによって化合物による影響の有無が判断されてきました。ところが、これまでは無作用量と考えられていた用量以下、たとえば、ビスフェノールAの場合は、500mg/kg実験動物体重以下の濃度0.02mg/kgで影響がでるといいます。低濃度で再び活性がでるといので逆U字型理論と彼は呼んでいます。しかし、英国のアシュビ博士など他の二研究者グループがこの低濃度レベル実験を行いました、いずれも再現できませんでした¹⁰⁾。一方、最初の図-1に示した酵素によるカメの性ホルモン反応を解析することによって、米国国立中毒学研

究センターのシーハン博士は、生物の体内から分泌されるホルモンがある限り、それに加えて外来性ホルモンが加わるのだから外来性ホルモンを加えてよい安全基準を設定できないとする無閾値モデルを提唱しました¹⁾。類似の現象は、放射線の生物に対する影響でも観察されます。自然界には天然の放射線あり、それに加えて人間の作りだす放射能を受けることになります。このような場合、容認できるリスクの程度を決め、そのリスクに基づく容認可能な暴露レベルを設定しています。いずれにしても、逆U字理論や無閾値モデルは今後の重要検討課題ですが、現段階では(1)で示される解答を得る努力が求められます。

この問題をどうするべきか： 私たちの考え

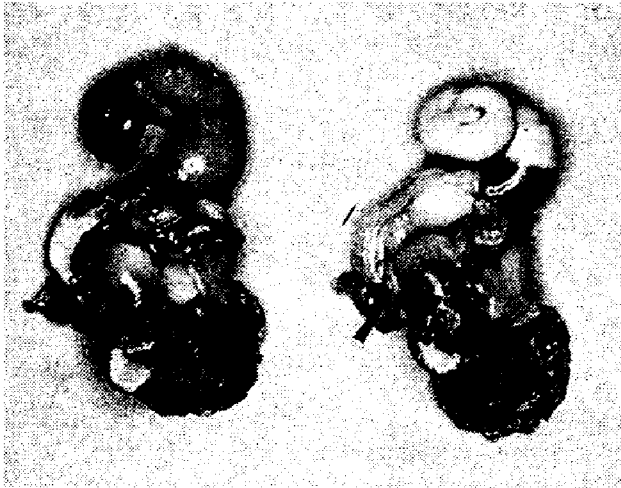
1828年、ドイツのヴェラーが試験管の中で尿素を合成することに成功して以来、人類はこの170年の間に1000万種を超える化合物を合成し、それらは私たちの生活を豊かにし利便性を与えてくれました。日常生活の中だけでも、約10万種類の合成化合物が使われています。ホルモン作用を攪乱させる物質の検索に、今、世界は全力を挙げています。それは、発癌物質の検索と同

様に重要な課題と考えられています。たとえば、米国環境保護庁(EPA)は年間生産量が1万ポンド(約4.5トン)を超える約1万5千種類の化合物について、女性ホルモンをはじめとするホルモン作用の有無の検査をすると1998年10月に発表しました。結果がでるまで、2~3年はかかるでしょう。1950~1970年代の米国で、合成女性ホルモンのジエチルスチルベストロール(DES)が流産予防などの目的で妊娠婦に投与され、生まれた人に悪影響のたことは大変不幸なことでした。成人した男性には攪乱効果と類似の影響が現れ、同時に若い女性には膣ガンを発症させました¹⁰⁾。この経験を生かす事は重要なことです。そこで、DESを合成したドッズ教授グループが約60年前に合成した65種類の化合物を整理し、それらの化学構造式と女性ホルモン作用の関係をわかりやすくまとめてみました¹¹⁾。その結果、DESをはじめとする最大効果化合物群とビスフェノールAなどプラスチック溶出化合物の最小効果化合物群に分けて考えることが重要であるように思われます。本学部にはホルモン作用などの内分泌学に興味と経験のある研究者が多くいます。また、本学が総合大学であることの利点を生かし医学部、歯学部、薬学部の研

表一 1 私たちのホルモン作用攪乱実験計画*

分野	実験系		実験の目標
化学系	化合物	ガスクロマトグラフ質量分析計 核磁気共鳴スペクトル 安定同位体質量分析計	化合物の同定(1) 化合物の同定(2) 化合物の生態学的生物濃縮
	環境生物		
生物学系	遊離細胞	酵母 ニジマス培養肝細胞 乳癌細胞MFC-7細胞	高感度スクリーニング
	実験動物A	ミジンコ ゼブラフィッシュ コイ(造血細胞) ミミズ	細胞増殖・細胞分化に対する効果
	実験動物B	ウズラ(生殖細胞) ニワトリ(卵黄細胞) マウス・スナネズミ(生殖機能)	高次の生物機能に対する効果
	ヒト	免疫関与細胞	免疫機能に対する効果

*応用生物科学科井上正教授のまとめ



図一４ 有機スズ化合物と海産巻き貝の生殖器異常
 左は雄、右はインボセックスになってしまった雌。左の個体には輸卵管がなく、大きなペニスがある。これが雄の特徴である。
 一方、右側の個体には輸卵管があるので、雌として生まれてきたはずであるが、雄と同じくらいの大きさのペニス(矢印部分)がある。これがインボセックスである。
 (写真提供：国立環境研究所 堀口敏宏)

研究者とともに、課題の解明を実行すべく計画を立て、一部の実験を開始しています(表一1)。

性が温度で容易に変わるのはカメの例であり、カメなどの爬虫類とヒトが属する哺乳類の性決定は必ずしも同じではありません。しかし、カメの野生生態系を人類の活動で混乱させてよいはずはありません。また、それがカメの生存を危うくさせるとすれば、人類にだけそのような権利が与えられているはずありません。約1万年前に、人類は定住して農業を営むようになりました。それ以来、人類は自然環境に手を加えることによって、生活を維持してきました。その過程で、気づかずにして多くの過ちを犯してきました。野生動物に異常が起こっているとすれば、その理由の分からない現象の解明こそ重要な検討課題であり、それによってヒトには同じ異常が起こらないように方策をたてることができます。しかし、卵生の野生動物で起こる現象を捉えて、すぐに胎生のヒトにも起こるとするわけにはいきません。何故、性分化について卵生と胎生では異なるのだろうか。その進化の過程で必然的な理由があるはずです。合成化合物がどこまで性分化現象に影響をあたえるまでになっているのであろうか。これを明らかにすることも21世紀当初までに私た

ちが解決すべき重要な課題です。現在までのところ、合成化合物の女性ホルモン作用の強度に関してはその間に25万倍の差異があり、それによってホルモン作用が攪乱される効果の程度も大きな差があると予想されます。従って、ビスフェノールAなどのプラスチックから溶出する化合物に必要な以上の心配をすることはありません。しかし、これまでと同様に野放図に使用してよいというわけにもいきません。しばらくは、研究の推移をみて判断し、悪影響のない合成化合物の有効利用をはかることです。ホルモン作用“攪乱効果”などという、暗いイメージだけが先行しがちですが、女性ホルモンは本来子孫を残すための重要な役割を担うものであり、これらの機構の解明は今までに気づいていない将来の新しい生物資源の増産に導くための秘密が隠されているかもしれないと考えています。

ただし、塩素と炭素が直接結合した合成化合物、これは人類が作り出した化学結合、たとえばDDT、PCBやダイオキシンなどにもホルモン作用攪乱効果があるといわれていますが、これらの環境汚染物質についてはその可能性が薄いといえるでしょう。

最後に、ご校閲をいただいた本学部応用生物科学科井上正教授および海洋生物資源科学科朝比奈潔教授に謝意を表します。

引用文献

- 1) 内分び攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム要旨集(1998)：1^{a)} D.シーハン、内分泌攪乱化学物質の無閾値モデル、p.82. 1^{b)} L.ジレット、内分泌攪乱性汚染物質に暴露した野生動物の発生異常、p.46. 1^{c)} S.スワン、精液の質のばらつき：原因と結果の評価、p.36. 1^{d)} F.フォンサル、低用量の内分泌攪乱化学物質の作用、p.60. 1^{e)} J.アシュビー、内分泌攪乱に関するデータの再現性、p.66.
- 2) Witschi, E. (1950): *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.* 39:215.
- 3) Carlsen, E. et al. (1992): *Brit. Med.* 284:878-881.
- 4) Sharpe, R. and N. E. Skakkebaek (1993): *Lancet* 341:1392-1395.
- 5) Stillman, R. J. (1982): *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142:905-921.
- 6) Dodds, D. C. et al. (1938): *Nature* 141:247-248.
- 7) Krishnan, A. V. et al. (1993): *Endocrinology* 132:2279-2288.
- 8) Soto, A. M. et al. (1991): *Environ. Health Perspect.* 92:167-173.
- 9) 片瀬隆雄 (1998): 食べもの文化 No.252, 46-54.
- 10) Herbst, A. L. et al. (1971): *N. Engl. J. Med.* 284:878-881.
- 11) 片瀬隆雄 (1998): 化学工業 49:913-920. / 化学と生物 36:768-770.