

内分泌攪乱物質の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

分担研究者 久松 由東 国立公衆衛生院地域環境衛生学部長

研究要旨

現在、内分泌攪乱物質として疑われている物質は、我々が日常生活で使用しているものにも多く含まれ、70種にのぼる。これらの物質は、野生生物のみならず、人においても生殖器ガンや精子数の減少につながるものが指摘されている。しかし、内分泌攪乱物質の人の健康に対する影響についてはまだ研究が進んでおらず、早急にこの問題に対処する必要がある。内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌攪乱物質は免疫機能を低下させていると考えられる。そこで、Tリンパ球系及びBリンパ球系培養細胞を用い、内分泌攪乱物質が免疫機能を低下させるか否か調べる目的で、内分泌攪乱物質が培養細胞の反応性に及ぼす影響について調べた。その結果、ノニルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジシクロヘキシルはTリンパ球系及びBリンパ球系細胞の反応性を低下させることが明らかになった。

A. 研究目的

現在、内分泌攪乱物質として疑われている物質は、我々が日常生活で使用しているものにも多く含まれ、70種にのぼる。これらの物質は、野生生物に影響を及ぼすのみならず、人においても生殖器ガンや精子数の減少につながるものが指摘されているが、内分泌攪乱物質の人の健康に対する影響についてはまだ研究が進んでおらず、早急にこの問題に対処する必要がある。内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌攪乱物質は免疫機能を低下させてい

ると考えられる。そこで、内分泌攪乱物質が免疫機能を低下させるか否か調べ、内分泌攪乱物質が免疫機能に及ぼす影響に関してそのメカニズムを解明することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

対象とした内分泌攪乱物質は、ノニルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジシクロヘキシルである。

Tリンパ球系培養細胞としては、Jurkat細胞を用い、A23187とホルボルミリスレートアセテートで刺激した。Jurkat細胞を内分泌攪乱物質存在下で0~24時間までの様々な時間培養したのち刺激し、3日間、37度、5%二酸化炭素中で培養した。ハーベストする8時間前にトリチウム標識チミジンを加えてさらに培養し、ハーベストし、細胞核内とりこまれたトリチウム標識チミジンを液体シンチレーションカウンターを用いて測定し、細胞内におけるDNA合成能を比較した。Bリンパ球系培養細胞としてはRaji細胞を用い、スタフィロコッカスオーレウスコーエンIで刺激し、同様の実験を行った。

C. 研究結果

Jurkat細胞を用い、A23187とホルボルミリスレートアセテートで刺激した場合の反応性に対する内分泌攪乱物質の影響について調べた。4時間内分泌攪乱物質存在下で培養した後刺激した場合の反応性は、ノニルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ブチルベンジルでは、 10^{-7} M及び 10^{-6} M、 10^{-5} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-4} Mでは活性化がみられなかった。フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジシクロヘキシルでは、 10^{-7} M及び 10^{-6} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-5} Mでは活性化が一部抑制され、 10^{-4} Mでは活性化がみられなかった。フタル酸ジエチルでは、 10^{-4} Mでも活性化に変化はみられなかった。これらの濃度では、内分泌攪乱物質と同時に刺激を加えても同様の結果が得られた。

また、内分泌攪乱物質存在下で24時間培養した後、刺激した場合では、さらに低い濃度で活性化が抑制された。次に、Raji細胞を用い、スタフィロコッカスオーレウスコーエンIで刺激した場合の反応性に対する内分泌攪乱物質の影響について調べた。4時間内分泌攪乱物質存在下で培養した後刺激した場合の反応性は、ノニルフェノールでは 10^{-7} M及び 10^{-6} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-5} Mでは活性化がみられなかった。ビスフェノールA、フタル酸ジシクロヘキシルでは 10^{-7} M及び 10^{-6} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-5} Mでは活性化が一部抑制され、 10^{-4} Mでは活性化がみられなかった。フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチルでは 10^{-7} M及び 10^{-6} M、 10^{-5} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-4} Mでは活性化がみられなかった。フタル酸ブチルベンジルでは 10^{-4} Mで一部活性化が抑制された。フタル酸ジエチルでは、 10^{-4} Mでも活性化に変化はみられなかった。

D. 考察

培養細胞を用いた系では、ヒトリンパ球を用いた場合の反応性と同様の傾向を示し、内分泌攪乱物質のリンパ球の反応性に対するアッセイ系として用いることが十分可能と考えられる。

E. 結論

ノニルフェノール、ビスフェノールA、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジシク

ロヘキシルはTリンパ球系培養細胞であるJurkat細胞及びBリンパ球系培養細胞であるRaji細胞の各種刺激に対する反応性を抑制する作用があることが明らかになった。また、フタル酸ジエチルではそのような作用はみられなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Horikoshi S., Serpone N., Hisamatsu Y., Hidaka H., Photocatalyzed degradation of polymers in aqueous semiconductor suspensions. 3. Photooxidation of a solid polymer : TiO₂-blended poly (vinylchloride) film, Environ. Sci. Technol. 32 : 4010-4016, 1998

Enya T., Suzuki H., Hisamatsu Y., Reaction of Benzanthrone(7H-Benz [d, e] anthracene-7-one) with nitrogen dioxide alone or in admixture with ozone. Implication the atmospheric formation of genotoxic 3-nitrobenzanthrone, Bull. Chem. Soc. Jpn. , 71, 2221-2228, 1998

Enya T., Kawanishi M., Suzuki H., Matsui S., Hisamatsu Y., An unusual DNA adduct derived from the powerfully mutagenic environmental contaminant 3-nitrobenzanthrone, Chemical Research in Toxicology, 11 (12) : 1460-1467, 1998

2. 学会発表

Yamazaki. T., Okada. Y., and

Hisamatsu. Y. Effects of endocrine disruptors on lymphocyte functions, Endocrine Disruptors, Keystone Symposia, California, 1999. p.48.

久松由東、三輪孝雄、寶田 聡、日高久夫、金属酸化物共存下におけるポリ塩化ビニルの熱分解・燃焼反応生成物の変異原性、第39回大気環境学会年会、1998、9

石井聡子、大曾根美紀、稲津晃司、秋鹿研一、久松由東、トリフェニレンと二酸化窒素の反応による変異原物質の生成、第39回大気環境学会年会、1998、1

八向真帆、工藤善之、古谷圭一、久松由東、高橋千太郎、地下鉄構内と地上大気中の多環芳香族炭化水素量の比較、第39回大気環境学会年会、1998、9

久松由東、大気環境中におけるニトロアレーンの生成とその変異原性、日本環境変異原学会第27回大会、1998、11 (シンポジウム)

久松由東、三輪孝雄、寶田 聡、日高久夫、ポリ塩化ビニルの熱分解、燃焼反応生成物の変異原性、日本環境変異原学会第27回大会、1998、11