

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 岡田 由美子 国立公衆衛生院衛生獣医学部研究員

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、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、内分泌攪乱物質がヒトリンパ球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リンパ球及びBリンパ球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

ヒト末梢血よりリンパ球を調製し、リンパ球のマイトジェンに対する反応性に内分泌攪乱物質が及ぼす影響について調べた。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リンパ球に対してはコンカナバリンAを、Bリンパ球に対してはスタフィロコッカスオーレウスコーエンIをマイトージェンとして用いた。これらマイトージェンをリンパ球を内分泌攪乱物質存在下で4時間培養したのち添加し、2日間、37度、5%二酸化炭素中で培養し、トリチウム標識チミジンを加えてさらに一晩培養し、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。

C. 研究結果

ヒト末梢血から調製したリンパ球を4時間ノニルフェノール存在下で培養した後、コンカナバリンAを加えて刺激した場合を、ノニルフェノール非存在下で培養して刺激し活性化したものと比較すると、 10^{-8} MではコンカナバリンAによる活性化に変化は見られず、ノニルフェノール非存在下で培養した場合と同程度活性化されたが、 10^{-7} MでコンカナバリンAによる活性化が一部抑制され、 10^{-6} Mではほとんど活性化がみられなかった。ビスフェノールAでは、 10^{-8} M及び 10^{-7} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-6} Mではほとんど活性化がみられなかった。フタル酸ジ-2-エチルヘキシルでは、 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ではほとんど活性化がみられなかった。フタル酸ジ-

ジ-n-ブチルでは、 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。フタル酸ブチルベンジルでは、 10^{-7} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-6} M及び 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。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。次に、ヒトBリンパ球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。ヒト末梢血から調製したリンパ球を4時間ノニルフェノール存在下で培養した後、スタフィロコッカスオーレウスコーエンIを加えて刺激した場合を、ノニルフェノール非存在下で培養して刺激し活性化したものと比較すると、 10^{-6} MではスタフィロコッカスオーレウスコーエンIによる活性化に変化は見られず、ノニルフェノール非存在下で培養した場合と同程度活性化されたが、 10^{-5} MではスタフィロコッカスオーレウスコーエンIによる活性化はほとんどみられなかった。ビスフェノールA、フタル酸ジ-n-ブチルでは、 10^{-6} M及び 10^{-5} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-4} Mではほとんど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。フタル酸ブチルベンジルでは、 10^{-7} M、 10^{-6} M及び 10^{-5} Mでは活性化に変化はみられなかったが、 10^{-4} Mでは活性化が一部抑制された。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

リンパ球のマイトジェンに対する反応性及び内分泌攪乱物質存在下でのリンパ球のマイトジェンに対する反応性は、個人により若干の差が見られたが、概ね研究結果に述べたような結果が得られた。この個人差が何によるものかは推測の域を出ないが、遺伝的素因、男女差等様々考えられるが、血液中における内分泌攪乱物質レベルの違いも影響している可能性があると考えられる。

また、用いた内分泌攪乱物質では、フタル酸ジエチルを除き、全てにTリンパ球及びBリンパ球のマイトジェンに対する反応性を抑制する作用がみられたが、現在その機構について、細胞・分子レベルで解析中である。さらに、インビボでの実験を行う目的で、この結果をもとに、マウスに内分泌攪乱物質を投与しているところである。

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ヒトTリンパ球及びBリンパ球のマイトジェン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

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.

Okada. Y. Effect of NaCl in medium on virulence of *Listeria*. XIII International Symposium on Problems of Listeriosis, 1998. 6. 28- 7. 2, Halifax, Nova Scotia, Canada.