

厚生科学研究費補助金（生活安全総合事業）
分担研究報告書

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 香山 不二雄 自治医科大学衛生学教授

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、特に、最近増加したアレルギーや化学物質過敏症との関連も危惧されている。そこで、内分泌攪乱物質が、アレルギー発症に関わっているか否か調べることを目的として研究を行った。その結果、内分泌攪乱物質および植物エストロジェンは顎下腺のSS-A/Ro自己抗体を増加させること、及び胸腺細胞のアポトーシスを誘導し免疫機能に影響を与える可能性があることが、明らかとなった。

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、特に、最近増加したアレルギーや化学物質過敏症との関連も危惧されている。そこで、内分泌攪乱物質が、アレルギー発症に関わっているか否か調べ、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

1. 胸腺に及ぼす内分泌攪乱物質の影響

マウス胸腺上皮細胞のin vitro培養系に、種々の濃度の自然由来及び

人工の内分泌攪乱物質を添加して培養し、培養上清中のthymosin- α 1をHPLCを用いて定量した。また、卵巣摘出マウスに、内分泌攪乱物質を皮下投与し、胸腺重量を測定した。さらに、胸腺病理組織を観察し、フローサイトメトリーを用いて表面抗原の解析を行い、胸腺ホモジネート中のエストロジェン・レセプターアルファをenzyme immunoassay法を用いて調べた。

2. 内分泌攪乱物質の顎下腺におけるSS-A/Ro自己抗体の誘導

卵巣摘出ラットに、内分泌攪乱物質を皮下投与し、顎下腺におけるSS-A/Ro自己抗体の発現をreverse transcription polymerase chain reaction法(RT-PCR)及び*in situ* hybridization法(ISH)にて調べた。

C. 研究結果

1. 胸腺に及ぼす内分泌攪乱物質の影響

胸腺上皮細胞培養系に、 17β -エストラジオール、ジェニスタイン、クメステロール、ビスフェノールAを添加したところ、胸腺上皮細胞から分泌されるサイモシンが濃度依存的に抑制された。 17β -エストラジオールは、0.03ppb以上で、ジェニスタインとクメステロールは3ppb以上で、ビスフェノールAは3ppm以上でサイモシン分泌の抑制が見られた。

また、卵巣摘出マウスに、 17β -エストラジオールを30ng/kg、それ以外の化学物質を300ng/kg/日、14日間連続皮下投与した。15日目に胸腺重量はコントロール群に対して、それぞれ 17β -エストラジオール

群60%、ジェニスタイン43%、ビスフェノールA5%の重量減少がみられた。胸腺病理組織像ではリンパ球のアポトーシスが著しく増加し、フローサイトメトリーを用いて測定した表面抗原の解析では、コントロール群にくらべて、 17β -エストラジオール群、ジェニスタイン群、ビスフェノールA共に、CD4+CD8+が減少し、CD4+CD8-が増加していた。サイモシンの分泌も阻害された。さらに胸腺ホモジネート中のエストロジェン・レセプターアルファをenzyme immunoassay法を用いて調べた結果、卵巣摘出マウスのコントロール群とくらべ、それぞれの群で胸腺のエストロジェン・レセプターが2倍から4倍に増加していることが明らかとなった。

2. 内分泌攪乱物質の顎下腺におけるSS-A/Ro自己抗体の誘導

卵巣摘出ラットに 17β -エストラジオール、ジェニスタイン、ビスフェノールAを皮下投与したところ、 17β -エストラジオールは3 μ g/kg/日で、ジェニスタイン、ビスフェノールAは3mg/kg/日で52kDaSS-A/Ro自己抗体のmRNAの発現が増加することがRT-PCR及びISHにより明らかになった。

D. 考察

サイモシンは免疫機能の発育に重要な役割を果たすTリンパ球を分化・成熟させる働きを持つことが知られている。また、体内のエストロジェン濃度により、サイモシン濃度が変化することが知られていることから、これらの結果と併せて考えるとこれら内分泌攪乱物質が免疫機能

へ影響を及ぼしていることが推察された。

E. 結論

本研究に用いた内分泌攪乱物質は胸腺細胞のアポトーシスを誘導し、SS-A/Ro自己抗体のmRNAの発現を増加させ、免疫機能に影響を与える可能性があることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakabe K, Okuma M, Karaki S, Matsuura S, Yoshida T, Aikawa H, Izumi S and Kayama F:

Inhibitory effect of natural and environmental estrogens on thymic hormone

production in thymus epithelial cell culture. *Int. J.*

Immunopharmacol. 21(12):861-868, 1999

Sakabe K, Onoe M, Okuma M, Yoshida T, Aikawa H, Kinoue T

and Kayama F: Natural and environmental oestrogens increase expression of SS-A/Ro autoantigen in the salivary gland of ovariectomized immature rats. *Pathophysiology* 6:231-236, 2000

香山不二雄、環境ホルモンと健康障害 (I)、環境ホルモンの提起したもの、ドクターサロン、44: 55-58, 2000

香山不二雄、内分泌攪乱物質化学物質問題の現状と人の健康問題、ホルモンと臨床、47:13-20, 1999

香山不二雄、環境ホルモンの健康影響、保健婦雑誌、55:597-603, 1999

香山不二雄、環境ホルモン物質の人への影響、安全工学、38: 108-112, 1999

香山不二雄、化学物質の環境へのリスク、環境中のホルモン様物質、臨床検査、43:1369-1374, 1999

香山不二雄、外因性内分泌攪乱化学物質 (環境ホルモン) の生体への影響と検査、健康への影響、SRL宝函、23:70-73, 1999

香山不二雄、内分泌攪乱物質問題と人の健康問題、ホルモンと臨床 '99秋季増刊号、ステロイドホルモン研究の進歩1999、13-20、医学の世界社、1999

2. 学会発表

Sakabe K, Kayama F, Yoshida T and Aikawa H: Low dose effects of environmental endocrine disruptors on female mouse thymus, with special reference to T cell apoptosis. *International Symposium, Environmental Hormones: Past, Present, Future New Orleans, LA USA October 18-20, 1999*

山崎聖美、岡田由美子、久松由東、
香山不二雄:内分泌攪乱化学物質のリンパ球の反応性に及ぼす影響について、第2回日本内分泌攪乱化学物質学会、p.157, 1999