

## 内分泌かく乱化学物質のエストロジェン代謝系への影響評価に関する研究

分担研究者 兜 真徳 環境庁国立環境研究所上席研究官

### 研究要旨

内分泌かく乱物質によるエストロジェン代謝系への影響評価を目的として、以下の2つの調査を実施した。1つは、ダイオキシンへの曝露が疑われた集団における血中ダイオキシン濃度とリンパ球におけるCYC1a1, CYP1a2およびCYC1b1のmRNA発現量との関連評価である。今1つは、出産のため入院中の妊婦46名について、食事調査により魚、肉、乳製品などの摂取量推定をまず行い、それらの摂取量が多い人と少ない人10名を対象として、母乳中ダイオキシン濃度と尿中フタル酸エステル、ビスフェノールAを測定する。尿サンプルについては、さらにエストロジェンとその代謝物である2-及び16 $\alpha$ -ヒドロキシシエストロンを測定する。結果、前者については、血中ダイオキシン濃度と3種の代謝酵素mRNA発現量との相関を調べたが、明らかな相関は認められなかった。後者については、魚類等の摂取量と各内分泌かく乱物質との関係、母乳中ダイオキシン濃度と尿中エストロジェンとその代謝物との関係、同じ測定法で測定された集団における母乳中ダイオキシン濃度との比較など一連の検討を予定しているが、調査が予想以上に長引いたため、上記測定が遅れているため、結果については次年度報告する。

### A.研究目的

本分担研究では、内分泌かく乱物質としてダイオキシン類、フタル酸エステル、ビスフェノールA(可能であれば、さらに増加)を取り上げ、それらへの曝露による、とくにエストロジェン代謝系への影響評価を行うことを目的としている。初年度の平成11年度には、動物実験でダイオキシン曝露のバイオマーカーの候補とされているCYP類のmRNA発現量との関係を調べるため、ダイオキシンへの曝露が疑われる集団について、リンパ球のエストロジェン代謝酵素CYP1a1, CYP1a2, CYP1b1のmRNA発現量を測定し、血中ダイオキシン濃度との関連性を検討した。また、別途、脂肪摂取量とこれら内分泌かく乱物質曝露量との関係があるかどうかを調べるため、出産のため入院中の妊婦46名に食品別摂取頻度調査によって魚・肉・ミルク類の摂取量を推定した後、さらに、摂取量の多い人と少ない人10名から母乳と尿

サンプルを採取し、上記内分泌かく乱物質を測定している。

### B.研究方法

ダイオキシンへの曝露が疑われた男子90余名(年齢20-74才)を対象として、健康調査時に静脈血約10mlを採取し、瞬時に急冷凍し、以下の測定まで冷凍保存した。これらサンプルを用い、リンパ球中のエストロジェン代謝酵素(CYP1a1, CYP1a2およびCYP1b1)のmRNA発現量を、別途論文に記載の新たなPCR法を用いて定量した。

また、別途、出産のために入院中の妊婦46名を対象として、国立がんセンターで開発された栄養調査用紙を用いた食品別摂取頻度と同時に、母乳・尿調査への協力をお願いした。調査協力に承諾の得られた人10名を対象に母乳および尿を採取し、母乳中ダイオキシンおよび尿中フタル酸エステル、ビスフェノールAとエストロジェン代謝物(2-OH-

estrone, 16 $\alpha$ -OH-estrone) を測定中である。なお、上記調査依頼の時点において、調査内容を書面と口頭で説明し、承諾を得た。とくにダイオキシン測定には約2ヶ月を要するため、現在測定結果待ちの状態である。測定法の詳細と結果については、次年度報告する。

(倫理面への配慮)

対象者には、健康調査時に、文面と口頭において血液検査等に関するインフォームドコンセントを得た。

### C. 研究結果

上記ダイオキシン曝露が疑われた集団における血中ダイオキシン濃度と CYP1a1, CYP1a2 および CYP1b1 の mRNA 発現量との有意な単相関関係は認められなかった。ただし、血中ダイオキシン濃度は、年齢によっても変動することが知られており、その他の変動要因も考慮しつつさらに解析中である。なお、血中ダイオキシン濃度は null~848 pg TEQ /g fat に分布しており、筆者が別途調べている汚染地域住民の濃度範囲 (null~30pg TEQ/g fat) と比較するとかなり高値の者が含まれていたが、これら血中ダイオキシン濃度の測定値については、測定機関ごとに変動が大きく、国内的にも、国際的にも問題があるところであり、今回用いた測定系の精度等えお含め、さらに検討中である。

また、2つ目の調査における母乳中ダイオキシンと尿中フタル酸エステル、ビスフェノール A、及びエストロジェンとその代謝物の測定は、少なくとも2ヶ月を要する状況であり、結果は次年度に報告する。

### D. 考察

これまでの動物実験によれば、ダイオキシン投与によって、今回調べた CYP 類が誘導されることが知られている。しかし、今回の結果では、血中ダイオキシン濃度との有意な単相関関係は認められなかった。同様な検討は、イタリア・セベソの高曝露集団についても行われている

が、これまでのところ相関関係は明らかとされていない。

上記動物実験では1回投与の急性反応を調べているが、人集団では、主として食事を介して微量慢性摂取により死亡蓄積をしているダイオキシンへの反応を見ていることになる。

なお、次年度にはさらに対象者を拡大し、食事調査による高脂肪摂取者のスクリーニングをまず行い、生体試料の内分泌かく乱物質濃度等を調べるほか、そのうちの内分泌かく乱物質曝露濃度が大きく異なる対象者を区別して、エストロジェン受容体、Ah 受容体などについても、内分泌かく乱物質曝露との関係をさらに検討する。また、食事調査から内分泌かく乱物質の生体負荷量を推定する手法の検討などを行う予定であり、それらの結果を併せて報告する。

### E. 結論

ダイオキシンへの曝露が疑われる集団について、ダイオキシン負荷に対応して活性が上昇する可能性が示唆されている (バイオマーカ) と考えられる CYP 類と血中ダイオキシン濃度との関連性を調べた結果、明らかな単相関関係は認められなかった。さらにダイオキシンの測定法、あるいは CYP 類の変動要因を考慮した解析を継続中である。また、食事調査による魚・肉・ミルク摂取と内分泌かく乱物質生体負荷量との関係、さらに生体負荷量とエストロジェン代謝系影響との関係などについての検討結果については、測定値が得られるのをまって解析し、報告する予定である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Kabuto M, Akiba S, Stevens RG, Neriishi K and Land CE: A Prospective Study of Estradiol and Breast Cancer in Japanese Women. *Cancer Epidemiology, Biomarker and Prevention* (in press)

#### 2. 学会発表

G. 知的所有権の取得状況 とくにない