

内分泌かく乱化学物質の人の生殖機能等への影響に関する研究

主任研究者 津金 昌一郎 国立がんセンター研究所支所 臨床疫学研究部長

研究要旨 内分泌かく乱化学物質 (EDC) と健康影響の関連を検証する疫学研究をデザインするための基礎的情報を得るために、人への暴露とその要因 (暴露源) に関する検討、人の健康影響評価のためのバイオマーカーの開発、人の健康影響に関するエビデンスの検討を行った。マーケットバスケット方式で集めた食品の分析による1日摂取量は、PCB 0.13 μ g, DDE 0.30 μ g (1999年)と推定されたが、他の農薬系EDC 8種類は検出されなかった。魚介類が主な摂取源だった。一般地域住民の48時間尿中のビスフェノールA (BPA) 排泄量は、平均 (標準偏差) 83 (54) μ gであり、12~245mgの範囲に広く分布していた。ビスフェノールAジグリシジルエーテル (BPADGE) の職業曝露者と対照者の尿中BPAの平均濃度はそれぞれ41, 61ng/mgクレアチニンであり、両者に有意な差が認められなかった。末梢血白血球のCYP1B1のmRNA発現量が、タバコ煙中のダイオキシン類似化学物質の曝露指標となる可能性が示唆される一方、職業的な多環芳香族炭化水素やダイオキシンによる曝露では、変化が認められなかった。PCBとがんに関する文献レビューを行った結果、いくつかの部位においてリスク上昇の可能性が示唆された。そして、子宮内膜症とEDCとの関連を検証するための症例対照研究のプロトコールを作成し、倫理審査を受け、症例収集の準備を終了した。以上より、PCB, DDE, BPAなどの日常環境中に存在し、人が暴露していることが示されたEDCが、子宮内膜症やある種のがんの発症に関連しているか否かを疫学的に検証する必要があるとの結論を得た。

分担研究者

津金昌一郎 国立がんセンター研究所支所
臨床疫学研究部長

兜 真徳 国立環境研究所 上席研究官

山本 正治 新潟大学 医学部長

(研究協力者：国立がんセンター研究所支所
臨床疫学研究部・花岡知之、ハーバード公衆
衛生大学院栄養学教室・坪野吉孝、東京慈恵
会医科大学・佐々木寛)

A. 研究目的

日常の生活環境における内分泌かく乱化学物質 (EDC) への暴露が、人の健康影響と関連するか否かを疫学的に検討することを目的と

する。平成11年度は、疫学研究をデザインするための基礎的情報 (暴露と健康影響指標) を得ると共に、EDCによる健康影響のひとつとであると疑われている子宮内膜症の発症へのEDC暴露のリスクを明かにするための症例対照研究を計画する。

B. 研究方法

1. EDCの人の健康影響に関する疫学研究実施のための基礎的検討

(1) 食品からの暴露に関する検討

厚生省保健医療局地域保健・健康増進栄養課が発表している国民栄養調査の「食品群別摂取量(地域ブロック別)の北陸」のデータに基づいて、1994年から1999年まで、毎年6月

から7月に新潟市内の大型スーパーマーケットで食品を購入し、購入後直ちにマーケットバスケット方式の試料調整を行った。食品群は13群に分けた。すなわち米、雑穀・芋、砂糖・菓子、油脂、豆・豆加工品、果実、有色野菜、野菜・海草、嗜好品、魚介、肉・卵、乳・乳製品、加工食品である。

PCB, HCB, BHC(ヘキサクロロシクロヘキサン)、DDT, DDE, アルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロール、ヘプタクロールエポキシサイドの10物質を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は生体試料や個人情報扱っていないことから、研究実施に際して、倫理的問題がない。

(2) 人への暴露とその要因(暴露源)に関する検討

一般地域住民41名について、48時間蓄尿中のビスフェノールA(BPA)排泄量の測定を行った。また、職業的にビスフェノールAジグリシジルエーテル(BPADGE)に暴露されている男性42名と同工場内の暴露されていない年令、喫煙をマッチさせた男性50名についてスポット尿中のBPA濃度の測定を行った。いずれの場合も、測定はELISAによって行い、BPAの経口摂取源として疑われる缶飲料等の摂取をはじめとした生活習慣に関する質問票調査も同時に行った。

(倫理面への配慮)

研究参加者に対して口頭と書面で説明を行い、研究参加の同意を得た。

(3) 人の健康影響評価のためのバイオマーカーの開発

コークス炉工場において比較的高濃度の多環芳香族炭化水素(PAH)に暴露されている男性171名と同工場内で暴露されていない男性58名を対照に、末梢白血球中のチトクロームP4501B1(CYP1B1)のmRNA発現量の測定を行い、mRNA発現量とPAHの内部暴露量との関係を調

べた。mRNA発現量の測定はリアルタイムRT-PCRで行った。また、ダイオキシンへの曝露が疑われた男性90余名(年齢20-74才)を対象として、リンパ球中のエストロゲン代謝酵素(CYP1A1, CYP1A2およびCYP1B1)のmRNA発現量を、RT-PCR法を用いて定量した。

(倫理面への配慮)

研究参加者に対して口頭や書面で説明を行い、研究参加の同意を得た。生殖細胞系列の遺伝子解析は含まれない。

(4) 人の健康影響に関するエビデンスの検討

内分泌かく乱作用が疑われているポリ塩化ビフェニル類(PCBs)と発がんに関する分析疫学研究について文献レビューを行った。医学文献データベースMEDLINEにおいて、「PCB & cancer」というキーワードによって検索した文献とそれらの中で引用されている文献などを参照して、これまでの研究結果を整理した。

(倫理面への配慮)

文献レビューのため、倫理的な問題はない。

2. EDCの健康影響を検証するための疫学研究

子宮内膜症とEDCとの関連を解明するために症例対照研究を行う。不妊治療を目的として東京慈恵会医科大学付属病院とその関連病院を受診した20~44歳の未経産婦で、腹腔鏡検査によって子宮内膜症StageII以上と診断された者を症例、StageI以下と診断された者か不妊の原因が男性側にあることが判明している者を対照として、血清中、尿中、脂肪組織中のEDCやホルモンの濃度、チトクロームP450系酵素mRNA発現量や関連する遺伝子多型を測定し、子宮内膜症発症とEDCとの関連について検討を行う。

(倫理面への配慮)

研究参加者の人権擁護やインフォームドコンセントの取得方法を明記した研究プロトコールを作成し、東京慈恵会医科大学倫理審査委員会に申請し、平成11年12月8日に承認された。

C. 研究結果

1. EDCの人の健康影響に関する疫学研究実施のための基礎的検討

(1) 食品からの暴露に関する検討

PCB: 検出されたのは魚介類群と肉・卵群で、魚介類群からは必ず検出され、その濃度は数 ppb～数 10ppb の範囲であった。肉・卵群の検出濃度は魚介類より 1/10 程低く、1～数 ppb 程度であった。また PCB の 1 日摂取量は 0.02～0.6 μg の範囲であり、摂取量は近年減少傾向にあった。

HCB: 殆ど検出されず、稀に魚介類群で数 ppb 検出される程度で、他の食品群からは全く検出されない。特に 1995 年以降の試料から検出されないことから最近の汚染は少ないと推測された。

BHC: 野菜・海草群及び、魚介類群で時々検出され、その検出レベルは 0.2～10ppb 程度であった。また 1994 年には 1ppb 以下の濃度であるが、肉・卵類、乳・乳製品群及び、加工食品群でも検出された。1995 年以降は野菜・海草群、魚介類群以外からは検出されなかった。また残留 BHC は α -体及び β -体で殆ど占められており、 γ -体と δ -体はごく僅かであった。試算した BHC の 1 日摂取量は 0.1 μg であった。

DDT: 魚介類群でしばしば検出され、1ppb 程度であった。他の食品群では、有色野菜群で稀に DDT 代謝物質の DDD が検出されることがあった。DDT の 1 日摂取量は 0.02～0.24 μg の範囲にあった。

DDE: DDT の代謝物質である DDE は魚介類群、肉・卵群で検出された。前者で 1～数 10ppb 程度、後者で数 ppb～10ppb 程度であった。また稀に有色野菜以外の野菜の群で 0.1～1ppb 検出される。DDE の 1 日摂取量は 0.2～2.3 μg の範囲にあった。

アルドリノ: 全ての群で検出されなかった。

エンドリン: 全ての群で検出されなかった。

ディルドリン: 果実類群及び野菜・海草群で、0.1～1ppb の範囲で稀に検出されることがあ

った。

ヘプタクロール: 全ての群で検出されなかった。

ヘプタクロールエポキシサイド: 1994 年の雑穀・芋類群、豆・豆加工品群、有色野菜群及び加工食品群から検出された。その程度は 0.2ppb であった。

(2) 人への暴露とその要因(暴露源)に関する検討

一般地域住民における 48 時間尿中の BPA 排泄量は、平均(標準偏差) 83 (54) μg で、分布は正規分布ではなく、12～245mg の範囲に広く分布していた。最近 1 年の缶コーヒー摂取頻度が高くなるにつれて排泄量が増加する傾向がみられたが統計学的な有意差は検出されなかった。

BPADGE 曝露者と対象者の尿中 BPA の平均濃度(標準偏差)はそれぞれ 41 (39), 61 (70) ng/mg クレアチニンであり、両者に有意な差はみられなかった。曝露者で採尿当日に缶コーヒーを飲んだ群(58ng/mg クレアチニン)は飲まない群(38ng/mg クレアチニン)に比較して若干高い傾向がみられたが統計学的な有意差は認められなかった。

(3) 人の健康影響評価のためのバイオマーカーの開発

コークス炉工場の PAH 曝露者を曝露の程度によって 3 群に分け、対照群との計 4 群で CYP1B1 の mRNA 発現量を比較したところ、4 群間で有意な差はみられなかった。しかし、喫煙群で非喫煙群と比較して統計的有意な上昇がみられた。

一方、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(null～848 pg TEQ /g fat) と CYP1A1, CYP1A2 および CYP1B1 の mRNA 発現量との有意な単相関係は認められなかった。

(4) 人の健康影響に関するエビデンスの検

討

PCBとがんに関するこれまでの研究を総括すると、油症患者や職業性暴露に関する後ろ向きコホート研究から、皮膚癌と肝癌のリスクの上昇が示唆され、一般集団のコホート内症例対照研究から、乳癌リスクとの関連がないことと膀胱癌および非ホジキンリンパ腫のリスク上昇の可能性が示唆された。

2. 子宮内膜症とEDCとの関連を解明するための症例対照研究

研究プロトコールを作成し、現在までに、そのプロトコールが東京慈恵会医科大学倫理審査委員会に承認され、症例収集の準備を終了したところである。今後、18ヶ月で症例収集を行う予定である。

D. 考察

食品からはPCB, BHC, DDT, DDEなどが、主として魚介類群や肉類・卵類から検出されたが、いずれも経年的には漸減傾向を示している。しかしながら、1999年時点の1日摂取量($\mu\text{g/day}$)は、PCBで0.13、DDEでは0.30と推定されており、これらのEDCが魚介類を通じて、一定量体内に摂取されていることが示された。但し、その他のEDCは食品由来の暴露は無視できるものと思われる。

一般地域住民の尿中BPA排泄量は、分布が正規分布ではなく、かつ個人差がみられたことから生活環境に由来する暴露の存在が考えられた。缶飲料などの内面のコーティング剤からのBPAの溶出が報告されているが、本調査の対象者では、缶コーヒー類摂取との間に統計的に有意な関連はみられなかった。質問票調査の結果から各種食品の摂取量の計算を行い、それらとの関係の解析を進めている。同一対象者について、血清PCBや有機塩素系農薬などの測定を、現在実施中である。また、出産のため入院中の妊婦を対象に、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を測定しつつあり、食事との関連を

検討する。尿については、さらにエストロゲンとその代謝物である2-及び16 α -ヒドロキシエストロンを測定し、EDCが内分泌系をかく乱しているのか否かを検討する。

BPADGEはエポキシ樹脂の硬化剤として使用され、BPAと同様にプラスチック容器などから微量ながら溶出することが確認されている。また、コンタミネーションとしてBPAの混在も疑われる。本研究の結果からは、BPADGEに由来するBPA曝露はほとんどないことが示された。また、BPADGEが代謝される過程でBPAにならないことを人において確認した。なお、BPAの測定はELISAによって行ったが、今回使用した抗体について、考えられる類似のEDCとの交差反応の有無を調べたところ、これまで問題となる交差反応はみられていない。

EDCの健康影響評価のためのバイオマーカーとして、末梢血白血球でダイオキシンなどによって誘導されることが確認されているCYP1B1のmRNA発現量を検討したところ、喫煙によって上昇することが確認され、タバコ煙中のダイオキシン類似化学物質によって誘導され、曝露指標となる可能性が示唆された。しかしながら、血中ダイオキシン濃度が特別に高い人にCYP1B1のmRNA発現量が高いという結果は得られなかった。mRNA発現量や血中ダイオキシン濃度の定量の問題、曝露量や誘導される化学物質の種類などの問題を含めて、今後の検討課題にしたい。

PCBとがんに関する疫学研究については、環境中の低レベルのPCBに暴露している一般集団を対象とした研究は欧米からの報告が大半であり、今後はわが国においても一般集団を対象として、環境中に存在するPCB曝露とがんとの関連性を検討することが重要であると考えられた。また、食品からの曝露量としてはDDEが比較的多いことが分かったので、有機塩素系農薬類などがんと関連についても、文献により人での知見を総括する必要がある。

子宮内膜症とEDCとの関連を解明するための症例対照研究は、米国国立環境保健センタ

一で実施されている研究と同一のプロトコルとし、血清中EDC類は同センターで測定を行うため、得られた結果については米国人との比較検討が可能であり、わが国のEDC暴露レベルとその健康影響についての位置づけを知ることができると考えられる。

E. 結論

わが国におけるEDC暴露の状況と暴露源を明かにする目的で、食品由来のEDC10物質や一般地域住民における48時間尿中のビスフェノールA排泄量を測定した結果、生活環境由来の暴露の存在を示唆する知見が得られた。BPAと同様にエポキシ樹脂に由来する体内への摂取が考えられるBPADGEについて、職業曝露者の尿中BPA濃度を測定したが、BPADGEは代謝の過程でBPAにはならないことが示された。健康影響評価のためのバイオマーカーとして末梢血白血球のCYP1B1のmRNA発現量について検討した結果、タバコ煙中のダイオキシン類似化学物質の暴露指標としての可能性が示される一方、職業的な多環芳香族炭化水素やダイオキシンによる暴露では、変化が認められなかった。PCBとがんに関する文献レビューでは、皮膚癌、肝癌、膵臓癌および非ホジキンリンパ腫のリスク上昇の可能性が示された。

以上より、PCB, DDE, BPAなどの日常環境中に存在し、人が暴露していることが示されたEDCが、子宮内膜症やある種のがんの発症に関連しているか否かを疫学的に検証する必要があるとの結論を得た。

F. 研究発表

1. 論文発表

坪野吉孝、津金昌一郎：内分泌攪乱化学物質のヒト健康影響に関する疫学的アプローチ、ホルモンと臨床 1999;47:13-19.

Sasaki H, Oda M, Ohmura M, Akiyama M, Liu C, Tsugane S, Terashima Y, Tanaka T. Follow up of women with simple ovarian cysts detected by

transvaginal sonography in the Tokyo metropolitan area. *British J. Obstetrics and Gynaecology* 1999;106:415-420

Tsubono Y, Tsugane S, Gey F. Plasma antioxidant vitamins and carotenoids in five Japanese populations with varied mortality from gastric cancer. *Nutr. and Cancer*. 1999;34:56-61

Kobayashi M, Sasaki S, Hamada S G, Tsugane S. Serum n-3 fatty acids, fish consumption and cancer mortality in six Japanese populations in Japan and Brazil. *Jpn. J. Cancer Res*. 1999;90:914-921

Yamamoto M, Serra I, Ogoshi K, et al. Epidemiology of Gallbladder and Bile Duct Cancers. *Smith-Gordon and Nishimura, London*, 1999.

Hori Y, Nakamura K, Yamamoto M, et al. Geographical variations in the concentration of biliary free fatty acids with anti-mutagenic action. *Mutation Res* 1999;444:41-7.

山本正治、遠藤和男、中平浩人、中村和利：水道水源別にみたがん標準化罹患比の生態学的研究. *日衛誌* 1999;54:526-33.

中平浩人、山本正治：肝内胆管癌の疫学. 肝・胆・膵フロンティア 基礎から臨床まで、診断と治療社、東京、1999.

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

Tsugane S, Sasaki S, Sobue T, Baba S. Japan public health center-based prospective study on cancer and cardiovascular diseases (JPHC

STUDY) - baseline and follow-up surveys. The 15 International Scientific Meeting of the International Epidemiological Association. 31 August-4 September 1999. Florence-Italy

Yamamoto S, Sobue T, Sasaki S, Baba S, Tsugane S. Japanese exposure distribution between and within area in JPHC STUDY baseline data. The 15 International Scientific Meeting of the International Epidemiological Association. 31 August-4 September 1999. Florence-Italy

Fahey M, Sasaki S, Kobayashi M, Akabane M, Itoi Y, Takahashi T, Tsugane S. Seasonal variation in dietary nutrient intake in regional Japan. The 15 International Scientific Meeting of the International Epidemiological Association. 31 August-4 September 1999. Florence-Italy

Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S. Geographic differences in serum fatty and acid dietary fish consumption among Japanese in Japan and Brazil. The 15 International Scientific Meeting of the International Epidemiological Association. 31 August-4 September 1999. Florence-Italy

山本正治: 内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響に関する疫学的アプローチ. Forum Ecology 2000、2000年2月、東京.

G. 知的所有権の取得状況

該当せず