

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)  
総括研究報告書

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 日常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して、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の健康影響を検証するための子宮内膜症及び乳癌の疫学研究を開始した。一般地域住民における血清中の有機塩素系農薬の中央値(範囲)は、 $\alpha$ -HCH: 0.50(0.05-1.50)、HCB: 0.20(0.02-0.70)、DDE+DDT: 5.0(0.9-31.0) ng/mLであり、詳細な食事調査で把握した特定食品群の摂取量との関連が示唆された。魚の摂取量が多いと考えられる地域の妊婦の母乳中ダイオキシン濃度の平均値(範囲)は、15.3(4.8-25)及び17.4(5.6-28) pg/g-fat(それぞれInternational-TEF及びWHO(1998)-TEFを用いた場合)であり、魚摂取量が多いほど高くなる傾向が示された。また、手術の際に採取した地域住民の脂肪組織中の有機塩素系化合物残留量の調査を開始した。ビスフェノールAジグリシジルエーテルの職業暴露者と対照者の尿中BPA濃度を高速液体クロマトグラフ-電気化学検出器により検討したところ、暴露者が高い値を示し、血漿中の卵胞刺激ホルモンが暴露群で有意に低かった。文献によるエビデンスの検討では、子宮体がんについてはEDCとの関連を示す研究はなく、子宮内膜症についてはEDCとの関連について一致した結果は得られていなかった。EDCと子宮内膜症の関連を検証するための症例対照研究では症例収集が進行中であり、すでに子宮内膜症35例、対照例49例を収集した。また、乳癌と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、症例収集の準備を完了した。

分担研究者

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・医学部長  
佐々木寛・東京慈恵会医科大学  
産婦人科学教室・助教授

研究協力者

花岡知之・国立がんセンター研究所  
支所臨床疫学研究部主任  
研究官

坪野吉孝・東北大学大学院医学系研究科  
社会医学講座公衆衛生学分野  
講師

A. 研究目的

日常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12年度は、〔1〕疫学研究を実施するための基礎的情報を得るために、(1)人へのEDC暴露と、暴露に寄与する生活習慣について検討する

とともに、(2)横断面研究によってEDC暴露の健康影響およびその指標について検討を行う。さらに(3)人の健康影響に関するエビデンスについて文献的検討を行う。

また、〔2〕EDCによる健康影響を明らかにするための疫学研究として、(1)昨年度にプロトコールを作成した子宮内膜症の症例対照研究で症例収集を行い、さらに(2)EDCによる健康影響のひとつであることが疑われている乳癌発症へのEDC暴露のリスクを明らかにするために症例対照研究を開始する。

## 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)人へのEDC暴露とその要因(暴露源)に関する基礎検討

(1-1)脂肪組織中の有機塩素系化合物残留量と食事等との関連

地域住民で胃がん又は大腸がんの手術を行った者37名について、手術の際に摘出した臓器の非がん部(大網)を採取した。その脂肪組織中のPPCBの残留量を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフで、DDT、 $\alpha$ -hexachlorocyclohexane( $\alpha$ -HCH)及びクロルデンの残留量をガスクロマトグラフ質量分析計で測定する。また、自記式調査票によって食事、職業、居住地の環境特性等について調べ、それらの関連を検討する。

(倫理面への配慮)

新潟大学医学部倫理委員会に文書及び口頭で説明し、実施の承認を得た(平成12年8月17日)。研究参加者に対して手術前に口頭で研究の説明を行い、自署によって研究参加の同意を得た。

(1-2)血中の有機塩素系農薬量と摂取食品との関連

一般地域住民41名について、血清中の

有機塩素系農薬、 $\alpha$ -HCH、Hexachlorobenzene(HCB)、DDD、DDE及びDDTの測定をガスクロマトグラフ-質量分析器で行い、同時に詳細な自記式食事履歴質問票を使用して食品摂取量について調査し、それらの関連を検討した。

(倫理面への配慮)

研究参加者に対して口頭と書面で研究の説明を行い、自署によって研究参加の同意を得た。

(1-3)母乳中のEDCと食事等との関連

魚の摂取量が多いと考えられる地域の妊婦46名について食品別摂取頻度調査を行い、魚・肉・牛乳類の摂取量を推定した後、7名から母乳と尿を採取し、母乳中ダイオキシン類および尿中フタル酸エステル、ビスフェノールA及びエストロゲン代謝物(2-OH-estrone, 16 $\alpha$ -OH-estrone)を測定した。さらに魚の摂取量が多いと考えられる別の集団から約40名の母乳提供者を選出し、残留性農薬類の測定を加えた同様な調査を開始した。

(倫理面への配慮)

研究参加者に対して口頭と書面で研究の説明を行い、自署によって研究参加の同意を得た。

(2)人でのEDC暴露の影響およびその指標に関する基礎検討

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、スポット尿中のビスフェノールA(BPA)濃度の測定を高速液体クロマトグラフ-電気化学検出器で行った。同時に血漿中の卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体刺激ホルモン(LH)、テストステロンの測定を行い、それらの関連を検討した。

(倫理面への配慮)

研究参加者に対して口頭と書面で研究の説明を行い、自署によって研究参加の

同意を得た。

### (3) 人の健康影響に関するエビデンスの検討

ダイオキシンや有機塩素系化合物などのEDCと、子宮体がんおよび子宮内膜症に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行い、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

### (2-1) 子宮内膜症の症例対照研究

昨年度に作成したプロトコール(別添資料1)にしたがって子宮内膜症及び対照例の症例収集を開始した。調査期間は2年を予定とする。対象者の収集に18ヶ月程度を要する予定である。

(倫理面への配慮)

研究プロトコールはすでに東京慈恵会医科大学倫理審査委員会承認されている(平成11年12月8日、マイナーチェンジについて追加の承認平成13年1月29日)。さらに国立がんセンターと国立環境研究所の倫理審査委員会においても承認されている。研究参加者に対して書面で研究の説明を行い、自署によって研究参加の同意を得ている。

### (2-2) 乳癌の症例対照研究

乳癌とEDCとの関連を解明するために多施設症例対照研究を行う。初発の乳癌で調査期間中に長野県内の3病院(長野松代総合病院、長野赤十字病院、長野市民病院)に入院した20歳以上75歳未満の女性入院患者全員を症例、人間ドック受診予定者の女性で上記症例に対して年齢(±3歳)と居住地域が一致する者のうち最も年齢に近い1名を対照とする。生活習慣に関する質問票調査及び血清中の

EDCやホルモン、チトクロームP450系酵素など環境化学物質の代謝に関連する遺伝子多型を測定し、乳癌発症と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、国立がんセンター倫理審査委員会に申請し、平成12年12月27日に承認された(別添資料2)。

## 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) 人への暴露とその要因(暴露源)に関する検討

##### (1-1) 脂肪組織中の有機塩素系化合物残留量と食事等との関連

組織からの脂肪抽出を終わり、PCB、DDT、BHC及びクロルデンについて分析中である。

##### (1-2) 血中の有機塩素系農薬量と摂取食品との関連

一般地域住民における血清中の有機塩素系農薬は、-HCH、HCB、DDEについては全員において検出された。DDDは7名のみで検出された。-HCH、HCB、DDE+DDTの中央値(範囲)は0.50(0.05-1.50)、0.20(0.02-0.70)、5.0(0.9-31.0) ng/mLであった。-HCHは米と牛乳の摂取量、HCBは魚摂取量、DDE+DDTは魚摂取量との関係が示唆された。しかし、それらの関連はいずれも断定できるような明確なものではなかった。

##### (1-3) 母乳中のEDCと食事等との関連

妊婦7名の母乳中ダイオキシン濃度は、International-TEF及びWHO(1998)-TEF(いずれもCo-PCB12種を含む)を用いた場合の平均値(範囲)は、それぞれ15.3(4.8-25) pg/g-fat及び17.4(5.6-28) pg/g-fatであった。母乳中ダイオキシン

濃度は授乳による低下傾向が認められた。初産5名の間で、魚摂取量及び肉類摂取量との相関をみると、魚摂取量が多いほど高くなる傾向が示されたが、統計的には有意ではなかった。尿中フタル酸エステル、ビスフェノールAはいずれも検出限界以下であった。

## (2) 人でのEDC暴露の影響およびその指標に関する基礎検討

BPADGE暴露者と対照者の尿中BPA濃度(中央値)は、それぞれ1.06、0.52 pmol/ $\mu$ molクレアチニンで、前者が統計的に有意に高かった。血漿中のホルモンについては、FSHが暴露群で統計的に有意に低く(暴露群5.3, 対照群7.6 mIU/mL)、LHとテストステロンについては差がなかった。FSHと尿中BPA濃度の間には弱い相関がみられた(順位相関係数-0.19, P=0.08)。

## (3) 人の健康影響に関するエビデンスの検討

EDCと子宮体がんおよび子宮内膜症に関するこれまでの研究を総括すると、子宮体がんについては、人口ベースの二つの症例対照研究でいずれもDDTやPCB等の血清レベルによる明らかなリスク上昇を認めなかった。子宮内膜症については、病院ベースの小規模な症例対照研究が四つ報告されていた。症例で、血清PCBレベルの上昇を認めるものと認めないもの、ダイオキシンレベルの上昇を認めるものと認めないものがあり、結果は不一致だった。

## 2. EDCの健康影響を検証するための疫学研究

### (2-1) 子宮内膜症の症例対照研究

2001年2月28日までに子宮内膜症35例、対照例49例を収集した。腹腔鏡下の内膜症進行期分類の内訳は、内膜症群: 期5例、期12例、期18例、対照群: 期13

例、内膜症なし36例であった。

### (2-2) 乳癌の症例対照研究

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国立がんセンター倫理審査委員会に承認され、症例収集の準備を完了したところである。今後、24ヶ月で症例収集を行う予定である。

## D. 考察

諸外国からのこれまでの報告では、摂取食品と体内の有機塩素系化合物の残留レベルとの関連が示されている。本年度の検討で、地域住民の血清中の有機塩素系農薬や母乳中のダイオキシンと、食品摂取量との関連が示唆される結果が得られたことから、日本人の食習慣についても、それに由来する暴露が存在することが考えられた。しかし関連は明確ではないため、現在測定中の体内脂肪中のEDC量等のデータを利用してEDC残留に寄与する食習慣等の要因についてさらに検討を行う。血中の何種類かの有機塩素系化合物や母乳中のダイオキシンについては、調査した全員について検出されていることから、EDCの暴露状況と健康影響に関する規模の大きい疫学調査が必要である。

エポキシ樹脂硬化剤BPADGEの暴露者と対照群での尿中BPA及び血漿中ホルモンレベルの比較で、FSHと尿中BPA濃度の間に関連がみられた。本研究は横断面の観察研究であり、このFSHの変動が一時的なものか、精子形成などの臨床的な変化に結びつくものかは不明である。今後、BPA暴露の内分泌系への影響についてはさらなる調査が必要である。

EDCと子宮体がんおよび子宮内膜症に関しては、これまでの疫学的知見はきわめて乏しく、EDCと子宮体がんおよび子宮内膜症との因果関係を適切に判断することは困難と思われた。子宮体がんに関す

るコホート内症例対照研究や、子宮内膜症に関するより大規模な症例対照研究の必要性が文献調査から示唆された。

子宮内膜症の症例対照研究では月間7例以上のペースで収集が行われており、予定通りに症例収集を遂行できるものと考えられる。

乳癌とEDCとの関連を解明するための症例対照研究は、欧米からの報告が大半であり、わが国からの報告はない。欧米諸国と比較して罹患率が低く、しかし最近増加しているという特徴をもつ日本人の乳癌に関する検討はEDCと乳癌発症についての関係を解明うえで有益な情報をもたらすと考えられる。

#### E . 結論

わが国におけるEDC暴露状況と暴露源を明かにする目的で、地域住民における血清中、体脂肪中の有機塩素系化合物、母乳中のダイオキシンの測定を行った。食事摂取との関連を検討したところ、血清中有機塩素系農薬及び母乳中ダイオキシンについて食事由来の暴露の存在を示唆する結果が得られた。EDC暴露の影響およびその指標を検討する目的で、BPADGE職業曝露者の尿中BPA濃度と血漿中のホルモンを測定したところ、暴露群で尿中BPAが高く、FSHが低く、かつ両者に弱い相関がみられ、BPAによる内分泌系への影響を示唆する結果が得られた。EDCと、子宮体がんおよび子宮内膜症に関する文献レビューでは、子宮体がんについては血清EDCレベルとの関連を示す研究はなく、子宮内膜症については統一した見解は得られていなかった。内分泌かく乱作用が疑われている化学物質が、食品や一般環境中に存在し、人が暴露していることが示されたことから、子宮内膜症と乳癌の疫学研究を開始した。EDCと子宮内膜症に関する症例対照研究では順調に症例収集

が進んでおり、さらに、EDCと乳癌に関する症例対照研究のプロトコールを作成し、倫理審査委員会の承認を受けた。

内分泌かく乱作用が疑われている化学物質が、食品や一般環境中に存在し、人が暴露していることが示されたことから、子宮内膜症と乳癌の疫学研究を開始したが、その他の健康影響に関しても考慮していく必要がある。

#### F . 健康危険情報

なし

#### G . 研究発表

##### 1 . 論文発表

Hanaoka T, Yamano Y, Hashimoto H, Kagawa J, Tsugane S. A preliminary evaluation of intra- and interindividual variations of *hOGG1* messenger RNA levels in peripheral blood cells as determined by a real-time polymerase chain reaction technique. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2000;9:1255-1258.

Nishimoto IN, Hanaoka T, Sugimura H, Nagura K, Ihara M, Li X-J, Arai T, Hamada GS, Kowalski PL, Tsugane S. Cytochrome P450 2E1 polymorphism in gastric cancer in Brazil: case-control studies of Japanese Brazilians and non-Japanese Brazilians. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2000;9:675-680.

Tsubono Y, Sasaki S, Kobayashi M, Akabane M, Tsugane S. Food composition and empirical weight methods in predicting nutrient intakes from food frequency questionnaire. *Annals of*

Epidemiology 2001;11:213-218.

Kobayashi M, Kawabata T, Hasegawa K, Akabane M, Sasaki S, Tsugane S. Single measurement of serum phospholipid fatty acid as a biomarker of specific fatty acid intake in middle-aged Japanese men. *European Journal of Clinical Nutrition* (in press).

Kabuto M, Sone H, Imai H, Kurokawa Y, Yonemoto J. Dioxins in milk and blood in relation to thyroid hormones and other possible biomarkers among people in a highly polluted area in Japan. *The Proceedings of Dioxin 2000*, vol.48, 9-12, 2000, Monterey, CA.

Yamamoto M, et al. Comparative epidemiological studies on gallbladder cancer between Chile and Japan. *Universidad Catolica del Norte, Chile*, 2001.

Nakamura K, Nashimoto M, Yamamoto M. Summer/winter differences in the serum 25-hydroxyvitamine D<sub>3</sub> and parathyroid hormone levels of Japanese women. *Int J Biometeorol* 2000;44:186-9.

Nakadaira H, Nakamura K, Mutoh K, Yamamoto M, Kato K. Arsenic residues in well 36y after endemic arsenic poisoning. *Archives of Environmental Health* 2000;55:364.

Mori K, Hasegawa M, Nishida M, Toma H, Fukuda M, Kubota T, Nagasue N, Yamana H, Hirakawa YSC, Ikeda T, Takasaki K, Oka M, Kameyama M, Toi M, Fujii H, Kitamura M, Murai M, Sasaki H, Ozono S, Makuuchi H, Shimada Y, Onishi Y, Aoyaki S, Mizutani K, Ogawa M, Nakao A, Kinoshita H, Tono T, Imamoto H,

Nakashima Y, Manabe T. Expression levels of thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase in various human tumor tissues. *International Journal of Oncology* 2000;17:33-38

Watanabe T, Harada N, Sasaki H. Quantitative analysis of mRNA expression of estrone sulfatase in endometrial carcinoma and benign endometrium. *Jikeikai Medical Journal* 2000;47:121-127.

## 2 . 学会発表

Yamamoto S, Sobue T, Sasaki S, Kobayashi M, Arai Y, Uehara M, Adlercreutz S, Watanabe S, Takahashi T, Itoi Y, Akabane M, Tsugane S. Validity of a self-administered semiquantitative food frequency questionnaire used in the 5-year follow-up survey of the JPHC study to assess isoflavonoid intake; comparison with dietary records. Fourth International conference on dietary assessment methods, Tucson, Arizona, September 17-20 2000.

Sasaki S, Kobayashi M, Takahashi T, Itoi Y, Akabane M, Tsugane S. Validation of a self-administered semiquantitative food frequency questionnaire (FFQ) used in the 5-year follow-up survey of the JPHC study: comparison with dietary records, serum and urinary biomarkers. Fourth International conference on dietary assessment methods, Tucson, Arizona, September 17-20 2000.

Sasaki S, Nagasawa S, Okubo S, Hayashi

M, Tsugane S. Self-administered diet history questionnaire (DHQ) as education and evaluation means for community-based dietary intervention trial against gastric cancer: a pilot study. Fourth International conference on dietary assessment methods, Tucson, Arizona, September 17-20 2000.

花岡知之, 山野優子, 橋本弘子, 香川順, 津金昌一郎. 末梢血白血球におけるDNA酸化損傷修復遺伝子hOGG1のmRNA量の個人差と疫学研究への応用に関する基礎検討. 第1回日本がん分子疫学研究会, 東京, 2000年5月.

花岡知之, 津金昌一郎. 遺伝子発現の疫学研究への応用. 第2回日本がん分子疫学, 東京, 2001年3月.

兜 真徳. 環境リスク研究の新たな展開 電磁波とダイオキシンを中心に. 第18回環境工学連合会, 2000年1月.

兜 真徳他. ダイオキシンの生体負荷とバイオマーカーとの関連(第1報). 日本衛生学会, 福島, 2001年4月(予定).

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, 東京, 2000年3月.

佐々木寛. リンパ節郭清術は開腹か内視鏡か 第38回日本癌治療学会総会. 仙台, 2000年11月.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当せず