

研究課題名 内分泌かく乱化学物質の生体影響に関する研究-特に低用量効果・複合効果・作用機構について- (H13-生活-013)

主任研究者：所属機関 国立医薬品食品衛生研究所

氏名 井上 達

1. 研究目的

目的を次のように設定した。

本研究では、内分泌かく乱化学物質作用の可能性として指摘されてきた種々の事象の内、その主な問題点の中で解明の困難が集中しているいわゆる“高次生命系”での挙動に焦点をあてて、作用機構の解明にあたることを目的としている。すなわち①内分泌系・②免疫系・③神経系などの高次生命系ネットワークの個々に対する影響について、あり得る作用機序の実生体中での影響の可能性を検討することによって問題の本質を明らかにし、施策の科学的基盤整備に資する。推進にあたっては、高次系における特徴として知られる、発生・生殖面をはじめとした時間軸や、メモリー機構、多細胞間情報ネットワークに表現される機能軸などへの影響に注意を払って検討を進めることとした。尚、それぞれの事象に低用量効果の如何が関与する可能性を考慮して、これを共通認識として、研究を進めることとした。

2. 研究計画の進捗状況及び得られている成果（付録参照）

【成果の総括】

1. 上記の目的に対して、“プロジェクト調査・実験研究”と“基盤研究”とに分かれて研究し、ビスフェノールA (BPA) の影響をモデルとした研究を中心に、生物学的影響の蓋然性に関わるあらたな認識と、ホルモン受容体の発現調節機序など、生体反応機構に対する理解が大きく進展した。
2. 低用量作用研究については、試験管内実験では、系によっては免疫系のようにナノモル(nM)レベルでの影響が見出されたが、いずれの系においても成獣個体レベルでは、変化は認められなかった。
3. 但し、グローバルアセスメントでも指摘された通り、新生児では系によって不可逆反応としての変化が観察された。
4. これらとの対比の中で、相対的に作用の弱い多くの一般化学物質での、実験報告に即したプライオリティ設定などによるプラクティカルな対応の可能性が伺われた。

3. 今後の予定

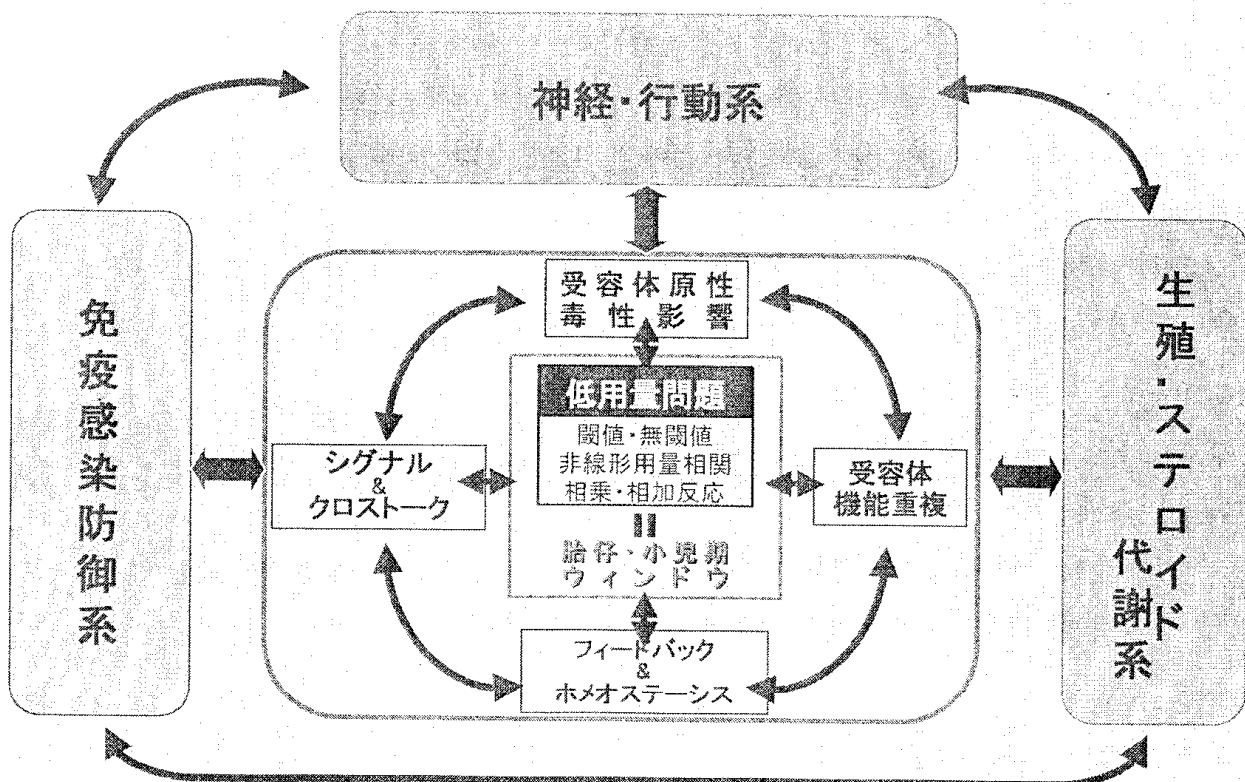
プロジェクト研究における調査では、ひきつづき、神経・行動、免疫・感染制御および生殖系への低用量暴露影響の文献調査と評価、また同実験では、前立腺と肝臓をとりあげ、これらへの当該物質の暴露影響実験を行ない、リスクを解析する上での問題点を整理することが必要である。なお、前立腺影響および低用量発がんについては、暴露物質をヒ素、亜鉛および当該物質との複合で進めることを考慮すべきである。

基盤研究では、当該課題のエンドポイントの中心となりつつある高次生命系の諸点、すなわち生殖・ステロイド代謝、免疫・感染制御、神経・行動および核内レセプターの各分野について、胎生期、新生児期、思春期等の各臨界点での低用量暴露結果を横断的に通覧評価し、各分野における障害性影響の分界点となる指標が明らかとなるよう検討を進めることが求められる。これにより、内分泌かく乱物質影響に密接に関連する新知見が得られ、低用量効果・複合効果を含む問題点解決の糸口が明らかになるものと考えられる。エストラジオールやビスフェノールAを対象としたモデル研究と、各分野におけるこれまでに明らかにされてきた分界点指標についてのさらなる検討、もしくは新規の指標を設定し、低用量における検証を行なう必要がある。

尚、個別事項については、付録に記した。

4. 研究の概要が一見して分かる図表

内分泌かく乱研究における高次生命系と低用量問題



付 録

【各個別事項】

2.1. プロジェクト研究

2.1.1. 情報関連研究：リスク評価情報に関する研究.

- 低用量影響の認められたとする文献には、生物学的意味は不定ながら、他のグループの実験にくらべて実験条件と系統背景や飼育方法において特徴的な差異が認められた。
- BPAの試験では、設定用量が低いことにより用量依存的な検証は出来ないが、高用量と異なる機構に基づく結果が示唆された。
- ポリカーボネート樹脂性血液透析使用腎障害患者群はBPAへの高暴露集団であった。これらにおけるさしあたりのそのベネフィットはリスクを上回るものと判断されるが、一方、対応する研究が必要である。

2.1.2. 異物受容体結合物：アリアル hidrocarbon 受容体に対する種々のリガンドの研究.

- 各種のリガンドは、①ダイオキシン型、②ベンツピレン(B[a]P)型、③インディルビン型に分類された。①、②は、特有の毒性を示し、③の主として食品などに由来する生体内代謝産物リガンドのそれは毒性が低いものと想定された。

2.1.3. ポリ塩化ビフェニル(PCB)類の甲状腺ホルモン影響：血清中T4濃度低下誘発作用メカニズムの研究.

- マウスなど4種の動物を比較しつつ、Kanechlor-500の投与をモデルとして検討した結果、T4は肝への移行によって血中濃度の低下を生ずることが分かった。

2.1.4. 生殖・発生：発生・生殖に関する調査.

- メトキシクロール(MXC)のラット母体及び児への投与実験(E. Grayら)によれば、全投与群の児に腔開口促進、子宮、卵巣及び精囊の重量低下や雌児でのFSHレベルの低下が非線形反応をもって観察されている。

2.1.5. 発がん一般：発がん一般に関する調査(低用量影響に関する検討を含む).

- ジエチルstilbestrol(DES)の雌雄性器腫瘍や種々の異常発生には閾値が確認できなかった。タモキシフェン(TXP)の高用量はE2アゴニストとして作用している。
- ベンゼンヘキサクロリド(α BHC)のジエチルニトロソアミン(DEN)をイニシエーションとして用いて行った低用量域に関する実験結果では、むしろ低用量でのGST-P陽性細胞巢の頻度は低下していた。
- 低用量域での高用量からの外挿を上回る発がん性を肯定する文献は見出されず、実験結果と符合した。

2.1.6. 発がん発生影響：周生期暴露の後期発がんに関する調査.

- いずれについても、明らかな低用量作用は、認められないと判断された。

2.1.7. 発がん生殖器：男性性器癌、乳腺・女性器癌に関する調査.

- Ashbyらの追試によれば、von Saalらの観察した低用量作用の再現性は得られず、見解の統一に至らなかった。
- 実験に与える影響因子として、飼育条件、動物の遺伝背景、体重、飼料中の植物エストロゲンなどが指摘される。
- TCDDの影響は低用量影響(100pg/kg/day)が知られるが、子宮内膜症病態モデルのない状態では、本件の検討が困難であるものと考えられた。

2.1. 基盤研究

アリールカーボン受容体を介したTCDDの作用とERシグナルの相互関係など、以下の個別報告に示す通り、施策の方向性に関わる新たな重要知見が得られた。

2.2.1. 生殖・ステロイド代謝：

- 新生児期マウスの膺のエストロジェン作用臨界期は生後3日にあり、この時点でのDES投与後の影響をマイクロアレイ法を用いて解析。DES投与によるエストロジェン受容体のリン酸化を介した膺上皮の不可逆的増殖と、そのリガンド非依存性の活性化機構を、受容体阻害剤などを用いて証明した。
- エストラジオールとノニルフェノール(NP)やベンゾフェノン(BP)などの内分泌かく乱物質のマイクロアレイでの遺伝子発現パターンは、統計的デンドログラム解析で類似性を示唆する反面、Vennダイアグラムで相互の発現遺伝子を見ると、共通発現遺伝子は乏しく、基本的な作用機構に違いのあることも示唆された。
- 以上、低用量のECDsにたいする変動遺伝子群データベースが完成した。
- ヒト組織に関する検討では、SXRIは、肝、消化管、腎臓などで発現しており、これを検討したところ、同時にGYPC3A、MRD1などの代謝遺伝子の発現も確認され、両者の機能的な関連が示唆された。

2.2.2. 免疫・感染防御系：

- リンパ球のT細胞系機能については、高酸素下器官培養システムにおける、胎児胸腺細胞(CD44⁺CD25⁻)から亜集団(CD44⁺CD25⁺)への分化・増殖が、0.01-1nM程度の低用量のDESやBPAの添加によって抑制された。
- リンパ球のサイトカイン産生機能に対する影響の方では、NP、BPA、フタル酸ブチルベンチル(BBP)、フタル酸ジブチル(DBP)といった物質は、リンパ球のマイトジェンによるIL-2、IL-10、IFN- γ 産生を増強した。
- このときBPAでは、細胞内カルシウムイオン濃度が上昇し、タンパク質のチロシンリン酸化が起こっていることがわかった。

2.2.3. 神経系・行動系：

- ER α 、ER β ともに個々の神経幹細胞に発現していることを神経前駆細胞マーカーの一つnestin陽性細胞と二重染色されることをもって示した。これを用いて、DES暴露後のその分化・自己複製能が低下していることを示した。

2.2.4. 核内レセプター系：

- ダイオキシン受容体とエストロジェン受容体は、直接的に相互作用することで、エストロジェン作用がかく乱される機構を見出した。
- 核内受容体転写共役因子の複合体精製法を確立し、新たな染色体構造調節因子複合体を同定した。同定した共役因子の、核内受容体を介した転写制御能を有する可能性を検討する。
- 前立腺のER β は、テストステロンやエストロジェンによって発現調節を受けていることを見いだした。

2.2.5. マイクロアレイ基盤研究：

- 網羅的遺伝子発現検索に必要なマイクロアレイシステムの導入に成功した。
- 班員の研究へのサポートシステムを樹立し、その中で、DES投与直後の視床下部での数百倍に達するtransthyretinの発現上昇を検出するなど、関連の解析を推進してきた。