

第3章 内分泌学と内分泌毒性学

3.1 内分泌系とは

身体の内分泌系は、代謝過程の短期および長期にわたる調節に重要で広範囲に及ぶ役割を果たしている。成長(骨形成/再生を含む)や、腸、心血管、腎機能ならびにあらゆるストレスに対する反応と同様に、栄養、行動および発生の各過程もまた内分泌系によって複雑に制御されている。ホルモン分泌の過剰や不足などの内分泌系の障害は、必然的に疾病を引き起こし、その影響は様々な異なる器官や機能にまで及び、時には体の衰弱や生命の危険をもたらすこともある。このような一般的観点から見て、内分泌作用をもつ環境化学物質(アゴニストあるいはアンタゴニスト)がもたらす危険性はきわめて深刻である。しかしながら、ヒトや野生生物がそのような化学物質に暴露されていても、暴露の量、期間および時期に大きく依存するため、必ずしも内分泌系に關与したかく乱が臨床的に現れるとは限らない。

3.2 範囲および用語

3.2.1 概要

内分泌系とは、もともとは血液中にホルモンを分泌する分泌腺のみから構成され、分泌されたホルモンが離れた標的組織に運ばれて、特異的な細胞受容体に結合して特定の作用を発現すると考えられていた。現在では、神経細胞から血液中に分泌される化学物質(神経ホルモンと呼ばれる)などのように、調節に関わる別の化学物質が発見されて「内分泌」の概念が広げられた。「サイトクリン」という言葉は、局所あるいは細胞内における成長因子などの多くの化学調節因子を指す。ある組織の中で細胞外液を介して細胞間を移動するサイトクリンは、それらが別の細胞あるいは自身の細胞に作用するかによっ

て、それぞれ傍分泌(パラクリン)または自己分泌(オートクリン)調節因子と呼ばれる。「イントラクリン」とは、セカンドメッセンジャーおよび転写因子などの細胞内調節因子を指す。最近では、多様なサイトクリン/パラクリン系が作用していることが明らかになり「内分泌学」が一層複雑化してきたが、それ以前においても、血圧、平滑筋収縮、体液平衡、骨吸収など体内における様々な調節を担う「古典的意味」での内分泌系が数多く見出されてきた。

本章では、内分泌系全システムについて記述するのが目的ではない。ここでは、生殖系の発生および機能に關与する3つの主要な内分泌軸に焦点をあてている。これは、内分泌かく乱作用の多くが生殖系に關与しており、特に影響を受けやすい発生時期に多く觀察されている結果に基づくものである。特別な観点からここで説明する内分泌系は、HPG、HPTおよびHPA軸である。特定の3つに限定したが、EDCsがこの他の内分泌軸に影響を及ぼさないということではない。全ての内分泌軸(おそらく傍分泌も)については、まず初期設定がなされ次に作用をする、という一般原則は明らかである。したがって、これから論じることの多くはここに記述されない他の内分泌軸にも基本的にあてはまるであろう。また、脊椎動物の内分泌系に重点をおき、無脊椎動物についてはほとんど論じていない。脊椎動物と無脊椎動物の内分泌メカニズムには多くの類似点があるが、いくつか大きな違いもある。この無脊椎動物の内分泌学についての総括論議も報告されている(Downer and Laufer, 1983; Matsumoto and Ishii, 1997; Cymborowski, 1992; Nijhout, 1994)。本章は2つの主要部分から構成されている。本章3.1~3.11では、成体および発生途上の生物における内分泌系の正常な機能について詳細を述べ、本章3.12~3.16では、

第3章 略語表

略語	化学物質	略語	作用	略語	作用
17 α ,20 β -P	17 α , 20 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン	DHT	ジヒドロテストステロン	LOAEL	最小毒性量
5-HT	セロトニン	DMP	フタル酸ジメチル	M1, M2	ピンクロゾリン代謝物質
ACTH	副腎皮質刺激ホルモン	DOTP	フタル酸ジオクチル	MEHP	フタル酸モノエチルヘキシル
AGD	肛門生殖突起間距離	E2	17 β -エストラジオール	MH	ミユラー管抑制ホルモン
AhR	芳香族炭化水素受容体	EDCs	内分泌かく乱化学物質	MIS	ミユラー管抑制物質
AR	アンドロゲン受容体	ER	エストロゲン受容体(α , β 異性)	mRNA	メッセンジャーRNA
ARNT	AhR核移行因子	FSH	卵胞刺激ホルモン	MXC	メキシシクロ
AFF	α -フェブプロテイン	Gal4-HEGO	Gal4-ヒトエストロゲン受容体構成	NOAEL	無毒性量
BBP	フタル酸ブチルベンジル	GH	成長ホルモン	PCBs	ポリ塩化ビフェニル
BNF	β -ナフトフラボン	GnRH	性腺刺激ホルモン放出ホルモン	PCDFs	ポリ塩化ジベンゾフラン
cAMP	サイクリックAMP	GSI	生殖腺指数	PGs	プロスタグランジン
CBG	コルチコトロピン結合グロブリン	GTH	性腺刺激ホルモン(II異性体)	PRL	プロラクチン
CRH	コルチコトロピン放出ホルモン	HIF-1 α	低酸素欠症誘導因子 1 α	SARMs	選択的アンドロゲン受容体調節因子
CYP	チトクロムP	HPA	視床下部-脳下垂体-副腎	SD	Sprague-Dawley系ラット
DBP	フタル酸ジ-n-ブチル	HPG	視床下部-脳下垂体-生殖腺	SERM	選択的エストロゲン受容体調節因子
DDE	ジクロロジフェニルジクロロエチレン	HPOA	視床下部視索前野	SHBG	性ホルモン結合グロブリン
DDT	ジクロロジフェニルトリクロロエタン	HPT	視床下部-脳下垂体-甲状腺	T3	トリヨードチロニン
DEHP	フタル酸ジエチルヘキシル	HPTE	2,2-ビス(p-ヒドロキシフェニル)-1,1-トリクロロエタン	T4	チロキシン
DEP	フタル酸ジエチル	IL	インターロイキン	TCDD	2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン
DES	ジエチルステルベストロール	IUGR	子宮内胎児発育遅延	TRH	甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン
DHEA	ジヒドロエピアンドロステロン	LE	Long-Evans系ラット	TSH	甲状腺刺激ホルモン
DHP	フタル酸ジヘキシル	LH	黄体形成ホルモン	US EPA	米国環境保護庁

EDCsが器官系や疾病過程に及ぼす影響に焦点をあてている。本章の大部分は、詳細に特性が研究されている例(例えば、メトキシクロル、ビクロゾリン、ケタコナゾル、フタル酸エステルおよびダイオキシン)を実験論文から引用して、生殖系の発生に及ぼす影響を扱っている。これらの例は、化学物質が内分泌系にどのように影響を及ぼすか、その基本的な作用機序の全容をみるため選択された。実験モデルで観察された臨界期、用量感受性および最終的な表現型についても、作用機序の解釈のために記載している。正常な内分泌機能を記述した節と同じく、この節では主に脊椎動物、特に哺乳類に対する影響を取り上げている。続いての節では、発がんおよび神経系や免疫系の機能に関わるEDCs関連作用の例を解説している。最終節では、実験室、野外調査あるいは疫学的な条件下で観察されたある種の影響が、EDCs関連作用に結びつくものであるかどうかを判断するための総括的な枠組みを提示している。この枠組みは、この評価に含まれているかあるいは科学論文に続いて報告された観察結果が、確認された作用機序に関連するものかを判断するための

基準を提供しようとするものである。

3.2.2 恒常性 (ホメオスタシス)

全ての内分泌系の基本的役割は、別の器官で発生した信号および身体の外からの合図に対し、離れた標的組織が動的に適切に応答できるようにすることである。内分泌系における主要な目的は、多くの場合、ホルモンの量や反応の激しい変化を抑えて代謝機能が損なわれないよう一定の“恒常性 (ホメオスタシス)”を維持することである(Norman and Litwack, 1998)。その一例として、血糖値を正常な範囲に維持するインスリンの役割があげられる。すなわち、血糖値が正常範囲よりも低くなりすぎることによる意識喪失、また高くなりすぎることによる尿中への過剰排泄/漏出が起これないように調節している。もしインスリンが血中グルコース濃度の変化に応答しなければ、糖尿病などの疾病を引き起こすことになる。全ての内分泌系は大体において「シーソーの原理」(図3.1参照)で作動しており、標的細胞が制御細胞にフィードバック信号(通常はネガティブフィードバック)を送っている。

その結果、標的細胞が分泌した1つあるいは数種類の物質によって、標的細胞刺激ホルモンの分泌量が変化(通常は減少)する (Darlington and Dallman, 1995)。しかし、実際には、このような単純な典型的内分泌系であっても精巧で緻密に構成されており、身体全ての内分泌系はクロストークにより統合されている。この理由は明白である。例えば、生殖についていえば年齢や栄養状態、またほとんどの動物では季節などの要因を考慮する必要がある。同様にストレス反応では、空腹をコントロールする内分泌系は少なくとも危険にさらされた時には他の内分泌系の制御に置き換わる必要がある。このクロストークは健全な生命活動に不可欠であり、EDCsの評価に重要な意味合いをもつ。例えばエストロゲン様物質に暴露された場合、生殖系だけではなく骨、脂質、心血管系などの別の内分泌系にも影響を及ぼす可能性があるからである。

中枢系からの制御
(例えば神経など)

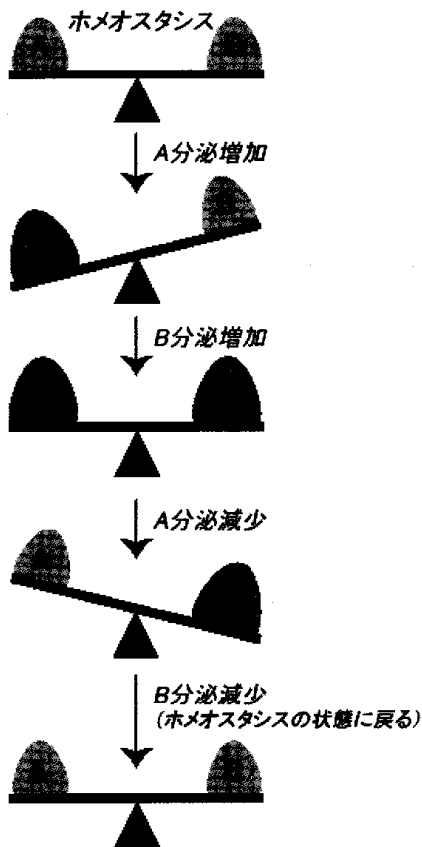
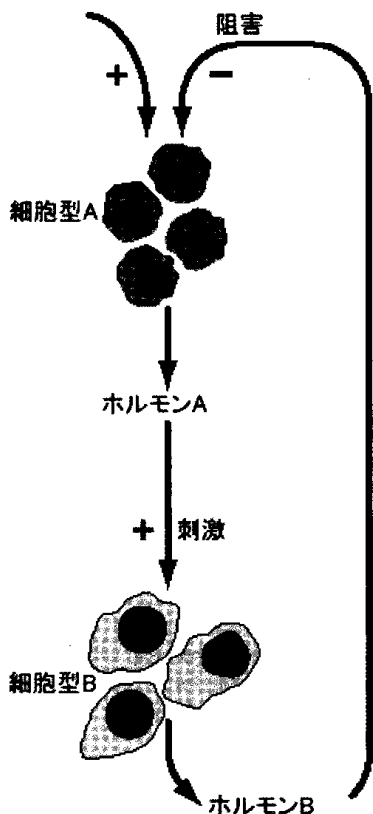


図3.1 内分泌系が作用する基本的な「シーソー」原理を図解した概略図。細胞型AはホルモンAを分泌し、これが細胞型BによるホルモンBの産生を調節する。続いてホルモンBが、ネガティブフィードバックによりホルモンAの分泌を調節する。このようにして、ホルモンAあるいはBの分泌は、右図に示すように、ホメオスタシス(すなわち、AおよびBの適正濃度)を維持するため相補的に上下する。この一般的な原理は、すべてではないが、大部分の内分泌および傍分泌系において機能しているが、実際には、ホルモンAおよびBの濃度調節に相互作用する付加的な要因がある。

3.2.3 内分泌軸のプログラミング

シーソー型機構による恒常性は、全ての内分泌系における主要な特徴であるが、重要なのは、この機構が適切に働く前に、

「シーソー」の両サイド間のバランスが設定あるいはプログラムされる必要があることである。シーソーがどの段階で反対側からの信号に反応し始めるかはこのプログラム設定により決定される(図3.1)。哺乳類の多くの内分泌系の設定プログラムは、胎児/新生児の発生時期に成立するが、もしこの段階で異常な環境におかれると永久に修復不可能なプログラムミスが起こってしまうことがある(De Kloet et al., 1988; Seckl, 1999)。IUGRの結果として現れる症状はその一例である。IUGRでも出生後正常な成長をする場合が多いが、インスリン抵抗性(インスリン濃度が通常より高い)の発生率が高く、その結果、後に糖尿病、肥満、心血管系疾患が生じる危険性が增大する。

さらに、思春期早発症を引き起こす傾向もある。これらの変化は、自身に適切な栄養供給を行おうとする胎児の適応の結果と考えられ、胎児のグルココルチコイド濃度の上昇に起因する可能性がある(Philips et al., 1998)。また特異的な例では、雌には雄にみられない視床下部のプログラムがある。これは、排卵のためのGnRH誘導によるLH放出というポジティブ応答を引き金とした、エストロゲン濃度の上昇に反応する。哺乳類では、このプログラムは周産期に設定されるが、ある程度のレベルの雄の性ステロイドをこの時期の雌に暴露すると、このプログラム設定が妨害され、無排卵性不妊症を引き起こす(Dohler, 1991)。しかし、雌の成体を同様に雄の性ステロイドに暴露しても、ネガティブフィードバックにより一時的に排卵が阻害される可能性があるが、プログラム自体は変わらない(図3.2)。

3.2.4 内分泌かく乱化学物質の影響

内分泌かく乱化学物質が身体機能に及ぼす影響の可能性を考える際には次の点が重要である。

- (1) 成人期の暴露は、正常な恒常性機構で補われることにより、深刻なあるいは顕著な影響を示さない可能性がある。
- (2) 内分泌系のプログラム設定過程における暴露は、刺激/抑制の信号に対する機能あるいは感受性を永久

的に変化させるおそれがある。

- (3) 同レベルの内分泌信号を受けても、発育段階の時期の違いや季節の違いなどにより異なった影響が生じることがある。
- (4) 異なった内分泌系間のクロストークにより、影響が現れると推測された以外の内分泌系に予期し得ない結果が生じる可能性がある。これは上記の(1)~(3)についてもいえる。
- (5) (4)の観点から、*in vitro*でのホルモン活性の測定から*in vivo*での状態を推定する際には十分慎重に行わなければならない。

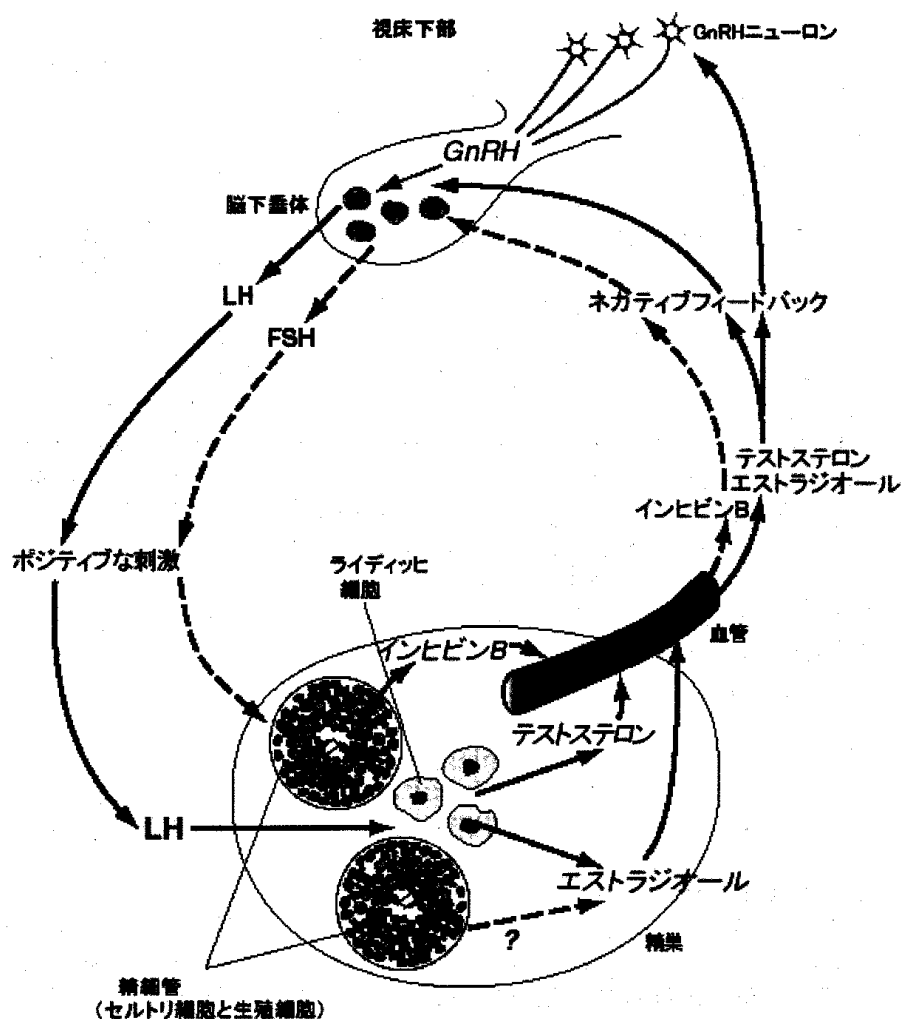


図3.2 哺乳類のHPG軸の主な機能因子の模式図。デカペプチドであるGnRHは、GnRHニューロンの末端から門脈血系に分泌され、GnRH受容体を発現する脳下垂体前葉中の性腺刺激ホルモン産生細胞に「信号メッセージ」を伝える。GnRHがこれら受容体に結合すると、2種類の性腺刺激ホルモン、LHおよびFSHの合成と血流への分泌が促進される。その後、これらのホルモンは全身の血流にのり、生殖腺の遠隔標的細胞(例として精巣を示す)に到達する。LHは、ライディッヒ細胞に作用してテストステロンの合成および分泌を促し、続いて、テストステロンは血流にのり、視床下部および脳下垂体前葉に働きかけることにより、それぞれGnRHとLHの合成および分泌を抑制する(=ネガティブフィードバック)。同様に、FSHは、セルトリ細胞に作用してタンパク質ホルモンであるインヒビンBの分泌を促進する。インヒビンBは、血流を介して脳下垂体に到達し、FSHの合成および分泌を抑制する(=ネガティブフィードバック)。テストステロンのネガティブフィードバック作用のいくつかは、精巣(ライディッヒ細胞および精原細胞)、あるいは視床下部/脳下垂体におけるテストステロンからE2への変換を介して起こることに留意する必要がある。さらに、テストステロンおよびE2が視床下部や脳下垂体以外の多くの場所で影響を及ぼすこと、また、これらホルモンの傍分泌影響、とりわけ精巣中のテストステロンの傍分泌影響は生存に関わる重要性をもつことにも留意すべきである。ここに示した基本系のこれらの点および他の細かな点については本文中で解説した。

3.3 哺乳類におけるHPG軸

3.3.1 HPG軸の概要

この軸(図3.2)には次の3つの要素が含まれている。1) 脳の視床下部から伸びるGnRHニューロン、2) LHおよびFSHを分泌する脳下垂体前葉(腺下垂体)のゴナドトロピン分泌細胞、3) 生殖腺の体細胞(卵巣中の卵細胞および顆粒細胞、精巣中のライディッチ細胞およびセルトリ細胞)、である。GnRHは、GnRHニューロンの終末からパルス状に分泌され(Kimura and Funabashi, 1998; Terasawa, 1998)、ゴナドトロピン分泌細胞に働きかけてLHおよびFSHの分泌を促す。そして、それらは性腺におけるそれぞれの標的細胞に作用する(LHは卵細胞ライディッチ細胞; FSHは顆粒細胞/セルトリ細胞)。GnRHの分泌は、他のニューロンによって調節され(Crowley, 1999)、また、性腺刺激ホルモン分泌を促すGnRHの作用も他の視床下部や下垂体のペプチドにより調節される(Evans, 1999)。こうして、LHの刺激により生殖腺の性ステロイドが、またFSHの刺激によりタンパク質ホルモンのインヒビン(雌ではA型、雄ではB型)が血流中に放出されると、視床下部および下垂体のゴナドトロピン分泌細胞へのフィードバックが起こり、その結果GnRH、LH、FSHの分泌が抑制される。インヒビンは、選択的にFSHを抑制し、性ステロイドはLH分泌を抑制する(Crowley et al., 1991)。この機構を示す刺激とネガティブフィードバックの経路の模式図を図3.1に表している。実際には、この構造はより複雑で精密である。例えば、LHおよびFSH分泌に対するGnRHの作用は根本的に異なっており、LH分泌はGnRHのパルスによって非常に急激な(パルス状の)刺激を受けているのに対し、FSHの応答は非常に緩慢で数時間を要する(Crowley et al., 1991; Bousfield et al., 1994)。これは、GnRHが誘導するLHおよびFSHの合成、貯蔵、分泌の基本的な違いから生じる。同様に、性ステロイドホルモン(主に雄のテストステロン、雌のE₂)は、GnRH分泌およびゴナドトロピン分泌細胞の機能の両方に作用してLH分泌を抑制するが、さらに、FSH分泌に対してもネガティブフィードバックをかけている。それに対して、インヒビンは選択的にFSH分泌を抑制している。

3.3.2 標的細胞の感受性

このような典型的な内分泌系の微細な調節機構に加えて、考慮されなければならない重要な要素が他にある。1つは、刺激に対する標的細胞の感受性の調節である。ゴナドトロピン分泌細胞は、GnRHの刺激に対して常に一定で不変の応答をしているのではなく、また、生殖腺における標的細胞も、LH/FSHの刺激に一定の応答を続けているのではない。刺激を与える側に対する標的細胞の感受性は、迅速な応答と長期にわたる応答の両方で制御されている(Conn, 1994; Erickson and Schreiber, 1995)。例えば、異常に高いGnRHパルス、また長期にわたるGnRHやGnRH様物質(分解されにくい)への暴露は、ゴナドトロピン分泌細胞のGnRH受容体の機能消失あるいは低下(ダウンレギュレーション)につながり、より強い刺激にも抵抗性(=感度の低下)をもつようになる。これは

数時間のうちに急速に起こり、「脱感作」が徐々に進行するために長時間にわたり持続する。この脱感作は、GnRH刺激によるセカンドメッセンジャーの信号伝達系が変化することに関係しており、GnRHに対するゴナドトロピン分泌細胞の応答が全体的に低下する。類似したメカニズムが生殖腺細胞でも作動しており、LHあるいは少ないがFSHに対する応答を調節している。言いかえれば、内分泌系の各標的細胞は、刺激に対する自分自身の応答を調節しているのである。このプロセスにはさらに近隣の細胞間、特に生殖腺におけるクロストークを介した微細な機構が存在する(Leung et al., 1992)。例えば、精巣中のセルトリ細胞は、近隣のライディッチ細胞のLH受容体数の調節およびステロイド合成酵素の発現を変化させてステロイド合成反応の調整をすることができる(Sharpe, 1993)。反対にライディッチ細胞から分泌されるテストステロンは、セルトリ細胞の機能に対して重要なパラクリン調節作用を行っている(Sharpe, 1994)。

3.3.3 内分泌ホルモンの代謝

HPG軸を構成する経路においてさらに重要な調節因子は、分泌されたホルモンの代謝である。ホルモンの異化作用の増加や減少の結果、半減期が変化することで分泌量は変わらないままその効果に影響が現れてくる。通常、FSHはLHより半減期が長い(すなわち、ゆっくり代謝される)、このことは、FSH量の変化がLH量の変化に比べて緩慢である理由のひとつである(Bousfield et al., 1994)。さらに重要なのは、性ステロイドに結合するタンパク質の役割である。これには、胎児/新生児におけるアルブミン、AFP、そして、最も重要であるヒトのSHBGなどがある。ヒトの血中テストステロンやE₂の約97%~98%はSHBGと結合しており、フリーで生物学的活性のあるものはわずか2%~3%である(Moore and Bulbrook, 1988; Rosner, 1990)。このような仕組みには2つの重要な効果がある。すなわち、1)性ステロイドの半減期がかなり長くなる、2)性ステロイド作用を制御する新たな間接的経路として、SHBG分泌(肝臓より)の調整により、HPG軸の主要な構成要素に影響を及ぼすことなく、生物活性を示す性ステロイド量を変えられる、ということである。実際に、他の内分泌系に属する重要な制御因子と同様に、性ステロイド自身もSHBG生成の主要な制御(刺激)因子なのである(Moore and Bulbrook, 1988; Rosner, 1990)。他の結合タンパク質についても同様なことが言える(例えばAFP)。

3.3.4 HPG軸におけるパラクリンおよびエンドクリン成分の相互作用

ライディッチ細胞で生成されたテストステロンは、近隣のセルトリ細胞に作用する(パラクリン効果の1例)。このセルトリ細胞への作用は、精子形成を助ける主要な経路であり雄におけるテストステロンの最も重要な役割である(Sharpe, 1994)。卵巣でも同じような作用がみられ、卵細胞で生成されたアンドロゲンが隣接する顆粒細胞にパラクリン効果を発揮して卵細胞を成熟させる(Erickson and Schreiber, 1995)。テストステロンの顆粒

細胞への作用で最も重要なことは、アンドロゲンがE₂に変換することであり、これによりネガティブフィードバックも含めて子宮や身体他の場所での多岐にわたる内分泌効果が発揮される。テストステロンのE₂への変換は、雄、雌ともに身体の多くの場所で行われている(Simpson et al., 1997; Sharpe, 1998)。アロマターゼや5 α -レダクターゼを発現して、内分泌ホルモン(テストステロン)を局所で作用するパラクリンホルモン(E₂あるいはDHT; 図3.3)に変換するという細胞の働きは、当初の仮説よりもごく一般的な役割(特に雄で)であることが明らかになった。このようなパラクリン作用の場合は、基質の供給そして中心となる内分泌系に明らかに依存している。また概念的には重要ではないかもしれないが、パラクリンによる生成物が「漏出」して循環することがネガティブフィードバック作用に寄与している。現在では図3.3に示されたパラクリン機構の構成要素の一つまたは両方が、雄および雌の生殖系の場合と同様に、骨、筋肉、心血管系、脂肪組織、脳下垂体、脳においても作用していることが知られている(Simpson et al., 1997; Sharpe, 1998)。パラクリン機構は局所的な要求に対応するという意味で、主要な内分泌系のローカルサテライトとしての役割をもつと考えられる。

3.3.5 発生におけるHPG軸の役割

先に述べたように、内分泌系の初期設定の大部分は胎児/新生児期に成立する。この期間に、生殖腺からのステロイドに対する視床下部および脳下垂体ゴナドトロピン分泌細胞のフィードバック感受性が確立され、これにより、GnRHやLH/FSH分泌の抑制を誘起するための性ステロイド量が決定されるのである。この過程がどのように起こるかの詳細は解明されていないが、神経経路のプログラム設定が関与することは明らかである(Dohler, 1991)。同時に、雄および雌のフィードバック中枢の差異がプログラムされる(Dohler, 1991; Gorski, 1996)。雌の生殖系は発情期、月経周期などの生殖周期にしたがって機能する一方、雄の場合は、通常、周期に関係なく連続的であり長期にわたるため、この差異が必要になる。したがって雌の性腺ホルモン合成が周期的であるのに対して、雄では思春期および季節性不妊の特別な時期を除けば比較的一定している。成体雌の脳下垂体が雄でなく雌として確実に応答するためには、発生過程において雄と雌の視床下部の「配線」に適切な変化がなければならない。胎児/新生児期に合成されたテストステロンは、「雄」の視床下部および脳の発達をプログラムする役割を果たしている。また、この重要なプログラム設定時期に雌へのテストステロン投与を行うと、視床下部機能の雄性化が生じ、その結果、成体期における性周期異常や無排卵を引き起こす(Dohler, 1991; Gorski, 1996)。テストステロン、DHTおよびE₂の相対的な役割は、種特異的な様式によりそれぞれ異なっている。これは器官形成や生理的活性化に及ぼす影響についても同じことがいえる。ある種では、この3つのホルモン全てが雄性化の働きをする(Cooke et al., 1998)。重要なことは、性的二型性行動の発

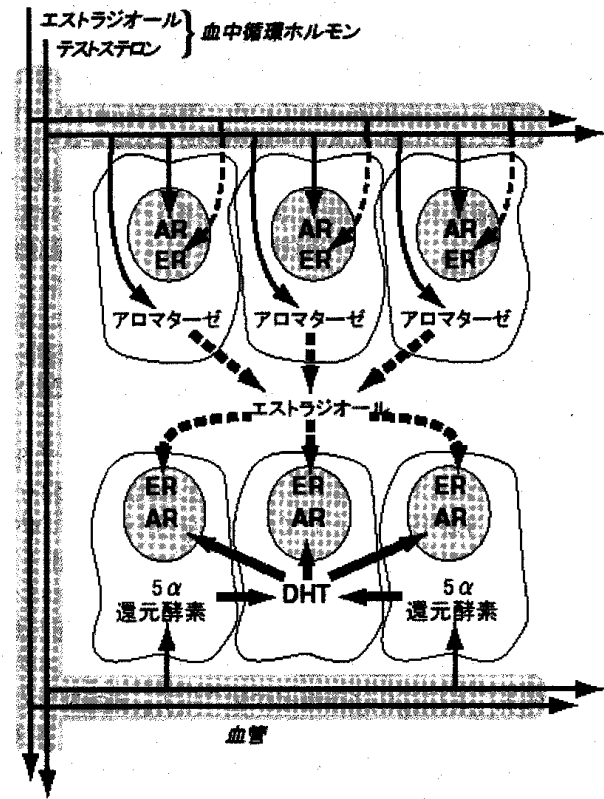


図3.3 アンドロゲンとエストロゲンを例とした内分泌および傍分泌調節系の間の相互作用の概略図。テストステロンおよびE₂の両者は内分泌ホルモンとして血中を循環するが、特異的な細胞型の内部において、テストステロンはE₂に変換される(アロマターゼ酵素による)。E₂は、ERsと相互作用するか、あるいはさらに強力なアンドロゲンであるDHTに変換され、ARsと相互作用する。このいずれの変換ステップも、比較的弱い「内分泌」信号を、標的細胞に局所的に作用できるより強力な「傍分泌」信号に効果的に増幅する。全身性および局所由来のE₂は同じERsと相互作用し、また同様に、全身血由来のテストステロンと局所由来のDHTが同じARsと相互作用しているため、内分泌系と傍分泌系とが、極めて単純な機構を用いていかに有効に相互作用しているかを示している。傍分泌影響を引き出すような高濃度のホルモンの局所的な産出は、当該組織の局所的な必要性に応じて標的細胞の機能を制御する手段であるが、血液由来のホルモンを介して、同じ組織に対する全体的な内分泌の影響はそのまま維持されている。

達における器官形成や活性化の制御には、種による著しい差があることである(Cooke et al., 1999)。例えばラットでは、雌成獣ラットにおける雄のようなマウンティング行動の出現には、胎児期に器官形成に関わるホルモンの影響がなくてもよい。少なくとも何種類かのラットでは、この行動は雌成獣ラットのテストステロンにより誘起することができる。ラットとは対照的に、ヒト以外の霊長類では、アンドロゲンがマウンティング行動を形成するのに重要な役割を果たしている(Goy, 1978; Pomerantz et al., 1985)。ラットの知見をヒトに外挿する際にはこの違いを考慮しなければならない。ラットおよびアカゲザルの両者における無秩序な戯れ行動は、アンドロゲンによって制御された数少ない社会行動の1つである(Goy, 1978)。

3.3.6 哺乳類の性分化におけるホルモンの役割

周産期に精巣から分泌されるテストステロンは、通常、脳の雄性化を導くとともに身体の雄性化にも重要な役割

を果たしている。これは雄性生殖器の形成に関わるが、この時期には身体全体の多くの器官にも影響が及ぼされる(Simpson and Rebar, 1995)。性分化におけるアンドロゲンの役割はかなり解明されている。哺乳類の胚は、性分化が始まる前には雄あるいは雌の形質を発現する可能性をもっている。生殖腺の性分化に続いて、精巣組織から雄性生殖輸管系と外性器の分化が誘導される。表現型の性の発達とは、ウォルフ管(雄)あるいはミュラー管(雌)のいずれかの維持と外性器の分化などである。一般に、問題となる組織/器官の雄性化は、図3.3に示されるように、循環するテストステロンが局所でDHTまたはE₂に転換することにより引き起こされるが、一部の組織ではMISも関与している。

雌は単に卵巣からのテストステロン分泌のスイッチを入れないことによって、雄としての発生を回避しており、表現型あるいは内分泌型としての雌になるのは、この内分泌信号の欠如に大きく依存している(Simpson and Rebar, 1995)。雄性化を促進する上でのテストステロンの中心的役割には、2つの大きなマイナスとなる側面がある。まず一つには、遺伝子型においての雄がテストステロンを産生できなければ雄性化は起こらず、表現型での雌(しかし精巣を有する)になるであろう。二つめに、反対に遺伝子型での雌が大量のテストステロン(あるいは他のアンドロゲン)に暴露されると雄性化される(しかし卵巣を有する)。このような例は共に数多くみられ、最も一般的には、不活性型変異(ARの変異では雄の雄性化が起こらない)が原因となり引き起こされるか、あるいは母親か雌の胎児でのアンドロゲン異常生成(通常は副腎から)が、雌となる過程を雄性化に導くことによる(Simpson and Rebar, 1995)。さらに大事なことは、これらが必ずしも、起こるか起こらないかという絶対的な事象ではないということである。きわめて微妙な影響が生じるような雌の部分的雌性化や、雄の雄性化の部分的欠如が起こりうる。このような影響が外性器や他の外面的な形質の特徴(例えば角の有無)に現れる場合は、容易に検出されるかもしれないが、脳やその他の器官に影響が生じれば、推測するのは容易ではないであろう。

脳および外性器のように、肝臓や筋肉のような他の器官においても、発生過程のホルモン環境により「刷り込み」が起こるため、生命の様々な段階で正常な内分泌系を乱す生体外物質の標的になる可能性がある。例えば、肛門挙筋-球海綿体筋の発達およびそれらの神経制御は、ラットの性的二型性の個体発生におけるテストステロンの器官形成および活性化に関する役割のモデルとして研究されている(Breedlove et al., 1999)。これらの組織はヒトでも性的二型性であり、影響を受けやすい臨界期は妊娠初期の3カ月にある。肛門挙筋および球海綿体筋脊髄核は、雄のラットは雌に比べてかなり大きく、出生前と成熟期後の両段階にテストステロンの暴露が必要とされる。肛門挙筋には5 α -レダクターゼがないため、雄性化の発達を開始させるホルモンは、DHTではなくテストステロンである。

このような様々な「プログラム設定」の変化の中で最

も重要な点は、おそらくそれらの不可逆性であろう。EDCsに関する最大の関心は、動物が出生前後にこのような物質に暴露することで、永久的な有害あるいは異常な変化が生じる可能性という点に集中している。ホルモンかく乱物質の暴露は長期である必要がなく、発生における臨界期での一時的な暴露だけでよい。この点に関しては、いわゆる選択的エストロゲン受容体調節因子(SERMs)(Cosman and Lindsay, 1999)および対応するSARMs(Negro-Vilar, 1999)のように、異なるアンドロゲンやエストロゲンが異なる組織にどのように作用するかについて解明が進んだ結果、さらに不確実性が増した。特定の組織におけるエストロゲンやアンドロゲン経路を選択的に活性化または阻害する化合物の働きが、いくつかの環境化学物質の類似作用の検出を予知する手だてとなるが、生殖系とそれに関わる内分泌系の発達のプログラム設定という観点からは、そのような化合物の影響を予測するのは極めて難しい。

3.3.7 哺乳類以外の種におけるHPG軸

哺乳類以外の脊椎動物の生殖様式は、哺乳類とは著しく異なり、またそれぞれの種によっても違いがある。多くの主要な種では雌雄同体、単為生殖、胎生、雌雄異体の形式が順次あるいは同時に見られる(van Tienhoven, 1983)。さらに繁殖頻度も限定されている。ある種では、一生に一度だけ繁殖(一回繁殖型)するが、他の種では何度も繁殖(繰り返し繁殖型)するものがある。1年の大半の時期は生殖腺が休止状態にあり、活動期はごく短期間という場合もある。精巣と卵巣の発達が一年の異なる時期に起こる解離生殖が、多くの種で知られている(e.g., Houck and Woodley, 1994)。しかしながら、これらの動物のHPG軸における作用、フィードバックメカニズムの型、ホルモンは哺乳類のそれと驚くほど似ているのである(総説に関してはNorris, 1997; Bentley, 1998参照)。

哺乳類以外の全ての動物のGTH放出は、哺乳類のものに類似したGnRHデカペプチド分子によって制御されている(Sherwood et al., 1994; Sower, 1998)。哺乳類ではこれらの細胞が鼻板中で発達し、発生の初期段階で視索前野および視床下部へと移動する(Dellovade et al., 1998)。少なくとも2つの典型的なGnRHの型が見つかっているが、そのうち第2の型(通常、ニワトリから最初に分離されたGnRH-IIをさす)は、基本的には神経伝達物質あるいは神経調節因子として機能し、おそらくHPG軸ではなく生殖行動に影響を及ぼしている。さらに、多くの硬骨魚類の脳には3つの型のGnRHが存在する。大きな相違点は硬骨魚類のGnRHの輸送形式にあり、視床下部と脳下垂体を結ぶ視床下部-脳下垂体門脈系が欠如しているために、GnRH軸索から直接脳下垂体前葉への浸透(penetration)が起こる。無顎魚類も門脈系輸送を欠いており拡散(diffusion)が伝達の方式となっている(Gorbman, et al., 1999)。

哺乳類のFSHおよびLHに直接相同性をもたない2つの異なるGTHが存在する。第1のGTHはGTH-Iと呼ばれ、生殖腺の発達および配偶子形成に関わっており、第2の

GTH、すなわちGTH-IIは配偶子放出に関与している。いずれかのGTHが十分な量あれば両方の効果を発揮できるが、*in vivo*では逐次分泌されている。四肢動物(両生類、爬虫類、鳥類および哺乳類)の中で有鱗の爬虫類(トカゲ、ヘビ)だけが単一のFSH様GTHをもつとみられ、他の全ての動物ではFSH様およびLH様の両GTHを産生している。

一般に、テストステロンはすべての脊椎動物で生成される主要なアンドロゲンであり、 E_2 は主要なエストロゲンである。多くの硬骨魚類の雄は11-ケトテストステロンも生成しており、これは多くの種において体内循環する主要なアンドロゲンである。硬骨魚類の雌もテストステロンを生成しており、このテストステロンの循環量は E_2 と同程度と考えられる。また硬骨魚類は重要なプロゲステロン様分子である $17\alpha,20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン($17\alpha,20\beta$ -P)および $17,20\beta,21$ -トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンを生成し、卵母細胞の最終段階の成熟と排卵を誘起する。これはGTH-IIの影響下で分泌されている。このステロイドは、交尾行動におけるフェロモンとしての作用ももつと考えられる。ある種の硬骨魚類では、副腎皮質細胞から生成されたコルチコステロイド、デオキシコルチコステロンが最終段階の卵母細胞成熟と排卵を引き起こすことが示された。四肢動物ではテストステロン、 E_2 、プロゲステロンを分泌し、これらの生殖的役割は哺乳類の発生と生殖で観察されるものに類似している。全ての四肢動物で分泌される第2のアンドロゲンはDHTである。両生類の雌は硬骨魚類と同じく、生殖期においてエストロゲンと同様にアンドロゲンを大量に産生しているが、雌の爬虫類および鳥類の血液中には通常、アンドロゲンはほとんど見られない。いくつかの違いはあるが、標的細胞に対するステロイドの作用メカニズムや特性は、哺乳類のシステムに類似しているようである。例えば、 $ER-\alpha$ および $ER-\beta$ に加えて、第3の別の垂型の $ER-\gamma$ が硬骨魚類で見つかった(Hawkins et al., 2000)。さらに、硬骨魚類のプロゲステロン受容体は、ステロイドへの結合親和力において哺乳類の対応物質とは異なり、哺乳類のプロゲステロン受容体が結合する多くのEDCsには結合しない(PinterとThomas, 1997)。したがって、脊椎動物の種間にわたるEDCsの影響を推定する際には注意しなければならない。

生殖腺の完全あるいは部分的な性転換は、アンドロゲンによる雌性化などの多くの逆説的な影響を含め、卵、幼生、幼体などの初期段階にエストロゲンやアンドロゲンに暴露されることにより引き起こされる可能性がある(Burns, 1961; Hayes, 1998a, 1998b)。さらに、アンドロゲンは、通常雌の輸管系(ミューラー管)の発達を阻害する一方、雄の輸管系(ウォルフ管)の発達を促進しており、エストロゲンはその逆を行う。アンドロゲンは、MIHまたはMISによるミューラー管の退縮を促進する。エストロゲンはMIHから卵管を保護すると考えられ(Norris, 1997)、また、アンドロゲンの逆説的な作用も報告されている(Norris et al., 1997a, 1997b; Clark et al., 1998)。EDCsは、エストロゲンの模倣や抗アンドロゲン作用を示して、

発生過程や幼若期に暴露された野生生物に対して明らかに深刻な影響を与えているのである。

エストロゲンは、鳥類の卵管細胞での卵白アルブミンタンパクの合成(Schlinger and Saldanha, 1998)、および肝臓でのビテロゲニン合成も刺激している(LeFleur, 1998; Meyer, 1999)。ビテロゲニンは、卵に組み入れられる卵黄タンパクを合成するために卵巣で使われる前駆物質である。ビテロゲニンの合成(卵黄形成)は、卵黄を有する卵を産卵する脊椎動物成体(魚類、両生類、爬虫類および鳥類)のエストロゲン活性に対する強力な生体指標となる。エストロゲンは、血漿ビテロゲニン濃度を上昇させるが、また肝臓における過形成や肥大も引き起こす。雄あるいは未成熟な雌がエストロゲンに暴露すると、肝臓でのビテロゲニン生成が誘導される(Matthiessen, 1998; Matthiessen and Sumpter, 1998; LeFleur, 1998; Meyer, 1999)。したがって、血漿ビテロゲニンは環境エストロゲンへの暴露を測る生物指標として用いることができる。硬骨魚類、両生類、鳥類では、卵黄形成はPRLまたはGHIによって促進されるが、軟骨魚類、トカゲおよびカメではPRLは抑制する働きをもつとみられる(GrauとWeber, 1998)。PRLはさらに養育行動を刺激し、抱卵斑などのエストロゲン依存の第二次性徴を促進する(Jones, 1971)。

プロゲステロンおよびプロゲステロン様ホルモンは、細胞表面の特異的受容体に結合することによりそれぞれ両生類、硬骨魚類の非遺伝子的な卵細胞成熟を調節している(Paolucci et al., 1998)。卵管からの分泌(Chester Jones et al., 1987)、およびアルギニンバソトシン存在下での両生類の輸卵管収縮の感受性はプロゲステロンに依存している(Guillette et al., 1985)。明らかに、プロゲステロンはコモチガマ(*Nectophrynoides occidentalis*)の幼生期の発生を遅らせている(Bentley, 1998)。カメでは、哺乳類と同様にプロゲステロンが収縮性を低下させている(Paolucci et al., 1998)。ステロイドが細胞膜上の特定の受容体に結合することによって細胞表面を介した迅速な非遺伝子的作用を引き起こすことは、環境化学物質によるその生理学的過程のかく乱だけでなく、ステロイドによるその補助制御にも影響があることを示している(Revelli et al., 1998)。

3.4 HPA軸

3.4.1 HPA軸の概要

HPA軸は、HPG軸について記述された作用と同様の働きをもつが、大きな違いは関与している調節因子および分泌される分子にある(Becker, 1995)。CRHは視床下部のニューロン終末から分泌され、ACTHの合成および分泌を調節するために、脳下垂体前葉の副腎皮質刺激ホルモン分泌細胞に働きかける。分泌されたACTHは血流によって副腎に運ばれ、そこでグルココルチコイドホルモン(コルチゾールやコルチコステロン)の分泌を刺激する。後者は、炭水化物、タンパク質および脂肪の代謝、抗炎症作用、またストレス反応の調整などの重要な役割を持ち、身体全体にわたり多くの影響を及ぼしている(Becker, 1995)。他の内分泌軸のように、標的細胞の産物であるグ

ルコルチコイドはCRHの分泌を抑えるために、ネガティブフィードバックを行うことで視床下部と脳下垂体における量を調節している。ヒトの循環血中グルココルチコイドの多くは、性ステロイドホルモンと同じように結合タンパク質(CBG; コルチコトロピン結合グロブリン)に結合しており、局所におけるCBGからの生体活性ホルモンの放出は、炎症に対する組織の局所反応メカニズムの一つである(Rosner, 1990)。グルココルチコイドが発生における「プログラム設定」に重要な影響を及ぼし、またこれらのホルモンの循環量の変動が、他の内分泌軸の発現時期や設定値にも影響することが次第に明らかになってきた。例えば、短期および長期の疾病の危険性を含むIUGRの様々な影響は、主に胎児期におけるグルココルチコイド濃度の上昇が引き金となって起きると考えられている(Philips et al., 1998)。

ストレスや高濃度のグルココルチコイドの暴露は、成人期の学習および記憶障害に現れるように、脳の発達に深刻な影響を与えることがある。手で触られた新生児ラットの初期の影響では、ストレス反応に対する調節機能が向上し、また加齢に伴う海馬の細胞減少および記憶力低下が抑制された(Francis et al., 1996; Meany et al., 1988)。対照的に、新生児ラットにおけるグルココルチコイドの増加は、ミエリン(髄鞘)形成、樹状突起形成およびシナプス形成の不全とともに、軸索成長が不完全となり学習障害および運動機能に異常をきたす結果となる(de Kloet et al., 1988)。

上述の哺乳類のHPA軸にはさらに多くの微細で複雑な要素がある。まず、副腎は、カテコールアミンとともにミネラルコルチコイド(腎臓に作用する)、オピオイドペプチド、エンケファリンなどの重要なホルモンの分泌源であり、その全てが身体全体にわたり多くの効果をもたらすものである。これらのホルモンの分泌は、それぞれHPA軸とは関係のないメカニズムによって調節されている。生殖に関してみると、副腎からの他の産物で最も重要なものは弱アンドロゲンのDHEA、硫酸DHEAおよびアンドロステンジオンであり、これらの分泌もACTHにより刺激される。これら副腎由来のアンドロゲンは、標的組織でより強力なアンドロゲンあるいはエストロゲンに変換され(図3.3)、それによって生殖内分泌系およびアンドロゲンやエストロゲンに反応する細胞型の機能に影響を及ぼす(Simpson and Rebar, 1995)。副腎性アンドロゲンの過剰生産が子宮内 (*in utero*) あるいは妊娠している母親で起こった場合には、雌胎児の部分的な性転換などの重大な結果をもたらす可能性がある(Simpson and Rebar, 1995)。ヒトでは副腎性アンドロゲンが思春期初期にも作用し(adrenarche)、恥毛およびわき毛の成長を刺激する役割を果たしている(Ritzen, 1998)。視床下部-脳下垂体レベルでは、さらにACTH放出の制御がアルギニンバソプレッシンを介して行われている可能性がある。

3.4.2 哺乳類以外におけるHPA軸

哺乳類の副腎皮質に相同である哺乳類以外のステロイド合成器官は、間腎腺、間腎組織あるいは単に間腎とい

われている(Vinson et al., 1993; Norris, 1997a; Bentley, 1998)。したがって、特に魚類では、HPA軸はしばしば視床下部-脳下垂体-間腎軸と称される。このステロイド合成器官は、哺乳類の副腎皮質との相同性を表す意味で「副腎皮質性」と呼ばれている。

哺乳類以外のHPA軸は、哺乳類のそれと同様に、最初に視床下部のCRH様ペプチドの分泌に刺激され、続いて脳下垂体からのACTH放出、そして副腎皮質性組織からコルチゾール(大部分の魚類において)、あるいはコルチコステロン(大部分の両生類、鳥類および爬虫類)の分泌が起こる。HPA軸は、ストレスに対する応答調節に重要であり(Iwama et al., 1997)、哺乳類(Schreck, 1996)と同じように抗免疫作用をもつとみられる(Gaillard, 1994)。生体は、ストレスの存在に対して、ホルモンを正常なレベルに戻すことで適応している。長期化したストレスはHPA軸の活性の増加に結びつき、時には慢性的なコルチゾールあるいはコルチコステロンの上昇を生じることがある。極端な場合では、これがHPA軸を消耗して死に至ることもある。ストレスが慢性化した動物は、活性化されたHPA軸を持ちながらも、グルココルチコイド濃度は正常かわずかに上昇した程度である。

多くの哺乳類以外の動物では哺乳類様CRHを分泌することが報告されているが、同じようにACTH分泌を増加させることができる他のCRH様ペプチドが魚類および哺乳類で発見された。哺乳類のACTHは、全ての脊椎動物の副腎皮質からの分泌を刺激する効果をもつとみられるが、これは我々がACTHと呼ぶこれらのペプチドでは、脊椎動物間でアミノ酸配列が保持されていることを反映している。軟骨魚類(サメ、ガンギエイ、エイ)では、特異なコルチコステロイドである1-ヒドロキシコルチコステロンが見つかったが、コルチコステロンも産生している。

硬骨魚類でコルチゾールは、Na⁺およびK⁺バランスを調節するミネラルコルチコイドとしての機能、およびグルココルチコイドとしての機能の両方を合わせもつ。少量のコルチコステロンも硬骨魚類の血漿中にみられる。両生類の幼生および水生両生類は、硬骨魚類のように主要なコルチコステロイドとしてコルチゾールを産生するが、陸生および半陸生の両生類は爬虫類および鳥類の全てと同様にコルチコステロンを産生する。全ての四肢動物はアルドステロンを産生するが、塩バランスにおける役割は哺乳類以外まだ解明されていない。哺乳類は、グルココルチコイドおよびミネラルコルチコイドに対してそれぞれ異なる標的細胞に存在する2つの全身性のコルチコイド受容体をもつ。他の脊椎動物におけるコルチコイド受容体数の数は、まだ十分に調べられていない。

3.5 HPT軸

3.5.1 HPT軸の概要

この軸は、HPG軸で描かれた作用と非常によく似た働きをする。TRHは、視床下部ニューロン終末から分泌され、哺乳類のTSHの合成と分泌を制御するために、脳下垂体前葉の甲状腺刺激ホルモン産生細胞に働きかける