

「内分泌かく乱物質」
平成10年度採択研究代表者

香山 不二雄

(自治医科大学保健科学講座 主任教授)

「植物由来および人工の内分泌かく乱物質の相互作用」

1. 研究実施の概要

生物は人工の内分泌かく乱化学物質に触れる以前から自然界に存在するホルモン様物質(植物エストロゲン)を摂取してきた。そして進化の過程で植物エストロジェンの暴露に対して適応し、植物エストロゲンが潜在的に生理的に重要な役割を果たすようになってきている可能性がある。内分泌かく乱化学物質の健康リスク評価をする場合、食事より吸収される植物エストロジェンの存在は無視する事はできない。本研究では内分泌かく乱化学物質の問題を植物エストロゲンと人工の内分泌かく乱化学物質との比較から解明して行こうとしている。

植物エストロゲンは大豆、ブドウ、ナツメヤシなどに多く含まれている。日本人は、欧米人に比べて、大豆食品摂取量が多く、日本人の内分泌かく乱化学物質の影響評価をするときに植物エストロゲンは大きな修飾因子となる可能性がある。そのため植物エストロジェンの影響評価および人工の内分泌かく乱化学物質との相互作用の研究を進める必要がある。

方法としては、種々の植物エストロゲンおよび人工化学物質の作用機序の差異を主に分子生物学的手法を用いて遺伝子レベル、細胞レベル、臓器レベル、個体レベルで検討する。さらに、両物質の人の生体内存在量を調査し、骨密度をエンドポイントとして調査検討する。これらの結果を総合的に検討することにより、内分泌かく乱化学物質問題の現状評価と今後の指針を作成するために必要な知見が得られることが予想される。

2. 研究実施内容

植物エストロゲンと人工の内分泌かく乱化学物質との生体での作用メカニズムの差異を明らかにするために、まず生体内の天然エストロゲン(エストラジオール; E2)の作用機序について分子生物学的手法を用いて検討を行ってきた。E2の作用発現は標的細胞の核内に存在する特異的レセプター(ER α 、ER β)を介した転写制御と、転写産物(mRNA)の安定化・不安定化制御などの転写後制御の2段階で調節されると考えられている。転写段階については詳細な分子メカニズムが既に明らかにされている。一方、転写後段階のmRNA安定化・不安定化制御に関し

ては未解明な部分が多い。近年、RNA結合タンパクであるAUF1とHuRがmRNA分解制御において重要な役割を担うことが明らかとなってきた。そこで我々はこれらの因子に注目し、子宮及び卵巣組織においてこれらの因子の発現量およびE2による発現調節について解析した。E2投与後、子宮組織においてAUF1mRNA蓄積量が増加し、ER阻害剤（ICI82,780）により抑制された。この変化は卵巣組織では起こらなかった。一方、HuR mRNAは子宮および卵巣組織で発現が確認されたが、E2による発現量の変化は見られなかった。

植物エストロジェンの一つであるクメステロールによってもAUF1mRNA蓄積量の変化はE2同様に起こった。しかし、その変化は長時間続かず一過性であることが明らかとなった。一方、人工内分泌かく乱化学物質の一つであるビスフェノールAではAUF1mRNA蓄積量の変化は見られなかった。これらの結果は植物エストロゲンと人工内分泌かく乱化学物質では転写後段階の制御の違いにより遺伝子の発現が異なる可能性を示唆するものと考えられた。

次にヒト胎児腎臓由来細胞（293T）にERE-tk-LucおよびER α あるいはER β 発現ベクターを一過的に発現させ、E2、クメステロール（Cou）、ゲネステイン（Gen）のERを介した転写活性化能を測定した。その結果、CouおよびGenはER β 依存的な転写活性化能はE2同様であったが、ER α 依存的な転写に関してはCouはE2の10倍、GenはE2の100倍濃度でE2同等の転写活性化能を示すことが明らかとなった。

さらに、女性ホルモン作用あるいは抗炎症作用が知られている植物より精製された化学物質を、上述のERE-tk-LucおよびER α ER β 発現ベクターを一過的に発現させた293T培養細胞に添加して、エストロゲン活性を検討した。セリ科植物から抽出されたフェルチニンにエストロゲン活性が確認され、ER α に対してはアゴニスト、ER β に対してはアンタゴニストとして作用することが明らかとなった。さらにその分子メカニズムに関して検討を加えている。

また、エストロゲンおよび植物エストロゲンがエリスロポエチン（EPO）産生に關与する事を見出した。現在、in vivoにてEPO産生誘導刺激としてコバルト、低気圧曝露を用いて植物エストロゲンと人工の内分泌かく乱化学物質の影響を検討している。

植物エストロゲンや人工内分泌かく乱化学物質の生体影響のバイオマーカーとして既知または未知の遺伝子の検索を行っている。differential display法を用い、E2の有無に依存して発現量に差のある遺伝子をラット子宮組織から検索した。その結果、E2依存的に誘導される遺伝子と、抑制される遺伝子が取得された。現在、植物エストロゲンおよび人工内分泌かく乱化学物質による取得された遺伝子の発現量の変化を解析している。

以上の解析は自治医科大学、香山グループにて行っている。

植物エストロゲンや人工内分泌かく乱化学物質の曝露が、免疫細胞の発育に影響を与えるかどうかについて産業医科大学、山下グループで、骨組織での骨代謝バランスに対してどのような影響があるかを国立環境研究所、平野グループで、各々、脾臓リンパ球、骨芽細胞および破骨細胞を用いて検討を行っている。

また、九州大学、山田グループでは、食物中の植物エストロゲンや人工内分泌かく乱化学物質様物質の検索および、生体試料（血液、尿、脂肪組織）からの抽出法と定量法（高速液体クロマトグラフィー＋クーロメトリー法）の開発を行っている。現在、100 μ lの血清中のイコール、ゲネステイン、ダイゼインを定量できるようになり、ヒト血清中の植物エストロジェンの測定を開始している。

3．主な研究成果の発表（論文発表）

なし