

5.2.3.1 発生段階における暴露

5.2.3.1.1 性依存性の神経行動への影響 性依存性の神経行動への影響は男女に異なって現れるが、性機能と生殖には直接関連しない。表5.6に発生前暴露後のこのような影響に関する研究を要約する。

ニコチンや再構成PCB混合物暴露後、次世代の雄の甘み嗜好性が増すのは、行動学的雌化を示唆するもので、この雌化は、PCBsについてはアロマトラーゼ活性の阻害による可能性が高い(第3章参照)。オルト塩素化PCB同族体への単回暴露後に見られる空間的遅延交替障害は、腹側被蓋から強力なドーパミン作動性の投射を受けている前前頭皮質の変化を示唆している。ドーパミンの放出はエストロゲン濃度に依存するので、これが雌のみに欠陥が生じる理由と考えられる。しかし、エストロゲンの濃度と周期性に関してはこの実験では調べられていない(Schantz et al., 1995)。雌でみられるクロルデンが誘発する空間学習の向上が雌化を示すものと考えられるのは、雌のほう

がエストロゲンの低い発情静止期にこの種の行動をうまくこなすからである。クロルデコンで見られる聴覚性驚愕反応(Mactutus and Tilson, 1985)、およびコブラナーPCB77での網膜電位図(Kremer et al., 1999)が性によって異なる変化をする理由は不明である。

5.2.3.1.2 性分化および性依存性の行動 性行動と生殖に直接関連する神経発生過程への内分泌活性化学物質の影響を、表5.7に要約する。卵巣を摘出してテストステロンで刺激した次世代雌においては、クロルデコン投与後にマウンティング回数の増加がみられた(LOAEL、一匹あたり0.5 mg; NOAEL、一匹あたり0.25 mg; Gray, 1982)。雄様性行動障害によるTCDDの脱雌化も示唆される(Mably et al., 1992)。またTCDDは、去勢後卵巣ステロイドで刺激した雄の雌化も引き起こす。しかし、TCDDが誘発する影響を調べた別の研究では、影響はそれほど強くないとされているものもある(Gray et al., 1995a, 1995b)。

表5.7 内分泌活性化学物質に発生前暴露したラットでの神経行動影響: 性分化と性行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
クロルデン	GD4~PND80に0.1、0.5、5 mg/kg	雄児動物の挿入潜時の短縮、射精前の挿入回数および総挿入回数の増加	0.1 mg/kg	-	Cassidy et al., 1994
フェナリモル	35 mg/kg BW等量として飼料1kgあたり350 mg	雄新生児の視床下部視索前野における核のERs濃度の減少、雌新生児の視床下部視索前野におけるE ₂ およびエストロン濃度の低下	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
TCDD	GD15に64、160、400、1000 ng/kg bwをPO	脱雌性化: 雄児動物のマウンティング時間延長、挿入回数増加、射精潜時の延長 雌性化: 去勢卵巣ステロイドを投与された雄児動物の背弓反射指数の上昇と点数/回数の増加	64 ng/kg 160 ng/kg	64 ng/kg	Mably et al., 1992
TCDD	GD15に700 ng/kgをPO	1922年のMablyらの結果の追試、影響はERs数の変化や性的二型脳核容積の変化によるものではない	700 ng/kg	-	Bjerke et al., 1994
TCDD	GD15に1000 ng/kgをPO	母親交換実験で哺乳期暴露により雄の児動物の性行動が雌性化。脱雌性化に対する効果は不明瞭	1,000 ng/kg	-	Bjerke and Peterson, 1994
TCDD	GD8または15に1000 ng/kgをSC	雄の性行動に対するTCDDによる影響はほとんど、もしくは全く影響が見られない。Mablyら(1992)およびBjerkeら(1994)の研究とは対照的	1,000 ng/kg	-	Gray et al., 1995b
TCDD	GD15に1000 ng/kg	Long-Evans雌の児動物において腔内糸状物と、交尾困難に起因する非暴露対照群雄の無挿入マウンティング回数の増加、射精潜時の延長	1,000 ng/kg	-	Gray and Ostby, 1995
TCDD	GD15に1000 ng/kgをPO	成熟期前の雌の児動物においてER mRNAレベルが、視床下部、子宮、卵巣において上昇、下垂体においては低下; DNA結合は子宮で上昇、視床下部で低下、卵巣では変化なし	1,000 ng/kg	-	Chaffin et al., 1996
ピンクロゾリン	GD14~PND3に200 mg/kg	雄の児動物における挿入および射精の消失	200 mg/kg	-	Gray et al., 1994

bw 体重。PO 経口。SC 皮下注射。

表5.8 内分泌活性化学物質に離乳期暴露したラットでの神経行動に及ぼす影響: 性別に依存する行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
メキシクロル	PND22に400mg/kgをPO	暴露雌における卵巣摘出前の車輪走行運動活性の上昇、卵巣摘出対照群とは対照的に卵巣摘出後も同活性の低下は認められない	400 mg/kg	-	Gray et al., 1998
メキシクロル	PND104からテスト期間中200 mg/kgをPO	プロゲステロン投与による拮抗を受けた暴露雌において卵巣摘出後の車輪走行運動活性	200 mg/kg	-	Gray et al., 1998

PO 経口。

5.2.3.2 離乳後の暴露 内分泌活性化学物質の暴露による、性依存性の行動および性行動への影響に焦点を当てた神経行動学研究的結果を、表5.8と5.9に示す。ラットによる研究のほかにも、メトキシクロルを1日 200mg/kg、2週間経口投与したハムスターに、性行動への影響が認められている。卵巣摘出の雌では、プロゲステロンによる刺激後に脊柱を前弯させる性行動が増えた(Gray et al.,

1988)。性依存性の行動と性行動は双方とも、メトキシクロルのエストロゲン様の影響を示している。同じことがビスフェノールAにも当てはまるが、フェナリモルでは、マウンティング行為の異常と脳内のE₂受容体数減少で示されるように、雄の脱雄化が見られた。このような影響は、発生期の脳におけるアロマトラーゼ活性の阻害による可能性が高い(第3章参照)。

表5.9 内分泌活性化学物質に離乳期暴露したラットでの神経行動に及ぼす影響: 性行動

化学物質	投与量と期間	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
ビスフェノールA	1日に200 mg/kgをSCIにて3日間	卵巣摘出した雌での背弓反射指数=1	200 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
フェナリモル	PND21~270に4, 8, 17, 35, 70 mg/kg	雄でのマウンティング回数の減少とマウンティング潜時の延長	4 mg/kg	-	Gray et al., 1991
フェナリモル3	35 mg/kg bw等量として飼料1kgに50 mgを7日間添加	卵巣摘出した雌での視床下部視索前野および下垂体の核のE ₂ 受容体濃度の僅かな上昇	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
フェナリモル	35 mg/kg bw等量として飼料1kgに350 mgを2週間添加	成熟雄での視床下部視索前野および下垂体の核のE ₂ 受容体濃度の非有意な54%低下	35 mg/kg	-	Hirsch et al., 1987a, 1987b
メトキシクロル	PND22から成熟まで400 mg/kgをPO	卵巣摘出した雌でのプロゲステロンによるブラッキング後の背弓反射指数(背弓反射行動回数/マウンティング回数)=1、卵巣摘出した対照群では背弓反射指数=0	400 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
メトキシクロル	PND104からテスト期間中200 mg/kgをPO	卵巣摘出した雌での背弓反射指数=1	200 mg/kg	-	Gray et al., 1988
メトキシクロル	PND21から成熟まで50, 200 mg/kgをPO	雄のマウンティング回数の増加と精子数の減少	50 mg/kg	-	Gray and Ostby, 1998
ポリ塩化ビフェニル	成熟1日に10 mg/kgをPOで30日間	雌の膣スミア内における精子確認率減少(交尾の許容が減少?)	10 mg/kg	-	Brezner et al., 1984

bw 体重。PO 経口。

表5.10 内分泌活性化学物質に発生期暴露したラットの神経行動に及ぼす影響: 甲状腺ホルモンを介した影響

物質名	投与量と投与方式	影響	LOAEL	NOAEL	参考文献
PCB 126	交尾の35日前からPND21まで250, 1000 ng/kgをPO	低周波音域における聴力閾値の上昇	250 ng/kg	-	Crofton and Rice, 1999
PCB 77	GD7~18に1 mg/kgをSC	児動物におけるバスピロンによるアポモルフィン反応阻害の低下は甲状腺機能抑制物質の発生期暴露に類似	1 mg/kg	-	Lilienthal et al., 1997
PCB 169	GD1に0.2, 0.6, 1.8 mg/kgをPO	母動物、胎児(GD20)、児動物(PND7および21)、それぞれの全脳内でII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性が上昇	1.8 mg/kg	0.6 mg/kg (GD 20において1.8 mg/kgで影響なし)	Morse et al., 1993
PCB 77とPCB 169の併用	GD2~18にPOによる1mg/kgのPCB 77と0.6mg/kgのPCB169	胎児(GD20)の全脳内においてII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性が上昇、雌の児動物(PND21)全脳内においては低下	1 mg/kg PCB 77 + 0.6 mg/kg PCB 169	-	Morse et al., 1995
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6~PND21に1, 4, 8 mg/kgをPO	児動物(PND24)での聴覚驚愕反応の振幅の減少、低周波音域における聴力閾値の不可逆の上昇	4 mg/kg	1 mg/kg	Goldey et al., 1995
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6~PND21に1, 4, 8 mg/kgをPO	児動物での低周波音域の聴覚驚愕反応による振幅の低下	4 mg/kg	1 mg/kg	Herr et al., 1996
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD6~PND21に8 mg/kgをPO	児動物(PND23)での聴覚驚愕反応の振幅低下と成熟後における同反応の上昇、低および高周波音域における聴力閾値の不可逆の上昇、T ₄ 投与により聴覚閾値は低周波音域では回復するが高周波音域では回復しない、聴覚驚愕反応の振幅には効果なし	8 mg/kg	-	Goldey and Crofton, 1998
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD0~PND21に6.25, 12.5, 25 mg/kg BWの等量として食餌1kgに62.5, 125, 250mg	児動物における海馬および前脳基底部内コリンアセチルトランスフェラーゼ活性の低下、T ₄ 投与による海馬での部分的回復	6.25 mg/kg	-	Juarez de Ku et al., 1994
PCB工業用混合物(アラクロール1254)	GD10~16に5, 25 mg/kgをPO	胎児(GD20)での前脳基底部内におけるII型T ₄ 5'-脱ヨード酵素活性の上昇、雌の児動物(PND21)における同活性の低下	5 mg/kg	-	Morse et al., 1996

bw 体重。PO 経口。

5.2.4 甲状腺ホルモン

神経発生期(神経発生、中枢神経系における細胞の移動、細胞分化など)における甲状腺ホルモンの役割はよく知られていることから、甲状腺ホルモンに依存した過程を介して神経行動に影響を与えると考えられる内分泌活性化学物質は、発生期の動物で詳細に研究されている。その結果を表5.10に要約する。末梢のI型チロキシン5'-脱ヨード酵素とは対照的に、脳におけるT₄のT₃への変換の減少に対する反作用として、循環T₄が減少するのに対応し、中枢神経系においてII型脱ヨード酵素の活性が上昇する。このような活性の上昇は、発生期に単一のPCB同族体、あるいは工業用混合物に暴露した場合に検出された(Morse et al., 1993, 1996)。PCBの甲状腺ホルモンへの作用によるとされる神経行動への別の影響には、低周波音域での聴力閾値の上昇があるが、発生期にT₄を補充するとPCB暴露の影響が一部改善した(Goldey and Crofton, 1998)。これほどははっきりとはしていないが、同じことがコリンアセチルトランスフェラーゼに対する影響にも当てはまる(Juarez de Ku et al., 1994)。薬物識別学習におけるドパミン作動性/セロトニン作動性相互作用への影響に、PCBによる作用の類似性と甲状腺機能抑制剤による作用が示されているが、T₄の補充による回復は見られない(Lilienthal et al., 1997)。

5.2.5 神経行動についての結論と勧告

PHAHs(主にPCB)への出生前後の暴露と関連し、影響の範囲については相違があるものの、数多くの神経行動の変化が報告されている。出生前後のPHAHsによる甲状腺機能低下の影響については、かなり一貫した報告がなされているが、神経行動への機能障害の原因としての役割を、既存のヒトデータから推論するのは不可能である。この点は、PHAHsと性ステロイドとの相互作用に関しても同様である。生物学的蓋然性は、潜在的内分泌かく乱化学物質を用いた動物実験によりもたらされ、性ステロイドを介した、性依存性の行動や性行動への暴露影響が示される。ヒトの疫学研究では、このようなタイプの行動が測定されることは稀である。例外は台湾油症の小児を対象にした研究で、空間的に構成された特別な知能検査において、男児のみに障害が報告されている。実験的研究では、発生の臨界期に暴露が起こるとかく乱される可能性をもつ、特定の神経行動のエンドポイントへの甲状腺ホルモンによる影響も報告されている。

内分泌かく乱および性腺ステロイドや、注目度は劣るが甲状腺ホルモンへの影響に関する研究が注目を集めている。生合成障害、代謝亢進、あるいは標的の変化などによる、他のホルモンへの考えられる影響についても調べる必要がある。性腺ステロイドは、種々の神経系疾患、神経毒性物質、酸化ストレスなどの有害影響からの保護作用のほか、発達、傷害後の再生、加齢など、神経の可塑性に関連した多様なプロセスに関わっている。内分泌かく乱化学物質は、これらのすべてのプロセスにおいてホルモンの作用を変化させるため、神経系は他の系よりも有害事象の影響を受けやすくなる。神経の可塑性に

対する影響は、環境変化への成人器官の適応能も妨げているかもしれない。さらに、神経系自体がプレグネノロン、デヒドロエピアンドロステロン、プロゲステロンおよびその代謝産物などのいわゆる神経ステロイドを、末梢での合成と関係なく産生することも知られている。この広範囲のステロイドによる作用に対する内分泌活性物質の影響に関する情報は、現時点では存在しない。

5.3 免疫系

5.3.1 緒言

5.3.1.1 免疫系の構造と機能の概要

免疫系の主な機能は、感染性因子とある種の腫瘍細胞に対する防御である。様々な型の細胞とその分泌する可溶性の伝達物質とが見事に調和して免疫系の機能を司る。宿主の防御は、非特異的すなわち先天的な免疫と、特異的すなわちリンパ球による後天的な免疫とに大別される(IPCS, 1996)。

免疫系を構成する要素は体全体に存在している。リンパ球系は、骨髄と胸腺からなる一次、すなわち中枢リンパ器官と、リンパ節、脾臓、粘膜関連リンパ組織と呼ばれる分泌面に沿ったリンパ組織からなる二次、すなわち末梢リンパ器官によって構成されるリンパ器官内に存在する。単球/マクロファージ系の食細胞は単核食細胞系と呼ばれ、リンパ器官および肝臓のクッパー細胞、肺の肺泡マクロファージ、腎臓の糸球体間質マクロファージ、および脳のグリア細胞のように、リンパ節以外にも存在する。多形核白血球はおもに血液と骨髄に存在し、炎症部位に集合して非特異的な一次防御を行う。

宿主が最初に病原体と接触した後、特異的な免疫反応が誘発される。この二次防御の特徴は、BおよびTリンパ球の細胞表面受容体による、抗原またはエピトープと呼ばれる病原体の決定基の特異的認識である。受容体をもつ細胞は特異的抗原との相互作用により刺激され、反応を誘発した抗原に特異的な細胞クローンを産生する。この特異的免疫反応は、非特異的反応の効果を高めることで病原体に対する非特異的防御を助ける。特異的免疫の基本的な特徴は、記憶が形成されることである。同一の抗原に再度接触すると、より早くかつ強力だが、よく調節された応答が起きる。

特異的免疫には、体液性免疫と、細胞(性)免疫の2つが知られている。体液性免疫では、細胞表面の受容体による抗原認識の後、Bリンパ球が刺激を受ける。成熟したB細胞(プラズマ細胞)は、抗原特異的免疫グロブリンの産生を開始し、これが血清中または粘膜表面で抗体として働く。細胞性免疫はTリンパ球による。Tリンパ球は、抗原提示細胞上の組織適合抗原によって提示されると、その抗原を認識する。つまり、これらの細胞は、抗原特異性以外にも拘束がかかる。T細胞は、種々の免疫応答(体液性免疫を含む)のヘルパー細胞として機能し、炎症細胞を動員し、さらに細胞傷害性T細胞として抗原を特異的に認識した後に標的細胞を殺すこともできる(Schuurman et al., 1991; IPCS, 1996; Weigle, 1997による詳細な総説)。

5.3.1.2 EDCsが引き起こす免疫系への毒性影響

免疫系が化学物質による傷害の受動的な標的になると、有害な

反応が生じ免疫機能が変化する。免疫系が、特異的免疫応答の一環として、化学物質に抗原特異的に応答する場合にも、毒性、すなわち過敏症やアレルギーが発症する。化学物質が引き起こす毒性で免疫系が標的となると、免疫が抑制されて疾病に罹りやすくなり、感染症やある種の腫瘍性疾患の発生率が上昇し、アレルギーや自己免疫疾患が悪化する(Schuurman et al., 1991; IPCS, 1996, 1999)。ある種のEDCs暴露後に免疫毒性が起こる場合があるが、免疫系への直接作用と内分泌かく乱後の二次的影響とを区別することが重要である。今のところ、化学物質(EDCsであるなしに関わらず)に対する免疫毒性反応で作用機序が分かっているもののほとんどは、内分泌への影響には関与していない。しかし、免疫系と神経内分泌系は密接に連携し協力して生理的恒常性を維持している(第3章、3.15参照)。化学物質が内分泌系のメカニズムを介して免疫機能に有害な影響を与える可能性があるのは明らかで、このうち判明している数例について後述する。

免疫機能不全の最終結果であるヒトの疾患の増加は、検出可能なエンドポイントであるが、因果関係の特定は困難である。したがって、化学物質の直接的な免疫毒性影響を検出し評価するには、実験モデルに頼らなければならない。免疫機能の評価のために利用できる方法は多岐にわたる。化学物質の免疫毒性の評価では、多くの国の規制当局がラットによる28日間反復投与毒性試験を要求している。この最初のスクリーニング系には、OECDガイドライン407(OECD, 1995a)で採用されているような、特異的および非特異的免疫系に関する一般的指標が含まれている。これらの指標は、リンパ器官の重量や組織学を調べることで、一次および二次リンパ組織内のTおよびBリンパ様細胞に対する毒性を評価するものである。混餌投与試験のように、特に暴露が粘膜部位で起こる場合は、粘膜性のリンパ組織を検査することも有用である。このスクリーニングにおいて、他の有害影響による二次的なものではなく、他の毒性作用を示す用量に近い用量で免疫毒性影響が検出された場合は、第二段階の試験の適用となる。第二段階には、実験用感染モデルにおける細胞性および体液性免疫、マクロファージ機能、ナチュラルキラー細胞活性、宿主の耐性などを評価するため、多様な*in vivo*, *ex vivo*, *in vitro*検定がある。EDCsの理解が進むにしたがって、免疫能に関する他の検査を組み込んでいくことも必要かもしれない。

宿主抵抗性モデルがあれば、実際の免疫機能損傷の帰結が明らかになるため、リスク評価にとってはきわめて有用であろう。それぞれの宿主抵抗性モデルは、その特定モデルのメカニズムに基づいて、さまざまな免疫系の構成要素に対応している。したがって、免疫毒性物質暴露による免疫能影響評価には、単一の宿主抵抗性モデルだけが用いられることはない(Neumann, 1995; IPCS, 1996)。

5.3.2 ヒトでのデータ

過去 20 年間のヒトおよび実験動物を対象とした研究

から、免疫系が、医薬品や環境への影響が懸念されている化学物質など、多くの化学物質の標的となっていることは明らかである。しかし、内分泌系かく乱メカニズムを介してヒトの免疫系に変化をもたらすことが立証された化学物質は少ない。DESについては、そのメカニズムが明らかになっている。PCBs、PCDFs、PCDDsの胸腺に対する毒性は、他の標的器官の場合と同様に、AhR結合により胸腺ホルモンに作用することで生じると考えられる。ゆえに、免疫毒性は内分泌かく乱メカニズムによると考えることができる。プロゲステロンに早期に暴露されると免疫抑制が誘発されることは知られているが、報告されたメカニズムについては議論を呼んでいる(Siiteri et al., 1977; Schust et al., 1996)。周産期/若齢期にメトキシクロルに暴露された成熟ラットの報告でみられたように、内分泌かく乱作用があっても免疫系には影響を及ぼさない化学物質も存在する(Chapin et al., 1997a)。免疫毒性のメカニズムが知られている数少ない化学物質の大半は内分泌かく乱作用がない。

5.3.2.1 DES DES 暴露によるヒトおよび実験動物の免疫系への影響を Blair ら(1992)および Golden ら(1998)が概説した。子宮内 DES 暴露後のヒトを対象とした長期免疫影響のデータは限られている。免疫刺激の科学的根拠としては、生殖器官奇形、子宮頸部や腔腺疾患が確認されている女性 8 人において、有糸分裂促進因子の PHA(植物性血球凝集素)および PWM(ヨウシュヤマゴボウ有糸分裂促進因子)に反応したリンパ増殖性の亢進が報告されている(Ways et al., 1987)。子宮内 DES 暴露によって生殖器官に変化をきたしたとされる娘たちについての小規模研究では、ナチュラルキラー細胞機能の変化が示唆されている(Ford et al., 1983)。

子宮内暴露による免疫機能への影響の可能性が 2 件の大規模な DES 暴露コホートで調べられた。これらの調査では、一般集団と比較して DES 暴露群で(Wingard and Turiel, 1988)、また、調査に参加した非暴露女性の対照群において(Noller et al., 1988)、気道感染症、喘息、関節炎、および狼瘡などの免疫機能障害の生涯有病率が上昇することが示唆された。それぞれ適切な対照群をもつ 2 つの DES 暴露女性群を追跡調査した結果、よくみられるウイルス性疾患 5 種、およびまれなウイルス性疾患 6 種についての有病率あるいは血清抗体価に差は認められなかった。しかし DES 暴露群において、細菌性疾患(連鎖球菌性咽喉炎)後の比較的まれな免疫反応亢進であるリュウマチ熱の有病率が高かった(Blair et al., 1992)。その後の研究では、自己免疫疾患に関係する因子の有無を DES 暴露群と対照群の血清で調べ、免疫グロブリン濃度も測定した(Blair, 1992)。赤血球抗原への抗体価は、対照群と比較して DES 暴露群で高く、血清 IgA 値も有意に上昇していた。Blair(1992)は、一般にヒトは出生前に DES に暴露されても基礎的免疫機能に重篤な障害は生じないが、自己免疫疾患や免疫調節の障害に関連する他の疾患に罹りやすい傾向にあると結論している。

5.3.2.2 PCBs、PCDFs、PCDDs PCBs、PCDFs、およ

び PCDDs の免疫影響に関する総説に関しては、Blair(1995)、Vosら(1997/98)、Goldenら(1998)を参照。

5.3.2.2.1 暴露事故 イタリアのセブソで一部の住民が比較的高濃度の TCDD に暴露したが、彼らを対象とした疫学研究では、血清免疫グロブリン濃度や、T および B 細胞の細胞分裂誘発反応に異常はみられなかった (Reggiani, 1978)。その他の事故による暴露では、ヒトへの免疫毒性が認められている。1971 年に、米国ミズーリ州で埃対策の目的でトレーラーハウス駐車場の未舗装の道路に散布された、TCDD 含有の廃油に暴露された住民を対象とした総合調査では、免疫系の変化が認められた。暴露住民では、DTH の皮膚テストでのアネルギー（抗原反応不顕性）頻度と相対アネルギーが統計学的に有意に高頻度でみられ、また、異常な T 細胞サブセット試験結果、1.0 未満の T4/T8 比、および T 細胞機能試験結果での異常が、統計学的に有意ではないが高頻度でみられた (Hoffman et al., 1986)。この結果は、長期にわたって TCDD に暴露されると、細胞性免疫の抑制が生じることを示唆しているが、これらの変化に内分泌系が介在するかどうかについては疑問が残る。免疫アネルギーが認められた住民を対象とした追跡調査では、アネルギーが続いているものはいなかった。この現象の説明としては、最初の研究に用いられた皮膚テストの検出力が低いこと、あるいは、最初のテストによって抗原に対する感作が起こったことの二つが考えられるとしている (Evans et al., 1988)。同じ集団を対象に体内 TCDD 蓄積量と臨床症状との相関を調べた別の研究では、CD8 T 細胞の比率および絶対数ともに有意に増大し、CD4/CD8 比が有意ではないが低下していた。妊娠中および出産後にトレーラーハウス駐車場に居住していた母親から生まれた子供 15 人のリンパ球表現型の分析では、ヘルパー T 細胞の誘発因子 (CD29/CD4) の発現率が有意に低く、CD8 の発現率が上昇し、L 鎖をもつ B 細胞 (CD19) の発現率が低下していた (Smoger et al., 1993)。ミズーリ州の暴露住民を対象にした別の研究では、暴露群では胸腺ペプチドであるチモシン- α 1 の平均血清濃度が有意に低く、TCDD 暴露と胸腺上皮の活性に関連性があると示唆された (Stehr-Green et al., 1989)。これらのデータは、免疫毒性の発現に内分泌系が関与するという説を裏付けるものである。

TCDD 関連物質であるポリハロゲン化芳香族炭化水素に暴露された台湾住民の間に、免疫系の変化が認められている。PCDFs および PCBs に偶然汚染された米ぬか油により、座瘡様皮膚疹、皮膚や爪の色素沈着、肝傷害、免疫機能の異常が見られた (台湾油症)。血清 IgM および IgA 濃度、および末梢血の T リンパ球の割合が低下していた (Chang et al., 1981)。DTH 反応を用いた研究では、細胞性免疫の抑制がみられた (Chang et al., 1982)。台湾油症患者の女性が出産した子供の調査も行われている。これらの子供は、出生後の 6 ヶ月までの気管支炎 (Rogan et al., 1988) と学齢中での中耳炎 (Chao et al., 1997) の発生率が対照群に比べて高かった。

台湾油症中毒と同様に、日本でも 1968 年に PCBs および PCDFs に汚染された米ぬか油に暴露されて油症が

発生した。油症患者には呼吸器感染症がしばしば起きる。中毒症状発症開始から 2 年間に渡って血清 IgA および IgM 値が著しく低下したが、ほとんどの患者では正常値に戻った。しかし、呼吸器症状はさらに長期間持続した (Shigematsu et al., 1978)。

フィンランドでの PCB 事故により PCDFs および PCBs に暴露された作業員にも免疫異常が生じた。調査の結果、暴露 5 週後に末梢血の T 細胞数の減少がみられたが、7 週間には大部分が正常値へもどった。ヘルパー T / サプレッサー T 細胞比も低下した。事故後 7 ヶ月間に、暴露者の大部分が少なくとも一回の上気道感染症にかかった (Elo et al., 1985)。暴露者の 17 年後の調査では、TCDD 暴露群の血中抗核抗体および免疫複合体の検出率が対照群と比較して有意に高かった (Jennings et al., 1988)。

5.3.2.2.2 職業暴露 職業暴露における研究では、免疫系の変化はほとんど認められていない。ベトナムで 1962 年から 1971 年にかけて、枯葉剤散布作戦で TCDD 含有の除草剤を散布した退役空軍兵には、免疫系の変化 (DTH 反応、リンパ球サブセット、血清免疫グロブリン、自己抗体など) と TCDD 暴露の程度に相関関係は確認されなかった (Michalek et al., 1999)。ある化学工場で除染に関わり、TCDD、PCDDs、および PCDFs の体内蓄積量が軽度上昇した作業員では、対照群と比較しても末梢血リンパ球サブセット (Neubert et al., 1993)、およびリンパ球増殖反応 (Neubert et al., 1995) に変化は認められなかった。20 年前に高濃度の TCDD に数年間暴露された工場作業員を調べたところ、血中リンパ球サブセットおよび、T 細胞ないし B 細胞の細胞分裂誘発によるリンパ球増殖応答への影響は認められなかった (Tonn et al., 1996)。しかし TCDD に暴露された被害者では、ヒトリンパ球抗原同種異系リンパ球とインターロイキン-2 による増殖亢進応答の低下が認められた。ヘルパー T 細胞機能の長期にわたる免疫抑制作用は、末梢血の細胞数の絶対的減少ではなく個々の細胞機能低下によると考えられる。

5.3.2.2.3 一般住民の暴露 健康児に対する出生前後の暴露が免疫学的パラメータに及ぼす影響について、出生から 18 ヶ月間母乳栄養と人工栄養で比較する調査 (オランダの PCB / ダイオキシン研究) が実施された (Weisglas-Kuperus et al., 1995)。健康な母子 207 組を対象とし、105 人が母乳、102 人が人工栄養であった。出生前の PCB 暴露量は PCB 合計量 (118、138、153、180 の PCB 同族体) により推定した。出生後の PCB / ダイオキシン暴露量は、母乳中の総 TEQ (ダイオキシン 17 種およびダイオキシン様 PCB 同族体 8 種) と授乳週を乗じて算出した。出生前後の PCB / ダイオキシン暴露と上・下部気道症状あるいは体液性抗体産生には相関関係はなかった。母乳中の総およびダイオキシン TEQ レベルは、出生児の T 細胞サブセットの増加と有意に相関していた。出生前後の PCBs およびダイオキシン暴露は、生後 3 ヶ月時で単核数および顆粒球数の減少と有意に相関していたが、18 ヶ月時には相関していなかった。また、出生後暴露の母乳栄養群では B 細胞マーカーでも有意な低下が

観察された。これらの変化がその後の小児期まで続くかどうかを追跡した調査では、就学前児童において、出生前 PCB 暴露は T 細胞数の増加、はしか抗体の低下、および喘鳴を伴う息切れの軽減に関与していた。その時点での体内蓄積量は、再発性の中耳炎や水痘の高発生率、およびアレルギー性疾患の低発生率と関わっていた (Weisglas-Kuperus et al., 1995, 2000)。

5.3.3 実験および動物のデータ

5.3.3.1 DES 第3章(3.15 参照)で示したように、Lusterら(1984)は DES などのある種のエストロゲン様化学物質の免疫毒性は、エストロゲン活性と相関している場合が多いことを立証した。外因性エストロゲンの免疫毒性は、主として胸腺および胸腺依存性免疫の変化として薬理作用レベルの濃度で起きるため、弱いエストロゲンへの低濃度暴露で免疫毒性影響が発現されるか否かが問題となる。これは低濃度でも強い免疫毒性を有する TCDD とは対照的である(本章 5.4.3.2 参照)。

胸腺毒性の発生機序は、胸腺細胞や非リンパ系胸腺上皮細胞との直接的な化学的相互作用によるもので、その結果、おそらく ERs や受容体様構造との結合を介して、上皮細胞から可溶性免疫調節因子を放出すると考えられる。Goldenら(1998)は、動物実験の結果は、子宮内暴露されたヒトで報告された影響と概ね一致しているとしている。子宮内 DES 暴露によって、B 細胞および T 細胞の異常応答やナチュラルキラー細胞の活性低下をはじめとする免疫系の多くの変化が起きることが、相当量の動物データによって明らかにされている。これらの影響とげっ歯類の組織異常増殖との関係は明らかにされておらず、これらの所見がヒトの健康へどう関わるかも解明されていない。動物では、子宮内暴露後の免疫系への影響の大部分は死ぬまで続き、加齢とともに悪化する場合さえある。ゆえに、ヒトの DES 子宮内暴露の場合も、免疫系機能に異常をきたす疾患について継続して監視する必要がある。

5.3.3.2 TCDD TCDD が誘発する胸腺萎縮症のメカニズムを調べるために多くの研究がなされている (Vos and Luster, 1989, および De Waal et al, 1997 による総説)。ストレスホルモンのかかわりなど間接的機序のいくつかは、副腎切除あるいは下垂体切除などが TCDD の作用に影響を及ぼさないため除外された。成長ホルモン、摂食量の減少や亜鉛欠乏が果たす役割も除外された。マウスでは TCDD への感受性は遺伝的に決定されることが立証されている。すなわち、アリル炭化水素水酸化酵素活性を誘発する細胞質性受容体タンパク質をコードしている遺伝子座によって感受性が異なる。AhR は TCDD に高い親和性を有し、マウス(応答する系統)の胸腺およびラットの胸腺に、この受容体が多くみられる。胸腺萎縮症は AhR を介するため、TCDD 同族体の毒性等価指数の決定にこの応答が用いられてきた (Safe, 1990; Vos et al., 1997/98)。さらに、やはり AhR を介する胸腺依存性体液性免疫応答である、ヒツジ赤血球に対する脾ブランク形成細胞応答も、同様の目的で用いられている。

骨髄前胸腺細胞もまた TCDD が誘発する胸腺毒性の標的であるとされているが、胸腺への TCDD の影響は上皮細胞への作用を介していると思われる (De Waal et al., 1997)。上皮細胞への影響による胸腺萎縮は、*in vitro* のマウスおよびヒト上皮細胞培養試験および *in vivo* のデータからも指摘されている。胸腺細胞は、上皮細胞と共培養するとリンパ球が増大するが、TCDD で前処理した上皮細胞ではあまり増大しない。さらに、ヒトの胸腺は応答性が高い系のマウスの細胞と同程度の感受性で TCDD の毒性の標的となるため、この研究は、マウスのデータをヒトのリスク評価に適用できることを示している。第二の議論は、TCDD 応答性 C57Bl/6 系統と TCDD 抵抗性 DBA/2 系統マウスの放射線キメラでは、TCDD が誘発する細胞毒性 T リンパ球活性の抑制は、ドナー(骨髄、すなわち後の胸腺細胞)によってではなくホスト(上皮細胞)によって決定されていることから提起される。第三に、TCDD はラットの胸腺上皮細胞に作用し、上皮細胞の凝集を引き起こし、異常上皮細胞を出現させ、皮質上皮をさらに分化させることがわかった。最後に、5.4.2.2.1 で述べたように、ミズーリ州で TCDD に暴露された住民の調査から、TCDD 暴露と胸腺上皮のホルモン分泌活性との関連性が示唆された。すなわち、TCDD による胸腺萎縮は、上皮細胞が T 細胞の成熟と分化の誘導に必要な支援を与えられないために起こると説明できる。

胸腺上皮細胞への影響とは別に、TCDD がラットの胸腺細胞に直接作用することが *in vitro* 試験で認められ、カルシウム依存性エンドヌクレアーゼを介した DNA 断片化および細胞死(アポトーシス)が起きる。しかし、TCDD によって著しい胸腺萎縮が誘発された *in vivo* 試験から、アポトーシスは *in vivo* での胸腺細胞減少のメカニズムとしてもっとも可能性が高いわけではないように思われる。また、TCDD が骨髄幹細胞へ直接作用するとの説も出され、それは、TCDD 処理されたドナーの骨髄細胞は放射線照射されたホストの胸腺に定着する能力が減退していることから実証された。TCDD は、胸腺への作用とそれによる胸腺依存性免疫への影響に加えて、胸腺非依存性抗原に対する抗体反応の抑制で明らかのように、B リンパ球にも影響する。より高濃度で起こる抑制にも AhR が介在しているようだ。

前述の研究から、TCDD および関連化合物は免疫、特に胸腺依存性免疫に何らかの変化を引き起こすと結論できる。事故によって中毒が生じた台湾油症および日本での油症では、感染症の発生率の上昇を伴う免疫抑制が明らかにみられる。職業暴露後では、成人作業員のヘルパー T 細胞の機能が対照群に比較して低下したとする研究が 1 件あるのみである。オランダの PCB/ダイオキシン研究の結果からも、バックグラウンド濃度がヒトの胎児および新生児の免疫系に影響を与えていることが示唆されるが、この知見の機能的意義をはっきりさせる必要がある。ヒトでの知見は、発達中の免疫系の感受性も含めて実験動物の知見と質的には関連があり、実験動物での研究がヒトにも当てはまることを示している。しかし、免疫パラメータを調査した人では、これら汚染物質の混

化合物の暴露データが欠けている場合が多く、また、TCDD 毒性の種間での相違が大きいことなどから、これらの化学物質がヒト免疫系に及ぼす影響の可能性を定量的に評価することは難しい。この点に関連したデータとしては、ヒトとマウス由来の細胞が同程度の感受性をもつことを示した上述の胸腺上皮培養細胞を用いた研究がある。TCDD に対するヒト胸腺の相対的な感受性を調査した De Heer ら(1995)の研究では、ヒトの胸腺と Wistar ラットの胸腺で TCDD に対する感受性が同程度あることが示された。また、ヒトの免疫系は、マーモセットのような極めて感受性の高い動物種ほどには TCDD の免疫毒性の影響を受けやすくはないことが示唆されているが、Golden ら(1998)の結論も同様である。実験動物への TCDD の一般的な有害影響について言えば、成長後および発育期の免疫毒性への影響が、発育期の神経(認知)行動への影響、発育期の生殖器官への影響(精子数、雌の泌尿生殖器系奇形)、およびホルモンへの影響(子宮内膜症)とならび、体内負荷的にもっとも感受性の高いエンドポイントであった(Van Leeuwen et al., 2000)。

5.3.4 免疫系についての結論と勧告

免疫毒性のある多数の化合物のうち、内分泌かく乱メカニズムによって免疫毒性を引き起こす物質はわずかである。これらの中には、エストロゲン受容体に強力に結合する DES や、AhR と結合する PCBs、PCDFs、PCDDs などがある。DES は、子宮内暴露の結果免疫系に軽度の変化をもたらすことが知られており、免疫調節に問題を起こす可能性がある。DES の免疫毒性は薬理作用を示す濃度でみられることから、弱いエストロゲンに対する低濃度暴露で常に免疫毒性が現れるかどうかという疑問がある。メトキシクロルが免疫系へ作用しないことからこの説が支持される。PCBs、PCDFs、PCDDs は、暴露事故、職業暴露、あるいは一般住民暴露によって免疫系のパラメータを変化させることが報告されている。特に一般住民暴露については、胎児や新生児の免疫系がバックグラウンド暴露により受ける可能性がある影響と関連していることから、さらなる研究が必要である。ヒトでの DES、PCBs、PCDFs、PCDDs について報告されたデータは、実験動物での研究と矛盾するものではない。免疫毒性を有する化学物質の大半で、その作用機序が不明であるため、内分泌を介した免疫毒性をはじめとする研究など、今後の研究が求められる。

5.4 がん

5.4.1 緒言

ある種のがんの発生率が先進工業国の多くの地域において上昇していることは、一般住民における EDCs への暴露の広がりやヒトの健康に悪影響を及ぼしてきたことを示す証拠として引き合いに出されることが多い。特に関心が高いのは、ヨーロッパや北米での乳房、子宮、前立腺、精巣などホルモン感受性が高い部位でのがん発生率の上昇である。診断技術の向上だけではこの理由の説明は不可能であり、この傾向が、工業化学製品の使用および環境への放出の増加とほとんど時期を同じくしてい

ると言われている。さらに、ヒトおよび実験動物モデルによる研究で、これらのがんがホルモン環境に依存する、あるいは影響を受けることが明らかになっていることから、こうした関心は妥当性のある作用機序を踏まえたものともいえる。多段階発がんモデル(Russo and Russo, 1996)によれば、化学物質は発がんイニシエーター、あるいは発がんプロモーター、あるいはその両方として作用すると考えられている。このような状況において、エストロゲン作用のある EDCs は、通常発がんプロモーターと見なされる。

本章では、環境中に見出される EDCs と、乳房、子宮、前立腺、精巣、甲状腺がんのリスクとの間に想定される関係についてのヒトのデータに焦点をあてる。これらのがんの生物学的基礎およびホルモンが発症に果たす役割は極めて複雑であり、本総説の範囲を超えるものである。個々のがんの発生部位に関する既知のリスク因子について簡潔に述べ、ホルモン系の変化を起こしうる因子に重点を置く。本章では、ヒトでのデータと動物及び実験発がん試験モデルでのデータを総合した考察も行っている。

5.4.2 乳がん

5.4.2.1 ヒトのデータ

5.4.2.1.1 発生率およびリスク因子 乳がんの発生率は、1940 年代から 1990 年代にかけて多くの工業国で着実に上昇しつづけており、特に西ヨーロッパおよび北米でもっとも高いリスクが見られる。上昇の一因にはスクリーニングの普及もある。相対頻度は、国により 5 倍もの開きがある。地球規模でみると、最も発生率が低いのはアジアの国々で、高いのは米国と北欧である(Kelsey and Berstein, 1996)。日本および中国における乳がんの発生率は米国の半分である(Coleman et al., 1993)。女性が他の国に移住すると、乳がん発生率は 2 あるいは 3 世代のうちに移住先の国の発生率に近づくことから、いくつかの環境要因あるいは生活による要因が少しずつ影響していることが示唆される(Stanford et al., 1995)。

ヒトを対象とした詳細な研究から、乳癌の発生にエストロゲンが関与することが示されているが、すべて内因性エストロゲンへの生涯にわたる暴露の増大と関連している(Hulka and Stark, 1995)。これらには、早い初経や遅い閉経、出産しないこと、末梢脂肪組織でアンドロゲンがエストロゲンに変換されやすくなる閉経後の肥満(Siiteri, 1987)、活性 E₂ 量を増やすアルコール飲料の摂取(Reichman et al., 1993)などが含まれる。他方、若い時に卵巣摘出すると自然閉経した場合に比べて乳がんのリスクは著しく低下するが、このような現象は他の一般的ながんにはみられない(Toniolo et al., 1995)。アジアに居住するアジア系女性の乳がんのリスクが低いのは、米国および英国の女性と比較して血清エストロゲン濃度が 40% 低いことと切り離しては考えられない(Key et al., 1990)。

妊娠回数減少や高齢妊娠など、過去 50 年に渡る生殖パターンの変化が、現代女性のエストロゲンサージ(大量分泌)の回数を著しく増加させ、そのために乳がんのリスクが上昇していることが示唆されている。内因性の

エストロゲン発生源に加えて、薬理的HRTやホルモン系の避妊薬が現在では多く使用されている。しかし、外因性ホルモンの場合は、HRTでも経口避妊薬でも、使用されたエストロゲンの種類や用量、どんな種類の黄体ホルモン作用薬の拮抗剤を併用したかなどが全てリスクに関連するため、問題は複雑であると認識しておく必要がある。

遺伝的要因も重要である。多くの遺伝子(BRCA1、BRCA2など)が乳がんのリスク上昇に関与するとされている(Miki et al., 1994; Lancaster et al., 1996; Li et al., 1997)。リスクをもつ遺伝子型の保有率には大きなばらつきがあり、人種差、地域差が乳がんリスクに直接関係している可能性がある。乳がん感受性遺伝子変異を持つ高リスクの女性を対象にして、EDCsの影響を調べる集団ベースの研究が始まったところである(Ursin et al., 1997; Jernstrom et al., 1999; Brunet et al., 1998)。こうしたことから乳がんホルモン活性との関連が支持される。

米国国家毒性計画(NTP)は、エストロゲンを「ヒトに発がん性を示す可能性がある化学物質」のリストに追加すべきであると警告している。IARC(1999)は、経口避妊薬と閉経後のHRTについての研究を以下のようにまとめ、「現在および最近の経口避妊薬服用者においては乳がんの相対危険度が微増するが、服用中止後10年たつとリスク増加はない」との結論を出している。エストロゲン/プロゲステロン混合HRTの長期(5年以上)使用に関するデータをまとめて解析すると、この混合療法は乳がんのリスクを増加させることが示唆されるが(Schairer et al., 2000)、そのデータの解釈は難しい。医師と患者は、HRT、避妊薬あるいは選択的ER調節物質(タモキシフェンなど)のリスクと利益を比較検討しなければならない。混合経口避妊薬の使用で、子宮内膜がんおよび卵巣がんのリスクは約50%低下し、その効果は使用を中止してから少なくとも10年間は持続する。タモキシフェンを使用すると乳がんのリスクを低下させるが、子宮がんのリスクは上昇する(van Leeuwen et al., 1994)。

5.4.2.1.2 植物エストロゲン 食事の内容も乳がんのリスクに関係する要因であることが知られている(Willett, 2001)。食品成分で注目されているのは、植物エストロゲンである。植物エストロゲン、特に大豆製品は西欧にくらべてアジアで多く摂取されており(Messina et al., 1994)、がん予防物質あるいはHRT代用品と宣伝されている。例えば、ヒト乳腺上皮細胞(MCF-7)を用いた*in vitro*研究では、ゲニステイン処理はベンゾ[a]ピレンが誘発する細胞増殖を阻害し、p53を介する経路でアポトーシス誘発を有意に増加させることが認められた。しかし、ゲニステインは、低濃度ではエストロゲン依存性のMCF-7細胞、およびエストロゲン非依存性のヒト乳がん細胞MDA-468に対して細胞増殖阻害剤として働くのに対し、高濃度ではMCF-7細胞に対してエストロゲン作用薬として作用する(Helferich et al., 1998)。他の研究では、腫瘍細胞の種類、使用された植物エストロゲンの用量、暴露時期、種類によって増殖促進あるいは増殖抑制の両

方の作用を示す(Aldercreutz and Mazur, 1997)。これは、植物エストロゲンが、ER経由あるいは受容体を経由しない複数の作用メカニズムを持ち、さらにゲニステインなどの化学物質は、エストロゲン活性および抗エストロゲン活性を併せもつためであろう(第3章参照)。植物エストロゲンを多く含む食品は、乳がんなどの疾患に対し抑制あるいは促進両方の効果を発揮するという複雑な作用をもつかどうかという問題を提起している。またそれは腫瘍のエストロゲン依存性にもよる。

ヒトでも実験動物でも、大豆製品の大量摂取によって、乳がん発生のリスクが低下するという間接的な根拠が得られている(Barnes, 1997)。しかし、その根拠には矛盾もある。閉経前の女性に大豆を摂取させると乳がん細胞の増殖亢進がみられる(Petrakis et al., 1996; McMichael-Phillips et al., 1998)。しかし、これらの研究には交絡因子が含まれる可能性がある。大豆摂取と乳がんリスクの関連についての疫学研究の結果にも矛盾がみられる。シンガポール人女性を対象にした研究では、大豆製品の大量摂取は閉経前女性の乳がんリスクの低下と関連したが、閉経後女性では関連はなかった(Lee et al., 1991)。血中および尿中植物エストロゲン濃度が西洋諸国の女性より高い日本人およびオーストラリア人女性では、乳がんのリスクが低かった(Hirohata et al., 1985)。しかし上海で行った同様の研究では、乳がん患者と対照群との間で大豆タンパク質摂取量に有意差は認められなかった(Yuan et al., 1995)。他の4件の研究でも、大豆摂取と乳がんリスクの低下との関連性は認められなかった(Hirohata et al., 1985; Messina et al., 1994; Yuan et al., 1995)。現在入手し得る研究のメタ解析から、大豆の大量摂取は閉経前の乳がん発症リスクを低下させる可能性があるが、閉経後の乳がんリスクには効果はないことがわかった(Trock et al., 2000)。このようなことから、乳がんに関して、植物エストロゲンの効果を宣伝するには注意が必要である(Bouker and Hilakivi-Clarke, 2000)。

5.4.2.1.3 有機塩素系化合物 乳がんは、明らかにホルモンに関係した疾患であるが、内因性エストロゲンへの生涯暴露による寄与率は全乳がん症例の30~50%に過ぎない(Pike et al., 1993)。原因がわからない乳がんが大半を占めることや、発生率の地域差が大きいことから、環境中暴露の可能性、特にEDCs暴露が果たす役割に関心が向けられるようになった。環境中のEDCsとヒトの乳がんを関連付けるデータの大半は、世界中でヒトの組織、血液、母乳中に検出された残留性有機塩素系化合物に限られる(Adami et al., 1995)。1980年代半ばから、有機塩素系化合物暴露と乳がんとの関連の可能性について多くの症例対照研究がなされてきた。これらの研究については他に包括的解説があるので(Adami et al., 1995; Houghton and Ritter, 1995; NRC, 1999)、ここでは簡単に述べるに留める。1990年以降発表された研究を表5.11にまとめた。表5.11に引用した研究は、症例数、暴露量、暴露期間などが大幅に異なっている。暴露量の詳細については、個々の参考文献を参照されたい。