

セッション4 曝露評価・リスク評価

ビスフェノールAの低用量作用に関する最近の研究所見

フレデリック S. フォン サール

米国 ミズーリ大学コロンビア校

ビスフェノールAはプラスチックや樹指の製造に使用されるモノマーであり、エストラジオール様ホルモン作用があることが何十年も前から知られている。一部のバイオアッセイ（例えば、子宮がん細胞や乳がん細胞を用いたアッセイ）でエストラジオールの1万分の1から10万分の1の効力しかないとされたため、最近までビスフェノールAは非常に弱い環境中エストロジェンと考えられていた。これらのアッセイは、細胞核にあるエストロジェン受容体（ERおよびER α ）へのエストラジオールの結合に焦点を置いていた。核受容体への結合の結果起こる化合物の影響は、個々の細胞タイプに特異的なコファクターがどれだけ存在するかによって異なる。これらのコファクターは、細胞における反応を励起するために必要なエストロジェン様化学物質の用量、および発生する反応の種類に劇的な影響を及ぼす可能性がある。現在では、ある種類の細胞で影響を誘発させるために必要なホルモン模倣化学物質の用量から他の種類の細胞で反応を誘発させる化学物質の用量を予測することができないことは明らかである。例えば、いくつかの研究では、低ppb（10億分の1）の範囲のビスフェノールAの1日用量を妊娠中のマウスに投与して、雄の出生子の生殖器の機能に永久的変調を生じさせることが実証されている。一方、発達途中の雌のマウスとラットの子宮におけるビスフェノールAの影響は、雄の生殖器の機能を変調させるために必要な用量よりもはるかに大量の用量がなければ生じない。異なる種類の細胞のエストロジェン受容体とは独特な相互作用をするので、異なる影響を及ぼす（従ってコファクターの存在によって影響が異なる）化学物質は、「選択的エストロジェン受容体モジュレーター（SERM）」と称される。ビスフェノールAは、エストラジオールとは異なる方法で核エストロジェン受容体と相互作用することが確認されており、従ってビスフェノールAはSERMの一種である。

さらに現在では、エストラジオールのいくつかの影響は、細胞膜に伴う受容体にエストラジオールが結合する結果、非ゲノムの細胞信号伝達が働くことにより起こるといふ幅広い証拠が得られている。非常に低濃度の化合物が細胞機能の著しい変化を励起することがあるように、経膜的細胞信号伝達方式の特徴は、著しい増幅を伴った非常に迅速な応答が生じることである。受容体を活性化するリガンドの量が「生理学的」範囲を超えると逆U字型（2相性）の用量反応曲線を生じるように、経膜的細胞信号伝達方式のもう一つの特徴は応答の劇的な低下が見られることである。最近の研究では、ビスフェノールAが細胞膜受容体を介して作用し、非常に低濃度（1 nMまたは228 ppt）で細胞信号伝達経路を急速に活性化することが示されている。またビスフェノールAは、逆U字型の用量反応曲線でヒト前立腺がん細胞の増殖を刺激し、0.23 ng/ml（1 nM）では最大刺激が観察されるが、その100倍の容量23 ng/ml（100 nM）では刺激が全く生じないことが報告されている。

この2年間に、pptレベルでの軟体動物への影響を含め、過去には影響がないと報告されていた用量よりも下の「低用量」におけるビスフェノールAの影響を報告した研究が数多く実施されてきた。今回の調査は、ビスフェノールAのどのような影響が核受容体のER α およびER β を介して生じ、どのような影響が経膜的細胞信号伝達の励起を介して生じるかを明らかにすることに焦点を置いている。

低用量のごく狭い範囲でのみ影響が検出される化学物質の機序を明らかにすることを規制当局の優先課題としなければならない。この勧告は、既報の科学的知見が、非常に高用量だけを使用した毒性検査における現行のリスクアセスメントモデルの妥当性を裏付けていないという事実に基づいている。現行のリスクアセスメントモデルは、ヒトの一般的な暴露範囲である極めて低用量での影響についても、非常に高い用量だけで化学物質を試験して得られた線形相関を外挿することにより（具体的には、安全係数を使用することにより）、ヒトにおけるリスクの有効な推定値が検証できると予測している。逆U字型の用量反応曲線を生じるビスフェノールAのような化学物質については、この現行の試験方法では、ヒトの一般的な暴露範囲の低用量を安全とするような誤った結論を導くことになる。予測される「安全な」用量を実際に試験しなければ、健康上の有害な影響の可能性は確認できない。

新たな内分泌攪乱化学物質：化粧品中の紫外線フィルター

マルグレートシュルツ、マリアンヌカンシエンス、ベアコットン、ステファンドゥレー、
アイリーンフレッシュマン、ヴレニハラ、リシェンマー、カーステンメルケル、ウォルターリヒテンシュタイガー
スイスチューリッヒ大学

日焼け止めや化粧品に使用されているUVフィルターの親油性は、これらの環境残留性化合物を生体内に蓄積させる。魚類および人乳の汚染(1, 2)は、ヒト組織や野生生物にそれらの化学物質が存在することを証明している。

内分泌作用の同定 我々は、高頻度で使用されている7種類のUVフィルターを精査した。これら化学物質のうち、ホモサラート(HMS)、オクチルジメチルパラアミノ安息香酸(OD-PABA)、ベンゾフェノン-3(Bp-3)、オクチルメトキシシナマート(OMC)、4-メチルベンジリデンカンフル(4-MBC)および3-ベンジリデンカンフル(3-BC)の6種は、MCF-7乳がん細胞でエストロゲン様作用を呈することが確認された。4-MBC、3-BC、OMCおよびBp-3の*in vivo*エストロゲン様作用は、未成熟なLE(ロングエヴァンス)ラットを用いた子宮肥大性分析で経口投与して証明された。オリーブ油中の4-MBCおよびOMCの未成熟ヘアレスラット(hr/hr)における皮膚への適用では、日焼け止め製品中に使用されている濃度で子宮重量の増大が見られた。さらに、Bp-3とHMSの抗アンドロゲン様作用は、アンドロゲン受容体(AR)とグルココルチコイド受容体(GR)の両方を発現するヒト乳がん細胞系にMMTVルシフェラーゼ遺伝子構成を形質移入したMDA-MB-453-KB2細胞で確認された。

4-MBCの発生毒性についてのリスクアセスメント 内分泌活性化学物質に対する発生過程における潜在的な感受性について調査するため、我々は、LEラットに飼料1kgあたり1.0g、0.66g、0.33gおよび0.1gの4種の混餌投与を行った。同投与量は体重1kgあたり70mg、47mg、24mg、および7mgに相当する。成熟した親世代の出生仔は、長期(12カ月)曝露後も、有害作用の徴候は示さなかった。一方、F1出生仔は出生後14日目までの生存率が用量依存的に著しく低下した(24mg/kg/日以上で顕著であった)(4)。出生仔の体重および胸腺重量は、出生後1日目(PN1)に用量依存的に低下した。雄の思春期は用量依存的に遅延した。精巣重量は、PN14に低下したが、成熟した出生仔では増加していた。正常な組織形態を有する精子の比率は、4-MBCの投与量を増加するに従って減少した。精巣上体、精囊、および腹側前立腺でも臓器重量の変化が見られた。

基準遺伝子にシクロフィリンを用いたリアルタイムPCRによりエストロゲンターゲット遺伝子のmRNA発現分析を行ったところ、子宮内で4-MBCに曝露した出生仔は、子宮におけるIGF-1 mRNA(7mg/kg/日以上)および腹側前立腺におけるIGF-1 mRNA、子宮におけるプロゲステロン受容体(PR)mRNA、子宮および腹側前立腺におけるアンドロゲン受容体(AR)の定常状態濃度が著しく変化した。視床下部腹内側部領域と内側視索前方領域(7mg/kg/日以上の4-MBC)におけるPR mRNAおよびERアルファmRNAの濃度には、性別と領域に依存した著しい変化が観察され、視床下部腹内側部領域には性差を示すパターンが欠如していた。対象とした7種のUVフィルターは、使用が許可されている30種のUVスクリーンのごく一部であり、さらに詳細な情報については、大量の化粧品についてさらに詳細な毒性試験を行うことが必要であることを示唆している。

参考文献

1. Nagtegaal et al.,(1997) USWF- Z. f. Umweltchem. oekotox. 9: 79 - 86
2. Hany and Nagel (1997) Deutsche Lebensmittel Rundschau 91: 341 - 345
3. Schlumpf et al., (2001) Environmental Health Perspectives 109: 239 - 244
4. Schlumpf et al., (2001) SOFW - Journal 127: 10 - 15

内分泌攪乱作用 - 複合影響問題

アンドレアス コルテンカンブ

英国 ロンドン大学

エストロゲン様化学物質、すなわちゼノエストロゲン（外因性エストロゲン）は、その効力がかなり低いために、個々の物質に曝露した際のリスクは無視できる程度であると論じられている。それとは別に、健康への影響に関する懸念を払拭するため、内因性ステロイド性エストロゲンの効力が極めて高いために、ゼノエストロゲンがエストロゲン作用に著しく影響を及ぼすことはないということが議論されている。我々は、複数のゼノエストロゲンの混合物が17 エストラジオールの作用を変調させる能力を調査することにより、これらの考え方を実験的に検証することを試みた。個々のゼノエストロゲンが無影響濃度（NOEC）よりもさらに低い濃度で投与されるように非常に注意した。次に、個々のゼノエストロゲンと17 エストラジオールの濃度と反応の関係を記録した。これらのデータをもとに、複数のゼノエストロゲン混合物と17 エストラジオールの全体的な濃度反応曲線を予測し、相加的複合作用を推定した。実験で観察された反応にはモデルによる予測との高い整合性が認められた。このことは、複数のゼノエストロゲンと17 エストラジオールが相加的に作用することを示唆している。しかし、単一のゼノエストロゲンはNOECを下回る濃度で投与したにも関わらず、複数のゼノエストロゲンの相加効果は、ホルモンの作用の劇的な強化をもたらした。我々の結果はNOECに満たない濃度のゼノエストロゲンであっても、類似した作用を有する多数の化学物質が協調して作用すれば、ステロイド性エストロゲンに影響がないとは考えにくいことを示している。これらの影響が抗エストロゲン作用を有する環境中化学物質によってどの程度中和されるかについては、今後さらに調査する必要がある。

環境中の内分泌攪乱化学物質の評価：欧州委員会の戦略

クラウディア ロンカンシオ ビーニャ

欧州委員会環境担当局

1999年12月に「欧州委員会の内分泌攪乱化学物質に対する戦略」の第1稿が公表された。その中で、欧州委員会はこの問題に対して直接的な取組を行う意志を示した。この戦略では、さらなる研究の必要性、国際的な協力、一般市民に向けての有害性およびリスクの公表、適切な政策的措置という4つの重要な要素が確認された。それを受けて、適切な一連の措置が推奨された。

委員会の文書の中で確認された第1の重要な短期的措置は、「内分泌攪乱作用についてより詳しい徹底的な科学的評価を必要とする化学物質の優先順位リストの作成」である（この作業における「優先順位」とは、候補物質すべてを詳しく評価する過程において利用可能な資源を最も有効に利用することを意味している）。この第1の要素である優先順位設定作業を実行するために、内分泌攪乱作用とヒトおよび野生生物の曝露に関するデータの総合的検討が行なわれ、その内容が関係者および欧州委員会の科学委員会に提出され、審議された。

この戦略の第1段階は、「化学物質の内分泌攪乱作用の詳しい評価を行なう優先順位リストの作成に向けて」という調査報告書にまとめられた。この報告書には553種類の化学物質からなる候補リストが示されており、そのうち118種類については、内分泌攪乱作用のあることがはっきりしたり、あるいはその可能性があることがわかった。これら118種類の物質の法的位置付けを見ても、そのうち109種類はすでに禁止もしくは規制の対象になっているか、既存の欧州委員会の法令に基づいて対応がなされているものであった。しかし、そうした規制の理由が必ずしも内分泌攪乱作用のメカニズムに関したものでないことに、留意する必要がある。

さらに次の段階において、2種類の調査が同時に開始された。その1つは、内分泌攪乱作用のあることがはっきりしたり、その可能性のあることがわかっているが、既存の欧州委員会の法令では規制や対応処置がとられていない候補物質9種類について、より詳しく評価するものであった。この調査には、短期的に特別な配慮が必要とみられる消費者や生態系の曝露についての各事例を見極めることも含まれる。また、環境中に存在する3種類の合成/天然ホルモンの分析も実施する。

2つめの調査は、最初の調査においてデータに重大な欠損があることが明らかになったその他の435種の候補物質について、残留性、生産量、法的対応状況のデータ/情報を収集することを目的としたものである。しかし注目すべき点として、既存の欧州委員会の法令ですでに規制ないしは対応処置がとられている物質109種がこの候補リストの当初のものから除外されているわけではなく、将来、内分泌攪乱作用に関する試験手法に関して同意が成立した際には、それらが確定試験の候補になる可能性はある。

以上の2つのアプローチによる成果は、戦略的に重要な頑健な情報になるはずであり、欧州委員会は、この情報を用いて加盟諸国をはじめとする関係者の審査に応じ、欧州レベルでの政策決定にこの情報を組み込むことになる。

環境およびヒトの健康に関して化学物質の側面から対応している既存の欧州委員会の法令の中で採られているアプローチは、段階的手法に基づいている。その第1段階は「**有害性の同定**」であり、これは、環境やヒトの健康へ有害作用を及ぼす物質がもつ潜在的・内在的な性質を明らかにするものである。この過程については、危険物質の分類・包装・表示に関する指令「Directive 67/548/EEC」で主に取り扱われている。第2段階は「**リスク評価**」であり、この段階では化学物質の有害性評価だけでなく、曝露量評価も行なう。この段階に対しては、「Directive 91/414」や「Regulation (EEC) No. 793/93」などのさまざまな法律文書が扱っている。最後の第3段階は「**リスク管理**」で、リスク低減のための戦略が展開される。この段階は、製品 (Directive 76/769/EEC)、製造工程 (Directive 96/61/EC)、媒体 (Directive 92/72/EEC) のそれぞれに対応した3つの広範な分野の法令が扱っている。

セッション5 子供の健康

精液の質に関する地域差と経時的傾向

ニールス ヨルゲンセン

デンマーク リグズ病院

男性生殖の健康について、経時的にその傾向を追跡した最近の研究では、矛盾した証拠が見られる。つまり、精子数が著しく減少している調査もあれば、変化を示す証拠は確認されていないとする調査もある。しかし、多くのデータからわかる衝撃的な内容は、精液の質における地域差が見られることであり、そのことは少なくとも経時的傾向である可能性が高い。精子数におけるこのような地域差に、生物学的に意味がある可能性が示唆されている。

既報データの多くについての議論は、部分的には、精液の質に関するこれまでの臨床研究が特定グループの男性を扱っているという事実に起因するものである。多くの研究では、経時的傾向や地域的傾向の分析には重要な交絡因子について深く配慮することなく、他の目的のために収集された歴史的データを使用している。最近の文献の多くは、男性の生殖健康における時間的および地域的な差を示唆しているかもしれないが、最終的な証拠は前向き研究を行わなければ得られないことも指摘している。

ヨーロッパにおいて横断的研究が実施されており、デンマーク、フランス、スコットランド、フィンランドの妊娠女性の男性パートナー、ならびにデンマーク、ノルウェー、フィンランド、エストニア、リトアニアの一般集団の若年男性を調査することにより精液の質の地理的な差に焦点を置いている。合計で1,082名の生殖可能な男性および1,834名の一般集団の若年男性が調査され、その結果が発表されている。これらの男性が本プロジェクトの対象となり、標準化された基準に従って調査を受け、使用された方法を管理するために品質管理手順が導入された。精液パラメータに関して、ヨーロッパ地域における東西勾配が明確に確認され、同勾配は精巣がんの発現率に並行している。すなわち、フィンランド、エストニア、リトアニアでは精液の質が優れ、精巣がんの発現率が低い。これらの所見が遺伝的な差、環境の差、またはその両者の組み合わせに起因するか否かは、さらに調査が必要である。対象となった男性からは精液サンプルに加え血液サンプルを採取してホルモンに関する検査を行い、健康診断を実施し、さらに、総合的アンケート調査も行った。これらの結果の分析により、原因となる因子を指摘することができるかもしれない。

最近提唱されている考え方では、精巣がんは、偶然発生するのではなく、精巣性发育不全症候群（TDS）の男性に発生するとしている。重症度によっては、TDSには、精子生成障害、精巣がん、尿道下裂、停留精巣などの異常を1つ以上伴っている場合がある。この考え方は、精巣がんの発現率が高い個体群では精液の質が低く、また、発現率が低い個体群では精液の質が高いことを意味する。

ヨーロッパのスカンジナビア地域の若者に関する研究は、男性の生殖健康における時間的な傾向を明らかにするために今後数年間継続される。