

研究代表者代行
東京大学・名誉教授 鈴木 継美（*）

「ヒトを含む哺乳類の生殖機能への
内分泌かく乱物質の影響」

研究期間：平成11年1月1日～平成15年12月31日

（*）研究代表者（～平成15年6月）
東京大学医学部産科婦人科学教室・教授
堤 治

1. 研究実施の概要

基本構想

内分泌かく乱物質は微量でも正常なホルモン作用（主に女性ホルモン）に影響を与え野生動物の生殖異変を引き起こし、「奪われし未来」に示されたように動物種によっては絶滅の危機に瀕しているものもあるといわれる。これは二十世紀の科学文明による人類の繁栄の影にある地球環境の汚染が投げかける大きな課題といえる。内分泌かく乱物質として考えられるDESは投与された妊婦の女兒に性器癌を発生させ、エストロゲン依存性疾患や不妊症の増加は産婦人科領域でも大きな問題となっている。しかし野生動物や実験動物では明らかになった内分泌かく乱物質の生殖機能への影響はヒトにおいても存在するのか存在すればどのような影響がでているかは未解明である。そこでこの問題への研究アプローチとして考えられるのが、内分泌かく乱物質の汚染状況を明らかにすることである。様々な内分泌かく乱物質がヒトを汚染していると考えられるが、血液のみならず、卵子を囲む卵胞液、精液、臍帯血、羊水なども汚染の対象となっていることが予測される。ヒトへの内分泌かく乱物質汚染を定量し、生殖機能あるいは疾患との関連で評価していくことが重要であり、本研究の基本構想の一つである。体内動態を明らかにした上で、内分泌かく乱物質の体外排出除去にも取り組もうとした。また内分泌かく乱物質は環境レベルの低濃度域で毒物としての働き毒性量とは異なるいわゆる低用量作用を有するといわれる。内分泌かく乱物質の汚染の評価手段として経母体的投与のみならず、初期胚培養系や着床モデルを考案し、研究を進めることも意図した。また内分泌かく乱物質の作用機構解明には女性ホルモンエストロゲンの受容体を介した作用がかぎをにぎり、研究対象とした。特殊な疾患として子宮内膜症にも注目した。これはアカゲザルの実験からダイオキシンとの関連が注目されるのみならず、発症メカニズムが不明ながら近年増加し、生殖機能との関連のみならず、女性のQOLに大きな影響を与えるものであるからでもある。

実施・研究成果

1) ヒト生体試料からの各種内分泌かく乱物質の検出

インフォームドコンセント下に、健常非妊女性、妊娠中期女性、妊娠末期女性より採血し、妊娠末期の臍帯血及び羊水を帝王切開時に採取して検体とし、ビスフェノールA（BPA）、ノニルフェノール、フタル酸、ダイオキシンの検出を行った。体外受精時に得られる卵胞液も同じく検体とした。妊娠中期（妊娠15-18週）に行った羊水穿刺時に得られた羊水の一部を検体に供した。すべての試料から内分泌かく乱物質が検出された。ELISA法により測定したBPA濃度を示す。血清中および卵胞液中のBPA濃度はそれぞれ 2.0 ± 0.8 （非妊女性）、 1.5 ± 1.2 （妊娠中期）、 1.4 ± 0.9 （妊娠末期）、 2.4 ± 0.8 ng/ml（卵胞液）であった。臍帯血中からも 2.2 ± 1.8 ng/mlが検出され、母体からのBPAの移行が示された。妊娠末期の羊水中BPA濃度も 1.1 ± 1.0 ng/mlであったが、妊娠中期の羊水において 8.3 ± 8.9 ng/mlと他の体液に比べて有意に高い濃度が得られた。一般に内分泌かく乱物質に対して感受性が高

いと考えられる妊娠中期において胎児が成人よりも高濃度の環境ホルモンに曝露されている可能性を示唆する所見である。また妊娠末期の母体血・臍帯血間に有意な正の相関を認めた ($P < 0.0001$)。これは母体血中から濃度勾配による移行を示すデータであると考えられる。

一方、BPA のヒト血中濃度は男性の方が女性よりも有意に高値であり、その濃度には性差が存在することを明らかにした。また、血中 BPA 濃度とアンドロゲンとの間に有意な相関があることを報告した。これらの機序を解明するためにラットを用いた動物実験を施行した。BPA 50 mg/kg 体重をオスおよびメスラットに投与し、血中 BPA 濃度を経時的に測定した。ラットにおいても血中 BPA 濃度は、メスよりもオスの方が高値であった。さらに、それらの肝臓を摘出しミクロソーム分画における抱合化酵素 UDP-glucuronosyl transferase(UGT)活性を測定した。さらに UGT の subunit である UGT2B1 のプライマーを用いて RT-PCR により mRNA の発現量を測定した。UGT 酵素の発現量には性差が認められた。活性値はアンドロゲン依存性であることを明らかにした。また、BPA の存在様式の検討するために HPLC を用いてヒト血清中の BPA の抱合型と非抱合型を測定した。羊水中では非抱合型が多いことなどが明らかになった。

2) BPA の生殖機能への影響および次世代影響および分子作用の検討

卵胞液中の BPA の卵巣機能に与える影響を検討するモデルとしてマウス卵胞より採取した顆粒膜細胞を培養し BPA の添加実験をおこなった。BPA は、100 pM の低濃度で顆粒膜細胞の増殖を抑制し、TUNEL 法による解析では顆粒膜細胞にアポトーシスが起ることが明らかになった。さらに G2 期から M 期への抑制、Bax や Bcl2 の蛋白および mRNA レベルの変化も観察された。従って BPA は環境レベルの濃度で卵胞顆粒膜細胞にアポトーシスを惹起し卵巣機能に影響を与えうることが示された。

BPA の経胎盤、経母乳による胎児への影響を検討するために、妊娠 11 日目の SD 系ラットに BPA を飲水投与し、分娩直前に帝王切開により胎児を取り出し、胎児重量、胎児脳重量、胎児肝重量、胎児生殖腺重量、生殖器? 肛門間距離を測定した。胎児重量にほとんど変化が見られなかったが、BPA 投与によって胎盤重量が減少した。脳重量は増加した。また妊娠 11 日目から出生後 3 週間目まで経胎盤、経乳汁により BPA を投与した SD 系ラットを、生後 6 週において、オープンフィールドテストを行った。BPA を投与された雄の locomotion activity が雌の様に増加していた。次世代影響として考えられる。またヒトの小児に見られる多動症も男児に多く、動物モデルとしての観点から研究を展開している。BPA の作用はエストロゲンレセプターを介することが知られ、我々もエストロゲンレセプター およびエストロゲンレセプター に結合してエストロゲン作用および条件により抗エストロゲン作用を示すことを明らかにしたが、さらにエストロゲンレセプター およびエストロゲンレセプター を発現させる細胞の種類による検討をおこない同様の成果を得た。さらに複数の内分泌かく乱物質の作用をレポーター遺伝子アッセイで定量し、相加作用があることを証明した。

3) 各種内分泌かく乱物質の着床前被曝胚を用いた検討

産婦人科では不妊治療の一環として体外受精や受精卵（着床前初期胚）の培養をおこなう。これは *in vitro* であるが、胚移植により *in vivo* に戻る。着床前初期胚の体外培養は *in vitro* で *in vivo* を再現するという意味もある。また胚発育は一般的に外因性物質の影響を受けやすく、培養系への物質添加によりその物質が胚発育へ与える作用も検討される。そこで我々は内分泌かく乱物質の影響を胚発育を指標とした評価を提唱しようとした。マウス 2 細胞期胚を内分泌かく乱物質を添加してに培養したところ、BPA の添加では、2 細胞期から 8 細胞期への胚広い濃度範囲 (fM レベルから 100 μ M) にわたり発育率は大きな影響を受けなかった。ところが 2 細胞期胚から胚盤胞への発育率では 1-3nM では促進効果が観察され、逆に 100 μ M では有意に低下した。用量反応性を検討してみると 100 μ M の高濃度における抑制作用と 1-3nM の低濃度域における促進作用に分けて考えることができる。高濃度における作用は従来毒性量による用量反応性のある部分と考えることができる。これに対して、1-3nM の低濃度域については毒性量と異なり、用量反応性を認めず作用も毒性と逆反応であると判断できる。しかもこの濃度は、環境中に存在し、ヒトの血液や卵胞液で検出される濃度と大きな差異はない。これは BPA の low dose effect 作用が初期胚モデルで観察されたものと考察される。

得られた胚盤胞を胚移植し、得られた新生仔の発育および生殖能を検討したところ、生後 3 週における体重で 30%以上の有意な発育の促進が認められた。これより初期胚の BPA に対する感受性は高く、胚移植により得られた新生仔の発育が BPA 曝露群で促進されることより、妊娠後期の曝露のみならず着床前の曝露もまた次世代の発育に影響を及ぼすことが示唆された。

この系をもちいて内分泌かく乱物質のスクリーニングを計画しトリブチルせず、4? オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジブチル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、フタル酸ジシクロロヘキシル、フタル酸ジエチルヘキシルのマウス 2 細胞期胚への影響を検討した。オクチルフェノール (100 nM- 1 μ M)、ノニルフェノール (100 nM- 5 μ M)、オクタクロロスチレン (1-5 nM)、ベンゾフェノン (1-10 nM)、フタル酸ジシクロロヘキシル (1-10 nM) は、8 細胞期胚形成率には影響を与えなかったが、胚盤胞形成率を対照群に比べ有意に上昇させた。オクチルフェノール、ノニルフェノールによる胚盤胞形成率の上昇はタモキシフェンを添加することにより抑えられたことから、オクチルフェノール、ノニルフェノールによる胚盤胞形成率の上昇にはエストロゲンレセプター (ER) が関与していると考えられた。トリブチルせず、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチルヘキシルは胚盤胞形成率の上昇を認めなかった。

4) 着床への影響 (マウス胚盤胞 *in vitro* 着床モデルを用いて)

交尾後 4 日目のマウス子宮から採取した胚盤胞を内分泌かく乱物質とともに培養し、シャーレ上を伸展したトロフォブラストの面積を測定した。オクチルフェノール (100 nM- 5 μ M)、ノニルフェノール (5 μ M)、ベンゾフェノン (5-10 nM)、フタル酸ジシクロロヘキシル

(1-50 nM)は対照群に比べ有意に伸展した面積を拡大した。トリブチルすず、フタル酸ジブチル、オクタクロロスチレン、フタル酸ジエチルヘキシルは面積の拡大はみられなかった。オクタクロロスチレンは2細胞期胚の胚盤胞形成率を上昇させるが、胚盤胞の着床、伸展には影響を与えなかった。

5) ダイオキシン類の体内動態解明

体内に蓄積されたダイオキシン類は胎盤、母乳を通じて母親側から胎児・新生児・小児へ移行する。その動態を定量的に解明するために、妊娠初期に同意をえた妊婦に、妊娠前期、分娩時の母体血液、胎児の血液（臍帯血）、羊水を採取した。妊娠経過、新生児のデータ（体重その他）等の集積もおこなった。その結果、母体血液中のダイオキシン濃度は妊娠中に低下し胎児血液、羊水中に母体と同等ないしやや低濃度のダイオキシンが検出された。経産婦においては初産婦に比べてダイオキシン濃度は低く、胎児移行および母乳によるダイオキシン汚染軽減が定量的に明らかになった。

ダイオキシン類の特徴として体内で安定で、脂質成分中に特に高濃度に含まれ、肝臓より胆汁中に脂質成分とともに分泌され、小腸において再吸収された後再び肝臓内に蓄積される（腸肝循環）と推定されるが、胆汁（肝内、胆嚢内、胆管内）中のダイオキシン測定に成功し、腸肝循環の動態を明らかにすることができた。一日約 1ng 程度腸肝循環するダイオキシンを体外排出除去する試みとしてポランティアによる薬用炭製剤および高コレステロール治療薬の服用実験をおこないダイオキシン汚染軽減の可能性を示した。

6) 内分泌かく乱物質と子宮内膜症

子宮内膜症の頻度は20ないし30年の間に増加の一途をたどっているとされ、最近の厚生省研究班の調査では約13万人の女性が子宮内膜症の診療を受け、国内の患者数は100ないし200万人と推定されている。子宮内膜症の増加は初経の低年化や少子化、妊娠出産の高齢化等、女性のライフスタイルの変化と関連するといわれるが、Rierらの1993年の報告以来、ダイオキシン汚染との因果関係が注目され、関連する研究も多くみられるようになった。また体重当たり0.126ngは極めて微量であるという点でも注目され、逆にダイオキシンのヒトに何らかの健康影響が出現する場合子宮内膜症がその第一候補になるとも考えられる。

ヒトにおいてダイオキシンと子宮内膜症の関係を解明するために、子宮内膜症患者の皮下脂肪中のダイオキシン濃度を測定したところ、重症者で高い傾向を確認した。しかし、母乳のダイオキシン汚染が100pg程度と高いことから母乳保育と成長後の子宮内膜症発症の関係を調べたデータでは母乳はリスクを下げるとされ、少なくとも母乳汚染と子宮内膜症の関連は否定された。

我々は子宮内膜症の動物モデルの作成に成功した。ドナーマウスの子宮内膜を細切し、レシピエントはあらかじめ雌マウスを卵巣摘出した上で一定のホルモン環境をつくり使用した。子宮内膜組織は卵巣摘出しホルモンを補充しない動物には着床しないが、エストロゲン補充動物には着床し、子宮内膜症様の病巣をつくることのできた。この系に内分泌か

く乱物質を加え、子宮内膜症の発生率や進行度を評価し、あわせてヒト子宮内膜における血管造成に關与するアンジオゲニンを検討した。BPA は発生や発育を促進する傾向が認められた。

子宮内膜症においては子宮内膜の生化学的な検討や正所性ないし異所性子宮内膜の比較がなされている。そこでダイオキシン関連遺伝子の子宮内膜ないし子宮内膜症組織における発現も注目される。先に述べたように、ダイオキシンはエストロゲンレセプターには直接結合せず、特異的レセプターである AhR に結合さらに Arnt と結合し核内でダイオキシンレスポンスエレメント (XRE) に作用する。この AhR およびその関連遺伝子はヒトの子宮内膜および子宮内膜症病巣にもその発現を認められている。我々の検討では一部の遺伝子発現量において子宮内膜症軽症群より重症群で高いものを認めた。また興味深いことに喫煙の有無で子宮内膜の AhR 発現量にも差異を認めた。非喫煙者に比べて喫煙者の子宮内膜では AhR が多く、喫煙による子宮内膜症のリスク軽減等のデータとの関連が注目される。

子宮内膜症発症や進展のメカニズムにダイオキシンが關与する場合、ダイオキシンが AhR と結合しサイトカインなどの遺伝子に作用することが挙げられている。子宮内膜の増殖、分化にはサイトカインが關与しており、それを制御するのはエストロゲン等の性ステロイドである。最近、彼女らはダイオキシン被曝サルの血液の検討結果を発表し、ダイオキシンにより血中 PCB 濃度が高値となり、その値と子宮内膜症の進行度が平行することを示し、さらに白血球の tumor necrosis factor の産生能が亢進することを示した。これらよりダイオキシンによる内膜症発症は内分泌かく乱の結果生じたサイトカイン制御異常が原因であると推論している。さらに我々は不妊症などのために腹腔鏡を施行される患者より腹腔内貯留液 (PF) を採取し、PF の抗血管新生物質 interferon-induced protein (IP-10) を ELISA 法により測定した。また、PF より分離したマクロファージ、採取した正常腹膜組織、子宮内膜症組織より RNA を抽出し、IP-10 とそのレセプターの mRNA 発現を RT-PCR により検討した。さらに、マウス子宮内膜症モデルに血管新生抑制薬を投与し病巣に与える効果を検討した。PF 中の IP-10 は III, IV 期の進行した子宮内膜症において I, II 期より有意に低下しており、子宮内膜症のない群と比較しても低下している傾向にあった。IP-10 とそのレセプターの mRNA は、調べた組織すべてにおいて広く発現していた。血管新生抑制薬はマウスモデルにおける子宮内膜症病巣を縮小させる傾向を有した。

7) エストロゲン作用機構の解析

内分泌かく乱物質のエストロゲン作用の発現様式を解析するために、1) 雌ラットの妊娠子宮でおきている遺伝子発現変化、2) 雌ラットの骨芽細胞におけるエストロゲン作用メカニズムを検討した。まず妊娠している雌ラットの子宮と非妊娠時のラットの子宮から mRNA を調整し、妊娠子宮にて強く発現している sFRP4 を新たに同定した。この遺伝子産物は子宮形成に深く関わる Wnt シグナルの負の調節因子であり、その生体作用に大変興味もたれる。今後これら遺伝子の内分泌かく乱物質の作用標的としての役割を検討していく。次に、エストロゲンレセプター および の両方の機能を抑制するドミナントネガティブ

変異体を導入したエストロゲン低応答性ラットを用いて、骨の細胞におけるエストロゲン応答に関わる因子を DNA チップを用いて検索した。その結果、D 型サイクリンが骨芽細胞におけるエストロゲン受容体の新たな標的として判明した。これらの解析をもとに、内分泌かく乱物質の作用において、骨芽細胞においては、サイクリン、cdk が分子標的である可能性が示された。

2. 研究構想

研究開始時の研究構想および目標は下記のものであった。「内分泌かく乱物質は動物で生殖異常を生ずるとされ、サルでは微量のダイオキシンが子宮内膜症の病因となると示唆された。ヒトの生殖機能は内分泌かく乱物質に敏感と予測される。特に胎児は胎盤関門を有するのに比べ、卵子や着床前初期胚は母体と直接接触し汚染の影響を直接受ける。しかし内分泌かく乱物質のヒトの体内負荷量と不妊症や子宮内膜症等を含めた生殖機能に及ぼす影響は明らかでない。本研究では、各種内分泌かく乱物質のヒト生殖器官への汚染の程度を、疾患との関連で評価し、卵胞液中濃度と受精や妊娠率等の各種生殖パラメーター、健常人と子宮内膜症患者のダイオキシン類濃度を例に、量-反応関係を明らかにする。マウス胚の体外培養系では各種濃度の内分泌かく乱物質を添加し、初期胚発育への影響を検討する。被曝初期胚は仮親に移植し、得られる胎児や出生児の異常の有無を検索し、生殖機能異常への無毒性量 (NOAEL) および最小毒性量 (LOAEL) を設定する。最終的にはヒト胚の微小環境安全限界を設定する。また内分泌かく乱物質のエストロゲン受容体、 それぞれを介したエストロゲン作用の発現様式の解析や性分化に関連した遺伝子発現への影響等分子レベルの分析もおこなう。本研究の特色は内分泌かく乱物質の生殖機能へ影響をヒト臨床材料による評価、初期胚に対する作用の臨界点、内分泌かく乱作用の分子機作等の面から総合的に明らかにすることであり、ヒト生殖機能への影響という国民全体の不安に具体的に解答することを狙いとする。」これに従って立案実施した研究の主なものの概要およびその後の新展開から生まれた目標などを以下に述べる。

1) 内分泌かく乱物質のヒトへの汚染

内分泌かく乱物質のヒトへの汚染を評価するために、男性、女性健常ボランティアおよび各種疾患患者よりヒト検体を得た。特に体外受精患者の採卵時に得られる卵胞液を、インフォームドコンセント下に卵胞毎に種別保存し、内分泌かく乱物質濃度およびエストロゲン、プロゲステロン、各種サイトカイン濃度を測定する。内分泌かく乱物質の濃度と卵子成熟度、受精率、卵割率、妊娠率の臨床パラメーターとの比較検討もおこなった。また妊産婦より、血液のみならず、羊水、胎児血も採取し検体とした。血液、卵胞液、精液、羊水、胎児血等すべての検体から、BPA、ダイオキシン類、ノニルフェノール等の内分泌かく乱物質を検出した。卵胞液、精液の汚染はヒト生殖器官および生殖細胞にも汚染が複合的に及んでいることを示す。胎児血、羊水の汚染は内分泌かく乱物質が胎盤を通過して胎児を汚染することを示す。

BPA の定量成績から、血液中濃度に性差があることが明らかになり、その原因究明を新たな目標として内分泌かく乱物質の体内における代謝研究を設定して研究を進めている。また内分泌疾患、エストロゲン依存性疾患における血液中濃度差にも着目し、疾患の病態解明も目標と捉えて研究を進めた。

ダイオキシン類が卵胞液、羊水をも汚染することは新たな知見であった。さらに胆汁中に高濃度であることを明らかにし、体外排出除去の方法開発も目標として研究を進めた。また子宮内膜症の有無や進行度の面からの解析もおこなった。

2) 内分泌かく乱物質の生殖機能への影響

内分泌かく乱物質の生殖機能への影響を検出するために体外受精、胚発育、着床など各種実験をおこなった。マウスにFHS製剤を投与卵胞刺激をおこないhCG投与後交配し、44時間後に2細胞期の受精卵を採取し各種濃度の内分泌かく乱物質の存在下で培養をおこなう実験モデルが有用であることを明らかにした。24時間後の8細胞形成率および48時間後の胚盤胞形成率を指標として内分泌かく乱物質のスクリーニングをおこなった。これより初期胚発育における無毒性量(NOEL)および最小毒性量(LOEL)が設定される。さらにBPA等一部の内分泌かく乱物質では低用量作用と思われる胚発育促進作用を検出した。

胚盤胞を培養し培養皿上に着床させ、実験的着床胚とその発育(outgrowth)をタイムラプスビデオで解析することに成功し、この培養系に内分泌かく乱物質を添加して、着床、その後の胎盤原基や内細胞塊の発育を観察定量評価し、着床期胚の内分泌かく乱物質に対する感受性を検索するシステムも完成し、実際に各種内分泌かく乱物質の作用を検討した。その結果BPA等の一部内分泌かく乱物質には低濃度で発育促進作用、高濃度で抑制作用があることが判明した。

内分泌かく乱物質に着床前に被曝した胚盤胞を仮親の子宮に移植し、帝王切開等により分娩させ、生産率、児体重、児奇形の有無等を検索し、一部は剖検、一部は仮親に哺育せしめ、成長過程を観察後、剖検し性腺機能を中心に研究をおこなった。BPAの被曝により、出生後の発育が促進されることが明らかになり、その発生メカニズムの解析も新たな目標になった。また妊娠ラットにBPAを投与した胎児被曝モデルでは出生後の行動に変化を認め、多動症モデルと考えられた。

3) 内分泌かく乱物質のエストロゲン作用(百枝、井上チーム)

内分泌かく乱物質のエストロゲン作用の発現様式を解析するために、エストロゲンレセプターを発現していないHeLa細胞およびその他数種の細胞にエストロゲンレセプターおよびそれぞれの発現ベクターおよびestrogen responsive elementをもったCATレポータープラスミドを遺伝子導入し、これら遺伝子導入細胞を各種内分泌かく乱物質とエストロゲンを単独ないし同時に添加培養し、CATアッセイをおこない転写活性を測定した。BPAなどの内分泌かく乱物質がエストロゲンレセプターおよびに結合してエストロゲン作用すること、状況により抗エストロゲン作用をもつこと、複数の内分泌

かく乱物質の添加によりそれらの相加作用も検出できることなどが明らかになった。

内分泌かく乱物質のエストロゲン作用の発現様式を解析するために、1) 雌ラットの妊娠子宮でおきている遺伝子発現変化、2) 雌ラットの骨芽細胞におけるエストロゲン作用メカニズムを検討した。まず妊娠している雌ラットの子宮と非妊娠時のラットの子宮から mENA を調整し、妊娠子宮にて強く発現している sFRP4 を新たに同定した。この遺伝子産物は子宮形成に深く関わる Wnt シグナルの負の調節因子であり、その生体作用に大変興味もたれる。今後これら遺伝子の内分泌かく乱物質の作用標的としての役割を検討していく。次に、エストロゲンレセプター および の両方の機能を抑制するドミナントネガティブ変異体を導入したエストロゲン低応答性ラットを用いて、骨の細胞におけるエストロゲン応答に関わる因子を DNA チップを用いて検索した。その結果、D 型サイクリンが骨芽細胞におけるエストロゲン受容体の新たな標的として判明した。これらの解析をもとに、内分泌かく乱物質の作用において、骨芽細胞においては、サイクリン、cdk が分子標的である可能性が示された。

4) 内分泌かく乱物質と子宮内膜症

子宮内膜症患者の腹腔鏡下手術時にインフォームドコンセントのもと皮下脂肪組織、子宮内膜組織、子宮内膜組織、腹腔内貯留液、血液を採取、これら組織および体液中の内分泌かく乱物質やインターロイキン 6 などのサイトカイン濃度の測定もおこなった。対照となる患者は婦人科疾患で開腹ないし腹腔鏡下の手術を受けるもので、インフォームドコンセントが得られ、子宮内膜症を有しないことを確認できるものとした。子宮内膜組織の培養系において、上記因子の作用、相互作用を検証した。

子宮内膜症患者と対照患者の子宮内膜においてダイオキシンレセプター (AhR) および関連遺伝子の発現を RT-PCR 法により定量し、疾患の有無による発現の差異、月経周期による変化等を検索した。

マウスにおいて子宮内膜症モデルを作出し、BPA 等の内分泌かく乱物質の子宮内膜症発症、進展への影響を検討した。

母乳には多量のダイオキシンが含有される新生児期の哺育により約 100 pg/ kg/ day が摂取される。サルの実験ではダイオキシン 126pg/kg/day という微量で子宮内膜症が生じていることから母乳が子宮内膜症発症リスクを挙げる可能性がある。そこで、子宮内膜症患者および対照婦人科患者において、本人の生育が母乳保育か人工乳であるか検討をおこなったが、母乳保育は子宮内膜症のリスクをむしろ低減することが明らかになった。

3. 研究成果

3.1 ビスフェノールAのヒトへの汚染状況とその体内動態（堤グループ）

(1) 研究内容及び成果

内分泌攪乱物質の一つであるビスフェノールA (bisphenol A; 2, 2-bis(4-hydroxyphenyl)propane; C₁₅H₁₆O₂; BPA)は国内で年間約35万t生産されており、ポリカ-ボネイト製プラスチック、エポキシ樹脂、ポリエステル・スチレン樹脂、歯科用樹脂製品とシ-ラント、缶詰や飲料用缶内面のコ-ティング剤など日常生活用品の原料として広く使用されている。すなわち、我々は常にBPAを含む製品に囲まれて生活しており、程度の差はあるが毎日曝露されている可能性がある。しかし、ヒトでのデータはまだ少なく、それが実際にヒトに対して健康被害を引き起こしているかどうかについては不明な点が多い。本研究は、ビスフェノールA (BPA)のヒトへの汚染状況を調査すること並びにその体内動態を解析するために行われた。

ヒトへの汚染状況を調査するために、正常女性、正常男性、排卵障害を有する婦人の空腹時の血中BPA濃度をELISA法にて測定した。次に、雌および雄ラットの血中BPA濃度を測定した。さらにBPAの代謝動態を検討するためにラット肝臓ミクロゾーム分画におけるBPAの抱合化活性を検討した。またラット肝臓の抱合化酵素(UDP-glucuronosyltransferase; UGT)のサブタイプであるUGT2B1のmRNAの発現量をRT-PCRにより検討した。

1. ヒトにおけるBPA汚染状況と血中ホルモン濃度との相関

正常女性(non-obese; n=19, obese; n=7)、正常男性(n=11)、高プロラクチン血症(n=7)、視床下部性無月経(n=21)、多嚢胞性症候群婦人(non-obese; n=13, obese; n=6)を対象とし(表1)、早朝空腹時の血中BPA濃度をELISA法により測定した。正常女性(non-obese)に比較し、正常男性、肥満の正常女性、多嚢胞性症候群(non-obese, obese)において有意に高値であった(図1)。表2に示すようにBPAは、BMI、total testosterone、free testosterone、androstenedione、DHEASと有意な正の相関を示した。

これらのことより、ヒト血中BPA濃度には性差が存在し、血中アンドロゲン濃度と正の相関を示すことが明らかとなった。

	Normal women		Hyperprolactinemia (n=7)	HA (n=21)	PCOS		Normal men (n=11)
	Non-obese	Obese			Non-obese	Obese	
	(n=19)	(n=7)			(n=13)	(n=6)	
Age (years)	27.5±0.7	28.8±2.0	27.7±2.6	25.1±1.0	26.5±1.5	24.7±1.9	
BMI (kg/m ²)	19.7±0.3	28.5±1.7 ^b	20.8±1.0	19.2±0.6	19.1±0.6	31.3±3.0 ^b	22.4±0.9
LH (mIU/ml)	4.7±0.3	4.1±0.4	3.9±1.5	3.4±0.6 ^a	15.2±1.7 ^b	11.8±1.3 ^b	4.1±0.5
FSH (mIU/ml)	7.3±0.5	6.4±0.8	6.1±0.8	5.5±0.6 ^a	7.2±0.7	5.7±0.6	^b
E ₂ (pg/ml)	49.9±6.1	41.3±7.6	26.3±4.8 ^b	28.7±5.5 ^a	57.2±8.6	73.1±15.3	^a
Total T (ng/ml)	0.20±0.01	0.28±0.05	0.27±0.07	0.22±0.02	0.63±0.03 ^b	0.73±0.07 ^b	^b
Free T (pg/ml)	0.76±0.09	1.53±0.28 ^b	1.03±0.24	0.68±0.09	1.86±0.24 ^b	2.77±0.50 ^b	21.35±2.09 ^b
A (ng/ml)	1.75±0.07	1.65±0.05	2.47±0.19 ^b	1.67±0.14	2.82±0.18 ^b	2.68±0.29 ^a	
DHEAS (μg/ml)	1.59±0.13	1.76±0.34	2.15±0.24	1.64±0.12	2.26±0.30 ^a	2.80±0.68 ^a	^a
PRL (ng/ml)	6.9±0.6	6.1±1.0	20.8±1.0 ^b	5.6±0.5	6.5±0.9	5.1±0.9	

Data are means ± SEM.

^a P<0.05, ^b P<0.01; compared with non-obese normal control group.

HA: hypothalamic amenorrhea, PCOS: polycystic ovary syndrome, BMI: body mass index,

LH: luteinizing hormone, FSH: follicle-stimulating hormone, E₂: estradiol, T: testosterone, A: androstenedione, DHEAS: dehydroepiandrosterone sulfate, PRL: prolactin

表1 ビスフェノールA濃度測定対象群と内分泌学的データ

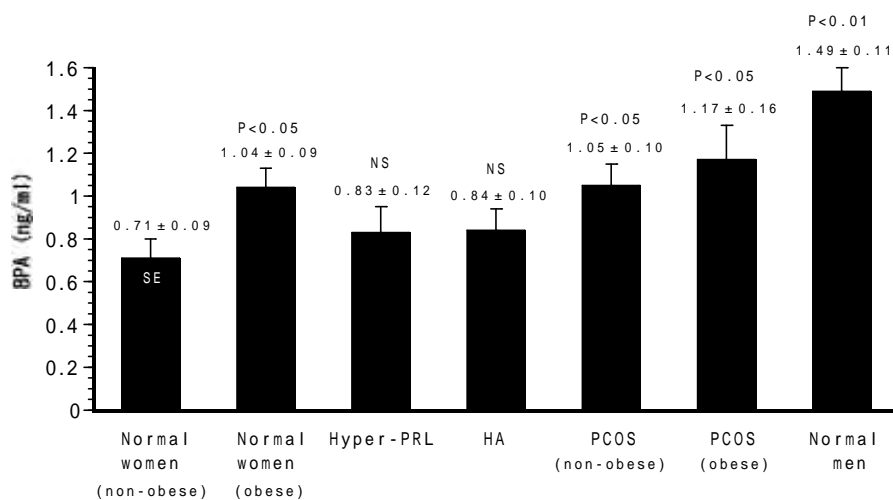


図1 正常女性、正常男性、排卵障害患者における血清 BPA 濃度の比較

BPA vs.	r	p
Age	0.137	NS
BMI	0.500	P<0.001
LH	0.199	NS
FSH	0.174	NS
E2	0.162	NS
Total T	0.391	P<0.001
Free T	0.504	P<0.001
A	0.684	P<0.001
DHEAS	0.514	P<0.001
PRL	0.090	NS

表 2 血清 BPA 濃度と各変数との相関関係（女性群）

2. BPA 血中濃度雌雄差の分子メカニズムの解析

9 週令 Wistar-Imamichi ラットを対象とし、BPA (50 mg/kg) を皮下投与し経時的に血中 BPA 濃度を ELISA 法により測定した。雌ラットは膣スミアにて発情周期を確認し、発情前期に統一した。

BPA 投与後血中 BPA 濃度は早期に上昇し、経時的变化では常に雄ラットの方が雌ラットより高値であった（図 2）。BPA 投与前の血中 BPA の基礎濃度の比較においても雄ラットの方が雌ラットより高値であった（図 3）。これらのことより、ヒトと同様にラット血清 BPA 濃度も雌よりも雄の方が有意に高値であり、性差が存在した。

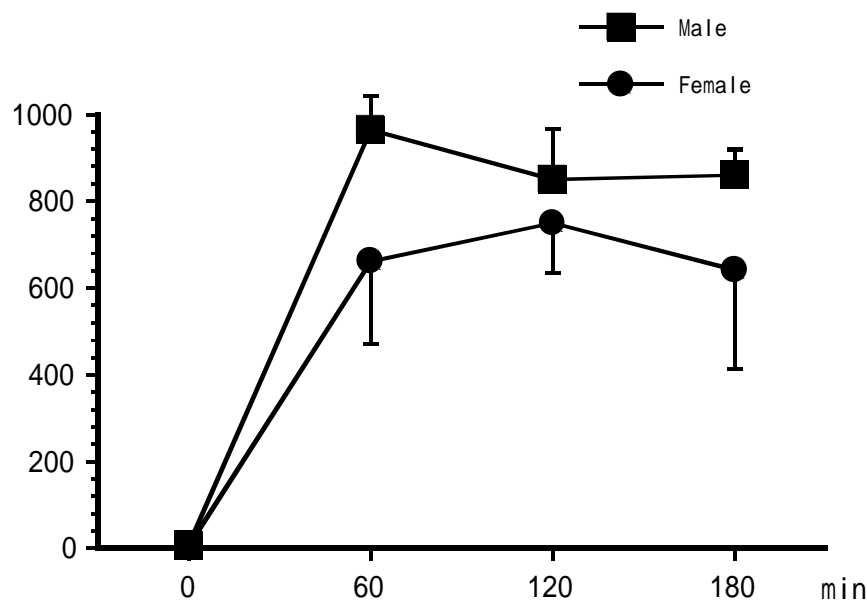


図2 BPA皮下投与後の血中BPA濃度の経時的変化

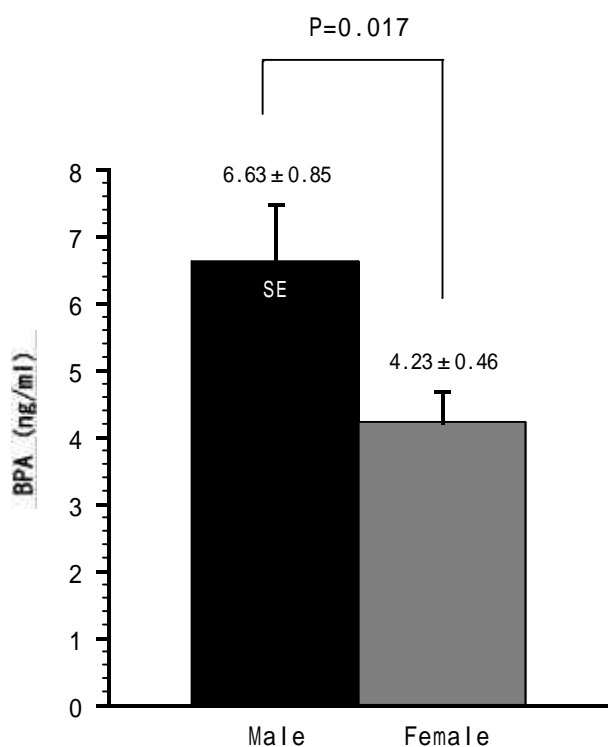


図3 BPA投与前のラット血清BPA濃度(基礎値)

雌ラット (n=10) および雄ラット (n=10) の肝臓よりマイクロゾーム分画を分離し、マイクロゾームの酵素反応におけるBPAのグルクロン酸抱合化についてHPLCを用いて検討した。その結果、図4に示すようなHPLCクロマトグラムが得られ、ラット肝臓マイクロゾーム酵素反応におけるBPA抱合化率は、雌ラットの方が雄よりも高かった(図5)。

図4 HPLC クロマトグラム

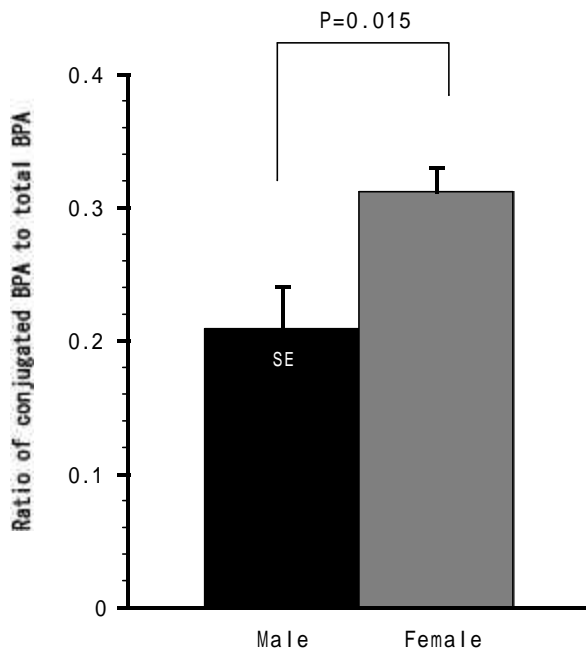
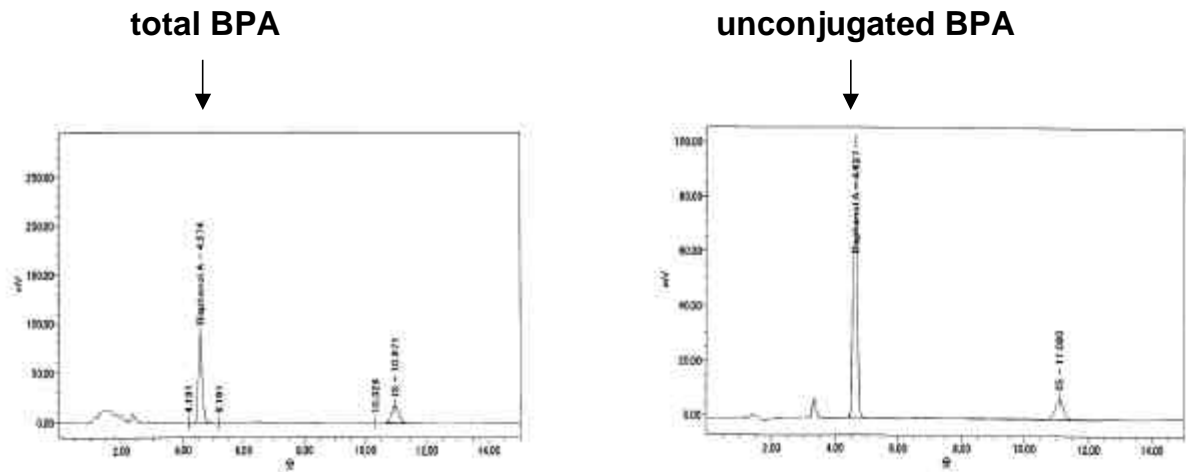


図5 ラット肝臓ミクロゾーム酵素反応における BPA 抱合化率

グルクロン酸抱合化酵素 (uridine diphosphate-glucuronosyltransferase; UGT) の isoform である UGT2B1 が BPA の代謝に特異的に関与することより、肝臓における UGT2B1 mRNA の発現量について RT-PCR 法により検討した。図6に示したように雄および雌における GAPDH の発現量に有意な差はなかったが、UGT2B1 の mRNA の発現量では雌の方が雄よりも有意に高値であった。GAPDH で補正した UGT2B1 の mRNA の発現量においても雌の方が雄よりも有意に高値であった。

ラット肝臓 GAPDH mRNA 発現量の性差

ラット肝臓 UGT2B1 mRNA 発現量の性差

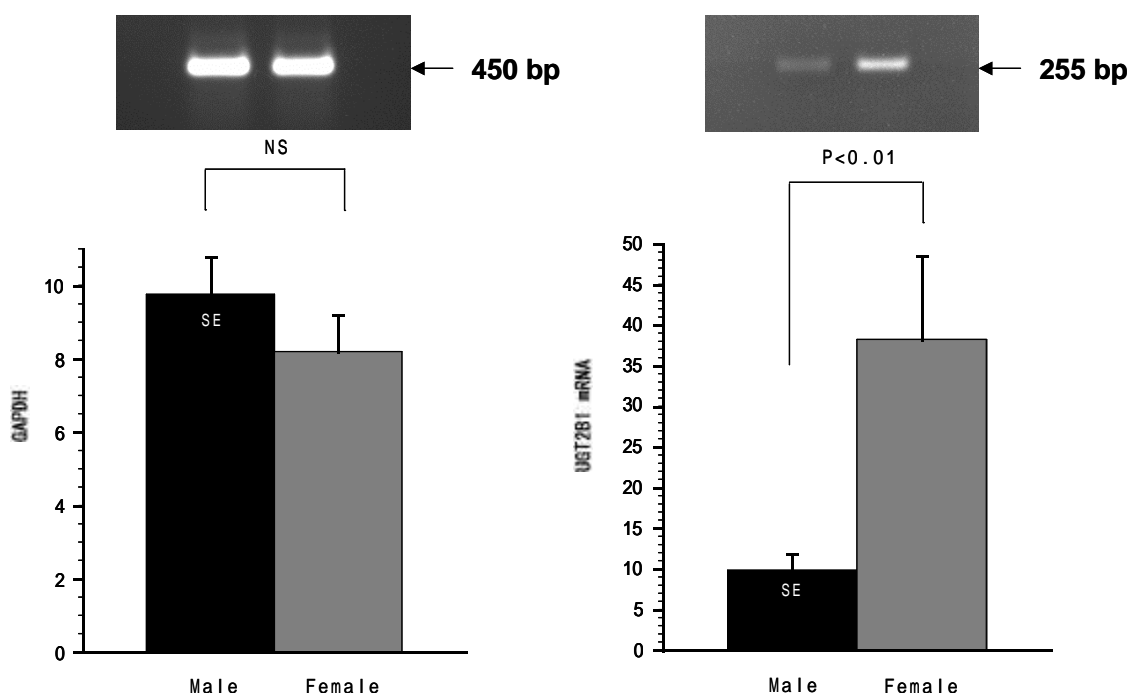


図6 ラット肝臓におけるGAPDHおよびUGT2B1発現量の性差

(2)研究成果の今後期待される効果

以上の結果をまとめると、ヒトおよびラット血清検体すべてにおいてBPAは検出され、BPAの血中濃度には性差が存在した。そして、血中BPA濃度は、アンドロゲンと有意な正の相関を示した。雌ラットにおいては、BPAの抱合化が雄よりも高く、クリアランスが高いと考えられた。血中BPA濃度の性差は、BPAの代謝酵素における性差に起因することが示唆された。このように内分泌かく乱物質は、曝露量の問題だけでなく、その化学物質の代謝の差によっても血中濃度は影響を受けることが判明した。

したがって、代謝されにくい化学物質あるいは代謝酵素の活性が低い場合ではそれらの物質による汚染の被害が増大することも考慮しなければならない。すなわち、今後の対策としてこれらの化学物質の曝露量を減少させることも重要であるが、大量に曝露してしまった場合にはその化学物質の代謝酵素を亢進するような環境を作ることで早期に体内から排泄させるという治療法も今後期待できる。

3.2 ビスフェノールAおよびダイオキシン類のヒト胎児への汚染状況とその母児相関 (堤グループ)

(1)研究内容及び成果

1) ビスフェノールAのヒト胎児への汚染状況とその母児相関

我々はBPA濃度の測定に際しELISA法を用いた。これは最近大塚アッセイ研究所および矢

内原研究所によって開発されたもので従来の煩雑な逆相 HPLC 法に替わりうるものである。非妊娠女性血液 30 検体は健康な閉経前の妊娠していない女性より、妊娠中期母体血 37 検体は妊娠中期の妊婦より得た。母体血 37 検体、臍帯血 32 検体は妊娠満期の分娩時に得た。卵胞液 36 検体は IVF-ET (体外受精? 胚移植) の過程において得た。妊娠中期 (妊娠 15~18 週) の羊水 32 検体は羊水穿刺の際に得た。妊娠満期の羊水 38 検体は予定帝王切開術の際に羊水腔穿刺によって得た。母児関連の検討に際しては、妊娠末期に予定帝王切開術にて分娩した 21 例より母体血・臍帯血・羊水を、12 例より母体血・羊水を得た。胎児・新生児においては、染色体異常や明らかな奇形は認められなかった。

図 1 に示すように、BPA 濃度は、非妊娠女性の血清で 2.0 ± 0.8 ng/ml (平均 \pm 標準偏差、以下同様) 妊娠初期妊婦血清で 1.5 ± 1.2 ng/ml、妊娠後期妊婦血清で 1.4 ± 0.9 ng/ml、卵胞液で 2.4 ± 0.8 ng/ml であった。BPA は胎児臍帯血血清 (2.2 ± 1.8 ng/ml) と羊水からも検出され、経胎盤的な胎児への移行が確認された。妊娠中期 (妊娠 15~18 週) の妊婦より得た羊水では、他の体液に比べて数倍にもあたる 8.3 ± 8.7 ng/ml という有意な ($P < 0.0001$) 高濃度の BPA が検出された。しかしながら、羊水中の BPA 濃度は妊娠末期では有意に減少しており (1.1 ± 1.0 ng/ml) 他の体液の濃度とほぼ同等なレベルであった。

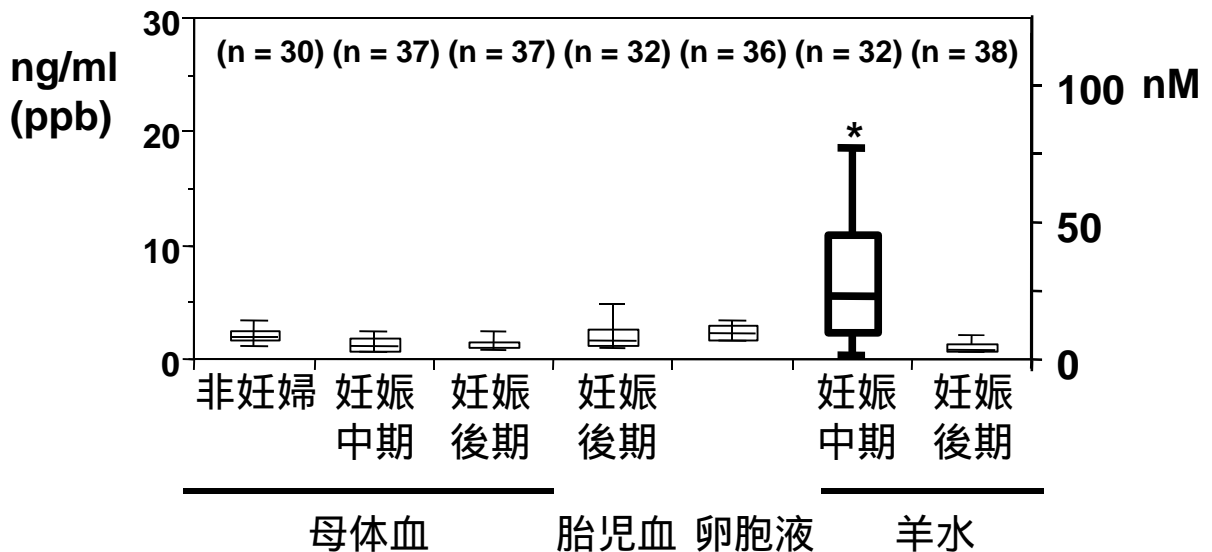


図 1 血液・卵胞液・羊水中の BPA 濃度

妊娠末期における母体血、臍帯血、羊水中 BPA 濃度の相関を検討したところ、図 2 に示すように、母体血と臍帯血の間に有意な正の相関が認められた ($n = 33$, $R = 0.736$, $P < 0.0001$)。一方、羊水中 BPA 濃度は母体血、臍帯血とも有意な相関を認めなかった。

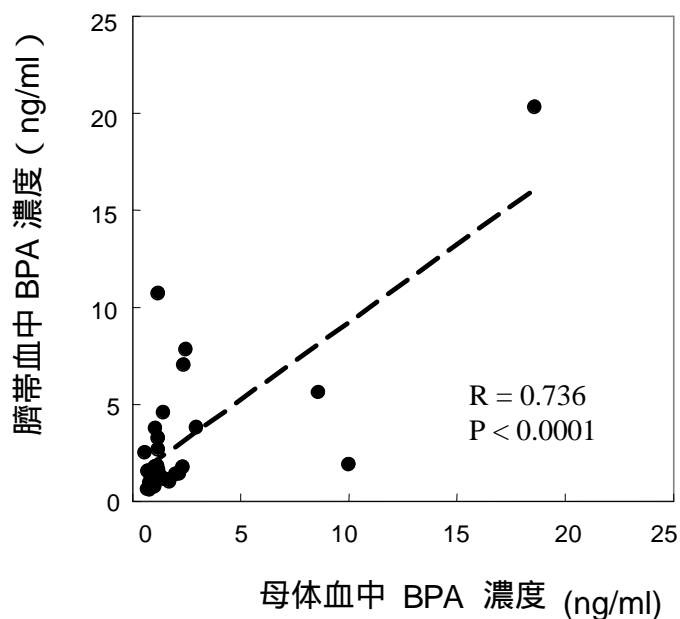


図2 妊娠末期における BPA 濃度の母児相関

2) ダイオキシン類のヒト胎児への汚染状況とその母児相関

妊娠末期に予定帝王切開術にて分娩した 24 例より母体血・臍帯血・羊水を、あらかじめ書面による同意を得た上で採取し、ダイオキシン類 (PCDD 7 種類、PCDF 10 種類、coplanar PCB 12 種類) を高分解能 GC-MS 法により測定した。測定は同一検体で 2 度行い、平均を算出した。

初産婦と経産婦間に有意差が認められなかったため、妊婦全体で母体年齢と母体血中各種ダイオキシン類濃度の相関の有無を検討した。PCDDs、PCDFs、総ダイオキシン類濃度では有意な相関は認められなかったが、母体血中 Co-PCBs 濃度と母体年齢の間に有意な正の相関が認められた (図 3 ; $R = 0.531$, $P = 0.0067$)。

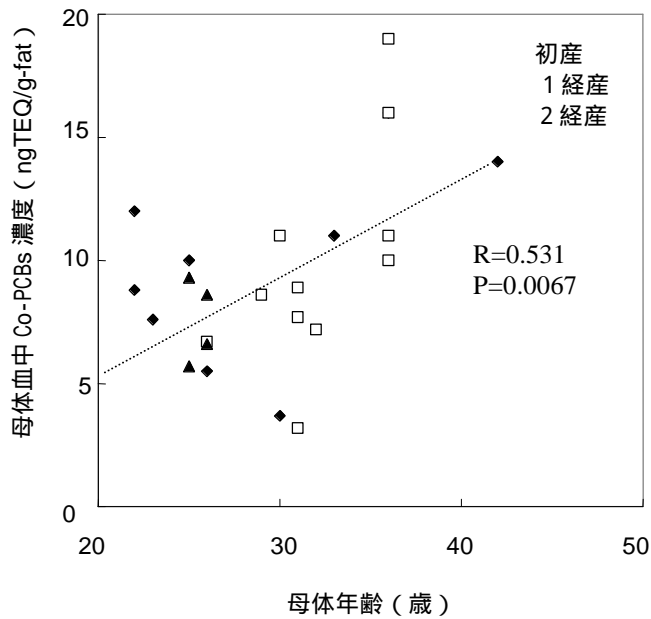


図3 母体年齢と母体血中 coplanar PCBs 濃度

次に、母体血、臍帯血、羊水中の各種ダイオキシン類濃度を比較検討した。まず検体総重量あたりの濃度を検討したところ、母体血では、臍帯血、羊水に比べて全てのダイオキシン類濃度が有意に（いずれも $P < 0.0001$ ）高かった（図4A）。しかしながら脂肪重量あたりに換算すると数値は逆転し、羊水で、母体血、臍帯血に比べて PCDDs 濃度、PCDFs 濃度、総ダイオキシン類濃度が有意に（いずれも $P < 0.0001$ ）高かった（図4B）。一方、脂肪重量あたり Co-PCBs 濃度は母体血、臍帯血、羊水の間で有意差は認められなかった（ $P = 0.1046$ ）。

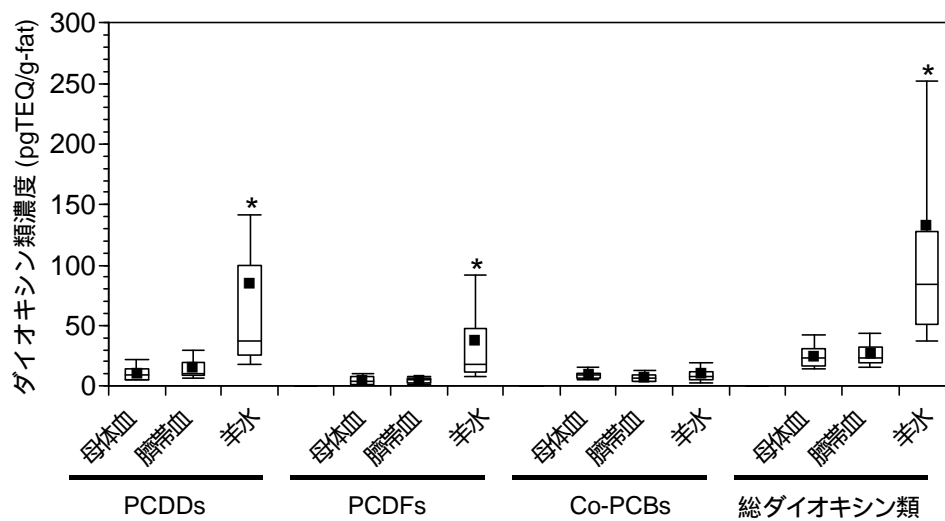


図4A 母体血・臍帯血・羊水中の各種ダイオキシン類濃度（総重量あたり）

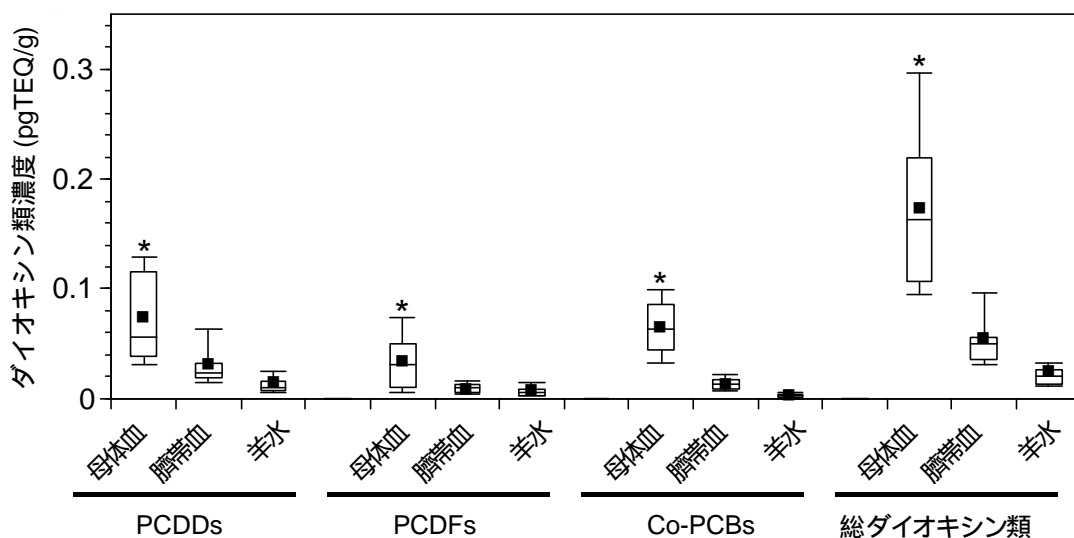


図 4 B 母体血・臍帯血・羊水中の各種ダイオキシン類濃度

最後に母体血、臍帯血、羊水中の各種ダイオキシン類濃度間の相関の有無を検討した。母体血中総ダイオキシン類濃度と臍帯血中総ダイオキシン類濃度間に有意な正の相関が認められた (図 5 ; $R = 0.589$, $P = 0.0020$)。PCDDs、Co-PCBs 濃度でも同様に母体血と臍帯血間に有意な正の相関が認められた (それぞれ $R = 0.597$, $P = 0.0016$ 、 $R = 0.878$, $P < 0.0001$)。しかしながら、PCDFs 濃度では母体血と臍帯血間の有意な相関は認めなかった ($R = 0.259$, $P = 0.2255$)。一方、羊水中の各種ダイオキシン類濃度は母体血、臍帯血いずれとも有意な相関を認めなかった。

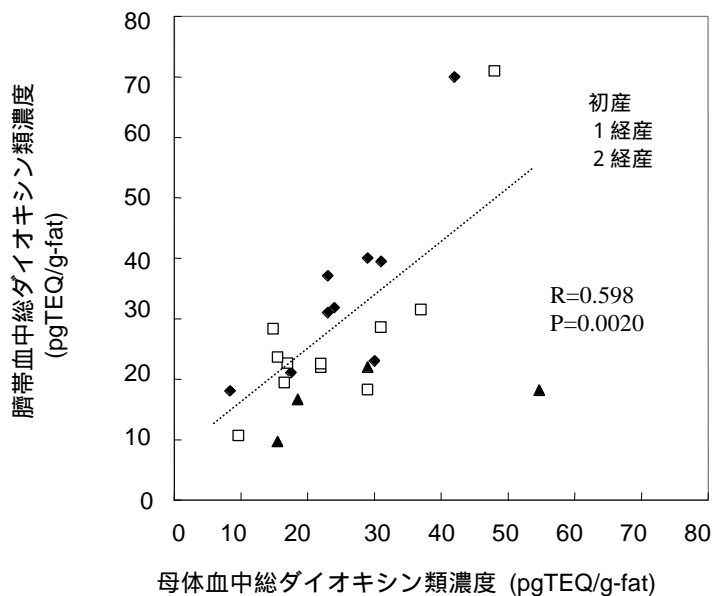


図5 妊娠末期における総ダイオキシン類濃度の母児相関

(2)研究成果の今後期待される効果

今回の我々による研究により、BPA やダイオキシン類 (PCDDs、Co-PCBs) において母体血と臍帯血中濃度に有意な母児間の相関が見られ、経胎盤的な内分泌攪乱物質移行の実態が明らかとなった。また、エストロゲン作用を持つ内分泌攪乱物質の一種である BPA が、妊娠中期の羊水において他の体液の数倍という高濃度に濃縮されて存在すること、ダイオキシン類 (PCDDs、PCDFs) も妊娠末期の羊水中脂肪成分に母体血よりも高いレベルで蓄積されていることも明らかとなった。このような内分泌攪乱物質の胎内環境への移行・蓄積による次世代への影響はいまだ不明の点が多く、今回の知見は今後の研究を進める上で考慮すべき重要なものとなることが期待される。

3.3 各種内分泌かく乱物質が初期胚発育など次世代に及ぼす影響 (堤グループ)

(1)研究内容及び成果

内分泌攪乱物質の汚染はヒトの生殖器官にも及んでいる。前項でも述べたように、ダイオキシンやビスフェノール A (BPA) などは卵胞液や羊水にも検出される。近年、環境中の曝露量とほぼ等しい低用量の BPA の母獣への投与により、雄胎仔における出生後の前立腺の肥大や、雌胎仔における発育や性成熟の促進を引き起こすことが報告され、低用量の BPA が胎仔に及ぼす影響に関して強く注目されるようになった。そこで我々は、エストロゲン様の作用

を示す内分泌攪乱物質を中心に（BPA、ノニルフェノール、オクチルフェノール、フタル酸ジブチル、フタル酸ジクロロヘキシル、フタル酸ジエチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリブチルすず）それらの物質の マウス 2 細胞期胚への影響 着床 周辺期胚への影響 着床後、妊娠中期から後期の胚と胎盤への影響について検討した。更に、BPA に曝露された初期胚を仮親に胚移植して、得られた新生仔の出生後の発育や生殖能 について検討した。

1) 内分泌攪乱物質がマウス初期胚発育に及ぼすエストロゲンレセプターを介した影響

マウス 2 細胞期胚を 1pM から 100 μM までの BPA あるいは ER 阻害剤である tamoxifen (100nM) 存在下に培養し、発育率を観察した。その結果、1-3nM という低濃度で有意な発育促進効果が認められた。一方、100 μM BPA では有意に発育が抑制された（図 1）。BPA は高濃度（100 μM）では初期胚発育を抑制するが、従来報告されているよりはるかに低濃度（1-3nM）で初期胚発育を促進した。この発育促進効果は tamoxifen により抑制され、更に ER および ER が初期胚に発現していることから ER を介することが推測され、胚への内分泌攪乱物質としての作用が無視できないことが示唆された。

(Takai Y et al. Biochem Biophys Res Commun 270:918-21, 2000)

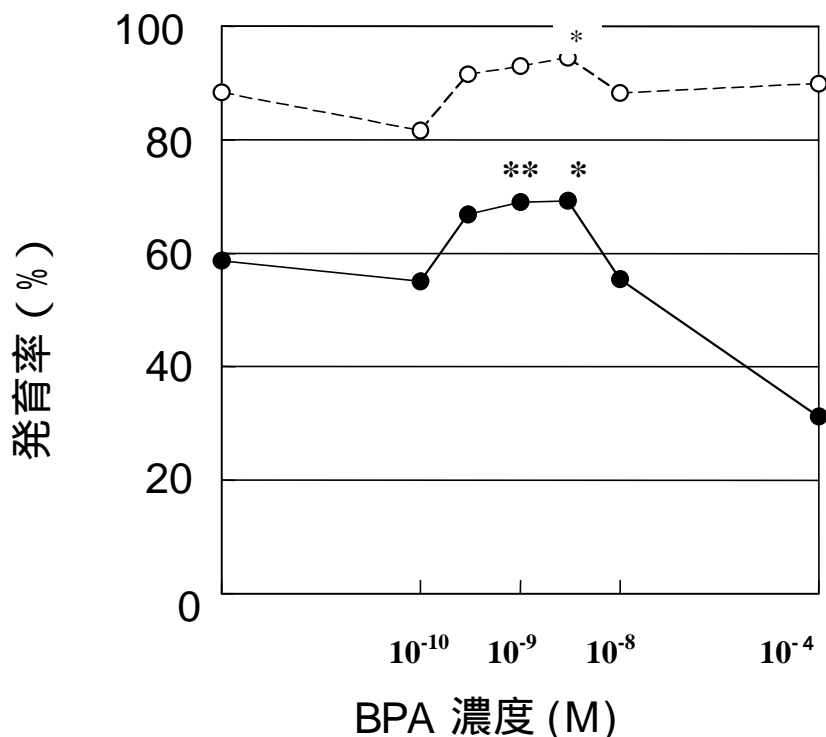


図 1 ビスフェノールAがマウス初期胚発育に及ぼす影響

ビスフェノールA (BPA) を添加して B6C3F1 マウス 2 細胞期胚を培養し、24 時間後の 8 細胞期胚 () および 48 時間後の胚盤胞 () の割合をみた。* は対照 (0.1% エタノール 添加) に比べて p<0.05。** は対照に比べて p<0.01。結果は 3 回以上の実験の合計であり、各処理群で 150-400 個の初期胚を用いた。

BPA 同様、ノニルフェノール (100 nM- 5 μ M) (図 2)、オクチルフェノール (100 nM- 1 μ M) (図 3)、フタル酸ジシクロロヘキシル (1 nM- 10 nM)、オクタクロロスチレン (1 nM- 5 nM)、ベンゾフェノン (1 nM-10 nM) による初期胚曝露でも、対照群に比べて培養 48 時間後の胚盤胞形成率を有意に上昇させた (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)。一方、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチルヘキシル、トリブチルすずにはその様な効果は認められなかった。ノニルフェノール、オクチルフェノールの胚盤胞形成促進作用は、タモキシフェンによってキャンセルされることから、これらの物質はエストロゲンレセプター (ER) を介して作用する事が示唆された。

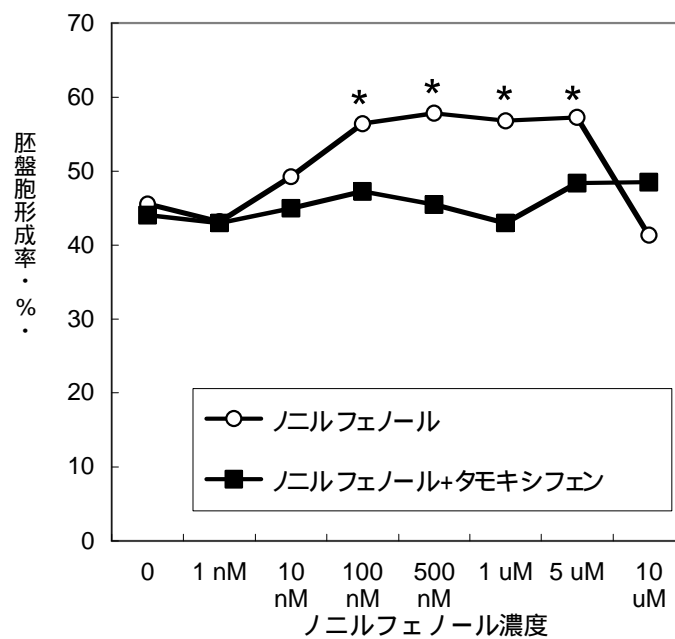


図 2 ノニルフェノールが初期胚発育に及ぼす影響

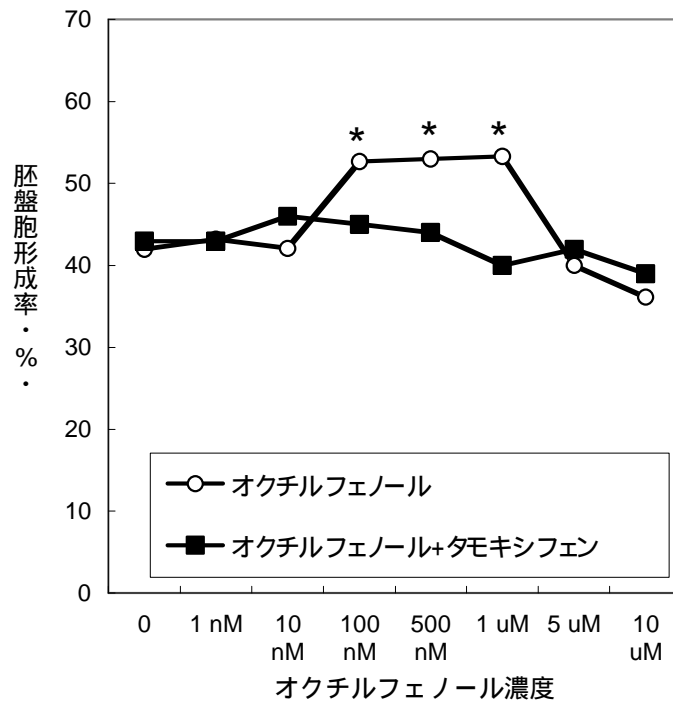


図3 オクチルフェノールが初期胚発育に及ぼす影響

2) 内分泌攪乱物質がマウス着床期胚発育に及ぼす影響

B6/C3H F1 マウス同士の交配により得られた2細胞期胚を、BMOC-3 medium を用いて 37 °C、0.5% CO₂ 存在下にて 48 時間培養し、胚盤胞を得た。この胚盤胞を内分泌攪乱物質と共に DMEM/F-12 medium にて 72 時間培養した後、dish に接着（着床）した胚の面積を測定し、内分泌攪乱物質が着床期の胚発育に及ぼす影響を検討した。その結果、BPA (5 nM- 10 μM)、ノニルフェノール(100 nM- 5 μM) (図4)、オクチルフェノール(100 nM- 1 μM)(図5)、フタル酸ジシクロロヘキシル (1 nM- 10 nM)、オクタクロロスチレン (1 nM- 5 nM)、ベンゾフェノン (1 nM- 10 nM) は対照群に比べ、培養 72 時間後の着床胚の接着面積を有意に拡大させた (* P<0.05, **P<0.01)。一方、フタル酸ジブチル、オクタクロロスチレンにはそのような効果は認められなかった。

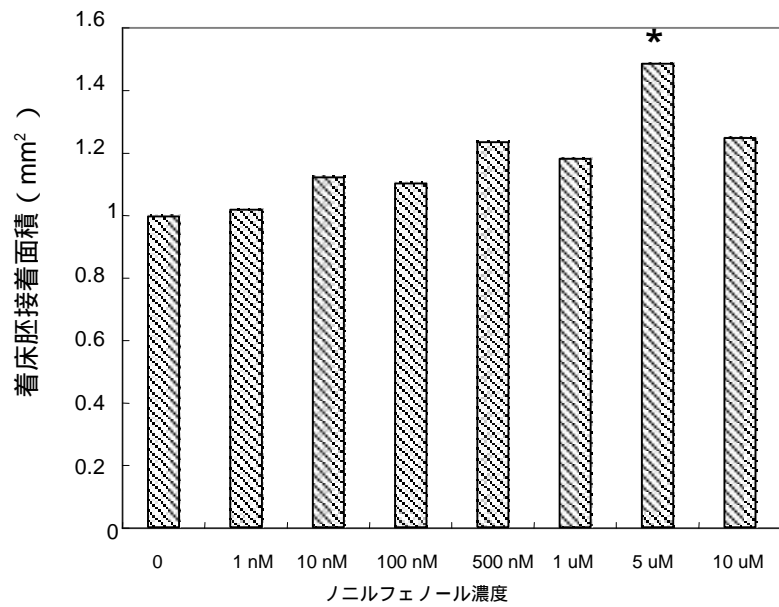


図4 ノニルフェノールが着床期胚の発育に及ぼす影響

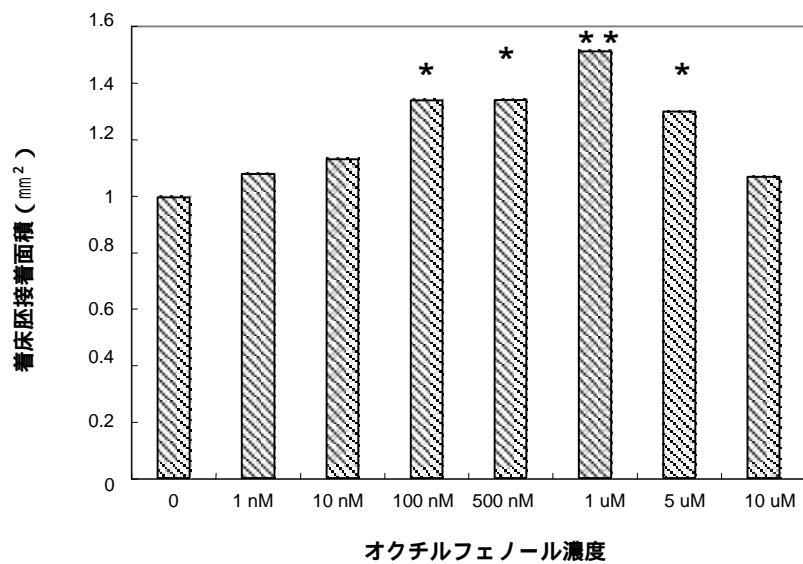


図5 オクチルフェノールが着床期胚の発育に及ぼす影響

3) 内分泌攪乱物質の妊娠中期投与が胎児発育に及ぼす影響

S Dラットの妊娠 11 日目から飲水より BPA (0- 50 mg/L) を与え、分娩直前に帝王切開により胎児を取り出すと共に胎盤を採取し、胎児重量、胎児肝臓重量、胎児脳重量、胎盤重量を測定した。その結果、胎児体重、脳重量、肝臓重量は、BPA (BPA 0- 10 mg/L) によって、有意に増加していた (* P<0.05, **P<0.01)(図 6? 図 8)。一方、胎盤重量は BPA (BPA 0- 50 mg/L) 投与によって有意な低下が認められた (図 9)。

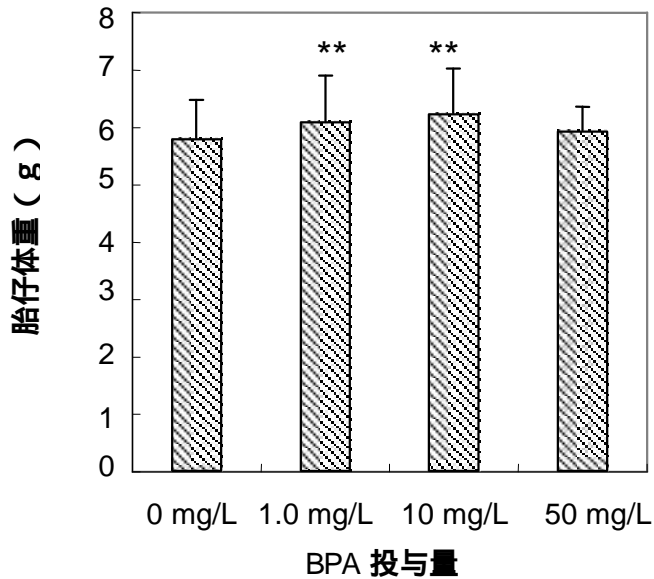


図 6 妊娠中期 BPA 曝露が胎児体重に及ぼす影響

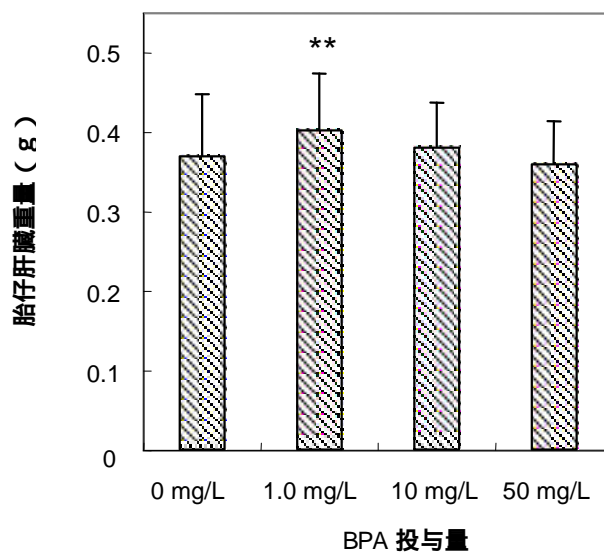


図 7 妊娠中期 BPA 曝露が胎児肝重量に及ぼす影響

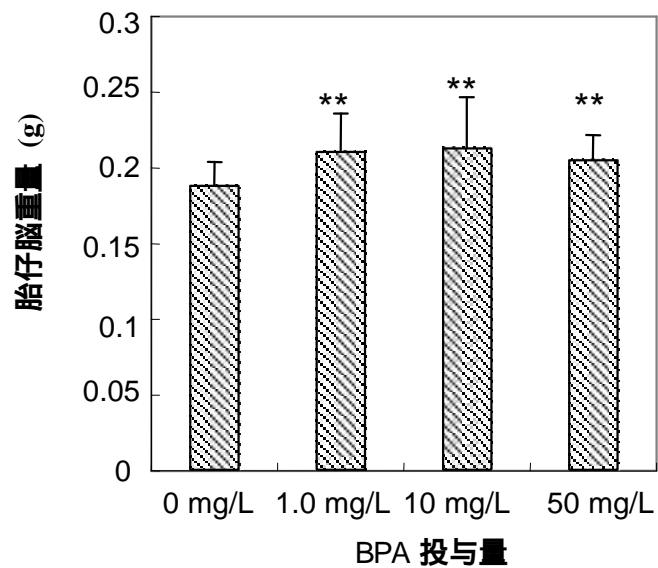


図8 妊娠中期 BPA 曝露が胎仔脳重量に及ぼす影響

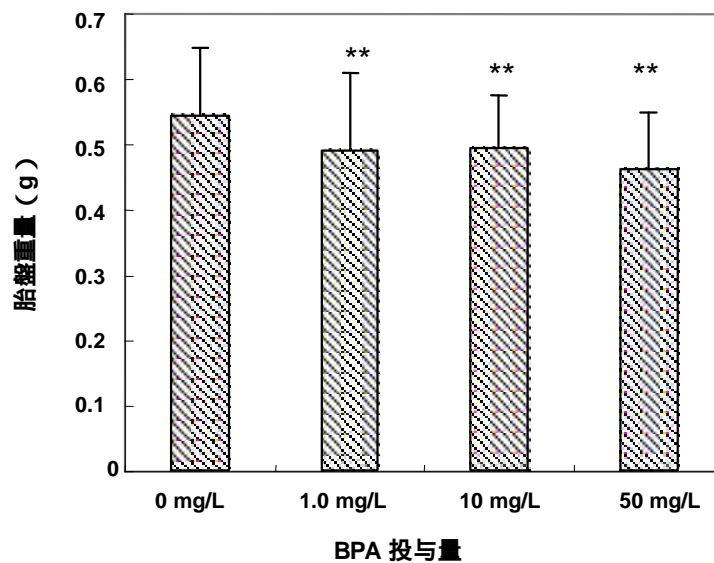


図9 妊娠中期 BPA 曝露が胎盤重量に及ぼす影響

4) ビスフェノールA 着床前被曝の出生後発育への影響：

ビスフェノールA (BPA)はポリカーボネイト樹脂の原料等に大量使用され、ヒト体液中にも数nM検出される。マウス2細胞期胚をBPA存在下に培養したところ、1nMでは有意な発育促進効果が認められ、100 μMでは有意な抑制効果が認められた。得られた胚盤胞を胚移植し、得られた新生仔の発育および生殖能を検討したところ、生後3週における体重で30%以上の有意な発育の促進が認められた(図10)。これより初期胚のBPAに対する感受性は高く、胚移植によ

り得られた新生仔の発育がBPA曝露群で促進されることより、妊娠後期の曝露のみならず着床前の曝露もまた次世代の発育に影響を及ぼすことが示唆された。

(Takai Y et al. Reprod Toxicol 15:71-74, 2001)

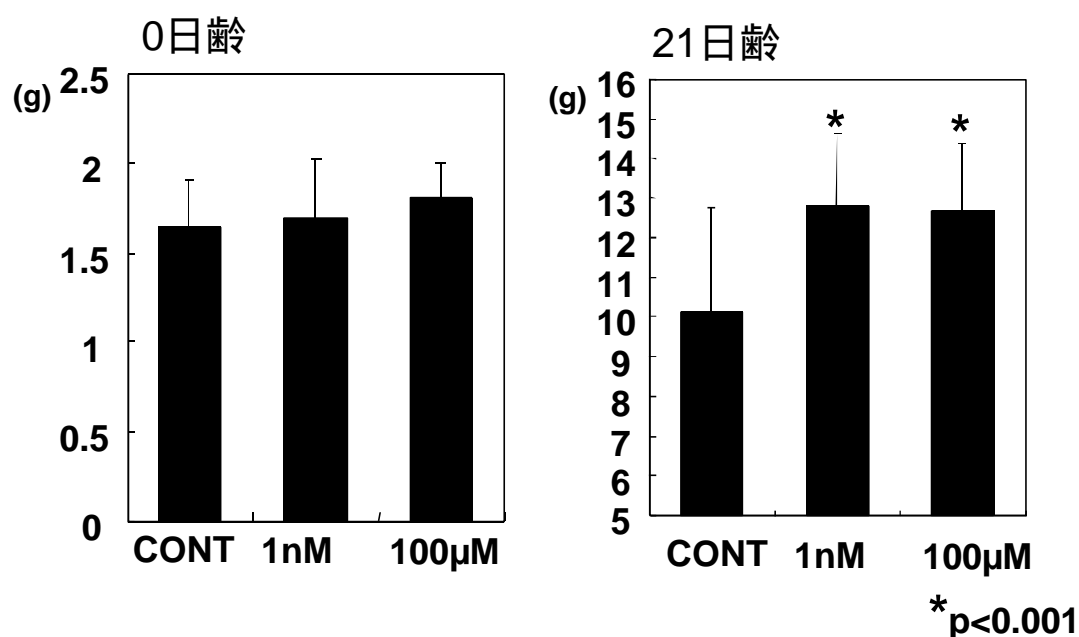


図 10 BPA 着床前被曝を受けた初期胚から生まれた産仔の発育

(2)研究成果の今後期待される効果

我々が見出した、低濃度の内分泌攪乱物質が初期胚発育に対してむしろ促進的に働くという、いわゆる「逆U字形」の発育促進現象は、ビスフェノールA (1-3 nM)のみならず、ノニルフェノール (100 nM- 5 µM)、オクチルフェノール (100 nM- 1 µM)、フタル酸ジシクロロヘキシル (1 nM- 10 nM)、オクタクロロスチレン (1 nM- 5 nM)、ベンゾフェノン (1 nM- 10 nM)などに共通の生命現象であることが確認された。このことは、我々が確立した初期胚発育を示標とした化学物質の影響評価法が、非常に高い感度と再現性を持った有用な方法であることを示すとともに、初期胚発育が、おそらくエストロゲンレセプターを介する共通の分子メカニズムによって制御されていることを示唆している。

また、妊娠中の曝露のみならず着床前曝露が産仔の発育に影響を及ぼすという現象は、内分泌攪乱物質の次世代への影響を考える上で非常に重要な視点となると思われる。

着床前初期胚は体内 (in vivo) でも体液中に直接曝露されており (in vitro) 上に示すように内分泌攪乱物質に対する感受性が高いとも考えられるため、ヒトを初めとする哺乳動物への生殖・発生への影響が懸念される各種化学物質に対して、上記のような初期胚を用いたスクリーニングを今後も引き続き行っていく予定である。更に、これからの環境汚染モニタリング対策において、我々の示した評価データが示標の一つとして採り入れられることに期待したい。

3.4 ビスフェノールAが卵巣機能に及ぼす影響に関する解析（堤グループ）

(1) 研究内容及び成果

卵胞の内側に位置する卵巣顆粒膜細胞は排卵期以後に黄体化し、プロゲステロン産性能が高まることが知られている。この卵巣の黄体化によるプロゲステロン産生作用は受精卵の子宮への着床において不可欠の現象と考えられている。この卵巣の重要な作用に対し、内分泌かく乱物質の1つといわれるBPAがどのように関与しているかにつき検討し、BPAが生殖機能に及ぼす影響について考察する。

ヒト卵胞液中に平均10 nMのBPAが存在し、内分泌かく乱物質としての何らかの作用を有する可能性が示唆されている。卵胞液中のBPAの卵巣機能に与える影響を検討するモデルとしてマウス卵胞より採取した顆粒膜細胞を培養しBPAの添加実験をおこなった。BPAは、100 pMの低濃度で顆粒膜細胞の増殖を抑制し、TUNEL法による解析では顆粒膜細胞にアポトーシスが起ることが明らかになった。さらにG2期からM期への抑制、BaxやBcl2の蛋白およびmRNAレベルの変化も観察された。従ってBPAは環境レベルの濃度で卵胞顆粒膜細胞にアポトーシスを惹起し卵巣機能に影響を与えることが示された(Xu J, et al: Biochem Biophys Res Commun. 292:456-462, 2002)。

ヒト卵巣顆粒膜細胞株であるKGN細胞の培養上清中にBPA 100fM-100 μMを添加し、24時間後に生細胞数の測定を行ったところ、BPA添加により、生細胞数はBPA無添加のものに比べ90-75%まで減少した。100 μM添加では生細胞数は10%以下となった。

次に、BPA添加(100fM-100nM)24時間後の細胞上清中のプロゲステロン濃度を測定し、総蛋白量で補正した。BPA添加4,8,12,24時間後にRNAを抽出し、プロゲステロン産生の律速酵素であるsteroidogenic acute regulatory protein (StAR)のmRNA発現を定量的PCRで検討した。BPA無添加群と比較すると、BPA添加(100fM-100nM)によって110-160%プロゲステロン濃度が上昇した。また、BPA添加によりStAR mRNAの発現は時間および用量依存的に上昇し、BPA100nM添加・24時間では無添加群に比較し8.5倍に上昇した(図1)。

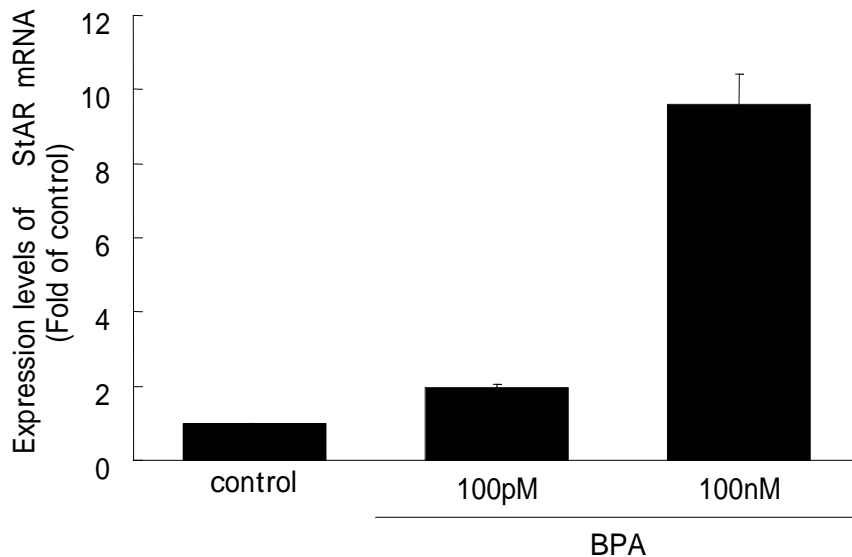


図1 ヒト顆粒膜細胞へのBPA添加によるStAR mRNAの発現

また、BPA添加の前処理としてプロゲステロン産生の中心的な細胞内シグナル伝達物質であるprotein kinase Aをforskolin (100 µg/ml)にて活性化させ、StAR mRNAおよびプロゲステロン発現に及ぼす影響を検討した。ForskolinにてPKAを活性化させるとプロゲステロン基礎分泌およびStAR mRNA発現レベルは各約10倍および25倍と増加するが、BPA無添加の場合と比較したBPA添加でのStAR mRNA発現レベル上昇は、forskolin前処理群でもforskolin未処理群と同様の割合で増加し、BPA無添加の場合と比較したBPA添加でのプロゲステロン分泌量増加率は、forskolin未処理群と前処理群でほぼ同様であった。つまり、forskolin前処理の有無に関わらないBPAの作用の存在が認められた。

ヒト顆粒膜細胞株KGNにおいてBPA添加により、細胞増殖が抑制された。マウス顆粒膜細胞に及ぼすBPAのアポトーシス作用と同様の作用が推測された。また、BPAにより、細胞あたりのプロゲステロン産生能が亢進し、これがStAR発現上昇を介している可能性が示唆された。また、BPA単独でPKAを活性化する作用を有していることも推測された。BPAによる顆粒膜細胞増殖抑制作用により予想される黄体機能の低下を、代償的に細胞あたりのプロゲステロン分泌量増加により補うことで黄体機能を維持する機構の存在が推定された。

(2)研究成果の今後期待される効果

内分泌かく乱物質の1つであるBPAの卵巣機能への関与について、マウスにおいては卵巣顆粒膜細胞の増殖を観察し、その影響を既に報告している。これを更に展開し、ヒトの卵巣顆粒膜細胞株を用いてその卵巣黄体機能に与える影響を検討した。BPAはそのアポトーシス作用により細胞増殖を抑制したが、一方でプロゲステロン産生能を亢進させることがわかった。このように、見かけ上は低濃度のBPAでは黄体機能へ影響がないように思われるが、これは代償的な作用であり、BPAが高濃度になるとアポトーシス作用が優位となりこの機構が破綻し、黄体機能低下につながることを示唆される。

このようにヒトの黄体機能に BPA が影響を与えることやヒトのホメオスタシスが黄体機能の維持に大きく関与していることがわかった。現時点での卵胞液中の BPA は平均 10nM 程度であるため黄体機能に影響を与える濃度ではないと思われるが、BPA の曝露が増えることで黄体機能低下や不妊症につながる可能性がある。更に、他の内分泌かく乱物質でも類似の作用がないか、黄体機能不全症例や卵巣機能不全症例で内分泌かく乱物質の汚染度の高い症例がないか、今後も引き続き検討していく必要性が高いと考えられる。

3.5 子宮内膜症発症メカニズムと内分泌かく乱物質の影響（堤グループ）

(1) 研究内容及び成果

我々はヒト子宮内膜症症例の臨床検体を用いて、子宮内膜症発症の分子メカニズムの解析を進めてきた。その結果、以下の様な増殖因子やサイトカイン等が子宮内膜症発症に関与することが明らかとなった。更に、マウスを用いて子宮内膜症発症モデルを作成し、内分泌かく乱物質が子宮内膜症発症を誘導しうる可能性を示した。

1) Tumor Necrosis Factor (TNF) の子宮内膜症発症における関与

TNF はアポトーシス誘導因子の代表的なものとして知られている。今回の研究では、TNF の腹腔内貯留液中濃度には差は認められず、TNF の作用と拮抗する sTNFR が臨床進行期を問わず子宮内膜症患者の腹腔内で上昇していた。これより、子宮内膜症患者では、腹腔内貯留液中で増加した sTNFR が TNF の子宮内膜組織・子宮内膜症組織に対するアポトーシス誘導作用に拮抗することで、子宮内膜組織の腹膜への生着を促し、内膜症組織増殖させ、内膜症発症・進展の原因になると推察された。(Koga K et al. Mol Hum Reprod. 2000; 6:929-33)

2) Stem Cell Factor (SCF) の子宮内膜症発症における関与

腹腔鏡下に肉眼所見上、白色病変として認識されることの多い繊維化などの二次的变化にも、腹腔内環境は大きく関与している。一般に、結合組織の代謝や線維化には肥満細胞が関与することが知られている。SCF は肥満細胞を刺激し、その成熟ならびに活性化に寄与する。腹膜の子宮内膜症病変において肥満細胞の数が増加しているという報告と考え合わせると、腹腔内貯留液中の SCF が、子宮内膜症病変の繊維化と関与していることが推測される。研究の結果、子宮内膜症患者の特に初期病変を有する症例の腹腔内貯留液中で SCF は有意に増加していた。このことは初期の子宮内膜症病変を有する患者では子宮内膜症病変を繊維化の方向に導くことにより、重症化を阻止するように腹腔内環境が作用しているとも解釈された。(Osuga Y et al. Am J Reprod Immunol. 2000; 44:231)

3) 抗血管新生物質 IP-10 の子宮内膜症発症における関与

不妊症などのために腹腔鏡を施行される患者より腹腔内貯留液 (PF) を採取し、PF の抗血管新生物質 interferon-induced protein (IP-10) を ELISA 法により測定した。また、PF より分離したマクロファージ、採取した正常腹膜組織、子宮内膜症組織より RNA を抽出し、IP-10 とそのレセプターの mRNA 発現を RT-PCR により検討した。さらに、マウス子宮内膜症モデルに血管新生抑制薬を投与し病巣に与える効果を検討した。PF 中の IP-10 は III, IV 期の進行

した子宮内膜症においてI,II期より有意に低下しており、子宮内膜症のない群と比較しても低下している傾向にあった。IP-10とそのレセプターのmRNAは、調べた組織すべてにおいて広く発現していた。(Yoshino O et al. Am J Reprod Immunol. 2003; 50:60)

4) マウス子宮内膜症モデルにおける Bisphenol A(BPA)の効果

これまでに確立してきたマウスの子宮内膜症モデルに BPA を投与することにより、BPA と子宮内膜症との関係について検討した。

卵巣切除した BALB/c マウスを 6 群に分け、corn oil 0.1ml/d (negative control)、BPA1mg/kg/d, BPA10mg/kg/d, BPA100mg/kg/d, BPA400mg/kg/d, E2 1mg/kg/w (positive control) を各々3週間皮下注射し、子宮重量、子宮内膜の形態の変化を検討した。その結果、表1に示すように、BPA10mg/kg/d投与群でcontrol群と比較し、子宮重量は3.7倍に増加したが(p<0.05)、BPA1mg/kg/d, 100mg/kg/d, 400mg/kg/d投与群では、control群と比較し有意差は認められなかった。更にBPAの組織学的影響についても検討したところ、BPA投与群では、E2群で見られるような腺上皮の増生が一部誘導された。この効果はBPA10mg/kg/d投与群で最も強い傾向にあった。

Compound	dose level	No. of animals	uterine weight (g) (mean ± SD)
control		5	0.0155 ± 0.0079
BPA	1m/kg/d	5	0.0268 ± 0.0143
BPA	10mg/kg/d	5	0.0577 ± 0.0501
BPA	100mg/kg/d	5	0.0397 ± 0.0057
BPA	400mg/kg/d	4	0.0313 ± 0.0074
E ₂	1mg/kg/w	3	0.1513 ± 0.0299

表1 卵巣切除マウスにおける BPA の子宮重量増加作用

8週令 BALB/c マウスを2群に分け、各々 corn oil 0.1ml/d BPA 10mg/kg/dを2週間皮下注射した。次にそれぞれの群の半数のマウスを sacrifice し、その子宮内膜を同じ群のマウスの腹腔内に注入した。引き続き corn oil 0.1ml/d BPA 10mg/kg/dを3週間皮下注射した後、sacrifice し、腹腔内病変の有無、個数、重量につき検討した。その結果、図1に示すように、対照群では6匹中子宮内膜症病変を形成したものは認められなかったのに対し、BPA投与群では7匹中6匹に子宮内膜症病変を認め(p < 0.01)、平均病変重量は0.957 ± 0.648mgだった。

以上の結果、卵巣切除後のマウスにおいて、BPAはestrogen作用をもつことが、子宮重量、組織の検討より示され、BPAのestrogen作用は10mg/kg/dで最も強く、用量依存性に逆U字

型を示す。更に、子宮内膜症モデル動物に於いて、BPA により子宮内膜症病変が誘導される
ことが示された。

(2)研究成果の今後期待される効果

我々の研究成果より子宮内膜症の発症・進展に於いては血管新生因子が重要な役割を果た
すことが示唆され、近年増加傾向にある子宮内膜症の発症メカニズムに対する理解が進んだ
といえる。血管新生因子阻害剤を我々の確立した子宮内膜症モデル動物に投与した実験では
子宮内膜症病変の縮小が観察され、治療に難渋することの多い子宮内膜症に対する新たな治
療法の可能性を示したものと見える。

3.6 エストロゲン作用分子機構の解析(百枝グループ)

(1)研究内容及び成果

エストロゲンは性分化、性機能の調節に必須な女性ホルモンであり、ある種の内分泌かく
乱物質はこの作用を修飾するといわれている。その作用経路としてエストロゲンレセプター
を介する機序が考えられている。以前より知られているエストロゲンレセプター (ER)に加
えて、新しいレセプター (ER)が最近同定された。最初に、多彩なエストロゲン作用を知
る上で、その作用の入り口である ER 、ER に変異体、アイソフォームが存在するかどうか
を調べた。その変異体を応用して、骨に対するエストロゲンシグナルの影響を検討した。次
に、ER 、ER レセプターの作用の出口であるの下流応答因子として新規に同定した EBAG9 に
着目しその性状を分子レベル解析した。EBAG9 は前立腺癌で発現が上昇し、予後に関連して
いることが示唆された。さらに、妊娠中の臓器、胎児への内分泌かく乱物質の影響を調べる
ために、妊娠中の臓器で発現が調節される遺伝子群を検索した。

1. エストロゲン受容体変異体の機能解析

エストロゲンレセプターのアイソフォームとして ER のエクソン5を欠失したものを正
常ヒト精巣由来の mRNA より発見し ER 5 と名付けた、このアイソフォームは細胞内では核
に存在し ER ,ER 両者の働きを抑えるドミナントネガティブ体として機能した(Biochem
Biophys Res Commun 279, 814-819, 2000)。ER ,ER 両者の働きを抑えるドミナントネガ
ティブ体はエストロゲンシグナルを遮断するので、内分泌かく乱物質の生理作用を知る上で
有用なツールとなる。このドミナントネガティブ体を発現させたトランスジェニックラット
は、骨量を指標として、エストロゲン治療に抵抗性を示した(J Biol Chem 275, 21375-21379,
2000)。その動物由来の骨芽細胞にマイクロアレイ法にて変化している遺伝子を探り、リスト
アップした。そのなかの、cyclin D2 は、cyclin D3 とともに骨芽細胞におけるエストロゲン
の分子標的であることが判明した(Biochem Biophys Res Commun 299, 222-228, 2002)。

2. エストロゲン受容体下流遺伝子 EBAG9 の機能解析

エストロゲンレセプター下流遺伝子 EBAG9 について、ヒトの EBAG9 遺伝子 5' 上流領域の
解析から、この遺伝子のエストロゲン誘導性と、調節のメカニズムを明らかにした。EBAG9
遺伝子はヒト8番染色体に位置し、癌との関連が示唆された(Biochem Biophys Res Commun 273,

654-660, 2000)。さらに、マウスの cDNA、ゲノムの構造を決定し、子宮における *in vivo* のエストロゲン誘導性を示した。この蛋白は、正常細胞の増殖抑制に働き、生殖、発生における役割が示唆された(Biochem Biophys Res Commun 284, 2-10, 2001)。EBAG9 の発現を前立腺癌のサンプルで調べると悪性度に応じてその発現が上昇し、予後に関連していることが示唆された(Int J Cancer 106, 310-315, 2003)。

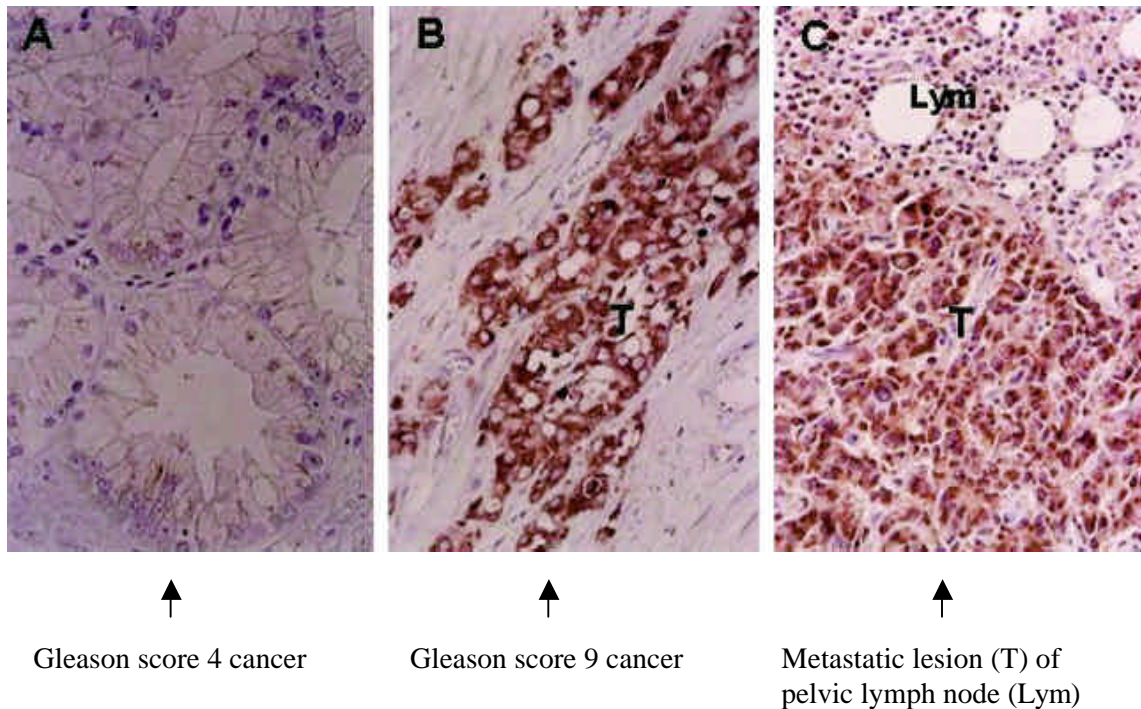


図1 前立腺癌における EBAG9 の発現上昇

3. 妊娠子宮、脱落膜におけるエストロゲン応答遺伝子群のスクリーニング

妊娠中の子宮、脱落膜で発現が増加する遺伝子を differential screening 法を応用した suppression subtractive hybridization 法により、リストアップした(表1)。なかでも sFRP 4 は、新規にその発現調節が見出され、エストロゲン刺激においても後期に応答する。すなわち妊娠中の子宮、脱落膜に加えエストロゲン刺激後の子宮に発現が見られ、Wnt シグナルが子宮形成、機能に重要であることと併せて考えるとその役割が注目される。sFRP 4 は Wnt シグナルの負の調節因子と想定されている(J Mol Endocrinol, 28, 213-223, 2002)。最近、SFRP4 はリン酸代謝にも関与することが示唆されている。我々は、sFRP4 が骨の細胞の分化過程で発現調節を受け、その SNP は骨量と相関することを見出している(投稿準備中)。

	cDNA	Localization	Day	Species
	Novel sFRP4	n.d.	n.d.	Rat
	Known -2 Macroglobulin	Decidua, fetal liver	6-21	Rat
	Placental lactogen	Decidua, placenta, trophoblast giant cell	8-13	Mouse, rat
	Calcyclin	Uterus, decidua, placenta	5-18	Mouse
	Plasma glutathione peroxidase	Placenta	n.d.	Human
	Amiloride-binding protein	Placenta	n.d.	Human, rat
	Pregnancy specific glycoprotein rnCGM3	Placenta	n.d.	Rat
EST	EST 207450 (AI012999)	n.d.	n.d.	Rat
	EST 212820 (AI103531)	n.d.	n.d.	Rat

EST, expressed sequence tags; n.d.; not determined

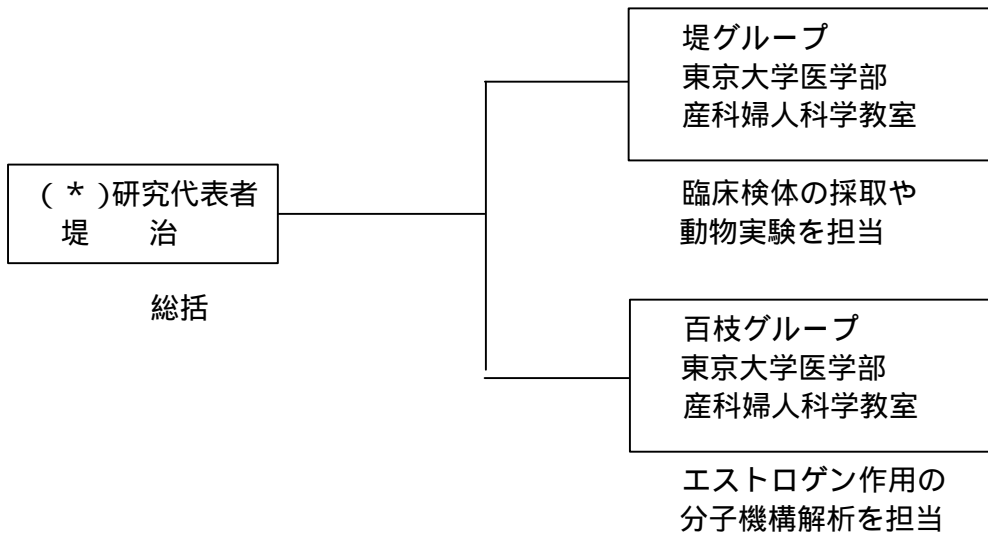
表1 Suppression subtractive hybridization 法によって同定された、ラット妊娠子宮でその発現が上昇する遺伝子群

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究において、妊娠中の臓器、胎児、生殖系癌や骨などに対しエストロゲン様活性を有する内分泌かく乱物質の影響を調べるために、それらの臓器で発現が調節される遺伝子について、sFRP4, cyclin D2 をはじめとする多数の遺伝子群をリストアップし、新規に調節されている遺伝子群を見出している。これらは、内分泌かく乱物質の各臓器における特異的なマーカーとして役立つことができる。さらに、その機能解析から、内分泌かく乱物質の作用メカニズムに迫ることが可能となった。特に、当研究グループが見出したエストロゲン応答遺伝子である EBAG9 が、ホルモン依存性癌の診断、予後に関わることを発見した。EBAG9 は前立腺癌で発現が上昇し、予後に関連していることが示唆された。内分泌かく乱物質の影響で、生殖型の癌への影響が危惧されているが、そのバイオマーカーとしても有用である可能性が示された。

4. 研究実施体制

(1)体制



(*)平成15年6月以降は研究総括が代行

(2)メンバー表

堤グループ(内分泌かく乱物質の人体汚染状況および哺乳動物の生殖機能におよぼす影響)

氏名	所属	役割	研究項目	参加時期
堤 治	東京大学医学部 産科婦人科学教室	教授	臨床検体の採取、研究を統括	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
矢野 哲	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助教授	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質による卵胞細胞アポトーシスの解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
大須賀 穰	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、子宮内膜症発症機構の解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
藤原 敏博	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、卵成熟への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
亀井 良政	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、胎児発育への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
五十嵐 敏雄	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
未永 昭彦	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、胚着床への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
岡垣 竜吾	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、子宮内膜症発症機構の解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
高井 泰	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、初期胚発育への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
廣井 久彦	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
藤本 晃久	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、卵成熟への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
三木 明德	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、胎芽発育への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
竹内 亨	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 14 年 5 月 - 平成 15 年 12 月
松見 泰宇	東京大学医学部 産科婦人科学教室	医員	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質による卵胞細胞アポトーシスの解析	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月

萩野 大輔	東京大学医学部 産科婦人科学教室	医員	胎児発育への影響	平成 11 年 4 月 - 平成 12 年 3 月
生月 弓子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	医員	臨床検体の採取、初期胚発育への影響	平成 11 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
甲賀 かをり	東京大学医学部 産科婦人科学教室	医員	子宮内膜症発症機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
和田 修	東京大学医学部 産科婦人科学教室	医員	マウス卵胞培養の研究	平成 15 年 7 月 - 平成 15 年 12 月
吉野 修	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	臨床検体の採取、子宮内膜症発症機構の解析	平成 12 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
廣田 泰	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	臨床検体の採取、子宮内膜症発症機構の解析	平成 14 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
前 和幸	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 14 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
平田 哲也	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	生理活性物質の測定	平成 15 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
森本 千恵子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	マウスモデルの作成	平成 15 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
原田 美由紀	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	免疫組織学的解析	平成 15 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
上村 拓	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	臨床検体の採取、胎芽発育への影響	平成 12 年 4 月 - 平成 13 年 3 月
辻内 陽子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	臨床検体の採取、初期胚発育への影響	平成 12 年 4 月 - 平成 13 年 3 月
許 継平	東京大学医学部 産科婦人科学教室	学術振興会 特別研究員	初期胚発育・着床への影響	平成 11 年 10 月 - 平成 15 年 12 月
中村 直仁	派遣先	CREST 研究員	内分泌かく乱物質が生殖機能に及ぼす影響	平成 13 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
鈴木 芳枝	派遣先	CREST 研究補助員	初期胚発育・着床への影響	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
富田 恵子	派遣先	CREST 研究補助員	初期胚発育・着床への影響	平成 11 年 6 月 - 平成 13 年 3 月

山田 治子	派遣先	CREST 研究補助員	経理・事務業務	平成 11 年 2 月 - 平成 15 年 12 月
-------	-----	----------------	---------	-------------------------------

百枝グループ（内分泌かく乱物質作用機構の解明）

氏名	所属	役割	研究項目	参加時期
百枝 幹雄	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	エストロゲン作用分子機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
井上 聡	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	エストロゲン作用分子機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
黒澤 貴子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	助手	臨床検体の採取、内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
佐藤 昌子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	内分泌かく乱物質作用機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
土屋 富士子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	子宮内膜への影響の解析	平成 11 年 6 月 - 平成 15 年 12 月
石川 智子	東京大学医学部 産科婦人科学教室	院生	着床・胎芽発育への影響	平成 12 年 4 月 - 平成 15 年 12 月
高根 ビクトル	東京大学医学部 産科婦人科学教室	大学院生	エストロゲン作用分子機構の解析	平成 15 年 1 月 - 平成 15 年 12 月
戸田 恭子	派遣先	CREST 技術員	内分泌かく乱物質が生殖機能に及ぼす影響	平成 11 年 4 月 - 平成 12 年 3 月
稲田 誌乃	派遣先	CREST 研究補助員	エストロゲン作用分子機構の解析	平成 11 年 4 月 - 平成 13 年 9 月
三原 幸織	派遣先	CREST 研究補助員	エストロゲン作用分子機構の解析	平成 13 年 12 月 - 平成 14 年 11 月

5 . 研究期間中の主な活動

(1) ワークショップ・シンポジウム等

これまで当チームが主催するワークショップ、シンポジウムなどの実績はないが、研究成果は積極的に国内外の学会、学術誌、マスコミなどを通じて公にしている。公式な「チーム打ち合わせ」と呼べるものを開いてはいないが、各グループ単位での非公式での研究ミーティングや抄読会などを積極的かつ頻回に開いており、各研究員間の有機的な関係を保てるよう、努めている。

(2) 招聘した研究者等

科学技術振興機構として招聘した研究者はいないが、東京医学会として招聘した研究者は多数にのぼり、有意義な講演や議論が展開された。

6. 主な研究成果物、発表等

(1)論文発表 (国内 51件、海外 45件)

1. 高井泰, 堤治: 【低用量ピルとバイアグラ】 低用量ピル 低用量ピルと環境ホルモン. **ホルモンと臨床** 47(10): 945-951, 1999.
2. 堤治: 内分泌攪乱物質と生殖機能. **環境変異原研究** 21(3): 287-292, 1999.
3. 堤治: 環境ホルモンと子宮内膜症. **臨床検査** 43(13): 1657-1659, 1999.
4. 堤治: 環境ホルモン汚染と問題点. **日本産科婦人科学会雑誌** 51(9): N211-N214, 1999.
5. 堤治: 子宮内膜症研究の新しい方向性 環境ホルモンと子宮内膜症. **エンドメトリオージス研究会会誌** 20(105-110), 1999.
6. 堤治: 【外因性内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)の生体への影響と検査】 環境ホルモン,特にダイオキシンの初期胚への影響. **SRL宝函** 23(2): 74-77, 1999.
7. 堤治: 【不妊・不育】 内分泌攪乱物質と生殖機能. **母子保健情報** 39(59-64), 1999.
8. 堤治: 【環境ホルモン(内分泌攪乱物質)研究の展開】 ダイオキシンと初期胚発育. **医学のあゆみ** 190(7? 8): 735-738, 1999.
9. 堤治: 【胚発育・着床をめぐる最近の話題】 胚発育と成長因子. **産科と婦人科** 66(5): 617-624, 1999.
10. 堤治: 【環境ホルモン】 内分泌攪乱物質と卵・初期胚発育. **産婦人科の世界** 51(1): 95-101, 1999.
11. 堤治: 生殖 ダイオキシンとヒト生殖. **日本産科婦人科学会雑誌** 51(8): 705-714, 1999.
12. 堤治, 高井泰: 【生殖と内分泌攪乱物質】 内分泌攪乱物質の生殖機能への影響. **産科と婦人科** 66(2): 235-243, 1999.
13. 堤治, 武谷雄二: 【環境汚染と周産期】 ダイオキシンと子宮内膜症. **周産期医学** 29(4): 427-430, 1999.
14. 矢野哲, 神保春子, 百枝幹雄, 吉川裕之, 堤治, 武谷雄二: 子宮内膜症の分子生物学的研究の現況と展望 子宮内膜症のclonality解析. **エンドメトリオージス研究会会誌** 20(34), 1999.
15. 笠井靖代, 堤治: エストロゲンによる血管平滑筋K⁺チャネルの活性化. **内分泌・糖尿病科** 11(4): 402-406, 2000.
16. 広田泰, 岡垣竜吾, 末永昭彦, 大?, 藤原敏博, 百枝幹雄, 武谷雄二, 堤治: 精液所見に影響する生活習慣及び環境因子の検討. **日本受精着床学会雑誌** 17(1): 241-244, 2000.
17. 高井泰, 森田豊, 亀井良政, 堤治: 【生殖と成長因子】 胚発育と成長因子. **産婦人科の世界** 52(2): 141-146, 2000.

18. 高井泰, 堤治: 内分泌攪乱物質の卵子, 胚への影響. **治療学** 34(5): 501-504, 2000.
19. 高井泰, 堤治: 【内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)とその問題点】 内分泌攪乱化学物質と経口避妊薬(ピル). **産婦人科の実際** 49(8): 1011-1020, 2000.
20. 高井泰, 堤治: 【内分泌攪乱物質】 内分泌攪乱物質の女性性機能への影響. **BIO Clinica** 15(2): 123-128, 2000.
21. 高井泰, 堤治: 【内分泌攪乱化学物質】 物理化学的特性, 生体内代謝動態, 内分泌毒性 内分泌攪乱化学物質と合成ホルモン DESと経口避妊薬. **日本臨床** 58(12): 2409-2416, 2000.
22. 高井泰, 廣井久彦, 堤治: 【エストロゲン 最近の話題】 エストロゲン作働物質/抗エストロゲン物質 内分泌攪乱化学物質. **HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY** 7(1): 79-85, 2000.
23. 堤治: 内科診療におけるPros & conS 環境ホルモンによる生殖障害. **内科** 85(3): 569-572, 2000.
24. 堤治: 環境ホルモンと妊娠・母乳. **日本産科婦人科学会鹿児島地方部会雑誌** 8(9-13), 2000.
25. 堤治: 【内分泌攪乱物質】 内分泌攪乱物質とその問題点. **BIO Clinica** 15(2): 106-107, 2000.
26. 堤治: 【内分泌攪乱化学物質】 内分泌毒性発現のメカニズム 内分泌攪乱化学物質の着床前初期胚への直接作用. **日本臨床** 58(12): 2464-2468, 2000.
27. 堤治: 【子宮内膜症 その病態を探る】 内分泌攪乱化学物質. **HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY** 7(3): 283-288, 2000.
28. 堤治, 生月弓子: 新しい治療 内分泌攪乱物質に対する治療学的アプローチ ダイオキシンの体外排出除去の可能性. **治療学** 34(5): 542-543, 2000.
29. 難波聡, 堤治: 【内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)とその問題点】 内分泌攪乱物質と性分化異常. **産婦人科の実際** 49(8): 1105-1112, 2000.
30. 廣井久彦, 百枝幹雄, 堤治, 武谷雄二, 井上聡, 村松正實: ラット子宮, 卵巣におけるエストロゲンレセプター , の局在. **性差医学** 6(85-90), 2000.
31. 堤治: 子宮内膜症の最近の話題 環境ホルモンからGnRHαの新しい使い方まで. **エンドメトリオーシス研究会会誌** 22(27-32), 2001.
32. 堤治: 環境ホルモンと生殖機能. **日本産科婦人科学会熊本地方部会雑誌** 45(9-15), 2001.
33. 堤治: 臨床疾患のCutting Edge 子宮内膜症と環境因子. **組織培養工学** 27(2): 80-83, 2001.
34. 堤治: 内分泌 内分泌攪乱物質と生殖機能. **Annual Review内分泌, 代謝** 2001(47-53), 2001.
35. 堤治: 【子宮内膜症UP DATE】 子宮内膜症と環境因子. **産婦人科治療** 83(4): 471-475,

- 2001.
36. 堤治:【生殖医療の基礎と臨床】 生殖医療の新展開 内分泌攪乱物質と人類の未来. **産婦人科の世界** 53(春季増刊): 270-276, 2001.
 37. 堤治:【内分泌攪乱化学物質研究の最新の動向】 内分泌攪乱化学物質の着床前初期胚への影響. **生活と環境** 46(5): 30-35, 2001.
 38. 堤治:【生殖医学のゆくえ】 生殖と環境ホルモン. **HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY** 8(1): 55-60, 2001.
 39. 堤治:【子宮内膜症】 最新の考え方と治療動向 子宮内膜症と環境因子. **日本臨床** 59(増刊 子宮内膜症): 230-235, 2001.
 40. 堤治:【女性のQOLと子宮内膜症】 病態の把握 子宮内膜症の増加と環境因子. **臨床と薬物治療** 20(2): 100-103, 2001.
 41. 堤治:【臨床に役立つ内分泌疾患診療マニュアル2001】 内分泌総論 (3)内分泌攪乱化学物質. **ホルモンと臨床** 49(特別増刊): 31-34, 2001.
 42. 難波聡, 堤治: 内分泌攪乱物質と性分化異常. **内分泌・糖尿病科** 13(4): 376-383, 2001.
 43. 武谷雄二, 堤治, 百枝幹雄, 大須賀穰:【子宮内膜症UP DATE】 子宮内膜症の疫学と自然史. **産婦人科治療** 83(4): 403-408, 2001.
 44. 堤治:【生殖医学の新展開】 環境ホルモンと人類の未来. **産婦人科の世界** 54(11): 1147-1156, 2002.
 45. 堤治:【子宮内膜症をどう扱うか】 子宮内膜症と内分泌攪乱物質. **産婦人科の世界** 54(7): 743-751, 2002.
 46. 堤治:【内分泌攪乱物質の基礎と臨床】 内分泌攪乱物質の女性生殖機能への影響. **最新医学** 57(2): 243-249, 2002.
 47. 堤治, 生月弓子, 山田信博: 食用活性炭ヘルスカーボンの血清コレステロールレベル改善作用. **日本臨床栄養学会雑誌** 23(4): 39-45, 2002.
 48. 高井泰, 堤治:【生殖医療の全て】 胚の発生・発育に及ぼす内分泌攪乱物質の影響. **医学のあゆみ** 204(13): 949-953, 2003.
 49. 大須賀穰, 甲賀かをり, 吉野修, 廣田泰, 平田哲也, 百枝幹雄, 久具宏司, 矢野哲, 堤治, 武谷雄二: エンドメトリオーシスの増殖制御因子の生物学 子宮内膜症における増殖因子等の関与のパターンについての検討. **エンドメトリオーシス研究会会誌** 24(38-41), 2003.
 50. 武谷雄二, 百枝幹雄, 大須賀穰, 堤治:【子宮内膜症のEBMとTBM】 子宮内膜症の疫学的背景. **産婦人科治療** 86(6): 1022-1027, 2003.
 51. 廣井久彦, 堤治:【ステロイド代謝酵素に関する最近の進歩】 エストロゲン代謝酵素. **ホルモンと臨床** 51(7): 593-597, 2003.

1. Hiroi H, Inoue S, Watanabe T, Goto W, Orimo A, Momoeda M, Tsutsumi O, Taketani Y, and Muramatsu M: Differential immunolocalization of estrogen receptor alpha and beta in rat ovary and uterus. *J Mol Endocrinol* 22(1): 37-44, 1999.
2. Hiroi H, Momoeda M, Inoue S, Tsuchiya F, Matsumi H, Tsutsumi O, Muramatsu M, and Taketani Y: Stage-specific expression of estrogen receptor subtypes and estrogen responsive finger protein in preimplantational mouse embryos. *Endocr J* 46(1): 153-8, 1999.
3. Hiroi H, Tsutsumi O, Momoeda M, Takai Y, Osuga Y, and Taketani Y: Differential interactions of bisphenol A and 17beta-estradiol with estrogen receptor alpha (ERalpha) and ERbeta. *Endocr J* 46(6): 773-8, 1999.
4. Igarashi T, Osuga U, Tsutsumi O, Momoeda M, Ando K, Matsumi H, Takai Y, Okagaki R, Hiroi H, Fujiwara O, Yano T, and Taketani Y: Expression of Ah receptor and dioxin-related genes in human uterine endometrium in women with or without endometriosis. *Endocr J* 46(6): 765-72, 1999.
5. Kamei Y, Tsutsumi O, Yamakawa A, Oka Y, Taketani Y, and Imaki J: Maternal epidermal growth factor deficiency causes fetal hypoglycemia and intrauterine growth retardation in mice: possible involvement of placental glucose transporter GLUT3 expression. *Endocrinology* 140(9): 4236-43, 1999.
6. Osuga Y, Tsutsumi O, Momoeda M, Okagaki R, Matsumi H, Hiroi H, Suenaga A, Yano T, and Taketani Y: Evidence for the presence of hepatocyte growth factor expression in human ovarian follicles. *Mol Hum Reprod* 5(8): 703-7, 1999.
7. Osuga Y, Tsutsumi O, Okagaki R, Takai Y, Fujimoto A, Suenaga A, Maruyama M, Momoeda M, Yano T, and Taketani Y: Hepatocyte growth factor concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod* 14(6): 1611-3, 1999.
8. Yano T, Jimbo H, Yoshikawa H, Tsutsumi O, and Taketani Y: Molecular analysis of clonality in ovarian endometrial cysts. *Gynecol Obstet Invest* 47 Suppl 1(41-5; discussion 46, 1999.
9. Ikeda K, Sato M, Tsutsumi O, Tsuchiya F, Tsuneizumi M, Emi M, Imoto I, Inazawa J, Muramatsu M, and Inoue S: Promoter analysis and chromosomal mapping of human EBAG9 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 273(2): 654-60, 2000.
10. Inoue S, Ogawa S, Horie K, Hoshino S, Goto W, Hosoi T, Tsutsumi O, Muramatsu M, and Ouchi Y: An estrogen receptor beta isoform that lacks exon 5 has dominant negative activity on both ERalpha and ERbeta. *Biochem Biophys Res Commun* 279(3): 814-9, 2000.
11. Kamei Y, Takeda Y, Teramoto K, Tsutsumi O, Taketani Y, and Watanabe K: Human

- NB-2 of the contactin subgroup molecules: chromosomal localization of the gene (CNTN5) and distinct expression pattern from other subgroup members. *Genomics* 69(1): 113-9, 2000.
12. Koga K, Osuga Y, Tsutsumi O, Momoeda M, Suenaga A, Kugu K, Fujiwara T, Takai Y, Yano T, and Taketani Y: Evidence for the presence of angiogenin in human follicular fluid and the up-regulation of its production by human chorionic gonadotropin and hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9): 3352-5, 2000.
 13. Koga K, Osuga Y, Tsutsumi O, Okagaki R, Momoeda M, Yano T, Fujiwara T, Takai Y, Kugu K, Morita Y, and Taketani Y: Increased concentrations of soluble tumour necrosis factor receptor (sTNFR) I and II in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Mol Hum Reprod* 6(10): 929-33, 2000.
 14. Matsumi H, Yano T, Osuga Y, Kugu K, Tang X, Xu JP, Yano N, Kurashima Y, Ogura T, Tsutsumi O, Koji T, Esumi H, and Taketani Y: Regulation of nitric oxide synthase to promote cytotaxis in ovarian follicular development. *Biol Reprod* 63(1): 141-6, 2000.
 15. Osuga J, Ishibashi S, Oka T, Yagyu H, Tozawa R, Fujimoto A, Shionoiri F, Yahagi N, Kraemer FB, Tsutsumi O, and Yamada N: Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(2): 787-92, 2000.
 16. Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, Igarashi T, Okagaki R, Takai Y, Matsumi H, Hiroi H, Fujiwara T, Momoeda M, Yano T, and Taketani Y: Stem cell factor (SCF) concentrations in peritoneal fluid of women with or without endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 44(4): 231-5, 2000.
 17. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, Yano T, and Taketani Y: Estrogen receptor-mediated effects of a xenoestrogen, bisphenol A, on preimplantation mouse embryos. *Biochem Biophys Res Commun* 270(3):918-21,2000.
 18. Takeuchi T and Tsutsumi O: Basal leptin concentrations in women with normal and dysfunctional ovarian conditions. *Int J Gynaecol Obstet* 69(2): 127-33, 2000.
 19. Tsutsumi O, Momoeda M, Takai Y, Ono M, and Taketani Y: Breast-fed infants, possibly exposed to dioxins in milk, have unexpectedly lower incidence of endometriosis in adult life. *Int J Gynaecol Obstet* 68(2): 151-3, 2000.
 20. Koga K, Osuga Y, Tsutsumi O, Yano T, Yoshino O, Takai Y, Matsumi H, Hiroi H, Kugu K, Momoeda M, Fujiwara T, and Taketani Y: Demonstration of angiogenin in human endometrium and its enhanced expression in endometrial tissues in the secretory phase and the decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 86(11): 5609-14, 2001.
 21. Kugu K, Momoeda M, Sharma SS, Osuga Y, Fujiwara T, Okagaki R, Fukushima H, Yano

- T, Tsutsumi O, and Taketani Y: Is an elevation in basal follicle-stimulating hormone levels in unexplained infertility predictive of fecundity regardless of age? *Endocr J* 48(6): 711-5, 2001.
22. Morita Y, Maravei DV, Bergeron L, Wang S, Perez GI, Tsutsumi O, Taketani Y, Asano M, Horai R, Korsmeyer SJ, Iwakura Y, Yuan J, and Tilly JL: Caspase-2 deficiency prevents programmed germ cell death resulting from cytokine insufficiency but not meiotic defects caused by loss of ataxia telangiectasia-mutated (Atm) gene function. *Cell Death Differ* 8(6): 614-20, 2001.
 23. Morita Y, Tsutsumi O, and Taketani Y: Regulatory mechanisms of female germ cell apoptosis during embryonic development. *Endocr J* 48(3): 289-301, 2001.
 24. Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, Yano T, Kugu K, Momoeda M, Okagaki R, Suenaga A, Fujiwara T, Fujimoto A, Matsumi H, Hiroi H, and Taketani Y: Evidence for the presence of keratinocyte growth factor (KGF) in human ovarian follicles. *Endocr J* 48(2): 161-6, 2001.
 25. Ryo E, Shiotsu H, Takai Y, Tsutsumi O, Okai T, Taketani Y, and Takeuchi Y: Effects of pulsed ultrasound on development and glucose uptake of preimplantation mouse embryos. *Ultrasound Med Biol* 27(7): 999-1002, 2001.
 26. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Kamei Y, Osuga Y, Yano T, and Taketani Y: Preimplantation exposure to bisphenol A advances postnatal development. *Reprod Toxicol* 15(1): 71-4, 2001.
 27. Tsuchiya F, Ikeda K, Tsutsumi O, Hiroi H, Momoeda M, Taketani Y, Muramatsu M, and Inoue S: Molecular cloning and characterization of mouse EBAG9, homolog of a human cancer associated surface antigen: expression and regulation by estrogen. *Biochem Biophys Res Commun* 284(1): 2-10, 2001.
 28. Yoshino O, Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, Yano T, Fujii T, Kugu K, Momoeda M, Fujiwara T, Tomita K, and Taketani Y: Evidence for the expression of interleukin (IL)-18, IL-18 receptor and IL-18 binding protein in the human endometrium. *Mol Hum Reprod* 7(7): 649-54, 2001.
 29. Fujimoto A, Osuga Y, Fujiwara T, Yano T, Tsutsumi O, Momoeda M, Kugu K, Koga K, Morita Y, Wada O, and Taketani Y: Human chorionic gonadotropin combined with progesterone for luteal support improves pregnancy rate in patients with low late-midluteal estradiol levels in IVF cycles. *J Assist Reprod Genet* 19(12): 550-4, 2002.
 30. Fujita M, Ogawa S, Fukuoka H, Tsukui T, Nemoto N, Tsutsumi O, Ouchi Y, and Inoue S: Differential expression of secreted frizzled-related protein 4 in decidual cells during pregnancy. *J Mol Endocrinol* 28(3): 213-23, 2002.

31. Fujita M, Urano T, Horie K, Ikeda K, Tsukui T, Fukuoka H, Tsutsumi O, Ouchi Y, and Inoue S: Estrogen activates cyclin-dependent kinases 4 and 6 through induction of cyclin D in rat primary osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 299(2): 222-8, 2002.
32. Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, and Taketani Y: Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Hum Reprod* 17(11): 2839-41, 2002.
33. Kurosawa T, Hiroi H, Tsutsumi O, Ishikawa T, Osuga Y, Fujiwara T, Inoue S, Muramatsu M, Momoeda M, and Taketani Y: The activity of bisphenol A depends on both the estrogen receptor subtype and the cell type. *Endocr J* 49(4): 465-71, 2002.
34. Momoeda M, Taketani Y, Terakawa N, Hoshiai H, Tanaka K, Tsutsumi O, Osuga Y, Maruyama M, Harada T, Obata K, and Hayashi K: Is endometriosis really associated with pain? *Gynecol Obstet Invest* 54 Suppl 1(18-21; discussion 21-3, 2002.
35. Osuga Y, Koga K, Tsutsumi O, Yano T, Maruyama M, Kugu K, Momoeda M, and Taketani Y: Role of laparoscopy in the treatment of endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 53 Suppl 1(33-9, 2002.
36. Takeuchi T and Tsutsumi O: Serum bisphenol a concentrations showed gender differences, possibly linked to androgen levels. *Biochem Biophys Res Commun* 291(1): 76-8, 2002.
37. Tang X, Yano T, Osuga Y, Matsumi H, Yano N, Xu J, Wada O, Koga K, Kugu K, Tsutsumi O, Schally AV, and Taketani Y: Cellular mechanisms of growth inhibition of human epithelial ovarian cancer cell line by LH-releasing hormone antagonist Cetrorelix. *J Clin Endocrinol Metab* 87(8): 3721-7, 2002.
38. Xu J, Osuga Y, Yano T, Morita Y, Tang X, Fujiwara T, Takai Y, Matsumi H, Koga K, Taketani Y, and Tsutsumi O: Bisphenol A induces apoptosis and G2-to-M arrest of ovarian granulosa cells. *Biochem Biophys Res Commun* 292(2): 456-62, 2002.
39. Hirota Y, Osuga Y, Yoshino O, Koga K, Yano T, Hirata T, Nose E, Ayabe T, Namba A, Tsutsumi O, and Taketani Y: Possible roles of thrombin-induced activation of protease-activated receptor 1 in human luteinized granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88(8): 3952-7, 2003.
40. Koga K, Osuga Y, Yano T, Momoeda M, Yoshino O, Hirota Y, Kugu K, Nishii O, Tsutsumi O, and Taketani Y: Characteristic images of deeply infiltrating rectosigmoid endometriosis on transvaginal and transrectal ultrasonography. *Hum Reprod* 18(6): 1328-33, 2003.
41. Yoshino O, Osuga Y, Hirota Y, Koga K, Hirata T, Yano T, Ayabe T, Tsutsumi O,

- and Taketani Y: Endometrial stromal cells undergoing decidualization down-regulate their properties to produce proinflammatory cytokines in response to interleukin-1 beta via reduced p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylation. *J Clin Endocrinol Metab* 88(5): 2236-41, 2003.
42. Yoshino O, Osuga Y, Hirota Y, Koga K, Yano T, Tsutsumi O, and Taketani Y: Akt as a possible intracellular mediator for decidualization in human endometrial stromal cells. *Mol Hum Reprod* 9(5): 265-9, 2003.
 43. Yoshino O, Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Tsutsumi O, Yano T, Morita Y, Momoeda M, Fujiwara T, Kugu K, and Taketani Y: Concentrations of interferon-gamma-induced protein-10 (IP-10), an antiangiogenic substance, are decreased in peritoneal fluid of women with advanced endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 50(1): 60-5, 2003.
 44. Takai Y, Canning J, Perez GI, Pru JK, Schlezinger JJ, Sherr DH, Kolesnick RN, Yuan J, Flavell RA, Korsmeyer SJ, and Tilly JL: Bax, caspase-2, and caspase-3 are required for ovarian follicle loss caused by 4-vinylcyclohexene diepoxide exposure of female mice in vivo. *Endocrinology* 144(1): 69-74, 2003.
 45. Canning J, Takai Y, and Tilly JL: Evidence for genetic modifiers of ovarian follicular endowment and development from studies of five inbred mouse strains. *Endocrinology* 144(1): 9-12, 2003.

(2) 口頭発表 (内容が重複しているものは除く。国際学会発表を優先。)

招待、口頭講演 (国内 60 件、海外 4 件)

1. Osamu Tsutsumi : Endometriosis and Dioxins: What is the Connection? 8th World Congress of Endometriosis 2002年2月25日 San Diego, USA
2. Fujiwara T, Ji Ping Xu, Tomita K, Kugu K, Tsutsumi O, Taketani Y: Effect of Bisphenol-A on Mouse Follicle Development In Vitro. Endocrine Society Meeting 2000 2000年6月21日 Toronto, Canada
3. Yoshino O, Osuga Y, Hirota Y, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y : Concentration of interferon-induced protein (IP-10), an antiangiogenic substance, are decreased in peritoneal fluid of women with advanced endometriosis. 58th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine 2002年10月15日 Seattle, USA
4. Hirota Y, Osuga Y, Yoshino O, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y : The possible role of thrombin receptor on human granulosa cells. 58th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine 2002年10月16日 Seattle, USA

1. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 第 15 回更埴産婦人科医会学術講演会 2000 年 5 月 20 日 長野
2. 堤 治：環境ホルモン汚染と問題点 日本産科婦人科学会公開講座 2000 年 5 月 27 日 金沢
3. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 第 5 回環境ホルモン学会講演会 2000 年 6 月 7 日 東京
4. 堤 治：内分泌攪乱化学物質の問題点について 第 73 回日本内分泌学会 2000 年 6 月 16 日 京都
5. 堤 治：内分泌攪乱物質の問題点 山口県内分泌研究会 2000 年 6 月 30 日 山口
6. 堤 治：環境ホルモンと生殖機能 日産婦学会熊本地方部会第 174 回学術講演会 2000 年 7 月 1 日 熊本
7. 堤 治：環境ホルモンと生殖機能 茨城県内分泌研究会 2000 年 8 月 23 日 水戸
8. 堤 治：内分泌攪乱物質と生殖医療 第 3 3 回香川臨床内分泌研究会 2000 年 9 月 1 日 高松
9. 堤 治：特別講演「環境ホルモンとウーマンズ・ヘルス」 第 5 回和歌山ウーマンズ・ヘルス懇話会 2000 年 9 月 30 日 和歌山
10. 堤 治：「子宮内膜症とダイオキシン」JEMA ミレニアム日米子宮内膜症フォーラム 2000 年 10 月 4 日 東京
11. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 第 51 回南信医学会 2000 年 10 月 14 日 諏訪
12. 堤 治：特別講演「環境ホルモンと人類の未来」第 15 回三重母性衛生学会総会 2000 年 10 月 21 日 津
13. 堤 治：ランチョンセミナー「子宮内膜症の最近の話題」日本産科婦人科学会関東連合地方部会 2000 年 10 月 22 日 大宮
14. 堤 治：特別講演 内分泌攪乱物質と生殖機能 第 4 5 回日本不妊学会 2000 年 11 月 23 日 神戸
15. 堤 治：内分泌攪乱物質(環境ホルモン)と生殖内分泌学 第 19 回北陸合同内分泌・代謝談話会 2000 年 11 月 25 日 金沢
16. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 第 3 回日本環境ホルモン学会 2000 年 12 月 16 日 横浜
17. 堤 治：Low dose effects をめぐって 2000 年 12 月 18 日 第 3 回日本環境ホルモン学会 横浜
18. 堤 治：子宮内膜症の最近の話題? 環境ホルモンから GnRHa の新しい使い方までー エンドメトリオーシス研究会 ランチョンセミナー 2001 年 1 月 19 日 大阪
19. 堤 治：内分泌攪乱物質 科学技術財団内分泌攪乱物質研究報告会 2001 年 1 月 25 日 川口
20. 堤 治：内分泌攪乱化学物質と生殖医療 科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事

- 業(CREST)内分泌かく乱物質公開シンポジウム 2001年2月6日 福岡
21. 堤 治：環境ホルモンと人類の未来 江東・千葉西ブロック・江戸川区医師会産婦人科医会合同卒後研修会 2001年2月14日 東京
 22. Osamu Tsutsumi : Endometriosis and Dioxins: What is the Connecton? U.S-Japan International Workshop for Endocrine Disrupting Chemicals 2001年3月1日 筑波
 23. Osamu Tsutsumi : Effects of Endocrine disruptors on preimplantaion embryo development. Recent Progress in Endocrine Disruptor Research March 5th 2001 Oksazaki 2001年3月5日 岡崎
 24. 堤 治：環境ホルモンと母性？ 第回東京母性衛生学会総会 2001年6月3日 東京
 25. 堤 治：環境ホルモンと生殖 2001年6月9日 名古屋
 26. 堤 治：環境ホルモンと生殖 豊島区医師会 2001年6月20日 東京
 27. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 2001年7月8日 山形
 28. 堤 治：環境ホルモンと母性衛生．第19回東京母性衛生学会学術集会 2001年6月3日 東京
 29. 堤 治：子宮内膜症と最近の話題．茨城県医師会学術講演会 2001年7月28日 水戸
 30. Osamu Tsutsumi : Endocrine Disrupter and Reproductive Medicine . The Fourth Lilly International Symposium 2001年10月6日 舞浜
 31. 堤 治：内分泌攪乱物質(環境ホルモン)研究の最前線．第14回環境バイオテクノロジー学会シンポジウム 2001年10月9日 東京
 32. 堤 治：環境ホルモンと人類の未来．第102回日本産科婦人科学会関東連合地方部会学術集会 2001年10月21日 横浜
 33. 堤 治：環境汚染と生態系 新たなリスクと対策．第11回東京大学環境安全研究センターシンポジウム 2001年12月19日 東京
 34. 堤 治：内分泌攪乱物質とヒトの生殖機能．信州内分泌談話会(長野) 2002年3月16日
 35. 堤 治：環境ホルモンと生殖整理 第75回日本内分泌学会学術集会 サテライトシンポジウム 2002年6月29日 大阪
 36. 堤 治：環境ホルモンと人類の未来 第18回秋田母性衛生学会 2002年11月10日 秋田
 37. 堤 治：内分泌攪乱物質の次世代影響 第5回内分泌攪乱科学物質問題に関する国際シンポジウム 2002年11月26日 広島
 38. 堤 治：環境ホルモンと生殖医療 イムノアッセイ研究会 2002年12月15日 東京

39. 生月弓子、上里忠和、三輪晶子、民秋史子、西平正之、渡邊剛也、定月みゆき、合阪幸三、貝原学：母体血中および母乳中のダイオキシン濃度の相関に関する研究．日本産科婦人科学会総会 1999年4月 東京
40. 高井泰、堤 治：マウス初期胚の発育に及ぼす内分泌攪乱物質ビスフェノール A の影響．第 51 回日本産科婦人科学会総会 1999年4月13日 東京
41. 末永昭彦、太田綾子、堤 治、百枝幹雄、武谷雄二：マウス培養胚盤胞に及ぼす Cholesterol Sulfate の影響．第 17 回日本受精着床学会 1999年7月9日 熊本
42. 生月弓子、高井泰、末永昭彦、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、武谷雄二、森田昌敏、遠山千春、米元純三、橋本俊次、堤 治：ヒト卵胞液中ダイオキシン類の検出と子宮内膜症の有無による差異の検討．第 17 回日本受精着床学会 1999年7月9日 熊本
43. 高井泰、堤 治、生月弓子、末永昭彦、五十嵐敏雄、岡垣竜吾、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、橋本俊次、米元純三、遠山千春、森田昌敏、武谷雄二：ヒト脂肪組織中ダイオキシン類の検出と子宮内膜症の重症度による差異の検討．第 44 回日本不妊学会 1999年11月11日 東京
44. 廣井久彦、堤治、百枝幹雄、黒澤貴子、高井泰、武谷雄二：子宮内膜癌細胞株 Hec におけるビスフェノール A のエストロゲン受容体、 を介した内分泌攪乱作用について．第 44 回日本不妊学会 1999年11月11日 東京
45. 五十嵐敏雄、大須賀穰、堤 治、百枝幹雄、安藤佳代、松見泰宇、廣井久彦、高井泰、岡垣竜吾、藤原敏博、矢野哲、武谷雄二：子宮内膜症の有無とヒト子宮内膜における Ah receptor 及び dioxin 関連遺伝子の発現．第 44 回日本不妊学会 1999年11月11日 東京
46. 高井泰、堤 治、生月弓子、森田豊、大須賀穰、亀井良政、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、武谷雄二：内分泌攪乱物質ビスフェノール A がマウス初期胚の発生・発育・生殖能に及ぼす影響の検討．第 52 回日本産科婦人科学会学術講演会．2000年4月1日-4日 徳島
47. 廣井久彦、百枝幹雄、黒澤貴子、堤治、武谷雄二；エストロゲン受容体 および を介した clomiphene citrate (CC) の作用の検討．第 52 回日本産科婦人科学会 2000年4月3日 徳島
48. 黒澤貴子、廣井久彦、百枝幹雄、堤治、武谷雄二；各種組織由来細胞株におけるビスフェノール A (BPA) のエストロゲン agonist/antagonist 作用の比較．第 52 回日本産

科婦人科学会 2000年4月4日 徳島

49. 佐藤昌子、池田和博、折茂彰、土屋富士子、百枝幹雄、堤 治、武谷雄二、村松正実、井上聡：エストロゲン応答遺伝子 EBAG9 の上流解析．第 73 回日本内分泌学会学術総会．2000年6月18日 京都
50. 生月弓子、堤 治、高井泰、小笠原綾子、末永昭彦、大須賀穰、亀井良政、藤原敏博、百枝幹雄、久具宏司、矢野哲、武谷雄二：ヒト卵胞液からの内分泌攪乱物質ビスフェノール A の検出．第 18 回日本受精着床学会学術講演会 2000年7月6日 岡崎
51. 高井泰：内分泌攪乱物質と生殖．第 5 回東京生殖医療懇談会．2000年11月28日 東京
52. 高井泰、堤 治、生月弓子、森田豊、大須賀穰、亀井良政、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、武谷雄二：内分泌攪乱物質ビスフェノール A 着床前被曝の胚発生及び出生後発育への影響．第 3 回日本内分泌攪乱物質学会．2000年12月15-16日 横浜
53. 高井泰：生殖医学と内分泌攪乱物質．第 5 回日研シンポジウム．2001年2月10日 名古屋
54. 高井泰、生月弓子、武谷雄二、遠山千春、米元純三、橋本俊次、堤 治：不妊症男性患者における血中ダイオキシン濃度と精液濃度との相関・不妊症との関連性についての検討．日伊共同研究発表会 2001年1月14日 ミラノ
55. 甲賀かをり、高井泰、生月弓子、武谷雄二、遠山千春、米元純三、堤 治：ヒト卵胞液中ダイオキシン類の検出と子宮内膜症の有無による差異の検討．日伊共同研究発表会 2001年1月14日 ミラノ
56. 生月弓子、堤 治、高井泰、池下久弥、亀井良政、加藤賢朗、久具宏司、藤井知行、矢野哲、武谷雄二：内分泌攪乱物質ビスフェノール A の母子環境汚染の定量的評価．第 53 回日本産科婦人科学会 2001年5月14日 札幌
57. 黒澤貴子、廣井久彦、前 和幸、百枝幹雄、堤 治、武谷雄二：ラット子宮における細胞内シグナル伝達蛋白 14-3-3 protein のプロゲステロンによる発現誘導．第 54 回日本産科婦人科学会学術講演会 2002年4月8日 東京
58. 前 和幸、廣井久彦、百枝幹雄、黒澤貴子、堤 治、武谷雄二：骨特異的転写因子 OSF2 の子宮における存在とそのステロイドホルモンによる発現調節．第 54 回日本産科婦人科学会学術講演会 2002年4月8日 東京
59. 竹内 亨、堤 治、越野哲郎、生月弓子、高井 泰、武谷雄二： 内分泌攪乱物質ビスフェノール A のヒト血中濃度の測定および排卵障害との関連性についての検討．第 54 回日本産科婦人科学会学術講演会 2002年4月8日 東京
60. 高井泰：卵巣・卵子での apoptosis における内分泌攪乱物質の関与．第 47 回日本不妊学会シンポジウム 2002年10月3-4日 岐阜

ポスター発表 (国内 14 件、海外 14 件)

1. Y Takai, O Tsutsumi, H Uechi, H Sone, J Yonemoto, M Momoeda, C Tohyama, S Hashimoto, M Morita, Y Taketani: Presence of dioxin in human follicular fluid: their possible stage-specific action on the development of preimplantation mouse embryos. 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs-Dioxin99 1999年9月13日 Venice, Italy
2. Y Ikezuki, O Tsutsumi, Y Takai, M Momoeda, M Ono, Y Taketani: Breast-fed infants possibly exposed to dioxins in milk, compared to formula-fed infants, have unexpectedly lower incidence of endometriosis in later adult life. 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs-Dioxin99 1999年9月13日 Venice, Italy
3. Takai Y, Couse JF, Korach KS, Tilly JL: Estrogen Receptor- α Deficiency Accelerates Ovarian Primordial Follicle Growth Activation. The 84th Annual Meeting of The Endocrine Society 2000年6月18日 San-Francisco, California, USA
4. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, Yano T, Taketani Y: Estrogen Receptor-mediated Effects of a Xenoestrogen, Bisphenol A, on Development of Preimplantation Mouse Embryos. 20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN2000. 2000年8月14-17日 Monterey, USA
5. Ikezuki Y, Tsutsumi O, Kamei Y, Morita Y, Osuga Y, Fujiwara T, Momoeda M, Fujii T, Yano T, Taketani Y: Evaluation of Dioxin Contamination in Maternal and Fetal Serum to Study Fetomaternal Dynamics of Environmental Endocrine Disruptors. 20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN2000. 2000年8月13-18日 Monterey, USA
6. Tsuchiya F: Molecular cloning and characterization of mouse EBAG9, a homolog of human cancer associated surface antigen RCASa; expression and regulation by estrogen. American Association for Cancer Research 92nd Annual Meeting 2001年3月25日 New Orleans, USA
7. K Koga, Y Osuga, O Tsutsumi, T Yano, O Yoshino, Y Takai, H Matsumi, H Hiroi, K Kugu, M Momoeda, T Fujiwara and Y Taketani: Demonstration of Angiogenin in Human Endometrium and its Enhanced Expression in Endometrial Tissues at the Secretory Phase and the Decidua. The 83rd Annual Meeting of The Endocrine Society 2001年6月21日 Denver, USA

8. Hisahiko Hiroi, Mikio Momoeda, Takako Kurosawa, Toshihiro Fujiwara, Yutaka Osuga, Osamu Tsutsumi and Yuji Taketani : Evidence for the expression of alcohol dehydrogenase in rat uterus and its upregulation by progesterone . The 83rd Annual Meeting of The Endocrine Society 2001年6月22日 Denver,USA
 9. Kaori Koga, Yutaka Osuga, Osamu Tsutsumi, Yuji Taketani : Interleukin(IL)-16 in peritoneal fluid from women with endometriosis . World Congress of Endometriosis 2002年2月25日 San Diego,USA
 10. Yutaka Osuga, Kaori Koga, Osamu Tsutsumi, Yuji Taketani : Recurrence of ovarian endometrioma after laparoscopic excision . World Congress of Endometriosis 2002年2月25日 San Diego,USA
 11. Koga K, Osuga Y, Yano T, Kugu K, Tsutsumi O, Taketani Y : Expression of angiogenin in peritubular myoid cells of the human testis . The 84th Annual Meeting of The Endocrine Society 2002年6月20日 San-Francisco,California,USA
 12. Kurosawa T, Hiroi H, Momoeda M, Mae K, Fujiwara T, Osuga Y, Tsutsumi O and Taketani Y : Expression of 14-3-3 protein in rat uterus induced by Progesterone . The 84th Annual Meeting of The Endocrine Society 2002年6月20日 San-Francisco,California,USA
 13. Takai Y, Datta SR, Sturgill JF, Greenberg ME, Tilly JL : Aberrant female reproductive function of phosphorylation site-mutated BAD knock-in mice. Keystone Symposia Feb 8-13 2003. Banff, Canada
 14. Takai Y, Matikainen T, Flavell R, Yuan J, Tilly JL, Perez GI : Characterization of oocyte death in caspase-2/caspase-3 double mutant mice. Keystone Symposia Feb 8-13 2003. Banff, Canada
-
1. 生月弓子、高井泰、末永昭彦、五十嵐敏雄、岡垣竜吾、藤原敏博、大須賀穰、百枝幹雄、武谷雄二、米元純三、遠山千春、森田昌敏、堤 治 : 男性不妊患者における血中ダイオキシン類濃度および各種パラメーターの検討 . 第44回日本不妊学会 1999年11月 東京
 2. 黒澤貴子、廣井久彦、百枝幹雄、堤 治、武谷雄二 : 各種組織由来細胞株におけるビスフェノールA(BPA)のエストロゲン(E)agonist/antagonist 作用の比較 . 日本内分泌攪乱化学物質学会 1999年12月9-10日 神戸
 3. 生月弓子、堤 治、亀井良政、森田豊、高井泰、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、藤井知行、矢野哲、武谷雄二 : ダイオキシン類の母児間の動態に関する検討 . 第52回日本産科婦人科学会 2000年4月4日 徳島

4. 許 継平、堤 治、松見泰宇、森田豊、大須賀穰、廣井久彦、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、武谷雄二：卵巣顆粒膜細胞の細胞増殖及びステロイド産生に与えるビスフェノール A (BPA) の影響 . 第 52 回日本産科婦人科学会 2000 年 4 月 4 日 徳島
5. 生月弓子、堤 治、亀井良政、森田豊、高井泰、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、藤井知行、矢野哲、武谷雄二：ダイオキシン類の母児間の動態に関する検討 . 第 73 回日本内分泌学会学術総会 . 2000 年 6 月 18 日 京都
6. 生月弓子、堤 治、加藤賢朗、高井泰、亀井良政、藤原敏博、久具宏司、藤井知行、矢野哲、武谷雄二：母体血、臍帯血、羊水からの内分泌攪乱物質ビスフェノール A の検出 - 母児間における相関の検討 - 第 36 回日本新生児学会総会 2000 年 7 月 16-18 日 東京
7. 生月弓子、堤 治、高井泰、末永昭彦、小笠原綾子、藤原敏博、大須賀穰、亀井良政、百枝幹雄、久具宏司、矢野哲、武谷雄二：ヒト卵胞液からの内分泌攪乱物質ビスフェノール A の検出 第 3 回日本内分泌攪乱物質学会 . 2000 年 12 月 15 - 16 日 横浜
8. 廣井久彦、百枝幹雄、黒澤貴子、堤 治、武谷雄二：Progesteron upregulates expression of alcohol dehydrogenase , a sunthetic enzyme of retinoic acid . 第 53 回日本産科婦人科学会 2001 年 5 月 14 日 札幌
9. 廣井久彦、百枝幹雄、前 和幸、黒澤貴子、高井泰、藤原敏博、堤 治、武谷雄二：Neonatal exposure to bisphenol A affects the expression of genes in adult rat testis . 第 54 回日本産科婦人科学会学術講演会 2002 年 4 月 8 日 東京
10. 竹内 亨,堤 治,中村直仁,生月弓子,高井 泰,武谷雄二:ビスフェノール A (BPA) のヒトへの汚染状況とその体内動態に関する解析 . JST,CREST「内分泌かく乱物質」第 4 回領域シンポジウム 2003 年 10 月 21-22 日 東京
11. 高井 泰,生月弓子,亀井良政,竹内 亨,武谷雄二,堤 治:母児の内分泌攪乱物質に対する曝露状況と母児相関 . JST,CREST「内分泌かく乱物質」第 4 回領域シンポジウム 2003 年 10 月 21-22 日 東京
12. 中村直仁,鈴木芳枝,竹内 亨,高井 泰,武谷雄二,堤 治:内分泌攪乱物質の胎児への影響について .JST,CREST「内分泌かく乱物質」第 4 回領域シンポジウム 2003 年 10 月 21-22 日 東京
13. 原田美由紀,大須賀穰,吉野 修,広田 泰,平田哲也,森本千恵子,甲賀かをり,矢野哲,武谷雄二,堤 治:マウス子宮内膜症モデルにおける Bisphenol A (BPA) の効果 .JST,CREST「内分泌かく乱物質」第 4 回領域シンポジウム 2003 年 10 月 21-22 日 東京
14. 許 継平,堤 治,大須賀 穰,湯 暁暉,矢野 哲,武谷雄二:ビスフェノール A の卵巣顆粒膜細胞におけるアポトーシスの誘導作用 .JST,CREST「内分泌かく乱物質」第 4 回領域シンポジウム 2003 年 10 月 21-22 日 東京

プレス発表

特になし。

(3)特許出願（国内 0件、海外 0件）

特になし。

(4)新聞報道等

新聞報道

平成11年4月11日付：岩手日報

「ダイオキシン 精子に蓄積か 受精への影響、調査必要」

平成11年4月11日付：東都新報

「ダイオキシン 精子に蓄積か」

平成11年4月11日付：産経新聞

「ダイオキシン、精子に蓄積」

平成11年4月11日付：宮崎日々新聞

「ダイオキシン精子に蓄積か、精液濃度測定で判明」

平成11年4月11日付：北日本新聞

「精子にダイオキシン蓄積 精液の濃度測定で判明」

平成11年4月11日付：東京新聞

「ダイオキシン、精子に蓄積？ 受精卵への影響懸念」

平成11年4月11日付：信濃毎日新聞

「ダイオキシン精子に蓄積か 精液の濃度測定」

平成11年4月11日付：茨城新聞

「ダイオキシン精子に蓄積か 精液の濃度測定で判明」

平成11年4月15日付：読売新聞

「精子に蓄積ダイオキシン 受精卵調査も必要」

平成11年4月17日付：日本経済新聞

「子宮内膜症患者の脂肪中 ダイオキシン量多く」

平成11年6月14日号：朝日新聞 WEEKLY AERA

「環境ホルモン 化学物質の汚染は精子や卵子に及んでいる。人間の生殖機能は大丈夫なのか。」

平成11年6月17日付：毎日新聞

「初期胚の発育に影響 缶などから溶出...ビスフェノールA、ごく低濃度でも」

平成11年8月13日号：週刊朝日

「女性の病気シリーズ 子宮内膜症 ダイオキシンが患者増に影響か、十三万人が治療中」

平成 11 年 11 月 10 日付：読売新聞

「子宮内膜症や乏精子症 体内に高濃度ダイオキシン」

平成 11 年 12 月 27 日号：朝日新聞 WEEKLY AERA

「2000 年日本のキーパーソン 50 人」 ダイオキシン研究が注目されるとの記事

平成 12 年 6 月 21 日付：環境新聞

「母乳が環境ホルモンによる影響修復か 低濃度効果を確認」

平成 12 年 7 月 15 日付：読売新聞

「妊婦の羊水に環境ホルモン 胎児、直接汚染の恐れ」

平成 12 年 10 月 21 日付：読売新聞（夕刊一面）

「環境ホルモン ごく微量で妊娠初期に影響 普通の体内濃度より低くても」

平成 12 年 11 月 14 日付：毎日新聞（夕刊）

「ビスフェノール A 人の卵巣にも存在 環境ホルモン深刻」

平成 12 年 11 月 14 日付：産経新聞（夕刊）

「人の卵巣から環境ホルモン」

平成 12 年 12 月 15 日付：読売新聞（夕刊）

「環境ホルモン 妊娠前期、羊水で濃縮 母体の 5 倍超に」

平成 12 年 12 月 26 日付：読売新聞（夕刊）

「環境ホルモン国際シンポ 低濃度作用巡り論争 ビスフェノール A」

平成 13 年 9 月 19 日付：読売新聞

「ダイオキシン羊水から検出」

平成 13 年 12 月 7 日付：科学新聞

「環境ホルモンの影響 正しく評価、実態把握へ - 科学技術振興事業団戦略基礎研究推進事業」

平成 14 年 3 月 9 日付：読売新聞（夕刊）

「環境ホルモン 蓄積量、男性は女性の倍以上」

平成 14 年 7 月 6 日付：読売新聞（夕刊）

「ビスフェノール A の影響 卵子受精不能も」

受賞

その他

1. 堤 治：新版・生殖医療のすべて 丸善ライブラリー 2002

(5)その他特記事項

特になし。

7. 結び

二十世紀の科学文明は人類に繁栄をもたらすと同時に、地球環境の汚染という大きな問題を生じた。その中で内分泌かく乱物質（環境ホルモン）は野生動物の生殖異常を引き起こしていると考えられ、ヒトでも生殖機能を始め健康影響が注目されはじめていた。そこで我々は、各種内分泌かく乱物質のヒト特に生殖器官への汚染の程度を、疾患との関連で評価しようとするを第一の目標で研究を開始した。ヒト卵胞液、胎児血、羊水等からの様々な内分泌かく乱物質が検出されたことは、生殖器官への汚染、胎児への汚染を定量的に明らかにしたという点では目標を達成したいえる。これは同時に、現代のヒトにおける子宮内膜症を初めとするエストロゲン依存性疾患や不妊症との関連でさらに研究を展開する必要がある。

本研究では生殖医学で用いる様々な実験モデルを内分泌かく乱物質の解析に応用することが目標であった。マウス胚の体外培養系で各種濃度の内分泌かく乱物質を添加し、初期胚発育への影響を検討するモデルはビスフェノールA等で低用量作用を検出し、成果の一つと考える。さらに初期胚・胎児被曝で得られる胎児や出生児において発育、発達で次世代影響を検出したことも意義があり、今後の分子レベルでの検討が期待される。内分泌かく乱物質のエストロゲン受容体、それぞれを介したエストロゲン作用の発現様式の解析や性分化に関連した遺伝子発現への影響等分子レベルの分析もおこなって成果を得た。

本研究の特色は内分泌かく乱物質の生殖機能へ影響をヒト臨床材料による評価、初期胚に対する作用の臨界点、内分泌かく乱作用の分子機作等の面から総合的に明らかにすることであり、ヒトへの健康影響という国民全体の不安に具体的に解答することを狙いとした。内分泌かく乱物質のヒトへの汚染は定量的に明らかにできたが、健康影響特に男女の生殖機能や胎児被曝の次世代への影響の有無は未だ不明で、そのリスク評価法や作用メカニズム究明を早急に展開する必要がある。この問題は未解明な部分が多いが、ホルモン作用メカニズムに新知見をもたらしたり、新たな疾患の理解や創薬の手掛かりとなるに可能性も秘め、人類の未来にとって重要なことであるといえる。