

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名

植物由来及び人工内分泌攪乱物質の相互作用

### 2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名（研究機関名・職名は研究参加期間終了時点）

研究代表者 香山 不二雄 自治医科大学 保健科学講座 教授

主たる研究参加者 山田 耕路 九州大学 大学院生物資源環境科学研究科 教授

〃 山下 優毅 産業医科大学 免疫学教室 教授

〃 平野 靖史郎 国立環境研究所 主任研究官

〃 古賀 実 熊本県立大学 環境共生学部 教授

(平成14年4月～)

〃 澤田石 一之 関西新技術研究所 主任研究員

(～平成12年3月)

### 3. 研究内容及び成果：

内分泌かく乱物質（ED）の健康リスク評価を行う場合には食品中に、さらに動物実験の場合には用いられる飼料中に含まれる植物エストロゲンの存在を無視する事は出来ない。大豆食品摂取量の多い日本人にとっては特に重要な問題であるが、科学的知見が決定的に欠けているのが現状である。人工化学物質と植物エストロゲン間の、作用の量的・質的な差異の有無、作用機構の差異の有無、両者間の相互作用による量的・質的变化の有無を確認する事が必須と考えられる。

これらの背景から、本研究では植物由来及び人工エストロゲン様物質の作用・作用機構の差異を、①分子・細胞・臓器・個体レベルで明らかにする、②疫学調査を通じて集団レベルで検討する、事を目標とした。

本研究の成果概要は以下の通りである。

#### (1) 植物エストロゲンの作用機構の解明（香山グループ）

大豆原料のミルク（soy formula）がマウスに胸腺萎縮を引起す事から、欧米では乳幼児にsoy formula を与える事の是非が論じられている。Genistein（アグリコン）、Genistin（配糖体）の作用を検討し、アグリコンでは顕著な胸腺萎縮が認められるが、配糖体では影響が無い事を明らかにした。従来の研究はアグリコンを用いたものであり、配糖体を用いた再評価が必要である事を示唆しているものと考えられる。

大豆やアルファルファにエストロゲン（E2）様作用が報告されていることから、野菜・果実類の受容体（ER）依存的転写活性化能を評価した。97種の豆・野菜・果実中18種（大豆、黒豆、あしたば、インゲンマメ、エダマメ、サヤエンドウ、菊の花、山東菜、青シソ、ターサイ、黄ニラ、モヤシ、アボガド、ザクロ、山椒、オオバコ、ドクダミ、ホップ）にE2様活性が認められる事を明らかにした。ER $\alpha$ 、 $\beta$ に対する特異性は認められなかった。

植物由来生理活性物質についてER活性化能を検討し、Ferutinine とTschimgineはER $\alpha$ 、 $\beta$ を活性化し、TschimganidineはER $\alpha$ のみを活性化する事、FerutinineはER $\beta$ 特異的に抗

E2活性を示す事を明らかにした。Ferutinineが結合したER $\beta$ は、転写共役因子複合体TRAP 220との相互作用能を喪失する事が明らかになった。FerutinineはER $\alpha$ を介してE2作用を示すと共に、ER $\beta$ を介して抗E2作用を示す事が示唆された。

ラット子宮組織において、mRNA分解制御に係るRNA結合蛋白、AUF1遺伝子発現がE2依存的に増加する事を明らかにした。AUF1標的 mRNAには、ポリ (A) 付加シグナル近傍にAUUUA配列を持つという共通性が見出された。mRNA分解制御は、制御因子AUF1の核-細胞質間シャトリングに基づくものである事を明らかにした。

E2及び植物エストロゲンのクメステロールが、子宮においてRamp2及びアドレノメジュリン遺伝子の発現を誘導する事を明らかにした。アドレノメジュリン・シグナルはE2の下流に位置し、E2の子宮内膜肥大作用を媒介する事が示唆された。

E2投与により子宮で発現の低下する遺伝子として、DRE1(down regulation of mRNA by estrogen)と命名した遺伝子を単離した。アクチン結合蛋白の特徴を有しており、雄雌とも肺、心臓、精巣/卵巣で高い発現が認められた。また、E2によるDRE1発現低下は、ERを介している事が確認された。

E2は造血ホルモンであるエリスロポエチン (EP0) の産生を抑制する事を明らかにした。妊娠期間中に観察される「生理的貧血」には、E2によるEP0産生抑制が関与している可能性が示唆された。

## (2) 疫学調査 (香山及び古賀グループ)

全国5地区で、50歳から70歳台の農村地域主婦1,408名を対象に、植物エストロゲン、有機塩素系農薬、ダイオキシン、カドミウムの血中濃度と骨密度・骨代謝マーカーとの関連を調査した。ダイオキシン濃度は年齢と共に上昇する傾向を示し、魚介類の摂取量と弱い正の相関を示した。イソフラボン摂取量と骨密度・骨代謝マーカーの間には、閉経前では相関が見られなかったが、閉経後では弱い相関が認められた。食品摂取においては、納豆摂取量と骨密度に有意な相関が認められた。

## (3) イソフラボン定量法の確立 (山田グループ)

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) とクーロアレ型電気化学検出器を組合せた定量法を確立した。

大豆イソフラボンとその代謝体のみならず、それらの配糖体を同時に定量できる事を確認した。大豆イソフラボンは、血清中では主として抱合体として、各種組織中では遊離体として存在する事を明らかにした。

Daidzein(Dai)及びGenistein(Gen)が低濃度領域ではマウス脾臓リンパ球のIgE産生を抑制し、高濃度領域では促進する事、IgM産生ではDaiが促進傾向を示すのに対し、Genは抑制傾向を示す事を明らかにした。

マクロファージ等の接着細胞を介して、リンパ球のインターフェロン (IFN)  $\gamma$  産生を抑制する事で抗体産生を制御している事が示唆された。

## (4) 内分泌かく乱物質の免疫系への影響 (山下グループ)

ビスフェノールA (BPA) 等のEDは、T細胞、B細胞両者の増殖を亢進し、T細胞からの

サイトカイン産生、B細胞からの抗体産生を促進する事を明らかにした。マウス胸腺細胞の増殖、マクロファージのサイトカイン産生の促進も認められた。EDが免疫系にも影響し、アレルギーや自己免疫疾患発症に何らかの作用を及ぼしている可能性が示唆された。

#### (5) 植物エストロゲンの骨芽細胞に対する影響評価 (平野グループ)

骨粗鬆症の治療にE2投与が行われているが、乳癌・子宮癌罹患のリスクを高める事が問題となっている。西欧女性に比べ日本女性の骨粗鬆症罹患率が低いのは、植物エストロゲンを摂取している事が理由の一つであると言われている。植物エストロゲンは骨形成を促進するが、BPA等も骨芽細胞の分化を促進し、石灰化を引起す事を明らかにした。E2は骨吸収を抑制するが、クメステロール等の植物エストロゲンも破骨細胞の分化を抑制し、骨吸収を抑制する事を明らかにした。

### 4. 事後評価結果

#### 4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

農村地域主婦人体中ダイオキシン濃度と有機塩素系農薬汚染に相関が見られない事、イソフラボン配糖体とアグリコン体とでは作用が異なる事等、個別的には興味深い結果が得られている。植物エストロゲンに関する研究自体は、大豆製品を多量に消費している我国においては食生活との関係において重要であり、類似研究が世界的にも殆ど行われていない事から、その成果に大きな期待を寄せていた。しかし、アグリコン体の意義に注目した功績は少なくないものの、研究戦略に明晰さを欠き、研究成果は断片的で、インパクトに欠けるものであったと言わざるを得ない。

本研究の目玉として大きな期待を寄せていた、植物エストロゲンと人工物質との相互作用に関しては殆ど手付かずの状況と言っても過言ではない。また、植物エストロゲンと人工物質の作用の差異の有無に関しても、データは断片的で、全体構想との関係を適切に把握した上で実施されたものとは言い難い。得られた成果は断片的で掘り下げが不足しており、類似研究を凌ぐレベルにはなく、残念ながら目標とする研究課題の達成に繋がる可能性が高いとは言えない。

学会発表(国内51件、国際学会21件)は比較的活発に行われたが、論文発表は国内11報、海外17報と少なく、物足りない結果である。

#### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

「植物由来及び人工エストロゲン様物質の作用・作用機構の差異、相互作用の有無を分子・細胞・臓器・集団レベルで解析する」という構想自体は極めて意欲的で興味深くかつ重要なものであるが、実際の研究成果はそのような大きな構想に対する答えを与える状況になってはいない。新たな植物エストロゲンの探索と作用機構の解析、疫学調査等で個別的に興味深い成果も挙がっているが、全体的に見れば、断片的成果の集積に終わっている。本研究の場合には、個別の植物・人工エストロゲン様物質に関する個々のデータではなく、植物及び人工エストロゲン様物質の各々の全体像の把握と、それらへの

対処法に関する洞察に焦点を当てるべきであったと考えるが、残念ながら、その視点が最も欠けた結果であると言わざるを得ない。

ただし、疫学調査や植物エストロゲンに関する研究等、重要ではあるが比較的地味で長い時間（疫学研究では数年以上）が必要な研究をCRESTの中でどのように位置付けるかは難しい問題と思われる。科学の最先端を切り開く研究ではなく、社会的必要性・重要性が焦点となる研究に付いては、研究成果の全体像を纏める際に、社会的要請に対する明確なメッセージを提示する事が必要であろう。

#### 4－3．その他の特記事項（受賞歴など）

本研究期間中に、池田氏が埼玉医科大学ゲノム研究センター助手に就任した。

チーム主催国際シンポジウムを2回開催した。