

5. エストロゲン α 、 β 受容体の遺伝子操作での所見

表1にER α 欠失(ERKO)及びER β 欠失(BERKO)マウスの主な表現型を示した (Endocrine Rev. 20:358-417, 1999)。

ERKOは1.8kbのNeo遺伝子をER α 遺伝子のexon2に導入したものであり、同じく1.8kbのNeo遺伝子をER β 遺伝子のexon3に入れたものがBERKOマウスである。ER α 、ER β の発現をRT-PCRで観察すると、ER α は、卵巢、子宮、乳腺、下垂体、肝、皮膚、筋肉、精巣、副精巣に強発現し、卵管、視床下部、心、血管、肺、腎などに中～弱発現している。一方、ER β は、副精巣で強発現する以外は、子宮、視床下部、副腎皮質、肺、精巣、前立腺で少量発現している。

ERKOで最も注目された現象は、ホモ欠失マウスが生まれてきたということである。E₂が性の分化、脳をはじめ各臓器の機能的な分化に重要な役割を果たしていることを考えると、ERKOマウスでは胎児や新生児の致死が想定されたが、結果は野生型と同じくほとんど正常に生まれ、生育する事が観察された。また、ERKOマウスは、性腺でのステロイドの合成能を有していた。

雌性生殖器：子宮重量はERKOで減、BERKOで軽度減、子宮内腔、膈上皮いずれもERKOで高度の増殖低下、BERKOでは軽度低下。卵巢では、ERKOで黄体の欠如と出血卵胞がみられる特徴がある。BERKOではこれらの変化はみられないが成熟卵胞からの排卵障害がみられ、リッターサイズが低下する。血中のE₂やtestosterone値は、ERKOマウスで野生型に比べ、雌では高度に、雄では軽度に上昇している。

乳腺：乳腺の原基は新生児期に既に配置されているが、その増殖・分化の発達は思春期前後に種々のホルモンの影響下で開始される。ERKOマウス乳腺は、その思春期前後に達しても新生児期のままの乳腺の構造を保っている。即ち、性成熟に伴う発育・分化・増殖という状態を欠いている。このことは、ER α の欠如に伴い、その下流にある種々の増殖関連遺伝子の活化が起こらない結果として考えられる。BERKOマウスでは、ほぼ正常の乳腺分化を示すことが報告されている。

Wnt-1マウスモデルを用いた乳癌発生におけるER α の役割 (Cancer Res 1999, 59:1869-76) : Wnt-1マウスはMMTV-Wnt-1トランスジェニックマウスの略で、高率に乳癌を発生するモデルとして知られている。即ち、雌では1年以内に100%、雄でも15%に乳癌或いは乳腺の過形成が自然発生する。このWnt-1マウスの野生型とERKOのマウスを交配し、ER α を欠いたマウスに於けるWnt-1遺伝子の影響を検討した。ER α を欠いたマウスでは乳癌の発生が高度に遅れて発生することが明らかとなった。このことは、Wnt-1による乳癌発生にはER α は不要であるが、発生母地のサイズあるいは発がん促進過程にER α が関与していることを示唆している。

6. E₂により誘導される増殖因子

E₂により誘導、増幅される遺伝子群にはc-fos, c-jun, c-mycなどが、核内に分布する増殖因子として、また、EGF、IGFなどが膜結合型増殖因子として知られている。臓器特異的なものとしては、下垂体のpit-1/GHF-1、プロラクチ

ン、オキシトシン、等があり、また、乳腺、前立腺などでも特有の増殖因子が挙げられている（表2）。

7. 考察と結論

E₂の生体への作用は以上の如く、受容体を介するシステムと受容体を介さないシステムの二大メカニズムが明らかにされている。これらの系を通じてエストロゲン及びエストロゲン様化学物質は生体に対し種々の作用を発揮する事も分子生物学や生物学の発展で明らかとなった。そして、生体側からみると、その作用は理論的には、生理的作用、あるいは可逆的な作用の範囲に収まるものと、生体に有害効果を起こす場合とに分けることが出来る。この両者は用量の立場からは連続した事象であることが想定され、その境界を明確に示すことは、現在のところ困難である。

参考文献

1. Assessment of potential risks to human health from hormone residues in bouine meat and meat products. Opinion of The Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health, 30 April. 1999.
2. ホルモンの分子生物学 序説. 日本比較内分泌学会編, 学会出版センター, 1996.
3. Bocchinfuso WP and Korach KS: Mammary gland development and tumorigenesis in estrogen receptor knockout mice. *J Mammary Gland Biology Neoplasia* 2, 323-334, 1997.
4. Bocchinfuso WP, Hively WP, Couse JF, Varmus HE and Korach KS: A mouse mammary tumor virus-Wnt-1 transgene induced mammary gland hyperplasia and tumorigenesis in mice lacking estrogen receptor- α . *Cancer Res* 59, 1869-1876, 1999.
5. Couse JF, Lindzey J, Grandien K, Gustafsson J-A and Korach KS: Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor- α (ER α) and estrogen receptor- β (ER β) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ER α -knockout mouse. *Endocrinology* 138: 4613-4621, 1997.
6. Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice; what have we learned and where will they lead us? *Endocrine Review* 20, 358-417, 1999.
7. Curtis SW, Washburn T, Sewall C, DiAugustine R, Lindzey J, Couse JF and Korach KS: Physiological coupling of growth factor and steroid receptor signaling pathways: Estrogen receptor knockout mice lack estrogen-like response to epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 93, 12626-12630, 1996.
8. Das SK, Taylor JA, Korach KS, Paria BC, Dey SK and Lubahn DB: Estrogenic responses in estrogen receptor- α deficient mice reveal a distinct estrogen signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 12786-

- 12791, 1997.
9. Eddy EM, Washburn TF, Bunch DO, Goulding EH, Gladen BC, Lubahn DB and Korach KS: Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology* 137, 4796-4805, 1996.
 10. Hanstein B, Liu H, Yancisin MC and Brown M: Functional analysis of a novel estrogen receptor- β isoform. *Molecular Endocrinology* 13, 129-137, 1999.
 11. Iafrati MD, Karas RH, Aronovitz M, Kim S, Sullivan TR, Lubahn DB, O'Donnell TF Jr., Korach KS and Mendelsohn ME: Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor α -deficient mice. *Nature Medicine* 3, 545-548, 1997.
 12. Gu Q, Korach KS and Moss RL: Rapid action of 17 β -estradiol on kainate-induced currents in hippocampal neurons lacking intracellular estrogen receptors. *Endocrinology* 140, 660-666, 1999.
 13. Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS and Smithies O: Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 11162-11166, 1993.
 14. Ogawa S, Lubahn DB, Korach KS and Pfaff DW: Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 1476-1481, 1997.
 15. Ogawa S, Eng V, Taylor J, Lubahn DB, Korach KS and Pfaff DW: Roles of estrogen receptor- α gene expression in reproduction-related behaviors in female mice. *Endocrinology* 139, 5070-5081, 1998.
 16. Rissman EF, Early AH, Taylor JA, Korach KS and Lubahn DB: Estrogen receptors are essential for female sexual receptivity. *Endocrinology* 138, 507-510, 1997.
 17. Schomberg DW, Couse JF, Mukherjee A, Lubahn DB, Sar M, Mayo KE and Korach KS: Targeted disruption of the estrogen receptor- α gene in female mice: Characterization of ovarian responses and phenotype in the adult. *Endocrinology* 140, 2733-2744, 1999.
 18. Schreihof DA, Resnick EM, Soh AY and Shupnik MA: Transcriptional regulation by a naturally occurring truncated rat estrogen receptor (ER), truncated ER product-1 (TERP-1). *Molecular Endocrinology* 13, 320-329, 1999.
 19. Scully KM, Gleiberman AS, Lindzey J, Lubahn DB, Korach KS and Rosenfeld MG: Role of estrogen receptor- α in the anterior pituitary gland. *Endocrinology* 11, 674-681, 1997.
 20. Smithson G, Couse JF, Lubahn DB, Korach KS and Kincade PW: The role of estrogen receptors and androgen receptors in sex steroid regulation of B lymphopoiesis. *J Immunol* 161, 27-34, 1998.

21. Sudhir K, Chou TM, Messina LM, Hutchison SJ, Korach KS, Chatterjee K, Rubanyi GM: Endothelial dysfunction in a man with disruptive mutation in oestrogen-receptor gene. *Lancet* 349, 1146-1147, 1997.
22. Sudhir K, Chou TM, Chatterjee K, Smith EP, Williams TC, Kane JP, Malloy MJ, Korach KS and Rubanyi GM: Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in a man. *Circulation* 96, 3774-3777, 1997.
23. Wang W, Dong L, Saville B and Safe S: Transcriptional activation of E2F1 gene expression by 17 β -estradiol in MCF-7 cells is regulated by NF-Y-Sp1/estrogen receptor interactions. *Molecular Endocrinology* 13, 1373-1387, 1999.
24. Wersinger SR, Sannen K, Villalba C, Lubahn DB, Rissman EF and De Vriest GJ: Masculine sexual behavior is disrupted in male and female mice lacking a functional estrogen receptor α gene. *Horm Behav* 32, 176-183, 1997.
25. Young LJ, Wang Z, Donaldson R and Rissman EF: Estrogen receptor α is essential for induction of oxytocin receptor by estrogen. *Neuroendocrinology* 9, 933-936, 1998.
26. Zou A, Marschke KB, Arnold KE, Berger EM, Fitzgerald P, Mais DE and Allegretto EA: Estrogen receptor β activates the human retinoic acid receptor α -1 promoter in response to tamoxifen and other estrogen receptor antagonists, but not in response to estrogen. *Molecular Endocrinology* 13, 418-430, 1999.

表1. エストロゲン受容体遺伝子欠損マウスにみられる形質発現

生物発現	受容体	形質発現の状態
個体の生死	α ER β ER	影響なし "
生殖能	α ERKO β ERKO	両性で不毛 雌で減弱、雄は生殖能あり
生殖器官	α ERKO	子宮はE ₂ 、DES、タモキシフェンに無反応性 EGFによる mitosis の中止 アンドロゲンによる分裂能の存続 卵巣は正常分化を示し、成熟期排卵障害と出血卵胞、無黄体 30~40%の卵巣腫瘍発生(18ヶ月)
乳腺	β ERKO α ERKO	軽度の排卵障害 思春期、成熟期でのE ₂ 反応性増殖の欠如 Wnt-1プロト・オシージェンへの反応による腺管増殖と腺癌の発生、但し、増殖率の遅延
雄の生殖腺	β ERKO α ERKO β ERKO	乳腺分化、増殖はほぼ正常通り行われる 精細管の萎縮と精子数の減少、生殖能力の減退、精巣の萎縮、副精巣の萎縮 正常の精子形成
雌の神経・内分泌系	α ERKO	正常体：α-GTH、LH-β、FSH-βの転写活性の上昇、血中E ₂ 、T ₁ LHの上昇、Prg、TSHは正 常、PRL ₁ 遺伝子の欠如、血中PRL ₁ 値の低下
雄の神経・内分泌系	β ERKO α ERKO	血中E ₂ 値に変動なし 下垂体はほぼ正常、但し、LH β、FSH-βの上昇、血中E ₂ 、T ₁ LHの上昇、PRL 遺伝子の不 活性化
行動	β ERKO A ERKO B ERKO	正常血中E ₂ 値 E ₂ やPrGによる性反応の欠如、攻撃性の上昇
雄	α β ERKO	影響なし 顕著な変化なし

(Endocrine Review 20: 358-417, 1999 より引用)

表2. エストロゲンで誘導される遺伝子群

種類	遺伝子	誘導のみられる臓器あるいは細胞
核内因子	c-fos	子宮
	c-jun	子宮
	c-myc	子宮、ヒト乳癌細胞株
増殖因子	RAR α 1	ヒト乳癌細胞株
	プロゲステロンレセプター(PR)	子宮、乳腺
	TNF α	子宮
	IGF-1	子宮、骨組織
	EGF	子宮内膜
	VGEF	子宮、血管内皮細胞
	HB-EGF	子宮
	EGF レセプター	子宮
	HGF	卵巣
	TGF- β 3	骨組織
	ビテロゲニン	アフリカツメガエル肝臓
	オプアルブミン	ニワトリ輸卵管
下垂体ホルモン	プロラクチン	下垂体
	オキシトシン	下垂体
ミルクタンパク質	ラクtofエリン	子宮、腺
	サイクリンD1,D3	ヒト乳癌細胞株、子宮
細胞周期関連因子	BRCA1	ヒト乳癌細胞株
	p S2	ヒト乳癌細胞株
癌抑制因子	Apo-VLDL II	ニワトリ肝臓
	α I(1)procollagen	ヒト骨芽細胞
アポタンパク質	Cyclooxygenase-1(cox-1)	胎児肺動脈由来血管内皮細胞
	脳型 creatine kinase	子宮
細胞外基質	カタゼリンD	ヒト乳癌細胞株
	内皮型 nitric oxide 合成酵素	血管内皮、子宮上皮細胞
酵素	ウテログロビン	子宮内膜
	Efp	子宮、ヒト乳癌細胞
その他	EB9	ヒト乳癌細胞

(実験医学12, 1998 核内レセプターと疾患特集より引用)

6 エストラジオール-17 β の体内動態

厚生科学研究「畜産食品中残留ホルモンのヒト健康に及ぼす影響に関する研究」 平成11年度研究報告

分担研究者：藤森観之助（国立医薬品食品衛生研究所）
研究協力者：渡辺 民朗（岩手県立大学）

1 エストラジオール-17 β の代謝

(1) ヒトでの代謝

エストロゲンの代謝は非妊娠時と妊娠時で若干異なる。非妊娠時ではエストラジオール-17 β (E2-17 β)はいったんエストロン (E1)となり、E1が16位の水酸化を受けて16 α -hydroxy-estroneとなり、次いで17-ketoneが還元されてエストリオール(E3)となる。妊娠時での母体のE3は胎児副腎由来dehydro-epi-androsteroneが胎児・胎盤系で16 α 水酸化され生じた16-hydroxy-dehydro-epi-androsteroneが胎盤で代謝されて出来たE3が主である。E1とE2-17 β 間には相互可逆的変化が自由に行われる(Ryan & Engel, 1953)。E1とE2-17 β の相互転換を行うestradiol-17 β -ol-dehydrogenaseは肝の他に赤血球にも存在する(Jacobsohn et al., 1975)。主代謝経路はE2-17 β からestradiol-17-glucuronide(E2-17G)に至る経路とE1からSteroid 16 α -hydroxylaseにより16 α -hydroxy-estroneとなり、さらにE3を経てestriol-16Gとなる経路であるが、E2-17 β から直接Estradiol 16 α -monooxygenaseによりE3になる経路もある。エストロゲンは肝において広範な代謝を受ける。ヒト血中に存在するエストロゲンは主としてE1とE2-17 β であり、E1の約90%はC-3に硫酸が抱合(E1-3S)している。E1-3Sは15 α -hydroxy-estrone-3-sulfate-15-N-acetylglucosaminideなどへ代謝される。E2-17 β の一部は主に17位グルクロナイド抱合体として、一部は遊離体、一部は血清蛋白(steroid binding β -globulin)などとの結合体として血中に存在する。E1およびE3も一部は蛋白結合体として血中に存在する。E1からエストラジオール-17 α (E2-17 α)への転換は草食動物では一般的であるが、ヒトでは一般には認められない。ヒトにE2-17 α を与えるとグルクロナイド抱合体として排泄される。(ヒトでの代謝経路図:本庄英雄1979)

(2) ウシでの代謝

文献(1: Ivie, G. W. et al., 1986) ウシに¹⁴C-Estradiol-17 β を筋肉内投与すると、11日までに尿中に42%排泄し、内訳はE2-17 α が8-18%、E2-17 β グルクロナイドが73-82%、E1が2%、estrone- β グルクロナイドが5-6%であった。糞中には58%排泄し、内訳はE2-17 β として9-13%、E2-17 α として62-67%、E1として12-14%、尿糞中にはE3は同定できていない。

文献 (2 : Hoffmann, G. et al., 1997) 妊娠中のウシの尿糞中の内因性エストロゲンの HPLC で測定した結果では、糞中の主代謝物は遊離の E2-17 α (57 %)、遊離の E2-17 β (32 %)、遊離の E1 (11 %) であり、抱合体は検出されていない。尿中主代謝物は E1 硫酸抱合体、次いで E2-17 α グルクロナイド、E2-17 β グルクロナイドであり、E2-17 α 硫酸抱合体および E2-17 β 硫酸抱合体は痕跡程度である。

(3) ブタでの代謝

文献 (Bottoms, G.D. et al. 1977) ブタに ^{14}C -Estradiol-17 β を経口投与し、0.13 - 4 時間以内に採血した静脈血の血漿中放射活性は用量に関係なく、ほとんどが抱合体であり、TLC で検討すると、そのうち 82-91 % がモノグルクロナイド抱合体で、5-10 % がモノ硫酸抱合体であった。モノグルクロナイド抱合体の内訳は E1 が 76-85 %、E2-17 β が 10-18 %、E3 が 2-4 % であった。モノ硫酸抱合体の内訳は E1 が 9-27 %、E2-17 β が 12-55 %、E3 が 33-79 % であった。

文献 (Beckmann, D. et al., 1975) ^{14}C -Estrone のミニブタ切片における代謝結果では、雄では E3-3-mono-glucuronide のみ、雌では他に E2-17 β および E1 の 3-mono-glucuronide が認められている。

文献 (Mascheler, I. Et al., 1983) ブタ子宮切片の灌流実験において、E2-17 β は E1 に転換後、次いで 6 α -hydroxy-estrone および 7 α -hydroxy-estrone に代謝されることが報告されている。

文献 (Jones-Witters, P. et al. 1975) 雌ブタ (放射活性) エストロゲン を iv 注後の尿中主代謝物は E1-monoglucuronide と微量の E2-17 β と E3 様物質 および 2-methoxy-estrone が推定されている。

(4) 脊椎動物における代謝 (in Biochemical Pathways, 1999)

一般に脊椎動物では E1 は 4-Androstene-3,17-Dione から、E2 は Testosterone からの C-19 位メチル基の酸化的脱メチルおよびそれに続く A 環の芳香環化により生成される。4-Androstene-3,17-Dione から E1 に至る芳香環化は NADPH と酸素を要求する数段階からなるモノオキシゲナーゼ反応 (アロマターゼ) からなる。アロマターゼはシトクロム P450 の一種であり (CYP-Arom)、様々な組織に存在する。アロマターゼの芳香環化反応の第一段階は 19 位の水酸化であり、次に 19 位水酸化メチル基を失い、A 環は C-3 位水酸基を有する芳香環となる。芳香環化によるエストロゲン合成は雌動物では主に卵巣顆粒膜で行われ、他に副腎皮質、脂肪組織および筋肉、肝臓、脳がある。雄動物では主にエストロゲン合成は肝臓、副腎皮質、精巣で行われる。妊娠動物の胎盤中では dehydro-epi-androsterone sulfate から 16 α 水酸化、アロマターゼによる芳香環化を経て大量の Estriol-sulfate が生成する。dehydro-epi-androsterone は胎児副腎皮質および母体循環から供給される。E1 と E2 間には酸化還元反応による相互可逆的変化が行われる。エストリオールはエストロンから 16 α 水酸化および 17-ketone 還元により生成する。エストロンおよびエストラジオールの 2-水酸化により Catechol-エストロゲンが生成する。この反

応は胎盤型アロマトラーゼにより行われる。ウマは大量のエストロゲンを産生する。妊娠ウマは1日100 mg以上のエストロゲンを分泌する。

2 代謝物

(1) ヒト

ヒトではE1, E2-17 β , E3の他、2位の水酸化およびメチル化、および6 α 、6 β 、10 β 、16 α 、16 β の水酸化により、2-hydroxy-E2, 2-methoxy-E2, 2-hydroxy-E1, 2-methoxy-E1, 6 α -hydroxy-E3, 7 α -hydroxy-E2, 6 α -hydroxy-E2, 16 α -hydroxy-E1, 16-epi-E3, 16-keto-E2 および estrone-3S, estradiol-17G, estradiol-3S-17G, estriol-16G, E3-3S-16G、他に微量の15 α -hydroxy-E1, 15 α -hydroxy-E2, 18-hydroxy-E1 およびこれらエストロゲンの硫酸およびグルクロナイドのモノあるいはジ抱合体など50種類以上の代謝物が認められている。通常ではEstradiol-17 α (E2-17 α)は存在しない。胎児由来として6 α 、6 β 、7 α 、15 α 、16 α -hydroxy-E1、6 α 、6 β 、7 α -E2、16 β の水酸化体と15 α -hydroxy-E3 (estetrol)が、妊婦胆汁中にE3-S-16G, E3-16G, E3-3S、他にE3, E1, 2-methoxy-E1, E2-17 β , E2-17 α , 11-dehydro-E2-17 α , 16-epi-E3, 17-epi-E3, 16 α -hydroxy-E1、16 β -hydroxy-E1, 16-oxo-E2-17 β , 15 α -hydroxy-E1, 15 α -hydroxy-E3が、妊婦尿中に15 β -hydroxy-E1, 15 β -hydroxy-E2が報告されている。(Gurpide et al. 1966)

(2) ウシ

ウシではE1, E2-17 α 、E2-17 β の他、E1-S、E1- β G、E2 α -G、E2 β -G、E2 α -S および E2 β -S が報告されている。E3は確認されていない。(Purdy, R. H. et al., 1980)

(3) ブタ

ブタではE1-3-monoG, E2-3-monoG, E3-3-monoG, E1-S, E2-S, E3-S, 6 α -hydroxy-E1、7 α -hydroxy-E1 および 2-methoxy-E1 が報告されている。

(4) ウマ

ウマでは他にEquilin および Equilenin が検出されている。(in Biochemical Pathways, 1999)

3. 組織内残留

(1) 生理レベル

1) ヒト

正常月経周期の血漿中総エストロゲンは平均で周期前期で約100 pg/ml、排卵前後で200-1500 pg/ml、黄体期には200-500 pg/mlに達する。(表1: Tagatz, GE, and E. Gurpide, 1973, Vande Wiele & Dyrenfurth, 1973)。

一方、妊娠女性の総産生量から推測すると妊娠女性の血漿中総エストロゲン濃度はその2-30倍と思われる(表2: Farber TM, M. Arcos, 1983)。妊娠動物では大量のエストロゲンが産生されることが知られている(Kellie, A. E., 1971)。

表1. 血漿中濃度および1日産生量 (Tagatzら)

エストロゲン	時期	血漿中濃度 pg/ml	総産生量 μ g/day	卵巣産生量 μ g/day
Estradiol-17 α	卵胞期初期	60	81	70
	卵胞期後期	330-700	445-945	400-0.800
	黄体期中期	200	270	0.250
Estrone	卵胞期初期	50	110	80
	卵胞期後期	150-300	331-662	250-500
	黄体期中期	110	243	160

表2. 1日産生量 (Farberら)

ヒト	エストラジオール g/日	μ	
女性	卵胞期	445	
	黄体期	270	
	妊娠終期	37,800	
	閉経後	8	
	思春期前	31	
男性	成人	48	
	思春期前	6	

2) ウシ

非妊娠未経産ウシの E2-17 β および E1 レベルは低く (いずれも 10pg/g 以下)、組織間濃度にも差はなく、雄ウシの値とほぼ同じである。一方、妊娠ウシでは妊娠の経過と共に E2-17 β および E1 レベルは増加し、妊娠後期では E2-17 β は肝臓に特に高く、非妊娠未経産ウシの 100 倍以上 (1ng/g 以上) のレベルを示し、一方 E1 は脂肪に高く、非妊娠未経産ウシの 500 倍近く (2.8-5.3 ng/g) 上昇している。(表3)

表 3. ウシ生理的レベル : pg/g (total: enzymatic hydrolysis)

	筋肉	肝	腎	脂肪	文献
非妊娠未經産					Stieck et al.
Estradiol-17 β	7.1 \pm 3.3	8.2 \pm 4.0	8.5 \pm 4.0	5.6 \pm 1.1	
Estrone	5.9 \pm 1.6	7.5 \pm 4.8	6.4 \pm 3.0	5.3 \pm 1.1	
妊娠未經産	妊娠 120 日				Kushinsky
Estradiol-17 β	13.3 \pm 5.2	82.5 \pm 75.9	118 \pm 58.6	48.1 \pm 19.8	1983
Estrone	156 \pm 79.3	18.2 \pm 15.1	85.3 \pm 69.4	1283 \pm 885	
	妊娠 180 日				
Estradiol-17 β	27.3 \pm 14.3	380 \pm 280	230 \pm 99.9	71.6 \pm 37.2	
Estrone	482 \pm 301	115 \pm 82.6	166 \pm 94	2717 \pm 1259	
	妊娠 240 日				
Estradiol-17 β	32.7 \pm 16.1	1027 \pm 365	274 \pm 84.8	67.5 \pm 34.6	
Estrone	523 \pm 240	145 \pm 55.4	142 \pm 41.2	2786 \pm 1497	
雄牛					Decker et al.
Estradiol-17 β	6.3 \pm 2.0	8.5 \pm 3.2	10.0 \pm 3.4	9.1 \pm 2.0	1985
Estrone	7.7 \pm 3.1	6.0 \pm 1.2	8.7 \pm 3.0	15.3 \pm 8.2	
雄子牛					Syntex Res.
Estradiol-17 β	0.3 \pm 0.1			1.7 \pm 0.3	FDA/CVM
Estrone	2.4 \pm 1.5			8.0 \pm 6.1	File 11-427
妊娠	妊娠 183 日				
Estradiol-17 β	14.6	81.7	280	55.6	
Estrone	110	10.4	207	1920	
	妊娠 243 日				
Estradiol-17 β	44.9	630	417	139	
Estrone	458	258	500	4880	
	妊娠 266 日				
Estradiol-17 β	42.6	1590	484	131	
Estrone	638	584	602	5330	

(2) 投与後の組織内レベル (JECFA D. Arnold, 1999)

1) ウシ

(I) 表4は Compudose (23-45 mg estradiol/implant): implant 100 日設置後 Implant 除去前および12時間後の腎脂肪中の E1 と E2 濃度である。306-307 例の対照群の値は Estrone= 6.5 ± 4.8 (1.0-38), Estradiol= 3.6 ± 1.7 (1.0-11) pg/g であり、埋め込み100日でも Estrone は2倍程度 (8-11pg/g)、Estradiol は4倍程度 (12-13pg/g) であった。

(II) 表5. Synovex S (20 mg of E2-benzoate+200 mg of progesterone) 処理後の組織内分布の中で Estrone の脂肪内最高値は implant 61 日目で 48.3 pg/g、Estradiol-17 β の脂肪内最高値は implant 30 日目で 61.5 pg/g であった。(Progress report: S. Kushinsky & J. Duffy, IBS, Syntex Res. 5, 204, FDA/CVM NADA file 9-576, 1979.)

(III) Synovex H (20 mg of E2-benzoate+200 mg of testosterone) 処理後の組織内分布の中で Estrone の脂肪内最高値は implant 30 日目で 105 pg/g、Estradiol-17 β の脂肪内最高値は implant 30 日目で 260 pg/g であった。

(IV) 表6 : TORELOR (40 mg of estradiol+200 mg of trebolone- acetate) 1999 年 JECFA における残留評価に関して検討されている製剤中最も implant 中に Estradiol が高く、かつ組織内残留濃度が高い TORELOR (40 mg of estradiol+200 mg of trebolone- acetate) における最高値は、第2回 implant 後30日目に認められ、最高濃度を示す組織は Total では肝臓 (1172pg/g), free では脂肪 (284pg/g) であった。なお血漿、筋肉、脂肪中の Estradiol のほとんどは遊離体であり、肝臓、腎臓中の Estradiol のほとんどは抱合体である。(ILOB report 561a, TNO Washington, 1986, C. J. M. Arts et al., FDA/CVM INAD file 4216, vol. 2, p72) インプラント開始後いずれの時期においても総エストロゲン濃度は妊娠後期のウシの内因性総エストロゲン濃度よりも低値である。

表4 : Compudose (23-45 mg estradiol/implant: 100 days) (radioimmunoassay)

	Withdrawal hr	Estradiol	Estrone
対照群 n=306-307		3.6 ± 1.7	6.5 ± 4.8
Implant (100 日)			
Colorado n=68	24	8.1 ± 3.9	5.3 ± 1.0
Georgia n=10	0	12.9 ± 6.1	11.4 ± 4.1
n=58	24	7.8 ± 3.9	5.1 ± 0.5
Idaho n=10	0	12.2 ± 5.3	8.0 ± 1.8
N=59	24	6.3 ± 2.3	5.0 ± 0.1

表5. Synovex S埋め込み後の組織中エストロゲン濃度 (pg/ml) (HPLC/RI)

組織	埋込後 日	例数	Estrone			Estradiol-17 β		
			min	max	平均	min	max	平均
脂肪	Control	21	1.41	18.9	8.62	0.10	3.66	1.89
	15	8	11.4	39.2	20.2	25.3	51.2	41.4
	30	8	3.04	25.8	14.4	5.13	61.5	28.6
	61	8	9.65	48.3	25.9	20.0	52.4	39.9
	90	7	13.2	27.8	18.0	12.2	48.3	26.8
	120	7	7.66	24.4	16.6	4.06	30.0	14.5
筋肉	Control	16	0.67	2.61	1.56	0.34	1.21	0.77
	15	8	1.39	3.05	2.12	4.58	15.3	9.60
	30	8	0.75	3.51	1.96	1.00	15.3	8.27
	61	8	0.77	5.21	2.35	3.75	11.3	7.34
	90	7	0.76	2.55	1.79	0.97	7.81	4.51
	120	7	0.92	3.02	1.79	1.04	3.33	2.18
腎臓	Control	18	0.18	2.34	1.03	0.55	2.78	1.70
	15	8	3.10	7.31	4.44	8.88	17.0	18.7
	30	8	1.20	4.39	2.55	1.42	17.6	9.45
	61	8	1.30	2.61	1.99	4.37	9.53	6.40
	90	7	0.41	2.98	1.43	1.39	12.7	5.70
	120	7	0.63	2.56	1.70	2.37	6.39	4.20
肝臓	Control	18	0.28	1.00	0.65	0.36	1.72	0.91
	15	8	1.32	3.85	2.04	1.92	8.05	5.36
	30	8	0.96	3.44	1.79	2.76	16.8	6.74
	61	8	0.54	10.9	2.09	0.70	17.4	4.51
	90	7	0.46	2.46	1.21	0.85	15.6	5.41
	120	7	0.50	0.93	0.72	0.69	2.07	1.39

表6. TORELOR 埋め込み後の組織中エストロゲン濃度(pg/g) (HPLC/RI)

組織	I:第1回 II:第2回	Estrone			Estradiol-17 β			
		min	max	平均	遊離 E2 平均	総 E2 min	総 E2 max	総 E2 平均
筋肉 n=6	I:60				30	15	48	31
	+II:15				30.3	0	38	24.6
	+ 30				100	110	177	130
	+ 60				86.6	94	178	128
肝臓 n=5-6	I:60	5	94	35.6	41.8	32	732	321
	+II:15	11	56	25.5	24	0	542	183
	+ 30	14	194	57	37.6	122	1172	366
	+ 60	14	57	28.4	17	63	207	119
腎臓 n=5-6	I:60				65.6	139	307	240
	+II:15				73.3	0	412	190
	+ 30				109	204	422	348
	+ 60				83.2	166	303	239
脂肪	I:60	39	69	54.8	124	77	180	129
	+II:15	35	97	65.8	130	0	184	106
	+ 30	46	119	88.6	284	169	416	292
	+ 60	65	109	80.6	194	112	298	198
血漿	I:60				11	4	18	11
	+II:15				9.25	0	16	7.4
	+ 30				46.2	10	135	49.6
	+ 60				13.2	19	29	24.8

from working paper on residues provided by D. Arnold for JECFA, 1999

4. 生物活性

(1) エストロゲンの生物活性

- (1) エストロゲンの主な生物活性は哺乳動物では発育および生殖機能の成熟作用を卵生動物では卵の成熟である(表7)。
- (2) ウシでの子宮刺激作用で比較すると E2-17 β の生物活性は異性体である E2-17 α の約30-60倍であると考えられる。

表7. エストロゲンの脊椎動物における生物活性

Species	Stages	Organ	Effects
全ての動物種	胎生	性管	発育
哺乳動物	思春期	卵巢	性サイクル
哺乳動物	思春期	子宮内膜	サイクル性増殖誘導
哺乳動物	思春期	子宮・膣内膜	導
哺乳動物	思春期	乳腺	サイクル性変化
ヒト	思春期	毛髪、脂肪組織	発育
爬虫類, 両生類	成熟	卵管、肝臓	成人型
鳥類, 魚類			卵蛋白の産生

Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry & Molecular Biology. Ed. G. Michal, J. Wiley & sons Inc. NY. 1999

表8. ウシにおける生物活性の比較

エストロゲン	子宮刺激作用比	
	皮下注射	経口投与
Estrone	1	1
Estradiol-17 β	3.41	2.01
Estradiol-17 α	0.05	0.07

JECFA, 1999, Arnold, D.

(2) 代謝物の生物活性

- (1) カテコールエストロゲン (2-OH-E2) は BPAEC (bovine pulmonary artery endothelial cells) のアポトシスを EC50=0.45 μ M で引き起こす: (up-regulated expression of both FAS and Bcl-2.). 2-OH-E2 は breast cancer cell line で cytotoxic, and antimetabolic (antitubulin activity) agent である (Cushman M. et al., 1995)。2-OH-E2 はプロゲステロン産生促進作用は E2 より弱い。
- (2) 2-methoxy estradiol (endogenous metabolite) は BPAEC migration, basic fibroblast growth factor を阻害する (IC50=0.71 μ M). (Yue TL et al., 1997)。2-methoxy E2-17 β は NOS 含量の増加に従って NO の産生を増加し、2-methoxy E2-17 β は腫瘍の血管形成を阻害することが報告されている (Tsukamoto et al., 1998)。

5. 考察

エストロゲン濃度から安全性を評価すると JECFA における残留評価に関して検討されている製剤中最も implant 中に Estradiol が高い TORELOR 適用後の

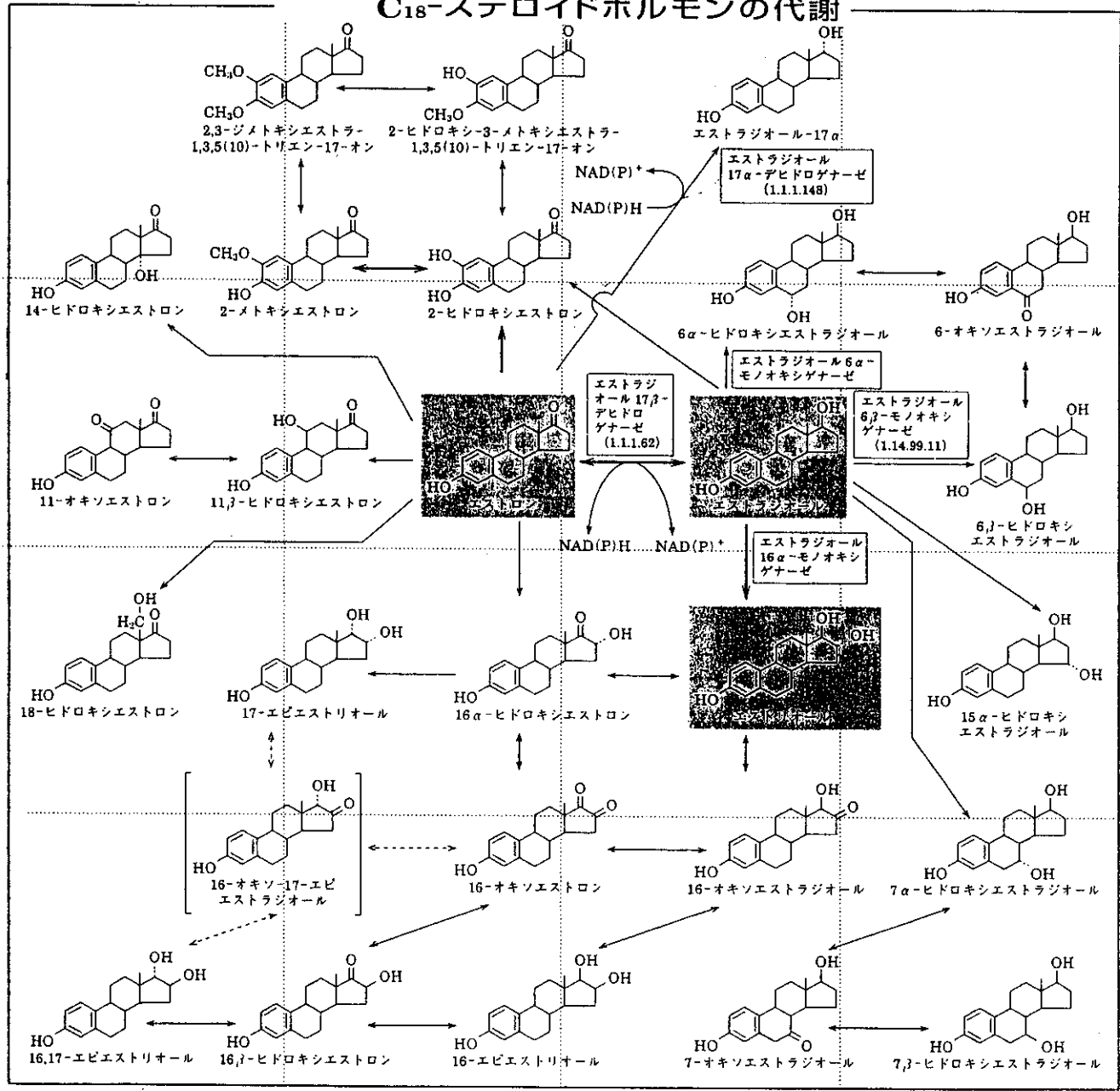
ウシ血漿中の総エストロゲン濃度は最高値でも女性の卵胞期初期の血漿中の生理的総エストロゲン濃度とほぼ同じであり、卵胞期後期、黄体期の総エストロゲン濃度と比較すると 1/3-1/10 の濃度である。

6. 参照文献

- (1) Arnold, D., working paper on residues; JECFA 1999.
- (2) Beckmann, D. & Breuer H. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 356, 1743-51, 1975
- (3) Biochemical Pathways: in An Atlas of Biochemistry & Molecular Biology. Ed. G. Michal, J. Wiley & sons Inc. NY. 1999
- (4) Bottoms, G.D. et al. J. Anal. Sci., 46, 674-685, 1977
- (5) Cushman M., He, H.M., Katzenellenbogen, J.A., Lin, C.M., Hamel, E., J. Med. Chem. 9, 2041-3049, 1995
- (6) Decker, O.D., Turner, L.G., Study No. AAC 8410, Lilly Research Lab., submitted to FAO by Elanco Prod. Co., 1985
- (7) Farber TM, M. Arcos: in Anabolics in animal Production, Ed.: Meissonnier, E, Paris. 289-296, 1983
- (8) Gurspide, ., J. Schwers, M.T. Welch, J. Clin. Endocrinol., 26, 1355, 1966
- (9) Hoffmann, B., Goes de Pinho, T., Schuler, G., Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 105, 296-303, 1997
- (10) 本庄英雄、日本臨床 37, 46, 1979
- (11) ILOB report 561a, C. J.M. Arts et al., FDA/CVM INAD file 4216, vol. 2, 1986
- (12) Ivie, G. W. , R. J. Christopher, C.E. Mungar, C.E. Coppock, J. Anim. Sci., 62, 681, 1986
- (13) Jacobsohn, G.M., E. T. Siegel and M. K. Jacobsohn: J. Clin. Endocrinol. Metab. 40, 177, 1975.
- (14) Jones-Witters, P., Hurtley, M. J., Phillips, R., Brown, B. L., Erb, R. E., J. Dairy Sci. 58, 41, 1975
- (15) Kellie A.E., Ann. Rev. Pharmacol. 11, 97, 1971
- (16) Kushinsky, S., Study submitted to FAO by Syntex Inc., 1983
- (17) Mascheler, I., Ball, P., Bayerkohler, G., Gauses, J., Knuppen, R. , Steroids 41, 597-607, 1983
- (18) Progress report: S. Kushinsky & J. Duffy, IBS, Syntex Res. 5, 204, FDA/CVM NADA file 9-576, 1979.
- (19) Purdy, R. H., C. K. Durocher, P.H. Moore, P.N. Rao, J. Steroid Biochem. 13, 1307, 1980
- (20) Ryan & Engel, Endocrinology, 52, 287, 1953
- (21) Stieck, R. F., Turner, L. G., Wagner, J. F., Basson, R. P., Study submitted to FAO by Elanko Prod. Co., 19??

- (22) Tagatz, GE, and E. Gurpide: Handbook of Physiology-Endocrinology III. part 1: 603, 1973.
- (23) Tsukamoto, A., Kaneko, Y., Yoshida, T., Han, K., Ichinose, M., Kimura, S., B.B.R.C. 248, 9-12, 1998
- (24) Vande Wiele & Dyrenfurth, Pharmacol Review, 1973
- (25) Yue TL, Wang X., Loudon C.S., Gupta S., Pillarisetti, K., Gu J.L., Hart, T.K., Lysko, P.G., Feuerstein, G.Z., Mol. Pharmacol. 51, 951-962, 1997

C₁₈-ステロイドホルモンの代謝



3

4

5

6

7 食品中のホルモン濃度に関する最近の知見

厚生科学研究「畜産食品中残留ホルモンのヒト健康に及ぼす影響に関する研究」 平成11年度研究報告

分担研究者：宮崎 奉之（東京都立衛生研究所）

研究協力者：鈴木 隆（国立医薬品食品衛生研究所）

①FDAデータ

1987年にローマで開催された32nd JECFA (FAO/WHO専門者会議)の「動物及び食品中における動物用医薬品の残留」の会議において、天然ホルモンのエストラジオール、プロゲステロン、テストステロンについて、これら各種のホルモン剤使用による場合と天然のバックグラウンド値の比較データが掲載されている。さらに、52nd JECFA(1999. Feb)により、これらホルモンが再評価され、ADI値が設定された。今回、これまでの最も多くのデータが掲載されている、D. Arnold: hormones, Revised working paper on residuesによりまとめられたものを参考にバックグラウンド値について検討した。

掲載されたデータの測定法はいずれもラジオイムノアッセイ(RIA)である。バックグラウンドをみるためのデータもあるが、多くはホルモン剤(天然型、合成型)の埋め込み実験を行った時の対象としたコントロール値を抜き出したものである。ここでは雌雄別にしてデータをまとめた。

(1) 雄牛組織中のE1, E2測定データ

D. Arnoldに掲載されたデータの雄牛組織中のエストロン(E1), エストラジオール-17 β (E2)濃度より表2～表14を作成した。表1はこれら表2から表14までのデータのうち、筋肉中のE1, E2濃度をまとめたものである。E1濃度(平均値が多い)は、去勢牛では1.53～17pg/gの範囲であり、中間値は1.7、2.4pg/gである。子牛の去勢牛のデータでは表4のようにE1濃度は若干幼児期ほど低い傾向にあり、また一般的な去勢牛より低めであった。未去勢牛のE1濃度は子牛、成牛とも、7.0から10.8pg/gで去勢牛に比べ高い値を示した。部位別の濃度差は脂肪組織が最も高く、脂肪組織>肝臓>筋肉 \geq 肝臓等の順が多く見受けられたが、変動も見られた。

E2濃度については、去勢牛では0.30～44.5pg/g、中間値は2.1pg/gであり、E1濃度に近い値を示した。子牛の去勢牛のE2濃度は0.51～2.91pg/gであり、一般的な去勢牛より低めであった。未去勢牛は子牛も成牛も去勢牛に比べ、E1同様に高めの値を示し、5.0から6.8pg/gの間にあった。部位別のE2濃度差は脂肪組織>腎臓>肝臓 \geq 筋肉の順が多く、E1に近いものであった。しかし、未去勢牛では腎臓>脂肪組織>肝臓>筋肉や、肝臓>脂肪組織>腎臓>筋肉などの場合が見られた。