

厚生労働科学研究研究費補助金
食品・化学物質安全総合研究事業

内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する
疫学研究

(H14-食品・化学-015)
平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

津 金 昌一郎 国立がんセンター研究所支所

分担研究者

高 橋 謙 産業医科大学産業生態科学研究所
加 藤 貴 彦 宮崎医科大学
坪 野 吉 孝 東北大学医学部
花 岡 知 之 国立がんセンター研究所支所

平成15(2003)年4月

目次

I. 総括研究報告書		
内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する疫学研究 津金昌一郎	————	1
II. 分担研究報告書		
1. 健康影響に関する疫学研究の総括、子宮内膜症症例 対照研究、コホート内症例対照研究 津金昌一郎	————	13
2. 職業性曝露による健康影響に関する疫学研究 高橋 謙	————	52
3. 疫学研究における個人の素因 の評価に関する研究 加藤 貴彦	————	73
4. 乳癌の症例対照研究 花岡 知之	————	82
5. 健康影響に関する疫学研究の文献的検討 坪野 吉孝	————	86
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	————	89
IV. 研究成果の刊行物・別刷	————	90

厚生労働科学研究費補助金(食品・化学物質安全総合研究事業)
総括研究報告書

内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する疫学研究

主任研究者 津金 昌一郎 国立がんセンター研究所支所 臨床疫学研究部長

研究要旨 内分泌かく乱化学物質(EDC)の曝露が人の健康影響(生殖器系及び乳腺の悪性新生物、子宮内膜症、体内ホルモン環境への影響)と関連するか否かを疫学研究で検討する。14年度は、EDCと乳癌との関連を検証するために、既存の前向きコホート研究において収集された保存生体試料を用いたコホート内症例対照研究を開始するためのプロトコールを作成し、これまでに確認された乳癌罹患患者についてホルモンレセプターの状態と発症時の閉経状況の調査を行った。さらに、昨年度より継続している乳癌の多施設症例対照研究における症例収集を継続し、平成14年12月までに症例対照165ペアを収集した。子宮内膜症とEDCの関連を検証するために、症例(腹腔鏡検査でStage II以上)と対照(Stage I以下)について、血清中のダイオキシン類22種類、PCB36種類、有機塩素系農薬類11種類の濃度の測定を行った。上記の物質のうち全対象者で検出されなかった物質はなかった。2378TCDDは11名で検出された(0~4.2 ppt)。ダイオキシン類の総毒性等量(TEQ)の中央値は17.6 ppt(n=137)、PCB類の総TEQの中央値は1.76 ppt(n=137)であった。さらに子宮内膜症発症とEDC曝露との関連における個人差の要因を解明するため、外来化学物質やエストロゲンの代謝に関与する酵素やエストロゲンレセプターの個人差を反映すると考えられるシトクロームP450(CYP)1A1、CYP1B1、グルタチオンSトランスフェラーゼM1、T1、エストロゲンレセプター α の遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について検討したところ、これらの遺伝子多型単独の影響は観察されなかった。化学物質の職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関連する約200文献をレビューしてEDC成人男性の生殖系への影響に関する知見を総括したところ、いくつかのEDCにおいて健康影響が存在する可能性は示されたが、合理的に一定の結論を導くだけのエビデンスは不足しており、職業性曝露が疑われる集団を対象に、より広範囲の探索と精緻な疫学研究を行う必要があることがわかった。ビスフェノールAとフタル酸エステル類の男性内分泌系への影響を検証するために、職域曝露集団の協力を得て横断面研究を計画し、プロトコールを作成し倫理審査委員会に申請した。EDCに関する国民への情報提供に資する目的で、「内分泌かく乱化学物質と人への健康影響との関連－疫学研究からの知見－」(平成13年度厚生労働省内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会・暴露疫学等調査作業班・疫学サブ班報告書)を、国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部のウェブサイトに掲載した(<http://www.east.ncc.go.jp/epi/edc/edc.html>、あるいは<http://www2.ttcn.ne.jp/epidemiology/edc/edc.html>)。

分担研究者

高橋 謙・産業医科大学産業生態科学
研究所・環境疫学・教授
加藤貴彦・宮崎医科大学・公衆衛生学・
教授
坪野吉孝・東北大学医学部・公衆衛生
学・助教授
花岡知之・国立がんセンター研究所支
所・臨床疫学研究部・室長

研究協力者

春日好雄・厚生連長野松代総合
病院外科部長
横山史朗・長野赤十字病院
外科部長
小沼 博・長野赤十字病院
外科副部長
西村秀紀・長野市民病院
外科部長

A. 研究目的

内分泌かく乱化学物質(EDC)の曝露が、人の健康影響(生殖器系及び乳腺の悪性新生物、子宮内膜症、体内ホルモン環境への影響)と関連するか否かを疫学研究で検討することを目的とする。生殖器系及び乳腺の悪性新生物とEDC曝露との関連については症例対照研究および既存の前向きコホート研究(厚生労働省多目的コホート研究)において収集された保存生体試料を用いたコホート内症例対照研究で検証する。子宮内膜症とEDC曝露との関連については、昨年度までに収集した症例について横断面的に検証する。体内ホルモン環境への影響については、職域でEDCに曝露されている集団を対象とした横断面研究で検証する。また、11年度から続けている疫学研究の文献的検討について情報公開を行う。

B. 研究方法

1. EDCの人の健康影響に関する疫学研究

(1)EDC曝露とその健康影響に関するコホート内症例対照研究

(1-1)EDCの曝露評価に関する基礎検討
昨年度までに開発した液体クロマトグラフ電気化学検出器による尿中のビスフェノールAの分析法の改良を行う。また、血清中のビスフェノールA、フタル酸エステル類の分析法についても検討を行う。

(倫理面への配慮)

分析方法の開発の目的で協力を得たサンプル提供者(ボランティア)に対しては、口頭で研究の説明を行い、研究参加の同意を得た。

(1-2)乳癌のコホート内症例対照研究

(1-2-1)対象者と適格条件

岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川(以上、1990年開始のコホートI)、茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、長崎県上五島、沖縄県宮古、大阪府吹田市(以上、1993年開始のコホートII)の10保健所管内に、研究開始時点で居住していた女性の地域住民約67000人で、研究開始時に血液の提供があり、かつ研究開始時に質問票への回答のある者を対象者とする。乳がんの既往者、追跡開始後不適格者(外国人、対象地域外に居住、年齢不適判明者)は除外する。

本研究の症例は、研究期間内に組織学的に診断された乳がん患者でベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者とする(コホートI:94名、コホートII:50名、計144名)。対照は、症例の乳がん発症日(診断日)に乳がんにかかっていない対象者のうち、ベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者で、症例と年齢(±3歳)、地域(市町村レベル)、採血年月日(±60日)、採血時刻(±2時間)を1:2でマッチングした者とする(計288名)。

(1-2-2)調査方法

これまでにベースライン調査(生活習慣アンケート調査、血液の採取・保存)およびフォ

ローアップ調査(異動、死亡、疾病罹患の把握)を実施してきた。

(1-2-3)測定対象物質

血清中のイソフラボノイド、ビスフェノールA、フタル酸エステル類を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)またはガスクロマトグラフィー(GC)により測定する。

(1-2-4)解析方法

測定対象物質の暴露量による乳がん罹患リスク(相対危険度)をConditional logistic modelを用いて検討する。必要に応じて多変量解析を行い、交絡要因を調整する。また、期間(採血時期から乳がん発症まで)で層別化した解析を行う。

(倫理面への配慮)

研究計画全体については国立がんセンター倫理審査委員会に申請し、平成13年10月18日に承認されている。また、パンフレットやニュース・レター、インターネット・ホームページを通じて、具体的方法などについて研究対象者個人および広く社会に広報している。血液検体については1990年から1999年にかけてすでに収集されているが、対象者に対してすべての地域で説明文書の個別配布、保健所職員による口頭説明、あるいは説明文書の掲示もしくは配布によって説明を行った。一部地域(秋田横手、沖縄石川、大阪吹田)のみ同意書を用いて被験者本人の署名を得た。他の地域でも口頭による同意は受けている。

追跡調査によって収集される死亡・住所異動・疾病罹患などの個人情報や既に収集されている生活習慣・健康診査・血液などの個人情報については、厚生労働省多目的コホート研究班・個人情報保護安全管理措置マニュアルに従って、コホート研究対象者に危険・不利益が及ばないように厳格に管理する。解析は、個人識別情報を外したデータを用いて集団として統計的な解析を行う。

(2)乳癌の症例対照研究

乳癌とEDCとの関連を解明するために、12年度に倫理審査を受けたプロトコールにしたがって、多施設症例対照研究を開始した。初発の乳癌で調査期間中に長野県内の3病院(長野松代総合病院、長野赤十字病院、長野市民病院)に入院した20歳以上75歳未満の女性入院患者全員を症例、人間ドック受診予定者の女性で上記症例に対して年齢(±3歳)と居住地域が一致する者のうち最も年齢の近い1名を対照とした。生活習慣に関する質問票調査及び血清中のEDCやホルモン、チトクロームP450系酵素など環境化学物質の代謝に関連する遺伝子多型を分析し、乳癌発症とEDCとの関連について検討を行う。

(倫理面への配慮)

研究計画について国立がんセンター倫理審査委員会に申請し、平成12年12月27日に承認されている。全研究対象者に文書と口頭で研究の説明を行い、文書により研究参加の同意を得た。

(3)子宮内膜症の断面研究(症例対照研究)

(3-1)調査対象者および調査方法

症例および対照例は東京慈恵会医科大学産婦人科で収集した、不妊症治療を目的として受診した20~45歳の未経産婦で、腹腔鏡検査を行った全員を把握、登録し、研究参加に同意した者を研究対象者とした。症例は、腹腔鏡検査によって子宮内膜症Stage II以上(AFS1985の基準に従う)と診断された者であり、ただし、妊娠3ヶ月以上の妊娠経験者は除いた。対照例は、腹腔鏡検査によって子宮内膜症Stage I以下と診断された者とした。ただし、この場合も妊娠3ヶ月以上の妊娠経験者は除いた。出産と授乳は内分泌系に影響をおよぼすため、対象者についても出産と授乳の経験がないことを条件とした。

不妊治療または腹腔内視鏡検査以前の

時期に採血(約40 mL)と採尿(約30 mL)を行った。採血・採尿と同時期に面接による質問票調査を行った。

血清中ダイオキシン濃度に差がみられた場合に、それを確認する目的で脂肪組織中のダイオキシン量の測定を行う。このために、腹腔鏡下に脂肪組織も採取した。腹腔鏡検査は研究目的ではなく、主治医の判断で診断あるいは治療目的で行われるものであり、脂肪組織の採取を含む説明と同意は腹腔鏡検査前に行った。患者が検査の前に同意した場合のみ、脂肪組織が腹腔鏡検査中に採取した。

また、血液および尿採取の性周期における時期を確認するために、治療目的のために記録された調査時期の基礎体温データを、患者が検査の前に同意した場合に収集した。

(3-2)ダイオキシン類、ポリ塩化ビニル、有機塩素系農薬に関する検討

分析対象物質と文献による各物質の毒性等価換算係数(TEF)を表1に示した。ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs/cPCBs)22種類、ポリ塩化ビニル(PCB)36種類、有機塩素系農薬11種類を対象とした。

分析は米国疾病管理予防センター傘下の国立環境保健研究所において行った。血清を固相抽出によりクリーンアップした後、高感度ガスクロマトグラフィー質量分析器(Finnigan MAT9 + Hewlett-Packard 6890GC)によって、重水素ラベル標準物質を内部標準として、各化合物の定性と定量を行った。同時に試料中の総脂肪量を測定し、総脂肪当りの濃度を求めた(単位は、ダイオキシン類はppt = pg/g、その他はppb = ng/g)。総脂肪量(mg/dL)は「 $1.677 \times (\text{総コレステロール} - \text{遊離コレステロール}) + \text{総コレステロール} + \text{中性脂肪} + \text{リン脂質}$ 」により求めた。中性脂肪が600 mg/dLより高い場合、あるいはサンプル量が少ない場合は「 $2.27 \times \text{総コレステロール} + \text{中性脂肪} +$

62.3」より求めた。毒性等価換算係数(TEF)と脂肪調整濃度から毒性等量(TEQ)を算出した(Van denBerg M, et al. Environmental Health Perspectives 1998;106:775-792)。また、ダイオキシン類とPCBについては、各対象者の毒性等量の総和を求めた(検出下限値未満は0として計算)。各物質の検出下限値は、機器の感度に加えて、各試料ごとの試料重量、血清脂肪濃度、回収率を考慮して算出した。

(3-3)子宮内膜症発症における個人差の要因に関する検討

末梢白血球より、ゲノムDNAを抽出し、シトクロームP450(CYP)1A1、CYP1B1、グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)M1、T1、エストロゲンレセプター α の遺伝子多型をPCR-RFLP法にて分析した。CYP1A1遺伝子については、非翻訳領域にある制限酵素Msp I 切断部位における遺伝子多型とエクソン7の462残基目アミノ酸がIleからValへ置換した遺伝子多型をの分析を行った。CYP1B1遺伝子については、コドン432がLeuからValへ置換した遺伝子多型の分析を行った。GSTM1、T1遺伝子については、欠損型かどうかについての分析を行った。ERには2つのサブタイプ、ER α とER β が存在しており、その2つのレセプターが子宮内膜にも発現している。ER α 遺伝子のイントロン1には、それぞれ制限酵素Pvu II、Xba Iで認識される2つの遺伝子多型が知られており、ER α Pvu II遺伝子多型が子宮内膜症発症に関連していることが報告されている。そこで14年度はER α のPvu IIおよびXba Iの遺伝子多型の分析を行った。統計解析にはロジスティック回帰を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、日本および米国の関連4施設(東京慈恵会医科大学、国立がんセンター、国立環境研究所、米国疾病管理予防センター)の倫理委員会で研究が承認され、かつ日本側の研究機関と米国の間でProject Assuranceが取り交わされた。また全研究対

象者に文書と口頭で研究の説明を行い、文書により研究参加の同意を得た。

(4) 職域集団での横断面研究

(4-1) EDCの職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する総説研究

米国立医学図書館医学文献データベース PUBMED (MEDLINE)を利用した。検索方法は、標記テーマに関わりの深い既知の総説および原著論文の書誌事項を参考に最も適切と考えられる MeSH キーワードを抽出し、以下のキーワードで実施した。

①職業性曝露等に関連するキーワード; occupational exposure, occupational diseases/blood, environmental exposure, environmental pollutants, pesticides/adverse effects、②性ホルモン・性腺刺激ホルモン等に関連するキーワード; Androgens, Estrogens, Luteinizing hormone/blood, follicle stimulating hormone/blood, Gonadotropins, pituitary、③生殖機能等に関連するキーワード; Sperm motility, Spermatogenesis, Infertility, male, Sperm count、④がんを含む生殖器疾患等に関連するキーワード; Genital neoplasms, male、Genital diseases, male, Testis。

① AND (② OR ③ OR ④) 2,443 文献を初期検索として、さらに条件を加え、抄録を精査した後、約 200 文献を総説の対象とした。

(倫理面への配慮)

該当しない。

(4-2) EDCの男性内分泌系への影響に関する横断面研究

暴露状況と暴露者について対象工場の予備調査を行った後、以下の調査を行う。

(4-2-1) 対象者

エポキシ樹脂製造工場(中国遼寧省)で原料であるビスフェノールAを取り扱う作業員約100名および対照者、フタル酸エステル

類の製造に従事する作業員約100名および対照者、を対象とする。対照者については、性、年齢、喫煙歴の頻度マッチングを行う。研究への参加については、書面または口頭でインフォームドコンセントを得る。

(4-2-2) 調査項目

職歴や作業年数などに関する事項、生活環境の情報、喫煙など生活習慣、生殖歴などを含む聞き取りによる質問票調査と、一作業シフトの最終作業終了後に採尿(45 mL)を行う。

(4-2-3) 測定項目

作業終了時(1シフトの初日以外の日)の尿中ビスフェノールA、フタル酸エステル類、およびそれらの代謝物の分析、早朝空腹時(1シフトの初日以外の日)の血清中ゴナドトロピン類およびテストステロン分析を行う。

(4-2-4) 解析方法

暴露者と対照者について、暴露指標と交絡要因を考慮して、血清ホルモンレベルを比較する。

(倫理面への配慮)

産業医科大学倫理審査委員会に審査を申請した(15年1月22日)。研究への参加については、原則として書面でインフォームドコンセントを得る。本研究には生殖細胞系列の遺伝子多型の調査は含まれない。生体試料の分析は、全データ収集後、匿名化されて行われるため、分析担当者が個人を特定する事はできない。本研究の協力者である中国遼寧省疾病予防管理センター医師(フィールド調査総括者)が個人を特定できるリストを責任を持って厳重に管理する。他の研究者が個人を特定する事はできない。本研究で得られた全てのデータは集団として解析するため、個人のデータが公表されプライバシーが侵害されることはない。

2. ヒト健康影響についての情報提供に関する研究

平成13年12月、厚生労働省内分泌か

く乱化学物質の健康影響に関する検討会・暴露疫学等調査作業班(班長:紫芝良昌)・疫学サブ班(サブ班長:津金昌一郎)による報告書、「内分泌かく乱化学物質と人への健康影響との関連－疫学研究からの知見－」が公表された。この報告書は、平成13年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)「内分泌かく乱化学物質の人の生殖機能等への影響に関する研究」班(主任研究者・津金昌一郎)等の研究助成により検討を行い、その成果を刊行したものである。

本報告書をインターネット上で閲覧することを可能にするために、全文をHTMLファイルに変換する。

(倫理面への配慮)

該当しない。

C. 研究結果

1. EDCの人の健康影響に関する疫学研究

(1) EDC暴露とその健康影響に関するコホート内症例対照研究

(1-1) EDCの暴露評価に関する基礎検討

尿中のビスフェノールAの液体クロマトグラフ電気化学検出器による高感度分析方法を開発し、ベースラインが極めて安定したクロマトグラムが得られた。前処理の回収率はほぼ100%であった。ただし、女性の場合には未知の妨害ピークが存在して分析が不可能な場合があった。

血清中のビスフェノールA、フタル酸エステル類の分析法については検討中である。

(1-2) 乳癌のコホート内症例対照研究

追跡期間中に発症した乳癌罹患例について、発症時の閉経状況とエストロゲンレセプターおよびプロゲステロンレセプターの状況について詳細な調査を行い、およそ7割以上の罹患例について情報を得た。研究プロトコールを作成し、国立がんセンター倫理審査委員会に申請した。

(2) 乳癌の症例対照研究

プロトコールにしたがって研究を継続し、平成14年12月までに有効症例165例(165ペア)を収集した。さらに継続しており、15年中に約180ペアを収集できる見込みである。

(3) 子宮内膜症の断面研究(症例対照研究)

(3-1) ダイオキシン類、ポリ塩化ビニル、有機塩素系農薬に関する検討

質問票の情報と試料があり、分析の対象となった内膜症群は58例(内膜症なし58例、Ⅱ期10例)、対照群は80例(Ⅱ期10例、Ⅲ期23例、Ⅳ期25例)であった。症例の年齢は平均32歳(27～39歳)、対照の年齢は平均33歳(26～43歳)であった。

全対象者で検出された物質は、OCDD、334455P(PCB169)、PCB74、PCB99、PCB118、PCB105、PCB146、PCB153、PCB138-158、PCB156、PCB187、PCB180、PCB170、PCB196-203、PCB194、PCB209、 β -ヘキサシクロヘキサン、pp'-DDEであった。全対象者で検出されなかった物質はなかった。2378Dは11名で検出された(0～4.2 ppt)。ダイオキシン類の総TEQの中央値は17.57 ppt (n=137、平均18.11 ppt)、PCB類の総TEQの中央値は1.76 ppt (n=137、平均1.72 ppt)であった。多くの物質で年齢が高い群が比較的高い値を示した。症例と対照での血清中EDC量の差異について詳細な検討については、論文作成中である。

(3-2) 子宮内膜症発症における個人差の要因に関する検討

CYP1A1 Msp I 遺伝子多型の Variant allele の頻度はヘテロタイプとホモタイプが症例群に45.8%、13.6%、対照群に46.5%、16.3%認められた。CYP1A1 Ile-Val 遺伝子多型の Variant allele の頻度はヘテロタイプとホモタイプが症例群に30.5%、5.1%、対照群に26.7%、7.0%認められた。

CYP1B1 Leu432Leu、Leu432Val、Val432Val 多型の割合は症例群で 76.3%、22.0%、1.7%であり、対照群で 67.4%、31.4%、1.2%であった。

GSTM1欠損型の頻度は症例と対照にてそれぞれ、50.8%、55.8%であり、GSTT1欠損型の頻度は症例と対照にてそれぞれ、52.5%、52.3%であった。

いずれも、子宮内膜症発症との間に統計学的に有意な関連は認められなかった。

ER α PvuII遺伝子多型の Variant allele の頻度はヘテロタイプとホモタイプが症例群に 50.8%、33.9%、対照群に 47.7%、32.6%認められた。ER α XbaI遺伝子多型の Variant allele の頻度はヘテロタイプとホモタイプが症例群に 33.9%、61.0%、対照群に 33.7%、64.0%認められた。これらと子宮内膜症発症との間にも統計学的に有意な関連は認められなかった。

(4) 職域集団での横断面研究

(4-1) EDCの職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する総説研究

職業性曝露のヒト生殖機能への影響は、男女各性について、内分泌系を介する経路かつ/または介さない経路で生殖機能、妊娠・出産の転帰、次世代影響という多段階で単独および複合的に発現し得る。成人男性の生殖機能に焦点を絞った場合、特に精子能評価が重要な目標すなわちend-pointとなり、数・濃度・形態・運動能・異常精子割合、acrosin activity、染色体異常、精液の量・liquefaction time、等をメルクマールとして、検査手法や診断基準が標準化されている(WHO)。また配偶者間との妊娠成功率、妊娠までの時間 Time To Pregnancy (TTP)、流産リスク等について、女性側要因を排除した後男性側生殖能として評価することもある。

男性生殖系影響に関連し、同時に評価されることの多い内分泌系影響の指標としては、血清中(稀に尿中)FSH, LH, testosteroneがある。一般には精巣毒性が顕

在化した場合、ネガティブ・フィードバック機序を介した血清FSHおよびLH値の上昇として捉えられる。また生殖系臓器の発癌影響は、精巣がん(seminoma, non-seminomaとも)および前立腺がんに関する研究が多く存在する。いずれのがんも前記機序に関連しまたは独立に生じ得るが、多くの研究では発癌研究として独立に扱われている。次世代影響としては、父親の職業性曝露による男児の停留嚢丸、尿道下裂のリスクを評価した研究(結果は両方向)が多く存在する。しかし、これらの研究は厳密な意味での経時的追跡が困難なため、特定集団の経時的観察など生態学的研究の域を出ないものが多い。

EDCの疑いがある物質への職業性曝露の経路として、主に製造業現場で働く労働者における重金属を含む各種化学物質、および農業等従事者(農薬散布専従者を含む)における農薬・枯草/除草剤・殺菌剤等への曝露に関する二つのルートについて、男性生殖能、生殖器系がんリスクおよび次世代影響との関連が検討されている。なお、農薬製造従事者は曝露の特徴および予防的見地からも、製造業に含めて検討することが妥当と考えられる。

前者経路による職業性曝露による男性生殖系影響が検討された物質(EDC候補物質)としては、ビスフェノールA(樹脂原料)、フタル酸類(可塑剤)、有機リン系農薬(パラチオン等製造時の曝露)および線虫剤としての1,2-dibromo 3-chloropropane (DBCP)、ベンゼン・トルエン・キシレン等の有機溶剤、鉛・カドミウム等の重金属など、広範に渡る。DBCP,有機溶剤・重金属については、生殖毒性を含む既知の中毒学的知見に立脚し、新たにEDCの枠組みで再検討を加えた研究が多い。結果は陽性・陰性両方向で、確実と言えるものはなく、研究が緒についた段階と言ってよい。

後者経路については農業従事者の前立腺がんリスクに関するメタアナリシス研究によ

る要約指標の検討結果も含め、有機リン系農薬のエストロゲン攪乱作用を介した男性生殖能への影響は現時点で除外し得ず、さらなる知見の集積が必要である。

以上のようにED作用の可能性のある化学物質と精子性状を含む男性生殖能との関連を評価した研究は、総体として、関連の可能性を示唆する研究が多い。しかし、これらの研究は、ヒトが曝露する可能性のある多くの化学物質のごく一部について、少数の対象者で断面的に行われている場合が多く、知見の相互比較や総合的な解釈が困難となっている。このため他の集団で確実な量-反応関係をもって結果を再現し得るかどうかは不明であり、合理的に一定の結論を導くだけのエビデンスは不足していると判断できた。

(4-2) EDCの男性内分泌系への影響に関する横断面研究

対象となる工場の曝露状況と曝露集団について予備調査を行い、研究プロトコールを作成し、産業医科大学倫理審査委員会に審査を申請した。15年3月の時点で承認される見込みとなったため、調査の準備を開始し、さらに詳細な曝露状況調査を年度内に開始した。本調査は15年3月から4月にかけて行われる予定である。

2. ヒト健康影響についての情報提供に関する研究

HTMLまたはPDF形式に変換した報告書の全体を、国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部のウェブサイト上で公開した (<http://www.east.ncc.go.jp/epi/edc/edc.html>、あるいは <http://www2.ttcn.ne.jp/epidemiology/edc/edc.html>)。

D. 考察

EDCに焦点を当てたこれまでの乳癌の疫学研究は、PCBなどの有機塩素系化合物

についての欧米諸国の症例対照研究が大部分で、わが国からの報告はない。日本人の乳癌は、欧米諸国と比較して罹患率が低く、しかし最近増加しているという特徴がある。また日本人はエストロゲンレベルや植物エストロゲン摂取量が欧米人と大きく異なるため、日本人の乳癌に関する検討はEDCと乳癌発症についての関係を解明するうえで有益な情報をもたらすものであると考えられる。

コホート内症例対照研究は追跡開始時点での曝露情報を正確に評価できる優れた研究デザインであり、日本人の乳癌発症とEDCの関係を検証するうえで有益な情報をもたらすと考えられる。保存してある限られた量の生体試料中微量化学物質を分析するために分析法の改良を継続している。本コホート内症例対照研究の元となるコホート研究では、生活習慣や食習慣の詳細な情報、さらに植物エストロゲンの推定摂取量などの情報が把握されており、すでにデータベース化されている。また、腫瘍のホルモンレセプターの状況や罹患時の閉経状況を考慮した解析は、EDCの影響の有無をさらに明確に示してくれるものと考えられる。

乳癌の症例対照研究では、3施設の全入院例について登録を行っている。この3施設で長野市の乳癌患者のおよそ8割をカバーしている。計画通りに症例が収集されているが、対象者の年齢の制約から登録数は予想よりも若干少ない。遺伝子多型などで層別解析を行う予定であり350ペア以下の場合には症例収集を延長するか参加施設を増やす必要がある。

子宮内膜症の横断面研究に参加した138名の女性の血清中のダイオキシン類、PCB、有機塩素系農薬類の濃度を調べたところ、このような物質についてなんらかの程度の蓄積が全員に存在することが明らかになった。多くの物質で年齢との関連が示唆され、症例と対照の比較では年齢の考慮が重要であることが再確認された。ただし、各物質の検

出下限値が各対象者で異なっており、データの解析と解釈には注意が必要である。本研究は米国CDCでの研究と同じプロトコールで行われており、生活習慣や環境が異なる日米間の比較から、EDCの影響について有益な知見が得られることが期待できる。

これまで子宮内膜症の発症に関しては、CYP1A1、CYP17、GSTT1遺伝子多型は関連性が認められず、CYP19、GSTM1、ER α PvuII、プロゲステロンレセプター遺伝子多型はバリエーションタイプがリスクを上げる、NAT2遺伝子多型はバリエーションタイプがリスクを上げるという報告とリスクを下げるという報告がある。しかし、内分泌かく乱物質の暴露量と遺伝子多型を同時に検討した報告はない。本研究からは代謝酵素およびエストロゲンレセプターの遺伝子多型単独の影響は小さいことが予想されたため、今後、これらの遺伝子多型が暴露を修飾する要因となるかを検討する必要がある。

職域での疫学研究においては、職業性暴露の特徴として複合微量暴露という実態があり、一意関係を前提にした疫学研究手法には困難を伴う。つまり、研究デザインに欠点があるためというより、制御できない因子の存在が制約条件となる場合が多い。それだけに、標準化された男性生殖機能評価法の導入や、より鋭敏な研究デザインを取り入れていく必要があるのはもちろんのこと、データの論理的解釈や動物実験を含めた関連知見との整合性について、妥当かつ慎重な検討が求められる。EDCはホルモンの生成、放出、体内移動、代謝に作用するほか、レセプター結合を阻害またはレセプター機能に影響を与えるなど様々な機序を通じて血中ホルモン値を変化させると考えられている。ここでの成人男性の生殖系影響はあくまで研究上のend-pointであり、EDCが受精前精子、また母親を介して受精卵や胎児期に影響を与える場合、あるいは新生児期にホルモン調節機能を乱した場合でも、成人男

性の生殖機能に悪影響が及ぶことに留意する必要がある。ヒト集団での化学物質曝露に関する疫学的研究は、総体として、内分泌攪乱作用を通じた生殖系影響の可能性、すなわち、いくつかのEDCが存在する可能性を示している。今後はED作用の可能性のある化学物質の探索範囲を広げるとともに、関連の知見を十分に活用しながら、職業性曝露が疑われる集団を対象に、より精緻な疫学研究を行う必要がある。労働者の個人別あるいは作業単位別の経時的曝露データなどを活用し、前向きな追跡研究を行う余地は大きい、と言える。

職域での化学物質の職業性曝露は、通常、一般環境よりも曝露レベルが高く、化学物質の健康影響を観察しやすい。しかし、レビューで明らかとなったように、職域においてEDC、とくにビスフェノールAやフタル酸エステル類に曝露されている集団における研究は国内外を問わずこれまでほとんどないため、本研究の職域での観察研究からは重要な知見が得られるものと考えられる。

内分泌かく乱化学物質の環境や健康への影響に対する国民の懸念の高まりを反映して、多量の情報がマスメディア等を通して報道されている。しかしこれらの情報の一部には、十分な科学的根拠を持たないものや、バランスを欠いたものがある。そのため、科学的根拠に基づく適切な情報を提供することの重要性が増大している。本研究では平成13年度厚生労働省検討会暴露疫学等調査班疫学サブ班の報告書の全文をインターネット上で公開するための作業を行った。報告書という従来の媒体から、インターネットという新たな媒体を活用することで、内分泌かく乱化学物質に関する科学情報のアクセシビリティを向上させた点に、意義があるものと考えられる。

E. 結論

内分泌かく乱化学物質の健康影響を検

証するために、乳癌と男性内分泌系への影響をエンドポイントとした疫学研究を開始、あるいは継続した。子宮内膜症の横断面研究から日本人の生殖年齢にある女性がダイオキシン類、PCB、有機塩素系農薬類の暴露をさまざまな程度に受けていることを確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka T, Takahashi Y, Kobayashi M, Sasaki S, Usuda M, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. Residuals of beta-hexachlorocyclohexane, dichlorodiphenyltrichloroethane, and hexachlorobenzene in serum, and relations with consumption of dietary components in rural residents in Japan. *Science Total Environ* 2002;286:119-127.

Hanaoka T, Nair J, Takahashi Y, Sasaki S, Bartsch H, Tsugane S. Urinary level of 1,N6-ethenodeoxyadenosine, a marker of oxidative stress is associated with w6-polyunsaturated fatty acid intake in postmenopausal Japanese women. *Int J cancer* 2002;100:71-75.

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occup Environ Med* 2002; 59: 625-628.

Hanaoka T, Yamano Y, Pan G, Hara K, Ichiba M, Zhang J, Zhang S, Liu T, Li L, Takahashi K, Kagawa J, Tsugane S. Cytochrome P450 1B1 mRNA levels in

peripheral blood cells and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese coke oven workers. *Science Total Environ* 2002; 296: 27-33.

Hanaoka T, Li Q, Imagawa J, Taguchi S, Minami M, Tsugane S. Occupational allergic dermatitis caused by epoxy hardener alkylamine. *J Occup Health* 2002; 44: 264-266.

Hara M, Sobue T, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Smoking and risk of premature death among middle-aged Japanese: ten-year follow-up of the Japan public center-based prospective study on cancer and cardiovascular disease (JPHC Study) Cohort I. *Jpn J Cancer Res.* 2002;93:6-14.

Hara M, Sasaki S, Sobue T, Yamamoto S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Comparison of cause-specific mortality between respondents and nonrespondents in a population-based prospective study: ten-year follow-up of JPHC Study Cohort I. *J Clin Epidemiol.* 2002;55:150-156.

Tsugane S, Sasaki S, Tsubono Y for the JPHC Study Group. Under and Over-weight Impact on Mortality among Middle-aged Japanese Men and Women: a Ten-year Follow-up of JPHC Study Cohort I. *Int J Obesity* 2002;26:529-537.

Sobue T, Yamamoto S, Hara M, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Cigarette smoking and subsequent risk of lung cancer by histologic type in middle-aged Japanese men and women: the JPHC Study. *Int J Cancer.* 2002;99: 245-251.

Takashima Y, Yoshida M, Yoshinaga A,

- Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Usefulness of the recall-based self-report as a means of case definition in epidemiological studies on senile cataracts. *Jpn J Health Human Ecology* 2002 ;68:43-53.
- Nishimoto IN, Hamada GS, Kowalski LP, Gama Rodrigues JJ, Iriya K, Sasazuki S, Hanaoka T, Tsugane S for the Sao Paulo - Japan Cancer Project Gastric Cancer Study Group. Risk factors for stomach cancer in Brazil (I): a case-control study among non-Japanese Brazilians in Sao Paulo. *Jpn J Clin Oncol* 2002;32:277-283.
- Hamada GS, Kowalski LP, Nishimoto IN, Gama Rodrigues JJ, Iriya K, Sasazuki S, Hanaoka T, Tsugane S for the Sao Paulo - Japan Cancer Project Gastric Cancer Study Group. Risk factors for stomach cancer in Brazil (II): a case-control study among Japanese Brazilians in Sao Paulo. *Jpn J Clin Oncol* 2002;32:284-290.
- Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Cigarette smoking, alcohol consumption, and subsequent gastric cancer risk by subsite and histologic type. *Int J Cancer* 2002;101:560-566.
- Kataoka H, Nishioka S, Kobayashi M, Hanaoka T, Tsugane S. Analysis of mutagenic heterocyclic amines in cooked food samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector. *Environ Contam Toxicol* 2002;69:682-689
- Kobayashi M, Tsubono Y, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for JPHC Study Group. Vegetables, fruit, and risk of gastric cancer in Japan: a 10-year follow-up of the JPHC Study Cohort I. *Int J Cancer* 2002;102:39-44.
- Kobayashi M, Hanaoka T, Nishioka S, Kataoka H, Tsugane S. Estimation of dietary HCA intakes in a large-scale population-based prospective study in Japan. *Mut Res* 2002;506-507:233-241.
- Kim MK, Sasaki S, Sasazuki S, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. Lack of long-term effect of vitamin C supplementation on blood pressure. *Hypertension* 2002;40:797-803.
- Hara M, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Effect of smoking on the association between alcohol consumption and cancer mortality among middle-aged Japanese men: JPHC Study Cohort I. *IARC Sci Publ* 2002;156:165-168.
- Tsukino H, Kuroda Y, Nakao H, Imai H, Inatomi H, Kohshi K, Osada Y, Katoh T. E-cadherin gene polymorphism and risk of urothelial cancer, *Cancer Lett*, (in press)
- Tsubono Y, et al. Validation of walking questionnaire for population-based prospective studies in Japan: comparison with pedometer. *J Epidemiol* 2002;12:305-9.
- Ogawa K, Tsubono Y, et al. Dietary sources of nutrient consumption in a rural Japanese population. *J Epidemiol* 2002;12:1-8.
- Nakagawa-Okamura C, Tsubono Y, et al. Effectiveness of mass screening for endometrial cancer. *Acta Cytol* 2002;46:277-83.
- Kuriyama S, Tsubono Y, et al. Pyridoxine treatment in a subgroup of children with pervasive developmental disorders. *Dev Med Child Neurol* 2002;44:284-6.
- Zhu S, Tsubono Y, et al. Short- and

long-term reliability of information on previous illness and family history as compared with that on smoking and drinking habits in questionnaire surveys. J Epidemiol 2002;12:120-5.

2. 学会発表

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. SCOPE/IUPAC International Symposium on Endocrine Active Substance, Nov.17-21,2002. Yokohama-Japan.

Takahashi K. Silica and lung cancer risk among silicotics in Japan. The 27th International Congress on Occupational Health, Feb 23-28, 2003 Iguassu Falls, Brazil.

月野浩昌, 黒田嘉紀, 中尾裕之, 今井博久, 加藤貴彦. 日本人における CYP1A2、ST1A3、NAT2 遺伝子多型と尿路上皮発癌感受性について. 第72回日本衛生学会総会, 2002.3.26, 三重.

月野浩昌, 蓮井良浩, 長田幸夫, 加藤貴彦, 中尾裕之. 日本人における CYP1A2、ST1A3、NAT2 遺伝子多型と尿路上皮発癌感受性について. 第90回日本泌尿器科学会総会, 2002.4.17, 東京.

丸山浩平, 太田博之, 中山秀喜, 田中剛, 依田聖, 竹山春子, 加藤貴彦, 松永是. 磁性細菌粒子を用いた自動DNA判別装置による骨粗鬆症マーカーTGF β -1遺伝子の SNP検出. 電気化学会秋季大会, 2002.9.

加藤貴彦, 月野浩昌:ヒトフェノール硫酸転移酵素、アリルアミンN-アセチル転移酵素

の遺伝子多型と尿路上皮発癌感受性. 第61回日本癌学会総会, 2002.10.1, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当せず

厚生労働科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

健康影響に関する疫学研究の総括、子宮内膜症症例対照研究、コホート内症例対照研究

分担研究者 津金 昌一郎 国立がんセンター研究所支所 臨床疫学研究部長

研究要旨 日常の生活環境における内分泌かく乱化学物質(EDC)への暴露が、人の健康影響と関連するか否かを疫学的に検証することを目的として、既存の前向きコホート研究において収集された保存生体試料を用いた乳癌のコホート内症例対照研究を開始し、また、子宮内膜症とEDCの関連を調べるために、症例(腹腔鏡検査でStage II以上)と対照(Stage I以下)について、血清中のダイオキシン類22種類、PCB36種類、有機塩素系農薬類11種類の濃度の測定を行った。コホート内症例対照研究については乳癌罹患者のホルモンレセプターと発症時の閉経状況の調査を行い、また生体試料中の微量化学物質の分析法の改良を行った。子宮内膜症の横断面研究では、上記の物質のうち全対象者で検出されなかった物質はなかった。2378TCDDは11名で検出された(0~4.2 ppt)。ダイオキシン類の総毒性等量(TEQ)の中央値は17.6 ppt(n=137、平均18.1 ppt)、PCB類の総TEQの中央値は1.76 ppt(n=137、平均1.72 ppt)であった。多くの物質で年齢が高い群が比較的高い値を示した。

研究協力者

花岡知之・国立がんセンター研究所
支所臨床疫学研究部室長

A. 研究目的

日常の生活環境における内分泌かく乱化学物質(EDC)への暴露が、人の健康影響と関連するか否かを疫学的に検証することを目的として、既存の前向きコホート研究(厚生労働省多目的コホート研究)において収集された保存生体試料を用いたコホート内症例対照研究を行う。14年度は、乳癌のコホート内症例対照研究を開始する。コホート内症例対照研究における暴露評価の基礎検討として生体試料中のEDCの高感度分析法の検討を行う。

また、昨年度までに収集された子宮内膜症の症例および対照例について、EDCとの関連を横断的に検証する。14年度は血

清中EDC(ダイオキシン、PCB、農薬)の分析を行い、子宮内膜症の有無による血清中EDC量の差異について検討する。

B. 研究方法

1. EDC暴露とその健康影響に関するコホート内症例対照研究

(1) EDCの暴露評価に関する基礎検討

14年度は昨年度までに開発した液体クロマトグラフ電気化学検出器による尿中のビスフェノールAの分析法の改良を行う。また、血清中のビスフェノールA、フタル酸エステル類の分析法についても検討を行う。

(倫理面への配慮)

分析方法の開発の目的で協力を得たサンプル提供者(ボランティア)に対しては、口頭で研究の説明を行い、研究参加の同意を得た。

(2) 乳癌のコホート内症例対照研究

(1) 対象者と適格条件

岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川(以上、1990年開始のコホートI)、茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、長崎県上五島、沖縄県宮古、大阪府吹田市(以上、1993年開始のコホートII)の10保健所管内に、研究開始時点で居住していた女性の地域住民約67000人で、研究開始時に血液の提供があり、かつ研究開始時に質問票への回答のある者を対象者とする。乳がんの既往者、追跡開始後不適格者(外国人、対象地域外に居住、年齢不適判明者)は除外する。

本研究の症例は、研究期間内に組織学的に診断された乳がん患者でベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者とする(コホートI:94名、コホートII:50名、計144名)。対照は、症例の乳がん発症日(診断日)に乳がんにかかっている対象者のうち、ベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者で、症例と年齢(±3歳)、地域(市町村レベル)、採血年月日(±60日)、採血時刻(±2時間)を1:2でマッチングした者とする(計288名)。

(2) 調査方法

ベースライン調査(生活習慣アンケート調査、血液の採取・保存)およびフォローアップ調査(異動、死亡、疾病罹患の把握)は、「厚生省コホート研究班コホートI実施要綱」「厚生省コホート研究班コホートII実施要綱」「多目的コホートによるがん・循環器疾患の疫学研究研究計画書—平成13年度改訂版—」(国立がんセンター倫理審査委員会平成13年10月承認)(添付資料)に基づいて実施してきた。

(3) 測定対象物質

血清中のイソフラボノイド、ビスフェノールA、フタル酸エステル類を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)またはガスクロマトグラフィー(GC)により測定する。

(4) 解析方法

測定対象物質の暴露量による乳がん罹

患リスク(相対危険度)をConditional logistic modelを用いて検討する。必要に応じて多変量解析を行い、交絡要因を調整する。また、期間(採血時期から乳がん発症まで)で層別化した解析を行う。

(倫理面への配慮)

研究計画全体については国立がんセンター倫理審査委員会に申請し、平成13年10月18日に承認されている。また、パンフレットやニュース・レター、インターネット・ホームページを通じて、具体的方法などについて研究対象者個人および広く社会に広報している。血液検体については1990年から1999年にかけてすでに収集されているが、対象者に対してすべての地域で説明文書の個別配布、保健所職員による口頭説明、あるいは説明文書の掲示もしくは配布によって説明を行った。一部地域(秋田横手、沖縄石川、大阪吹田)のみ同意書を用いて被験者本人の署名を得た。他の地域でも口頭による同意は受けている。

追跡調査によって収集される死亡・住所異動・疾病罹患などの個人情報や既に収集されている生活習慣・健康診査・血液などの個人情報については、厚生労働省多目的コホート研究班・個人情報保護安全管理措置マニュアルに従って、コホート研究対象者に危険・不利益が及ばないように厳格に管理する。解析は、個人識別情報を外したデータを用いて集団として統計的な解析を行う。

2. 子宮内膜症の断面研究

(1) 調査対象者および調査方法

症例および対照例は東京慈恵会医科大学産婦人科で収集した、不妊症治療を目的として受診した20~45歳の未経産婦で、腹腔鏡検査を行った全員を把握、登録し、研究参加に同意した者を研究対象者とした。症例は、腹腔鏡検査によって子宮内膜症Stage II以上(AFS1985の基準に従う)と診断された者であり、ただし、妊娠3ヶ月以上の

妊娠経験者は除いた。対照例は、腹腔鏡検査によって子宮内膜症Stage I 以下と診断された者とした。ただし、この場合も妊娠3ヶ月以上の妊娠経験者は除いた。出産と授乳は内分泌系に影響をおよぼすため、対象者についても出産と授乳の経験がないことを条件とした。

不妊治療または腹腔内視鏡検査以前の時期に採血(約40 mL)と採尿(約30 mL)を行った。採血・採尿と同時期に面接による質問票調査を行った。

血清中ダイオキシン濃度に差がみられた場合に、それを確認する目的で脂肪組織中のダイオキシン量の測定を行う。このために、腹腔鏡下に脂肪組織も採取した。腹腔鏡検査は研究目的ではなく、主治医の判断で診断あるいは治療目的で行われるものであり、脂肪組織の採取を含む説明と同意は腹腔鏡検査前に行った。患者が検査の前に同意した場合のみ、脂肪組織が腹腔鏡検査中に採取した。

また、血液および尿採取の性周期における時期を確認するために、治療目的のために記録された調査時期の基礎体温データを、患者が検査の前に同意した場合に収集した。

(2) 分析対象物質と分析方法

分析対象物質と文献による各物質の毒性等価換算係数(TEF)を表1に示した。ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs/cPCBs)22種類、ポリ塩化ビニル(PCB)36種類、有機塩素系農薬11種類を対象とした。

分析は米国疾病管理予防センター傘下の国立環境保健研究所において行った。血清を固相抽出によりクリーンアップした後、高感度ガスクロマトグラフィー質量分析器(Finnigan MAT9 + Hewlett-Packard 6890GC)によって、重水素ラベル標準物質を内部標準として、各化合物の定性と定量を行った。同時に試料中の総脂肪量を測定し、総脂肪当りの濃度を求めた(単位は、ダイオ

キシン類はppt=pg/g、その他はppb=ng/g)。総脂肪量(mg/dL)は「 $1.677 \times (\text{総コレステロール} - \text{遊離コレステロール}) + \text{総コレステロール} + \text{中性脂肪} + \text{リン脂質}$ 」により求めた。中性脂肪が600 mg/dLより高い場合、あるいはサンプル量が少ない場合は「 $2.27 \times \text{総コレステロール} + \text{中性脂肪} + 62.3$ 」より求めた。毒性等価換算係数(TEF)と脂肪調整濃度から毒性等量(TEQ)を算出した(Van denBerg M, et al. Environmental Health Perspectives 1998;106:775-792)。また、ダイオキシン類とPCBについては、各対象者の毒性等量の総和を求めた(検出下限値未満は0として計算)。各物質の検出下限値は、機器の感度に加えて、各試料ごとの試料重量、血清脂肪濃度、回収率を考慮して算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、日本および米国の関連4施設(東京慈恵会医科大学、国立がんセンター、国立環境研究所、米国疾病管理予防センター)の倫理委員会で研究が承認され、かつ日本側の研究機関と米国の間でProject Assuranceが取り交わされた。また全研究対象者に文書と口頭で研究の説明を行い、文書により研究参加の同意を得た。

C. 研究結果

1. EDC暴露とその健康影響に関するコホート内症例対照研究

(1) EDCの暴露評価に関する基礎検討

尿中のビスフェノールAの液体クロマトグラフ電気化学検出器による高感度分析方法を開発した。図1のようにベースラインが極めて安定したクロマトグラムが得られた。前処理の回収率はほぼ100%であった。ただし、女性の場合には未知の妨害ピークが存在して分析が不可能な場合があった。

血清中のビスフェノールA、フタル酸エステル類の分析法については検討中である。

(2) 乳癌のコホート内症例対照研究

追跡期間中に発症した乳がん罹患例について、発症時の閉経状況とエストロゲンレセプターおよびプロゲステロンレセプターの状況について詳細な調査を行い、およそ7割以上の罹患例について情報を得た。プロトコール(添付資料)を作成し、国立がんセンター倫理審査委員会に申請した(15年3月末予定)。

2. 子宮内膜症の断面研究

質問票の情報と試料があり、分析の対象となった内膜症群は58例(内膜症なし58例、Ⅱ期10例)、対照群は80例(Ⅱ期10例、Ⅲ期23例、Ⅳ期25例)であった。症例の年齢は平均32歳(27~39歳)、対照の年齢は平均33歳(26~43歳)であった。

表2にダイオキシン類(PCDDs/PCDFs/cPCBs)、表3にポリ塩化ビニル(PCB)、表4に有機塩素系農薬の年代別の血清中濃度のパーセントイル値を示した。全対象者で検出された物質は、OCDD、334455P(PCB169)、PCB74、PCB99、PCB118、PCB105、PCB146、PCB153、PCB138-158、PCB156、PCB187、PCB180、PCB170、PCB196-203、PCB194、PCB209、 β -ヘキサシクロヘキサン、pp'-DDEであった。全対象者で検出されなかった物質はなかった。2378Dは11名で検出された(0~4.2 ppt)。ダイオキシン類の総TEQの中央値は17.57ppt(n=137、平均18.11 ppt)、PCB類の総TEQの中央値は1.76 ppt(n=137、平均1.72 ppt)であった。多くの物質で年齢が高い群が比較的高い値を示した。症例と対照での血清中EDC量の差異について詳細な検討については、論文作成中である。

D. 考察

EDCに焦点を当てたこれまでの乳癌の疫学研究は、PCBなどの有機塩素系化合物についての欧米諸国の症例対照研究が大部分で、わが国からの報告はない。コホート

内症例対照研究は追跡開始時点での暴露情報を正確に評価できる優れた研究デザインであり、日本人の乳癌発症とEDCの関係を検証するうえで有益な情報をもたらすと考えられる。保存してある限られた量の生体試料中微量化学物質を分析するために分析法の改良を継続している。本コホート内症例対照研究の元となるコホート研究では、生活習慣や食習慣の詳細な情報、さらに植物エストロゲンの推定摂取量などの情報が把握されており、すでにデータベース化されている。また、腫瘍のホルモンレセプターの状況や罹患時の閉経状況を考慮した解析は、EDCの影響の有無をさらに明確に示してくれるものと考えられる。

子宮内膜症の横断面研究に参加した138名の女性の血清中のダイオキシン類、PCB、有機塩素系農薬類の濃度を調べたところ、このような物質についてなんらかの程度の蓄積が全員に存在することが明らかになった。多くの物質で年齢との関連が示唆され、症例と対照の比較では年齢の考慮が重要であることが再確認された。ただし、データの解析と解釈には注意が必要である。各物質の検出下限値は試料重量、血清脂肪濃度、回収率を考慮して算出したため、各対象者によって異なる。したがって平均値や中央値を算出する際には、検出下限値の1/2を各個人のデータにしたり、一定の検出下限値以上の者の値を採用するなどを考慮する必要がある。本研究は米国CDCでの研究と同じプロトコールで行われており、生活習慣や環境が異なる日米間の比較から、EDCの影響について有益な知見が得られることが期待できる。

E. 結論

EDCと乳癌発症の関連を検証するためのコホート内症例対照研究のプロトコールを作成して倫理審査委員会に申請した。この準備として、本コホート研究における乳癌罹

患者のホルモンレセプターと発症時の閉経状況の調査を行い、また保存生体試料中の微量化学物質の分析法の改良を行った。

子宮内膜症の症例と対照について、血清中のイオキシシン類22種類、PCB36種類、有機塩素系農薬類11種類の濃度を測定したところ、すべての対象者において何らかの物質の蓄積が存在していた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka T, Takahashi Y, Kobayashi M, Sasaki S, Usuda M, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. Residuals of beta-hexachlorocyclohexane, dichlorodiphenyltrichloroethane, and hexachlorobenzene in serum, and relations with consumption of dietary components in rural residents in Japan. *Science Total Environ* 2002;286:119-127.

Hanaoka T, Nair J, Takahashi Y, Sasaki S, Bartsch H, Tsugane S. Urinary level of 1,N6-ethenodeoxyadenosine, a marker of oxidative stress is associated with w6-polyunsaturated fatty acid intake in postmenopausal Japanese women. *Int J cancer* 2002;100:71-75.

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occup Environ Med* 2002; 59: 625-628.

Hanaoka T, Yamano Y, Pan G, Hara K, Ichiba M, Zhang J, Zhang S, Liu T, Li L, Takahashi K, Kagawa J, Tsugane S.

Cytochrome P450 1B1 mRNA levels in peripheral blood cells and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese coke oven workers. *Science Total Environ* 2002; 296: 27-33.

Hara M, Sobue T, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Smoking and risk of premature death among middle-aged Japanese: ten-year follow-up of the Japan public center-based prospective study on cancer and cardiovascular disease (JPHC Study) Cohort I. *Jpn J Cancer Res.* 2002;93:6-14.

Hara M, Sasaki S, Sobue T, Yamamoto S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Comparison of cause-specific mortality between respondents and nonrespondents in a population-based prospective study: ten-year follow-up of JPHC Study Cohort I. *J Clin Epidemiol.* 2002;55:150-156.

Tsugane S, Sasaki S, Tsubono Y for the JPHC Study Group. Under and Over-weight Impact on Mortality among Middle-aged Japanese Men and Women: a Ten-year Follow-up of JPHC Study Cohort I. *Int J Obesity* 2002;26:529-537.

Sobue T, Yamamoto S, Hara M, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Cigarette smoking and subsequent risk of lung cancer by histologic type in middle-aged Japanese men and women: the JPHC Study. *Int J Cancer.* 2002;99: 245-251.

Takashima Y, Yoshida M, Yoshinaga A, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Usefulness of the recall-based self-report as a means of case definition in epidemiological studies on senile cataracts.

Jpn J Health Human Ecology
2002 ;68:43-53.

Nishimoto IN, Hamada GS, Kowalski LP, Gama Rodrigues JJ, Iriya K, Sasazuki S, Hanaoka T, Tsugane S for the Sao Paulo - Japan Cancer Project Gastric Cancer Study Group. Risk factors for stomach cancer in Brazil (I): a case-control study among non-Japanese Brazilians in Sao Paulo. Jpn J Clin Oncol 2002;32:277-283.

Hamada GS, Kowalski LP, Nishimoto IN, Gama Rodrigues JJ, Iriya K, Sasazuki S, Hanaoka T, Tsugane S for the Sao Paulo - Japan Cancer Project Gastric Cancer Study Group. Risk factors for stomach cancer in Brazil (II): a case-control study among Japanese Brazilians in Sao Paulo. Jpn J Clin Oncol 2002;32:284-290.

Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Cigarette smoking, alcohol consumption, and subsequent gastric cancer risk by subsite and histologic type. Int J Cancer 2002;101:560-566.

Kataoka H, Nishioka S, Kobayashi M, Hanaoka T, Tsugane S. Analysis of mutagenic heterocyclic amines in cooked food samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector. Environ Contam Toxicol 2002;69:682-689.

Kobayashi M, Tsubono Y, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S for JPHC Study Group. Vegetables, fruit, and risk of gastric cancer in Japan: a 10-year follow-up of the JPHC Study Cohort I. Int J Cancer 2002;102:39-44.

Kobayashi M, Hanaoka T, Nishioka S, Kataoka H, Tsugane S. Estimation of dietary HCA intakes in a large-scale

population-based prospective study in Japan. Mut Res 2002;506-507:233-241.

Kim MK, Sasaki S, Sasazuki S, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. Lack of long-term effect of vitamin C supplementation on blood pressure. Hypertension 2002;40:797-803.

Hara M, Sasaki S, Tsugane S for the JPHC Study Group. Effect of smoking on the association between alcohol consumption and cancer mortality among middle-aged Japanese men: JPHC Study Cohort I. IARC Sci Publ 2002;156:165-168.

2. 学会発表

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. SCOPE/IUPAC International Symposium on Endocrine Active Substance, Nov.17-21,2002. Yokohama-Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当せず