

<p>(3) 対象者に理解を求め、同意を得る方法 口頭または書面（同意説明書の英語および日本語の翻訳文を添付）による。</p> <p>(4) 研究結果の被験者への告知について 被検者個人に対する結果返却、したがって告知は行わない。ただし、本研究によって得られた分析結果は疾患予防に有用な情報をもたらすと考えられるため、フィールド調査総括者から工場の担当医（産業医）に報告される。その際には個人の情報は報告されない。また、研究の結果、危険要因や効果的な予防方策が明かとなった場合には、論文出版等を通して社会に還元する。</p> <p>(5) 被験者から採取した生体試料の取り扱いについて（保管・廃棄方法など） 血清採取用採血管 1 本への静脈血採血 1 回と採尿 45ml を行った後、血液については速やかに血清の分離・分注を行い、分析まで-70℃で保存する。生体試料（分析の残りを含む）は、匿名化して遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站環境流行病学部門および国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部に冷凍保存する。目的を達した後は専門業者を通じて廃棄する。</p> <p>(6) 被験者から採取した生体試料の目的外利用について 将来の科学進歩が本研究の目的達成を助けると考えられた場合、例えば、現時点では想定し得なかったり、現時点の技術では測定できないような内分泌攪乱化学物質の健康影響の指標が発見・開発された場合には、利用することがある。ただし、本研究の本来の目的以外の利用は行わない。</p>
<p>7 考えられる被験者への危険性及び不利益並びにそれらが生じた場合の措置方法 参加を承諾した被験者には一作業シフト最終作業終了後に血清採取用採血管 1 本への静脈血採血 1 回と採尿 45ml を実施する。被験者への負担は 1 回の静脈採血の穿刺の痛み、および調査に協力する際に時間を割くことである。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ため、差別等の不利益は生じない。万一、予想できない事態が生じた場合には実施責任者と相談しながら中国側フィールド調査総括者が工場の産業医と共同して原因究明と対応に当る。最終的には実施責任者が責任を負う。</p>
<p>8 医学からみた客観的意義 EDC の人への健康影響の有無を評価し、健康を脅かす可能性のある化学物質への対応策を検討するためには疫学研究の知見が必須である。しかし、現時点で疫学研究からの知見は世界的にほとんどない。体内の内分泌環境が関係すると考えられている疾患については、アジア人の疾患罹患状況、内因性ホルモンのレベル、大豆など植物由来のエストロゲン摂取量、遺伝的素因など、交絡要因となり得る要因が西欧諸国と大きく異なるため、EDC 曝露による健康影響が存在するか否かをアジア人を対象とした疫学研究で研究することは極めて重要である。疫学研究によって、社会で現実的に人が曝露しているレベルでの人への健康影響、さらに曝露レベルと健康影響との間の量-反応関係に関して、より質の高い科学的知見が得られることが期待される。</p>
<p>9 研究の費用 本研究は、主として、平成 14 年厚生労働省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）「内分泌攪乱化学物質の健康影響に関する疫学研究」によって行われる。また、一部は共同研究者のその他の研究費によって行われる。</p>
<p>10 緊急時の連絡先 研究実施責任者 産業医科大学産業生態科学研究所環境疫学研究室 高橋 謙 (093) 601-7324 ktaka@med.uoeh-u.ac.jp</p>
<p>11 その他 特になし</p>

注：※印は記入しないこと

2003年1月13日第1版

「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による
成人男性の内分泌系への影響に関する研究」

研究プロトコール

産業医科大学産業生態科学研究所環境疫学講座

遼寧省疾病予防管理センター環境流行病学部門

国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部

研究プロトコール

1. 調査名

「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の内分泌系への影響に関する研究」

2. 背景

内分泌かく乱化学物質（以下、EDC）の人への健康影響の有無を評価し、健康を脅かす可能性のある化学物質への対応策を検討するためには、疫学研究の知見が必須である。しかし、疫学研究からの知見は世界的にほとんどないのが実情である。体内の内分泌環境が関係すると考えられている疾患については、アジア人の疾病罹患状況、内因性ホルモンのレベル、大豆など植物由来のエストロゲンの摂取量、遺伝的素因など、交絡要因となり得る要因が西欧諸国と大きく異なるため、EDC曝露による健康影響が存在するか否かをアジア人を対象とした疫学研究で検証する事は、極めて重要である。疫学研究によって、社会で現実には人が曝露しているレベルでの人への健康影響、さらに曝露レベルと健康影響との間の量-反応関係に関して、より質の高い科学的知見がられることが期待される。

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のが特徴である。しかし、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ほとんどない。

3. 目的

工業材料として大量に使用されているビスフェノールAおよびフタル酸エステル類の、男性体内ホルモン環境への影響を、中国の工場でEDCに曝露されている作業員集団について、横断面研究で検証する。

4. 調査研究者及び協力者の役割

高橋謙（産業医大産業生態科学研究所環境疫学講座）：

研究の総括、データ解析

潘国偉、張久松（遼寧省疾病予防管理センター疫学部門）：

フィールド調査の総括（曝露情報収集）、データ解析

花岡知之（国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部）：

フィールド調査（曝露情報収集）、実験室分析（血清中ゴナドトロピン、性ホルモン類の分析）、データ解析

原邦夫（労働科学研究所環境リスクマネジメント研究グループ）：

フィールド調査（曝露情報収集）、実験室分析（尿中ビスフェノール A、フタル酸エステル類の代謝物の分析）

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）：

研究デザインおよび統計解析に関する助言

この他、実験室分析に関して数名の研究者が関わることもありうる。

5. 研究費

本研究は、主として、平成 14 年厚生労働省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）「内分泌攪乱化学物質の健康影響に関する疫学研究」によって行われる。また、一部は共同研究者のその他の研究費によって行われる。

6. 対象と方法

(1) 研究デザイン；

日中共同での横断面研究。

(2) 対象者；

中国のエポキシ樹脂製造工場で原料であるビスフェノール A を取り扱う作業員約 100 名および同数の対照者、フタル酸エステル類の製造に従事する作業員約 60 名および同数の対照者、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。

(3) インフォームドコンセント；

本研究への参加について、書面または口頭によるインフォームドコンセントを得る（添付資料）。

(4) 調査項目

(a) 質問票調査：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（添付資料）

(b) 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代謝物分析（LC-MS 法および電気化学検出器 HPLC 法）

(c) 早朝空腹時（1シフトの初日以外の日）血清中ゴナドトロピン類およびテストステロン分析（RIA 法）

(5) サンプル採取方法；

尿は、一作業シフトの最終作業終了後に 45 mL 採取する。

採血は、血清採取用採血管 1 本に行う。その後、できるだけ速やかに、血清の分離・分注を行う。

これらは分析まで-70℃で保存する。

(6) サンプルの保存；

試料（分析の残りを含む）は、匿名化して遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站環境流行学部門および国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部に保存する。将来の科学進歩が本研究の目的達成を助けると考えられた場合、例えば、現時点では想定し得なかったり、現時点の技術では測定できないような内分泌攪乱化学物質の健康影響の指標が発見・開発された場合には、利用することがある。ただし、本研究の本来の目的以外の利用は行わない。

(7) 対象者への利益、不利益；

対象者が本研究に参加する事による直接的な利益はない。

対象者への負担は 1 回の静脈採血の穿刺の痛み、および調査に協力する際に時間を割くことである。

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ため、差別等の不利益は生じない。

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。フィールド調査総括者（中国側共同研究者）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。

(9) 結果報告について；

本研究によって得られた分析結果は疾患予防に有用な情報をもたらすと考えられるため、フィールド調査総括者から工場の担当医（産業医）に報告され、利用されることがある。ただし、個人の情報は報告されない。研究の結果、危険要因やより良い予防方策が明らかとなった場合には、論文出版等を通して社会に還元する。個人に対する結果返却は行わない。

(10) 調査期間；

2002 年 2 月 1 日から 2003 年 3 月 31 日。

(11) 記録およびサンプルの管理について；

説明文書及び同意文書（添付資料）は遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站環境流行病学部門で保管する。個人を特定できるリストは中国側共同研究者が保管する。調査データと生体サンプルは遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站環境疫学部門および国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部（血清、尿）で厳重に保管される。

7. 参考文献

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

添付資料

- (1) 説明・同意文書
- (2) 質問票

備考：(1) (2) とも中国語に翻訳して使用します。

添付書類(1)

「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の内分泌系への影響に関する研究」

調査の説明と同意書

私共は「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の内分泌系への影響に関する研究」を実施することになりました。以下の内容についてご理解頂き、ご協力頂ける場合には、自署によるサインをお願いいたします。

遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站

環境疫学部門 潘国偉 医師

◆研究の目的

私共は環境化学物質と体内の内分泌環境（ホルモン）との関連を調べています。本研究は、ビスフェノールAやフタル酸エステル類の曝露を受けている職域集団を対象に、尿中の化学物質代謝物と血液中のホルモンの分析を行い、これらの化学物質の影響を明らかにし、健康障害予防に貢献することを目的とする中日共同学術研究です。

◆参加に際してのお願い

■質問票調査、採尿、採血を行います。

■尿中の化学物質の代謝物の分析を行います。

■血液中のホルモン類の分析を行います。

■残ったサンプル（尿、血清）は遼寧省疾病管理センター公衆衛生防疫站環境疫学部門に厳重に保存され、将来同じ目的のために再度利用される可能性があります。

■「採血時の針を刺すときの痛み」と「調査のために時間を割いて頂くこと」が、あなたが研究に参加することによる不利益です。研究に参加することによる直接的な利益はありませんが、研究の成果は公表し、広く社会に還元いたします。

■調査の結果は集団として解析されます。あなたの情報が外部に漏れたり、調査以外の目的に使われることはありません。あなたのサンプルの分析結果が第三者に報告されることもありません。

■調査への参加は拒否することができます。いったん同意した後でも、いつでも同意を撤回できます。

■参加されない場合にもなんら不利益を受けることはありません。

私は「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の内分泌系への影響に関する研究」について説明を受けました。これを十分に理解しましたので、

参加に同意します

サンプル保存に同意します

年 月 日

氏名（自署）

Questionnaire For EDC Study

ID: _____

Part One: General Information

Name: J _____ Birthday: ___ Y ___ M ___ D Weight: _____ Kg Height: _____ cm

Plant: _____ Workshop: _____

Telephone: _____

Marriage status:

(1) Unmarried (2) Married Age _____ (3) Divorce Age _____ (4) Lost Age _____

How many children do you have? _____

How old are you when the children were born?

First child: _____ Second child: _____ Third child: _____ Fourth child: _____

Are you suffering any serious or chronic disease now? (1) Yes (2) No

Disease 1: _____ Disease 2: _____

Disease 3: _____ Disease 4: _____

Have you ever been diagnosed as sterility by doctor? (1) Yes (2) No

Has your wife ever been diagnosed as sterility by doctor? (1) Yes (2) No

Part Two: Occupational History

Please recall all the jobs you have experienced over 1 year in your working life.

Order	Year/month Start	Year/month End	Plant	Workshop	Job	Activity	Chemicals used/exposed
Current
2
3
4
5

Detailed description of your current job and responsibilities:

How many hours do you work actually every working day for the current job? _____

Do you take personal protective matters while you are working? 1) often 2) sometimes 3) never

What do you take: 1) work clothes 2) glove 3) respirator 4) mask 5) others _____

Part Three: Smoking

Have you ever smoked continuously more than 6 month? 1) Yes 2) No

Are you smoking now? 1) Yes 2) No

On average, how many cigarettes do you smoke per day? _____

How old are you when you started smoking? _____

Have you stopped smoking now? 1) Yes 2) No

How old are you when you stopped smoking successfully? _____

Part Four: Drinking

Do you drink now? 1) Yes 2) No

How many years have you drunk? _____

Please recall the frequency and amount of alcohol drunk

Alcohol	Almost not	days/week	Amount
beer	bottle/day
spirit	gram/day
wine	gram/day

Part Five: Others

Please recall the frequency and amount of consumption of PET bottle water/tea, canned coffee, soybean product and usage of plastic tableware.

Materials	Almost not	days/week	Amount
PET bottle water/tea	bottle/day
Canned coffee	can/day
Soy bean product	gram/day
Plastic tableware	times/day

Part Six: Quality of the interview

(1) excellent (2) good (3) not bad (4) bad

Time of the interview: _____ minutes

Date of the interview: _____

Signature of the interviewer: _____

2003年1月13日第1版

「关于职业性内分泌扰乱化学物质暴露
对成年男性内分泌系统影响的研究」

研究计划

产业医科大学产业生态科学研究所环境流行病学研究室

辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室

国立癌中心研究所支所临床流行病学研究部门

1. 名称

「关于职业性内分泌扰乱化学物质暴露对成年男性内分泌系统影响的研究」

2. 背景

为了评价内分泌扰乱化学物质（以下简称EDC）对人体健康的影响，探讨对可能危害健康的化学物质的对策，有必要进行流行病学研究。但是，目前有关这方面的研究世界上几乎未见报道。关于与机体内分泌环境相关的疾病，在亚洲人中，其患病状况、内在激素水平、由大豆等植物摄取的雌激素的量、遗传因素等交互因子与西欧各国有很大差别。因此，以亚洲人为对象，应用流行病学研究方法，探讨EDC暴露有无健康影响至关重要。通过流行病学研究，了解现实暴露水平对人体健康的影响，并阐明其剂量反应关系是当前亟待开展的课题。职业性化学有害物质暴露的特点是暴露水平通常高于一般的环境暴露，健康影响易于被观察到。然而，有关职业性EDC，特别是双酚A、邻苯二甲酸酯类暴露的研究无论国内外几乎未见报道。

3. 目的

以中国工场EDC暴露的作业工人为对象，采用横断面研究设计，探讨作为工业材料被大量使用的双酚A、邻苯二甲酸酯类化合物对男性体内激素环境的影响。

4. 研究者、协作者和分担

高桥谦 (产业医科大学产业生态科学研究所环境流行病学研究室)

研究综括，资料分析

潘国伟、张久松 (辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室)

现场调查负责 (暴露情报收集)、资料分析

花冈知之 (国立癌中心研究所支所临床流行病学研究部门)

现场调查 (暴露情报收集)、实验室分析 (血清促性腺激素、性激素类的分析)、资料分析

原绑夫 (劳动科学研究所危险因素管理研究组)

现场调查 (暴露情报收集)、实验室分析 (尿中双酚A、邻苯二甲酸酯类代谢产物分析)

津金昌一郎 (国立癌中心研究所支所临床流行病学研究部门)

研究设计及统计分析指导

其他 (参加实验室分析研究人员若干名)

5. 研究经费

本研究主要由平成14年厚生劳动省厚生劳动科学研究费补助金 (食品·化学物质安全性综合研究事业)「关于内分泌扰乱化学物质健康影响的研究」资助。此外，一部分由共同研究者的其他研究经费资助。

6. 对象和方法

(1) 研究设计

日中共同实施的横断面研究

(2) 研究对象

选择中国某环氧树脂生产工厂接触双酚A的作业者、对照者各100名和从事邻苯二甲酸酯类制造的作业者、对照者各60名为研究对象。暴露组与对照组之间按性别、年龄、吸烟状况进行匹配。与所有的参加者均有书面或口头协议。

(3) Informed Concert

与所有的参加者均有书面或口头协议（另附）。

(4) 调查项目

- (a) 问卷调查：包括工作经历、作业年数相关事项，生活环境，吸烟等生活习惯，生育史等（另附）。
- (b) 作业结束时（第一天除外）尿中双酚 A，邻苯二甲酸酯类代谢物的分析（LC-MS 法和电化学检测器 HPLC 法）
- (c) 早晨空腹时（第一天除外）血清中促性腺激素及睾酮的分析（RIA 法）

(5) 采样方法

尿样于一轮倒班结束后收集，采样量约 45ml。

血样用一支血清用采血管采取后，尽快进行血清分离、分装，-70℃保存至分析测定。

(6) 样品保存

样品（包括分析剩余样品）均匿名化保存于辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室和国立癌中心研究所支所临床流行病学研究部门。将来，随着科技的进步，有助于本研究目标的实现，例如：现时点没有考虑到的或用现在的实验技术尚不能检测的健康影响指标被发现、开发时，可能会被重新使用。但决不会用于本研究以外的目的。

(7) 调查对象的利益和损失

调查对象不能从本研究中获得直接利益。

本研究给调查对象带来的负担有采血时的针刺痛和在协助调查时花费时间。

本研究内容不包括生殖细胞系列的基因多态性调查，因此不会使调查对象受到被歧视等伤害。生物标本的分析在收集全部样品后匿名化进行，检测人员不能将其特定为某个人。现场调查的负责人（中方共同研究者）保证担负起对调查名单严格管理的责任。其他的参研人员没有可能了解调查对象的个人情报。本研究得到的全部资料将被作为一个整体进行分析，所以不会发生个人资料被公开和侵害个人隐私的事情。

(8) 结果报告

由于本研究的分析结果能为疾病的预防提供有意义的情报，所以，现场调查负责人会将其提交给工厂的工业卫生科医生，但不提交个人情报方面的资料。通过研究，对危险因素，预防对策有明确认识时，将以发表论文等方式反馈给社会，结果不返回给个人。

(9) 调查时间

2002 年 2 月 1 日至 2003 年 3 月 31 日

(10) 资料和样品的管理

说明材料和同意书（另附）由辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室保管。调查名单由中方共同研究人员保管。调查资料和生物标本（血清，尿）由辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室和国立癌中心研究所支所临床流行病学研究部门严格保管。

7. 参考文献

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

[关于职业性内分泌扰乱化学物质对成年男性内分泌系统影响的研究]

调查说明书与同意书

我们决定实施题目为[关于职业性内分泌扰乱化学物质对成年男性内分泌系统影响的研究]的调查。对于以下内容，如果您能给予理解与协助，请您在下面签字。

辽宁省疾病预防控制中心公共卫生防疫站环境流行病学研究室

潘国伟 医师

◆ 研究目的

我们正在就环境中化学物质与人体内分泌环境（即激素）的关系进行调查。本研究是以双酚 A 和邻苯二甲酸酯类化学物质暴露的职业人群为对象，目的是通过测定尿中化学物质的代谢产物和血中的激素水平，阐明其对健康的影响，为制定有效的预防措施提供依据。本研究为中日共同学术研究。

◆ 对参加者的说明

- 问卷调查，采尿、采血
- 尿中化学物质代谢物的分析
- 血中激素类分析
- 剩余样品（尿、血清）由辽宁省疾病预防控制中心环境流行病学研究室严格保管，将来可能会用于相同目的的研究。
- 采血时的针刺痛和调查时的时间花费会给您带来不便，参加本调查不会给您带来直接的利益，研究结果将以论文发表等形式反馈给社会。
- 对调查结果将作为一个整体进行分析，您的个人情报不会外漏或被用于其他目的。您的样品分析结果不会提交给第三者。
- 您可以拒绝参加，即使在您同意后，也可随时撤回。
- 不参加也不会有任何损失。

我已接受了关于[关于职业性内分泌扰乱化学物质对成年男性内分泌系统影响的研究]的说明，并已充分地理解。

- 同意参加
- 同意样品保存

年 月 日

姓名（签字）

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

疫学研究における個人の素因の評価に関する研究

分担研究者 加藤 貴彦 宮崎医科大学 公衆衛生学講座 教授

研究要旨 子宮内膜症発症における個人差の要因を解明するため、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遺伝子多型の関連性について検討した。不妊症治療を目的として受診した 20-45 歳の未経産婦の中から、腹腔鏡検査によって診断された 59 例の子宮内膜症患者群と 86 例の対照群について症例対照研究を行い、被験者の末梢白血球よりゲノム DNA を抽出し、遺伝子多型を PCR-RFLP 法にて分析した。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 *Pvu II*, *Xba I* 遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、統計学的に有意なオッズ比は認められなかった。現在、被験者血清中、尿中の内分泌かく乱物質の測定を開始しており、内分泌かく乱物質の暴露量と遺伝子多型との関連性について解析する予定である。

A. 研究目的

子宮内膜症の発生と増殖、進展には、卵巣ホルモンであるエストロゲンが大きく関与しており、卵巣ホルモンの周期的分泌に反応して、内膜症病巣は増殖し、出血を繰り返しながら、徐々に進行するものと考えられている。疫学的調査においても、子宮内膜症を有する女性は対照群と比較して初経年齢が若く、妊娠・分娩回数が有意に少ない、月経周期日数は有意に短いなど、月経回数の増加が本症の発生に関連することが報告されており、本症の発症はエストロゲン優位の内分泌環境に関連することがうかがわれる。かつては稀な疾患とされた本症も、近年では増加の一途をたどっていることが報告されているが、その要因の一つとして内分泌かく乱物質の関与の可能性が示唆されている。内分泌かく乱物質が影響を与え

るホルモン作用の1つとしてはエストロゲン様作用があり、微量のダイオキシンをアカゲザルに投与した動物実験においても、ダイオキシンが子宮内膜症の発症に関与ないし症状の進行を促進することが、報告されている。人においても子宮内膜症患者の血液中のダイオキシン濃度が、健常者より高いことが報告されており、ダイオキシン類による子宮内膜症発症との関与に注目がおかれている。

子宮内膜症の発症に関する内分泌かく乱物質の作用機構としてのモデルは、直接的なもの間接的なものが考えられている。ビスフェノール A、ノニルフェノール、フタル酸エステル、DDT などの化学物質は、直接エストロゲンレセプター(ER)に結合することによってエストロゲンと類似の反応がもたらされると考えられている(図 1)。また、ダイオキ

シン類やPCBなどの化学物質はアリール炭化水素レセプター(AhR)を介して薬物代謝酵素を誘導し、誘導された薬物代謝酵素がエストロゲンの生成・代謝に関与し、その結果エストロゲンの量的、質的変動をもたらす内分泌をかく乱するという間接的なものが考えられている(図2)。現在これらの薬物代謝酵素や様々なレセプターの遺伝子に塩基レベルでの変異や欠損、いわゆる遺伝子多型が報告され、その発現量や活性に影響を及ぼしていることが分かってきた。そこで今回我々は、子宮内膜症発症に関し、薬物代謝酵素やレセプターの遺伝子多型が内分泌かく乱物質の作用に影響を及ぼす可能性について疫学的に検討した。

B. 研究方法

症例および対照例は東京慈恵会医科大学産婦人科および関連病院で収集した。症例は不妊症治療を目的として受診した20-45歳の未経産婦で、腹腔鏡検査によって子宮内膜症 Stage II以上と診断された(AFS's 1985の基準に従う)59例である。対照例は、不妊症治療を目的として受診した20-45歳の未経産婦で、腹腔鏡検査によって子宮内膜症 Stage I以下と診断された者か、不妊の原因が男性側にあることが判明している者の86例であった。同意の取れた被験者の末梢白血球より、ゲノムDNAを抽出し、遺伝子多型をPCR-RFLP法にて分析した。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ている。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

ダイオキシン類はAhレセプターと結合し、核内へ移行後 AhR nuclear translocator (Arnt)と二量体を形成する。このヘテロ二量体は、CYP1A1、1B1 遺伝子上流の xenobiotic responsive element (XRE)に結合し転写を活性化することが知られている(図2)。また、誘導された CYP1A1 はエストラジオールを2位水酸化し、CYP1B1 はエストラジオールを4位水酸化する。水酸化されたエストラジオールはカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ(COMT)により不活性化・代謝される(図3)。したがって CYP1A1、1B1 は内分泌かく乱物質による疾病発症のバイオマーカーとしての意義やエストロゲン関連疾病発症の個体差要因の1つとして考えられている。また CYP1A1、1B1 には遺伝子多型が存在し子宮内膜症発症に関する内分泌かく乱物質による作用に影響を及ぼす可能性が考えられている。そこで、今回我々は CYP1A1、CYP1B1 の遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について解析した。

(1) シトクローム P4501A1 (CYP1A1) 遺伝子多型

CYP1A1 遺伝子の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について分析した。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

ケース群に 45.8%、13.6%、コントロール群に 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ケース群に 30.5%、5.1%、コントロール群に 26.7%、7.0%認められた。CYP1A1 遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、統計学的に有意なオッズ比は認められなかった(Table 1)。

(2) シトクローム P4501B1 (CYP1B1) 遺伝子多型

CYP1B1 遺伝子のコドン 432 が Leu から Val へ置換した遺伝子多型について分析を行った。Leu⁴³²_{Leu}、Leu⁴³²_{Val}、Val⁴³²_{Val} 多型の割合はケース群で 76.3%、22.0%、1.7%であり、コントロール群で 67.4%、31.4%、1.2%であった。CYP1B1 遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、統計学的に有意なオッズ比は認められなかった(Table 1)。

現在 CYP1A1、1B1 遺伝子多型とそれぞれの血中 mRNA レベルとの関連性、CYP1A1、1B1 遺伝子多型と子宮内膜症発症に関する内分泌かく乱物質との関連性について解析中である。

グルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST) は、グルタチオンを抱合体として用い、多数の薬剤、生体外化学物質の抱合、解毒に関与する酵素である。GST には多数の分子種があることが知られ、現在までに α 、 μ 、 π 、 θ クラスに遺伝子多型が存在することが明らかとなっている。 μ 、 θ クラスには酵素活性が欠損する遺伝子多型である GSTM1、T1 欠損型が存在し、子宮内膜症発症に関していくつかの報告がある。その中で、

Baranova らは子宮内膜症を呈するフランス人女性の GSTM1 欠損型はコントロール群に比べ有意に多いことを報告している (76.9% vs 45.8%、 $P=0.0001$)。そこで、今回我々も GSTM1、T1 の遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について解析した。

(3) グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST)M1、T1 遺伝子多型と子宮内膜症発症に関する分子疫学的解析

GSTM1 欠損型の頻度はケースとコントロールにてそれぞれ、50.8%、55.8%であり、GSTT1 欠損型の頻度はケースとコントロールにてそれぞれ、52.5%、52.3%であった。GSTM1、T1 遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、統計学的に有意なオッズ比は認められなかった(Table 1)。

現在 GSTM1、T1 遺伝子多型と子宮内膜症発症に関する内分泌かく乱物質との関連性について解析中である。

ダイオキシン類以外の多くの内分泌かく乱物質は、直接エストロゲンレセプター (ER) に結合することによってエストロゲンと類似の反応をもたらす。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。そこで今回我々も ER α *Pvu II*、*Xba I* の遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について解析した。

(4) エストロゲンレセプター (ER) α *Pvu II*、*Xba I* 遺伝子多型と子宮内膜症発症に関

する分子疫学的解析

ER α *Pvu II* 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ケース群に 50.8%、33.9%、コントロール群に 47.7%、32.6%認められた。ER α *Xba 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ケース群に 33.9%、61.0%、コントロール群に 33.7%、64.0%認められた。ER α *Pvu II*、*Xba I* 遺伝子多型と子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、統計学的に有意なオッズ比は認められなかった(Table 1)。

D. 考察

今回われわれは、腹腔鏡検査にて診断した子宮内膜症患者群 59 例と同じく腹腔鏡検査にて子宮内膜症を認めないコントロール群 86 例に対し症例対照研究を行い、CYP1A1、CYP1B1、GSTM1、T1、ER α *Pvu II*、*Xba I* 遺伝子多型を解析した。子宮内膜症発症との関連性について疫学的に解析したが、どの遺伝子多型においても統計学的に有意なオッズ比は認められなかった。これまで子宮内膜症の発症に関して、薬物代謝酵素やホルモンレセプターの遺伝子多型との関連性についていくつかの報告がある。CYP1A1、CYP17、GSTM1 遺伝子多型では関連性が認められず、CYP19、GSTM1、ER α *Pvu II*、プロゲステロンレセプター遺伝子多型ではバリエーションタイプがリスクを上げる、NAT2 遺伝子多型について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それぞれある。しかし、子宮内膜症発症に関し、内分泌かく乱物質の暴露量と遺伝子多型の関連性について解析した報告はこれまでになく、われわれは現

在、内分泌かく乱物質の暴露量と遺伝子多型の関連性について解析しているところである。この解析の結果、日本人における内分泌かく乱物質の暴露による子宮内膜症発症の個人差の要因が解明されるとともに、個人に応じた子宮内膜症発症に対する健康管理が可能となると考えられる。

E. 結論

子宮内膜症発症との関連性について CYP1A1、CYP1B1、GSTM1、T1、ER α *Pvu II*、*Xba I* 遺伝子多型を疫学的に解析したが、どの遺伝子多型においても統計学的に有意なオッズ比は認められなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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)

2. 学会発表

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.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
該当せず

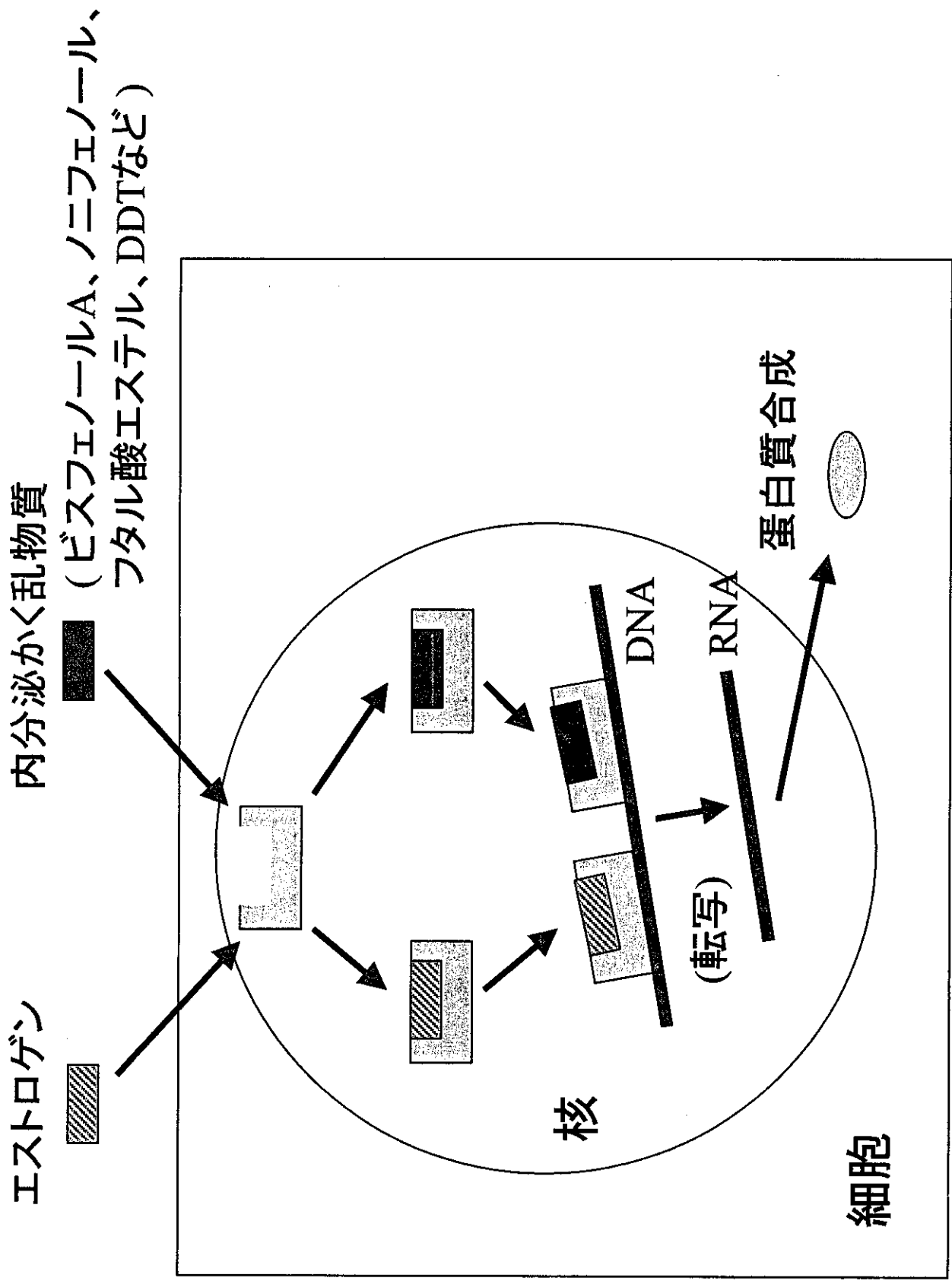


図1 内分泌かく乱物質の直接的作用機序(環境庁 SPEED'98より)