

性不妊症のリスクがオッズ比で 3.71 倍 (95%信頼区間 1.05 - 13.15)、調整オッズ比で 4.25 倍 (95%信頼区間 1.09 - 16.60) と上昇した (Table 6)。

3. GSTM1

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子多型が Positive の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が Positive の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 3.13 倍 (95%信頼区間 1.12 - 8.75)、調整オッズ比で 3.84 倍 (95%信頼区間 1.22 - 12.09) と上昇した (Table 6)。

4. ER α Xba I

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子多型が xx の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が xx の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 2.03 倍 (95%信頼区間 0.82 - 5.02)、調整オッズ比で 3.35 倍 (95%信頼区間 1.12 - 9.98) と上昇した (Table 7)。

5. ER β Alu I

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子多型が AA の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が AG, GG の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 2.89 倍 (95%信頼区間 1.04 - 7.97)、調整オッズ比で 4.41 倍 (95%信頼区間 1.35 - 14.38) と上昇した (Table 7)。

他の遺伝子多型では統計学的に有意な差は認められなかった。

ii) PCB 類

1. GSTM1

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子

多型が Positive の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が Positive の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 2.96 倍 (95%信頼区間 1.03 - 8.53)、調整オッズ比で 4.13 倍 (95%信頼区間 1.20 - 14.30) と上昇した (Table 8)。

2. ER β Rsa I

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子多型が rr の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が rr の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 2.33 倍 (95%信頼区間 0.81 - 6.73)、調整オッズ比で 9.37 倍 (95%信頼区間 1.99 - 44.20) と上昇した (Table 9)。

3. ER β Alu I

ダイオキシン類の暴露量が Low で遺伝子多型が AA の群を対照とした場合、暴露量が High で遺伝子多型が AG, GG の群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクがオッズ比で 1.94 倍 (95%信頼区間 0.69 - 5.47)、調整オッズ比で 4.7 倍 (95%信頼区間 1.22 - 18.07) と上昇した (Table 9)。

他の遺伝子多型では統計学的に有意な差は認められなかった。

D. 考察

(1) 子宮内膜症発症における個人差と遺伝的要因の関連性

遺伝子多型の存在が、薬物代謝酵素やレセプターの発現量・活性に影響を及ぼすことが知られている。子宮内膜症のリスクファクターでオッズ比の調整を行ったところ、ER β Alu I の遺伝子多型で G allele を持つ場合に子宮内膜症の発症リスクが低下した。

子宮内膜症と遺伝子多型の関連性を調べた研究では、これまでに ER α Pvu II や GSTM1 などの遺伝子多型で子宮内膜症の発症リスクが異なることが報告されている。今回の研究は比較的少数を対象としており、今後はさらに大規模な研究を行うことが望まれる。

(2) 内分泌攪乱物質と女性不妊症との関連性

内分泌攪乱物質による生殖障害として男性では精子数の減少が指摘されているが、女性不妊症との関連性は未だよくわかっていない。内分泌攪乱物質による女性不妊症の機序として、生殖細胞や免疫系への影響による直接的なものと子宮内膜症による間接的なものが考えられている。

Rierらはダイオキシン (2,3,7,8-TCDD) をアカゲザルに投与することによって、用量依存的に子宮内膜症が発生・増悪することを確認している。しかしこの実験では 25ppt と比較的大量のダイオキシンが投与されていること、サルと人では子宮内膜症の病態が異なることからこの結果を直ちに一般化することは不可能である。また、人体において通常検出されるレベルのダイオキシン濃度では生体内におけるエストロゲン様作用はそれほど大きくないと考えられる。

内分泌攪乱物質と女性不妊症との関連性ならびにその機序を解明する目的で、女性不妊症を子宮内膜症による群と子宮内膜症以外の機序による群の2つに分け、内分泌攪乱物質の暴露量による解析を行った。その結果、ダイオキシン類では暴露量が High の群で子宮内膜症を除く女性不妊症のリスクが 2.72 倍 (調整オッズ比) と上昇した。

その一方、PCB 類では統計学的に有意な差は認められなかった。これはダイオキシン類による女性不妊症の機序が子宮内膜症による間接的なものではなく、内分泌系や免疫系などを介した他の機序による直接的なものであることを示唆している。

今回の研究は産婦人科の不妊症外来を受診した女性を対象としており、いわゆる「健康な女性」をコントロール集団としていない。子宮内膜症の確定診断には侵襲的な検査が必要であり、「健康な女性」を対象とすることは事実上不可能である。バイアスの少ないコントロール集団をいかにして設定するかが今後の重要な課題といえる。

内分泌攪乱物質と女性不妊症との関連性について、現時点ではまだ証拠が不足しており結論をだすことはできない。今後の更なる研究の進展が待たれる。

(3) 内分泌攪乱物質に対する個人の感受性と遺伝要因の関連性

CYP1A1, CYP1B1 の誘導は受容体型転写因子である AhR によって制御されている。ダイオキシン類などの内分泌攪乱物質は AhR のリガントであり、CYP1A1, CYP1B1, GSTM1 を誘導することが知られている。内分泌攪乱物質は生殖系や免疫系など様々な機能に影響を及ぼすことが知られているが、これらの毒性発現メカニズムと薬物代謝酵素の誘導がどのような関連をもつかは現在のところわかっていない。

今回の研究ではダイオキシン類の暴露量が High の場合、CYP1A1 Ile-Val, CYP1B1 Codon432 バリエーションタイプと GSTM1 positive で子宮内膜症を除く女性不妊症のリスクが上昇した。また PCB 類の暴露量が High の場合、GSTM1 positive で子宮内膜

症を除く女性不妊症のリスクが上昇した。CYP1A1 Ile-Val, CYP1B1 Codon432 はバリエーションタイプで酵素の活性が上昇することが知られており、さらに GSTM1 positive も酵素の活性が正常なタイプである。

薬物代謝酵素は多くの場合、解毒的に機能しているが代謝的活性化によって生体に毒性を示す物質が生成されることがある。また GST は薬物の解毒酵素として作用するだけでなく、ストレス情報を核に伝達する c-Jun N-terminal Kinase (JNK) や Mitogen-activated protein kinase (MAPK) といったシグナル伝達系の調節因子としての機能を有している。

本研究では内分泌攪乱物質の暴露量が多く、薬物代謝酵素の活性が高いもので子宮内膜症を除く女性不妊症のリスクが上昇している。これらの結果は内分泌攪乱物質に対する個人の感受性の違いを明らかにすると同時に、薬物代謝酵素の誘導が女性不妊症に関与している可能性を示唆するものである。

内分泌攪乱物質の多くは ER を介してその作用を発現する。ダイオキシン類は AhR を介してその作用を発現するが、ダイオキシン類の結合した AhR と ER の相互作用が近年明らかにされている。

ER には C-terminal ligand binding domain と N-terminal transactivation domain の異なる 2 つのサブタイプ (ER α , ER β) が存在している。ER の遺伝子多型はレセプターの発現量やシグナル伝達機構、さらには内分泌攪乱物質との親和性に関与している可能性がある。

今回の研究ではダイオキシン類の暴露量

が High の場合、ER α Xba I xx, ER β Alu I の遺伝子多型で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクが上昇した。また PCB 類の暴露量が High の場合、ER β Rsa I rr, ER β Alu I の遺伝子多型で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクが上昇した。

これらの結果は、ER の遺伝子多型が内分泌攪乱物質のシグナル伝達機構や内分泌攪乱物質との親和性に関与している可能性を示唆している。ER の遺伝子多型と内分泌攪乱物質の分子生物学的な機構については、内分泌攪乱物質の作用機序ならびに個人の感受性差を明らかにしていく上で重要な研究課題と考えられる。

今後はさらにエストロゲン合成の律速酵素である CYP19, 17HSD1 やダイオキシン類の毒性発現に関与している AhR, ARNT, AhRR の遺伝子多型を解析する予定である。これらはエストロゲン代謝やダイオキシン類の毒性発現において最も重要な役割を担っており、内分泌攪乱物質の暴露量とあわせ興味深い知見が得られることが期待される。

内分泌攪乱物質として測定した農薬類 13 項目についても、遺伝子多型とあわせて解析を行っているところである。

E. 結論

子宮内膜症の発症と遺伝子多型との関連性を疫学的な手法を用いて解析した。CYP1A1, CYP1B1, COMT, GSTM1, GSTT1, CYP17, ER α , ER β の遺伝子多型について解析を行った結果、ER β Alu I の遺伝子多型で調整オッズ比が 0.35 倍と有意に低下した。

内分泌攪乱物質と女性不妊症との関連性を明らかにする目的で、女性不妊症集団を子宮内膜症による群と子宮内膜症以外の機序による群の2つに分け、内分泌攪乱物質の暴露量による解析を行った。その結果、ダイオキシン類の暴露量が多い群で子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクが高くなることを確認した。

さらに内分泌攪乱物質に対する個人の感受性と遺伝要因の関連性を明らかにする目的で、女性不妊症集団における内分泌攪乱物質の暴露量と遺伝子多型の関連性について解析を行った。ダイオキシン類ではCYP1A1, CYP1B1, GSTM1, ER α Xba I, ER β Alu Iで、PCB類ではGSTM1, ER β Rsa I, ER β Alu Iで遺伝子多型が子宮内膜症以外の機序による女性不妊症のリスクに関与し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

土谷雅紀, 今井博久, 中尾裕之, 黒田嘉紀, 加藤貴彦. 内分泌攪乱物質と子宮内膜症との関連性について. J UOEH 2003; 25 : 307-316

Tsukino H, Kuroda Y, Nakao H, Imai H, Inatomi H, Osada Y, Kato T. Cytochrome P450 (CYP) 1A2, sulfotransferase (SULT) 1A1, and N-acetyltransferase (NAT) 2 polymorphisms and susceptibility to

urothelial cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 2004 ;130:99-106

2. 学会発表

小林弥生, 早川享, 菅野さな枝, 崔星, 山本恵, 加藤貴彦, 平野靖史郎: ヒ素メチル化酵素Cyt19の遺伝子情報について. 日本薬学会, 2003. 3月, 大阪.

深津孝英, 山田泰司, 広川佳史, 杉村芳樹, 渡辺昌俊, 加藤貴彦, 白石泰三, 矢谷隆一: ステロイドホルモン関連遺伝子多型と前立腺発癌リスク, 第14回前立腺がんワークショップ, 2003. 9月, 東京.

渡辺昌俊, 深津孝英, 村田哲也, 矢谷隆一, 杉村芳樹, 加藤貴彦, 白石泰三: 日本におけるホルモン関連遺伝子多型と前立腺がんリスクの関連についての解析. 第62回日本癌学会, 2003. 9月, 名古屋.

丸山浩平, 根本越男, 田中剛, 依田聖, 加藤貴彦, 竹山春子, 松永是: バイオナノ磁性粒子を用いた全血からのTGF- β 1遺伝子SNP検出システムの開発. 日本化学会第18回生体機能関連化学部会・第7回バイオテクノロジー部会合同シンポジウム, 2003.10月, 熊本.

土谷雅紀, 中尾裕之, 今井博久, 加藤貴彦: 内分泌攪乱物質の暴露量の評価について. 統計数理研究所 医学・看護学分野における統計解析研究会, 2003. 11月, 宮崎.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当せず

Table 1 Polymorphisms of estrogen metabolizing genes and the risk of endometriosis

Polymorphism	Cases (n)	Controls (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
CYP1A1 Ile-Val Ile/Ile	35	54	1	1
Ile/Val, Val/Val	21	26	1.25 (0.61–2.55)	1.35 (0.61–2.95)
CYP1A1 Msp I TT	22	30	1	1
CT, CC	34	50	0.93 (0.46–1.87)	0.83 (0.38–1.82)
CYP1B1 Codon 432 Leu/Leu	42	53	1	1
Leu/Val, Val/Val	14	27	0.65 (0.31–1.40)	0.58 (0.24–1.39)
COMT Val/Val	32	37	1	1
Val/Met, Met/Met	24	43	0.65 (0.32–1.28)	0.49 (0.22–1.06)
GSTM1 Positive	28	46	1	1
Null	28	34	1.35(0.68–2.69)	1.55 (0.72–3.38)
GSTT1 Positive	30	41	1	1
Null	26	39	0.91 (0.46–1.81)	0.67 (0.30–1.49)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

Table 2 Polymorphisms of estrogen synthesizing gene and the risk of endometriosis

Polymorphism	Cases (n)	Controls (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
CYP17				
TT	17	16	1	1
CT, CC	39	64	0.57 (0.26–1.26)	0.63 (0.26–1.53)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

Table 3 Polymorphisms of estrogen receptor genes and the risk of endometriosis

Polymorphism	Cases (n)	Controls (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
ER α Pvu II				
pp	20	25	1	1
PP, Pp	36	55	0.82 (0.40–1.69)	0.81 (0.36–1.80)
ER α Xba I				
xx	35	51	1	1
XX, Xx	21	29	1.06 (0.52–2.14)	0.91 (0.42–1.99)
ER β Rsa I				
rr	26	37	1	1
RR, Rr	30	43	0.99 (0.50–1.97)	1.07 (0.50–2.29)
ER β Alu I				
AA	38	43	1	1
AG, GG	18	37	0.55 (0.27–1.12)	0.35 (0.15–0.79)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

Table 4 Serum levels of organochlorines in infertile women

Organochlorines	Mean serum levels (\pm SD)		P-Value
	Without endometriosis	Endometriosis	
Dioxins ^a	18.65 (\pm 7.35)	16.96 (\pm 6.68)	0.19
PCBs ^b	182.78 (\pm 81.41)	161.44 (\pm 53.53)	0.10

Dioxins^a : μ g TEQ/g lipids.

PCBs^b : ng/g lipids.

Table 5 Organochlorine exposure and the risk of female sterility

Organochlorine	Without endometriosis % (n)	Endometriosis % (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR* (95% CI)
Dioxins				
Low ^b	33	31	1	1
High ^c	44	21	1.97 (0.96–4.02)	2.72 (1.18–6.24)
PCBs				
Low ^d	37	27	1	1
High ^e	40	24	1.22 (0.56–2.47)	1.59 (0.67–3.74)

*ORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

^bDioxins Low : 3.40–17.27 μ g TEQ/g lipids.

^cDioxins High : 17.35–38.30 μ g TEQ/g lipids.

^dPCBs Low : 70.6–154.7ng/g lipids.

^ePCBs High : 157.7–407.3ng/g lipids.

Table 6 Risk of female sterility associated with Dioxins exposure and CYP1A1, CYP1B1, COMT, GSTM1, GSTT1 polymorphisms

Polymorphism	Without endometriosis (n)	Endometriosis (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR* (95% CI)
CYP1A1 Ile-Val				
Dioxins Low ^b Ile/Ile	23	16	1	1
Dioxins Low Ile/Val, Val/Val	10	15	0.46 (0.17-1.29)	0.37 (0.11-1.23)
Dioxins High ^c Ile/Ile	30	19	1.10 (0.47-2.59)	1.44 (0.51-4.05)
Dioxins High Ile/Val, Val/Val	14	2	4.87 (0.97-24.44)	7.78 (1.32-45.99)
CYP1A1 Msp I				
Dioxins Low ^b TT	10	10	1	1
Dioxins Low CT, CC	23	21	1.10 (0.38-3.15)	1.12 (0.32-3.91)
Dioxins High ^c TT	19	12	1.58 (0.51-4.93)	2.18 (0.51-9.24)
Dioxins High CT, TT	25	9	2.78 (0.87-8.87)	3.99 (0.94-16.96)
CYP1B1 Codon 432				
Dioxins Low ^b Leu/Leu	21	24	1	1
Dioxins Low Leu/Val, Val/Val	12	7	1.96 (0.65-5.89)	2.47 (0.64-9.51)
Dioxins High ^c Leu/Leu	31	17	2.08 (0.91-4.79)	2.57 (0.97-6.84)
Dioxins High Leu/Val, Val/Val	13	4	3.71 (1.05-13.15)	4.25 (1.09-16.60)
GSTM1				
Dioxins Low ^b Positive	18	18	1	1
Dioxins Low Null	15	13	1.15 (0.43-3.10)	0.86(0.26-2.80)
Dioxins High ^c Positive	25	8	3.13 (1.12-8.75)	3.84 (1.22-12.09)
Dioxins High Null	19	13	1.46 (0.56-3.82)	1.23 (0.42-3.62)
GSTT1				
Dioxins Low ^b Positive	17	16	1	1
Dioxins Low Null	16	15	1.00 (0.38-2.68)	0.81 (0.23-2.78)
Dioxins High ^c Positive	22	12	1.73 (0.65-4.60)	1.94 (0.61-6.17)
Dioxins High Null	22	9	2.30 (0.82-6.47)	3.09 (0.93-10.23)

*ORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

^bDioxins Low : 3.40-17.27pg TEQ/g lipids.

^cDioxins High : 17.35-38.30pg TEQ/g lipids.

Table 7 Risk of female sterility associated with Dioxins exposure and ER polymorphisms

Polymorphism	Without endometriosis (n)	Endometriosis (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
ERα Pvu II				
Dioxins Low ^b pp	9	11	1	1
Dioxins Low PP, Pp	24	20	1.47 (0.51-4.24)	1.37 (0.42-4.48)
Dioxins High ^c pp	15	8	2.29 (0.67-7.84)	3.04 (0.76-12.14)
Dioxins High PP, Pp	29	13	2.73 (0.91-8.17)	3.01 (0.84-10.78)
ERα Xba I				
Dioxins Low ^b xx	19	18	1	1
Dioxins Low XX, Xx	14	13	1.02 (0.38-2.75)	1.35 (0.44-4.12)
Dioxins High ^c xx	30	14	2.03 (0.82-5.02)	3.35 (1.12-9.98)
Dioxins High XX, Xx	14	7	1.90 (0.62-5.77)	3.65 (0.94-14.21)
ERβ Rsa I				
Dioxins Low ^b rr	18	13	1	1
Dioxins Low RR, Rr	15	18	0.60 (0.22-1.62)	0.45 (0.14-1.44)
Dioxins High ^c rr	18	11	1.18 (0.42-3.33)	2.57 (0.68-9.72)
Dioxins High RR, Rr	26	10	1.88 (0.68-5.21)	2.19 (0.71-6.79)
ERβ Alu I				
Dioxins Low ^b AA	20	22	1	1
Dioxins Low AG, GG	13	9	1.59 (0.56-4.51)	2.54 (0.75-8.55)
Dioxins High ^c AA	23	13	1.95 (0.78-4.88)	2.70 (0.91-8.08)
Dioxins High AG, GG	21	8	2.89 (1.04-7.97)	4.41 (1.35-14.38)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

^bDioxins Low : 3.40-17.27pg TEQ/g lipids.

^cDioxins High : 17.35-38.30pg TEQ/g lipids.

Table 8 Risk of female sterility associated with PCBs exposure and CYP1A1, CYP1B1, COMT, GSTM1, GSTT1 polymorphisms

Polymorphism	Without endometriosis (n)	Endometriosis (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
CYP1A1 Ile-Val				
PCBs Low ^b Ile/Ile	25	18	1	1
PCBs Low Ile/Val, Val/Val	12	9	0.96 (0.33-2.76)	0.69 (0.19-2.55)
PCBs High ^c Ile/Ile	28	17	1.19 (0.51-2.79)	1.56 (0.55-4.46)
PCBs High Ile/Val, Val/Val	12	7	1.23 (0.41-3.75)	1.76 (0.49-6.32)
CYP1A1 Msp I				
PCBs Low ^b TT	13	11	1	1
PCBs Low CT, CC	24	16	1.27 (0.46-3.53)	1.34 (0.41-4.33)
PCBs High ^c TT	16	11	1.23 (0.41-3.74)	2.23 (0.47-10.59)
PCBs High CT, TT	24	13	1.56 (0.55-4.46)	2.12 (0.54-8.37)
CYP1B1 Codon 432				
PCBs Low ^b Leu/Leu	23	21	1	1
PCBs Low Leu/Val, Val/Val	14	6	2.13 (0.69-6.56)	2.66 (0.70-10.06)
PCBs High ^c Leu/Leu	29	19	1.39 (0.61-3.19)	1.74 (0.64-4.72)
PCBs High Leu/Val, Val/Val	11	5	2.01 (0.60-6.74)	3.2 (0.74-13.83)
GSTM1				
PCBs Low ^b Positive	20	18	1	1
PCBs Low Null	17	9	1.70 (0.61-4.76)	1.64 (0.50-5.43)
PCBs High ^c Positive	23	7	2.96 (1.03-8.53)	4.13 (1.20-14.30)
PCBs High Null	17	17	0.90 (0.36-2.27)	0.72 (0.22-2.38)
GSTT1				
PCBs Low ^b Positive	16	13	1	1
PCBs Low Null	21	14	1.22 (0.45-3.30)	1.34 (0.41-4.42)
PCBs High ^c Positive	23	14	1.34 (0.45-3.59)	2.05 (0.6-6.99)
PCBs High Null	17	10	1.38 (0.47-4.03)	1.94 (0.45-8.45)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

^bPCBs Low : 70.6-154.7ng/g lipids.

^cPCBs High : 157.7-407.3ng/g lipids.

Table 9 Risk of female sterility associated with PCBs exposure and ER polymorphisms

Polymorphism	Without endometriosis (n)	Endometriosis (n)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR ^a (95% CI)
ER α Pvu II				
PCBs Low ^b pp	9	10	1	1
PCBs Low PP, Pp	28	17	1.83 (0.62–5.41)	2.10 (0.56–7.85)
PCBs High ^c pp	15	8	2.08 (0.60–7.23)	2.49 (0.54–11.6)
PCBs High PP, Pp	25	16	1.74 (0.58–5.20)	1.61 (0.41–6.33)
ER α Xba I				
PCBs Low ^b xx	22	18	1	1
PCBs Low XX, Xx	15	9	1.36 (0.48–3.83)	1.77 (0.53–5.93)
PCBs High ^c xx	27	13	1.70 (0.69–4.22)	2.19 (0.68–6.98)
PCBs High XX, Xx	13	11	0.97 (0.35–2.67)	1.33 (0.37–4.77)
ER β Rsa I				
PCBs Low ^b rr	15	15	1	1
PCBs Low RR, Rr	22	12	1.83 (0.67–5.0)	1.99 (0.61–6.47)
PCBs High ^c rr	21	9	2.33 (0.81–6.73)	9.37 (1.99–44.2)
PCBs High RR, Rr	19	15	1.27 (0.47–3.39)	1.70 (0.51–5.67)
ER β Alu I				
PCBs Low ^b AA	22	18	1	1
PCBs Low AG, GG	15	9	1.36 (0.48–3.84)	1.54 (0.49–4.83)
PCBs High ^c AA	21	16	1.07 (0.44–2.64)	1.31 (0.43–3.96)
PCBs High AG, GG	19	8	1.94 (0.69–5.47)	4.70 (1.22–18.07)

^aORs adjusted for age, body mass index, age at menarche, menstrual cycle, and duration of menstruation.

^bPCBs Low : 70.6–154.7ng/g lipids.

^cPCBs High : 157.7–407.3ng/g lipids.

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

乳癌の症例対照研究

分担研究者 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

研究要旨 内分泌かく乱化学物質(EDC)と乳癌との関連を検証するための多施設症例対照研究の症例および対照の収集を継続的に行った。症例収集数を増やすために、本年度より新たに1病院を加えた。平成16年2月末日時点で有効症例305例を収集し、さらに継続している。

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
草間 律・北信総合病院
外科部長

A. 研究目的

乳癌は内因性エストロゲンレベルやホルモンレセプターとの関連が強く、その発癌とエストロゲン作用を持つ内分泌かく乱化学物質(EDC)との関連が危惧されている。日常の生活環境におけるEDCへの暴露が、乳癌の発症と関連するか否かを疫学的に検討することを目的として多施設症例対照研究を行い、EDC暴露の乳癌発症リスクを検証する。平成15年度は、前年度に引き続いて、症例および対照例の収集を行う。目標症例数は400である。

B. 研究方法

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行う。初発の乳癌で調査期間中に長野県内の4病院(長野松代総合病院、長野赤十字病院、長野市民病院、北信総合病院)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名を対照とする。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、乳癌発生とEDCとの関連について検討を行う。

症例収集数を増やすために、本年度より新たに北信総合病院を加え、症例収集期間を延長することとしたため、プロトコールの一部を改訂した(添付資料)。

(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。

本年度に改訂したプロトコールについては、平成15年7月23日に国立がんセンター倫理審査委員会に承認された(添付資料)。

C. 研究結果

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305例(305ペア)を収集した。さらに継続しており、16年中に400ペアを収集できる見込みである。

D. 考察

本症例対照研究では、計画通りに症例が収集されていきしたが、対象者の年齢の制約から登録数が予想よりも若干少なかったため、本年度より協力病院を増やした。本年度に行った基礎検討をもとにして代謝酵素の遺伝子多型などを利用した層別解析を行う予定であり、統計学的な検出力を確保するために400ペアまで症例収集を続ける。

EDCに焦点を当てた症例対照研究の報告は、わが国にはない。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。

E. 結論

乳がん発症へのEDC暴露のリスクを明らかにするために、乳がんの多施設症例対照研究における症例収集を継続した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka T, Takai O, Takahashi K, Tsugane S. Chip ligating human genomic DNA serves as storage material and template for polymerase chain reaction. *Biotechnol Lett* 2003;25:509-512.

2. 学会発表

花岡知之, 原邦夫, 川村則行. 職域における内分泌かく乱化学物質の曝露と健康影響に関する研究. 第76回日本産業衛生学会. 山口. 2003.4.

井之上浩一, 花岡知之, 岡田文雄, 伊藤里恵, 小林実夏, 月野浩昌, 津金昌一郎, 中澤裕之. 有機フッ素系化合物のヒトへの暴露状況. -日本人の地域・食事摂取と血液濃度の分析-. 第6回環境ホルモン学会研究発表会. 仙台. 2003.12.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当せず

2000.11.29 改訂

2001.03.29 字句訂正

2003.07.14 改訂

「乳がん予防を目的とした疫学調査」

研究プロトコール

1. 調査名

「乳がん予防を目的とした疫学調査」

2. 背景

わが国の乳癌の年齢調整死亡率は人口 10 万対 10.4 (1998 年) であり、欧米諸国よりは少ないものの、増加傾向にあり、女性のがんでは 4 番目に位置する。乳癌のリスク要因として、早期の初潮、閉経の遅延、高齢での初産、未経産、高身長、肥満など、エストロゲンなどのホルモンの体内レベルに影響を与える要因が考えられている。これらに関連して小児時のカロリー過剰摂取、アルコールの摂取なども乳癌のリスクを高めると考えられている。一方、野菜・果物の摂取の多いことが乳癌の抑制要因であることが示唆されているが、栄養素として何が関連しているのかは不明である。また、大豆製品の摂取量が多い日本人に乳癌が少ないことから、大豆製品中に多く含まれる植物エストロゲンが生体内のエストロゲン作用に拮抗することにより、乳がんの発症を抑制するのではないかという仮説が論議されているが、疫学的な証拠はない。この他、乳癌のリスクの上昇が疑われる環境要因として、喫煙、電離放射線、塩素系農薬、塩素系有機溶剤、PCB、製薬工業従事者、電磁波などが挙げられているがいずれも結論は出ていない。従来の疫学研究が発癌メカニズムに直接関係するようなリスクを明確に実証できなかった理由のひとつとして、個人の疾患感受性を効果的に評価できなかったことが挙げられる。乳癌の予防方策を確立するためには、家族性の乳癌以外の乳癌についてもホルモンや環境要因の代謝の個人差を考慮して、食習慣や環境要因のリスク評価を行う疫学研究が必要である。

3. 目的

本研究の目的は、長野市の 4 病院において乳癌の症例対照研究を行い、ホルモンや環境要因の代謝に関する遺伝子多型や遺伝子発現様式を考慮して、食習慣や環境要因のリスク評価を行うことである。

4. 調査研究者及び協力者の役割

本研究は、主として、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（H11-生活-021）」（主任研究者：津金昌一郎，国立がんセンター臨床疫学研究部長）の1つとして実施されるものである。

長野松代総合病院外科部長（春日好雄）

研究計画作成、データ管理

症例、対照例の収集、質問票調査、生体試料の採取、診断情報の収集

長野赤十字病院第三外科部長、副部長（横山史朗、小沼博）

症例、対照例の収集、質問票調査、生体試料の採取、診断情報の収集

長野市民病院外科科長（西村秀紀）

症例、対照例の収集、質問票調査、生体試料の採取、診断情報の収集

北信総合病院外科部長（草間律）

症例、対照例の収集、質問票調査、生体試料の採取、診断情報の収集

国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部（津金昌一郎、花岡知之）

研究総括、生体試料の分析・測定、データ管理・解析

5. 対象と方法

(1) 研究デザイン；

多施設症例対照研究。

(2) 対象者；

症例：症例は、初発の乳癌で調査期間中に上記病院に入院した20歳以上75歳未満の女性入院患者全員とする。

対照：上記症例に対して、人間ドック受診予定者の女性で、年齢（±3歳）、居住地域*が一致する者のうち最も年齢の近い1名を選び対照とする。（*地域によるマッチングは、市部（長野市、更埴市、須坂市など）か郡部）

(3) 調査方法；

症例については、質問票記入は(1)入院予約時に問診票を渡して記入してきてもらう、あるいは(2)入院して早い時期に記入してもらう。質問票チェックと採血は入院中に行うが、採血は可能なかぎり治療開始前に行う。

対照については、質問票記入は、対応する症例の記入日から1~2ヶ月以内(できれば1ヶ月以内)に行う。質問票チェックと採血はドック受診中に行う。対照者において人間ドックの結果、いずれかの部位のがんが発見された場合は、対照者の取り直しを行う。

(4) サンプル採取方法；

採血はなるべく空腹時に、7mLEDTA2Na 採血管1本、および血清9mL用採血管2本に行う。後者については、できるだけ速やかに、血清用採血管から血清を分離する。これらは別に定めるように-80℃で分析まで保存する。

(5) 調査項目；

質問票(添付資料D)：喫煙歴、食習慣などの生活習慣、職業、既往歴、家族歴などに関する自記式の質問票。担当医師または担当看護婦がこれを確認する。

血清中のホルモン類(LH、FSH、E2、PGなど)、内分泌攪乱物質(ダイオキシン、PCB、残存農薬など)、植物由来のエストロゲンを測定する。

白血球から遺伝子DNAやRNAを抽出した後、環境化学物質の代謝酵素遺伝子(シトクローム p450 遺伝子など)の発現量の測定代謝酵素類の遺伝子多型、および mRNA 発現量を測定する。

* 本調査で分析対象とする遺伝子多型は、日本人の少なくとも1%(多くは5-10%)が保有しており、それ自体のリスクが比較的低いことが既に報告されているものとする。これらの分析結果は環境要因の影響を修飾する情報として利用する。具体的には、ホルモンや環境化学物質の代謝に関与する Cytochrome P450、AhRなどを対象とする。なお、BRCA1、BRCA2などの既知のハイリスク遺伝子の発現頻度は日本人乳がんの1%程度であり、未知のハイリスク遺伝子を含めても遺伝性乳癌の頻度は症例の5%程度と推測されるため、環境要因との関連を検討する際に大きな影響を与えるとは予測されない。また、遺伝性乳がんであるか否かは、同時に行う質問票における家族歴などのデー

タを用いて抽出し、環境要因との関連を評価する際に、遺伝性乳がんと推測される症例を除外して対処する予定である。

ホルモン類の測定値の評価のために、採血時の月経周期等について質問票で聴取する。

(6) サンプルの保存；

血清、白血球、遺伝子 DNA や RNA は、匿名化して国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部に最長 25 年後まで保存され、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、乳がんの発生に、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化学物質、栄養素、ホルモン、ウイルス、遺伝子多型などが関連している可能性が提示された場合）、必要に応じて倫理審査委員会の承認を得た後に使用することがある。25 年以降は、提供者の同意事項を遵守し、破棄する。

(7) インフォームドコンセント；

本研究全体について、および遺伝子を使用した研究であることについて、文書による説明と自署による同意を、添付資料 A によって行う。

(8) 対象者への負担、利益；

ルーチン採血時に同時に本調査用の血液を採取するため、対象者への負担は静脈穿刺の際の痛みなどルーチン採血時の負担を越えるものではない。

個人データや測定結果が外部に漏れた場合には「不当な差別等を受ける」という不利益を被ることを否定できない。しかし、本研究では未知のハイリスク遺伝子は対象とせず、かつ、データは、主治医が厳重に保管するので、その可能性はまずないと言える。

(9) 結果報告について；

個人の分析結果が予後や治療に有用な情報をもたらすと考えられた場合には、主治医や人間ドック担当医に返され、個人の医療に利用されることがある。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、広く社会に還元する。

(10) 調査期間；

2001 年 1 月 1 日から 2004 年 12 月 31 日を症例収集期間とし、症例 400 例、対照 400 例が収集された時点で症例収集を終了とする。その後の分析、解析に約 6 ヶ月かかる予定である。

(11) 記録管理について；

A：説明文書及び同意文書（インフォームドコンセント）

B：対象者一覧表

C：対象者の臨床情報記録用紙

D：質問票

E：サンプルおよび測定結果

記録はすべて施錠されたキャビネットに厳重に保管する。

A、Bの書類は共同研究者が保管する（施錠し厳重に保管）。

C、D、Eの書類およびサンプルは国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部で保管する（施錠し厳重に保管）。

個々の対象者についてBの書類で研究用ID番号を付ける。同じID番号をC、D、Eの書類およびサンプルに付ける。

C、D、Eの書類およびサンプルでは、個人が特定できるような氏名、住所等の情報は削除され、すべてID番号で管理される。共同研究者のみがBの書類でID番号と氏名をリンクすることができる。このため共同研究者は医師の倫理に則ってプライバシーを厳重に守る。

様式Ⅱ-1

国立がんセンター倫理審査委員会審査結果通知書

平成15年7月23日

津金 昌一郎 殿

倫理審査委員長
野村 和弘



受付番号 12-72

課題名 乳がん予防を目的とした疫学調査

研究者名 津金 昌一郎

上記について、研究計画の変更について下記のとおり判定した。

記

判定	<input checked="" type="checkbox"/> 承認 条件付承認 不承認 非該当 差し戻し再審査
勧告 或いは 理由	