

群の死亡開始時期は Control 群よりも 20 日早く、Control 群の最初の死亡日までに 50% のマウスが死亡した (図 46)。

D. 考察

MRL-*lpr*^{ess} マウスは 3 ヶ月齢で自己免疫病の発症が始まる。本実験では、環境ホルモン物質が発症開始に影響するのではないかと考え、はじめに、3 ヶ月齢までの投与(2 ヶ月間投与)における体重、臓器重量、リンパ節重量、タンパク尿症、皮膚炎、血中免疫複合体およびサイトカイン量を調べた。しかしながら、いずれの発症指標も若干の変化は見られたものの、発症時期が早まったことを示すような明白な変化はいずれの投与群においても見られなかった。そのことから、本研究で投与した E2 や BPA、Gen は自己免疫病の発症開始時期にはあまり影響しないことが示唆された。

糸球体腎炎では各投与群で差が見られなかったものの、低濃度 Gen(15mg/kg) 投与群では腎臓血管炎の高率な発症が見られ、また腎臓の変性も多発していた。そのため、特に、Gen(15mg/kg) 投与マウスの腎臓では血管周囲のリンパ球浸潤が顕著で、腎臓の変性は血管炎の発症に伴って起きる腎臓内の出血やリンパ球の浸潤が原因ではないかと思われた。その結果として、Gen(15mg/kg) 投与群の死亡率が著しく高くなったと考えられた。今後、Gen のエストロゲン様活性以外の影響、特に腎臓に与える影響についても検討する必要があると思われる。

生存率は雄では各投与群で差がなかった。しかし、雌では、Control 群の生存率が 60% だったのに対し、BPA (3mg/kg) 投与群は 40%、E2 投与群は

10%で、Gen (15mg/kg) 投与群では 159 日目にすべてのマウスが死亡した。また、雌の平均生存日数は、Control 群では 183 日だったが、BPA (3mg/kg) 投与群では 166 日、E2 投与群では 158 日、Gen(15mg/kg) 投与群では 141 日と、低濃度の Gen は発症後の悪性進展に重大な影響を及ぼすことが分かった。この雌 Gen(15mg/kg) 投与群における生存率の顕著な低下は、腎臓血管炎とそれに伴う腎臓の変性が原因である可能性が考えられた。しかしながら、雄においても腎臓変性が多発していたことから、腎炎以外の原因で死亡した可能性もあることから、より詳細な死亡原因の検討が必要と思われる。

今回、BPA および Gen はそのエストロゲン様活性の低さから自己免疫病の発症開始時期にはあまり影響しないと考えられるが、低濃度 Gen(15mg/kg) 投与群では雌雄で腎臓血管炎の有意な悪化、雌の腎臓罹患率の顕著な上昇および生存率の低下など、低濃度の Gen は腎臓に重大な影響を与える可能性が示唆された。今後、BPA(10mg/kg) 投与、Gen(50mg/kg) 投与および 15mg/kg 以下の濃度の Gen 投与における影響、さらに Gen 投与による腎臓病変と生存率低下のメカニズムを解明する必要があると思われる。

また、植物エストロゲン物質である Res は 3 ヶ月間の投与によって自己免疫病発症および悪性進展を促進する可能性が示唆された。また、Zo1 は自己免疫病発症および悪性進展には影響しなかったが、自己免疫病で最も重篤な症状である自己免疫性腎炎の発症および悪性進展を促進している可能性が示唆された。Res と Zo1 については子宮肥大試験で子宮重

量を増加させた濃度で投与実験を行った。しかし、BPA と Gen の投与実験の結果では、子宮肥大試験で子宮重量を増加させない低濃度の投与群のほうが、自己免疫病の発症および悪性進展により強い影響が出るということが明らかになっている。そのため、Res と Zol についてもさらに低濃度の投与量で投与実験を行う必要があると思われる。

本研究で調べた4種類の物質のうち、Gen が自己免疫病の発症および悪性進展に最も悪影響を及ぼす可能性が示された。本研究で行った Gen の投与は皮下投与であり、またその投与量も一般のヒトの摂取量と比較するとかなり多い。しかし、日本では欧米に比べて通常の食生活の中で Gen を多く摂取しており、また最近では更年期障害や生理不順の改善等の目的で Gen のサプリメントが一般にも広く出回っている。日本でも近年、自己免疫病の患者数が年々増えており、特にサプリメントとして多量に摂取する Gen がヒトの自己免疫病の発症に影響していないとは断定できないことから、今後、より詳細な検討を行う必要があると思われる。

E. 結論

本研究の結果から、エストロゲン活性を有する BPA、Gen、Res および Zol は自己免疫病の発症開始には影響しないが、発症後の悪性進展、特に腎炎の悪性進展を促進することが示唆された。

F. 研究発表

学術論文

(1) Takemura H., Sayama K., Zhu B.T., Tsubura A. and Shimoi K.: Comparison of estrogenic activity

between Zearalenone and Zeranone. Toxicol, submitted.

学会発表

(1) 茶山和敏、螺良愛郎、マウス自己免疫病発症に対するビスフェノール A およびゲニステインの影響、環境ホルモン学会第7回研究発表会

(2) 大前壽子、北田善三、茶山和敏、螺良愛郎、今井俊介、LC/MS/MS によるマウス血清、乳汁のビスフェノール A 及び植物エストロゲンの一斉分析法の開発、環境ホルモン学会第7回研究発表会

(3) 竹村ひとみ、茶山和敏、Bao Ting Zhu、螺良愛郎、下位香代子、Zearalenone および Zeranone のエストロゲン様作用の比較、環境ホルモン学会第7回研究発表会

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

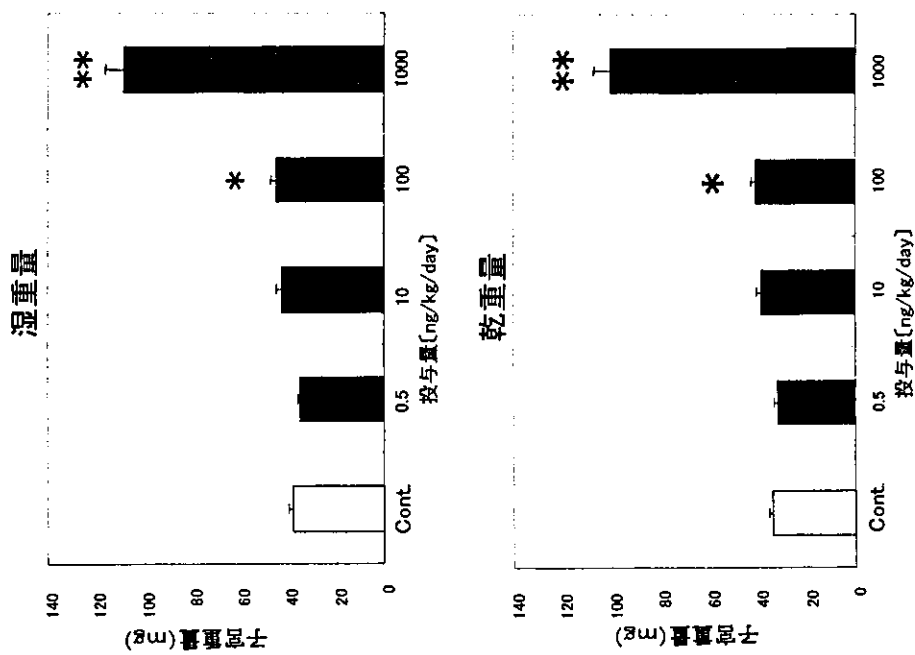


図1 マウスを用いた子宮肥大試験による
Estradiol-17β のエストロゲン活性

*, ** : Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

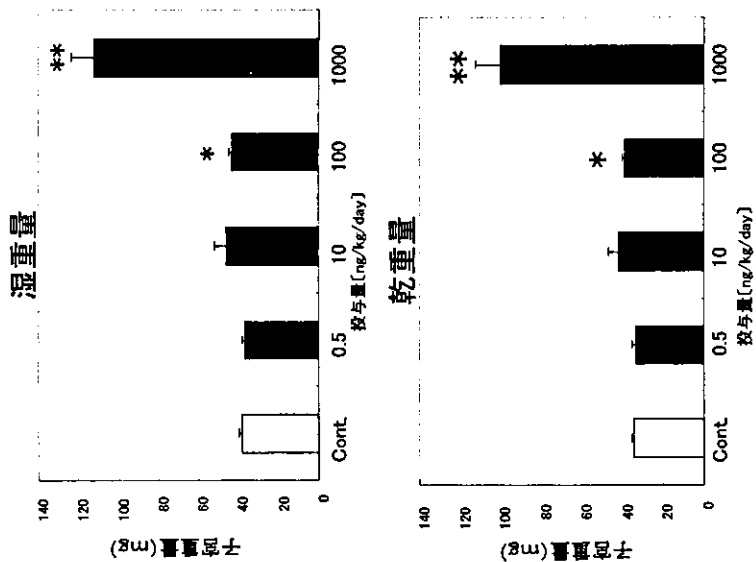


図2 マウスを用いた子宮肥大試験による
Diethylstilbestrol のエストロゲン活性

*, ** : Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

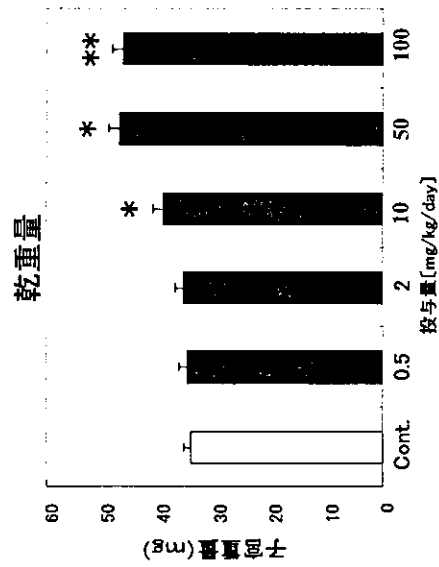
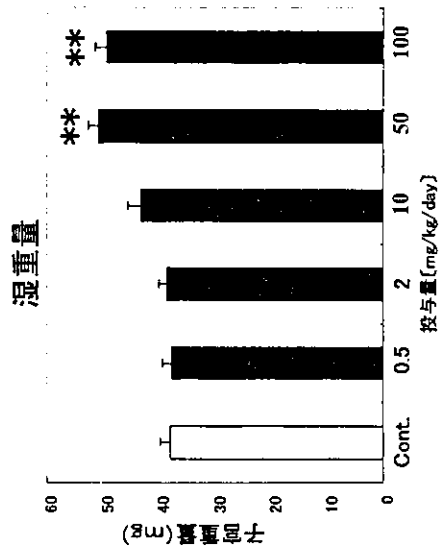


図4 マウスを用いた子宮肥大試験による Bisphenol A のエストロゲン活性

*, ** : Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

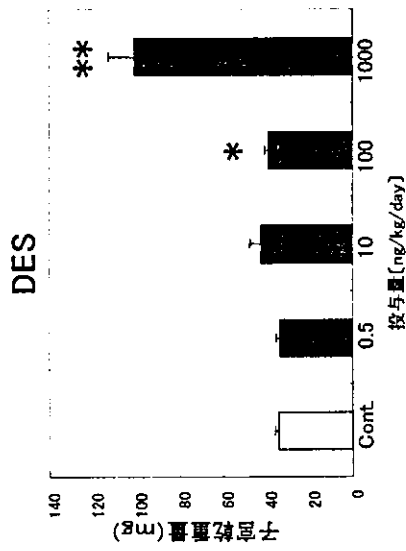
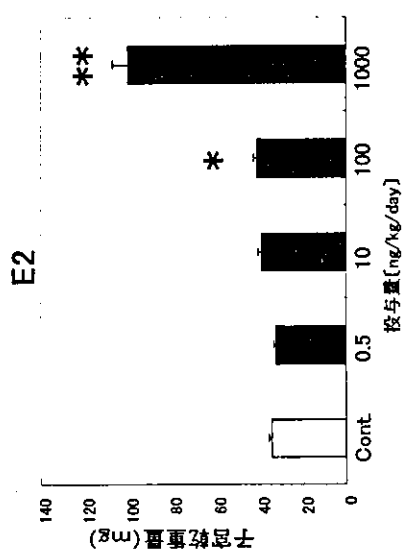


図3 マウスを用いた子宮肥大試験による Estradiol-17β (E2) と Diethylstilbestrol (DES) のエストロゲン活性の比較

*, ** : Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

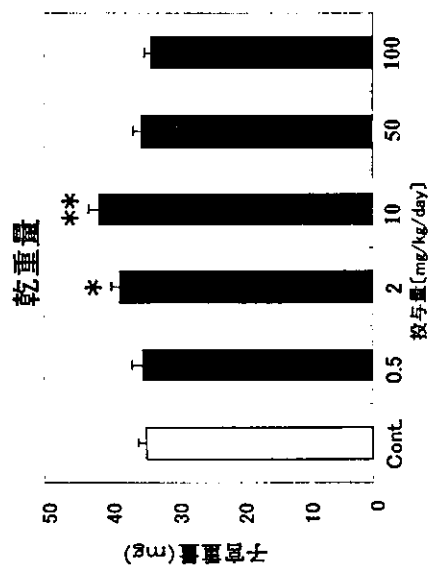
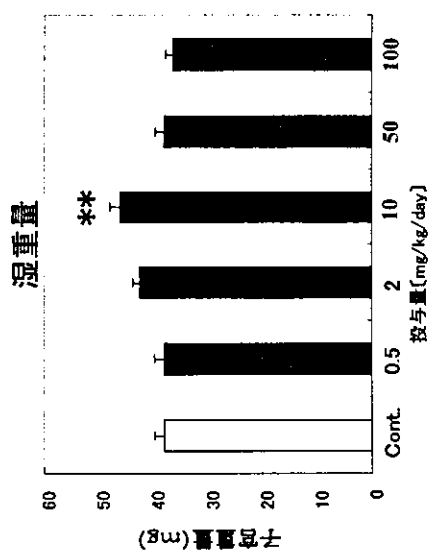


図5 マウスを用いた子宮肥大試験による Resveratrolのエストロゲン活性

*, **, Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

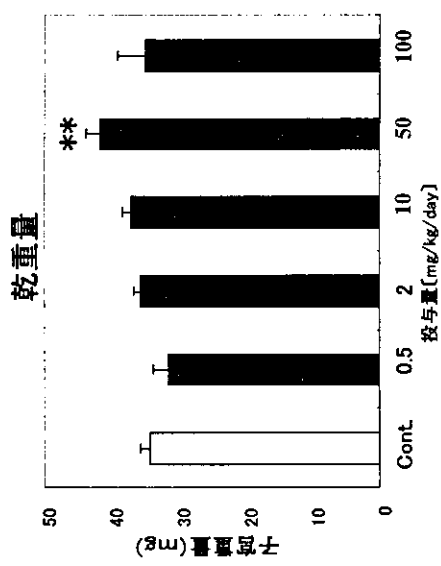
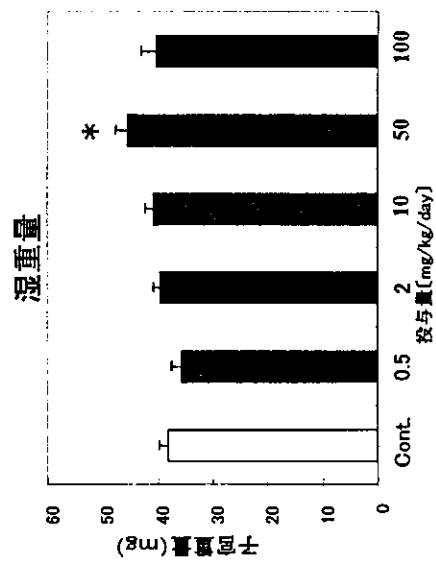


図6 マウスを用いた子宮肥大試験による Genisteinのエストロゲン活性

*, **, Control群に対して有意差あり ($P < 0.05$, $P < 0.01$)

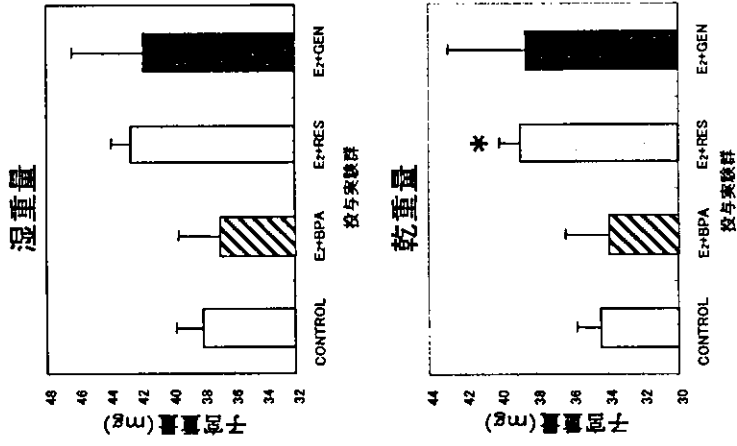


図8 低濃度のエストロゲンおよび内分泌攪乱化学物質の組み合わせ投与によるエストロゲン活性の比較

投与量: Estradiol-17β (E₂) = 10ng/kg/day,
 Bisphenol A (BPA) = 2mg/kg/day,
 Resveratrol (RES) = 0.5mg/kg/day,
 Genistein (GEN) = 10mg/kg/day.

*: Control群に対して有意差あり(P<0.05)

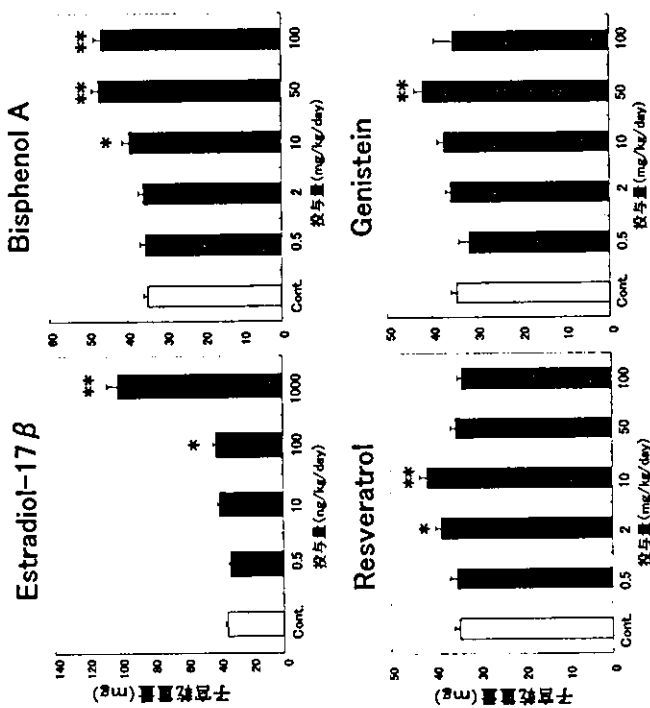


図7 マウスを用いた子宮肥大試験による内分泌攪乱化学物質および植物エストロゲンのエストロゲン活性の比較

*, **, *: Control群に対して有意差あり(P<0.05, P<0.01)

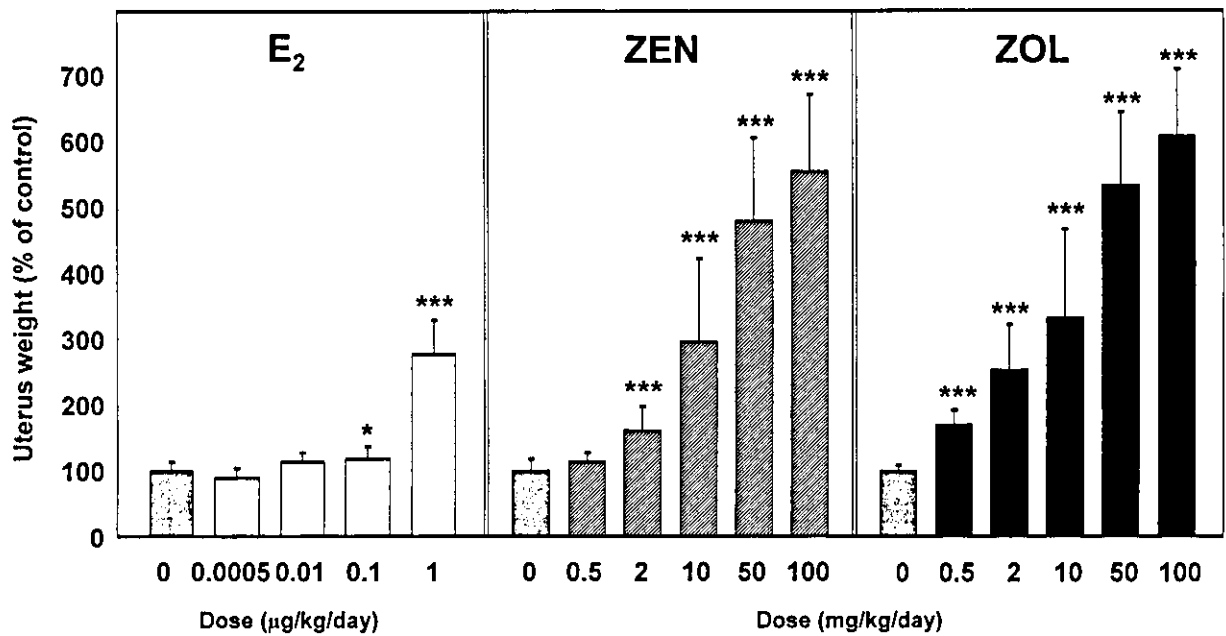


図9 子宮肥大試験によるEstrogen、Zearalenoneおよび Zeranolのエストロゲン活性の比較(子宮湿重量)

*, **, *** : control群に対して有意差あり(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

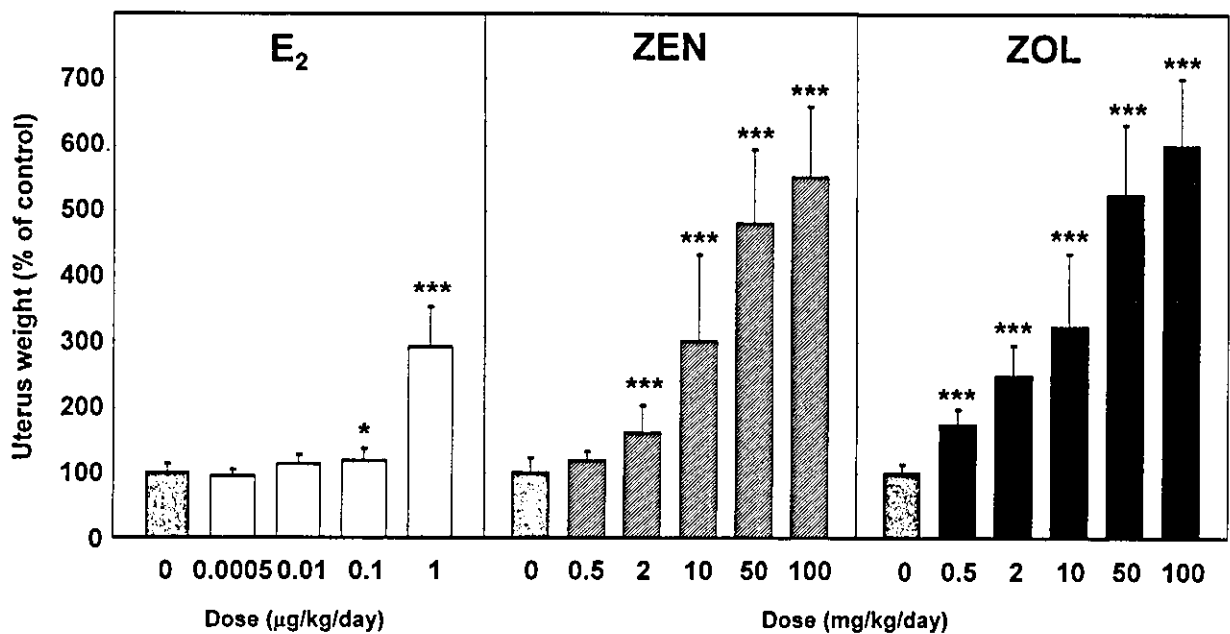


図10 子宮肥大試験によるEstrogen、Zearalenoneおよび Zeranolのエストロゲン活性の比較(子宮乾重量)

*, **, *** : control群に対して有意差あり(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

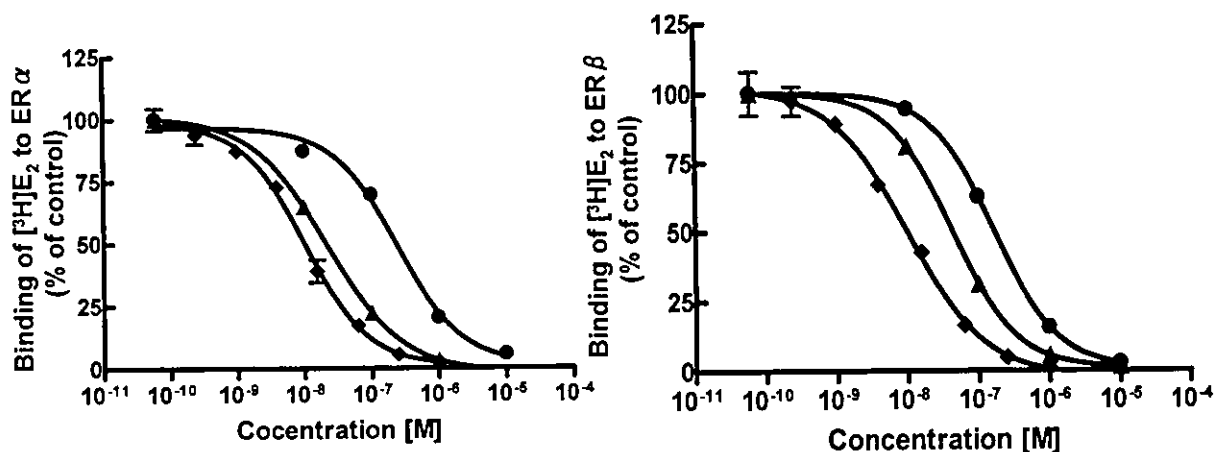


図11 エストロゲンレセプター結合試験による Estrogen、Zearalenone および Zeranone のエストロゲン活性の比較

表1 エストロゲンレセプター結合試験による Estrogen、Zearalenone および Zeranone のエストロゲン活性の比較

Compound	IC ₅₀ (M)		RBA	
	ER α	ER β	ER α	ER β
zearalenone	2.40×10^{-7}	1.66×10^{-7}	4.3	6.0
zeranol	2.18×10^{-8}	4.28×10^{-8}	48	23
17 β -estradiol	1.04×10^{-8}	1.00×10^{-8}	100	100

RBA : レセプター結合活性 (IC₅₀の結果から、E₂の結合活性を100として算出)

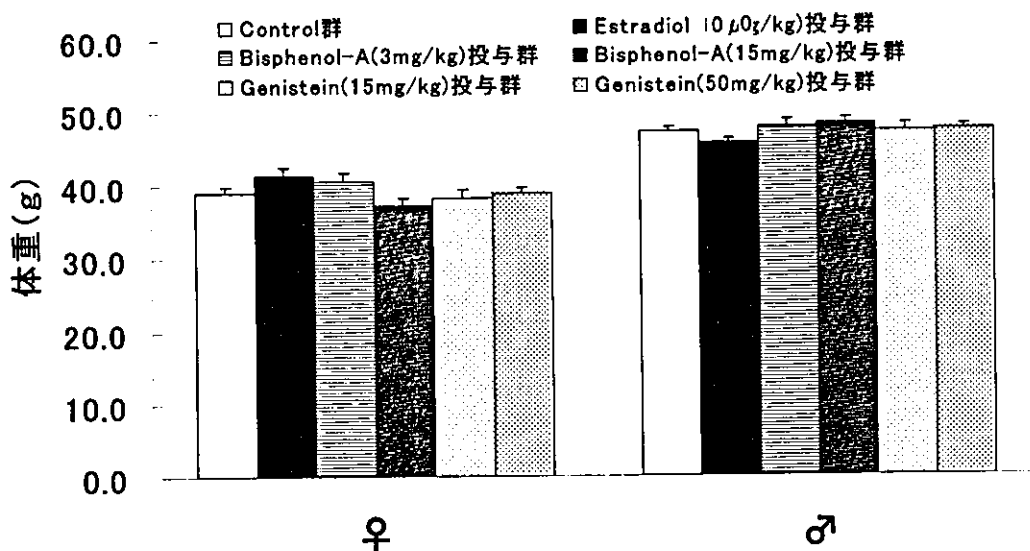


図12 自己免疫病マウスの体重に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

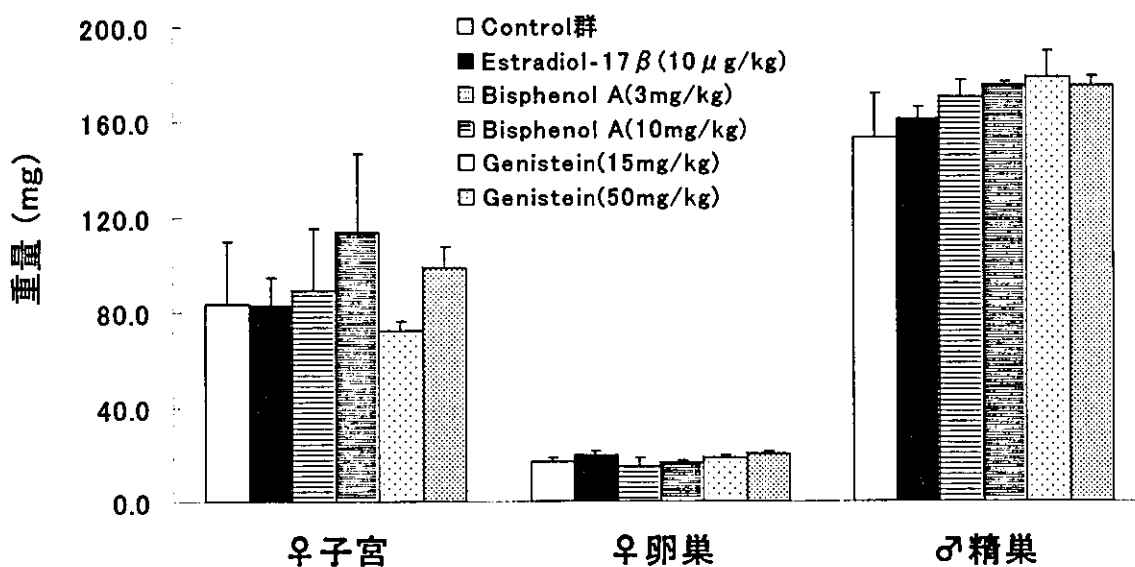


図13 自己免疫病マウスの生殖器官重量に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

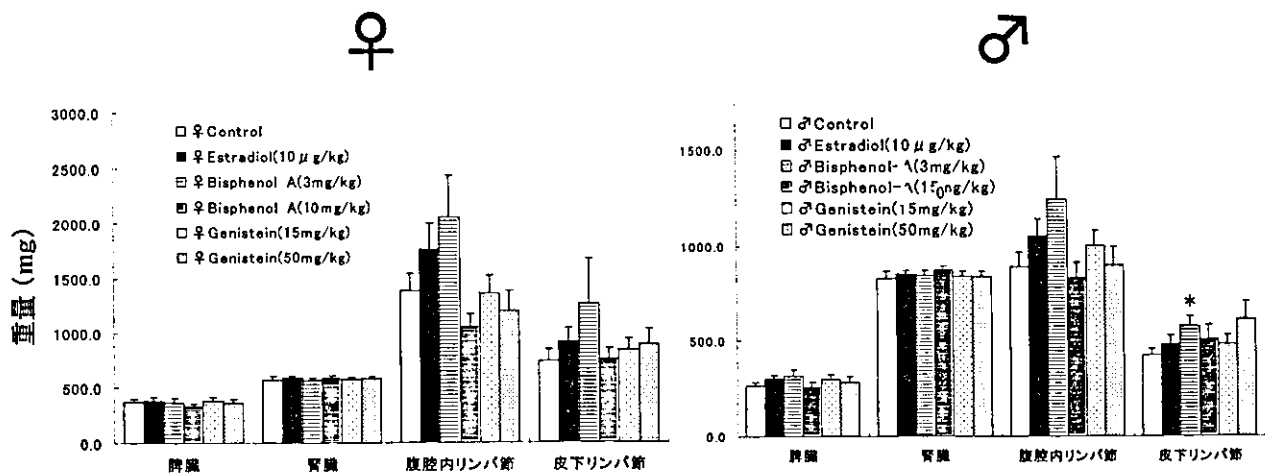


図14 自己免疫病マウスの臓器重量に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

* : 対照群に対して有意差あり($P < 0.05$)

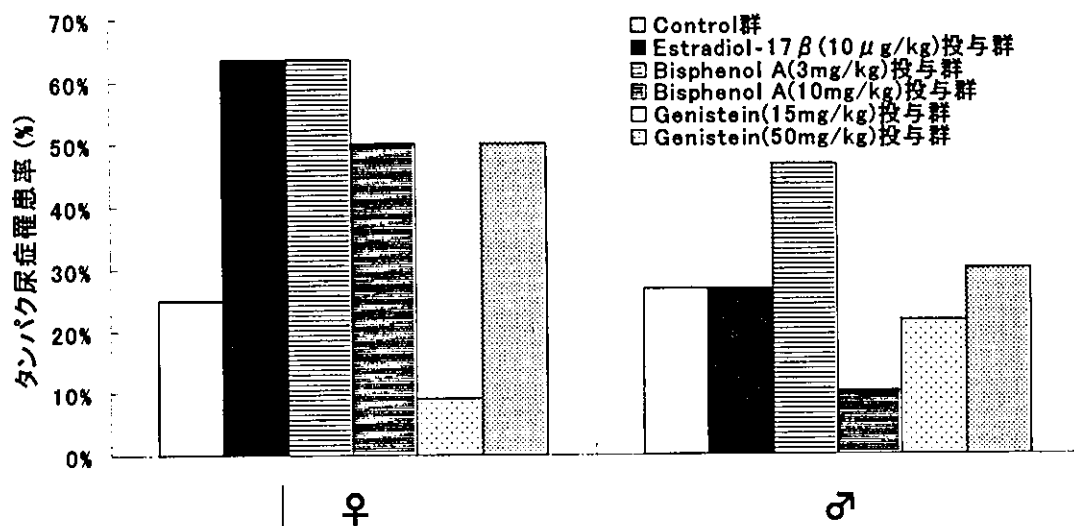


図15 自己免疫病マウスのタンパク尿症に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

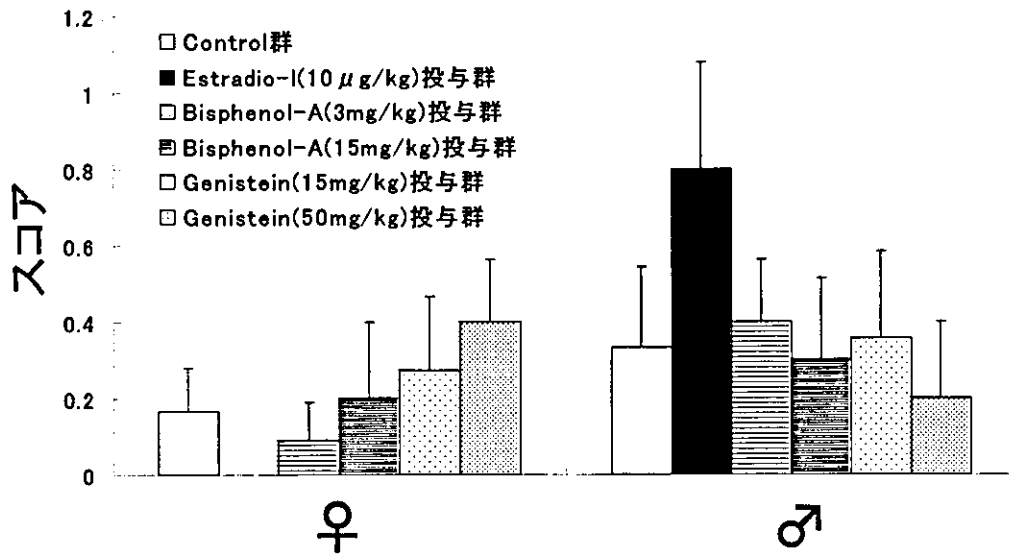


図16 自己免疫病マウスの皮膚炎発症に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

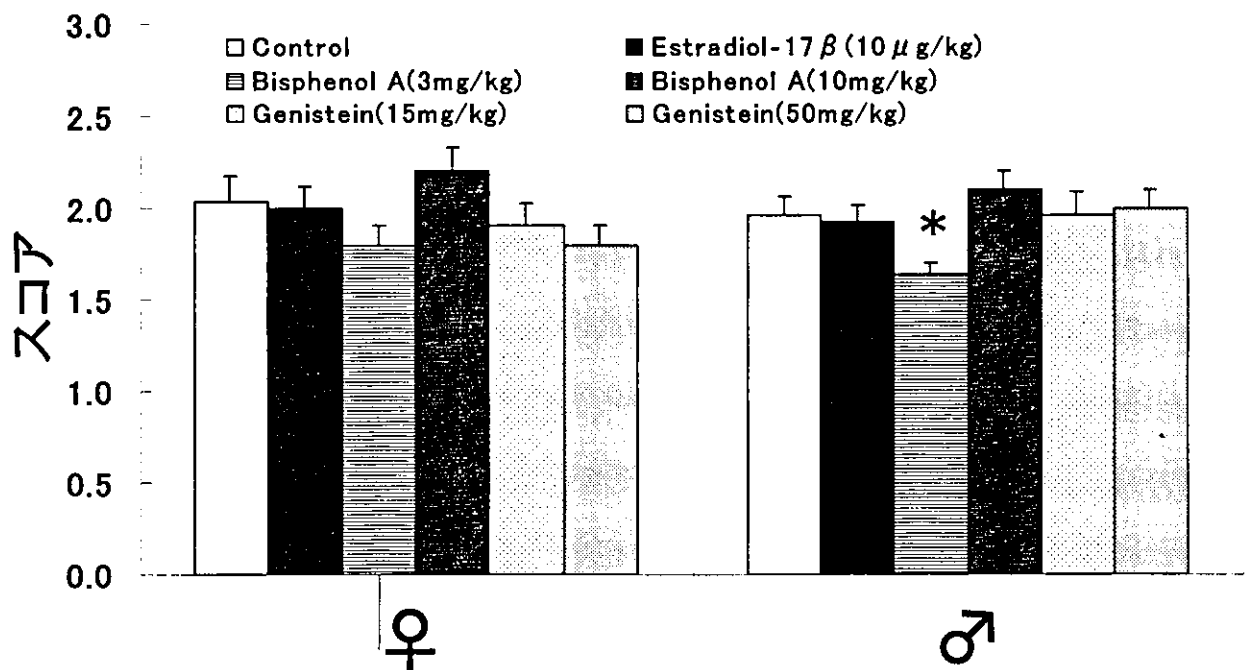


図17 自己免疫病マウスの糸球体腎炎発症に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

* : 対照群に対して有意差あり (P < 0.05)

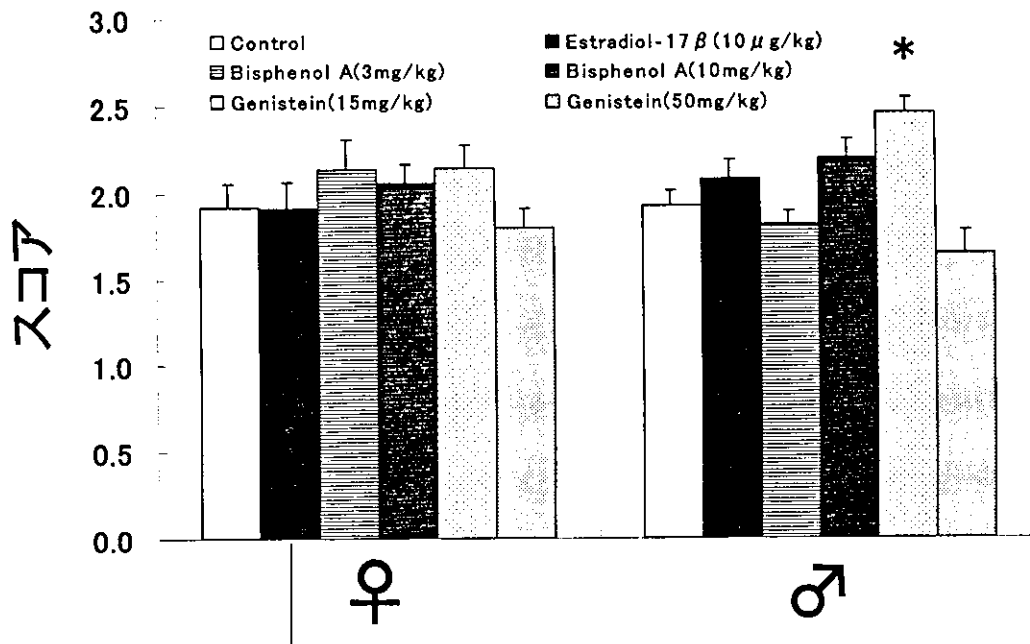


図18 自己免疫病マウスの腎臓血管炎発症に対する Estrogen、Bisphenol A および Genistein の影響 (1)

* : 対照群に対して有意差あり ($P < 0.05$)

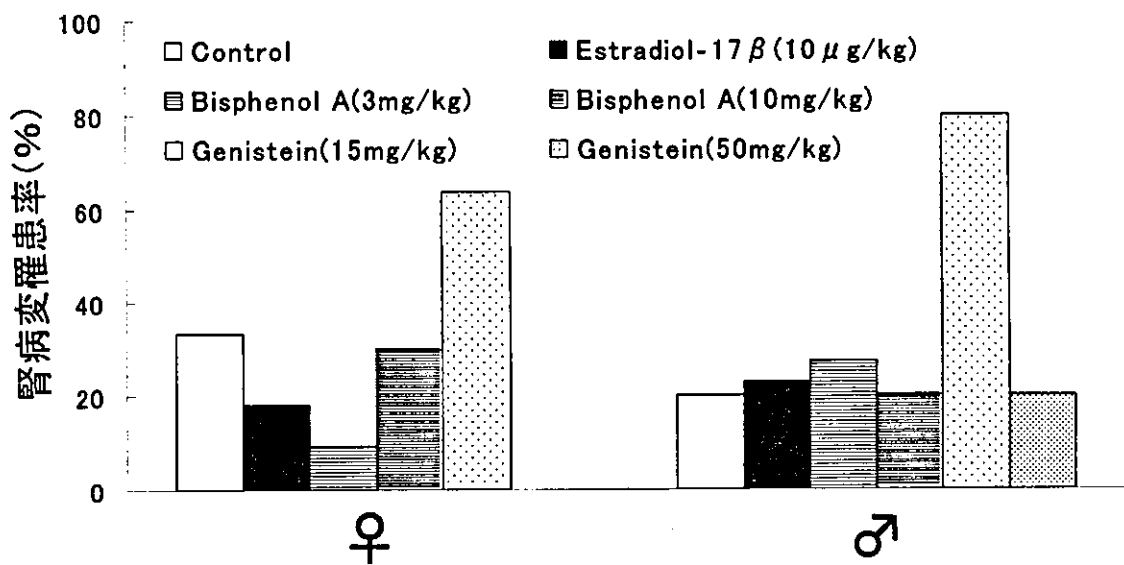


図19 自己免疫病マウスの腎変性発症に対する Estrogen、Bisphenol A および Genistein の影響 (1)

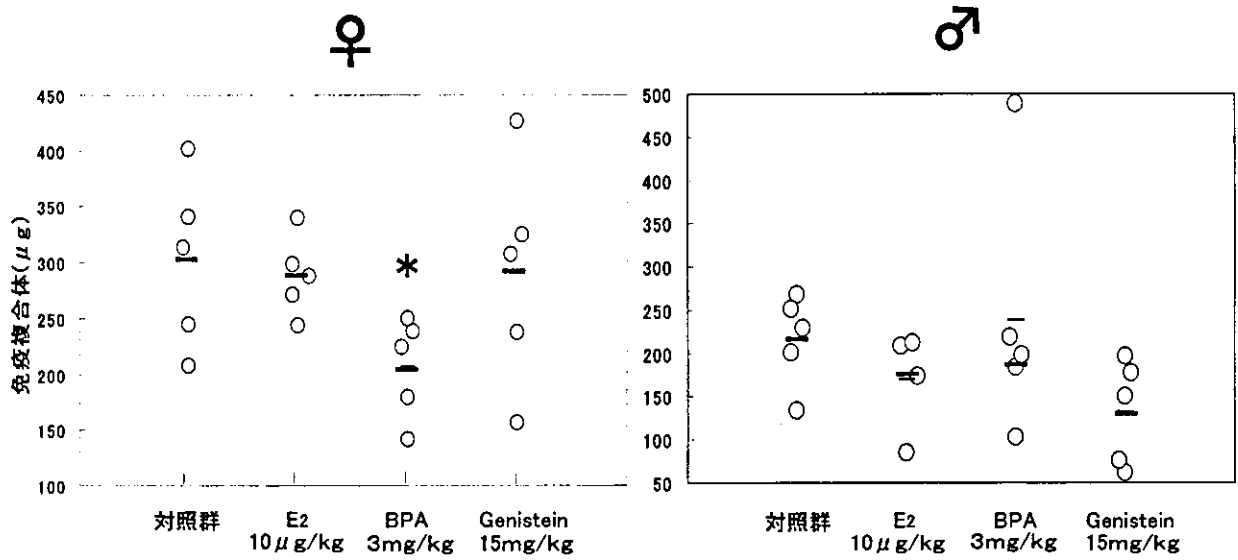


図20 自己免疫病マウスの血中免疫複合体産生に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

* : 対照群に対して有意差あり($P < 0.05$)

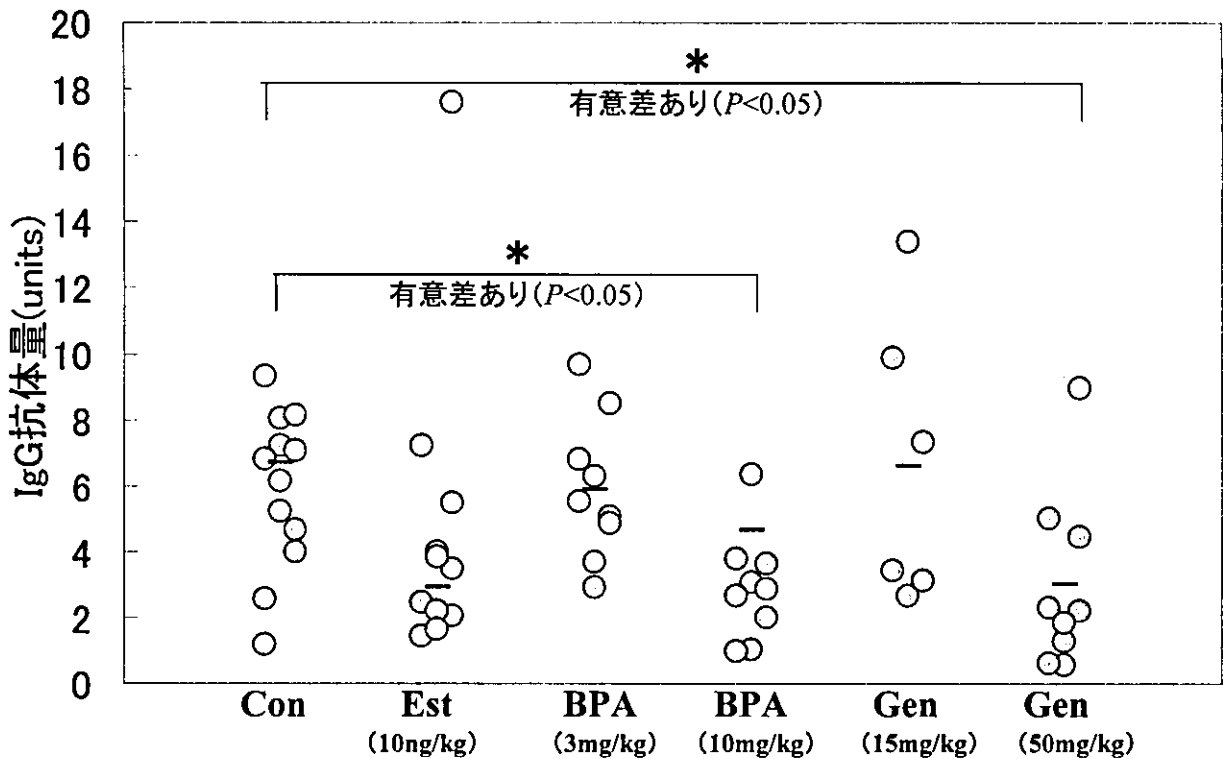


図21 メス自己免疫病マウスの血中IgG抗DNA抗体産生に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

Con: Control Est: Estrogen BPA: Bisphenol A Gen: Genistein

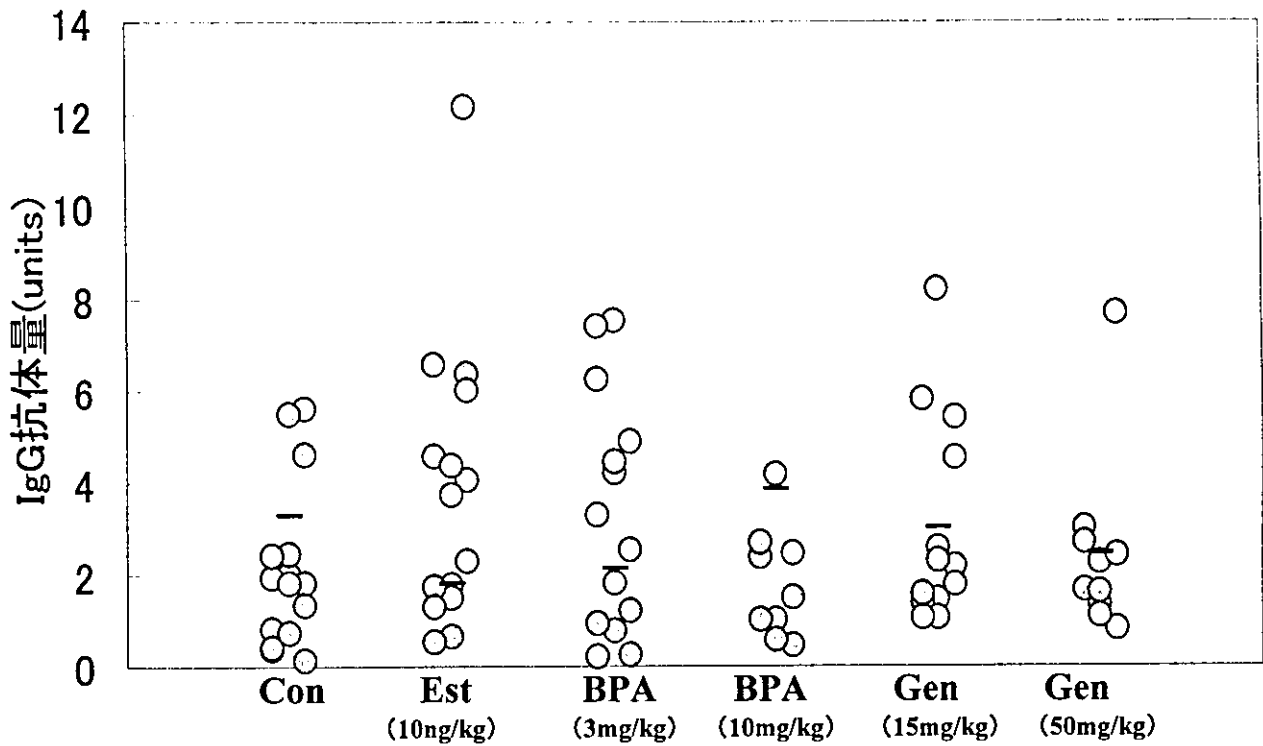


図22 オス自己免疫病マウスの血中IgG抗DNA抗体産生に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

Con:Control Est:Estrogen BPA:Bisphenol A Gen:Genistein

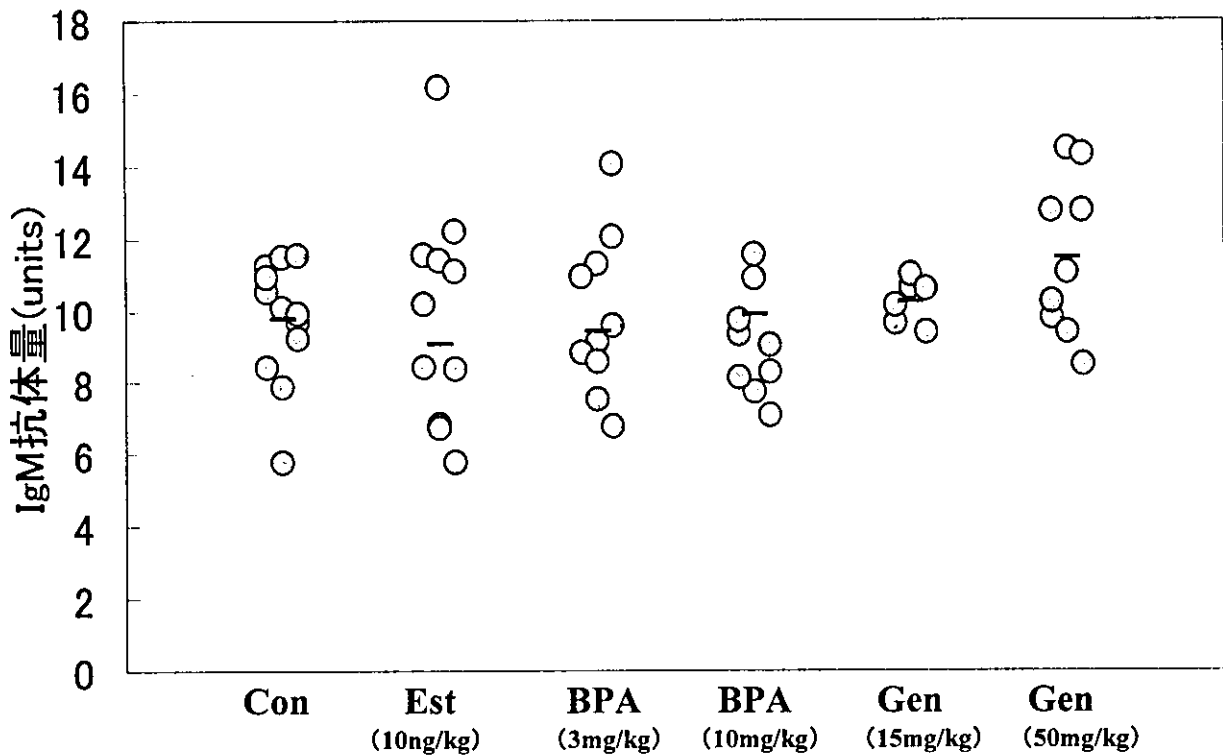


図23 メス自己免疫病マウスの血中IgM抗DNA抗体産生に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

Con:Control Est:Estrogen BPA:Bisphenol A Gen:Genistein

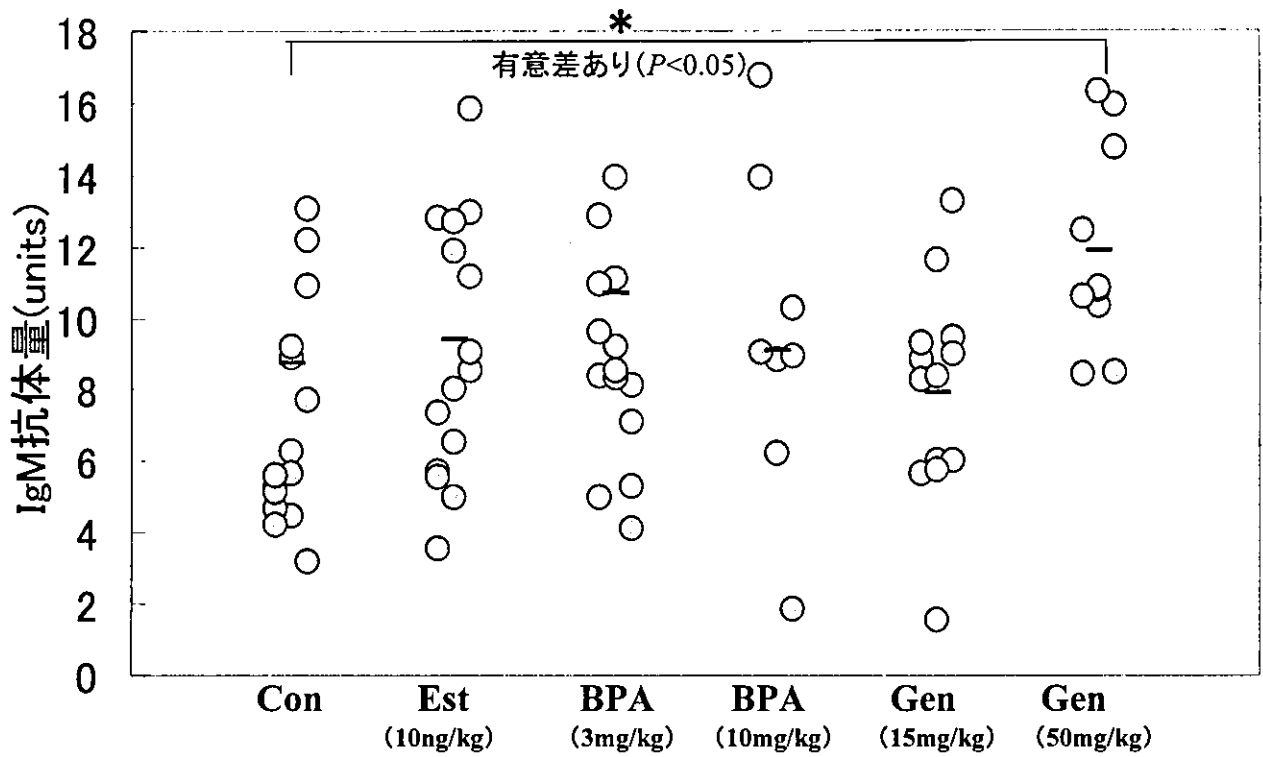


図24 オス自己免疫病マウスの血中IgM抗DNA抗体産生に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

Con: Control Est: Estrogen BPA: Bisphenol A Gen: Genistein

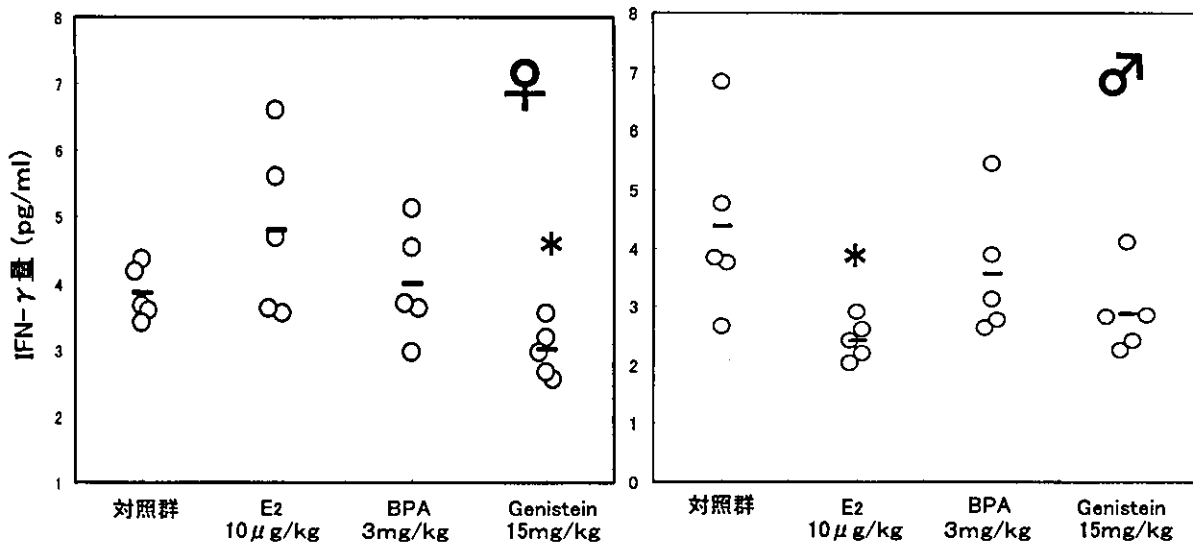


図25 自己免疫病マウスの血中IFN-γ産生に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(1)

* : 対照群に対して有意差あり(P < 0.05)

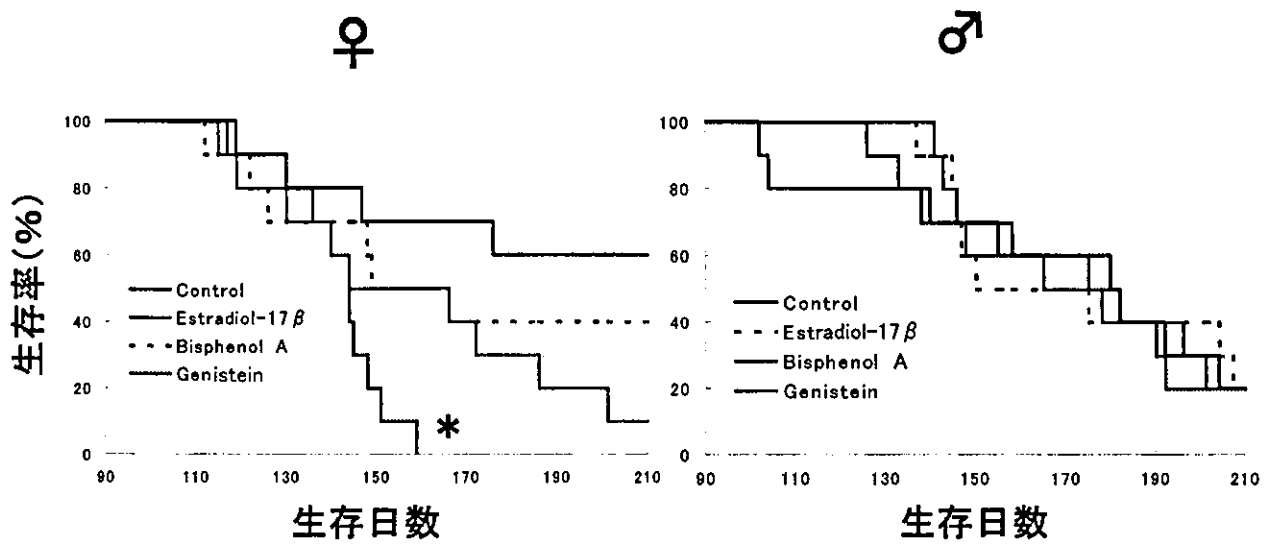


図26 Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinを投与した自己免疫病マウスの生存率

* : 対照群に対して有意差あり ($P < 0.05$)

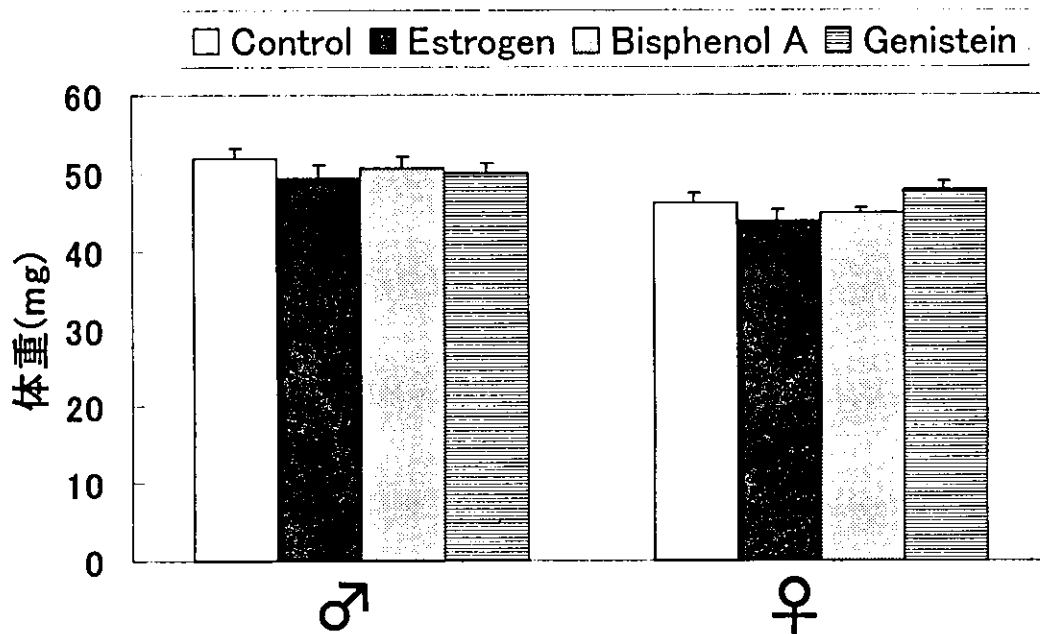


図27 自己免疫病マウスの体重に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(2)

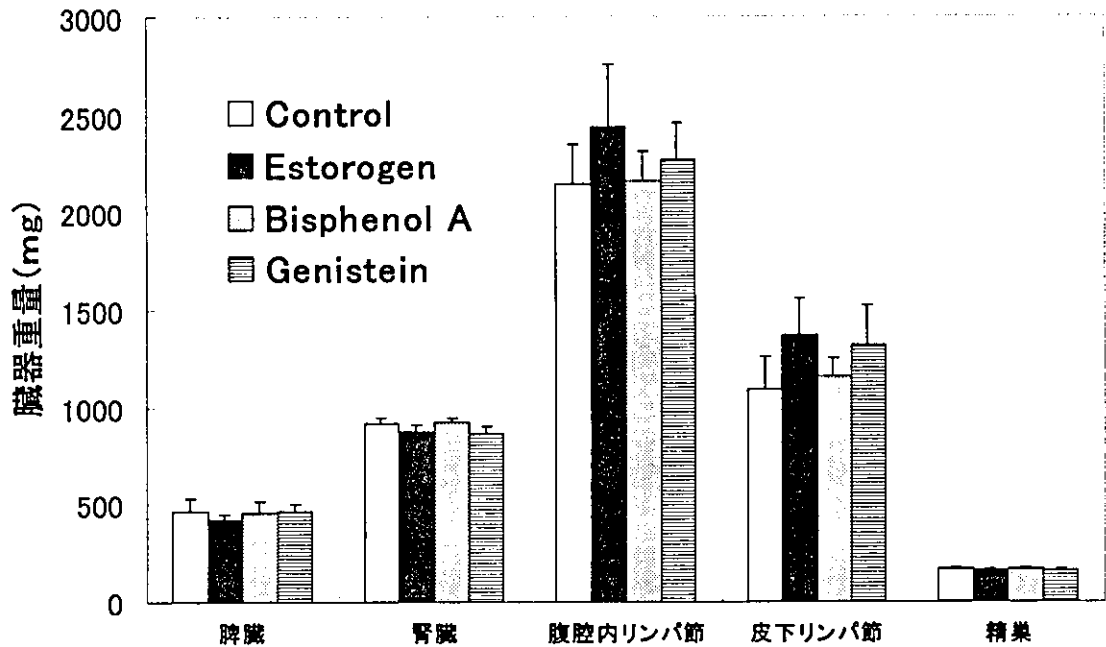


図28 オス自己免疫病マウスの臓器重量に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響 (2)

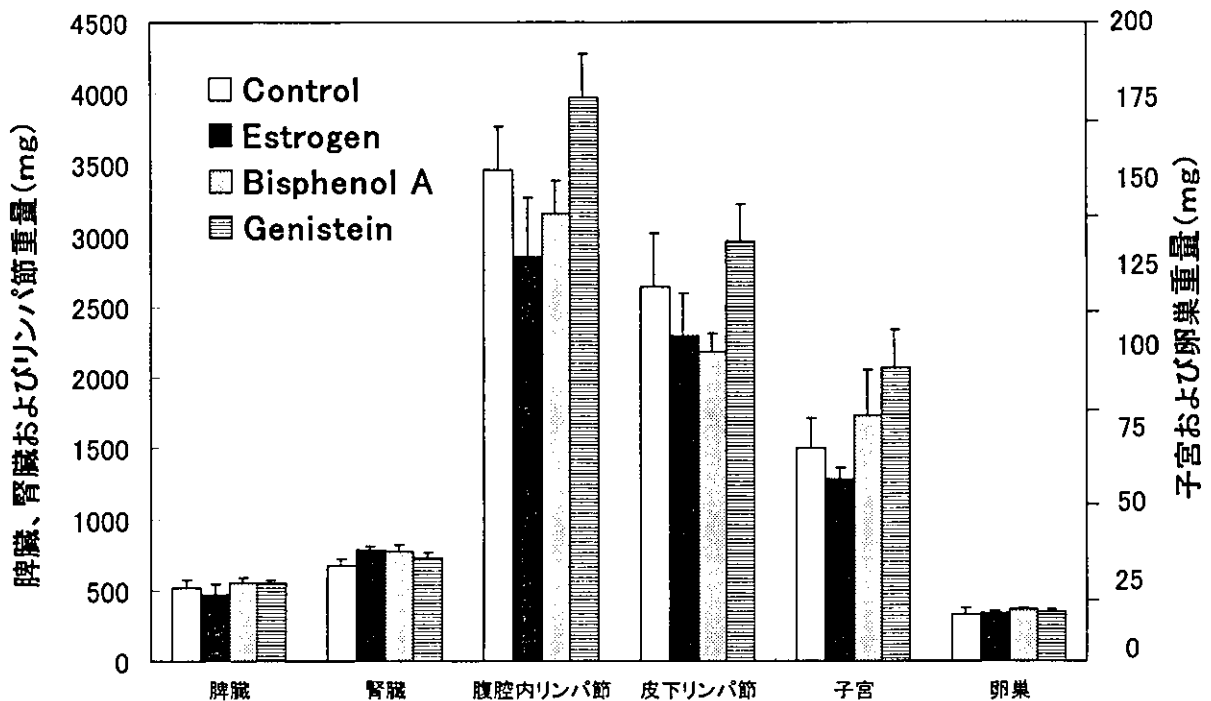


図29 メス自己免疫病マウスの臓器重量に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響 (2)

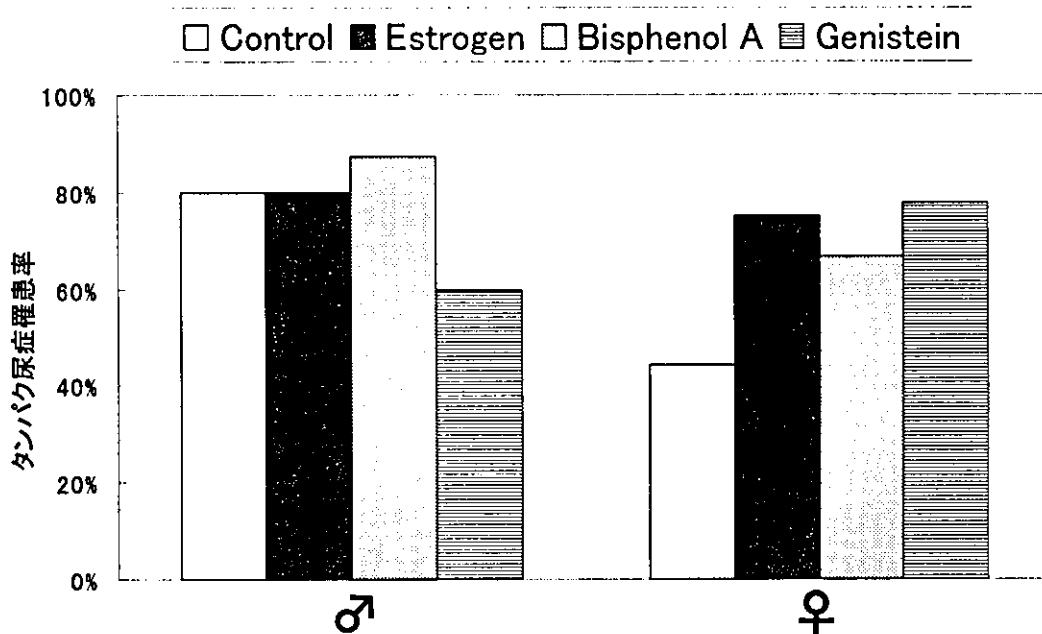


図30 自己免疫病マウスのタンパク尿症発症に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(2)

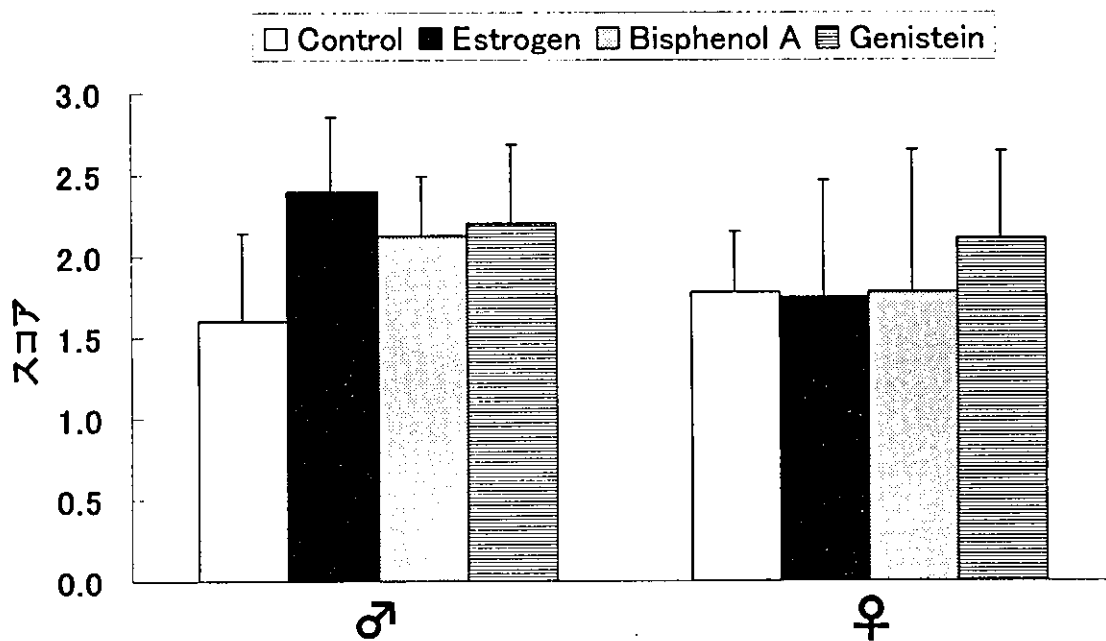


図31 自己免疫病マウスの皮膚炎に対するEstrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(2)

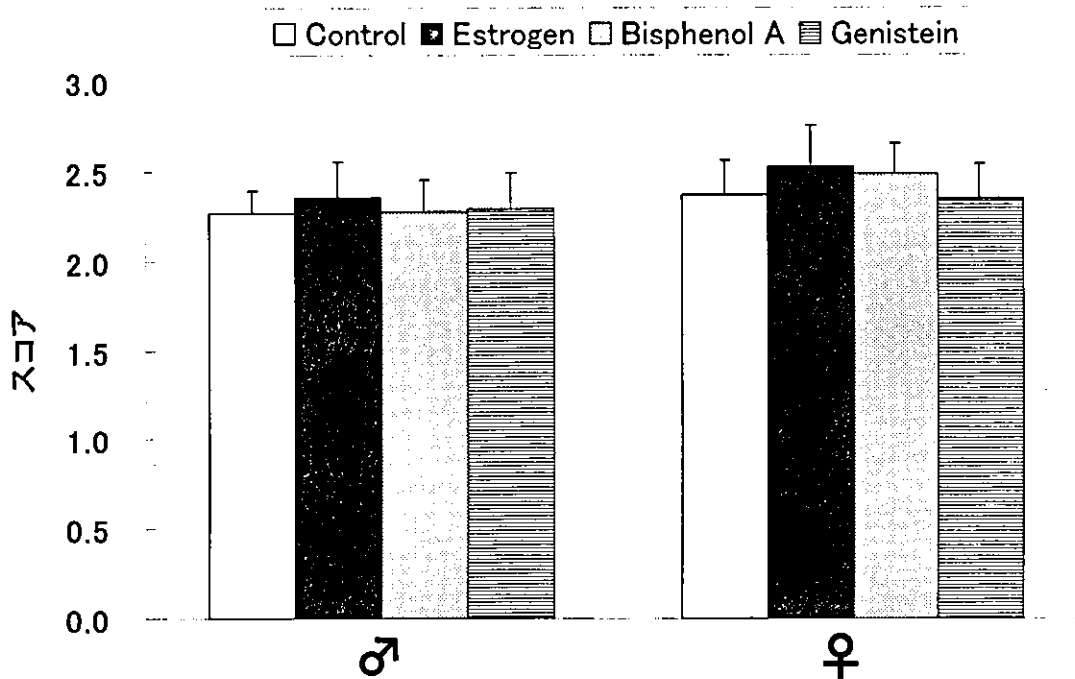


図32 自己免疫病マウスの糸球体腎炎発症に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(2)

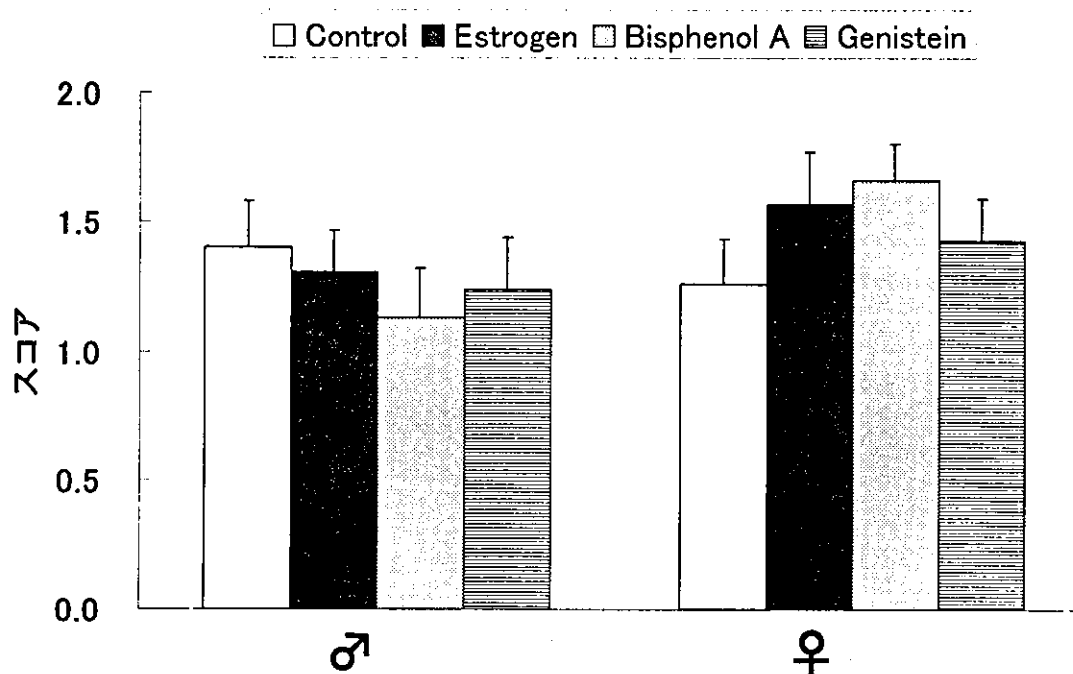


図33 自己免疫病マウスの腎臓血管炎に対する Estrogen、Bisphenol AおよびGenisteinの影響(2)

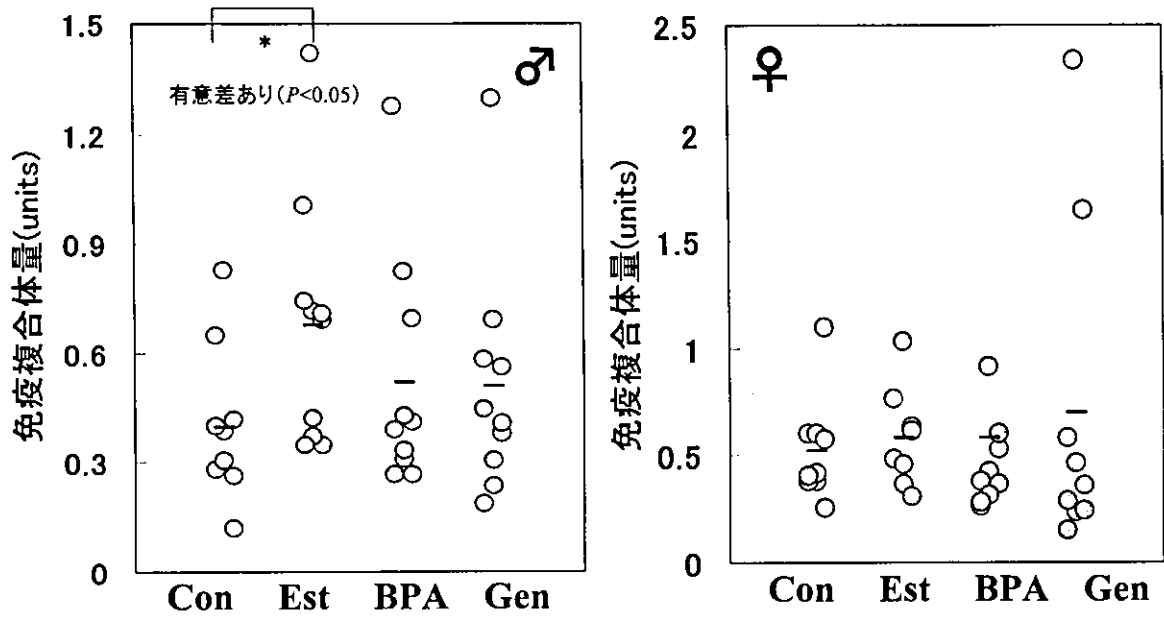


図34 自己免疫病マウスの血中免疫複合体量に対する Estrogen、Bisphenol A および Genistein の影響 (2)

Con:Control Est:Estrogen BPA:Bisphenol A Gen:Genistein

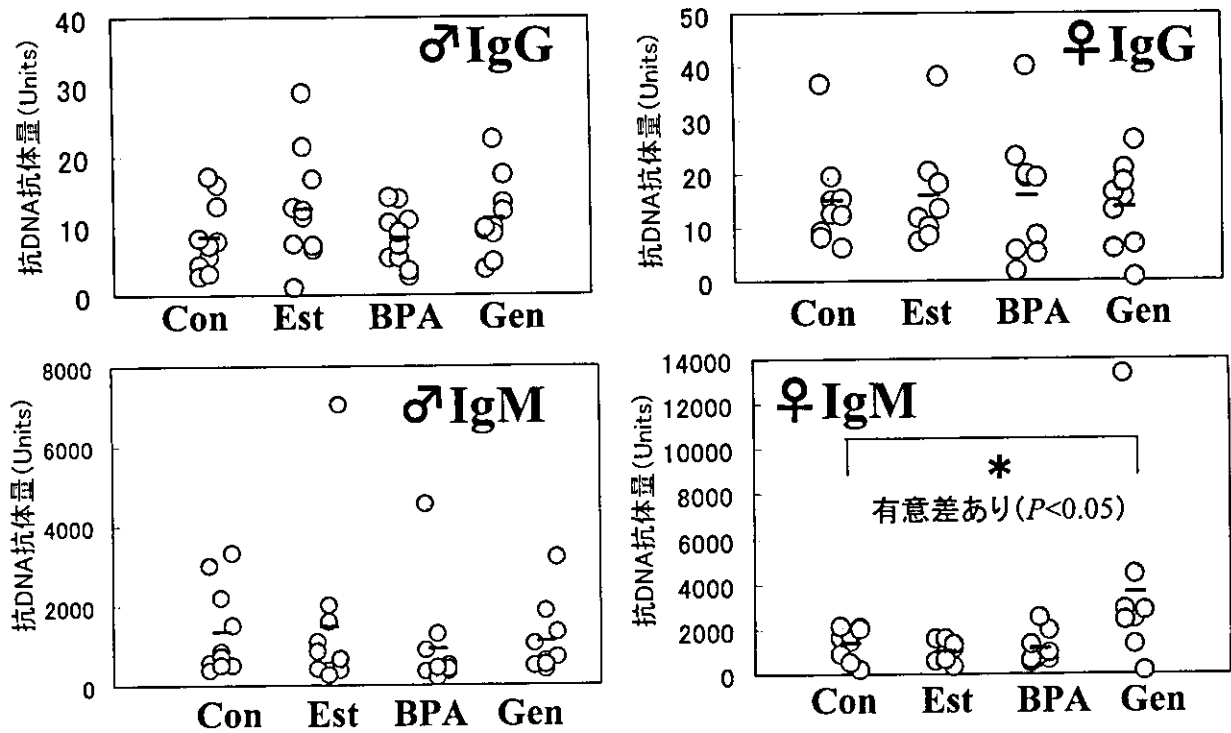


図35 自己免疫病マウスの血中抗DNA抗体量に対する Estrogen、Bisphenol A および Genistein の影響 (2)

Con:Control Est:Estrogen BPA:Bisphenol A Gen:Genistein