

泌攪乱物質と子宮内膜症との関係を支持するものである。

諸外国と同様にわが国でも、焼却炉の周辺地域などでダイオキシンの発生が報告されており、そのような化学物質による健康障害の実態解明が期待されている。

### 3. 目的と意義

目的は環境中に存在する PCB、農薬、ダイオキシンなどの内分泌攪乱物質の曝露がわが国において子宮内膜症の発症に関与しているかどうかを検討することである。環境中に存在するこのような化学物質が、再生産年齢にある多くの女性を悩ませている子宮内膜症の発症を増加、憎悪させることが明かになったならば、本研究の結果は母性保健に大きな影響を与えるものになると考えられる。また、内分泌攪乱物質が健康におよぼす影響について、子宮内膜症が鋭敏な健康影響の指標であることが明かになるかもしれない。さらに本研究によって乳癌や子宮内膜癌の発症や妊娠の成立に関しても有意義な知見が得られることが期待される。

### 4. 調査研究者及び協力者の役割

本研究は、厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）の中の「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）において実施されるものである。

また、本研究は、わが国の3研究機関と米国 Centers for Disease Control and Prevention National Center for Environmental Health との共同研究である。

東京慈恵会医科大学産婦人科（佐々木（研究代表者）、許山、広島、田中）：

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。

国立環境研究所（兜）：

内分泌攪乱物質（血清中フィトエストロゲン、尿中農薬類）の測定。生体試料の分析・測定（LH, FSH, TSH, T3, T4 などのホルモン、シトクローム P450

代謝酵素遺伝子末梢血白血球中 mRNA 量)。

国立がんセンター研究所支所臨床疫学研究部 (花岡、津金) :

研究総括。内分泌攪乱物質の測定 (尿中ビスフェノール A、フタル酸エステル)。生体試料の分析・測定 (シトクローム P450 代謝酵素遺伝子多型および末梢血白血球中 mRNA 量)。データ管理・解析。

Health Studies Branch, Division of Environmental Hazards and Health Effects, National Center for Environmental Health (Amanda Niskar, Carol Rubin) : 本研究のプロトコル、研究デザイン、質問票および疫学的方法の原型作成。疫学的方法、データ解析、報告書作成に関する助言。これらは Atlanta study の Approved IRB Protocol #1833 と同じものである。

Division of Environmental Health Laboratory Sciences, National Center for Environmental Health (Don Patterson) :

血清中内分泌攪乱物質の測定 (ダイオキシン類 22 項目、農薬類 13 項目、PCB 類 36 項目)。これらは Atlanta study の Approved IRB Protocol #1833 中のリストに挙げられているものと同じ測定を行う。

研究協力機関 :

労働者健康福祉機構 産業中毒センター (圓藤) :

尿中カドミウム・砒素などの金属類やその化合物の分析・測定

## 5. 対象と方法

### (1) 調査対象者 ;

本研究は、内分泌攪乱物質曝露 (血清中、尿中の内分泌攪乱物質およびその代謝物の濃度) が子宮内膜症の発症に関連するという仮説を確かめることを目的としている。

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する。

症例および対照例は、日本および米国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 Centers for Disease Control and Prevention の間で Project Assurance が取り交わされた後に収集を始め、それぞれ収集開始後の 75 例を目標とする。

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 以上と診断された者 (AFS's 1985 の基準に従う)。ただし、妊娠 3 ヶ月以上の妊娠経験者は除く。研究参加に同意した者を症例とする。

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。ただし、妊娠 3 ヶ月以上の妊娠経験者は除く。

子宮内膜症と診断された女性の通常の再生産年齢は 20-45 歳である。また、通常、子宮内膜症と診断された女性は満期まで妊娠を継続できない。出産と授乳は内分泌系に影響をおよぼすため、対照者も出産と授乳の経験がないことが必要である。

## (2) 調査方法；

佐々木、許山、広島、田中（東京慈恵会医科大学産婦人科）が不妊治療または腹腔鏡検査以前の診断時に該当する女性に研究の説明をすることを東京慈恵会医科大学産婦人科婦長に指導する（添付資料 A）。婦長は、本調査の対象者の条件に合う患者に対して、不妊治療または腹腔鏡検査以前の時期に、外来または病棟で書面で本調査の内容を説明する（添付資料 A）。説明内容について自署による同意が得られた場合に本調査の対象者とする。医師は患者氏名、カルテ番号、確認日、説明日、同意の有無の一覧表（添付資料 B）を保管する。同意書は研究者と調査対象者が各一部ずつ持つ。

内分泌攪乱物質曝露を把握するために、血清中、尿中、脂肪組織中の内分泌攪乱物質およびその代謝物の濃度、ダイオキシン等に関係が示唆されている代謝酵素類の遺伝子多型およびそれらの mRNA 発現量の測定を行う。後者は、このような遺伝子情報が内分泌攪乱物質やホルモンの代謝や影響を修飾する可能性があるためである。

同意を得られた場合、不妊治療または腹腔鏡検査以前の時期に、東京慈恵会医科大学産婦人科医師の一人が、採血（約 40ml）と採尿（約 30ml）を行う。血清 15ml（全血 30ml）は血清中ダイオキシン、フラン、コプラナーPCBs、PCB 同族体、残存農薬、血清脂質の測定に、血清 1.5ml（全血 3ml）と血漿 1.5ml（全血 3ml）は血清あるいは血漿中のホルモン類、植物エストロゲンなどの測定に使用される。血清 1ml（全血 2ml）と血漿 1ml（全血 2ml）は凍結保存される。Buffy coat は全血 5ml から分離され、分析まで凍結保存される。尿 15ml はビスフェノ

ール A、フタル酸エステル類、農薬類の分析に使用され、残りの尿 15mL は凍結保存される。

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、腹腔鏡検査施行例については、脂肪組織も採取する。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る。脂肪組織の採取を含む説明と同意は腹腔鏡検査前に行われる。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される。脂肪組織を採取するために、再度、腹腔鏡検査が行われることはない。

血清、尿、脂肪組織は、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、必要に応じて倫理委員会の承認を得た後に使用される。

採血・採尿と同時期に、プライバシーが守られる場所で、1名の専任インタビュアーによる面接で対象者に質問票（添付資料 D）に回答してもらう。インタビュアーは東京慈恵会医科大学産婦人科婦長で、十分な医学的トレーニングを受け、患者のプライバシー保護の知識も十分に持っている。

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収集する。

子宮内膜症の Stage などの臨床情報に関しては別紙に記録する（添付資料 C）。

### (3) サンプル採取方法；

採血は午前中空腹時に、10mL 血清用採血管 3 本、5mL 血清用採血管 1 本、5mLEDTA-2Na 採血管 1 本に行う。速やかに、血清用採血管から血清を分離する。EDTA-2Na 採血管からは血漿、Buffy coat を分離する。これらは別に定めるようにそれぞれの容器に分注して、-80℃で保存する。

採尿は、採血を行う日の早朝第一尿を 10mL スピッツ管 3 本に採取して、-80℃で保存する。

### (4) 調査項目；

血清：

ダイオキシン、フラン、コプラナーPCBs、PCB 同族体、残存農薬、血清脂質

(The Division of Environmental Health Laboratory Sciences, National

Center for Environmental Health)

Buffy coat :

ダイオキシン等に関係が示唆されている代謝酵素類の遺伝子多型およびそれらの mRNA 発現量 (Cytochrome P450 1B1 および 1A1、AhR など)。

(国立環境研究所、国立がんセンター研究所支所)

血清、血漿 :

ホルモン類 (LH、FSH、TSH、T3、T4 など) 植物エストロゲンなど。

(国立環境研究所)

尿 :

ビスフェノール A、フタル酸エステル類など尿中の内分泌攪乱物質。

(国立がんセンター研究所支所)

農薬類。

(国立環境研究所)

カドミウム・砒素などの金属類やその化合物

(労働者健康福祉機構 産業中毒センター)

その他 :

質問票、基礎体温データ

(東京慈恵会医科大学産婦人科)

(5) 質問票 (添付資料 D) ;

インタビューは東京慈恵会医科大学産婦人科婦長によって行われる。内膜症との関連が疑われる喫煙、妊娠歴、職業などの要因や、内分泌攪乱物質との関連が疑われる要因 (タンポン使用や農薬の使用など) の情報を得ることことを目的とする。得られたすべての情報の内容は保護される。

(6) 患者への負担、リスク、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、患者への負担やリスクは静脈穿刺の際の痛みなどルーチン採血時の負担やリスクを越えるものではない。

患者は調査終了後に自分の血清中および尿中の内分泌攪乱物質 (血清中ダイオキシン、フラン、コプラナーPCBs、PCB 同族体、残存農薬、血清脂質、その他の化学物質。尿中ビスフェノール A、フタル酸エステル類、農薬類) を知ること

ができ、調査担当者からその臨床的意義、研究結果の説明を受けることができる。

(7) 調査期間；

調査期間は2年間を予定とする。対象者の収集に18ヶ月程度、研究所における測定・分析に3-6ヶ月程度、統計学的解析と論文作成に4ヶ月間程度を要する。インタビューとデータ入力は、研究参加者の収集と同時に行う。研究計画変更承認後さらに二年間を追加して尿中化学物質の測定を行う。

(8) 結果報告について；

分析結果の解析は(4)で示された研究機関で行なわれる。この調査から得られたどのような結果も共同研究機関によって発表される。

調査終了後に、血液および尿検査の結果（場合によっては、脂肪組織の検査）、結果の意義、他の参加者の値との比較が記載された報告書（添付書類E）が担当医師（主治医）宛に郵送され、そのコピーが医師から対象者に渡される。調査担当者は、研究参加者である患者が参加できる説明会を開き、調査結果の説明を行う。調査担当者は、研究参加者である患者がプライバシーが保たれる環境で個人結果の臨床的意義、研究結果の説明を受けることが出来る機会を用意する。過去の経験からは、研究参加者は、個人結果と研究全体の結果を知ることがを要望し、調査担当者に質問をする機会があることを評価するものである。

(9) 記録管理について；

添付資料A、B、C、D、Eの用紙を使用する。

A：インフォームド Consent 用紙

B：対象患者の一覧表

C：対象者の臨床情報記録用紙

D：質問票

E：対象者への結果報告書

以上の書類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（施錠し記録を保護）。

個々の対象者についてBの書類でID番号を付ける。同じID番号をC、D、Eの書類に付ける。Bの書類で患者氏名がマスターリストと照合でき、AとBの書類

は対象者の医師が保管する（施錠し記録を保護）。C、D、E の書類には氏名は記載しない。

サンプルにも ID 番号が付けられる。サンプルは匿名で分析されるが、サンプルと個人識別情報は個人結果を返却するために医師によってリンクすることが可能である。

## 6. 参考文献

武谷雄二, 他. 子宮内膜症の実態に関する研究. 平成 9 年度厚生省心身障害研究報告書「リプロダクティブヘルスからみた子宮内膜症の実態と対策に関する研究」, 1997.

Cohen I, Altaras MM, et al. Postmenopausal tamoxifen treatment and endometriosis pathology. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 49 (12) :823-9, 1994.

Gerhard I, Runnebaum B. The limits of hormone substitution in pollutant exposure and fertility disorders. (German) *Zentralbl Gynakol*. 114:593-02, 1992.

Goh JT, Hall BA. Postmenopausal endometrioma and hormonal replacement therapy. *Aust N J Obstet Gynaecol*. 32 (4) :384-5, 1992.

Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, et al, Research needs for the risk assessment of health and environmental effect of endocrine disruptors: A report of the US EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect* 104 (Suppl 4) : 1996.

Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera M, Dubin N. Blood levels of organochlorine and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 85:648-652, 1993.



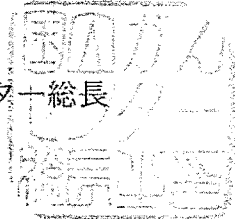
(様式4)

### 研究許可申請に関する指示・決定通知書

平成18年 9月 8日

津金 昌一郎 殿

国立がんセンター総長



貴殿から申請のあった試験研究等について、下記のとおり決定したので、通知する。

#### 記

受付番号 12-6

研究課題	12-6 子宮内膜症と内分泌攪乱物質に対する調査
判定	<input checked="" type="checkbox"/> 許可 <input type="checkbox"/> 条件付許可 <input type="checkbox"/> 不許可 <input type="checkbox"/> 非該当
勧告或いは理由	

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

前立腺がんの症例対照研究

分担研究者 加藤貴彦 宮崎大学 医学部 社会医学講座 公衆衛生学分野 教授

研究要旨

内分泌かく乱物質（EDC）と前立腺がんとの関連を検討するために多施設症例対照研究の症例対照収集を行った。平成 19 年 2 月時点で、前立腺がん症例 200 例、対照 990 例を収集し、さらに継続中である。

また過去に収集され十分な症例数が確保された 316 名の尿路上皮がん患者と 361 名の対照者を用い、収集終了後に分析する候補遺伝子のデータ蓄積を目的として、症例-対照研究を行った。解析対象候補遺伝子として、今年度は胎児の EDC に対する脆弱性要因のひとつと考えられている DNA 修復メカニズムについて検討を行った。はじめに DNA 修復酵素について文献検索し、代表的な除去修復酵素である *XPD* (*xeroderma pigmentosum group D*) 遺伝子多型と尿路上皮癌との関連性について検討した。解析した *XPD* の遺伝子多型サイトは *Exon 6*、*Exon 10*、*Exon 23* の 3 箇所である。その結果、喫煙者群において、*Exon 10 G/A* 遺伝子型の尿路上皮がん患者における頻度は 11.1% で、対照群における 5.4% とのあいだに統計学的に有意な差がみられた（オッズ比: 2.22 95% 信頼区間: 1.02-4.84）。一方、*Exon 6*、*Exon 23* の 2 箇所の遺伝子多型頻度と尿路上皮がんとのあいだには有意な関連性はみられなかった。これらの結果から、喫煙者において *XPD Exon 10* の遺伝子多型は、尿路上皮がんの発癌感受性に関与していることが示された。

研究協力者

黒田 嘉紀 宮崎大学医学部  
社会医学講座 助教授  
山野 優子 昭和大学医学部  
衛生学講座 講師  
鷹橋 浩幸 慈恵会医科大学  
病理学講座 講師

として、欧米型の食事や日本人の性生活の変化などがあげられているが、未だ完全に確定しているものはない。

近年、内因性エストロゲンレベルやアンドロゲンレベルとの関連性が報告されており、内分泌かく乱科学物質（EDC）との関連が危惧されている。本研究の目的は、多施設より収集した前立腺がん症例と対照例を用いて症例対照研究を行い、ホルモンなどの環境要因の代謝や遺伝子脆弱性に関する遺伝子多型を考慮し、食習慣や環境要因のリスク評価を行うことである。今年度の目標とする症例数は 200 例である。

A. 研究目的

わが国において、男性の全がんのなかで前立腺がんの占める位置は、死亡が 8 位で全がんの 4.2% [1]、罹患が全がんの 6 位であり 5.4% [2] を占めるにすぎない。しかし、近年の急速な増加傾向は著しいものがあり、高齢化社会という実情と相まって泌尿器科領域での重要な疾患の一つである。前立腺がんの発生リスク要因

B. 研究方法

前立腺がん と EDC との関連性を解明す

るために、平成 17 年度に倫理審査をうけたプロトコールに従って、多施設症例対照研究を開始した。

症例は初発の前立腺がんで、東京慈恵会医科大学泌尿器科学講座、帝京大学医学部泌尿器学講座で診断された 40 歳以上 90 歳未満の男性入院患者及び外来患者全員とした。対照者は上記症例に対して、三井記念病院人間ドッグ受診者の男性で、年齢 ( $\pm 3$  歳)、居住地域が一致する者のうち最も年齢の近い 1 名を選び対照とした。それぞれの最終的な目標症例数は、500 例である。

目標症例数に到達したところで、生活習慣に関する質問票及び血清中の EDC やホルモン、シトクローム P450 などの環境化学物質の代謝に関与する酵素、ホルモンレセプター、遺伝子脆弱性に関与する遺伝子の多型を分析し、前立腺がん発生と EDC との関連性について検討する。

また過去に収集された 316 名の尿路上皮がん患者と 361 名の対照者を用い、収集終了後に分析する候補遺伝子について検討する。今年度は DNA 修復酵素について文献検索し、代表的な除去修復酵素である *XPD* (*xeroderma pigmentosum group D*) 遺伝子多型と尿路上皮がんとの関連性について検討した。解析した *XPD* の遺伝子多型サイトは *Exon 6*、*Exon 10*、*Exon 23* の 3 箇所である。統計解析には SPSS を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は宮崎大学医学部、東京慈恵会医科大学、帝京大学、三井記念病院の各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、文書によって研究参加の同意を得ている。

## C. 研究結果

### 1. 症例、対照の収集

プロトコールに従って症例、対照を収

集し、平成 19 年 2 月時点で、前立腺がん症例 200 例、対照 990 例を収集し、さらに継続中である。

### 2. 分析候補遺伝子検討のためのパイロット研究

#### (2-1) DNA 修復酵素について

生物は DNA の損傷を修復するためにさまざまな機構を保持している。それら「修復」には、大きく分けて、除去修復、ミスマッチ修復、組み換え修復といった機構があり、これらのうち除去修復の機構は、恒常的に発生する塩基損傷に対抗する主力をなし、塩基除去修復とヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair) がある。ヌクレオチド除去修復は、紫外線照射によって生じるピリミジン 2 量体や、ある種の化学物質によって同一 DNA 鎖内で生じる架橋や塩基付加体などの DNA 2 重鎖構造にひずみを引き起こす異常を対象としている。このしくみの特徴は、損傷認識に引き続いて損傷の両側で 1 本鎖切断が起こる結果、損傷塩基が周囲の正常塩基とともにオリゴヌクレオチドの状態でも切り出される点にある。真核生物のヌクレオチド除去修復機構には、多くの蛋白質因子が関与しており、DDB (damaged DNA binding factor)、XPC (xeroderma pigmentosum) は損傷の認識に、TF II H (transcription factor II H) は、損傷部位の切断、除去に関わっている。

近年、EDC の作用は、成人と比較し、胎児への影響が大きい可能性が示唆されている。すなわち、発達中の組織は、DNA 修復メカニズムの欠如、まだ完全には機能しない解毒酵素、及び、まだ形成中の血液脳関門などの要素のために、EDC に対し脆弱であると考えられている。そこで、今回の研究では、ヌクレオチド除去修復の機構において、TF II H のサブユニットであ

り、二本鎖 DNA の一本鎖への巻き戻し機能を担っている XPD をターゲットとした。

#### (2-2) XPD に関する症例対照研究

316 名の尿路上皮がん患者と 361 名の対照者について、XPD 遺伝子多型と尿路上皮癌との関連性について検討した。解析した XPD の遺伝子多型サイトは Exon 6、Exon 10、Exon 23 の 3 箇所である。

全体の解析では、尿路上皮がんといずれの多型サイトとの関連性もみられなかった (表 1)。次に喫煙状態によって層化し解析を行った (表 2, 表 3)。喫煙者群において、Exon 10 G/A 遺伝子型保有者のがん患者群における頻度は 11.1% で、対照群における 5.4% とのあいだに有意な差がみられた (オッズ比: 2.22 95% 信頼区間: 1.02-4.84)。そこで、関連性が認められた Exon 10 G/A 遺伝子型と喫煙との関連性をより詳細に解析するために、喫煙量によって両群を 3 群に層化し解析を試みた (表 4)。その結果、40 パック年以上の heavy smoker 群において、がん患者群における頻度は 11.1% で、オッズ比 3.83 (95% 信頼区間: 1.05-13.97) と統計学的に有意な上昇が観察された。

#### D. 考察

本症例対照研究では、現在東京 2 施設から症例の収集を行っているが、進行状況をみると予想より登録数は少ない。しかし、今年度にはいり各施設のサンプリングシステムが確立されつつあり、今後は順調に登録がすすむことが期待される。

症例収集終了後の分析対象とする候補遺伝子選択を目的として、過去に収集され十分な症例数が確保された 316 名の尿路上皮がん患者と 361 名の対照者を用いパイロット研究を行った。今年度は DNA 修復酵素について文献検索し、代表的

なヌクレオチド除去修復酵素である XPD 遺伝子多型と尿路上皮癌との関連性について検討した。その結果、喫煙者群、特に heavy smoker 群において、XPD Exon 10 G/A 遺伝子型の尿路上皮がん罹患とのあいだに統計学的に有意な関連性が認められた。日本人における XPD 遺伝子と尿路上皮がんとの研究は本研究が初めてであるが、海外からはこれまでに 5 つの報告がある。そのなかで、Schabath ら報告のみ、Exon 23 と女性罹患尿路上皮がんオッズ比 1.69 (95% 信頼区間: 1.12-2.58) の有意な関連性が報告されている [3]。一方、本分担研究で収集している前立腺がんとの関連性については、USA と中国から 2 つのみの報告である [4, 5]。コケージアンを対象とした USA の症例対照研究では、Exon 6 との有意な関連性が報告されている。

今回の研究結果から、喫煙者において XPD Exon 10 の遺伝子多型は、尿路上皮がんの発癌感受性に関与していることが示された。日本人における XPD 遺伝子と尿路上皮がんとの研究は本研究が初めてであり、前立腺がんに関する報告にいたっては世界的みても 2 報のみである。前立腺がんのサンプル収集終了後、前年度検討した EDC の代謝酵素に加え、EDC によって引き起こされる DNA ダメージを修復機構に関与する蛋白質・酵素の遺伝子解析も進めていきたい。

#### E. 結論

前立腺がん発生に対する EDC 曝露のリスクを明らかにするために、前立腺がんの多施設症例対照研究における症例収集を行った。

また収集終了後に分析する候補遺伝子選択のため、過去に収集され十分な症例数が確保された 316 名の尿路上皮がん患者と 361 名の対照者を用い、XPD 遺伝子

多型について症例対照研究を行った。その結果、喫煙者群、特に heavy smoker 群において、*Exon 10 G/A* 遺伝子型と尿路上皮がんとのあいだに有意な関連性が認められた。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表  
1. 論文発表

Komiya Y, Tsukino H, Nakao H, Kuroda Y, Imai H, Katoh T, Human glutathione S-transferase A1, T1, M1, and P1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in the Japanese Population, *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 238-242.

Komiya Y, Tsukino H, Nakao H, Kuroda Y, Imai H, Katoh T. Human glutathione S-transferase A1 polymorphism and susceptibility to urothelial cancer in the Japanese population. *Cancer Lett* 2005; 221: 55-59.

Tsuchiya M, Miura T, Hanaoka T, Iwasaki M, Sasaki H, Tanaka T, Nakao H, Katoh T, Ikenoue T, Kabuto M, Tsugane S. Effect of soy isoflavones on endometriosis: interaction with estrogen receptor 2 gene polymorphism. *Epidemiology* (in press)

Tsuchiya M, Tsukino H, Iwasaki M, Sasaki H, Tanaka T, Katoh T, Patterson DG Jr, Turner W, Needham L, Tsugane S. Interaction between cytochrome P450 gene polymorphisms

and serum organochlorine TEQ levels in the risk of endometriosis. *Mol Hum Reprod.* (in press)

2. 学会発表

渡邊昌俊、広川佳史、鈴木啓悦、市川智彦、加藤貴彦、杉村芳樹、白石泰三. Methylenetetrahydrofolate Reductase 及び Methionine Synthase 遺伝子多型と前立腺癌における癌関連遺伝子のメチル化の解析, 第 65 回日本癌学会総会, 2006 年, 9 月, 横浜.

加藤貴彦, 小宮康裕, 黒田嘉紀. 感受性バイオマーカーの産業保健への応用, 第 36 回日本生物学的モニタリング・バイオマーカー研究会, 2006, 10 月, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)  
該当せず

参考文献

- 1) Kuroishi T, et al: Cancer mortality in Japan (1950-2000), In: Cancer mortality and morbidity statistics: Japan and the world - 2004 (ed by Tajima K, et al), p1-93, Japan Scientific Societies Press, 2004.
- 2) The Research Group for Population - basED Cancer Regulation in Japan: Cancer incidence in Japan, In: Cancer mortality and morbidity statistics: Japan and the world - 2004 (ed by Tajima K, et al), p95-130, Japan Scientific Societies Press, 2004.
- 3) Schabath MB, Delclos GL, Grossman HB, Wang Y, Lerner SP, Chamberlain RM, Spitz MR, Wu X,

- Polymorphisms in XPD exons 10 and 23 and bladder cancer risk, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 878-884.
- 4) Rybicki BA, Conti DV, Moreira A, Cicek M, Casey G, JSWitte, DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 23-29.
  - 5) Rybicki JD, Huang WY, Chokkalingam AP, Gao YT, Deng J, Levine P, Stanczyk FZ, Hsing AW, Genetic variants of DNA repair genes and prostate cancer: a population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14: 1703-1709.

表 1 XPD 遺伝子型と尿路上皮がんの関連

<i>XPD genotype</i>	Controls % (n=361)	Urothelial cancer % (n=316)	OR (95%CI) <sup>a</sup>
<i>Exon 6</i>			
C/C	21.3% (77)	19.3% (61)	1
A/C	46.5% (168)	50.6% (160)	1.22 (0.81-1.85)
A/A	32.1% (116)	30.1% (95)	0.99 (0.63-1.57)
<i>Exon 10</i>			
G/G	93.1% (336)	90.2% (285)	1
G/A	6.9% (25)	9.8% (31)	1.46 (0.82-2.58)
A/A	0% (0)	0% (0)	--
<i>Exon 23</i>			
A/A	92.2% (333)	92.7% (293)	1
A/C	7.8% (28)	7.3% (23)	0.89 (0.49-1.62)
C/C	0% (0)	0% (0)	--

<sup>a</sup>Odds Ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI). ORs were adjusted for sex, age and smoking status.

表 2 非喫煙者の XPD 遺伝子型と尿路上皮がんの関連

	XPD genotype	Controls % (n=176)	Urothelial cancer % (n=100)	OR (95%CI) <sup>a</sup>
Exon 6	C/C	23.9% (42)	19.0% (19)	1
	A/C	46.6% (83)	54.0% (54)	1.53 (0.78-2.99)
	A/A	29.5% (52)	27.0% (27)	1.15 (0.53-2.51)
Exon 10	G/G	91.5% (161)	93.0% (93)	1
	G/A	8.5% (15)	7.0% (7)	0.79 (0.30-2.08)
	A/A	0% (0)	0% (0)	--
Exon 23	A/A	91.5% (161)	95.0% (95)	1
	A/C	8.5% (15)	5.0% (5)	0.46 (0.16-1.36)
	C/C	0% (0)	0% (0)	--

<sup>a</sup>Odds Ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI). ORs were adjusted for sex and age.



表3 喫煙者の XPD 遺伝子型と尿路上皮がんの関連

	XPD genotype	Controls % (n=185)	Urothelial cancer % (n=216)	OR (95%CI) <sup>a</sup>
Exon 6	C/C	18.9% (35)	19.4% (42)	1
	A/C	46.5% (86)	49.1% (106)	1.05 (0.61-1.79)
	A/A	34.6% (64)	31.5% (68)	0.92 (0.52-1.63)
Exon 10	G/G	94.6% (175)	88.9% (192)	1
	G/A	5.4% (10)	11.1% (24)	2.22 (1.02-4.84)
	A/A	0% (0)	0% (0)	..
Exon 23	A/A	93.0% (161)	91.7% (198)	1
	A/C	7.0% (13)	8.3% (18)	1.27 (0.60-2.72)
	C/C	0% (0)	0% (0)	..

<sup>a</sup>Odds Ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI). ORs were adjusted for sex and age.

表 4 喫煙指数と XPD Exon10 遺伝子型との関連

	Exon10 genotype	Controls % (n=316)	Urothelial cancer % (n=316)	OR (95%CI) <sup>a</sup>
Non-smoker	G/G	91.5% (161)	93.0% (93)	1
	G/A	8.5% (15)	7.0% (7)	0.79 (0.30-2.08)
	A/A	0% (0)	0% (0)	--
0<, <40 packs years	G/G	93.9% (107)	91.4% (96)	1
	G/A	6.1% (7)	8.6% (9)	1.35 (0.47-3.84)
	A/A	0% (0)	0% (0)	--
40 pack years ≤	G/G	95.8% (68)	86.5% (96)	1
	G/A	4.2% (3)	13.5% (15)	3.83 (1.05-13.97)
	A/A	0% (0)	0% (0)	--

<sup>a</sup>Odds Ratio (OR) and 95% confidence interval (95%CI). ORs were adjusted for sex and age.

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)  
分担研究報告書

乳がんの症例対照研究

分担研究者 岩崎 基  
国立がんセンター がん予防検診研究センター 予防研究部 室長

研究要旨 有機塩素系化合物などの化学物質曝露と乳がんとの関連を検証するための多施設症例対照研究を行っている。平成17年度に症例対照の収集を終了し、血清中有機塩素系農薬類とポリ塩化ビフェニル(PCB)類の分析、末梢血からのDNAを抽出、エストロゲンの合成・代謝に関連する遺伝子、環境化学物質の代謝に関連する遺伝子、ホルモンレセプター遺伝子などを中心とする遺伝子多型の解析を開始した。今年度はこれらの生体試料の分析を引き続き行うとともに、得られたデータに基づき解析を行った。有機塩素系化合物の分析では、農薬9種類とPCB類41ピークの分析が終了した。また遺伝子多型の解析では40遺伝子60種類について解析が終了した。このうち有機塩素系農薬類とPCB類について乳がんリスクとの関連を予備的に検討したところ、いずれも統計学的に有意なリスク上昇は観察されなかった。むしろ高濃度群のオッズ比は1よりも小さく、負の関連を示す物質が多く見られた。今後、更により詳細な検討により有機塩素系化合物曝露と乳がんリスクとの関連を明らかにしていく予定である。

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  
池田仁子 国立がんセンター・がん予防・検診研究センター予防研究部・研究員  
伊藤弘明 国立がんセンター・がん予防・検診研究センター予防研究部・リサーチレジデント

A. 研究目的

乳がん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、その発がんはエストロゲンレセプター、アンドロゲンレセプターに親和性がある有機塩素系化合物などの化学物質曝露との関連が危惧されている。日常生活環境におけるこのような化学物質への曝露が、乳がん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、化学物質曝露による乳がん罹患リスクを検証する。

今年度は、平成17年度までに確定した症例対照のセットに対して、血清中有機塩素系化合物の分析、全血からDNAの抽出、さらに代謝酵素やホルモンレセプター遺伝子などの遺伝子多型の解析を行い、得られたデータの解析を行う。

## B. 研究方法

### 1. 研究デザイン

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)において多施設症例対照研究を行った。

### 2. 対象者

初発の乳がんと診断され、上記の4病院に入院した20歳以上75歳未満の女性患者全員を症例とし、400症例を目標に収集した。対照は長野松代総合病院と北信総合病院の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に近い1名とした。

### 3. 調査方法

対象者本人による自記式の質問票調査を行った。質問票は、生理・生殖関連、既往歴、職業、居住地、飲酒、喫煙などに関する質問票と食物摂取頻度調査票の2つを用いた。がんの部位、進行度、ホルモンレセプターなどの臨床情報の記載を担当医師に依頼した。また生体試料として7ml EDTA2Na採血管1本、および血清9ml用採血管2本分の血液検体を収集した。

### 4. 生体試料の分析

血清中有機塩素系農薬類とポリ塩化ビフェニル(PCB)類の分析項目を決めるために、解析除外検体を用いた予備分析を行った。その結果、存在割合が高く測定対象になり得る有機塩素系農薬は、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT、*p,p'*-DDE、*trans*-Nonachlor、*cis*-Nonachlor、Oxychlorane、Hexachlorobenzene (HCB)、Mirex、 $\beta$ -Hexachlorocyclohexane ( $\beta$ -HCH) の9種類であった。またPCB類は3~10塩素化物のうち41peaks:#17、#28、#51、#52/#69、#43/#49、#48/#47、#44、#74、#66、#77、#90/#101、#99、#123、#118、#114、#105、#126、#146、#153、#164/163、#138、#128/162、#167、#156、#169、#182/#187、#183、#174、#177、#180、#170、#189、#202、

#201、#198/#199、#196、#203、#194、#208、#206、#209を測定対象物質とした。

分析は島津テクニサーチに委託し、以下の方法で分析され、濃度測定結果を受け取った。血清 約1.5 gに<sup>13</sup>C 標識体をクリーンアップスパイクとして添加し、分画・精製操作(液液抽出・フロリジルカラムクリーンアップ)を行い、濃縮後、PCBsについては<sup>13</sup>C 標識体のシリンジスパイクを添加した。ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析計を用いて、分解能10,000以上で測定、天然同位体存在比の理論値に照らして目的物質を確実に同定している。キャピラリーカラムを用いてガスクロマトグラフィー上で分離し、<sup>13</sup>C 標識体とのピーク面積比で定量した。分析者は症例・対照の検体のペアを症例・対照交互に分析し、どちらが症例(対照)であるかは知らされない。分析値の変動は20%程度という。濃度によると思われる。S/N=3となる濃度を検出下限値とした。DDT等農薬類では 1.0 pg/g wet、PCB 各コンジェナーでは 0.6 pg/g wetであった。

次に、血清中総脂質濃度をPhilips et al. (1)の血清中総脂質濃度予測式(総脂質濃度 (mg/dL) = 2.27 × 総コレステロール + 中性脂肪 + 62.3)を用いて計算した。血清中総コレステロール濃度(mg/dL)と中性脂肪濃度(mg/dL)は京都の臨床検査機関が行った。この血清中総脂質濃度予測値を比重(g/mL; 個別に実測)で除して個別の血清中総脂質濃度(%; w/w)を推定し、血清中有機塩素系化合物濃度の粗測定値 [pg/g wet]を除して、脂質1g当たりの量 (ng/g lipid) に補正した。

遺伝子多型のタイピングに用いたgenomic DNAは、末梢白血球からQIAGEN FlexiGene® DNA Kitsを使って抽出した。全部で40遺伝子60種類の遺伝子多型についてGenetic Lab.社に依頼してタイピングを行った。60種類の遺伝子多型中58種類の多型についてはTaqMan® SNP Genotyping