

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

内分泌かく乱化学物質とホルモン関連腫瘍
に関する疫学研究

(H17-化学-一般-014)

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

津 金 昌一郎 国立がんセンターがん予防・検診研究センター

分担研究者

加 藤 貴 彦 熊本大学大学院医学薬学研究部

坪 野 吉 孝 東北大学大学院法学研究科

岩 崎 基 国立がんセンターがん予防・検診研究センター

平成20(2008)年4月

目次

I. 総括研究報告書	
内分泌かく乱化学物質とホルモン関連腫瘍に関する疫学研究 津金昌一郎	—— 1
II. 分担研究報告書	
1. 研究の総括、コホート内症例対照研究、子宮内膜症の症例対照研究 津金昌一郎	—— 19
2. 前立腺がんの症例対照研究 加藤 貴彦	—— 37
3. 乳がんの症例対照研究 岩崎 基	—— 65
4. 健康影響に関する疫学研究の文献的検討 坪野 吉孝	—— 91
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—— 132
IV. 研究成果の刊行物・別刷	—— 134

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)
総括研究報告書

内分泌かく乱化学物質とホルモン関連腫瘍に関する疫学研究

主任研究者 津金 昌一郎
国立がんセンター がん予防・検診研究センター 予防研究部 部長

研究要旨 日常生活環境における有機塩素系化合物などの化学物質曝露がホルモン関連腫瘍の発生に関連するか否かを明らかにすることを目的に疫学研究を行っている。

平成18年度の研究計画に引き続き、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がんと前立腺がんのコホート内症例対照研究を行った。乳がんのコホート内症例対照研究では、血漿中イソフラボンと乳がんリスクの関連を検討し、血漿中ゲニステイン濃度の高い女性において乳がんリスクの低下が示唆された。また前立腺がんのコホート内症例対照研究は、内因性ホルモンおよびイソフラボン類の分析を終え、有機塩素系農薬類とPCB類の分析を開始した。

平成13年度に開始した乳がんの症例対照研究は、平成18年度までに分析が終了した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検討したところ、いずれも血清中濃度の高い群における乳がんリスクの上昇は観察されなかった。また質問票から算出したイソフラボン摂取量とエストロゲン受容体遺伝子およびエストロゲン合成に関与する遺伝子の多型データを用いて乳がんリスクとの関連および交互作用を検討したところ、イソフラボン摂取と乳がんリスクの間には有意な負の関連が見られ、さらにエストロゲン受容体 β 遺伝子多型、17 β -HSD1遺伝子多型およびSHBG遺伝子多型との間に交互作用を示唆する結果が得られた。

平成17年度より開始した前立腺がんの症例対照研究は、症例および対照の収集を継続し、平成20年2月時点で、前立腺がん症例341例、対照953例を収集し、さらに継続中である。サンプル収集後の解析対象候補遺伝子について検索し、資料としてまとめた。また、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(Glutathione S-transferase, GST)と前立腺がんとの関連性についてレビューしたところ、研究のすべてが症例対照研究であり、現時点での結論としてはネガティブであった。

子宮内膜症の症例対照研究では、尿中カドミウムおよび尿中フタル酸モノエステル類との関連を検討したが、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。

平成11年度から有機塩素系化合物などの化学物質曝露の健康影響に関する疫学研究の文献的検討と情報公開を行っている。今年度は、2006年1月から2007年11月の期間に出版された、内分泌かく乱化学物質のヒト健康影響に関する疫学論文のうち、がんと子宮内膜症に関する原著論文26件を同定しレビューを行った。このうち日本人を対象とする研究が、子宮内膜症について1件確認されたが、がんについての報告は存在せず、日本人における実証的検討をさらに進めるとともに、国際的な研究成果を踏まえて情報提供を行うことの重要性が示唆された。

分担研究者

加藤貴彦 熊本大学大学院医学薬学研究部・公衆衛生・医療科学・教授
坪野吉孝 東北大学大学院法学研究科・教授
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・乳腺・甲状腺外科部長
小沼 博 長野赤十字病院・乳腺・甲状腺外科副部長
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
大森久光 熊本大学大学院 公衆衛生・医療科学分野 准教授
辻 真弓 熊本大学大学院 公衆衛生・医療科学分野 助教
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
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

日常の生活環境における有機塩素系化合物などの化学物質曝露がホルモン関連腫瘍の発生に関連するか否かを明らかにすることを目的とした疫学研究を行う。生殖器系及び乳腺の悪性新生物と化学物質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(厚生労働省研究班

による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。子宮内膜症の症例対照研究では、既に収集したデータを用いて検証する。また、平成11年度から続けている疫学研究の文献的検討と情報公開を行う。

B. 研究方法

1. 既存の前向きコホート研究におけるコホート内症例対照研究

1-1. 乳がんのコホート内症例対照研究

1-1-1. 対象者

岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県中部(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在住していた女性地域住民67521人(40~69歳)のうち、ベースライン調査の質問票に回答しかつ血液検体の提供のあった者から、追跡開始後に判明した不適格者(外国人、調査開始前の転出者、対象年齢外の者、重複登録者)、乳がんまたは卵巣嚢腫の既往がある者を除外した24226人を研究対象者とした。

本研究の症例は、ベースライン調査後から2002年12月31日までの追跡期間中に組織学的に診断された初発の乳がん患者のうち、ベースライン調査の質問票に回答しかつ血液検体の提供のあった144人である。対照は、研究対象者24226人のうち症例の乳がん発症日(診断日)の時点で乳がんにかかっていない者から、症例と年齢が ± 3 歳以内、管轄保健所が一致、市部または郡部在住が一致、採血年月日が ± 90 日以内、採血時間が ± 3 時間以内、空腹時間が ± 3 時間以内、閉経状況が一致する条件でマッチングし、条件にあう対象者の中からさらに無作為に2名を選び対照とした。

1-1-2. 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)に基づいて実施してきた。

1-1-3. 測定対象物質

分析項目は、内因性ホルモンとして、総エストラジオール、フリーエストラジオール、性ホルモン結合グロブリン、イソフラボン類としてゲニステイン、ダイゼイン、有機塩素系農薬として、 β -hexachlorocyclohexane (β -HCH)、Hexachlorobenzene (HCB)、dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p' -DDE)、dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p' -DDT)である。

1-1-4. 解析方法

測定対象物質の曝露量による乳がん罹患リスク(相対危険度)を条件付ロジスティック回帰分析を用いて検討する。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。

血漿中イソフラボン濃度と乳がんリスクの検討では、対照群の血中濃度の四分位点に基づいて四群に分け、条件付ロジスティック回帰分析を用いて、出産数と出産年齢で調整したオッズ比を算出した。

(倫理面への配慮)

研究プロトコルは、国立がんセンター倫理審査委員会において平成15年5月22日に承認された。

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が平成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主として1990年から1994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)は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。

1-2. 前立腺がんのコホート内症例対照研究

1-2-1. 対象者

岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県中部(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在住していた男性地域住民65801人(40~69歳)のうち、ベースライン調査の質問票に回答しかつ血液検体の提供のあった者から、追跡開始後に判明した不適格者(外国人、調査開始前の転出者、対象年齢外の者、重複登録者)、前立腺がんの既往がある者を除外した14203人を研究対象者とした。

本研究の症例は、ベースライン調査後から2005年12月31日までの追跡期間中に診断された初発の前立腺がん患者のうち、ベースライン調査の質問票に回答しかつ血液検体の提供のあった201人である。対照は、研究対象者14203人のうち症例の前立腺がん発症日(診断日)の時点で前立腺がんにかかっていない者から、症例と年齢が ± 3 歳以

内、居住地が市・郡で一致、採血年月日が±60日以内、採血時間が±3時間以内、空腹時間が±3時間以内の条件でマッチングし、条件にあう対象者の中からさらに無作為に2名を選び対照とした。

1-2-2. 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)および「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・平成16年度修正版」(国立がんセンター倫理審査委員会平成16年7月承認)に基づいて実施してきた。

1-2-3. 測定対象物質

血漿中テストステロン、性ホルモン結合グロブリン。血漿中イソフラボン、有機塩素系農薬類、ポリ塩化ビフェニル(PCB)類など。

1-2-4. 解析方法

測定対象物質の曝露量による前立腺がん罹患リスク(相対危険度)を条件付ロジスティック回帰分析を用いて検討する。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(採血時期から前立腺がん発症まで)で層別化した解析を行う。

(倫理面への配慮)

研究プロトコルは、国立がんセンター倫理審査委員会において平成18年1月26日に承認された。

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て平成13年10月(改訂版)及び平成16年7月(修正版)がそれぞれ承認されている。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

検体については主として1990年から1994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)は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. 乳がんの症例対照研究

2-1. 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。

2-2. 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)と居住地が一致する者のうち最も年齢の近い1名とした。最終的に症例405例と同数の対照を収集した。

2-3. 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。

2-4. 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て予備分析を行った。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、 β -Hexachlorocyclohexane (β -HCH) の9種類であった。またPCB類は3~10塩素化物のうち41 peaks: #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。

分析は島津テクノロジーに委託し、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 ^{13}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 ^{13}C 標識体のシリジン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、 ^{13}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1 g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.社に委託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 Assaysによりタイピングを行った。タイピングに用いた各プライマー及びプローブはApplied Biosystems社に設計を依頼し、合成されたものを使用した。残り2種類(GSTM1及びGSTT1)の欠損型の検出はMultiplex PCR法により行った。

2-5. 解析方法

有機塩素系化合物と乳がんの関連については、対照群の四分位点に基づいて四群に分け、条件付ロジスティック回帰分析で多変数調整済みオッズ比を計算した。また、乳がんはホルモンレセプター陽性・陰性でリスク因子が異なることが考えられるため、一般化ロジットモデルを用いて多項ロジスティック回帰分析を行い、ホルモンレセプター別の乳がんについてオッズ比を計算すると同時に効果の差を検定した。共変量として乳がん検診受診歴・初経年齢・初産年齢・産児数・授乳経験・閉経状態と閉経年齢・喫煙状況・乳がん家族歴・魚介類の粗一日摂取量・野菜の粗一日摂取量・血清中総脂質濃度・

Body mass indexを調整した。

イソフラボン摂取と乳がんの関連を検討するために、食物摂取頻度調査票の回答をもとにゲニステインとダイゼニン摂取量を算出した。厚生労働省研究班による多目的コホート研究における食物摂取頻度調査票の妥当性研究では、食事記録と食物摂取頻度調査票から算出したエネルギー調整の摂取量のスピアマンの相関係数が、ゲニステインでは0.59、ダイゼニンでは0.60であった。今回の検討では、ゲニステインとダイゼニンの摂取量の和をイソフラボン摂取量として解析に用いた。

今回の検討に用いた遺伝子多型データは、エストロゲン受容体 α 遺伝子多型として、rs9340799、rs1913474、rs2234693、エストロゲン受容体 β 遺伝子多型として、rs4986938とrs1256049である。またエストロゲン合成に関与する遺伝子多型として、cytochrome P450c17 α (CYP17)遺伝子のrs743572、アロマターゼ(CYP19)遺伝子のrs10046、17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type I (17 β -HSD1)遺伝子のrs605059、sex hormone-binding globulin (SHBG)遺伝子のrs6259を用いた。いずれもハーディー・ワインバーグ平衡の条件を満たしていた。

統計解析は、エネルギー摂取量が極端な者(500kcal未満または4000kcal以上)を除外した390ペア、あるいは血液検体のない者をさらに除外した388ペアを対象とした。残差法によるエネルギー調整摂取量を用いて、対照群の分布に基づき3群に分け、最小摂取群に対するオッズ比を条件付ロジスティック回帰分析により算出した。また受容体別の乳がんをエンドポイントとした解析は、多項ロジスティック回帰分析を用いた。交互作用の検討は、交互作用を含むモデルと含まないモデルの間のモデルカイ2乗値の差を用いてp値を算出した。調整変数として、マッチング要因である年齢、地域に加え、閉経状

態、閉経年齢、出産数、乳がん家族歴、喫煙を用いた。

(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。

症例収集数を増やすために、平成16年度に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。これに伴いプロトコル改訂し、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おいて承認された。

3. 前立腺がんの症例対照研究

3-1. 調査対象者および調査方法

前立腺がんと内分泌かく乱化学物質(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、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(± 3 歳)、居住地域が一致する者のうち最も年齢に近い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。

またサンプル収集後に解析対象とする候補遺伝子について検索し整理すること、検索された候補遺伝子と前立腺がんとの関連性についての既存データの確認を目的とし、

論文レビューを行った。

(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。

4. 子宮内膜症の症例対照研究

4-1. 調査対象者および調査方法

症例および対照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。症例と対照の定義は、腹腔鏡検査によって診断されたStage分類(AFS1985の基準に従う)に基づき研究ごとに設定した。ただし、妊娠3ヶ月以上の妊娠経験者は除いた。ま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、脂肪組織を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。

4-2. 分析対象物質と分析方法

尿中カドミウム濃度の測定は、(独)労働者健康福祉機構・東京労災病院産業中毒センターに委託した。尿中カドミウム濃度はカドミウムの長期累積曝露を反映することから、本研究では尿中カドミウム濃度をヒトのカドミウム曝露量の指標として用いることとした。カドミウムはヒト尿中ではメタロチオネイン等タンパクの結合体または遊離体として存在している。誘導プラズマ質量分析法(ICP-MS)では結合体を分解し、カドミウム遊離体の総濃度として検出した。カドミウムイオンには複数の同位体が存在する。存在比の大きさを有利なイオン (m/z 112) はSnイオンとも重なるため採用せず、モニターイオンは m/z 111および114とした。一酸化モリブデンの質量干渉に対しては、キレート樹脂による固相抽出で尿を精製し、一酸化モリブデンを事前に除去した。測定には尿0.5-2 mLを使用し、内部標準物質としてロジウム(m/z 103)を尿に既知量添加して、回収率や感度の変化を補正した。本研究では採尿・保存容器は酸洗浄していない。分析の前検討と精度管理には米国NISTが配付している標準尿を用いた。本分析法の再現性は低濃度(0.056 $\mu\text{g/L}$; $n=5$)で $CV = 5.4\%$ 、高濃度 (4.917 $\mu\text{g/L}$; $n=5$)で $CV = 1.4\%$ であった。定量下限値は0.011 $\mu\text{g/L}$ であり全検体からカドミウムを検出することができた。

フタル酸エステル類の分析は、ジエステル体の代謝物(I相反応生成物)である尿中の各フタル酸モノエステル体を対象とした(米国CDCと同様)。フタル酸モノエステルはヒト尿中ではグルクロン酸抱合体または遊離体として存在している。国際外部精度管理事業(G-EQUAS)のパイロットプログラムから分与された標準物質と尿検体を用いて分析条件(機器分析および前処理)を検討した。

G-EQUASの標準物質と尿検体にはフタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)とフタル

酸ジイソノニル(DINP)の二次代謝物数物質およびフタル酸モノイソブチル(MiBP)とフタル酸モノ-n-ブチル(MnBP)が入っていた。これらとそれぞれの重水素置換体をクロマトグラム上で分離・同定した。

機器分析には高速液体クロマトグラフ(Waters Alliance HT 2795)とタンデム型質量分析計(Micromass Quattro Ultima Pt)を用いた。機器分析条件は先行研究(2)と同様とし変更していない。ただし、装置の個体ごとにモニターイオンの質量数および選択反応検出(MRM)の諸条件は最適化が必要であるため、インフュージョンで最適な値を求め直して適宜変更した(掲載は省略)。

試料前処理は尿0.2 mLを用いて近年の先行研究(3)の方法を参考にして検討した。

尿中クレアチニン濃度の測定はSRLに委託して酵素法で測定した。

4-3. 解析方法

尿中カドミウムと子宮内膜症の関連の検討では、カドミウム濃度は酵素法で測定した尿中クレアチニン濃度で除して解析に供した。子宮内膜症の進行度によってstage 0, Iの対象者を対照(n = 74)、stage II-IVを症例(n = 54)と定義し、二群間の尿中カドミウム濃度の差をWilcoxonの順位和検定を用いて比較するとともに、対照群の分布の三分位点に基づいて群分けし、ロジスティック回帰分析でオッズ比を算出した。共変量として喫煙状況・月経周期日数・Body mass indexを用いた。

尿中フタル酸モノエステル類と子宮内膜症の関連の検討では、測定した尿中フタル酸エステル代謝物濃度はクレアチニン濃度で除して解析に供した。DEHP代謝物のMEHP, MEHHP, MEOHPについては、さらにそれらの和(Σ MEHP)とそれに占める一次代謝物MEHPの割合(%MEHP)という変数を作成して子宮内膜症との関連を検討した。子宮内膜症の進行度によってstage 0, Iの対象者を対照(n = 80)、stage II-IVを症例(n =

57)と定義し、二群間の尿中フタル酸モノエステル類濃度の差をWilcoxonの順位和検定を用いて比較するとともに、対照群の分布の四分位点に基づいて群分けし、ロジスティック回帰分析でオッズ比を算出した。共変量として月経の規則性・月経周期日数を用いた。

(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。

尿中カドミウム濃度を(独)労働者健康福祉機構・東京労災病院産業中毒センターに委託するため、同センターを研究協力機関に加えた研究計画の変更申請を行い、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。

5. 健康影響に関する疫学研究的文献的検討

内分泌かく乱化学物質のヒト健康影響について、適切な科学的根拠に基づく情報提供を行うことの重要性が増大している。

われわれは、平成17年度における本研究班の分担研究課題として、2004年1月から2005年12月の期間に出版された、内分泌かく乱化学物質のヒト健康影響に関する疫学原著論文のレビューを行った。今年度は、その後2006年1月から2007年11月の期間に出版された、内分泌かく乱化学物質のヒト健康影響に関する疫学原著論文のうち、がんと子宮内膜症に関する論文のレビューを行った。

米国立医学図書館の医学文献データベースPubMedを用いた文献検索を、2007年12月1日に実施した。検索の際に用いたキ

ワードは、平成17年度に行った文献検索の際に用いたキーワードと同じものである。

検索によりヒットした候補文献は、がんが248件、子宮内膜症が20件だった。これらの候補文献のタイトルと抄録をもとに内容を調査し、26件の文献を選択した(がん19件、子宮内膜症7件)。

C. 研究結果

1. 既存の前向きコホート研究におけるコホート内症例対照研究

1-1. 乳がんのコホート内症例対照研究

今年度は分析が終了した項目のうち、イソフラボン類(ゲニステイン、ダイゼイン)と乳がんの関連を検討した。

ゲニステイン濃度は症例群で131.8ng/mL、対照群で144.5 ng/mLであり、乳がんリスクとの間に有意な負の関連が観察された(傾向性の検定 $p=0.02$)。一方、ダイゼイン濃度は、症例群で16.7ng/mL、対照群で17.9 ng/mLであり、乳がんリスクとの間には負の関連は見られなかった(傾向性の検定 $p=0.54$)。最低濃度群に対する最高濃度群のオッズ比(95%信頼区間)は、ゲニステインが0.34 (0.16-0.74)、ダイゼイン0.71 (0.35-1.44)であった。また対照群のゲニステイン濃度の中央値(ng/mL)は、最低濃度群が31.9、最高濃度群が353.9であった。さらにベースライン調査時の閉経状態で層別したところ、ゲニステイン濃度が最低群に対する最高群のオッズ比(95%信頼区間)は、閉経前が0.14 (0.03-0.69) (傾向性の検定 $p=0.20$)、閉経後が0.36 (0.12-1.12) (傾向性の検定 $p=0.10$)であり、明らかな違いは観察されなかった。

1-2. 前立腺がんのコホート内症例対照研究

内因性ホルモン(血漿中テストステロン、性ホルモン結合グロブリン)とイソフラボン類(ゲニステイン、ダイゼイン、イコール)の分析を行った。また、有機塩素系農薬類とPCB類

の分析を開始した。

2. 乳がんの症例対照研究

2-1. 有機塩素系化合物と乳がんの関連

血清中濃度の中央値は総PCBsで170(症例群)、180(対照群) ng/g 脂肪、*p,p'*-DDEで360(症例群)、370(対照群) ng/g 脂肪であった。今回測定した物質では症例群の方が濃度が高い物質はなく、血清中濃度が高いほど乳がんリスクが増加しているという関連も見られなかった。むしろ、総PCBsや*cis*-ノナクロール、マイレックスの濃度との間に単調な負の関連が見られた。たとえば、PCBs総濃度のオッズ比は最低濃度群を参照カテゴリとして0.79, 0.57および0.33 (95%信頼区間 0.14-0.78)であった (P for trend = 0.008)。

今回新たに行ったサブタイプ別や閉経前後の解析結果においても、ER+PR+乳がんを含め乳がんリスク上昇に関連している物質は見られなかった。総PCBsやマイレックスの血清中濃度はER+PR-乳がんとの間で、*trans*-ノナクロールや*cis*-ノナクロールはER-PR-乳がんとの間で有意に負に関連しており、それぞれ別のサブタイプの乳がんとは効果に差が見られた。閉経前後で層別した場合、関連の傾向が異なっていた。年齢で層別した場合も同様であった。

2-2. イソフラボン摂取と乳がんの関連

イソフラボン摂取量(mg/day)の平均値は、症例群が43.5、対照群が46.1であった。イソフラボン摂取量の最小群を基準とした乳がん罹患に対する調整オッズ比(95%信頼区間)は、中間群が0.82 (0.56-1.21)、最高群が0.85 (0.56-1.29)であった。閉経前後で層別すると、閉経前では負の関連が見られなかったが、閉経後では最小群に対する最大群の調整オッズ比が0.59 (0.37-0.96)、傾向性の検定は $p=0.04$ で有意なリスク低下が観察された。さらに乳がんをエストロゲン受容体と

プロゲステロン受容体の組み合わせによって分類し、イソフラボン摂取との関連を検討したが、有意な違いは見られなかった。

次にエストロゲン受容体遺伝子及びエストロゲン合成に関与する遺伝子の多型と乳がんリスクの関連を検討したところ、エストロゲン受容体 α 遺伝子多型のうち、rs9340799のGアレルを持つ群とrs2234693のCアレルをもつ群で有意な乳がんリスクの低下が観察された。この関連は特に閉経後で顕著であった。その他の遺伝子多型については乳がんリスクとの間に関連は観察されなかった。

さらに遺伝子多型で層別し、イソフラボン摂取と乳がんリスクとの関連を検討した。エストロゲン受容体 β 遺伝子のrs4986938で層別したところ、GGアレルを持つ群に限って負の関連が観察された(p for interaction = 0.12)。特に閉経後において有意な負の関連が見られたが(p for trend = 0.01)、交互作用のp値は0.13であった。同様に17 β -HSD1遺伝子のrs605059で層別したところ、GA+AAの群に限って負の関連が観察された(p for interaction = 0.06)。特に閉経後において有意な負の関連が見られたが(p for trend = 0.02)、交互作用のp値は0.35であった。またSHBG遺伝子多型のrs6259で層別したところ、閉経後に限ってGGアレルを持つ群で有意な負の関連が観察され(p for trend < 0.01)、交互作用のp値も0.04と有意であった。その他の遺伝子多型については、多型間による違いは観察されなかった。

3. 前立腺がんの症例対照研究

3-1. 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20年2月時点で、前立腺がん症例341例、対照953例を収集し、さらに継続中である。

3-2. 分析対象候補遺伝子の検索

PubMedを活用し、これまでに前立腺がんを含めた様々ながんとの関連性が報告され

ている遺伝子、遺伝子多型を検索し、表としてまとめた。その分類は、1)薬物代謝酵素26種類 2)ホルモン代謝酵素2種類 3)核酸代謝1種類 4)栄養・嗜好品代謝8種類 5)レセプター遺伝子7種類 6)炎症・免疫反応関連8種類 7)DNA修復9種類 8)細胞周期調節2種類 9)酸化ストレス関連6種類 10)がん・がん抑制遺伝子3種類 11)細胞成長・増殖3種類の合計75種類である。

3-3. 前立腺がんとグルタチオン S-トランスフェラーゼ(Glutathione S-transferase, GST)との関連性に関するレビュー

GSTは代表的な第2相薬物代謝酵素であり、前立腺がんに関連する食事等に含まれる化学物質の解毒代謝と同時にステロイドホルモンの代謝にも関連している(4)。GSTには8種類の分子種があることが知られ、現在までに多数の遺伝子多型の存在が明らかになっている(5)。GSTの分子種のなかでGSTM1*0(null)、GSTT1*0(null)、GSTP1*A313Gとの前立腺がんリスクとの関連性については多数の報告があり、メタアナリシスの報告もあるが、現時点での結論としてはネガティブである。

4. 子宮内膜症の症例対照研究

4-1. 尿中カドミウムと子宮内膜症の関連

尿中カドミウム濃度の中央値(25, 75%点)は、症例群・対照群でそれぞれ0.53(0.40, 0.73) および 0.54(0.34, 0.76) $\mu\text{g/g creatinine}$ であり、両群の間で有意な差は見られなかった(p = 0.88)。多変数調整オッズ比(95%信頼区間)も最低濃度群を参照カテゴリとして中濃度群・最高濃度群でそれぞれ1.69(0.64, 4.44) および 0.86(0.30, 2.49)(p for trend = 0.79) であり、子宮内膜症との間に関連が見られなかった。なお、子宮内膜症Stage 0を対照、Stage III-IVを症例と再定義した場合や、三分位点の代わりに四分位点で群分けして解析した場合も同様であっ

た。

4-2. 尿中フタル酸モノエステル類と子宮内膜症の関連

本研究ではフタル酸エステル類(ジエステル体)の代謝物(1相反応生成物)である尿中の各フタル酸モノエステル体をフタル酸エステル類各物質の曝露の指標として用いた。

クレアチニン補正した尿中フタル酸モノエステル類濃度を症例対照間で比較したところ、いずれの物質においても統計学的に有意な濃度差はなかった (p for difference = 0.11-0.75)。最低濃度群を参照カテゴリとしたオッズ比は、MEHPでは1.00、0.87、1.06、1.84 (95%信頼区間0.65-5.20) (p for trend = 0.14) であり、子宮内膜症との間に関連が見られなかった。

5. 健康影響に関する疫学研究の文献的検討

26文献の内訳をみると、疾患別では、がんが19件、子宮内膜症が7件だった。がんに関する文献の部位別内訳は、乳がんが8件、前立腺がんが10件、精巣がんが1件だった。乳がんの1件は、全がん・子宮体がん・甲状腺がんに関する結果も報告していた。また、前立腺がんの5件は、全がんに関する解析を合わせて報告していた。

研究デザイン別の内訳は、コホート研究が9件(前向き8件、後向き1件)、症例対照研究が12件(コホート内1件、住民対照5件、病院対照6件)だった。また、地域相関研究が3件、断面研究が2件だった。

研究の行われた国を見ると、欧米が主体であった。日本で行われた研究は、がんについては存在しなかったが、子宮内膜症については1件あった。

D. 考察

有機塩素系化合物などの化学物質に焦点を当てたこれまでの乳がん及び前立腺が

んの疫学研究は、PCB類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、日本人の乳がん・前立腺がんの発生と有機塩素系化合物などの化学物質曝露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。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。一方、生体試料については、長期保存による影響の検討、また検体量に限りがあるため微量化学分析法の検討が求められ、分析に時間を要した。

乳がんのコホート内症例対照研究では、分析が終了した血漿中イソフラボンと乳がんの関連を検討した。これまでに大豆製品・イソフラボン摂取と乳がんの関連を検討した疫学研究では、負の関連が示唆されているが、動物研究では逆にリスク上昇を示唆する結果も報告されている。また生体指標を用いた疫学研究は欧米人を対象としたものしかなく、数も少ない上に結果も一致していない。そこで本研究は、大豆製品をよく食べる日本人を対象に、比較的高い濃度でのイソフラボンの乳がんリスクに対する影響を検討したところ、食事から摂取した範囲で到達しうる血中濃度においては、高い濃度でも乳がんリスクの上昇は見られず、むしろ血漿中ゲニステイン濃度の高い女性では、乳がんリスクの低下が示唆された。

今回の検討では、ゲニステインとの間に負の関連が観察されたが、ダイゼインとの間には関連が見られなかった。その理由としては、ゲニステインはダイゼインよりもエストロゲン受容体への結合力が強く、血中濃度が高く、半減期が長いことため、効果がよりはっきり観察された可能性が考えられる。またダイゼ

インは腸内細菌によって作用のより強いイコールに代謝されるが、その代謝は人によって異なり、実際に代謝できる人は30から50%程度と言われている。したがってダイゼイン濃度との関連では、イコールの影響で関連が弱められた可能性が考えられる。しかし、今回はイコール濃度が分析できなかったため、その影響を考慮することができなかった。

乳がんの症例対照研究では、平成18年度までに分析が終了した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検討したところ、いずれも血清中濃度の高い群における乳がんリスクの上昇は観察されなかった。これは乳がん罹患率が高い欧米諸国と同様の結果であった。また本研究のDDEやPCBの結果は米国におけるアジア人を対象としたコホート内症例対照研究(6)の結果と一致していた。

本研究が観察した血清中 p,p' -DDEと乳がんリスクが関連していない結果は先のメタアナリシスの結果と一致している(7)。反対に o,p' -DDTとER+PR+乳がんリスクの減少との間には弱い関連が見られた。この o,p' -DDTと p,p' -DDEの結果の不一致は次のように部分的に説明されるかもしれない。まず、 p,p' -DDEはアンドロゲン様または弱エストロゲン様あるいはエストロゲン様作用なしであるが、 o,p' -DDTはDDT関連化合物の中で最もエストロゲン様作用が強い(8)。次に、 p,p' -DDTと o,p' -DDTは農薬として混合物であり物性も環境挙動も似通っていると考えられるため、血清中の p,p' -DDE濃度は p,p' -DDTのみならず o,p' -DDTの摂取量を反映しているとも考えられてきたが、実際にはヒト体内でのDDTからDDEへの代謝は非常に遅く、血中 p,p' -DDE濃度は p,p' -DDEそのものの曝露量を反映しているのかもしれない、血中 p,p' -DDE濃度が o,p' -DDT曝露量の代理指標となっていない

ことが考えられる。ただ、両者の血清中濃度は互いに高く相関しているため(Spearman順位相関係数0.57 ~ 0.86)、観察された関連も似ていた。本研究では先行研究よりも検出下限値がずっと低かったため o,p' -DDTをはじめとする有機塩素系農薬関連物質を100%検出し評価することができた。

本研究では血清中総PCB濃度と乳がんリスクの間に有意な負の関連が観察されたが、これは先行研究の大勢と一致していない(9)。この違いは本研究の対象集団の血中PCB濃度が先行研究に比べて低かったことも一因として考えられる。

本研究では血清中有機塩素系化合物濃度はエストロゲン関連要因に最も敏感と思われるER+PR+乳がんリスクの上昇と関連していなかった。また、必ずしも先行研究の結果とは一致しないが、ある種の有機塩素系化合物はER+PR- またはER-PR-乳がんのリスク減少と関連していた。

閉経状態による層別解析では、血清中有機塩素系化合物濃度と乳がんリスクの関連が閉経前後で傾向が異なって観察された。さらに年齢の中央値で層別した場合も同様に似た結果が観察された。この原因としては内因性エストロゲンレベルの閉経状態による違いのほか、年齢や時代背景の違いが考えられる。蓄積性有機塩素系化合物の体内負荷量は年齢と正に関連しているが米国やノルウェー同様日本でも経年的に減少してきている。年齢で層別した解析は蓄積性物質の健康影響を評価する際に重要である可能性が示唆された。

先行研究ではDDEや総PCB以外の物質の検出が困難で乳がんとの関連も評価されていないことが多かったが、本研究では低い検出限界で低濃度の o,p' -DDTやマイレックスを100%検出したことで乳がんリスクとの関連を十分評価することができた。

イソフラボン摂取と乳がんの関連では、閉経後女性において有意な負の関連が観察

された。これは概ね先行研究と一致する結果である。しかし閉経状況別にリスクが異なるかどうかという点については、閉経前より関連が強いという報告、閉経状況別に見てもリスクは同じという報告もあり、結果は一致していない。

イソフラボンが乳がんに対して予防的に作用するメカニズムとしては、エストロゲンに関与するものと関与しないものが想定されている。エストロゲンに関与するメカニズムとしては、エストロゲン受容体(特に β)を介して抗エストロゲン作用を示す可能性、 17β -HSD1、アロマターゼなどのエストロゲン合成に関与する酵素活性を抑制する可能性、SHBGの産生を刺激する可能性などが指摘されている。一方、エストロゲンには関与しないメカニズムとしては、アポトーシス誘導作用、チロシンキナーゼ活性抑制作用、トポイソメラーゼ活性抑制作用、血管新生抑制作用、抗酸化作用などが指摘されている。

エストロゲンはエストロゲン受容体を介して乳腺細胞に作用することから、イソフラボンと乳がんの関連はホルモン受容体の発現の有無によって異なる可能性が考えられる。そこで乳がんをエストロゲン受容体とプロゲステロン受容体の組み合わせによって分類し、イソフラボン摂取との関連を検討したが、有意な違いは見られなかった。この結果はイソフラボンの作用が、エストロゲン受容体を介したものだけでなく、上記のようなエストロゲン合成に関与する酵素活性抑制やSHBGの産生刺激、そのほかエストロゲンには関与しないメカニズムも関与している可能性を示唆するものと考えられる。またイソフラボンとホルモン受容体別乳がんの関連を検討した先行研究は少なく、結果も一致しておらず、今後の検討課題の一つである。

イソフラボンと乳がんの関連において、遺伝環境交互作用に関する報告はほとんどなく、CYP17遺伝子のrs743572を用いた研究が1件あるのみである。これは閉経前女性を

対象としたドイツの研究で、A2A2の群に限って血漿中ゲニステイン濃度と乳がんリスクの間に負の関連を報告している。しかし摂取量との関連においてはA1A2の群で有意な負の関連が見られ、一致した結果は得られていない。今回は上記の先行研究と同じ遺伝子多型について検討したが、多型の間で関連が異なるという結果は得られなかった。

乳がん以外では、前立腺がんにおいて植物エストロゲン摂取(リグナン、イソフラボン)とエストロゲン受容体 β 遺伝子多型(rs2987983)の間に交互作用があるという報告、子宮体がんにおいてイソフラボン摂取と 17β -HSD1遺伝子多型(rs605059)の間に交互作用があるという報告がある。乳がんを含め、イソフラボン摂取と遺伝子多型の交互作用については、今後更なる検討が必要である。

前立腺がんの症例対照研究では、現在東京2施設から症例の収集を行っており、臨床現場の理解が得られるとともに軌道のつて収集ができるようになった。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に関する情報を収集し、表としてまとめた。また、2007年8月までの論文を調査し、前立腺がんとGST遺伝子多型との関連性についてレビューを実施した。前立腺がんとの関連において、最も蓄積のあるGST遺伝子多型であるが、研究のすべてが症例対照研究であり、最大の症例数は590例であった(10)。このレビューの結果から我々の企画している研究は、十分に国際レベルであることが明らかとなった。

子宮内膜症の症例対照研究では、これまでに、血清中ダイオキシン類22項目、血清中PCB類36項目、血清中有機塩素系農薬類13項目、尿中ビスフェノールAとの関連を検討し、これらの化学物質はいずれも子宮

内膜症とは関連しておらず、子宮内膜症の発症にこれらの内分泌かく乱作用が懸念される化学物質が関与しているという証拠は得られなかったことを報告している。また、エストラジオール合成酵素遺伝子であるHSD17B1遺伝子多型、ダイオキシン類やPCB類の作用発現において重要な役割を果たしているAhRR遺伝子多型において子宮内膜症との関連を報告している。さらに環境要因と遺伝要因の交互作用に焦点を当てた解析を行い、ゲニステイン曝露とER β Rsa I 遺伝子多型、ダイオキシン類曝露とCYP1A1 Ile462Val遺伝子多型の間に交互作用を示唆する結果が得られている。

カドミウムは実験研究によりエストロゲン様作用をもつことが示唆されているが、子宮内膜症との関連を検討した疫学研究は少なく、これまでのところ2件とも関連なしという報告である。一方、乳がんリスクと関連ありという報告もあり、結果は一致していない。そこで本研究では、長期の曝露を反映する尿中カドミウム濃度を曝露指標とし子宮内膜症との関連を検討したが、先行研究と同様に有意なリスク上昇は観察されなかった。

その理由の1つには本研究が比較的低い曝露量の範囲の集団を観察していたために低用量域ではメタロチオネンによる解毒が飽和していなかった可能性がある。本研究では尿中カドミウム濃度とカドミウムの既知の曝露源である喫煙やコメ摂取頻度との間に関連が見られなかった。このように、今後の研究はカドミウム曝露量の範囲がより幅広い集団を対象とすることや、メタロチオネン未結合の遊離体濃度と子宮内膜症の関連を検討することが考えられる。

McElroy et al. (11)は子宮内膜症同様にエストロゲン関連疾患である乳がんリスクとの間に有意な関連を見出した唯一の研究である。McElroy et al.の対象者は56歳(対照群中央値)であり本研究の対象者(同32歳)に比べてだいぶ高齢であるが、対照群の尿中

カドミウム濃度中央値はMcElroy et al.では0.4 $\mu\text{g/g creatinine}$ と本研究(同 0.54 $\mu\text{g/g creatinine}$)と同じか低い水準であった。蓄積性物質であるカドミウムの尿中排泄量は高齢であるほど高いことから、McElroy et al.の対象集団のカドミウム生涯曝露量は本研究の対象集団のそれよりもずっと低いことが考えられ、また、子宮内膜症と乳がんは両者ともエストロゲン依存性であるが発生機序に対してカドミウムの作用が異なる可能性が示唆された。

近年、フタル酸エステル類のエストロゲン様作用が疑われており、エストロゲンに敏感な疾患である子宮内膜症との関連が調べられてきた。インド人女性を対象とした症例対照研究では、子宮内膜症進行度が高いほど、ある種の血中フタル酸エステル類濃度が高いことを示した。しかし、血中ではフタル酸ジ-2-エチルヘキシルの半減期は28~32分と報告されており、血中のジエステル体は曝露指標として適していないため、観察された関連には疑問がある。2000年以降、尿中の安定な代謝物(モノエステル体)が曝露指標として開発され、多くのフタル酸エステルの疫学研究が採用している。本研究では尿中の代謝物フタル酸モノエステル体を測定して、子宮内膜症とフタル酸エステル類曝露の関連を検討したところ、先行研究とは異なり、子宮内膜症との間に有意な関連は観察されなかった。

本研究はフタル酸エステル類曝露と子宮内膜症の関連を、より適切な曝露指標である尿中代謝物を指標として調べた初めての研究である。尿中フタル酸モノエステル濃度の曝露指標としての信頼性については、同一対象者から尿を複数の日に採取して個人内変動を検討した研究があり、級内相関係数0.53 (MBzP)~0.80 (MEHP) との再現性を報告している(12)。それに加え、本研究の曝露指標測定における分析の精確さは先行研究以上であり、さらに信頼性の高い結果

が得られていると推測される。一方、関連が検出されなかったのは小標本に起因する検出力不足のためかもしれない。本研究のサンプルサイズでは、曝露割合が今回と同様で $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.20$ のとき、四分位の最低濃度群を参照カテゴリとした場合の最高濃度群の粗オッズ比OR = 2.09 を検出するのに必要な最小標本サイズは今回の本研究の3.4倍である。本研究で観察された子宮内膜症との関連は血中濃度を指標とした先行研究結果と一致しておらず、今後さらに検討が必要と思われる。

2006年1月から2007年11月の期間に出版された、内分泌かく乱化学物質のヒト健康影響に関する疫学論文のうち、がんと子宮内膜症に関する論文26件のレビューを行った。特徴的な知見について考察する。

乳がんについては8件の研究が追加された。2件のコホート研究のうち、胎児期のジエチルベストロール (DES) 曝露の影響を調べた米国の研究では、対象者全体では有意なリスク上昇を認めなかったが、40歳以上の対象者に限定すると有意なリスク上昇を認めた。また、有機溶剤を使用する電子機器工場の労働者を対象とする台湾の研究では、対象者全体では乳がんの標準化罹患率比の有意な上昇を認めなかったが、10年以上の従業者に限定すると有意なリスク上昇を認めた。症例対照研究の中では、血液中の各種の内分泌かく乱化学物質を測定した米国の研究が2件あったが、いずれも有意なリスク上昇を認めなかった。

前立腺がんについては10件の研究が追加された。前向きコホート研究が6件を占めたが、このうち5件は農薬取扱男性を対象とする同一のコホート集団を用いて、異なる農薬の影響を調べた報告であった。この5件の研究では、全般に有意なリスク上昇は認めなかったが、家族歴を有する男性に限り Fonofosによる有意なリスク上昇を認めた。3

件の症例対照研究では、職業記録で確認したtrichloroethylene曝露や、電話問診で確認した農薬使用歴による有意なリスク上昇を認めた。

子宮内膜症については7件の研究が追加された。PCBによるリスクの上昇傾向を示す報告が散見された。ラパロスコピー検査を施行した20-45歳の日本人女性138人を対象とする報告では、対象者全体では血清中のダイオキシンとPCBによる有意なリスク上昇を認めなかったものの、CYP1B1 Leu432Val多型による相互作用の可能性が示唆された。

E. 結論

有機塩素系化合物などの化学物質曝露とホルモン関連腫瘍の関連を検討するために、乳がんと前立腺がんをエンドポイントとしたコホート内症例対照研究および症例対照研究を行っている。乳がんのコホート内症例対照研究は、血漿中イソフラボンと乳がんリスクの関連を検討し、血漿中ゲニステイン濃度の高い女性において乳がんリスクの低下が示唆された。また前立腺がんのコホート内症例対照研究は、内因性ホルモンおよびイソフラボン類の分析を終え、有機塩素系農薬類とPCB類の分析を開始した。乳がんの症例対照研究では、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検討したところ、いずれも血清中濃度の高い群における乳がんリスクの上昇は観察されなかった。またイソフラボン摂取と乳がんリスクの間には有意な負の関連が見られた。さらにエストロゲン受容体 β 遺伝子多型、17 β -HSD1遺伝子多型およびSHBG遺伝子多型との間に交互作用を示唆する結果が得られた。一方、前立腺がんの症例対照研究は、対象者の収集中である。子宮内膜症の症例対照研究では、尿中カドミウムおよび尿中フタル酸モノエステル類との関連を検討したが、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。疫学研究の文献的検討では、

日本人を対象とする研究が、子宮内膜症について1件確認されたが、がんについては日本人での報告は存在せず、日本人における実証的検討をさらに進めるとともに、国際的な研究成果を踏まえて情報提供を行うことの重要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Iwasaki M, Otani T, Inoue M, Sasazuki S, Tsugane S; for the Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Role and impact of menstrual and reproductive factors on breast cancer risk in Japan. *Eur J Cancer Prev*. 2007;16:116-23.

Kurahashi N, Iwasaki M, Sasazuki S, Otani T, Inoue M, Tsugane S. Soy Product and Isoflavone Consumption in Relation to Prostate Cancer in Japanese Men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16:538-45.

Tsuchiya M, Miura T, Hanaoka T, Iwasaki M, Sasaki H, Tanaka T, Nakao H, Kato T, Ikenoue T, Kabuto M, Tsugane S. Effect of soy isoflavones on endometriosis: interaction with estrogen receptor 2 gene polymorphism. *Epidemiology*. 2007;18:402-8.

Tsuchiya M, Tsukino H, Iwasaki M, Sasaki H, Tanaka T, Kato 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*. 2007;13:399-404.

Tsuchiya M, Iwasaki M, Otani T, Nitadori J, Goto K, Nishiwaki Y, Uchitomi Y, Tsugane S.

Breast cancer in first-degree relatives and risk of lung cancer: assessing the existence of gene-sex interaction. *Jpn J Clin Oncol*. 2007;37:419-23.

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S. Urinary bisphenol-A concentration in infertile Japanese women and its association with endometriosis: a cross-sectional study. *Environ. Health Prev. Med*. 2007;12:258-64.

Tsukino H, Ohmori H, Kohshi K, Yamano Y, Kato T. Molecular epidemiology and urothelial cancer. *J UOEH*, 2007;29:265-289.

Iwasaki M, Mameri CP, Hamada GS, Tsugane S. Secular Trends in Cancer Mortality among Japanese Immigrants in the State of São Paulo, Brazil, 1979-2001. *Eur J Cancer Prev*. 2008;17:1-8

Kato T, Yamano Y, Tsuji M, Watanabe M, Genetic polymorphisms of human cytosol glutathione S-transferases and prostate cancer. *Pharmacogenomics*, 2008;9:93-104.

Iwasaki M, Inoue M, Otani T, Sasazuki S, Kurahashi N, Miura T, Yamamoto S, Tsugane S. Plasma Isoflavone Level and Subsequent Risk of Breast Cancer Among Japanese Women: A Nested Case-Control Study From the Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 3; [Epub ahead of print]

2. 学会発表

岩崎 基, 山本精一郎, 大谷哲也, 井上真奈美, 花岡知之, 祖父江友孝, 津金昌一郎. 特定の集団を対象とした疫学研究における相対リスクの外的妥当性について. 第17回日本疫学会学術総会 広島市. 2007.1

岩崎 基、大谷哲也、井上真奈美、笹月 静、津金昌一郎. 生理・生殖要因、体格と乳がんの関連:厚生労働省研究班による多目的コホート研究より. がん予防大会 東京. 2007.7

倉橋典絵、岩崎 基、笹月 静、大谷哲也、井上真奈美、津金昌一郎. 大豆製品・イソフラボン摂取量と前立腺がんとの関連. がん予防大会 東京. 2007.7

岩崎 基、津金昌一郎. サンパウロ州在住日系人のがん死亡の経年変化. 第66回日本癌学会学術総会 横浜. 2007.10

渡邊昌俊、広川佳史、杉村芳樹、鈴木啓悦、市川智彦、加藤貴彦、白石泰三.

Association between polymorphisms of folate metabolizing enzymes and hypermethylation in prostate cancer. 第66回日本癌学会学術総会 横浜. 2007.10

Iwasaki M, Hamada G, Kasuga Y, Tsugane S. Dietary isoflavone intake and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. 2007 AACR International Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research. Philadelphia, PA. 2007.12

伊藤弘明、岩崎基、花岡知之、春日好雄、横山史朗、小沼博、西村秀紀、草間律、津金昌一郎. 血清中有機塩素系化合物濃度と乳がんリスクの関連:長野県における症例対照研究. 第18回日本疫学会学術総会 東京. 2008.1

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. Phillips DL, Pirkle JL, Burse VW, et al. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. Arch Environ Contam Toxicol 1989;18:495-500.
2. Itoh H. Analysis of human exposure and health risks of phthalates based on measuring their metabolites in human urine (in Japanese; Thesis). Yokohama National University, 2005.
3. Fujimaki K, Arakawa C, Yoshinaga J, et al. Estimation of intake level of bisphenol A in Japanese pregnant women based on measurement of urinary excretion level of the metabolite [in Japanese]. Nippon Eiseigaku Zasshi 2004;59:403-408.
4. Mayer UA: Overview of enzymes of drug metabolism. J. Pharmacokinet. Biopharm. 1996;24:449-459.
5. Hayes JD, Strange RC: Glutathione-S-transferase polymorphisms and their biological consequence. Pharmacology 2000;61:154-166.
6. Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelman J, Orentreich N. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. J Natl Cancer Inst 1994;86:589-599.
7. Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, Lopez-Carrillo L. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. Environ Health Perspect. 2004;112:207-14.
8. Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Serrano FO. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic

environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 1995;103(Suppl 7):113-122.

9. Negri E, Bosetti C, Fattore E, La Vecchia C. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and breast cancer: a systematic review of the epidemiological evidence. *Eur J Cancer Prev* 2003;12:509-516.

10. Katoh T, Yamano Y, Tsuji M, Watanabe M, Genetic polymorphisms of human cytosol glutathione S-transferases and prostate cancer. *Pharmacogenomics*, 2008;9:93-104.

11. McElroy JA, Shafer MM, Trentham-Dietz

A, Hampton JM, Newcomb PA. Cadmium exposure and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:869-873.

12. Hoppin JA, Brock JW, Davis BJ, et al. Reproducibility of urinary phthalate metabolites in first morning urine samples. *Environ Health Perspect* 2002;110:515-518.