

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

産婦人科の実際 (2004.10) 53巻10号:1451～1456.

【子宮内膜症のフロントライン—病態解明と新しい診断・治療へのアプローチ】
子宮内膜症と環境ホルモン

山下剛、石川睦男

子宮内膜症と環境ホルモン

山下 剛* 石川 睦男*

環境ホルモン（内分泌攪乱物質 *endocrine disruptors*, 以下 ECDs）はその人体汚染が進むことで女性生殖器に対する影響が懸念されている。とりわけダイオキシン類は、子宮内膜症を発症進展させることが動物実験で示されたことから社会的問題になった。しかしながら、現在この実験を検証できた追試がなく、またヒトでの作用も相反するデータが述べられており結論づけることが困難な状況にある。ここでは、現在までの研究データや当科での検討結果、および最新のセベソでの報告をもとにダイオキシン類の影響について考察する。

はじめに

環境ホルモン（内分泌攪乱物質 *endocrine disruptors*, 以下 ECDs）は、1996年の内分泌障害性化学物質の健康と環境への影響に関するワークショップで「外来性物質であり、無処置の生物の内分泌系に対して、その個体もしくはその子孫の世代のいずれかの段階で、健康障害性の変化を起こさせる物質」、また1997年の内分泌障害性化学物質に関するスミソニアンワークショップでは「生体の恒常性、生殖、発生あるいは行動に関与する種々の生体内ホルモンの合成、貯蔵、分泌、体内輸送、結合、そしてそのホルモン作用そのもの、あるいはそのクリアランス等の諸過程を阻害する性質をもつ外来性の物質」、1998年の国連国際化学物質安全性会議では「内分泌攪乱物質は外因性の物質であり、無処置の生物の個体、子孫あるいは生物群に内分泌機能の変化を起こしたり、わるい健康

影響を与える物資留および混合物」と定義されている。ECDsとしてはプラスチックや合成洗剤などの産業化学物質やダイオキシン類などの廃棄物、農薬、医薬品などの人工合成ホルモン剤、植物性エストロゲンに代表される天然物質等に分類されている。そのホルモン作用とは現在エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン攪乱作用、副腎皮質ホルモン攪乱作用などが確認されている。また当初考えられたような単純な女性ホルモン類似作用だけではなく、内分泌、免疫系、神経系への複雑な影響を示すことが判明するにいたり、女性生殖器疾患のみならず、生体全体への影響が指摘され無視できない状況にある。しかしながらその解析においては、現時点ではヒト以外の哺乳類への実験的投与によるデータや、化学物質の測定コストの問題などのため比較的規模の小さい後方視的な疫学的データがその報告のほとんどであり、また現在懸念されている化学物質の影響とは実際には微量で長期にわたるもので、大量短期間投与でのデータとは解釈の異なる可能性も指摘されており、これらのデータからヒトに対する影

*Tsuyoshi YAMASHITA, Mutsuo ISHIKAWA
旭川医科大学産婦人科

〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1-1-1

表 1 子宮内膜症とダイオキシンに関するヒト，サルでの報告

Report	Year	Content
Koninckx	1994	ベルギーにおけるダイオキシン汚染と子宮内膜症
Arnold	1995	サルの PCB 投与では子宮内膜症は増加せず
Mayani	1997	子宮内膜症患者での血中ダイオキシン値が高値
Lebel	1998	内膜症患者での各種有機塩素量に異常認めず
Safe	1998	ECDs の AhR を介した抗エストロゲン作用と機序
Igarashi	1999	子宮内膜のダイオキシン関連遺伝子の発現
Tsutsumi	2000	母乳と子宮内膜症の関連解析
Eskenazi	2002	セベソダイオキシン暴露による内膜症の発症

響を断定できるほどの証拠はそろっていないのが現状である。

I. ダイオキシンと子宮内膜症

子宮内膜症に対する影響ではダイオキシン類暴露の影響に関する報告として、その発端となった1993年のRierらによるTCDD添加赤毛ザルの子宮内膜症発生の解析がある¹⁾。すなわちダイオキシン類の濃度に依存して子宮内膜症を有する赤毛ザルの頻度が有意に増加するとともに、アメリカ不妊学会のrAFSスコアに基づいて評価した子宮内膜症の重篤性も有意に増大することが報告され、近年の子宮内膜症患者数の増大とともに注目された。論文によれば5 ppt および25 pptの割合で食餌にTCDD添加を約4年間継続し、その後はTCDD非投与の状態に飼育したところ、25 ppt群の3匹が重篤な子宮内膜症により死亡したことを観測したことから、TCDD投与終了10年後に残りの生存サル全例の腹腔鏡検査法を行い、子宮内膜症の有無およびその程度の調査研究を行った。その結果、対照群および5 ppt群、25 ppt群に子宮内膜症がそれぞれ33%、71%、86%の頻度で見られ、重篤度で分類すると中程度以上の子宮内膜症は対象群ではみられなかったのに対し、5 ppt群、25 ppt群でそれぞれ43%、71%で対象群より有意に高いという結果が得られたというものである。しかしながらこの報告に対する本邦の研究者の評価では、1997年の子宮

内膜症などに及ぼすダイオキシンの評価に関する研究（主任研究者菅野純）、ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究（主任研究者黒川雄二）らの検討で、Rier論文に対し科学的に妥当性のある結論に達していない可能性を指摘し、その採用は困難であることを報告している。表1にその後の実験動物を用いた検討やヒトでのダイオキシン類濃度測定や作用機序の解明などの報告^{2)~9)}をまとめたが、Rierらの結果を完全に追試できた研究は報告されていないのが現状である。

II. ダイオキシン類の脂肪中濃度と子宮内膜症

その真偽は別にしてもRierらの投与実験から示唆されることのひとつは、ダイオキシン類の体内濃度の差により子宮内膜症の発症頻度や重症度が高まる可能性があるということである。このことはヒトにおけるダイオキシン類濃度の測定の重要性を意味している。はたして子宮内膜症患者においては正常者に比しダイオキシン類体内濃度が高値を示すのであろうか。ダイオキシン類はヒト体内での濃度測定がpgオーダーとごく微量で、またその体内代謝も複雑である。ヒトの場合、化学物質の主な代謝組織である肝臓中のダイオキシン濃度は脂肪中の濃度の5%にすぎず、主要標的組織は半減期がとくに長い脂肪組織である。しかし、脂肪中に堆積しているダイオキシン類は生物学的にきわめ

表 2 子宮内膜症と対照群でのダイオキシン類濃度の比較

	各項目の平均値				年齢	経妊	経産
	PCDDs	Co-PCBs	DXNx-1	DXNs-2			
子宮内膜症群	17.76	21.56	22.93	39.33	35.5	1	1
対照群	13.85	40.04	38.12	53.62	39.6	2	1

て不活性であり、脂肪組織から改めて遊離されるときにはじめて毒性作用が現れると考えられている。したがってその測定においては、血中濃度による測定ではダイオキシン類の蓄積と代謝の面からみて不十分なのが問題点であり、脂肪中濃度の測定が必須である。現在報告されている体内ダイオキシン類濃度として、「母乳中のダイオキシン類濃度等に関する調査研究（平成10年度）」では母乳中のダイオキシン類（PCDD+PCDF）とCo-PCB 12種類の平均濃度（脂肪1g当たり）は、22.2 pg-TEQ/gfat、「ダイオキシン類の汚染実態に関する研究調査（病理解剖検体組織からの調査）」では、血液中：24～45 pg/TEQ/gfat、肝臓：血液の2～3倍、脂肪組織：肝臓の2.5～20倍、乳腺組織：脂肪と同等、と報告されている。もうひとつの問題点はその測定コストが非常に高く、統計処理を行い科学的に十分に評価可能な研究としてのエントリー検体数を得るには莫大な費用がかかることである。

当科ではこの問題を解決するため、パイロット研究として（株）日吉が行っている安価なバイオアッセイを利用したCALUX法を用いた脂肪中でのダイオキシン類の測定を試みた。ダイオキシン類の作用は、AhRとよばれるレセプターと結合することにより発現すると考えられている。AhRと結合したダイオキシン類は、その下流である標的遺伝子の代謝遺伝子を発現させるが、このアッセイではCYP1A1に相当する遺伝子がルシフェラーゼを合成する遺伝子に組み替えられたマウス肝癌細胞を使用することで、試料中のダイオキシン類の量をルシフェラーゼ-ルシフェリンの発光量に置き換え、検出、定量を行う方法である。測定した値は直接、毒性等量（TEQ濃度）として得られる。

この測定法は直接ダイオキシン類濃度を測定するものではないが、従来のHR-GCMS法と比較しても高い相関がえられており、換算による誤差も許容範囲に収められ、スクリーニング検査や2群間の比較試験などには十分使用に耐えらるると考えられる。その結果を表2に示す。手術によって組織学的に確認された子宮内膜症（チョコレート嚢胞）36名および対照としての婦人科良性疾患患者9名を比較した（表2）。バイオアッセイを用いたため変換のための指標が2種類（定量下限値未満の値にはゼロを用いたもの、および1/2を用いたもの）があるが、子宮内膜症ではそれぞれ22.93、38.12 pgTEQ/gfatであり、対照のそれらは39.33、53.62 pgTEQ/gfatと子宮内膜症での脂肪中ダイオキシン濃度の方が低い値を示した（統計学的有意差はない）。また背景となる年齢や経妊経産回数にも差がなかった。症例数はまだ少ないがこのデータからは子宮内膜症患者における脂肪中ダイオキシン濃度が高いということは証明されず、またこの事実はダイオキシンの取り込みを制限しても子宮内膜症患者の総数が減少しない可能性を示唆している。

III. ダイオキシンとその代謝

体内に取り込まれたダイオキシン類は主に肝臓をはじめとした組織内での代謝酵素のはたきにより解毒され体外に排出される。したがって、たとえ取り込み量が同じであっても個人的な酵素機能の差異によっては蓄積量やレセプターを介した遺伝子発現に寄与しているダイオキシン類の量は異なっている可能性がある。当科ではダイオキシン代謝酵素であるCYP1A1、GSTM1の遺伝子配列の違い（polymorphism）

表 3 Distribution of genomic status of CYP1A1 and GSTM1

	CYP1A1 codon 462		CYP1A1 M2		GSTM1	
Control	Val/Val	13 (11.4%)	UC/UC	52 (45.6%)	Positive	59 (51.8%)
	Val/Ile	31 (27.2%)	UC/C	40 (35.1%)	Negative	55 (48.2%)
	Ile/Ile	70 (61.4%)	C/C	22 (19.3%)		
	Total	114	Total	114	Total	114
Patient with endometriotic lesion	Val/Val	7 (5.8%)	UC/UC	56 (46.3%)	Positive	64 (52.9%)
	Val/Ile	36 (29.8%)	UC/C	48 (41.3%)	Negative	57 (47.1%)
	Ile/Ile	78 (64.5%)	C/C	17 (14.0%)		
	Total	121	Total	121	Total	121
	Control vs Patient in Val/Val genotype		Control vs Patient in UC/UC genotype		Control vs Patient in GST null genotype	
OR	0.48		1.03		0.96	
95%CI	0.28~0.82		0.78~1.35		0.93~1.24	
P value	0.09		0.98		0.96	

OP : Odds Ratio, CI : Confidence intervals

が子宮内膜症患者の発症数に影響を与えているかについても検討した。CYP1A1はまたE2代謝酵素(2-hydroxylase)としても機能していることがひろく知られている。CYP1A1では2カ所の遺伝子配列について検討した。またGSTM1においてはその遺伝子が存在するかどうかで検討した。その結果を表3に示す。CYP1A1, GSTM1ともにその分布に2つのグループで有意差は認めなかったが、CYP1A1遺伝子でのcodon462においてはval/valを持つタイプ、すなわちダイオキシン類をより強力に代謝する遺伝子型をもつ個体が子宮内膜症になりやすい傾向を示した(OR:0.48)。このことから少なくとも遺伝子型の違いによるダイオキシン類代謝機能の差はむしろ子宮内膜症のなりやすさの指標となる可能性があることが示唆された。

IV. セブソでのダイオキシン暴露による子宮内膜症発症例の検討

セブソで工場爆発事故によるダイオキシン類の地域住民への汚染状況は逐次モニターされており、最新の報告は2002年に行われている。子宮内膜症との関係はEnvironmental Health

perspectives⁹⁾に報告され以下のとおりである。本解析は汚染地域に居住していた住民のうち研究に参加を承諾し適格性があると考えられた、生殖年齢の女性601名を対象とした。子宮内膜症の診断は聞き取り調査(インタビュー)、婦人科診察(内診)、超音波診断によって行われた。子宮内膜症患者の診断は以下の条件を満たすものである。すなわち腹腔鏡施行例ないし開腹手術施行例で子宮内膜症が確認されたもの、あるいは超音波所見で臨床的にチョコレート嚢腫として矛盾しない症例とした。一方、非内膜症患者(Non-diseased)の診断は腹腔鏡施行例ないし開腹手術施行例で子宮内膜症が確認されないもの、超音波か内診症状のすべてが陰性的のものである。不確定なもの(Uncertain)も分類され、症状や内診所見では疑いがあがるが、超音波は異常なく、手術していないものとした。解析の結果を表4に示す。子宮内膜症症例はけっきょく19例に認められ、TCDDが低濃度では2人(1.8%)、中等度では8人(2.8%)、高度では9人(4.4%)であった。そのRRRは1.0%から、1.2%(90%CI:0.3~4.5)、および2.1%(90%CI:0.5~8.0)と上昇していたが、その統計的有意差はなかった。またNon-diseasedとの比較でも内膜症患者群とNon-

表 4 Crude and age-adjusted frequencies and age-adjusted RRR of TCDD exposure and endometriosis disease classification

Disease classification	TCDD (ppt)		
	≤20.0 (n=111)	20.1~100 (n=285)	>100 (n=205)
Cases 19 例 (手術 15 例, チョコレート 5 例), median 濃度 : 77			
Unadjusted frequency (n)	1.8% (2)	2.8% (8)	4.4% (9)
Adjusted frequency	1.7%	2.7%	4.6%
RRR (90%CI)	1.0	1.2 (0.3~4.5)	2.1 (0.5~8.0)
Uncertain 305 例, median 濃度 : 49			
Unadjusted frequency (n)	60.4% (67)	47.4% (135)	50.2% (103)
Adjusted frequency	61.8%	48.3%	48.0%
RRR (90%CI)	1.0	0.6 (0.4~0.9)	0.6 (0.4~0.9)
Nondiseased 277 例 (39 は手術), median 濃度 : 61			
Unadjusted frequency (n)	37.8% (42)	49.8% (142)	45.4% (93)
Adjusted frequency	36.5%	49.0%	47.3%
RRR (90%CI)	1.0	1.0	1.0

表 5 Incidence and mortality, 1997-1996, of the TCDD exposed Seveso population by cancer

Cancer	Exposure	Incidence			Mortality		
		Observed	RR	95%CI	Observed	RR	95%CI
Corpus uterus	High	7	0.2	0.1~2.0	9	0.5	0.1~1.9
	low	17	0.6	0.4~1.1			
Ovary	High	1	0.2	0.03~1.6	3	0.7	0.2~2.0
	low	32	1.1	0.8~1.6			
Breast	High	23	0.9	0.6~1.3	14	0.7	0.4~1.3
	low	160	1.0	0.8~1.3			

diseasedの間には有意差を認めなかった ($p=0.25$)。その他の層別化を行って検討しても結果はすべて両者の間に有意差を認めないものであった。

同時に癌化についても 2003 年に調査報告され表 5 に示す¹⁰⁾。エストロゲン依存性疾患と考えられる子宮体癌の発生頻度の RR は汚染地域別に 0.5 から 0.6 と低下し、死亡率も 0.5 であった。同様の傾向は乳癌でも観察され、発生頻度が 0.9 から 1.0, 死亡率が 0.7 であった。このことはダイオキシン類が体全体としてみたときには anti-estrogenic にはたらく傍証になる

かもしれない。

上記のようにダイオキシン類と子宮内膜症の因果関係は統計上明らかにはならなかったが、対象者全例において手術を行い子宮内膜症のないことを証明することは不可能なため、非子宮内膜症群の設定上の誤りの可能性が懸念されており、このことを考慮すると結論をだすには早急とも考えられる。またセベソ事故の場合は一度に大量の暴露が起こった場合の環境への影響をサーベイしたものであり、現在懸念されはじめている微量長期間の暴露に対する影響という点からみるとその回答にはほど遠い。

おわりに

ECDs, とりわけダイオキシン類に対する健康被害についてはマスメディアの影響が強く, 社会的に大きなインパクトがあったように思う。しかしながら, 最近はこのことが話題に上ることも少なくなり, 熱しやすく冷めやすい日本人気質を示しているかもしれない。ECDsの子宮内膜症への影響はたんに痛みや癌化という点だけでなく生殖に対する観点からも重要な事項であり, 今後も検討し続ける必要がある。そのためには評価に耐えるようなエビデンスを今後蓄積していかななくてはならない。しかし実際には子宮内膜症自体がどのようなプロセスで発症進展していくかがまだ十分に理解されているとは言い難く, この点を考えてもECDsの微量長期間の暴露が与える影響を正確に評価することは困難さがつきまとう。子宮内膜症の発症機序とダイオキシン類が与える影響を科学的に説明のつくもののできるような方向での検討が期待される。

文 献

1) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, et al: Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2, 3, 7, 8-terachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol*, **21**: 433-441, 1993.
2) Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, et al: Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod*, **9**: 1001-1002, 1994.

3) Arnold DL, Nera EA, Stapley R, et al: Prevalence of endometriosis in rhesus (*Macaca mulatta*) monkeys ingesting PCB (Aroclor 1254). *Fundam Appl Toxicol*, **31**: 42-55, 1996.
4) Mayani M, Barel S, Soback S, et al: Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod*, **12**: 373-375, 1997.
5) Lebel G, Dodin S, Ayotte P, et al: Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. *Fertil Steril*, **69**: 221-228, 1998.
6) Safe S, Wang F, Porter W, et al: Ah receptor agonists as endocrine disruptors: antiestrogenic activity and mechanisms. *Toxicol Lett*, **28**: 102-103, 343-347, 1998.
7) Igarashi T, Osuga U, Tsutsumi O, et al: Expression of Ah receptor and dioxin-related genes in human uterine endometrium in women with or without endometriosis. *Endocr J*, **46**: 765-772, 1999.
8) Tsutsumi O, Momoeda M, Takai Y, et al: Breast-fed infants, possibly exposed to dioxins in milk, have unexpectedly lower incidence of endometriosis in adult life. *Int J Gynaecol Obstet*, **68**: 151-153, 2000.
9) Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, et al: Serum dioxin concentrations and endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. *Environ Health Perspect*, **110**: 629-634, 2002.
10) Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, et al: Short- and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident". *Ind Health*, **41**: 127-138, 2003.

* * * *

* * * *