

(Reed and Pangaro, 1995)。TSHは、血流により甲状腺に運ばれ、そこで T_3 および T_4 の合成を刺激し、続いてそれらが血液中に放出されて身体全体にわたり全般的な代謝作用を刺激する。 T_3 は生物学的にははるかに強力であるにもかかわらず、実際に放出される主要な甲状腺ホルモンは T_4 である(Reed and Pangaro, 1995)。多くの標的組織では、 T_4 が T_3 に代謝されてその効果を発揮しており、これは、局所の必要に応じた内分泌系の微妙な調整が、如何により重大な調節や制御を可能にすることができるか、という一つの例である。循環する T_3 のほとんどは、肝臓における脱ヨード酵素により T_4 が代謝変換されて生じている。 T_3/T_4 の循環が視床下部および脳下垂体前葉にフィードバックして、TRHとTSHの放出をネガティブに制御することにより、古典的意味の内分泌のネガティブフィードバックの経路が成立している(Reed and Pangaro, 1995)。脳下垂体におけるフィードバックの大部分は、甲状腺刺激ホルモン産生細胞で T_3 に変換される T_4 による。この循環経路の始点にはもうひとつの調節因子ソマトスタチンがあり、これは視床下部ニューロンから放出され、脳下垂体前葉からのTSH分泌をネガティブに制御している。ソマトスタチンは、さらに脳下垂体前葉からのGH分泌の(ネガティブな)制御という重要な役割を果たしているが、本章でこの内分泌系は論じていない。しかしながら、GHが細胞の成長を刺激するのに対して、TSH(T_3/T_4 による)は細胞の代謝を刺激して、これら2つの内分泌軸の制御がこの段階で結びつくことを示している。

現在の状況では、甲状腺内分泌軸への関心は、以下の2つの観点から生じている。a) ある種のPCBsが抗甲状腺作用をもつ。すなわち、 T_3/T_4 レベルでの影響に拮抗することが実証されている(Gray et al., 1993; Porterfield and Hendry, 1998)。b) ニューロンから筋肉、そして精巢のセルトリ細胞にまで及ぶ様々な組織での最終的な分化において甲状腺軸が果たす重要な役割。甲状腺ホルモンの作用の多くは、それらが他の刺激に応答する細胞の能力に影響を与えるという意味で多岐にわたる。例えば、GHの標的細胞におけるセカンドメッセンジャーであるcAMPの生成を担う重要な酵素のアデニルシクラーゼの濃度は、甲状腺ホルモンによって高められる。

3.5.2 哺乳類以外におけるHPT軸

哺乳類以外のHPT軸の構造および機能は、哺乳類のHPT軸に極めて類似している(McNabb, 1993; Norris, 1997b)。甲状腺が濾胞構造をもち、また、甲状腺ホルモンの合成および分泌のメカニズムや末梢組織で T_4 が脱ヨード化されて T_3 へ変換する点についても同様である。さらに代謝における分解、排出のパターンも類似している。硬骨魚においての1つの大きな違いは、甲状腺濾胞が結合組織による莢膜に覆われずに分散状態にあり、個々の濾胞の一つ一つが第2および第4大動脈弓間の結合組織間に分布している。ときには、甲状腺濾胞が、腎臓、肝臓および生殖腺などの他の器官にも分散している。したがって、これらの動物における甲状腺の外科的除去は不可能である。

視床下部と脳下垂体の制御の大きな違いは視床下部の段階にある。魚類と両生類において、TRHはTSH分泌の主要な刺激因子ではない。両生類のTSH分泌にはCRHが中心的役割を果たしている(Denver, 1997)。しかしながら、哺乳類のTSHは、全ての脊椎動物において、甲状腺でのヨウ化物の貯蔵と甲状腺ホルモンの分泌を刺激する作用がある。甲状腺ホルモンは、すべての脊椎動物の胚と後胚の発生、特に神経系との関連において重大な役割を果たしている。さらに、幼魚および両生類の幼生の変態にも重要である(Dickhoff et al., 1990; Galton, 1992; Kikuyama et al., 1993; Shi, 1994)。これらの作用は劇的な形態変化をもたらすだけでなく、生息地および食餌の重大な変化に対しての生化学的な適応、すなわちサケ科の魚類のスモルト(2年子)化および両生類変態における甲状腺ホルモンの役割やPRLやコルチコステロイドとの相互作用にも関連するものである。サケ科の稚魚から2年子への変態(スモルト化)は降海に先立って起こる。ギンザケのスモルト化に関する研究(Dickhoff et al., 1990)では、この時期に、インスリンやPRLの早期急上昇と同様に、 T_4 およびコルチゾールがそれぞれ一時的に2~6倍増加することが報告されている。またGHも増加して、その濃度はスモルト期には上昇したままである。

両生類の幼生では、成体への変態には甲状腺ホルモンおよびコルチコステロイドの一時的な上昇をとめない、またPRLも遅れて短期の上昇をする。さらに、脱ヨード酵素の型の特異的变化により、 T_4 の不活性化代謝物の逆転型 T_3 への転換が減少して、より活性の高い T_3 への転換を増加させる(Galton, 1992)。また変態期には甲状腺ホルモン受容体型の変化も起こる(Wolffe et al., 2000)。応答器官では多くの遺伝子産物が甲状腺ホルモンにより生成促進され、いくつかのものは変態期において抑制される(Shi, 1994)。

サンショウウオおよび爬虫類の脱皮は甲状腺ホルモンによって制御されている。それに対して、鳥類での脱羽は甲状腺ホルモンで亢進されるが、これは生殖腺ステロイドによって刺激される。このような甲状腺ホルモンの作用は、哺乳類の換毛に対する作用と類似している(Norris, 1999)。

甲状腺ホルモンはさらにGHと相乗的に働き、魚類、両生類の成体、鳥類およびおそらく爬虫類の成長速度を最大限に高めるが、爬虫類については詳しく研究されていない(Norris, 1997)。最後に、甲状腺ホルモンは性成熟を刺激する重要な役割をもち、様々な動物の季節的生殖活動にとって不可欠である(Norris, 1999)。代謝率、体温、および熱産生を調節するという甲状腺ホルモンの役割は、哺乳類および鳥類の両者での恒温性にしたがって独立して進化してきており、魚類、両生類および爬虫類ではこれらのホルモンは同じように働くものではない(Oppenheimer et al., 1995)。

3.6 松果体：光周期変換因子

哺乳動物では、両側の大脳皮質に挟まれた視床上部に松果体が位置している。松果体は、夜間に生体アミンの

メラトニンを分泌することにより様々な体内生理リズムの調節を行い、また光周期の刺激を行動に変換するための重要な役割を担っている。さらに、メラトニンは、皮膚の色素着色および毛髪の成長を調整しており、HPA、HPTおよびHPG軸における視床下部の制御を阻害することができる。また、免疫応答系を高めることが報告されている(Norris, 1999)。鳥類と哺乳類における光入力は、まず視覚系によって受け取られる。しかしながら、ほとんどの魚類、両生類および爬虫類の松果体は、直接的な光受容体としての重要な役割も果たし、またメラトニンの分泌によりHPA、HPTおよびHPG軸の重要な制御も行っているかもしれない。松果体の機能を変化させるいかなる環境要因も脊椎動物の健康に深刻な影響を与える可能性がある。

3.7 HPG軸と他の内分泌系の相互作用

身体の様々な内分泌軸は、独立してそれだけで機能することはない。もし独立して動いたとすると、例えば、季節、食物の供給、捕食動物の存在などの状況の変化に対して、生体が反応あるいは適応する能力を危険にさらすことになってしまうからである。他の内分泌軸における様々な構成要素は、生殖のタイミングや効率を変化させるなど、HPG軸に対する重要な調節作用を示している。このような相互作用の複雑さを、いくつかのオーバーラップするクロストークに注目して図3.4に示した。この相互作用の機能および複雑さを深く理解するために、さらに4つのポイントについて例とともに示している。

3.8 内分泌系の解明の進展

現在、多様な内分泌系相互間の新たなコミュニケーション経路、そして機能的重複が発見されている。1例として、遺伝性肥満マウス(ob/ob)に関する研究から比較的最近発見されたレプチンがある (Rosenbaum and Leibel, 1998)。このホルモンは、脂肪細胞で産生され、満腹感や空腹感および摂食などの特定の行動に重要な影響を及ぼしている。脂肪細胞のエネルギー貯蔵は、インスリン-グルコース内分泌系の重要な要素であり、インスリンがレプチン分泌量に直接あるいは間接的(すなわち脂肪蓄積の変動など)に影響していることが知られている(図3.4)。またレプチンと生殖系の間には重要な相互作用がある (Friedman and Halaas, 1998; Rosenbaum and Leibel, 1998)。動物は、母親に適切なエネルギー貯蔵があり食物供給がよい場合に限り生殖活動を行う。レプチンは、これらの様々な要素を統合するために必要な信号を発信している。食物供給と母親のエネルギー(=脂肪)貯蔵量が低い場合には、亢進されたレプチンが生殖系の機能を抑制することができる。このような経路は、思春期の時期や開始、季節的な生殖活動の制御、および特定の疾病、例えば拒食症などの食欲異常を生じた女性の月経停止などに対して重要な役割を果たしている。哺乳類以外の脊椎動物のレプチンの存在および役割の解明は今後の課題であるが、生殖における栄養状態の重要性は哺乳類で説明した関係と同じく重要であるとわかっており、全ての脊椎動物にレプチンが存在する可能性がある。

この他に内分泌系の複雑さについて最近解明されたも

のでは、遺伝子発現の変化につながる核内ステロイド受容体への結合という古典的メカニズムによる作用に加えて、標的細胞膜上の受容体に結合し生体反応を引き起こす信号伝達経路を活性化することにより、迅速で非遺伝子的な作用を行うステロイドの能力があげられる (Watson and Gametch, 1999)。エストロゲンとアンドロゲンに対する特異的な細胞膜受容体と迅速な非遺伝子的作用が、最近になって視床下部、脳下垂体、性腺、生殖細胞、ステロイド産生細胞、および乳房などの第一次、第二次性徴に関わる生殖機構など脊椎動物の生殖系全体で認められた (Revelli et al., 1998)。非遺伝子的なステロイド作用は、哺乳類における精子の活性化 (Luconi et al., 2001)、精巣の輸卵管における電解質および体液輸送 (Leung et al., 2001)、魚類、両生類でのプロゲステンによる卵母細胞の成熟 (Thomas et al., 1998) などのいくつかの生殖過程において、軟骨細胞の増殖、分化およびマトリックス形成などの非生殖過程と同様に、重要な機能をもっていることが示されたが、多くの組織におけるこれらの生理学的役割はまだ解明されていない。この領域は、今後関心が高まり、EDCsによって引き起こされた影響の全容の検出および特性の解析は、さらに複雑化するであろう。

3.9 内分泌系の発達およびプログラミング

内分泌系間のクロストークは、生涯のそれぞれの段階でそれぞれ異なった結果を示すと考えられる。特に重要な点は、「設定を行っている」段階、すなわち刺激に対する閾値とフィードバックの系路がプログラムされる時期における内分泌軸の変化が強い影響を示すことである。次のような2つの影響が生殖の内分泌軸の変化を引き起こす。一つは、比較的直接的な作用であり甲状腺腺に関わるものである。甲状腺ホルモン(T_3/T_4)の循環量は、様々な組織(例えば、ニューロン、筋細胞)の最終的な分化に影響しており、また、最近の研究では、雄のセルトリ細胞の分化にまで及ぶことが報告されている。未成熟な増殖細胞から、精子形成を補助する成熟した非増殖細胞へのセルトリ細胞の転換は、思春期前期における甲状腺ホルモンの量が引き金となって起こる。 T_3/T_4 が正常値以下(甲状腺機能低下症)になると、セルトリ細胞の増殖期が延長し、反対に、 T_3/T_4 が正常値以上(甲状腺機能亢進症)になるとセルトリ細胞の増殖期が短くなる (Sharpe, 1994; Jannini et al., 1995)。このような変動の結果、最終的なセルトリ細胞数が変化し(それぞれ増加、減少)、それにより最終的な精巣の大きさ、1日当たりの精子産生数が変化する。これは各セルトリ細胞に限られた数だけの生殖細胞しか支持できないからである。甲状腺機能低下および亢進症は、身体の成長および脳の発達を変化させるという点でその他多くの影響をもたらすが(図3.4)、いずれか個々の内分泌軸の機能変化による多面発現的な影響であることを再度強調しておく。

クロストークに加えて、甲状腺ホルモンは動物の成体における脳の活性レベルと同様に、脳の分化にも重大で直接的な影響を及ぼしている (Akaike et al., 1991);

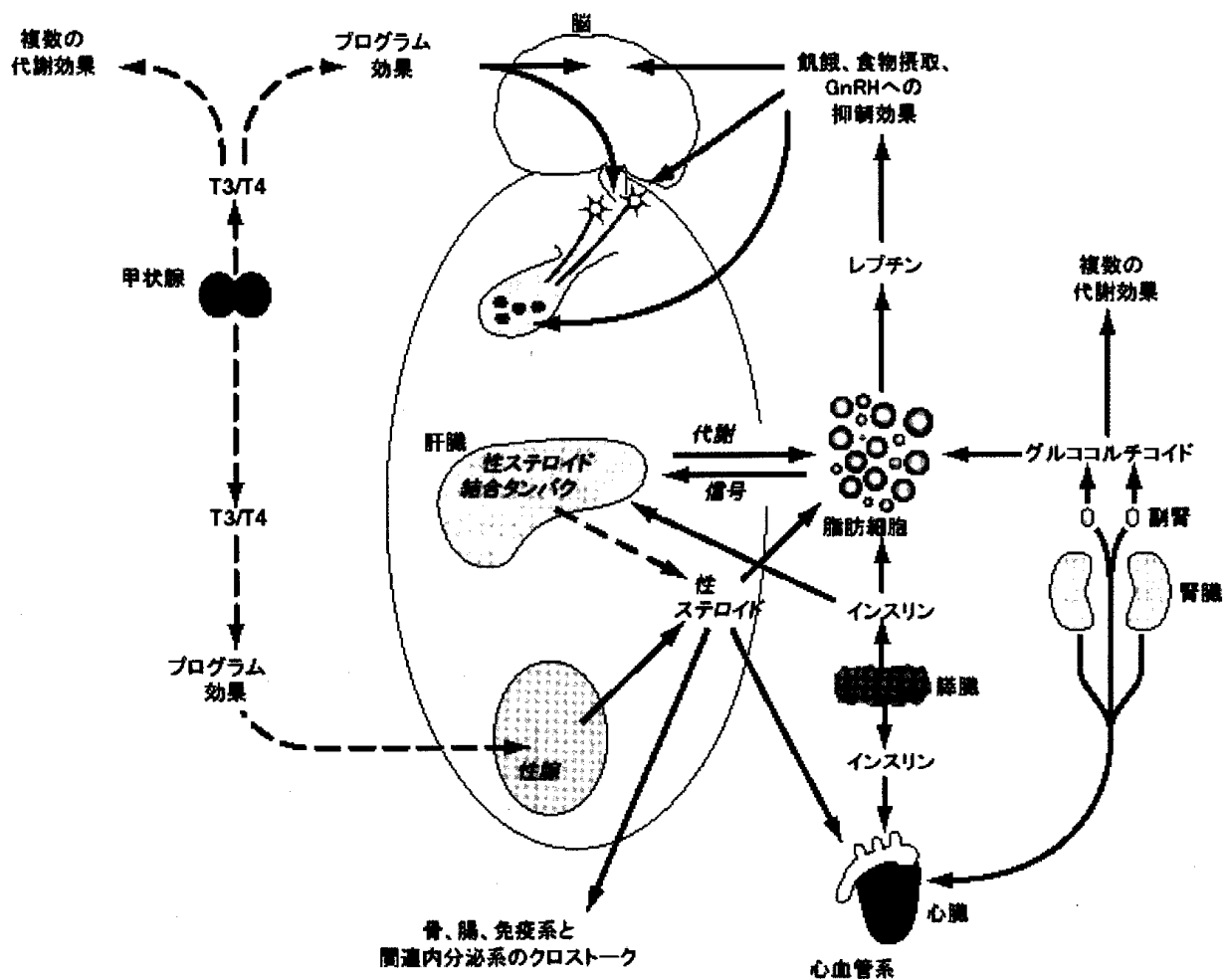


図3.4 哺乳類のHPG軸(中央の影付き部分)と、生体の他の内分泌軸との間に生じるクロストーク(統合)のいくつかを示した概略図。選択した例のみを示しているが、実際には、各内分泌軸は身体全体の機能を統合するために、他の内分泌軸と重層的に相互作用していることに留意すること。この複雑なクロストークからの重要な結論は、ある内分泌軸に誘発された変化が他の内分泌軸の変化を導くことであり、このような相互作用についての理解が不足しているために、影響を予測することが難しいということである。

Porterfield and Hendry, 1998)。ヒトでは、妊娠中または出生直後の甲状腺ホルモンの欠乏は不可逆的な精神遅滞を引き起こす可能性がある。

その他、内分泌軸間での「プログラム設定」のクロストークの顕著な影響の例としては、既に概説したIUGRがあげられる。妊娠齢に比較して低体重児である出生児は、胎児期における発育不全の結果、「インスリン抵抗性」となり、出生時には脂肪の蓄積およびレプチン濃度が極度に低下している。このような出生児には通常追い上げ成長がみられ(Jaquet et al., 1999)、これはおそらく彼らの内分泌が適応変化するためであるが、永久的に高インスリン血症およびインスリン抵抗性が残る。ヒトでは、このような人は糖尿病を発症し肥満になる危険性が増大する(Philips et al., 1998)。さらに、そのような人は高血圧になり、そのために肥満とは無関係な心血管系疾患、脳卒中および腎疾患の危険性が増大する。生殖系もまた有害な影響を受ける。ヒトでは、IUGRの男性出生

児の場合、出生時には停留精巣および尿道下裂の危険性、また成人時には精巣の胚細胞がんの発症や精子数の低下を引き起こす危険性が高い(Sharpe, 1999)。正確にはこのような変化がどのように引き起こされるかは明らかでないが、おそらく性ステロイド濃度の変化が関係するとみられる。考えられる1つの経路が図3.5に示されている。高インスリン血症が肝臓でのSHBG分泌の大幅な減少をまねき、その結果フリー(生物学的に活性)の性ステロイドの循環量が上昇することが現在では詳細に解明されている(Nestler, 1993)。また、アンドロゲンがエストロゲンよりも強くSHBGに結合するため、アンドロゲン/エストロゲン比が変化する。これは、女性の一般的な疾患の1つである多嚢胞性卵巣疾患において明白に現れている。このような人は高インスリン血症で、血中アンドロゲン濃度の過剰による多毛となり、また多嚢胞性卵巣および無排卵性不妊も生じる(Dunaif, 1997年)。このような状態を引き起こす共通の危険因子はIUGRである。

3.10 性ステロイドの非生殖系への影響

高インシュリン血症によるSHBGの変化はアンドロゲンおよびエストロゲンの生体活性の変化を引き起こし、生殖機能を変化させる可能性があるとして推測される。しかしながら、性ステロイド(特にエストロゲン)は、身体全体にわたりその他の多くの影響を及ぼしている。エストロゲン(程度こそ低いもののアンドロゲンでも)は、雄および雌の骨形成/吸収に重要な役割を果たし、またエストロゲン作用は骨端閉鎖にとって不可欠である(Sharpe, 1998)。性ステロイドの生成あるいはその作用が乱れると、骨粗鬆症あるいは早発/遅延骨端閉鎖を引き起こし、結果として最終身長/体長に影響が現れる。さらに、性ステロイドは、心血管系にまで及ぶ影響をもち、ヒトでは明らかに性および年齢に依存した心血管系疾患を起す危険のある変化に関与している(Sharpe 1998)。脳(Gorski, 1996; Meewen and Alves, 1999)、消化器系(Sharpe, 1998)、免疫系(Olsen and Kovacs, 1996)および脂肪組織(Simpson et al., 1997)に対しても、性ステロイドの多岐にわたる影響が及び、このような作用がこれらの器官を標的とする他の内分泌軸にも関与あるいは制御している可能性がある(図3.4)。HPG軸に対する直接および間接的影響は、アンドロゲンおよびエストロゲンの絶対量あるいは相対量の変化に結びつき広範囲にわたる影響が現れる可能性がある。これらの影響は、成人において急性/一時的(例えば脳下垂体フィードバック効果)、あるいは慢性的(例えば骨および心血管系への影響)であるが、胎児/新生児においては、発生したような影響も永久的(例えば性分化)な可能性がある。

3.11 内分泌クロストークと内分泌かく乱化学物質

既知の性ステロイドホルモンの活性あるいは不活性から、特定の化学物質の生殖への影響を予測することは容易ではない。例えば、インシュリン濃度に影響をあたえるような食事の変化(例えば精製糖の豊富な食事の摂取)は、SHBG産生量の変化(図3.5)による性ステロイドホルモンの生物活性を変化させる可能性がある。しかし、精製糖が性ステロイドホルモン作用をもつと断定することはできない。ある環境化学物質が(弱い)ステロイドホルモン作用を示したとしても、また別の関連した作用をもつこともある。したがって、PCBsの生殖系への影響を考えると、その甲状腺への影響は、PCBsのもつ弱いエストロゲン/抗エストロゲン作用と同等かそれ以上に重要と思われる。他の環境化学物質がエストロゲン作用と同様に抗アンドロゲン作用をもつ場合(例えばDDT異性体やある種のフタル酸エステル)もあり、*in vivo*でのその効果の解釈を混乱させる可能性がある。例えば、抗アンドロゲンの投与が内因性エストロゲン濃度を上昇させると考えられる。これは抗アンドロゲンがネガティブフィードバックループを遮断するため引き起こされ、それを補償するためにLH濃度が上昇(図3.1および3.2)するなどしてテストステロン濃度が通常以上に上昇することで、アロマターゼ(図3.3)の基質濃度を必然的に増加させることになる。様々な研究が示唆するように(Simpson et al., 1997)、もしアン

ドロゲンがアロマターゼの発現を促進するならば、エストロゲン濃度がさらに上昇するであろう。したがって、*in vivo*でのPCBs、DDTあるいはフタル酸エステルの「エストロゲンの」作用の全体像は、どんな*in vitro*のエストロゲンスクリーニング法を用いてもそれらの活性を測定しても予測することはできないであろう。いくつかのエストロゲンはある組織ではアゴニストであり、別の組織ではアンタゴニスト(例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン)となり、同様なことがアンドロゲンにも当てはまることが現在の研究から示唆されている。これらの違いの根拠は完全に解明されていないが、組織特異的に発現するコアクチベータータンパク(あるいはアダプター)が関与していることは明らかであり、エストロゲンの場合にはER- α あるいはER- β がどのように発現しているかが関係している。いくつかのコアクチベーターは、ステロイド受容体スーパーファミリーの中の様々なメンバー間で共有されるために、ある受容体メンバーの作用がアンドロゲンあるいはエストロゲン受容体複合体に働きかけるコアクチベーターの効果を変化させることがあるかも

SHBGの血中濃度の変化

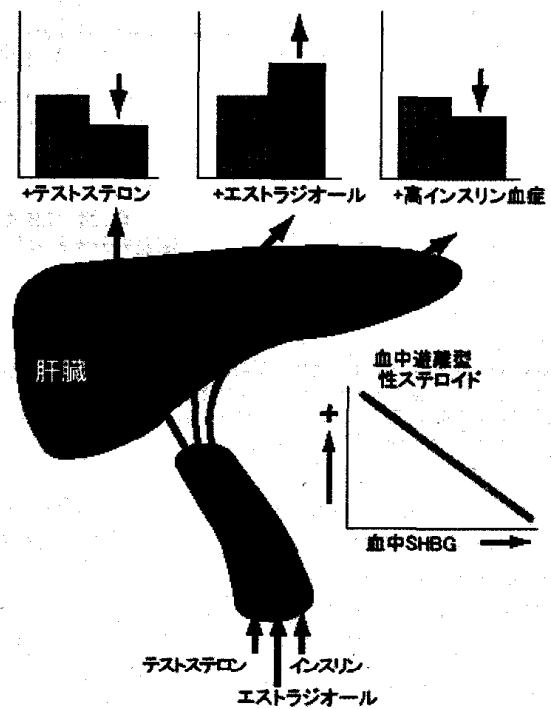


図3.5 特に内分泌かく乱に関連を持つヒトの内分泌軸間の重要なクロストークの一例を示した概略図。ヒトや他の哺乳類の一部では、性ステロイドであるテストステロンおよびE2はSHBGと結合して血流を循環しているため、標的細胞が自由に利用できるわけではない。SHBG(肝臓で生成される)の濃度変化は、テストステロンとE2の産生を変化させることなく生物学的活性を変化させている。おそらく、SHBGの産生自体がテストステロン(抑制)とE2(促進)によって調節されているとしても驚くにはあたらない。しかし、クロストークを介して、インシュリン濃度の上昇がSHBG産生を抑制し、結果として、生物学的に活性な(=SHBGに結合していない)テストステロンおよびE2の濃度が上昇する。さらに、テストステロンはE2に比べてSHBGに強く結合するため、SHBG濃度が低下すると、生物学的に活性なテストステロンが選択的に著しく増加し、その結果アンドロゲン/エストロゲンの平衡が変化する。すなわち、糖分の豊富な食事など血中インシュリン濃度の上昇を引き起こす因子は、性ステロイドの標的細胞に対する濃度および作用を変化させる可能性がある。

しれない。一方で、非生殖系ホルモンは、これらのコアクチベーターの発現を制御する可能性がある。このような可能性は推測であるが、タモキシフェン、ラロキシフェンおよび次々と発見される他のSERMs (Cosman and Lindsay, 1999)によって得られた結果により、性ステロイドホルモンの作用が変更されるような予測不可能な経路が存在することが強く示唆されている。

上述の考察に基づき、問題の化合物が生殖に関わる内分泌かく乱化学物質かどうかを検証することを目的とするならば、*in vitro*の試験法でその化合物の性ステロイド活性を測定するのではなく、「生殖」作用(つまり生殖系の発生と機能を変化させる能力)について化合物が検査されるべきであることは明白である。

3.12 EDCが関与する発生および生殖毒性の作用機序と表現型

3.12.1 調査の展望

この節は、生殖機能および発生において*in vivo*で有害な影響が示され、その特性がよく記述されたEDCsの作用機序について、例を選んで解説するものである。通常の内分泌系の機能からみると、内分泌かく乱における細胞および分子機構は、受容体の結合だけに制約されるのではなく、例えば、ホルモンの合成、代謝および輸送などの阻害にも関係している。図3.6は、例としてステロイドホルモン作用のいくつかのメカニズムを示しており、EDCsが内分泌機能を変化させる過程の中で重要な鍵となる部分を示している。また、シグナル伝達経路の別の部分においても人工の化学物質によるかく乱を受けやすい場合がある。この節ではステロイド受容体のアゴニスト、アンタゴニスト、ステロイド合成調節物質およびAhRアゴニストの例を用いて、生殖系の発生に対する作用と毒性影響についての細胞および分子機構に視点をあてている。また、必要に応じて、哺乳類以外の種のデータも提示している。EDCsの典型では、必ずしも同じ量あるいは同じ発育段階でなくとも複数のメカニズムによって複数の標的器官が影響を受け、生殖系の発生に変化がもたらされる。毒性物質の多岐にわたる内分泌および非内分泌作用は、*in vivo*においてのみ意味のある作用として解釈することができ、*in vitro*の試験の限界を認識することが重要である。

脊椎動物の内分泌においてはかなりの相同性が存在する。したがって、1つの種において内分泌機能を変化させる有害物質は、おそらく別の種でも有害な影響を生むであろう。しかしながら、いくつかの種間には内分泌機能に著しい差があるので、種間相互における予測には十分な考慮が必要である。ホルモン、ホルモン合成およびそれらの受容体での相同性は高い割合で保存されているが、生殖機能および発生における特異的ホルモンの役割は大きく異なっている。さらに、EDCsの代謝の著しい差は、これらの化学物質への反応に顕著な種差として現れる。

3.12.2 AR介在の(抗)アンドロゲン

3.12.2.1 ビンクロゾリン 一般に哺乳類は1種類のARをもつと考えられているが、これは、ARの1塩基置換によ

って起こるアンドロゲン不完全症候群でみられる表現型のみにおける性転換により証明される(Quigley et al., 1995)。ビンクロゾリンはAR拮抗作用をもつジカルボキシミド殺菌剤である。EDCsの中でも、抗アンドロゲン殺菌剤ビンクロゾリンの作用についての細胞および分子機構は、最もよく解明されているもののひとつである。ビンクロゾリンの代謝物質M1およびM2は、ヒトのARへのアンドロゲン結合を競合的に阻害する。またM1とM2は、ヒトAR導入細胞においてDHT誘導性の転写活性を抑制する。Kelceら(1997)は、ビンクロゾリン処理で、抗アンドロゲン作用による*in vivo*における遺伝子発現の変化が生じることを実証した。ARへの結合とは対照的に、ビンクロゾリンおよびその抗アンドロゲン代謝物は、ともにプロゲステロン受容体に対しては弱い親和性をもつが、ERに対する親和性は示さない。ビンクロゾリン、M1およびM2は、テストステロンをさらに活性の高いアンドロゲンであるDHTに転換するのに必要な酵素の5 α -レダクターゼ活性を*in vitro*では抑制しない(Kelce et al., 1994)。ビンクロゾリンの生物学的影響について *in vivo* および *in vitro*の測定データの比較から、母親の血清中のM1とM2濃度がAR結合に対するそれぞれのKi値に近づく、雄の仔ラットに奇形が生じることが示された(Kelce et al., 1994; Monosson et al., 1999)。

AR依存性遺伝子の発現を抑制するM1とM2の能力は、*in vitro* と *in vivo*の両方で実証された。さらにビンクロゾリンは、雄のテストステロン処理未成熟去勢ラットでアンドロゲン依存性の組織の発達を阻害し、*in vivo*での抗アンドロゲン作用がより明確に証明された。薬剤フルタミドは、代謝活性化してヒドロキシフルタミドに変換するが、この物質はビンクロゾリンの代謝物M2に構造的に類似しており、それぞれビンクロゾリンまたはM2とほぼ同等の内分泌活性を示す(Imperato-McGinley et al., 1992; Gray et al., 1994; Kelce et al., 1995)。

生殖器に対する抗アンドロゲン作用に加えて、ビンクロゾリンおよびフルタミドは、視床下部-脳下垂体軸の段階における生殖機能にも変化をもたらす。ビンクロゾリンあるいはフルタミドの経口投与(30~100mg/kg/日; Monosson et al., 1999)は、血清中LHおよびテストステロンの量の増加、およびライディッヒ細胞の過形成を引き起こす。同じく抗アンドロゲン作用をもつ*p,p'*-DDE (Kelce et al., 1995)またはMXC (Gray et al., 1989, 1999c)の投与では、ビンクロゾリンおよびフルタミドとは対照的に、血清中のLHまたはテストステロンの量にかなる重要な変化も生じない。胎児期後半からの3~200mg/kg/日の量のビンクロゾリン暴露によって、次世代雄における様々な抗アンドロゲン性の催奇形性が報告されている(Gray et al., 1994, 1999b)。これらにはAGDの雌性化、乳頭遺残、尿道下裂、鼠径部異所性精巣、陰囊、精巣上体肉芽腫、性腺付属器官の縮小あるいは欠損、包皮分離の遅延などがあげられる。ビンクロゾリンの低用量の影響に関する研究では、妊娠ラットに、3~100mg/kg/日を妊娠14日~出産後3日まで暴露した。最低用量群(3.125mg/kg/日)でも、次世代雄にAGDおよび乳頭

遺残に対する著しい影響があらわれた。雄の生殖管の奇形は、50および100mg/kg/日の暴露で観察された。これらのエンドポイント(AGDの短縮、乳頭遺残、性腺付属器官重量への影響、尿道下裂、精巣上体発育不全)がすべてARの阻害によって引き起こされるとしても、統計学的に有意な変化を起こす有効用量は様々に広範囲に及んでいる。これらの変化のいくつかは、実験の用量範囲では明確な閾値を示さない。多世代にわたる研究が、雄の生殖系における微妙な抗アンドロゲン作用の検出には不可欠であり、また新しい試験法ガイドライン(新しい抗アンドロゲン測定法を組みこんだ)を用いないと、NOAELsが少なくとも1桁高くなる可能性がある。

思春期のウサギでピンクロゾリン100mg/kgを2ヶ月間経皮暴露した結果、付属性腺重量の減少がみられたが、精子数は著しく増加した。著者らは性腺刺激ホルモン放出の増加を考慮に入れ、抗アンドロゲン作用により視床下部あるいは脳下垂体におけるテストステロンのネガティブフィードバックが阻害された可能性を示唆した(Moorman et al., 2000)。

3.12.2.2 その他のARアンタゴニスト DDT代謝物質DDE(Kelce et al., 1995; Gray et al., 1999a; You et al., 1998, 1999a, 1999b)、MXC代謝物質(HPTE)(Gaido et al., 1999; Maness et al., 1998)、有機リン化合物フェニトロチオン(Tamura et al., 2001)、およびジカルボキシミド殺菌剤プロシミドン(Ostby et al., 1999)などの他のいくつかの有毒物質でARアンタゴニスト作用が示された。リニユロンは、尿素系除草剤でARへの弱い親和性を示すが、次世代雄に引き起こされた影響は、複数のメカニズムによって哺乳類の性分化に異常を起こすおそれがあることを示唆している(Gray et al., 1999a; Lambright et al., 2000; McIntyre et al., 2000)。この点では、前立腺疾患のために臨床的に使用された植物性抗アンドロゲン剤permixonもAR結合性を示し、またステロイドホルモン合成を抑制するとみられる(Carilla et al., 1984; Bayne et al., 1999; Plosker and Brogden, 1996)。トリス(4-クロロフェニール)メタノールは、DDTと構造的関連性のある起源不明の環境汚染物質であり、*p,p'*-DDEに匹敵するAR結合親和性をもつ。しかし、100ppmまでを28日間混餌投与された性成熟ラットでは、*in vivo*での抗アンドロゲン作用は認められなかった(Foster et al., 1999)。

3.12.2.3 その他の脊椎動物におけるAR介在の影響 魚類における性的二型性はアンドロゲンおよびエストロゲンの両方の影響を受けることが証明された(Ankley et al., 1998)。例えば、Smith(1974)は、ファットヘッドミノール(ウグイの仲間)における生殖結節の形成と背側粘液分泌腺が17 α -メチルテストステロンによって誘導されることを実証した。芳香化されるテストステロンおよび17 α -メチルテストステロン、芳香化されない11-ケトテストステロンおよび17 α -メチル-DHTを、孵化直後の遺伝子型雌のキングサーモンに対して2時間の処理を行った場合、投与量に依存した性転換が観察されたが、天然あるいは芳香化できる型よりも合成および芳香化できない型ではさらに強力な効果がみられた。これは発生初期におけるア

ロマターゼの役割を示唆している(Piferrer et al., 1993)。ティラピアの稚魚の餌にアンドロゲンを与えることで、ほとんどが雄の群を商業ベースの規模で作出すことができる。性未分化の*Oncorhynchus aureus*(サケ科)に酢酸トレンボロン25mgを28日間投与すると、98%が表現型雄になった(それに対して対照群では55.7%が雄)。さらに高い用量投与群においては雄の割合が低下したが、これは抗エストロゲン作用があまり強くないためであると思われる(Galvez et al., 1996)。アメリカナマズで同様に処理をした場合、対照群の雄に比べて成魚の体重が低下し

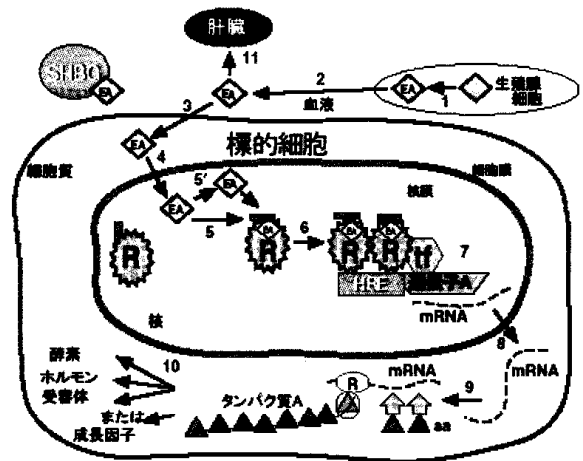


図3.6 環境化学物質によるかく乱に感受性を持つステロイドホルモン作用のいくつかの重要な段階を示した概略図
 (1) E2、テストステロンおよびプロゲステロンなどのステロイドホルモン(EA)は生殖腺細胞内で合成される。医薬品や殺虫剤などのCYP450酵素の阻害剤はここで作用する。
 (2) ホルモンは生殖腺から血中に分泌され、拡散によって細胞に取り込まれるか、SHBGと結合して輸送される。遊離型と結合型の比率を決める因子にはいくつかあるが、結合型ホルモンは、ステロイドのSHBGタンパク質との結合親和性に応じた割合でSHBGから遊離する。有害物質はSHBG濃度を変化させ、また、ホルモン類似物質のいくつかは天然リガンドが結合するようにはSHBGと結合しないため、標的細胞に対して作用しやすくなり、肝臓での代謝に使われやすくなることが報告されている。
 (3) ステロイドホルモンは細胞内に拡散する。
 (4) ホルモンは、未結合な受容体(R)が存在する核の周辺領域に拡散する。
 (5) ホルモン、あるいはホルモン類似物質は、受容体と結合する。生体異物の多くは、ERまたはARと結合することが示されている。ある場合には、血中に分泌された化学物質がホルモン前駆体となり、細胞内で活性ホルモンへと代謝される(5')。例えばある組織では、テストステロンはアロマターゼによりE2に代謝されるのに対し、他の組織では5 α -レダクターゼがDHTに変換する。筋肉のような組織内では、テストステロン自身が活性ホルモンとなる。標的組織においてホルモン前駆体の活性化を阻害するEDCsもある。
 (6) 天然あるいは合成リガンドに結合している受容体(R)は立体配座の変化を受け、鍵となるタンパク質の結合部位に会合してホモ二量体を形成する。
 (7) ホモ二量体は、転写因子(tf)を集めて転写複合体を形成し、ホルモン依存性遺伝子のDNA上のホルモン応答配列(HRE)として知られる特定の配列に結合する。次いで、転写複合体は、mRNA合成(mRNA)を開始する。いくつかの抗ホルモンは、DNAへの結合を妨害する。
 (8) mRNAは、核外の細胞質へと運ばれる。
 (9) 特定のtRNAs(太矢印)およびリボソームに結合したアミノ酸(aa)と結びついて、タンパク質(「糸」上の円)がmRNAを鋳型として合成される。
 (10) 内分泌作用の指標としてのタンパク質には、酵素、タンパク質ホルモン、成長因子、細胞の構成成分がある。ホルモン依存性マーカーの一例には、卵生の脊椎動物で産生されるエストロゲン感受性のタンパク質であるビテロゲンがある。
 (11) ある場合には有害物質が、血清ホルモン濃度の変化を伴うホルモン代謝の亢進あるいは低下により肝臓機能を変化させ、内分泌機能をかく乱する。例えばあるPCBは、T4の代謝を刺激して血清T4濃度を劇的に減少させる。何種類かの殺虫剤は肝臓を刺激し、血清ステロイドホルモン濃度を減少させることが示されている。