

## [4]

氏名(本籍地)	梶谷 華子 (東京都)		
学位	博士 (学術)		
学位記番号	博甲第 28 号		
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 8 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当		
論文題目	<b>植物性内分泌攪乱物質の作用機作に関する研究</b>		

論文審査委員	(主査)	教授	木村 修一
		教授	小此木 成夫
		教授	戸谷 誠之
	東海大学	教授	長村 義之

## 論文要旨

内分泌かく乱物質は、動物が本来持っているホルモンの作用を修飾し、その効果を促進または減弱させる物質である。従来から知られている内分泌攪乱物質の中でも比較的多く存在していると考えられているのは、性ホルモン（エストロゲン、アンドロゲン）および甲状腺ホルモンの作用を修飾するものである。最近、ある種の化学汚染物質が「環境ホルモン」という名称で新聞、テレビなどのメディアで注目されているが、このマスコミ語である「環境ホルモン」は内分泌攪乱物質の一種に過ぎない。

古くから植物中にはホルモン作用を修飾する物質が存在することが知られている。特に女性ホルモンであるエストロゲンの作用に影響するものを phytoestrogen（植物性エストロゲン）と称しており、現在までに、大豆、エンドウ、セージ、クローバーをはじめとした、200種類もの多くの天然植物から発見されている。フィトエストロゲンは、内分泌かく乱物質として、下垂体や子宮といった標的臓器のエストロゲンレセプターに作用し、生殖系に対してなんらかの影響を与える可能性が示唆されている。また、昔から食物の中には甲状腺肥大を引き起こすゴイトロゲン物質（goitrogenic substances）群が存在しており、十字科植物をはじめ数多くのゴイトロゲン含有植物が報告されている。大豆、キャベツ、カリフラワー、ピーナッツ、キャッサバなどがその代表として挙げられるが、これらはヨード欠乏を助長することにより、甲状腺肥大を促進すると言われている。

本研究は性ホルモンを修飾する内分泌攪乱物質の検討として、第 1 章で、ザクロジュースのホルモン様作用について検討した。また第 2 章では、甲状腺ホルモン作用を修飾する内分泌攪乱物質として大豆が取りあげ、甲状腺肥大を引き起こす生理作用メカニズムについて検討を行った。

## 第 1 章 ザクロのエストロゲン様作用に関する検討

イランで妊婦への贈り物にされ、妊婦の間でよく飲まれているというイラン産のザクロジュースに、エストロゲン様作用を示す成分が存在する可能性が考えられることから、授乳ラットを用いて、ジュースが泌乳に及ぼす影響を検討した。また、ジュースの女性ホルモン様活性を確認する目的でエストロゲンレセプター (ER) に対する結合活性を、酵素免疫競合法を用いて検討するとともに、子宮のエストロゲンに対する感受性が高いとされる3週齢の未性成熟雌性ラットを用いて子宮肥大試験を行った。さらに、ホルモン調節の中樞である下垂体への影響も同時に観察することで、ザクロのエストロゲン様作用の検討を行った。その結果、授乳ラットを用いた泌乳量の試験では、ザクロジュースがラットの泌乳効果に影響を及ぼしている可能性が示唆された。この増加は下垂体から分泌される prolactin (PRL) を介して起こった可能性が考えられたが、その血清値は個体差が大きかった。ER結合試験では、ザクロジュースにはER $\alpha$ および $\beta$ と結合するエストロゲン様物質が存在する可能性が示され、さらにER $\beta$ よりもER $\alpha$ に強く結合することが分かった。しかしラットにおいて、ジュースを摂取することによる子宮重量の増加や、細胞の増殖などの形態学的な変化は認められなかった。また、下垂体ホルモンであるPRLやLHへの影響も免疫組織学的検討からは観察できなかった。したがってザクロジュース中には、子宮や下垂体、乳腺には影響しない程度ではあるが、ER $\alpha$ に結合するエストロゲン様物質の存在が考えられた。

## 第2章 大豆のホルモン様作用 ～甲状腺肥大作用のメカニズム～

植物性内分泌攪乱物質として研究の進んでいる大豆中成分の甲状腺に対する作用に着目し、ラットを用いて、大豆摂食がヨード欠乏下で甲状腺肥大を引き起こす、視床下部-下垂体-甲状腺系の調節メカニズムにどのように影響するのかを明らかにする目的で、下垂体・視床下部におけるホルモン産生動態を免疫組織学的および生化学的手法を用いて検討した。その結果、ヨード欠乏下での大豆摂食は血中の甲状腺ホルモン濃度を極度に低下させることが分かった。これにより、下垂体を刺激して、thyroid stimulating hormone (TSH) を過剰分泌させることで、甲状腺の肥大を促進する可能性が高いことが示された。また、ヨード欠乏下での大豆摂食は、下垂体TSH陽性細胞だけでなく、PRLおよびgrowth hormone (GH) 陽性細胞も有意に増加させることも示された。さらに、TSH $\beta$ 、PRL、GH産生細胞の下垂体における増殖、機能分化に関与するとされる下垂体転写因子であるpituitary transcription factor-1 (Pit-1) の増加も見られたことから、甲状腺ホルモンの減少に伴い、過剰に増加したTSHと関連して、Pit-1の増加が引き起こされ、このPit-1がPRLやGHに作用し、細胞の増加を引き起こした可能性が考えられた。ここで得られた成績は、大豆ゴイトロゲン物質の作用機作について、新しい知見を加えたものといえよう。

本研究で、2つの異なる植物性内分泌攪乱物質を取り上げその作用について検討してきたが、いずれの攪乱物質も、標的器官ごとに、それぞれ特有の作用を示し、ホルモン作用を修飾することが分かった。

## 審査報告要旨

内分泌攪乱物質とは、動物が本来持っているホルモンの作用を修飾し、その効果を促進または減弱させる物質のことをいう専門用語である。最近、「環境ホルモン」という名称で新聞、テレビなどのメデイ

アで注目されているが、このマスコミ語はある種の化学汚染物質が性ホルモン様の作用を示して動物に異常を起こすことがあるのでそのような名前がつけられたが、これも内分泌攪乱物質の一種である。

従来から知られている内分泌攪乱物質の中でも比較的多く存在しているのは、性ホルモン（エストロゲン、アンドロゲン）および甲状腺ホルモンの作用を修飾するものである。植物中には女性ホルモンであるエストロゲンの作用に影響するものが古くから見いだされており、phytoestrogen（植物性エストロゲン）と称されていた。一方、甲状腺肥大を引き起こす抗甲状腺物質（goitrogenic substances）も古くから十字科植物をはじめ数多くの植物から発見されている。

本論文はエストロゲン作用を有する可能性が考えられたザクロジュースと抗甲状腺ホルモン作用が認められている大豆を取り上げ、その作用特性を確かめるとともに、その作用機作を明らかにする目的で行われたものである。すなわち第1章ではザクロジュースのエストロゲン作用についての検討、第2章では、大豆の甲状腺肥大作用に焦点を合わせて、その作用機作を中心に検討をおこなった。

第1章でザクロジュースを取り上げたのは、イランでは、このザクロジュースが妊婦や出産後の婦人への贈り物にされ、乳がよくでると言われてよく飲まれていることから、エストロゲン様作用を示す成分が存在する可能性を考えたからである。そのため、まず授乳ラットを用いて、ジュース投与の泌乳に及ぼす影響を検討した。その結果、ザクロジュースを与えた群のほうが、泌乳量を増加させる効果のあることが示された。泌乳を促進するホルモンとして知られる血中プロラクチン（prolactin）を測定したところ、個体差が大きく優位の差はなかったが高い傾向がみられ、泌乳量はこのホルモンを介している可能性考えられた。そこで、次にジュース中の女性ホルモン様活性物質の存在を確認する目的でエストロゲン・レセプター（ER）に対する結合活性を、酵素免疫競合法を用いて検討した。その結果、ザクロジュースには明らかにエストロゲン・レセプター $\alpha$ （ER $\alpha$ ）および $\beta$ と結合するエストロゲン様物質が存在すること、さらにこの場合ER $\beta$ よりもER $\alpha$ に強く結合することが確認された。次に子宮のエストロゲンに対する感受性が高いとされる3週齢の未性成熟雌性ラットを用いて子宮肥大試験を行ったが、子宮重量の増加や、細胞の増殖などの形態学的な変化は認められなかった。さらにホルモン調節の中枢である下垂体への影響を検討するため、免疫組織学的方法によりジュースの摂取による下垂体への影響を検討したが、プロラクチン（PRL）にも黄体形成ホルモン（Luteinizing hormone: LH）への影響も観察できなかった。すなわち、ザクロジュース中には、子宮や下垂体などに影響しない程度の、弱い作用のエストロゲン様物質の存在を示唆する結果となった。

第2章では、大豆の甲状腺肥大作用のメカニズムを中心に検討している。すなわち、ラットを用いて、大豆摂取がヨード欠乏下で甲状腺肥大を引き起こす現象を、視床下部—下垂体—甲状腺系の調節メカニズムにどう関わるかを明らかにする目的で検討している。まず、ヨード欠乏下でのみ、大豆摂取により血中の甲状腺ホルモン濃度を極度に低下させることを確認し、下垂体を刺激して、甲状腺刺激ホルモン（thyroid stimulating hormone: TSH）を過剰分泌させることで、甲状腺の肥大を促進する可能性が高いことが示された。次いで下垂体・視床下部におけるホルモン産生動態を免疫組織学および生化学的手法を用いて検討した結果、ヨード欠乏下での大豆摂取は、下垂体において甲状腺刺激ホルモン（TSH）陽性細胞だけでなく、プロラクチン（PRL）および成長ホルモン（growth hormone: GH）陽性細胞も有意に増加させることを明らかにした。さらに、甲状腺刺激ホルモン $\beta$ （TSH $\beta$ ）、プロラクチン（PRL）、成長ホルモン（GH）産生細胞の下垂体における増殖、機能分化に関与するとされる下垂体転

写因子であるpituitary transcription factor-1 (Pit-1) の増加も見られたことから、甲状腺ホルモンの減少に伴って増加したTSHと関連して、Pit-1の増加が引き起こされ、これがPRLやGHの産生細胞の増加を引き起こした可能性が示された。ここで得られた成績は、大豆ゴイトロゲン物質の作用機作についての新しい知見を加えたものといえよう。大豆成分がエストロゲン作用を修飾する一方で、甲状腺ホルモン作用にも関わるなど複雑な作用を呈するメカニズムの一端を知る上でも重要な知見といえよう。

審査員一同は、本論文が博士（学術）を授与されるに値する十分な内容を持つもので、著者に博士（学術）を授与するに値すると判定した。