

Table 9 Contents of phytoestrogen in soy beans and their processed foods (nmol/g fresh weight or nmol/mL)

Sample	Total phytoestrogens			Genuine phytoestrogens			Genistein	Gentianin
	Daidzein	Glycitein	Genistein	Daidzein	Glycitein	Glycitein		
(1) Soybean ( $\mu\text{mol/g}$ )	4470±498	155.5±22.1	3310±352	403.0±31.8	16.5±1.0	139.0±23.0	278.5±17.6	1676±136
大豆(鶴の子大豆, 北海道産)	1069±71	300.7±2.2	1378±345	97.6±2.7	268.7±27.9	122.1±0.3	99.2±2.7	286.2±7.9
大豆(米国産)	2845±285	322.6±52.3	2540±184	114.3±14.9	580.0±76.5	103.7±9.9	100.3±1.8	530.8±76.5
大豆(カナダ産)	2816±232	213.9±25.1	1500±206	99.4±1.6	532.0±7.9	22.7±1.2	81.2±0.8	533.8±7.9
大豆(中国産)	3776±249	511.0±24.8	2677±252	100.9±10.2	698.7±31.3	161.9±0.8	71.7±0.8	1010±21
大豆(オーストラリア産)	3083±383	436.0±63.8	2755±184	118.4±6.5	487.5±54.1	27.2±1.3	117.1±7.9	643.0±58.4
大豆(中国産, 蘇, 小粒)	2459±282	380.3±43.9	2421±289	257.8±99.3	667.7±85.1	39.7±3.7	194.7±25.0	195.8±22.1
大豆(中国産, 大粒)	1776±228	129.1±42.4	3074±715	111.4±6.7	530.0±51.2	12.1±2.4	204.9±8.7	139.6±10.8
大豆(中国産, 丹波産)	2358±236	144.0±22.3	2144±611	560.4±12.2	1336±62	28.7±1.5	441.5±4.2	1390±64
青大豆(ひたし豆, 秋田県産)	2557±216	136.4±94.3	2595±170	290.5±33.9	772.7±95.4	19.7±4.5	396.2±32.9	1410±112
大豆(カナダ産)	2478±145	156.4±12.0	1239±301	100.4±1.5	450.3±14.2	30.5±0.7	76.5±0.5	449.0±20.0
(2) Boiled beans ( $\mu\text{mol/g}$ )	1069±31	30.0±3.8	1521±71	236.8±33.0	737.0±96.8	5.7±0.6	48.6±2.3	1109±75
大豆水煮	1092±35	78.2±3.5	1582±113	290.3±18.1	736.4±28.5	16.2±0.3	235.0±14.5	1139±55
大豆水蒸	1452±37	82.6±1.4	1311±70	180.5±13.9	1117±85	6.8±0.7	31.0±0.7	908.3±90.1
(3) Fried beans ( $\mu\text{mol/g}$ )	3817±357	507.3±66.6	3301±218	2669±329	1148±136	58.0±4.1	105.3±0.9	1392±73
大豆(煎分の豆焼き用)	7254±273	282.1±18.7	4770±204	3571±112	3683±112	61.7±2.4	346.8±16.8	3949±128
黄粉(原料:大豆)	4646±146	370.0±18.2	3071±225	2869±91	1777±62	92.8±2.8	401.9±12.2	2214±74
(4) Kinako ( $\mu\text{mol/g}$ )	294.3±27.7	92.8±7.2	297.1±6.9	35.4±1.0	102.7±3.1	23.2±0.1	29.1±0.5	121.0±4.5
納豆(原料:大豆)	248.4±11.2	82.7±3.2	308.7±13.7	48.3±1.3	87.1±4.5	24.8±0.8	41.8±1.6	119.9±6.4
納豆豆腐	327.1±11.1	101.2±3.6	380.5±12.7	51.2±1.8	115.5±4.8	24.9±0.1	41.8±1.1	149.5±5.7
焼き豆腐	414.8±10.3	90.3±4.0	415.4±16.8	45.5±1.6	174.8±10.8	22.8±0.4	34.7±1.4	195.3±11.5
(5) Tofu ( $\mu\text{mol/g}$ )	1220±68	121.3±6.1	1998±75	975.4±35.9	186.2±8.2	82.4±1.7	11.66±5.5	635.3±37.4
凍り豆腐	176.1±13.2	43.0±1.0	178.4±5.3	51.3±0.9	54.1±0.9	19.3±0.3	98.1±0.7	54.0±0.6
(6) Okara ( $\mu\text{mol/g}$ )	422.8±14.1	125.3±4.4	534.4±12.3	106.0±6.5	115.7±9.6	25.3±0.2	45.0±0.6	156.3±9.8
Age, ganmodoki ( $\mu\text{mol/g}$ )	752.3±33.2	138.1±25.5	1124±57	429.2±24.8	323.0±8.2	28.2±1.7	203.9±3.8	483.0±13.0
厚揚げ	483.3±3.0	136.8±2.3	708.3±8.8	191.2±5.2	211.0±2.1	37.5±0.1	99.5±2.2	315.8±1.4
(7) Fermented soybean (Natto) ( $\mu\text{mol/g}$ )	1344±40	237.6±2.5	1494±114	240.7±13.3	1098±91	29.9±0.3	161.4±7.9	1104±51
納豆	1272±111	128.4±1.9	1095±66	240.1±10.5	795.0±19.6	26.6±1.0	240.1±16.5	737.3±73.8
(8) Miso ( $\mu\text{mol/g}$ )	1028±8	143.3±0.7	1296±34	453.5±37.5	428.8±37.3	90.4±5.6	465.2±34.5	543.9±46.8
米味噌	1359±39	109.3±1.7	1315±14	108.4±10	248.7±2.4	84.2±1.1	1135±9	145.6±1.3
米味噌(米味噌)	1184±7.0	42.2±0.8	313.0±32.6	96.3±2.6	86.0±4.7	19.5±0.6	110.1±4.5	178.7±8.4
白味噌(米味噌)	1105±2	171.2±1.8	1181±110	104.6±4.2	58.7±1.9	151.9±8.9	105.2±5.2	128.7±3.1
赤出し味噌(四合味噌)	422.6±19.4	81.0±2.6	612.7±91.1	228.5±24.1	194.1±14.2	40.9±2.3	299.6±27.8	313.1±29.7
麹味噌(米味噌)	728.3±21.4	114.5±4.2	1004±21	468.8±16.0	129.5±12.8	80.2±6.4	543.2±10.2	216.7±11.9
麦味噌	315.3±12.2	58.4±3.3	372.0±20.3	185.9±17.5	111.5±8.7	25.1±1.9	261.1±14.8	102.8±10.2
豆味噌	1428±13	188.3±2.2	1471±23	1428±128	ND	176.9±2.4	1370±20	101.2±2.8
金山寺味噌	195.7±35.3	57.0±4.9	230.5±34.4	102.3±10.4	87.9±6.3	26.9±1.7	55.7±3.0	125.2±8.8
(9) Soy sauce (nmol/mL)	24.62±1.87	6.890±0.673	4.768±0	15.323±0.013	6.622±0.008	6.690±0.673	4.768±0	ND
薄い口醤油	35.91±1.84	7.119±0.635	10.46±4.80	28.41±2.49	ND	7.119±0.635	9.731±0.863	ND
濃い口醤油	28.13±5.08	8.157±0.222	11.64±0.98	23.78±0.47	ND	8.157±0.222	11.35±0.23	ND
丸大豆醤油	20.66±1.31	4.819±0.086	12.29±1.27	20.66±1.31	ND	4.819±0.086	12.29±1.27	ND
納豆醤油	22.09±1.06	3.728±0.209	8.492±6.986	22.09±1.06	ND	3.728±0.209	7.417±0.372	ND
たまり醤油	24.11±2.08	2.886±1.783	3.711±0.182	20.30±0.68	3.806±0.399	1.864±0.105	3.711±0.182	ND
さしり醤油	33.62±1.58	9.233±0.349	12.26±0.28	27.37±1.49	6.347±1.312	8.233±0.349	12.28±0.28	ND
丸大豆減塩醤油	30.73±2.74	6.161±0.757	9.037±1.159	15.70±0.83	ND	6.161±0.757	6.947±0.536	ND
(10) Soy milk (nmol/mL)	1059±129	86.65±6.82	1040±82	257.0±11.7	185.0±10.8	2.383±0.137	26.26±1.49	210.1±12.4
豆乳(大豆固形分10%以上)	299.2±52.1	6.068±0.369	247.0±29.9	6.165±0.021	85.47±1.73	0.748±0.076	3.808±0.081	146.3±1.8
調整豆乳(大豆固形分7%以上)	131.8±6.0	5.339±0.142	137.6±18.7	32.59±0.092	75.00±3.00	0.775±0.047	4.558±0.404	233.8±5.0
豆乳飲料(大豆固形分4%以上)	496.6±26.7	57.16±2.52	621.3±32.0	49.36±0.92	175.5±4.2	2.989±0.078	17.77±0.20	323.6±4.6
豆乳(大豆固形分10%以上)	167.0±1.2	5.761±0.044	290.9±4.2	9.616±0.373	116.2±7.0	ND	3.116±0.075	206.0±13.2
調整豆乳(大豆固形分7%以上)	104.3±6.7	5.307±0.653	194.0±12.9	2.889±0.482	79.04±9.13	ND	2.562±0.178	148.0±14.9

Values are means ± SD for 3 trial.

Table 10 Compositions of phytoestrogens (% of total)

Sample	Total phytoestrogens (with hydrolysis)			Genuine phytoestrogens (without hydrolysis)			Genistein	Genistein	Aglycone (%)	
	Daidzein	Genistein	Equol	Formononetin	Biochanin A	Daidzein				Glycitein
(1) Soybean										
大豆(韓の子大豆, 北海道産)	56.36	41.68	0	0	0	28.99	0.21	1.75	21.1	8.79
大豆(米國産)	39.82	32.9	0	0	0	6.41	0.68	2.91	2.07	4.38
大豆(米國産)	49.84	5.65	0	0	0	10.17	0.55	1.82	10.17	4.31
大豆(カナダ産)	62.16	33.11	0	0	0	11.78	0.5	2.89	11.78	4.48
大豆(中国産)	54.22	7.34	0	0	0	12.9	0.24	2.32	14.5	2.72
大豆(オーストラリア産)	49.14	43.91	0	0	0	7.77	0.43	2.5	10.25	4.19
大豆(中国産, 黒, 小粒)	46.92	46.2	0	0	0	12.74	0.78	3.52	16.12	9.41
黒大豆(丹波黒大豆, 丹波産)	35.67	61.73	0	0	0	10.64	0.24	1.34	28.04	6.8
黒大豆(韓國産)	50.73	46.17	0	0	0	28.77	0.64	2.46	29.93	22.35
青大豆(ひたし豆, 秋田県産)	46.35	49.07	0	0	0	14.61	0.37	1.84	26.68	13.35
大豆(カナダ産)	63.97	31.99	0	0	0	11.63	0.79	2.33	11.59	5.36
(2) Boiled beans										
大豆水煮	40.67	58.19	0	0	0	28.19	2.18	0.9	42.43	13.14
大豆水煮(國産)	39.88	57.48	0	0	0	26.76	0.59	2.39	41.35	19.68
黒豆水煮(北海道産)	51.03	46.07	0	0	0	39.25	0.24	2.44	31.85	7.67
(3) Fried beans										
福豆(節分の豆崎き用)	50.06	43.29	0	0	0	15.06	0.73	2.95	18.26	37.11
(4) Kinako										
黄粉(原料:大豆)	58.95	38.76	0	0	0	29.93	0.5	1.53	32.09	32.34
丹波黒大豆黄粉(原料:丹波黒大豆)	57.59	38.07	0	0	0	22.03	1.15	2.6	27.45	41.69
(5) Tofu										
絹ごし豆腐	43.01	43.42	0	0	0	15.01	3.39	9.35	17.77	12.81
木綿豆腐	38.85	48.25	0	0	0	13.57	3.86	9.02	18.68	17.9
焼き豆腐	40.44	47.05	0	0	0	14.28	3.08	8.47	18.46	14.58
充瑛豆腐	45.06	45.13	0	0	0	18.99	2.48	7.33	21.22	11.19
(6) Kori-dofu [ $\mu\text{mol/g}$ ]										
凍り豆腐	36.52	59.84	0	0	0	5.57	2.47	1.16	19.02	66.84
(7) Okara										
おから	44.3	44.88	0	0	0	13.61	4.86	5.96	13.58	35.15
(8) Age, genmodoki										
厚揚げ	39.06	49.37	0	0	0	10.69	2.34	5.27	14.44	16.29
薄揚げ	37.35	55.8	0	0	0	16.04	1.4	3.44	23.98	32.83
がんとどき	36.38	53.32	0	0	0	13.28	2.82	6.25	23.75	24.7
(9) Fermented soybean (Natto)										
納豆	43.7	48.58	0	0	0	35.7	0.97	6.75	35.9	14.7
黒豆納豆	50.95	43.86	0	0	0	31.87	1.07	3.94	29.53	20.31
(10) Miso										
米味噌	41.66	52.53	0	0	0	17.38	3.66	1.94	22.04	40.85
米味噌	46.83	47.25	0	0	0	8.94	3.03	0.9	40.78	82.76
白味噌(米味噌)	34.16	58.02	0	0	0	16.31	3.61	4.21	33.12	41.87
赤出し味噌(麹合味噌)	44.98	48.08	0	0	0	2.39	6.18	0.79	42.82	5.24
麹味噌(米味噌)	37.86	54.89	0	0	0	17.39	3.66	3.59	26.84	50.99
濃味噌(米味噌)	39.44	54.36	0	0	0	7.01	4.34	1.77	29.41	59.13
金山寺味噌	40.5	47.7	0	0	0	18.19	5.57	6.23	11.53	38.27
(11) Soy sauce										
濃い口醤油	68.24	13.22	0	0	0	18.54	18.54	0	13.22	74.23
濃い口醤油	67.11	19.59	0	0	0	13.3	13.3	0	18.19	84.59
丸大豆醤油	58.69	24.29	0	0	0	17.02	0	23.68	0	90.31
薄口醤油	54.7	32.54	0	0	0	12.76	0	32.54	0	100
土佐醤油	64.38	24.75	0	0	0	10.87	0	21.62	0	98.87
たまり醤油	78.51	12.08	0	0	0	12.39	6.07	0	12.08	84.25
ざしみ醤油	60.98	22.27	0	0	0	11.51	16.75	0	22.27	88.67
丸大豆減塩醤油	66.88	13.45	0	0	0	34.17	13.45	0	15.12	62.74
(12) Soy milk										
豆乳(大豆固形分10%以上)	48.94	48.34	0	0	0	8.6	0.11	1.03	1.22	2.52
調整豆乳(大豆固形分7%以上)	54.18	44.73	0	0	0	15.48	0.14	0.65	2.67	3.93
豆乳飲料(大豆固形分4%以上)	47.9	50.16	0	0	0	27.3	0.28	1.66	1.76	3.23
(13) Yuba										
乾焼湯葉	37.84	54.32	0	0	0	26.41	1.01	5.95	38.25	13.7
生湯葉	38.46	52.82	0	0	0	18.89	2.33	5.63	25.75	24.87

Values are means for 3 trial.

Table 11 Japanese daily intake of phytoestrogens from soy bean and soybean-derived processed foods

	Daily intake [mg/day]			
	Daidzein	Glycitein	Genistein	Total
Miso	2.537	0.403	3.197	6.137
Tofu	3.264	1.04	3.8	8.104
Tofu-derived processed foods	1.162	0.296	1.661	3.119
Soybean and other soybean-derived processed foods	5.051	0.537	4.805	10.39
Total	12.01	2.276	13.46	27.75

Table 12 Comparison of the flavonoid contents in several foods cited from several references

Sample	Present study (as aglycon) [μg/g fresh weight]	Takamatsu (1997) 3) (aglycon+glucoside) [μg/g]	Petterson et al. (1994) 14) (as aglycon) [μg/g]	Dwyer et al. (1994) 15) (as aglycon) [μg/g]	Wang et al. (1994) 16) (as aglycon) [μg/g]	Franko et al. (1994) 17) (as aglycon) [μg/g]	Nguyen et al. (1995) 18) (aglycon+glucoside) [μg/g]	Franko et al. (1998) 20) (as aglycon) [μg/g]
Soy bean	n	?	1	3	4	4	4	4
	Daidzein	700 (424-1138)	983	706	462 (240-600)	846 (676-1007)	846 (676-1007)	913
	Glycitein	74.2 (36.7-145)	not determined	not determined	89.3 (79-107)	not determined	not determined	114
Boiled beans	n	885	1000	777 (648-954)	1107 (940-1382)	1107 (940-1382)	1107 (940-1382)	763
	Daidzein	306 (270-369)	199 (160-247)	18	68.5	not determined	68.5	not determined
	Glycitein	18.2 (6.5-23.5)	43 (29-60)	395 (358-445)	69.4	not determined	69.4	not determined
Roasted beans	n	?	1	1	1	1	1	1
	Daidzein	970	583	583	848	not determined	848	786
	Glycitein	144	193	193	not determined	not determined	not determined	168
Kinako	n	892	869	869	1106	1106	1106	889
	Daidzein	1513 (1181-1844)	1140	1097	1	1	1	1
	Glycitein	89.8 (80.2-99.5)	not determined	0	9	113	146	224
Tofu	n	1060 (830-1289)	682	1492	82.3 (57.3-117)	not determined	not determined	17
	Daidzein	81.6 (63.4-105)	113 (80-145)	180 (151-220)	29	not determined	not determined	139
	Glycitein	26.2 (23.5-28.6)	73 (66-80)	257 (225-294)	162	166	334	141
Kori-dofu	n	130 (105-154)	130 (105-154)	257 (225-294)	1	1	1	1
	Daidzein	310	105	105	225	not determined	225	not determined
	Glycitein	34.5	not determined	not determined	227	not determined	227	not determined
Okara	n	540	190	190	1	1	1	1
	Daidzein	44.8	44.8	44.8	1	1	1	1
	Glycitein	12.2	12.2	12.2	1	1	1	1
Ape. ganmodoki	n	48.2	48.2	48.2	1	1	1	1
	Daidzein	141 (107-191)	262 (118-336)	262 (118-336)	1	1	1	1
	Glycitein	37.8 (35.6-39.3)	56 (0-168)	56 (0-168)	1	1	1	1
Natto	n	213 (144-304)	377 (317-412)	377 (317-412)	1	1	1	1
	Daidzein	333 (323-342)	466	441 (319-587)	1	1	1	1
	Glycitein	52.3 (36.8-67.5)	not determined	192 (128-319)	1	1	1	1
Miso	n	350 (298-404)	432	642 (568-810)	1	1	1	1
	Daidzein	183 (46.9-346)	235	140 (88-235)	79	79	79	79
	Glycitein	29.3 (12.0-40.7)	not determined	16 (0-27)	38	38	38	38
Soy sauce	n	230 (62.3-355)	221	217 (166-278)	177	177	177	177
	Daidzein	6.31 (2.87-9.13)	13	8 (7-8)	2	2	2	2
	Glycitein	1.37 (0.53-1.92)	not determined	7 (4-11)	7.0 (6.8-7.2)	7.0 (6.8-7.2)	7.0 (6.8-7.2)	7.0 (6.8-7.2)
Soy milk	n	3 [μg/mL]	3	3	2 (soy drink)	2 (soy drink)	2 (soy drink)	2 (soy drink)
	Daidzein	126 (33.5-268)	140	140	not determined	not determined	not determined	not determined
	Glycitein	6.63 (1.52-16.6)	17	17	21.0 (20.2-21.7)	21.0 (20.2-21.7)	21.0 (20.2-21.7)	21.0 (20.2-21.7)
Yuba	n	128 (37.2-281)	200	200	1	1	1	1
	Daidzein	460 (161-759)	863	863	1	1	1	1
	Glycitein	108 (40.9-176)	not determined	not determined	1	1	1	1
Genistein	697 (236-1158)	906	906	906	906	906	906	

Values are the average and the values in parentheses are the range.

# 分 担 研 究 報 告 書

- ・ 畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態調査

分担研究者

宮崎 奉之

内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究

課題名： 内分泌かく乱物質の食品、食器からの暴露に関する調査研究

テーマ：「畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態調査」

分担研究者 宮崎 奉之 東京都立衛生研究所  
乳肉衛生研究科長

研究要旨

牛生体内の天然ホルモン（エストラジオール-17  $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）濃度の変動は品種、雌雄、部位、年齢、性周期など多くの要因が推定される。一方、これらのホルモンは内分泌かく乱作用との関連で近年問題となってきた。ここでは牛の天然ホルモンについて文献調査を実施し、ホルモン濃度の生理的変動範囲を知るとともに、我が国で消費されている食肉のホルモン濃度を測定し、その変動要因の解析を試みた。なお、本年 2 月に開催された JECFA (FAO/WHO) 合同食品添加物専門家会議でこれら天然ホルモンについて ADI (一日摂取許容量) が提案されており、この値と今回測定した値を用いた摂取量を比較しても問題となるレベルではなかった。

分担研究者：宮崎奉之  
所属施設：東京都立衛生研究所  
職名：乳肉衛生研究科長

A. 研究目的

肥育牛に成長促進、飼料効率を高める目的でホルモン剤（蛋白同化薬）を EU を除く多くの国で使用している。一方、ホルモン剤には天然型と合成型があり、天然型は牛の生体内でも作られる性ホルモンと同等で、これまでの食経験から安全であると考えられている。しかしながら、殆どその実態は明らかになっていない。

最近、これらホルモンも内分泌かく乱作用の面から問題が提起されてきた。そこでここでは天然型ホルモン（エストラジオール-17  $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）の牛の生体内での生理変動を文献より把握するとともに、国内産及び外国産の牛肉中のホルモン濃度を測定し、食品としての内分泌かく乱作用を含めた安全性につい

て確認することを目的とした。

B. 研究方法

研究方法の内容は 1) ホルモンの文献調査、2) 牛肉中ホルモンの分析法開発、3) 食肉中のホルモン濃度の調査である。

1) ホルモンの文献調査

1999 年から 1994 年まではカレントコンテンツ (Agriculture Biology & Environmental Science)、それ以前 1987 年まではメッドラインを用いて、「エストロゲン」「プロゲステロン」「テストステロン」「ゼラノール」「トレンボロン」をキーワードに検索し、1987 年以前は第 31 回、32 回 JECFA の報告書を参考とした。

2) 牛肉中ホルモンの分析法開発

天然のホルモン（エストラジオール-17  $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）の測定法としてラジオ・イムノアッセイ (RIA)、エンザイム・イムノアッセイ (EIA) が挙げられる。ここでは感度等の点から RIA 測定とした。しかし、この RIA 測定

用キットは血液、尿などを対象としたもののため、食肉類に応用するための前処理法を検討した。なお、RIA は施設、機器の面から当所で不可能なため外部に依頼した。

### 3) 牛肉中のホルモン濃度の調査

国産牛肉では品種（和牛、ホルスタイン種）、雌雄（経産、未經産、去勢、未去勢）、年齢、部位、産地などを調べ、ホルモン濃度を調査することとした。なお、雌牛肉には、卵巣を収集し、牛の屠殺時の性周期を特定することとし、その濃度相関を調査した。一方、輸入牛肉（アメリカ、オーストラリア産）のホルモン濃度を測定し、生理的変動範囲にあるかを比較した。

## C. 研究結果

### 1) ホルモンの文献調査

#### 1. 牛生体組織中のホルモン濃度

1-1) エストロゲン、1-2) プロゲステロン、1-3) テストステロン

#### 2. インプラント剤（埋込剤）投与が組織中ホルモン濃度に与える影響

2-1) エストロゲン、2-2) プロゲステロン、2-3) テストステロン

#### 3. 人のステロイドホルモン生産速度の3章についてまとめた。

### 2) 牛肉中ホルモンの分析法開発

牛肉試料からアセトニトリル・メタノール抽出法を用い、この抽出液をヘキサン洗浄後、減圧乾固した。次いで、この残留物を Sep Pak C18 カートリッジに負荷、溶出後、Bond Elut DEA カートリッジにより精製し、RIA 測定し、回収率は 60%以上、検出感度はエストラジオール-17  $\beta$  で 1 ppt、プロゲステロン 0.04 ppb、テストステロン 10 ppt であった。

### 3) 食肉中のホルモン濃度の調査

国内産の牛肉中のエストラジオール-17  $\beta$  濃度は平均  $1.15 \pm 1.87$  ppt、プロゲステロンは  $3.19 \pm 5.80$  ppb、テストステロン  $30.9 \pm 122.1$  ppt であった。

国内産の品種別ではホルスタインより和牛でホルモン濃度が高かったが、別の要因と推測された。雌雄別では雌でエストラジオール-17  $\beta$  及びプロゲステロン濃度が高く、雄（未去勢牛）ではテストステロン濃度が高かった。雌牛の卵胞期でエストラジオール-17  $\beta$  濃度が、黄体期でプロゲステロン、テストステロン濃度が高かった。

一方、輸入牛肉ではエストラジオール-17  $\beta$  濃度は  $3.33 \pm 2.83$  ppt、プロゲステロンは  $0.52 \pm 0.50$  ppb、テストステロン  $8.78 \pm 12.97$  ppt であった。輸入、国内産で比較した場合、輸入牛肉でエストラジオールが、国内産牛でプロゲステロン、テストステロンが高い傾向にあった。

## D. 考察

国内産 60 検体及び輸入牛肉 40 検体中のホルモン濃度は特に問題となるレベルではなく、牛の生理的な変動の範囲内と推察された。しかし、国内産は外国産に比較して、プロゲステロン、テストステロン濃度が高く、外国産はエストラジオール濃度が高い傾向にあった。この現象は牛の性周期によるホルモン濃度の変動との一致が推測された。

## E. 結論

今回測定の内国、輸入牛肉中のエストラジオール、プロゲステロン、テストステロン濃度はともに極めて低く、文献調査結果のホルモン濃度及び JECFA により示された ADI 値との比較により、通常の摂取において内分泌かく乱作用の面からも特に問題となる濃度ではなかった。

厚生科学研究費補助金（平成 10 年研究事業）  
研究報告書

内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究  
課題名：内分泌かく乱物質の食品、食器からの暴露に関する調査研究  
テーマ：「畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態調査」

分担研究報告書 宮崎 奉之

研究要旨

牛生体内の天然ホルモン（エストラジオール-17  $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）濃度は様々な要因により変動する。そのため牛から生産される食肉中のホルモン濃度も連動して変化すると考えられる。その変動要因としてホルモン剤の使用の有無、品種、雌雄、組織、部位、年齢、性周期など多くの因子が考えられる。ここではホルモン変動の正常範囲について文献を調査するとともに、我が国で消費している国内産及び輸入牛肉のホルモン濃度を測定し、その変動の要因を解析した。なお、本年、JECFA (FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議) において、これら天然のホルモンについて ADI (一日摂取許容量) が提案されており、これらの値と牛肉の摂取量から安全性について推定を試みた。その結果、国産及び輸入の牛肉中のホルモン濃度は正常な生理的範囲にあり通常の摂取量であれば内分泌かく乱作用を含め、食品としての安全上、特に問題となるレベルではなかった。

分担研究者：宮崎 奉之  
所属施設：東京都立衛生研究所  
職名：乳肉衛生研究科長

協力研究者：小久江 栄一  
所属施設：東京農工大学  
(岐阜大学)  
職名：農学部教授  
(連合獣医研究科教授)

協力研究者：秋山 真人  
所属施設：静岡県西部食肉衛生検査所  
職名：技監兼検査課長

協力研究者：橋本 常生  
所属施設：東京都立衛生研究所  
職名：乳肉衛生研究科主任

A. 研究目的

肥育牛に成長促進及び飼料効率を高める目的でホルモン剤（蛋白同化剤）が使用されている。一方、ホルモン剤には天然型と合成型があり、天然型ホルモンは牛の生体内でも作られるものと同様である。

これまでの食経験から天然のホルモンに関してはその濃度において、また天然型ホルモン剤に関しては法的に定められた方法により適正に使用されておれば、問題はないと考えられてきた。しかし、そのホルモンの濃度調査等は実施されていないのが現状であった。しかしながら、近年、ホルモンについて内分泌かく乱作用の面から問題が提起されてきた。

そこで、ここでは天然型ホルモン（エストラジオール-17  $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）の牛生体内での生理的など



種々の変動要因を文献より調査して把握するとともに、実際に市販されている国内産及び外国産の牛肉中のホルモン濃度を測定し、牛肉の内分泌かく乱作用を含めた食品として安全性について確認することを目的とした。

## B. 研究方法

研究方法の内容は以下の3部からなる。

- 1) ホルモンの文献調査
  - 2) 牛肉中のホルモンの分析法開発
  - 3) 牛肉中のホルモンの濃度調査
- それぞれの報告書をとりまとめて作成したので、ここではその総括を述べる。

### 1) ホルモンの文献調査

1999年から、1994年まではカレントコンテンツ (Agriculture Biology & Environmental Science)、それ以前1987年まではメッドラインを用いて、「エストロゲン」「プロゲステロン」「テストステロン」「ゼラノール」「トレンボロン」をキーワードに検索し、1987年以前は第31回、32回FAO/WHO食料生産動物に使用する食品添加物の残留に関する合同調査会の報告書を参考とした。

### 2) 牛肉中のホルモンの分析法開発

天然のホルモン(エストラジオール-17 $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン)を測定するにはラジオ・イムノアッセイ(RIA)、エンザイム・イムノアッセイ(EIA)、HPLC、GC、LC-MSなど多くの方法が挙げられる。ここでは食肉中の天然濃度のホルモンを測定するため高感度の測定法が要求される。そこで感度が高く、測定事例が多いRIAにより測定することとした。しかし、市販のRIA測定キットでは血液、尿などを対象としたもので、食肉類を対象としたものではないため、抽出から精製の操

作である前処理法を検討した。なお、RIA測定は外部に依頼して対応した。

### 3) 牛肉中のホルモンの濃度調査

牛肉試料として、国産牛肉では品種(和牛、ホルスタイン種)、雌雄(経産、未經産、去勢、未去勢)、年齢、部位、産地などを調べ、ホルモン濃度を調査することとした。その中で特に雌牛の肉には、卵巣を採取し、その牛肉の屠殺時の性周期を特定することとし、その濃度と周期の相関を調査することとした。一方、外国産(アメリカ産、オーストラリア産)の牛肉については集められた範囲で情報を収集した。ホルモンの測定結果については国内産との比較を含めて検討した。

## C. 研究結果

### 1) ホルモンの文献調査

前述の文献調査の方法に従って、調べた。

1. 牛生体組織中のホルモン濃度
  - 1-1) エストロゲン
  - 1-2) プロゲステロン
  - 1-3) テストステロン
2. インプラント剤(埋込剤)投与が組織中ホルモン濃度に与える影響
  - 2-1) エストロゲン
  - 2-2) プロゲステロン
  - 2-3) テストステロン
3. 人のステロイドホルモン生産速度の3章としてまとめた。

### 2) 牛肉中のホルモンの分析法の開発

抽出法は、ゼラノール、トレンボロンのホルモン剤の分析に使用されているアセトニトリル・メタノール抽出法を用いた。この抽出液をヘキササン洗浄後、減圧乾固した。この残留物をSep Pak C18カートリッジに負荷、溶出後、Bond Elut DEAカートリ

ッジにより精製し、RIAにより測定した。牛肉にエストラジオール 5, 50 ppt、プロゲステロン 0.4, 4 ppb、テストステロン 40, 200ppt を添加した時の回収率いずれも 60%以上であり、検出感度はエストラジオール-17  $\beta$  1 ppt、プロゲステロン 0.04 ppb、テストステロン 10 pptであった。

### 3) 牛肉中のホルモン濃度の調査

国内産の牛肉中のエストラジオール-17  $\beta$ 濃度は平均 1.15  $\pm$  1.87 ppt、プロゲステロンは 3.19  $\pm$  5.80 ppb、テストステロン 30.9  $\pm$  122.1 pptであった。

国内産については品種ではホルスタインに比べ、和牛でいずれのホルモン濃度が高かった。しかし、これは品種によるものではなく、エストラジオールの高い要因は未経産牛により、テストステロンは未去勢牛によるものと推測された。

雌雄別では雌でエストラジオール-17  $\beta$ 及びプロゲステロン濃度が高く、雄（未去勢牛）でテストステロン濃度が高かった。また、雌牛の卵胞期でエストラジオール-17  $\beta$ 濃度が高く、黄体期でプロゲステロン及びテストステロン濃度が高い結果が得られた。一方、外国産牛肉のホルモン濃度についてはエストラジオール-17  $\beta$ は 3.33  $\pm$  2.83 ppt、プロゲステロンは 0.52  $\pm$  0.50 ppb、テストステロン 8.78  $\pm$  12.97 pptであった。

国内産及び外国産牛肉のホルモン濃度を単純に平均値により比較すれば、外国産牛肉でエストラジオールが、国内産牛でプロゲステロン、テストステロンが高い傾向にあった。

### D. 考察

文献調査を実施して、牛組織中の各種要因によるホルモン濃度を調査した。一方、食肉中のホルモンのラジオイムノアッセイ

(RIA)による測定法を完成させて、国内産の牛肉及び輸入の牛肉中のホルモン濃度を測定したが、その濃度は特に問題となるレベルではなく、生理的な変動の範囲と推察される。ただし、国内産と外国産の牛肉とその濃度レベルに若干の差異があるように見える。国内産は外国産に比較して、プロゲステロン、テストステロン濃度が高く、外国産はエストラジオール濃度が高いようにみえる。

国内産の和牛、ホルスタイン種外国産種のアンガス、ロングホーン、ホルスタイン種といった品種が原因なのか、ホルモン剤の使用、雌雄、部位、脂肪含量、飼料、飼育条件、試料の採取法など、多くの要因が考えられるがその理由は不明である。ところで、アメリカ、オーストラリアとも、合成及び天然型のホルモン剤（エストラジオール、プロゲステロン等の製剤）を使用している実態があり、この影響も考えられる。

今回測定して得られたホルモン濃度は文献調査との比較において問題となるレベルではない。また、これらの値は JECFA のコーデックス委員会の答申のADI値との比較しても問題とならないといえる。

### E. 結論

文献調査の結果の濃度とコーデックス委員会で示されたADI値から、エストラジオール、プロゲステロン、テストステロン濃度とも、今回の国内、海外の牛肉中の各ホルモン濃度は内分泌かく乱作用を含め、特に問題となる濃度ではなかった。

# 「ホルモンの文献調査」

協力研究者 東京農工大学農学部 小久江栄一

## 目次

- I. 緒言
- II. 目的と調査方法
- III. 収集文献一覧
- IV. 結果
  - 1. 正常牛組織中のホルモン濃度
    - 1-1) エストロゲン
    - 1-2) プロゲステロン
    - 1-3) テストステロン
  - 2. インプラント剤投与が組織中ホルモン濃度に与える影響
    - 2-1) エストロゲン
    - 2-2) プロゲステロン
    - 2-3) テストステロン
  - 3. 人のステロイドホルモン 1 日生産量
- V. 考察
- VI. まとめ

### I. 緒言

雄牛の子は雌牛の子よりも成長が早い。男性ホルモンによるためである。しかしエストロゲンやプロゲステロンを投与するとさらに増体は良くなるし、肉が旨い。そこで肉牛肥育にステロイドホルモンを使う発想が生まれ、製剤化された（以下同化薬とよぶ）。

同化薬としてはテストステロン、プロゲステロン、エストロゲンとそれらの誘導体が使われている。天然ホルモンもあるし人工ホルモンもある。これらホルモンの徐放性製剤（以下インプラント剤）を肉用肥育子牛の耳介皮下に植え込むと飼料効率が 10~20 % 増加するとされ、北米大陸ではかなり広く使われている。日本でも承認薬は

あるが、ホルスタイン雄子牛の肥育が日本では現在殆ど行われなくなっているため、実際の使用はここ数年無い。しかし牛肉はかなりの量輸入されているから、インプラント剤由来のホルモンに日本人が暴露される可能性はあるので本文献調査を行った。

### II. 目的と調査方法

本調査ではインプラント剤を適用することによりエストロゲン、プロゲステロン、テストステロンとそれぞれの誘導体がどの程度増加するのか、その増加が現在食用に供されている牛体組織中の内因性ホルモン量と比較してどの程度なのかについて検討した。

牛体組織中のホルモン濃度は牛の性別、産歴、去勢の有無などにより異なり、また組織・臓器によって蓄積量も異なることが予想される。調査の方針としては、食用に供されている正常牛の組織中ステロイドホルモン濃度の最高値を探し、インプラント剤により増加したホルモン濃度と比較してそれがどの程度なのか、また牛体中での各ホルモンの消失速度を調べる。さらに牛肉から人体に入るホルモン量を計算し、それが人の生産量と比べてどの程度の割合なのかについても考察した。なおインプラント剤の有効成分は、天然ホルモンもあるし天然ホルモン誘導体の場合もあるが、この調査ではあくまでも天然ホルモンの残留に焦点をしぼった。人工ホルモンの残留についてはここでは触れない。

調査は 1999 年から遡って 1994 年まではカレントコンテンツ (Agriculture, Bio

logy & Environmental Sciences) データベースを、それ以前 1987 年まではメッドラインを使った。キーワードは「エストロゲン」、「プロゲステロン」、「テストステロン」、「ゼラノール」、「トレンボロン」である。

1987 年以前については、第 31 回と 32 回の FAO/WHO 合同委員会の「食料生産動物に使用する食品添加物の残留に関するレポート」がある。結果的にはこれらのホルモンの牛体中組織濃度については、第 32 回のレポート中の文献によるところが大きかった。

### III. 収集文献一覧

上記のデータベースから、合計 37 編の原著論文、総説などが得られたが、そのうち組織や血漿のステロイドホルモンを定量している論文について内容の概略を付け以下に一覧した。特に関連の深い文献については、文献番号を付して内容を報告書に引用した。文献は筆頭著者名のアルファベット順で並べた。

〔報告書中に引用した文献〕

文献-1 Arts CJM, van Baak, MJ, Buisman, IJ, van Weerden: Residue studies in steers implanted with TORELOR. In: Unpublished report IL) B-report 561a. Submitted to FAO by Roussel-UCLAF, Romainville, France. (1986). (インプラント剤 Torelor を雄肉牛に植え込んだ時のホルモン残留。報告書中の表 12 に数値を引用)

文献-2 Craigmill AL, SF Sundlof, JE Riviere: Hormones. In: Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residue of Veterinary Therapeutic Drugs. pp. 453-456. (1994) (本書には多くの動物用薬の動態パラメーターを集めてある。人のテ

ストステロンの半減期を考察で引用)

文献-3 Decker OD, LG Turner: Estrogen tissue levels in bulls following treatment with estradiol controlled-release implants. In: Unpublished study No. AAC 8410 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, Submitted to FAO by Elanco Products, Co., Indianapolis, IN, USA. (1985). (エストラジオール $17\beta$ インプラント剤を雄肉牛に植え込んだ時のホルモン残留。報告書中の表 3, 10 に本論文中の数値を引用)

文献-4 Eissa HM, MS El-Belely, IM Ghoneim, OH Ezzo: Plasma progesterone oestradiol- $17\beta$ , oestrone sulphate, corticosteroids and a metabolite of  $PGF_2\alpha$ : Evolution throughout pregnancy, before, during and after parturition in buffalo cows. Vet Res, 26, 310318, 1995 (妊娠中の血漿中ステロイドホルモン濃度の推移について、エストロンは妊娠中期までは低く、中期以降上昇を始め妊娠 10 ケ月では 5 倍ほど増加した。プロゲステロンは妊娠初期に高く次第に減少する。エストラジオール $17\beta$ は一定して低値。妊娠期のホルモンの血漿中濃度として結果で引用)

文献-5 Estergreen VL, MT Lin, EL Martin et al: Distribution of progesterone and its metabolites in cattle tissues following administration of progesterone- $4-^{14}C$ . J Anim Sci, 46, 642-651, 1977 (ラジオアイソトープラベルしたプロゲステロンを牛体に投与し、その代謝物の同定を行った。代謝物の種類を結果で引用)

文献-6 FAO Food and Nutrition Paper:

In: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Geneva, Jan 30-Feb 8, pp.88-98, (1989)

(トレンボロンの体内動態残留について記載がある。結合残留についての記述を考察で引用)

文献-7 Farber TM, M Arcos: A regulatory approach to the use of anabolic agents. In: Meissonnier, E. (ed.) Anabolics in Animal Production, Office International des Epizooties, Paris. 289-296, 1983

(人におけるエストロゲン、プロゲステロン、テストステロンの1日生産量を、成長の各ステージ毎に測定している。インプラント剤由来のホルモンが人体に与える影響を判定する時に、人の生産量についての情報は重要である。報告書中の表 20、21 に数値を引用した)

文献-8 Food and Drug Administration 21 CFR Part 522: Implantation or injectable dosage form new animal drug; Trenbolone acetate and estradiol benzoate. Federal Register, 63(221), 63788, Nov 17, (1998) (FAD がホルモン製剤の使用拡大を認可した。従来は認められていなかった、出荷直前の肉牛へのインプラント剤使用を認めた。報告書のまとめに引用)

文献-9 Frank R, RP Basson, JF Wagner: Depletion of estradiol-17 $\beta$  and estrone from kidney fat of steers following removal of the estradiol controlled release implant. In: Unpublished report No. APH-216 C from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis [発表年不明(b)].

(エストラジオール・インプラント剤を雄肉牛に植え込んだ時の腎脂肪中ホルモン濃度の消退について。表 7 に数値を引用)

文献-10 Hoffmann B, E. Rattenberger: Testo-sterone concentrations in tissue from veal calves, bulls and heifers and milk-samples. J Animal Sci, 46, 635-641, 1977 (表 6 に数値を引用)

文献-11 Hoffmann B: Aspects on the formation and detection of tissue levels of anabolic steroids in domestic animals. J Steroids Biochem, 11, 919, 1979 (妊娠牛、去勢牛、雄成牛、食用子牛などいろいろな種類の牛のホルモン濃度を総覧。インプラント処理した牛体組織のホルモン濃度についての数値もある。まとめに記載の一部を、表 19 に数値を引用)

文献-12 Hoffmann B, P Evers: Anabolic agents with sex hormone-like activities: Problem of residues. In: Rico, AG (ed.), Drug residues in animals, Academic Press, New York, pp.111-146. (1986) (アイソトープラベルしたテストステロンを牛体に投与し代謝物の種類を同定している。結果に引用)

文献-13 Ivie GW, RJ Christopher, CE Munger, CE Coppock: Fate and residues of [4-14C] estradiol-17 $\beta$  after intramuscular injection into holstein steer calves. J Anim Sci, 62, 681-690, 1986. (アイソトープラベルしたエストラジオール17 $\beta$ を牛に投与し、代謝物を同定・定量している。考察に内容を引用)

文献-14 Kushinsky S: Safety aspects of the use of cattle implants containi

ng natural steroids. Presented at International Symposium on the Safety Evaluation of Animal Drug Residues, West Berlin. Submitted to FAO by Syntex (U.S.A.) Inc., Palo Alto, CA, USA. (1983).

(いろいろな種類の牛に各種インプラント剤を投与し、組織ホルモン濃度の変化を広範囲に測定した。表 1, 4, 5, 11, 14, 16, 17 に数値を引用)

文献-15 Purdy RH, CK Durocher, PH Moore et al: Analysis of metabolites of progesterone in bovine liver, kidney fat, and milk by high performance liquid chromatography. J Steroid Biochem, 13, 1307-1315, 1980 (ラジオアイソトープをレベルしたプロゲステロンを牛体に投与し、その代謝物を同定している。代謝物の種類を結果で引用)

文献-16 Roberts, NL, DM Cameron: Steroid levels in tissues of veal calves following implantation with Implix BM/BF and/or Revalor lactose. In: Unpublished report No. RSL/686 from Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to FAO by Roussel-UCLAF, Romainville, France. (1986). (いろいろな種類の牛に各種インプラント剤を投与し、組織ホルモン濃度の変化を広範囲に測定した。表 13, 15, 18 に数値を引用)

文献-17 Shemesh M, N Ayalon, HR Linder: Oestradiol levels in the peripheral blood of cows during the oestrus cycle. J Endocrinol, 55, 73. 1972. (性周期に伴う末梢血中エストラジオール濃度について考察で引用)

文献-18 Stieck RF, LG Turner, T Matsuoka, RP Basson: Estrogen tissue levels in veal calves following treatment with estradiol-17 $\beta$  controlled-release implants. In: Unpublished study No. S-AAC-80-43 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis. [発表年不明(a)]. (ビール牛組織でインプラント中のエストロゲン濃度を測定。表 9 に数値を引用)

文献-19 Stieck RF, LG Turner, JF Wagner, RP Basson: Estrogen tissue levels in heifer cattle following treatment with estradiol controlled-release implant. In: Unpublished report No. S-AAC-82-14 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis. [発表年不明(b)]. (未経産子牛組織でインプラント中のエストロゲン濃度を測定。表 2, 8 に数値を引用)

文献-20 Tanaka Y, DL Vincent, KS Lodgerwood, CW Weems: Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. Theriogenology 43, 1077-1086, 1995 (性成熟以前の雌牛にインプラント剤を投与した時による発情誘起との血清中エストラジオール17 $\beta$ の変動を測定している。インプラントによりエストラジオールは通常の 2 から 3 倍になる。考察で引用)

文献-21 Vynckier L, M DeBeckere, A De Kruijff, M Coryn: Plasma estradiol-17 $\beta$  concentrations in the cow during induced estrus and after injection of est

radiol-17 $\beta$ benzoate and estradiol-17 $\beta$  cypionate -- a preliminary study. J vet Pharmacol Therap 13,36-42, 1990 (インプラント剤中的人工ホルモンの残留と休薬期間設定に関する論文。天然ホルモンの半減期についての記載を考察に引用)

文献-22 Wagner JF, EL Veenhuizen, RP Basson: Estrogen anabolics, mode of action, drug delivery, efficacy and safety. In: Carrillo BJ and CasaiJJ (Eds) III. Congreso Argentina de Ciencials Veterinarias 415. Sociedad de Medicina Veterinaria, Buenos Aires.(1980)  
(同化薬の作用機序、剤形、薬効と安全性についての総説。エストロゲン類の血漿半減期を考察で引用)

[報告書中には引用しなかったが本テーマに関連のある文献]

Ahmad N, EC Townsend, RA Dailey, EK Inskeep: Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three wave of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. Anim Reprod Sci, 49, 13-28, 1997 (妊娠率とステロイドホルモンプロフィールの相関を調べた。血清中プロゲステロンとエストラジオール17 $\beta$ の定量値がある)

Duchens M, M Forsberg, H Gustafsson, L.-E Edqvist, H Rodriguez-Martines: Reproductive performance of heifers induced to oestrous asynchrony by supra-basal plasma progesterone levels. Anim Reprod Sci, 39, 171-182, 1995 (妊娠周期・排卵と血漿中プロゲステロン濃度の相関を調べた)

Floyd, JG, RS Ott, JE Hixon, DNR Veeramachaneni, CL Willms, DF Parrett: Effects of zeranol implanted during a post weaning weight gain test on testicular, semen, and endocrine characteristics of bulls. Am J Vet Res, 55, 556-560, 1994 (ゼラノールを肉用雄子牛にインプラントしたところ、血漿中 LHホルモン濃度は約 1.5 倍、テストステロン濃度は約半分になった)

Hamudikuwanda H, G Gallo, E Block, BR Downey: Adipose tissue progesterone concentrations in dairy cows during and early lactation. Anim Reprod Sci, 43, 15-23, 1996 (発情期と黄体期の脂肪組織と血漿中プロゲステロン濃度は相関する。いずれも性周期により変動する)

Hartwig M, S Hartmann, H Steinhart: Bestimmung natürlich vorkommender steroidaler Sexualhormone (Androgene und Gestagene) in Rindfleisch. Z Lebensm Unters Forsch 201, 533-536, 1995 (雄牛、肉用雄牛、肉用雌牛の筋肉中アンドロゲン、エストロゲン、両者の誘導体濃度の測定法についての論文)

Hendricks DM, RT Brandt, EC Titgemeyer, CT Milton: Serum concentration of Trenbolone-17 $\beta$  and Estradiol-17 $\beta$  and performance of heifers treated with trenbolone acetate, melengestrol acetate, or estradiol-17 $\beta$ . J Anim Sci, 75, 2627-2633, 1977 (非妊娠未経産牛に同化薬を食べさせた後の血漿中ステロイドホルモン濃度を測った。エストラジオール17 $\beta$ が 2 から 3 倍増加した。trenboloneをインプラントした後の血漿中トレンボロン濃度も

測っている)

Henricks DM, AK Torrence: Endogenous estradiol  $17\beta$  in bovine tissues. J Assoc Off Anal Chem, 61, 1280, 1978

(エストロゲンとその代謝物の定量・同定法の開発と、筋肉、腎、肝中濃度の定量値を記載している)

Hendricks DM, SL Gray, JLB Hoover: Residues levels of endogenous estrogens in beef tissues J Anim Sci, 57, 247-255, 1983 (牛組織中内因性エストロゲン濃度についての記載)

Mann GE, GE Laming, MD Fray: Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with busarelin. Anim Reprod Sci, 37, 121-131, 1995 (乳牛に人工 GnRH であるブセレリンを使ったときの、血漿中と乳中のプロゲステロンとエストラジオール  $17\beta$  を測定している。)

Pritchard JY, FN Schrick, EK Inskeep: Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. Theriogenology 42, 247-259, 1994 (妊娠率とホルモン動態についての文献。交配後の血漿中エストラジオール  $17\beta$ 、プロゲステロン濃度を測定している。)

Robbers S, D Rieger, NC Rawlings: Peri ovulatory LH, FSH, and steroid hormone profiles in superovulated and unstimulated holstein heifers. Theriogenology 44, 59-70, 1995 (FSH により過排卵処理をしたときのプロゲステロンとエストロゲンの血漿濃度を測定している)

#### IV. 結果

##### 1. 正常牛組織中のホルモン濃度

エストロゲン、プロゲステロン、テストステロンにつき、正常牛の組織中ホルモン濃度を調べた。特にこれらのホルモンは性成熟に達すると濃度が高くなることは知られているので成牛の組織濃度に注目した。

##### 1-1) エストロゲン

ラジオアイソト-ラベルしたエストラジオール  $17\beta$  を牛に投与した実験で、牛の筋肉中の主な代謝産物はエストラジオール  $17\alpha$  (放射能の 38~70%) とエストロン (17~45%) である事が明らかにされている (文献-13)。そのため殆どの文献で、インプラント薬投与後の測定対象はエストロンとエストラジオール  $17\beta$  になっている。従ってこの報告書では、この 2 つのステロイドホルモンについての測定値を表示した。

結果として妊娠雌牛組織中のエストロゲン濃度は、どの種類の牛よりも高かった。

##### ① 妊娠牛 (表 1)

妊娠牛の正常値を表に示した。両代謝物とも組織濃度は高く、その濃度は妊娠日数が経つほど高くなった (文献-14)。また多くの文献では組織中のエストラジオール  $17\beta$  濃度は、脂肪>腎>肝>筋肉の順であるが、本文献の結果で肝濃度が高いことが特徴的であった。

##### ② 非妊娠牛 (表 2)

比較のため、非妊娠成牛 (体重 800 ポンド; 非発情期) の組織濃度を調べた。表 1 にある妊娠牛と比べて、濃度は極めて低い (文献-18)。

##### ③ 雄成牛 (表 3)



比較のため、雄成牛（体重 850 ポンド）の組織濃度を調べた。非妊娠雌成牛の組織濃度と大きな差はなく（表 2）、妊娠牛と比べると濃度は極めて低い（文献-3）。

#### 1-2) プロゲステロン

アイソト-ラベルしたプロゲステロンを牛に投与し組織中の誘導体を同定した実験で、牛体中のプロゲステロン代謝物は  $3\alpha$ -hydroxy- $5\beta$ -pregnan-20-one、 $5\beta$ -pregnane- $3\alpha$ 、 $20\beta$ -diol、 $20\beta$ -hydroxypregn-4-en- $3\alpha$ -one、 $3\alpha$ -and  $3\beta$ -hydroxy- $5\alpha$ -pregnan-20-one などが同定されている（文献-5、文献-15）。これら代謝物は生物学的活性を持つものも持たないものもあるが、それぞれを個別に測定することは困難なため、残留試験ではラジオイムノアッセイ（以下 RIA）法により総量値を求めている。以下この報告書にある測定値はいずれも総量値である。

#### ① 妊娠牛、早期去勢牛、肉用雄子牛の比較（表 4）

妊娠牛、早期去勢牛の測定値は文献-14 から引用した。妊娠牛は妊娠中期（3 頭）である。いずれの組織臓器でも妊娠牛の値が高い。肉用雄子牛の値は子牛 2 頭の平均値で文献-16 から引用した。

結果としては組織中プロゲステロン濃度はどの種類の牛よりも妊娠牛で高かった。

#### 1-3) テストステロン

アイソト-ラベルしたテストステロンを牛に投与し、組織中の誘導体を同定した実験でいくつかの代謝物が確認されたが、それらは通常生体内で検出される代謝物と同じであった（文献-12）。残留試験で RIA 法による総量値を求めている。以下にこの報告書に出るテストステロン濃度は総量値である。

結果としては、雄成牛のホルモン濃度は高かったが、妊娠未經産牛の濃度もかなり高く、妊娠日数が進むに従って濃度が高まる傾向が見られた。また腎臓中濃度に関しては妊娠牛の方が雄成牛より高かった。

#### ① 妊娠牛（表 5）

妊娠未經産牛のホルモン濃度である。濃度は雄成牛には及ばないがかなり高く、妊娠日数が経つと濃度は上がる傾向であった。また脂肪中濃度より腎臓中濃度が高いところが特徴的であった（文献-14）。

#### ② 雄成牛、非妊娠雌成牛の比較（表 6）

雄成牛と雌成牛（非妊娠）の比較である。文献-10 からの引用。当然ながら雄成牛の濃度は高かった。

〔まとめ〕 エストロゲン、プロゲステロン、テストステロン濃度は、いずれも成牛組織の値が高かった。とくにエストロゲンとプロゲステロンについては妊娠の時期により値は変動するが（文献-4）、高い時期にはエストラジオール $17\beta$ では正常肉用子牛の 10~20 倍、エストロンでは 50~100 倍であった。プロゲステロンでは 50~100 倍であった。テストステロンについては雄成牛の濃度が高く、肉用子牛の 20~100 倍であった。従って以下の肉用子牛へのインプラント剤投与によるホルモン濃度増加の調査では、組織濃度がこれら成牛の組織濃度を越えるかが焦点となる。

## 2. インプラント剤投与が組織中ホルモン濃度に与える影響

### 2-1) エストロゲン

#### ① 早期去勢牛に Compudose をインプラントした場合

このインプラント剤は肉用牛全般に使い、エストラジオールを 24 mg 含み 1 日に

エストラジオール17 $\beta$ を 70  $\mu$ g 放出するように設計してある。早期去勢牛 (70~180 日齢) にインプラント剤を投与し除去した後のホルモン濃度の消退を表 7 に示した。control は無投与の早期去勢牛である。エストラジオール17 $\beta$ とエストロンの定量は RIA 法によった。検出限界は両者ともほぼ 5 pg/g。

投与によるエストラジオール17 $\beta$ とエストロンの増加は 3 倍以内であった (文献-9)。

#### ② 非妊娠未経産牛に Compudose をインプラントした場合

インプラント 84 日目の非妊娠未経産牛 (体重約 800 ポンド) におけるホルモン濃度である (表 8)。

処置群の肝臓および筋肉中のエストロゲン濃度は対照群の組織と比較し増加していない。残留レベルは腎臓および脂肪で 3 倍程度の増加であった (文献-18)。

#### ③ 食肉用子牛に Compudose をインプラントした場合：エストロゲン消失

食肉用子牛 40 頭 (平均体重 94 ポンド) に インプラントし、56 日後にその内の 20 頭はインプラントを除去せず屠殺し、残り 20 頭はインプラントを除去し 24 時間後に屠殺した。RIA 法によりエストラジオール17 $\beta$ とエストロンを定量した (表 9)。

インプラントにより最高 5 倍程度のホルモン濃度の増加があったが、いずれの組織でも残留濃度は 24 時間の休業でほぼ control 値と同じになることが確認された (文献-17)。牛体でのホルモン代謝は早い。

#### ④ 雄牛に Compudose をインプラントした場合

雄牛 12 頭 (体重 800ポンド前後) の内 6 頭にインプラント、6 頭は無処置で、6 3 日後に屠殺した。RIA 法によりエストロンとエストラジオール17 $\beta$ を測定した。平均残留レベルを表 10 に示す。

インプラント雄牛の腎臓と腎脂肪組織中のエストロンおよびエストラジオールレベルは、対照牛のそれに比較して統計学的に有意に増加したが、せいぜい 2 倍程度であった (文献-3)。

#### ⑤ 早期去勢牛に Synovex-S をインプラントした場合

Synovex-S は安息香酸エストラジオール (20 mg) とプロゲステロン (200 mg) を含有する雄肉牛用インプラント剤である。早期去勢牛にインプラントし続け、採取した可食組織中のエストラジオール17 $\beta$ およびエストロンの残留を測定した結果を表 11 に示す (文献-14)。

エストラジオール17 $\beta$ で最高 23 倍 (脂肪組織)、エストロンで最高 30 倍 (脂肪組織) の増加が見られた。

#### ⑥ 早期去勢牛に Torelor をインプラントした場合

このインプラント剤は雄肉牛用で、エストラジオール(40 mg)と酢酸トレボロン(200 mg) が有効成分である。酢酸トレボロンは蛋白同化作用特性を有する合成ステロイドである。

フリージャン種早期去勢牛、体重 400 ポンド 18 頭にインプラントし、6 頭を無投与対照群とした。インプラント後、15日、30日、75日目に 6 頭ずつ屠殺し、遊離型エストラジオール17 $\beta$ 、結合型エストラジオール17 $\beta$ およびエストロンを RIA 法で検出した結果を表 12 に示す (文献-1)。

筋肉では有意な増加はなかったが、その他の組織特に腎と脂肪では、インプラント

中高い組織濃度が維持された。エストラジオール17 $\beta$ 遊離型で最高 81 倍の増加、エストロンで最高 3.4倍の増加が見られた。

⑦ 雌雄肉牛の比較：Implix BM をインプラントした場合

このインプラント剤はエストラジオール17 $\beta$ (20 mg)とテストステロン(200 mg)を含む製剤である。フリージャン種子牛、雌雄子牛各 9 頭に Implix BM をインプラントし、15 日、30 日、50 日に屠殺して採材、ホルモン濃度を RIA 法により定量した(表 13)。

コントロール値は雌雄で差はないが、インプラント後のホルモン濃度の上昇は、若干雌牛の方が大きいことがわかる。最高 20 倍弱の増加があった(文献-16)。

〔まとめ〕 以上インプラント剤投与時、投与後のエストロゲン関連ホルモン濃度を検索したが、天然ホルモンであるエストラジオールを有効成分としている Compudose では、インプラント中でもホルモン濃度の増加は、エストラジオール17 $\beta$ で 2~5 倍程度、エストロンで 2~3 倍であった。しかしエストラジオール17 $\beta$ とテストステロンの配合剤である Synovex-S、Implix BM、Trelor をインプラントした場合は、インプラント中の濃度増加は、最高エストラジオール17 $\beta$ で 30~80 倍、エストロンで 2~5 倍であった。この値は妊娠牛の組織中ホルモン濃度に匹敵する。

2-2) プロゲステロン

① 早期去勢牛に Synovex-S をインプラントした場合

早期去勢牛にインプラントした後の可食組織部位のプロゲステロン濃度を表 14 に示した(RIA 法)。脂肪中の濃度が高いが、インプラントによるホルモン濃度の増加

は明確ではない(文献-14)。

② 雄子牛に Implix B をインプラントした場合

Implix BM はエストラジオール17 $\beta$ (20 mg)とテストステロン(200 mg)を含むインプラント剤である。これを雄肉用子牛 9 頭に生後 3 週齢時にインプラントした。インプラント後 15日、30日、50 日間目に各 3 頭ずつ屠殺し、RIA 法により組織中プロゲステロン濃度を測定した(表 15)。

脂肪中の濃度が増加したが、インプラント中でも 5 倍程度であった(文献-16)。

〔まとめ〕 インプラント剤投与時、投与後のプロゲステロン濃度を検索した結果、組織中濃度で最高値は、インプラント中でも 5 倍程度の増加であった。これに対して妊娠牛の値が高く、肉牛に比べて 50~100 倍の高さであった。

2-3) テストステロン

テストステロンやプロピオン酸テストステロンはエストラジオールまたはエストラジオールエステルとの組み合わせで、成長促進剤として使用される。同化薬をインプラントした後組織中濃度を、RIA 法で測定した残留値を示す。

① 非妊娠未経産牛に Synovex-H をインプラントした場合

このインプラント剤はプロピオン酸テストステロン(200 mg)とエストラジオール17 $\beta$ (20 mg)を含む。非妊娠成牛にインプラントした後 30日、61日、90日、120日目に採取したの組織中テストステロン濃度を RIA 法で測定した結果である(表 16)。

インプラントによりホルモン濃度上昇の傾向が見られるが、測定値にバラツキが大きく(特に腎臓中濃度)、濃度上昇の有意

差が出ないところが多い(文献-14)。

## ② 妊娠未経産牛に Synovex-H をインプラントした場合

妊娠未経産牛にインプラント後 61 日目から採取した筋肉、肝臓、腎臓および脂肪中のテストステロンレベルを測定した結果である(表 17)。屠殺時の牛の妊娠日数は、120 日、180 日、240 日であった。

妊娠牛の組織テストステロン濃度は高く、インプラントによるホルモン濃度の上昇は明確ではなかった。投与により濃度が減少する組織(腎、肝)も見られた。妊娠牛でも非妊娠未経産牛の場合と同様、腎濃度が脂肪中の濃度を上回った(文献-14)。

## ③ 雌子牛に Implix BF をインプラントした場合

このインプラント剤にはテストステロン(200 mg)とエストラジオール $17\beta$ (20 mg)が含まれている。3 週令の雌子牛 9 頭にインプラントした後、15 日、30 日、50 日目に 3 頭づつ屠殺し RIA 法により測定した結果を表 18 に示す。脂肪中濃度が約 50 倍増加している。

〔まとめ〕 インプラント剤投与中のテストステロン濃度を検索した結果、牛体組織中濃度で最高値は Implix BF をインプラントした時の 57 倍であった(文献-16)。この増加は雄成牛と肉用子牛のテストステロン濃度の倍率に匹敵する高さであった。

④ 最後に表 19 を載せるが、これは 1983 年に行われた OIE(国際獣疫事務局)のシンポジウムで発表のあった各種牛体組織中のホルモン含量の数値である(文献-11)。発表は古いが、3 種のステロイドホルモンの各種牛体における濃度、さらにインプラント剤を使ったときの濃度変化も総

覧できるので掲載した。プロゲステロンとテストステロンについては、それぞれ雌雄成牛の正常値が高く、インプラントの影響はそれに隠れてしまう。エストロゲンについては、インプラントによりかなりの濃度上昇は見られるが、それでも正常値を大きく逸脱しているとは言えない。

## 3. 人のステロイドホルモン 1 日生産量

表 20、21に Farber と Arcos が発表した人のステロイドホルモンの 1 日生産量を示す(文献-7)。いずれのホルモンも 1 日生産量は多く、1 日に摂取する牛肉 100 グラムとか 200 グラムという量を考えると、インプラントによる影響は殆ど考えなくて良いという印象を受ける。

## V. 考察

肉牛の成長促進に使うホルモン剤投与により牛の組織中ホルモ濃度は増加するが、本文献調査はその増加が人体に影響を与える程度なのかを判断するために行った。

この種のホルモン剤を使うのは、育成期の雄牛、去勢雄牛、肉用雌牛に限られ、すでに性成熟に達した成長した牛には使わない。成長した雄成牛や妊娠牛(以下成牛)のステロイドホルモン含量は極めて高いことが知られているが、これらは食用に供されている。ホルモン剤投与が人体に影響を与えるかについてを判断する基準としては、先ず第一にホルモン剤を投与した時の組織中ホルモン濃度が、成牛のホルモン濃度を越えるか否かを基準に考え、成牛ホルモン濃度とインプラント剤を投与した場合のホルモン濃度を比較した。

エストロゲンについては、牛体組織の主要代謝物であるエストラジオール $17\beta$ とエストロンについて、妊娠牛、非妊娠成牛、繁殖用雄牛の組織濃度、血漿濃度を調べた(表 1~3)。エストロゲンについては雌牛