

平成 10 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

ゲニステイン、ノニルフェノールおよびブチルベンジルフタレートの
サルまたはラットを用いた体内動態試験報告書

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

代表者名（職名） 望 月 信 彦（理事長）

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

ゲニステイン、ノニルフェノールおよびブチルベンジルフタレートのサルまたはラットを用いた体内動態試験

分担研究者 伊賀達也（財）食品農医薬品安全性評価センター 代謝分析室

研究要旨

プラスチック可塑剤として用いられている n-ブチルベンジルフタレート（以下、BBP）、プラスチック添加剤または界面活性剤として用いられている p-ノニルフェノール（以下、NP）および大豆種子中に含まれるイソフラボンの一種であるゲニステイン（以下、GE）について、ラットを用いて体内分布、蓄積性、乳汁移行および胎児への移行等の確認を行った。その結果、ラットにおける体内動態において BBP、NP とともに類似した挙動を示した。つまり、BBP および NP は体中に入った後、肝臓による初回通過効果を受けるとともに、組織に分布する前に投与量のほとんどが尿として排泄された。主要分布臓器は腎臓および肝臓となり、生殖器をはじめとしたその他の組織には特異的な分布は認められなかった。また、BBP および NP の乳汁移行性、胎児移行性は極く僅かであり、移行後の消失も速やかであった。一方、GE は投与後、腎臓より尿として排泄されたが、その排泄量は投与量の 3 割から 5 割に留まり、投与直後において腎臓および肝臓に主に分布していた GE が経時的に組織全体に移行し、特に肝臓、腎臓以外では副腎、骨髄、生殖器等への高濃度での分布が認められた。また、腸管内容物における残存放射能が投与後 24 時間においても高値で認められたことから、GE は投与後、主にグルクロン酸抱合を受け胆汁中に排泄された後、腸管循環により体内へ再吸収され各組織に分布したことが示唆された。乳汁および胎児へも投与後 24 時間において高濃度の暴露ではないが、他組織と同様に GE が移行することが確認された。また、GE については、サル（カニクイザル）における経口（以下、po）投与後および静脈内（以下、iv）投与後の血漿中濃度推移について確認を行った。その結果、ほぼラットと同様の経時的推移を辿ったことから、ラットと類似の体内挙動をすることが推察された。一方、サルへの po 投与後の血漿中濃度測定結果から用量依存性のない GE の血漿中暴露が認められたことから、サルでは 5 mg/kg の用量で po 投与した場合、吸収に飽和の傾向が認められた。

A. 研究目的

プラスチック可塑剤として用いられている BBP、プラスチック添加剤または界面活性剤として用いられている NP および大豆種子中に含まれるイソフラボンの一種である GE について、ラットを用いて体内動態試験を実施した。これらの研究結果により、主に妊娠動物およびその胎児に対する GE、BBP および NP の暴露の影響、つま

り血中濃度推移、排泄経路の確認、標的臓器の特定、体内への蓄積性の有無、乳汁移行および胎児への移行を確認した。

さらに、非標識 GE カニクイザルに iv および po 投与した後の血漿中濃度推移を確認することにより、ラットで得られた結果との比較から種差の検討を行った。

B. 研究方法

I. ラットを用いた試験

GE、BBP および NP の標識化合物をラットに po または iv 投与し、以下の項目および方法を用いて試験を行った。

1) 共通事項

1)-1 使用動物

ラットは Crj: CD(SD) [SPF] (購入先 日本チャールス・リバー(株) (神奈川県厚木市)) を使用した。

1)-2 検疫、馴化および試験開始時の週齢
生後 7 ~ 8 週齢の雌雄動物または 9 ~ 10 週齢で交配させた雌動物を実施試験時期に合わせて必要数量の 2 割増程度購入した。動物は疾病の有無を最低 7 日間観察すると共に試験環境に馴化させた。

1)-3 放射性標識化合物

実験には BBP、NP および GE のいずれも以下に記載した放射性標識化合物を非標識化合物で適宜希釈して使用した。

a.BBP

標識化合物名:

Benzyl butyl phthalate [ring-¹⁴C]

比放射能: 7.72 MBq/mg

放射化学的純度: 96.0 % (HPLC)

合成先: 第一化学薬品(株)東海研究所

非標識化合物名:

フタル酸ベンジル n-ブチル標準品

化学的純度: 99.0 % (GC-FID)

購入先: 関東化学(株)

b.NP

標識化合物名:

4-Nonylphenol [ring-¹⁴C]

比放射能: 9.44 MBq/mg

放射化学的純度: 99.5 % (HPLC)

合成先: 第一化学薬品(株)東海研究所

非標識化合物名: 4-n-Nonylphenol

化学的純度: 99.5 % (GC-FID)

購入先: 関東化学(株)

c.GE

標識化合物名:

Genistein [dihydroxyphenyl-¹⁴C]

比放射能: 6.99 MBq/mg

放射化学的純度: 97.5 % (HPLC)

合成先: 第一化学薬品(株)東海研究所

非標識化合物名: Genistein

化学的純度: min. 98.0 % (HPLC)

購入先: 和光純薬工業(株)

1)-4 飼料

動物に与える飼料はオリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の固型飼料 MF を使用した。ただし、GE 試験時には飼料からのゲニステイン摂取を抑える目的で試験開始 4 日前からオリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の固型飼料 AIN-93G 変型を使用した。

1)-5 投与方法

被験物質の投与経路は iv および po とした。po 投与では投与前 16 時間絶食させた動物にコーンオイル (GE 投与時にはパナセート 810; 購入先 (株)日本油脂) に溶解した被験物質を、胃ゾンデを用いて胃内に単回強制経口投与した。また、iv 投与では投与前 16 時間絶食させた動物に 2 % 硬化ひまし油含有生理食塩液に溶解した被験物質を尾静脈内に投与した。投与容量は体重 100 g 当たり 0.1 mL の割合とした。放射能の投与量は、1.85 MBq (50 μ Ci) /kg 体重を目標とした。給餌は、被験物質投与後 4 時間から行った。

1)-6 投与量

BBP :

iv ; 0.25 mg/kg , 2 mg/kg

po ; 0.25 mg/kg , 2 mg/kg

NP :

iv ; 0.20 mg/kg , 2 mg/kg

po ; 0.20 mg/kg , 2 mg/kg

GE :

iv ; 0.30 mg/kg , 2 mg/kg

po ; 0.30 mg/kg , 2 mg/kg

2) 血液中放射能濃度測定試験 (低および高用量投与)

雌雄ラット (各 n=3) を用いて実施した。標識化合物を po ならびに iv 投与後、48 時間までの 8 時点につき採血を行った。採血した血液を前処理した後、血液中濃度を測定し、雌雄ラットにおける被験物質の血液中推移を把握した。

3) 尿および糞中放射能排泄試験 (低用量投与)

雌雄ラット (各 n=3) を用いて実施した。標識化合物を po 投与後 0 ~ 8 時間, 8 ~ 24 時間, その後 24 時間毎に 96 時間まで尿および糞を分離して採取した。採取した糞は、一定量の水を加えた後、ホモジナイザーで均一化した後、可溶化剤を加え、放射能測定試料を調製した。また、尿は一定量を液体シンチレーターに添加し放射能測定試料を調製した。

4) 乳汁中放射能濃度測定試験 (低用量投与)

分娩後 10 日前後の哺育中雌性ラットを用いて実施した。

標識化合物を po 投与後 24 時間までの 5 時点 (n=3) につき、エーテル麻醉下、胸部または腹部乳頭より 50 μ L を搾乳し、放射能測定試料を調製した。同時に同一動

物の尾静脈より 100 μ L を採血し、遠心分離を行い血漿を得た。得られた血漿から放射能測定試料を調製した。なお、乳汁採取 1 時間前に乳児を母獣から離し、乳汁採取後母獣に戻した。乳汁採取 1 時間前にオキシトシン (5 U/kg) を母獣に腹腔内投与した。

5) 全身オートラジオグラフィ (低および高用量投与: 非妊娠ラット、低用量投与: 妊娠ラット)

雌雄非妊娠ラットならびに妊娠 12 および 18 日目雌性ラットを用いて実施した。標識化合物を po 投与後 24 時間までの 3 時点に (各 n=1) エーテル麻醉死させる。ドライアイス/ヘキサンをを用いて急凍した。その後、試料を(株)生体科学研究所 (千葉県印旛郡白井町) に輸送し全身オートラジオグラムを作成した。

6) 組織内放射能濃度測定試験および胎盤通過性試験 (低用量投与)

妊娠 12 および 18 日目の雌性ラットを用いて実施した。

妊娠 12 日目の雌性ラットでは標識化合物を po 投与後、24 時間までの 3 時点に (各 n=3) エーテル麻醉下、腹部大動脈より採血致死させ、以下に記した組織を採取した。採取した組織は、全部または一部に可溶化剤を加え、放射能測定試料を調製した。また、採取した血液は、一部をそのまま血液試料とし、残りは遠心分離によって血漿を採取した後、放射能測定試料を調製した。

採取組織:

血液、血漿、大脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、子宮、卵巣、胎盤、乳腺、脂肪、羊水、(GE の場合はさらに骨髄)

妊娠 18 日目の雌性ラットでは、標識化合

物を po 投与後 24 時間までの 3 時点に (各時点 n=3) エーテル麻酔下, 腹部大動脈より採血致死させ、母獣および胎児について下記の組織を採取した。採取した組織の全部または一部に可溶化剤を添加し、放射能測定試料を調製した。また、採取した血液は、一部をそのまま血液試料とし、残りは遠心分離によって血漿を採取した後、放射能測定試料を調製した。

なお、組織摘出を行う胎児は、子宮頸部に最も近いおよび遠い左右の胎児 (n=4) とした。その他の胎児については、組織の摘出は行わず、個体毎にホモジナイズした後一部を採取し、可溶化剤を添加して放射能測定試料を調製した。

採取組織：

母獣；血液、血漿、大脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、子宮、卵巣、胎盤、乳腺、脂肪、羊水、(GE の場合はさらに骨髄)

胎児；血液、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓

II. サルを用いた試験

GE の非標識化合物を雌雄のカニクイザルに po および iv 投与し、以下の計画・方法を用いてサルにおける血漿中濃度推移の確認を行った。

1) 投与量：

iv ; 0.5 mg/kg

po ; 2 mg/kg , 50 mg/kg

2) 血漿中 GE 濃度測定試験

(株)日本生物化学センター岐阜研究所 (岐阜県海津郡海津町) にて被験物質を iv および po 投与後、24 時間までの 9 時点につき採血ならびに血漿分離を行った。得られた血漿試料は凍結条件下で(財)食品農医薬品安全性評価センターへ輸送した。血漿中の GE 濃度を測定するため血漿試料は除タンパク等の前処理を行った後に LC/MS/MS

法により測定を行った。

C. 研究結果

I. ラットを用いた試験

1) 血液中放射能濃度測定試験

a. BBP (Figure 1.)

iv 投与では、血液中放射能濃度は投与後経時的に速やかに減少し、投与後 48 時間では血液中からほぼ消失した。

po 投与では投与後 15-60 分で最高薬物血中濃度 (Cmax) に達した後、投与後 48 時間迄に速やかに血液中から消失した。

また、po 投与および iv 投与ともに雌雄差は認められず、ほぼ用量増加に伴った血液中の BBP の暴露が認められた。

b. NP (Figure 2.)

iv 投与では、血液中放射能濃度は投与後経時的に速やかに減少し、投与後 48 時間では血液中からほぼ消失した。

po 投与では投与後 30-120 分で Cmax に達した後、投与後 48 時間迄に速やかに血液中から消失した。

また、po 投与および iv 投与ともに雌雄差は認められず、ほぼ用量増加に伴った血液中の NP の暴露が認められた。

c. GE (Figure 3.)

iv 投与では、血液中放射能濃度は投与後 6 時間まで経時的に速やかに減少した後、緩やかに減少するか、もしくは、ほぼ同一の血中濃度を維持しながら推移し、投与後 48 時間では GE の血中へ残留が僅かに認められた。

po 投与では投与後 15 分で Cmax に達した後、投与後 2 または 4 時間までに Cmax 値の約 1/3 ~ 1/4 まで減少した。その後、若干の濃度上昇を伴いつつ緩やかに減少するか、もしくは、ほぼ同一の血中濃度を維持しながら推移し、投与後 48 時間では GE

の血中へ残留が僅かに認められた。

2)尿および糞中放射能排泄試験

a. BBP (Figure 4.)

雌雄ともに投与後 24 時間で尿中から投与量の約 67 ~ 76 %が、また、糞中から約 4 ~ 9 %が排泄された。その後、尿および糞から極く僅かずつ経時的に排泄され、96 時間までに投与量のほぼ 80 ~ 89% (尿中約 74 ~ 79%、糞中約 6 ~ 10%) が排泄された。

b. NP (Figure 5.)

雌雄ともに投与後 24 時間で尿中から投与量の約 64 ~ 73 %が、また、糞中から約 19 ~ 24 %が排泄された。その後、尿および糞から極く僅かずつ経時的に排泄され、96 時間までに投与量のほぼ 100% (尿中約 66 ~ 75%、糞中約 26 ~ 28%) が排泄された。

c. GE (Figure 6.)

雌雄ともに投与後 24 時間で尿中から投与量の約 26 ~ 29 %が、また、糞中から約 3 ~ 4 %が排泄された。その後、尿および糞から極く僅かずつ経時的に排泄され、96 時間までに投与量のほぼ 36 ~ 51% (尿中約 28 ~ 33%、糞中 8 ~ 18%) が排泄された。

3)乳汁中放射能濃度測定試験 (Table 1.)

a. BBP

乳汁中放射能濃度は po 投与後 180 分で最高濃度 (約 42 ng eq. /mL) に達した後、経時的に減少し、投与後 48 時間では約 6 ng eq. /mL となった。また、投与後 90 分では血漿中の BBP 濃度に対する乳汁中 BBP 濃度の割合 (M/P 比) は 0.06 でありその後、経時的に上昇し投与後 48 時間においては、乳汁中濃度が血漿中濃度を上回り、1.96 となった。

b. NP

乳汁中放射能濃度は po 投与後 360 分で最高濃度 (約 51 ng eq. /mL) に達した後、経時的に減少し、投与後 48 時間では約 5 ng eq. /mL となった。その後、投与後 90 分では M/P 比は 0.68 であり、投与後 360 分において、乳汁中濃度が血漿濃度を上回り、2.12 となった。M/P 比は投与後 24 時間で最高値 (4.45) となった後、投与後 48 時間では 1.96 まで減少した。

c. GE

乳汁中放射能濃度は po 投与後 2 時間で最高濃度 (約 6 ng eq. /mL) に達した後、経時的に減少し、投与後 6 時間では約 2 ng eq. /mL となった。その後、乳汁中濃度は上昇し、投与 24 時間では約 17 ng eq. /mL に達した。また、M/P 比は投与後 6 時間までは約 0.1 ~ 0.3 であったが、投与後 24 時間では乳汁中濃度が血漿濃度を上回り、1.26 となった。

4)全身オートラジオグラフィー

a. BBP (妊娠 12 および 18 日目 ; Figure 7-a,b,c. Figure 8-a,b,c.)

雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット (妊娠 12 および 18 日目) に共通して、投与後 2 時間において、肝臓および腎臓の放射能強度が他組織と比較して高値となったが、経時的に速やかに減少し、投与後 24 時間でほぼ消失した。その他では、小腸および盲腸内容物ならびに尿に高い放射能が認められたが、他の組織と同様に経時的に減少した。

b. NP (妊娠 12 および 18 日目 ; Figure 9-a,b,c. Figure 10-a,b,c.)

雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット (妊娠 12 および 18 日目) に共通して、投与後

1.5 時間において、肝臓および腎臓の放射能強度が他組織と比較して高値となったが、経時的に速やかに減少し、投与後 24 時間でほぼ消失した。その他では、小腸および盲腸内容物ならびに尿に高い放射能が認められたが、他の組織と同様に経時的に減少した。

c. GE (妊娠 12 および 18 日目 ; Figure 11-a,b,c. Figure 12-a,b,c.)

雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット (妊娠 12 および 18 日目) に共通して、投与後 0.5 時間において、肝臓および腎臓の放射能強度が他組織と比較して高値となった。その後、腎臓においては経時的に放射能強度は減少したものの、肝臓では投与後 24 時間でも高い放射能強度を維持していた。肝臓や腎臓以外では経時的に放射能強度が上昇する組織が認められ、特に投与後 24 時間ではバーダー腺、唾液腺、骨髄および褐色脂肪において高い放射能強度が認められた。組織以外では胃、小腸および盲腸内容物が投与後 24 時間経過した後まで継続的に高い放射能強度を維持していた。

5) 組織内放射能濃度測定試験および胎盤通過性試験

a. BBP (Figure 13-a,b,c.)

妊娠 12 日目の母獣ラットにおいて、主要分布臓器は肝臓および腎臓となり、投与後 2 時間における組織中放射能濃度はそれぞれ 185 および 569 ng/g tissue であり、その他の組織は約 7 ~ 76 ng.eq/ g tissue or mL であった。また、投与後 24 時間では腎臓で 19 ng.eq/g tissue、羊水で 11 ng.eq/ mL、その他の組織では約 2 ~ 7 ng.eq/ g tissue or mL であり、ほとんどの組織で投与後 2 時間において最高放射能濃度となった後、経時的に速やかに組織中から減少し、投与後 24 時間ではほとんど消失した。なお、妊

娠 18 日目の母獣ラットにおいても同様の結果が認められた。

妊娠 18 日目の胎児では母獣への投与後 2 時間で腎臓を除いた組織で最高濃度に達した後、速やかに組織中から消失した。腎臓においては投与後 2 および 6 時間で、ほとんど変化がなく 36 ng.eq/ g tissue であったが、その後、投与後 24 時間では他の組織と同様に組織中からほぼ消失した。

また、妊娠 18 日目の胎児に関して 1 匹あたりの放射能分布総量は投与後 2、6 および 24 時間でそれぞれ 42、28 および 4 ng.eq/body となった。

b. NP (Figure 14-a,b,c.)

妊娠 12 日目の母獣ラットにおいて、主要分布臓器は肝臓および腎臓となり、投与後 1.5 時間における組織中放射能濃度はそれぞれ 246 および 112 ng/g tissue であり、その他の組織は約 5 ~ 49 ng.eq/ g tissue or mL であった。また、投与後 24 時間では肝臓で 19 ng.eq/g tissue、腎臓で 16 ng.eq/g tissue、副腎で 10 ng.eq/g tissue、卵巣で 11 ng.eq/g tissue、その他の組織では約 1 ~ 6 ng.eq/ g tissue or mL であり、ほとんどの組織で投与後 2 時間において最高放射能濃度となった後、経時的に速やかに組織中から減少し、投与後 24 時間ではほとんど消失した。なお、妊娠 18 日目の母獣ラットにおいても同様の結果が認められた。

妊娠 18 日目の胎児では他組織と比較して組織内放射能濃度が心臓および腎臓に高値となった。またいずれの組織においても組織内放射能濃度が投与後 6 時間で最高値に達しており、母獣と比較して若干分布速度が遅い傾向を示した。NP は投与 24 時間までに速やかに組織中から消失した。また、妊娠 18 日目の胎児に関して 1 匹あたりの放射能分布総量は投与後 1.5、6 および 24 時間でそれぞれ 3、7 および 4 ng.eq/body

となった。

c. GE (Figure 15-a,b,c.)

妊娠 12 日目の母獣ラットにおいて、主要分布臓器は肝臓および腎臓となり、投与後 0.5 時間における組織中放射能濃度はそれぞれ 103 および 46 ng/g tissue であり、その他の組織は約 2 ~ 23 ng.eq/g tissue or mL であった。しかし、血漿中放射能濃度 (28 ng.eq/mL) を上回る組織は肝臓および腎臓のみであった。投与後 4 時間における肝臓および腎臓の組織中放射能濃度はそれぞれ 124 および 84 ng/g tissue であり、投与後 0.5 時間値よりも高値となった、その他の組織においても同様の傾向が認められ約 5 ~ 35 ng.eq/g tissue or mL であった。投与後 4 時間においても血漿中放射能濃度 (38 ng.eq/mL) を上回る組織は肝臓および腎臓のみであった。投与後 24 時間では肝臓で 190 ng.eq/g tissue、腎臓で 59 ng.eq/g tissue となり、腎臓では投与後 4 時間値を下回ったものの、肝臓では投与後 4 時間値をさらに上回る結果となった。また、肝臓、腎臓の他に、副腎および骨髄ではそれぞれ 165 および 117 ng.eq/g tissue と高値を示した。いずれの組織においても組織中放射能濃度は経時的に上昇傾向が認められ、全ての組織で投与後 24 時間値は 0.5 時間値を上回る結果となり、血液、大脳、心臓および羊水を除き血漿中放射能濃度値 (29 ng.eq/mL) より高値となった。

なお、妊娠 18 日目の母獣ラットにおいてもほぼ同様の傾向が認められた。

妊娠 18 日目の胎児に関して 1 匹あたりの放射能分布総量は投与後 0.5、4 および 24 時間でそれぞれ 1、15 および 59 ng.eq/body となった。

II. サルを用いた試験

1) 血漿中 GE 濃度測定試験 (Figure 16)

iv 投与では、血漿中 GE 濃度は投与後 2 時間までは経時的に速やかに減少し、投与後 2 時間では雄で 10 ng/mL、雌で 15 ng/mL となった。その後、多少の増減は認められたものの、ほぼ同濃度で投与後 24 時間まで推移した。

po 投与では最高薬物血中濃度到達時間 (Tmax) が雄の 0.5 mg/kg 投与群で投与後 15 min であった以外は 60 min となった後、4 時間まではほぼ経時的に減少し、0.5 mg/kg 投与群の雌雄ではいずれも 11 ng/mL となり、5 mg/kg 投与群の雌雄でそれぞれ 14 および 25 ng/mL となった。投与後 4 時間以降では、iv 投与における濃度推移と同様に、多少の増減は認められたものの、ほぼ同濃度で投与後 24 時間まで推移した。また、po 投与および iv 投与ともに雌雄差は認められなかった。

D. 考察

BBP は po 投与後、そのほとんどが体内に吸収された後、尿を主要排泄経路として速やかに体外に排泄されることが確認された。全身オートラジオグラフィーおよび組織内放射能濃度測定試験において、雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット (妊娠 12 および 18 日目) に共通して、投与後 2 時間において、肝臓および腎臓に特異的に放射能強度が高値となり、各組織に分布するより前に速やかに消失した。また、血液中放射能濃度測定試験の結果において po 投与の方が iv 投与時と比較して高濃度で推移する傾向が認められたことから、肝臓による初回通過効果が示唆された。

乳汁中移行性の検討結果、乳汁中放射能濃度は po 投与後 180 分で最高濃度に達した後、経時的に減少し、投与後 48 時間では血漿中と同様に乳汁中からも BBP はほぼ消失した。その一方、M/P 比は経時的に上

昇したが、血漿中 BBP 濃度の消失速度よりも、乳汁中 BBP 濃度の消失速度が遅いことが原因と考えられた。

これらの結果、BBP の乳汁への移行が示唆されたものの、その移行量は極く僅かであり、投与後 48 時間までには乳汁および血漿中の放射能濃度はほとんど消失することが確認された。

胎盤通過性試験の結果、妊娠 18 日目の胎児において、母獣の組織中放射能濃度が最高値となる投与後 2 時間で、胎児 1 匹あたりの放射能分布量は投与放射能全量に対して約 0.06% の移行が認められた。

主要臓器の組織内放射能推移はほぼ母獣と同様な傾向を示し、投与後 24 時間までに速やかに組織中から消失した。また、特定の臓器への高濃度な BBP の分布は認められなかった。

NP は po 投与により体内に吸収された後、尿を主要排泄経路として速やかに体外に排泄されることが確認された。NP の場合、投与量に対する総排泄量は BBP よりも約 10% 程度高く、ほぼ投与量の全量が投与後 4 日までに排泄された。BBP において尿排泄が約 70 ~ 75%、糞排泄が約 5 ~ 10% であったのに対し、NP では尿排泄が約 60 ~ 70%、糞排泄が約 20 ~ 25% となり、糞中排泄の割合が比較的高値となった。さらに全身オートラジオグラフィーの結果、雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット（妊娠 12 および 18 日目）に共通して、投与後 24 においていずれの組織中からも NP がほぼ消失していたのにも係わらず、小腸および盲腸内容物として残留していたことから、NP は BBP より体内への吸収効率が低いことが示唆された。

全身オートラジオグラフィーおよび組織内放射能濃度測定試験において、雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット（妊娠 12 およ

び 18 日目）に共通して、投与後 1.5 時間において、肝臓および腎臓に特異的に放射能強度が高値となり、各組織に分布するより前に速やかに消失した。また、血液中放射能濃度測定試験の結果において po 投与の方が iv 投与時と比較して高濃度で推移する傾向が認められたことから、体内への吸収不良が十分ではない他に肝臓による初回通過効果が示唆された。

乳汁中移行性の検討結果、乳汁中放射能濃度は po 投与後 180 分で最高濃度に達した後、経時的に減少し、投与後 48 時間では血漿中と同様に乳汁中からも NP はほぼ消失した。M/P 比は投与後 6 時間で乳汁中 NP 濃度が血漿中 NP 濃度を上回った後、投与後 24 時間で最高値 4.5 まで経時的に上昇したが、投与後 48 時間では M/P 比は 2 まで減少した。

これらの結果、NP の乳汁への移行が示唆されたものの、乳汁中からの消失は速やかであり、投与後 48 時間までには乳汁中における NP はほとんど消失することが確認された。

胎盤通過性試験の結果、妊娠 18 日目の胎児において、母獣における組織中放射能濃度が最高値となる投与後 1.5 時間で、胎児 1 匹あたりの放射能分布量は投与放射能全量に対して約 0.006% となり胎児への移行は極く僅かであると考えられた。

胎児における主要臓器の組織内放射能は、投与後 24 時間までに速やかに組織中から消失した。

GE は po 投与後、そのほとんどが速やかに体内に吸収された後、尿を主要排泄経路として投与後 24 時間までに投与された GE の約 30 ~ 60% が速やかに体外に排泄されることが確認された。血中放射能濃度推移を検討したところ、po 投与では投与後 15 min で Cmax に達した後、また iv 投

与では投与直後から、投与後 6 時間までは経時的に速やかに減少した後、緩やかな減少となるか、もしくはほぼ同一の血中濃度を維持しながら推移し、投与後 48 時間では GE の血中へ残留が認められた。

全身オートラジオグラフィーおよび組織内放射能濃度測定試験において、雌雄の非妊娠ラットおよび妊娠ラット（妊娠 12 および 18 日目）に共通して、投与後 0.5 時間から投与後 24 時間まで肝臓、腎臓、腸管内容物では高い放射能強度を維持していた。その他のほとんどの組織において放射能濃度が投与後経時的に上昇するか、もしくは投与後 4 時間において一時的に減少するものの投与 24 時間において再度上昇する濃度推移を示した。とくに副腎、乳腺、骨髄、ハーダー腺、乳腺、唾液腺、脂肪では投与後 24 時間において高い放射能濃度を示した。血液中放射能濃度測定試験の結果において iv 投与時と比較して po 投与時の AUC 値が同等かもしくは若干高値となった。

GE は SD ラットの腸管から効率的に吸収された後、7-O- β -glucuronide として胆汁中に排泄され、再度腸管から再吸収することが報告されていることから¹⁾、GE は po 投与後、一部は尿中から排泄され、残りは肝臓においてグルクロン酸抱合を受け胆汁中に排泄された後、再度腸管循環によって、血中さらには各組織に分布したことが示唆された。

乳汁中移行性の検討結果、乳汁中放射能濃度は po 投与後 6 時間までは比較的低濃度で推移したものの、その後上昇し、投与後 24 時間では投与後 0.5 時間の約 4 倍という高い放射能濃度となった。一方、血漿中の放射能濃度は投与後 24 時間までの間、経時的に緩やかに減少し、投与後 48 時間における放射能濃度は投与後 0.5 時間の約 30%程度であった。M/P 比も乳汁中放射能

濃度推移と類似した挙動を示し、投与後 24 時間において最高値となった。これらの結果、経時的に GE が乳汁中へ移行することが示唆された。

胎盤通過性試験の結果、妊娠 18 日目の胎児において、母獣の組織中放射能濃度が最高値となる投与後 24 時間で、胎児 1 匹あたりの放射能分布量は投与放射能全量に対して約 0.08%の移行が認められた。

胎児における臓器の組織内放射能推移では、いずれの臓器においても投与後 24 時間で最高濃度に達した。また、特定の臓器への GE の分布は認められなかった。

サル血漿中 GE 濃度測定試験の結果、iv 投与では、血漿中 GE 濃度は投与後 2 時間までは経時的に速やかに減少した後、多少の増減は認められたものの、ほぼ同濃度で投与後 24 時間まで推移した。

po 投与では投与後、15 ~ 60min で Cmax に達した後、4 時間まではほぼ経時的に減少し、その後は iv 投与時の濃度推移と同様に、多少の増減は認められたものの、ほぼ同濃度で投与後 24 時間まで推移した。iv 投与と po 投与とで薬物血中濃度曲線下面積 (AUC) 値を比較したところ、ほぼ同程度の値が得られた。これらの結果はラットの血液中放射能濃度推移と類似しており、GE はサルにおいてもラットと類似した体内挙動をとることが推察された。その一方、サルの血漿中 GE 濃度は、po 投与群において低用量と高用量との用量差が 10 倍あるにもかかわらず、暴露量差は 1.5 ~ 2 倍程度に留まったことからサルに GE を po 投与した場合、体内への吸収が飽和していることが考えられた。また、iv 投与、po 投与ともにラットにおける血中放射能濃度より、サルの血漿中濃度は低い結果となったが、今回測定を行ったのはフリー体のみであるためサルの体内に入った

GE はフリー体としてよりもグルクロン酸抱合体として存在する割合が高いためと考えられた。

参考文献

1) Barnes, S., Sfakianos, J., Coward, L., Kirk, M. : Soy isoflavonoids and cancer prevention. Underlying biochemical and pharmacological issues. : Adv Exp Med Biol, 401, 87-100 (1993).

E. 結論

ラットにおける体内動態において BBP、NP とともに類似した挙動を示した。つまり、BBP および NP は体中に入った後、肝臓による初回通過効果を受けるとともに、組織に分布する前に投与量のほとんどが尿として排泄された。主要分布臓器は腎臓および肝臓となり、生殖器をはじめとしたその他の組織には特異的な分布は認められなかった。また、BBP および NP の乳汁移行性、胎児移行性は極く僅かであり、移行後の消失も速やかであった。一方、GE は投与後、その一部を腎臓より尿として排泄されたが、その排泄量は投与量の3割から5割に留まった。投与後速やかに体内に吸収された GE の一部は腎臓を経て尿中から排泄され、残りは肝臓に分布した後にグルクロン酸抱合を受けて組織全体に移行し、特に肝臓、腎臓以外では副腎、骨髄、生殖器および各種腺への高濃度での分布したと考えられた。また、腸管内容物における残存放射能が投与後 24 時間において高値で認められたことから、GE は投与後、グルクロン酸抱合体として胆汁内に排泄された後、腸管循環により体内への再吸収され、各組織に分布したことが示唆された。乳汁および胎児へも投与後 24 時間において高濃度の暴露ではないが、他組織と同様に GE が移行することが確認された。また、サルにお

ける血漿中濃度測定の結果、ほぼラットと同様の経時的推移を辿ったことから、ラットと同様の体内挙動をすることが推察された。一方、サルへの po 投与後の血漿中濃度測定結果から用量依存性のない GE の血漿中暴露が認められたことから、サルでは 5mg/kg の用量で po 投与した場合吸収に飽和の傾向が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表 無し
2. 学会発表 無し

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 無し
2. 実用新案登録 無し
3. その他 無し

Figures and Table



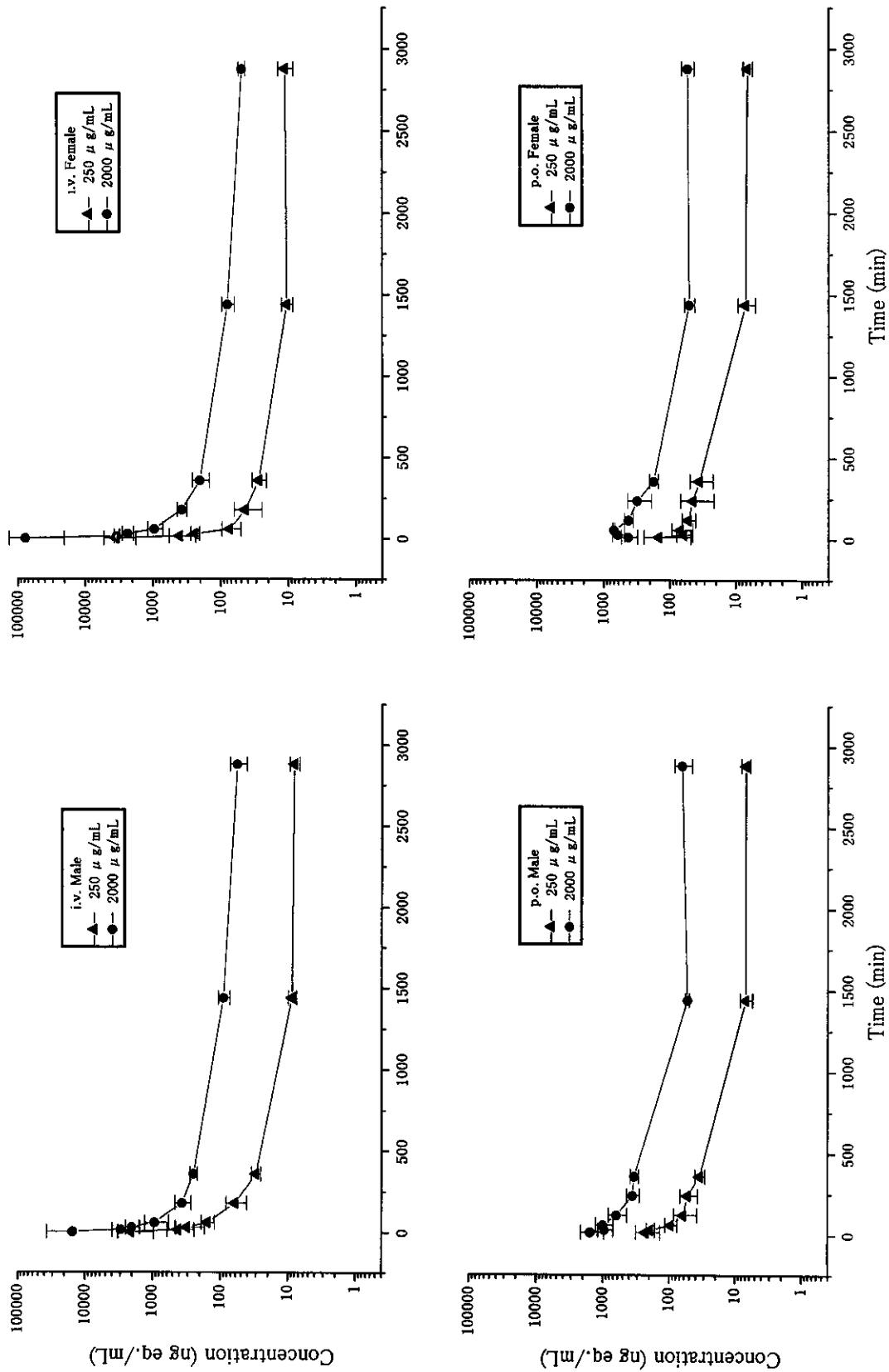


Figure 1. Blood concentration of Benzyl butyl phthalate [ring-¹⁴C(U)]

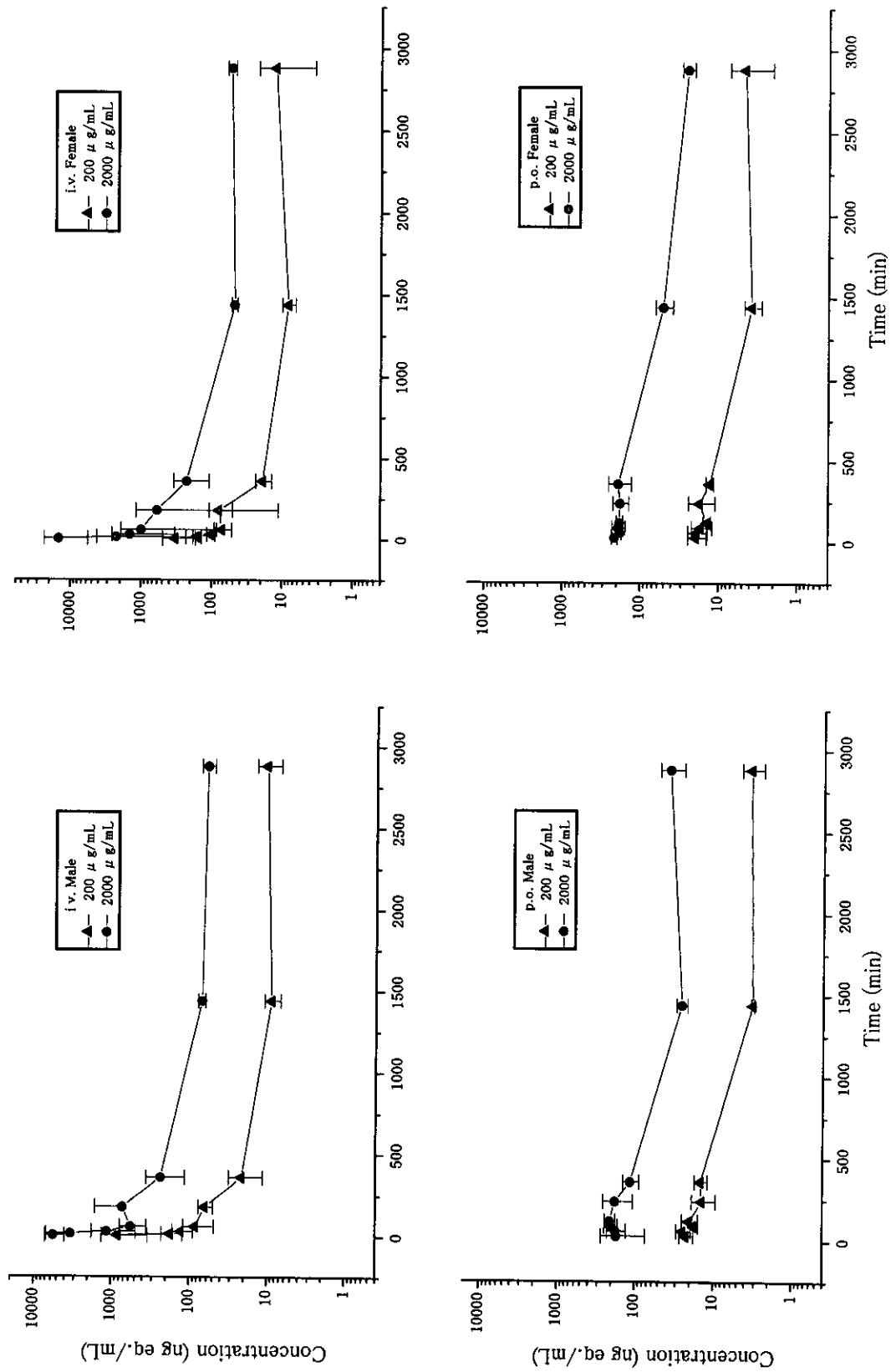


Figure 2. Blood concentration of 4-Nonylphenol [ring-¹⁴C(U)]

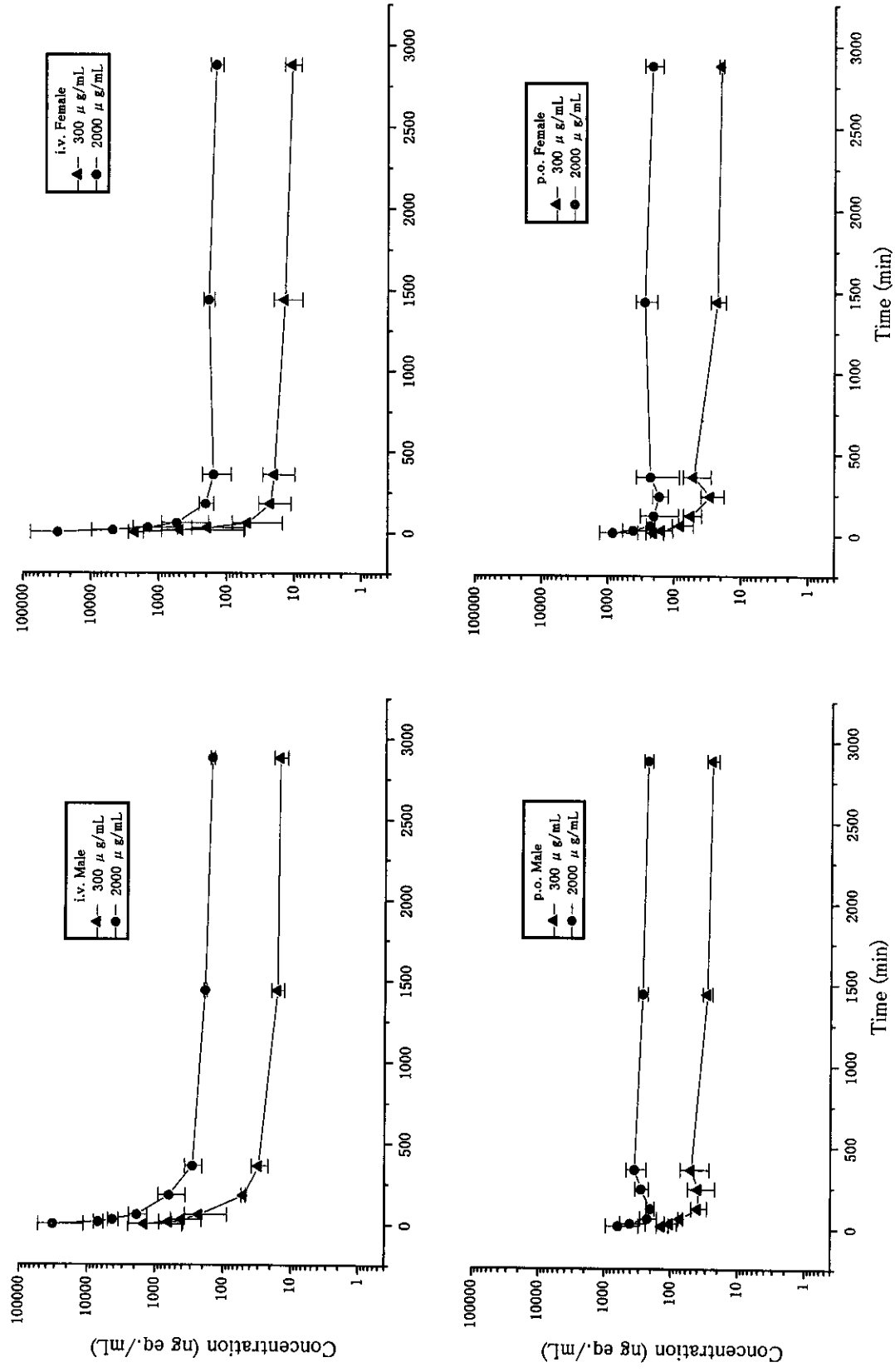


Figure 3. Blood concentration of Genistein [dihydroxyphenyl-¹⁴C]

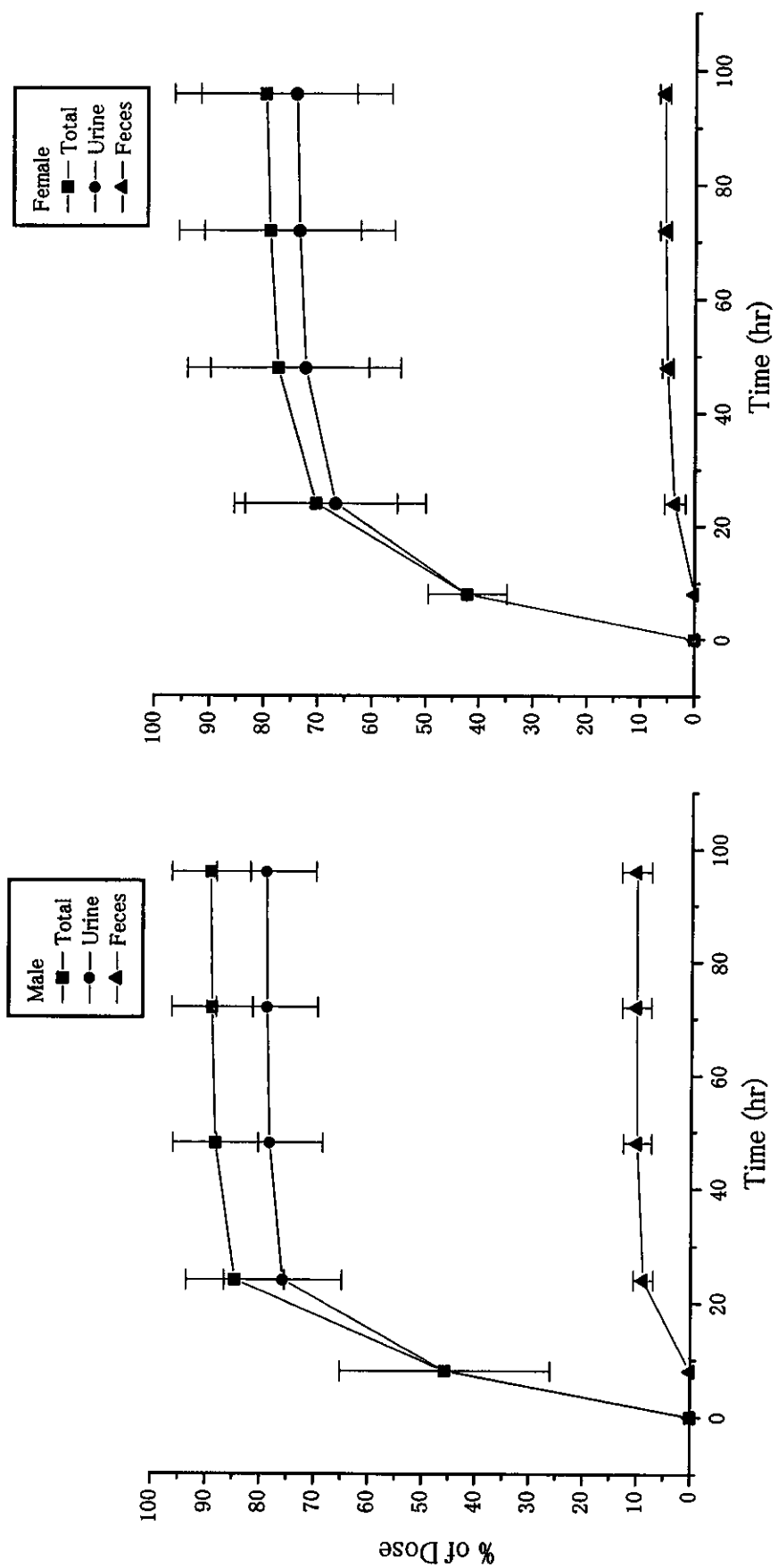


Figure 4. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after a single oral administration of Benzyl butyl phthalate [ring-¹⁴C(U)] to rat (Dose: 250 μ g/kg)

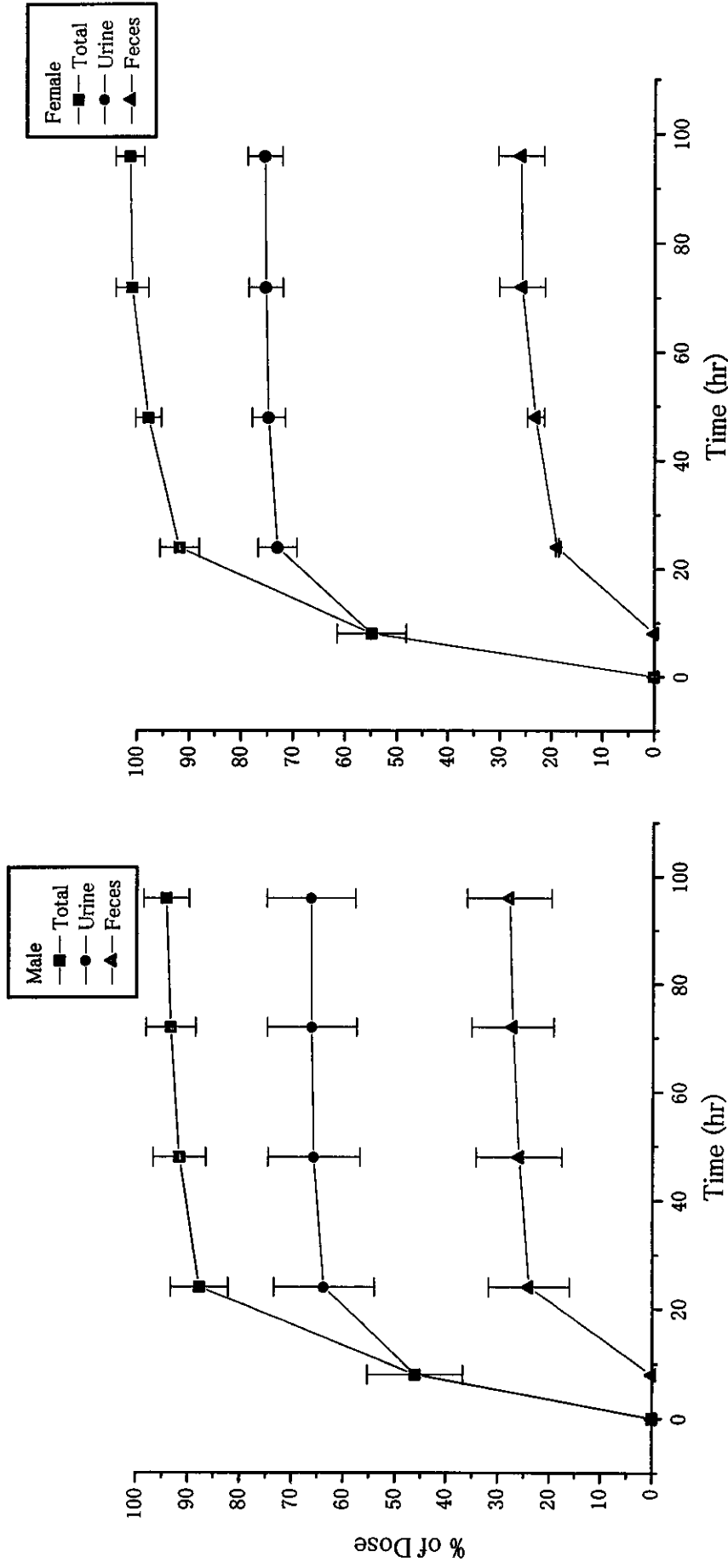


Figure 5. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after a single oral administration of 4-Nonylphenol [ring-¹⁴C(U)] to rat (Dose: 200 μ g/kg)

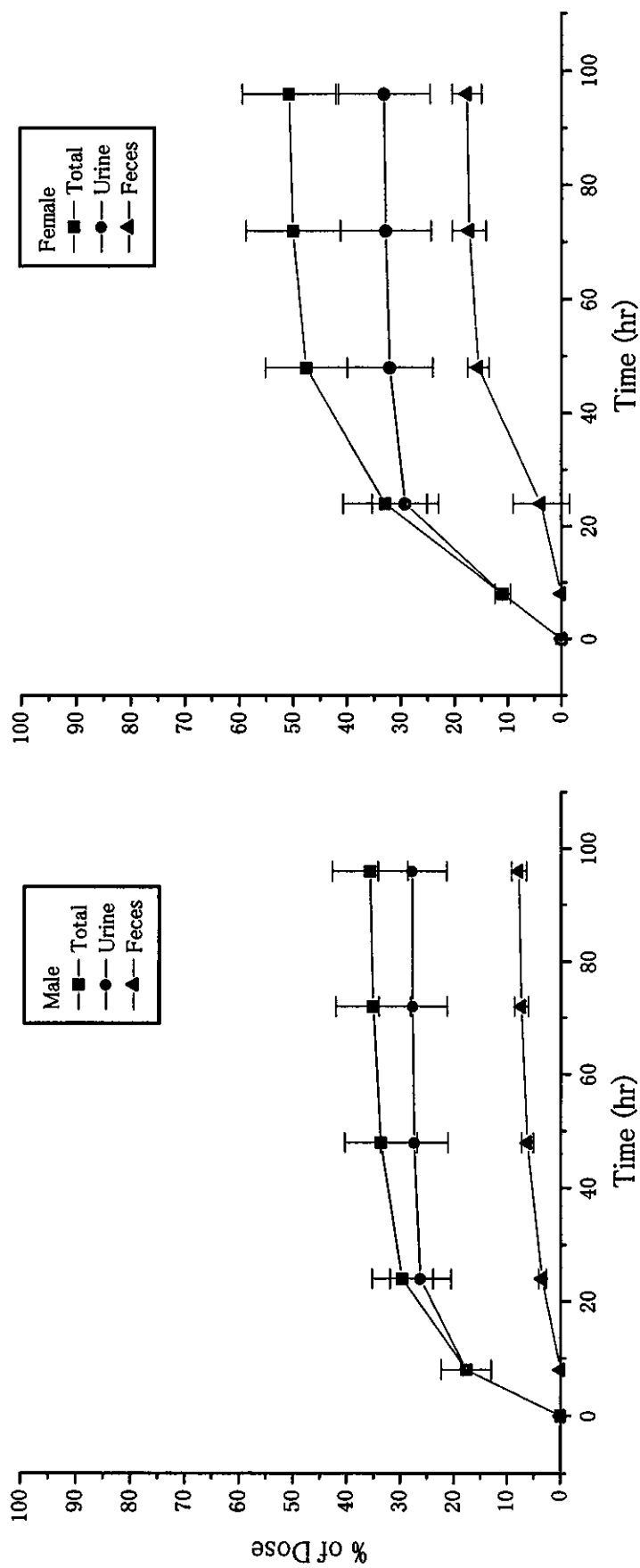


Figure 6. Cumulative excretion of radioactivity in urine and feces after a single oral administration of Genistein [dihydroxyphenyl¹⁴C] to rat (Dose: 300 μ g/kg)

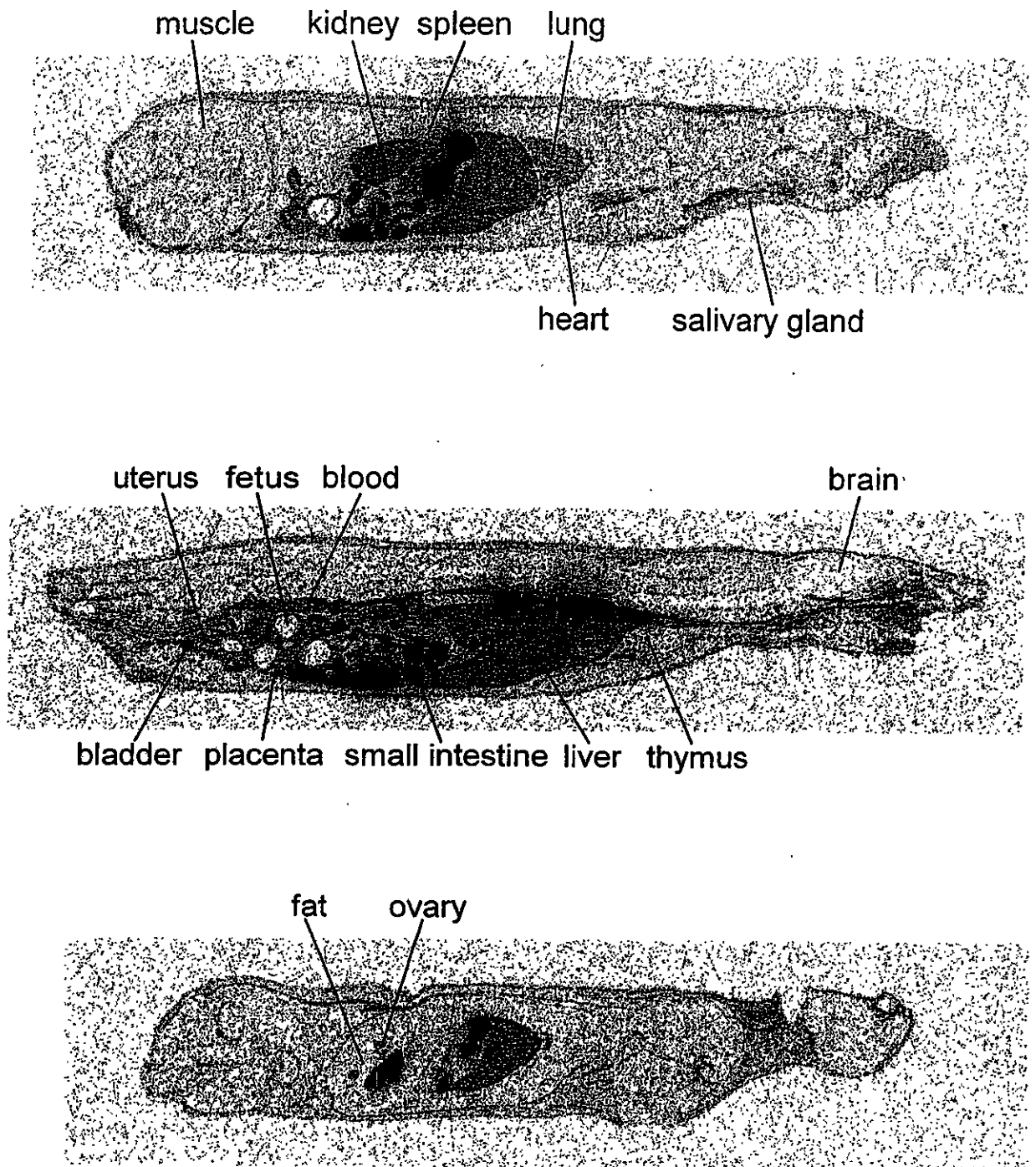


Figure 7-a. Whole body autoradiographs of a rat on the 12th day of gestation 2 hr after oral administration of Benzyl n-butyl phthalate [ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (Dose : 1.85MBq/250 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

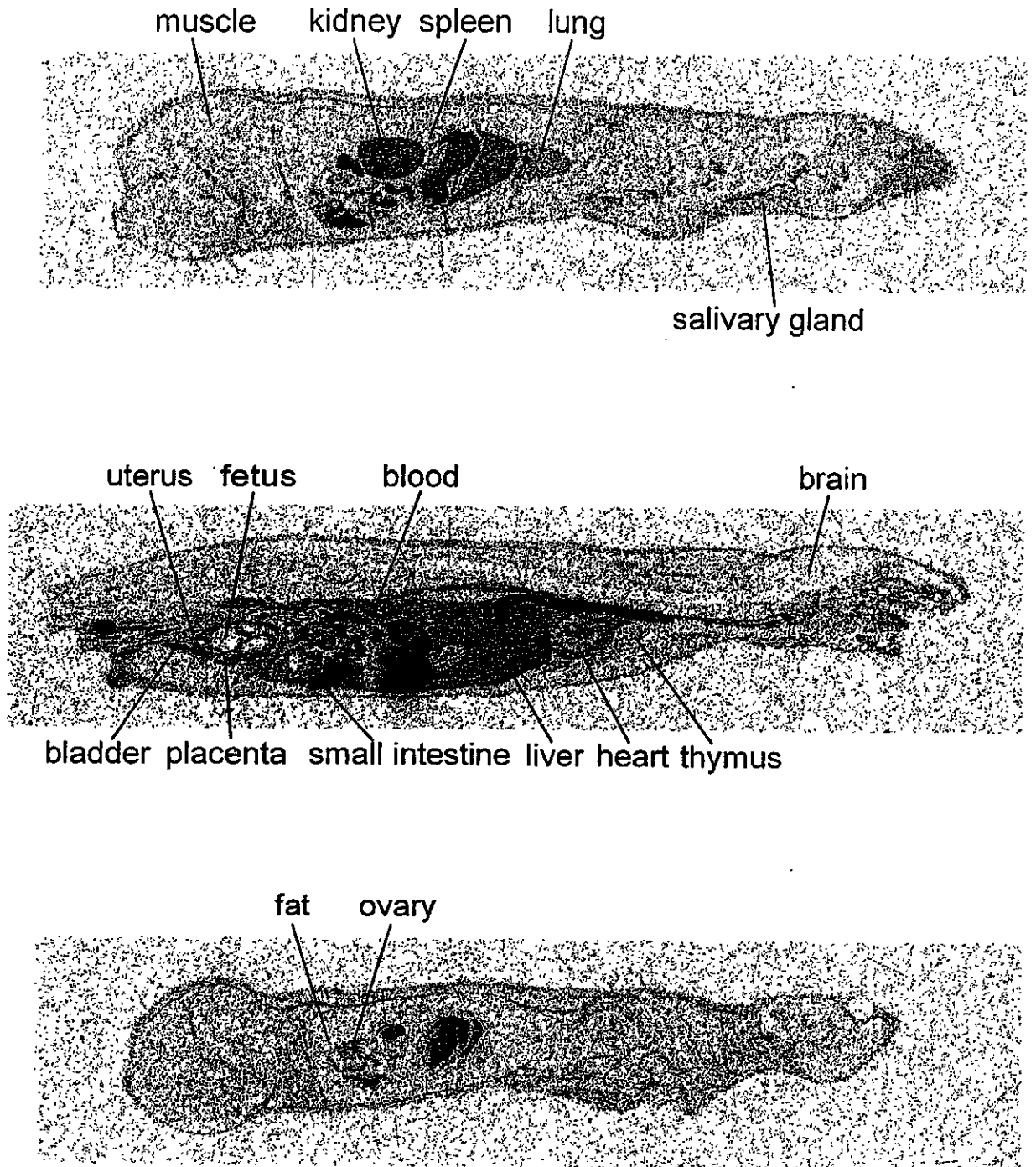


Figure 7-b. Whole body autoradiographs of a rat on the 12th day of gestation 6 hr after oral administration of Benzyl n-butyl phthalate [ring-¹⁴C(U)] (Dose : 1.85MBq/250 μ g/kg)