

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

データベースの構築と3次元構造活性相関に関する研究

分担研究者 神沼 二真 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部

## 研究要旨

内分泌かく乱に関わる化学物質と生体系との相互作用実験を相互に参照、比較、解析するためのデータベースを開発し、それに基づき3次元構造活性相関の基礎となる研究を行う。本年度はインターネットからデータベースにアクセスできるインターフェースを開発し、研究班内で利用を公開した。3次元構造活性相関については、エストロゲン受容体と甲状腺ホルモン結合タンパク質に焦点を絞って、分子動力学計算による結合定数の予測を進めている。

## 1. 研究目的

内分泌かく乱に関わる化学物質と生体系分子との相互作用（とくに結合）実験を相互に参照、比較、解析するための基盤となるデータベースを開発する。また、この開発過程で蓄積された知見を活用して、3次元構造活性相関の研究を行う。こうしたデータベースや理論手法の開発は実験研究とは相補的な関係にあり、実験研究の相互の比較や（プレ）スクリーニング試験を補う理論予測法開発の基盤となることが期待される。

## 2. 研究方法

我々はすでに、内分泌攪乱物質の候補物質、関連物質、参照物質に関するリストを、天然のホルモン、医薬品、植物エストロゲン、農薬、工業化学品、金属、環境中の汚染物質などのカテゴリーに分けて作成してきた。

一方で生体外からの化学物質が生体にどのような作用を及ぼすかを分子レベルで解析、予測するために、一般的な受容体データベース、細胞信号伝達系データベース(CSNDB)を開発し、これに共同研究者であるドイツの E. Wingender らの転写因子のデータベース(TRANSFAC)、ロシアの N. Kolchakov らの転写領域についてのデータベース(TRRD)を連結し、これらをインターネット上で利用可能な各種の遺伝情報、生体分子情報、代謝データベースなどとリンクした複合システムを開発してきた。

これらの既開発の情報基盤をベースとして、

内分泌かく乱作用に関係している生体内のリガンドと標的分子との結合に関する実験データを整理してデータベース化する。この際、各種の試験法の多様性に対応して、生物種差、系統株の違い、個体差（遺伝的多型）に配慮してデータを集める。さらに各種の分子モデリング手法を用いて、この結合の組み合わせごとの、分子の3次元相互作用モデルを検討する。ここで、計算法としては商品化されているパッケージソフトだけでなく、現在別プロジェクトとして開発中の精密な分子計算手法（フラグメント分子軌道法）も用いる。

## 3. 年次計画

平成10年

- (1) 内分泌かく乱化学物質の作用ごとに、生体分子との結合実験のデータを収集し、データベース化する。
- (2) 3次元構造活性相関研究に関しては、受容体構造が一部解析されているエストロゲンとリガンドとの結合モデルと、受容体の3次元構造が未知のダイオキシン類の構造と機能を検討する。

平成11年

- (1) 相互作用データベースのデータ内容と機能を充実する。また、スタンドアロンシステムである現在のデータベースを、インターネットで利用可能なようにして公開する。

- (2) エストロゲン受容体とダイオキシン類に関するモデリングを進めるとともに、甲状腺ホルモン(T4)と血液中のタンパク質(Transthyretin)との結合のモデリングを行う。

平成 12 年

- (1) 相互作用データベースの内容を充実する。
- (2) 内分泌かく乱化学物質と生体分子との結合の 3 次元モデリング研究を続ける。

#### 4. 結果

##### 4.1. 現在までの進捗状況

われわれはこの研究に着手する前に、内分泌かく乱化学物質の候補物質(約 150 物質)をリストアップし、このリストをもとに、これに化合物の識別情報、分子式、構造式、3 次元座標、物理化学的性質、生物作用、暴露情報などを収録したパラダイム化合物のデータベース(EDSD)を開発している。これらのリストを参照しながら、相互作用(結合)実験データベースのプロトタイプを ACCESS を用いて開発した。また、分子軌道法(Gaussian94)によりパラダイム化合物の精密な 3 次元構造を求めた。また、エストロゲン受容体の 3 次元構造を分子モデリングで吟味した。さらに、甲状腺ホルモン(T4)と血液中のタンパク質(Transthyretin)との結合計算モデルを作成した。

##### 4.2. Binding Affinity データベースの開発

本データベースは、理論および実験家を含めた研究者のために、内分泌かく乱化学物質(リガンド)と標的分子(受容体)との結合実験データを整理、格納して、検索に供することを目的としている。

昨年度は、データベース構造のデザインを行い、ACCESS 上に小規模のデータベースを開発した。本年度は格納データ数を大幅に更新した。同時に、異なる実験から得られた測定値を相互に比較可能とするために、相対的な結合値(Relative Binding Affinity:RBA 値)を導入した。更にインターネットから検索できるよう

に、Web インターフェースを開発した。

来年度は、RBA 値を構造活性相関研究に応用する予定である。

##### [データ数の更新]

昨年度は 13 の論文を情報源として、151 の実験レコードを格納した。本年は更に 20 の文献を調査して 967 レコードを追加した。この結果、現在は 1,118 レコードが格納されている。このうち結合阻害実験は 742 件、酵素誘導実験は 376 件である。文献検索では、PubMed を用いた。

##### [データ構造の更新]

本データベースは、異なる文献で報告された実験結果について、化合物名をキーワードとして横断的に検索できることが特徴である。このような機能は、内分泌かく乱作用が疑われる化合物の性質を一覧する為に、たいへん便利に利用できる。しかし、異なる文献で報告された実験結果については、実験系が異なるために、各々の測定値を直接比較できないという問題があった。この問題に関して、Bolger ら(Bolger et al., 1998)は相対的結合値(Relative Binding Affinity:RBA 値)の利用を提唱している。そこで我々も RBA 値を導入することにした。

RBA 値とは、対象とする受容体の生体内リガンドの IC50 値を 100 とした時の、それ以外の化合物の相対的な IC50 値であり、下記の式で計算される。

$$RBA = (IC_{50}/IC_{50} \text{ of E2}) \times 100$$

受容体が estrogen receptor の場合は、基準となる化合物はエストラジオールとした。受容体が Ah receptor の場合は、生体内リガンドが未知であるので、その実験でコントロールとして用いられている化合物(2378-TCDD)を基準とした。Aromatase の場合は androstenedione を基準とした。このようにして全体で約 120 個の RBA 値を追加した。

##### [システム構成の変更]

昨年度開発したシステムは、ネットワーク対応でなかったため、本年はインターネットを介

してデータベースにアクセスできるように、Web インターフェースを開発した。インターフェースは Microsoft Active Server Page を用いた。本データベースは、結合値の他に、生物種、反応系、観測系といった、さまざまな実験条件についても格納しており、これらの情報をキーワードとしても検索できることが特徴である。現時点で検索可能な情報は、Mode of Action (結合阻害実験か酵素誘導実験か)、化合物名、受容体名、生物種、反応系、実験方法、測定方法、観測方法である。全てのエントリーは、それが参照している文献名を介して、米国の文献データベース PubMed にハイパーテキストリンクされており、その場で文献のアブストラクトが参照できる。

#### [結果]

Binding Affinity Database はすでに試験的に公開されており、下記の URL からアクセスできる。

<http://hse.nihs.gov/jp/eddb/afdb/>

ただし利用については、登録者制度を取っている。これは将来ユーザとの間で意見交換を行い、システムの発展に役立てるためである。インターネットからの利用の検索画面と検索結果を図 1 と図 2 に示す。これは“e”で始める受容体と“ta”で始まる化合物との間の結合阻害実験で、ヒトにおける実験結果であり、EC50 値を測定している実験のみを検索した結果である。結果は表として表示される。現在、このデータベースを我々が別に開発している受容体のデータベースと連携することを試みている。(参考文献：Bolger, R. et al., Environ Health Perspect. (1998) 106, 551-7.)

### 4.4. 3次元構造活性相関

#### 4.4.1. 基本的なアプローチ

内分泌かく乱化学物質は、それ自身も、またその作用メカニズムも多様であるため、いわゆる統計解析手法に基礎をおく伝統的な構造活性相関の手法を、内分泌かく乱化学物質(候補)全体に適用することはできない。そこで我々はまず、我々が作成した内分泌かく乱化学物質の

リストと構造作用データベースと相互作用データベースを参照しながら、相互作用メカニズムが分子の3次元構造から解析できる3つのケースを研究の対象とした。この3つのケースとは、

- (1) 受容体の3次構造は未知であるが、リガンドとその作用データが比較的蓄積されている、Ah レセプターとダイオキシン類の構造と活性、
- (2) 3次元構造の一部が解析されているエストロゲン受容体のモデリングとそのリガンドとの結合、
- (3) 3次元構造が決定されている、甲状腺ホルモン(T4)と結合する血液中のタンパク質(Transthyretin)

である。昨年度はこれらについて、並行してモデリングを進めたが、本年は特に(2)と(3)に焦点を絞って研究を行った。

#### 4.4.2. エストロゲン受容体とその結合

エストロゲン受容体に結合する内分泌かく乱候補物質につき、パッケージソフトである Chem3D Pro の中の分子力場 MM2 を用いた初期構造を生成し、これを非経験的分子軌道法計算のパッケージソフトである Gaussian 94 によって最適化した。ここで、計算方法としては HF/6-31G\*を用いた。さらに、この計算で生成された電子密度を用いてリガンド化合物分子の静電ポテンシャルを計算し、等電面を立体的に表現する図を作成した。現在、この図を用いてレセプター側の認識部位を推定することを試みている。

またエストロゲン受容体のリガンド結合部位については、リガンドとの複合体のX線結晶解析構造が発表されており、これらの構造を用いて、内分泌かく乱候補物質とエストロゲン受容体との結合定数の計算を行っている。結合定数の計算には Insight II/CHARMm を用い、分子動力学計算を行う予定である。さらに、現在開発中のフラグメント分子軌道法プログラム ABINIT-MP を用い、リガンド結合部位のファーマコフォアとリガンドとの相互作用の詳細な解

析を予定している。

#### 4.4.3. Transthyretin との結合モデル

現在甲状腺ホルモンと血中結合タンパク質について、Insight II/ CHARMM を用いた分子動力学計算を行い、結合定数の予測を行っている。今後はダイオキシン類と血中結合タンパク質について同様に計算を行い、ダイオキシン類の体内動態について検討を行なう予定である。

#### 5. 業績目録

(学会発表)

- Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano and Tsuguchika Kaminuma: Application of the Receptor Database (RDB) to the Endocrine Disruptor Problem. The 2nd International Workshop on Advanced Genomics. Chiba, 27-28, April 1999
- Tsuguchika Kaminuma, Takako Takai-Igarashi, Tatsuya Nakano, and Kotoko Nakata: Information and Computing Infrastructure for Endocrine Disruptors, Current Status and Strategy on Endocrine Disruptors, 1999, Korea Food and Drug Administration, Korea, 17 June 1999
- Tsuguchika Kaminuma, Takako Takai-Igarashi, Tatsuya Nakano, and Kotoko Nakata: Modeling of Signaling Pathways for Endocrine Disruptors, Indianapolis, U.S.A., August 1999
- Kotoko Nakata, Tatsuya Nakano and Tsuguchika Kaminuma: Hormone Receptors in the Receptor Database (RDB), XIII International Biophysics Congress. New Delhi, India, 19-24 September 1999
- Kotoko Nakata, Takako Takai and Tsuguchika Kaminuma: Receptor Database (RDB) in 1999, Genome Informatics 1999, Tokyo, 14-15, December 1999
- 神沼二真、中野達也、高井貴子、大竹千代子、瀧明子、山本美智子、山本都、長谷川式子、小峰啓、中田 琴子、内分泌かく乱物質のデータ知識ベース、第 25 回環境トキシコロジーシンポジウム (1999.10-21-22、

名古屋)

- 神沼二真、中田琴子、中野達也、高井貴子、山本都、大竹千代子、瀧明子、山本美智子、長谷川式子、小峰啓、内分泌かく乱物質研究の情報計算基盤の構築、日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会)、(1999.12.9-10 神戸)
- 中田琴子、中野達也、高井貴子、神沼二真: 内分泌攪乱化学物質と受容体データベース、日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会)、(1999.12.9-10 神戸)
- 神沼二真、ゲノム研究の医薬品適正使用へのインパクト、日本薬学会 1120 年会シンポジウム (2000.3.28 岐阜)
- 中野達也、神沼二真、上林正巳、佐藤智之、秋山泰、北浦和夫: Ab initio ペア近似法による分子計算プログラムの開発、1999 計算化学討論会 (1999.5 東京)
- 中野達也、神沼二真、上林正巳、佐藤智之、秋山泰、北浦和夫: Ab initio ペア近似法による巨大分子計算プログラムの開発、分子構造総合討論会 (1999.9 大阪)
- 中野達也、神沼二真、上林正巳、佐藤智之、秋山泰、北浦和夫、Ab initio ペア近似法による巨大分子計算プログラムの開発、第 22 回情報化学討論会 (1999.11.10-12 米沢)

(論文発表)

- Kotoko Nakata, Takako Takai and Tsuguchika Kaminuma: Development of A Receptor Database: Application to the Endocrine Disruptor Problem. *Bioinformatics*, vol.15, pp.544-552 (1999)
- Tsuguchika Kaminuma, Takako Takai-Igarashi, Tatsuya Nakano, and Kotoko Nakata, Modeling of Signaling Pathways for Endocrine Disruptors, *BioSystems*, (2000), in press.
- K. Kitaura, T. Sawai, T. Asada, T. Nakano, and M. Uebayasi: Pair Interaction Molecular Orbital Method: An Approximate Computational Method for Molecular Interactions, *Chem. Phys. Letters*, vol. 312, pp.319 (1999)
- K. Kitaura, E. Ikee, T. Asada, T. Nakano, and M. Uebayasi: Fragment Molecular Orbital Method:

An Approximation Computational Method for Large Molecules, Chem. Phys. Letters, vol.313, pp.701 (1999)

- T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato, Y. Akiyama, M. Uebayasi, and K. Kitaura: Fragment Molecular Orbital: Application to polypeptides Chem. Phys. Letters, in press.
- 神沼二眞：内分泌かく乱化学物質リストの波紋、食品衛生学雑誌 Vol. 40, No.5, pp-374-377 (1999)
- 神沼二眞、国際協力による化学物質安全性情報提供事業、化学物質と環境 (1999)
- 神沼二眞：内分泌攪乱化学物質問題へのコンピュータの役割、資源環境対策 Vol135, No. 11, pp. 16-21 (1999)

Endocrine - Microsoft Internet Explorer

Mode of Action  
 Competitive Binding  Enzyme Induction

Ligand and Receptor  
 Type in a box or click HELP to find out proper words.  
 Biological Molecule: Receptor or Induced Enzyme  
 HELP  
 Xenobiotic Chemical  
 HELP

Species (Default is all species)  
 All  Human  Mouse  Rat

Experimental Conditions  
 Type in a box or click HELP to find out proper words.  
 Reaction Mixture  HELP  
 Method  HELP  
 Measurement  EC50 HELP  
 Detection  HELP

検索

図 1. インターネットからアクセスした Binding Affinity Database の検索画面。

Binding Affinity Database Query Results

This database is developed by bioinformatics group of NIBS. Any comments should be sent to take@nibs.co.jp.

[Explanation for Database Fields Names.](#) [New Search](#)

Competitive Binding Experiments

RECEPTOR	CHEMICAL	SPECIES	CELL	REACTION	METHOD	ENDMOL	MEASUREMENT	UN
ER alpha	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER alpha	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER alpha	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER alpha	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER beta	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER beta	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM
ER beta	tamoxifen	human	293 kidney epithelial cell (transfected)	ERalpha and ERbeta extract	competitive receptor binding assay	E2	EC50	nM

図 2. インターネットを介したデータベースの検索結果の例。

健康影響に関する情報収集と評価

分担研究者 関沢 純 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部情報第一室長

研究要旨

内分泌攪乱化学物質の健康影響を考える上で感受性や、発達過程における不可逆性の点から考えて最も重要性が高いと思われる胎児期曝露の情報を集中的に検索し、化合物毎に整理した。これらを観察された健康影響とその背景メカニズムの検討を行えるように、物質特定情報、動物種試験条件などの情報、観察された影響情報、文献特定情報に分類し、整理したデータベースを作成した。このうち植物ホルモン物質、有機錫およびダイオキシンについて詳細な検討を行った結果を公表した。

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質に関して、関連情報は膨大に存在し、殊に環境、食品中や食品容器からの溶出などの分析データはかなり集約されてきたが、さらに重要なこととして健康影響リスク評価にクリティカルな情報の整備と、その内容の厳密な評価検討が要求されている。現在問題とされている物質を中心にそれら物質のリスク評価にクリティカルな情報を収集、データベースに整理し評価を加え、本研究班における試験法開発を支援する。

今年度は生殖・発達に不可逆的な影響を及ぼす可能性が高いとされる胎児期曝露による影響データの情報を中心に収集し、生殖・発達への影響リスクを評価し、研究班における試験法の確立の参考とする。

前年度における解析手法を踏襲し、人における健康影響と影響メカニズムのデータ、曝露のデータも総合して、いくつかの関心が持たれている物質についておよそのリスクレベルを推測する。

B. 研究方法

次のように行った。

(1) Internet Grateful Med (NLM) の Toxline を Web 上で使用し、1985 年～1999 年の文献を CAS 登録番号と 4 つのキーワード (fetus, embryo, fetal exposure, reproduction) を組み合わせて検索した。

(2) 検索の対象化合物は環境庁が内分泌攪乱の可能性を持つ化学物質としてリストした化合物に植物エストロゲン物質を追加し、CAS 登録番号で 91 種類の物質とした。

(3) 検索結果を基に、物質特定、試験と影響の特定、文献特定のための項目を持つデータベースを作成した。

(倫理面への配慮) 特に必要なし

C. 研究結果

内分泌攪乱化学物質の健康影響を考える上で感受性や、発達過程における不可逆性の点から考えて最も重要性が高いと思われる胎児期曝露の情報を集中的に検索し、化合物毎に整理した。これらを観察された健康影響とその背景メカニズムの検討を行えるように、物質特定情報、動物種試験条件などの情報、観察された影響情報、文献特定情報に分類し、整理したデータベースを作成した(添付表1, 2参照)。このうち植物ホルモン物質、有機錫およびダイオキシンについて詳細な検討を行った結果を公表した。

D. 考察 E. 結論

問題とされている物質を中心に、内分泌攪乱化学物質の健康影響の評価にとり、クリティカルと考えられる胎児期曝露による影響を中心とした情報を中心に収集し、試験の条件、メカニズムの考察などの面から考察を加え、系統的な整理を行った。今後胎児曝露データベースの内容を充実し、さらに有用なものとする予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1 関沢 純, 大屋幸江(1999)植物エストロゲン物質の日本人の健康への定量的リスク・ベネフィット解析、日本リスク研究学会誌、11(1) 75-82

2. 学会発表 (発表誌名巻号・頁・発行年)

1. Sekizawa J, Imai K, Ohya Y (1999) Uncertainty analysis of dioxin toxicity – its implication to human risk assessment, The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs -DIOXIN '99-, September 12-17, 1999, Venice

2. Sekizawa J (1999) Integrated approach for the risk assessment of chemicals – case studies on endocrine disruptors, The 2nd Pan-Pacific Conference on Pesticide Science, October 24-27, Hawaii

3. Sekizawa J (1999) An example of integrated approach for health and environmental risk assessment: case of organic compounds, The 3rd International Water Association Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants – ECOHAZARD '99-, December 5-8, Otsu

4. Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins, International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors, December 9-10,

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. 実用新案登録 なし

表 1 検索結果 (配列は50音順)

A/B 胎児曝露に関する文献リストにBのうちAを入力

\* 名称で検索したもの

\*\* いくつかの化合物をCAS登録番号で検索した結果をまとめた。

〈その他〉は環境ホルモン作用で集めた文献

アルキルフェノール類	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	その他	文献リスト に <input type="checkbox"/>
4-n-オクチルフェノール	2	1	5	19		
4-t-オクチルフェノール	1/1	1	1	27		0
ノニルフェノール(CAS 25154-52-3)	1	2	3/8	50		3
ノニルフェノール(CAS 104-40-5)	2	2	5	45		
4-t-ブチルフェノール	1	1	1	11		
4-n-ヘキシルフェノール	0	0	0	1		
4-ヘプチルフェノール	0	1	0	1		
4-n-ペンチルフェノール	0	0	0	1		

スチレンオリゴマー	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	その他	文献リスト に <input type="checkbox"/>
スチレン2量体	0	0	0	0		
スチレン3量体	0	0	0	0		

フタル酸エステル類	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	その他	文献リスト に <input type="checkbox"/>
フタル酸ジ-n-ペンチル	0	1	0	22		
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	36	71	9/38	211		8
フタル酸ジ-n-ブチル	5/15	40	7/19	109	1/1	13
フタル酸ジエチル	3/4	1/15	2/9	33		2
フタル酸ジシクロヘキシル	0	0	0	0		
フタル酸ジプロピル	0	0	0	6		
フタル酸ジヘキシル	1/1	1	0	17		0
フタル酸ブチルベンジル	4/15	5/25	3/8	69	3/3	12

分類できないもの	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	その他	文献リスト に <input type="checkbox"/>
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	1/3	3	1/3	15		2
PCB	21	63	32	233		
ゲニステイン*	5/5	22/22	8/8	81		28
ダイオキシン*	263	559	370	1297	8/8	8
ダイゼイン*	1	3	2	43		
ビスフェノールA	4#	10	14#	77		
ブチルベンゼン n-	1	1	2	4		
ベンゾ(a)ピレン	147	459	128	612		
ベンゾフェノン	1	2	1	4		
ポリ臭化ビフェニール	0	2	1	1		
有機スズ**	20	42	22	176	19/19	19

農薬と有機塩素化合物	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	その他	文献リスト に <input type="checkbox"/>
o, p, - DDD	0	0	0	0		
p, p, - DDD	12	63	19	296		
o, p, - DDE	5	9	4	73		
p, p, - DDE	30	126	44	734		
o, p, - DDT	8	27	18	191		
p, p, - DDT	42	181	68	1038		



表2 胎児曝露に関する文献リスト (部分)

\* 関連の有無または詳細を記入

# 人についての文献で記載

\*\* 文献入手済み

影響の種類: In Vitro = V, 生殖毒性 = R, 発達毒性 = D, 免疫毒性 = I, 人 = H, その他 = O

Species (strain): sex (Number)	Exposure duration	Dose mg/kg/day	Route (media)	影響の種類	化合物名称	CAS番号	発行年	著者	タイトル	書誌事項
Rat (CD): F (10)	From GD3 to PND20	0.250, 500, 750	Gavage (corn oil)	R	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1998	Mylchreest E, Cattley RC, Foster PM	Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to Di(n-butyl) phthalate: an antiandrogenic mechanism?	Toxicol. Sci. 43(1): 47-60
Rat (Wistar): F (10)	One of GD 6-16	1500	Gavage (olive oil)	D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1997	Ena M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y	Developmental Effects of Di-n-butyl Phthalate after a Single Administration in Rats	Journal of Applied Toxicology 17(4): 223-229
Rat (Wistar): F (10)	GD0 to 11, or GD0 to GD 7,9 or	2.0% in diet	Feeding ad libitum	D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1997	Ena M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y	Embryolethality following Maternal Exposure to Dibutyl Phthalate during Early Pregnancy in Rats	Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 58(4): 636-641
				R	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1997	Mylchreest E & Foster P MD	Reproductive Tract Malformations in Rats Following in Utero and Lactational Exposure to Di-n-butyl Phthalate	Teratology 55(1): 65
				R	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1995	Kersemaekers WM, Roelvelid N, Zielhuis GA	Reproductive disorders due to chemical exposure among hairdressers	Scandinavian Journal of Work Environment & Health 21(5): 325-334
				D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1993	Ena M, Amano H, Itami T, Kawasaki H	Teratogenic Evaluation of Di-n-butyl Phthalate in Rats	Toxicology Letters 69(2): 197-203
Rat (Wistar):		1.25, 2.5, 5.0% in diet	Feeding ad libitum	D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1997	Harazono A, Kawashima K	Developmental toxicity evaluation of phthalic acid, one of the methabolites of phthalic acid esters, in rats	Toxicology Letters 93: 109-115
				D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1986	Thomas JA, Wienckowski DB, Gilles BA, Thomas MJ, Youkilis EJ	Effects of Phthalic Acid Esters (PAEs) on the Neonate and Aspects of Teratogenic Actions	Environmental Health Perspectives 65: 243-248
Rat (Wistar):		0.5, 1.0, 2.0% in diet	Feeding ad libitum	D	n-Dibutyl phthalate	84-74-2	1998	Ena M, Miyawaki E, Kawashima K	Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butyl phthalate following administration during late	Toxicology Letters 98, ISS 1-2: 87-93

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

内分泌かく乱物質に関する用語集作成

分担研究者 長村義之 東海大学医学部病態診断系病理学部門

菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所・毒性部

研究要旨：

広い分野の知識を要求される学際的問題であるところの内分泌かく乱物質問題は、他分野の研究者との学術的連携の際にも、共通認識の希薄さがその促進の妨げとなっていることが考えられる。本研究班では内分泌かく乱物質問題に関する用語集を学際的立場から、「内分泌かく乱物質問題用語集（仮称）」の編集を開始した。これは、内分泌かく乱化学物質の影響に関する試験法の開発に関する研究結果を広く一般に報告するために計画された「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」との連関を重視して行われる。

A. 研究目的

内分泌かく乱物質問題は、その生体影響の作用メカニズムを主に核内受容体を介する遺伝子転写活性制御の基礎生物学的問題に根ざしつつ、その影響がヒトや動物の生殖・後世代影響に如何に現れるかを検討することを最大の目標としているところの、広い分野の知識を要求される学際的問題である。

内分泌かく乱物質問題は、一方で世論の直接的関心と呼び、研究者は時としてマスメディアへの対応に迫られるが、そのときの障害の一つに、この学際的知識の普及の難しさが挙げられる。また、他分野の研究者との学術的連携の際にも、共通認識の希薄さがその促進の妨げとなっていることが考えられる。

そこで、本研究班では、試験法開発と平行して、内分泌かく乱物質問題に関する用語集を学際的立場から、特に内分泌学の権威の最新知識をベースとして、従来の毒性学、バイオ医薬品などの新世代医薬品に対応した新しい毒性学、遺伝子改変動物学を含む実験動

物学、内分泌かく乱化学物質の研究過程で明らかとなりつつある点、などの幅広い知識を結集し、「内分泌かく乱物質問題用語集（仮称）」の編集を計画した。これは、内分泌かく乱化学物質の影響に関する試験法の開発について、この研究結果を広く研究者のみならず一般に報告するために、現在編集進行中である、今井班班員等の研究成果を結集した、「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」と並行して進める。

B. 研究方法

「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」について班員を主体とする著者からの原稿中に現れる技術用語を集積し、用語集の核項目とした後、米国 EPA 等の報告書を照合し、漏れの無い用語項目の構築する。

C. 研究結果

今年度は、「内分泌かく乱化学物質試験法提

要（仮称）」について班員を主体とする著者からの原稿の取りまとめと校正を行い、次年度内出版に向けての最終段階へ入った。「内分泌かく乱物質問題用語集（仮称）」については、「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」原稿中に現れる技術用語を集積し、用語集の核項目とした後、米国 EPA 等の報告書を照合し、漏れの無い用語項目の構築を開始した。

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

菅野 純、内分泌かく乱化学物質の生物影響、  
ファルマシア、35、219-223、1999

菅野 純、内分泌攪乱化学物質について-生物学的立場から-有機合成化学協会誌、57、  
35-39、1999

Kanno J, Ward JM, Maronpot RR,  
Mechanisms of chemically induced  
thyroid follicular carcinogenesis, in Prog  
Clin Biol Res, 394,: Cellular and Molecular  
Mechanisms of hormonal carcinogenesis  
/ Environmental Influences, (editors:  
James Huff, Jeff Boyd, J Carl Barrett),  
Wiley-Liss, Inc. press, 353-398, 1996

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

人の健康影響に関する検査法等に関する調査研究（実験系の開発とデータベース）

分担研究者 菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所・毒性部

研究要旨：

内分泌かく乱物質問題には、対象化学物質の数が膨大であるという点と、核内受容体を介する遺伝子転写活性制御の基礎生物額であり、その影響のエンドポイントの問題である等の広い分野の知識を結集した上で、対処しなければならないという問題点がある。そのため、内分泌かく乱化学物質の影響に関する試験法の開発に関する研究結果を広く一般に報告するために関連の「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」の編集を計画したものである。

A. 研究目的

内分泌かく乱物質問題には、その生体影響の有無を判定すべき対象化学物質の数が膨大であるという問題点の他に、核内受容体を介する遺伝子転写活性制御の基礎生物学的問題から、その影響がヒトや動物の生殖・後世代影響に如何に現れるかを検討するエンドポイントの問題まで、広い分野の知識を結集した上で、対象物質あるいは物質群に対処しなければならないという問題点がある。

本研究班の目的は、広い科学的知識を基礎にした内分泌かく乱化学物質の影響に関する試験法の開発である。この研究結果を広く研究者のみならず一般に報告するために、関連の研究成果を結集した、「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」の編集を計画した。

B. 研究方法

内分泌かく乱化学物質の影響に関する試験法の開発について、この研究結果を広く研究者のみならず一般に報告するために、今井班班員等の研究成果を結集した、「内分泌かく乱化学物質試験法提要（仮称）」の編集を遂

行中である。

C. 研究結果

今年度は、班員を主体とする著者からの原稿の取りまとめと校正を行い、下記のごとき最終目次のもと、次年度内出版に向けての最終段階へ入った。（別紙参照）

F. 研究発表

1. 論文発表

菅野 純、内分泌かく乱化学物質の生物影響、ファルマシア、35、219-223、1999

菅野 純、内分泌攪乱化学物質について-生物学的立場から-有機合成化学学協会誌、57、35-39、1999

Kanno J, Ward JM, Maronpot RR, Mechanisms of chemically induced thyroid follicular carcinogenesis, in Prog Clin Biol Res, 394,: Cellular and Molecular Mechanisms of hormonal carcinogenesis /Environmental Influences, (editors:

James Huff, Jeff Boyd, J Carl Barrett),  
Wiley-Liss, Inc. press, 353-398, 1996

「内分泌攪乱物質の毒性試験法（仮題）」内容一覧

項目	分量	執筆者
標準的な試験法		
1. 試験管内試験		
1. 1. 無細胞系受容体結合試験	15	中井 誠
参考：BEACON を用いた方法	10	近藤 昭宏
1. 2. 酵母を用いたレポーター遺伝子発現試験	15	K. Gaido
1. 3. 酵母を用いた two-hybrid 試験	15	西原 力
1. 4. MCF-7 細胞を用いた細胞増殖試験	15	K-S. Kang
1. 5. ヒト由来ホルモン受容体導入細胞系	15	金子 秀雄
1. 6. 下垂体株細胞を用いた試験系	15	藤本 成明
2. ヒト影響モデルとしての動物試験		
2. 1. 子宮肥大試験および Hershberger 試験		
2. 1. 1. 原理	10	菅野 純
2. 1. 2. 子宮肥大試験 - 卵巣摘出法	10	松島 裕子
2. 1. 3. 子宮肥大試験 - 幼若ラット法	10	永井 賢司
2. 1. 4. Hershberger 試験	10	金子 豊蔵
2. 2. 28 日間連続投与試験	15	広瀬 雅雄
2. 3. 子宮内曝露試験	15	鈴木 勝士
2. 4. 一世代生殖毒性試験	15	鈴木 勝士
2. 5. 二世世代生殖毒性試験	15	川島 邦夫
2. 6. 多世代繁殖毒性試験	15	青山 博昭
3. 環境生物への影響を指標とする試験		
3. 1. 海産魚を用いる試験法	15	小山 次朗
3. 2. メダカを用いる試験法	15	萩野 哲
3. 3. 線虫を用いる試験法	15	有蘭 幸司

・ 新たな試験系の開発		
1. 胚幹細胞を用いた検討	15	高木 篤也
2. 培養細胞を用いた検討	15	塚田 俊彦
3. 神経幹細胞を用いた検討	15	友岡 康弘
4. 胎生期および新生児期曝露 - 視床下部神経核の構造変化	15	長尾 哲二
5. 哺乳動物培養胚を用いた中枢神経に及ぼす影響	15	渡辺 敏明
6. 胎生期および新生児期曝露 - 生殖異常	15	長尾 哲二
7. 哺乳動物培養胚を用いた生殖細胞に及ぼす影響	15	渡辺 敏明
8. 免疫系への影響の評価系の検討	15	松島 綱治
9. 発がんプロモーション作用の検討	15	白井 智之
10. 甲状腺腫瘍に対する影響	15	広瀬 雅雄
11. ヒト代謝活性化系および不活性化系導入発現細胞	15	大野 泰雄
12. イムノアッセイによる迅速測定とスクリーニング	15	矢内原 昇
付録：OECD バリデーションプロトコルの解説	40	菅野 純 有蘭 幸司

合計 480 枚

分量は 400 字詰め原稿用紙換算枚数で、図表も含む（図表は 1 点 1 枚と換算する）

## 編集

今井 清 食品薬品安全センター秦野研究所 副所長  
長村 義之 東海大学医学部 教授  
加藤 正信 三菱化学安全科学研究所 技師長  
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所 室長

## 執筆者

青山 博昭 (財) 残留農薬研究所  
有蘭 幸司 熊本県立大学環境共生学部  
大野 泰雄 国立医薬品食品衛生研究所  
金子 豊蔵 国立医薬品食品衛生研究所  
金子 秀雄 住友化学工業生物環境科学研究所  
川島 邦夫 国立医薬品食品衛生研究所  
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所  
小山 次朗 水産庁中央水産研究所  
近藤 昭宏 宝酒造バイオ研究所  
白井 智之 名古屋市立大学医学部  
鈴木 勝士 日本獣医畜産大学  
高木 篤也 国立医薬品食品衛生研究所  
塚田 俊彦 国立がんセンター研究所  
友岡 康弘 東京理科大学基礎工学部  
永井 賢司 三菱化学安全科学研究所  
中井 誠 化学品検査協会安全性評価技術研究所  
長尾 哲二 食品薬品安全センター秦野研究所  
西原 力 大阪大学大学院薬学研究科  
萩野 哲 住化テクノサービス  
広瀬 雅雄 国立医薬品食品衛生研究所  
藤本 成明 広島大学原爆放射能医学研究所  
松島 綱治 東京大学大学院医学系研究科  
松島 裕子 国立医薬品食品衛生研究所  
矢内原 昇 矢内原昇研究所  
渡辺 敏明 山形大学医学部  
Kevin Gaido 米国 CIIT  
K-S. Kang 韓国ソウル大学

(五十音順)