

原文 25-36 ページ 分担 関沢 純

(1)各国、国際機関の手法

(A)カナダ保健省 (Meek et al. 1994)

人の健康への発癌性、非発癌性の両方の影響についてカナダ環境保護法により次のように決めている。

NOAEL or LOAEL or Benchmark dose / Uncertainty Factor (UF) = TDI or TC
UF はケースバイケースに以下の組み合わせにより選ぶが最大 10,000 を超えない

- 1-10 それぞれ種間と個体間の変動について
- 1-100 データベースの質(発生、慢性、生殖毒性データの欠如、LOAELの使用、不適切に行われたクリティカルな影響についての試験など)
- 1-5 他の化合物との相互作用を示す十分な証拠
催奇形性のような不可逆的な影響が認められるときは例外的に追加のUFを適用

(B)IPCS/WHO

非発癌性影響について評価手法は類似しているが、用語に違いがある

JECFASafety Factor (SF),
Acceptable Daily Intake(ADI) /
Tolerable Intake (TI)

Environmental Health Criteria
(IPCS)(IPCS, 1994.... EHC 170).....

Uncertainty Factor (UF), Guidance Values (GV) / Tolerable Intake (TI)

NOAEL or LOAEL / SF or UF = ADI or GV
UF の既定値は Interspecies、Inter-individual とともに 10 でその中味は下記の表による (Renwick, 1993)

既定値	Interspecies	Inter-individual
Toxicokinetics	2.5	3.16
Toxicodynamics	4	3.16

さらに LOAEL の使用に対して不定の、またデータの適切さに対して 1-100
重篤な不可逆的影響に対して不定のUFを適用
最大 10,000 を超えない

(C)RIVM (オランダ国立公衆衛生環境研究所) (Rademaker & Lidiers, 1994)

非発癌性影響について評価手法は類似しているが、用語に違いがある

NOAEL or LOAEL / Uncertainty Factor = ECNC

ECNC:

Estimated-Concentration-of-No-Concern
UF の既定値は必要に応じて種間と個体間の変動について、それぞれ 10

データセット、曝露期間および LOAEL 使用に応じて 10

データセットが不十分な場合には別のUF

(D)米国 (ATSDR FDA EPA)

用語の違い

	ATSDR	FDA	EPA
不確實性係数	UF	SF	UF (+MF)
許容摂取量	MRL	ADI	RfD/RfC

EPA (Barnes & Dourson, 1988; Dourson, 1994; Jarabeck, 1994; US EPA, 1994)

UF: Intra-species, Inter-species, From subchronic to chronic, LOAEL to NOAEL, Database incompleteness to address all possible adverse effects

MF : Others $10 \geq$

Total : $10,000 \geq$

IRIS : Examples of composite UF
(US EPA, 1996a)

Appendix B: Summary of the Meeting Agenda

The purpose of the meeting is to assist Health Canada, U.S.EPA and others in improving the existing methodology for applying uncertainty factors in non-cancer risk assessment, and specifically in developing guidelines for the use of data in modifying default uncertainty factors. The intent of the workshop is to develop draft material using a small group of scientists who are very familiar with the existing data-derived schemes. Material prepared at the workshop will afterwards be used in other, larger workshops on similar topics.

Draft Agenda:

March 25th, 1999

9:00 Welcome and Introductions

9:15 Overview of the Project
(Meek/Ohanian)

9:30 Presentations of relevant work
(all)

Noon Lunch

1:00 Development of criteria for data use in animal to human toxicodynamics

3:00 Development of criteria for data use in animal to human toxicokinetics

5:00 Adjourn

March 26th, 1999

9:00 Development of criteria for data use in human toxicodynamics

11:00 Development of criteria for data use in human toxicokinetics

Noon Working Lunch

1:00 Outstanding issues

2:00 Adjourn

(2) 討論のメモ

(A) はじめに

- UF の判断基準の進展
- FQPA による見なおし
- Cancer / Non Cancer の融合
- データに基づくスキームの適用に際して、Clearance, AUC, PBPK 利用の判断基準をよく理解せずに使う傾向
- ボロンの事例研究： 評価の対象とする時間の違い (4 時間と 4 8 時間)
- クリティカルエンドポイントと、データを基にした不確実性係数の適用がマッチしているか？ 推定に用いた動物種は同じか？ 用いた組織は適切か？ 濃度は適切か？
メカニズムはマッチしているか？
- 組織間のこれまでの手法について
 - IPCS： judgement based
 - WHO 飲料水基準： data derived
 - 理想は、Dose dependent UF
- 動物と人のキネティクスは dose が TDI 推定の場合に近いレベルで比べる
- 感受性の高いサブグループ (2 相性の場合) の扱いについて
- ADME に基づく key kinetic parameter を使う

(B) 変動を記述するための最小データセットは？

(B-1) 動物から人への外挿におけるトキシコダイナミクスの扱い

- インビトロではデータが比較可能となるように条件を設定するための判定基準
 - 代謝における遺伝的多形性はないか？
 - 人の組織がインビボを反映するものか？
 - 動物におけるクリティカルエンドポイントが人にふさわしくない例
Peroxisome proliferator が関わる時
 - 人の代わりにサルのインビトロデータを用いる問題
- 人における NOAEL を判定できない時に人と動物の間で同様な影響が見られた濃度を比較する。
 - ダイナミクスの比較がクリティカルエンドポイントにふさわしいこと
- データに基づく判断をくだすために
 - どの程度のデータが必要か？
 - 年齢と性の適切さ
 - 試験数の問題よりも例数が適切にあること
 - 3 用量以上で SD が 50% 以下であること
 - 再現性と一貫性
 - クリティカルな影響の種間での一致

種間のクリティカルなバイオマーカーの一致

人と動物で変動の範囲の比較

統計的に有意な違いの確認

人のデータと動物のデータが同じラボでとられていること

平均的な人と感受性の高い人における変動の比較

Nitrate の例 (大人と子供の感受性の違い)

(C-2) 平均的な人と感受性の高い人におけるキネティクスの比較

(B-2) 動物から人への外挿におけるキネティクスの扱い

- 細胞内代謝はダイナミクスとして扱う
- 生体内の代謝一般はキネティクスとして扱う
- 人のデータが環境中のバックグラウンドレベルにおけるキネティクスであること
- 種間の ADME の比較は、PBPK における適切な定量的データがあるか、動物と人のキネティクスデータがしっかりしている時にのみ有用

(C) 平均的な人と感受性の高い人の間ダイナミクスの違いについて

(C-1) 平均的な人と感受性が高い人のダイナミクスは適切なバイオマーカーを用いて比較

人のダイナミクスのデータは中央値と限界値の違いを定量的に説明できること

組み合わせ試験

感受性の高い人のデータ

より良い感受性の代替マーカー

見たリスク評価における不確実性の事例研究

(1) 分担 西川 秋佳

論文名

Lee, PC, Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rats. *Endocrine* 9: 105-111, 1998.

論文の要旨

雄ラットの新生児に nonylphenol (NP) を投与した結果、精巣、精巣上体、精嚢腺および前立腺腹葉の大きさが減少し、潜伏睪丸の発生頻度が増加した。31日齢で調べた結果、潜伏睪丸の頻度は溶媒対照群で0%であったのに対して、投与群では60.7%であった。NPの影響は用量依存性にみられた。これらの影響は、一日当たり0.8 mg/kg以上の15日間にわたるNPの投与の場合にのみ認められた。新生時期の雄性生殖器の発生過程において、NPによって障害を受けやすい重要な時期が存在した。すなわち、変化はNPが13日齢よりも前に投与された場合に観察され、13日齢以降の投与では観察されなかった。エストロゲンレセプターに特異的なアンタゴニストであるICI182,780の同時投与が精巣および雄副生殖器におけるNPの影響を阻止したことから、NPはエストロゲンレセプターを

介して雄性生殖組織に作用することが判明した。新生時期にNPを投与した雄ラットは、若い受胎可能な雌を妊娠させる能力を大幅に減少させた。我々の成績は、新生児雄ラットへのNPの曝露が生殖器の発生を潜在的に障害し、結果として生殖活動に影響することを示唆する。

この論文におけるデータの不確実性要因

1. いくつかの実験が組み合わされているが、動物数が明確にされていないものがある。明記されている場合でも動物数は多くない。
2. 新生児期投与の場合に共通して問題となることの一つに母体間のばらつきがあるが、それをどのように調整したか明らかでない。
3. 要旨に記載されている潜伏睪丸の頻度が本文と若干異なる。
4. 新生児曝露であるから、乳汁を通しての経口摂取が想定されるが、投与経路として腹腔内投与が用いられている。
5. メカニズムとして、エストロゲンレセプターを介する可能性が示唆されたが、考察にも触れられているように他の成長因子およびそのレセプターを介する機序をこの実験からは除外できない。

(2) 分担 三森 国敏

論文名

Chapin R.E. et al.: The effects of 4-nonylphenol in rats: A multigeneration reproduction study. Toxicological Sciences 52: 80~91 (1999)

緒言

界面活性剤として広く使用されている alkylphenol ethoxylates の約 80% を占める nonylphenol ethoxylate (NPE) は、使用後に排液処理の段階で加水分解され、nonylphenol (NP) になる。NP が河川に流出すると汚泥中に移行し、川底で濃縮していく。NP は *in vitro* 試験でエストロゲン依存性の MCF-7 細胞の増殖を刺激したり、培養したマスの肝細胞でビテロゲニン産生を刺激するなどの弱いエストロゲン作用を示すことが報告されている。しかし、これに関する哺乳動物での長期投与試験成績はほとんど報告されていない。

方法

エストロゲン作用物質は、胎仔の発達および生後発育期間中に曝露されることにより

最も強力に作用することが知られていることから、今回、NP を SD ラットに 4 世代にわたり 200、650、2000ppm の濃度で混餌投与し、生殖器発達および生殖能への影響についてその種類および程度を検討した。

結果

NP の実質投与量は、低 (200ppm)、中 (650ppm) および高用量 (2000ppm) でそれぞれ 9~35、30~100 および 100~350 mg/kg/日の範囲にあった。曝露量は若いラットの方が多かった。剖検は成熟ラット (F₀、F₁、F₂) および生後 21 日齢ラット (F₁、F₂、F₃) について行った。最も高齢の F₃ ラットは生後 55~58 日齢で屠殺した。表 1 に実験結果の概要が示されている。体重増加が全世代の 650 または 2000ppm 群で 8~10% 抑制された。性周期の延長が F₁、F₂ 世代の 2000ppm 群で認められたが、F₃ 世代には異常はみられなかった。膣開口の早期化が F₁、F₂、F₃ 世代において認められ、650ppm 群で約 2 日および 2000ppm 群で約 6 日短縮した。F₁ 雌で生後 21 日目の子宮重量が 650ppm 群 (14%) および 2000ppm 群 (50%) で増加

したが、その他の世代では増加しなかった。精巣下降、肛門生殖器突起間距離および包皮開裂については、一貫した変化は認められなかった。出生児の数、体重および生存性、母体パラメーターあるいは他の生殖機能についても異常は認められなかった。F₂母体の卵巣相対重量が650および2000ppm群で12%減少したが、その他の世代では変化は認められなかった。F₂母体の卵胞数に異常はみられなかった。F₀、F₁雄でビデオ測定(CASA)による精子運動性などの精子指数に異常は認められなかったが、F₂雄では精巣上体の精子密度が650および2000ppm群でそれぞれ8および13%減少した。さらに、F₂雄では精巣の精子細胞数が2000ppm群で13%減少したが、精巣および精巣上体重量に変化は認められなかった。胃および十二指腸粘膜において肉眼的および組織学的にびらんは認められなかった。腎相対重量がF₀、F₁、F₂雄の650および

2000ppm群で増加し、組織学的に髄質部の尿細管拡張、嚢胞形成、皮髄境界部の鉍質沈着が雄の全世代の全投薬群で認められた。

考察

NPは腎毒性を随伴して650ppm以上で生殖器に限定した影響を誘発すると結論される。F₂動物での精子形成への影響は、統計学的あるいは生物学的ノイズによるものか、あるいは現時点では不明な薬物動態または毒性学的体内動態のいずれかによるものと考えられる。今回の精子データについては、再現性が確認されるまで慎重に評価されるべきである。生殖器に対するNPの無毒性量は200ppmと推定される。

不確実性要因の指摘

1) F₂雄ラット650および2000ppm群における精巣上体精子密度の減少が投与に起因するものか否か結論できない。

(3) 分担 三森 国敏

論文名

Peters J. M. et al.: Amelioration of TCDD-induced teratogenesis in aryl hydrocarbon receptor (AhR)-null mice. *Toxicol. Sci.* 47: 86-92 (1999)

緒言

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

(TCDD) は P450 や第二相酵素などの薬物代謝酵素をコードする遺伝子の転写活性化を引き起こすことが知られており、これらの遺伝子発現が aryl hydrocarbon receptor (AhR) への TCDD の結合によって誘発されるとの報告がある。

発生における AhR の役割はいまだ明らかではないが、AhR は胚発生の初期に必要なことを示唆する証拠がある。すなわち着床前のマウス胚は 8 細胞期から胚盤胞期まで AhR の mRNA を発現し、アンチセンスオリゴヌクレオチドが分化や増殖を抑制する。また、AhR を欠損したマウスを用いた研究においては、胎仔の生存率に影響が認められなかったとの報告もあるが、逆に生存率が低下するとの報告もある。

一方、TCDD は胎仔期に投与した場合、発生毒性および催奇形性を示す。TCDD に暴露されたマウスに発現する奇形は口蓋裂や水腎症などの尿路の異常であるが、これらが AhR を介した変化によって発現するか否かは明らかでない。今回、野生型マウスおよび AhR-null マウスを用いて、胎仔期における AhR の役割を検討するとともに、TCDD による催奇形性に AhR が関与するか否かを検討した。

方法

C57BL/6N および Sv/129 の交配で得た AhR (+/-) マウスを兄妹交配して第 4 代の野生型 (+/+) および AhR-null (-/-) マウスを用いた。野生型の雌雄同士および AhR-null の雌雄同士をそれぞれ交配し、妊娠 10 日目に母動物にコーン油 (対照群) またはコーン油に溶解した TCDD 25 µg/kg を経口投与した。投与液量は 5 mL/kg とした。この投与量により C57BL/6N マウスにおいて水腎症および口蓋裂が高頻度に誘発されることが知られている。妊娠 18 日目に解剖し、生存胎仔数、死亡胎仔数および吸収胚数を記録した。生存胎仔について体重を測定し、内臓検査および骨格検査を行った。

結果

TCDD 投与 AhR-null マウスの妊娠 0-18 日間の母動物体重の増加量が低かった。しかし、子宮を除いた体重増加量は TCDD 投与野生型マウスと同等であることから、母体に対する毒性ではなく発生毒性が示唆された。TCDD に暴露された AhR-null マウスにおいて、吸収胚率が増加した (表 2)。ただし、平均生存胎仔数は、TCDD 投与 AhR-null マウスにおいて TCDD 投与野生型マウスに比べて低かったものの統計学的に有意ではなかった。対照群の AhR-null マウスでは、対照群の野生型マウスに比べて大きいタイプの interfrontal bone が少なかった。なお、interfrontal bone とは、多くのマウスの系統にはみられないが、今回用いたマウスでは種々の大きさのものを合わせると 80% 以上の高頻度で認められる所見である。TCDD 投与野生型マウスでは、TCDD 投与 AhR-null マウスに比べて、尿管および腎盂の拡張の程度が強く、水腎

症、尿管の歪曲、腎盂の拡張、腎臓の小型化および口蓋裂の発生率が高かった(表3)。

考察

対照群の AhR-null マウスでは対照群の野生型マウスに比べて、大きい interfrontal bone の頻度が少なかったのみで、他の項目に差が認められなかったことから、AhR 欠損は発生に影響を与えなかったと考えられた。他の遺伝子が補足的に働いた可能性がある。

TCDD 投与 AhR-null マウスにおいて、TCDD 投与野生型マウスに比べて、催奇形性がわずかしか認められなかったことから、TCDD の催奇形性には AhR が関与するものと考えられた。発生途上の口蓋および尿路の上皮細胞における TGF α 、TGF β および EGF の発現を TCDD が減少させたとの報告があることから、TCDD 誘発口蓋裂および尿路発生の異常には成長因子の発現の変動が関与すると考えられる。TGF β 3-null マウスにおいて発生した口蓋は、正常マウスの胎仔期に TCDD を投与した場合の口蓋と、組織学的に同様であったとの報告から、口蓋形成に AhR および TGF β を経る signalling pathway が関与すると考えられる。TCDD 投与 AhR-null マウスにおいて吸収胚率が増加したことにより、口蓋および尿路の異常が部分的にマスクされた可能性があるものの、胎仔期における死亡率がそれほど高くないことから同マウスにおけるこれらの異常の減少は明らかであると考えられる。

TCDD 投与 AhR-null マウスにおいて口蓋裂が少ないながらも発生したことは、AhR を必要としないメカニズムもまた

TCDD の催奇形性に関与する可能性を示唆するものであった。ただし、他の AhR-null マウスを用いた実験において TCDD は口蓋裂発生に影響を及ぼさなかったとの報告もある。この結果の違いは、用いた動物の遺伝的な差異や AhR 遺伝子のターゲティング方法の違いによる可能性もあるが明らかではない。

TCDD 投与 AhR-null マウスで TCDD 投与野生型マウスに比べて吸収胚率が高かったことから、TCDD のこの作用には AhR を必要としないメカニズムが関与する可能性が示唆される。なお、野生型マウスにおいては TCDD 投与によって吸収胚率が増加しなかったことから、AhR 欠損によってこの作用が増強されると考えられる。さらに、TCDD 投与 AhR-null マウスの平均胎仔体重が低かったことから、これも AhR を必要としない反応と考えられた。

不確実性要因の指摘

- 1) AhR が成長因子の発現を制御するか否かが今回の実験では直接確認されていないことから、TCDD の催奇形性に対する AhR 関与の詳細なメカニズムが明らかでない。
- 2) TCDD 投与 AhR-null マウスにおいて少ないながらも口蓋裂が発現したことから、TCDD の催奇形性に AhR を必要としないメカニズムも関与する可能性があるが、これを明らかにするためにはさらに研究が必要である。
- 3) TCDD 投与 AhR-null マウスで増加した吸収胚率の発現にも、AhR を必要としない作用が推察されるが、そのメカニズムが明らかではない。

(4) 分担 今井 清

論文名

Male Reproductive System Ontogeny: Effects of Perinatal Exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin

Richard E. Peterson, Robert W. Moore, Thomas A. Mabley, Donald L. Bjerke and Robert W. Goy, J. Clean Technol., Environ. Toxicol., & Occup. Med., 7(No. 1), 89-105 (1998)

実験プロトール

投与回数: 妊娠第 15 日から出産までは下記の用量の TCDD を母体に投与し、胎児へ経胎盤的に暴露し、引き続いて出産後哺乳第 1 日から 21 日まで同用量の TCDD 投与した母体の乳汁を介して新生児期に暴露・投与経路及び投与量: 0.064, 0.16, 0.40, あるいは $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 経口投与
観察項目: 雄生殖器の発達と性行動および生殖能力の察

実験結果

- 1) TCDD 投与により F1 の肛門生殖器間距離、血漿中 testosterone, 5α -dihydro-testosterone, LH, 精嚢重量、前立腺重量の減少、精巣下降の遅延が認められた(Table I)。
- 2) TCDD 投与により F1 の精巣重量、精巣上部、精巣上部当たりの精子数、1 日当たりの精子産生量、精細管の直径の減少が認められた (Table II)。
- 3) 騎乗潜伏期間、陰茎挿入潜伏期間、射精潜伏期間、騎乗回数、陰茎挿入回数、

交尾再開期間の増加と雌性性行動の特徴である腰部屈曲行動の増加、progesterone 投与による LH 分泌の増加、交尾率の減少が認められた (Table III)。

人に対する影響についての考察

- 1) ラットでは、受精に必要な精子数の 10 倍量の精子が産生・放出されているが、人では受精に必要な精子数と正常な成人男子の精子産生量が接近しているため、TCDD により僅かに精子数が減少しても生殖機能に対する影響は大である。
- 2) 人の場合、性行動に関する男女差は、社会的要因に左右されるところが大であるが、胎児期でのアンドロゲン作用は性の発達分化に影響があり、homosexual な男性は視床下部の構造が女性化しているとの報告もある。ラットの実験では、胎児期の後半から新生時期の前半に雄ラットにエストロゲンを投与すると視床下部の性分化に関連した神経核が雌化することが明らかにされていることから、周産期の TCDD に暴露されると性分化に影響を及ぼす可能性を有している。

人に対する評価の不確実性に関する問題点

- 1) TCDD の胎児あるいは乳汁を介した新生児への移行は、母体内への移行率に比較すると低率である (参考文献: Table 1 は胎児への移行率、Table 2 は乳汁を介した新生児への移行率) にもかかわらず、成体に対する無毒性量以下の量を母体に投与しても、雄生殖機

能に影響を及ぼすことから、胎児あるいは新生児では、TCDD に対してより高い感受性を示すことが示唆される。しかし、この報告では、TCDD の無毒性量が求められておらず、人の胎児あるいは新生児における TCDD の toxicokinetics に関する研究報告が充分でないことから、人の胎児あるいは新生児への、TCDD の影響を量的に評価することは、現時点では不可能である。

- 2) この報告では、ラット雄の胎児あるいは新生児の生殖系への影響を、すべて Ah-receptor を介した作用であろうと考察しているが、人への外挿を行うためには現時点で評価に値する毒性の発現機序に関する研究が不足していると思われる。
- 3) 人とラットでは、周産期における臓器・組織の発達過程が必ずしも同調していないので、ラットで得られた実験成績を、そのまま人に外挿可能か否か検討が必要である。

Table I Effects of In Utero and Lactational TCDD Exposure on Indices of Androgenic Status

Index	Lowest Effective Maternal Dose ^a	Maximum Effect ^b
Anogenital distance	0.16 (Days 1 and 4)	21% decrease (Day 1)
Time to testis descent	0.16	1.7 day delay
Plasma testosterone concentration	n.s. ^c	69% decrease (Day 32)
Plasma 5 α -dihydrotestosterone concentration	n.s	59% decrease (Day 49)
Plasma luteinizing hormone Concentration	1.0	95% decrease (Day 32)
Seminal vesicle weight	0.6 (Days 32 and 63)	56% decrease (Day 49)
Ventral prostate weight	0.064 (Days 32)	60% Decrease (Day 32)

^a (μ g TCDD/kg) The lowest dose of TCDD (given on Day 15 of gestation) that caused a significant ($p < 0.05$) effect in the male offspring and the day or days at which this dose caused such an effect are shown.

^b The magnitude of the greatest change seen in response to maternal dosing with 1.0 μ g TCDD/kg and the day at which this effect was seen are shown.

^c n.s. indicates "not statistically significant" between 32 and 120 days after birth.

Table II Effects of In Utero and Lactational TCDD Exposure on Indices of Spermatogenesis and Reproductive Capability

Index	Lowest Effective Maternal Dose ^a	Maximum Effect ^b
Testis weight	0.40 (Day 32)	17% decrease (Day 32)
Epididymis weight	0.064 (Days 49 and 120)	35% decrease (Day 32)
Caudal epididymis weight	0.064 (Days 63 and 120)	53% decrease (Day 63)
Sperm per cauda epididymis	0.064 (Days 63 and 120)	75% decrease (Day 63)
Daily sperm production rate	0.064 (Days 49 and 120)	43% decrease (Day 49)
Seminiferous tubule diameter	0.064 (Days 32,49,120)	15% decrease (Day 32)
Leptptene spermatocyte:	n.s. ^c	no dose-related effect
Sperm mortality:	n.s.	no dose-related effect
percentage abnormal sperm		
Fertility	n.s.	22% decrease (Day 70)
Gestation index; litter size;	n.s.	no dose-related effect
live birth index; pup survival		

^a (μ g TCDD/kg) The lowest dose of TCDD (given on Day 15 of gestation) that caused a significant ($p < 0.05$) effect in the male offspring and the day or days at which this dose caused such an effect are shown.

^b The magnitude of the greatest change seen in response to maternal dosing with 1.0 μ g TCDD/kg and the day at which this effect was seen are shown.

^c n.s. indicates "not statistically significant"

Table III Effects of In Utero and Lactational TCDD Exposure on Indices of Sexual Behavior and on the Regulation of LH Secretion in Adulthood

Index	Lowest Effective Maternal Dose ^a	Maximum Effect ^b
Masculine Sexual Behavior		
Mount latency	0.16	1200% increase
Intromission latency	0.064	1100% increase
Ejaculation latency	0.16	97% increase
Number of mounts	0.064	130% increase
Number of intromissions	1.0	38% increase
Copulatory rate (mounts + intromission/min)	0.064	43% decrease
Postejaculatory interval	0.40	35% increase
percentage abnormal sperm		
Female Sexual Behavior		
Lordosis quotient ^c	0.16	200% increase
Lordosis intensity score	0.40	50% increase
Regulation of LH secretion		
Progesterone-induced LH surge	0.40	460% increase ^f

^a (μ g TCDD/kg) The lowest dose of TCDD (given on Day 15 of gestation) that caused a significant ($p < 0.05$) effect in the male offspring is shown.

^b The magnitude of the greatest change seen in response to maternal dosing with 1.0 μ g TCDD/kg is shown (average of three trials for masculine behavior and two for feminine).

^c Measured when the rats were approximately 60, 75 and 115 days of age.

^d Feminine sexual behavior was measured following castration, estrogen priming, and progesterone administration. The rats were 170-185 days old.

^e Number of times lordosis was displayed in response to a mount, divided by the number of times each rat was mounted, time 100.

^f A percentage increase in this response cannot be calculated because control males do not respond to progesterone. This figure was calculated by comparing peak plasma concentrations in control males at the same time.

参考文献

Berg, M.V. Heeremans, C., Veenhoven, E. and Olie, K. Transfer of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofrans to Fetal and Neonate Rats, *Fundmental & Appl.Toxicol.*, 9, 635-644 (1987)

Table 1 Absolute Tissue Retention and Concentrations of PCDDs and PCDFs in the Dams (n=4) and Fetus after Multiple-Dose Administration during Pregnancy

	Dose (ng)	Liver-dam		Whole fetus		Adipose tissue Concentration-dams(ppb)
		Retention (% total Dose)	Concentration (ppb)	Retention (% total dose)	Concentration (ppb)	
2,3,7,8-TCDD	131	36.69 ± 2.53 ^a	3.62 ± 0.18	0.13±0.02	12 ± 2	0.98 ± 0.31
2,3,7,8-TCDF	208	1.59 ± 0.30	0.25 ± 0.03	— ^b	—	—
1,2,3,7,8-PnCDD	718	58.72 ± 5.24	32.21 ± 5.89	0.06±0.013	32 ± 2	2.31 ± 0.54
1,2,3,7,8-PnCDF	775	4.16 ± 0.85	2.43 ± 0.45	—	—	—
2,3,4,6,7-PnCDF	1501	1.88 ± 0.97	2.09 ± 0.98	0.01(n=1)	15(n=1)	1.03 ± 0.57
2,3,4,7,8-PnCDF	824	65.29 ± 4.82	41.02 ± 6.66	0.03±0.01	19 ± 5	1.20 ± 0.38
1,2,3,4,7,8-HxCDD	987	65.93 ±12.05	49.46 ±11.14	0.03(n=2)	22(n=2)	1.72 ± 0.80
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1296	68.08 ±11.43	66.98 ±13.60	0.03(n=2)	26(n=2)	2.05 ± 0.45
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1030	59.89 ±16.51	47.27 ±16.12	0.02 ± 0.01	18 ± 6	1.82 ± 0.59
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1309	51.63 ±13.83	51.74 ±17.30	0.02 ± 0.01	17 ± 6	1.97 ± 0.71
1,2,3,4,7,8-HxCDF	4124					
+1,2,3,6,7,8-HxCDF	2042	39.21 ±13.82	187.60 ±77.57	— ^c	—	6.06 ± 2.53
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	8117	28.34 ± 7.21	176.76 ±54.09	—	—	8.20 ± 2.53
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	6236	32.32 ±11.87	156.71 ±68.48	—	—	9.76 ± 2.53
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	468	36.37 ±16.83	13.09 ± 6.66	—	—	0.68(n=2)
OCDD	9490	6.98 ± 2.12	51.24 ±20.25	—	—	1.80 ± 0.39
OCDF	2022	7.35 ± 1.05	9.10 ± 2.07	—	—	0.33 ± 0.16

^a SD. ^b Not detectable. ^c Not analyzed due to mass interference.

Table 2 Absolute Tissue Retention and Concentrations of PCDDs and PCDFs in the Dams (n=4) and Offspring after Multiple-Dose Administration during Lactation

	Dose (ng)	Liver-dam		Liver-Offspring		Adipose tissue
		Retention (% total Dose)	Concentration (ppb)	Retention (% total dose)	Concentration (ppb)	Concentration- dams(ppb)
2,3,7,8-TCDD	191	38.46 ± 9.61 ^a	3.97 ± 1.08	6.34 ± 0.02	1.69 ± 0.43	0.66 ± 0.24
2,3,7,8-TCDF	310	3.59 ± 1.48	0.60 ± 0.25	0.14 ± 0.07	0.06 ± 0.11	— ^b
1,2,3,7,8-PnCDD	1222	53.91 ± 13.86	35.66 ± 10.16	5.78 ± 1.87	9.91 ± 2.99	1.49 ± 0.73
1,2,3,7,8-PnCDF	1255	5.82 ± 2.28	3.97 ± 1.68	0.73 ± 0.32	1.25 ± 0.23	—
2,3,4,6,7-PnCDF	2348	2.44 ± 1.06	3.12 ± 1.46	0.41 ± 0.17	1.30 ± 0.24	0.41 ± 0.15
2,3,4,7,8-PnCDF	1265	78.33 ± 21.80	53.74 ± 16.66	3.51 ± 0.95	6.24 ± 1.03	0.57 ± 0.20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1091	80.20 ± 19.56	47.34 ± 12.77	8.12 ± 2.40	12.36 ± 1.80	0.74 ± 0.29
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2098	59.65 ± 16.23	67.82 ± 20.31	5.26 ± 1.53	15.43 ± 2.44	0.87 ± 0.34
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1285	70.64 ± 17.41	49.15 ± 13.35	6.82 ± 1.71	12.28 ± 1.48	0.59 ± 0.24
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2034	52.38 ± 14.34	57.70 ± 17.14	3.87 ± 1.08	10.95 ± 1.09	0.52 ± 0.18
1,2,3,4,7,8-HxCDF	3199			3.08 ± 0.64	14.98 ± 6.45	
+1,2,3,6,7,8-HxCDF	1653	37.62 ± 11.62	99.51 ± 36.76	6.21 ± 1.29	15.68 ± 6.87	16.54 ± 7.83
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	4273	27.87 ± 14.79	62.58 ± 31.42	3.68 ± 0.64	24.18 ± 11.04	6.34 ± 0.92
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	6518	23.88 ± 7.52	84.91 ± 32.21	3.01 ± 0.73	27.99 ± 10.56	7.88 ± 1.85
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	447	30.32 ± 8.17	7.39 ± 2.49	3.49 ± 0.44	2.30 ± 0.68	—
OCDD	8527	7.97 ± 2.48	37.10 ± 13.97	0.71 ± 0.21	8.32 ± 1.04	0.98 ± 0.19
OCDF	1731	6.54 ± 1.19	6.15 ± 1.43	0.68 ± 0.19	1.64 ± 0.28	0.30 ± 0.12

^a SD. ^b Not detectable.

(5)分担 江馬 眞

論文名

Mylchreest, E., Sar, M., Cattley, R. C. and Foster, P. M. D. (1999) Disruption of androgen-regulated reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 156, 81-95.

方法

SD ラットの妊娠 12-21 日 (精子発見日 = 妊娠 0 日) に 100, 250 or 500 mg/kg/day の DBP (10 rats/group)、または、100 mg/kg/day の flutamide (FLU) (5 rats/group) を強制経口投与した。

分娩日を生後 1 日として、1 日に肛門生殖突起間距離 (AGD) を測定し、14 日に胸部乳頭の保持を調べた。生後 21 日に離乳し、個体識別してオス児 3-4 匹で飼育し、生後 38 日から包皮分離を調べた。オスは生後 100-105 日、メスは生後 25-30 日にと殺した。

結果

DBP の母体及び生殖に対する影響はみられなかった。FLU 投与群で母体体重増加抑制がみられたが、生殖への影響はみられなかった。DBP 250 及び 500 mg/kg/day でオス児の AGD がそれぞれ 9% 及び 24% 短縮した。FLU 投与群では AGD による雌雄の判別が不可能な程度にオス児の AGD が短縮した。胸部乳頭の保持の頻度は DBP 投与で投与量依存的に増加した、FLU 投与では 100% となった。包皮分離は DBP 投与群で遅延し、100 mg/kg/day 群で 2 日遅れた。これは 100 mg/kg/day で認められた唯一の影響であった。

尿道下裂を有する児の頻度は DBP 500

mg/kg/day で 40%、FLU で 100% であった。前立腺無形成の児の頻度は FLU 投与で 100%、DBP では 500 mg/kg/day でも頻度が低かった。精巣上体欠如及び発育不全の児の頻度は DBP 投与で多くみられ、250 mg/kg/day で 10%、500 mg/kg/day で 50% であった。FLU 投与では精巣上体及び輸精管欠如の児は 100% であった。精囊無形成が FLU 投与で 3 例観察されたが、DBP 投与では認められなかった。精囊重量は FLU 投与で著しく低下し、DBP 500 mg/kg/day で低下した。DBP 投与による潜伏精巣の頻度は低かったが、FLU 投与では高かった。精巣重量は DBP 500 mg/kg/day で 15%、FLU で 50% 低下した。輸精管上皮が DBP 及び FLU 投与で組織学的に最も影響が大きかった。

不確実要因に関する考察

本実験では DBP の NOAEL を設定できなかった。包皮分離が 2 日遅れたことから LOAEL を 100 mg/kg/day としている。包皮分離は 100 mg/kg/day で認められた唯一の影響であった。包皮分離の遅延はオス児の性成熟遅延を意味すると考えられるが、2 日程度の遅れの毒性学的意義については不明確である。DBP によるより明確な影響であるオス児の生殖器官の奇形及び精巣の病理学的変化が 500 mg/kg/day で有意に発現していることを根拠とすれば、NOAEL は 250 mg/kg/day になると考えられる。

本実験は DBP 投与群では 1 群当たり 10 匹の妊娠ラットを用いて行われたものであり、本論文の著者も述べているように、NOAEL や LOAEL の設定にはより多くの動物を用い、より広い投与量域での実験が必要である。

ラットの妊娠初期の妊娠 0-8 日に DBP を経口投与したときには 750 mg/kg/day 以上

で早期の胚致死作用が発現し (Ema et al., 2000)、DBP をラット胎児の器官形成期である妊娠 7-15 日に経口投与したときには、着床後胚致死作用は 630 mg/kg/day 以上で、催奇形作用は 750 mg/kg/day で発現する (Ema et al., 1992) ことが報告されている。本論文ではこれらよりも低投与量の DBP をラットの妊娠後半の妊娠 12-21 日に投与したときにオス児の生殖器官における変化が惹起されることが示された。オス児の生殖器官が他の器官よりも低投与量のフタル酸エステル類によって影響を受けることは、DBP をラットの妊娠 11-21 日 (Ema et al., 1998) または妊娠 15-17 日 (Ema et al., 2000) に投与したとき、ラットの妊娠 3 日から妊娠中及び授乳中に DBP (Mylchreest et al., 1998) または di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) (Peterson et al., 1999) を投与したときにも観察されている。DBP を妊娠ラットに投与したときには胚致死や児体重低下が惹起されることが知られており、妊娠後半の動物を用いた実験では児の発育に対する影響が現れることが予想される。本実験においても有意差は認められていないが、DBP 投与群で児体重の低下傾向が観察されている。児の発育遅延は AGD、性成熟に影響を及ぼす原因となり得ることから、DBP の投与期間を短くして児の発育に対する影響をできるだけ軽減した条件で実験を行う必要がある。また、毒性指標を児体重で補正することも必要かも知れない。

本論文は、化学物質を妊娠後半のラットに投与したときのオス児の生殖器官に対する悪影響が鋭敏な毒性指標になりうることを示唆している。これらの影響を検出するためには、母体毒性や児の発育に対する悪影響等の随伴する毒性影響をできるだけ排除した条件下における実験が必要とされる。