

ン類の濃度は、タバコ 1 本当たり 8.5～25 pg および 9.5～35 pg であった。それらの毒性等価換算濃度は、1998 年 WHO/ICPS の毒性等価係数 (TEF) を用いて 2,3,7,8-TCDD の毒性に換算した結果、主流煙はタバコ 1 本当たり 0.005～0.60pg-TEQ、副流煙は 0～0.36 pg-TEQ であった。

D. 考察

タバコ煙中のダイオキシン類はタバコ葉に由来するものと、タバコの葉の燃焼によって生成したものとがあることが考えられた。1,3,6,8-TCDD、1,3,7,9-TCDD 及び OCDD が今回測定した大部分のタバコ葉中から検出された。これらのタバコ葉中のダイオキシン類の由来については、農薬である可能性が大きいものと推定される。1,3,6,8-TCDD および 1,3,7,9-TCDD は、除草剤として用いられている農薬のクロロニトロフェン由来である可能性が考えられる。また、OCDD は、水田の除草剤或いは木材の防腐剤として用いられているペンタクロロフェノール由来と考えられた。

E. 結論

1 日に体重 50kg の人が 1 箱喫煙した場合の主流煙中のダイオキシン類の毒性等価換算濃度 (0.0002～0.238 pgTEQ/kg/day) は、大都市地域の大气中濃度 (0.18 pgTEQ/kg/day) と同程度であった。さらに、副流煙中のダイオキシン類の含量が主流煙よりも多いことから、喫煙者の周囲に居る人への影響も懸念された。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

表5 タバコ煙中のダイオキシン類分析結果 (銘柄E)

異性体	ダイオキシン類の異性体・同族体	ダイオキシンの異性体	葉	実測濃度(pg/box)			
				TEF(1998)	主流煙一石英 フィルタ一	主流煙一ポリウレ フィルタ一	副流煙一石英 フィルタ一
ジベンゾフラン	2,3,7,8-T4CDD	1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,3,6,8-T4CDD		270	38	N.D.	103	N.D.
	1,3,7,9-T4CDD		70	15	N.D.	16	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDD	1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7-P5CDD		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.1	N.D.	10	N.D.	15	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	15	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	0.01	37	11	N.D.	15	N.D.
	O8CDD	0.0001	480	66	N.D.	82	N.D.
	2,3,7,8-T4CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,7,8-T4CDF		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDF	0.05	N.D.	6	N.D.	6	N.D.
	2,3,4,7,8-P5CDF	0.5	N.D.	6	6	8	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	23	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.01	N.D.	49	23	50	N.D.
	1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	17	N.D.
O8CDF	0.0001	N.D.	26	N.D.	42	N.D.	
ジベンゾフラン	T4CDDs		350	52	N.D.	118	N.D.
	P5CDDs		77	12	N.D.	15	N.D.
	H6CDDs		76	10	N.D.	85	N.D.
	H7CDDs		80	11	N.D.	45	N.D.
	O8CDD		480	66	N.D.	82	N.D.
	Total PCDDs		1100	150	N.D.	345	N.D.
	T4CDFs		92	37	8	25	N.D.
	P5CDFs		11	61	30	91	N.D.
	H6CDFs		N.D.	46	25	48	N.D.
	H7CDFs		N.D.	91	23	120	N.D.
O8CDF		N.D.	26	N.D.	42	N.D.	
Total PCDFs		100	260	85	325	N.D.	
Total (PCDDs + PCDFs)		1200	410	85	670	N.D.	
毒性評価値	TEQ(1998)		6.9	11.9	7.28	7.28	0
	TEQ(1998)		0.42	5	5	7.28	7.28

表4 タバコ煙中のダイオキシン類分析結果 (銘柄D)

異性体	ダイオキシン類の異性体・同族体	TEF(1998)	葉	実測濃度 (pg/box)			
				主流煙-石英 フィルター	主流煙-ポリウレ タンフィルター	副流煙-石英 フィルター	副流煙-ポリウレ タンフィルター
ジベンゾフラン	2,3,7,8-T4CDD	1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,3,6,8-T4CDD		-	81	N.D.	95	N.D.
	1,3,7,9-T4CDD		-	28	N.D.	33	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDD	1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7-P5CDD		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	0.01	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O8CDD	0.0001	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,7,8-T4CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,7,8-T4CDF		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDF	0.05	-	N.D.	8	19	N.D.
	2,3,4,7,8-P5CDF	0.5	-	N.D.	6	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.01	-	N.D.	27	N.D.	15
	1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.01	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
O8CDF	0.0001	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
ジベンゾフラン	T4CDDs		-	108	N.D.	130	N.D.
	P5CDDs		-	N.D.	N.D.	16	N.D.
	H6CDDs		-	N.D.	N.D.	41	N.D.
	H7CDDs		-	N.D.	25	N.D.	N.D.
	O8CDD		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Total PCDDs		-	108	25	185	N.D.
	T4CDFs		-	N.D.	N.D.	6	N.D.
ジベンゾフラン	P5CDFs		-	N.D.	28	24	10
	H6CDFs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H7CDFs		-	N.D.	27	N.D.	15
	O8CDF		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Total PCDFs		-	N.D.	55	30	25
	Total (PCDDs + PCDFs)		-	108	80	215	25
	TEQ(1998)		-	0.00	3.65	0.93	0.15
TEQ(1998)		-		3.65		1.07	

表2 タバコ煙中のダイオキシン類分析結果 (銘柄B)

異性体	ダイオキシン類の異性体・同族体	TEF(1998)	葉	実測濃度 (pg/box)			
				主流煙-石英 フィルター	主流煙-ポリウレ タンフィルター	副流煙-石英 フィルター	副流煙-ポリウレ タンフィルター
	2,3,7,8-T4CDD	1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,3,6,8-T4CDD		-	91	N.D.	170	N.D.
	1,3,7,9-T4CDD		-	37	N.D.	50	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDD	1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7-P5CDD		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	0.01	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O8CDD	0.0001	-	70	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,7,8-T4CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,7,8-T4CDF		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDF	0.05	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,7,8-P5CDF	0.5	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.1	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.01	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.01	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O8CDF	0.0001	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
同族体	T4CDDs		-	129	N.D.	220	N.D.
	P5CDDs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H6CDDs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H7CDDs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O8CDD		-	70	N.D.	N.D.	N.D.
	Total PCDDs		-	200	N.D.	220	N.D.
	T4CDFs		-	N.D.	13	N.D.	N.D.
	P5CDFs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H6CDFs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H7CDFs		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O8CDF		-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Total PCDFs		-	N.D.	13	N.D.	N.D.
	Total (PCDDs + PCDFs)		-	200	13	220	N.D.
毒性評価値	TEQ(1998)		-	0	0.13	0	0
	TEQ(1998)		-	0	0.13	0	0

表3 タバコ煙中のダイオキシン類分析結果 (銘柄C)

異性体	ダイオキシン類の異性体・同族体	TEF(1998)	実測濃度(pg/box)			
			主流煙一石英 フィルター	主流煙一ポリウレ タンフィルター	副流煙一石英 フィルター	副流煙一ポリウレ タンフィルター
	2,3,7,8-T4CDD	1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,3,6,8-T4CDD	260	54	N.D.	69	N.D.
	1,3,7,9-T4CDD	89	N.D.	N.D.	26	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDD	1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7-P5CDD		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDD	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDD	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDD	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDD	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	08CDD	0.0001	100	N.D.	84	N.D.
	2,3,7,8-T4CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,7,8-T4CDF	14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8-P5CDF	0.05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,7,8-P5CDF	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,6,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,7,8,9-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2,3,4,6,7,8-H6CDF	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,6,7,8-H7CDF	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	1,2,3,4,7,8,9-H7CDF	0.01	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	08CDF	0.0001	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
同族体	ダイオキシン	360	54	N.D.	110	N.D.
	T4CDDs		N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	P5CDDs	62	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H6CDDs	47	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H7CDDs	87	24	N.D.	N.D.	N.D.
	08CDD	530	100	N.D.	84	N.D.
	Total PCDDs	1100	150	24	190	N.D.
	T4CDFs	95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	P5CDFs	77	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H6CDFs	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	H7CDFs	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	08CDF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Total PCDFs	170	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Total (PCDDs + PCDFs)	1300	150	24	190	N.D.
毒性評価値	TEQ(1998)	5.9	0.01	0	0.084	0
	TEQ(1998)	5.9	0.01	0.01	0.084	0.084

「環境中のダイオキシン様作用物質の検索」

分担研究者 多田敦子 国立がんセンター研究所 がん予防研究部研究員

研究要旨

環境中には様々ながん原物質が存在している。ある種の物質は発がん性を示すのみでなく、内分泌攪乱作用も示すことが指摘されており、乳がんや精巣がん等の発生に影響を与えることが示唆されている。そこで、河川水の変異原活性の強いことが指摘されている和歌川に注目し、この河川水中の変異原物質の単離を行った。その結果、新規変異原物質として 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl を同定した。この化合物の変異原性は *S. typhimurium* TA98 に対して、1 µg 当り S9 mix の非存在下で 202,000 であり、MeIQx (145,000 rev./µg) とほぼ同様の比活性を示すことがわかった。また、同化合物はアリルヒドロカーボンレセプター (AhR) を発現させた酵母を用いた系において AhR と結合し、その活性は β -naphthoflavone とほぼ同じであることがわかった。また、この化合物は、和歌川の河川水中に 21 ppb の濃度で存在することが明らかになった。

A. 研究目的

環境中にはダイオキシンを始めとする様々ながん原物質が存在している。ある種の物質は発がん性を示すのみでなく、内分泌攪乱作用も示すことが指摘されており、乳がんや精巣がん等の発生に影響を与えること

が示唆されている。そのため、環境中のがん原物質及び内分泌攪乱物質を同定し、それらのヒトがん発生に対する影響を正しく評価することが重要である。

今回、河川水の変異原活性の強いことが指摘されている和歌川に注目

し、この河川水中の変異原物質の単離、同定を行い、さらに同化合物の内分泌攪乱作用について調べた。

B. 研究方法

1) 和歌川河川水の変異原性

ブルーレーヨン法を用いて河川水中の変異原物質の回収を行った。4ヶ所の回収地点を設定し、そこにブルーレーヨン15gを懸垂させて24時間後に回収した。回収したブルーレーヨンはメタノール・アンモニアで抽出後、溶媒を留去させた。抽出残渣の変異原性を *S. typhimurium* YG1024 を用いる変異原性試験で測定した。

2) 変異原物質の単離

変異原物質は試料採集地点 A (図1) にブルーコットン 3 kg を24時間懸垂させ、そのメタノール・アンモニア抽出残渣を変異原性を指標として種々のクロマトグラフィーを用いて下記の条件により分離し、化合物の単離を行った。

2-1)

Column; Cosmosil ODS (2.5 x 40 cm), Eluent; 60% acetonitrile/water, flow rate; 5 ml/min; mutagenic

fraction; 84 min to 108 min. 2-2)

Column; TSK-GEL ODS-120A column (7.8 x 300mm, TOSOH, Co. Ltd. Tokyo), eluent; 65% acetonitrile, flow rate; 2.5 ml/min, mutagenic fraction; 15 - 20 min.

2-3)

Column; Phenomenex LUNA 5-Phenyl-Hexyl column (4.6 x 250 mm Phenomenex, Co. Ltd. USA), eluent; 65% acetonitrile, flow rate; 0.7 ml/min, mutagenic fraction; 20 - 22 min.

2-4)

Column; Cosmosil ODS column (4.6 x 250 mm Nacalai, Co. Ltd. Jpn), eluent; 60% acetonitrile, flow rate; 0.7 ml, mutagenic fraction; 28 min (single peak).

上記の条件で単離された化合物は種々の機器分析をもちいて同定を行った。

3) 単離化合物の別途合成

単離された化合物は 3,3'-dichlorobenzidine を出発原料として、図3に従い合成をおこなった。

4) Yeast Estrogen Screening

AhR またはエストロゲンレセプター (ER) 並びに転写活性因子として β -galactosidase を発現させた酵母を用いて各レセプターとの結合活性を調べた。

C. 研究結果

和歌川は和歌山市内を南北に流れる小規模河川であり、中域に工場廃水が流れ込んでいる。同河川水の変異原性モニタリングでは、S9 mix 非存在下で、サルモネラ菌株 YG 1 0 2 4 を用いたとき、工場排水流入口の blue rayon 抽出物の変異原性が最も高かった (図 1)。

そこで、排水流入口の変異原性物質を 3 キログラムの blue cotton を用いて回収、メタノール・アンモニアで抽出した後、HPLC 等を用いて活性本体の単離、また各種分析機器を用いて構造解析を行った。その結果、変異原物質は新規化合物 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl であることが推定された (図 2)。同化合物の構造は別途合成により確認した (図 3)。この化合物は 1 nmol 当り *S. typhimurium*

YG1024 に対して、S9 mix の非存在下で 140,000 の変異原活性を示した。また *S. typhimurium* TA98 に対して、1 nmol 当り S9 mix の非存在下で 60,600 であり、MeIQx (35,000 rev./nmol) とほぼ同様の比活性を示すことがわかった。合成中間体も、変異原性試験を行ったがいずれも単離された化合物よりは変異原性が低く、ビフェニルの 4 位に結合したニトロ基の還元の上れやすさが、変異原性の強さを決定する要因であることが考えられた (図 4)。

ER または AhR を発現させた酵母を用い、4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl と各受容体の結合能を調べた。その結果、この化合物は ER とは結合しないが、AhR と結合し、その転写活性は β -naphthoflavone とほぼ同等であることがわかった (図 5)。合成中間体においても同様に試験を行ったところ、合成中間体 **3** 以外は、いずれもその結合能は単離化合物と同程度であることがわかった。化合物 **3** は 4 位のアセチルアミド基の立体的障害により結合が阻害されていると考えられた (図 5)。更に、今回単離された変

異原物質は、河川水中に 21 ppb の濃度で存在することが明らかになった。

C. 考察

和歌川より単離された化合物 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl は新規化合物でありサルモネラ菌に対して直接変異原性をもち、なおかつ低濃度で AhR と結合する能力を持つ、極めてユニークな化合物である。こうしたタイプの化合物の生物活性については未知の部分が多く、今後、4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl の種々の生物活性を *in vivo* で調べていくことが重要であると思われる。

D. 結論

新規変異原物質として 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenyl を同定した。この化合物の変異原性は *S. typhimurium* TA98 に対して、

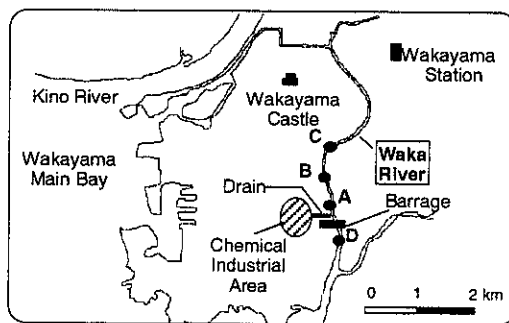
1 nmol 当り S9 mix の非存在下で 66,000 であった。また、同化合物は AhR を発現させた酵母を用いた系において AhR と結合し、その活性は β -naphthoflavone とほぼ同等であることがわかった。また、この化合物は、和歌川の河川水中に 21 ppb の濃度で存在することが明らかになった。

E. 研究発表

学会発表

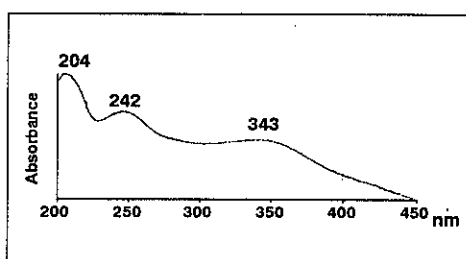
塩谷岳樹、多田敦子、渡辺徹志、平山晃久、大江武、糠谷東雄、杉村隆、若林敬二：和歌川河川水中の変異原物質の単離・同定、日本環境変異原学会、第 28 回大会、岐阜、

図1 和歌川河川水の変異原性

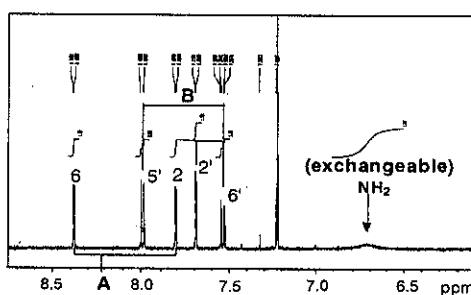


Sampling date	Sampling point	YG1024 (Rev. / g BR)	
		-S9 mix	+S9 mix
98.7.30~31	A	167,000	72,900
	B	28,000	45,200
	C	7,310	109,000
	D	270	3,400

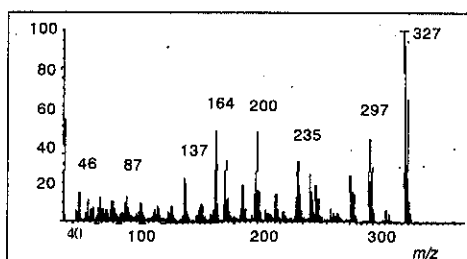
図2 単離された変異原物質の各種スペクトルと化学構造



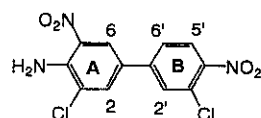
UV spectrum



¹H-NMR spectrum



EI-Mass spectrum



4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrophenyl

EI-HR-Mass, 326.9810; calcd for C₁₂H₇Cl₂N₃O₄, 326.9818

図3 新規変異原物質 4-amino-3,3'-dichloro-5,4'-dinitrobiphenylの化学合成

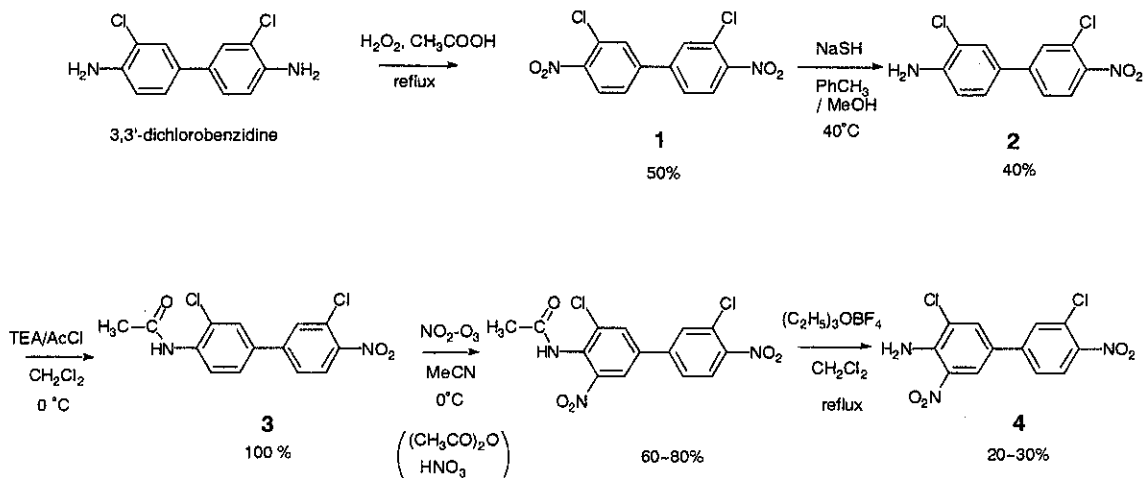


図4 和歌川より単離された化合物並びに合成中間体の変異原性

Compound	Mutagenicity (Revertants / nmol)							
	TA98		TA100		YG1021		YG1024	
	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
1	89	12	2	3	97	51	640	83
2	80	40	4	30	80	40	410	130
3	160	50	20	30	170	100	3400	360
4	66,000	1,700	880	91	7,700	3,000	140,000	2,900

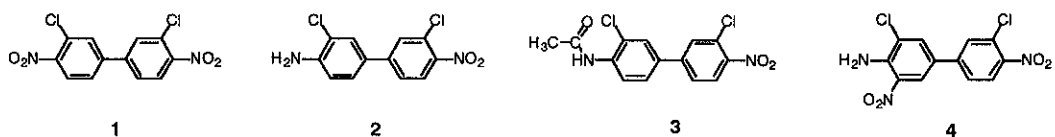
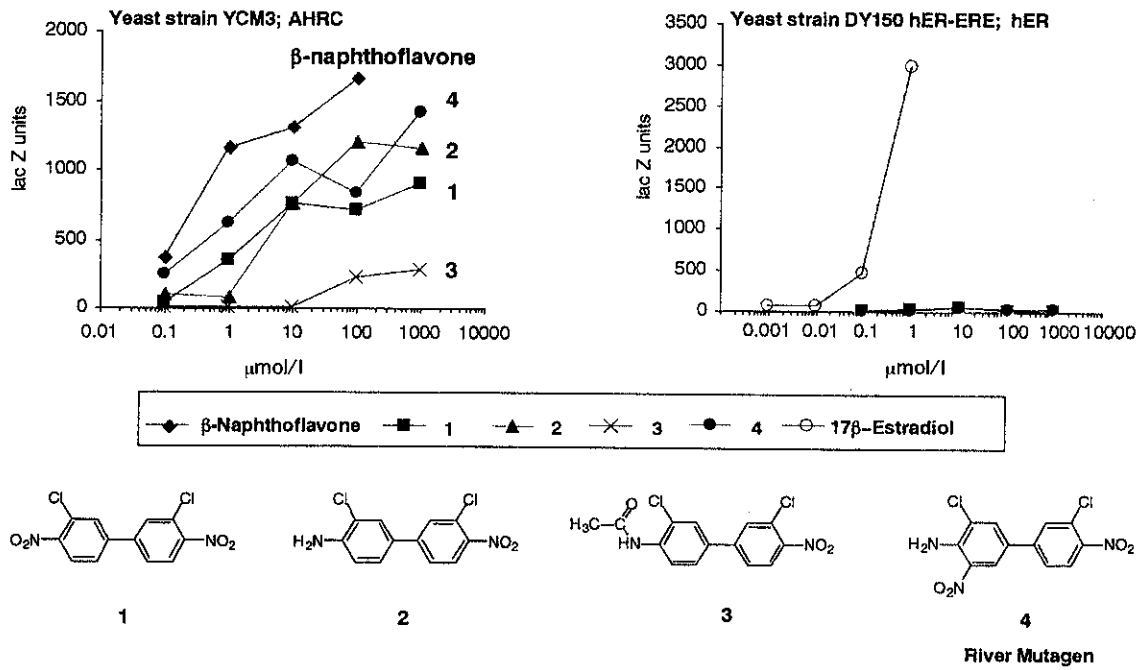


図5 和歌川より単離された化合物とその合成中間体のAhR,ERに対する結合能



平成 11 年度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

「ダイオキシン類の毒性評価に関する研究」

分担研究者 川森 俊人 国立がんセンター研究所 がん予防研究部室長

研究要旨

ダイオキシン様物質は環境中に広く存在していると考えられる。そこでエストロゲン様作用物質を検出するために、卵巣摘出したラットを用いた系で、17 β -エストラジオールおよび加熱食品中の発がん物質として知られている3種類のヘテロサイクリックアミン、IQ、PhIP、Glu-P-2の活性を検討した。17 β -エストラジオールは顕著なエストロゲン活性を示した。一方、今回検討した3種類のヘテロサイクリックアミン、IQ、PhIP、Glu-P-2には、明らかなエストロゲン様作用は認めなかった。今後この実験系を用いて様々な環境中のエストロゲン様作用物質の検出を行なっていく予定である。

A. 研究目的

近年、内分泌攪乱物質の曝露とヒトの健康との係わりについて感心が高まりつつあり、環境中に存在する内分泌攪乱物質を検出する試験系を開発することは急務である。本年度は、卵巣摘出ラットを用いて、現在までに我々が環境中の発がん物質として報告してきたヘテロサイクリックア

ミン類について、そのエストロゲン様作用について検討した。

B. 研究方法

5週齢時に卵巣摘出を行なった雌Sprague Dawley (SD)ラットを2週間経過観察し、各群6匹に分けた。試験物質は、positive controlとして17 β -estradiol (E2)を30, 50 μ g/kg、ヘテロサ

イクリックアミン類から、2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ), 2-aminodipyrido[1,2-*a*: 3',2'-*d*]imidazole (Glu-P-2), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) をそれぞれ 50 mg/kg の濃度で DMSO に溶解し、動物に腹腔内投与した (1 回/1 日、計 3 回)。最終投与翌日に全動物を屠殺剖検し、子宮重量測定、病理組織学的検査、子宮内膜及び上皮細胞の高さの測定、BrdU を用いた子宮の細胞増殖率を検討した。

C. 研究結果

1) 本試験系における 17β -estradiol の活性

17β -estradiol 投与群では、子宮重量、子宮内膜及び上皮細胞の高さは、コントロール群に比し、濃度依存的に増加した。細胞増殖率も有意に増加していた (Figs. 1&2)。

2) ヘテロサイクリックアミン類のエストロゲン様作用

IQ、PhIP、Glu-P-2 投与群では、コントロールに比し、子宮重量に変化を認めなかった。また子宮内膜及び上皮細胞の高さにも変化はなかった。更に、最も鋭敏である BrdU 染色による細胞増殖率も特に変化を認めなかった (Figs. 3&4)。

D. 考察及び結論

以上の結果より、この卵巢摘出ラットを用いた実験系は、in vivo エストロゲン様作用物質の検出系として有用であることが示唆された。一方、今回検討した 3 種類のヘテロサイクリックアミン、IQ、PhIP、Glu-P-2 には、この実験系において、明らかなエストロゲン様作用は認められなかった。これら 3 種のヘテロサイクリックアミンの内、PhIP 及び IQ はラットに乳がんを誘発することが知られている。上述したように PhIP 及び IQ にはエストロゲン様作用は認められないことより、PhIP および IQ による乳がんの発生にはエストロゲン作用以外の機構が関与しているものと考えられる。

今後この実験系を用いて様々な環境中のエストロゲン様作用物質、すなわち内分泌攪乱物質の検出を行っていく予定である。

E. 研究発表

学会発表

川森俊人：ヘテロサイクリックアミン類の卵巢摘出ラットにおけるエストロゲン様作用の検討 第 16 回日本毒性病理学会 (2000 年 1 月 27 日)

F. 圖凡例

Figure 1: A: body weight, B: uterine weight, and C: ratio (% uterine/body weight) in rats treated with saline, 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ or 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ E2. D: Macroscopic view of uterus.

Figure 2: A: uterine stromal cell height, B: uterine epithelial cell height, and C: BrdU positive cell count in rats treated with saline, 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ or 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ E2. D: View of uterus with H&E staining. E: Immunostaining for BrdU in uterus.

Figure 3: A: body weight, B: uterine weight, C: ratio (% uterine/body weight) in rats treated with saline, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ E2, 50 mg/kg IQ, Glu-P-2, and PhIP. D: Macroscopic view of uterus.

Figure 4: A: uterine stromal cell height, B: uterine epithelial cell height, and C: BrdU positive cell count in rats treated with saline, E2, IQ, Glu-P-2, and PhIP. D: View of H&E staining and E: immunostaining for BrdU in uterus.

Figure 1: Changes of body and uterus weights of E2-treated OVX SD rats.

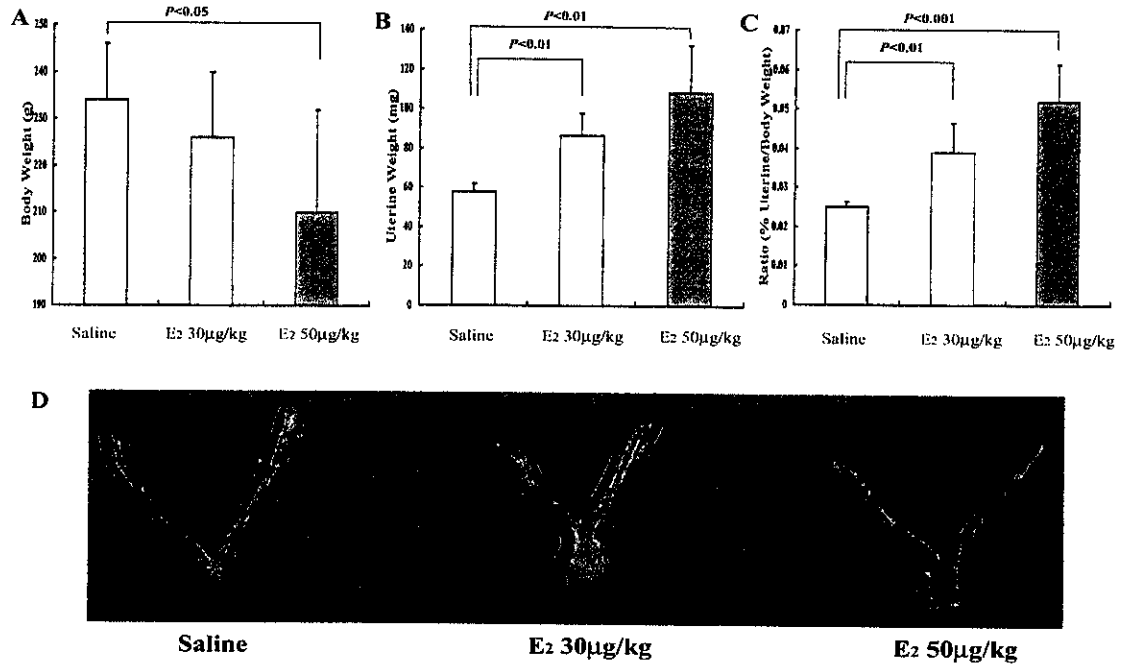


Figure 2: Effects of E2 on uterus of OVX SD rats.

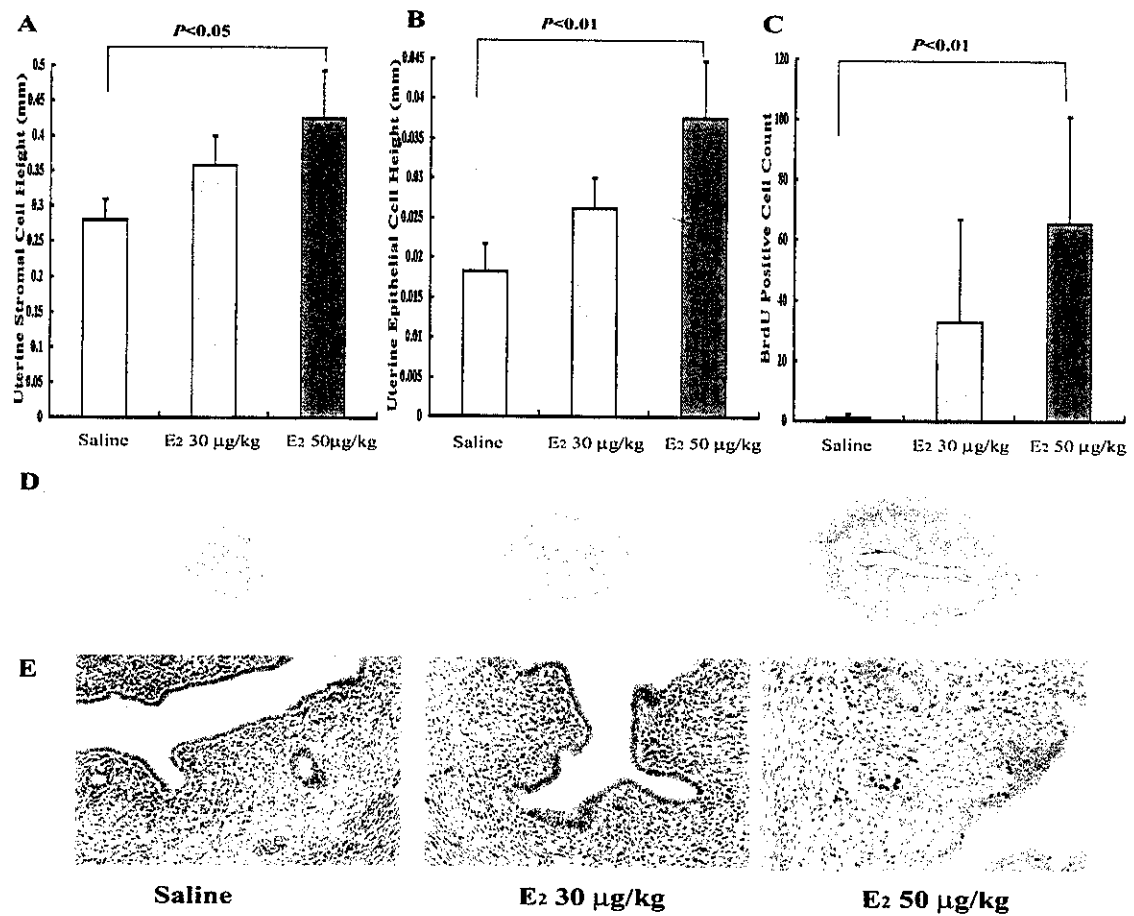


Figure 3: Changes of body and uterus weights of OVX SD rats.

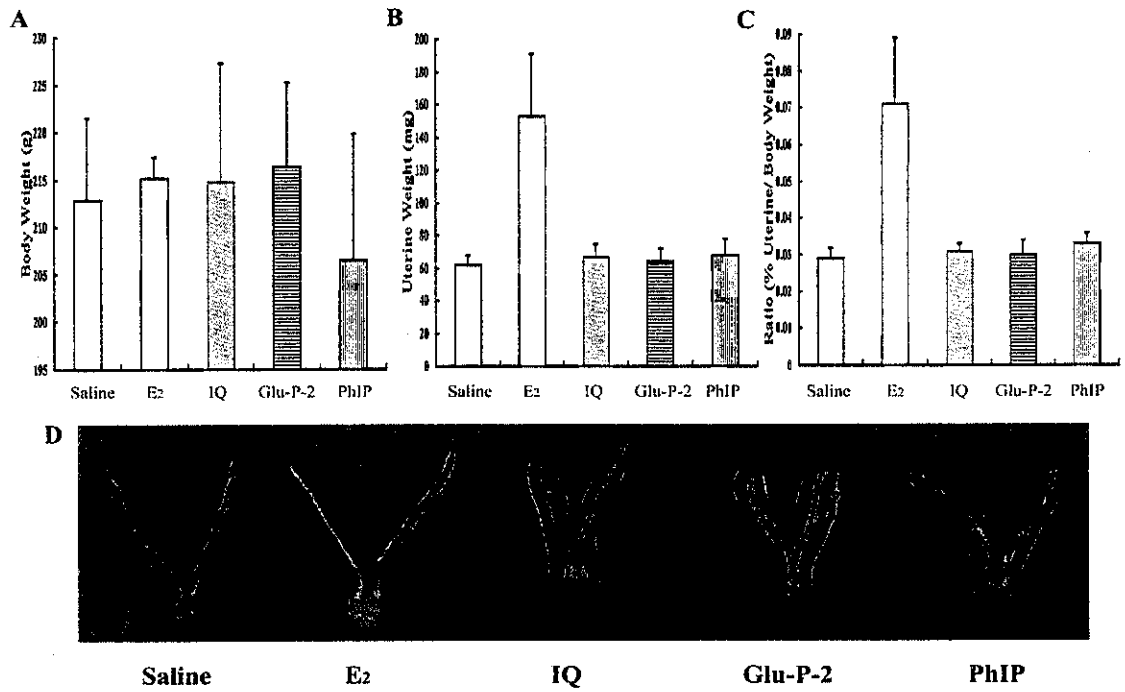


Figure 4: Effects of HCAs on uterus of OVX SD rats.

