

平成 12 年度 厚生科学研究補助金 研究報告書

— 生活安全総合研究事業 —

課 題 名

内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による
健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部 関澤 純

分担研究者

広島大学医学部 安田 峯生

(財) 食品薬品安全センター泰野研究所 今井 清

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 江馬 眞

跡見学園大学女子短期大学部 石渡 尚子

目 次

平成 12 年度厚生科学補助金総括研究報告書

内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による
健康リスク評価における不確実性の解析に関する研究

関澤 純……………1

平成 12 年度厚生科学補助金分担研究報告書

胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化

関澤 純……………11

ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の
統計的解析および、わが国出産時の性比の経年変化に関する解析

関澤 純 安田 峯生……………17

大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響に関する研究

石渡 尚子 関澤 純……………25

フタル酸ジブチルの食品経由曝露によるリスクの不確実性分析

関澤 純 江馬 眞……………47

ジブチルスズのラットにおける妊娠および妊娠維持に対する影響に
関する研究

江馬 眞……………57

リスク評価における不確実性の扱いに関する国際的動向に関する研究

関澤 純……………67

付録

Reproductive and Developmental Toxicology, Korach K ed. より

部分的に和訳 ……………79

平成12年度 厚生科学研究補助金（生活安全総合研究事業）

総括研究報告書

「内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究」

主任研究者 関澤 純 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

内分泌攪乱化学物質による健康リスクの評価に関する情報を収集し、さらにリスク評価における不確実性要因と不確実性の幅について解析した。

(1)リスク評価における不確実性分析に関する最新の国際的な研究動向を調査し、海外との共同研究を行った。欧州連合および米国・カナダではそれぞれ、化学物質のリスク評価に際して動物試験における無毒性量から人の安全性を確保するための許容（耐容）量を設定する時に、100という値を不確実性係数として一律に適用するのではなく、種間、個体間のトキシコキネティクスやトキシコダイナミクスの差異に関する詳細な情報を収集、解析して、種差による外挿、および人の個体差の幅の推定を精密化し不確実性を減らすための研究プロジェクトを進めている。

内分泌攪乱化学物質についても同様な考え方は重要と考えられ、国際化学物質安全性計画(IPCS)が企画した国際ワークショップ(2000年5月)において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿のため、あるいは分布における「パラメータの不確実性」もさることながら、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられた。特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」あるいは「低用量問題」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(2)前記理由から胎児期曝露による発生・生殖などへの影響の解析を目的としてこれまでに内分泌攪乱影響が懸念されている約100種類の物質について、fetus、embryo、fetal exposure、reproductionをキーワードとしTOXLINE文献データベースを用いて文献検索を行った。物質によっては非常に多数の文献が見いだされたので、内分泌攪乱影響の可能性や懸念が比較的大きいと考えられた大豆エストロゲン物質、有機スズ、フタル酸エステルおよびダイオキシン類に絞り重要と思われるオリジナル文献を収集し、物質に関する情報、試験に関する情報、影響に関する情報、文献情報を分類、整理したデータベースを作成してきた。本年度は前記物質についてさらに最近(1998-2000年)の文献に限って追加検索を行った。本データベースを活用するとともに、人におけ

る影響の知見を中心に、影響と曝露に関する定量的な情報を収集し、かつ背景メカニズムについての考察を加えて以下に記すようなリスク評価と不確実性分析を実施した。

(3)大豆中イソフラボノイドのエストロゲン作用について、現在の日本人の平均的摂取レベル(ゲニステインとダイゼインの合計で一日あたり20-40 mg)と血中濃度は、臨床および疫学的な知見に照らして乳癌抑制を含むベネフィシアルな影響を与えるのに十分なレベルであることをすでに示した。実際に大豆製品摂取を含む食生活と女性の生理の関連について確認する目的で女子大生を対象とした健康影響に関するアンケート調査を実施した結果、大豆摂取が少ない人ほど不正出血や経血量異常が多い傾向が見られたが、喫煙の有無や睡眠不足などが生理の不順へのより大きな要因として寄与している可能性が示唆された。今年度は一歩進めて、更年期前後の女性を対象として食生活を記録しながら大豆抽出イソフラボノイドを4週間にわたり毎日一定量(40 mg)摂取した場合と、プラセボを摂取した場合について健康への影響を解析するダブルブラインド・クロスオーバーの疫学調査を東京農業大学と共同研究として行った。その結果閉経群(45名)、未閉経群(13名)ともにイソフラボン摂取後に高密度リポたんぱくの増加が見られたが、同時にイソフラボン摂取期間中に油脂や肉類の摂取量に変化があった。また骨代謝のマーカであるジピリジリンとオステオカルシンのレベルはイソフラボン摂取後に閉経群でそれぞれ低下傾向と上昇傾向が見られ骨吸収の亢進を示唆し、骨密度についてはイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、未閉経群では骨密度はイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、骨代謝マーカについては逆の傾向が見られた。しかし今回試験では対象人数が少なく、また既往歴のある人が76%以上(高血圧26%,子宮筋腫2%)と多いなど不確実性要因も多く投与による影響の有意差は認められなかった。

(4)ダイオキシンの生殖・発達影響の不確実性分析のため、事故によりダイオキシンの曝露された両親から生まれた子供に見られた性比(男児と女児に対する比)の偏りの問題をとりあげた。イタリアのセベソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事故後の約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清脂肪中の2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が100 ppt以上の場合、出生児12人がすべて女児であった。昨年度は出産児への影響の可能性がより高いと考えられた母親の血漿中のダイオキシン濃度データにlog logistic modelを適用しこのような事象が10%の確率で発現するベンチマーク量を推計したところ、約60 pptとなった。この値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度(TEQ:毒性等量)が20から40 pptであることと比べると、やや高いといえるものであった。今年度は、この事故の両親についての統計的解析から父親のダイオキシン曝露が子供の性比の偏りに影響しているのではないかとする報告が発表されたので、父親の血清中濃度に同様な手法を適用してみた。女児ばかり生まれるというような事象の10%発現確率のベンチマーク量をこのデータか推定すると、父親の血清中ダイオキシン濃度として約73 pptとなった。

(5) わが国の人口動態統計から死産児の性比がここ30年間で急激に上昇(男児死産が相対的に増加)しているという報告がある。人口動態統計を詳細に調べると、この現象は特に妊娠12週から22週において顕著であり(最近20年間に35%以上増加)、妊娠28週以降ではむしろ死産児の性比は減少傾向(最近30年間に20%減少)にあった。性別の判明しうる妊娠12週から15週においては、もともと男児死産が相対的に多いことは知られていたが、一定傾向としてその割合が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定される。人における事象の背景には、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探るべく研究を続けている。

(6) トリブチルスズをラットの妊娠初期の比較的低濃度の投与すると血中プロゲステロン濃度を低下させ、子宮の脱落膜形成と着床胚の生存を阻害した。トリブチルスズの代謝物であるジブチルスズの塩化物をラットの妊娠初期に投与して妊娠の開始及び維持に与える影響について検討した。妊娠0-3日または妊娠4-7日に3.8, 7.6または15.2 mg/kgを強制経口投与し、妊娠20日に胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠0-3日の塩化ジブチルスズ投与により、不妊娠のラット数および動物当たりの着床前胚死亡率が、7.6 mg/kg以上で対照群と比して有意に上昇し、また15.2 mg/kgでは対照群及び飼料制限群と較べても有意に上昇した。妊娠の成立した雌ラットでは、着床数、生存胎児数、着床後胚死亡率に有意な変化は見られなかった。妊娠4-7日の投与では対照群及び飼料制限群と比べて7.6 mg/kg以上で着床後胚死亡率の上昇がみられた。これらの結果から、塩化ジブチルスズは妊娠初期に投与したとき妊娠の成立および維持に悪影響を及ぼし、その作用は投与時期によって異なることが明らかになった。

(7) フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは共通の代謝物としてフタル酸モノブチルを有し、このものが影響における近似活性体と考えられており、その作用においてはエストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を経由しないで抗アンドロゲニックな作用(雄の肛門生殖器間距離の短縮、停留睾丸など)を示す。他方、一般市民ではフタル酸ジブチルへの曝露の98%以上が食品経路摂取によることが知られている。毒性試験においては、母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性(生存同腹仔の減少、同腹仔体重の減少:最小毒性発現量 66 mg/kg 体重/日)が見られ、このデータをもとに無毒性量データの欠如を考慮に入れて一日許容摂取量 66 μ g/kg 体重/日が算出された。この場合、肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられた。さらにわが国での最近の調査によるとフタル酸ジブチルの食品経路摂取量として14.3 μ g/人(0.286 μ g/kg bw/day)という推計値があり、この量は一日許容摂取量の0.4%に相当した。同様にフタル酸ブチルベンジルの摂取量として4.7 μ g/人(0.286 μ g/kg bw/day)が推定され、この値はフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量 1850 μ g/kg bw/day の0.005%に相当した。同じ代謝物を経由すると推定される2種のフタル酸エステルについて両者の複合曝露があつたとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられた。この2種のフタル酸エステルのリスク評価

で、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度とレベルのデータ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することにより、より精密なリスク評価がなされうると考えられた。

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所化学物質
情報部室長 関澤 純

分担研究者

広島大学医学部第一解剖学教室教授
安田峯生

(財)食品医薬品安全センター秦野研究
所副所長 今井 清

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所
生物試験部室長 江馬真

跡見学園大学女子短期大学部専任講
師 石渡尚子

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性要因を解析することにより、評価の信頼性の向上に寄与する。内分泌攪乱化学物質の人のレベルでのリスクについて検討し、リスク評価における問題点を明らかにする。

B. 研究方法

(1) リスク評価における不確実性の扱いに関する国際動向

健康リスク評価における不確実性係数の適用のあり方を見直す国際的ワークショップにおいて、本研究の成果の一部を含めて討議した。

(2) 胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化

内分泌攪乱化学物質のリスクを評価する上で、クリティカルな要因と考えられた曝露時期の問題を解明するために、内分泌攪乱を疑われている物質について胎児期あるいは胚の曝露による影響の情報を調査し、リスク評価に関係すると考えられた知見を解析した。

(3) 大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響調査

大豆エストロゲン物質の摂取による健康への影響を実証的に調査するために、更年期前後の女性を対象としてイソフラボン錠剤を投与する二重盲検・クロスオーバーの介入試験を東京農業大学と共同研究として行った。

(4) ダイオキシン曝露による出産児性比の偏りに及ぼす父親のダイオキシン血中濃度の統計的解析

ダイオキシンに高濃度曝露された両親から生まれた子供の性比の偏りについて

の報告をもとに、父親の血清中ダイオキシン濃度の統計的な解析からベンチマーク量を推定した。

(5) わが国死産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計から、死産児の性比がここ30年間増加しつづけている要因について解析を行った。

(6) ジブチルスズのラットにおける妊娠および妊娠維持に対する影響

内分泌攪乱影響について関心を呼び膨大な知見がある化学物質のうち、有機スズとフタル酸エステルをとりあげて、リスク評価とその不確実性の分析を行った。

(7) フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの食品経由曝露によるリスクの不確実性分析

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの曝露によるリスクを評価し、評価における不確実性要因を検討した。

(倫理面への配慮) 大豆エストロゲン投与試験について当所倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

(1) リスク評価における不確実性の扱いに関する国際動向

国際化学物質安全性計画(IPCS)が企画した国際ワークショップ(2000年5月)において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿のためや、分布における「パラメータの不確実性」よりも、影響メカニズムにお

ける不確実性の寄与が大きいと考えられた。特に発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」の解釈などが大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(2) 胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化

胎児期曝露による発生・生殖影響などの解析のため、大豆エストロゲン物質、有機スズ、フタル酸エステルおよびダイオキシン類に絞り最近(1998-2000年)の文献に限って追加検索を行い、重要と思われるオリジナル文献を収集し、人における影響の知見を中心に、定量的な情報を収集し、背景メカニズムについて考察を加えリスク評価と不確実性分析を実施し端緒的であるが解明のひとつの方向を示しえた。

(3) 大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響調査

更年期前後の女性を対象として大豆抽出イソフラボノイドの健康への影響を調査・解析した。閉経群(45名)、未閉経群(13名)ともにイソフラボン摂取後に高密度リポたんぱくの増加が見られたが、イソフラボン摂取期間中における油脂や肉類の摂取量に変化があった。また骨代謝のマーカーであるジピリジリンとオステオカルシンのレベルはイソフラボン後に閉経群でそれぞれ低下傾向と上昇傾向が見られ骨吸収の亢進を示唆し、骨密度についてはイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、未閉経群では骨密度はイソフラボン摂取後にわずかに上昇し骨代謝マーカーについては逆の傾向が見られた。今回試験では対象人数が少なく、また高血圧26%、子宮筋腫2%など

既往歴のある人が76%以上と多く、影響の有意差は認められなかった。

(4) ダイオキシン曝露による出産児性比の偏りに及ぼす父親のダイオキシン血中濃度の統計的解析

事故によりダイオキシンの曝露された両親から生まれた子供の性比(男児と女児に対する比)の偏りの問題をとりあげ、女児ばかり生まれるという事象の10%発現確率のベンチマーク量を父親の血清中ダイオキシン濃度について推定し73 pptという値を得た。

(5) わが国死産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計によるとこの30年間に急激に男児死産が相対的に増加している。詳細に調べると特に妊娠12週から22週では最近20年間に35%以上増加しているが、妊娠28週以降ではむしろ死産児の性比は最近30年間に20%減少している。

死産性比が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定されるが、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探るべく研究を継続している。

(6) ジブチルスズのラットにおける妊娠および妊娠維持に対する影響

塩化ジブチルスズをラットの妊娠0-3日または妊娠4-7日に強制経口投与し、胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠0-3日の投与により不妊娠の動物数および動物当たりの着床前胚死亡率が7.6 mg/kg以上で対照群に比して有意に上昇、15.2 mg/kgでは対照群および飼料制限群と比べて有意に上昇したが、妊娠成立雌ラットでは着床数、生存胎児数、

着床後胚死亡率に有意な変化は見られず、妊娠4-7日の投与では7.6 mg/kg以上で着床後胚死亡率の上昇が見られた。塩化ジブチルスズは妊娠初期に投与したとき妊娠の成立および維持に投与時期によって異なる悪影響を及ぼすことが明らかになった。

(7) フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの食品経路曝露によるリスクの不確実性分析

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは近似活性体と考えられる共通の代謝物フタル酸モノブチルを生成し、エストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用を示す。毒性試験における肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられたが母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性が見られ、一日許容摂取量 $66 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日が算出された。フタル酸ジブチルへの曝露の98%以上は食品経路摂取だが、最近の調査結果ではフタル酸ジブチルの食品経路摂取量は $14.3 \mu\text{g}/\text{人}$ ($0.286 \mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day)であり、この量は一日許容摂取量の0.4%に相当した。同様にフタル酸ブチルベンジルの摂取量は $4.7 \mu\text{g}/\text{人}$ ($0.286 \mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day)でありフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量 $1850 \mu\text{g}/\text{kg}$ bw/dayの0.005%に相当した。フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジル両者の複合曝露があったとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられたが、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度と量データ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することで、より精密なリスク評価がなさ

れうると考えられた。

D. 考察

(1) 国際化学物質安全性計画(IPCS)が企画した国際ワークショップにおいては外挿のため、あるいは分布における「パラメータの不確実性」が中心課題として討議された。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられ、特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(2) 内分泌攪乱影響において最もクリティカルな問題のひとつであり、まだ研究の蓄積が少ないクリティカルウィンドウとしての胎児期曝露による次世代への影響の問題に着目し、胎児曝露文献の検索、整理とデータベース化を行った。個々のオリジナル文献を収集、熟読し、問題点を整理する上では時間と労力の面から対象物質と文献は限らざるをえなかった。しかし、内分泌攪乱が懸念されている、あるいは影響の可能性のあるいくつかの物質についてリスク評価を実施するとともに、それに伴う不確実性の解析を行うことができた。他の先進国とともにわが国でリスク評価の枠組みを確立するとともにリスク評価に伴う不確実性の扱いについて、今後さらに独自の研究を進め、行政の安全性評価の科学的な判断根拠を提供してゆく必要がある。

(3) 内分泌攪乱化学物質のリスク評価において提示されたクリティカルウィンドウや低用量曝露における逆U字用量-反応関係の問題は、今後の安全生評価の枠組みの基本に関わる事柄であり、独自の研究体制を持って解明する必要がある。本研究で進めてきた胎児期曝露文献データベースの開発と、それに基づくいくつかの内分泌攪乱化学物質についてのリスク評価は端緒的なものであるが内分泌攪乱化学物質について解明すべき課題とひとつの方向を示しえたと考える。

(4) 本研究では内分泌攪乱化学物質によるリスク評価に焦点をあて、人のレベル、とりわけ日本人の現在の曝露(血中濃度を含む)レベルと、いくつかの物質の影響の種類と活性の強さを定量的に比較検討した。このため食品摂取パターンに重点をおき、若い女性や更年期の女性を対象としたアンケートあるいは疫学的調査も行った。また動物試験では、いまだ指摘されていないがダイオキシンの高濃度曝露地域に特異的に見られている出生児の性比の偏りの問題についてデータに基づく、そのような事象の発現確率の統計的な推定を行うとともに、わが国の人口動態統計を用いた死産児における性比(男児と女児に対する比)の経年的な増加傾向について解析を試みた。人を対象としたこれらの研究の解析は不確実性要因が多岐にわたり、解析は容易ではないが人のレベルですでに影響が見られている事柄に関するものであり、今後さらに研究を進める必要がある。

E. 結論

(1) 化学物質のリスク評価に内在する不確実性に着目した研究は、わが国では

これまで例を見ない。内分泌攪乱化学物質についてはデータギャップ、作用機構について未知の部分が多いなど、リスク評価において不確実性の寄与が大きく、毒性評価と曝露評価、総合の各段階において、どのような要因が、どういう不確実性の幅を持って寄与しているかについて解析した。

(2) 日本人における内分泌攪乱化学物質の可能性について不確実性を含めた定量的な解析を行った結果、植物エストロゲン物質、ダイオキシン、有機スズ、フタル酸エステルについて、そのリスク日本人における内分泌攪乱化学物質の可能性について不確実性を含めた定量的な解析を行った結果、植物エストロゲン物質、有機スズほかについて、そのリスクあるいはベネフィットの可能性を不確実性の幅をふくめて定量的に示唆することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sekizawa J., Suter G., Vermeire T. & Munns W. (2000) An example of an integrated approach for health and environmental risk assessment: the case of organotin compounds, *Water Science & Technology*, 42(7-1):305-313. (2000)

関沢 純、花井 莊輔、毛利 哲夫(2001)化学物質の健康リスク評価, 丸善株式会社, 東京

関沢 純(2001)化学物質のリスク評価における不確実性, 日本リスク研究学会誌 12(2):4-9.

小泉 睦子、江馬 眞、広瀬 明彦、長谷川 隆

一(2000) フタル酸エステルの生殖及び発生に対する毒性影響についての最近の研究：主としてDi(2-ethylhexyl)phthalate およびDi-n-butyl phthalateについて、日本食品化学学会誌7(2):65-73.

Ema M. & Harazono A (2000) Suppression of decidual cell response induced by tributyltin chloride in pseudopregnant rats: a cause of early embryonic loss A. Arch Toxicol., 74:632-637.

Ema M. & Harazono A (2000) Adverse effects of dibutyltin dichloride on initiation and maintenance of Reproductive Toxicology, 14:451-456.

Ema M. (2000) Reproductive and Developmental toxicity of triphenyltin chloride in rats Congenital Anomalies, 40:8-13.

Ema M. & Harazono A (2000) Developmental and reproductive toxicity of Tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats, Congenital Anomalies, 40:S108-S120.

Ema M. & Miyawaki E. (2001) Adverse effects on development of the reproductive system in male offspring rats given monobutyl phthalate, a metabolite of dibutyl phthalate, during late pregnancy Reproductive Toxicology, 15:189-194.

Harazono A. & Ema M. (2001) Effects of 4-tert-octylphenol on initiation and maintenance of pregnancy following oral administration during

early pregnancy in rats Toxicology Letters, 119:79-84.

Ema M. & Miyawaki E. (2001) Effects of monobutylphthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats Reproductive Toxicology, 15:000-000.

2. 学会発表

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

平成12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

「胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化」

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、生体の感受性や、不可逆性の点から考えて重要性が高いと思われる妊娠期間中の曝露による影響情報を中心に検索し整理した。このうち健康影響の蓋然性が高い物質、すなわち大豆エストロゲン物質、有機錫、フタル酸エステル類およびダイオキシンにつき、物質情報、動物種、試験条件、観察された影響についての情報、文献情報を整理しデータベースを作成した。本データベースも利用してそれぞれの物質の健康リスクを検討した。

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質に関して、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、とりわけ重要なのは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である。

これまでとりあげられた物質のうち健康影響の蓋然性が問題となりうる物質について、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、本研究班の試験法開発を支援する。

ことに今後調査研究を進める必要性が高いと考えられる妊娠期間中の曝露による影響に焦点をあてて、整理する。

B. 研究方法

文献調査は次のように行った。

(1) Internet Grateful Med (NLM) の Toxline を使用し、1985 年—2000 年までの文献

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) このうち、ダイオキシン類、フタル酸エステル類、有機錫化合物、大豆エストロゲン物質については、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。

(4) リスクの検討は、それぞれ別途の目的に応じて本データベースを部分的に利用して行った。

(倫理面への配慮) 特に必要なし

C. 研究結果

(1) 文献検索結果

検索結果を表1に示す。reproduction がキーワードになっている文献はそれぞれの物質について、かなり多かったが fetus, embryo, fetal exposure となると一桁程度少なかった。ダイオキシンなど4物質を除き、fetus, embryo, fetal exposure のキーワードで検索される文献数は100以下ではあるが相当数あった。これは文献中にこれらの言葉が出てくるものをすべて拾っているためと考えられた。また内分泌攪乱の検出をエンドポイントとした試験研究は必ずしも多くはなかった。

最近になって内分泌攪乱の検出をエンドポイントとした試験研究が急速に増えていることを考慮して、健康リスクの蓋然性が比較的高いと考えられる大豆エストロゲン物質、有機錫、フタル酸エステル類およびダイオキシン物質について、追加的に最近の報告(1998年-2001年)にしぼって検索、分類し、データベース化を試みた(表2)。

このうち重要と考えられた文献を入手し、内容を検討し、健康影響リスクを考える上で必要と考えられる情報を検討して、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、整理しさらに詳細な内容のデータベースを作成した(表3)。

(2) データベースを利用したリスクの検討

このデータベースも参考に大豆エストロゲン物質、有機錫、フタル酸エステル類およびダイオキシン物質について、リスク評価を行った。この結果、以下のことが考えられ

た。

(a) 有機錫とフタル酸エステルは、受容を介さないで哺乳動物や野生生物に生殖・発生影響を誘発する。

(b) 大豆エストロジェンは少なくとも日本において受容体を介した影響のほかに、いくつかのメカニズムを介してベネフィシアルな影響を実際に及ぼしていると考えられる(表4)。

(c) ダイオキシンについては人と実験動物で見られた生殖影響に質的にも大きな違いが見られている。

D. 考察

(1) 内分泌攪乱化学物質といわれる物質は、化学的にのみならず、作用メカニズムにおいても多岐にわたり、必ずしも受容体経路で影響を及ぼしているものばかりではなく作用メカニズムと定量的なリスクの可能性をあわせて検討してリスクの評価を検討してゆかなければならない。

(2) ヒト以外で見られた影響がヒトにもあてはまるかについて、作用メカニズムと、キネティクス(吸収、分布、代謝など)とダイナミクス(標的臓器における分子レベルでの感受性)および、ヒトと試験動物における曝露レベルの相違について検討する必要がある。

(3) この意味でとりわけ胎児期曝露による影響についての的確に検出する試験系の整備が必要と考えられる。発生過程における発生・分化の制御メカニズムの解明に向けた研究の推進が内分泌攪乱化学物質のり

スク評価にとり必要である。

E. 結論

(1) 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整理した。

(2) Reproduction をキーワードとしてヒットする文献は比較的多く見られたが、胎児、胚の曝露試験を報告した文献の数は多くない。しかも内分泌攪乱の検出をエンドポイントとした試験研究は必ずしも多くはなかった。

(3) 現在主に行われている受容体結合や受容体経由の活性発現によるスクリーニング試験、成獣における子宮重量や精巣への影響を見る試験のみでは見落とす可能性のある影響や物質があり、生体の恒常性をかく乱して有害影響を及ぼす可能性を作用メカニズムを幅広く考慮して検討してゆく必要がある。

(4) 胎児期曝露による影響についての的確に検出する試験系の整備が必要と考えられる。発生過程における発生・分化の制御メカニズムと、外的また内的要因によるその攪乱の可能性のの解明に向けた発生段階に応じた発現調節した研究などの推進が必要である。

(5) 人における健康影響と影響メカニズムのデータ、曝露のデータを総合して、関心が持たれている物質についておよそのリスクレ

ベルを推測するために、本研究で試みたようなデータベースを整備し内容を充実させることが有用であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

関沢 純 (1998) わが国の有機錫汚染による健康および環境影響リスクの評価、Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116, 126-131

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

Sekizawa J (ed.) (1999) Triphenyltin compounds, Concise International Chemical Assessment Document, No.13, World Health Organization, Geneva

Sekizawa J, Suter G, Vermeire T & Munns W (2000) An example of an integrated approach for health and environmental risk assessment : the case of organotin compounds, Water Sci. Technol., 42, 305-313

2. 学会発表

関澤(1998)わが国の有機すず汚染のリスク評価、第4回バイオアッセイ研究会・日本官許毒性学会合同研究発表会(9月、草津)

関澤、大屋 (1998) 植物エストロゲン物質の日本人における定量的リスク・ベネフィット解析、日本内分泌攪乱化学物質学会第1回研究発表会(12月、京都)

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, Venice)

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, Hawaii)

Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins 日本内分泌攪乱化学物質学会第2回研究発表会 (12月、神戸)

関澤、江馬 (2000) 環境ホルモン物質としてのリスク評価の検討、日本内分泌攪乱化学物質学会第3回研究発表会 (12月、横浜)

G. 知的所有権の取得状況

- 1.特許 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他 なし

表1 健康リスクの蓋然性が考えられる化学物質についての最近の文献の検索
CAS登録番号と発行年で絞った検索結果

分類	化合物	CAS登録番号	1998	1999	2000	合計
有機すず	TPTCl	639-58-7	9	8	8	25
	TPTH	76-87-9	10	6	5	21
	TBTO	56-35-9	16	12	9	37
	TBTCl	1461-22-9	18	10	11	39
フタル酸エステル	DEHP	117-81-7	108	97	110	315
	DBP	84-74-2	77	42	94	213
	BBP	85-68-7	34	17	70	121
	DEP	84-66-2	25	27	59	111
ダイオキシン	2,3,7,8-TCDD	1746-01-6	638	383	429	1450
大豆エストロゲン	genistein	446-72-0	166	116	71	353
	daidzein	486-66-8	35	27	14	76
	equol	531-95-3	13	3	5	21

表2 キーワードによる絞り込み検索の結果 (1998-2000年分)
CAS登録番号と キーワード(fetus, embryo, fetal exposure, reproduction) で検索

分類	Compound	CAS-No	fetus	embryo	fetal exposure	reproduction	合計
有機すず	TPTCl	639-58-7	1	1	1	4	7
	TPTH	76-87-9	0	1	0	1	2
	TBTO	56-35-9	0	0	0	3	3
	TBTCl	1461-22-9	1	1	1	3	6
フタル酸エステル	DEHP	117-81-7	4	6	5	20	35
	DBP	84-74-2	9	8	13	33	63
	BBP	85-68-7	4	3	2	13	22
	DEP	84-66-2	0	0	0	5	5
ダイオキシン	2,3,7,8-TCDD	1746-01-6	39	62	86	299	486
大豆エストロゲン	genistein	446-72-0	8	10	7	51	76
	daidzein	486-66-8	5	2	1	18	26
	equol	531-95-3	3	1	3	8	15

表3 Genistein についての文献検索結果 (1998-2001年分)

影響の種類別: D=発生毒性, R=生殖毒性, IN=免疫毒性・神経毒性, A=分析, V=In Vitro,
H=Human, M=メカニズム, O=その他

タイトル中に "Genistein" が出てくる文献をMEDLINE を使って検索

Chemical	Title	year	Author	Reference	分類
Genistein	Sex steroid receptor regulation by genistein in the prepubertal rat uterus.	2001	Cotroneo MS, Wang J, Eltoum IA, Lamartiniere CA.	Mol Cell Endocrinol. 2001 Feb 22;173(1-	M
	Mechanism of Inhibition of Cyclic Nucleotide-gated Channel by Protein Tyrosine Kinase Probed with Genistein.	2001	Molokanova E, Kramer RH.	J Gen Physiol. 2001 Mar 1;117(3):219-234.	M
	Initiation of polyoma virus origin-dependent DNA replication through STAT5 activation by human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.	2001	Watanabe S, Zeng R, Aoki Y, Itoh T, Arai Ki K.	Blood. 2001 Mar 1;97(5):1266-1273.	V
	Comparative assessment of endocrine modulators with oestrogenic activity: I. Definition of a hygiene-based margin of safety (HBMOS) for xeno-oestrogens against the background of European developments.	2001	Bolt HM, Janning P, Michna H, Degen GH.	Arch Toxicol. 2001 Jan;74(11):649-62.	O
	Effects of chronic dietary exposure to genistein, a phytoestrogen, during various stages of development on reproductive hormones and	2000	Roberts D, Veeramachaneni DN, Schlaff WD, Awoniyi CA.	Endocrine. 2000 Dec;13(3):281-6	H
	Attenuation of neurodegeneration-relevant modifications of brain proteins by dietary soy.	2000	Kim H, Xia H, Li L, Gewin J.	Biofactors. 2000;12(1-4):243-50.	IN
	Effects of isoflavone supplement on healthy women.	2000	Watanabe S, Terashima K, Sato Y, Arai S, Eboshida A.	Biofactors. 2000;12(1-4):233-41.	H
	Comparison of plasma and urinary phytoestrogens in Japanese and Finnish women by time-resolved fluoroimmunoassay.	2000	Uehar M, Arai Y, Watanabe S, Adlercreutz H.	Biofactors. 2000;12(1-4):217-25.	H
	Isoflavonoids and chronic disease: mechanisms of action.	2000	Barnes S, Boersma B, Patel R, Kirk M,	Biofactors. 2000;12(1-4):209-	M
	Factors affecting flavonoids absorption.	2000	Piskula MK.	Biofactors. 2000;12(1-4):175-80	M
	Tyrosine phosphorylation increases Ca ²⁺ sensitivity of vascular smooth muscle contraction.	2000	Masui H, Wakabayashi I.	Life Sci. 2000 Dec 15;68(4):363-72	M

「ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の統計的解析および、
わが国出産児の性比の経年変化に関する解析」

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
安田 峯生 広島大学医学部第一解剖学教室教授

研究要旨: イタリアのセブソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事故後の約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清中の2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が脂肪あたり100 ppt以上の場合、出生児12人がすべて女児であった。昨年度は母親の血漿中のダイオキシン濃度データにlog logistic modelを適用しこのような事象が10%の確率で発現するベンチマーク量を推計したが、この件についての統計的解析から父親のダイオキシン曝露が子供の性比(男/女の比)の偏りに影響しているとする報告が発表されたので、今年度は父親の血清中濃度について同様な手法を適用した。女児ばかり生まれるという事象を父親のデータから推定すると、血清中ダイオキシン濃度として約80 pptが10%発現確率のベンチマーク量と推定された。

わが国の人口動態統計を分析すると出産児の性比は1950年代から1970年にかけては一貫して上昇し、1970年以降は一貫して減少していることが知られた。この間の増減は1970年の前後それぞれ20-30年の間に3%づつという値であり、このような大きな性比の変化は他の先進国には見られない顕著なものである。この間における母親の出産年齢の高年齢化は性比の変化に影響を及ぼしていなかったが、少子化に伴う出産児中の第1子の比率の増大との関連で出産順序と性比の関連を調査すると、年次によって第1子とそれ以外の子との間で性比に有意な差が見られることがわかった。また親のダイオキシンとPCB負荷量についていえば1970年代には現在の2-3倍のレベル(約40-60 ppt)にあったと推定され、イタリアの事故において顕著なかたちで観察された事象から推算されたベンチマーク量との比較すると無視しえないレベルにあったと考えられる。さらに1970年以降の死産児の性比はここ30年間で急激に上昇(男児死産が相対的に増加)しており、この現象は特に妊娠12週から22週において顕著であり、一定傾向としてその割合が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定される。人における事象の背景には、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探る研究を行った。

A. 研究目的

(1) ダイオキシンによる影響のうち、セブソに

おける出生児の性比(男児の女児に対する比)の偏りと、その父親の血清中ダイオキシン

濃度のデータからこのような事象が一定の確率で起こるベンチマークドーズを試算し、近年の日本におけるダイオキシンによる人体汚染の状況と比較検討する。

(2) わが国の人口動態統計からここ50年間の出生児の性比についてのトレンドを調査し、トレンドの背景となる事由について検討を加える。

B. 研究方法

(1) Mocarelliら(1996)が報告したセベソにおける出生児の性比のデータとその父親の血漿中ダイオキシン濃度のデータについて、Log-logistic モデルを適用し米国環境保護庁(US EPA)の Benchmark Dose Software (BMDS) を用いて一定確率でこのような事象が起こる血漿中ダイオキシン濃度をベンチマークドーズとして推算した。

(2) わが国の人口動態統計データから最近50年間の出生児および死産児の性比の変化およびその要因について調査し統計的な検討を行った。両親のダイオキシン負荷量との関係について考察を加えた。

C. 研究結果

(1) ダイオキシン曝露による出産時性比の偏りに及ぼす父親の血中濃度の統計的解析

ダイオキシンによる生物影響のうち実験動物では観察されていないが、ヒトの事故時に観察された注目すべき事象として高濃度曝露者からの出生児の性比の偏りの問題がある。イタリアのセベソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事事故後の約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清中の2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が脂肪あたり100 ppt 以上の場合、出生児12人がすべて女兒であった(Mocarelliら1996)。

Sekizawaら(1999)は、事故後、数年間の出産児における特定の性への偏りというような影響を与える可能性がより高いと思われた母親の血中ダイオキシン濃度データに基づいて、このような事象が10%の確率で発現するダイオキシン濃度のベンチマーク量を推計したところ、約60 ppt となった。

しかしその後Mocarelliら(2000)は、かれら自身のデータの統計的な解析の結果、出産児の性の偏りについては父親のダイオキシン曝露量の高さが関係していると報告した。そこで今年度は同様な方法を用いて父親の血中濃度におけるベンチマーク量を推算したところ10%発現確率のベンチマーク量(BMD)は、対照として用いる集団の血中濃度により相当左右されるがおよそ血清中ダイオキシン濃度として約80 ppt がベンチマーク量と推定された(表1)。

表1では、父親の血中濃度の対照群として、現在の先進国における成人の標準的な曝露レベルと考えられる血清中ダイオキシン濃度20 pptの父親から、出産児の標準的な性比に対応する513人の男児と487人の女兒が生まれるケースなど、3種類の場合を想定して計算した結果を示した。またこのベンチマーク量の95%信頼限界は22-26 pptであった。

(2) わが国出産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計を基に、1947年から1999年間の間の出産児の性比(男児と女兒に対する比)を解析した結果、次の傾向が見られた。すなわち1950年から1970年にかけては一貫して上昇し、1970年以降は一貫して減少していることが知られた(図1)。

この間の増減はそれぞれ20-30年の間に3%づつという値である。さらにグラフからわか