

平成12年度厚生科学研究費補助金
(生活安全総合事業)
研究成果報告書

内分泌攪乱物質の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

(H-10-生活-023)

主任研究者	山崎 聖美	国立公衆衛生院
分担研究者	香山 不二雄	自治医科大学
	久松 由東	国立公衆衛生院
	岡田 由美子	国立公衆衛生院

厚生科学研究費補助金（生活安全総合事業）

総括研究報告書

内分泌攪乱物質の免疫機能に及ぼす影響に関する研究

主任研究者 山崎 聖美 国立公衆衛生院 栄養生化学部 主任研究官

研究要旨

現在、内分泌攪乱物質として疑われている物質は、我々が日常生活で使用しているものにも多く含まれ、70種にのぼる。これらの物質は、野生生物のみならず、人においても生殖器ガンや精子数の減少につながるものが指摘されている。しかし、内分泌攪乱物質の人の健康に対する影響についてはまだ研究が進んでおらず、早急にこの問題に対処する必要がある。内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌攪乱物質は免疫機能を低下させていると考えられる。そこで、内分泌攪乱物質が免疫機能を低下させるか否か調べる目的で、内分泌攪乱物質を妊娠マウスに投与し、生まれた仔マウスの体重、脾臓、胸腺等諸臓器の重量を測定した。また、胸腺細胞、脾臓細胞のリンパ球サブセットを FACS を用いて解析し、さらに、胸腺細胞の ConA に対する反応性について調べた。その結果、個体間でばらつきがみられたものの、数種の内分泌攪乱物質が胸腺細胞の反応性を低下させる傾向があることがわかった。また、T リンパ球細胞株である Jurkat 細胞に内分泌攪乱物質を投与した時の細胞内カルシウムイオン濃度変化を測定した。その結果、ビスフェノール A、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジシクロヘキシル、ノニルフェノール、エストラジオールは、細胞内カルシウムイオン濃度を変化させたが、フタル酸ジエチルでは全く変化がないことが明らかになった。本研究により、ある種の内分泌攪乱物質が免疫機能に影響を及ぼすことが明らかになった。

分担研究者

香山 不二雄 自治医科大学
保健科学講座 教授

久松 由東 国立公衆衛生院
地域環境衛生学部 室長
岡田 由美子 国立公衆衛生院
衛生獣医学部 主任研究官

A. 研究目的

現在、内分泌攪乱物質として疑われている物質は、我々が日常生活で使用しているものにも多く含まれ、70種にのぼる。これらの物質は、野生生物に影響を及ぼすのみならず、人においても生殖器ガンや精子数の減少につながる事が指摘されているが、内分泌攪乱物質の人の健康に対する影響についてはまだ研究が進んでおらず、早急にこの問題に対処する必要がある。内分泌系は免疫系と密接に関係しており、内分泌攪乱物質は免疫機能を低下させていると考えられる。そこで、内分泌攪乱物質が免疫機能を低下させるか否か調べ、内分泌攪乱物質が免疫機能に及ぼす影響に関してそのメカニズムを解明することを本研究の目的とする。本年度は、内分泌攪乱物質を妊娠マウスに投与し、生まれた仔マウスの体重、諸臓器の重量を測定し、生まれた仔マウスの胸腺細胞の ConA に対する反応性について調べ、さらに、胸腺細胞、脾臓細胞のリンパ球サブセットを FACS を用いて解析した。また、T リンパ球細胞株である Jurkat 細胞に内分泌攪乱物質を投与した時の細胞内カルシウムイオン濃度変化を測定した。

B. 研究方法

1. ddY マウスに対する内分泌攪乱物質投与実験

ddY オスマウス (8週齢) と ddY メ

スマウス (8週齢) を一晩同じケージに入れて交配させ、翌朝別々にし、妊娠 0.5 日とした。妊娠 3.5 日目よりフタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチルを 25 mg / kg / day になるように、また、ノニルフェノールは 2.5 mg / kg / day になるように強制経口投与を行った。コントロールマウスにはコーンオイルを強制経口投与した。また、フタル酸ジシクロヘキシル、オクチルフェノールは、粉末飼料中に 0.5, 0.05, 0.005% になるように、ビスフェノール A は、粉末飼料中に 0.05, 0.005% になるように混ぜて与えた。この際のコントロールマウスは粉末飼料のみを与えた。各群ともに、仔マウスを出産後、離乳にあたる 20.5 日目まで親マウスに内分泌攪乱物質の投与を続け、その後は飼料のみを与えた。出生後、4 週目、8 週目、12 週目にコントロール群、各投与群からマウスを選び、オス・メスともに体重を測定し、脾臓、胸腺、肝臓の重量を測定し、さらに、オスについては精巣重量を、メスについては子宮重量を測定した。さらに、脾臓と胸腺を取り出し、メッシュして、脾臓細胞については溶血後、FITC 標識抗マウス CD3 抗体、PE 標識抗マウス CD19 抗体、FITC 標識抗マウス CD4 抗体、PE 標識抗マウス CD8 抗体で染色、胸腺細胞については FITC 標識抗マウス CD4 抗体、PE 標識抗マウス CD8 抗体で染色し、PBS にて洗浄後、FACS にて解析した。また、メッシュし

た胸腺細胞を、 1×10^7 個/ml に調製し、ConA を $5 \mu\text{g/ml}$ になるように添加し、2 日間、 37°C 、5%二酸化炭素中で培養し、トリチウム標識チミジンを加えてさらに一晚培養し、ハーベストし、細胞核内とりこまれたトリチウム標識チミジンを液体シンチレーションカウンターを用いて測定し、細胞内における DNA 合成能を比較した。

2. Jurkat 細胞内カルシウムイオン濃度変化の測定

Jurkat 細胞を 1×10^7 個/ml に調製し、Fura-2 AM($1 \mu\text{M}$)と 30 分間インキュベーションして細胞内に取り込ませ、PBS で洗浄後、ビスフェノール A、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジエチルヘキシル、ノニルフェノール、エストラジオールを投与して、細胞内カルシウムイオン濃度の変化を、蛍光光度計（日本分光）を用いて測定を行い 2 波長測定ソフトを用いて解析を行った。

C. 研究結果

1. 体重測定結果

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の体重は、オス $27.55 \pm 2.99\text{g}$ (n=4)、メス $24.42 \pm 2.63\text{g}$ (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の体重は、オス $28.56 \pm 1.46\text{g}$ (n=3)、メス $24.32 \pm 0.56\text{g}$ (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の体重

は、オス $30.44 \pm 1.39\text{g}$ (n=3)、メス $25.98 \pm 0.95\text{g}$ (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の体重は、オス $25.02 \pm 0.44\text{g}$ (n=3)、メス $21.91 \pm 0.97\text{g}$ (n=3)、ノニルフェノール投与群の体重は、オス $25.35 \pm 1.06\text{g}$ (n=3)、メス $21.86 \pm 1.71\text{g}$ (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の体重は、オス $26.01 \pm 3.13\text{g}$ (n=4)、メス $22.78 \pm 3.94\text{g}$ (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の体重は、オス $25.91 \pm 1.33\text{g}$ (n=3)、メス $17.60 \pm 1.26\text{g}$ (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の体重は、オス $19.67 \pm 1.24\text{g}$ (n=3)、メス $18.56 \pm 2.95\text{g}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の体重は、オス $18.50 \pm 0.63\text{g}$ (n=3)、メス $10.23 \pm 2.94\text{g}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の体重は、オス $23.73 \pm 0.48\text{g}$ (n=3)、メス $25.05 \pm 1.46\text{g}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の体重は、オス $24.89 \pm 0.81\text{g}$ (n=3)、メス $22.49 \pm 0.45\text{g}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の体重は、オス $23.22 \pm 1.09\text{g}$ (n=3)、メス $21.47 \pm 1.49\text{g}$ (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の体重は、オス $39.51 \pm 1.53\text{g}$ (n=4)、メス $32.49 \pm 2.41\text{g}$ (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の体重は、オス $34.03 \pm 2.20\text{g}$ (n=3)、メス $29.33 \pm 2.42\text{g}$ (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の体重

は、オス 37.72±0.82g (n=3)、メス 30.89±0.33g (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の体重は、オス 39.83±1.29g (n=3)、メス 29.45±3.09g (n=3)、ノニルフェノール投与群の体重は、オス 37.31±1.59g (n=3)、メス 28.35±1.60g (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の体重は、オス 38.08±0.44g (n=4)、メス 31.42±1.04g (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の体重は、オス 36.42±2.10g (n=3)、メス 31.58±2.39g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の体重は、オス 35.70±2.36g (n=3)、メス 30.86±0.86g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の体重は、オス 34.80±3.05g (n=3)、メス 31.80±1.136g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の体重は、オス 33.05±0.88g (n=3)、メス 30.12±2.39g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の体重は、オス 36.20±3.59g (n=3)、メス 29.15±1.73g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の体重は、オス 38.35±0.96g (n=3)、メス 33.91±1.79g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の体重は、オス 39.23±0.21g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の体重は、オス 35.96±0.59g (n=3)、メス 31.17±1.29g (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の体重は、オス

40.50±2.06g (n=4)、メス 36.32±2.10g(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の体重は、オス 37.98±2.48g (n=3)、メス 33.43±1.81g (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の体重は、オス 39.57±3.28g (n=3)、メス 33.17±0.84g (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の体重は、オス 38.62±0.22g (n=3)、ノニルフェノール投与群の体重は、オス 37.31±1.59g (n=6)、メス 32.94±2.78g (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の体重は、オス 38.74±1.36g (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の体重は、オス 35.26±0.58g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の体重は、オス 40.38±1.46g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の体重は、オス 39.87±3.32g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の体重は、オス 39.35±0.30g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の体重は、オス 42.32±3.05g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の体重は、オス 48.32±6.30g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の体重は、オス 37.77±3.10g (n=4)であった。

2. 脾臓重量測定結果

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓重量は、オス 204.8±14.7mg (n=4)、メス 184.7±55.6mg(n=4)、フタル酸ブチル

ベンジル投与群の脾臓重量は、オス 181.8±27.9mg (n=3)、メス 176.2±79.5mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓重量は、オス 173.8±23.7mg (n=3)、メス 170.5±19.9mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の脾臓重量は、オス 177.3±29.6mg (n=3)、メス 148.9±1.2mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓重量は、オス 194.7±51.5mg (n=3)、メス 148.5±10.6mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓重量は、オス 148.6±6.07mg (n=4)、メス 150.7±27.3mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓重量は、オス 217.9±11.0mg (n=3)、メス 180.7±20.2mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 152.7±8.00mg (n=3)、メス 148.5±10.48mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓重量は、オス 146.0±12.8mg (n=3)、メス 51.9±0.6mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 89.5±3.5mg (n=3)、メス 134.7±31.4mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 24.89±0.81mg (n=3)、メス 22.49±0.45mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 255.8±12.3mg (n=3)、メス 230.1±38.3mg (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コ

ントロール群の脾臓重量は、オス 163.8±10.31mg (n=4)、メス 147.4±10.1mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓重量は、オス 137.7±15.3mg (n=3)、メス 154.0±2.2mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓重量は、オス 136.7±12.3mg (n=3)、メス 159.4±1.1mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の脾臓重量は、オス 201.2±27.7mg (n=3)、メス 163.0±19.7mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓重量は、オス 165.8±29.6mg (n=3)、メス 130.8±0.4mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓重量は、オス 140.0±6.1mg (n=4)、メス 143.8±8.8mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群 (0.5%) の脾臓重量は、オス 143.0±9.6mg (n=3)、メス 214.2±10.6mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 183.8±52.3mg (n=3)、メス 166.5±5.5mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 107.5±8.5mg (n=3)、メス 154.0±10.4mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓重量は、オス 128.4±12.7mg (n=3)、メス 153.9±6.9mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 151.1±4.5mg (n=3)、メス 139.3±11.6mg (n=3)、オクチルフェ

ノール投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 150.3±27.4mg (n=3)、メス 150.8±21.8mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 168.5±15.7mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 157.8±16.9mg (n=3)、メス 150.5±10.7mg (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓重量は、オス 155.6±12.3mg (n=4)、メス 147.4±5.4mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓重量は、オス 155.6±12.3mg (n=3)、メス 174.4±15.6mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓重量は、オス 135.5±5.4mg (n=3)、メス 138.4±2.3mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の脾臓重量は、オス 151.8±1.8mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓重量は、オス 149.4±21.3mg (n=6)、メス 171.8±16.6mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓重量は、オス 126.0±9.6mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓重量は、オス 82.5±14.4mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 155.8±12.5mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 143.7±13.5mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓重量は、オス 143.3±12.5mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓重量は、オス 127.0±0.95mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 128.9±18.1mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓重量は、オス 151.6±17.1mg (n=4)であった。

3. 胸腺重量測定結果

3. 胸腺重量測定結果

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の胸腺重量は、オス 97.3±9.5mg (n=4)、メス 96.0±8.4mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の胸腺重量は、オス 64.8±19.7mg (n=3)、メス 74.7±39.2mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の胸腺重量は、オス 81.0±8.5mg (n=3)、メス 81.5±7.1mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の胸腺重量は、オス 85.4±3.8mg (n=3)、メス 86.3±12.6mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の胸腺重量は、オス 71.4±25.7mg (n=3)、メス 80.5±19.9mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の胸腺重量は、オス 88.3±17.6mg (n=4)、メス 80.3±26.0mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス 78.3±2.4mg (n=3)、メス 70.5±4.0mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 23.3±5.5mg (n=3)、メス 37.6±9.5mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス 79.1±25.9mg (n=3)、メス 38.1±14.9mg (n=3)、オ

クチルフェノール投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 35.9±7.3mg (n=3)、メス 63.7±23.3mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 73.4±22.1mg (n=3)、メス 93.7±3.6mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス 85.1±12.6mg (n=3)、メス 108.2±1.5mg (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の胸腺重量は、オス 64.8±10.95mg (n=4)、メス 64.4±8.7mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の胸腺重量は、オス 36.1±13.1mg (n=3)、メス 79.9±20.4mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の胸腺重量は、オス 50.5±12.3mg (n=3)、メス 86.6±13.2mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の胸腺重量は、オス 55.1±1.7mg (n=3)、メス 55.0±27.8mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の胸腺重量は、オス 59.5±15.4mg (n=3)、メス 57.0±7.2mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の胸腺重量は、オス 73.5±8.5mg (n=4)、メス 76.9±10.3mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス 65.12±14.4mg (n=3)、メス 93.0±22.7mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 57.5±6.5mg (n=3)、メス 63.8±5.2mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の胸腺重量

は、オス 54.4±13.9mg (n=3)、メス 71.4±22.3mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス 63.2±8.6mg (n=3)、メス 117.3±0.8mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 63.2±8.6mg (n=3)、メス 75.2±5.3mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス 59.7±28.5mg (n=3)、メス 107.2±26.9mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス 66.6±6.0mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス 69.9±2.4mg (n=3)、メス 101.8±33.2mg (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の胸腺重量は、オス 76.5±12.6mg (n=4)、メス 74.2±10.6mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の胸腺重量は、オス 74.7±16.3mg (n=3)、メス 60.5±19.2mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の胸腺重量は、オス 67.3±19.8mg (n=3)、メス 89.1±7.7mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の胸腺重量は、オス 65.4±15.8mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の胸腺重量は、オス 64.0±10.3mg (n=6)、メス 171.8±16.6mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の胸腺重量は、オス 82.3±23.4mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス 32.7±2.8mg (n=3)、フタル酸ジシ

クロヘキシル投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス $91.5 \pm 22.0 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス $77.0 \pm 11.1 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の胸腺重量は、オス $62.7 \pm 32.5 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の胸腺重量は、オス $53.9 \pm 6.4 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス $81.2 \pm 22.8 \text{mg}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の胸腺重量は、オス $64.7 \pm 6.1 \text{mg}$ (n=4)であった。

4. 精巣重量測定結果

出生後4週目のコーンオイル投与コントロール群の精巣重量は、 $188.63 \pm 29.1 \text{mg}$ (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の精巣重量は、 $182.1 \pm 30.3 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の精巣重量は、 $202.0 \pm 2.7 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の精巣重量は、オス $147.0 \pm 20.9 \text{mg}$ (n=3)、ノニルフェノール投与群の精巣重量は、 $156.7 \pm 27.3 \text{mg}$ (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の精巣重量は、 $169.0 \pm 22.8 \text{mg}$ (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の精巣重量は、 $131.2 \pm 12.9 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の精巣重量は、 $116.2 \pm 8.1 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の精巣重量は、 $97.7 \pm 23.5 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の精巣重量は、

$163.9 \pm 11.3 \text{mg}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の精巣重量は、 $150.2 \pm 18.3 \text{mg}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の精巣重量は、 $151.4 \pm 16.7 \text{mg}$ (n=3)であった。

出生後8週目のコーンオイル投与コントロール群の精巣重量は、 $238.7 \pm 58.1 \text{mg}$ (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の精巣重量は、 $221.2 \pm 14.8 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の精巣重量は、 $267.3 \pm 20.6 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の精巣重量は、 $294.4 \pm 44.6 \text{mg}$ (n=3)、ノニルフェノール投与群の精巣重量は、 $250.5 \pm 15.1 \text{mg}$ (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の精巣重量は、 $207.9 \pm 5.7 \text{mg}$ (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の精巣重量は、 $248.4 \pm 25.4 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の精巣重量は、 $206.0 \pm 28.1 \text{mg}$ (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の精巣重量は、 $192.4 \pm 6.0 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の精巣重量は、 $214.0 \pm 11.8 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の精巣重量は、 $222.7 \pm 10.9 \text{mg}$ (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の精巣重量は、 $267.8 \pm 23.1 \text{mg}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の精巣重量は、 $248.6 \pm 22.2 \text{mg}$ (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の精巣重量は、

227.9±25.6mg (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の精巣重量は、256.9±66.0mg (n=4)、0 フタル酸ブチルベンジル投与群の精巣重量は、274.9±21.4mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の精巣重量は、275.4±39.2mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の精巣重量は、249.8±2.2mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の精巣重量は、275.3±30.6mg (n=6)、粉末飼料投与コントロール群の精巣重量は、245.2±0.1mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の精巣重量は、281.9±37.1mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の精巣重量は、240.5±39.0mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の精巣重量は、278.9±35.0mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の精巣重量は、217.0±9.1mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の精巣重量は、263.4±7.4mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の精巣重量は、296.5±17.7mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の精巣重量は、283.7±27.7mg (n=4)であった。

5. 子宮重量測定結果

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の子宮重量は、176.8±8.6mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の子宮重量は、198.7±31.1mg

(n=3)、フタル酸ジブチル投与群の子宮重量は、205.4±20.2mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の子宮重量は、182.1±20.1mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の子宮重量は、83.7±31.2mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の子宮重量は、183.7±9.3mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の子宮重量は、78.1±25.6mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の子宮重量は、41.1±13.7mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の子宮重量は、21.1±10.1mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の子宮重量は、119.7±44.3mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の子宮重量は、192.1±25.1mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の子宮重量は、1295.2±31.6mg (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の子宮重量は、257.9±12.7mg(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の子宮重量は、211.6±9.4mg (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の子宮重量は、213.9±19.1mg (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の子宮重量は、218.6±10.7mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の子宮重量は、249.6±7.9mg (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の子宮重量は、218.4±8.6mg (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の子宮重量は、

218.9±7.2mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の子宮重量は、191.5±16.6mg (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の子宮重量は、192.1±5.4mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の子宮重量は、172.1±8.3mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の子宮重量は、233.1±6.0mg (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の子宮重量は、191.4±34.4mg (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の子宮重量は、261.8±43.5mg (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の子宮重量は、238.7±28.3mg(n=4)、フタル酸プチルベンジル投与群の子宮重量は、299.3±11.7mg (n=3)、フタル酸ジプチル投与群の子宮重量は、247.6±9.8mg (n=3)、ノニルフェノール投与群の子宮重量は、270.3±7.6mg (n=3)であった。

6. 肝臓重量測定結果

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の肝臓重量は、オス 1.6040±0.5350g (n=4) 、メス 1.3202±0.2599g(n=4)、フタル酸プチルベンジル投与群の肝臓重量は、オス 1.7863±0.0206g (n=3) 、メス 1.3330±0.0680g (n=3)、フタル酸ジプチル投与群の肝臓重量は、オス 2.0643±0.04389g (n=3) 、メス 1.4512±0.1334g (n=3)、フタル酸ジ

エチル投与群の肝臓重量は、オス 1.3546±0.0148g (n=3) 、メス 1.0658±0.0418g (n=3)、ノニルフェノール投与群の肝臓重量は、オス 1.3787±0.2217g (n=3) 、メス 1.0891±0.1886g (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の肝臓重量は、オス 1.9011±0.1124g (n=4) 、メス 1.2815±0.1838g (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 1.6024±0.1082g (n=3)、メス 0.9548±0.1183g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 1.0035±0.1013g (n=3)、メス 1.0092±0.1877g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 1.1242±0.0997g (n=3)、メス 0.5375±0.231g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 1.1676±0.0765g (n=3) 、メス 1.2878±0.0681g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 1.52349±0.1044g (n=3)、メス 1.2689±0.093g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 1.3817±0.1210g (n=3) 、メス 1.0666±0.0055g (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の肝臓重量は、オス 2.0128±0.0751g (n=4) 、メス 2.3303±0.1241g(n=4)、フタル酸プチルベンジル投与群の肝臓重量は、オス 1.7037±0.1435g (n=3) 、メス

1.2698±0.1059g (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の肝臓重量は、オス 1.7296±0.1778g (n=3)、メス 1.645±0.1360g (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の肝臓重量は、オス 1.9684±0.2386g (n=3)、メス 1.4802±0.3777g (n=3)、ノニルフェノール投与群の肝臓重量は、オス 1.7926±0.1411g (n=3)、メス 1.5592±0.2662g (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の肝臓重量は、オス 1.9087±0.1334g (n=4)、メス 1.6908±0.1474g (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 1.9897±0.1362g (n=3)、メス 1.7058±0.1738g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 1.8043±0.1477g (n=3)、メス 1.8420±0.1085g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 1.9918±0.0438g (n=3)、メス 1.7663±0.1509g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 1.9713±0.0218g (n=3)、メス 1.6142±0.0152g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 1.8540±0.1663g (n=3)、メス 1.4226±0.1260g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 2.0073±0.1488g (n=3)、メス 1.8946±0.2608g (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 2.1453±0.1301g (n=3)、ビスフェ

ノール A 投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 1.9457±0.1395g (n=3)、メス 1.7966±0.1655g (n=3)であった。

出生後 12 週目のコーンオイル投与コントロール群の肝臓重量は、オス 1.7170±0.1834g (n=4)、メス 1.7990±0.1386g (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の肝臓重量は、オス 1.9663±0.2813g (n=3)、メス 1.6272±0.1041g (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の肝臓重量は、オス 1.8761±0.2382g (n=3)、メス 1.6844±0.0188g (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の肝臓重量は、オス 1.7004±0.0634g (n=3)、ノニルフェノール投与群の肝臓重量は、オス 1.9365±0.2059g (n=6)、メス 1.6565±0.1143g (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の肝臓重量は、オス 1.9222±0.1271g (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 1.3647±0.0525g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 2.1136±0.1759g (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 2.6171±0.2871g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の肝臓重量は、オス 2.3148±0.1062g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の肝臓重量は、オス 2.0424±0.1520g (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 2.6171±0.2871g (n=3)、ビス

フェノール A 投与群(0.005%)の肝臓重量は、オス 1.7322±0.0428g (n=4)であった。

7. 胸腺細胞の ConA に対する反応性

結果は Stimulation Index(SI)すなわち、ConA を添加しなかった場合に比べて何倍活性化されたかを指標にして示す。1 個体につき、ConA を添加しなかった胸腺細胞及び ConA を添加した胸腺細胞各々 3 サンプルずつ測定した。

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の SI は、オス 13.1 (n=4)、メス 12.0 (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の SI は、メス 4.1 (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の SI は、メス 6.5 (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の SI は、オス 11.0 (n=3)、メス 13.2 (n=3)、ノニルフェノール投与群の SI は、メス 4.4 (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の SI は、オス 13.8 (n=4)、メス 19.1 (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の SI は、オス 10.3 (n=3)、メス 8.5 (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の SI は、オス 18.6 (n=3)、メス 6.5 (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の SI は、オス 9.9 (n=3)、メス 7.1 (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の SI は、オス 5.1 (n=3)、メス 6.5 (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コ

ントロール群の SI は、オス 13.8 (n=4)、メス 15.7(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の SI は、オス 11.7 (n=3)、メス 8.8 (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の SI は、オス 6.8 (n=3)、メス 12.0 (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の SI は、オス 15.1 (n=3)、メス 13.2 (n=3)、ノニルフェノール投与群の SI は、オス 8.7 (n=3)、メス 7.1 (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の SI は、オス 15.5 (n=4)、メス 16.2 (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の SI は、オス 8.6 (n=3)、メス 6.5 (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の SI は、オス 7.8 (n=3)、メス 5.5 (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の SI は、オス 6.2 (n=3)、メス 14.8 (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の SI は、オス 9.4 (n=3)、メス 3.7 (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の SI は、オス 10.7 (n=3)、メス 18.5 (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の SI は、オス 11.0 (n=3)、メス 17.1 (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の SI は、オス 9.4 (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の SI は、オス 13.7 (n=3)、メス 13.5 (n=3)であった。

8. 脾臓細胞の解析

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 33.9%、CD19 陽性 66.1% (n=4)、

メス CD3 陽性 33.3%、CD19 陽性 66.7%(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 42.2%、CD19 陽性 57.8% (n=3)、メス CD3 陽性 27.4%、CD19 陽性 72.6% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 42.2%、CD19 陽性 57.8% (n=3)、メス CD3 陽性 44.1%、CD19 陽性 55.9% (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 50.9%、CD19 陽性 49.1% (n=3)、メス CD3 陽性 42.2%、CD19 陽性 57.8% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 30.8%、CD19 陽性 69.2% (n=4)、メス CD3 陽性 23.9%、CD19 陽性 76.1% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 33.7%、CD19 陽性 66.3% (n=3)、メス CD3 陽性 14.9%、CD19 陽性 85.1% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 49.7%、CD19 陽性 50.3% (n=3)、メス CD3 陽性 32.2%、CD19 陽性 67.8% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 32.5%、CD19 陽性 67.5% (n=3)、メス CD3 陽性 40.5%、CD19 陽性 59.5% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 49.5%、CD19 陽性 50.5% (n=3)、メス CD3 陽性 36.1%、CD19 陽性 63.9% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)

の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 20.1%、CD19 陽性 79.9% (n=3)、メス CD3 陽性 25.0%、CD19 陽性 75.0% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 39.3%、CD19 陽性 60.7% (n=3)、メス CD3 陽性 33.9%、CD19 陽性 66.1% (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 40.5%、CD19 陽性 59.5% (n=4)、メス CD3 陽性 44.7%、CD19 陽性 55.3% (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 39.3%、CD19 陽性 60.7% (n=3)、メス CD3 陽性 42.6%、CD19 陽性 57.4% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 41.1%、CD19 陽性 58.9% (n=3)、メス CD3 陽性 45.9%、CD19 陽性 54.1% (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 39.3%、CD19 陽性 60.7% (n=3)、メス CD3 陽性 40.8%、CD19 陽性 59.2% (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 36.1%、CD19 陽性 63.9% (n=3)、メス CD3 陽性 44.3%、CD19 陽性 55.7% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 44.0%、CD19 陽性 56.0% (n=4)、メス CD3 陽性 38.8%、CD19 陽性 61.2% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 34.6%、CD19 陽性 65.4% (n=3)、メス CD3 陽性 37.9%、CD19

陽性 62.1% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD3陽性 35.6%、CD19陽性 64.4% (n=3)、メス CD3 陽性 45.4%、CD19 陽性 54.6% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD3陽性 47.0%、CD19陽性 53.0% (n=3)、メス CD3 陽性 34.6%、CD19 陽性 65.4% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 58.4%、CD19 陽性 41.6% (n=3)、メス CD3 陽性 45.1%、CD19 陽性 54.9% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 41.3%、CD19 陽性 58.7% (n=3)、メス CD3 陽性 37.6%、CD19 陽性 62.4% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 42.7%、CD19 陽性 57.3% (n=3)、メス CD3 陽性 38.7%、CD19 陽性 61.3% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 47.0%、CD19 陽性 53.0% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD3 陽性 44.0%、CD19 陽性 56.0% (n=3)、メス CD3陽性 39.6%、CD19 陽性 60.4% (n=3)であった。

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 17.3%、CD8 陽性 46.5% (n=4)、メス CD4 陽性 13.0%、CD8 陽性 20.4%(n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性

9.3%、CD8 陽性 32.9% (n=3)、メス CD4 陽性 14.7%、CD8 陽性 29.4% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 10.6%、CD8 陽性 42.4% (n=3)、メス CD4 陽性 14.7%、CD8 陽性 29.4% (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 12.9%、CD8 陽性 38.0% (n=3)、メス CD4 陽性 14.5%、CD8 陽性 24.3% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 16.6%、CD8 陽性 28.2% (n=4)、メス CD4 陽性 15.1%、CD8 陽性 22.9% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 8.8%、CD8 陽性 25.0% (n=3)、メス CD4 陽性 3.0%、CD8 陽性 11.9% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 12.4%、CD8 陽性 35.1% (n=3)、メス CD4 陽性 8.2%、CD8 陽性 24.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 9.0%、CD8 陽性 23.6% (n=3)、メス CD4 陽性 10.5%、CD8 陽性 30.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 12.6%、CD8 陽性 36.9% (n=3)、メス CD4 陽性 7.7%、CD8 陽性 28.4% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 5.1%、CD8 陽性 15.5% (n=3)、メス CD4 陽性 6.4%、CD8 陽性 18.7% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オ

ス CD4 陽性 9.7%、CD8 陽性 29.6% (n=3)、メス CD4 陽性 7.7%、CD8 陽性 26.2% (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 11.8%、CD8 陽性 26.4% (n=4)、メス CD4 陽性 15.0%、CD8 陽性 31.6% (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 17.4%、CD8 陽性 20.5% (n=3)、メス CD4 陽性 12.1%、CD8 陽性 30.5% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 13.7%、CD8 陽性 27.4% (n=3)、メス CD4 陽性 13.6%、CD8 陽性 32.4% (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 9.9%、CD8 陽性 29.4% (n=3)、メス CD4 陽性 7.3%、CD8 陽性 33.6% (n=3)、ノニルフェノール投与群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 7.8%、CD8 陽性 28.3% (n=3)、メス CD4 陽性 9.9%、CD8 陽性 34.4% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 12.7%、CD8 陽性 21.7% (n=4)、メス CD4 陽性 9.7%、CD8 陽性 29.1% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 7.3%、CD8 陽性 27.4% (n=3)、メス CD4 陽性 9.0%、CD8 陽性 29.0% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 6.2%、CD8 陽性 29.5% (n=3)、メス CD4 陽性 10.6%、CD8 陽性 34.9% (n=3)、

フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 9.2%、CD8 陽性 37.8% (n=3)、メス CD4 陽性 8.6%、CD8 陽性 26.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 11.7%、CD8 陽性 46.7% (n=3)、メス CD4 陽性 12.4%、CD8 陽性 32.7% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 5.8%、CD8 陽性 35.0% (n=3)、メス CD4 陽性 10.7%、CD8 陽性 27.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 4.3%、CD8 陽性 38.4% (n=3)、メス CD4 陽性 9.2%、CD8 陽性 29.6% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 10.2%、CD8 陽性 36.9% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の脾臓細胞は、オス CD4 陽性 6.3%、CD8 陽性 37.7% (n=3)、メス 6.3%、CD8 陽性 33.4% (n=3)であった。

9. 胸腺細胞の解析

胸腺細胞の解析結果を CD8 シングルポジティブ、CD4CD8 ダブルポジティブ、CD4CD8 ダブルネガティブ、CD4 シングルポジティブの順に述べる。

出生後 4 週目のコーンオイル投与コントロール群の胸腺細胞は、オス 1.0%、27.0%、3.5%、69.0% (n=4)、メス 1.0%、27.5%、4.5%、67.0% (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の胸腺細胞は、

オス 3.3%、31.3%、27.0%、38.0% (n=3)、メス 2.3%、27.7%、17.0%、53.3% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の胸腺細胞は、オス 2.3%、24.3%、21.7%、52.7% (n=3)、メス 2.0%、23.0%、14.0%、62.0% (n=3)、ノニルフェノール投与群の胸腺細胞は、オス 3.3%、28.3%、18.3%、50.0% (n=3)、メス 2.7%、32.0%、13.7%、51.3% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の胸腺細胞は、オス 3.0%、19.5%、13.0%、64.0% (n=4)、メス 2.0%、25.0%、15.0%、58.0% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の胸腺細胞は、オス 2.7%、23.3%、17.7%、55.7% (n=3)、メス 2.7%、17.0%、37.3%、43.0% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 7.3%、10.3%、11.7%、71.7% (n=3)、メス 6.7%、14.3%、22.0%、57.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の胸腺細胞は、オス 3.7%、31.0%、20.0%、45.7% (n=3)、メス 5.3%、26.0%、16.7%、52.0% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 4.0%、18.0%、11.0%、67.0% (n=3)、メス 3.3%、26.0%、11.7%、59.3% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 2.7%、39.3%、11.7%、46.3% (n=3)、メス 2.3%、28.3%、14.7%、54.7% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の胸腺細胞は、オス 2.0%、66.7%、4.3%、27.0% (n=3)、メス 2.0%、39.0%、10.7%、48.7% (n=3)であった。

出生後 8 週目のコーンオイル投与コントロール群の胸腺細胞は、オス 4.0%、31.5%、23.5%、36.0% (n=4)、メス 5.0%、16.0%、31.0%、48.0% (n=4)、フタル酸ブチルベンジル投与群の胸腺細胞は、オス 3.7%、49.7%、20.3%、26.3% (n=3)、メス 2.3%、24.0%、23.7%、50.0% (n=3)、フタル酸ジブチル投与群の胸腺細胞は、オス 3.3%、49.7%、14.0%、32.0% (n=3)、メス 3.3%、25.0%、18.7%、53.0% (n=3)、フタル酸ジエチル投与群の胸腺細胞は、オス 4.3%、33.0%、16.7%、46.0% (n=3)、メス 2.3%、30.0%、23.7%、44.0% (n=3)、ノニルフェノール投与群の胸腺細胞は、オス 5.3%、32.3%、22.7%、39.7% (n=3)、メス 2.0%、25.0%、22.3%、50.7% (n=3)、粉末飼料投与コントロール群の胸腺細胞は、オス 4.0%、28.0%、23.0%、44.0% (n=4)、メス 5.5%、24.5%、35.0%、35.0% (n=4)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.5%)の胸腺細胞は、オス 4.3%、27.0%、19.0%、49.7% (n=3)、メス 4.0%、20.3%、37.0%、38.7% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 6.0%、37.0%、19.3%、37.7% (n=3)、メス 4.0%、40.0%、15.0%、41.0% (n=3)、フタル酸ジシクロヘキシル投与群(0.005%)の胸腺細胞は、オス 6.3%、33.7%、17.3%、42.7% (n=3)、メス 5.3%、50.0%、14.0%、30.7% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.5%)の胸腺細胞は、オス 6.0%、28.0%、19.0%、47.0%

(n=3)、メス 4.3%、33.7%、20.7%、41.7% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 6.0%、36.7%、19.3%、37.3% (n=3)、メス 4.0%、37.0%、18.7%、40.3% (n=3)、オクチルフェノール投与群(0.005%)の胸腺細胞は、オス 4.0%、34.7%、17.3%、44.0% (n=3)、メス 5.0%、41.7%、14.0%、39.7% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.05%)の胸腺細胞は、オス 4.0%、23.0%、17.0%、56.0% (n=3)、ビスフェノール A 投与群(0.005%)の胸腺細胞は、オス 4.7%、38.3%、16.7%、40.3% (n=3)、メス 4.3%、41.7%、16.3%、37.7% (n=3)であった。

10. Jurkat 細胞内カルシウムイオン濃度変化の測定

ビスフェノール A、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチルでは、 10^{-5}M では細胞内カルシウムイオン濃度に変化はみられなかったが、 10^{-4}M では変化がみられた。フタル酸ジシクロヘキシル、ノニルフェノールでは 10^{-5}M で変化がみられた。また、エストラジオールは 10^{-3}M で変化がみられたが、フタル酸ジエチルでは 10^{-3}M でも全く変化がみられなかった。

D. 考察

本研究においては、個体を免疫機能以外の側面からも内分泌攪乱物質を評

価する目的で ddY マウスを用いて検討を行った。まず、内分泌攪乱物質投与による胸腺の委縮を予想していたが、そのような傾向は見られなかった。本研究により用いた内分泌攪乱物質のうち、フタル酸ジエチル以外の物質が多少なりとも胸腺細胞の反応性の低下の傾向を示したことから、胸腺細胞に関しては CD4 シングルポジティブ細胞が全体的に減少する傾向があったことから、これら化学物質がヒトへ影響を及ぼしている可能性があるものと思われる。本研究の結果、同じマウスから生まれた子供でも、個体によりばらつきが大きかったが、免疫機能の研究に適した他系統のマウスを用いることにより、よりばらつきの少ない結果が得られると思われる。しかし、ddY マウスへのある種の内分泌攪乱物質投与により生まれた子供のなかに、免疫機能の低下を示す個体が出現したという結果が得られたことから、次世代への影響という点も含め、さらなる詳細な検討が必要であると考えられる。

また、昨年度までの研究結果で、*in vitro* において Jurkat 細胞の反応性を低下させたビスフェノール A、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジエチルヘキシル、ノニルフェノール、エストラジオールについては、これら化学物質の投与により Jurkat 細胞内のカルシウムイオン濃度に変化が見ら

れたのに対し、Jurkat 細胞の反応性に影響を及ぼさなかったフタル酸ジエチルは、カルシウムイオン濃度を変化させなかったことから、Jurkat 細胞の反応性の低下には細胞内カルシウムイオン濃度の変化が伴っているものと推測される。また、この細胞内カルシウムイオン濃度の変化がエストラジオールレセプターを介したものであるか否か等を含め、内分泌攪乱物質の免疫系に及ぼす影響についてメカニズムを含め、さらに詳細な研究が必要であると考えられる。

E. 結論

個体間でばらつきが大きかったが、内分泌攪乱物質投与マウスから生まれた仔マウスについては、オクチルフェノールとフタル酸ジシクロヘキシルの高用量投与群において、体重、脾臓、胸腺、肝臓重量が小さかった。しかし、その傾向も週齢が大きくなるにつれ見られなくなった。妊娠マウスへのフタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、ノニルフェノール、オクチルフェノール、ビスフェノール A 投与により、生まれた子供のうち、胸腺細胞のマイトージェンに対する反応性が低下した個体が現れた。また、投与量が減少すると反応性の低下する個体数が減少することが明らかになった。また、フタル酸ジエチルにはこの作用は見られなかった。

内分泌攪乱物質投与により生まれた仔マウスの脾臓細胞のリンパ球サブセットを解析した結果、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、ノニルフェノールについては CD3 陽性細胞の割合が増加し、CD19 陽性細胞の割合が減少する傾向があったが、ビスフェノール A、オクチルフェノールでは、CD3 陽性細胞の割合が減少し、CD19 陽性細胞の割合が増加した。この傾向は投与量の増加とともに現れた。また、フタル酸ジシクロヘキシル、オクチルフェノール、ビスフェノール A、フタル酸ジエチル、ノニルフェノールでは、CD4 陽性細胞の割合が減少した。さらに胸腺細胞について解析を行った結果、CD4 シングルポジティブ細胞の割合が減少する傾向が認められた。

ビスフェノール A、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジブチル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジシクロヘキシル、ノニルフェノール、エストラジオールは、Jurkat 細胞内カルシウムイオン濃度を変化させたが、フタル酸ジエチルでは全く変化がみられなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Horiguchi H, Kayama F, Oguma E, William G. Willmore, Pavel Hradecky, and H. Franklin Bunn:

Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell

culture: clinical implications. *Blood* 96(12): 3743-3747, 2000

2. To H, Kikuchi A, Tsuruoka S, Sugimoto K, Fujimura A, Higuchi S, Kayama F, Hara K, Matsuno K, and Kobayashi E:

Time-dependent Nephrotoxicity Associated with Daily Administration of Cisplatin in Mice. *J.Pharm. Pharmacol.* 52: 1499-1504, 2000

3. Ishii S., Y. Hisamatsu, K. Inazu, M. Kadoi, K. Aika, Ambient measurement of nitrotriphenylene formation by atmospheric reaction, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 1893-1899, 2000.

4. Ishii S., Y. Hisamatsu, K. Inazu, T. Kobayashi, K. Aika, Mutagenic nitrated benzo[a]-pyrene derivatives in the reaction product of benzo[a]pyrene in NO₂-air in the presence of O₃ or under photoradiation, *Chemosphere*, 41, 1809-1819, 2000.

5. Inazu K., N. Tsutsumi, K. Aika, Y. Hisamatsu, So₂-enhanced nitration of fluoranthene and pyrene adsorbed on particulate matter in the heterogeneous reaction in the presence of NO₂, *Polycycl. Arom. Comp.*, 20, 191-203, 2000.

6. 香山不二雄：産業医活動に必要な環境ホルモンの知識について。第 27 回和

歌山県産業保健講習会誌 別紙：1-3, 2000

香山不二雄：環境ホルモン問題と健康問題。小児科 41：68-75, 2000

7. 香山不二雄：内分泌攪乱物質による健康問題—DES 子宮内曝露の教訓から—。産婦人科の実際 49 (8)：1039-1044, 2000

2. 学会発表

1. Yamazaki. T. , Okada. Y. , Hisamatsu. Y. , Kubota. S. , and Kayama. F. , Effects of endocrine disrupting chemicals on lymphocyte responses, DIOXIN 2000, California, 2000.

2. 山口晃子、中澤裕之、山崎聖美。容器・包装関連物質のエストロジェン作用かく乱の生化学的分析。日本食品衛生学会第八十回学術講演会，郡山。2000;要旨集 47.

3. 山口晃子、中澤裕之、山崎聖美。食品衛生関連化学物質の E-SCREEN Assay による評価。日本食品化学学会第 6 回総会・学術大会，東京。2000;要旨集 31.

4. 山口晃子、山崎聖美、坂部貢、中澤裕之。生活関連化学物質の E-Screen Assay による評価。日本薬学会第 120 年会，岐阜。2000;要旨集 4:187.

5. Kobayashi. N. , Yamaguchi. A. , Yamazaki. T. , and Nakazawa. H. , Effect of Xenoestrogens and