

よる遺伝的背景の差が大きく関与しうる点が特筆すべき知見と思われた。本件は今後の検討試験に利用される動物種、系統の選択にあたり事前検討の重要性をさらに示すものと考えられた。

- (5) 分担を受けた5つの内分泌かく乱物質の生体影響に関する文献(1つの学会発表抄録を含む)について、用量-作用曲線パターン、閾値の有無、反応オシレーションの如何、相加・相乗性の如何、にポイントをおいて調査を実施した。分担した5つの文献については、明らかな低用量反応性は認められないものと判定する。
- (6) vom Saal らのグループによる報告について、試験条件における問題点と、結果の解析における問題点に分けて検討した結果、その試験条件においては、使用した動物腫の系統的背景や飼育方法において他のグループの実験とは異なる特徴的な点が認められる。また、結果の解析において、bisphenol Aによる低用量影響は設定投与用量の少なさから十分な用量依存的な検討ができないものであったが、estradiol や diethylstilbestrol を使用した実験は、高用量とは異なる低用量効果の存在を示唆しているものであると考えられた。
- (7) 低用量作用について、a 試験条件(動物を含む)の違い、b 観察条件の違い、c 未解明のメカニズムによる影響の関与など、最新の64の文献を精査し、データベースを作成した。また、陽性対照であるジエチルstilbestrol (DES) について再現性を得られる試験条件の検討を行った。さらに、ビスフェノールA (BPA) の低用量での内分泌かく乱影響が指摘されているため、BPA 原料樹脂が医療器具分野で利用される際、溶出による影響に関するリスクベネフィットについて検討した。
- (8) ノニルフェノール、ゲニスタイン、エチニルエストラジオール等エストロゲン様効果が疑われる化合物を用いた実験の文献を調査して低用量で見られる影響について検討し

た。腹腔内注入実験については不明な点もあるが、食餌中にこれらの化合物を加えた影響を調べる実験では顕著な反応が見られ、ヒトへの影響も示唆されている。

- (9) methoxychlor (MXC) をラットの母児に投与したところ、全投与群の児に膈開口促進、子宮、卵巣および精囊の重量低下、雌児 FSH レベルの低下が見られた。vinclozolin 投与後のラット雄児に最低投与量から肛門生殖突起間距離短縮および乳頭・乳輪保持がみられた。これらの実験では従来の NOAEL 以下の投与量で影響が観察された。ラット2世代繁殖試験では、nonylphenol の最低投与量の毒性影響、bisphenol A の最低投与量では観察されていない。
- (10) Newbold らの 1995-2000 年に実施された CD1 マウスを用いた DES ないしタモキシフェンの経胎盤投与あるいは新生児投与実験についての文献について検討した。DES の胎生期暴露においては、雌雄の生殖器に腫瘍を含めた種々の異常が誘発されるが、それらの誘発には閾値がないことが示された。一方、タモキシフェンの胎生期暴露では、高用量群で子宮発癌の頻度が高いことから、高用量暴露では estrogen agonist として作用するものと推察された。

#### D. 結論

現時点では、ヒトに対する内分泌かく乱作用が確認された事例はない。低用量域のホルモン様作用の問題は、内分泌かく乱性を考察する上での中心的課題であるが、現時点で入手できる科学的知見からは、低用量域における内分泌かく乱作用を直ちに断定することには疑問がある。EPA では、内分泌かく乱性のスクリーニングに関してさしあたり 500 物質程度、2005 年を目途として終了する計画を出している。本作業班では、Ema ら(2001)

によるBPA低用量試験結果と、前記の独自の文献調査結果を踏まえて考察されたBPAの低用量反応によるリスクの評価（関沢ら、印刷中）などを進めてきた。今後、DES陽性対照が再現性をもって陽性反応を示す試験系の確立とそのための背景データベースの構築や統計解析手法の検討、及びホメオスタシス反応の寄与を確認する遺伝子発現解析などを含む対応するメカニズムの研究を進め、前記の時期に照準を合わせて試験法の開発とそれに基づく試験目標を達成すべく、一刻も早くその実態を明らかにしたい。

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

分担研究者 井藤 悦朗 日本化学物質安全・情報センター

研究協力者 大竹千代子 国立医薬品食品衛生研究所・化学物質情報部

## 研究要旨

低用量作用について報告していると考えられる重要な最新の関連文献の計 64 文献について (1) 試験条件 (動物を含む) の違い、(2) 観察条件と観察内容の違い、(3) 未解明のメカニズムによる影響の関与などについて精査し、データベースに整理した。用量—作用曲線パターン、閾値の有無、反応における逆U字現象の有無、反応における相加・相乗性の有無について問題点を抽出し、検討を加えた。さらにジェチルスチルベストロール (DES) を陽性対照として用いた試験について、実際に陽性結果が得られた場合及び得られなかった場合の試験条件及び結果について比較検討し、解析した。この結果を基にして、陽性対照である DES について再現性をもって陽性結果を得られる試験系を確立するため、試験に用いる動物種と系統、生殖・発生毒性試験にかかわる背景データについて、データベースを構築して、違いが生じたときの要因についての検討を支援し、ホメオスタシスを含む生理的な反応による効果を確かめ陽性反応を示す条件を確認するための試験研究を実施することを提案した。

ポリカーボネート(PC)樹脂およびポリスルホン(PS)樹脂などの原料であるビスフェノール A (BPA) が低用量で内分泌攪乱影響を及ぼす可能性が指摘されており、前記樹脂が医療用具分野では歯科材料および血液透析器に使用されているので、血液透析器からの BPA の溶出状況とあわせて、BPA の内分泌攪乱影響について最近の知見を基にリスクベネフィットについて検討した。

## A. 研究目的

内分泌攪乱物質については従来の毒性試験で観察されてきた無毒性量よりも低い用量で見られる影響の報告があり、生理的作用と生体障害性の関連について議論を呼んできた。これらの報告を精査することをとおして、問題の解明に資するとともに低用量における問題解決のため今後必要な研究について提案することを目的とした。

### (1) 「低用量」影響文献についての調査

ここで「低用量」とは、ヒトの通常の曝露の範囲、または生殖・発生毒性の評価のための標準的な試験法で一般に使用されている用量範囲よりも低い用量を指す。

「低用量」での影響については試験を行った研究者により、陽性あるいは陰性の両方の結果が得られている。この背景には、(1) 試験条件 (動物を含む) の違い、(2) 観察条件と観察内容の違い、(3) 未解明のメカニズムによる影響の関与、などが考えられる。

「低用量」での影響について報告していると  
考えられる文献について、影響の内容を知見に  
もとづき具体的に検討する。

## (2) ジエチルスティルベステロール陽性対照試験データの検討と、結果の再現性を保証しうる試験プロトコルの提案

「低用量」問題について考える上で重要な検討課題のひとつは、試験データの再現性と信頼性に関することである。その問題のひとつとして、「低用量」試験における陽性対照として用いられた DES (Diethylstilbestrol) の陽性反応再現性の問題がある。内分泌攪乱化学物質とされる物質の「低用量」曝露において、影響が見られた場合と、見られなかった場合のそれぞれにおいて、並行して試験した陽性対照物質の DES についても同様な傾向が見られている。

「低用量」問題に関連した報告で、DES が陽性対照として用いられた場合の試験条件と試験結果について検討を加える。反応において違いが生ずると思われる要因を検討した結果にもとづき、陽性対照が再現性をもって陽性の反応結果を与えるはずであろう試験条件について提案する。

## (3) ビスフェノール A 重合樹脂成型血液透析器使用のリスク・ベネフィット分析

ポリカーボネート(PC)樹脂およびポリスルホン(PS)樹脂などの原料であるビスフェノール A (BPA) は従来考えられていたよりもはるかに低い用量で内分泌攪乱影響を及ぼす可能性が提起された。しかし試験の再現性が見られないなどの指摘もあり結果に違いをもたらす要因を確認する必要のみならず、健康リスク評価上の大きな問題となっている。前記樹脂は医療用具分野では歯科材料および血液透析器に使用されている。血液透析器は中空糸膜の中に血液を外側に還流液を循環させて血液中の老廃物や有害物質を濾過・除去する装置であり、腎機能障害の治療に大きな役割を果たしている。本研究では医療用具の安全性を調

査するため血液透析器からの BPA の溶出状況とあわせて、BPA の内分泌攪乱影響について最近の知見を基にリスクベネフィットについて検討する。

## B. 研究方法

2000 年 10 月に米国環境保護庁が行った低用量問題に関する文献査読会議で使用した文献および、独自の文献検索により前記会議後に出版された文献のうち vom Saal らのグループによる 5 報告について、試験条件における問題点と、結果の解析における問題点に分けて検討した。後者については、用量—作用曲線パターン、閾値の有無、反応オシレーション(逆 U 字現象など)の有無、反応における相加・相乗性の有無を中心に検討を加えた。

(倫理面への配慮)

特に必要なし。

### (1) 「低用量」影響文献についての調査

「低用量」曝露による影響の意義を明らかにするために、2000 年 10 月に米国の NTP(National Toxicology Program) と NIEHS(National Institute of Environmental Health Sciences) が合同で開いた「内分泌攪乱化学物質低用量精査検討ワークショップ」が検討のために、その時点までに(未公表のものを含み)入手可能な関連文献を調査・収集した文献を利用することにした。さらにわれわれの調査過程で、目についた重要な最新の関連文献についても追加的に検討を加えた。

抽出された 64 文献(表 1 参照)を(A)の項目について精査し、データベース(添付省略)に整理をした。さらに(B)の 4 点について問題点の抽出を行い検討を加えた。本調査は(C)に示した関連分野の専門家が分担して行った。

### (A) 低用量影響レポートについて精査した項目

試験動物について

\* 動物種・系統, 試験における用量群  
毎の雌雄の動物数と週令,

試験期間中の生存率, 体重変化

投与物質について

\* 純度, 不純物含量, 投与媒体

曝露方法について

\* 曝露経路, 用量 (濃度), 投与期間,  
頻度 (回数)

交配条件について

\* 交配条件と試験に供した児動物の選  
抜方法

試験結果について

\* 母獣への影響 (体重変化や肉眼的な  
観察結果ほか)

\* 生殖への影響 (着床, 胎児の生死,  
出生時の生死ほか)

\* 発生への影響 (臓器重量, 雌雄の児  
における障害の有無と陽性結果に関する

無毒性量と最小毒性量ほ

かと, その観察時期)

\* 統計処理

\* 背景メカニズムについての著者によ  
る考察 (受容体関与, 内分泌系への

影響など)

\* 著者と文献

(B) 問題点を抽出した項目

それぞれの文献を精査し以下の点について  
の知見の有無を調べ, 知見が記載されている場  
合は著者の主張と, 評価者の意見に分け理由を  
示した。

知見の有無について調べた検討項目

\* 用量—作用曲線パターン

\* 閾値の有無

\* 反応オシレーション (逆U字現象な  
ど)

\* 反応における相加・相乗性の有無

\*

(C) 文献調査と評価を分担した専門家 (順不  
同)

日本化学物質安全・情報センター

井藤 悦朗 課長

食品薬品安全センター-秦野研究所

今井 清 前副所長

名古屋市立大学医学部

白井 智之 教授

日本獣医畜産大学

鈴木 勝士 教授

東海大学医学部

長村 義之 教授

大阪市立大学医学

福島 昭治 教授

東京農工大学農学部

三森 国敏 教授

国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター

井上 達 センター長

病理部

渋谷 淳 室長

総合評価室

長谷川隆一 室長

総合評価室

広瀬 明彦 室長

化学物質情報部

関澤 純 室長

化学物質情報部

中田 琴子 室長

大阪支所生物試験部

江馬 眞 室長

(2) ジエチルスティルベステロール陽性対照試  
験データの検討と, 結果の再現性を保証しうる  
試験プロトコルの提案

「低用量」試験で DES が陽性対照として用  
いられている報告を中心に文献を収集し,  
試験条件と試験結果につき以下の点を中心にデ  
ータの検討を行った。検討に用いた文献を表 1

に示す。

#### 試験条件についての比較検討について

\* 試験動物について

動物の系統、供給源、妊娠日数、  
体重、用量あたりの匹数など

\* 飼育条件について

個別と群飼育、ケージ、床敷、  
照明など

\* 食餌について

種類、供給源、植物エストロゲ  
ン、トコフェロールの混入など

\* 投与条件について

用量段階、投与方法、投与時期  
と期間、観察時期など

#### 試験結果の比較と影響要因の検討

DES陽性と陰性の結果の双方について以  
下と、その他の影響要因として高用量投与時  
の受容体発現のダウンレギュレーションに  
関する知見について検討した。

\* 用量とエンドポイントの関係、結果  
の数値、一腹児の扱い、  
臓器重量の体重による補正の適否、  
統計解析の方法など

#### 表1 DES 低用量陽性対照調査関連の文献 リスト

- I Ashby, J. Tinwell, H. and Haseman, J. (1999) Lack of Effects for Low Dose Levels of Bisphenol A and Diethylstilbestrol on the Prostate Gland of CF-1 Mice Exposed in utero, Regul Toxicol Pharmacol. 30,156-166
- II vom Saal, F. S., Timms, B. G., Montano, M. M., Palanza, P. P., Thayer, K. A., Nagel, S. C., Dhar, M. D., Ganjam, V. K., Parmigiani, S., and Welshons, W.

V.(1997) Prostate Enlargement in Mice due to Fetal Exposure to Low Doses of Estradiol or Diethylstilbestrol and Opposite effects at High Doses, Proc. Natl. Acad. Polit Sci. 94,2056-2061

III Cagen, S. Z., Waechter, J. M., Dimond, S. S., Breslin, W. J., Butala, J. H., Jekat, F. W., Joiner, R. L., Shiotsuka, R. N., Veenstra, G. E., and Harris, L. R. (1999a), Normal Reproductive Organ Development in CF-1 Mice following Prenatal Exposure to Bisphenol A, Toxicol. Sci.50,36-44

IV Elswick, B. A., Janszen, D. B., Gould, J. C., Stedman, D. B., and Welsh, F. (2000a), Effects of Perinatal Exposure to Low Doses of Bisphenol A in Male Offspring of Sprague-Dawley Rats, Toxicol. Sci. 54. 256A,

V Odum, J. Pyrah, I. T., Foster, J. R., Van Miller, J. P., Joiner, R. L., and Ashby et al. (1999), Comparative Activities of p-Nonylphenol and Diethylstilbestrol in Noble Rat Mammary Gland and Uterotrophic Assays, Regul Toxicol Pharmacol, 29, 184-195

VI Gupta, C, (2000a), Reproductive Malformation of the Male Offspring Following Maternal Exposure to Estrogenic Chemicals, Exp.Biol.and Med., 224(2), 61-68

VII Chapin, R. E., and Sloane, R. A. (1997a), Reproductive Assessment by Continuous Breeding: Evolving Study Design and Summaries of Ninety Studies, Environ. Health Perspect, 105 (Suppl.1),199-205  
Lamb, J., (1997a) Diethylstilbestrol, Environ. Health Perspect, 105(Suppl.1) 301-302

VIII Chapin, R.E., and Sloane, R. A. (1997b), Reproductive Assessment by

- Continuous Breeding: Evolving Study Design and Summaries of Ninety Studies, *Environ. Health Perspect*, 105 (Suppl.1), 199-205
- Lamb, J. (1997b) Diethylstilbestrol, *Environ. Health Perspect*, 105(Suppl.1) 303-304
- IX Atanassova, N., Mckinnell, C., Turner, K. J., Walker, M., Fisher, J. S., Morley, M. Millar, M. R., Groome, N. P., and Sharpe, R. M. (2000) Comparative Effects of Neonatal Exposure of Male rats to Potent and Weak (Environmental) Estrogens on Spermatogenesis at Puberty and the Relationship to Adult Testis Size and Fertility: Evidence for Stimulatory Effects of Low Estrogen Levels, *Endocrinology*, 141(10), 3898-3907
- X Newbold, R. (1995) Cellular and Molecular Effects of Developmental Exposure to Diethylstilbestrol: Implications for other Environmental Estrogens, *Environ. Health Perspect.*, 103(Suppl.7)
- XI Newbold, R. R., (2000) Dose Related Change in Male Reproductive Tract Tissues Following Prenatal Exposure to Diethylstilbestrol (DES), Submitted to The Low Dose Endocrine Disrupter Panel, Oct. 2000
- XII Palanza P., Parmigiani, S. Liu, H. and vom Saal, F. S. (1999) Prenatal Exposure to Low Doses of the Estrogenic Chemicals Diethylstilbestrol and o,p'-DDT Alters Aggressive Behavior of Male and Female House Mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 64(4) 665-672
- XIII Rothschildt. C., Boylan E. S., Calhoun R. E. and Vonderhaar B. K. (1987) Transplacental Effects of Diethylstilbestrol on Mammary Development and Tumorigenesis in Female ACI Rats, *Cancer Research* 47, 4508-4516
- XIV Mckinnell, C., Atanassova, N., Williams, K., Fisher J. S., Walker M., Turner, K. J., Saunders, P. T. K., and Sharpe, R. M. J. (2001) Suppression of Androgen Action and the Induction of Gross Abnormalities of the Reproductive Tract in Male rats Treated Neonatally With Diethylstilbestrol, *Andrology*, 32(2), 323-338
- XV Gupta, C. (2000b) The Role of Estrogen Receptor, Androgen Receptor and Growth Factors in Diethylstilbestrol-induced Programming of Prostate Differentiation, *Urol Res* 28, 223-229
- XVI Mcabee, M. D., and DonCarlos, L. L. (1999) Estrogen, But Not Androgens, Regulates Androgen Receptor Messenger Ribonucleic Acid Expression in the Developing Male Rat Forebrain, *Endocrinology*, 140(8), 3674-3681
- XVII Tinwell, H., Joiner, R., Pate, I., Soames, A., Foster, J., and Ashby, J., (2000) Uterotrophic Activity of Bisphenol A in the Immature Mouse, *Regul Toxicol Pharmacol*, 32, 118-126
- XVIII 吉田緑、勝田真一、渡辺元、田谷一善、前川明彦 (2001) 胎仔期および授乳期の低用量-BisphenolA 曝露がラット雌性生殖器官系に及ぼす影響、第 28 回日本トキシコロジー学会、年会講演要旨集、122 頁
- IXX Ema M, Fujii S, Furukawa M, Kiguchi M, Ikka T & Harazono A (2001) Rat two generation reproductive toxicity study of bisphenol A, *Reprod. Toxicol.*, 15, 505-523
- XX Khurana S, Rnamal S and Ben-Jonathan N (2000) Exposure of newborn male and female rats to environmental estrogens: delayed and

sustained hyperprolactinemia and alteration in estrogen receptor expression, *Endocrinology*, 141: 4512-4517

### (3) ビスフェノールA重合樹脂成型血液透析器使用のリスク・ベネフィット分析

溶出試験には、PCおよびPS原材料ペレット、PC製ハウジングケース(2種)および4種のホローファイバー型血液透析器を、BPAの回収溶媒としては無蛍光水、メタノール、エタノール、テトラヒドロフランおよび牛胎児血清を使用した。牛胎児血清からのBPAの回収は液相および固相抽出により行った。その他の溶媒で回収したBPAは濃縮または希釈した後、精製することなく常法に従いHPLC(蛍光検出)またはGC-MS(TMS誘導体)により定量した。

毒性評価には現時点で入手可能なBPAによる内分泌系への影響を報告した60以上の報文につき、リスク評価の観点から、(1)生物学的妥当性、(2)証拠の確からしさ、(3)用量-反応関係、(4)有害性の有無の判断、という4つの視点を設定し検討した。

## C. 研究結果と考察

### (1) 「低用量」影響文献についての調査

評価結果は添付資料表4-1Aに整理した。表の項目と説明は以下に示す。

評価結果を整理すると、次のようにまとめることができた。

評価の結果報告内容や用量設定の不備ほかの理由により、われわれの精査によれば、低用量影響が観察されたと確認できる文献はかなり限られることがわかった。しかし少ないということは、低用量影響の存在を否定する理由にはならず、むしろ生物学的に蓋然性があるならば、その持つ意味について今後生理学的な機作の解明の重要性と、毒性評価における意義とを区別しつつ検討を進めてゆかなければならない。

(ア) 報告された知見が従来みられていなかった「低用量」影響の存在を示すと考えられる文献。低用量で影響が観察された報告と、作用物質、用量、エンドポイント、動物を表3にまとめた。

(イ) 著者の主張にもかかわらず、実験上の不備などにより「低用量」影響の存在を示すとはいえない文献。文献とその理由を表4にまとめる。

(ウ) 「低用量」影響が見られないと考えられる文献

Ashby et al., (1999)

Cagen et al (1999a, b)

Elswick et al (2000)

Ema et al. (2001)、Lee (1998)

Odum (1999)、Odum et al.(1999)

Tyl et al. (1999), (2000)

(エ) 報告された内容の記載のみからはいずれとも判断できない文献

Ashby and Tinwell (2000) \*

Delclos et al. (2000a,b,c, unpublished) \*

Elswick et al. (2000b)

Laurenzana et al.(2000a, b,

unpublished abstract) \*

vom Saal et al.(2000) \*

(オ) 問題点として取り上げた4種類の知見については記載がなかった文献

Ashby et al. (2000a, b) \*

Alworth et al. (1999)

Chapin et al. (1997)

Chapin (1999)

Chapin et al. (1999)

Germolec et al. (2000a,b,c) \*

Gray, et al. (1999)



Howdeshell et al. (1999)  
Howdeshell & vom Saal (in press)  
Khurana et al. (2000)  
Odum et al (1997)

Odum & Ashby (2000) \* 学会発表  
要旨などのため詳細が不明な文献

(2) ジエチルスチルベステロール陽性対照試験データの検討と、結果の再現性を保証する試験プロトコルの提案

各試験において用いられた動物種と雌雄の別に、用量段階ごとの影響の表れ方を比較した結果を添付資料 4-2 A—C にまとめた。影響の有無と、変化の増減の方向を観察時期、文献番号で示した。統計的な解析がされている場合は、有意さの判定結果も記した。

添付資料 4-2 A—C 表の内訳

表 A DES を用いた試験の文献調査結果 (妊娠マウスに投与した場合の雄児における影響)

表 B DES を用いた試験の文献調査結果 (妊娠マウスに投与した場合の雌児における影響)

表 C DES を用いた試験の文献調査結果 (妊娠ラットに投与した場合の雌雄の児における影響)

試験条件についての比較結果

\* 試験動物について

vom Saal のグループと、Ashby および Cagen のグループでは、用いた試験動物の系統 (CF-1 マウス) は同じであり双方とも元来 Charles River から供給されたものだったが、vom Saal らは十数年来大学内で自家繁殖させたコロニーを用いていた。

しかし動物の体重は、vom Saal ら(1997)の場合には  $37.4 \pm 0.7$  g (8ヶ月令、同じ著者の別の

低用量試験では6ヶ月令で 37.9 g)、Ashby ら (1999) の場合には動物の個別飼育条件下では  $43.4 \pm 5.0$  g、一腹の児を群飼育した場合には  $43.6 \pm 4.3$  g (6ヶ月令) と、Ashby らの用いた動物の方がやや重く、vom Saal らの用いた試験動物は自家繁殖による特定の遺伝的背景をもつ血統が選別されていた可能性が考えられた。

\* 飼育条件について

ストレスなどの影響を見るために、個別飼育と一腹児の共同飼育の両条件について検討したところ、個別飼育に比べて、一腹児の共同飼育では有意に体重が小さく出ている (Ashby ら、1999)。Ashby ら(1999)はケージ、床敷、照明などを、vom Saal の条件に合わせているが、部屋の大きさもストレスなどに影響するのではないかと記している。

\* 食餌について

餌の種類、供給者の記述はあるが、植物エストロゲン、トコフェロールのチェックを行っている例は少なく、最近の論文 (Ashby ら、1999; Atanassova ら、2000; McKinnell ら、2001) では大豆の含有率について 6.5%・18.5%、15.5%、15.5%などの記述があるが、ビスフェノール A などの混入率についての記述はない。Odum ら(2000)は、「低用量」影響について論じた報告で用いられた餌、および一般の毒性試験で用いられている市販の餌について比較検討した。食餌中の植物エストロゲン含量は発生におけるいくつかの生物指標に影響を及ぼすが、植物エストロゲン以外にも未知の因子がこれらの指標に影響を与えているらしいと指摘している。

最近のわが国での試験報告でも、吉田ら (2001) は、市販の固形資料が 40 ppm 程度のビスフェノール A を含んでおりその混入経路の詳細は不明であるが、おそらく製造過程ではないかと推定している。他方、Ema ら(2001)は、試験に用いた市販飼料中のビスフェノール A 含量は検出限界 (3 ppt) 以下であったと報告してお

り、用いる市販飼料の間における違いの存在を伺わせる。

#### \* 投与条件について

用量段階、投与方法、投与時期と期間は試験目的に応じて様々であるが、たとえば Ashby らは vom Saal にあわせている。

#### 試験結果についての比較結果

##### 低用量 DES 投与で対照群と比べて違いの見たエンドポイント

低用量の DES 投与により対照群と比べて有意な違いの認められている例を、用量、報告者、報告年、変化が見られたエンドポイントを、用量の低い順に列挙すると以下ようになる（添付資料 4-2 A-C 参照。用量以下はカッコ内に並べて記した）。

0.002  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (vom Saal ら, 1997; 体重)

0.018  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Palanza ら, 1999; 包皮腺重量、攻撃性)

0.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (vom Saal ら, 1997; 前立腺重量)

0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Gupta, 2000a; 前立腺重量、肛門生殖突起間距離)

0.18  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Palanza ら, 1999; 攻撃性)。

##### エンドポイントごとの影響の有無の比較

さまざまな試験の中で同様の用量について報告された結果をエンドポイントごとに分類しまとめた結果を添付資料 4-1 A に示した。表では、同じ用量で相反する結果が得られている場合にデータの背景を塗りわけて示してある。なお以下で陽性、陰性とは、対照群と比較したときの有意な違いの有無（有りは陽性、無しは陰性）を示す。

#### A: 体重への影響

DES 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  によるマウスの体重への影響の有無について表 2 にまとめた。vom Saal ら(1997)では対照群に比べて増加が見られたが、有意なものではなかった。Ashby ら(1999)と Cagen ら(1999)では投与による影響は見られなかった。

#### B: 前立腺重量への影響

DES 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  によるマウスの前立腺重量への影響の有無を表 3 にまとめた。vom Saal ら(1997)では DES 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の投与により前立腺重量の有意な増加を認めたが、Ashby ら(1999)と Cagen ら(1999)では影響が見られなかった。Ashby のグループでは個別飼育でも、群飼育でも結果はほぼ同様であった。

#### C: データの解析における問題

##### (C-1) 同腹効果の扱い

生殖・発生毒性試験の統計的な解析では、離乳期までは児を独立した標本として扱わず母獣ごとに生まれてくる一腹児を標本として扱うことが望ましいとされている。データのばらつきを母獣間のばらつき(X)と、同腹児間のばらつき(Y)に分けて、それぞれの分散を  $V_x$ 、 $V_y$  とし、F が F 分布に従うとして次の式で、同腹効果がないという帰無仮説に対して検定を行う。F が一定以上であれば同腹効果があると判断し、他方 F が十分小さい時には母獣間のばらつきと同腹児間のばらつきをあわせて解析することもある。ただし一腹から複数の児動物を用いて擬陰性率を下げることはできても擬陽性率は減らすことはできない点に留意すべきである。

$$F = V_x / V_y$$

##### (C-2) 臓器重量の体重補正について

臓器重量については、体重で割って相対重

量で比較することがよく行われるが、成長に伴う臓器の重量の変化は線形とは限らない。たとえばラットの前立腺重量と体重の関係については、臓器重量を  $y$ 、体重を  $x$  とした時に、 $y = ax^b$  における係数  $b$  については 2.13 という値も報告されており、体重増加とともに2次関数的に前立腺重量が増加する傾向があるとされている。さらに共分散分析ではすべての用量段階で、体重と臓器重量の間で直線的な相関が成立するという前提していることに注意すべきであろう。

### (C-3) データのばらつきの扱いについて

データの表示について Ashby グループは標準偏差を用い、vom Saal グループは標準誤差（標準偏差を標本数の平方根で割った値）を用いているために、vom Saal の試験結果は一見非常にばらつきの少ないように見える。標準偏差は生データのばらつき具合を示しているのに対して、標準誤差は平均値の推定精度を表し複数群の平均値間の有意差検定結果を示す時に用いられている。異なる報告における試験データの比較においては、ばらつきの統計的な扱いに留意する必要がある。

### (D) その他の影響要因に関する知見

DES 高用量投与による受容体のダウンレギュレーションに関連しては、Khurana ら(2000)により、雌の子宮でのエストロゲン受容体  $\alpha$  発現の抑制と、雄の内側基底視床下部での抑制および脳下垂体前葉での発現亢進、またエストロゲン受容体  $\beta$  に関しては雄の前立腺での発現亢進などが報告されている。

### まとめ

以上見てきたところから、次の検討課題が提示される。

(A) DES 陽性対照が再現性をもって陽性反応を示す条件を確認するための試験研究を実施する。

(B) 試験に用いる動物種と系統、生殖・発生毒性試験に関わる基本データについて、背景

データのデータベースを構築して、違いが生じたときの要因について検討を支援する。

(C) 生体のホメオスタシスを含む生理的な反応による効果を確認、また生殖・発生影響

への本質的な理解を進める一助として、投与動物について遺伝子発現、たんぱく発現

解析などの手法を組み合わせた研究を進める。

(D) 一腹児の扱い、臓器重量の体重補正の有効性など、生殖・発生影響の統計解析手法の

あり方について、試験データにもとづいて検討する研究を進める。

## 1.1 試験プロトコルの提案

陽性対照として DES を用いた場合に再現性よく陽性の結果が得られるような試験法の案を提案する。要点をまとめると次のようになる。

- (1) 試験の再現性を確認するために、共同試験を数機関で試料や条件をそろえた上で行う。
- (2) 動物およびこれまでの関連試験について、試験結果の解析に必要な背景データベースを整備する。
- (3) 遺伝子発現解析（たんぱく発現レベル、活性レベルでのチェックを含む）を組み合わせ、生理的なホメオスタシスの作動を含む分子レベルでの反応メカニズムの検討も踏まえた解析を行う。
- (4) 検体、飼料、動物を同一の供給源から配布、供給し、検体については純度と不純物の確認、飼料についてはエストロゲン活性物質の存在を化学分析と *in vitro* 試験系の両者を組み合わせて確認する。
- (5) 必要に応じ、さらにポイントをしぼった追加試験を行い再現性、信頼性の精度をあげる。

具体的には以下に記す点に留意しながら、陽性対照としての DES の数用量段階について、マウスの同じ系統、週令をあわせた動物を同じ供給源から提供する並行試験を複数の機関で行い、再現性の確認を行うとともに、結果において異なる部分については詳細な検討を加える。

#### 試験項目

試験動物 : 試験動物の背景について週令による体重変化や、生殖・発生影響関連の

基礎的な項目について、参照のための背景データベースを整備し、またそのようなデータベースを提供できる動物を用いる。

試験材料 : DES を共通の供給源から提供する。ビスフェノール A を追加することも可能。

用量段階 : DES については、これまで相反する結果が得られている濃度である

0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を含み、望ましくはより低い濃度とより高い濃度を含むこと。

飼料のチェック : 植物エストロゲン以外にビスフェノール A などの混入を少なくなるよう

に管理した餌を用いる。できれば既知の混入率の餌を用いて並行試験を行う。

未知の因子混入の可能性をチェックするため、化学分析以外に *in vitro* バイオアッセイ系を用いることも検討する。

投与時期 : 試験の目的に応じて行うが、とりあえず妊娠中および授乳期の投与のみに

ついて検討する。vom Saal の試験を再現するなら妊娠 11-17 日目を検討する。

一腹児の扱い : 一腹からランダムに雌雄それぞれ 4 匹を選抜し、用いることが適切と

考えられる。

観察時期 : 離乳期から思春期までは詳細に観察し、それ以降もエンドポイントの観察に

必要な期間を選択する。

観察項目 : 体重、臓器重量 (雄児については

精巣、前立腺、精巣上体、包皮腺を、雌児については子宮、卵巣を含む)、肛門生殖突起間距離、性成熟、性比、一腹あたりの

生存児数ほかを検討する。また今後の課題としては行動影響 (攻撃性、

運動頻度、甘味嗜好性など) も検討しておく。

統計解析 : 個々の機関で検定を行うほか、複数機関の間での違いがある場合にはその要因の解析を行う。

### (3) ビスフェノール A 重合樹脂成型血液透析器使用のリスク・ベネフィット分析

#### (a) BPA 溶出量の評価

PC から成る A 社製および B 社製ハウジングから BPA の溶出実験を行ったところ、水抽出では 11.7 ng/casing および 13.7 ng/casing、メタノール抽出では 296.0 ng/casing および 345.0 ng/casing の BPA が検出された。A 社製および B 社製のホローファイバー型血液透析器に充填されている逆浸透水中の BPA 濃度は、それぞれ 11.7 ppt および 31.1 ppt であり、C 社製の充填水中 BPA 濃度は検出限界以下であった。

4 種の血液透析器に水および牛胎児血清を循環させた際の BPA 溶出を検討した結果、水循環では 3.78 - 142 ng/module、牛胎児血清では 141 - 2,090 ng/module の BPA が検出された。また種々の濃度のエタノール溶液を使用して擬似溶媒の開発を検討した結果、牛胎児血清循環の BPA 溶出は 17.2% エタノールで近似されることが明らかとなった (Haishima ら, 2001)。

このデータを基に血液透析器の使用による平均曝露レベルとして約 0.86  $\mu\text{g}/\text{回}$  (3 回/週) が試算され、この値はほぼ 6 ng/kg 体重・日に相当する。

#### (b) 毒性データの評価

米国環境保護庁 (US EPA, 1993) は、従来観察されてきたエンドポイントを指標にしたラット長期毒性試験における LOEL (体重減少) を基に、BPA の一日許容摂取量 (RID) として 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重を設定し

ている。

今回の文献調査では、前記4つの視点から見るとそれぞれの報告にいくつかの問題点が指摘できた。最初にBPAの低用量影響を報告した vom Saalら(1998)のグループの試験(CF-1 マウスの妊娠11-17日に $2\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日経口投与で、雄児の体重、精嚢、精巣上体重量の減少と前立腺重量の増加、および $20\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与で前立腺重量の増加と精巣における一日精子生産量の低下)は、生物学的な可能性から見て否定できない結果ではあるが、実験上のいくつかの問題がありその再現性について多くの試みがされたがおおむね不成功に終わり、証拠の確からしさに欠け、かつ用量設定(影響が観察された低用量の2段階のみ)、使用動物数とデータの統計処理の面からいって、データの定量性に問題があった。

しかし最近異なる系統のマウス(CD-1)で妊娠16-18日に低用量( $50\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日)投与により同様な影響が見られたとする報告(Gupta, 2001)があり、データの再現性という面から証拠の確かさが強まった。他方雌児への低用量影響という点では卵巣摘出ラットへ皮下埋植( $400\mu\text{g}/\text{kg}$  体重に相当)するという特殊な投与方法以外では、SDラットの妊娠6-21日の $100\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日、経口投与による膈開口遅延と発情期延長についての学会報告があるくらいで、リスク評価の上では雄児への影響を考慮しておけばまず良いといえる。問題を複雑にさせることには、BPAがエストロゲン受容体経路でなく、ヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激によるステロイド合成を阻害するというデータもある(Nikulaら, 1999)。

さらにこれまでは妊娠動物に投与した場合の胎児に対する影響が中心に検討されてきたがごく最近、雄成熟ラットに低用量を投与した場合に影響を及ぼす可能性を示すデータが報告され、リスク評価に際して別の問題を提示した。成熟雄ラット(13週令)に低用量( $20\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日)を6日間、経口投与して精巣の一日精子生産量が低下するという報告(Sakaueら, 2001)が出てきた。後者報告は、同様条件での低用量影響の報告はこれまで無く、

データの再現性は保証されていない。精子生産量に影響が見られた濃度で精巣重量は変化せず、萎縮などの病理変化も観察されず、著者は精子形成過程における影響を推定しているが精巣サイトゾルのタンパク(未同定)発現パターンの変化以外に証拠はない。精子生産量の低下は、さらに用量を10-100倍増やしても25%程度の範囲にとどまっており、はたして生殖への有害影響と判断できるかについては、メカニズムの裏付けと精巣上体に貯蔵される精子数の変化や繁殖への影響などを確かめる必要がある。

BPAは経口による吸収はあまり良くない(Pottengerら, 2000)が、代謝において人はラットに比べてBPAをグルクロン酸抱合する能力が低いいため、ラットより感受性は高いのでは無いかと指摘する報告(Elsbyら, 2001)もある。

生後1-5日のF344ラットにBPA( $100\mu\text{g}/\text{日}$ )を5日間皮下投与し生後30日におけるエストロゲンレセプターの発現を調べたところ、雄の脳下垂体前葉でエストロゲンレセプター $\alpha$ の発現が対照の約2倍近くまで増加、エストロゲンレセプター $\beta$ の発現も35-40%増加した。他方、前立腺におけるエストロゲンレセプター $\beta$ と、子宮におけるエストロゲンレセプター $\alpha$ の発現は、有意に影響を受けなかった(Khuranaら, 2000)。

以上に記したさまざまな問題点はあるものの、リスク評価のためには現時点ではいくつかの試験で低用量影響が報告されている $20\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日を取りあえず最小影響量(最小毒性量ではなく)と考え、参考値として用いることにする。この値に対して、1000倍の不確実性係数(LOELからNOELへの外挿、種差、個体差にそれぞれ10倍づつ)を適用して $20\text{ng}/\text{kg}$  体重・日が導かれた。

#### (c) リスクベネフィットの評価

上記の曝露レベルは、不確実性を大幅に見積もったこの値 $20\text{ng}/\text{kg}$  体重・日にも至らず、US EPAのRfDとは大きな開きがある。ただし前記の値を指標として用いることの適切性について後述する問題点がある。一方ベネフィット要因としては、血液

透析器は現在腎機能患者(145,000人)の治療に使われ救命的役割を果たしており、現在使用されている医療具に勝る安全性と有効性が保証された器具の開発を推進する傍ら、現在有用性が認められ広く用いられている器具の安全レベルを保証するための研究は重要であるといえる。

## 考察

関沢も一員としてとりまとめつつある厚生労働省の内分泌攪乱化学物質に関わる低用量問題報告案では、受容体結合性など内分泌系に何らかの影響を及ぼす可能性と、生体に有害な影響を及ぼす可能性を概念的に区別して論ずべきであると提案している。

ここでリスク評価の参考として用いたデータの生物学的な妥当性は否定できないが、再現性は確認されておらず、また精子生産量減少のメカニズムも不明であり、証拠の確からしさは保証されていない。用量—反応関係については用量を10-100倍に増やしても精子生産量減少率は25%程度の範囲にとどまり、果たして有害な影響と見なすべきか、あるいは許容される生物学的な適応影響の範囲なのかを見極めるための裏付けとなる研究が要求される。すなわち何らかの対策の根拠には、有害性の影響であるという判定が必要であってこれまでの証拠からは影響の有無の判定にとどまり、参考にしかできないと考える。

上記試験においても飼料中のエストロゲン物質混入の可能性が言及されているが、吉田ら(2001)はBPAの低用量影響を確認する試験において動物の飼料中に投与に用いたと同レベルのBPAが混入していたと報告した。他方、Emaら(2001)はBPAの低用量影響についての試験で用いた市販飼料中のBPA混入は検出限界以下であったとしており、低用量影響評価ではこのような検討あるいは混入排除が必須であろう。

BPAによる影響について語られる逆U字反応曲線に関連してF344ラットでBPA投与による雄の脳下垂体前葉でエストロゲンレセプター $\alpha$ と $\beta$ の発現の増加などの報告があるが、用量に関連したレ

セプター発現の制御について実証的な研究が待たれる。

今回リスク評価に用いたデータは雄成熟動物における影響であったが、妊娠動物への投与による胎児への発生・生殖影響問題は依然として残っている。

血液透析は腎機能障害を抱える患者などにとって欠かすことができない医療機器であり、医療器具を用いることにより意図せぬ有害影響が生じる可能性を予測し、未然に防ぐ手だてがとられなければならない。最近の内分泌攪乱化学物質への関心と懸念の高まりは医療や食品の安全に関わる研究を使命とするわれわれに新たな課題を提示している。

リスク評価は、毒性評価、化学分析から導かれる曝露の推定の両者を総合し、起こりうる有害性を科学的な基礎に基づき予測する手法である。行政の不作為による罪が問われる昨今、現在入手可能なデータと駆使し既存の知見を総合してひとつの回答を用意せねばならないと同時に、リスク評価の結果を書き換えるような新たな知見が得られた場合には速やかに再評価がなされる必要がある。

## D. 結論

現時点では、ヒトに対する内分泌かく乱作用が確認された事例はない。低用量域のホルモン様作用の問題は、内分泌かく乱性を考察する上での中心的課題であるが、現時点で入手できる科学的知見からは、低用量域における内分泌かく乱作用を直ちに断定することには疑問がある。EPAでは、内分泌かく乱性のスクリーニングに関してさしあたり500物質程度、2005年を目途として終了する計画を出している。本作業班では、Emaら(2001)によるBPA低用量試験結果と、前記の独自の文献調査結果を踏まえて考察されたBPAの低用量反応によるリスクの評価(関沢ら、印刷中)などを進めてきた。今後、DES陽性対照が再現性をもって陽性反応を示す試験系の確立とそのための背景データベース

の構築や統計解析手法の検討、及びホメオスタシス反応の寄与を確認する遺伝子発現解析などを含む対応するメカニズムの研究を進め、前記の時期に照準を合わせて試験法の開発とそれに基づく試験目標を達成すべく、一刻も早くその実態を明らかにしたい。

#### E. 参考文献

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

大竹 千代子、関沢 純 Diethylstilbestrol の低用量試験での陽性反応再現性確立への提案、第4回日本内分泌かく乱化学物質学会研究発表会、つくば

関沢 純、配島由二、土屋利江 (2001) ビスフェノールA重合樹脂成型血液透析器使用のリスク・ベネフィット分析、日本リスク研究学会第14回研究発表会、73-74頁

#### 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

#### H. 知的所有権の取得状況

なし

(1) 「低用量」影響文献についての調査

表2 添付資料4-1Aの説明

データベースの項目	説明
文献番号	文献の整理番号
書誌事項	著者・発行年・雑誌名・巻・頁
検討項目	知見の有無について調べた項目
知見の有無	検討項目に関わる知見の有無
内容	知見の具体的内容
著者の主張	知見についての著者の解釈
評価者の意見	知見について評価者の見解

表3 「低用量」影響が報告されている報告の例

文献	物質*	用量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/ 日)	エンドポイント	動物
Palanza et al. (1999)	DES	0.018	包皮腺重量, 攻撃性	CD-1 mice
vom Saal et al. (1995)	BPA	2	体重, 精囊, 精巣上体重量	CF-1 mice
vom Saal et al. (1997) Welshons et al. (1999)	DES	0.02, 0.2, 2.0	前立腺重量	CF-1 mice
Sakaue et al. (2001)	BPA	20	精巣重量, 一日精子生産数 など	Sprague-Dawley rats

\*BPA: Bisphenol A    DES: Diethylstilbestrol

表4 実験上の不備などにより低用量影響を示すといいがたい報告とその理由

文献	低用量影響ありと言いがたい理由
Howedshell et al., 1999 など	ホルモンの実測値の欠如、ほ育条件の記載の欠如、体重への影響が不明
Nagel et al., 1997 vom Saal et al., 1998	用量段階の不足
Biegel et al., 1998, Cook et al., 1998	用量設定が不適切
Tinwell et al., 2000	子宮への影響は再現性に欠ける
Spearow et al., 1999, 2000	検出系の遺伝的背景と環境曝露に配慮が必要
Newbold, 2000, O'Connor et al., 1998, Wolf et al., 2000	学会発表の要旨などのため詳細が不明
Thayer et al., 2001	反応が大きくない



- (2) ジエチルステイルベステロール陽性対照試験データの検討と、  
結果の再現性を保証しうる試験プロトコルの提案

表2 DES 0.2  $\mu$ g/kgによるマウスの体重への影響の有無

	対照群	DES 0.2 $\mu$ g/kg 群	月令
vom Saal ら(1997)	37.4 $\pm$ 0.7 g #	39.3 $\pm$ 1.9 g #	8ヶ月
Ashby ら(1999)	43.5 $\pm$ 5.0 g	43.4 $\pm$ 5.6 g	6ヶ月
Cagen ら(1999)	34.7 $\pm$ 2.3 g	34.9 $\pm$ 2.4 g	3ヶ月

# vom Saal ら(1997)は標準偏差でなく、標準誤差を用いている。

表3 DES0.2  $\mu$ g/kgによるマウスの前立腺重量への影響の有無

	対照群	DES 0.2 $\mu$ g/kg 群	月令
vom Saal ら(1997)	42 mg #1	55 mg #1 *	8ヶ月
Ashby ら(1999)	48.4 $\pm$ 8.2 mg #2	51.2 $\pm$ 6.6 mg #2	6ヶ月
Cagen ら(1999)	39 $\pm$ 6.7 mg	39 $\pm$ 5.0 mg	3ヶ月

#1 グラフからの読みとり #2 個別飼育の場合 \* 有意差あり

分担研究者 長谷川隆一 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究協力者 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

## 研究要旨

vom Saal らのグループによる報告について、試験条件における問題点と、結果の解析における問題点に分けて検討した結果、その試験条件においては、使用した動物腫の系統的背景や飼育方法において他のグループの実験とは異なる特徴的な点が認められる。また、結果の解析において、Bisphenol A による低用量影響は設定投与用量の少なさから十分な用量依存的な検討ができないものであったが、estradiol や diethylstilbestrol を使用した実験は、高用量とは異なる低用量効果の存在を示唆しているものであると考えられた。

### A. 研究目的

内分泌攪乱物質については従来の毒性試験で観察されてきた無毒性量よりも低い用量で見られる影響の報告があり、生理的作用と生体障害性の関連について議論を呼んできた。これらの報告を精査することをとおして、問題の解明に資するとともに低用量における問題解決のため今後必要な研究について提案することを目的とした。

### B. 研究方法

2000 年 10 月に米国環境保護庁が行った低用量問題に関する文献査読会議で使用した文献および、独自の文献検索により前記会議後に出版された文献のうち vom Saal らのグループによる 5 報告について、試験条件における問題点と、結果の解析における問題点に分けて検討した。後者については、用量-作用曲線パターン、閾値の有無、反応オンレーション(逆 U 字現象など)の有無、反応における相加・相乗性の有無を中心に検討を加えた。

(倫理面への配慮)

特に必要なし。

### C. 研究結果と考察

vom Saal らのグループによる報告について、試験条件に関しての問題点としては、1979 年にチャールズリバーから購入した後、彼らの研究施設で系統維持してきた CF-1 Swiss マウスを使用していた点と、解剖約一月前にはケージ毎に個別飼育をしていた点が、他の実験報告に対して特徴的なものとして捉えることができた。

結果の解析に関しては、まず最も低用量で Bisphenol A の影響を示した vom Saal ら (1998) の報告では、2 及び 20ug/kg の 2 用量しか行っていないので、用量相関性を十分に検証できる報告であるとは考えられないことがあげられる。しかし、estradiol や diethylstilbestrol を使用した報告 (vom Saal ら (1997)、Thayer ら (2001)) では 4~6 用量を用いた実験を行っており、用量増加に伴う、児動物における前立腺重量やアンドロゲンレセプターの発現量等の変化が逆 U 系を示し、低用量では高用量とは逆の影響を示す

ことを示している。この2つの報告は投与経路や測定項目が異なっており、実験の再現性を完全に証明するものではないが、低用量影響の特徴が同様な形で示されていると考えられる。

5 報告のうち Timmes ら(1999)の報告はラット用いたもので、しかも化合物投与ではなく、子宮内の着床位置による微小環境でのホルモン状態が前立腺の上皮性発芽の発生過程に及ぼす影響を調べたものである。その結果では、両側が雌に挟まれた雄の発芽領域が増加しており、微小環境でのわずかなホルモン状態の変化が、前立腺の発生に影響を与えていることが示された。しかし、この報告で見られる影響は、げっ歯類としては自然に起きる現象であり、低用量の内分泌かく乱物質による影響のメカニズムと関わっていることは予想されるが、このような影響が生体にとって有害な影響であるかどうかの判定とも関連する問題であり、結果の解釈には注意を要する問題である。

#### D. 結論

vom Saal らのグループによる報告は、他のグループの実験に比べて、その試験条件において、使用した動物種の系統的背景や飼育方法において特徴的なものが認められる。また、Bisphenol Aによる低用量影響は、設定投与用量の少なから用量依存的な検証は十分にはできないが、estradiol や diethylstilbestrol を使用した実験から、高用量とは異なる低用量効果の存在が示唆されるものであると考えられる。

#### E. 参考文献

- Thayer K.A., Ruhlen R.L., Howdeshell K.L., et al. (2001) Altered prostate growth and daily sperm production in male mice exposed prenatally to subclinical doses of 17alpha-ethinyl oestradiol. *Hum Reprod* 16(5) p988-996.
- Timmes B.G., Peterson S.L., vom Saal F.S. (1999) Prostate gland growth during development is stimulated in both the male and female rat fetuses

by intrauterine proximity to female fetuses.

*Journal of Urology* 161: 1694-1701.

vom Saal F.S., Timmes B.G., Montano M.M., et al. (1997) Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 2056-2061.

vom Saal, F.S., P.S. Cooke, et al. (1998). A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production and behavior." *Toxicology and Industrial Health* 14 (1/2): 239-260.

vom Saal, F.S., K.L. Howdeshell, et al. (2000). High sensitivity of the fetal prostate to endogenous and environmental estrogens. Paper to be presented at the Bisphenol A: low dose effects-high dose effects meeting, Freie Universitat, Berlin, November.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

小泉睦子、江馬 眞、広瀬明彦、黒川雄二、長谷川隆一 (2001) フタル酸エステル of 生殖・発生無毒性量、精巣毒性の週齢差、種差および DEHP の 1 日耐容摂取量、日本食品化学学会誌 8 巻 1 号、pp-10.

Koizumi M, Yamamoto Y, Ito Y, Takano M, Enami T, Kamata E, Hasegawa R. (2001) Comparative study of toxicity of 4-nitrophenol and 2,4-dinitrophenol in newborn and young rats. *J. Toxicol. Sci.*, 26: 299-311.

##### 2. 学会発表

緒方英博、浜村政夫、古川浩美、小泉睦子、鎌田栄一、長谷川隆一、4-クロロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討、第 28 回日本トキシコロジー学会学術年会、2001 年 6 月  
山本謙、伊藤義彦、小泉睦子、鎌田栄一、長谷

川隆一、2,4-ジニトロフェノールの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討、第28回日本トキシコロジー学会学術年会、2001年6月

鷹野正生、榎並倫宣、小泉睦子、鎌田栄一、長谷川隆一、4-ニトロフェノールナトリウムの新生児および若齢ラットにおける発現毒性と無毒性量の比較検討、第28回日本トキシコロジー学会学術年会、2001年6月

**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

**H. 知的所有権の取得状況**

なし