

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

エストロゲン様効果に関する文献調査

分担研究者 中田 琴子 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部

研究要旨

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。

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を入手し、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。

C. 研究結果と考察

Odum & Ashby (2000, Toxicological Science, 56, 400-404) は、Lee (1998, Endocrine 9, 105-111) の実験を追試し、腹腔内に 8mg/kg/day 注入されたノニルフェノールによるラット新生児の組織(副睪丸、精囊、睪丸、腹側前立腺)への影響はなか

ったことを報告したが、Lee の上記論文では 15 日間 20.8mg/kg/day 以上のノニルフェノールを投与した場合のみ影響が見られたと報告されているため、反応に閾値があることも推測される。

Delclos 達はノニルフェノール、ゲニスタインまたはエチニルエストラジオールを各々食餌中に加えて、ラット新生児の組織への影響を調べる実験を種々実施したが、要旨のみで詳細が記されていない。その後出版された論文 (2001, Reproductive Toxicology, 15, 647-663) には、ラット新生児の雌雄ともエストロゲンに敏感な複数の組織にゲニスタイン摂取による影響が現れ、この効果はヒトの場合にも影響を及ぼす暴露範囲であると報告している。

また同研究室の最近の論文

(Laurenzana et al, 2002, Food and Chemical Toxicology, 40, 53-63) は、ゲニスタイン、ノニルフェノールまたはエチニルエストラジオールを食餌中に加え、肝臓のテストステロン代謝、チトクローム P450、エストロゲン受容体  $\alpha$  への影響について報告している。一般に雌より雄の方が高活性であったが、ゲニスタイン摂取においては雌雄ともに  $5\alpha$  還元酵素活性の容量—作用曲線で逆 U 次現象が現れている。ノニルフェノール摂取により雄ラットについてテストステロン代謝や CYP450 発現において顕著な効果を現した。エチニルエストラジオール摂取ではテストステロン代謝や

CYP2C が減少している。どの場合も肝臓のエストロゲン受容体発現への影響が見られた。

#### D. 結論

ノニルフェノールの腹腔内注入実験については、条件（投与期間や投与量）を Lee(1998)の場合と同様にして追試してみる必要があり、確定的なことは言えない。

食餌中に加えたゲニスタイン、ノニルフェノール、エチニルエストラジオール等の影響について肝臓のテストステロン代謝、チトクローム P450、エストロゲン受容体等についての顕著な報告がでている。他の組織についても詳細な実験が期待される。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- ・ Nakano, T., Fukuzawa, K., Koyano, K., Yukawa, M., Komiyama, N., Toda, K., Nakata, K. and Kaminuma, T.: Computational Models and Databases for Studying Endocrine Disruptor Hypothesis. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (筑波、2001年12月)

#### F. 知的所有権の取得状況

なし

内分泌かく乱化学物質の生体影響に関する研究  
三森国敏(東京農工大学)

研究要旨

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。

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を入手し、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。

C. 研究結果と考察

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。ジエチルスチルベストロール(DES)の実験においては、 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 以上の胎生期暴露により膈、子宮、中腎管、精巣に種々の異常が誘発され、その発現に閾値はないと報告されている。また、雌マウスに DES を投与した後、正常の雄と交配させることによって得られた仔マウスを生育させたところ、子宮癌が誘発されたが、最高用量群では発現しなかったことから、次世代に発現する子宮癌の発現機序に胚細胞を介した遺伝の可能性が推論されている。

一方、妊娠マウスに  $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 以上の胎生期暴露により精巣網の腫瘍が誘発され、その誘発に閾値がなかったことが報告されている。タモキシフェンの実験では  $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 以上の胎生期暴露により子宮癌が誘発され、低用量よりも高用量群で発現頻度が高かったことから、低用量では estrogen antagonist として高用量では estrogen agonist として作用することが推察されている。

D. 結論

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、その発現機序として高用量暴露では estrogen agonist としてタモキシフェンは作用するものと推察される。

E. 研究発表

1. 論文発表: なし
2. 学会発表: なし

F. 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

成上の留意事項について

1. 日本工業規格A列4番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11ポイントでお願いいたします。

生殖発生に対する低用量影響に関する文献調査研究  
江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 生物試験部

**研究要旨** 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、卵巣及び精嚢の重量低下、雌児 FSH レベルの低下がみられた。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及び乳頭・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 の最低投与量群の毒性影響、bisphenol A の低用量効果は観察されていない。

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を入手し、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

methoxychlor (MXC)(5-150 mg/kg)をSD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、卵巣及び精嚢の重量低下、雌児の発情期におけるFSHレベル低下がみられた。0.05-150 mg/kgのMXC投与群

において2,3の雄児の器官で non-linear な反応が観察されたが、明確なn字型用量反応は得られなかった。3.125-100 mg/kgのvinclozolin (V)をLEラットに強制経口した実験では、雄児で最低投与量群から肛門生殖突起間距離(AGD)短縮及び乳頭・乳輪保持がみられた。Nonylphenol(NP)(200-2000 ppm)の混餌によるSDラット2世代繁殖試験では、最低投与量群では毒性影響は認められていない。また、bisphenol A(BPA)(0.2-200 µg/kg)の強制経口投与によるSDラット2世代繁殖試験ではいずれの投与群においてもF1及びF2の生殖指標やその他の指標に毒性影響は認められなかった。以上のように、MXC及びVを用いた実験では従来のNOAEL以下の投与量で影響が観察されている。NP及びBPAのラット2世代繁殖試験では低用量効果は観察されていない。

D. 結論

MXCのラット母体及び児への投与では、全投与群の児に膈開口促進、子宮、卵巣及び精嚢の重量低下、雌児のFSHレベル低下がみられ、2,3の雄器官重量で non-linear な反応が観察されたが、明確なn字型用量反応は得られなかった。Vをラットに投与したところ、最低投与量群から雄児にAGD短縮及び乳頭・乳輪保持がみられた。ラット2世代繁殖試験ではNP最低投与量群の毒性影響、BPAの低用量効果は認められなかった。

1. 日本工業規格A列4番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11ポイントでお願いいたします。

E. 研究発表

1. 論文発表

Ema, M. and Miyawaki, E. Adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given monobutyl phthalate, a metabolite of dibutyl phthalate, during late pregnancy. *Reprod. Toxicol.* 2001; 15: 189-194.

Harazono, A. and Ema, M. Effects of 4-tert-octylphenol on initiation and maintenance of pregnancy following oral administration during early pregnancy in rats. *Toxicol. Lett.* 2001; 119: 79-84.

Ema, M. and Miyawaki, E. Effects of monobutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.* 2001; 15: 261-267.

Ema, M. and Miyawaki, E. Effects of progesterone on suppression of uterine decidualization and implantation failure induced by triphenyltin chloride in rats. *Cong. Anom.* 2001; 42: 106-111.

Ema, M., Fujii, S., Furukawa, M., Ikka, M. and Harazono, A. Rat two-generation reproductive toxicity study of bisphenol A. *Reprod. Toxicol.*, 2001; 15: 505-523.

小泉睦子、江馬 眞、広瀬明彦、黒川雄二、長谷川隆一、フタル酸エステルの生殖・発生無毒性量、精巣毒性の週齢差、種差およびDEHPの1日耐用摂取量、日本食品化学会誌、2001; 8: 1-8.

広瀬明彦、鎌田栄一、西川佳秋、紅林秀雄、江馬 眞、黒川雄二、長谷川隆一 ホルムアルデヒドの経口および吸入暴露による毒性と水道水における安全性の評価 水環境学会誌、2001; 24: 308-316.

前川京子、小出達夫、斎藤博幸、原園 景、江馬 眞、谷本 剛、岡田敏史 (2001)、エルカトニン製剤の含有評価、医薬品研究、32、465-471.

Ema, M. and Harazono, A. Toxic effects of butyltin trichloride during early pregnancy in rats. *Toxicol. Lett.* 2001; 125: 99-106.

2. 学会発表

Ema, M. and Miyawaki, E. Decreased anogenital distance (AGD) and undescended testes in fetuses of rats given monobutyl phthalate (MBP) during pregnancy. Society of Toxicology, the 40<sup>th</sup> Annual Meeting (March 2001, San Francisco)

江馬 眞、宮脇英美子、モノブチルフタレートへの妊娠及び偽妊娠ラットにおける生殖機能に対する影響、第26回日本トキシコロジー学会(2001年6月、東京)

原園 景、江馬 眞、塩化ジブチルスズの偽妊娠ラットにおける脱落膜反応に対する影響、第26回日本トキシコロジー学会(2001年6月、東京)

広瀬明彦、鎌田栄一、西川佳秋、紅林秀雄、江馬 眞、黒川雄二、長谷川隆一 ホルムアルデヒドの経口および吸入暴露による毒性評価と水道水におけるリスクアセスメント、第26回日本トキシコロジー学会(2001年6月、東京)

江馬 眞、フタル酸エステルの雄性性分化に及ぼす影響、第7回環境ホルモン学会講演会(2001年6月、東京)

江馬 眞、宮脇英美子、ラット雄胎児の性分化に及ぼすモノブチルフタレートの影響、第40回日本先天異常学会(2001年7月、横浜)

Ema, M. and Miyawaki, E. Effects of progesterone on suppression of uterine decidualization and implantation failure induced by diphenyltin dichloride (DPTCl) in rats. *EUROTOX 2001* (September, 2001, Istanbul)

F. 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

作成上の留意事項について

1. 日本工業規格A列4番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11ポイントでお願いいたします。

発がん・特に低用量影響に関する研究

分担研究者 福島昭治 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学講座

研究要旨

内分泌攪乱物質による低用量暴露問題について、文献による発がん・一般毒性についての低用量影響に関する調査を行った。担当分の実験報告から、調査問題に関して肯定的な知見を得ることは出来なかった。一方、低用量影響に関しては、同一種においても系統による遺伝的背景の差が大きく関与しうること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。

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を入手し、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。

C. 研究結果と考察

OdomらによるNobleおよびAPラット雌性動物へのノニルフェノールの低用量暴露では、NobleおよびAPラットともに子宮重量測定値の増加に関して低用量域に閾値が認められた。また、既に報告されている乳腺細胞増殖の再現性は認められなかった。これらの結果は、ノニルフェノールに関して低用量影響を否定しうる一知見と考えられた。

TinwellらによるAPマウス雌性動物へのビスフェノールAの低用量暴露では、子宮重量および子宮組織に変化が認められたものの用量依存性および再現性が認められなかった。これらの結果はビスフェノールAについて恒常的な低用量影響を否定しうる一知見と考えられた。一方、このような用量非依存的かつ再現性に乏しい子宮変化の原因となる生体要因の解明については再考の余地が認められた。

SpearowらによるCD-1、C57BL/6J、C17/JlsおよびS15/Jlsマウス雄性動物へのエストラジオールの低用量暴露では、マウス系統間における精巣重量測定値の低下および精子形成障害の比較について著しい反応差が認められた。これらの結果からエストラジオールの低用量影響の発現について遺伝的背景が大きく関わることを意味しており、既報の解析および今後の検討にも本件に関して十分考慮する必要があることが示唆された。

D. 結論

担当分の実験報告から、発がん・一般毒性について低用量影響に関する肯定的な知見を得ることは出来なかった。

一方、低用量影響に系統による遺伝的背景の差が大きく関与しうること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。

内分泌かく乱物質の生体影響に関する研究-特に低用量効果・複合効果・  
作用機構に付いて-

文献調査班 平成13年度 分担報告書

国立医薬品食品衛生研究所 病理部室長 渋谷 淳

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、反応オキ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。

まず、Wolf, C, Ostby J et al. (2000) *Biology of Reproduction*, 62 (Supplement), p 247 (文献番号45、学会抄録)では、妊娠ラットに Testosterone propionate を投与し、出産時期、リッターサイズ、産児の体重/ano-genital distance (AGD)/areola の数/膣開口の有無を検索した結果を報告している。用量-作用曲線パターンは中間用量まで直線性(ホルモン作用)が認められ、高用量では毒性影響によるパラメーターの変動を認めている。閾値については、出産時期の遅延・産児数の減少が高用量で、産児の体重減少/AGD の短縮(雄)/areola の数の減少(雌)/膣開口の遅延が低用量から認められている。反応オキシレーションは認められず、反応の相加・相乗性は検索していない。用量-作用曲線パターンについて、著者の主張としては低用量でホルモン作用、高用量で毒性出現とあるが、学会抄録なのでデータの詳細が不明であり、厳密には判定はできない。

Lee, PC (1998) *Endocrine* 9(1): 105-111 (文献番号46)では、4-Nonylphenol を雄ラットの産児に3用量で投与しているが、用量-作用曲線パターンは、体重・生殖器/副生殖器の重量(絶対)/AGD で用量反応性を認め、閾値については体重低下と生殖器/副生殖器の絶対重量低下が中間用量から、AGD の短縮が高用量で認められている。著者はエストロジェン受容体を介した機序と解釈しているが、投与に起因した体重増加抑制による二次的な変化と判断した方が妥当と考えられる。反応オキシレーションは認められず、反応の相加・相乗性は検索していない。

Tyl RW, Myers CB et al. (1999) *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 30: 81-95 (文献番号55)は、Octylphenol のラットを用いた二世世代投与試験の報告である。パラメーターとして、親の生殖能、妊娠・授乳、産児(二世世代目)の春期発動を観察し、用量反応性と閾値に関しては、いずれも高用量のみでの反応を認めている。著者らは、Octylphenol に低用量での反応性無しと判定しているが、妥当と考えられる。また、反応オキシレーションは認められず、反応の相加・相乗性は検索していない。

Tyl RW, Myers CB et al. (2000) RTI Study No 65C-07036-000 (Draft Final Report) (文献番号56)は、ラットを用いた Bisphenol A の三世世代投与試験の報告であるが、親及び産児の生殖能、妊娠・授乳、産児(二世世代)の春期発動を観察している。用量反応性に関しては、高用量域での体重低下とそれに関連した変化を認めている。また F2 で低用量域から包皮分離のごく軽度の遅延を確認している。著者らは Bisphenol A に低用量での反応性無しと判定しているが、妥当と考えられる。閾値の有無に関しては、体重低下には閾値が存在し、F2 産児の中で、低用量域で有意差のつくパラメーター変動を認めるが、反応自体はごく軽微で影響とは捉えられない。よって明らかな反応オキシレーションは認められず、反応の相加・相乗性は検索していない。

最後に、Cagen, SZ, Waechter JM et al. (1999) *Toxicol. Sci.* 50: 36-44 (文献番号57)は、マウスを用いた Bisphenol A の妊娠期間曝露の実験であるが、高用量域で雄産児の体重の増加(用量依存性無し)を認めるものの、生殖腺・副生殖腺重量、精子産生に影響は認めていない。著者らは Bisphenol A に低用量での反応性無しと判定しているが、妥当と考えられる。よって閾値の有無、反応オキシレーションは認められず、反応の相加・相乗性は検索していない。

以上、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。

食品薬品安全センター秦野研究所

今井 清

#### 研究要旨

調査依頼のあった5編の文献について査読を行った。そのうち、Welshons W.V. らの総説では、estradiol(E2), bisphenolA(BPA), octylphenol(OP), diethylstilbesterol(DES), methoxychlor(MC), いずれも妊娠動物に投与すると低用量でF1動物の前立腺重量が増加すると報告しているが、総説であることから内容の妥当性を評価するためには、詳細な記述が不足していた。他の3論文は、いずれもエストロゲン様作用物質に対するF344ラットとSDラットの反応性を比較した論文で、SDラットに比較するとF344ラットの方がより低用量で反応することを明らかにした論文であるが、いずれも卵巣摘出という特異的な条件下で行われた実験であり、使用した動物数が少ないことなど低用量問題を評価するためには不十分な実験と判断された。他の1つの論文は、新生児期にBPA, OP, DESを投与して血中プロラクチン濃度、視床下部、下垂体前葉、子宮、前立腺のエストロゲン受容体の発現を比較して、各エストロゲン様作用物質の作用機序が異なるのではないかと推論しているが、1群の動物数が少ないこと、測定値の変動幅が大きいことなどから、結論を導くためには更なる実験の追加が必要であると思われる。

#### C. 研究結果と考察

Welshons W.V. らの総説 (Toxicol. Indust. Health, 15, 12-25, 1999) では、estradiol(E2), bisphenol A(BPA), octylphenol(OP), diethylstilbesterol(DES), methoxychlor(MC) の低用量問題を論じているが、これらの各物質については別個に詳細な報告があり、各々担当班員により査読調査がなされている。

Steinmetz R. らは、卵巣摘出後の7-8週齢F344ラット、SDラットの40-45 $\mu$ /day相当量のBPAあるいは1.2-1.5 $\mu$ /day相当量のE2投与により、F344ラット、SDラットともに子宮重量が3-3.5倍

に、またBPA投与では、SDラットのみ2倍に増加し、これに伴って子宮内膜上皮細胞の丈が2-3.5倍に増加したことから、 $\mu$ gオーダーの低用量のBPA持続投与でも十分なエストロゲン作用を示すと結論している (Endocrinology, 139, 2741-2747, 1998)。しかしながら、卵巣摘出という条件下で行われた実験で、しかも1群の動物数も非常に少ないこと (異なった実験から動揺の処理をした動物をプールして1群9-11匹を確保している) など低用量問題を評価するためには問題点の多い実験成績と判断される。一方同じ論文の中で、18.75-200 mg/kgのBPAあるいは10 $\mu$ g/kgのE2を腹腔内



投与後子宮、膣を対象に BrdU labeling index, c-fos 発現量を指標にして、F344 ラットと SD ラットのこれら化学物質に対する反応性を比較した結果、F344 ラットが SD ラットより高い感受性を示すと結論している。さらに Steinmetz R. らは下垂体後葉細胞のプロラクチン放出因子 (PRF) , エストロゲン受容体 (ER) の発現と血中のプロラクチン濃度を指標にして、F344 ラットが SD ラットより BPA, E2 に対しより高い感受性を示すことを報告しており (Endocrinology, 138, 1780-1786, 1997) 、 Long X. らも、F344 ラットと SD ラットを比較すると、膣の ER のエストロゲン結合能 c-fos 発現量は両系統間で差は見られないが、E2 あるいは BPA 投与後の DNA 合成は F344 ラットのみで用量依存的に増加すると報告している (Endocrinology 108, 243-247, 2000)。また、Khurana S. らは、生後 1-5 日の F344 ラット新生児に BPA, OP, DES を皮下投与して経日的に血中プロラクチン濃度を測定するとともに、視床下部、下垂体前葉、子宮、前立腺の ER を測定した結果、すべての処置群でプロラクチン濃度は上昇するが、その反応パターンが異なること、各処置群で ER 発現様式が異なることから、各エストロゲン様物質の作用機序が異なるのではないかと推測し

ているが (Endocrinology, in press) 1 群の動物数が少なく、測定値の変動幅も大きいことから、結論を導くためには更なる実験の追加が必要であると思われる。

#### D. 結論

今回、査読した 5 編の文献のうち、Welshons W.V. らの総説は、これまでに個別に報告された E2, BPA, OP, DES, MC により CF-1 マウスに認められた低用量影響作用を総合的に Review した論文で、特に E2 に関しては血中の free estradiol 濃度と関連付けながら考察していることなど、著者の主張には妥当性があると判断されるが、この論文は総説であるため、各実験の例数、生存率、体重変化など詳細に関しては不明の点も多く、個々の実験の信頼性についての評価は出来なかった。他の 4 編の論文は、主としてエストロゲン様作用物質に対する反応性のラットにおける種差を検討した実験の報告で、総合的には、SD ラットに比較すると F344 ラットのエストロゲン様作用物質に対する感受性は高いと判断されるが、その作用機序に関しては、試験計画、使用した動物数あるいは測定値の信頼性等なお検討の余地があると判断されることから、更なる実験の追加が必要ではないかと思われる。

名古屋市立大学医学部病理学第一病理 教授 白井 智之

### 要旨

内分泌攪乱物質の濃度とそのホルモン様活性は S 字曲線で示されると考えられていたが、感受性限界濃度以下においても生体に対する影響が観察され、U 字曲線を描くという報告も存在し、未だ意見の一致を見ない。これらの問題を解決すべく様々な *in vivo* 試験法の開発が試みられているが、飼料に含まれる植物由来エストロゲン様物質や実験動物の遺伝的背景など試験に影響を与える因子を熟慮し、実験系をデザインする必要がある。

### 結果

vom Saal ら 1997 が diethylstilbestrol(DES) の低濃度投与が仔の前立腺重量に影響を与えたという報告から、様々な内分泌攪乱物質の、低濃度における影響に興味が集まっている。Ashby ら(1999)は bisphenol A(BPA)を 20、2  $\mu$ g/kg/day、diethylstilbestrol(DES)を 0.2ug/kg/day の濃度で用いて vom Saal ら(1997)、Nagel ら (1997)、vom Saal ら (1998)の3実験をできるだけ忠実に再現したが、再現性のあるデータを得られなかった。その理由として、動物飼育室の大きさや、実験動物の体重・遺伝子背景等をあげている。なかでも大豆飼料中の植物性エストロゲンによって BPA や DES に対する感受性が変化した可能性を重要視している。特に vom Saal らの実験に用いられた飼料中の植物性エストロゲン濃度が他施設よりも高濃度であったことも確認されている。Zhou らは天然産物から作られた(Natural ingredient)植物性エストロゲンが高濃度に含まれる Purina

5001 で飼育された母親から産まれた仔では、準精製飼料(AIN-93G)母親を飼育した場合に比して肝臓における酸化的障害に絡んだ疎な DNA 付加体の形成が増加することを報告している。また Ashby らは AIN-76 のようにカゼインをベースとして植物エストロゲンの含有していない飼料には注意が必要であり、使用する飼料を PCD から RMI に代えたことによって子宮重量が減少し、子宮刺激試験の感受性が上昇したという経緯がある。また、実験群と対照群との間での飼料摂取量の違いはその生物効果や結果に、多大な影響を与えることもあり、使用する飼料を明記することは齧歯類を用いた毒性試験では極めて重要である。

### 結論

vom Saal らがはじめとして報告された内分泌攪乱物質の低用量問題に関して、Ashby et al.が行った追試験ではその現象は確認されず見解の統一に至っていない。また、実験に影

響を与える因子として飼育条件、動物の遺伝的背景・体重、飼料に含有される植物由来エストロゲン様物質等があげられた。ことに、飼料の種類や群間での摂餌量の違いは齧歯類を用いた毒性試験では極めて重要であり、これらを念頭に置いて試験を行う必要がある。

発表論文

1. 白井智之：内分泌攪乱化学物質. *Cancer Frontier*, 2: 69-72, 2000.
2. Kato, K., Takahashi, S., Cui, L., Toda, T., Suzuki, S., Futakuchi, M., Sugiura, S., Shirai, T.: Suppressive effects of dietary genistin and daidzin on rat prostate carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res.*, 91: 786-791, 2000.
3. 今井田克己, 白井智之 発がんプロモーション作用の検討. In: 井上 達, 今井 清, 長村義之, 加藤正信, 菅野 純 (eds.), 内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法, pp. 199-204. 東京: シュプリンガー・フェアラーク, 2000.
5. 今井田克己, 白井智之: 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨牀*, 58, 2000.
6. 朝元誠人, 白井智之: 前立腺発癌への食餌要因の影響. *腎泌予防医誌*, 9: 22-25, 2001.
7. 白井智之 内分泌かく乱物質研究の最前

線. In: (社)日本化学会 (ed.) 季刊 化学総説, Vol. 50, pp. 15-31. 東京: 学会出版センター2001.

1. Ashby et al. Regulatory Toxicology and Pharmacology 30, 156-166, 1999

知見の有無

低用量効果はなし。

内容： vom Saal et al 1997, Nagel et al. 1997, vom Saal et al 1998 の3実験をできるだけ忠実に再現し、一つの実験として行った。子は6カ月でとさつした。DESとBPAである。用量はBPAが20と2 ug/kg/day、DESは0.2 ug/kg/dayである。前立腺重量、精子数には有意差はなかった。著明な体重増加がBPA低用量の雄にみたが、雌では性成熟や子宮重量には著変をみななかった。

著者の主張： vom Saal et al 1997, Nagel et al. 1997, vom Saal et al 1998 の3実験を指示することはできなかつたし、むしろ Cagen et al (1999)の実験結果と一致するものとなった。その理由は

- a. 動物飼育室の大きさ、(Cagenらの研究と類似)
- b. 飼料中の大豆含有量によって前立腺重量が増加し、それによってBPAやDESに対する感受性を減少させた。確かに vom Saal らの実験に比して前立腺重量がやや有意性をもって多いが、実質的には同じである。これまでこの飼料を用いたエストロゲン様物質の研究(過去3年間)には支障はなかった。また vom Saal らの実験で用いた飼料にも比較すべき6施設の中でもっとも高い植物性エストロゲンを含んでいることが判明した。従って飼料中大豆の含有量を理由にすることは難しい。
- c. 用いたCF1マウス(isolated control)は vom Saal らのものよりやや重い。今回の実験では低濃度BPAで体重の増加( $P < 0.05$ )がみられたが Nagel らの実験では同じ濃度のBPAで逆に増加している。この体重に関する課題は複雑な事項を包含している。
- d. 遺伝子背景が関与している可能性あり。vom Saal らの用いたCF1マウスは Charles River から購入し、その後、何年にもわたって自分たちで系統維持してきたものである。今回の研究および Cagen らの実験は最近 Charles River から購入したものである。これらのマウスは vom Saal らのマウスに比し、エストロゲンに対する感受性が良くない。
- e. DESで前立腺重量の増加がなかったことからBPAで認められた変化は控え目にみた方がいい。

2. Current issues in mutation research No XXX by Ashby in press  
(DNA adducts, estrogenicity and rodent diets) Mutation Res in press

Zhouらは天然産物からなる (Natural ingredient) Purina 5001 で飼育された母親から生まれた子供は準精製飼料 (AIN-93G) で飼育した母親から生まれた子供に比して肝臓における疎な DNA 付加体の形成が増加していることを報告している。これらの DNA 付加体は酸化的障害に絡んだものである。Purina 5001 の摂取制限を行うと DNA 付加体形成が減少することも明らかにしている。AIN-76A は植物性エストロゲン含有していないが、Purina 5001 は植物性エストロゲンが高濃度含まれていることが知られている (AIN-93G は不明)。AIN-76A で飼育すると子宮重量の増加があり、植物性エストロゲン以外にもエストロゲン様作用を示すものがあることを示唆している。Purina 5001 も似たようなエストロゲン様作用を示す。

従って、使用する飼料を明記することは齧歯類を用いた毒性試験では極めて重要なことで、さらに飼料摂取量は飼料が引き起こす生物効果に多大なる影響を与えるので、実験群と対照群との間での飼料摂取量の違いは結果に影響を与えることになる。

3. Uterotrophic activity of a “phytoestrogen-free” rat diet by Ashby et al.

Environmental Health Perspectives, 108:2000.

齧歯類用の飼料には植物性エストロゲンの含有量がいろいろあり、それによって内分泌毒性や生殖毒性の結果が異なってくることを示されている。特に AIN-76 のごとくカゼインをベースにして植物エストロゲンのないものには注意が必要である。PCD から RMI に代えた経緯がある。それによって子宮重量は減少し、子宮刺激試験の感受性が上昇した。4 種類の異なる飼料 (RM3/RM1, AIN-76A, Purina 5001, 大豆とアルファルファを含まない global diet) で妊娠期間中飼育し、子供の発育、生殖器重量を測定した。21 齢雌の Alpk ラットに RM1 あるいは AIN-76A を 3 日間投与した。子宮重量は AIN-76A の方が RM1 に比して重く、その増加は高エストロゲン剤である Faslodex によって阻害された。エストロゲンを投与されたように重量が増したマウスもあった。この子宮重量増加の原因は不明。何しろエストロゲン様物質は何一つ含まれていないので。

従って動物飼料を代えるときは注意が必要であるし、またパイロットスタディが必要である。また飼料のエストロゲン作用はただ単に分析結果のみからは推し量れない。

4. Activity of bisphenol A in pregnant SD and Alpk rats: preliminary data. by Ashby 2000

100 ug/kg/day: 毒性があり、生存出産はなかった。  
現在実験実施中である。

5. The rodent uterotrophic assay: critical protocol features, studies with nonylphenols and comparison with a yeast estrogenicity assay by Odum et al. Regulatory Toxicology and Pharmacology 25: 176, 1997

最適な子宮増殖性試験法を見いだすための試験をエストロゲン剤と nonylphenol を用いて行った。結果は酵母法とも比較した。研究対象は使用動物、年齢、投与ルート、基礎食である。実験は全部で13種類である。

その結果、21-22日齢のラットに一日3回投与し、子宮重量(絶対)を計測するのが感受性があり、in vivo エストロゲンアッセイ法の結果に一致したデータを得られることが判明した。ラットの方がマウスよりも良いかもしれないが、methoxyphenol では両者差がなかったことから特にこだわる必要はない。陰開口は良い指標であるが、決定的な指標にはならない。

nonylphenol とその異性体を用いた試験から、aliphatic 側鎖が重要であることが判明した。17b-desoxyestradiol は estradiol と同等の子宮増殖刺激性があり、nonylphenol の親化合物として考えることができる。nonylphenol や 17b-desoxyestradiol の benzoyl 化は子宮増殖性を変化させないが、estradiol の benzoyl 化は子宮増殖性を高める。化学物質の活性化系を欠く in vitro の試験法(酵母試験法)では陰性の結果の信頼性に限界がある。

化学物質のエストロゲン様作用を評価する際の内因性の複雑性ゆえに実験系のデザインには十分注意を払う必要がある。

17b-estradiol: 0.1 - 400 ug/kg. no horminis (未成熟ラット子宮重量)

ethinyl estradiol: 0.1 - 400 ug/kg. no horminis (未成熟ラット子宮重量)

乳腺・女性生殖器に関する調査  
長村義之 東海大学医学部

研究要旨

文献検索などの結果により、低容量問題は、内分泌かく乱化学物質の関わりの可能性が問われている精子の質的・量的低下、免疫系への影響、子宮内膜症などの諸問題のそれぞれに関わっていると考えられた。その際に、前立腺肥大または子宮の発育加速が前立腺または子宮/卵巣がんのような臨床上の病的状態と関連しているか否かを確定する実験的モデルがデザインされる必要がある。

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を入手し、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。

C. 研究結果と考察

文献検索などの結果により、低容量問題は、内分泌かく乱化学物質の関わりの可能性が問われている精子の質的・量的低下、免疫系への影響、子宮内膜症などの諸問題のそれぞれに関わっていると考えられた。女性性器系では、子宮内膜症で検討対象となったアカゲザルの実験におけるダイオキシン(2,3,7,8-TCDD)の毒性反応を起こす最小毒性量(LOAEL)は、100pg/kg/dayとさらに低い値であったという報告もある。DESの妊娠中胎児への発癌を含めた影響は、よく知られるが低容量DESによる影響はないとの報告もあり更に検討をしようすると思われる。試験系とデータ解析における問題点には、試験動物、飼育条件、データ解析などが含まれる。その際に、前立腺肥大または子宮の発育加速

が前立腺または子宮/卵巣がんのような臨床上の病的状態と関連しているか否かを確定する実験的モデルがデザインされる必要がある。問題解決のために、ホメオステシスの遮断、受容体の増強、生理的リガンドの工夫などがあげられる。特に子宮・乳癌の発癌など病理学的変化に対して感受性を増大させているトランスジェニックマウスの有用性も期待される。

D. 結論

低容量による内分泌かく乱は、その報告もみられるものの、まだ明らかにされていない点も多い。問題点として試験動物における問題点、飼育条件における問題点、データの解釈における問題点などが挙げられる。その解決に、ホメオステシスの遮断、受容体の発現増強、生理的リガンドなどが考えられる。そのために、トランスジェニックマウスなどを用いる解析も期待される。

## II 基盤研究班



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

分担研究項目：マウス生殖腺の分化  
および精子、卵形成への内分泌かく  
乱化学物質の影響

分担研究者：井口泰泉 岡崎国立共  
同研究機構・基礎生物学研究所・統  
合バイオサイエンスセンター

研究要旨

DNA マイクロアレー法により、卵巢摘出マウス子宮におけるエストロゲン投与6時間後の遺伝子発現の変動について解析した。約一万遺伝子についての発現を調べたところ、およそ5%の遺伝子がエストラジオールにより発現が誘導されることが明らかになった。ビスフェノール A、ノニルフェノールなどのエストロゲン活性を持つ化学物質では、発現が変動する遺伝子は必ずしもエストラジオールとは共通でないことが明らかになった。

A. 研究目的

ホルモン作用を有する物質の影響を明らかにするために、ホルモン自体の作用メカニズムの解明、発生中の動物の組織特異的な臨界期ならびにその分子的な基盤の解明、哺乳動物では化学物質の胎盤の透過性、化学物質の代謝系、低用量影響の分子的な基盤の解明などが不可欠である。これらを明らかにすることにより、内分泌攪乱化学問題を遺伝子レベルで捉えることが可能となり、基礎研究の推進ならびに化学物質のリスク評価への一助となる。

B. 研究方法

1. DNA マイクロアレー法により、新生仔期および卵巢摘出マウスの子宮での遺伝子発現を解析し、エストラジオール、合成エストロゲン、ビスフェノール A、ノニルフェノール等によって発現が調節される遺伝子を明らかにする。
2. 発現が変化する遺伝子をリアルタイム PCR により確認する。
3. 低用量から高用量までの化学物質による遺伝子発現に対する影響を調べる。
4. ビスフェノール A の低用量影響を調べる。
5. マウスを用いて周生期のエストロゲンによる生殖器官の組織不可逆化に関連する遺伝子を Differential Display 等により探索する。

6. ラットのミューラー管の発達過程におけるエストロゲン受容体発現および上皮成長因子の発現を解析する。

C. 研究結果

DNA マイクロアレー法により、卵巢摘出マウス子宮におけるエストロゲン投与6時間後の遺伝子発現の変動について解析した。約一万遺伝子についての発現を調べたところ、およそ5%の遺伝子がエストラジオールにより発現が誘導されることが明らかになった。同様に合成エストロゲン、ビスフェノール A、ノニルフェノール等の投与により発現が変動する遺伝子について解析を行い、エストラジオールにより発現が変動する遺伝子との比較を行った。その結果、発現が変動する遺伝子は必ずしもエストラジオールとは共通でないことが明らかになった。エストロゲンの濃度に依存して、子宮で発現誘導あるいは発現抑制される遺伝子数が増加した。誘導される遺伝子の約50個について、リアルタイム PCR を用いて発現誘導を確認した。発現が誘導される遺伝子を選択して、新たなアレーを組みつつある。また、新生仔の子宮では、無処理の場合でも多くの遺伝子が発現していた。エストロゲン投与では、子宮で発現が誘導される遺伝子は約30個程度であり、エストロゲンに対する反応性は成体の子宮との大きな差が認められた。

作成上の留意事項について

1. 日本工業規格 A 列 4 番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11 ポイントでお願いいたします。

ビスフェノール A の低用量影響を調べた結果、雌の膣開口は対照群よりも有意に早い事が確認された。しかし、その雌を無処理雄と交配した結果、産仔数、性比ともに影響は認められなかった。

マウスを用いて周生期のエストロゲンによる生殖器官の組織不可逆化に関連する遺伝子を Differential Display により探索した。出生直後のマウスに 3µg の DES を 5 日間連続投与した。7 週目に卵巣を除去し 10 日後に膣を摘出し RNA を抽出した。対照のオイル処理マウスからの RNA と比較した結果、セリンプロテアーゼが DES 処理マウスの膣で発現量が高いことが判明した。このプロテアーゼは膣上皮に特異的に発現していることを見出した。さらに、新しいタイプのレクチンが DES 処理マウスの膣で高い発現を示すことも分かった。

ラットのミューラー管の発達過程におけるエストロゲン受容体発現および上皮成長因子の発現を解析した結果、上皮成長因子の発現と細胞分裂の相関が認められた。エストロゲン受容体発現を経時的に調べ、ミューラー管の部域特異的に受容体発現が起こること事を明らかにした。

#### D: 考察

ホルモン作用を有する内分泌攪乱化学物質が遺伝子発現に与える影響が、必ずしもエストロゲンの影響とは一致しないという事は、従来から考えられているホルモンレセプターを介した遺伝子発現調節とは別の作用が内分泌攪乱化学物質には存在していることを示唆している。ホルモン感受性の臨界期を理解するためにも、臨界期前後での遺伝子発現を調べる事が有効であろう。さらに、臓器特異的なホルモン応答性の遺伝子の整理が必要である。

ビスフェノールの低用量影響は確認できたが、既報の結果とは異なる部分もあり、動物の系統差、実験手技の差が大きく影響することが考えられる。また、本研究結果からは悪影響といえる結果は得られていないが、マクラランらが 1982 年に報告しているように、数回の妊娠出産を繰り返すことによって何らかの影響が現れる可能性は否定できない。

周生期の性ホルモンによるマウス生殖器官不可逆化に関連する遺伝子の探索を継続し、幾つかの特異的な遺伝子を見いだしたが、さらに探索を継続し、本質に関わる遺伝子を特定する必要がある。また、生殖器官の正常発生・発達に伴うホルモン受容体の発現をきちんと押さえておく等の、基礎的な知見の集積が重要である。

#### E. 結論

DNA マイクロアレー法により、卵巣摘出マウス子宮におけるエストロゲン投与 6 時間後の遺伝子発現の変動について解析した。約一万遺伝子についての発現を調べたところ、およそ 5% の遺伝子がエストラジオールにより発現が誘導されることが明らかになった。ビスフェノール A、ノニルフェノールなどのエストロゲン活性を持つ化学物質では、発現が変動する遺伝子は必ずしもエストラジオールとは共通でないことが明らかになった。エストロゲンの濃度に依存して、子宮で発現誘導あるいは発現抑制される遺伝子数が増加した。周生期のエストロゲン投与により不可逆化した膣ではセリンプロテアーゼが膣上皮に特異的に発現していること、新しいタイプのレクチンが DES 処理マウスの膣で高い発現を示すことが明らかとなった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Watanabe, H., D.L.Buchanan, H. Handa and T. Iguchi: Global analysis of gene expression induced by environmental endocrine disruptors. *Perspective in Comparative Endocrinology: Unity and Diversity*, Goos, H.J.Th., Rastogi, R.K., Vaudry, H. and Pierantoni, R. (eds.), Monduzzi Editore, pp.147-151, 2001.

Yamamura, Y., Y. Ohta, T. Iguchi and A. Matsuzawa: Metallothionein expression and apoptosis in pregnancy-dependent and -independent mouse mammary tumors. *Anticancer Res.*, 21: 1145-1150, 2001.

Yamamura, Y., M. Tamano, T. Iguchi and Y. Ohta: Methallothionein expression and tumor growth in the transplantable pregnancy-independent mouse mammary tumor. *J. Vet. Med. Sci.*, 63: 687-689, 2001.

作成上の留意事項について

1. 日本工業規格 A 列 4 番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11 ポイントでお願いいたします。

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

Okada, A., T. Sato, Y. Ohta, D. L. Buchanan and T. Iguchi: Effect of diethylstilbestrol on cell proliferation and expression of epidermal growth factor in the developing female rat reproductive tract. *J. Endocrinol.*, 170:539-554, 2001.

Iguchi, T., H. Watanabe and Y. Katsu: Developmental effects of estrogenic agents on mice, fish and frogs: a mini review. *Horm. Behav.* 40: 248-251, 2001.

Shibayama, T., H. Fukata, K. Sakurai, T. Adachi, M. Komiyama, T. Iguchi and C. Mori: Neonatal exposure to genistein reduces expression of estrogen receptor  $\alpha$  and androgen receptor in testes of adult mice. *Endocr. J.*, 48: 655-663, 2001.

Watanabe, H., A. Suzuki, T. Mizutani, H. Handa and T. Iguchi: Large-scale gene expression analysis for evaluation of endocrine disruptors. *Proceedings of 1<sup>st</sup> International Forum for Toxicogenomics.* (in press).

Arizono, K., K. Ura, N. Tominaga, T. Kai, Y. Kohara and T. Iguchi: *C. elegans* as a tool for environmental toxicology. *Proceedings of 1<sup>st</sup> International Forum for Toxicogenomics.* (in press).

Miyagawa, S., D.L. Buchanan, T. Sato, Y. Ohta, Y. Nishina and T. Iguchi: Characterization of diethylstilbestrol-induced hypospadias in female mice. *Anat. Rec.* (in press).

Suzuki, A., A. Sugihara, K. Uchida, T. Sato, Y. Ohta, Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi: Developmental effects of perinatal exposure to bisphenol-A and diethylstilbestrol on reproductive organs in female mice. *Reprod. Toxicol.* (in press).

Buchanan, D.L., S. Ohsako, C. Tohyama, P.S. Cooke and T. Iguchi: Dioxin inhibition of estrogen-induced mouse uterine epithelial mitogenesis involves changes in cyclin and transforming growth factor- $\beta$  expression. *Toxicol. Sci.*, (in press).

Okada, A., Y. Ohta, D.L. Buchanan, T. Sato, S. Inoue, H. Hori, M. Muramatsu and T. Iguchi: Changes in ontogenetic expression of estrogen receptor  $\alpha$  and not of estrogen receptor  $\beta$  in the female rat reproductive tract. *J. Mol. Endocrinol.* (in press).

Uchida, D., M. Yamashita and T. Iguchi: Involvement of oocyte apoptosis during transition from ovary-like tissue to testis during sex differentiation of juvenile zebrafish. *J. Exp. Biol.* (in press).

Honma, S., A. Suzuki, D.L. Buchanan, Y. Katsu, H. Watanabe and T. Iguchi: Low dose effect of *in utero* exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reprod. Toxicol.* (in press).

足立哲也、櫻井健一、深田秀樹、小宮山政敏、芝山孝子、井口泰泉、森千里：植物エストロゲンおよび内分泌攪乱物質の精子形成への影響評価に対するDNAマイクロアレイを用いた判定法の開発。千葉医学, 77: 151-158, 2001.

井口泰泉：環境ホルモン（内分泌攪乱化学物質）問題からみた科学。科学, 71: 1567-1569, 2001.

井口泰泉、鷲見 学：野生生物の変異と解明された機序。最新医学、印刷中。

井口泰泉：環境ホルモン対策、産業調査会編「食品加工技術と装置」、印刷中。

2. 学会発表。  
勝 義直、高須絵理、井口泰泉：Differential Expression of C-Type Lectins in the Mouse Vagina. 日本内分泌攪乱化学物質学会第4回研究発表会、つくば、2001年12月

宮川信一、勝義直、渡邊肇、仁科行雄、井口泰泉：Changes in expression of glutathione peroxidase 3 and some growth factors in neonatally DES-exposed mouse

作成上の留意事項について

1. 日本工業規格A列4番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11ポイントでお願いいたします。

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

vagina. 日本内分泌攪乱化学物質学会第4回研究発表会、つくば、2001年12月

渡邊肇、鈴木敦子、河野郷通、半田宏、井口泰泉：DNA マイクロアレイを用いたエストロゲン作用の解析 第24回日本分子生物学会年会、横浜、2001年12月

渡邊肇、鈴木敦子、河野郷通、半田宏、井口泰泉：Evaluation of endocrine disruptors by DNA microarray 日本内分泌攪乱化学物質学会第4回研究発表会、つくば、2001年12月

鈴木敦子、渡邊肇、井口泰泉：Gene expression analysis by microarray in neonatal uterus exposed to diethylstilbestrol. 日本内分泌攪乱化学物質学会第4回研究発表会、つくば、2001年12月

Watanabe, H., A. Suzuki, T. Mizutani, H. Handa and T. Iguchi: Evaluation of endocrine disruptors by DNA microarray. Abst. #33, e, hormone, Tulane Univ. Oct. 18-20, 2001.

勝 義直、高須絵理、井口泰泉：マウス膣に発現する新規 c-type lectin の単離. 日本動物学会第72回大会、博多、2001年10月

宮川信一、佐藤守、勝義直、渡邊肇、土橋香織、大石正道、前田忠計、井口泰泉：新生仔期 DES 投与により不可逆的増殖・角質化を示すマウスの膣における蛋白質発現. 日本動物学会第72回大会、博多、2001年10月

勝 義直、高須絵理、井口泰泉：マウス膣に発現する新規 c-type lectin の単離. 第6回日本生殖内分泌学会 2001年10月

鈴木敦子、太田康彦、井口泰泉：胎仔雄マウス生殖器官での Hox 遺伝子の発現と合成エストロゲンによる発現変化 日本動物学会第72回大会、博多、2001年10月

渡邊肇、鈴木敦子、河野郷通、半田宏、井口泰泉：DNA チップを用いた環境ホルモン作用の研究、日本動物学会中部支部大会特別講演、岡崎、2001年8月

作成上の留意事項について

1. 日本工業規格A列4番の用紙を使用して下さい。
2. 文字の大きさは、11ポイントでお願いいたします。