

別添 2

厚生労働科学研究費補助金

食品・化学物質安全総合研究事業

研究課題名（課題番号） = ダイオキシン類の健康影響とくにその TEF を中心
としたリスク評価のための実験的基盤研究（H13 - 生活 - 010）

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江馬 眞

平成 15（2003）年 4 月

別添 3

厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

目 次

I. 総括研究報告書	
ダイオキシン類の健康影響とくにその TEF を中心としたリスク評価のための 実験的基盤研究 (H13 - 生活 - 010)	江馬 眞.....1
II. 分担研究報告書	
1. 奇形発生と T E F	江馬 眞14
2. ダイオキシンの胎生期暴露のサル児の行動発達に及ぼす影響	安田 峯生21
3. 胚幹細胞 (E S 細胞) に対するダイオキシンの影響	高木 篤也26
4. 細胞アレイを指標とした発がん評価	矢守 隆夫.....28
5. ダイオキシンの発がん性と TEF	菅野 純.....32
6. Ahr/Arnt の作用メカニズムの分子的基盤と標的遺伝子の検索	藤井 義明.....35
7. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) の機能	鎌滝 哲也.....39
8. 幼若ラットに対する誘起排卵抑制におけ Toxic Equivalency Factors (TEF) の妥当性に関する検証	松木 容彦.....41
9. ダイオキシン類の短期間雌雄ラットへの暴露が生殖器に及ぼす影響	鈴木 勝士...56
10. ダイオキシン類の毒性学的研究における国際動向に関する研究	広瀬 明彦.....59
11. ダイオキシン等のリスクコミュニケーションに関する検討	井上 達.....63
III. 研究成果の刊行に関する一覧表67
IV. 研究成果の刊行物・別冊69

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）

I. 総括研究報告書

ダイオキシン類の健康影響とくにその TEF を中心としたリスク評価のための
実験的基盤研究（H13 - 生活 - 010）

主任研究者 江馬眞 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

本厚生労働科学研究「ダイオキシンの健康影響とくにその TEF を中心としたリスク評価のための実験的基盤研究」の課題は、次の 3 点に亘って、全体研究を推進した。すなわち 1) 各種のシグナル分子 (AhR、AhR リプレッサー、CYP 系分子種、その他の新しい関連分子種) の各種ダイオキシン類の暴露に対する誘導、並びに、発現抑制に関する毒性等価指数 (TEF: Toxic Equivalency Factor) を求めること、2) すでに明らかにされつつある、ダイオキシン類の受容体原性毒性に対して、口蓋裂発生の分子背景の解明を含む、種々のシグナル分子の相互作用を明らかにすること、3) 短期および長期の暴露実験の継続とそこから得られる新しい、生体影響リスクの上記 1) との比較検討である。平成 14 年度において得られた成果として、【奇形発生】に関しては、C57BL/6 の妊娠マウス (妊娠 12.5 日) に 2,3,7,8-TCDD をはじめとする、種々のダイオキシン類を単回経口投与し、口蓋裂発生用量と TEF 値との相関性を明らかにした。また、口蓋裂発生部位の上顎部において TCDD により変動する遺伝子をマイクロアレイ解析により同定した (江馬、高木)。TCDD を 30 または 300ng/kg を胎生期および授乳期を通じて負荷したアカゲザル母体からの初産児 (F1a) および次産児 (F1b) の生後発育を観察した。F1a は生後約 900 日、F1b は約 200 日に達した。指迷路試験、アイコンタクト試験では TCDD 投与群と対照群の間に有意差は見られなかったが、出合わせ試験では高用量群で環境への興味を示している傾向が見られた (安田)。胎生期暴露影響の基礎研究として胚性幹細胞 (ES 細胞) に対するダイオキシンの影響をマイクロアレイ解析で検討し、TCDD の標的遺伝子として良く知られている CYP1A1、CYP1B1 の顕著な増加を認めた (高木)。【発がん】に関しては、TCDD、TCDF をはじめとする 11 種のダイオキシン類をがん細胞パネルで評価した結果、TCDF のみが有意な細胞増殖阻害を示すことを明らかにした。DNA チップによる解析では、TCDF 感受性の OVCAR-4 細胞では、TCDD では発現されず TCDF により発

現が誘導される遺伝子群が見られた(矢守)。TCDDの肝発がんプロモーター作用を検討するため、P53ヘテロ欠失マウスを用いた二段階肝発がん性試験を実施し、途中段階での発がんの用量相関曲線を報告した(菅野)。**【障害性発現メカニズム】**に関しては、XRE配列の他にAhR/Arntの結合配列XREIIを発見し、これに直接結合するLBP-1の存在を示し、AhR/ArntはLBP-1に結合して共役転写因子として働くことを明らかにした。エストロゲン受容体(ER)にも結合してEREを介してER標的遺伝子の転写活性化することを明らかにした。AhR/Arntの標的遺伝子の一つAhR抑制因子(AhRR)の遺伝子発現機構を明らかにした(藤井)。また、AhRシグナル伝達系の活性化により、成長ホルモン(GH)-STAT5およびPPAR α シグナル伝達系により活性化される遺伝子群の発現が低下することを明らかにした(鎌滝)。**【TEF技術評価】**に関しては、TCDDおよびHxCDDの相対力価を求めるために、卵巣摘出ラットの雌に、エストラジオール(E2)を投与、ダイオキシンの存在、不在下で子宮重量増加反応を調べた。その結果、TCDDについてはE2による子宮重量増加に対し抑制作用が認められたが、HxCDDについては、E2の子宮重量増加作用に影響が認められず、2種のダイオキシンの子宮重量増加に関して作用の相違が示唆された(鈴木)。ラットの肝臓および胸腺重量は組織中TCDDの動態に伴って変化するが、排卵数および卵巣重量についてはTCDDの影響は認められなかった(松木)。**【リスクコミュニケーション・調査】**に関しては、ダイオキシンの人影響に対するTEFを含めた当班における総合的な成果を正しく伝達されるべくwebsiteなどの適切な媒体を用いて広報するため、最近の国際機関や各国政府機関で行われていたダイオキシン類の健康リスク評価の状況を調査した(井上)。平成14年度にスペインで開かれたダイオキシン国際シンポジウムに参加し、ダイオキシン類による内分泌かく乱作用のメカニズムに関する新知見やEPAで行われたリスクアセスメント手法及びTEFアプローチによるPCB類との複合作用に関する検討に関して、情報収集を行った(広瀬)。以上、本研究においてダイオキシンの毒性に関する有用な知見を数多く得ることが出来た。

分担研究者

江馬眞（国立医薬品食品衛生研究所）
安田峯生（広島国際大学保健医療学部）
高木篤也（国立医薬品食品衛生研究所）
菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所）
矢守隆夫（癌研究会癌化学療法センター）
藤井義明（筑波大学先端学際領域研究センター）
鎌滝哲也（北海道大学薬学部）
鈴木勝士（日本獣医畜産大学獣医学部）
松木容彦（食品薬品安全センター秦野研究所）
井上 達（国立医薬品食品衛生研究所）
広瀬明彦（国立医薬品食品衛生研究所）

A. 研究目的

本研究の目的は、ダイオキシン類の生体影響に関する様々な分子種の発現を指標として TEF を求めると共に、発現の亢進と抑制を介在する分子種を指標とし、これらの結果を短期および長期の暴露実験と関連づけて進めることにある。非意図的に生活空間で産生されるダイオキシン類の生体障害に対する正確なリスクアセスメントはそれらの生体障害の機構が十分に明らかでない中でも設定されなければならない。しかしながら、ダイオキシン類の本体に関する様々な分子種の働きについての解明はこの3年間で飛躍的に発展した。この認識に対応した TEF の設定、それを修飾するそれら分子種の変化の可能性をとらえることはリスクアセスメントの信頼性を高めるために必要で

ある。本研究の3つの構成部分はこれに貢献する上で必要であり、成果が期待されるものである。具体的には、上皮・間充織の相互作用に対する TCDD の影響について遺伝子レベルで明らかにするとともに各種ダイオキシン類の C57BL/6 マウスにおける口蓋裂の発生用量を求め、TEF の決定に役立つ生物学的指標の確立を目指す（江馬、高木）。胎生期暴露がヒトの中枢神経系の発達に悪影響を及ぼしているのではないかと検討する（安田）。ダイオキシン類の発生毒性検出のモデル系として ES 細胞培養系の有用性を調べる（高木）。ダイオキシン発がんの分子メカニズムの解明を進める（菅野、矢守）。AhR の作用メカニズムや標的遺伝子等を明らかにして、ダイオキシンやその他の多環性芳香族化合物の生体に対する作用を明らかにすると共に、AhR の本来の発生、生殖における役割を明らかにする。これはダイオキシンやその他の環境汚染物質の生体に対する影響を考える上で必須の情報を与え、その対策を考える上でも不可欠な知見である。AhR の機能について外来異物に対する生体応答から発生・分化まで、より包括的な理解が期待できる（藤井、鎌滝）。ダイオキシンのラット母体投与後、次世代の雄の生殖に及ぼす影響の用量相関を解明する。着床と初期発生に対するダイオキシンの影響、雄性副生殖器形成に関わる遺伝子発現機構とダイオキシンあるいは AhR との関係解明などが期待される（鈴木）。幼若ラットに対する誘起排

卵モデルを用いて、ダイオキシン類投与後の誘起排卵などの雌性生殖の変化をダイオキシン類の動態と併せて対比することにより、雌性生殖に対する影響評価における TEF の妥当性を検証する (松木)。海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集する (井上)、(広瀬)。

B. 研究方法

C57BL/6 の妊娠マウス (妊娠 12.5 日) に 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PCDD、1,2,3,7,8-PCDF、2,3,4,7,8-PCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD あるいは、2,3,7,8-TCDF の 7 化合物をそれぞれ、単回経口投与し、口蓋裂発生用量と TEF 値を比較し、口蓋裂発生用量と TEF 値の相関性に関する検討を行った。また、C57BL/6 の妊娠マウス (妊娠 12.5 日) に 20ug/kg 体重の 2,3,7,8-TCDD を単回経口投与し、投与 48 時間後に胎児を採取し、上顎部位で変化する遺伝子を約 12000 遺伝子を検索出来る Affymetrix 社の Gene Chip を用いて検索した (江馬、高木)。アカゲザルを交配し、約 60 匹を 3 群に分け、妊娠 20 日に TCDD を 0 (溶媒)、30 または 300 ng/kg 皮下投与し、その後 30 日毎に初回投与量の 5%量を維持量として投与した。妊娠動物は自然分娩させ、児を哺育させた。母体への TCDD 投与は分娩後 90 日まで続けた。生後 12~15 ヶ月齢で 4 段階迷路試験、13~15 ヶ月齢で新奇出会わせ試験、23~26 ヶ月齢でアイコンタクト試験を行った (安田)。ES 細胞をゼラチンコート Dish 上で LIF が存在する ES 培地

で培養した。2,3,7,8-TCDD は DMSO に溶解して、最終濃度 10nM で添加した。対照群には DMSO を 0.1%の最終濃度で添加した。添加、4 日後の ES 細胞より RNA を抽出後、クオンテック社のマイクロアレイを用いて影響を受ける遺伝子を網羅的に検索した (高木)。C3B6F1 p53 ヘテロ欠失あるいはワイルド マウスに Diethyl nitrosamine (DEN) を 10mg/kg 体重の用量で単回腹腔内投与し、投与 7 日後より、2,3,7,8-TCDD を 0.0003、0.001、0.003、0.01、0.03 及び 0.1ug/kg 体重の用量で週 2 回経口投与した。一群の動物数は 8 匹とした。投与期間は最長で約 3 年とした。プロモーター作用高感受性動物として TgAC マウス (癌遺伝子の v-Ha-ras 導入トランスジェニックマウス) を用いた TCDD の発がん作用の解析に適したマウスを樹立し、TCDD のプロモーター作用を調べる。TCDD、TCDF ほか 11 種のダイオキシン類のがん細胞パネルにおいての結果を受けて、遺伝子発現のプロファイリングを Affymetrix 社の GeneChip を用いて行った (菅野)。がん細胞パネル TCDD、TCDF をはじめとする 11 種のダイオキシン類の評価を行った。また、ダイオキシンに 48 時間曝露されたがん細胞における約 1 万遺伝子の発現変化を GeneChip (Affymetrix 社) により網羅的に解析した (矢守)。CYP1A2 の遺伝子上流 6 kb をルシフェラーゼ遺伝子に結合したレポーター遺伝子を 3MC に依存して発現する Hep-G2 細胞を用いて、誘導的発現をコントロールする DNA エlement を決定する。またこの塩基配列が決定されたならば、この塩基配列に結合するタンパク質を硫酸分画、DEAE、セルロー

スカラム、決定した DNA 配列を用いたアフィニティーカラムによって精製し、エドマン分解法によりペプチドのアミノ酸配列の決定を行った。タンパク質間の相互作用を検討するために GST に目的のタンパク質を融合したタンパク質を作製し、相互作用する相手タンパク質をインキュベートしてそのタンパク質をグルタチオンを結合したビーズにより分離し、ビーズに結合したタンパク質を同定した。同定には各々の抗体を用いて免疫ブロット法によって行った。また、タンパク質間の相互作用を検討するためには、一つのタンパク質を抗体で分離し、抗原抗体沈殿物に含まれている相手タンパク質は免疫ブロット法によって行った場合もある。DNA との相互作用を検討するためには電気易動度シフト法によって行った。また、DNA に結合している因子の同定は抗体を用いた易動度スーパーシフト法によって行った (藤井)。7 週齢の雄性野生型および AhR 欠損マウスに MC を投与した。投与量は 80 mg/kg とし、2 日間腹腔内単回投与した。最終投与より 24 時間後に肝臓を摘出し、mRNA を調製した。DNA マイクロアレイは 8334 クローンが載ったインサイト社の Mouse GEM1 を用いた。発現が 2 倍以上変化した遺伝子を抽出した。DNA マイクロアレイの結果はノーザンブロット分析により確認した。レポーターアッセイは、ヒト肝がん由来 HepG2 細胞に PPAR α に応答するレポータープラスミドおよび PPAR α 発現プラスミドを導入し、MC で処置することにより行った (鎌滝)。25 日齢の雌ラットにウマ絨毛性性腺刺激ホルモン (eCG) 5IU を 1 回皮下投与し、3 日後

に剖検して排卵検査を行うとともに、卵巢重量および子宮重量を測定した。同様に、24 日齢の雌ラットに TCDD を経口投与した。TCDD の用量は 16 μ g/kg を高用量に設定し、以下公比 4 で除して、4 あるいは 1 μ g/kg の 3 用量を設定した。TCDD 投与後 6 時間に剖検した。残りの動物に TCDD 投与後 24 時間の 25 日齢に eCG5IU を 1 回皮下投与し、eCG 投与後 48 時間及び 72 時間に剖検した。

肝臓、胸腺、卵巢および子宮を採取し、それらの重量を測定した。また、eCG 投与後 72 時間における剖検では、卵管を採取し、実体顕微鏡下で、黄体数、および排卵数を数えた。生体試料中の TCDD 濃度を ELISA 法により、測定した。同様に AhR アゴニスト indigo の影響を評価した。また、Real-Time RT-PCR 装置を用いた mRNA 定量システムの確立を計った (松木)。卵巢摘出ラットに E2 および 2,3,7,8-TCDD または 1,2,3,4,7,8-HxCDD を併用投与した際の各 TCDD の抗エストロゲン作用の影響を子宮肥大の程度によって検討した (鈴木)。スペインのバルセロナで開かれた 22th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and Persistent Organic Pollutants (POPs) : Dioxin' 2002 における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集した (広瀬)。最近の国際機関や各国政府機関で行われていたダイオキシン類の健康リスク評価の状況をうけて、国際食品規格委員会の食品添加物汚染物質部会 (CCFAC) で討議されてきているダイオキシンの Position paper の現

状について調査した（井上）。

C. D. 研究結果と考察

【奇形発生】

各種ダイオキシン類の C57BL/6 マウスにおける口蓋裂の最小発生量を求め、TEF の決定に役立つ生物学的指標の確立を目指すとともに、TCDD による口蓋裂誘導に関与する影響を遺伝子レベルで明らかにするため、以下の実験を行った。C57BL/6 の妊娠マウス（妊娠 12.5 日）に 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PCDD、1,2,3,7,8-PCDF、2,3,4,7,8-PCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD あるいは、2,3,7,8-TCDF をそれぞれ、単回経口投与し、口蓋裂発生用量と WHO TEF 値を比較し、口蓋裂発生用量と TEF 値の相関性に関する検討を行った。その結果、比較的良い相関性が得られた。また、TCDD の分子レベルでの影響を明らかにするため、口蓋裂発生部位の上顎部において TCDD により変動する遺伝子をマイクロアレイ解析により調べた。実験は、C57BL/6 の妊娠マウス（妊娠 12.5 日）に 20ug/kg 体重の 2,3,7,8-TCDD を単回経口投与し、投与 48 時間後に胎児を採取し、約 12000 遺伝子を検索出来る Affymetrix 社の GeneChip を用いたマイクロアレイにより、上顎部位で変化する遺伝子の網羅的スクリーニングを行った。12000 遺伝子のうち、約 20 遺伝子が 2 倍以上増加した。これらの遺伝子の変化を、さらに定量 PCR 法にて確認し、発現の変化を定量化した。最も変動したのは薬物代謝酵素でダイオキシンにより誘導されることが知られている CYP1a1 であり、10 倍以上の顕著な増加が認められた。その

他の変化で特徴的であったのはケラチン遺伝子及び扁平上皮のマーカーである sprr1b の増加であり、表皮における扁平上皮化の亢進が上顎部で起こっていることが示唆された。遺伝子産物の上顎部での局在性については今後検討していく予定である（江馬、高木）。胎生期暴露がヒトの中樞神経系の発達に悪影響を及ぼしているか否か検討するため、妊娠 20 日から生後 90 日まで、母体にダイオキシン 30 ng/kg または 300 ng/kg の体内負荷をかけたアカゲザル母体の児について、知能試験（4 段指迷路試験）、社会性行動試験（新奇出会わせ試験）、警戒行動試験（アイコンタクト試験）を行った。知能試験、アイコンタクト試験では各群間に差は認められなかったが、出会わせ試験では高用量群で環境への興味を示している傾向が見られた（安田）。胎生期暴露影響の基礎研究として胚性幹細胞（ES 細胞）に対するダイオキシン影響の数量的解析を進めるため、ES 細胞を LIF が存在する ES 培地で、TCDD を最終濃度 10nM で添加し、4 日後にマイクロアレイ解析を行ったところ、TCDD の標的遺伝子として良く知られている CYP1A1、CYP1B1 の顕著な増加が認められた。この内、PCR により CYP1A1 の増加が確認され、未分化 ES 細胞が TCDD に対してよく反応することが示唆された（高木）。

【発がん】

ダイオキシン発がんの分子メカニズムのうち、そのエピジェネティック発がんに関与した遺伝子の解明を細胞反応アレイ研究との結合を含め検討した。TCDD、TCDF をはじめとする 11 種のダイオキシン

類をがん細胞パネルで評価した結果、これらはおしなべて増殖阻害効果が弱いあるいはほとんどなかったが、唯一 TCDF のみが有意な細胞増殖阻害を示し、その阻害パターンは種々の抗がん剤、阻害剤とは異なる特有の様相を呈した。わずかな構造上の違いが大きな増殖阻害能の違いを生じること、ならびに TCDF に対し高感受性と抵抗性のがん細胞のあることが明らかとなった。DNA チップによる解析では、TCDF 感受性の OVCAR-4 細胞では、TCDD では発現されず TCDF により発現が誘導される遺伝子群が見られた (矢守)。さらに、TCDD の肝発がんプロモーター作用を検討するため、p53 ヘテロ欠失マウスを用いた二段階発がん性試験を行い、途中死亡動物において、発がん標的臓器の肝臓のサンプリングを実施した。また、TG/AC マウスと AhR 欠損マウスの交雑種の作製を継続して実施した。マイクロアレイ解析の定量的測定手法を開発するとともに、これを用いた、培養細胞に対する TCDF と TCDF の影響解析を開始した (菅野)。

【障害性発現機構】

AhR の作用メカニズムや標的遺伝子等を明らかにして、ダイオキシンやその他の多環性芳香族化合物の生体に対する作用を明らかにすると共に、AhR の本来の発生、生殖における役割を明らかにすることを目的に解析を行った。その結果、XRE 配列の他に AhR/Arnt の結合配列 XREII を発見し、これに直接結合する LBP-1 の存在を示し、AhR/Arnt は LBP-1 に結合して共転写因子として働くことを明らかにした。エストロゲン受容体 (ER) にも結合して ERE を介して ER 標的遺伝子の転写活性化

することを明らかにした。AhR/Arnt の標的遺伝子の一つ AhR 抑制因子 (AhRR) の遺伝子発現機構を明らかにした (藤井)。また、AhR シグナル伝達系の活性化により、成長ホルモン (GH)-STAT5 および PPAR α シグナル伝達系により活性化される遺伝子群の発現が低下することを明らかにした。これらの機構は、ダイオキシン類による成長遅延や脂肪肝などの原因となることが示唆された (鎌滝)。

【TEF 技術評価】

TEF の陽性対照物質である TCDD について、既報の誘起排卵数ならびに卵巣重量の減少というダイオキシン類の雌性生殖に及ぼす影響を、TCDD の動態および既知の標的器官である胸腺および肝臓の重量変化を調べた結果、肝臓および胸腺重量はそれらの組織中 TCDD の動態に伴って変化し、投与後 96 時間には有意な相関 (胸腺、 $p=0.001$; 肝臓、 $p=0.02$) が認められたが、排卵数および卵巣重量は、排卵検査時まで血漿中に TCDD が検出された用量においても影響が認められなかった (松木)。TCDD および HxCDD の相対力価を求めるために、卵巣摘出したウイスターイマミチラット近交系の雌に、エストラジオール (E2) の 0, 0.5, 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とダイオキシンの存在、不在下で子宮重量増加反応を調べ、生物学的作用の大きさを比較した。TCDD については 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、HxCDD については既存の TEF に鑑み 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 1 回経口投与した。TCDD については E2 による子宮重量増加に対しその効果を抑制する作用が認められたが、HxCDD については、E2 の子宮重量増加作用に何らの修飾もしなかった。肝臓重量に対する影響も 2

種のダイオキシンで微妙にことなっていた。これらのことは、この 2 種のダイオキシンが子宮重量増加に関して必ずしも同一の機序で作用しているわけではないことを示唆しており、従来定説となっていた致死作用をもとにした TEF の決定法には問題があることを示している。今後 Hershberger 試験を実施してアンドロゲン系の作用との相互作用を検討する必要がある（鈴木）。

【リスクコミュニケーション・調査】

海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集するため、平成 14 年度にスペインで開かれたダイオキシン国際シンポジウムに参加し、ダイオキシン類による内分泌かく乱作用のメカニズムに関する新知見や EPA で行われたリスクアセスメント手法及び TEF アプローチによる PCB 類との複合作用に関する検討に関して、情報収集を行った（広瀬）。ダイオキシンの人影響に対する TEF を含めた当班における総合的な成果を、その意義が正しく伝達されるべく website などの適切な媒体を用いて広報するため、最近の国際機関や各国政府機関で行われていたダイオキシン類の健康リスク評価の状況を調査し、規制当局としてダイオキシン類の健康リスクをどのように扱っているかについての現状把握を行った（井上）。

以上、口蓋裂発生量は TEF と比較的良好に相関することが示された。さらに、TCDD は顔面前部の特定遺伝子の発現に影響することが明らかになり、ダイオキシンの奇形発生の機序解明に結びつく端緒が得

られた。アカゲザルの児の発生・発育・行動に影響を及ぼす体内負荷量が設定され今後の実験の基盤を樹立できた。ガン細胞パネルを用いて TCDD、TCDF をはじめとする 11 種のダイオキシン類をガン細胞パネルで評価した結果 TCDF のみが有意の細胞増殖阻害を示し、その阻害パターン（Finger Print）は固有の様相を呈した。この結果、構造活性相関、ならびに TCDF に対する感受性の違いを説明しうる分子メカニズムの解明は、ダイオキシン類の毒性機構を理解する上で重要と考えられる。AhR の作用メカニズムや標的遺伝子等の解析では、XRE 配列の他に AhR/Arnt の結合配列 XREII を発見し、これに直接結合する LBP-1 の存在を示し、AhR/Arnt は LBP-1 に結合して共役転写因子として働くことを明らかにした。AhR とエストロゲン受容体 (ER) のクロストークという極めて重要な知見が得られた。また、AhR 抑制因子 (AhRR) の遺伝子発現機構を明らかにすることが出来た。また、AhR シグナル伝達系の活性化により、成長ホルモン (GH)-STAT5 および PPAR α シグナル伝達系により活性化される遺伝子群の発現が低下することを明らかになり、これらがダイオキシン類による成長遅延や脂肪肝などの原因となることが示唆された。ダイオキシンの生殖系に与える影響についても実験が順調に推移した。

E. 結論

口蓋裂発生量は WHO TEF と比較的良好に相関することが示された。さらに、TCDD は顔面前部の特定遺伝子の発現に影響することが明らかになった。TCDD 30 または

300 ng/kg の母体体内負荷に妊娠 20 日から生後 90 日まで暴露されたアカゲザル児の認知・行動評価では、発育個体の社会性に影響がある可能性が示唆されたが、児の知能や警戒心に悪影響を与えないことが示された。TCDD は未分化 ES 細胞培養系において、薬物代謝酵素の CYP1A1 の発現を強く誘導した。このことから未分化 ES 細胞が、ダイオキシンの影響を調べる良い系であることが期待された。TCDD、TCDFをはじめとする 11 種のダイオキシン類をガン細胞パネルで評価した結果、TCDF のみが顕著な細胞増殖阻害効果を示すという際だった特徴を示すことがわかった。TCDF により増殖阻害を受ける細胞では、TCDF によって誘導される遺伝子群がみられた。これらのことから、ガン細胞パネルは少なくとも TCDF の毒性機構を解析するモデルとして有用である。In vivo のプロモーター試験については実験の大部分が終了した。In vitro 系ではヒトガン細胞パネルにおける遺伝子発現プロファイルおよび細胞増殖促進・抑制効果との対比を開始し、データの蓄積を行った。ダイオキシンや 3MC のエストロゲン様作用発現のメカニズムが明らかになった。また、AhR/Arnt による遺伝子発現のメカニズムに XRE を介さない新しいメカニズムもあることが示された。これらはいずれも AhR/Arnt が直接 DNA に結合しない Coactivator 的に働くものであった。AHR の新規な標的遺伝子として、PPAR α の標的遺伝子群を同定した。AHR は、PPAR α とヘテロダイマーを形成する RXR α の発現低下を介して PPAR α シグナル伝達系を抑制した。この抑制は、AH による脂肪肝などの毒性

発現に関与することが示唆された。肝臓および胸腺重量には、TCDD の用量あるいは組織中濃度に依存した変化が認められたにもかかわらず、誘起排卵および卵巣重量に対する影響は確認できなかった。また、AhR に対して TCDD と同等の結合親和性を有する indigo には、TCDD 投与によって認められた肝臓あるいは胸腺重量に対する影響は認められなかった。これらのことから、ダイオキシン類の TEF 検証において肝臓および胸腺重量は有効な指標であると結論された。HxCDD は WHO TEF に基づいて 10 倍高い用量が選ばれたが、TCDD と同等の影響は観察されず、致死作用に基づく TEF が必ずしも、その他の生理作用（毒性を含む）に当てはまらないと考えられた。

以上、本研究班における研究の進展の結果、これまで全く説明することの困難であったダイオキシンの生体影響本体の解明に近づきつつある。他方、解明される分子種を TEF 設定することにより、より現実的なリスクアセスメントに寄与することが期待された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

Ema, M. and Miyawaki, E. (2002) Suppression of uterine deciduarization correlated with reduction in serum progesterone levels as a cause of preimplantation embryonic loss induced by diphenyltin in rats. *Reprod.*

10
Toxicol., 16, 309-317.

Ema, M. and Miyawaki, E. (2002)
Adverse effects on development of the
reproductive system in male offspring
of rats given butyl benzylphthalate
during late pregnancy. *Reprod.*
Toxicol., 16, 71-76.

広瀬明彦、西川秋佳、江馬 眞、紅林
秀雄、山田雅巳、長谷川隆一 (2002). メ
チル-tert-ブチルエーテル (MTBE) の
毒性情報、水環境学会誌、25, 491-496.

小泉睦子、大野泰雄、広瀬雅雄、江馬 眞、
広瀬明彦、井上 達、長谷川隆一 (2002)
DINP の毒性評価と耐容1日摂取量の算
定、日本食品化学会雑誌 9, 39-45.

江馬 眞、峯島 浩 (2001) 第5節 生
殖発生毒性試験、非臨床試験マニユア
ル (野村 護、堀井郁夫、吉田武美 編)、
エル・アイ・シー、東京

広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林
秀雄、江馬 眞、安藤正典、黒川雄二、
長谷川隆一 (2001). 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評価、水環境学
会誌、24, 308-316.

Ema, M., Fujii, S., Furukawa, M., Ikka,
T. and Harazono, A. (2001) Rattwo-
generation reproductive study of
bisphenol A. *Reprod Toxicol.*, 15,
505-523.

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

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

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

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

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

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.

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
ステルの生殖・発生無毒性量、精巢毒
性の週齢差、種差および DEHP の1日耐
用摂取量、日本食品化学会雑誌 8, 1-8.

Ema, M. and Miyawaki, E. (2000)
Adverse effects of dibutyltin
dichloride on initiation and
maintenance of rat pregnancy. *Reprod.
Toxicol.* 14, 451-456.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima,
K. (2000). Effects of
dibutylphthalate on reproductive
function in pregnant and
pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.*
14, 13-19.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima,
K. (2000). Critical period for
adverse effects on development of
reproductive system in male offspring
of rats given di-n-butyl phthalate
during late pregnancy. *Toxicol. Lett.*
111, 271-278.

Harazono, A. and Ema, M. (2000)
Suppression of decidual cell response
induced by tributyltin chloride in
pseudopregnant rats: as a cause of
early embryonic loss. *Arch. Toxicol.*,

74, 632-637.

Ema, M. and Harazono A. (2000)
Developmental and reproductive
toxicity of tributyltin and its
metabolite, dibutyltin, in rats.
Cong. Anom. 40, S108-S120.

Ema, M. (2000). Reproductive and
developmental toxicity of
triphenyltin chloride in rats. *Cong.
Anom.*, 40, 8-13.

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 及び Di-n-butyl
phthalate について 日本食品化学会雑
誌 7, 65-71.

江馬 眞、原園 景、宮脇英美子、川
島邦夫 (2000). ラット脱落膜反応を
用いた発生毒性に関する組織器官レベ
ルでの検出システムの開発、衛研報告
118, 175-177.

2. 学会発表

江馬 眞 (2002) 内分泌かく乱化学物質
問題の現状と将来、第 23 回 In vitro 発
生毒性研究会

江馬 眞、宮脇英美子 (2002) 偽妊娠ラ
ットの子宮脱落膜反応に及ぼすジフェニ

ルスズの影響、第 42 回日本先天異常学会
(Cong. Anom., 42, 272-273, 2002)

江馬 眞 (2002) ジブチルフタレート及び代謝物モノブチルフタレートの抗アンドロゲン作用、第 42 回日本先天異常学会シンポジウム (Cong. Anom., 42, 234, 2002)

江馬 眞、宮脇英美子、原園 景 (2002) 可塑剤 butyl benzyl phthalate のラット雄胎児における生殖系発生に及ぼす機能影響、第 29 回日本トキシコロジー学会

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

(2002)、エルカトニン製剤の含有評価における問題、第 38 回全国衛生化学技術協議会

Ema, M. and Miyawaki, E. (2001) Roles of progesterone on suppression of uterine decidualization and implantation failure induced by diphenyltin dichloride (DPTCl) in rats. Society of Toxicology, 41th Annual Meeting (The Toxicologist, 66 (1S), 235, 2002)

Ema, M. and Miyawaki, E. (2002) Effects of progesterone on suppression of uterine decidualization and implantation failure induced by diphenyltin dichloride in rats. EUROTOX 2001

江馬 眞、宮脇英美子 (2001) ラットにおける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 41 回日本先天異常学会 (Cong. Anom., 41, 266, 2001)

江馬 眞 (2001) フタル酸エステル雄性性分化に及ぼす影響、第 7 回内分泌攪乱化学物質学会講演会

広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林秀雄、江馬 眞、黒川雄二、長谷川隆一 (2001) 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リスクアセスメント、第 28 回日本トキシコロジー学会

江馬 眞、宮脇英美子 (2001) モノブチルフタレート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 28 回日本トキシコロジー学会

Ema, M. and Miyawaki, E. (2000) Decreased anogenital distance (AGD) and undescended testes in fetuses of rats given monobutyl phthalate (MBP) during pregnancy. Society of Toxicology, 40th Annual Meeting (The Toxicologist, 60 (1), 216-217, 2001)

関沢 純、江馬 眞 (2000) 環境ホルモン物質としてのリスク評価の検討、第 3 回内分泌攪乱化学物質学会

江馬 眞 (2000) ビスフェノール A のラットにおける 2 世代繁殖試験、第 3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シン

ポジウム

江馬 眞 (2000) ビスフェノール A のラットにおける 2 世代繁殖試験、第 3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム

江馬 眞 (2000) ラットにおけるトリフェニルスズの早期胚致死作用、第 130 回日本獣医学会ワークショップ

Ema, M. (2000) Developmental and reproductive toxicity of tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats. 6th Scientific Meeting of the International Federation of Teratology Society, Satellite Meeting (Cong. Anom., 40, 221, 2000)

Ema, M. (2000) Two-generation reproduction study of bisphenol A in rats.

Endocrine Disruptor Low Dose Peer Review, EPA, NIEHS, NIH NTP.

江馬 眞、宮脇英美子 (2000) ジブチルフタレート of ラットにおける雄胎児の性分化に及ぼす影響、第 40 回日本先天異常学会 (Cong. Anom., 40, 196, 2000)

江馬 眞、原園 景 (2000) ラットの妊娠初期に投与した dibutyltin dichloride の胚致死作用、第 27 回日本トキシコロジー学会

Ema, M., Harazono, A. and Kawashima, K. (2000) Early embryonic loss induced by dibutyltin dichloride (DBTCl) in rats. Society of Toxicology, 39th Annual Meeting (The Toxicologist, 54 (1), 291, 2000)

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

奇形発生と TEF

国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 江馬眞
国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 高木篤也

研究要旨

TEF の決定に役立つ生物学的指標の確立を目指し、PCDD、HCDD、TCDF、PCDF 等各種ダイオキシン類を C57BL/6 妊娠マウスに投与し、口蓋裂発生用量を求めた。ダイオキシンによる口蓋裂発生機序を明らかにするため、標的部位の上顎での遺伝子発現の変化をマイクロアレイを用いて、解析した結果、薬物代謝酵素 CYP1A1 の増加、扁平上皮化に関連するケラチンや SPRR1b 遺伝子の増加を認めた。また、口蓋裂を抑制する物質をスクリーニングした結果、DMSO が TCDD による口蓋裂を抑制することを明らかにした。

A. 研究目的

TCDD による口蓋裂発生機序を明らかにすること及び TEF の決定に役立つ生物学的指標（遺伝子発現）を確立することを目的とした。

重)を単回経口投与し、投与 24 及び 48 日後に dimethyl sulfoxide(DMSO)、dimethyl thiourea(DMTU)、L-methionine、Wy-14,643 あるいは aspirin をそれぞれ、経口あるいは腹腔内投与し、TCDD による口蓋裂発生への影響を調べた。

B. 方法 :

実験 1. C57BL/6 の妊娠マウス（妊娠 12.5 日）に 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PCDD、1,2,3,7,8-PCDF、2,3,4,7,8-PCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD あるいは、2,3,7,8-TCDF の 7 化合物をそれぞれ、単回経口投与し、口蓋裂発生用量と TEF 値を比較し、口蓋裂発生用量と TEF 値の相関性に関する検討を行った。

実験 2. C57BL/6 の妊娠マウス（妊娠 12.5 日）に 20ug/kg 体重の 2,3,7,8-TCDD を単回経口投与し、投与 48 時間後に胎児を採取し、上顎部位で変化する遺伝子を約 12000 遺伝子を検索出来る Affymetrix 社の gene chip を用いて検索した。

実験 3. C57BL/6 の妊娠マウス（妊娠 12.5 日）に 2,3,7,8-TCDD (10ug/kg 体

C. 研究結果

1. 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,7,8-PCDD、1,2,3,7,8-PCDF、2,3,4,7,8-PCDF、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD 及び、2,3,7,8-TCDF の 7 化合物をそれぞれ投与したマウス胎児での口蓋裂発生の用量—反応曲線が得られた。このデータをプロビット変換後、口蓋裂発生の ED50（半数有効用量、この場合半数誘発量）を算出し、2,3,7,8-TCDD を 1 とした場合の REP（relative potency; 相対効力）を求めた。その結果、これらのダイオキシン類の内、口蓋裂発生の REP と TEF 値との間で最大で約 1/2 桁（約 3 倍）程度のずれ（低い値）を示すものが見られたものの、大きく異なった値を示す検体は認められ

なかった。

2. 2,3,7,8-TCDD 投与マウス胎児の上顎部位を対象に変化する遺伝子をマイクロアレイ法で検索した。12000 遺伝子のうち、約 20 遺伝子が 2 倍以上増加した。これらの遺伝子の変化を、さらに Real-time 定量 PCR 法にて確認し、発現の変化を定量化した。最も変動したのは薬物代謝酵素でダイオキシンにより誘導されることが知られている CYP1A1 であり、10 倍以上の顕著な増加が認められた。その他の変化で特徴的であったのは複数のケラチン遺伝子及び扁平上皮のマーカーである *sprr1b* の増加が認められた。
3. Dimethyl sulfoxide (DMSO) はダイオキシン類はもとより種々の検体を溶かす溶媒として繁用されるが、それ自身に白血病細胞の分化誘導などの生物学的活性がある。したがって、ダイオキシンの実験系において DMSO が及ぼす影響を把握しておく必要がある。C57BL/6 の妊娠マウスに 2,3,7,8-TCDD を単回経口投与し、投与、24 及び 48 日後に dimethyl sulfoxide (DMSO) を経口投与し、TCDD による口蓋裂発生への影響を調べた結果、DMSO 投与で口蓋裂の発生率が有意に低下した。そこで、DMSO と類似構造を有し、DMSO と同じく dimethyl 基を有する dimethyl thiourea (DMTU) 並びにメチル基を有するアミノ酸の L-methionine を投与したが口蓋裂発生の抑制が見られなかった。その他、Wy-14,643 (脂肪細胞の分化に関してダイオキシンの作用に拮抗的に働く) あるいはある種の薬物による口蓋裂発生を抑制することが知られている aspirin ではではダイオキシンによる口蓋裂発生の抑制作用は見られなかった。

D. 考察

7 種のダイオキシン類の胎児口蓋裂発生 ED50 を基に REP を算出し、相対効力を比較した結果、WHO の TEF と大きく異なるものは見られず、比較的良く相関することが示された。ダイオキシン投与マウス胎児上顎で最も増加したのはダイオキシンで増加することが知られている薬物代謝酵素の CYP1A1 であった。その他の変化で特徴的であったのは複数のケラチン遺伝子及び扁平上皮のマーカーである *sprr1b* の増加であった。*Sprr1b* 遺伝子は扁平上皮の分化に伴い発現することが知られている。よって、この部位の組織で扁平上皮化が亢進していることが示唆された。*Sprr1b* の増加と口蓋裂発生との因果関係は現時点では分からないが、口蓋発生過程では上皮・間充織の相互作用が重要であり、口蓋上皮の異常な分化誘導が何らかの影響を及ぼす可能性を考えるとさらに検討する余地は残されている。DMSO により口蓋裂が抑制されることが明らかになった。抗酸化物質としての類似物質である DMTU 投与ではその作用は見られなかったことから、DMSO のもつ抗酸化作用以外の作用が口蓋裂抑制に働いていることが示唆された。また、このことからダイオキシンを用いた実験で DMSO を用いる際には、ダイオキシンの作用に対する DMSO の影響の有無を把握しておくことが重要であると思われる。

E. 結論

TCDD は胎児上顎において扁平上皮化に関連する遺伝発現を誘導した。また、DMSO は TCDD による口蓋裂発生を抑制するが、その抗酸化作用による可能性は低いと思われた。

F. 健康危惧情報

なし。

G.研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

高木篤也、胚幹細胞を用いた検討、井上達監修、内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法、シュプリンガーフェアラーク社、東京、2000年、pp143-149。

2) 雑誌

Emm, M. and Miyawaki, E. (2002) Suppression of uterine decidualization correlated with reduction in serum progesterone levels as a cause of preimplantation embryonic loss induced by diphenyltin in rats. *Reprod. Toxicol.*, 16, 309-317.

Emm, M. and Miyawaki, E. (2002) Adverse effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzylphthalate during late pregnancy. *Reprod. Toxicol.*, 16, 71-76.

広瀬明彦、西川秋佳、江馬 眞、紅林秀雄、山田雅巳、長谷川隆一 (2002). メチル-tert-ブチルエーテル (MTBE) の毒性情報、水環境学会誌、25, 491-496.

小泉睦子、大野泰雄、広瀬雅雄、江馬 眞、広瀬明彦、井上 達、長谷川隆一 (2002) DINP の毒性評価と耐容1日摂取量の算定、日本食品化学会雑誌 9, 39-45.

江馬 眞、峯島 浩 (2001) 第5節 生殖発生毒性試験、非臨床試験マニュアル (野村 護、堀井郁夫、吉田武美 編)、エル・アイ・シー、東京

広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林秀雄、江馬 眞、安藤正典、黒川雄二、長谷川隆一 (2001). 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評価、水環境学会誌、24, 308-316.

Emm, M., Fujii, S., Furukawa, M., Ikka, T. and Harazono, A. (2001) Rattwo-generation reproductive study of bisphenol A. *Reprod Toxicol.*, 15, 505-523.

Emm, M. and Miyawaki, E. (2001) Effects of nomobutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.*, 15, 261-267.

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

Emm, M. and Harazono, A. (2001) Toxic effects of butyltin trichloride during

early pregnancy in rats. *Toxicol. Lett.*, 125, 99-106.

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

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

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.

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、*日本食品化学会雑誌* 8, 1-8.

Ema, M. and Miyawaki, E. (2000) Adverse effects of dibutyltin dichloride on initiation and maintenance of rat pregnancy. *Reprod. Toxicol.* 14, 451-456.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima,

K. (2000). Effects of dibutylphthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. *Reprod. Toxicol.* 14, 13-19.

Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K. (2000). Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-n-butyl phthalate during late pregnancy. *Toxicol. Lett.* 111, 271-278.

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

Ema, M. and Harazono A. (2000) Developmental and reproductive toxicity of tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats. *Cong. Anom.* 40, S108-S120.

Ema, M. (2000). Reproductive and developmental toxicity of triphenyltin chloride in rats. *Cong. Anom.*, 40, 8-13.

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 及び Di-n-butyl phthalate について *日本食品*

of progesterone on suppression
of uterine decidualization and
implantation failure induced by
diphenyltin dichloride in rats. *EUROTOX*
2001

江馬 眞、宮脇英美子 (2001) ラット
における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 41 回日
本先天異常学会 (Cong. Anom., 41, 266,
2001)

江馬 眞 (2001) フタル酸エステルの
雄性性分化に及ぼす影響、第 7 回内分
泌攪乱化学物質学会講演会

広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林
秀雄、江馬 眞、黒川雄二、長谷川隆
一 (2001) 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
おけるリスクアセスメント、第 28 回
日本トキシコロジー学会

江馬 眞、宮脇英美子 (2001) モノブ
チルフタレート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
28 回日本トキシコロジー学会

Ema, M. and Miyawaki, E. (2000)
Decreased anogenital distance (AGD) and
undescended testes in fetuses of rats given
monobutyl phthalate (MBP) during
pregnancy. *Society of Toxicology, 40th
Annual Meeting (The Toxicologist, 60 (1),
216-217, 2001)*

関沢 純、江馬 眞 (2000) 環境ホル
モン物質としてのリスク評価の検討、
第 3 回内分泌攪乱化学物質学会

江馬 眞 (2000) ビスフェノール A
のラットにおける 2 世代繁殖試験、第
3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する
国際シンポジウム

江馬 眞 (2000) ビスフェノール A
のラットにおける 2 世代繁殖試験、第
3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する
国際シンポジウム

江馬 眞 (2000) ラットにおけるトリ
フェニルスズの早期胚致死作用、第 130
回日本獣医学会ワークショップ

Ema, M. (2000) *Developmental and
reproductive toxicity of tributyltin
and its metabolite, dibutyltin, in rats. 6th
Scientific Meeting of the International
Federation of Teratology Society, Satellite
Meeting (Cong. Anom., 40, 221, 2000)*

Ema, M. (2000) *Two-generation
reproduction study of bisphenol A in rats.
Endocrine Disruptor Low Dose Peer
Review, EPA, NIEHS, NIH NTP.*

江馬 眞、宮脇英美子 (2000) ジブチ
ルフタレートのラットにおける雄胎児
の性分化に及ぼす影響、第 40 回日本
先天異常学会 (Cong. Anom., 40, 196,
2000)