

堤 治 : Low dose effects をめぐって 12月18日 第3回日本環境ホルモン学会 横浜

堤 治 : 子宮内膜症の最近の話題- 環境ホルモンから GnRHa の新しい使い方まで- エンドメトリオーシス研究会 ランチョンセミナー 2001年1月19日 大阪

堤 治 : 内分泌攪乱物質 科学技術財団内分泌攪乱物質研究報告会 2001年1月25日 川口

堤 治 : 内分泌攪乱化学物質と生殖医療 科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業 (CREST) 内分泌かく乱物質公開シンポジウム 2001年2月6日 福岡

堤 治 : 環境ホルモンと人類の未来 江東・千葉西ブロック・江戸川区医師会産婦人科医会合同卒後研修会 2001年2月14日 東京

Osamu Tsutsumi : Endometriosis and Dioxins: What is the Connecton? U.S-Japan International Workshop for Endocrine Disrupting Chemicals 2001年3月1日 筑波

Osamu Tsutsumi : Effects of Endocrine disruptors on preimplantation embryo development. Recent Progress in Endocrine Disruptor Research March 5th 2001 Oksazaki 2001年3月5日 岡崎

堤 治 : 21世紀の婦人科腹腔鏡下手術-テレスার্ジャーリーの実技とその応用- 日本産科婦人科学会総会 2001年5月15日 札幌

堤 治 : 子宮内膜症 ネットカンファランス 2001年5月24日

堤 治 : 環境ホルモンと母性? 第回東京母性衛生学会総会 2001年6月3日 東京

堤 治 : 環境ホルモンと生殖 2001年6月9日 名古屋

堤 治 : 環境ホルモンと生殖 豊島区医師会 2001年6月20日 東京

堤 治 : 環境ホルモンと生殖医療 2001年7月8日 山形 (放送等)

堤 治 : まかせてエキスパ 子宮内膜症 2001年3月9日

堤 治 : 女性の病気 NHK 健康ホットライン 2000年4月

堤 治 : 女性の病気 NHK 健康ホットライン 2000年4月

堤 治 : 環境ホルモン テレビ朝日 東京サイト 2000年6月

堤 治 : 女性の病気 NHK 健康ホットライン 2000年8月

堤 治 : 女性の病気 NHK 健康ホットライン 2000年8月 (指導、監修)

レタスクリニック 子宮内膜症・前編 2000年1月25日号 14巻2号 p. 61

レタスクリニック 子宮内膜症・前編 2000年2月10日号 14巻3号 p. 88

高井泰, 堤 治, 生月弓子, 森田豊, 大須賀穰, 亀井良政, 藤原敏博, 百枝幹雄, 矢野哲, 武谷雄二: 内分泌攪乱物質ビスフェノールAがマウス初期胚の発生・発育・生殖能に及ぼす影響の検討. 第52回日本産科婦人科学会学術講演会. 2000年4月1日-4日 徳島

廣井久彦, 百枝幹雄, 黒澤貴子, 堤治, 武谷雄二; エストロゲン受容体 α および β を介した clomiphene citrate (CC) の作用の検討, 第52回日本産科婦人科学会, 2000年4月3日 徳島

黒澤貴子, 廣井久彦, 百枝幹雄, 堤治, 武谷雄二; 各種組織由来細胞株におけるビスフ

ェノールA(BPA)のエストロゲン agonist/antagonist 作用の比較、第52回日本産科婦人科学会、2000年4月4日 徳島

高井泰、宇田川義之、末永昭彦、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、海野信也、藤井知行、矢野哲、武谷雄二：卵巣過剰刺激症候群(OHSS)の3例。第99回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会。2000年6月10-11日 東京

高井泰、堤治、生月弓子、森田豊、大須賀穰、亀井良政、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、武谷雄二：内分泌攪乱物質ビスフェノールAがマウス初期胚の発生・発育・生殖能に及ぼす影響の検討。第73回日本内分泌学会学術総会。2000年6月16-18日 京都

小島俊行、堤治、吉田良一、吉田智子、川名尚：トキソプラズマIgM抗体陽性妊婦の前方視的研究と疫学的検討 第36回日本新生児学会 2000年7月

西井修、高井泰、関根祐子、木津純子、堤治：婦人科腹腔鏡下手術におけるクリニカルパス導入 内視鏡外科学会

小島俊行、古田隆久、石山巧、池田誠、高井泰、五十嵐敏雄、木戸道子、竹内亨、西井修、加藤賢朗、堤治：トキソプラズマIgM抗体陽性妊婦47例におけるIgG抗体のavidityの有用性に関する前方視的研究 第60回日本寄生虫学会東日本支部会 2000年10月21日

廣井久彦、花田信継、樽本祥子、瀧澤慎、福地秀行、所恭子、横田治重；当科における妊婦の肥満度と分娩予後についての検討、第100回日本産科婦人科学会関東連合地方部会、2000年10月22日 大宮

高井泰、西井修、吉田淳、辻内陽子、石山巧、五十嵐敏雄、木戸道子、竹内亨、小島俊行、加藤賢朗、堤治：婦人科腹腔鏡下手術のディサージェリー化に向けて。第23回日本産婦人科手術学会。2000年11月5日 札幌

廣井久彦、百枝幹雄、黒澤貴子、堤治、武谷雄二；clomiphene citrate(CC)のエストロゲン受容体 α 、 β を介した作用について、第45回日本不妊学会学術講演会、2000年11月23日 神戸

高井泰、五十嵐敏雄、末永昭彦、丸山正統、大須賀穰、藤原敏博、百枝幹雄、西井修、矢野哲、堤治、武谷雄二：重症卵巣過剰刺激症候群のamrinoneによる治療。第45回日本不妊学会。2000年11月23-24日 神戸

高井泰：内分泌攪乱物質と生殖。第5回東京生殖医療懇談会。2000年11月28日東京

高井泰、堤治、生月弓子、森田豊、大須賀穰、亀井良政、藤原敏博、百枝幹雄、矢野哲、武谷雄二：内分泌攪乱物質ビスフェノールA着床前被曝の胚発生及び出生後発育への影響。第3回日本内分泌攪乱物質学会。2000年12月15-16日 横浜

高井泰：生殖医学と内分泌攪乱物質。第5回日研シンポジウム。2001年2月10日 名古屋

三木明德、菊池昭彦、大須賀穰、藤井知行、堤治、武谷雄二：妊娠例における緊急時の対処 外科系連合学会 シンポジウム 2001年6月28日 東京

Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, Yano T, Taketani Y: Estrogen Receptor-mediated Effects of a Xenoestrogen, Bisphenol A, on Development of Preimplantation Mouse Embryos. 20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN2000. 2000年8月14-17日 Monterey, USA

G. 知的所有権の取得状況

3) その他

以上の研究発表は、厚生省（現厚生労働省）厚生科学研究費「ダイオキシン類の汚染状況及び子宮内膜症等健康影響に関する研究」を併用して得られた。

図1 ヒト卵胞液、精液、臍帯血より検出されたダイオキシン類の濃度

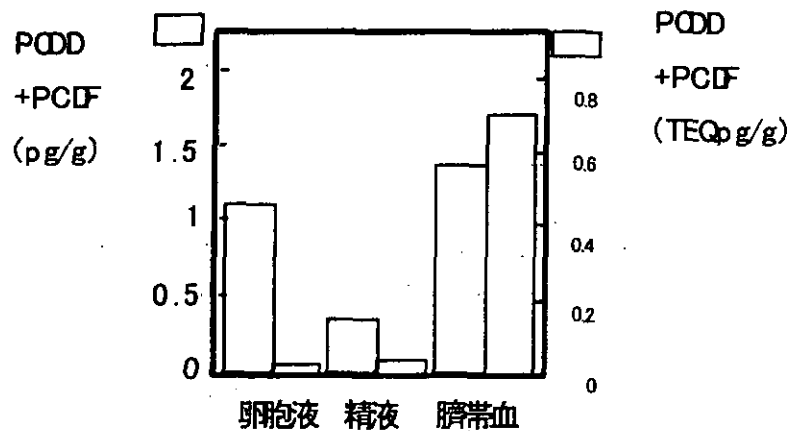


図2 男性不妊症患者における血中ダイオキシン類濃度

若年の乏精子症症例(*)で血中ダイオキシン類濃度が高い傾向がみられた。

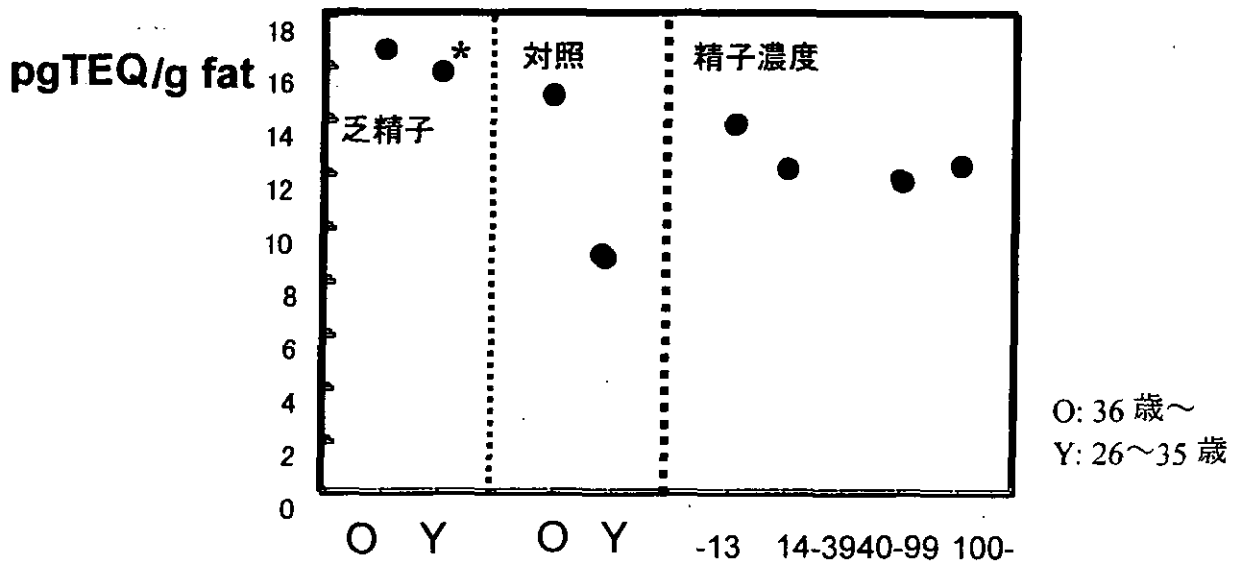


図3 ダイオキシン (TCDD) の初期胚発育に及ぼす影響

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)を添加して2細胞期胚を培養し、24時間後の8細胞期胚(○)および48時間後の胚盤胞(●)の割合をみた。また8細胞期胚の中で胚盤胞に発生したもの(□)の割合も算定した。* は対照に比べて $p < 0.05$ 。** は対照に比べて $p < 0.01$ 。

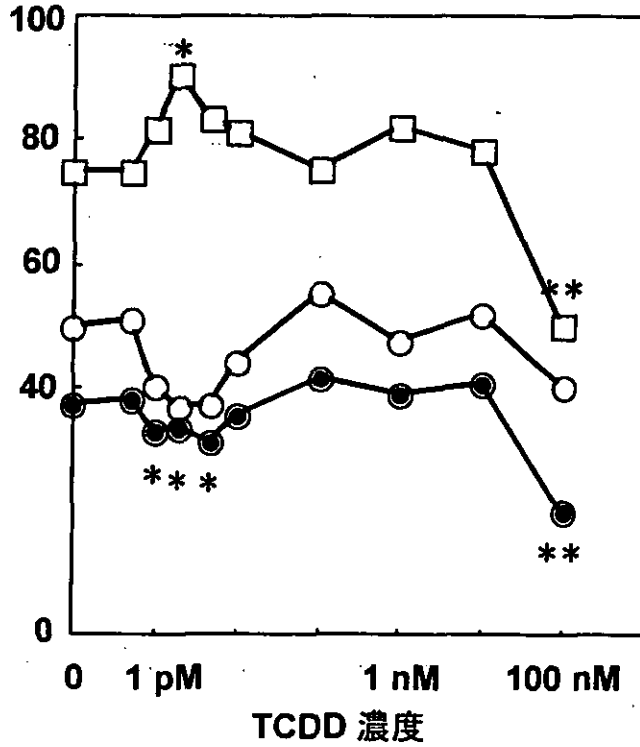


図4 ダイオキシン (TCDD) が胚盤胞の細胞数に及ぼす影響

マウス2細胞期胚をTCDD存在下に48時間培養して得られた胚盤胞を構成する細胞数を示す。* は対照に比べて $p < 0.01$ 。

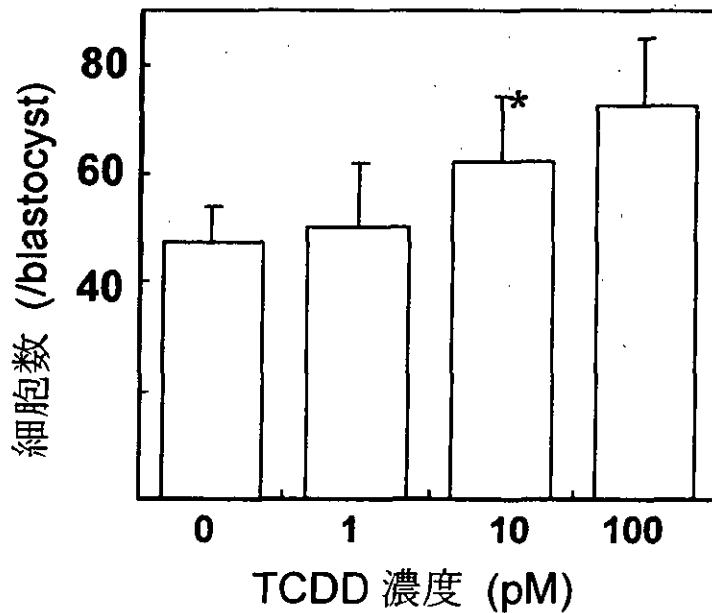
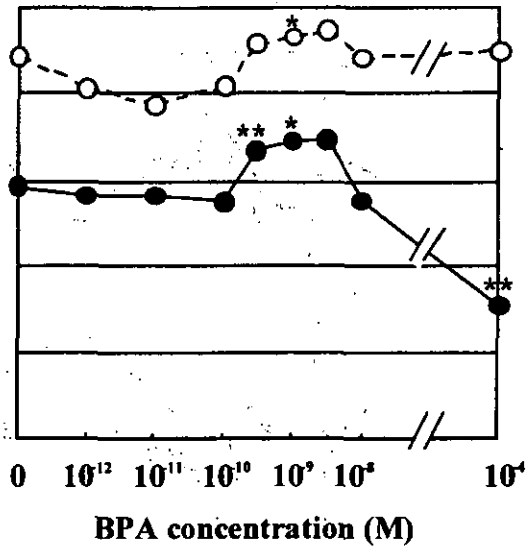


図5 ビスフェノールAが初期胚発育に及ぼす影響

○に8細胞期胚形成率を、●に胚盤胞形成率を示す。*および**はそれぞれ対照に比し

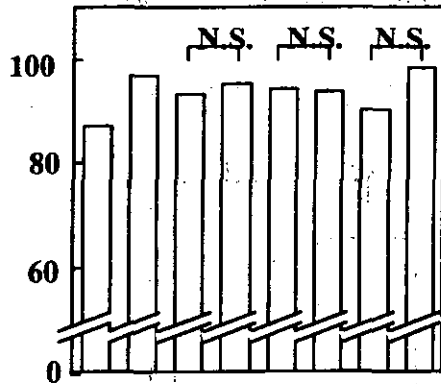


て $p < 0.05$ および $p < 0.01$ 。

図6 ビスフェノールAおよびER阻害剤 tamoxifen に曝露された初期胚の発育率

*は $P < 0.01$ 。

A. 8-cell



B. Blastocyst

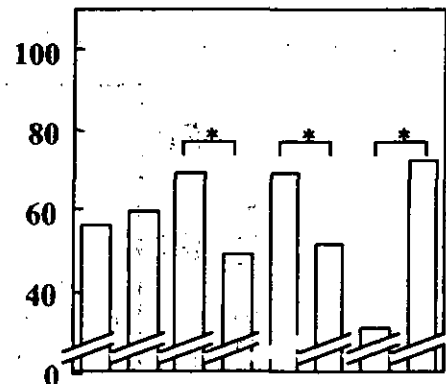


図7 ビスフェノールAに曝露された胚盤胞の **trophoblast spreading**

*は対照に比して $p < 0.05$ 。

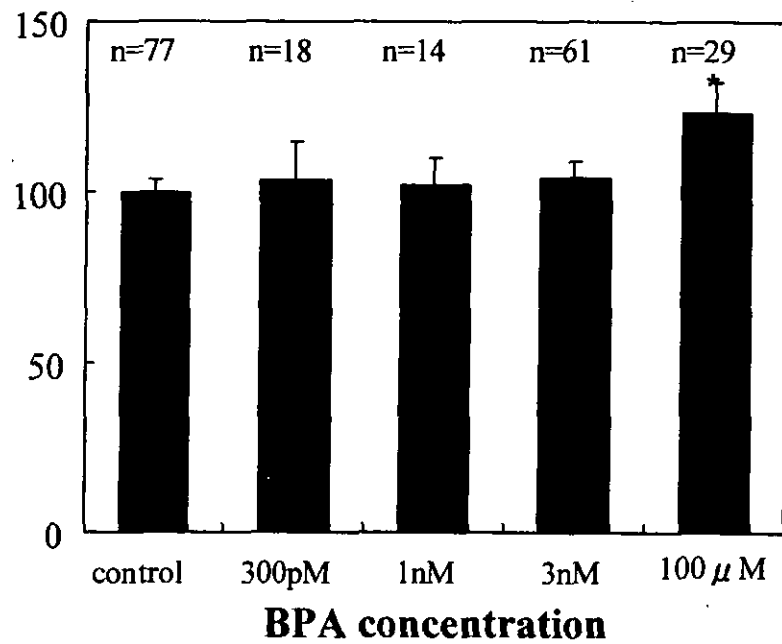
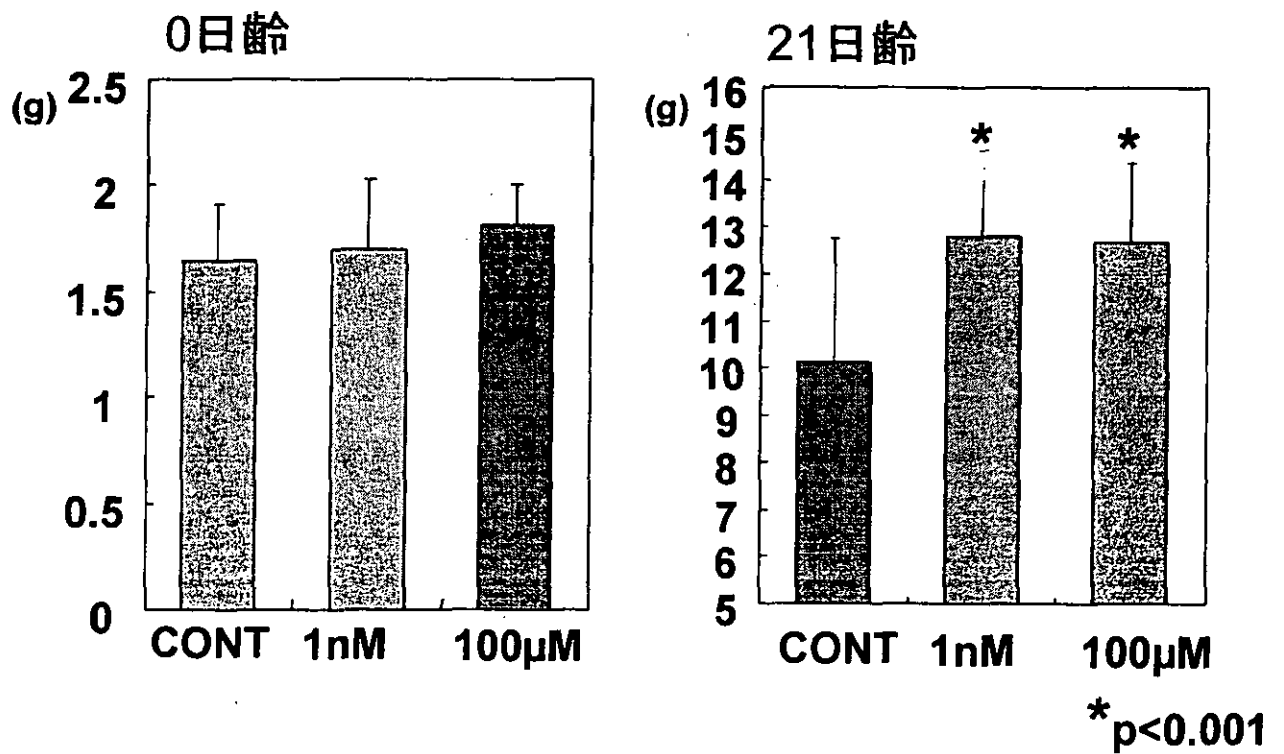


図8 BPA 着床前被曝を受けた初期胚から生まれた産仔の発育



人を中心とした次世代影響評価事例の収集と検討

研究者 安田 峯生 広島大学医学部

研究要旨：諸種データベースを検索し、人を中心とした化学物質の次世代影響評価事例を収集した。その中で、環境汚染物質ダイオキシンと抗てんかん薬フェニトインについてマウスを用いて実験的研究を行った。肝臓のキサンチン酸化酵素はダイオキシン投与により上昇するが、同様の反応がコバルト投与によっても誘発された。フェニトインを新生児マウスに投与して、その行動発達を観察したところ、人の臨床用量に相当する量で頭挙上などの行動発達遅延が誘発された。

A. 研究目的

諸種データベースを用いて人での次世代影響の懸念される物質を検索し、これらの中でとくに問題が大きいと思われる物質について、動物を用いて実験を行い、人での評価に資する。

B. 研究方法

MEDLINE, Teratogen Information System (TERIS), Shepard's Catalog of Teratogenic Agents, Schardein's Chemically Induced Birth Defects, 関連学会・研究会での報告等を材料に、問題となる化学物質を検索した。動物実験としては、マウスを用い、ダイオキシン(2,3,7,8-TCDD)による肝臓のキサンチン酸化酵素の誘導における *Ahr* 遺伝子型の影響と、コバルトによるキサンチン酸化酵素の誘導を調べた。また、人では妊娠後期に相当するマウスの新生児期に抗てんかん薬フェニトインを投与して、その児の行動を観察した。

C. 研究結果

データベース等の検索の結果、関澤によりリストアップされた物質のほか、妊娠中の抗リユーマチ薬 leflunomide やいわゆるハーブ (herbal medicine) の使用が米国などで社

会的関心を集めていることが判明した。

ダイオキシンについての実験では、肝臓のキサンチン酸化酵素誘導は AhR に依存することが明らかになった。また、キサンチン酸化酵素がコバルトの投与により誘導されることを見出した。

フェニトインについての実験では、人の臨床投与量に相当する血漿中濃度で、頭挙上などの原始的な行動の発達遅滞が認められた。しかし、この遅れは発育につれて減少した。

D. 考察

コンピュータによるデータ検索は、情報のスクリーニングには有効であるが、詳細な検討には学会等での情報交換が重要であることが感じられた。人での疫学的研究の発展が望まれる。

動物実験では人での暴露量に近い用量での実験が、人での影響評価には大切である。また、複数因子の相互作用についても検討する必要がある。

E. 結論

化学物質の次世代影響リスクの評価には、疫学調査とともに、メカニズム解明のための動物実験が重要である。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

人についてのデータの解析と、リスクの不確実性評価

研究者 浜田知久馬 京都大学

研究要旨：

化学物質の次世代への影響を評価するため、多くの動物を用いた実験、疫学研究が行われているが、一つの大きな問題点は、データはバラツキを伴い、複数の研究間で必ずしも、計量的に一致した結果が得られるとは限らない点である。また種間の外挿、同一種内でも感受性の異なる集団が存在する等の問題も存在する。したがって、結果を評価する際には、研究結果の不確実性を加味した上でのリスク評価が必要になる。このためには、データのバラツキ(精度)を考慮するため、適切な統計手法を用いて評価を行う必要がある。本研究では、このための統計学的方法論を確立するのを、最終的な研究目的として、初年度は文献を収集し、関連文献をレビューすることにより、現状の方法論とその問題点をまとめた。

A. 研究目的

近年、様々な化学物質の内分泌系における影響が社会的に重大な問題になってきており、環境中の化学物質の次世代へのリスクを定量的に評価するための方法論を早急に確立する必要がある。化学物質の次世代への影響を評価するため、多くの動物を用いた実験、疫学研究が行われているが、一つの大きな問題点は、複数の研究間で必ずしも、計量的に一致した結果が得られるとは限らない点である。また種間の外挿、同一種内でも感受性の異なる集団が存在する等の問題も存在する。したがって、結果を評価する際には、研究結果の不確実性を加味した上でのリスク評価が必要になる。本研究では、このための統計学的方法論を確立するのを目的としている。

B. 研究方法

既存の研究について文献調査を行い、以下の12報の論文をレビューし、リスク評価の方法論と問題点をまとめた。

Characterizing Dose - Response I: Critical Assessment of the Benchmark Dose Concept / James A. Murrell, Christopher J. Portier, and Richard W. Morris / Risk Analysis, Vol.18, No.1, 13-26, 1998

Estimation of Dietary Exposure to Chemicals: A Case Study Illustrating Methods of Distributional Analyses for Food Consumption Data / Jeffrey H. Driver, Michael E. Ginevan, and Gary K. Whitmyre / Risk Analysis, Vol.16, No.6, 763-771, 1996

Critical Effects and Exposure Limits / Sven Ove Hansson / Risk Analysis, Vol.17, No.2, 227-236, 1997

Calculation of Benchmark Doses from Continuous Data / Kenny S. Crump / Risk Analysis, Vol.15, No.1, 79-89, 1995

Confidence Limits for Hazardous Concentrations Based on Logistically Distributed NOEC Toxicity Data /

Tom Aldenberg and Wout Slob / ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY 25, 48-63, 1993

Benchmark Dose Workshop: Criteria for Use of a Benchmark Dose to Estimate a Reference Dose / Donald G. Barnes, George P. Daston, John S. Evans, Annie M. Jarabek, Robert J. Kavlock, Carole A. Kimmel, Colin Park, and Hugh L. Spitzer / REGULATORY TOXICOLOGY AND PAHRMACOLOGY 21, 296-306, 1995

Evaluation of Biologically Based Dose-Response Modeling for Development Toxicity: Ad Workshop Report / Christopher Lau, Melvin E. Anderson, Douglas J. Crawford-Brown, Robert J. Kavlock, Carole A. Kimmel, Thomas B. Knudsen, Ken Muneoka, John M. Rogers, R. Woodrow Setzer, Gary Smith, and Rochelle Tyl / REGULATORY TOXICOLOGY AND PAHRMACOLOGY 31, 190-199, 2000

Comments on "An Approach for Modeling Noncancer Dose Responses with an Emphasis on Uncertainty" and "A Probabilistic Framework for the Response Dose (Probabilistic RfD)" / Scott M. Bartell and Elaine M. Faustman / Risk Analysis, Vol.18, No.6, 663-664, 1998

Dose-Response Assessments for Developmental Toxicity, IV. Benchmark Doses for Fatal Weight Changes / Robert J. Kavlock, Bruce C. Allen, Elaine M. Faustman, and Carole A. Kimmel / FUNDAMENTAL AND APPLIED TOXICOLOGY 26, 211-222, 1995

Dose-Response Assessments for Developmental Toxicity, I. Characterization of Database and Determination of No Observed Adverse Effect Levels / Robert J. Kavlock, Bruce C. Allen, Elaine M. Faustman, and Carole A. Kimmel / FUNDAMENTAL AND APPLIED TOXICOLOGY 23, 478-486, 1994

A Probabilistic Approach for Deriving Acceptable Human Intake Limits and Human Health Risks from Toxicological Studies: General Framework / W. Slob and M.N. Pieters / Risk Analysis, Vol.18, No.6, 787-798, 1998

An Approach for Modeling Noncancer Dose Responses with an Emphasis on Uncertainty / Paul S. Price, Russell E. Keenan, Jeffrey C. Swartout, Carol A. Gillis, Heather Carlson-Lynch, and Michael L. Dourson / Risk Analysis, Vol.17, No.4, 427-437 1997

C. 研究結果

RfD(Reference Dose)は、化学物質のリスクを評価するための標準的な指標である。母集団に対する用量反応関係に閾値があることを前提にし、研究結果の不確実性を考慮して有害な効果が起こらない最低の用量として、RfDは定義される。RfDは通常次のように計算される。

$$RfD = NOAEL / \Pi UF_i$$

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level

ある化合物について報告された研究の中で、統計学的に有意な有害効果を認めない最大の用量

UF_i : Uncertainly Factors(不確実性要因)

RfDを推定するには次のような不確実性要因を考慮する必要がある。

不確実性要因	用いた指標
データベース(UF _D)	複数の実験の中で最小のNOAEL
単独の研究(UF _L)	1つの研究のみで計算されたNOAEL

亜慢性(UF _s)	亜慢性試験から推定された NOAEL
種間(UF _A)	ある動物種から計算された NOAEL
種内(UF _H)	典型的な一般人間集団から求められた NOAEL を、 感受性の高い集団に外挿する場合

例えば、質の高い慢性毒性試験の結果得られた NOAEL_a から RfD は次のように計算される。

$$RfD = NOAEL_a / UF_H / UF_A$$

また、典型的な健常人を用いた疫学研究の結果から得られた NOAEL_{he} からは RfD は、次のように計算される。

$$RfD = NOAEL_{he} / UF_H$$

実際には、不確実性要因自体もばらつきをとまなうと考えられ、そのばらつきをモンテカルロシミュレーションによって考慮した方法や、用量反応関係にロジスティック、ワイブル曲線等の特定の形状を仮定したモデルも提案されている。また NOAEL は研究に用いた例数依存的な指標であるとの批判もあり、代わって BMD(benchmark dose: ある反応が得られる用量の点推定値または信頼下限)を利用する等の提案もある。

D. 考察

NOAEL と BMD の長所、短所を比較した結果を、表 1 にまとめた。

NOAEL は、実験で選択した用量に依存した指標であり、また、サンプルサイズが減少すると、統計的な有意差が出にくくなるため、高用量にシフトする例数依存的な指標である。また用量反応曲線全体の情報を利用してないという問題点も指摘されている。これに対し、BMD は、選択用量依存性や例数依存性はないが、問題とする反応レベル(BMR: benchmark response level)を特定する必要があり、また用量反応曲線のモデルを仮定しなければならない。このために様々な用量反応曲線のモデルが論文では提案されている。BMD をある反応が得られる用量の信頼下限と定義した場合、サンプルサイズの低下とともに、信頼区間は広がり、BMD は低用量にシフトする。

表1 リスクの指標の特徴

	NOAEL	BMD1	BMD2
内容	統計的に有意にならない最大用量	ある反応が得られる用量の点推定値	ある反応が得られる用量の信頼下限
N減少の影響	高用量にシフト	不変	低用量にシフト
選択用量依存性	あり	なし	なし
反応レベルの特定	なし	必要	必要
推定に用いる情報	有意の前後の用量	用量反応曲線全体	用量反応曲線全体
連続的な曝露情報	利用不可	利用可能	利用可能
用量反応のモデル	なし	必要	必要
計算のための手法	検定(多重比較)	逆回帰	逆回帰
計算	容易	困難(非線型関数)	困難(非線型関数)

・リスクの指標の計算例

0, 1, 2, 3, 4の5段階の用量を用い、計量的なエンドポイントを用いた動物実験の結果からリスクの指標を試算してみる。表2に生データを図1にプロットした図を示した。

表2 リスク指標の計算用生データ

番号	用量				
	0(対照)	1	2	3	4
1	11	18	36	58	41
2	15	29	38	27	52
3	9	14	23	66	30
4	6	15	12	30	64
5	20	30	29	55	44
6	1	13	36	29	49
7	14	15	23	43	43
8	6	23	18	33	62
9	32	24	30	45	33
10	31	3	25	39	73

・ NOAEL の推定

NOAEL を推定するためには、通常、対照群(0用量)と各用量群の比較を行う。ここでは、計量データであるため、正規性と等分散性を前提に多重性を考慮した Dunnett 検定を両側有意水準5%で行う。SAS の GLM プロシジャを用いると、Dunnett 検定の結果は次のようになる。

The GLM Procedure		
Least Squares Means		
Adjustment for Multiple Comparisons: Dunnett		
HO:LSMean=		
Control.		
d	y LSMEAN	Pr > t
0	14.5000000	
1	18.4000000	0.8491
2	27.0000000	0.0526
3	42.5000000	<.0001
4	49.1000000	<.0001

用量 3 と用量 4 は、対照群と比べて、高度な有意差があるが、用量 2 では 5%水準では有意ではなく、NOAEL は 2 となる。

・ BMD の点推定値と信頼区間の下限

図 1 から、用量と反応の間に、ほぼ直線的な関係がみられるので、ここでは、単回帰直線をあてはめ、BMD を推定する。最小二乗法によって求められた回帰式は

$Y = 11.6400 + 9.3300 \times D$ となる。図 2 には、回帰直線による予測直線(実線)と、その 95%両側信頼区間を示した。BMR:benchmark response を 30 として BMD を推定してみる。

$Y = 30$ の水平線が、回帰直線と交わる点の横軸の値が 1.97、回帰直線の信頼上限と交わる点の横軸の値が 1.69 であり、この結果から、BMD の点推定値は 1.97、

信頼下限は 1.69 であることがわかる。

E. 結論

不確実性を考慮したリスクの評価を行うために、様々なリスクの指標、統計学的方法論が提案されていることが判ったが、いずれの指標も一長一短があり、標準的な手法が確立されるまでにはいたっていない。化学物質とその反応には無限ともいえる組合せが考えられ、そのリスクの評価法を完全に標準化することは困難であると考えられる。化合物の種類と反応を絞り込み、実際のデータに基づいてリスク評価の方法論を検討する必要があると考えられる。またこれらの方法論を現場の研究者が簡単に利用できるように、リスク評価用のコンピュータシステムを開発す

ることも重要である。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

候補物質の活性化、解毒に関わる代謝系の胎児、乳児、発育段階の 器官毎の発現と消長

研究者 有菌幸司 熊本県立大学 環境共生学部

研究要旨：胎児、乳児、発育段階の器官毎の発現に主眼をおき、薬物代謝の中心的役割を持つ CYP 系やカテコールOメチルトランスフェラーゼ (COMT) と植物エストロジェン、さらにヒトを含む各種動物の核内レセプター遺伝子の活性化と化学物質との関連に関する文献検索、評価など行ったところ、いくつかの CYP 遺伝子や核内レセプター遺伝子の発現を環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの系統的な評価手法として応用可能であることが示唆された。

A. 研究目的

薬物代謝酵素の多形発現 (CYP 及び抱合系の酵素群や核内レセプター SXR) に関してヒト関連のデータや組織の評価から考察し研究対象化学物質の絞り込みを行う。さらに一部の環境化学物質のヒト体内負荷量や遺伝的要因、また環境要因によって影響を受けやすい次世代影響リスク用バイオマーカーの開発の可能性についても調査する。

B. 研究方法

環境化学物質がヒト由来培養細胞系及びヒトの血液、臓器で CYP 1A, 2D, 3A, カテコールOメチルトランスフェラーゼ (COMT)、核内レセプターなどに及ぼす影響をその負荷量や遺伝的要因、また環境要因や病態との関連づけて文献調査及びヒト試料を用いた蛋白及び遺伝子レベルの発現をバイオマーカーとしてリスク評価に応用可能か調査する。

C. 研究結果

Table 1, 2, 3 に CYP 系やカテコールOメチルトランスフェラーゼ (COMT) と植物エストロジェンに関する文献検索の結果を、さらに Table 4 には最近カルフォルニア大アーバイン校のブルース・ブルンバーグ博士らによって報告された、ヒトを含む各種動物の SXR 遺伝子の活性化と化学物質との関連に関する結果を示した。以下にその概要を述べる。

1) 植物エストロジェンの Genistein や equol (daidzein) はヒト肝においてダイオキシンや PCB など多くの芳香族化合物によって誘導される CYP 1A、糖尿病やアルコール摂取によって作用を受ける CYP 2E1 による化学物質の代謝系を阻害する。

ヒトの肝臓や小腸に認められる CYP3A4 は抗生物質のリファンピシンやカルシウム拮抗剤ニフェジピンさらにステロイド関連化合物で誘導され、植物エストロジェンによっては減少する。

2) 環境化学物質は物質が体内のエストロゲン代謝とくにカテコールエストロゲンが酸化作用によりDNA損傷を引き起こすことが憂慮される。カテコールエストロゲンを不活性化するCOMTは女性の約25%がCOMTの活性が正常化し、年齢や喫煙などリスク因子を考えても正常群にたいして乳癌リスクが2-3倍高い。すなわちCOMTの活性が低い女性は環境化学物質に対する感受性が高く乳癌リスクが高い。

3) ステロイド代謝に関与する核内レセプターであるSXR遺伝子は多くのCYP3A4誘導剤、さらにクメステロールなどによっても活性化される。

D. 考察

ヒト成人肝臓に常在するP450分子種に関する情報を整理するとTable 5のようになる。P450は500に及ぶ分子種が知られ、74のファミリーに分類され、14のファミリー(26のサブファミリー)がほ乳類に知られている。ヒトでは肝臓をはじめとした多くの臓器に、環境化学物質の代謝に関与するP450分子種の存在が以下のように知られている。ヒトP450はCYP1ファミリーからCYP4ファミリーまでの多くの環境化学物質の代謝に関与していると考えられ、特にCYP1A2やCYP2E1、CYP3A4は重要とされている。一方、CYP3AとCYP2Cサブファミリーは医薬品の代謝に関与しているとされる。最近2D6や2Cサブファミリーを中心とした数種のP450に遺伝多形が見つかりヒトにおける薬物代謝の人種差が問題となっている。ヒトP450の代謝能に関与すると考えられる各種要因とその分子種についても以下のように知られている。

- | | |
|-----------|-------------------------------------|
| 1. 栄養素 | 1A1;1A2; 2E1; 3A3, 4, 5 |
| 2. 喫煙 | 1A1;1A2; |
| 3. 飲酒 | 2E1; |
| 4. 医薬品の服用 | 1A1;1A2; 2A6;2B6; 2C; 2D6;3A3, 4, 5 |
| 5. 環境化学物質 | 1A1;1A2; 2A6;2E1;3A3, 4, 5 |
| 6. 遺伝多形 | 1A;2A6; 2C9; 19, 2D6; 2E1 |

さらに、トロンボキササン(CYP5)、プロスタサイクリン(CYP8)、コレステロール(CYP7A1、CYP51)、ビタミンD3、(CYP24、CYP27)胆汁(CYP7A1、CYP27)のような生体内生理活性物質の生合成や代謝に関与している6つのP450ファミリーが知られている。内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響を考える際重要と思われるのはCYP1A及びCYP3A亜群とステロイド代謝に関与するP450であろう。

鎌滝らは、ヒト胎児CYP3A7をヒト培養細胞内に発現させ、細胞毒性試験による胎児毒性のスクリーニングの可能性を示唆しており、CYP2C19(Sメフェニトイン4'水酸化反応を触媒)などには人種差(遺伝多型)も知られている(日本人20%が欠損)。ヒトには生体外異物の解毒代謝に関する9種以上の硫酸転移酵素が存在していることが知られ、その中でもヒドロキシステロイド転移酵素、エストロゲン硫酸転移酵素は生体内内因性ホルモン作用の特異的な制御にも関与しているとされている。

井口らはヒトのへその緒（臍帯）および臍帯血からもダイオキシン類やPCB類、農薬の他に、ビスフェノールAや界面活性剤のノニルフェノールを見出しているが、報告者らもの他プロジェクトの成果として、へその緒中において何種類かのCYPがタンパク質レベルで発現している事実を明らかにしている。しかし一方で、植物エストロジェンのゲネステインやダイゼインはヒト肝においてダイオキシンやPCBなど多くの芳香族化合物によって誘導されるCYP1A、糖尿病やアルコール摂取によって作用を受けるCYP2E1による化学物質の代謝系を阻害することが明らかにされている。ステロイド代謝に関与する核内レセプターであるSXR遺伝子は多くのCYP3A4誘導剤、さらにクメステロールなどある種の植物エストロジェンによっても活性化されることも明らかとなった。そこで、次年度はヒト臓器におけるCYPやSXR系の発現について、マイクロアレイ解析など評価系を作成し、重点的に調査していく予定である。

E. 結論

胎児、乳児、発育段階の器官毎の発現に主眼をおいた環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの系統的な評価手法として、CYP3A4遺伝子や核内レセプターSXR遺伝子の発現が応用可能であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

N. Hanioka, N. Tatarazako, H. jinno, K. Arizono and M. Ando (2001),
Determination of cytochrome P450 1A activities in mammalian liver microsomes by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.
Elsevier. Science J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl., 744, 399-406.

有菌幸司 (2000) 線虫を用いる試験法、井上達監修 内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法, pp133-139. Springer-Verlag, Tokyo,

有菌幸司 (2000) OECD バリデーションプロトコールの解説-魚類-, 井上達監修 内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法, pp242-246. Springer-Verlag, Tokyo,

2. 学会発表

Arizono, K., Mitsui, Y., Kai, T., Ura, K., Iguchi, T., Kohra, S., Tominaga, N (2000)
DNA microarray system by *C. elegans* to Detect Environmental Estrogen,
21st Society of Environmental Toxicology and Chemistry.

浦 和寛、富永伸明、上杉裕子、園田理沙、甲斐利典、宮原真紀、小原雄治 井口泰泉 有菌幸司(2000) 線虫 cDNA マイクロアレイを用いたエストロゲン応答遺伝子の検索, 第3回日本内分泌攪乱化学物質学会要旨集.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許：なし
2. 実用新案：なし
3. その他：なし

Table 1

<u>Keyword</u>	<u>Hit</u>
cyp / o-desmetylangolensin	322
cyp / equol	1
cyp / daidzein	1
p450 / o-desmetylangolensin	1538
p450 / o-desmetylangolensin / soybean	4
p450 / equol	1
p450 / daidzein	5
enzyme / daidzein	214
enzyme / equol	23
enzyme / o-desmetylangolensin	55551
enzyme / o-desmetylangolensin / soybean	164
enzyme / o-desmetylangolensin / isoflavone	28
enzyme / o-desmetylangolensin / isoflavone / soybean	4
isoflavone / enzyme	151
isoflavone / soybean / enzyme	25
isoflavone / cyp	2
isoflavone / p450	10
genistein / p450	22
genistein / cyp	6
genistein / enzyme	131
metabolism / daidzein	388
drug metabolism / p450(cyp) / isoflavone	1
cyp3a / isoflavone	1
cyp3a / daidzein	1
cyp1a / daidzein	0
cyp3a / daidzein	1
cyp1a / isoflavone	0
cyp3a / isoflavone	1
cyp1a / equol	1
cyp3a / equol	0

Table 2

<u>Keyword</u>	<u>Hit</u>
cyp1a / o-desmetylangolensin	232
cyp1a / o-desmetylangolensin / age	15
cyp1a / o-desmetylangolensin / sex	13
cyp1a / o-desmetylangolensin / human	58
cyp1a / o-desmetylangolensin / rat	8
cyp1a / o-desmetylangolensin / mouse	55
cyp1a / o-desmetylangolensin / limits(animal)	180
cyp3a / o-desmetylangolensin	182
cyp3a / o-desmetylangolensin / age	17
cyp3a / o-desmetylangolensin / sex	12
cyp3a / o-desmetylangolensin / human	88
cyp3a / o-desmetylangolensin / rat	97
cyp3a / o-desmetylangolensin / mouse	30
cyp3a / o-desmetylangolensin / limits(animal)	125
cyp1a / cyp3a / o-desmetylangolensin	51

Table 3

<u>Keyword</u>	<u>Hit</u>
COMT	1824
COMT / isoflavone	2
COMT / daidzein	0
COMT / o-desmetylangolensin	1731
COMT / o-desmetylangolensin / cyp	3
COMT / o-desmetylangolensin / p450	12
COMT / equol	0