

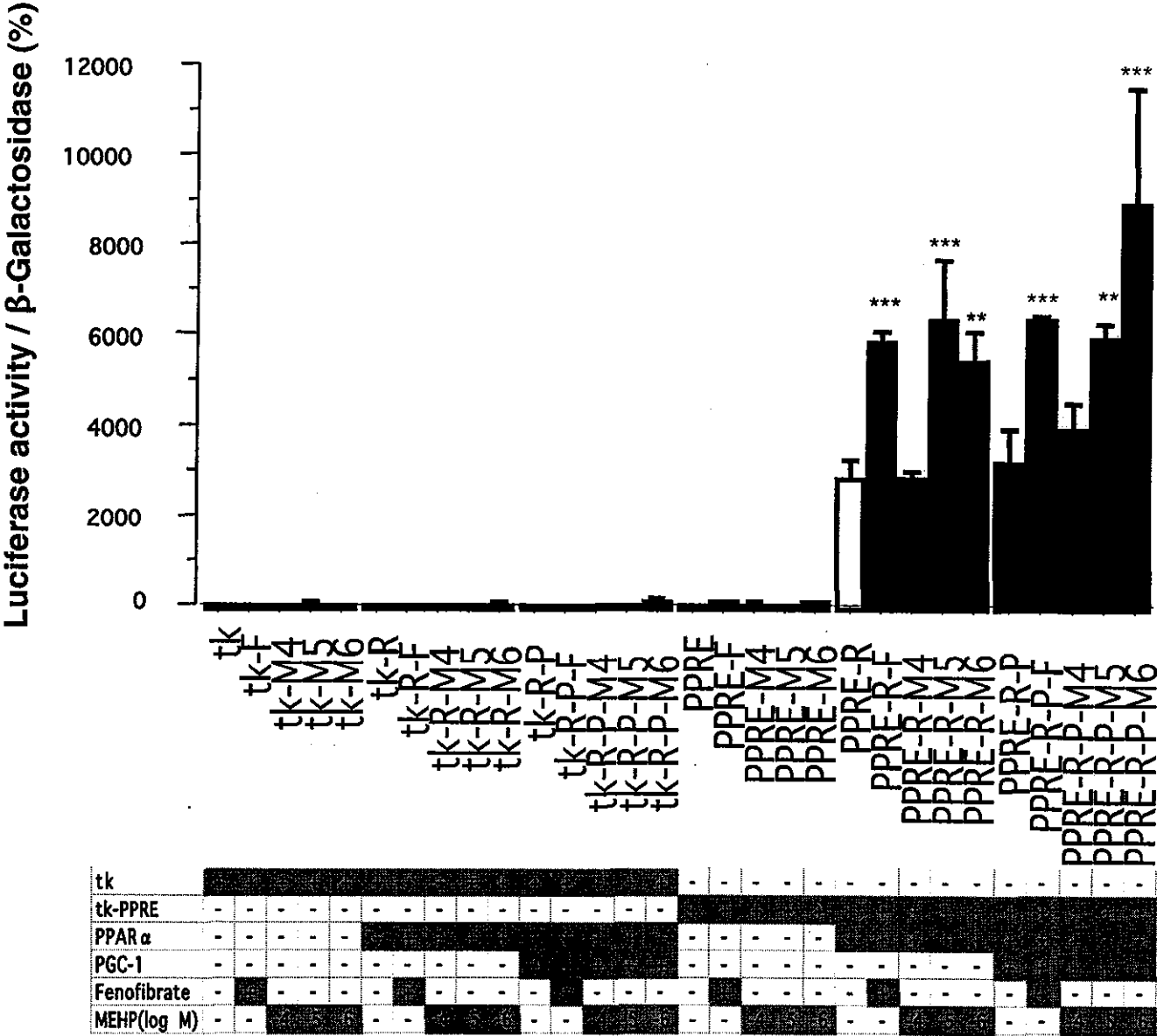


図2 MEHPによるPPAR α の活性化
***p<0.001, **p<0.01 versus PPRE-R
***p<0.001, **p<0.01 versus PPRE-R-P

-54 -35 Motif : PPARalpha/RXR-alpha
 agaccttttggtccagttttt

aaaaactgggccaaggctt
 CWRWCTAGGNCAAAGGTCA (コンセンサス配列)

図4 HMG CoA synthase 2遺伝子のプロモーター 領域におけるPPAR α 結合部位

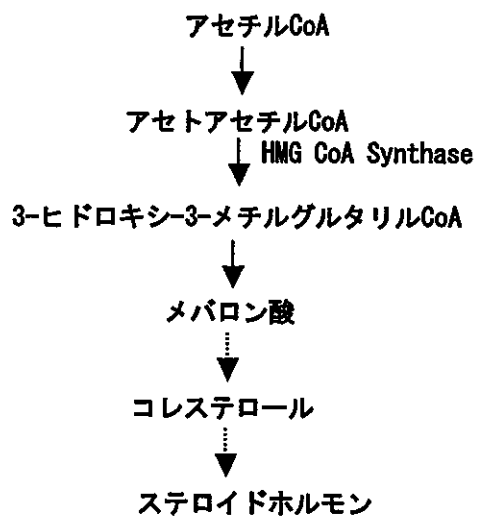


図5 HMG CoA synthase 2のLeydig細胞における働き

文献調査による健康影響評価研究-発達期の曝露影響と

感受性要因の検索

分担研究者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室室長
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室
研究協力者	上杉 恭子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究要旨

フタル酸（PAEs）及びアジピン酸エステル（AAEs）についての文献検索を実施し、発育期曝露による生殖系への影響並びに種差あるいは曝露時期による感受性の違いに関する情報を収集・解析することを目的とした。PAEs 及び AAEs については 2004 年 1 月～2005 年 2 月の情報を Medline で検索し、文献の収集・解析をおこなった。昨年度の報告会で示された論文を除いて生殖発生毒性に関しては 27 報の論文があり、PAEs については DEHP に関する論文が最も多く、次いで DBP, BBP に関する論文であった。ヒトでの研究に関する報告では、新生児期に医療品からの DEHP 曝露を受けていた 14-16 歳の男女の成長、性成熟への影響はみられず、男性の尿中 MBpP 濃度は FSH 濃度減少に関与していることが示唆されている。PAEs の妊娠中曝露による雄生殖器への影響及び精巣毒性について遺伝子レベルでの解析が進みつつある。DBP を与えた雌ラットの児に持続的な乳腺に対する影響が観察され、LOAEL は 1.5-3.0 mg/kg/day と報告されている。環境省によるラット 1 世代試験で 9 種の PAEs 何れも高用量において一般毒性と考えられる影響が報告されている。また、経済産業省によるラット 2 世代繁殖試験の結果が報告されている。AAEs に関する論文はなかった。

A. 研究目的

フタル酸エステル（PAEs）の生殖系への影響としては生殖毒性、催奇形性及び精巣毒性が知られているが、近年 PAEs が抗アンドロゲン作用を有することが明らかとなった[小泉ら, 2000]。こうした毒性の発現は主にげっ歯類で認められており、特に精巣毒性については著しい種差のあることが報告されている。さらに、中枢神経系への影響の可能性も疑われている。すでに主な PAEs については、その毒性の種類、作用機構、構造活性相関などについて、2000 年までの文献を調査し、解

析・評価して報告した[小泉ら, 2001]。本研究では、生殖発生毒性に関する報告を中心に、昨年度の本研究班で報告された論文以外の 2004 年以降の新規情報を収集・整理した。また、アジピン酸エステル（AAEs）も PAEs と同様にペルオキシソーム増殖作用を示し、肝腫瘍を誘発することが知られているので、生殖発生毒性に関する情報を調査するため 2004 年以降の文献調査を行った。

B. 研究方法

PAEs の検索は 2004 年 1 月から 2005 年の 2 月まで、Medline を用い、phthalate、DEHP (di(2-ethylhexyl) phthalate)、DBP (di-*n*-butyl phthalate)、BBP (*n*-butyl benzyl phthalate) をキーワードに生殖発生毒性関連の文献を検索した。AAEs については、Adipate をキーワードとして同様に検索した。検索した文献のタイトル及び要旨に基づいて、本目的との関連性を判断し、原著を入手し、内容をまとめた。

(倫理面への配慮)

本研究は文献情報を検索、収集、整理することであるため、倫理面での問題はない。

C. 研究結果

1. ヒトに関連した情報

新生児期に医療品からの DEHP 暴露を受けていた 14-16 歳の男女 (男 13、女 6) の身体的成長および性成熟度を調べた結果、甲状腺、肝臓、腎臓、性腺機能などは正常の範囲内であり、成長、性成熟への影響はみられなかった [Rais-Bahra ら, 2004]。

295 人の男性(1999-2003 年)の尿中フタル酸モノエステル濃度と、血中性ホルモンレベル (FSH、LH、性ホルモン結合グロブリン、テストステロン、インヒビン B) との関係調べた結果、MBpP 暴露は FSH 濃度減少 (10%) に関与していた。MBuP はインヒビン B レベルの増加(4.8%)に関与していたが、統計的に有意となるボーダーライン上であった [Duty ら, 2005]。

環境中または代謝の過程で起こり得るフタル酸エステルの水酸化が、ヒトのエストロゲンレセプター (ERs) との結合親和性に関与し

ていることを示した。ERs との結合親和性はフタル酸の直鎖の長さや、分枝鎖の存在で強化された [Toda ら, 2004]。

ヒト PPAR

様々なフタル酸モノエステルによるマウスおよびヒトの PPAR α 、 β 、 γ の活性化を調べた結果、PPAR α と PPAR γ の活性化は、側鎖の長さにもよって上昇した。また、マウス PPAR α と PPAR β はヒト PPAR α と PPAR β より、低濃度で活性化されたが、PPAR γ についてはマウス、ヒトとも同じような感受性を示した。フタル酸モノエステルによる PPAR α と PPAR γ のトランス活性化と PPAR α ターゲット遺伝子 mRNA と PPAR γ による脂肪細胞変異の誘発には各々相関関係があった [Bility ら, 2004]。

2. DEHP(MEHP)に関連した情報

精巣

DEHP (30, 95, 300 mg/kg) の長期混餌投与 (159 週まで) による SD ラットの肝臓と精巣に対する影響を調べた。300 mg/kg 投与群では肝、精巣での腫瘍が増加した。また腫瘍の程度は投与量に依存していた。初期では精巣の腫瘍発生が肝細胞の腫瘍より顕著であったが、時の経過と共に多様化した。300 mg/kg 投与では精細管萎縮の増加もみられた [Voss ら, 2005]。

DEHP (100, 1000 mg/kg、5 日間) 経口投与の思春期前ラットの精巣におけるアラキドン酸の生成と代謝に対する影響を調べた結果、DEHP は cPLA2 の活性を抑制し、12-リポキシナーゼや CYP4A1 などのアラキドン酸代謝酵素を誘発しアラキドン酸レベルを下げた。アラキドン酸代謝カスケードの変化がテスト

ステロン濃度の減少を引き起こすことが示唆された [Kim ら, 2004]。

セルトリ細胞の障害は Fas 由来の生殖細胞のアポトーシスによるものとされるが、Fas などのアポトーシス関連蛋白の転写を調節している p53 蛋白の作用を調べるために、野生型マウス (p53+/+) と p53 ノックアウトマウス (p53-/-) を用い MEHP 暴露 (1 g/kg 経口単回投与) による影響を調べた。アポトーシス検出 (TUNEL-positive) 細胞は、(p53-/-)マウスで有意に低く、Fas と death receptor 5(DR5) は(p53+/+)マウス生殖細胞の細胞膜でのみ認められた。c-FLIP(L) (caspase-8 阻害蛋白) は (p53-/-)マウスで 2-5 倍高いレベルであった。MEHP によるアポトーシスは p53 蛋白に依存することが示唆された [Chandrasekaran ら, 2005]。

2 ヶ月齢のシバヤギの精巣における MEHP (0.001, 1, 100 nmol/ml) 暴露の影響を in vitro 試験で調べた結果、低濃度の MEHP では精子形成細胞とセルトリ細胞のアポトーシス誘発傾向にあり、高濃度の MEHP では壊死誘発傾向にあった [Andriana ら, 2004]。

20 日齢の SD ラットの精巣を用い、spermatogenetic cell のアポトーシス検出 (TUNEL-positive) 試験を行った結果、MEHP は精子形成細胞壊死を誘発させ、精巣の組織／細胞培養は精巣毒性検出の有用であることが示された [Andriana ら, 2004]。

LE ラットの PNDs 21-90 に強制経口投与した 10 mg/kg の DEHP により、黄体形成ホルモン、テストステロン、 17β -estradiol (E2) の血清レベルを上昇させた。精巣中ライディッヒ細

胞数は DEHP 投与のラットで多かった。テストステロンや E2 レベルの変化は、アンドロゲン、エストロゲン、ステロイドホルモンレセプターのクロストークの可能性を示唆し、生殖器以外の組織のエストロゲンレセプターの存在は、血中 E2 レベルの上昇が生殖作用を超えた意味を持つことを示唆された [Akingbemi ら, 2004]。

精巣遺伝子

28 日齢 F344 ラットへの MEHP (1g/kg) 経口投与により、NF-kB 遺伝子サブユニット (p-65, p50, c-Rel) の転座を誘引をすることから、MEHP による精巣障害に NF-kB が関与していることが示された [Rasoulpour ら, 2005]。

ラット精巣の遺伝子発現に対する DEHP の影響を調べるために、6 週齢の SD ラットに DEHP (20, 2000 mg/kg) を単回経口投与し、3, 6, 24, 72 時間後の状態を調べた。アポトーシス検出 (TUNEL-positive) 細胞は、2000 mg/kg 暴露の 24 及び 72 時間後に有意に増加した。cDNA マイクロアレイと逆転写 PCR で解析した結果、20 mg/kg 投与ではアポトーシスに関与する bcl-2 が増加し、2000 mg/kg 投与ではアポトーシスアクチベータカスケードの Fas/FasL、FADD/caspase-8/caspase-3 カスケード、Apaf-1/caspase-9/caspase-2 カスケードが増加し、bcl-2 は減少した。これらの結果から、FADD/caspase-10/caspase-6 カスケード、caspase-11/caspase-3 は DEHP によるアポトーシスに関与しないことが示唆された [Kijima ら, 2004]。

雄生殖系系 (抗アンドロゲン作用)

未成熟去勢ラットの Hershberger 試験により、DEHP (4, 20, 100, 200, 400, 600, 800, 10000

mg/kg/d) 作用を調べた。DEHP は、陰茎海綿体筋/肛門挙筋(100 mg/kg 以上)、前立腺 (200 mg/kg 以上)、精囊(400 mg/kg 以上)の相対重量を減少させ、肝臓 (100 mg/kg 以上) の相対重量を増加させた。また、pMMTVneo-Luc をトランスフェクションした MDA-MB453 細胞を用いて、DEHP とその代謝物 (MEHP, 5oxo-MEHP, 5OH-MEHP) の作用を調べた結果、5oxo-MEHP 及び 5OH-MEHP は抗アンドロゲン作用を示した [Stroheker ら, 2005]。

胎盤

DEHP およびその代謝物 (MEHP、EHA) による PPAR 活性に伴う必須脂肪酸ホメオスタシスに対する影響を、ラット HRP-1 栄養膜細胞 (胎盤)を用いて調べた。DEHP、MEHP、EHA は PPAR α 、PPAR γ 、脂肪酸輸送蛋白 (FATP1)、心臓由来脂肪酸結合蛋白 (HFABP) を暴露、時間に依存しアップレギュレーションさせたが、PPAR β および細胞膜脂肪酸結合蛋白質 (FABPpm) への影響は変則的であった。また、必須脂肪酸の取り込み率が増加し、アラキドン酸(ω -6)および DHA (ω -3) の輸送が誘発された。DEHP と代謝物が胎盤の必須脂肪酸ホメオスタシスの変化を通じて胎児の発育異常をもたらせる可能性を示唆した [Xu ら, in press]。

形態異常

亜鉛ホメオスタシスの変化が催奇形に関与しているという仮説を基に、子宮内胎児における DEHP 暴露の亜鉛代謝キー遺伝子 (MT-I, MT-II, An T-1) に対する影響を調べた。交配後 9 日に DEHP 800 mg/kg を強制経口投与した妊娠マウスの肝臓、胚の前脳、visceral yolk sac の MT-I, MT-II, An T-1 遺伝子発現を調べた

結果、器官形成期の母体への DEHP 暴露は胎児の亜鉛ホメオスタシスに対するキー遺伝子の発現を変化させることがわかった。また、その程度は暴露量に依存していた [Lee ら, 2004]。

3. DBP に関連した情報

雄児精巣

DBP (500 mg/kg)の経口投与は Wistar ラット胚/胎児 (胎齢 13.5-20.5 日) 精巣中ライディッヒ細胞の異常凝集を起こしたが、これはライディッヒ細胞数の増加によるものではなかった。ライディッヒ細胞(胎齢 21.5 日)凝集箇所にはセルトリ細胞が囲われるように存在していた。これら細胞の混在状態は生後 4 日ラットの精細管内にも認められた。精細管内のライディッヒ細胞の凝集が精子形成を阻害していることが示唆された [Mahood ら, 2005]。

妊娠 12-19 日の SD ラットに DBP (0.1, 1.0, 10, 50, 100, 500 mg/kg/d)を強制経口投与し、妊娠 19 日の胎児の精巣中のステロイド生成に対する影響を調べた。胎児精巣中のコレステロール輸送やステロイド生成に関係する遺伝子・蛋白の発現やテストステロンレベルは、母体の DBP 投与量に依存して減少した [Lehmann ら, 2004]。

児生殖器系

雄ラットの PNDs 5-14 に DBP (5, 10, 20 mg/rat) を皮下投与し生殖器に対する影響を調べた結果、新生児期の DBP 暴露は内分泌系に永久的な変化を与え、生殖器の異常発達を思春期まで継続させるものと考えられた。また、DBP は新生児期におけるアンドロゲンレセプター

とエストロゲンレセプターβ発現の阻害を通じて抗アンドロゲン作用をもたらせることが示唆された [Kim ら, 2004]。

妊娠 12-21 日の Crl:CD(SD)BR ラットに BBP (100, 500 mg/kg)を強制経口投与し、6、12、18 月齢の雄児を調べた。DBP (500 mg/kg) 子宮内暴露による児の AGD および乳輪に対する変化は成体時まで持続した。また、AGD の変化が生殖器の奇形と有意に関係していたことから、AGD の減少が生殖器奇形の予測指標となることが示唆された [Barlow ら, 2004]。

DBP (0, 20, 200, 2000, 10000 ppm)を含む飼料 (soy-free) を妊娠 15 日から分娩後 21 日まで雌ラットに与え、児に対する影響を調べた。DBP は脳下垂体に関与する雌の性発育に影響を及ぼした。また 20 ppm (1.5-3.0 mg/kg/day) 以上で可逆的な精巣毒性、持続的な乳腺に対する影響が観察された。本実験の LOAEL は 1.5-3.0 mg/kg/day であった [Lee ら, 2004]。

次世代発生

2 ヶ月齢の雌 LE ラットに DBP (12, 50 mg/kg) を含む飼料 (soy-free) を交配前 2.5 ヶ月、交配・妊娠中、実験終了 (PND 14 または PNWs 12) まで与え F1 児への影響を調べた結果、12 mg/kg で児体重低下、胸腺・精巣重量低下、膈開口遅延がみられた。DBP の影響は雄児において顕著であった [Salazar ら, 2004]。

DBP (0, 50, 250, 500 mg/kg)をラットの妊娠 1 日から PND 21 日まで強制経口投与し、F1 ラットの発育や F1 雄ラットの成熟期の生殖器系に対する影響を調べた。250 mg/kg で F1 ラットの体重低下、精巣・精巣上体・前立腺重量の低下、精子指標等に悪影響が認められ、雄

の生殖器系が DBP 暴露の標的器官であることが示された [Zhang ら, 2004]。

4. BBP に関連した情報

精巣

BBP (500 mg/kg)と linuron (75 mg/kg)の精巣テストステロンに対する影響、生殖発生における影響、新生児 AGD と若年期乳輪数と成体時の生殖変化の関係を調べるために、BBP 単独、linuron 単独、linuron と BBP の併用を妊娠 15-19 日のラットに投与した。何れの投与でも精巣 T 及び P 低下、雄 AGD 短縮・乳輪数増加がみられた。併用投与の作用は相乗的というよりも相加的であった。また、新生児の AGD や乳輪数増加は成熟期の AGD や乳頭保持、生殖器の奇形や生殖器官や組織の重量と有意に関連していた。[Hotchkiss ら, 2004]

2 世代繁殖試験

BBP (0, 750, 3750, 11250 ppm; 0, 50, 250, 750 mg/kg) のラット 2 世代繁殖試験を行った。F0 の全身毒性および F1 の全身毒性と生殖毒性は 750 mg/kg で認められた。雄 AGD と体重の減少、F1 雌雄ラットの性成熟遅延、F1, F2 雄ラットの乳頭・乳輪の保持が 11250ppm の投与で認められた。F1, F2 の出生時雄 AGD 短縮は 3750ppm 投与でも認められた。本実験の NOAEL は 50 mg/kg/day であった [Ty1 ら, 2004]。

5. 総説

DEHP の生殖発生毒性についての総説 [Latini ら, 2004]。

ヒト乳児における食事からの DEHP 摂取と生殖毒性についての総説 [Latini ら, 2004]。

PAEs による雄生殖系に対する PPAR の役割についての総説。1) PAEs の雄生殖器に対する毒性、2) 精巣中 PPAR s の発現、3) PAEs による PPAR s の活性化、4) PPAR α の精巣毒性における役割、5) ステロイド合成とカタボリズムに関与する PAEs の遺伝子ターゲット、6) 精巣発達とホメオスタシスに関与する PPAR s と他の核内受容体との相互作用 [Corton ら, 2005]。

6. 環境省によるラット 1 世代試験

(哺乳類を用いた人健康影響への内分泌攪乱作用に関する試験結果)

ジー 2-エチルヘキシルフタレート

ブチルベンジルフタレート

ジブチルフタレート

ジシクロヘキシルフタレート

ジエチルフタレート

ジペンチルフタレート

ジヘキシルフタレート

ジプロピルフタレート

ジー 2-エチルヘキシルアジペート

何れも高用量 (既報告で影響が認められた用量) において一般毒性と考えられる影響が認められた。

7. 経済産業省によるラット 2 世代繁殖試験

- ブチルベンジルフタレート

0, 100, 200 mg/kg を Crj:CD(SD)IGS ラットの 2 世代に渡って強制経口投与した。100 mg/kg 以上で雄児での低体重、AGD 短縮が観察された。NOAEL は 100 mg/kg/day 未満であった。

- ジシクロヘキシルフタレート

0, 240, 1200, 6000 ppm を Crj:CD(SD)IGS ラットの 2 世代に渡って混餌投与した。1200 ppm 以上で雄児 AGD 短縮、乳輪保持がみられた。

NOAEL は 240 ppm (16 mg/kg/day) であった。

- ジエチルフタレート

0, 600, 3000, 15000 ppm を Crj:CD(SD)IGS ラットの 2 世代に渡って混餌投与した。1500 ppm 以上で授乳中児体重低下、肝重量の高値、胸腺・脾臓・副腎・前立腺・子宮重量の低値がみられた。

NOAEL は 3000 ppm (1083 mg/kg/day) であった。

D. 引用文献

ヒトに関連した情報

Rais-Bahrami K, Nunez S, Revenis ME, Luban NL, Short BL. (2004) Follow-up study of adolescents exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) as neonates on extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support. *Environ Health Perspect.* 112(13):1339-40.

Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, Ryan L, Hauser R. Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. (2005) *Hum Reprod* 20(3):604-610.

Toda C, Okamoto Y, Ueda K, Hashizume K, Itoh K, Kojima N. (2004) Unequivocal estrogen receptor-binding affinity of phthalate esters featured with ring hydroxylation and proper alkyl chain size. *Arch Biochem Biophys.* 431(1):16-21.

Bility MT, Thompson JT, McKee RH, David RM, Butala JH, Vanden Heuvel JP, Peters JM. (2004) Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) by Phthalate

Monoesters. *Toxicol Sci.* 82(1):170-182.

DEHP(MEHP)に関連した情報

Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. (2005) Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology.* 206(3):359-71.

Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. (2004) Alterations of activities of cytosolic phospholipase A2 and arachidonic acid-metabolizing enzymes in di-(2-ethylhexyl)phthalate-induced testicular atrophy. *J Vet Med Sci.* 66(9):1119-24.

Chandrasekaran Y, Richburg JH. (2005) The p53 Protein Influences the Sensitivity of Testicular Germ Cells to Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate-Induced Apoptosis by Increasing the Membrane Level of Fas and DR5 and Decreasing the Intracellular Amount of c-FLIP. *Biol Reprod.* 72(1):206-13 .

Andriana BB, Tay TW, Maki I, Awal MA, Kanai Y, Kurohmaru M, Hayashi Y. (2004) An ultrastructural study on cytotoxic effects of mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) on testes in Shiba goat in vitro. *J Vet Sci.* 5(3):235-40.

Andriana BB, Tay TW, Tachiwana T, Sato T, Ishii M, Awal MA, Kanai Y, Kurohmaru M, Hayashi Y . (2004) Effect of mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)

on testes in rats in vitro. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 80(5-6):127-36.

Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP. (2004) Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(3):775-80.

Rasoulpour RJ, Boekelheide K. (2005) NF- κ B Is Activated in the Rat Testis Following Exposure to Mono-(2-Ethylhexyl) Phthalate. *Biol Reprod.* 72(2):479-86 .

Kijima K, Toyosawa K, Yasuba M, Matsuoka N, Adachi T, Komiyama M, Mori C. (2004) Gene expression analysis of the rat testis after treatment with di(2-ethylhexyl) phthalate using cDNA microarray and real-time RT-PCR. *Toxicol Appl Pharmacol.* 200(2):103-10.

Stroheker T, Cabaton N, Nourdin G, Regnier JF, Lhuguenot JC, Chagnon MC. (2005) Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicology.* 208(1):115-121.

Xu Y, Cook TJ, Knipp GT. Effects of di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) and its metabolites on fatty acid homeostasis regulating proteins in rat placental HRP-1 trophoblast cells. *Toxicol Sci.* (in press).

Lee J, Park J, Jang B, Knudsen TB. (2004)

Altered expression of genes related to zinc homeostasis in early mouse embryos exposed to di-2-ethylhexyl phthalate. *Toxicol Lett.* 152(1):1-10.

DBP に関連した情報

Mahood IK, Hallmark N, McKinnell C, Walker M, Fisher JS, Sharpe RM. (2005) Abnormal Leydig Cell Aggregation in the Fetal Testis of Rats Exposed to Di (n-Butyl) Phthalate and Its Possible Role in Testicular Dysgenesis. *Endocrinology.* 146(2):613-23.

Lehmann KP, Phillips S, Sar M, Foster PM, Gaido KW. (2004) Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di (n-butyl) phthalate. *Toxicol Sci.* 81(1):60-8.

Kim H, Kim T, Shin JH, Moon H, Kang I, Kim I, Oh J, Han S. (2004) Neonatal exposure to di(n-butyl) phthalate (dbp) alters male reproductive-tract development. *J Toxicol Environ Health A.* 67(23-24):2045-60.

Barlow NJ, McIntyre BS, Foster PM. (2004) Male reproductive tract lesions at 6, 12, and 18 months of age following in utero exposure to di(n-butyl) phthalate. *Toxicol Pathol.* 32(1):79-90.

Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Kato N, Takigami S, Uneyama C, Hirose M. (2004) Diverse developmental toxicity of

di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology.* 203(1-3):221-38.

Salazar V, Castillo C, Ariznavarreta C, Campon R, Tresguerres JA. (2004) Effect of oral intake of dibutyl phthalate on reproductive parameters of Long Evans rats and pre-pubertal development of their offspring. *Toxicology.* 205(1-2):131-7.

Zhang Y, Jiang X, Chen B. (2004) Reproductive and developmental toxicity in F1 Sprague-Dawley male rats exposed to di-n-butyl phthalate in utero and during lactation and determination of its NOAEL. *Reprod Toxicol.* 18(5):669-76.

BBP に関連した情報

Hotchkiss AK, Parks-Saldutti LG, Ostby JS, Lambright C, Furr J, Vandenberg JG, Gray Jr LE. (2004) A Mixture of the "Antiandrogens" Linuron and Butyl Benzyl Phthalate Alters Sexual Differentiation of the Male Rat in a Cumulative Fashion. *Biol Reprod.* 71(6):1852-61.

Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Fail PA, Seely JC, Brine DR, Barter RA, Butala JH. (2004) Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reprod Toxicol.* 18(2):241-64.

総説

Latini G, Verrotti A, De Felice C. (2004) DI-2-ethylhexyl phthalate and endocrine

disruption: a review. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord. 4(1):37-40.

Latini G, De Felice C, Verrotti A. (2004) Plasticizers, infant nutrition and reproductive health. Reprod Toxicol. 19(1):27-33.

Corton JC, Lapinskas PJ. (2005) Peroxisome proliferator-activated receptors: mediators of phthalate ester-induced effects in the male reproductive tract? Toxicol Sci. 83(1):4-17.

環境省の報告

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-20.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-21.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-22.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-23.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-24.pdf>

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-25.pdf>

経済産業省の報告

<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>

<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d45j.pdf>

<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles>

/g30701d42j.pdf

E. 考察

ヒト男性の尿中 MBpP 濃度は FSH 濃度減少に関与していることが示されている。一方、ヒト新生児期に医療品からの DEHP 暴露を受けていた男女の成長及び性成熟への影響は確認されていない。このように PAEs とヒト生殖障害との直接的な関連性については現在のところ統一的な見解は示されていない。

PAEs の妊娠中曝露による雄生殖器への影響に関する論文において精巣に対する影響が遺伝子レベルで検討され、発現メカニズムとしてテストステロンレベルの低下とこれに関連する遺伝子発現の変化が示唆されている。また、シバヤギの精巣も MEHP に対して感受性を示すことが報告されている。宮内曝露による児の AGD および乳輪に対する変化は成体時まで持続し、AGD 短縮が生殖器形態異常の予測指標となることが示唆されている。催奇形性に関しては、胎児の亜鉛ホメオスターシスに関与する遺伝子の発現を変化させることが示され、奇形発現との関連が示唆されている。

今年度の文献調査では、従来よりも低用量において影響が発現することが報告されている。Lee ら(2004)は DBP を含む飼料を妊娠 15 日から分娩後 21 日まで雌ラットに与えた結果、20 ppm (1.5-3.0 mg/kg/day)以上で持続的な乳腺に対する影響が観察されたことから本実験の LOAEL は 1.5-3.0 mg/kg/day であったと報告している。また、Salazar ら(2004)は雌ラットに DBP を交配前 2.5 ヶ月、交配・妊娠中、実験終了 (PND 14 または PNWs 12) まで与えた結果、12 mg/kg で児の体重低下、胸腺・精巣重量低下、膈開口遅延がみ

られたと報告している。これらの実験では soy-free の飼料を使用していることが他の報告とは異なっている。通常の飼料を用いて行われた実験と比較しながら詳細な検討を行う必要がある。

F. 結論

PAEs とヒト生殖障害との直接的な関連性については現在のところ統一的な見解は示されていない。

PAEs の妊娠中曝露による雄生殖器への影響にはテストステロンレベルの低下とこれに関連する遺伝子発現の変化が示唆されている。また、シバヤギの精巣も MEHP に対して感受性を示すことが報告されている。宮内曝露による児の AGD 短縮が生殖器形態異常の予測指標となることが示唆されている。胎児の珪鉛ホメオスターシスに関与する遺伝子の発現を変化と奇形発現との関連が示唆されている。今年度の文献調査では、従来よりも低用量において影響が発現することが報告されている。DBP を含む飼料を妊娠・授乳中のラットに投与したとき、LOAEL は 1.5-3.0 mg/kg/day であり、また、交配前・交配・妊娠・授乳中の 12 mg/kg/day の DBP 投与により、児の体重低下、胸腺・精巣重量低下、膣開口遅延がみられたと報告されている。これらの実験では soy-free の飼料を使用していることが他の報告とは異なっている。通常の飼料を用いて行われた実験と比較しながら詳細な検討を行う必要がある。

G. 健康危機情報

特になし。

H. 研究発表

1. 論文発表

Hirata-Koizumi M, Nishimura N, Enami T, Wada H, Ogata H, Yamamoto Y, Ito Y, Kamata E, Ema M, Hasegawa R. (2005) The susceptibility of new born rats to the hepatotoxicity of 1,3-dibromopropane and 1,1,2,2-tetrabromoethane, compared with young rats. J Toxicol Sci. 30, 29-42.

高橋美加、平田睦子、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一、長谷川隆一、江馬 眞 (2004) OECD化学物質対策の動向 (第6報)、第14回 OECD高生産量化学物質初期評価会議 (2002年パリ)、化学生物総合管理学会誌、1, 46-55.

Ema M, Hara H, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2005) Evaluation of developmental toxicity of 1-butanol given to rats in drinking water throughout pregnancy. Food Chem Toxicol. 43, 325-331

高橋美加、平田睦子、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一、長谷川隆一、江馬 眞 (2004) OECD 化学物質対策の動向 (第5報)、衛研報告、122, 37-42

広瀬明彦、江馬 眞 (2004) 生殖発生毒性を指標としたダイオキシンの耐容1日摂取量(TDI)算定の考え方について、衛研報告、122, 56-61

Hirose A, Hasegawa R, Nishikawa A, Takahashi M, Ema M. (2004) Revision and establishment of Japanese drinking water quality guidelines for di(2-ethylhexyl) phthalate, toluene and vinyl chloride-differences from the latest WHO

guideline drafts. J Toxicol Sci. 29, 535-539.

Takahashi M, Ogata H, Izumi H, Yamashita K, Takechi M, Hirata-Koizumi M, Kamata E, Hasegawa R, Ema M. (2004) Comparative toxicity study of 2,4,6-trinitrophenol (picric acid) in newborn and young rats. Cong Anom. 44, 204-214.

Fukui Y, Ema M, Fujiwara M, Higuchi H, Inouye M, Iwase T, Kihara T, Nishimura T, Oi A, Oshima Y, Otani H, Shinomiya M, Sugioka K, Yamano T, Yamashita KH, Tanimura T. (2004) Comments from the Behavioral Teratology Committee of the Japanese Teratology Society on OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study, Draft Document (September 2003). Cong Anom. 44, 172-177.

Fukuda N, Ito Y, Yamaguchi M, Mitsumori K, Koizumi M, Hasegawa R, Kamata E, Ema M. (2004) Unexpected nephrotoxicity induced by tetrabromobisphenol A in newborn rats. Toxicol Lett. 150, 145-150.

2. 学会発表

Tahara M, Kubota R, Nakazawa H, Hirose A, Ema M, Tokunaga H, Nishimura T. (2005) Evaluation for the additive toxic influence of organophosphorus pesticides. Society of Toxicology, 44th Annual Meeting.

Ema M, Hara H, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2005) Developmental toxicity of 1-butanol given to rats in drinking water throughout pregnancy. Society of Toxicology, 44th Annual Meeting.

広瀬明彦、鎌田栄一、高橋美加、江馬 眞 (2004) 有機スズの水生動物と実験動物における生殖発

生毒性、環境ホルモン学会第7回研究発表会

Ema M, Fukunishi K, Nagata R, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2004) Developmental toxicity study of ultra violet light absorber 2-(3,5-di-tert-butyl-2-hydroxyphenyl)-5-chloro-2H-benzotiazole in rats. American College of Toxicology, 25th Annual Meeting.

Hirose A, Takagi A, Nishimura T, Kanno J, Ema M. (2004) Review of reproductive and developmental toxicity induced by organotins in aquatic and experimental animals. 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2004).

Ema M. (2004) Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate. Congress of the 5th Royan International Research Award.

江馬 眞、原園 景、藤井咲子、川島邦夫 (2004) ヒノキチオールの子ラットにおける発生毒性の検討、第44回日本先天異常学会学術集会

Yamaguchi Y, Nishimura N, Yahara M, Edamoto H, Ikezaki S, Kasahara K, Tamura K, Kamata E, Hasegawa R, Ema M. (2004) Renal damage in newborn rats treated with p-Cumylphenol. International Federation of Societies of Toxicologic Pathology

Hirose A, Takahashi M, Kamata E, Ema M, Hayashi M. (2004) Development of genotoxicity prediction QSAR system for registered and existing industrial chemicals in Japan. 10th International Congress of Toxicology

Hirata-Koizumi M, Fukuda N, Ito Y, Yamaguchi M,

Mitsumori K, Hasegawa R, Kamata E, Ema M.
(2004) Unzpected nephrotoxicity induced by
tetrabromobisphenol A in newborn rats. 10th
International Congress of Toxicology

Ema M, Harazono A, Fujii S, Kawashima K.
(2004) Developmental toxicity of β -thujaplicin (TP)
in rats. Society of Toxicology, 43th Annual
Meeting.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Shibutani, M., Uneyama, C.	Methacarn fixation for genomic DNA analysis in microdissected cells.	Murray, G. I., Curran, S.	Methods in Molecular Biology	Humana Press	Totowa	2004	11-25

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Masutomi, N., Shibutani, M., et al.	Alteration of pituitary hormone-immunoreactive cell populations in rat offspring after maternal dietary exposure to endocrine-active chemicals.	Arch. Toxicol.	78	232-240	2004
Takagi, H., Shibutani, M., et al.	Microdissected region-specific gene expression analysis with methacarn-fixed paraffin-embedded tissues by real-time RT-PCR.	J. Histochem. Cytochem.	52	903-913	2004
Lee, K-Y., Shibutani, M., et al.	Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation.	Toxicology	203	221-238	2004
Shibutani, M., Masutomi, N., et al.	Down-regulation of GAT-1 mRNA expression in the microdissected hypothalamic medial preoptic area of rat offspring exposed maternally to ethinylestradiol.	Toxicology	208	35-48	2005
Takagi, H., Shibutani, M., et al.	Impact of maternal dietary exposure to endocrine-acting chemicals on progesterone receptor expression in microdissected hypothalamic medial preoptic areas of rat offspring.	Toxicol. Appl. Pharmacol.			in press
Suzuki, M., Lee, H.C., Nishihara M., et al.	Effects of methoxychlor exposure during perinatal period on reproductive function after maturation in rats.	J. Reprod. Dev.	50	455-461	2004
鈴木正寿, 西原真杉	脳の性分化における分子機構—グラニューリンの関わり—	性差と医療	2	157-160	2005
Mitsuhashi, M., Morimura, K., Fukushima, S., et al.	Di-n-butyl phthalate is toxic to the male reproductive system and its toxicity is enhanced by thioacetamide induced liver injury.	J. Toxicol. Pathol.	17	177-185	2004
Tsutsumi, T., Ichihara, T., Shirai, T., et al.	Renal toxicity induced by folic acid is associated with the enhancement of male reproductive toxicity of di(n-butyl) phthalate in rats.	Reprod. Toxicol.	18	35-42	2004
Andriana, B. B., Kurohmaru, M., et al.	Effects of mono (2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) on testes in rats in vitro.	Okajimas Folia Anat. Jpn.	80	127-136	2004
Andriana, B. B., Kurohmaru, M., et al.	An ultrastructural study on cytotoxic effects of mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) on testes in Shiba goats in vitro.	J. Vet. Sci.	5	235-240	2004
Awal, M.A., Kurohmaru, M., et al.	Mono-(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP) induces spermatogenic cell apoptosis in guinea pig testes at prepubertal stage in vitro.	Int. J. Toxicol.	23	349-355	2004

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Awal, M.A., Kurohmaru, M., et al.	Mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) induces testicular alterations in guinea pigs at prepubertal stage	Tissue & Cell			in press
Yajima, H., Ikeshima, E., Ezaki, O., et al	Isohumulones, bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) and and reduce insulin resistance.	J. Biol. Chem.	279	33456-33462	2004
高橋美加、 江馬 眞 ら	OECD化学物質対策の動向(第6報)、第14回 OECD高生産量化学物質初期評価会議(2002年パリ)	化学生物総合 管理学会誌	1	46-55	2004
高橋美加、 江馬 眞 ら	OECD化学物質対策の動向(第5報)	国立医薬品食 品衛生研究所 報告	122	37-42	2004
Hirose, A., Hasegawa,, R., Ema,M., et al.	Revision and establishment of Japanese drinking water quality guidelines for di(2-ethylhexyl) phthalate, toluene and vinyl chloride-differences from the latest WHO guideline drafts..	J. Toxicol. Sci.	29	535-539	2004
Fukui, Y., Ema, M., et al.	Comments from the Behavioral Teratology Committee of the Japanese Teratology Society on OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study, Draft Document (September 2003).	Cong. Anom.	44	172-177	2004

研究成果の刊行物・別刷

