

Fig.2 (ICR mouse)

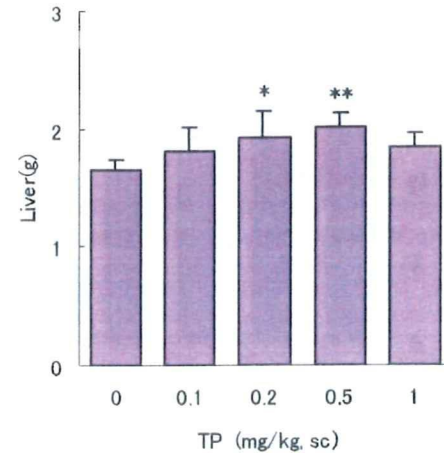
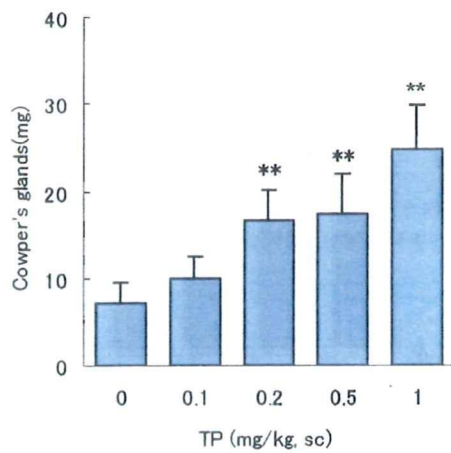
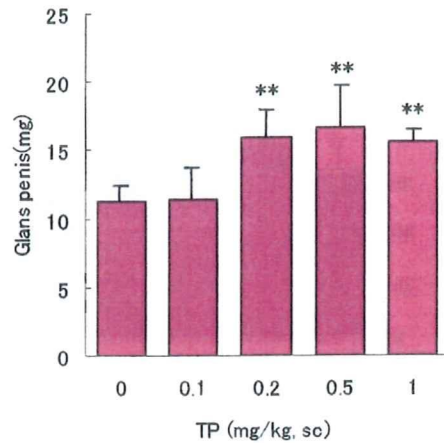
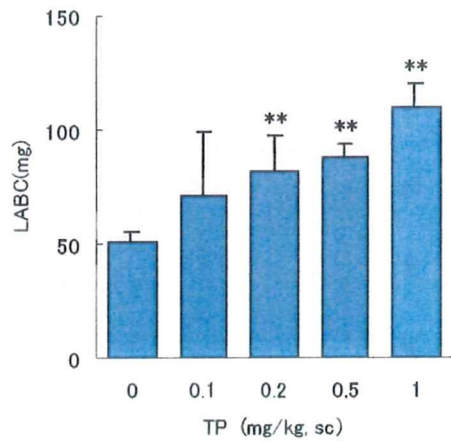
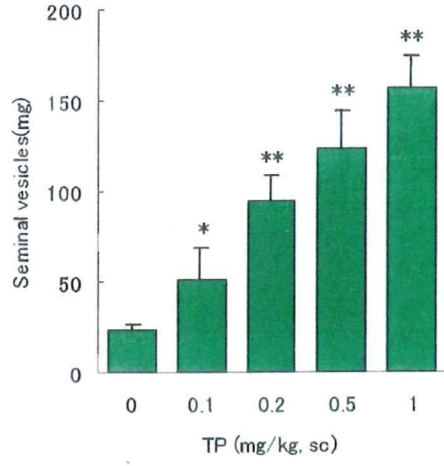
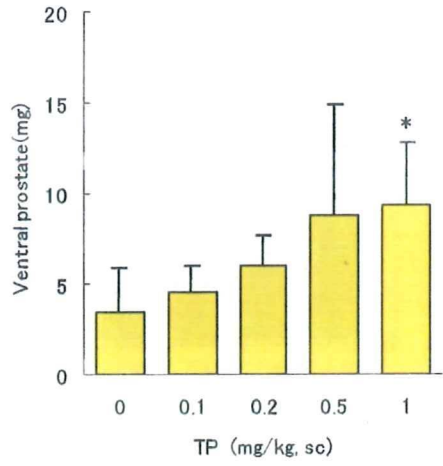


Fig.3 (ICR mouse)

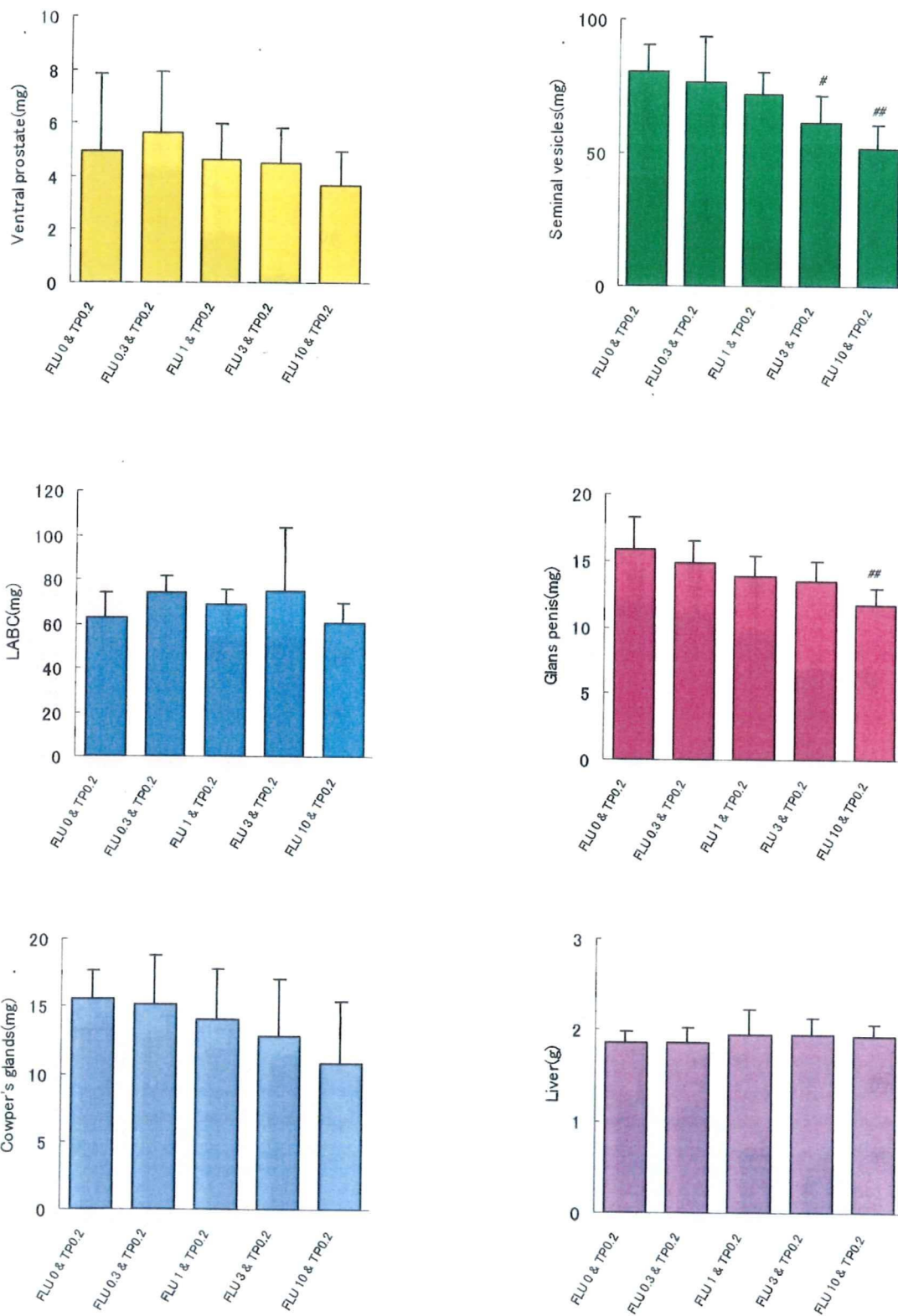


Fig.4 (C57BL/6J mouse)

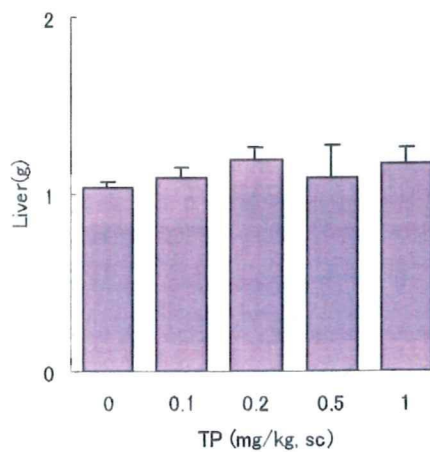
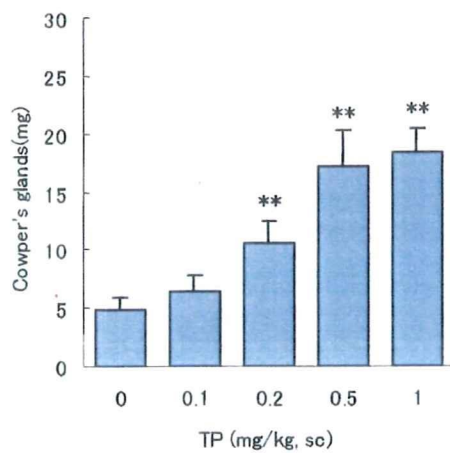
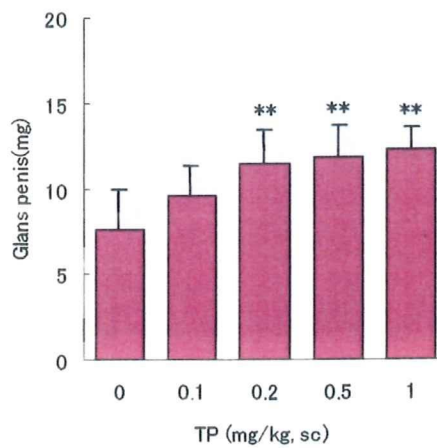
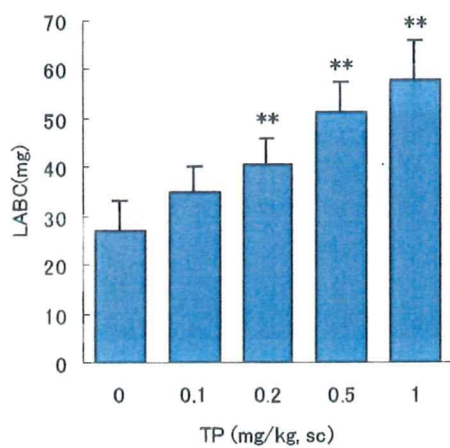
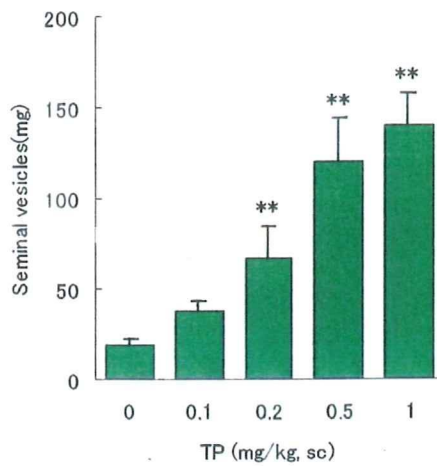
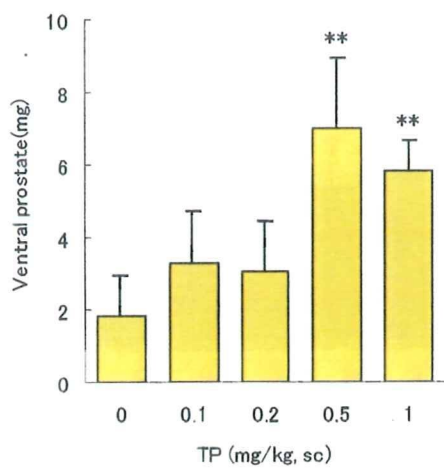


Fig.5 (C57BL/6J mouse)

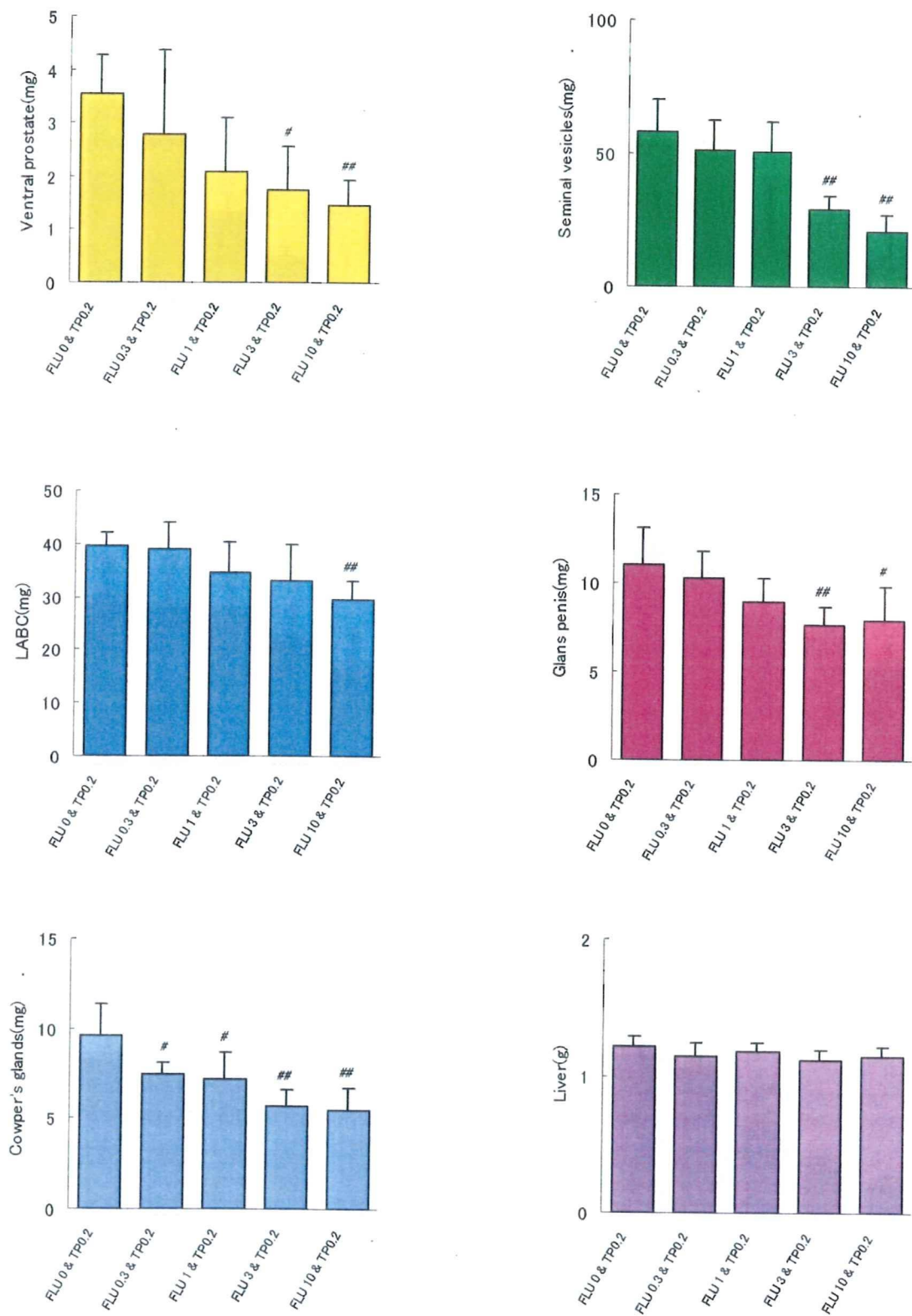


Fig.6

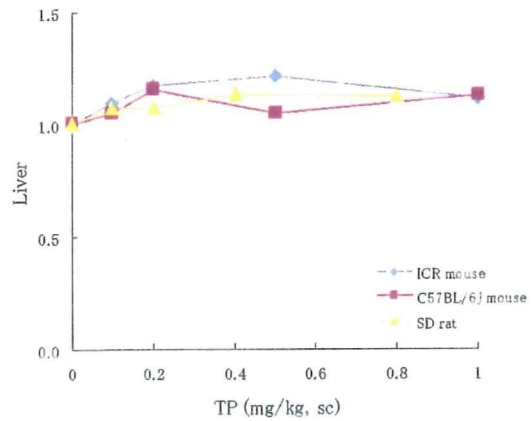
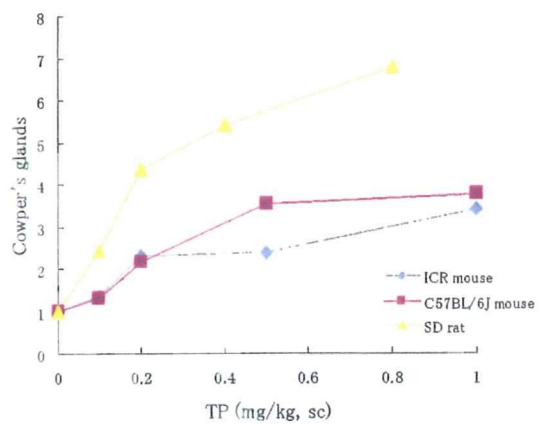
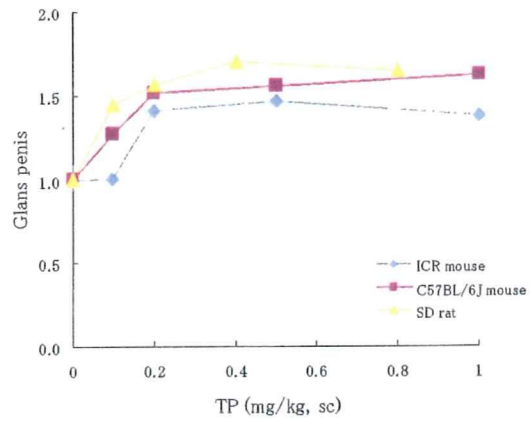
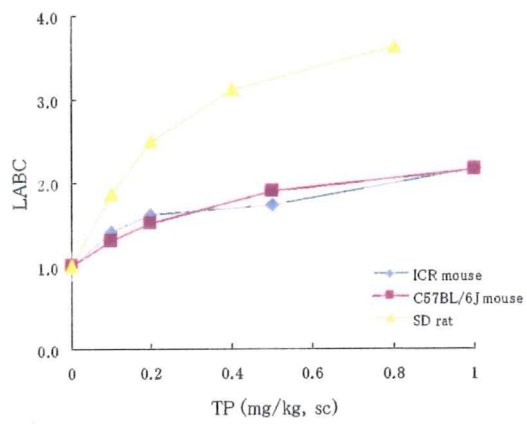
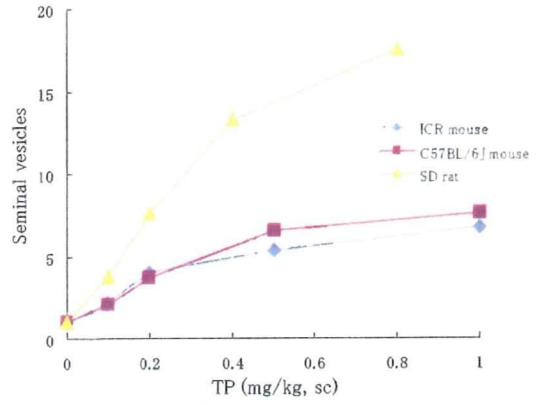
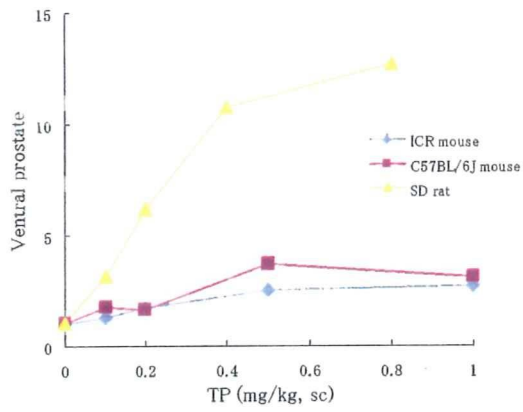
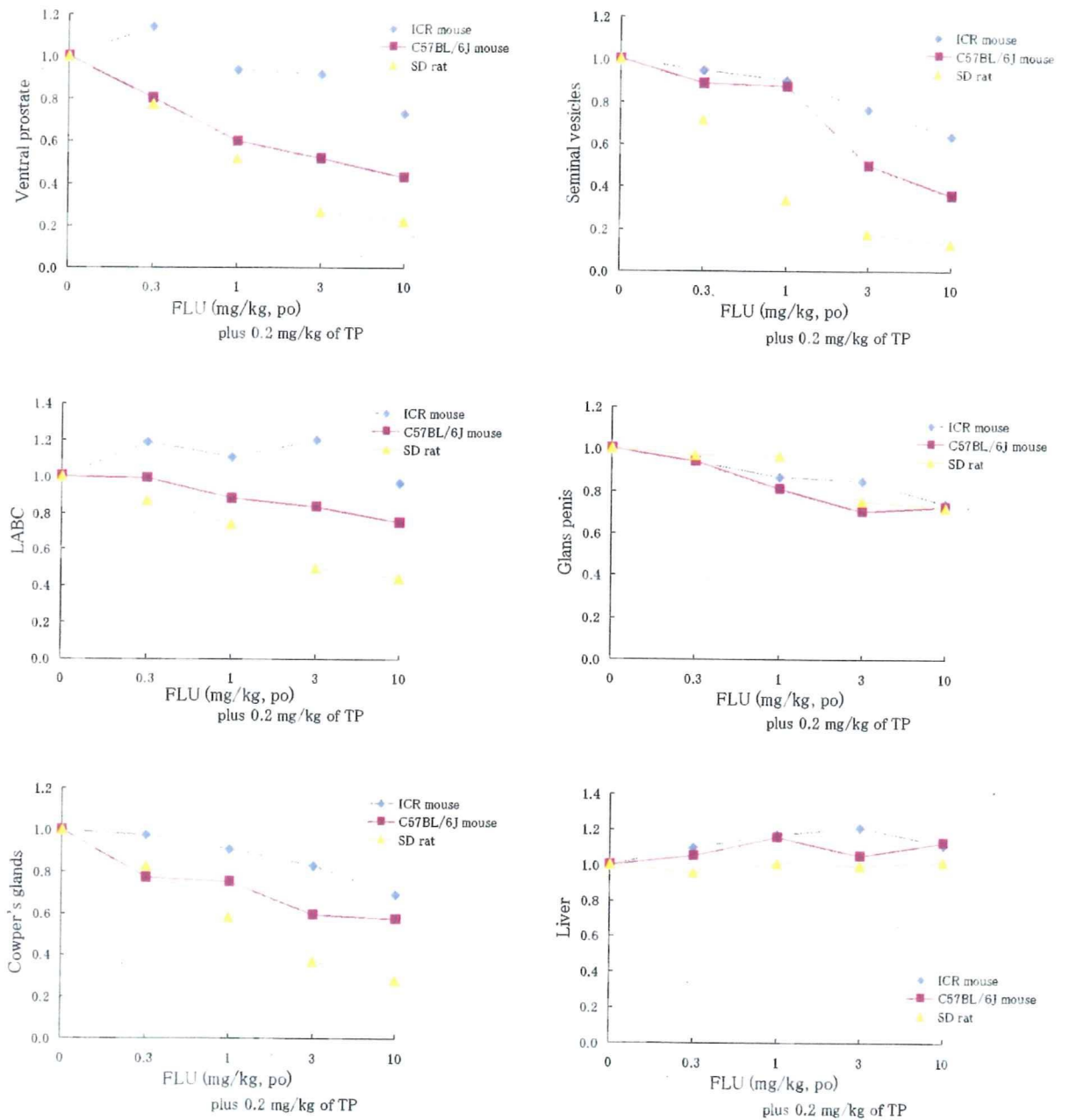


Fig.7



18. OECD/WHO 関連等研究ハーモナイゼーション総括

分担研究者 井上 達

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長

研究要旨 この分担研究では、経済開発協力機構 OECD と世界保健機構 WHO で進められている試験法の開発や基礎研究の推進の課題と、本邦における内分泌かく乱化学物質(EDC)問題に関する調査・研究とが、スムーズな国際相互協調の下で推進せられるよう、当研究班を通じて必要な情報収集を行い、また、本邦としての独自の情報の発信や提案を行うことを目的としている。ウェイブリッジ会議（「ヒトの健康と野生生物への内分泌かく乱化学物質問題のインパクトに関する欧州ワークショップ」, 1996）以降、これまで OECD と WHO は、WHO が EDC の定義の取り決め、リサーチ・インベントリの集約、およびグローバル・アセスメントの出版、OECD が試験法の開発を進めることで、相互に協調して活動を行ってきた。本年(2006)は、ウェイブリッジ会議十周年に当たるので、平成 18 年度は、これまでの到達点と今後の課題に関する討議が盛んになるものと予測される。ここではそうしたことを念頭に置いて、平成 17 年度の時点で報告されている諸国際組織や主立った研究団体における諸研究・諸活動の状況を整理することとした。

A. 研究目的

本分担研究の目的は、諸国際組織における現段階での研究・活動の到達点を整理し、今後の課題を明らかにすることにある。

経済開発協力機構 OECD と世界保健機構 WHO における内分泌かく乱化学物質問題での協調関係は、欧州委員会が「ヒトの健康と野生生物への EDC 問題のインパクトに関する欧州ワークショップ」（いわゆるウェイブリッジ会議, 1996）を主催した際、WHO はその定義の取りまとめ、リサーチ・インベントリの集約、ならびにグローバル・アセスメントの出版を進めることとし、他方、OECD が試験

法の開発を進めることを申し合わせた。

前者は、2002 年のグローバル・アセスメントの出版をもって一区切りをなし、後者については、本邦をリード国とした試験法、子宮腫大反応法のバリデーションが進んだほか、ハーシュバーガー法、試験管内試験法、さらには環境生物試験法の開発研究が次々と発足した。本分担研究では、諸国際組織における現段階での研究・活動の到達点を整理し、今後の課題を明らかにすることを目的としている。

B. 研究方法

平成 17 年度中に開催された経済開発協力機構 OECD と世界保健機構 WHO 関

連の国際会議を中心に、そこで報告された資料を整理した。

すなわち平成 17 年度の諸々の国際機関による会議は、昨年度の本研究班会議の報告書の末尾にも付したように、1月26日にブリッセルで開催された欧州議会による「EDC 問題の領域における国際共同行動を強化するためのワークショップ」にはじまった。ここではこの先のブリッセル会議以降、平成 17 年度中に開催された経済開発協力機構 OECD と世界保健機構 WHO 関連の国際会議を中心に、そこで報告された資料を整理した。尚、本資料は、化学物質の生体影響に関する基礎研究成果をトランスレーショナルに社会に対して公表してゆく上でも貢献するものと期待する。

C. D. 結果と考察

欧州委員会(EC)、世界保健機構化学製品安全計画 WHO/IPCS、経済開発協力機構 OECD (環境・健康・安全性部門)などを中心に報告されている EDC 研究活動の現状をまとめた。概略は以下の通り。

1. 欧州委員会(EC) :

欧州連合の EDC 関連の研究体制は、欧州委員会のもとに、食品のバイオ・農業問題・食品の品質にかんするカテゴリーEと、環境に関するカテゴリーIにまたがって運営されている。EC の中心研究施設としては、共同研究センター(JRC : イスプラ, イタリア)が、また、欧

州食品基準局(EFSA)や欧州環境機構(EEA)も共同組織として参画している。

研究費は、第5期研究プロジェクト(1999-2002)の時にはじめて本格的に算入され、当初の1700万ユーロから徐々に7200万ユーロまでのびた。第6期(2003-2005)に先だって国際ワークショップを開催し、これに基づいて本格的な研究の補助がはじまり、研究費も9600万ユーロ~1億2000万ユーロと急増した。2006から第7期(2007-2010)に入る方向で、この中で、カテゴリーIでは、EDC問題を既知の重要課題として取り上げ、健康対応をめざす「環境と健康の行動計画」への組み込みの準備が進行中である。また予算面では、E, I両カテゴリーで計約44億ユーロが要求されている。(欧州連合の総研究費は、678億ユーロ)。

これらの EC の補助によるこれまでの検討では、のべ18の団体(CASCADE, ATHON, SAFEFOODS, INTARESE, etc.)によって、100~1000万ユーロの規模で配分され、化学物質としては、製造過程非意図的産物(TCDD, PCBs, 難燃剤[PBDEs, HBCDD, TBBA, PBPs, TrBP, etc.]), 合成ホルモン(17 β -ethinylestradiol, estrone [E1], 抗男性ホルモン[flutamide など]), 家庭排出物(アルキルフェノール類[nonlphenol など]), プラスチック可塑剤(phthalates, bisphenol A, etc.), 農薬類(DDT, methoxychlor, etc.), 植物エストロゲン(genistein, etc.), 重金属類(cadmium, methyl mercury, etc.)などを対象にした生体影響

の検討が進行中。対象標的臓器としては、骨、歯、口蓋、唾液腺、前立腺、乳腺、卵巣、精巣、腎、副腎、甲状腺、脳、肝、心、生殖過程諸標的、神経行動諸標的、発がんプロモーション、免疫系諸標的が試験対象となっており、試験法として、非動物試験では、受容体結合、レポーター遺伝子発現、In vitro/Ex vivo 組織/細胞試験、アロマトーゼ/ステロイド合成試験、その他の in silico 試験が、動物試験では、ラットやマウスによるものでは OECD407、OECD416 による 2 世代試験、遺伝子改変動物を用いた試験など、その他では、ゼブラフィッシュ、ヒラメ、マス、ローチ、ヒメハヤ、バス(スズキ)、遺伝子改変魚類(ゼブラフィッシュなど)、カエル、ウズラなどが用いられている。

これらのプロジェクトの初期の課題については、すでに結果が報告されている。それらの概要をみると、リスク評価に関する課題 3 件、生殖に関する健康影響関連 3 件、神経発生関連 2 件、多臓器影響関連 1 件、試験法とその開発に関する課題 1 件、水棲野生動物関連 9 件、植物エストロジェン関連 2 件、ヒトへの影響 6 件、その他 4 件となっており(1 件、概ね 1 億円相当)、このうち資料の入手できたものについては、後段に内容を略記する。

2. 世界保健機構化学品安全計画 WHO/ IPCS の活動：

WHO の IPCS には、化学品の安全な

使用の為の科学的基礎を確立して、リスク評価の手法を改善させること、科学的認識を諸国の行政、実用的助言、ガイドランス作成などに反映(translation)させること、化学物質の安全性に対する国家の責任を強化すること、そして、環境・保健問題を明らかにすべく方策を打ち出すこと、などが責務として求められている。EDC 問題に関するグローバル・アセスメントの編纂は、この立場から、遂行された。

IPCS はその定義を提案することを手始めとした (**An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters the function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse effects in an intact organism, or its progeny or (sub)populations.**)。

続いて、アセスメントの編纂方針を、

①現存する査読保証付き(peer-reviewed)の既出文献を収集すること、②内分泌かく乱のメカニズムに焦点を宛てること、③グローバルな視野に立って編纂すること、④実証の重み付けによって因果関係の程度を判断する方法を採ること、⑤更なる研究の必要性を明らかにすることを通じて国際的な共同研究を促すこと、などとした。

尚、上記の実証の重み付け方式の採用には、メカニズムを限定することなく(例えば受容体原性の如何を問わず)、多くの観察箇所でも多くのメカニズムを通じて観察されることを包括すること、EDC はそれ自体毒性標的を持つものではないが、機能的な変化が障害性の影響へと導くことがあること、内在性ホルモンと外

来性のホルモン様の影響の相互関係は単純でないこと、生体にとって天然ホルモンと合成ホルモン様作用物質の区別はしばしば簡単ではないと考えられること、などを念頭において検討がなされた。

結果として、以下の4点を結論とした。①しかるべき環境化学物質は、分かっているメカニズムの範囲で内分泌過程の障害を起こし得ること。②野生生物に関する限り、内分泌系に由来する障害が引き起こされたと判断される十分な事象が存在すること。③そうしたデータは、主として先進国に多いが、発展途上国での使用と曝露はさらに高いことも予想されること。④他方、EDCのヒトへの影響については、一般的にナイか、もしくははっきりしない。しかし、実証の重み付けによる検討結果は、潜在的な障害性を示していること。

グローバル・アセスメントは、さらにこのまとめにかけているものとして、グローバルな視点からの、曝露データと曝露評価、そしてその障害発生因果関係、諸国に於けるモニタリング/ヒト健康サーベイランス、生体の感受性臨界点、発展途上国におけるデータ、植物エストロゲンや phthalate や alkylphenols など(臭化物などを含む)の非難分解性化学物質への曝露データ、などがあることを指摘することとした。

グローバル・アセスメントにより、その時点での認識は明確になったが、認識が整理されただけであって、多くの課

題が残されている。

3. 経済開発協力機構 OECD(環境・健康・安全性部門) :

試験法評価委員会(EDTA Task Force)の設置 : OECD は、これまでも化学物質に対する様々な試験法ガイドラインを整備してきたことの延長線上に立って、EDC に関する試験法の開発に取り組み、特別のガイドライン作成プログラムを組んできた。すなわち専門家による EDC の試験法評価委員会(EDTA Task Force)を設置し、EDC に関連するすべての作業を監督する事としたほか、この EDTA の下に 1999、2000、2001 と相次いで、哺乳綱(VMG-mammalian)、環境生物(VMG-eco)、非動物試験(VMG-Non-Animal)の3つのバリデーション運営委員会(VMG)をそれぞれ設置した。

各種試験系の検討 : これに先立って、各種の試験系の検証、開発、バリデーションに入った。動物試験系については、エストロゲン様化学物質の試験系として子宮腫大反応法を、男性ホルモン系についてはハーシュバーガー法を選定して、バリデーションを開始したほか、OECD TG407の改良にも着手した。

試験法樹立の試み相互の骨格概念(フレームワーク) : OECD の EDC に関する取り組みと、種々のガイドラインや新規のスクリーニング試験法樹立の試み相互の骨格概念は、2002 の EDTA6 の際に成立をみた。そこでは、試験法の対象概念

を、既存データによる準位付け(レベル1)、メカニズムデータを与える試験管内試験(レベル2)、個別の EDC メカニズムを与えるような個体レベル試験(レベル3)、種々の EDC メカニズムの情報を与えるような個体レベル試験(レベル4)、EDC メカニズムのデータを通じて障害性影響をも提供するような個体レベル試験(レベル5)、など便宜的に5つに区分した。既存のデータにもとづいて、これらのいずれのレベルから試験を開始することも可能であるし、試験の実施法の面からも評価は、ケースバイケースで行うことなどが申し合わせられている。

バリデーション活動としては、非動物試験系(NA)では 25 件の作業計画がたてられている他、バリデーション作業をそれぞれの VMG が組織し、運営に当たっている。尚、それらのガイダンス化の際には、基礎となる実験が可能な限り GLP 下で行われるべきことなどを含む、Solna 会議(1996)やこれをフォローした Stockholm 会議(2002)での申し合わせに沿って進めることが確認されている。

以上を基礎として、VMG-NA、VMG-mammalian、VMG-eco の各 VMG は、つぎのようにさしあたりの方針を立てている。

VMG-mammalian は、子宮腫大反応試験のピアレビュー報告を整理して、TG に発展させること、ハーシュバーガー試験における対アゴニスト、対アンタゴニストデータを最終化すること、TG407 試

験の改良、生殖試験系 TG414/415 などの結果を基礎に EDC に対する更なる評価指標となり得る生体反応を検討する、などを決めている。

VMG-eco は、魚類試験では、21 日スクリーニング、性腺発達試験、2 世代生涯観察試験、両生類ではアロマターゼ変態試験、ミジンコ類(copepod)発生ならびに生殖試験、改良オオミジンコ生殖試験、アミ類(mysid) 2 世代試験、鳥類生殖試験、などを計画している。(尚、動物種の選定については、本邦のそれと異なる点があり、本邦にあつては、水棲無脊椎動物では巻き貝や、ミジンコ、ユスリカなどで、小型魚類ではメダカによるデータが集積している。

VMG-NA では、ER と AR に関するハイスループット試験(HTPS)としての結合試験が米国・EC・日本の共同で進んでいる。ヒトの組換え受容体結合試験につながるラットの子宮・前立腺細胞質試験やラットやヒトの種々の受容体結合試験がこれに当たる。また、同じく HTPS 化のためのレポーター遺伝子や転写活性化試験(米国・EC・日本の共同)。HTPS をにらんだ H295R ステロイド合成試験(米)。KGN 細胞系を用いたアロマターゼ抑制/誘導試験の HTPS 化(日米)。この他、VMG NA ED QSAR テストガイドラインの樹立：高品質のデータベースへのアクセスを目標とし、ヒト組換え受容体結合試験を基礎とした ER や AR の QSAR を樹立する (VMG NA ED QSAR テストガ

イドラインは VMG NA の下で作業、OECD QSAR ad hoc グループへ報告)。

4. 欧州代替法試験バリデーション委員会(ECVAM) :

ECVAM ED タスクフォース(2003)の活動 (座長 Daniel Dietrich、他、産官学より 9 名の専門家で構成; 事務局: Thomas Hartung 他) : ①OECD ED の子宮腫大反応試験へのピア・レビュー報告、②ハーシュバーガー試験結果へのコメント対応。

ECVAM -US EPA-化評研 共同プレバリデーション試験の推進: OECD 共同エストロジェン/アンドロジェン受容体タンパク結合試験)として、①Pan Vera hrER タンパク(米, 欧, 日の 3 施設)、②Pan Vera rat AR タンパク(欧, 米より 3 施設)。

ECVAM プレバリデーション試験: エストロジェン、アンドロジェン転写活性化試験として、①ヒト乳がん細胞(T47D 細胞)を用いた ER-Calux、②ヒト乳がん細胞(MCF7 細胞)を用いた MELN、③骨組織細胞系(U2OS 細胞)を用いた AR-Calux、および、④前立腺癌細胞系(PC3 細胞)を用いた PALM。

物質選定基準: 尚、上記のバリデーションの対象選定基準としては、・従前の in vivo/in vitro の十分なデータが存在すること、・受容体原性反応の証左のあること、・アゴニストとアンタゴニストの両面からの検討の保証、・代謝関連のデータのあること、などに重点をおいて

いるとの報告である。(また、実際上は、物理化学的特性の異なったカテゴリーが存在すること、十分な供給源、十分な純度(>90%)、isomers の混入のないこと、標準溶媒に可溶であること、充分量の供給、コスト面での現実性などを考慮せざるを得ないとしている。)

選定化学物質: これまでに選定されているリスト化された化学物質は、ICCVAM 78, METI/Jpn 935, OECD 16, HPV-challenge program 2800 など。(個別化学物質は省略)

ECB/ECVAM の(Q)SAR 研究: ECVAM としての(Q)SAR 関連の集会は、Sept 2004, May 2005, July 2005, Dec 2005 と進められている。ECVAM における研究骨格の基本は、ECB への外部委託による ER/AR (Q)SARs の検討を 2005 末までに終了し、さらに(Q)SAR バリデーションの基本をまとめ、(Q)SAR 関連語彙の収集をすすめ、(Q)SAR バリデーションに関するガイダンスをまとめることにより、OECD の活動に対して貢献することを、(Q)SAR 関連の今後の研究方針としている。

尚、他の機関と同様 ECVAM でも、これらの研究を in silico 分子モデルに拡張すべく計画をたてている。

5. 米国環境防護庁(US-EPA):

US-EPA が ECD 研究を推進する理由として、①環境中へのホルモン様作用を持つ人工化学物質の曝露は、ヒトや野生

生物に対して有害性影響を引き起こすことがすでに示唆されていること、そしてそれら化学物質への警戒は EPA とそのスポンサー機関(e.g., TSCA, FIFRA, FQPA, SDWAA)の責務であること、EDC に関する人類の認識に多くの不確実性があること(例えば、①発生・生殖面での影響や、発がん、神経発達への影響の基本原理、②野生生物の減少などへの影響の程度が計り知れないこと、③用量相関に関する相関の型や性質、など)などをあげている。

研究の必要な領域： ①ヒトへの影響とその強さを明らかにすること、②ヒトや野生生物の ECD への曝露に対する特徴付けを方法的に改良すること、③より”definitive”なスクリーニングを進めるための基礎となり、HTPS の発展につながるようなより根本的に改善された電算生物学を樹立すること、④種々の生物を横断的に外挿出来る毒性学的パスウェイの解明、⑤EDC 問題に対応する用量における用量反応相関の特徴付け、⑥不合理なリスクを軽減もしくは無くすためのツールの検討、複数多種、混合の ECD に対する曝露影響の特徴を明らかにするための方法の開発に関する研究。

現段階でのレギュラトリー面での研究の必要性： EPA で設定している EDC のバリデーションとスクリーニングを完了することに、最もさしあたりの重点を置いている。

他年次長期研究のゴール(Multi-year

Long Term Goal)： US-EPA は、他年次長期研究のゴールとして、①EDC に対する曝露、評価、管理に関わる科学の面で、よりよい理解を獲得すること、②ヒト、野生生物、環境そのもの、への EDC の衝撃的な影響の程度を明らかにすること、③もって EPA のスクリーニングと試験法のプログラムを科学的に支えること、などを設定し、この問題が短期的な研究で解決し得ないものとの理解に立っている。

長期研究のゴール(LTG)への核心的な疑問： この点に関する論点としては、

・科学面からのよりよい理解のための課題としては、

- ①用量相関関係がどうなっているのか？
- ②用量相関外挿のツールはあるのか？
- ③混合影響、
- ④不合理なリスク管理の排除、
- ⑤リスク評価への展望、などを設定し、現段階での広汎な実験結果を紹介している。また、

・有害性影響の程度に関する課題 については、

- ①どんな影響がヒトや野生生物群集に引き起こされているのか、
- ②曝露の確定評価法
- ③問題となる化学物質カテゴリー化
- ④主たる発生源とその運命、などを掲げている。

また、これと別に、もしガイドラインを作成するとすれば、どんなことが必要要件になるのか、についても研究課題であることを指摘している。

6. 独連邦環境局(UmweltBundesAmt):

研究の必要な領域: ドイツ連邦環境局によれば、性ステロイド物質のアゴニスト/アンタゴニストの EDC 作用、特に、免疫系および発達神経系の研究が今、最も重要性を増していると考えている。また、環境と健康のマーキング領域で重要性を増している問題として、子供の発育のための自然・社会環境と化学物質環境の相互関係に関する研究がある、と考えている。さらに、近々中の国際的ワークショップでは、これらの問題に関する集中討議が有益であると提案している。

レギュラトリー面での必要性: EDC の疑われる物質のリストの作成、EDC の評価のための評価ツールの確立、欧州圏内の EDC モニタリング方法の協調討議、などが重要であるとしている。

附 1. 注目される個別プロジェクト:

冒頭にも述べた EC の補助による種々のプロジェクト研究を始め、個別プロジェクトでも注目すべき成果が報告されている。本報告の最後に、いくつかのプロジェクトでの進行中、もしくは終了した成果を略述する。

①プロジェクト EDERA (A. Maggi : ERE-Luci マウスによる多臓器リスク評価): ミラノ大学の Adriana Maggi の研究 (Development and implementation of new in vivo and in vitro systems for the characterization of endocrine disrupters) では、

ERE・ERE と Luciferase 遺伝子を繋いで MAR カセットに入れて、レポーターマウスを作製し、in vivo における全身臓器での ER の発現を観察するツールを開発した。E2 の場合、その活性は数~十数時間オーダーで消退する即時型の反応であり、他の方法での結果との比較から、この光学的イメージングの定量性が確認された。このものでの genistein (30mg/kg s.c.) の影響は、肝などでは機能的に estradiol(5.5 ug/kg s.c.) と同等の分布様式であったが、胸腺や生殖器では genistein の方が相対値が高かった。また、授乳期の母マウスに p,p'-DDT と o,p'-DDT を投与すると、哺乳マウスでの p,p'- DDT と o,p'-DDT の分布が異なるが、肝と脳とでの対照との相対関係は、外挿困難な程大きな差異が観察された。長期投与の場合、非生殖関連臓器以外での ER の転写活性が顕著に上昇していた。

②プロジェクト EURISKED (Wuttke: ARE-Luci マウスによる多臓器リスク評価): ゲッティンゲン大学の W. Wuttke は、作製したマウスに、植物エストロゲン 7 剤、可塑剤 2 剤、紫外線吸収剤 3 剤、農薬 3 剤などの中から選別してコンソーシアムを作って、種々の臓器への影響を共同測定した。(詳細な結果は未着)

③プロジェクト EDEN(A. Kortenkamp: 低用量・混合効果): ロンドン大学の Andreas Kortenkamp は、ヒトと水棲野生生物の双方について、低用量の複数化学物質を作用させて、有意な反応結果を得

て報告している。Rajapakse N, Silva E, Kortenkamp A. Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. Environ Health Perspect 110(9): 917-921,2002 / Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A. Something from “nothing”- eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. Environ Sci Technol 36(8): 1751-1756,2002

④ プロジェクト BONETOX (H. Haokansson:骨形成影響): カロリンスカ研究所の Helen Haokansson は、”Bone development and homeostasis-critical targets in toxicology. Research to support test method development and human-health risk assessment for dioxins and other endocrine-disrupting compounds in the food chain.” との課題で、EDC のヒトの骨形成に対する影響研究を行っている。TCDD 類や selected EDC で仮骨化/石灰化の遅延が認められるが、その作用用量は、ヒトとラットとに同等の生物効果を与える相対濃度に差が見られ、ヒトでのそれはラットの 10^{-2} レベルであった。

附 2. US-EPA LTG 研究の進展の概略:

US-EPA の Multi-Year Plan の Long-Term Goal は、2000-1012 会計年度の計画で、3つの目標からなる。ここに示す概略は、その第1目標 129 項目の中から重要な計画や一部結論のすでに出ている課

題を抜き出したものである。

①EDC として振る舞う化学物質のクラス分け:(抗)アンドロジェン類、エストロジェン類、抗甲状腺剤、ダイオキシン様化学物質, ect. が適当。

②疑いのないいくつかの EDCs における MOA (mode of action)の検討:汎用除草剤 atrazine、防黴剤 vinclozolin に関する結果は、EPA のリスクアセスメントや恕限度設定の改善におおいに貢献した。

③アンドロジェン/抗アンドロジェン研究のパイオニア・スタディの推進: AR アンタゴニストとしての vinclozolin や linuron は、胎生期の testosterone の合成を低下させること、AR アンタゴニストで且つ p450 抑制剤の phthalates や linuron は、testosterone の合成を低下させること、がわかった。

④結果のパターン予測に資する分別判断: AR アンタゴニストによる尿道下裂、乳腺乳頭の遺残、前側前立腺の形成不全; 合成阻害剤の、Leydig 細胞との共同作用による精巣下降障害。

⑤EDC の累積リスクに関する研究方法のモデル研究(=子宮内アンドロジェンシグナルをかく乱する化学物質を用いて): ①phthalate 類と AR アンタゴニストの混合物(mixture)についての検討。②効果が用量加算的であるもの。③MOA 類似化学物質毎の研究により、システムの生物学の理解を進展させ、新たな視点に立った TEF のアプローチを確立すること。

⑥(血清チロキシン濃度に対する効果

で見た) PHAHs 混合物の効果研究 : ①実験デザイン : 個々の化学物質に関する用量反応データの精力的な集積。環境中の試料における濃度と存在比に基づく混合物の設定。Berenbaum の方法(1989: Berenbaum MC. What is synergy? Pharmacol Rev 41: 93-141.)にある相加効果(SCR モデル)に基づく混合物データのモデル化(EPA/630/R-00/002:Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures-Risk assessment forum technical panel.)。(対象 : TCDD, PCDD, TCDF, PCDF, OCDF, PCB28, PCB52, PCB77, PCB101, PCB105, PCB118, PCB126, PCB138, PCB153, PCB156, PCB169, PCB180) ②結果 : 甲状腺ホルモン(T4)で観察する短期スクリーニングは、様々のメカニズムによって甲状腺ホルモン濃度を変化させた。それらの混合試験では、相加理論は、調べた 18 の化学物質の混合物の効果をよく予測した。結果は甲状腺ホルモンかく乱化学物質の累積効果を示唆している。

⑦異常生殖発生の細胞-、分子生物学的メカニズムの特徴に関する研究 : EDC の精巣発達過程ならびに引き続く雄性生殖への影響—系世代影響を中心に。

⑧思春期発達における変化や、飲料水の滅菌副産物(DBP)への発生期における曝露の後の、生殖機能における曝露効果相関についての研究。

⑨脊椎動物における第 3 のエストロジェン受容体の発見と、エストロジェン

や外来性エストロジェンが膜レベルで作動することに関する研究。

⑩環境中相当濃度の EDC への曝露による用量反応関係の検討 : ①in vitro や in vivo において、U-型(Ankley et al. 2003)、あるいは逆 U-型用量反応カーブ(Wolf et al. 2002) は、決して稀ではないことが明らかになっている。②また閾値については、多くの反応カーブが低用量レベルで直線(linear)関係を示したものの、vinclozolin に対する他の反応系で閾値を示すものが見いだされている(Gray et al. 1999)。(Ankley et al. 2003. Environ Toxicol Chem 22(6): 1350-60 / Wolf et al. 2002. Toxicol Sci 65(1):71-86. / Gray et al. 1999. Toxicol Ind Health 15(1-2): 48-64.)。

⑪ステロイドホルモン=シグナル経路のかく乱を通じたマトリックス・メタロプロテイナーゼに対するダイオキシン類の影響に関する研究(=曝露の分子標識の樹立) : ①環境化学物質 (Perchlorate, PBDE-71, Linuron, PCBs, Dioxin-like chemicals, PTU, Methimazole, PFOS, PFOA など) の甲状腺ホルモンのホメオステシスを標的とした影響。②結果 : 新生仔血清チロキシン濃度と聴覚障害に相関関係が見いだされた。③今後の課題 : 免疫系などより高感受性の分子標的を探索すること。

⑫種間横断的外挿の可能な検索手段 : 内分泌系の要素のあるものは、細胞学的にも分子レベルでも高度に保存されている。他方、内分泌かく乱現象の側から見ると、種毎の影響差が少なくない。

種間交差性の程度と範囲を明らかにする研究を行う必要がある。①アンドロジェン、エストロジェン、甲状腺のホルモン経路は、すべての脊椎動物に存在する。②ステロイド合成系は、脊椎動物・無脊椎動物を問わず共通している。③無脊椎動物門には、脊椎動物門にない内分泌経路も存在している(ニジマスやファットヘッド・ミノーにおける細胞基質 ER 結合性；ラットやファットヘッド・ミノーにおける合成アンドロゲン trenbolone acetate [TA]の生殖影響への役割などの影響確認を行う意義がある。尚、TA は、環境中での分解性が低い。)

⑬脊椎動物から非脊椎動物、哺乳綱から非哺乳綱動物に亘る種々の動物種での A ファットヘッド・ミノー機能の比較：①計画：ニッポンウズラ・レオパード・フロッグやオオミジンコの cDNA ライブラリ、チンパンジーの cDNA ライブラリ、アメリカアリゲータや湿性マキガイの ER や AR の単離、ファットヘッド・ミノーの ER の塩基配列、ニジマスの ER・ニジマスの AR およびファットヘッド・ミノーの AR の種間相互の比較。

E. 結論

内分泌かく乱化学物質問題は、1) 化学物質がヒトを含む哺乳綱動物の内分泌系に影響を与える可能性への疑問(メカニズム)、2) 動物実験で影響の見られない低用量での影響への疑問(低用量特異性)、3) 実環境中での曝露実態への

疑問(曝露評価)が当初から投げかけられていた疑問であった。グローバル・アセスメントの編纂過程で 1500 件を超える報告を検討する中で明らかになったことは、世界の事例の中では、これらのいずれかの条件が崩れた時に、ヒトを含む様々な生物に内分泌かく乱現象が現実起こっているという事実であった。そして、全ゲノム解読の終了とともに、ヒト以外の他の種に惹起され得る事象は、種を超えた危惧を持つべきであろうという生物学的蓋然性のもとに、内分泌かく乱化学物質問題を既知の事象として、それらに対応した研究施策を図らなければならないであろう、という認識であった。

しかしながら、この認識は、未検討のまま論理が展開されており、臨界点曝露情報、開発途上国における曝露実態、相乗・相加効果の如何、などの基礎とともに、リスク評価の展望などがまったく検討から除外されている。平成 17 年、1 年間の研究の進展を見ると、それらが少しずつ埋まってきているようである。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 原著

Yoon BI, Kaneko T, Hirabayashi Y, Imazawa T, Hishikawa A, Kodama Y,

- Kanno J, Yodoi J, Jeong-Hee Han JE, Hirose H, Inoue T (2005) Electron microscopical evidence of the protective function of thioredoxin (Trx/ADF) transgene against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)-induced cellular toxicity in the liver and brain. *J Toxicol Pathol* 18, 41-46.
- Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, Inoue T (2005) Benzene-induced hematopoietic toxicity transmitted by AhR in the wild-type mouse was negated by repopulation of AhR deficient bone marrow cells. *Organohalogen Compounds* 67: 2280-2283.
- Yoon BI, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Tsuboi I, Ott T, Kodama Y, Kanno J, Kim DY, Willecke K and Inoue T (2004) Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells. *Toxicology*, 195, 19-29.
- Tsuboi I, Morimoto K, Hirabayashi Y, Li GX, Aizawa S, Mori KJ, Kanno J and Inoue T (2004) Senescent B lymphopoiesis is balanced in suppressive homeostasis: decrease in interleukin-7 and transforming growth factor-beta levels in stromal cells of senescence-accelerated mice. *Exp Biol Med (Maywood)*, 229, 494-502.
- Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, Kanno J and Inoue T (2004) Mechanism of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: current review with implication of microarray analyses. *Toxicol Pathol*, 32 Suppl 2, 12-6.
- Lamb JCI, Koeter HBWM, Becker R, Gies A, Davies L, Inoue T, Jacobs A, Lyons G, Matsumoto M and Timm G (2003) Risk management options for endocrine disruptors in national and international programs. *Pure Appl Chem*, 75, 2549-2553.
- Hirabayashi Y, Yoshida K, Aizawa S, Kodama Y, Kanno J, Kurokawa Y, Yoshimura I and Inoue T (2003) Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 190, 251-61.
- Hirabayashi Y, G.X. Li, B.I. Yoon, Y. Fujii-Kuriyama, T. Kaneko, J. Kanno and Inoue T (2003) Aryl hydrocarbon receptor (AhR) mediates benzene-induced hematotoxicity by participating in the induction of CYP2E1 for

benzene metabolism. *Organohalogen Compounds*, **64**, 270-273.

2) 総説

Inoue T, Igarashi K and Sekizawa J (2003) Health hazards of endocrine-disrupting chemicals on humans as examined from the standpoints of their mechanisms of action. *JMAJ (Japan Medical Association Journal)*, **46**, 97-102.

Inoue T (2003) Hormonally active agents and plausible relationships to adverse effects on human health. *Pure Appl Chem*, **75**, 2555-2561.

井上 達. 環境生体応答-Toxicogenomics 「はじめに」、医学のあゆみ, 213(4): 221, 2005

井上 達. 医薬品の毒性評価、その未来 - 実験動物と動物試験の展望, *Biophilia*, 1(1), 51-57, 2005

井上 達. 毒性学の現状と展望 - あたらしいバイオサイエンスとしての生体異物応答科学. *科学*, 74(1), 18-23, 2004.

井上 達. 内分泌攪乱物質. *小児科*, **44**: 634-635, 2003.

3) 書籍

Hirabayashi Y and Inoue T (2005) Chapter 24. Toxicogenomics Applied to Hematotoxicology. In Borlak J (ed.), *Handbook of Toxicogenomics*. Wiley-VCH, Verlag GmbH, Weinheim, pp. 583-608.

Inoue T (2003) Introduction: Toxicogenomics - a New Paradigm of Toxicology. In Inoue T and Pennie WD (eds.), *Toxicogenomics*. Springer-Verlag Tokyo, Tokyo, pp. 3-11.

井上 達, 井口泰泉編: 『生体統御システムと内分泌攪乱』シュプリンガー・フェアラーク東京、東京、2005, pp321.

井上 達. 環境ストレス応答と生体ホメオスターシス - 総論. 別冊・医学のあゆみ『レドックス・ストレス防御の医学』淀井淳司、松尾禎之監修. 医歯薬出版株式会社. pp194-199, 2005.

井上 達. 序章 化学物質と健康-低用量問題. In: 環境ホルモンの最新動向と測定・試験・機器開発、井口泰泉編、株式会社シーエムシー出版、東京 (2003) pp. 3-10.

2. 学会発表

Inoue T: Views of the state of art in inter-ministries and international collaboration of Japanese endocrine disrupter research.

European Commission “Enhanced international Collaboration in the Field of Endocrine Disrupters: How to Do It in Practice?” (2005.1.26)

井上 達：医薬品の環境影響について。
平成16年度試験検査センター技術講習会(2004.12.16)

井上 達：「トキシコロジーの国際潮流 “Animal Welfare Issue”」動物実験と科学 討論の序にかえて。
第27回日本学術会議 トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム (2004.11.25)

Inoue T: The Use of Toxicogenomics data in risk assessment– Potential applications of Toxicogenomics in risk assessment–. The 5th Princess Chulabhorn International Science Congress (2004.8.22)

Inoue T: Toxicogenomics as a tool of predictive toxicology.

10th International Congress of Toxicology. (2004.7.13)

Inoue T: Symposium 5 Pharmaco- & Toxicogenomics Symposium: Strategy of predictive toxicogenomics – a reverse toxicogenomics.

The 61st Annual meeting 2004 of the Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology. (2004.5.27)

Inoue T: Strategy of toxicogenomics with respect to toxicologic endpoints, pathodiagnostics and risk assessment. 2004 Spring Symposium and slide conference on Korean Society of Toxicologic Pathology. (2004.5.14)

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし