

BPA は、E2 や TGF \cdot と同様に前立腺の異常増殖性疾患である SQM を誘導し、その頻度・程度は泌尿生殖洞間充織細胞における ER \cdot の発現・分布と一致していた。また、BPA が前立腺の SQM を誘導すること、さらに TGF \cdot の発現誘導や前立腺の領域特異性による感受性の差と関連付けた報告はなく、全くの新たな知見と考えられる。

EI-4. 低用量発がん：発がん二段階法を用いた低用量発がんの検討（福島）

肝臓における α -BHC 単独投与による前がん病変の発生、酸化 DNA 障害および代謝酵素のレベルが 50 ppm までは対照群と差がなく、500 ppm で有意な増加を示した。このことは α -BHC のラット肝発がんの作用には発がんの閾値が存在することを示唆している。また、本実験で α -BHC のホルミシス現象が見られなかったのはイニシエーションを受けずの 0 ppm α -BHC 対照群での GST-P 陽性細胞巢の発生が非常な低値を示したためと考えられる。

さらに、500 ppm 投与群において特異的に異常発現している 135 個の遺伝子が α -BHC のラット肝発がんに関係すると考えられる。

EII. 基盤研究

EII-1. 生殖・ステロイド代謝部門：（井口、笹野）

EII-1.1. 雌性生殖器官への作用メカニズムの解明（井口）

マウス雌性生殖器官のエストロゲン応答遺伝子は個体の発育につれ大きく変化することが明らかになった。すなわち、エストロゲンが不可逆的な影響を及ぼしうる出生直後の臨界期では、発現が変動する遺伝子は限られており、成獣で応答する遺伝子群とも異なっていた。これら新生仔期特異的にエストロゲンに応答する遺伝子は、エストロゲン曝露による不可逆的な影響の誘発に関与している可能性が高く、現在その解析を進めている。

こうした解析において、今回確立したクロマチン免疫沈降法によるターゲット遺伝子の同定や、関連遺伝子の探索は有効な手法として重要な位置を占める。

また・・・による影響も、臨界期におけるエストロゲン作用を理解する上で対照ともなる現象であり、今後の詳細な解析が必要である。

EII-1.2. 低用量の内分泌かく乱物質とヒト性ステロイド代謝との関連性に関する研究：ヒト由来のエストロゲン受容体 (ER) 陽性細胞を用いたエストロゲン作用の新たな展開について（笹野）

ヒト骨芽細胞の細胞増殖、細胞死に対して種々の内分泌かく乱物質の与える影響を検討する本研究では内分泌かく乱化学物質がヒト骨組織に影響を及ぼすことを示唆するものであった。又その影響は化合物によって質的な差を示した。

内分泌かく乱化学物質は胎児組織、生殖系（生殖能）、神経系に対しては

重要な影響をおこす事が報告され、その健康被害に注目されている。同じく重要な性ステロイド標的組織である成人、胎児、小児の骨組織に対する影響は、他種の生物への影響から推測されているが、科学的な検証は殆ど行われていない。今回の研究では内分泌かく乱物質のヒト骨芽細胞に対しての影響の一部を明らかにすることができたが、今後、さらなるメカニズムについて詳細な検討が必要であると考えられた。

E11-2. 免疫・感染防御系：(廣川、山崎)

E11-2.1. 低用量内分泌かく乱化学物質の免疫系に及ぼす影響に関する研究(廣川)

低用量 BPA が子宮内胎仔死亡をもたらし、又胎仔胸腺ストローマの遺伝子発現に大きな変動を起こす事がわかった。

1. 妊娠マウスに低用量の BPA を含む飲料水を摂取させると、子宮内胎仔死亡が起こる。
2. 胎盤を経た低用量 BPA は胎仔胸腺に作用し、胸腺リンパ球の増殖の抑制と分化の抑制をもたらす。
3. 胎盤を経た低用量 BPA は胸腺ストローマに作用し、胸腺リンパ球の増殖分化に関連する複数分子の遺伝子発現を低下させる。
4. 胎盤を経た低用量 BPA は胸腺ストローマに作用し、複数のホルモン受容体の遺伝子発現を増強させる。

E11-2.2. 内分泌かく乱物質の免疫機能に及ぼす影響及び低用量影響に関する

研究 (山崎)

リンパ球への影響については Jurkat 本研究の結果から、低濃度の内分泌かく乱物質がマクロファージの遊走能を増加させることが明らかとなった。

すなわち、マクロファージの遊走能は、NP、BPA、BBP、DBP、DCHP、DEHP、DEP 存在下で低濃度で増加した。また、TNF α 産生も増加させた。

E11-3. 神経系・行動系：(菅野、粟生)

E11-3.1. 神経系初期発生における核内受容体の機能及び内分泌かく乱化学物質の低用量影響に関する解析(菅野)

胎児期のエストロゲン様化学物質への暴露により、神経幹細胞の自己複製能、分化能に影響が生じることが示唆された。また、胎児神経幹細胞では核内受容体 TRa が高発現しており、実際に甲状腺ホルモンが作用を発揮しオリゴデンドロサイト分化を促進することが示された。神経幹細胞で高発現している核内受容体は他にも PPARbeta, RVR, GR, COUP-TF1, TR4 などがあり、これらの神経幹細胞における生理機能を調べ、これら受容体に作用する化学物質が神経幹細胞に及ぼす影響を今後検討してゆく。

E11-3.2. 内分泌かく乱物質の神経行動学的評価とその脳内機序の解明(粟生)

BPA は耐用 1 日摂取量以下でも探索行動の性分化を障害し、うつ反応を増強する。前者は胎生期が臨界期であり、うつ

反応の増強の臨界期は新生児期と考えられる。1-BP も新たな内分泌攪乱物質の可能性が高い。

E11-4. 核内レセプター系：(加藤、Parhar)

E11-4.1. 核内性ステロイドホルモンレセプターによる転写制御の影響に関する研究(加藤)

性ホルモンレセプターの転写制御能をレセプター相互作用因子の観点から検討した。すなわち、男性及び女性ホルモンレセプターに結合する新たな転写共役因子を同定し、それらが内分泌かく乱物質の標的分子候補である可能性が考えられた。また、ダイオキシンレセプターとの会合による新たな性ホルモンかく乱作用の分子機構を明らかにした。

E11-4.2. 核内レセプターを介した内分泌かく乱化学物質の生体影響(Parhar)

複数種の G タンパク質共役型受容体の発現は、正常な性的発達が機能的に heterogeneous な仕組みによって制御されることを示唆するものと考えられた。

E11-5. マイクロアレイ基盤研究：マイクロアレイ基盤整備 遺伝子発現の網羅的検索と、インフォマティクスの確立(五十嵐・井上)

網羅的遺伝子発現解析を用いることで、今後各班員の研究方向決定に影響を与える結果が短期間のうちに得られる

可能性があることが確認された。

すなわち、網羅的遺伝子発現解析技術は、数万のマーカを対象に内分泌かく乱候補化学物質の影響を迅速に検討できる有効な技術である。本研究で示されてきているように、この技術は、明確な表現型を示して影響が現れることが少ない内分泌かく乱化学物質の作用を、その作用メカニズムに立ち入って解析する際に本領を発揮するものと期待される。

F. 健康危惧情報

該当しない

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

Yoshida K, Hirabayashi Y, Watanabe F, Sado T, Inoue T. Caloric restriction prevents radiation-induced myeloid leukemia in C3H/HeMs mice and inversely increases tumor-free Deaths: Implications with respect to changes in number of hemopoietic progenitor cells. Exp. Hematol, in press

Yoon BI, Kaneko T, Hirabayashi Y, Imazawa T, Nishikawa A, Kodama Y, Kanno J, Yodoi J, Han JH, Hirose M, Inoue T. 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.* 2005, 18:41-46.
- Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, Inoue T. Benzene-induced hematopoietic toxicity transmitted by AhR in the wild-type mouse was negated by repopulation of AhR deficient bone marrow cells. *Organohalogen Compounds* 2005, 67: 2280-2283.
- Inoue T. Potential applications of toxicogenomics in risk assessment. In: *Evolving Genetics and Its Global Impact. (The Fifth Princess Chulabhorn International Science congress)*, Amarin Printing and Publishing Public Company Limited, Bangkok, Thailand, 2004, pp. 255-257.
- Hirabayashi Y, Yoon B-I, Li G-X, Kanno J, and Inoue T. Mechanism of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: Current review with implication of microarray analyses. *Toxicologic Pathology* 2004, 32 (suppl. 2): 12-16.
- Tsuboi I, Morimoto K, Hirabayashi Y, Li G-X, Aizawa S, Mori KJ, Kanno J, and Inoue T. 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.* 2004, 229:494-502.
- Yoon B-I, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Tsuboi I, Ott T, Kodama Y, Kanno J, Kim D-Y, Willecke K, and Inoue T. Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells. *Toxicol.* 2004, 195: 19-29.
- Hirabayashi Y, Yoon BI, Kawasaki Y, Li GX, Kanno J, and Inoue T. On the mechanistic differences of benzene-induced leukemogenesis between wild type and p53 knockout mice. In: K. Tanaka, T. Takabatake, K. Fujikawa, T. Matsumoto, and F. Sato (eds.), *Molecular Mechanisms for Radiation-induced Cellular Response and Cancer Development*, pp. 110-116. Aomori: Institute for Environmental Sciences, 2003.
- Inoue T. Hormonally active agents and plausible relationships to adverse effects on human health. *Pure Appl. Chem.* 2003, 75: 2555-2561.
- Hirabayashi Y, Li G-X, Yoon B-I, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, and Inoue T. AhR suppresses hemopoiesis during steady state but accelerates cell cycle as an early response: a study of AhR-knockout mice. *Organohalogen Compounds*, 2003, 64: 270-273.
- Yoon B-I, Li G-X, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T,

- Kobayashi K, Kanno J, Kim D-Y, Inoue T, Hirabayashi Y. Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue. *Env. Health Perspect. (Toxicogenomics)* 2003, 111:1411-1420
- Hirabayashi Y, Yoshida K, Aizawa S, Kodama Y, Kanno J, Kurokawa Y, Yoshimura I, Inoue T. Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003, 190 : 251-261.
- Inoue T, Igarashi K, Sekizawa J. Health hazards of endocrine-disrupting chemicals on humans as examined from the standpoint of their mechanism of action. *Japan Med Assoc J.* 2003, 46: 97-102.
- 井上 達第 4 章健康医学「環境ストレス応答と生体ホメオスターシス」: 淀井淳司/松尾禎之編 別冊医学のあゆみ「レドックスストレス防御の医学」医薬出版 (株)、東京(2005)、194-199.
- 井上 達環境生体応答—
Toxicogenomics 「はじめに」医学のあゆみ(2005) 213(4): 221.
- 井上 達/井口泰泉編:「生体防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: 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, 2005, 1(1), 51-57
- Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, Kanno J, Inoue T: Mechanism of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: current review with implication of microarray analyses. *Toxicol Pathol* 32 Suppl 2: 12-6, 2004.
- Yoon BI, Li GX, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T, Kobayashi K, Kanno J, Kim DY, Inoue T, Hirabayashi Y. Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: cDNA micro-array analyses using mouse bone marrow tissue. *Environ Health Perspect* 111: 1411-20, 2003.
- 著書・総説など
- Hirabayashi Y and Inoue T: Toxicogenomics Applied to Hematotoxicology. In: Borlak J (ed), *Handbook of Toxicogenomics*, pp583-608. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.
- Inoue T. Introduction : Toxicogenomics - a New Paradigm of Toxicology. In: T. Inoue and W. D. Pennie (eds.), *Toxicogenomics*, pp. 3-11. Tokyo: Springer-Verlag Tokyo, 2003.
- Hirabayashi Y, Yoon BI, Kawasaki Y, Li GX, Kanno J, and Inoue T. On the Mechanistic Differences of Benzene-induced Leukemogenesis between Wild type and p53 Knockout Mice. In: K. Tanaka, T. Takabatake,

K. Fujikawa, T. Matsumoto, and F. Sato (eds.), Molecular Mechanisms for Radiation-induced Cellular Response and Cancer Development, pp. 110-116. Aomori: Institute for Environmental Sciences, 2003.

2. 学会発表

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) [Bangkok, Thailand, 2004]

Inoue T: Toxicogenomics as a tool of predictive toxicology. 10th International Congress of Toxicology. (2004. 7. 13) [Tampere, Finland, Toxicology and Applied Pharmacology 197 (3): 265, 2004]

Hirabayashi Y, Yoon BI, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Li GX, Kim DY, Kanno J, Inoue T: Hematological toxicogenomics addressing the mechanisms of benzene-induced epigenetic/genotoxic changes. (2004. 7. 13) [Tampere, Finland, Toxicology and Applied Pharmacology 197 (3): 277,

2004]

Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, Kanno J, Fujii-Kuriyama Y, Inoue T: Aryl-hydrocarbon-receptor-signaling keeps stem cell kinetics dormant. International Society for Stem Cell Research 2nd Annual Meeting (2004. 6. 11) [Boston MA, Final Program p104; 2004]

Inoue T: Symposium 5. Pharmaco- & Toxicogenomics Symposium: S5-3. Strategy of predictive Toxicogenomics a reverse toxicogenomics. Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology The 61st Annual Meeting 2004 (2004. 5. 27) [Seoul, Korea, Meeting abstract 100; 2004]

H. 知的財産所有権の取得状況

1. 特許取得:

該当しない

2. 実用新案登録

該当しない

3. その他 (データベース等)

該当しない

Ⅱ. 分担研究報告書

I. プロジェクト課題研究

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

胚・胎児期の曝露による神経行動関連を中心とした
ビスフェノールAの低用量影響の検討

分担研究者 関澤 純 徳島大学総合科学部 教授

研究要旨

ビスフェノールAによる低用量影響に関し文献的な評価を行い、評価情報をデータ集にまとめた。ここ数年胎生期、授乳期曝露による神経系への影響の報告が急増し、この点に着目して検討した。個体レベルでは生殖器系への影響に関する報告が減り周産期の一過性曝露による神経系への影響に関する報告が相対的に多い。細胞レベルでは様々な報告があり遺伝子発現の網羅的解析も散見された。周産期は神経系の器官形成期で最もホルモン感受性が強い時期であり、行動レベルでの性差の消失と組織学的に青斑核やBed nucleusの性差の消失に関する報告があるがSDN-POA（性的二型核）神経核の大きさが影響を受けたという報告はない。NTP長期毒性試験での体重減少のLOEL 5mg/kg bwよりも低い曝露濃度で前記影響が観察されていることから、典型的なエストロゲン様作用以外に焦点をあてた毒性学的な試験と考察が必要とされている。

A. 研究目的

ビスフェノールAの周産期曝露による神経系への影響を中心に低用量影響問題に関して文献的な評価を行う。ビスフェノールAの低用量影響として、どのような生物学的な現象が見られており、その証拠としての研究報告の信頼性と、データの生物学的な意義を検証し、評価情報をデータ集にまとめる。

B. 研究方法

ビスフェノールAの公表文献をMEDLINE（2004年3月31日から2005年9月23日まで）で検索し得られた489文献から野生生物への影響や分析法に関する文献などを除外し135報を得、要約を作成した。これらの文献の原報を入手し、内容により分別

した。テーマに沿いビスフェノールAの低用量影響の証拠の確からしさと、影響の内容、およびデータの信頼性について検討した。評価情報のデータ集を表1のフォーマットにより作成した。本文献調査は表2の専門家からなる作業グループを作り作業を行った。低用量影響の確からしさについて文献の選別を行う基準は以下のとおりである。

- (A) in vitro 試験か、in vivo 試験か？
- (B) 用量-反応関係が明確でじゅうらいの無作用量に比べ十分低い濃度での試験か？
- (C) 曝露時期はどうか？
- (D) ヒトへの影響評価についての妥当性はあるか？

表1 フォーマット

文献番号： 担当者_____

著者名：

論文題名：.

出典：

チェック項目：

1. 対象生物 ()ラット、()マウス、()人、()その他_____
2. 影響の標的臓器 ()神経系、()免疫系、()生殖系、()その他_____
3. 影響の種類 ()細胞、()組織、()個体、()その他_____
4. 曝露方法 ()経口、()埋め込み、その他_____
5. 曝露時期 ()胚・胎児、()周産期、()出生後、()成熟動物、()細胞
6. 曝露濃度 用量段階(記入_____)
7. 観察された影響の種類と濃度：一番低い影響濃度のみ記入。複数あれば記入。
統計的な信頼性などの問題はコメント欄に記す。(_____)
(_____) (_____)
8. 観察時期 ()出生前、()出生後、()思春期、()成熟期
9. 論文中に低用量影響への関心 ()あり、()なし
10. 試験の信頼性について下記項目でチェックする。
EU リスク評価 ()あり、()なし：EU リスク評価文献リスト中の掲載の有無
GLP に準拠 ()はい、()いいえ 論文中に「GLP に準拠」の記述の有無
ガイドラインへの準拠 ()はい：ガイドラインの名称____、()いいえ

論文の概要：(200～400 字)

添付資料 (文献の内容を理解する上で重要な図表) 論文中からそのまま使えるようにコピーして添付。添付した図表の番号を記す。

評価者のコメント：(200 字程度以下で記述) 報告の信頼性について前記項目でチェックした以外に、評価者のコメントについての注意をよく読み、気付いた点を記す。

表2 ビスフェノールAの低用量影響についての文献調査 専門家 (50音順)

稲葉 克彦	(株)三井化学分析センター	安全科学研究部化学品安全性試験センター
内田 康一	三菱化学(株)	技術・生産センター 環境安全・品質保証部
大関 一男	ダウ・ケミカル日本(株)	エポキシ製品・中間体事業本部
大西 純一	(社)日本化学物質安全・情報センター	
川島 浩	新日鐵化学(株)	環境・安全・品質保証部
迫田 篤信	出光石油化学(株)	安全環境品質保証室
佐二木順子	千葉県衛生研究所	食品化学研究室
関澤 純	徳島大学総合科学部	
中西 義則	ジャパンエポキシレジン(株)	技術環境室
根岸 隆之	青山学院大学理工学部	化学・生命科学分子生物学研究室
花田 秀一	(社)日本化学工業協会	
吉塚 直伸	花王(株)	安全性評価研究センター

C. 研究結果

近年周産期の一過性曝露による神経系への影響の報告が多いが、周産期は神経系の器官形成期で最もホルモン感受性が高い時期で行動レベルで性差の消失と組織学的に青斑核や Bed nucleus の性差の消失の報告がある。しかし SDN-POA (性的二型核) 神経核の大きさが影響を受けたという報告はない。NTP 長期毒性試験での体重減少の LOEL 5mg/kg bw よりも低い曝露濃度で前記影響が観察されていることから、典型的なエストロゲン様作用以外に焦点をあてた毒性学的な試験と考察が必要とされている。

(1) はじめに

内分泌かく乱化学物質について2000年にNTPが低用量影響評価ワークショップを開催、翌年欧州でワークショップが持たれたが、最終的な決着は見られていない。ビスフェノールAを材料として、どのような生物学的な現象が見られており、その証拠

としての研究報告の信頼性と、データの生物学的な意義を文献的に検証した。

(2) 低用量作用に関する文献の選別

試験系について生体レベルの試験か、それ以外の研究報告の区別で見ると表3のようであった。生体レベル試験のうち、用いた用量段階からいって低用量域をカバーしていると考えられるものは??件であった。曝露時期の別で見ると胚・胎児期??件、周産期??件、出生後??件、成熟動物??件、その他株細胞??件であった。ヒトへの影響評価の観点からはレビュー文献を含めて検討した。

生体影響の蓋然性が境界領域に位置するものと考えられビスフェノールAにつき2004年3月31日から2005年9月23日までに報告の見られた135件の文献について、低用量影響データの有無の確認の上、12名の専門家の協力によりレビューとデータ集作成を行った。

表3 試験系による報告の種別

生体レベルの試験	69件
上記以外	66件

調査項目は、著者名、論文原題名、出典、対象生物、影響標的臓器、影響レベル(細胞・組織・個体)、暴露方法、暴露時期(胎生期など)、暴露濃度と用量段階、試験記録信頼性保証、および、論文の概要などからなる。調査対象は、ラット 49、マウス 23、ヒト 25、その他 8 (げっ歯類やヒト由来の細胞など)からなり、標的臓器別では、生殖系 49 件、免疫系 20 件、神経系 17 件、その他の報告 49 件などとなっている。低用量に関連する記述のあるものは 17 件であった。

以下に標的器官別に低用量影響の生物学的な蓋然性について判断する上で鍵となる知見を要約する。

(3) 生殖系への影響

(#23 Hiroi et al., 2004)

良性および悪性の子宮内膜過形成症患者、閉経後の子宮癌患者、閉経前の正常女性の血清中 BPA 平均値はそれぞれ、 $2.9 \pm 2.0 \text{ ng/ml}$ 、 $1.4 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ 、 $1.4 \pm 0.5 \text{ ng/ml}$ 、 $2.5 \pm 1.5 \text{ ng/ml}$ であった。エストロゲン作用を示す BPA 良性および悪性の子宮内膜過形成症患者、閉経後の子宮癌患者、閉経前の正常女性の血清中 BPA 平均値はそれぞれ、 $2.9 \pm 2.0 \text{ ng/ml}$ 、 $1.4 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ 、 $1.4 \pm 0.5 \text{ ng/ml}$ 、 $2.5 \pm 1.5 \text{ ng/ml}$ であった。この結果はエストロゲン作用を示す BPA の亢進が子宮内膜症に関与しているという予想を覆した。であった。BPA はエストロゲン作用と抗エストロゲン作用を示すことが明らかなので、子宮のような末端組織では抗エストロゲン作用を示すのかもしれない。子宮内膜症はエストロゲンの長期暴露に起因するとされており子宮内膜

症患者で抗エストロゲン作用を示す BPA の低下が生じたのは理にかなっている。BPA の低下のもう一つの理由として、患者では BPA 代謝が亢進しているのかも知れないが、亢進が子宮内膜症に関与しているという予想を覆し、BPA はエストロゲン作用と抗エストロゲン作用を示すので、子宮のような末端組織では抗エストロゲン作用を示すかもしれない。そうであれば、子宮内膜症はエストロゲンの長期暴露に起因するとされており子宮内膜症患者で抗エストロゲン作用を示す BPA の低下は理にかなっている。BPA 低下のもう一つの理由として、患者では BPA の代謝が亢進しているのかも知れない。

R1 Greim H.A., Pediatrics (2004) 113, 1070-1075

R2 Ashby J. et al., Environ. Health Persp. (2004) 112, 847-853

R4 Singleton D.W. et al., Environ. Res. (2005)

R3 Singleton D.W. et al., (2004) Mol. Cellular Endocrinol., 221, 47-55

(4) 免疫系への影響

(5) 神経行動への影響

神経系における性差の消失

(#19 Funabashi et al., 2004)

ラットに GD0-PNW3 の間、 10 mg/L ビスフェノール A を 2.5 mg/kg/day 相当を飲水経路で自由に摂取させた。周産期ビスフェノール A 暴露により Bed nucleus of the stria terminalis (BST) と呼ばれる神経核におけるコルチコトロピン産生神経細胞の数における性差 (メスの方が多い) が消失したが、

性的二型核である SDN-POA の性差には影響を与えなかった。性差の消失という点ではラットにおいて青斑核（ノルアドレナリン産生神経細胞が集まる神経核）についても同様の報告がある（#N2 Kubo et al., 2003）。モノアミン系（主にドーパミン系）発達に対する影響

（#41 Laviola et al., 2005）

マウスの GD11-GD18 にビスフェノールA 強制経口（10 µg/kg/day）した。周産期暴露したメスマウスで D-Amphetamine による強化の減衰が見られたが、オスではこの影響は見られなかった。ビスフェノールA 暴露により D-Amphetamine に対する依存形成の感受性が減ったとも考えられるが、実験ではドーパミン系の異常を検出するための手段として用いただけと考えられる。

（#30 Ishido et al., 2004）他同グループの論文 2 報がある。（説明文中引用）

（ラット、PND5、0.2 – 20 µg/rat、大槽内投与）

新生仔期（PND5）における大槽内ビスフェノールA 投与は 4 週齢時で多動を引き起こし、また cDNA マクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析によると中脳におけるドーパミン受容体 4（D4 receptor）およびドーパミントランスポーターの遺伝子発現の低下をもたらした。さらに 8 週齢時中脳黒質のチロシンヒドロキシダーゼのタンパク発現を消失させた。筆者らはドーパミン産生神経細胞を選択的に傷害する 6-OHDA を投与することにより中脳ドーパミン産生神経細胞の消失を起し、これにより生じる遺伝子発現変化と先の論文と同様のビスフェノールA 投与によって生じる遺伝子発現変化を比較し、それらが異なる点を強調

している。この論文でのビスフェノールA による遺伝子発現変化は先の論文のそれと概ね一致していた（#49 Masuo et al., 2004）。他の内分泌かく乱物質を並べて実験を行い、ビスフェノールA については概ね同様の結果を得ており、特に遺伝子発現解析の結果から G 蛋白共役型受容体を介したシグナル伝達の異常の可能性を述べている（#31 Ishido et al. 2005）。

（#57 Negishi et al., 2004）

オスラットに、GD3 – PND20 の間ビスフェノールA を強制経口投与（100 µg/kg/day）した。周産期暴露により電気刺激による回避学習の障害、モノアミン合成酵素阻害剤に対する反応の減弱を報告した。これはドーパミン系を含むモノアミン系に異常があることを示唆している。別の薬物（D-Amphetamine）を用いた報告も同様に反応性の減弱を報告している（#N6 Adriani et al. 2003）。

エストラジオールと同等のエストロゲン様作用と抗エストロゲン様作用をもつビスフェノールA

（#120 Zsarnovszky et al., 2005）

ラットに PND10 に 10^{-12} – 10^{-6} M ビスフェノールA（3 µL/rat）を小脳内直接投与した。ラット小脳にビスフェノールA を直接投与すると小脳顆粒細胞において Extracellular regulated kinase 1/2 のリン酸化（酵素としての活性化）を促進する。この作用は同濃度のエストラジオールと同等の効力を有していた。この実験系においてエストラジオール、ビスフェノールA とともに明らかな 2 峰性の濃度依存性を見せ、逆 U 字や低用量効果という点から注目すべきであるが、投与経路が小脳内への直接投与と特殊であるた

め、経口投与濃度との関係を推察しにくい
ためこれが純粋に低用量効果といえるかは
疑問である。さらにビスフェノールAは単
体ではエストラジオールと同様にリン酸化
を促すのに対し、エストラジオール存在下
ではビスフェノールAは逆にエストラジ
オールによるリン酸化の程度を減少させると
いう抗エストロゲン様作用を見せた。この
実験ではビスフェノールA投与6分後の小
脳組織を対象としているため、筆者たちは
genomic pathway ではないだろうと推察し
ている。

(#46 MacLusky et al., 2005)

卵巣摘出成熟メスラットにビスフェノール
A (40–400 µg/kg) を単回皮下投与した。
βエストラジオールによる海馬シナプス形
成促進効果をビスフェノールAは阻害する。
ビスフェノールAは弱いエストロゲン様化
合物として知られてきたが、この論文では
抗エストロゲン様作用が見られている。さ
らにαエストラジオール(核内エストロ
ゲン受容体を介する遺伝子発現調節作用はβ
に比較し非常に弱い)でもシナプス形成が
誘発され、それをビスフェノールAが阻害
したことを紹介している。この事実はビス
フェノールAのエストラジオール誘発海馬
シナプス形成促進に対する効果は従来の核
内エストロゲン受容体を介した弱いエスト
ロゲン様作用では説明できない。この論文
で筆者らは細胞膜上に存在するエストロ
ゲンレセプターと遺伝子発現調節を必要と
しない経路(non-classical pathway)に対する
ビスフェノールAの効果を推定している。

抗甲状腺ホルモン様作用

(#118 Zoeller et al., 2005)

ラットに GD6-PND21 の間、ビスフェノ

ールA (1, 10, 50 mg/kg/day) を食餌経由投与
した。ラットにおいて周産期暴露したビス
フェノールAが抗甲状腺ホルモン様作用を
示した。新生仔(PND4, 8, 15, 35)の血漿中
T4を測定した結果、PND15の時点のみでビ
スフェノールA暴露によるT4上昇が観察
されたがTSHは影響を受けなかった。また、
全てのビスフェノールA投与群において
PND15の海馬における甲状腺ホルモン依存
遺伝子の一つであるRC3/Neurograninの
mRNA発現上昇が観察されたが、大脳皮質で
はそのような影響は見られなかった。ビス
フェノールAは生体内の甲状腺ホルモンに
おける下垂体を介する負のフィードバック
をかく乱する可能性が示唆された。以前、
in vitroにおいてビスフェノールAの抗甲
状腺ホルモン様作用が報告されたが(#N4
Moriyama et al., 2002)、in vivoで、特に神経
系に関して報告したのはこの報告が初めて
である。

周産期暴露されている母親の行動の変化

(#12 Della Seta et al., 2005)

ラットに GD0-PND21 の間、ビスフェノ
ールA (40 µg/kg/day) を強制経口した。妊娠
期、授乳期にビスフェノールAを暴露した
母親ラットの仔ラットに対する行動が変化
し、新生仔に対するLicking-grooming(舐
める、身づくろいする行動)が対照群に比較
し有意に減少した。この報告は、母子行動
はその後の行動に影響をおよぼすことが古
くから心理学的、生理学的に知られている
事実であることから他の論文で行ってい
る周産期暴露→次世代個体への影響という
実験系において次世代個体へのビスフェ
ノールA暴露の影響に加え、ビスフェノ
ールA暴露を受けている母親の行動の影響を考

慮にいれるべきであることを示したという点で重要である。これについては同様の実験が過去にある (#N1 Palanza et al., 2002)。

その他

(#73 Porrini et al., 2005)

ラットに GD0-PND21 の間、ビスフェノール A (40 µg/kg/day) を強制経口した。周産期ビスフェノール A 暴露によりメスの社会的行動が変化した。メスのみ検索対象にしているが、メス 3 匹とオス 3 匹を観察ケージにいれるとメスは探索行動が増える一方、オスと接触する頻度および他個体への身づくろい行動の頻度が減少した。この論文の筆者らは以前にも社会行動発達への影響という点から報告をしている (#N3 Dessi-Fulgheri et al., 2002)。

(#34 Kabuto et al., 2004)

マウスの妊娠前 1 週間から離乳まで、ビスフェノール A (5, 10 µg/mL) 飲水経由で自由摂取させた。妊娠期・授乳期を通して飲水経由暴露された生後 28 日のマウスにおいて脳重量の低下 (5 µg/mL のみ)、脳での thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) の上昇 (10 µg/mL のみ) が見られたことから脳内で酸化ストレスが生じていると考察している。しかしビスフェノール A はラジカルスカベンジャーとしての活性も有していることからこの点については即断はできないと考えられる。論文内で筆者らは妊娠中 6 mL/day/mouse の飲水と記しているためそれぞれ 30, 60 µg/day/mouse となり母動物の週齢、体重についての表記がないため正確な計算はできないが、概ね (mouse 30g として) 10 µg/mL 自由飲水は 2 mg/kg/day 程度に相当すると考えられる。

(#111 Yanagihara et al., 2005)

ウシ副腎髄質細胞にビスフェノール A (10nM) を曝露した。ビスフェノール A はウシ副腎髄質細胞においてカテコールアミン合成を促進させる。この筆者らは同じ細胞を用いてビスフェノール A によるノルアドレナリントランスポーターの機能阻害を報告している (#N7 Toyohira et al., 2003)。この実験における材料であるウシ副腎髄質細胞は、直接中枢神経系由来の材料を用いたわけでは無いが、中枢でもカテコールアミンは重要な神経伝達物質であるため良いモデルと考えられる。

(#15 Facciolo et al., 2005)

ラットに妊娠 8 日前から PND42 まで、ビスフェノール A (40, 400 µg/kg/day) を強制経口投与した。周産期暴露が発達期の脳内特定部位のソマトスタチン受容体 3 (sst3) の遺伝子発現を調節しており、この調節には GABA α 受容体を介するシグナルも影響している。この論文の筆者らは以前にもソマトスタチン受容体 2 への影響を報告している (#N5 Facciolo et al., 2005) が今回は別のタイプである subtype3 に注目している。特に生後 52 日目の 400 µg/kg/day 投与群で大脳前頭頂部皮質の第 5 層における sst3 の mRNA 発現が顕著に減少しており、生後 7 日目では視床下部室傍核での sst3 mRNA の減少、腹内側核での増加が見られた。またこれらの遺伝子発現の変化は GABA α 受容体を介したシグナルにより増強または減弱が生じた。この事実から、他の論文で報告されている機序を全て説明することは難しいように思えるが、神経系発達に影響をもたらす機序のうちの一つであると考えられる。

以上、神経系におけるビスフェノール A

の低用量影響という点で注目すべき論文を紹介したが、これだけ報告があることから従来の毒性試験で US EPA が提示した LOAEL が 50mg/kg/day 以下の濃度でも神経系に影響があるという可能性は無視できなくなってきた。

しかし低用量効果は前提としてヒトでのリスク評価というより、ビスフェノール A という化学物質について核内受容体を介した弱いエストロゲン様化学物質としての遺伝子転写調節かく乱以外の特性による影響を評価し、そのメカニズムを検討することに目的を置いているのが現状である。今回、調査した文献のみではヒトにおけるビスフェノール A 低用量暴露の特に中枢神経発達へのリスク評価として結論を出すことは現段階では不可能である。

(6) 吸収・代謝・分布・排泄について
(#17 Fujimaki et al., 2004)

日本人妊婦 56 名の β -glucuronidase 処理スポット尿中 free BPA を測定したところ、中央値 < 1.1ng/ml (< 1.1-5.4ng/ml) であった。BPA が検出された 17 名の一日 BPA 摂取推定量は、0.5-7.9 μ g/day (中央値 2.1 μ g/day) と推定され、体重 50kg と仮定すると一日 BPA 摂取量は最大 0.16 μ g/kg/day となり、欧州 SCF が算定した一日許容摂取量 (ADI) の約 1/60 であった。

(#22 Higuchi et al. 2004)

2000-2001 年の病院食、各 1 週間分計 42 検体について BPA の分析を行った。BPA は 21/42 検体から 0.2-1.1 ng/g 検出された。BPA の一日摂取量は 0.06-1.34 μ g/day (平均 0.42 μ g/day) と推定された。米国環境保護庁による BPA の Reference dose (RfD) は

0.05mg/kg/day で日本人の体重を 50kg とすると、BPA の TDI, RfD に対する平均一日摂取量は 0.77%、0.017% であり、直ちにヒトへの健康に影響があるとは考えられない。

(#8 Calafat et al. 2005)

アメリカ人男女 (20-59 歳) 394 人の尿中 95% の平均 BPA 値は $\geq 0.1 \mu$ g/L で、幾何平均値、中央値ならびに 95th percentile は 1.33 μ g/L、1.28 μ g/L、5.18 μ g/L だった。BPA の検出率が高かったことはアメリカ住人が頻繁に BPA に暴露されていることを示している。今回の BPA 値は日本人と類似していたが、韓国人より低く、性差、年齢差は見られず地方の住人の BPA 値は都会より高かった。

(#40 Kurebayashi et al. 2004)

低濃度 14 C BPA を Fischer (F344) 雌雄ラットに経口投与 (20, 100, 500 μ g/kg)、静脈注射投与 (100, 500 μ g/kg) し、吸収、臓器分布、排泄を調べた。500 μ g/kg の 14 C BPA を妊娠および授乳ラットに投与し、胎児、新生児、乳への移行を調べた。感度の高い Radioluminograph による実験結果から、BPA の体内吸収率は高いが (35-82%)、未代謝 BPA 濃度は低い。

100 μ g/kg の経口投与後、体内に移行、速やかに排泄されるが、肝、腎、小腸内容物中には 72 時間ラジオ活性が残る。血漿、尿中の主な代謝物は BPA glucuronide で、糞では free BPA が主であった。ラットでの BPA 代謝に腸肝循環の関与が示唆された。胎児や新生児への母親からの BPA 移行は制限された。妊娠 12, 15 日の胎児のラジオ活性はなく、18 日で小腸、膀胱に活性が認められた。BPA の一部は乳を介して仔に移行した。

引用文献

- R1 Greim H.A. The Endocrine and Reproductive System: Adverse Effects of Hormonally Active Substances? *Pediatrics*. 2004; 113; 1070-1075
- R2 Ashby J, Tinwell H, Odum J, Lefevre P. Natural Variability and the Influence of Concurrent Control Values on the Detection and Interpretation of Low-Dose or Weak Endocrine Toxicities. *Health Persp*. 2004; 112; 847-853
- R3 Singleton D.W, Feng Y, Chen Y, Busch S.J, Lee A.V, Puga A, Khan S.A. Bisphenol-A and estradiol exert novel gene regulation in human MCF-7 derived breast cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 221; 2004; 47-55
- R4 Singleton D.W, Feng Y, Yang J, Puga A, Lee A.V, Khan S.A. Gene expression profiling reveals novel regulation by bisphenol-A in estrogen receptor- α -positive human cells. *Environmrrntsl Research*. 2005.
- #N6 Adriani W, Seta DD, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F, Laviola G. Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Environ Health Perspect*. 2003 Apr; 111(4): 395-401.
- #8 Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect*. 2005 Apr; 113(4): 391-5.
- #12 Della Seta D, Minder I, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Bisphenol-A exposure during pregnancy and lactation affects maternal behavior in rats. *Brain Res Bull*. 2005 Apr 15; 65(3): 255-60.
- #N3 Dessi-Fulgheri F, Porrini S, Farabollini F. Effects of perinatal exposure to bisphenol A on play behavior of female and male juvenile rats. *Environ Health Perspect*. 2002 Jun; 110 Suppl 3: 403-7.
- #N5 Facciolo RM, Alo R, Madeo M, Canonaco M, Dessi-Fulgheri F. Early cerebral activities of the environmental estrogen bisphenol A appear to act via the somatostatin receptor subtype sst(2). *Environ Health Perspect*. 2002 Jun; 110 Suppl 3: 397-402.
- #19 Funabashi T, Kawaguchi M, Furuta M, Fukushima A, Kimura F. Exposure to bisphenol A during gestation and lactation causes loss of sex difference in corticotropin-releasing hormone-immunoreactive neurons in the bed nucleus of the stria terminalis of rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2004 May; 29(4): 475-85.
- #22 Higuchi M, Miyata D, Kawamura S, Ueda E, Imanaka M, Tonogai Y. Estimation of daily intake of phenols in hospital meal samples *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2004 Dec; 45(6): 339-43. Japanese
- #23 Hiroi H, Tsutsumi O, Takeuchi T, Momoeda M, Ikezuki Y, Okamura A, Yokota H, Taketani Y. Differences in serum bisphenol a concentrations in premenopausal normal women and women with endometrial hyperplasia. *Endocr J*. 2004 Dec; 51(6): 595-600.

- #30 Ishido M, Masuo Y, Kunimoto M, Oka S, Morita M. Bisphenol A causes hyperactivity in the rat concomitantly with impairment of tyrosine hydroxylase immunoreactivity. *J Neurosci Res.* 2004 May 1;76(3):423-33.
- #31 Ishido M, Morita M, Oka S, Masuo Y. Alteration of gene expression of G protein-coupled receptors in endocrine disruptors-caused hyperactive rats. *Regul Pept.* 2005 Mar 15;126(1-2):145-53.
- #34 Kabuto H, Amakawa M, Shishibori T. Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sci.* 2004 Apr 30; 74(24): 2931-40.
- #N2 Kubo K, Arai O, Omura M, Watanabe R, Ogata R, Aou S. Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neurosci Res.* 2003 Mar;45(3):345-56.
- #40 Kurebayashi H, Nagatsuka SI, Nemoto H, Noguchi H, Ohno Y. Disposition of low doses of (14)C-bisphenol A in male, female, pregnant, fetal, and neonatal rats. *Arch Toxicol.* 2004 Nov 17; [Epub ahead of print]
- #41 Laviola G, Gioiosa L, Adriani W, Palanza P. D-amphetamine-related reinforcing effects are reduced in mice exposed prenatally to estrogenic endocrine disruptors. *Brain Res Bull.* 2005 Apr 15;65(3):235-40.
- #46 MacLusky NJ, Hajszan T, Leranath C. The environmental estrogen bisphenol a inhibits estradiol-induced hippocampal synaptogenesis. *Environ Health Perspect.* 2005 Jun;113(6):675-9.
- #49 Masuo Y, Morita M, Oka S, Ishido M. Motor hyperactivity caused by a deficit in dopaminergic neurons and the effects of endocrine disruptors: a study inspired by the physiological roles of PACAP in the brain. *Regul Pept.* 2004 Dec 15;123(1-3):225-34.
- #N4 Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Nov;87(11):5185-90.
- #57 Negishi T, Kawasaki K, Suzaki S, Maeda H, Ishii Y, Kyuwa S, Kuroda Y, Yoshikawa Y. Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylecypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. *Environ Health Perspect.* 2004 Aug;112(11):1159-64.
- #N1 Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect.* 2002 Jun;110 Suppl 3: 415-22.
- #73 Porrini S, Belloni V, Della Seta D, Farabollini F, Giannelli G, Dessi-Fulgheri F. Early exposure to a low dose of bisphenol A affects socio-sexual behavior of juvenile female rats. *Brain Res Bull.* 2005 Apr 15; 65(3):261-6.
- #N7 Toyohira Y, Utsunomiya K, Ueno S, Minami K, Uezono Y, Yoshimura R, Tsutsui M, Izumi F, Yanagihara N. Inhibition of the

norepinephrine transporter function in cultured bovine adrenal medullary cells by bisphenol A. *Biochem Pharmacol.* 2003 Jun 15;65(12):2049-54.

#118 Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology.* 2005 Feb;146(2):607-12.

#120 Zsarnovszky A, Le HH, Wang HS, Belcher SM. Ontogeny of rapid estrogen-mediated ERK1/2 signaling in the rat cerebellar cortex in vivo: potent non-genomic agonist and endocrine disrupting activity of the xenoestrogen bisphenol A. *Endocrinology.* 2005 Aug 25; [Epub ahead of print]

D. 考察

神経系への影響については最近一定の方向に興味集中しているように見える。まず暴露時期は周産期に集中し、一過性のビスフェノールA暴露を行う報告が多い。これは神経系の器官形成期で最もホルモン感受性が強い時期であることからと考えられる。そして神経系への影響を検出するエンドポイントとして行動を選ぶ報告が多い。これは1999年頃から現在まで続いている。理由は複雑な神経系に起きた微細な変化をどう捉えてよいか見当もつかない場合、行動が最終出力と考えられるからであろう。しかし、行動に異常が見られたからといってそのメカニズムは想定しにくい。事実、2002年までの報告には周産期ビスフェノールA

暴露による次世代行動異常のメカニズムを Discussion の部分ですら明確に説明できていない。根拠の妥当性という点から当時はあまり注目されなかったのもこれが理由であろう。

しかし2003年以降は行動レベルでの性差の消失という点から、組織学的にアプローチし、青斑核や Bed nucleus の性差の消失に関して報告があり（しかし、最も有名な性的二型核として知られる SDN-POA という神経核は周産期のステロイドホルモンによりその大きさが調節されているがこの神経核の大きさがビスフェノールAにより影響を受けたという報告はない）、また恐怖条件、新奇場面に対する反応性の異常からドーパミン系を含むモノアミン系の異常に注目が集まっている。またビスフェノールAの作用機序についても従来の核内エストロゲンレセプターを介した弱いエストロゲン様作用以外に、細胞膜上のエストロゲン受容体を介した作用、抗甲状腺ホルモン様作用を強調する報告が増えた。

E. 結論

個体レベルでの低用量効果に関する影響を検出した報告はほぼ全て神経系に関する報告である。神経系（特にその発達）はビスフェノールAに対する感受性が高いということを否定できなくなっている。これらの報告が低用量に分類される暴露を行っている以上、NTP 長期毒性試験での体重減少の LOEL 5mg/kg bw よりも低い曝露濃度で影響が観察されていることから、典型的なエストロゲン様作用以外に焦点をあてた毒性学的な試験と考察が必要とされている。ADI の 50 µg/kg/day は見直す必要があ

るのかもしれない。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文・図書発表

- 1) Sekizawa J, Tanabe S. A comparison between integrated risk assessment and classical health/environmental risk assessment: emerging beneficial properties, Toxicol. Appl. Pharmacol. 207 (2), Supplement 1, S617-S622
- 2) 関澤 純：低用量問題—低用量影響の生物学的蓋然性、生体統御システムと内分泌攪乱、井上達・井口泰泉編、シュプリンガー・フェアラーク東京(2005) 297-314
- 3) Sekizawa J, Negishi T, Ito E. Evaluation of Biological plausibility of low-dose-effect of bisphenolA: A literature review, Environment. Health Persp. (投稿準備中)

2. 学会発表

- 1) 関澤 純：内分分泌攪乱化学物質による「低用量影響」の評価、J. Health Sci. 51, Suppl. F 5-4 S-65 (2005)

H. 知的所有権の取得状況

なし

平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

天然の AhR リガンドの存在量と作用メカニズムに関する調査研究

分担研究者 松井三郎 京都大学地球環境学堂 教授

研究要旨

食品中の AhR リガンドに関する知見をまとめるとともに、AhR リガンドによる細胞増殖抑制のメカニズムを明らかにすることを目的とした。食品中の AhR リガンドについては、様々な食品中に存在していることが示唆されているが、その化学構造に関する知見はまだほとんど得られていない。現在、コーヒーとお茶中の AhR リガンドを単離精製を行い、構造決定を試みている。細胞増殖抑制に関しては、AhR リガンドは p21 を介して細胞周期の調節をすることが明らかになった。この作用は、TNF α によって相乗的に増強された。またこの調節には、p21 のプロモーター領域の下流 400bp のが係っていることが明らかとなった。

A. 研究目的

昨年度に引き続き、天然の AhR リガンドの存在量とその生理活性の作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。今年度は、食品中の AhR リガンドに関する知見をまとめるとともに、AhR リガンドによる細胞増殖抑制のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

【食品中新規 AhR リガンド】食品中の AhR リガンドに関する文献調査を行うとともに、お茶とコーヒー中に含まれる AhR リガンドの単離精製を行った。

【AhR リガンドと TNF- α による細胞増殖抑制作用】昨年度の研究で、AhR リガンドと TNF- α が相乗的に細胞増殖を抑制すること、また、その現象に p21 の誘導が関与していることを明らかにしたが、今

年度は、p21 以外の増殖関連遺伝子と、NF κ B 関連遺伝子の発現を RT-PCR で調べた。また、p21 のプロモーター配列を組み込んだレポータージーンアッセイを構築して、プロモーターのどの領域がこの相乗効果に効いているのか調べた。

C. 研究結果

【食品中新規 AhR リガンド】食品中の AhR リガンドに関する文献調査では、様々な食品中に AhR リガンドが存在するという報告はすでにあるが、未だにその構造は決定されていない。モロヘイヤとパセリに強い AhR アンタゴニストが存在するという報告があるがいずれも構造は決まっていない。我々も、お茶とコーヒーの抽出物中に、酵母アッセイで AhR リガンド活性を示すフラクションを単離精製し