

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

化学物質による子どもへの健康影響に関する研究  
—恒常性維持機構発達の過渡特性に立脚したリスク評価研究—  
(H17-化学-一般-001)

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江馬 眞

平成 19(2007)年 3 月

別添 1

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

化学物質による子どもへの健康影響に関する研究  
—恒常性維持機構発達の過渡特性に立脚したリスク評価研究—  
(H17-化学-一般-001)

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 江馬 眞

平成 19 (2007) 年 3 月

## 目 次

I. 総括研究報告書		
化学物質のよる子どもへの健康影響に関する研究—恒常性維持機構発達の 過渡特性に立脚したリスク評価研究—		
江馬 眞	-----	1
II. 分担研究報告書		
1. 児の発生成長段階における化学物質の毒性発現様式と感受性の変化の解析		
江馬 眞	-----	9
2. 神経幹細胞系譜制御における化学物質の影響に関する研究		
中島 欽一	-----	21
3. 脳形成・発達過程における神経伝達物質シグナルの外因性かく乱による 脳障害に関する研究—モデル系開発とメカニズム解明—		
種村 健太郎	-----	37
4. 自然免疫系の子どもの成長に応じた発達の分子基盤		
竹田 潔	-----	55
5. 子どもに対する化学物質暴露影響の内分泌的観点からの解明に関する研究		
渡邊 肇	-----	77
6. 成人・子ども間リスク評価結果の外挿に関する研究		
菅野 純	-----	93
7. 小児白血病・小児腫瘍の発生における母体を介した化学物質・発ガン物質・ 薬物等による影響及び、ES細胞を用いた化学物質影響解析		
田上 昭人	-----	117
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	135
IV. 研究成果の刊行物・別冊	-----	137

別添 3

# I. 総括研究報告書



厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)

総括研究報告書

化学物質による子どもへの健康影響に関する研究

—恒常性維持機構発達の過渡特性に立脚したリスク評価研究—

主任研究者 江馬 眞

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・総合評価研究室・室長

研究要旨

本研究は、「子どもは小さな大人ではない」、即ち、離乳や性成熟などの外的・内的な大変動を経て成人に至る過程で子どもが経験する、高次恒常性維持機構の過渡的アンバランスの特性を踏まえた、化学物質の有害作用発現の、子どもとしての特異性を解明することを目的とする。これにより、従来から盲点であると指摘されてきた「子どものリスク評価」を科学的に検討する基礎とする。そのために、研究班を「恒常性維持機構発達解析」と「外挿問題解析」に分けて組織し、「恒常性維持機構発達解析」を更に、発生成長段階検討、神経、免疫、及び内分泌に、「外挿問題解析」を、化学物質の大人への影響評価結果を子どもへの評価に外挿する研究と、実験動物とヒトの間を結びつける研究とに分けて研究を進めた。その結果、特に免疫において、幼児期マウスの自然免疫系細胞が、Toll-like Reception刺激による炎症性サイトカインの産生に関しては成獣細胞と大きな違いは無いが、アポトーシス細胞の貪食能、大腸菌の貪食能は、幼児期細胞で低いことが明らかになった。この結果は、自然免疫系の細胞も、獲得免疫系を担当するリンパ球のように子どもの成長に応じて発達するという、従来明らかにされていなかった新しい問題を示唆するものであり、本研究班の他の成果と合わせて化学物質の子どもへの健康影響を考察するための基盤となる知見として有用である。

分担研究者			安全性生物試験研究センター
江馬眞	国立医薬品食品衛生研究所		毒性部主任研究官
	総合評価室室長	竹田潔	九州大学・生体防御医学研究所・
中島欽一	奈良先端科学技術大学院大学・		発生工学分野・教授
	バイオサイエンス研究科・動物代	渡邊肇	自然科学研究機構・基礎生物学研
	謝調節学講座・分子神経分化制		究所・岡崎統合バイオサイエンスセ
	御学分野		ンター・生命環境・助教授
種村健太郎	国立医薬品食品衛生研究所	菅野純	国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター

毒性部部長

田上昭人

国立生育医療研究センター

薬剤治療研究部部長

#### A. 研究目的

本研究の目的は、「子どもは小さな大人ではない」、即ち、離乳や性成熟などの外的・内的な大変動を経て成人に至る過程で、子どもが経験する高次恒常性維持機構の過渡的アンバランスの特性を踏まえた、化学物質の有害作用の発現の、子どもとしての特異性を解明することである。これにより、従来より盲点であると指摘されてきた「子どものリスク評価」を科学的に検討する基礎とする。

#### B. 方法

研究班を【恒常性維持機構発達解析】と【外挿問題解析】に分けて組織した。

##### 【恒常性維持機構発達解析】

###### <発生発育>

児の発生成長段階における化学物質の毒性発現様式と感受性の変化の解析を目的として、6週齢ラットを用いた反復投与では雄にだけ毒性が発現するが、離乳前のラットに投与したときには雌雄のラットに同様な毒性を発現させる紫外線吸収剤 2-(3',5'-di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole DBHCBに化学構造が類似しており、同様に紫外線吸収剤として使われている 2-(2'-hydroxy-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole(HDBB)を用いて、5週齢ラットにおける反復投与試験の結果と、離乳前ラットを用いた反復投与試験の結果を比較検討した。14日間反復投与毒性試験、反復投与毒性、生殖発生毒性併合試験、新生児投与試験を実施した(江馬)。

###### <神経>

発生過程において神経幹細胞はニューロンへの分化がアストロサイトへの分化に先行する。マウス ES細胞を用い、血清非存在下に浮游培養することで上記現象を再現できる *in vitro* の系を確立し、この系を4日間浮游培養した場合、胎生初期～中期の神経幹細胞に相当する神経幹細胞様細胞が誘導され、アストロサイト誘導性サイトカイン LIF で刺激してもアストロサイトへの分化は観察されない。しかしこの4日間の浮游培養中にレチノイン酸(RA)を添加すると、LIF に応答してアストロサイトへの分化が見られるようになることが明らかになっている。分担研究者はこれらの結果と自身のこれまでの研究結果から、このアストロサイト早期分化能獲得にDNAメチル化というエピジェネティックなゲノム修飾の関与を想定してきた。本研究ではDNAのメチル化状態がRAによって実際に変化を受けることを bisulfite シークエンスなどによって検討した。変化を受けている場合は分子生物学や細胞生物学の技術や知識を駆使しそのメカニズム解明に臨む。また、VPAは成体神経幹細胞のニューロン分化を促進することが分かっているものの胎仔神経幹細胞に対する影響については不明であった。そこで本研究で胎仔神経幹細胞に対する影響を成体神経幹細胞に対するそれと比較するとともに、マイクロアレイによる遺伝子発現解析などを足掛りとしてその作用機序解明を試みた。(中島)。

妊娠マウスにドーモイ(DA)酸を投与し、得られた新生子(雄マウス)について生後10週齢時に解析を開始した。なお、成体時にドーモイ酸を投与した場合の影響と比較検討するため、生後10週齢の雄マウスについても解析を行った。神経行動毒性については、主に情動-認知系行動に焦点を合わせ、オープンフィールド試験、明暗往來試験、高架式十字迷路試験、恐怖条件付け試験、驚愕反応プレパルス抑制試験、及びケージ内活動量測定試験を組み合わせた解析を行った。脳構造における障害性の



有無に関しては、終脳における神経細胞突起の発達に焦点を合わせて、共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。またグルタミン酸が興奮性神経伝達物質であることから、得られた新生児における脳内の興奮-抑制バランス制御に障害が生じている可能性が高い。よって各種受容体および調節因子のタンパク発現パターンについても解析した。(種村)。

#### <免疫>

自然免疫系の活性制御機構をさらに解析するため、TLR刺激によるNF- $\kappa$ B依存性の遺伝子発現に早期誘導型と遅期誘導型に分かれる分子機構を解析した。まず、MyD88欠損マクロファージをTLR4リガンドで刺激し、TRIF依存性のシグナルが入る状況で早期誘導型と遅期誘導型の遺伝子発現を解析した。さらに、早期誘導型遺伝子としてMIP2遺伝子、遅期誘導型遺伝子としてLcn2遺伝子を代表とし、各遺伝子プロモーターへの転写制御因子群のリクルートをクロマチン免疫沈降法で解析した。また、各遺伝子プロモーターのクロマチン構造をヒストンH3のメチル化を指標に解析した。また、同じ核に発現するIkB分子IkB $\zeta$ の遅期誘導型遺伝子の発現誘導における役割を解析した。

子どもの成長に応じた自然免疫系の活性の変化を、2週齢と8週齢のマウスの腹腔に存在するマクロファージを用いて比較解析した。両週齢のマウスの腹腔をHanks液で洗浄し、細胞を回収し、CD11b陽性細胞を単離し実験に用いた。TLR4リガンドであるLPSで刺激し、TNF- $\alpha$ , IL-6の産生を解析した。次に、胸腺腫細胞株EL-4をCFSEで蛍光ラベルし、irradiationでアポトーシスを引き起こし、この細胞の貪食能を解析した。また、大腸菌を蛍光ラベルし、抗血清でオプソニン化し、この貪食能も比較解析した。(竹田)。

#### <内分泌>

周生期の化学物質曝露により通常ホルモン制御

から組織が逸脱する際の作用メカニズムについて、膈上皮への影響を中心に遺伝子レベルからの解析を行った。マウス(C57BL/6J)を動物実験に関する指針に従い飼育し交配したのち、新生仔マウスを得た。これらを用いて新生仔期(出生直後から5日間)、または成熟期(生後10週間)に化学物質としてジエチルスチルベストロール(DES)曝露を行った。DESは1g体重あたり3 $\mu$ g、5日間投与した。曝露による組織学的な変化について解析を進めると同時に、エストロゲンの主要な標的器官である子宮と膈からRNAを調製し遺伝子発現プロファイルの解析を進めた。これにより新生仔期の曝露により恒久的に発現が変化する遺伝子の探索を行った。またDES投与後、通常1-6時間で子宮および膈を摘出しRNAを調製し、その遺伝子発現状態を解析した。対照群にはごま油を用いた。生後70日のマウスの解析にあたっては、その2週間前に卵巣摘出を行った。遺伝子発現プロファイルの解析結果をもとに、遺伝子の発現レベルが新生仔期のエストロゲン処理により異なっていた遺伝子について、ゲノムの状態を解析した。特に本年度では、遺伝子発現プロファイルをもとに選択した遺伝子の近傍について、Bisulfite法によりDNAのメチル化状態を明らかにし、エピジェネティックな変化が恒常的に遺伝子発現に影響を及ぼす変化が生じている可能性について検討を加えた。(渡邊)。

#### 【外挿問題解析】

化学物質の毒性評価を進める過程で、成熟個体(成人)と未成熟個体(子ども)で毒性の強さが異なる化学物質が見出されてきている。本研究ではそのような化学物質の具体例として、子ども期投与の方が成人期投与より広範な影響が生じることが明らかになった domoic acid (DA)を例として取り上げ、その背景となる分子メカニズムを、網羅的遺伝子発現解析手法を用いて検討し、成人でのリスク評価結果を

子どものリスク評価予測に外挿する際の有効性と限界について検討した。(菅野)。

マウスES細胞を用いたEST法に加えて、ヒト組織細胞を用いた毒性試験方法の開発を目指し、マウスES細胞を用いたVPAの細胞に与える毒性のメカニズムの解析を行った。さらに、マウス神経芽腫由来N1E-115細胞を用いて細胞分化増殖に及ぼすVPAの影響について解析を行った(田上)。

## C. 結果

### 【恒常性維持機構発達解析】

発生成育段階検討に加え、脳神経系、免疫系、内分泌系の3つの高次生体機能について化学物質の子どもへの健康影響を考察するための基盤となる知見を集積した。

#### <発生成育>

5週齢の雌雄のラットにHDBBを反復強制経口投与したときには毒性に性差がみられ、雄の0.5 mg/kg以上、雌の12.5 mg/kg以上で主に肝障害及び血液生化学的検査値の変化が、雌雄の12.5 mg/kg以上で心筋の異常が観察された。生後4-21日の雌雄の新生児ラットにHDBBを強制経口投与したところ、毒性の性差が消失し、2.5 mg/kg以上の雌雄で肝重量の増加、12.5 mg/kgの雌雄で肝障害及び血液生化学的検査値の変化が認められた(江馬)。

#### <神経>

化学物質の中でもRAとVPAに焦点を絞り、その神経幹細胞分化における作用及び作用機序の解明を進め、1)RAがES細胞の早期アストロサイト分化を誘導する際に、アストロサイト特異的遺伝子プロモーターの脱メチル化が生じること、2)その過程にヒストンメチル化酵素G9aが関与するらしいこと、3)VPAが損傷脊髄において移植神経幹細胞由来ニューロンの突起伸長を促進することなどを見出し

た(中島)。

妊娠母マウスにDAの腹腔投与を行い、出生後の雄マウスについて行動解析を行った結果、成体期マウスへのDA投与時に確認された記憶障害のみならず、情動行動の変化および情報処理能力の低下が確認された。また脳構造を解析したところ、大脳皮質における神経細胞軸索の発達に障害が認められた。これらの結果から、胎生期におけるグルタミン酸受容体の過剰刺激は、脳構造形成異常を引き起こすとともに、脳機能発達障害の一因である可能性が示された(種村)。

#### <免疫>

自然免疫系の、子どもの成長に応じた発達機構について、その活性制御機構を解析した結果、TLRを介したNF- $\kappa$ B依存性の遺伝子発現には早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子が存在し、遅期誘導型遺伝子の発現を、核に発現するI $\kappa$ B分子I $\kappa$ BNSが抑制することを見出した。さらに、早期誘導型遺伝子と遅期誘導型遺伝子の発現誘導機構を解析した。早期誘導型遺伝子のプロモーターは、クロマチン構造が常に開いており転写制御因子が刺激後迅速にアクセスしやすい構造となっている一方、遅期誘導型遺伝子のプロモーターは、クロマチン構造が閉じており、TLR刺激により構造変換を受けて開き、転写制御因子がアクセスできるようになることが、遺伝子発現に時間を要する原因であることを明らかにした。さらに、遅期誘導型遺伝子のプロモーターのクロマチン構造変換に関わる分子として、I $\kappa$ BNSと同じI $\kappa$ B分子I $\kappa$ Bzetaを同定した。

また、子どもの自然免疫系の活性を解析するため、2週齢と8週齢のマウスの腹腔マクロファージの機能を解析した。TLR刺激によるサイトカイン産生は両週齢のマウス間で差はないが、アポトーシス細胞の食食能、大腸菌の食食能が、2週齢のマクロファージで有意に低下していた。この結果は、自然免疫系の細



胞も、獲得免疫系を担当するリンパ球のように、子どもの成長に応じて発達する可能性を示唆するものと考えられた(竹田)。

#### <内分泌>

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。新生仔期特異的にエストロゲンに応答する遺伝子は、エストロゲン暴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い。これら遺伝子をいくつか選択しゲノムDNAのメチル化パターンを解析したが、暴露による特徴的な変化は検出できなかった(渡邊)。

#### 【外挿問題解析】

DA は子ども期投与の方が成人期投与より、認知障害の程度が重篤で、かつ多動を伴う行動変化を引き起こす。そこで、DA の脳に対する影響を網羅的遺伝子発現解析により調べ、投与時期による差異を検討した。その結果、子ども期の DA 投与による遺伝子発現変化は全体的にはごく小さいものであったものの、Junb, Fos, Arc などのグルタミン酸受容体下流に位置する遺伝子の発現が選択的に、成人期に至っても上昇していることを明らかにした。これにより、成人・子ども間リスク評価結果の外挿に関する研究を進めるための題材として選んだ DA が、未成熟個体に対してより強い作用を示すことが、神経行動学的観点及び、遺伝子発現変化の観点から示された(菅野)。

抗けいれん剤の一つであるVPAの細胞毒性、神経組織形成に及ぼす影響をマウス胚性幹細胞(ES細胞)ならびにマウス神経芽腫由来N1E-115細胞を用いて解析した。その結果、VPA の添加により、マウスES細胞の内胚葉系及び中胚葉系への細胞分化は抑制され外胚葉系への分化は促進されることが明らかとなった。N1E-115細胞ではGadd45a遺伝子を介して神経細胞の分化を促進することが明らかとな

った。(田上)。

#### D. 考察

高次生体機能恒常性維持機構発達メカニズムは医学的、生理学的な観点から基礎研究が進められている分野であるが、それらにより得られる知見は、化学物質の影響評価に直接役立てることは難しいものがほとんどである。それに対し本研究では、化学物質影響の発現が強く予想される高次生体機能恒常性維持機構の発達に焦点を絞って戦略的に基礎研究を進め、リスク評価に応用可能な基礎的知見の取得を目指した。

今年度の具体的成果として、まず【恒常性維持機構発達解析】に於いて、発生成育、神経系、免疫系、内分泌系のそれぞれについて次の知見を得た。発生成育について、紫外線吸収剤として使われているHDBBの新生児期と5週齢のラットに投与した結果、肝の変化の出現に差がみられた。神経幹細胞分化制御にRAとVPAが様々な影響を与えることが明らかになった。RAによるES細胞からの早期アストロサイト分化誘導過程において、「Dnmt1のアストロサイト特異的遺伝子プロモーターへの結合減弱による脱メチル化促進」というメカニズムが推察された。また、VPAは損傷脊髄において移植幹細胞のニューロン分化を誘導できると共に、軸索伸長も促進できることがわかった。免疫系について、自然免疫系の細胞も、獲得免疫系を担当するリンパ球のように子どもの成長に応じて発達する可能性がある結果が得られ、これは化学物質の子どもへの健康影響を考察するための基盤となる知見として特に有用であると考えられた。内分泌について、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。新生児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いと考え、これら遺伝子をいくつか選択しゲノムDNAの

メチル化パターンを解析したが、暴露による特徴的な変化は検出できなかった。

【外挿問題解析】に於いては、DA 投与に伴う遺伝子発現変化は、全体的にはごく小さいものであったが、グルタミン酸受容体下流に位置する遺伝子の成人期における発現が子ども期の投与により、永続的に影響を受けることが示された。これは、DA が子どもに対し、より重篤な影響を与える分子背景となっている可能性がある。

マウス ES 細胞を用いた EST 法について、マウス ES 細胞及びN1E-115細胞でVPAの細胞毒性効果ならびに細胞分化に及ぼす影響を、分子生物学的手法により明らかにした。今後、この結果は個体レベルでのVPAの催奇形性の発症のメカニズムの解明に有用であると考えられる。

所定の所見が得られたことから、引き続き化学物質の子どもへの健康影響を考察するための基盤となる知見を引き続き集積する。以て、子どもに対する化学物質の影響を、高次生体機能の恒常性維持機構発達メカニズムの成熟過程に基づいて考察し、今後のリスク評価に寄与する。

#### E. 結論

化学物質による子どもへの健康影響のリスク評価に資する基礎的知見を得るため、発生成育、脳神経系、免疫系、内分泌系、及び外挿問題解析の各テーマについて基礎研究を推進し、研究課題初年度として次年度につながる成果を上げた。次年度以降も同じ構成で基礎研究を進め、「子どものリスク評価」を科学的に検討する基礎を固める。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

#### 論文発表

Em M, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E, Ihara T. (2007) Developmental toxicity of dibutyltin dichloride in cynomolgus monkeys. *Reprod Toxicol*, 23,12-19

松本真理子、日下部哲也、川原和三、菅谷芳雄、江馬 眞 (2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第22回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 2, 302-312

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006)、OECD 化学物質対策の動向(第10報) — 第18回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2004年パリ)、化学生物総合管理学会雑誌, 2, 286-301

Em M, Fujii S, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Prenatal developmental toxicity study of basic rubber accelerator, 1,3-di-*o*-tolylguanidine, in rats. *Reprod Toxicol*, 22, 672-678

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006) OECD 化学物質対策の動向(第9報) — 第17回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2003年アローナ)、化学生物総合管理学会誌, 2, 163-175

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006) OECD 化学物質対策の動向(第8報) — 第16回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2003年パリ)、化学生物総合管理学会誌, 2, 147-162

松本真理子、川原和三、菅谷芳雄、江馬 眞



(2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム:第21回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 2, 135-146

松本真理子、高橋美加、平田睦子、広瀬明彦、鎌田栄一、長谷川隆一、江馬 眞 (2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム:第 18 回初期評価会議までの概要  
化学生物総合管理学会誌, 2, 104-134

江馬 眞 (2006) OECD の高生産量化学物質安全性点検プログラムとその手順、化学生物総合管理学会, 2, 83-103

Ena M, Kimura E, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Reproductive and developmental toxicity screening test of basic rubber accelerator, 1,3-di-*o*-tolylguanidine, in rats. *Reprod Toxicol*, 22, 30-36

Ena M, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Evaluation of Developmental Toxicity of Ultraviolet Absorber 2-(3',5'-Di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in Rat. *Drug Chem Toxicol*, 29, 215-225

#### 学会発表

江馬 眞、福西克弘、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一、伊原敏夫 (2006) カニクイザルにおけるジブチルスズの発生毒性試験、第 46 回日本先天異常学会学術集会 (山形、6/29-30)

江馬 眞、松山隆史、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一 (2006) 紫外線吸収剤 2-(3',5'-di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole のラット新生児における毒性、第 46 回日本先天異常学会学術集会 (山形、

6/29-30)

江馬 眞 (2006) 生殖毒性、第 7 回日本トキシコロジー学会生涯教育講習会 (名古屋、7/3)

江馬 眞、藤井咲子、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一(2006)加硫促進剤 1,3-di-*o*-tolylguanidine のラットにおける出生前発生毒性、第 33 回日本トキシコロジー学会学術年会 (名古屋、7/4-6)

Hirose A, Aisaki H, Oh K, Matsumoto M, Kamata E, Igarashi K, Kanno J, Ena M. Gene Expression analysis in uterus and ovary of mice treated dibutyltin dichloride during implantation. The 26<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo, 8/21-25)

Ena M, Fujii S, Ikka T, Matsumoto M, Hirose, Kamata E. Pre- and post implantation embryonic loss induced by dibutyltin given to mice during early pregnancy. The 26<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo, 8/21-25)

Ena M, Arima A, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E, Ihara T. (2006) Prenatal developmental toxicity of dibutyltin in cynomolgus monkeys given on consecutive three days during organogenesis. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Hasegawa R, Hirata-Koizumu M, Dourson M, Hirose A, Nakai S, Kamata E, Ena M. (2006) Comprehensive evaluation on pediatric susceptibility to 18 chemical. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Hirose A, Kamata E, Akiyama H, Takahashi M, Ema M, Hayashi M. (2006) Development in silico genotoxicity predictory system on chromosomal aberration for existing chemicals. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Ema M, Fujii S, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Teratogenic effects of rubber accelerator, 1,3-di-o-tolylguanidine (DTG), in rats. 27<sup>th</sup> Annual meeting of American College of Toxicology (Palm Springs, 10/5-8)

林 真、広瀬明彦、鎌田栄一、秋山浩子、高橋美加、江馬 眞、森田 健、既存化学物質の染色体異常誘発性評価のための in silico 評価系の開発、日本環境変異学会大35回大会(堺, 11/20-21)

Ema M, Hara H, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Developmental neurotoxicity of polysorbate 80 in rats. International Conference on Food Contamination and Neurodevelopmental Disorders (Valencia, 12/3-5)

Ema M, Matsumoto M, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Hirose A, Kamata E, Hasegawa R, Yamamoto N., The Contribution of the Japanese Government to the OECD High Production Volume Chemicals Programme: Summary of 1<sup>st</sup> to 21<sup>st</sup> SIDS Initial Assessment Meetings. First U.S. Conference on Characterizing Chemicals in Commerce: Using Data on High Production Volume (HPV) Chemicals. (Austin, 12/12-14)

Ema M, Matsuyama T, Matsumoto M, Hirose A, Hirata-Koizumi M, Kamata, E. (2007) Toxicity study of ultraviolet light absorber 2-(3',5'-di-

tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole (DBHCB) in rats during the pre-weaning period. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

Fukunishi K, Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Hirose A, Kamata E, Ema M. (2007) Combined repeated dose toxicity with the reproductive/developmental toxicity screening test of ultraviolet absorber 2-(3,5-di-tert-butyl-2-hydroxyphenyl)-5-chloro-2H-benzotriazole (DBHCB) in rats. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

Hirose A, Yamazoe Y, Ema M, Kawamura Y. (2007) Toxicity testing schema for the initial risk assessment of food contact plastics based on the concept of ttc and usage probabilistic factors. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

#### H. 知的財産所有権の取得状況

1. 特許取得:  
特になし
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



別添 4

## Ⅱ. 分担研究報告書

化学物質による子どもへの健康影響に関する研究

—恒常性維持機構発達の過渡特性に立脚したリスク評価研究— (H17-化学-001)

研究課題名: 児の発生成長段階における化学物質の毒性発現様式と感受性の変化の解析

主任研究者 江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室  
研究協力者 鎌田栄一 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室  
研究協力者 広瀬明彦 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室  
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 平田睦子 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究要旨

本研究は、児の発生成長段階における化学物質の毒性発現様式と感受性の変化の解析を目的としている。平成 18 年度においては、紫外線吸収剤として使われている 2-(2'-hydroxy-di *tert*-butylphenyl)benzotriazole (HDBB) の毒性発現における週齢差、性差について SD ラットを用いて検討した。5 週齢の雌雄のラットに HDBB を反復強制経口投与したときには毒性に性差がみられ、雄の 0.5 mg/kg 以上、雌の 12.5 mg/kg 以上で主に肝障害及び血液生化学的検査値の変化が、雌雄の 12.5 mg/kg 以上で心筋の異常が観察された。生後 4-21 日の雌雄の新生児ラットに直接 HDBB を強制経口投与したところ、毒性の性差が消失し、2.5 mg/kg 以上の雌雄で肝重量の増加、12.5 mg/kg の雌雄で肝障害及び血液生化学的検査値の変化が認められた。

A. 研究目的

胎児期を含めた所謂子ども期は各器官が未発達であり、とくに神経系の分化・成熟は胚/胎児期のみならず出生後にも及ぶ。そのため、化学物質等の環境要因の影響に対する脆弱期が長く続き、有害影響が懸念される。近年、次世代の健康に対して化学物質等の環境要因による健康影響の危惧が極めて高いことがようやく認識されてきた。ヒトでの調査の重要性は勿論のことであるが、有害物質を環境中に出さず、また環境から排除し、化学物質の有害影響から次世代を防御するために、動物実験の役割が益々大きくなっている。

化学物質等の外因性要因に対する出生前及び出生後の児における悪影響は着床障害、胚死

亡、奇形、生殖器の異常、行動異常等の様々な発現様式で観察される。児の発生成育段階により外因性要因に対する感受性が変化し、発現様式にしたがったwindowがあることが認識されており、また児における外因性要因に対する悪影響は成体における反応とも異なり、悪影響発現の感受性も大きく異なる場合のあることが認識されつつある。本研究においては、化学物質を児の発生成育の異なった段階に投与し、毒性発現、感受性の違いを明らかにし、各発生成育段階の児における毒性発現機序の解析を行うことを目的として実験を行った。

昨年度において、6週齢ラットを用いた反復投与では雄にだけ毒性が発現するが、離乳前のラッ

トに投与したときには雌雄のラットに同様な毒性を  
発現させる紫外線吸収剤、  
2-(3',5'-di-*tert*-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-  
chlorobenzotriazole (DBHCB) について検討した。

本年度においては、DBHCBに化学構造が類似  
しており、紫外線吸収剤として使われている  
2-(2'-hydroxy-di-*tert*-butylphenyl)  
benzotriazole (HDBB)を用いて、5週齢ラットにお  
ける反復投与試験の結果と、離乳前ラットを用い  
た反復投与試験の結果を比較検討した。

## B. 研究方法

### 使用動物:

5週齢ラットを用いた反復投与試験:雌雄の4週齢  
CRj:CD(SD)IGS ラットを購入し、8日間の馴化を行  
った後に実験に使用した。

新生児投与試験:雄11週齢、雌10週齢

CrI:CD(SD)ラットを購入し、1週間の馴化を行った  
後に雌雄を交配させ、妊娠雌は自然分娩させて、  
新生児を得た。生後4日に1母体当たりの児数を  
雌雄各4匹に調整し、そのまま母体に保育させた。

被験物質:紫外線吸収剤として使われている

2-(2'-hydroxy-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole  
(HDBB, CAS No.: 3846-71-7)を用いた。用いた  
HDBBの純度は100%であった。被験物質はコーン  
油に懸濁した。投与液は7日以内に使用した。

投与経路および投与方法:強制経口投与した。投  
与液量は、5週齢ラットの場合は5 mL/kg、離乳前  
のラットの場合は10 mL/kgとし、個体別に投与日  
の体重に基づいて算出した。

### 試験および観察方法:

5週齢ラットを用いた反復投与毒性:0, 0.5, 2.5,  
12.5, 62.5 mg/kg bw/day を雌雄のラットに28日間  
強制経口投与した。最終投与の翌日、各群の雌雄  
各5匹のラットを放血と殺し、血液学的検査、血液  
生化学的検査、器官重量測定、肉眼的及び顕微  
鏡的検査に供した。対照群及び最高投与量群の  
雌雄の各5匹のラットは14日間の無処置期間の後  
と殺して、検査に供した(回復群)。

新生児投与試験:1群当たり5母体の雌雄の新生  
児ラット(20匹/性/群)の生後4-21日に0, 0.1,  
0.5, 2.5, 12.5 mg/kg bw/day を強制経口投与した。  
生後22日に各群の雌雄の新生児ラットを放血と殺  
し、血液生化学的検査、器官重量測定、肉眼的及  
び顕微鏡的検査に供した。

(倫理面への配慮)

動物実験は(財)食品農医薬品安全性評価センタ  
ー及び(株)新日本科学の実験動物倫理委員会規  
則において定める倫理基準に従って行った。

## C. 研究結果

### 28日間反復投与毒性試験

いずれの群においても死亡はみられなかった。  
一般状態の観察では被験物質投与に起因すると  
考えられる変化は観察されなかった。いずれの測  
定時においても、雌雄ともに対照群とHDBB投与  
群との間に体重に有意な差はみられなかったが、  
62.5 mg/kg 群の雄の投与期間14-21日、雌の投  
与期間21-27日の摂餌量の有意な増加がみられ  
た。

尿検査の結果にはHDBB投与の影響は認めら  
れなかった。28日間の投与終了の翌日と殺の結果、  
雄ラットにおいて2.5 mg/kg 以上で赤血球数、  
ヘマトクリット及びヘモグロビンの低下、12.5  
mg/kg 以上で平均赤血球色素濃度(MCHC)の  
低下、62.5 mg/kg で血小板数増加がみられたが、  
雌ラットにおいてはこれらの変化は認められなかつ  
た。

血液生化学的検査の結果、雄においてアルブ  
ミン/グロブリン比(0.5 mg/kg 以上)、グルコース  
(2.5 mg/kg 以上)、アルブミンアラニンアミノラン  
スフェラーゼ(ALT)及びアルカリフォスファターゼ  
(ALP)(12.5 mg/kg 以上)、血液尿素窒素(BUN)  
及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)  
(62.5 mg/kg)の上昇が観察されたが、雌ではアル  
ブミン/グロブリン比、グルコース、総コレステロー  
ル、トリグリセライド(TGL)及びALTの上昇が62.5  
mg/kg でみられたただけであった。



器官重量については、2.5 mg/kg 以上の雄及び 12.5 mg/kg 以上の雌で肝絶対重量の増加、0.5 mg/kg 以上の雄及び 12.5 mg/kg 以上の雌で肝相対重量の増加が認められた。さらに、62.5 mg/kg で雄の腎臓絶対及び相対重量、雌の心臓の絶対重量の増加が観察された。肝臓肥大が 0.5 mg/kg 以上の雄及び 12.5 mg/kg 以上の雌でみられた。

病理組織学的検査では、心臓の心筋変性が 12.5 mg/kg 以上の雌雄に、細胞浸潤が 0.5 mg/kg 以上の雄及び 62.5 mg/kg の雌に、心筋肥大が 12.5 mg/kg 以上の雌雄にみられた。脾臓においては、髄外造血が 2.5 mg/kg 以上の雄に観察された。肝臓では、小葉辺縁部の肝細胞の空胞変性が 2.5 mg/kg 以上の雄及び 62.5 mg/kg の雌に、巣状壊死が 2.5 mg/kg 以上の雄に、肝細胞肥大が 0.5 mg/kg 以上の雄及び 12.5 mg/kg 以上の雌に、分裂像多が 62.5 mg/kg の雄及び 12.5 mg/kg 以上の雌に、胆管増殖が 0.5 mg/kg 以上の雄及び 62.5 mg/kg の雌に認められた。腎臓では、尿細管好塩基化の程度の増強が 62.5 mg/kg の雄に、管腔拡張が 62.5 mg/kg の雄に、集合管の尿細管上皮肥大が 12.5 mg/kg 以上の雄及び 62.5 mg/kg の雌にみられた。甲状腺においては、濾胞細胞造生が 62.5 mg/kg の雌雄に観察された。

回復期間終了後のラットでは、28 日間投与終了時に観察された所見が 62.5 mg/kg 投与群で認められた。心臓の心筋変性及び細胞浸潤、脾臓の髄外造血、肝細胞の空胞変性及び胆管増生及び甲状腺の濾胞細胞造生が雄に、肝臓の肝細胞肥大及び巣状壊死が雌雄に観察された。

#### 新生児投与試験

体重、一般状態及び剖検所見には何れの HDBB 投与群の雌雄にも異常は認められなかった。

12.5 mg/kg 投与群では、雌で副腎の相対及び絶対重量の低値、雌雄の肝臓の相対及び絶対重量の増加、脾臓の相対及び絶対重量の低下が観察された。血液生化学的検査の結果では、雄において AST、ALT、アルブミン及び BUN の上昇、クレアチンホスホキナーゼ (CPK) の低値が観察され、雌

においては AST、ALP、アルブミン、乳酸デヒドロキナーゼ (LDH) の上昇、TGL の低下が認められた。2.5 mg/kg 投与群においては、雌雄に肝臓の相対重量の増加が認められた。

0.1 及び 0.5 mg/kg 投与群においては、HDBB 投与によると考えられる変化は観察されなかった。

病理組織学的検査では、12.5 mg/kg 投与群の雌雄に肝細胞の肥大、好酸球形顆粒状変化及びグリコーゲンの減少がみられ、2.5 mg/kg 以上の投与群の雌雄に肝細胞分裂像の頻度上昇及び肝細胞核の大小不同及び核小体肥大が観察された。しかし、心臓の病理組織学的検査では HDBB 投与による変化は観察されなかった。

#### D. 考察

紫外線吸収剤として使われている HDBB を 5 週齢のラットに投与した。肝臓に種々の変化がみられ、HDBB の毒性の標的器官は肝臓であることが明らかになった。また、体重増加を伴わない摂餌量、血中グルコースの上昇、総コレステロール及びトリグリセライドの上昇、肝細胞の脂質性変化等がみられた。これらの変化は、代謝のかく乱を示しており、HDBB が代謝の恒常性に影響を及ぼすことが示唆された。また、28 日間投与の結果、HDBB のもう一方の標的器官は心臓であることが示された。本研究では、心臓の病理組織学的変化を明らかにしたが、心臓の機能に関して検討をしていないのは、心臓の機能的な指標は病理組織学的な指標よりも鋭敏であるとの指摘 (Glaister, 1992) もあり、HDBB の毒性影響をさらに明らかにするためにも HDBB の心臓の機能に対する影響を検討する必要がある。

HDBB の 28 日間投与により、貧血、腎臓及び甲状腺への影響が惹起されることが明らかになった。また、HDBB の毒性発現には雌雄差が存在することが明らかになった。0.5 mg/kg 以上でも肝臓重量、肝細胞肥大、胆管増生、A/G 比の上昇等が認められた。一方、雌では、HDBB による貧血はみられず、貧血以外の雄にみられた変化が 12.5 mg/kg 以上で観察された。これらのことは、雄の HDBB に対する感受性は雌よりも約 25 倍高いことを示している。

毒性の雌雄差については、F344 ラットを用いた試験で、多環芳香族感化水素の fluorathene が雄では雌よりも強い影響を及ぼすことが示されている (Knuckles et al, 2004)。また、カルバメート・コリンエステラーゼ阻害剤の rivastigmine による視床下部コリンエステラーゼ抑制に対する効果は雌ラットで高感受性を示すことが報告されている (Wang et al, 2001)。このような性差はヒトにおいても報告されており、chlorpromazine や fluspirilene などの抗精神病薬は女性で強い作用が発現することが知られている (Fletcher et al, 1994; Harris et al, 1995)。性差の要因としては、トキシコキネティックスの差異があげられる。肝臓での代謝能の性差はよく知られており、一般的には雄では雌よりも高い。また、腎臓、肝臓、小腸、脳などの器官の膜移送に性差が存在することが明らかになっている (Morris et al, 2003)。HDBB のトキシコキネティックスに関する情報を含めて、収集可能な情報は限られており、性差の要因を解明することは現在のところ困難である。しかしながら、HDBB の毒性は肝臓、腎臓、血液とも雄で強く発現していることから、代謝または移送の性差が HDBB かまたはその代謝物の雄での血中濃度を高くしている可能性が考えられる。性差に関してステロイド・ホルモンが重要な役割を果たしていることが知られており、精巣摘除により rivastigmine による視床下部のコリンエステラーゼ抑制における性差が完全に消失することが報告されている (Wang et al, 2001)。去勢した雌雄では、テストステロンがコリンエステラーゼ抑制を抑えることから、テストステロンが rivastigmine の効果を抑えているのは明らかである。他方、エストロゲンはドパミン拮抗薬として作用し、抗精神病薬の反応性に関して何らかの役割を果たしていると考えられる。HDBB の毒性の性差におけるステロイド・ホルモンの役割を検討する必要がある。

5 週齢ラットを用いた反復投与実験では、雄の 0.5 mg/kg 以上、雌の 12.5 mg/kg 以上で毒性が認められた。一方、離乳前の雌雄の新生児ラットに HDBB を直接強制経口投与したとき、5 週齢ラットで観察された肝臓を主な標的器官とする毒性とは

ほぼ同様な肝臓の重量増加を伴う毒性が、雌雄の 2.5 mg/kg 以上の投与量で観察された (0.5 mg/kg では毒性は認められなかった)。これらのことから、HDBB を離乳前のラットに強制経口投与したとき、雄では毒性が減弱し、雌では毒性が増強され、離乳前のラットでは、HDBB の毒性発現には性差が消失することが示された。ラットの性成熟は雄では生後 40-43 日、雌では生後 30-32 日 (Ema et al, 2001) であり、離乳前のラットでは雌雄とも性成熟に達していない。この時期のラットでは、内分泌学的に未成熟であり、この時期に投与した HDBB により雌雄とも同じ投与量において毒性影響が発現した。これらのことは HDBB の毒性発現には内分泌学的な性差が関与している可能性を示している。

HDBB の毒性影響発現について、雌雄の去勢ラットを用いて現在検討中である。また、来年度においては HDBB の毒性発現の性差の解明を行う予定である。

## E. 結論

HDBB を用いて毒性発現の週齢差、性差について SD ラットを用いて検討した。5 週齢の雌雄のラットに HDBB を反復強制経口投与したとき、雄では雌よりも強い毒性がみられ、毒性の性差が認められた。離乳前の雌雄の新生児ラットに HDBB を直接強制経口投与したところ、HDBB の毒性の強さは雌雄で同様であり、毒性発現の性差が消失した。

## F. 健康危惧情報

特になし

## G. 研究発表

### 論文発表

Ema M, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E, Ihara T. (2007) Developmental toxicity of dibutyltin dichloride in cynomolgus monkeys. *Reprod Toxicol*, 23,12-19

松本真理子、日下部哲也、川原和三、菅谷芳



雄、江馬 眞 (2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム:第22回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 2, 302-312

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006)、OECD 化学物質対策の動向(第10報) —第18回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2004年パリ)、化学生物総合管理学会誌, 2, 286-301

Ena M, Fujii S, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Prenatal developmental toxicity study of basic rubber accelerator, 1,3-di-o-tolylguanidine, in rats. *Reprod Toxicol*, 22, 672-678

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006) OECD 化学物質対策の動向(第9報) —第17回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2003年アローナ)、化学生物総合管理学会誌, 2, 163-175

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬 眞 (2006) OECD 化学物質対策の動向(第8報) —第16回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議(2003年パリ)、化学生物総合管理学会誌, 2, 147-162

松本真理子、川原和三、菅谷芳雄、江馬 眞 (2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム:第21回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 2, 135-146

松本真理子、高橋美加、平田睦子、広瀬明彦、鎌田栄一、長谷川隆一、江馬 眞 (2006) OECD 高生産量化学物質点検プログラム:第18回初期評価会議までの概要 化学生物総合管理学会誌, 2, 104-134

江馬 眞 (2006) OECD の高生産量化学物質安全性点検プログラムとその手順、化学生物総合管理学会, 2, 83-103

Ena M, Kimura E, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Reproductive and developmental toxicity screening test of basic rubber accelerator, 1,3-di-o-tolylguanidine, in rats. *Reprod Toxicol*, 22, 30-36

Ena M, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Evaluation of Developmental Toxicity of Ultraviolet Absorber 2-(3',5'-Di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in Rat. *Drug Chem Toxicol*, 29, 215-225

#### 学会発表

江馬 眞、福西克弘、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一、伊原敏夫 (2006) カニクイザルにおけるジブチルスズの発生毒性試験、第46回日本先天異常学会学術集会(山形、6/29-30)

江馬 眞、松山隆史、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一 (2006) 紫外線吸収剤 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole のラット新生児における毒性、第46回日本先天異常学会学術集会(山形、6/29-30)

江馬 眞 (2006) 生殖毒性、第7回日本トキシコロジー学会生涯教育講習会(名古屋、7/3)

江馬 眞、藤井咲子、松本真理子、広瀬明彦、鎌田栄一 (2006) 加硫促進剤 1,3-di-o-tolylguanidine のラットにおける出生前発生毒性、第33回日本トキシコロジー学会学術年会(名古屋、7/4-6)

Hirose A, Aisaki H, Oh K, Matsumoto M, Kamata E, Igarashi K, Kanno J, Ena M. Gene Expression analysis in uterus and ovary of mice treated dibutyltin dichloride during implantation. The 26<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo, 8/21-25)

Emma M, Fujii S, Ikka T, Matsumoto M, Hirose, Kamata E. Pre- and post implantation embryonic loss induced by dibutyltin given to mice during early pregnancy. The 26<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo, 8/21-25)

Emma M, Arima A, Fukunishi K, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E, Ihara T. (2006) Prenatal developmental toxicity of dibutyltin in cynomolgus monkeys given on consecutive three days during organogenesis. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Hasegawa R, Hirata-Koizumu M, Dourson M, Hirose A, Nakai S, Kamata E, Emma M. (2006) Comprehensive evaluation on pediatric susceptibility to 18 chemical. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Hirose A, Kamata E, Akiyama H, Takahashi M, Emma M, Hayashi M. (2006) Development in silico genotoxicity predictory system on chromosomal aberration for existing chemicals. EUROTOX 2006 (Dubrovnik/Cavtat, 9/20-24)

Emma M, Fujii S, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Teratogenic effects of rubber accelerator, 1,3-di-o-tolylguanidine (DTG), in rats. 27<sup>th</sup> Annual meeting of American College of Toxicology (Palm Springs, 10/5-8)

林 真、広瀬明彦、鎌田栄一、秋山浩子、高橋美加、江馬 真、森田 健、既存化学物質の染色体異常誘発性評価のための in silico 評価系の開発、日本環境変異学会大35回大会(堺, 11/20-21)

Emma M, Hara H, Matsumoto M, Hirose A, Kamata E. (2006) Developmental neurotoxicity of polysorbate 80 in rats. International Conference on Food Contamination and Neurodevelopmental Disorders (Valencia, 12/3-5)

Emma M, Matsumoto M, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Hirose A, Kamata E, Hasegawa R, Yamamoto N., The Contribution of the Japanese Government to the OECD High Production Volume Chemicals Programme: Summary of 1<sup>st</sup> to 21<sup>st</sup> SIDS Initial Assessment Meetings. First U.S. Conference on Characterizing Chemicals in Commerce: Using Data on High Production Volume (HPV) Chemicals. (Austin, 12/12-14)

Emma M, Matsuyama T, Matsumoto M, Hirose A, Hirata-Koizumi M, Kamata E. (2007) Toxicity study of ultraviolet light absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzo triazole (DBHCB) in rats during the pre-weaning period. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

Fukunishi K, Matsumoto M, Hirata-Koizumu M, Hirose A, Kamata E, Emma M. (2007) Combined repeated dose toxicity with the reproductive/developmental toxicity screening test of ultraviolet absorber 2-(3,5-di-tert-butyl-2-hydroxyphenyl)-5-chloro-2H-benzotriazole (DBHCB) in rats. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

Hirose A, Yamazoe Y, Emma M, Kawamura Y. (2007) Toxicity testing schema for the initial risk assessment of food contact plastics based on the concept of ttc and usage probabilistic factors. The 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society of Toxicology (Charlotte, 3/25-29, 2007)

#### 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



## 目 的

化学物質等の外因性要因に対する出生前及び出生後の児における悪影響は着床阻害、胚死亡、奇形、生殖器の異常、行動異常等の様々な発現様式で観察される。児の発生発育段階により外因性要因に対する感受性が変化し、発現様式にしたがったwindowがあることが認識されている。また児における外因性要因に対する悪影響は成体における反応とも異なり、悪影響発現の感受性も大きく異なる場合のあることが認識されつつある。

本研究においては、化学物質を児の発生発育の種々の段階に投与し、毒性発現、感受性の違いを明らかにし、各発生発育段階の児における毒性発現機序の解析を行う。

## 年次計画

- ・ 17年度  
各発生発育段階の児における毒性発現様式及び感受性の比較解析を行う
- ・ 18年度  
新生児及び成体比較により、感受性差の原因解明を行う
- ・ 19年度  
新生児及び成体比較により、感受性差の原因解明を行う