

膜の脱落膜化抑制を惹起し、これらがDPTCIによる着床阻害の要因であることを示唆している。DPTCIの子宮内膜脱落膜化抑制及び着床阻害作用に対する卵巣ホルモンの作用を検討したところ、DPTCIを与えた卵巣摘出ラットにおける子宮脱落膜化がプロゲステロンとエストロンの投与で維持された⁵⁰⁾。また、16.5 mg/kg以上のDPTCIとプロゲステロンを併用投与したラットの妊娠率及び着床数はDPTCIを単独投与したラットよりも高かった。これらの結果から、DPTCIによる子宮内膜脱落膜化の抑制は、少なくとも部分的には、卵巣ホルモンを介しており、プロゲステロンはDPTCIによる着床阻害を防御することが示唆された。

3. フェニルスズ化合物の発生毒性

Table 3にフェニルスズ化合物の発生毒性試験の結果を示した。妊娠6-15日のSDラットにTPTA (5, 10, 15 mg/kg) を強制経口投与した実験では、10 mg/kg以上で母体重増加抑制、15 mg/kgで着床後胚死亡の増加、5 mg/kg以上で胎児の骨化遅延の増加が観察されているが、明らかな母体毒性を発現する投与量でも催奇形性は検出されていない⁵¹⁾。同様に、妊娠7-17日のWistarラットへのTPTA (1.5, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0 mg/kg) の強制経口投与により、9.0 mg/kg以上の投与で母体重増加抑制、着床後胚死亡率の上昇及び胎児の骨化遅延がみられているが、催奇形性は認められていない⁵²⁾。TPTAの出生前投与による児の生後の行動変化が報告されている。CFYラットの妊娠6-14日に6 mg/kgのTPTAを強制経口投与した結果、母ラットに明確な毒性徴候はみられなかったが、児の自発運動の一過性の増加及び離乳前の死亡率の上昇が観察されている⁵³⁾。妊娠6-20日にTPTA (4, 8 mg/kg) を強制経口投与したTokai High Avoiders (THA) ラットの児では、シドマン回避学習試験での低回避率、E型水

迷路学習試験の逆転試験でのエラー数増加と到達点までの時間の延長等の学習獲得への影響が観察されている⁵⁴⁾。この実験では母体死亡及び体重増加抑制は8 mg/kgでみられたが、児の奇形はいずれの投与量でも観察されなかった。

SDラットにVancide KS (TPTH) を強制経口投与した実験では、妊娠1-7日の20 mg/kg投与では吸収胚の増加はみられなかったが、妊娠8-14日の15 mg/kgの投与では6母体中2母体でしか生児が得られず、妊娠14-20日の15 mg/kgの投与では6母体中4母体で生児が得られたことが報告されている⁵⁵⁾。しかし、この実験で使用した動物数は少なく、実験方法の詳しい報告がなされていない。妊娠6-15日のSDラットにTPTH (13 mg/kg) を強制経口投与した実験では、母体重増加抑制及び着床後胚死亡の増加が認められ、母体毒性と胎児体重及び胚/胎児死亡率との相関性がみられたが、TPTHによる胎児奇形の発現はなかった⁵⁶⁾。

Wistarラットの器官形成期にTPTCIを強制経口投与した実験では、母ラットの体重と摂餌量の低下が妊娠7-9日の3.1 mg/kg以上、妊娠10-12日または妊娠13-15日の6.3 mg/kg以上でみられた。着床後胚死亡率の上昇が妊娠7-9日の6.3 mg/kg以上、妊娠10-12日または妊娠13-15日の9.4 mg/kg以上でみられ、器官形成期の遅い時期ほど胚致死作用が強く発現する傾向がみられた。さらに、妊娠10-12日の12.5 mg/kgまたは妊娠13-15日の9.4 mg/kg以上で低体重胎児が認められたが、いずれの投与日及び投与量でも奇形胎児の発現率の上昇はみられていない⁵⁷⁾。

Table 3 フェニルスズ化合物による発生毒性

物質名	動物種	投与量	投与日	投与経路	生殖発生毒性	著者
TPTA	Wistar ラット	5-15 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児骨化	Giavini et al. (1980)
TPTA	Wistar ラット	9-12 mg/kg	妊娠 7-17 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児骨化	Noda et al. (1991a)
TPTA	CFY ラット	6 mg/kg	妊娠 6-14 日	強制経口	↑生後児死亡, ↑児の自発運動 (一過性)	Lehotzky et al (1982)
TPTA	THA ラット	4-8 mg/kg	妊娠 6-20 日	強制経口	↓児の学習獲得	Miyake et al.(1991)
TPTH	SD ラット	20 mg/kg 15 mg/kg 15 mg/kg	妊娠 1-7 日 妊娠 8-14 日 妊娠 14-12 日	強制経口 強制経口 強制経口	↓妊娠率 ↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 同上	Winek et al. (1978)
TPTH	SD ラット	13 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡	Chernoff et al.(1990)
TPTCI	Wistar ラット	6.3-12.5 mg/kg 9.4-12.5 mg/kg	妊娠 7-9 日 妊娠 10-12 日・13-15 日	強制経口 強制経口	↑着床後胚死亡 ↑着床後胚死亡, ↓胎児体重	Ema et al. (1999c)

TPTA: Triphenyltin acetate, TPTH: Triphenyltin acetate, TPTCI: Triphenyltin chloride.

4. ブチルスズ化合物の生殖毒性

4-1 トリブチルスズ (TBT) の生殖毒性

Table 4にブチルスズ化合物の生殖毒性試験の結果を示した。雄ICRマウスにTBTO (2, 10 mg/kg)を2回/週の頻度で4週間強制経口投与したところ、精子の減少及びセルトリ細胞の空胞化が認められている⁵⁸⁾。Wistarラットを用いた2世代繁殖試験において、F0の妊娠0日からF1の離乳まで、さらに交配前、交配中、妊娠中、授乳中を通じてF2の生後91日までのtributyltin chloride (TBTCI: 5, 25, 125 ppm: 0.4, 2.0, 10.0 mg/kgに相当)の混餌投与により、雄児に対する影響が報告されている⁵⁹⁾。125 ppmのF1及びF2雄で体重増加が抑制され、精巣及び精巣上体の重量低下、精子細胞及び精子数の減少が125 ppmでみられた。さらに、腹部前立腺重量低下及び精子細胞減少がF1の125 ppm, F2の25及び125 ppmで観察され、F2世代に対する影響はF1世代よりも大きかった。血清エストラジオールの低下が125 ppmでみられたことから、著者らはこれらの変化はアロマトーゼ抑制による影響であり、TBTCIは雄ラットにおいて弱いアロマトーゼ抑制因子として作用していると述べている。

上記の2世代繁殖試験における雌児ラットへの影響が

報告されている⁶⁰⁾。125 ppmのF0及びF1雌動物において、膣開口遅延、性周期の乱れ、妊娠中の体重増加、児数、児体重及び生児分娩率の低下が観察されている。肛門生殖突起間距離 (AGD) の体重による補正值⁶¹⁾は、5 ppm以上のF1の生後1日、125 ppmのF1の生後4日及びF2の生後1日及び4日で高かった。これらの結果は、生涯にわたるTBTCI曝露が雌ラットの性発生と生殖機能に影響する可能性を示しており、著者らは雌のAGD延長はTBTCIの男性化作用を示唆していると述べている。

妊娠の成立及び維持に対するTBTCIの影響についてHarazonoら (1996;1998ab)^{62) 63) 64)}、HarazonoとEma (2000)⁶⁵⁾によりWistarラットを用いて詳しく調べられている。妊娠0-7日にTBTCI (8.1, 12.2, 16.3 mg/kg)を強制経口投与したところ、12.2 mg/kg以上で母体重の増加抑制、8.1 mg/kg以上で摂餌量低下がみられ、着床阻害は母体毒性が認められた12.2 mg/kg以上で観察されたが、妊娠の成立した雌においては黄体数、着床数及び胚死亡数にTBTCIの影響は認められなかった⁶²⁾。妊娠阻害がTBTCIそのものによるのか、母体の摂餌量低下によりもたらされた栄養不良によるものかを確認するために、ペア・フィーディング (PF) 試験を行ったとこ

Table 4 ブチルスズ化合物による生殖毒性

物質名	動物種	投与量	投与日	投与経路	生殖発生毒性	著者
TBTO	ICR マウス	2-10 mg/kg	4週間 (2回/週)	強制経口	↓精子頭部数 ↑セルトリ細胞空胞化	Kumasaka et al. (2002)
TBTCI	Wistar ラット	25-125 ppm	2世代	経口 (混餌)	↓精巣・精巣上体重量 ↓精子細胞数、↓血清エストラジオール ↓雄児の体重増加	Omura et al. (2001)
TBTCI	Wistar ラット	5-125 ppm	2世代	経口 (混餌)	↓生児分娩率、↓児数・児の体重 ↓膣開口、↑雌 AGD ↓雌児の体重増加	Ogata et al. (2001)
TBTCI	Wistar ラット	12.2-16.3 mg/kg	妊娠 0-7日	強制経口	↓妊娠率 ↓胎児体重	Harazono et al. (1996)
TBTCI	Wistar ラット	16.3-32.5 mg/kg 16.3-65.1 mg/kg	妊娠 0-3日 妊娠 4-7日	強制経口 強制経口	↓妊娠率、↓胎児体重 同上、↑着床後胚死亡	Harazono et al. (1998b)
TBTCI	Wistar ラット	16.3-32.5 mg/kg 16.3-65.1 mg/kg	偽妊娠 0-3日 偽妊娠 4-7日	強制経口 強制経口	↓子宮内膜脱落膜化 ↓血清プロゲステロン ↑血清エストラジオール ↓子宮内膜脱落膜化 ↓血清プロゲステロン	Harazono & Ema (2000)
DBTCI	Wistar ラット	7.6-15.2 mg/kg	妊娠 0-3日・4-7日	強制経口	↓妊娠率 ↑着床前後胚死亡、↓胎児体重	Ema & Harazono (2000)
DBTCI	IRC マウス	7.6-30.4 mg/kg	妊娠 0-3日・4-7日	強制経口	↓妊娠率 ↑着床前後胚死亡、↓胎児体重 ↓血清プロゲステロン	Ema et al. (2007a)
DBTCI	Wistar ラット	7.6-15.2 mg/kg	偽妊娠 0-3日・4-7日	強制経口	↓子宮内膜脱落膜化 ↓血清プロゲステロン	Harazono & Ema (2003)
MBTCI	Wistar ラット	903 mg/kg	妊娠 0-3日・4-7日	強制経口	↓胎児体重	Ema & Harazono (2001)

TBTO: Tributyltin oxide, TBTCI: Tributyltin chloride, DBTCI: Dibutyltin dichloride, MBTCI: Butyltin trichloride.

ろ、TBTCI投与群の妊娠阻害はTBTCIそのものによるものであり、母体の栄養不良によるものでないことが示された⁶³⁾。次に、TBTCIの投与時期による影響を調べるために妊娠0-3日に4.1, 8.1, 16.3, 32.5 mg/kg または妊娠4-7日に8.1, 16.3, 32.5, 65.1 mg/kgを強制経口投与した結果、妊娠0-3日の16.3 mg/kg以上及び妊娠4-7日の65.1 mg/kgで妊娠率の低下及び着床前胚死亡の増加が認められた⁶⁴⁾。また、妊娠4-7日の16.3 mg/kg以上の投与では着床後胚死亡率の上昇が観察された。これらの結果は、TBTCIによる着床に対する悪影響は投与した妊娠時期により異なり、着床前に投与したときには着床阻害を、着床中及び着床直後に投与したときには着床した胚の生存に悪影響を及ぼすことを示している。TBTCIによる着床阻害の要因を調べるために、子宮機能に対する影響が偽妊娠ラットを用いて検討されている。偽妊娠0-3日の16.3 mg/kgの強制経口投与により、子宮重量低下(子宮内膜の脱落膜化の抑制)及び偽妊娠4日及び9日の血清中プロゲステロンの低下が認められた⁶⁵⁾。偽妊娠4-7日の16.3 mg/kg以上の投与により偽妊娠9日の血清中プロゲステロンの低下がみられた。偽妊娠ラットの子宮重量低下及びプロゲステロン低下を引き起こす投与量は、妊娠ラットにおいて着床前及び着床後の胚死亡を惹起する投与量と同じであった。これらの実験結果は、TBTCIは子宮内膜の脱落膜化抑制とプロゲステロン低下を引き起こし、これらがTBTCIによる着床阻害の要因となっていることを示唆している。

4-2 ジブチルスズ (DBT) 及びモノブチルスズ (MBT) の生殖毒性

ラットに投与されたTBTはDBT及びモノブチルスズ (MBT) に代謝され、また投与されたDBTはMBTに代謝される^{45, 66-68)}。TBTの生殖毒性発現におけるdibutyltin dichloride (DBTCI) の役割を検討するために、DBTCIの妊娠成立及び維持に対する影響についてWistarラットを用いて調べられている⁶⁹⁾。妊娠0-3日または妊娠4-7日に3.8, 7.6, 15.2 mg/kgを強制経口投与した。3.8 mg/kg以上で摂餌量の低下が観察されたため、PF群を設けた。妊娠0-3日の投与では、妊娠率は7.6 mg/kgで対照群より低く、15.2 mg/kgで対照群及びPF群よりも低かった。着床後胚死亡率は妊娠4-7日の7.6 mg/kg以上で対照群及びPF群よりも高くなった。これらの知見から、DBTCIによる初期胚の死亡は摂餌量の低下による影響ではなく、DBTCIによる直接的な作用であると考えられる。初期胚の死亡率上昇をもたらす最も低いDBTCIの投与量は7.6 mg (25 μ mol) /kgであった。DBTCIの親化合物のTBTCIは16.3 mg (50 μ mol) /kg以上の投与で着床阻害を惹起させた⁶⁴⁾。DBTCIはTBTCIよりも低い投与量で初期胚の

死亡を引き起こすことから、DBTCIまたはその代謝物がTBTCIによる胚死亡の原因物質である可能性がある。着床阻害を引き起こす投与量のDBTCIを強制経口投与した偽妊娠ラットでは、プロゲステロン低下を伴った子宮内膜の脱落膜化抑制がみられ⁷⁰⁾、プロゲステロンの投与により、少なくとも部分的には、DBTCIによる着床阻害が防御された⁷¹⁾。これらのことはプロゲステロンの低下がDBTCIによる着床阻害の第一の要因であることを示唆している。Wistarラットの妊娠0-3日または妊娠4-7日に903 mg (3200 μ mol) /kgのbutyltin trichloride (MBTCI) を強制経口投与しても着床前及び着床後の胚死亡率の上昇は認められなかった⁷²⁾ ことから、MBTCIまたはその代謝物がブチルスズによる着床阻害の原因物質であるとは考え難い。脱落膜反応の低下及びプロゲステロン低下をもたらすDBTCIはモル比較でTBTCIよりも低いことは、TBTCIによるこれらの現象にDBTCIが関与していることを示唆している。偽妊娠0-3日にTBTCIを投与したときには血清エストラジオールが低下した⁶⁵⁾ が、DBTCIの投与ではこのような低下は観察されなかったことから、TBTCIとDBTCIの卵巣機能に及ぼす悪影響の機序は異なっている可能性もある。卵巣を含めて母体の内分泌系に対するTBTCIとDBTCIの影響については更なる検討を要する。また、ICRマウスにDBTCIを強制経口投与して着床阻害作用が検討され、妊娠0-3日の30.4 mg/kgの投与により妊娠率の低下及び着床前胚死亡率の上昇、妊娠0-3日の15.2 mg/kg以上及び妊娠4-7日の7.6 mg/kg以上の投与により着床後胚死亡率の上昇が認められた⁷³⁾。妊娠0-3日または妊娠4-7日に30.4 mg/kgを投与したときには、妊娠ラット血清中プロゲステロンの低下がみられたことから、マウスにおけるDBTCIによる着床阻害作用においてもプロゲステロン低下が要因となっており、ラットと同様の機序により着床阻害が惹起される可能性が示唆された。

5. ブチルスズ化合物の発生毒性

5-1 ブチルスズのin vivo発生毒性

ブチルスズの発生毒性試験の結果をTable 5に示した。TBTOの発生毒性についてはマウス及びラットを用いて検討されている。NMRIマウスの妊娠6-15日にTBTOを強制経口投与したとき、母体体重低下を引き起こす最も低い投与量は11.7 mg/kgであり、35 mg/kgでは吸収胚が59%の頻度でみられ、低胎児体重も観察されている⁷⁴⁾。口蓋裂が11.7 mg/kgで7%、35 mg/kgで48%の頻度で観察されたが、Davisら (1987)⁷⁴⁾ は、口蓋裂はTBTOに非特異的な発現であり、TBTOによる発現ではないと結論した。Swiss マウスの妊娠6-15日にTBTOを強制経口投与した実験では、40 mg/kgで母体体重及び胎児体重低下、

Table 5 ブチルスズ化合物による発生毒性

物質名	動物種	投与量	投与日	投与経路	生殖発生毒性	著者
TeBT	Wistar ラット	1832 mg/kg	妊娠 13-15 日	強制経口	↑口蓋裂	Ema et al. (1996a)
TBTO	NMRI マウス	11.7-35 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑口蓋裂	Davis et al. (1987)
TBTO	Swiss マウス	40 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重	Baroncelli et al. (1990)
TBTO	Swiss マウス	10-30 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↓同腹児数, ↓児体重 妊娠期間の変化, ↓営巣行動を示す母体	Baroncelli et al. (1995)
TBTO	Swiss マウス	5-20 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口	↑非特異的血液学的変化	Karrer et al. (1995)
TBTO	Ha:NMRI マウス	27 mg/kg	妊娠 6-17 日	強制経口	↓胎児体重, ↑口蓋裂 ↑骨格異常	Faqi et al. (1997)
TBTO	Long Evans ラット	2.5-16 mg/kg	妊娠 6-20 日	強制経口	↓児数・児体重 ↑口蓋裂, ↓出産後体重増加 ↓膈開口, ↓胎重, ↓児運動 (一過性)	Crofton et al. (1989)
TBTO	THA ラット	5-10 mg/kg	妊娠 6-20 日	強制経口	↑生後児死亡, ↓学習獲得	Miyake et al. (1990)
TBTA	Wistar ラット	16 mg/kg	妊娠 7-17 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↑口蓋裂 ↓胎児体重	Noda et al. (1991b)
TBTCl	Wistar ラット	5-25 mg/kg	妊娠 7-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児骨化	Itami et al. (1990)
TBTCl	Wistar ラット	25-50 mg/kg 50-100 mg/kg 25-100 mg/kg	妊娠 7-9 日 妊娠 10-12 日 妊娠 13-15 日	強制経口 強制経口 強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑着床後胚死亡, ↓胎児体重, ↑口蓋裂 ↓胎児体重, ↑口蓋裂	Ema et al. (1995a)
TBTCl	Wistar ラット	100-200 mg/kg	妊娠 7-15 日の 1 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑口蓋裂 (妊娠 8, 11, 12, 13, 14 日の投与)	Ema et al. (1997b)
TBTCl	SD ラット	0.25-20 mg/kg 2.5-10 mg/kg	妊娠 0-19 日 妊娠 8-19 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑雄 AGD, ↓胎児骨化 ↓血清チロキシン・トリヨードチロニン ↓血清チロキシン	Adeeko et al. (2003)
TBTCl	SD ラット	0.025-2.5 mg/kg	妊娠 8 日から離乳	強制経口	↓肝臓・脾臓・胸腺重量 ↓血清クレアチニン・トリグリセリド ↓アミラーゼ・チロキシン 成長プロファイルの変化	Cooke et al. (2004)
TBTCl	SD ラット	0.25-2.5 mg/kg	妊娠 8 日から離乳	強制経口	↑胸腺萎縮, ↑NK 細胞数 ↑IgM・IgG, ↑未成熟 T リンパ球数, ↓IgG2a	Tryphonas et al. (2004)
TBTCl	SD ラット	1-5 mg/kg	妊娠 6-20 日	強制経口	↑自発運動 ↓放射迷路課題遂行能力獲得 ↑d-アンフェタミンによる活動亢進	Gårdlung et al. (1991)
TBTCl	Wistar ラット	40-80 mg/kg	妊娠 7-8 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重	Ema et al. (1995b)
TBTCl	Wistar ラット	54-108 mg/kg	妊娠 13-15 日	強制経口	↓胎児体重, ↑口蓋裂	Ema et al. (1996a)
DBTA	Wistar ラット	15 mg/kg	妊娠 0-19 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重, ↑下顎異常 ↑舌癒合・舌裂, ↑骨格変異	Noda et al. (1988)
DBTA	Wistar ラット	5-15 mg/kg	妊娠 7-17 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑下顎裂・下唇裂・舌癒合・舌裂 ↑尾異常・肋骨及び椎骨の奇形・骨格変異	Noda et al. (1992a)
DBTA	Wistar ラット	15 mg/kg 22 mg/kg	妊娠 7-9 日 妊娠 8 日	強制経口 強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑下顎裂・下唇裂・舌癒合・舌裂 ↑尾異常・肋骨及び椎骨の奇形・骨格変異	Noda et al. (1992b)
DBTA	Wistar ラット	28.1 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口	↑同上の奇形	Noda et al. (1993)
DBTA	Wistar ラット	10-22 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口	↑同上の奇形	Noda et al. (2001)
DBTCl	Wistar ラット	5-10 mg/kg	妊娠 7-15 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重 ↑下顎裂・口蓋裂・舌癒合・膈ヘルニア ↑尾異常・肋骨及び椎骨の奇形	Ema et al. (1991)
DBTCl	Wistar ラット	20 mg/kg 20-40 mg/kg	妊娠 7-9, 10-12, 13-15 日 妊娠 6, 7, 8, 9 日	強制経口 強制経口	↓胎児体重, ↑着床後胚死亡 ↑同上の奇形 (妊娠 7-9 日の投与) ↓胎児体重, ↑着床後胚死亡 (妊娠 6, 7, 8 日の投与) ↑同上の奇形 (妊娠 7, 8 日の投与)	Ema et al. (1992)
DBTCl	Wistar ラット	24.3 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口	↓胎児体重, ↑下顎裂・下唇裂・舌癒合 ↑舌裂・膈ヘルニア・肋骨及び椎骨の奇形	Noda et al. (1993)

DBTCI	Wistar ラット	10-15 mg/kg	妊娠 7-8 日	強制経口 ↓胎児体重, ↑口蓋裂	Ema et al. (1995b)
DBTCI	Wistar ラット	50-100 mg/kg	妊娠 13-15 日	強制経口 ↓胎児体重	Ema et al. (1996a)
DBTCI	Wistar ラット	1-10 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口 影響なし	Farr et al. (2001)
DBTCI	SD ラット	15 mg/kg	妊娠 6-15 日	強制経口 ↓胎児体重, ↑着床後胚死亡 ↑水頭症・下顎異常・外脳・開眼・口蓋裂・舌癒合・無舌	Thullen & Holson (2006)
DBTCI	NZW ウサギ	5 mg/kg 0.4-1.0 mg/kg	妊娠 6-19 日 妊娠 6-28 日	強制経口 ↓胎児体重, ↑着床後胚死亡 強制経口 ↑流産	Thullen & Holson (2006)
DBTCI	カニクイザル	2.5-3.8 mg/kg	妊娠 20-50 日	胃内(経鼻) ↑着床後胚死亡	Ema et al. (2007b)
DBTM	Wistar ラット	27.8 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口 ↑下顎裂・下唇裂・舌癒合, ↑舌裂・脳ヘルニア・肋骨及び椎骨の奇形	Noda et al. (1993)
DBTO	Wistar ラット	19.9 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口 ↑同上の奇形	Noda et al. (1993)
DBTL	Wistar ラット	50.0 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口 ↑同上の奇形	Noda et al. (1993)
3-OHDBTL	Wistar ラット	100 mg/kg	妊娠 8 日	強制経口 ↓胎児体重, ↑尖下顎	Noda et al. (1993)
MBTCI	Wistar ラット	50-400 mg/kg	妊娠 7-17 日	強制経口 影響なし	Noda et al. (1992a)
MBTCI	Wistar ラット	1000-1500 mg/kg	妊娠 7-8 日	強制経口 ↓胎児体重	Ema et al. (1995b)

TeBT: Tetrabutyltin, TBTO: Tributyltin oxide, TBTA: Tributyltin acetate, TBTCI: Tributyltin chloride, DBTA: Dibutyltin diacetate, DBTCI: Dibutyltin dichloride, DBTM: Dibutyltin maleate, DBTO: Dibutyltin oxide, DBTL: Dibutyltin dilaurate, 3-OHDBTL: Butyl (3-hydroxybutyl)tin diacetate, MBTCI: Butyltin trichloride.

胚死亡率の上昇がみられたが、催奇形性は認められていない⁷⁵⁾。

児の生後観察に関する実験では、妊娠6-15日のSwissマウスへのTBTOの強制経口投与により、20 mg/kg以上で児数の低下及び児の低体重、10 mg/kg以上で母マウスの営巣行動不良、5 mg/kg以上で低体重母体、分娩時期の乱れが認められたが、児の奇形は観察されていない⁷⁶⁾。同様に、Swissマウスの妊娠6-15日にTBTO (5, 10, 20 mg/kg) を強制経口投与したところ、児動物に非特異的血液学的変化、胸腺及び脾臓重量の低下が認められた⁷⁷⁾。Han:NMRIマウスの妊娠6-17日にTBTOを強制経口投与した実験では、27 mg/kgで11.4%の頻度で口蓋裂が観察され、2例の胎児では橈骨弯曲、8例の胎児で短頸、5例の胎児で後頭骨癒合がみられたが、13.5 mg/kg以下の投与では母体及び胎児に対する悪影響は認められなかった⁷⁸⁾。ラットを用いた実験では、妊娠6-20日にTBTO (2.5, 5, 10, 12, 16 mg/kg) を強制経口投与したLong Evansラットを自然分娩させ、出生後の児を調べたところ、10 mg/kg以上で母体重増加抑制、児数、児体重及び生後1日及び3日の児生存率の低下、12 mg/kgで3%の頻度で口蓋裂、10 mg/kgで膈開口遅延、全ての投与量で生後14日の児の運動低下が観察されている⁷⁹⁾。また、妊娠6-20日にTBTOを強制経口投与したTHAラットの児は、10 mg/kgでは生後3日までにすべて死亡し、5 mg/kgではシドマン回避学習試験、E型水迷路学習試験の逆転試験における学習獲得が障害されていた⁸⁰⁾。

Nodaら (1991b)⁵²⁾ は、妊娠7-17日のWistarラットにtributyltin acetate (TBTA: 1, 2, 4, 8, 16 mg/kg) を強制経口投与したところ、16 mg/kgで子宮内死亡及び口蓋裂

の頻度増加、低体重胎児がみられ、この投与量では母体重と摂餌量の著しい低下、4 mg/kg以上で妊娠ラットの胸腺重量の低下がみられたと報告している。彼らは、この実験で観察された胎児の奇形はDavisら (1987)⁷⁴⁾ により報告されたものと同様であることから、TBTAによる特異的な作用ではないと結論した。

TBTCIについては比較的よく研究されている。Wistarラットの妊娠7-15日にTBTCIを強制経口投与したところ、9 mg/kg以上で母体毒性、5 mg/kg以上で胎児の骨化遅延がみられたが、胎児奇形は観察されなかった⁸¹⁾。この実験結果をより詳しく調べるために、器官形成期を三分割して、妊娠7-9日に25, 50 mg/kg、妊娠10-12日に50, 100 mg/kgまたは妊娠13-15日に25, 50, 100 mg/kgをWistarラットに強制経口投与して発生毒性を検討した⁸²⁾。投与日にかかわらず母体重増加抑制が認められ、着床後胚死亡率の上昇は、妊娠7-9日の25 mg/kg以上及び妊娠10-12日の100 mg/kgでみられたが、妊娠13-15日の投与では100 mg/kgでも認められなかった。低体重胎児は妊娠10-12日の50 mg/kg以上及び妊娠13-15日の100 mg/kgでみられた。奇形胎児の発現頻度は妊娠10-12日の100 mg/kg及び妊娠13-15日の25 mg/kg以上で上昇し、口蓋裂が最も高頻度で観察された。これらの結果は、TBTCIによる発生毒性は投与時の胚の発生段階によって異なり、TBTCIの催奇形性には時期特異性があることを示している。催奇形性の感受期を更に詳しく調べるために、Wistarラットの器官形成期のいずれか1日にTBTCIを強制経口投与したところ、TBTCIの催奇形性の発現頻度は2峰性を示し、妊娠8日の100 mg/kg以上、妊娠11日、12日、13日または14日の200 mg/kgの投与で外表奇形の

発現頻度が上昇した⁴⁹⁾。SDラットの妊娠0-19日 (0.25, 2.5, 10, 20 mg/kg) または妊娠8-19日 (0.25, 2.5, 10 mg/kg) にTBTCIを強制経口投与したところ、妊娠0-19日の20 mg/kgの投与で母体重増加抑制、妊娠率低下、着床後胚死亡率上昇及び低体重胎児が認められた⁸³⁾。この結果は、妊娠初期のラットにTBTCIを投与したとき12.2 mg/kg以上で着床前及び着床後胚死亡率の上昇が認められた、というHarazonoら (1996, 1998a,b)⁶²⁻⁶⁴⁾の報告を支持する知見である。Adeekoら (2003)⁸³⁾の試験では、いずれのTBTCI投与群でも奇形胎児の発現頻度の上昇はみられていない。10 mg/kg以上では胸骨分節の骨化遅延が認められたが、著者らはこの胎児体重の低下を伴わない変化には母体血中甲状腺ホルモン低下が関与している可能性があるとして述べている。

哺乳類の性分化時期 (周生期) にホルモン活性物質を投与すると外生殖器及び内生殖器に影響を与えることが知られている⁸⁴⁾。ラットでは、妊娠16-17日がfinasteride⁸⁵⁾、妊娠15-17日がdibutyl phthalate⁸⁶⁾による雌性化 (雄児のAGD短縮) に最も鋭敏な時期であることが報告されている。これらのことは、AGDに対する影響の感受期は妊娠後期にあることを示している。しかしながら、0.25 mg/kg以上のTBTCIを妊娠0-19日に投与したときに雄児のAGD延長がみられたという所見と、10 mg/kgでも妊娠8-19日に投与したときにはAGDへの影響がみられなかったという所見⁸³⁾、さらには、2世代繁殖試験では雌のAGD延長が認められたという所見⁸⁷⁾の間には矛盾があり、TBTCIのAGDに対する影響、すなわち、性分化に対する影響を明らかにするためには更なる研究を要する。TPT及びTBTはin vitroで哺乳類細胞において転写を介してアンドロゲン受容体を活性化させ⁸⁸⁾、TPTCI、TBTCI及びDBTCIはヒト副腎皮質がん株細胞においてアロマターゼ抑制を引き起こす⁸⁹⁾ことが報告されている。テトラブチルスズ (TeBT) とMBTCIはヒト5 α -還元酵素 type 1及びtype 2に作用を示さないが、TBTCIとDBTCIはヒト5 α -還元酵素アイソザイムに影響を及ぼす⁹⁰⁾。DBTCIは前立腺5 α -還元酵素 type 2に作用せずに、特異的に脳5 α -還元酵素 type 1を抑制するが、TBTCIは両アイソザイムを抑制する。また、正常な雄性生理状態はtype 2によって障害される。これらのin vitroの知見は、in vivoで観察された生殖発生毒性所見を解釈するのに有用と思われるが、更なる知見の集積が必要である。

SDラットの妊娠8日から児の離乳までTBTCI (0.025, 0.25, 2.5 mg/kg) を強制経口投与し、児にも同じ投与量を成熟期まで強制経口投与した実験^{91, 92)}では、母体の体重、摂餌量、甲状腺、肝臓、副腎及び結腸の病理組織学的所見に影響はみられず、児の数、性比、生存率、肝臓、副腎及び結腸の病理組織学的所見にも影響は観察されな

かった。2.5 mg/kgで雄児の血清チロキシン低下、雌児の血清クレアチニン、トリグリセリド及びマグネシウム低下、0.25 mg/kg以上で雄児の脾臓及び雌児の胸腺の重量低下、0.025 mg/kg以上で雌雄の児の成長プロファイルへの影響、雌児の肝臓重量の低下がみられた⁹¹⁾。これらの児ラットの免疫学的影響について調べた⁹²⁾ところ、2.5 mg/kgで胸腺萎縮、NK細胞及びIgMの増加、IgG2a低下がみられ、0.25 mg/kg以上で未分化T細胞IgGの増加が認められ、0.025 mg/kgでもわずかな影響が観察された。Tryphonasら (2004)⁹²⁾は、低用量のTBTCIは液性及び細胞性免疫に影響を与えると共に腫瘍やウイルス感染に対する免疫系にかかわる種々の細胞の機能に影響を与えると結論している。

TBTCIを成熟ラットに投与したときには、自発運動の低下及び日内周期の乱れ、条件回避反応の低下がみられることが報告されている^{93, 94)}。妊娠6-20日のSDラットにTBTCIを強制経口投与したところ、母体毒性が発現しない投与量 (1及び5 mg/kg) で生後の児の自発運動増加、迷路での学習獲得の遅延、d-アンフェタミンによる活動亢進の増強が観察されている⁹⁵⁾。

TBTの主要な代謝物であるDBTを器官形成期に投与したときの胚/胎児の発生に対する影響が数多く報告されている。Dibutyltin diacetate (DBTA; 1.7, 5, 15 mg/kg) をWistarラットの妊娠0-19日に強制経口投与した結果、15 mg/kgで母体重増加と胸腺重量の低下、低体重胎児及び奇形胎児の発現頻度の上昇がみられている⁹⁶⁾。DBTA (1.7, 5, 15 mg/kg) を妊娠7-17日のWistarラットに強制経口投与したところ、15 mg/kgで母体重増加抑制、10 mg/kg以上で下顎裂、下唇裂、舌癒合、舌裂、外脳、尾異常、肋骨及び椎骨の異常等の奇形、胎児体重及び胸腺重量の低下が観察された⁹⁷⁾。DBTAによる奇形胎児発現の感受性は妊娠8日が最も高かったことが報告されている⁹⁸⁻¹⁰⁰⁾。

DBTCIについてもWistarラットの器官形成期に強制経口投与して発生毒性が検討されている。妊娠7-15日の投与では、7.5 mg/kg以上で母体重増加抑制、摂餌量低下及び着床後胚死亡率の増加がみられた。また、5 mg/kg以上で小眼症、下顎裂、舌癒合、臍帯ヘルニア、尾異常、下顎異常、肋骨及び椎骨の異常等の奇形を有する胎児の発現頻度の上昇がみられ、小眼症が最も高頻度でみられた¹⁰¹⁾。これらの結果は、母体毒性の発現しない投与量でもDBTCIの催奇形性が発現することを示している。一方、Farrら (2001)¹⁰²⁾は妊娠6-15日に1, 2.5, 5, 10 mg/kgを投与したところ、10 mg/kgでは母体重増加、摂餌量及び胸腺重量の低下がみられたが、発生毒性は認められなかったと報告している。しかし、奇形の発現率に有意差はなかったものの、262例の胎児の内、4例に舌癒合、下顎異常、尾異常及び椎骨異常が観察されており、これら

はNodaら (1993)⁹⁸⁾ 及び我々^{101, 103, 104)} の実験においてDBTCIによって惹起された奇形と同様であった。Farrら (2001)¹⁰²⁾ は母体毒性を惹起する投与量でしかDBTCIの催奇形性は発現しないと結論しているが、我々の実験結果を含めて考えると、DBTCIの母体毒性、胚致死作用及び催奇形性の臨界量が非常に接近または重っている可能性がある。SDラットの妊娠6-15日にDBTCI (15 mg/kg) を強制経口投与した実験においても、死亡等を含む母体毒性と着床後胚死亡の増加、低体重胎児と共に、頭蓋顔面奇形や舌癒合等Wistarラットを用いた実験で観察された外表奇形の発現頻度の上昇がみられている¹⁰⁵⁾。

DBTCIによる奇形発現の感受期を調べるために比較的高い投与量を用いて検討が行われている。Wistarラットの妊娠7-9日、10-12日または13-15日に投与したところ、投与日に関わらず20 mg/kgで着床後胚死亡率及び低胎児体重は観察されたが、奇形胎児の発現頻度の上昇は妊娠7-9日の投与でしか認められなかった¹⁰³⁾。器官形成期のいずれか1日に単回投与して奇形発現の感受期を調べたところ、妊娠6日の投与では催奇形性はみられず、妊娠7日に催奇形性が発現し、妊娠8日に催奇形性の感受性が最も高くなり、妊娠9日の投与では催奇形性は認められなかった¹⁰³⁾。同様な奇形はDBTCIを妊娠8日または妊娠7-8日に投与したときにも観察されている^{98, 104)}。

New Zealand Whiteウサギの妊娠6-19日にDBTCI (0.5, 1, 5, 10, 15, 20 mg/kg) を強制経口投与した投与量設定のための予備試験では、10 mg/kg以上の投与量で著しい母体毒性が認められたため、妊娠11日までに実験を中断した¹⁰⁵⁾。1及び5 mg/kgでも下痢、体重増加及び摂餌量の低下等の母体毒性がみられたが、10 mg/kgで観察されたほど重篤ではなかった。5 mg/kgでは着床後胚死亡の増加と低体重胎児がみられた。これらの結果をもとに、投与量を0.1, 0.4, 1.0 mg/kgとして一群25匹のNew Zealand Whiteウサギの妊娠6-28日に強制経口投与して本試験を行ったところ、0.4 mg/kgで3例、1.0 mg/kgで4例の母体で流産がみられたが、着床後胚死亡率、胎児体重、着床数及び生存胎児数に対する影響は認められなかった。0.1 mg/kgでは母体及び胎児への影響は観察されなかった¹⁰⁵⁾。これらの所見は、ウサギにおいては胚死亡や奇形等の胚/胎児に対する影響が発現するよりも低用量で流産を含む母体に対する毒性影響が強く発現することを示している。

カニクイザルの器官形成期 (妊娠20-50日) を通じてDBTCI (2.5, 3.8 mg/kg) を胃内投与し、妊娠100日に母体を剖検して胎児への影響を調べた実験¹⁰⁶⁾ では、両DBTCI投与量群で母体の下痢または軟便、母体重増加の抑制または摂餌量の低下がみられた。胎児生存率は両DBTCI投与群で低下し、3.8 mg/kgでは有意に低かった。

生存胎児の体重、頭臀長、尾長、性比、AGD、胎盤重量に投与の影響はみられず、胎児の外表、内臓及び骨格所見にも異常は認められなかった。また、死亡胚にも奇形は観察されなかった。これらの結果から、カニクイザルではDBTCIは胚致死作用を示すが、催奇形性は示さないと結論された。

DBTA, DBTCI, dibutyltin maleate (DBTM), dibutyltin oxide (DBTO) 及びdibutyltin dilaurate (DBTL) 等 (DBTとして80 μ mol/kg) を、DBTA及びDBTCIの催奇形性に対して最も感受性が高い妊娠8日のWistarラットに強制経口投与してその催奇形性を比較した⁹⁸⁾。それぞれのDBTによる奇形発現率は異なっていたが、発現した奇形の型は同様であったことから、Nodaら (1993)⁹⁸⁾ は奇形発現にはブチル基が重要な役割を果たしているとして述べている。また、DBTCIの主要な代謝物⁶⁷⁾ であるbutyl (3-hydroxybutyl) tin dilaurate (3-OHDBTL) の催奇形性は弱く、3-OHDBTLはDBTCIの催奇形性の原因物質ではないとしている。

TeBTはTBT, DBT更にMBTに代謝される⁴⁵⁾。また、TBTはDBT及びMBTに代謝され、DBTはMBTに代謝される⁶⁸⁾。ブチルスズ化合物の催奇形性の原因物質を推定するために、WistarラットにTeBT, TBTCI, DBTCIまたはMBTCIを強制経口投与して胚/胎児への影響を調べた^{107, 108)}。TBTCIの催奇形性の感受期である妊娠13-15日にTeBT, TBTCIまたはDBTCIを投与したところ、TeBTでは1832 mg (5280 μ mol) /kgで口蓋裂、TBTCIでは54 mg (165 μ mol) /kg以上で口蓋裂及び108 mg (330 μ mol) /kgで低体重胎児がみられた。DBTCIの投与では50 mg (165 μ mol) /kg以上で低体重胎児が観察されたが、100 mg (330 μ mol) /kgでも着床後胚死亡、奇形胎児の発現頻度の上昇は認められなかった¹⁰⁷⁾。これらの結果は、TeBT, TBTまたはDBTの発生毒性の強さ及び発現様式が異なっていることを示している。DBTCIの催奇形性の感受期である妊娠7-8日にTBTCI, DBTCIまたはMBTCIを投与した実験では、TBTCIの40及び80 mg/kgでは着床後胚死亡率は上昇したが、催奇形性は観察されなかった¹⁰⁸⁾。10 mg/kg以上のDBTCIでは着床後胚死亡率上昇、低胎児体重及び奇形胎児発現率の著明な上昇がみられ、DBTCIの発生毒性の発現様式はTBTCIとは異なることが示唆された。一方、MBTCIの投与では1500 mg/kgでも着床後胚死亡率及び奇形発現頻度の上昇は認められなかった。MBTCIは、妊娠7-17日のWistarラットに400 mg/kgを強制経口投与した試験においても母体毒性及び発生毒性を現さないこと⁹⁷⁾ から、MBTCIはブチルスズ化合物の発生毒性に関与していないと考えられる。

5-2 ブチルスズ化合物のin vitro発生毒性試験

Krowkeら (1986)¹⁰⁹はマウス胚芽を用いた実験で、0.03 μ g/mLの濃度のTBTOにより形態的分化が障害され、掌骨格の分化及び肩甲骨の発生に影響を及ぼすことを報告した。彼らはTBTOのマウス前肢の分化に及ぼす影響は特異的な異形態発生作用よりもむしろ細胞毒性作用による影響と結論した。ラット胚芽細胞培養系を用いてTBTO, TBTCl, (3-OH) hydroxybutyl dibutyltin chloride (3-OHDBTCl), DBTCl及びMBTClの作用を比較したところ、MBTCl以外の調べたすべての有機スズ化合物は細胞分化及び細胞増殖に対して非常に強い抑制作用を示した¹¹⁰。それぞれの化合物について、50%細胞増殖抑制濃度 (IP50), 50%細胞分化抑制濃度 (ID50) 及びIP50/ID50 (P/D) を求めたところ、DBTClは最小のID50値、最高のP/D比を示し、催奇形性は最も強いと考えられた。Yonemotoら (1993)¹¹⁰はDBTの催奇形性はDBTそのものによる作用であり、TBTは催奇形性よりもむしろ胚致死作用を示すと述べている。これらの知見は、*in vivo*におけるブチルスズ化合物の発生毒性試験の結果とよく一致している。DBTClの催奇形性及び胚致死作用に高い感受性を示すラットの8.5日胚を用いてDBTClの全胚培養試験が行われている。30 ng/mLで発達した血管系が観察される胚及び卵黄嚢の頻度、卵黄嚢の直径、胚の頭殿長及び体節数の著しい低下が認められた¹¹¹。濃度依存的な形態学的スコアの低下及び異常を有する胚の頻度の上昇がみられ、10及び30 ng/mLで有意差が認められた。前神経孔開存及び頭蓋顔面異常が主に観察された。Nodaら (1994)⁹⁹は妊娠8日に催奇形量のDBTCl (22 mg/kg) を強制経口投与したラットの24時間後のDBTは母体血中で

100 ng/g, 胚で720 ng/gであったと報告している。これらの結果は、DBTが胚に移行し、胚における濃度は母体血中よりも高くなることを示しており、DBTが胚で蓄積されることを示唆している。また、8.5日胚の全胚培養における影響濃度は催奇形量のDBTを投与した後の母体血中濃度よりも低かった。原始線条(8.5日)、神経ヒダ(9.5日)及び初期前肢芽 (11.5日) の発生段階の胚を用いて全胚培養により感受性を比較した¹⁰⁸ところ、8.5日胚の10 ng/mL, 9.5日胚の50 ng/mL及び11.5日胚の300 ng/mLで異形態発生がみられた。不完全回転及び頭蓋顔面異常が8.5日胚及び9.5日胚で観察され、前肢及び尾異常が11.5日胚に認められた。これらの結果により、DBTClの*in vitro*の曝露は胚の発生を障害し、その感受性は胚の発生段階によって異なることが明らかになった。DBTClを妊娠ラットに投与したときにみられる催奇形性の時期特異性は、発生段階が進むに従って胚の感受性が低下することに起因すると考えられる。

6. そのほかの有機スズ化合物の発生毒性

Table 6にそのほかの有機スズの発生毒性試験の結果を示した。SDラットの交配前2週間、交配及び妊娠中にtrimethyltin chloride (TMTCl, 0.2, 0.8, 1.7 mg/L) またはmonomethyltin trichloride (MMTCl, 24.3, 80.9, 243 mg/L) を飲水投与し、雄児を検査したところ、母及び児の体重に影響はみられなかったが、TMTClの1.7 mg/L群及びMMTClの243 mg/L群で生後11日の学習獲得の遅れ、MMTClの24及び243 mg/L群で生後21日の水泳逃避時間の延長が認められた¹¹²。Pauleら (1986)¹¹³は、SDラットの妊娠7、12または17日にTMTCl (5, 7, 9 mg/kg) を

Table 6 その他の有機スズ化合物による発生毒性

物質名	動物種	投与量	投与日	投与経路	生殖発生毒性	著者
TMTCl	SD ラット	1.7 mg/L	交配前2週・交配中・妊娠中	経口 (飲水)	↓雄児の学習	Noland et al. (1982)
TMTCl	SD ラット	5-9 mg/kg	妊娠 7, 12, 17 日	腹腔内	↓生後児体重増加, ↓生存児数 ↑海馬変性	Paule et al. (1986)
TMTCl	THA ラット	5-7 mg/kg	妊娠 12 日	腹腔内	↓児の学習獲得	Miyake et al. (1989)
THTCl	SD ラット	5 mg/kg	妊娠 6-20 日	強制経口	↑児の自発運動 ↑児のd-アンフェタミンに対する活動	Gårdlund et al. (1991)
DMTCl	Wista ラット	15-20 mg/kg 40 mg/kg	妊娠 7-17 日 妊娠 7-9 日・13-15 日	強制経口 強制経口	↓胎児体重, ↑口蓋裂 ↑骨格変異	Noda (2001)
MMTCl	SD ラット	243 mg/L	交配前2週・交配中・妊娠中	経口 (飲水)	↓雄児の学習	Noland et al. (1982)
Octyltin stabilizer ZK 30.434 (80% DOTTG and 20% MOTTG) Han.NMRI マウス		20-100 mg/kg	妊娠 5-16 日	強制経口	↑着床後胚死亡, ↓胎児体重, ↑前肢湾曲・口蓋裂・脳ヘルニア ↑骨格異常・骨格変異	Faqi et al. (2001)

TMTCl: Trimethyltin chloride, THTCl: Trihexyltin chloride, DMTCl: Dimethyltin dichloride, MMTCl: Monomethyltin trichloride, DOTTG: Dioctyltin diisooctylthioglycolate, MOTTG: Monoctyltin triisooctylthioglycolate.

腹腔内投与して児の生後観察を行った。TMTCI投与群では妊娠末期の母体重が低下し、7 mg/kg以上の児体重が低く、妊娠17日の9 mg/kg群でのみ生存児数が減少した。投与日に関わらず、児の海馬に退行変性が認められ、この変化は妊娠7日投与よりも妊娠12日または17日投与の方が著しかった。彼らは、出生前のTMTCI投与は母体毒性が発現する投与量で生後の児に悪影響を及ぼすと結論した。TMTCI (5, 7 mg/kg) を妊娠12日のTHAラットに腹腔内投与した実験¹¹⁴⁾では、5 mg/kgでは母体毒性はみられず、児ラットの体重、生存率、身体的及び機能的発生にも影響はみられなかったが、シドマン回避試験においてTMTCI投与群の児に回避率の低下がみられている。妊娠6-20日のSDラットにtrihexyltin chloride (THTCl, 5 mg/kg) を強制経口投与したとき、母体毒性は観察されなかったが、生後の児の自発運動、d-アンフェタミン刺激による立ち上がり行動のわずかな上昇がみられている⁹⁵⁾。

Noda (2001)¹⁰⁰⁾ は、Wistarラットの妊娠7-17日にdimethyltin dichloride (DMTCI, 5, 10, 15, 20 mg/kg) を強制経口投与した実験で、20 mg/kgで母体の死亡、著しい体重及び摂餌量低下、胎児の口蓋裂がみられ、15 mg/kg以上で母体の胸腺重量低下、胎児体重低下がみられたことを報告している。妊娠7-9日、妊娠10-12日、妊娠13-15日または妊娠16-17日にDMTCI (20, 40 mg/kg) を強制経口投与した実験では胎児奇形発現率の上昇は認められなかったことから、DMTCIは重篤な母体毒性発現量でのみ胎児奇形を発現させると結論している。

オクチルスズ安定剤であるZK 30.434 (DOTTG/MOT-TG, dioctyltin diisooctylthioglycolate: 80%とmonoocetyl tin triisooctylthioglycolate: 20%の混合物, 20, 30, 45, 67, 100 mg/kg) をHan:NMRIマウスの妊娠5-16日に強制経口投与したところ、100 mg/kgで母体死亡、外表及び骨格異常胎児(前肢弯曲、口蓋裂、外脳、鎖骨弯曲、大腿骨弯曲、肋骨癒合等)の増加、45及び100 mg/kgで母体の胸腺重量低下、67 mg/kg以上で吸収胚増加及び低胎児体重、20 mg/kg以上で胎児の頸肋及び腰肋の増加がみられ、DOTTG/MOTTGはマウスで発生毒性を現すことが明らかにされた¹¹⁵⁾。

7. おわりに

TPTは精巣の退行変性を惹起することにより雄の繁殖障害を引き起こす。雌におけるTPTの影響はより明確であり、5日間の投与でさえ卵巣に明らかな有害作用を発現させる。TPTを妊娠初期に投与したときの着床阻害は、子宮内膜脱落膜化の抑制及び母体のプロゲステロン低下に起因すると考えられる。これらの現象はTPTの主要な代謝物であるDPTを投与したラットにも認められ

る。TPTを器官形成期に投与したときには、胚・胎児の致死及び成長遅延がみられるが、催奇形性は明確な母体毒性量でも認められない。妊娠中にTPTを投与したラットの児に出生後の行動の変化が母体毒性発現量よりも低い用量で観察されている。ラットを用いたTBTの2世代繁殖試験において、比較的低用量で雌雄の生殖系に影響を及ぼすことが示されている。TBTは妊娠初期に投与したときには着床阻害を引き起こし、主要な代謝物のDBTはTBTよりも低用量で同様の作用を惹起する。DBTは妊娠初期のマウスでも同様に着床阻害を惹起する。これらの現象は子宮内膜脱落膜化の抑制及び母体のプロゲステロン低下に起因すると考えられる。しかし、MBTの妊娠初期の投与は胚致死を引き起こさない。TBTは、妊娠中の投与により、母体毒性量で胚・胎児の死亡、成長遅延及び口蓋裂を惹起する。妊娠8日から出生後の成熟期までのTBTの投与により、0.025 mg/kgでも児の成長プロファイルへの影響がみられたと報告されている。また、明確な母体毒性を現さない用量のTBTを妊娠中に投与したとき、出生後の児に行動変化がみられたとの報告もある。ラットでは妊娠8日にDBTの催奇形性の感受性が最も高くなる。DBTとTeBT、TBT及びMBTとでは発生毒性の発現様式が異なっている。DBTはin vitroでも胚に形態異常を惹起する。DBTの催奇形性の時期特異性は胚の成長に伴った感受性の低下によると考えられる。これらのin vivo及びin vitroの知見は、DBTの催奇形性はDBTそのものによることを示唆している。DBTをウサギあるいはカンクイザルの器官形成期に投与したときには、強い母体毒性と胚致死作用はみられるが、催奇形性は認められない。トリメチルスズ (TMT) またはトリヘキシルスズ (THT) の出生前投与で児の行動変化が起こることが報告されている。ジメチルスズ (DMT) の器官形成期投与では重篤な母体毒性を引き起こす用量で口蓋裂が発現する。

有機スズ化合物は、精巣毒性、卵巣毒性、着床阻害、胚致死作用及び催奇形性等の生殖発生毒性、神経毒性、免疫毒性等の多彩な有害作用を発現させるが、化合物の種類によって毒性の種類、発現様式、作用の強さは異なるので、その毒性については有機スズ化合物として一律に論じることはできない。有機スズ化合物の神経毒性及び免疫毒性については今までにも知られているところであるが、さらに最近、比較的低用量の有機スズ化合物が、妊娠母体への投与により、児の神経系及び免疫系に影響を及ぼすことが報告されている。神経発生毒性、免疫発生毒性については最近になってようやく注目されてきた分野であり、今後の研究成果が待たれる。ブチルスズ化合物による着床阻害作用は比較的低用量でも認められている。我々はブチルスズ化合物の子宮の着床機能への影

響について検討するために、ブチルスズ化合物投与後の子宮の遺伝子解析を進めており^{116, 117)}、有機スズ化合物の生殖発生毒性解明の一助となることが期待される。

2006年及び2007年に開催されたOECD高生産量化学物質初期評価会議にmonomethyltins, monobutyltins, mono-octyltins, dimethyltins, dibutyltins, dioctyltins¹¹⁸⁾, TBTCI, tin tetrachloride, TeBT, tetraoctiltin¹¹⁹⁾等のスズ化合物に関して米国産業界で作成された評価文書が提出され、議論されている。これらの文書では化合物の物性、生態毒性及びヒト健康影響に関してまとめられており、有用な情報が収載されている。これらの評価文書は近々UNEPから公表される予定である。

謝 辞

本稿中の著者が関与したほとんどの論文は大阪支所生物試験部在籍中に行った実験結果に基づいている。当所総合評価研究室の皆様及び旧大阪支所生物試験部の皆様に心から感謝いたします。特に、大阪支所生物試験部時代に実験にご協力をいただいた原園 景博士（現、生物薬品部）及び宮脇英美子氏、本稿の編集にご協力をいただいた総合評価研究室の松本真理子氏に深謝いたします。

文 献

- 1) Piver, W. T.: Environ Health Perspect, 4, 61-79 (1973)
- 2) World Health Organization: Tin and Organotin Compounds: A Preliminary Review. Environmental Health Criteria 15 (1980)
- 3) Quevauviller, P., Bruchet, A. and Donard, O. F. X.: Appl Organomet Chem, 5, 125-129 (1991)
- 4) Maguire, R. J.: Water Poll Res J Canada, 26, 243-360 (1991)
- 5) Sasaki, K., Ishizaka, T., Suzuki, T. and Saito, Y.: J Assoc Off Anal Chem, 71, 360-363 (1988)
- 6) Fent, K. and Hunn, J.: Environ Sci Technol, 25, 956-963 (1991)
- 7) Lau, M. M.: Arch Environ Contam Toxicol, 20, 299-304 (1991)
- 8) Suzuki, T., Matsuda, R. and Saito, Y.: J Agric Food Chem, 40, 1437-1443 (1992)
- 9) Belfoid, A. C., Purperhart, M. and Ariese, F.: Mar Pollut Bull, 40, 226-232 (2000)
- 10) Tsuda, T., Nakanishi, H., Aoki, S. and Takebayashi, J.: Water Res, 21, 949-953 (1987)
- 11) Ueno, S., Susa, N., Furukawa, Y., Komatsu, Y., Koyama, S. and Suzuki, T.: Arch Environ Health, 54, 20-25 (1999)
- 12) 豊田正武, 酒井洋, 小林ゆかり, 小松雅美, 星野庸二, 堀江正一, 佐伯政信, 長谷川康行, 辻元宏, 小嶋美穂子, 豊村敬郎, 熊野眞佐代, 谷村顕雄: 食衛誌, 41, 280-286 (2000)
- 13) Waldock, M. J. and Thain, J. E.: Mar Pollut Bull, 14, 411-415 (1983)
- 14) Evans, D. W. and Laughlin, R. B., Jr.: Chemosphere, 13, 213-219 (1984)
- 15) Laughlin, R. B. J., French, W. and Guard, H. E.: Environ Sci Technol, 4, 247-250 (1986)
- 16) Short, J. W. and Thrower, F. P.: Mar Pollut Bull, 17, 542-545 (1986)
- 17) Kannan, K., Corsolini, S., Focardi, S., Tanabe, S. and Tatsukawa, R.: Arch Environ Contam Toxicol, 31, 19-23 (1996)
- 18) Kannan, K., Tanabe, S. and Tatsukawa, R.: Chemosphere, 30, 925-932 (1995)
- 19) Tsuda, T., Inoue, T., Kojima, M. and Aoki, S.: J AOAC Int 78, 941-943 (1995)
- 20) World Health Organization. Fentin' in Pesticide Residues in Food 1991 :Evaluations Part II Toxicology. (1992) Available from: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v91pr11.htm>.
- 21) International Programme on Chemical Safety: Concise International Chemical Assessment Document, No.14 Tributyltin Oxide, IPCS (1999)
- 22) Colborn, T., vom Saal, F. and Soto, A.: Environ Health Perspect, 101, 378-384 (1993)
- 23) 環境省:環境ホルモン戦略計画SPEED' 98 (1998)
- 24) Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Morita, M.: Appl Organomet Chem, 11, 451-455 (1997)
- 25) Snoeij, N. J., Penninks, A.H. Seinen, W.: Environmental Research, 44, 335-353 (1987)
- 26) Winship, K. A.: Adverse Drug React Acute Poisoning Rev, 7, 19-38 (1988)
- 27) Boyer, I. J.: Toxicology, 55, 253-298 (1989)
- 28) International Programme on Chemical Safety: Concise International Chemical Assessment Document, No.13 Triphenyltin Compounds (1999)
- 29) Ema, M. and Hirose, A.: "Metals, Fertility, and Reproductive Toxicity", CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 23-64 (2006)
- 30) Kenaga, E. E.: J Econ Entomol, 58, 4-8 (1965)
- 31) Gaines, T. B. and Kimbrough, R. D.: Toxicol Appl Pharmacol, 12, 397-403 (1968)
- 32) Pate, B. D. and Hays, R. L.: J Econ Entomol, 61, 224-232 (1968)

- 33) Snow, R. L. and Hays, R. L.: Bull of Environ Contam Toxicol, 31, 658-665 (1983)
- 34) Epstein, S. S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W. and Bishop, Y.: Toxicol Appl Pharmacol, 23, 288-325 (1972)
- 35) Newton, D. W. and Hays, R. L.: J Econ Entomol, 61, 1668-1669 (1968)
- 36) Ema, M., Miyawaki, E., Harazono, A. and Ogawa, Y.: Reprod Toxicol, 11, 201-206 (1997)
- 37) Cummings, A. M.: Fundam Appl Toxicol, 15, 571-579 (1990)
- 38) Kamrin, M. A., Carney, E. W., Chou, K., Cummings, A., Dostal, L. A., Harris, C., Henck, J. W., Loch-Carusio, R. and Miller, R. K.: Toxicol Lett, 74, 99-119 (1994)
- 39) Spencer, F. and Sing, L. T.: Bull Environ Contam Toxicol, 28, 360-368 (1982)
- 40) Bui, Q. Q., Tran, M. B. and West, W. L.: Toxicology, 42, 195-204 (1986)
- 41) Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Reprod Toxicol, 12, 127-132 (1998)
- 42) Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Arch Toxicol, 73, 175-179 (1999)
- 43) De Feo, V. J.: Endocrinology, 72, 305-316 (1963)
- 44) Ema, M. and Miyawaki, E.: Congenital Anomalies, 41, 106-111 (2001)
- 45) Kimmel, E. C., Fish, R. H. and Casida, J. E.: J Agric Food Chem, 25, 1-9 (1977)
- 46) Ohhira, S. and Matsui, H.: J Chromatogr, 622, 173-178 (1993)
- 47) Ohhira, S. and Matsui, H.: J Agric Food Chem, 41, 607-609 (1993)
- 48) Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Toxicol Lett, 108, 17-25 (1999)
- 49) Ema, M., Harazono, A., Miyawaki, E. and Ogawa, Y.: Arch Environ Contam Toxicol, 33, 90-96 (1997)
- 50) Ema, M. and Miyawaki, E.: Reprod Toxicol, 16, 309-317 (2002)
- 51) Giavini, E., Prati, M. and Vismara, C.: Bull Environ Contam Toxicol, 24, 936-939 (1980)
- 52) Noda, T., Morita, S., Yamano, T., Shimizu, M., Nakamura, T., Saitoh, M. and Yamada, A.: Toxicol Lett, 55, 109-115 (1991)
- 53) Lehotzky, K., Szeberenyi, J. M., Gonda, Z., Horkay, F. and Kiss, A.: Neurobehav Toxicol Teratol, 4, 247-250 (1982)
- 54) 三宅久美子, 三澤哲夫, 重田定義: 日衛誌, 46, 769-776 (1991)
- 55) Winek, C. L., Marks, M. J. J., Shanor, S. P. and Davis, E. R.: Clin Toxicol, 13, 281-296 (1978)
- 56) Chemoff, N., Setzer, R. W., Miller, D. B., Rosen, M. B. and Rogers, J. M.: Teratology, 42, 651-658 (1990)
- 57) Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: Bull Environ Contam Toxicol, 62, 363-370 (1999)
- 58) Kumasaka, K., Miyazawa, M., Fujimaki, T., Tao, H., Ramaswamy, B. R., Nakazawa, H., Makino, T. and Sato, S.: J Reprod Dev, (2002)
- 59) Omura, M., Ogata, R., Kubo, K., Shimasaki, Y., Aou, S., Oshima, Y., Tanaka, A., Hirata, M., Makita, Y. and Inoue, N.: Toxicol Sci, 64, 224-232 (2001)
- 60) Ogata, R., Omura, M., Shimasaki, Y., Kubo, K., Oshima, Y., Aou, S. and Inoue, N.: J Toxicol Environ Health A, 127-144 (2001)
- 61) Gallavan, R. H., Jr., Holson, J. F., Stump, D. G., Knapp, J. F. and Reynolds, V. L.: Reprod Toxicol, 13, 383-390 (1999)
- 62) Harazono, A., Ema, M. and Ogawa, Y.: Toxicol Lett, 89, 185-190 (1996)
- 63) Harazono, A., Ema, M. and Kawashima, K.: Bull Environ Contam Toxicol, 61, 224-230 (1998)
- 64) Harazono, A., Ema, M. and Ogawa, Y.: Arch Environ Contam Toxicol, 34, 94-99 (1998)
- 65) Harazono, A. and Ema, M.: Arch Toxicol, 74, 632-637 (2000)
- 66) Fish, R. H., Kimmel, E. C. and Casida, J. E.: J Organomet Chem, 118, 41-51 (1976)
- 67) Ishizaka, T., Suzuki, T. and Saito, Y.: J Agric Food Chem, 37, 1096-1101 (1989)
- 68) Iwai, H., Wada, O. and Arakawa, Y.: J Anal Toxicol, 5, 300-306 (1981)
- 69) Ema, M. and Harazono, A.: Reprod Toxicol, 14, 451-456 (2000)
- 70) Harazono, A. and Ema, M.: Reprod Toxicol, 17, 393-399 (2003)
- 71) Ema, M., Harazono, A., Hirose, A. and Kamata, E.: Toxicol Lett, 143, 233-238 (2003)
- 72) Ema, M. and Harazono, A.: Toxicol Lett, 125, 99-106 (2001)
- 73) Ema, M., Fujii, S., Ikka, T., Matsumoto, M., Hirose, A. and Kamata, E.: Environ Toxicol, 22, 44-52 (2007)
- 74) Davis, A., Barale, R., Brun, G., Forster, R., Günther, T., Hautefeuille, H., van der Heijden, C. A., Knaap, A. G. A. C., Krowke, R., Kuroki, T., Loprieno, N., Malaveille, C., Merker, H. J., Monaco, M., Mosesso, P., Nuebert, D., Norppa, H., Sorsa, M., Vogel, E., Voogd,

- C. E., Umeda, M. and Bartsch, H.: *Mutat Res*, 188, 65-95 (1987)
- 75) Baroncelli, S., Karrer, D. and Turillazzi, P. G.: *Toxicol Lett*, 50, 257-262 (1990)
- 76) Baroncelli, S., Karrer, D. and Turillazzi, P. G.: *J Toxicol Environ Health* 46, 355-367 (1995)
- 77) Karrer, D., Baroncelli, S. and Turillazzi, P. G.: *J Toxicol Environ Health*, 46, 369-377 (1995)
- 78) Faqi, A. S., Schweinfurth, H. and Chahoud, I.: *Congenit Anom (Kyoto)*, 37, 251-258 (1997)
- 79) Crofton, K. M., Dean, K. F., Boncek, V. M., Rosen, M. B., Sheets, L. P., Chemoff, N. and Reiter, L. W.: *Toxicol Appl Pharmacol*, 97, 113-123 (1989)
- 80) 三宅久美子, 三澤哲夫, 重田定義: *日衛誌*, 45, 926-934 (1990)
- 81) Itami, T., Ema, M., Amano, H., Murai, T. and Kawasaki, H.: *Drug Chem Toxicol*, 13, 283-295 (1990)
- 82) Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: *Toxicology*, 96, 195-201 (1995)
- 83) Adeeko, A., Li, D., Forsyth, D. S., Casey, V., Cooke, G. M., Barthelemy, J., Cyr, D. G., Trasler, J. M., Robaire, B. and Hales, B. F.: *Toxicol Sci*, 74, 407-415 (2003)
- 84) Schardein, J.: "Chemically Induced Birth Effects, 3rd edn, revised and expanded", Marcel Dekker, Inc., New York, (2000)
- 85) Clark, R. L., Anderson, C. A., Prahalada, S., Robertson, R. T., Lochry, E. A., Leonard, Y. M., Stevens, J. L. and Hoberman, A. M.: *Toxicol Appl Pharmacol*, 119, 34-40 (1993)
- 86) Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.: *Toxicol Lett*, 111, 271-278 (2000)
- 87) Ogata, R., Omura, M., Shimasaki, Y., Kubo, K., Oshima, Y., Aou, S. and Inoue, N.: *J Toxicol Environ Health A*, 63, 127-144 (2001)
- 88) Yamabe, Y., Hoshino, A., Imura, N., Suzuki, T. and Himeno, S.: *Toxicol Appl Pharmacol*, 169, 177-184 (2000)
- 89) Sanderson, J. T., Boerma, J., Lansbergen, G. W. and van den Berg, M.: *Toxicol Appl Pharmacol*, 182, 44-54 (2002)
- 90) Doering, D. D., Steckelbroeck, S., Doering, T. and Klingmuller, D.: *Steroids*, 67, 859-867 (2002)
- 91) Cooke, G. M., Tryphonas, H., Pulido, O., Caldwell, D., Bondy, G. S. and Forsyth, D.: *Food Chem Toxicol*, 42, 211-220 (2004)
- 92) Tryphonas, H., Cooke, G., Caldwell, D., Bondy, G., Parenteau, M., Hayward, S. and Pulido, O.: *Food Chem Toxicol*, 42, 221-235 (2004)
- 93) Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: *Drug Chem Toxicol*, 14, 161-171 (1991)
- 94) Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: *Neurotoxicol Teratol*, 13, 489-493 (1991)
- 95) Gårdlund, A. T., Archer, T., Danielsson, K., Danielsson, B., Fredriksson, A., Lindqvist, N. G., Lindstrom, H. and Luthman, J.: *Neurotoxicol Teratol*, 13, 99-105 (1991)
- 96) 野田勉, 森田茂, 清水充, 山野哲, 山田明男: 大阪市立環境研究所報告, 50, 66-75 (1988)
- 97) Noda, T., Yamano, T., Shimizu, M., Saitoh, M., Nakamura, T., Yamada, A. and Morita, S.: *Arch Environ Contam Toxicol*, 23, 216-222 (1992)
- 98) Noda, T., Morita, S. and Baba, A.: *Toxicology*, 85, 149-160 (1993)
- 99) Noda, T., Morita, S. and Baba, A.: *Food Chem Toxicol*, 32, 321-327 (1994)
- 100) Noda, T., Yamano, T. and Shimizu, M.: *Toxicology*, 167, 181-189 (2001)
- 101) Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: *Toxicol Lett*, 58, 347-356 (1991)
- 102) Farr, C. H., Reinisch, K., Holson, J. F. and Neubert, D.: *Teratog Carcinog Mutagen*, 21, 405-415 (2001)
- 103) Ema, M., Itami, T. and Kawasaki, H.: *Toxicology*, 73, 81-92 (1992)
- 104) Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: *J Appl Toxicol*, 15, 297-302 (1995)
- 105) Thullen, T. and Holson, J. F. Personal communication (2006)
- 106) Ema, M., Fukunishi, K., Matsumoto, M., Hirose, A., Kamata, E. and Ihara, T.: *Reprod Toxicol*, 23, 12-19 (2007)
- 107) Ema, M., Kurosaka, R., Amano, H. and Ogawa, Y.: *J Appl Toxicol*, 16, 71-76 (1996)
- 108) Ema, M., Iwase, T., Iwase, Y., Ohyama, N. and Ogawa, Y.: *Arch Toxicol*, 70, 742-748 (1996)
- 109) Krowke, R., Bluth, U. and Neubert, D.: *Arch Toxicol*, 58, 125-129 (1986)
- 110) Yonemoto, J., Shiraishi, H. and Soma, Y.: *Toxicol Lett*, 66, 183-191 (1993)
- 111) Ema, M., Iwase, T., Iwase, Y. and Ogawa, Y.: *Toxicol In Vitro*, 9, 703-709 (1995)
- 112) Noland, E. A., Taylor, D. H. and Bull, R. J.: *Neurobehav Toxicol Teratol*, 4, 539-544 (1982)
- 113) Paule, M. G., Reuhl, K., Chen, J. J., Ali, S. F. and Slikker, W., Jr.: *Toxicol Appl Pharmacol*, 84,

- 412-417 (1986)
- 114) 三宅久美子, 三澤哲夫, 相川浩幸, 吉田貴彦, 重田
定義: 産業医学, 31, 363-371 (1989)
- 115) Faqi, A. S., Schweinfurth, H. and Chahoud, I.: *Re-
prod Toxicol*, 15, 117-122 (2001)
- 116) Hirose, A., Aisaki, H., Hara, H., Takahashi, M., Iga-
rashi, K., Kanno, J. and Ema, M. The 25th Interna-
tional Symposium on Halogenated Environmental Or-
ganic Pollutants and POPs (DIOXIN 2005, Toront) .
(2005)
- 117) Hirose, A., Aisaki, H., Matsumoto, M., Kamata, E.,
Igarashi, K., Kanno, J. and Ema, M. The 26th Inter-
national Symposium on Halogenated Environmental
Organic Pollutants and POPs (DIOXIN 2006, Oslo,
8/24) . (2006)
- 118) 松本真理子, 大井恒宏, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 江馬
眞: 化学生物総合管理学会誌, 3, 56-65 (2007)
- 119) OECD:Draft summary record of the twenty-fourth
SIDS initial assessment meeting (SIAM24) ENV/JM/
EXCH/SIAM/A (2007) 1 (2007)

産科と婦人科 別刷

Vol. 74 No. 3 (2007年3月1日発行)

発行所 株式会社 診断と治療社

特集 妊娠とくすり

7. 生殖発生毒性試験の役割

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

Key Words/生殖発生毒性, 催奇形性, 動物実験

要旨

サリドマイド事件を契機として、各国における薬事制度の見直し、強化がはかられ、実験動物を用いた生殖発生毒性試験に関する資料の提出が新有効成分、新投与経路の承認申請時に必要となっている。本稿では医薬品によるヒトにおける生殖発生障害の例と動物実験との関わりについて述べ、実験動物を用いた生殖発生毒性試験の特徴および試験結果を評価する際の留意点について概説した。

生殖発生毒性試験

生殖 (Reproduction) とは、種を存続させるための生物学的過程をいい、生殖毒性 (reproductive toxicity) には、成熟動物の生殖能に対する有害作用と子孫における発生毒性 (developmental toxicity) が含まれる。生殖能に対する有害影響とは、雌雄の生殖器や内分泌系の変化に起因する有害影響 (春期発動、配偶子形成・輸送、生殖周期、性行動、繁殖、分娩、生殖系の統合性に依存するその他の機能に対する影響等) であり、発生毒性とは、親の妊娠前から児の性成熟までの曝露による正常な発生の障害 (死亡、形態異常、成長の変化、機能障害) を

指す¹⁾。すなわち、生殖毒性は親の世代を中心にとらえたときの環境要因による不妊や次世代の発生障害を指し、次世代を中心にとらえた発生毒性とほぼ同義である。生殖発生毒性試験の目的は、哺乳類の生殖発生に対するあらゆる影響を明らかにすることである²⁾。薬物の即時のおよび遅発的影響を検出するために、親の世代の受精から次世代の受精までの完全な生殖周期 (図1) に薬物を投与して、その間の観察を行う。新薬の申請時に必要とされている生殖発生毒性試験のうち、着床から硬口蓋閉鎖までの期間中の雌動物に投与を行う「胚・胎児発生に関する試験」、いわゆる催奇形性試験は、最も重要視されており、2種の動物を用いた試験が課せられている。動物の生殖発生の特定の段階に



図1 生殖周期

生殖発生毒性試験においては、成熟動物および受精から性成熟までの発生の全過程にわたって薬物に曝露し、薬物の即時および遅発的な影響を検出するため、完全な生殖周期、すなわち、一世代での受精から次の世代での受精までの観察を継続して行う。

被験物質を投与してその影響を観察することにより、どの生殖発生段階に障害を生じるかを明確にすることができる。このような試験方法は、大半の医薬品では亜急性的な服用が想定されることから、ヒトでの曝露状況をよく反映している。長期間曝露が想定される医薬品では、1世代または2世代試験が有用である。生殖発生毒性試験で得られた結果を、ヒトにおける生殖発生への危険性が他の毒性試験の結果から予見される危険性の程度と比較検討する。

生殖発生障害にかかわる出来事

生殖発生障害に関する主な出来事を表1に示

表1 生殖発生に関わる主な出来事

1744年	ヒドラの切断による多頭体
1870年	キニーネによるヒト児の難聴
1902年	妊娠モルモットへのブドウ球菌投与による児の白内障
1905年	妊娠ウサギへのX線処置による児の眼異常
1907年	妊娠ウサギへのコリン投与による実験（最初の化学物質の催奇形実験）
1911年	妊娠ウサギへのナフタリン投与による児の白内障等の眼異常
1913年	東北医専眼科教授小玉龍蔵、わが国最初の催奇形実験
1933年	ビタミンA欠乏食によるブタ児の無眼（近代実験奇形学のはじまり）
1941年	ヒト先天性風疹症候群
1950年	ストレプトマイシンによるヒト児の難聴
1952年	ヒト胎児性水俣病、アミノプテリンによるヒト胎児の髄膜脳瘤
1953年	男性ホルモンによるヒト女児の偽半陰陽
1956年	ベンデクチン発売開始
1957年	サリドマイド発売（鎮静薬「コンテルカン」西独グリュエーター社）
1961年	サリドマイド事件（米FDA フランス・ケルシー承認与えず）
1963年	「胎児に及ぼす影響に関する動物試験法」厚生省薬務局長通知（わが国の最初の試験法ガイドライン）
1967年	「医薬品の製造承認等の基本方針」厚生省薬務局長通知（急性、亜急性、慢性、胎児及びその他の特殊毒性データの要求）
1968年	カネミ油症「コーラベビー」
1971年	ジエチルスチルベストロール（DES）服用の母親から生まれた女児の膣がん
1982年	「医薬品の安全性試験の実施に関する基準」(GLP) 制定
1983年	ベンデクチン発売中止
1983年	イソトレチノイン（13-cis-retinoic acid）によるヒト児の小耳
1992年	ヒト精子の減少をスキヤケベックが報告
1997年	薬審第316号「医薬品の生殖発生毒性に係わるガイドライン改定について」
2000年	薬審第1834号「医薬品の生殖発生毒性についてのガイドラインの改定について」：本ガイドラインの一部改訂

した。ヒトに関しては、1870年に小児の難聴とキニーネ(Quinine)の妊娠中の摂取との関係を疑った報告があり、その後、先天性風疹症候群、ストレプトマイシンによる難聴、胎児性水俣病、男性ホルモンによる女児の偽半陰陽、サリドマイド(Thalidomide)事件、カネミ油症、ジエチルスチルベストロール(DES:Diethylstilbestrol)による女児の腔癌、イソトレチノイン(Isotretinoin)による小耳などが報告されているが、なかでも特筆すべきはサリドマイド事件である。1954年に西ドイツのグリュネンタール社においてサリドマイドが合成され、1957年10月にコンテルガン®という商品名で、睡眠薬、精神安定薬として発売され始め、世界の46カ国で発売された。睡眠薬としては即効性、持ち越し作用がなく、致死的作用もなく、当時の西ドイツおよび諸外国で大衆薬として広く使われた¹⁾。その後、サリドマイドを妊娠初期に服用した妊婦の出産児が先天異常を有することが報告され、1961年頃からサリドマイド禍として認識され始めた。このサリドマイド事件を契機として、医薬品の催奇形作用が問題視され、各国における薬事制度の見直し、強化がはかられた。わが国では1963年4月に「医薬品の胎児に及ぼす影響に関する動物試験法」が厚生省薬務局長から通知された。この通知はわが国で最初の具体的な毒性試験ガイドラインであり、2種類の動物を用いて行う器官形成期投与試験が示された。その後、何回かの改正を経て、現行の生殖発生毒性試験法が2000年12月に医薬審第1834号²⁾として通知され、このガイドラインにしたがって新薬の承認申請のための生殖発生毒性試験が行われている。医薬品の承認申請には、医薬品の品質、有効性、安全性を評価するために、規格および試験方法、安定性、毒性、薬理作用、吸収・分布・代謝・排泄、臨床試験についての資料の提出が求められている。申請内容に応じて必要な資料が定められており、生殖発

生毒性に関する資料の提出は新有効成分、新投与経路の承認申請時に必要とされている³⁾。

医薬品によるヒトにおける発生障害と動物実験との関わりの例

1. サリドマイド(Thalidomide)

サリドマイドに関しては、動物実験で催奇形性が証明される前に不幸にもヒトでの薬害が起こってしまった。サリドマイド禍当時の世界中のどこの国においても、医薬品や化学物質について発生中の生物に対する影響に関する試験は要求されておらず、食物中の重要な化学物質または生殖器官に選択的な反応を示すと推定される化学物質についてのみ生殖毒性試験が推奨されていたにすぎなかった。これらの生殖毒性試験では、数世代にわたって妊娠率、出生児数、児の成長などについて重点的に調べられていたが、胎児についての検査は十分に行われていなかった。したがって、当時の試験枠組みではサリドマイド禍は避けられなかったのかもしれない⁴⁾。サリドマイドの催奇形性に対して、ラットおよびマウスはほとんど感受性を示さず(胚死亡は惹起されるとする報告はある)、ハムスター、ブタ、ネコ、イヌ、フェレット、アルマジロおよびニワトリでは感受性を示すが、特異的な奇形は惹起されない⁵⁾。ウサギおよび非ヒト霊長目では感受性を示し、特異的な奇形が惹起される。ウサギでは胎児致死作用が強く発現するような高用量でのみ四肢奇形およびその他の奇形が認められるが、奇形発現率は低く、系統間で感受性に差がある。9種中8種の非ヒト霊長目でヒトと同様の用量および感受期の投与により、特徴的な四肢奇形が観察されている⁶⁾。非ヒト霊長目または最も敏感な系統のウサギを催奇形性スクリーニング試験に汎用することは現実的には困難である。Kalter(2003)⁷⁾は、あ

る種の薬物が実験動物において先天奇形を惹起することはサリドマイド禍以前から知らされていたが、現在の生殖発生毒性試験の知識と技術をもってしても、サリドマイドのヒトにおける催奇形性をおそらく予見できなかっただろうと述べている。

2. ベンデクチン (Bendectin)

ベンデクチン (抗ヒスタミン剤のトキシラミン、抗痙攣剤のジサイクロミン、ビタミンB₆の合剤) は鎮吐薬として1956年から米国のメレル・ダウ社から発売開始され、米国の25%の妊婦が服用したと見積もられている⁵⁾。本薬服用の女性が奇形児を出産したという訴えが起き、ベンデクチンの催奇形性作用についての大量キャンペーンが行われた⁶⁾。FDAでも、本薬が催奇形性の原因とはしなかったにもかかわらず、その後ベンデクチンの売り上げ収入よりも裁判費用が多くなったことから、1983年にメレル・ダウ社は販売を中止した⁷⁾。ラット、ウサギおよび非ヒト霊長目を用いて、大量投与を行った実験でも、ヒトにおける催奇形性を支持する結果は得られていない⁸⁾。

3. アンドロゲン (Androgens)

モルモット、ラット、マウス、ハムスター、ハリネズミ、フクロネズミ、モグラ、ウサギウシ、ヒツジおよび非ヒト霊長目において雌胎児に雄性化を引き起こすことが、1936～1950年にすでに報告されていた。その後の1953年、ヒトにおいて、乳癌の妊婦へのMethylandrostenediol投与による女児の外生殖器異常が報告された⁹⁾。

4. プロゲステロン類

Ethisteroneについてはウサギの雌胎児の雄性化を引き起こすことが1942年に報告されていた。しかし、臨床家や発生学研究者の注意を引かず、切迫流産のために妊娠初期に黄体ホルモン剤を投与された女性から女児假性半陰陽児が生まれた¹⁰⁾。

5. 抗痙攣薬

抗痙攣薬については動物実験で奇形胎児の発現などの発生毒性試験結果が先に報告された。その後、ヒトにおける抗痙攣薬の発生障害に関する情報収集が行われた¹¹⁾。

6. ビタミンA類

ビタミンAの催奇形性については1953年にすでに報告されており、また、ビタミンA類似体のIsotretinoinやレチノイン酸類似体のEtretinateについては動物実験で催奇形性が認められていた。しかしながら、有用性のために医薬品として承認された後にヒトにおける発生障害の報告がなされた¹²⁾。

ヒトにおいて発生毒性が報告されている医薬品

商業上および公衆衛生上重要であること、ヒトおよび動物における良質なデータが得られること、成長遅延、死亡、奇形、機能障害のいずれかの発生毒性を示すことを基準にSchardeinとMacina (2006)¹³⁾が選定した50の化学物質のうち42種の医薬品について、ヒトおよび実験動物で発生毒性が報告された年を表2に示した。ヒトにおいて、催奇形作用の報告があるものは40 (95%)、致死作用の報告があるものは24 (57%)、機能障害の報告があるものは21 (50%)、成長遅延の報告があるものは16 (38%)であった。ヒトで成長遅延、死亡、奇形および機能障害のすべての発生障害の型を示すと報告されているのは、抗腫瘍薬 (Aminopterin, Cyclophosphamide, Methotrexate)、抗痙攣薬 (Paramethadione)、ACEインヒビター (Captopril)、抗甲状腺剤 (Methimazole)、抗凝固剤 (Warfarin)、平滑筋収縮薬 (Ergotamine) の8医薬品 (19%)であり、これらは最も強い発生毒性物質と考えられる。ヒトで成長遅延、死亡、

表2 ヒトで発生毒性が報告されている医薬品のヒトおよび動物での発生障害の報告年

薬物名	ヒトにおける発生毒性(報告年)	動物における発生毒性(報告年)
抗腫瘍薬		
Aminopterin	脳/口蓋口蓋裂形, 死亡(1952)	マウス胎死(1950), ラット奇形(1954)
Busulfan	口蓋/胎生嚢の卵巣奇形, 成長遅延, 死亡(1960)	ラット卵巣性不妊(1964), マウス奇形(1966)
Chlorambucil	死亡(1962), 腎臓/尿管奇形(1963)	マウス四肢/中枢神経系奇形, 口蓋裂(1956)
Cyclophosphamide	指趾/口蓋/鼻奇形, 皮膚異常(1954)	ラット奇形, 成長遅延, 胚致死(1962)
Methotrexate	頭蓋/指趾/耳/顔面/肋骨奇形(1968)	ラット四肢指奇形, 口蓋裂(1967)
Cytarabine	死亡(1978), 骨/指趾/耳奇形(1980)	ラット四肢指趾/尾奇形, 口蓋裂, 死亡(1968)
Mechlorethamine	死亡(1962), 骨/指趾/耳奇形(1974)	ラット奇形, 成長遅延, 胚致死(1948)
ビタミンA類		
Vitamin A	尿管奇形(1965)	ラット頭蓋/脳奇形(1953)
Isotretinoin	耳奇形(1983)	ウサギ奇形(1962)
Etretinate	骨格/脳奇形(1984)	ウサギ奇形性(1981)
Tretinoin	尿管奇形(1981)	マウス顔面/四肢/神経系/心臓奇形(1967)
Acitretin	死亡(1994)	ウサギ/マウス/ラット四肢奇形(1985)
抗てんかん薬		
Phenytoin	奇形(1964)	マウス奇形(1966)
Phenobarbital	奇形(1964)	マウス口蓋裂(1977)
Paramethadone	口蓋口蓋/脊髄/尿管/脳心臓/血管系奇形, 死亡(1970)	ラット胎死死亡, 成長遅延, 骨格異常(1976)
Primidone	顔面異常, 成長遅延(1973)	マウス口蓋裂(1975)
Carbamazepine	死産児における奇形(1979)	マウス中枢神経系奇形(1977)
Valproic acid	顔面/脳心臓/骨格奇形, 成長遅延(1980)	マウス奇形(1971)
合成ステロイドホルモン類		
Ethisterone	女児雄性化(1955)	ウサギ胎児の雄性化(1948)
Methyltestosterone	女児雄性化(1957)	ウサギ胎児の雄性化(1947)
Norethindrone	女児雄性化(1955)	マウス胎児の雄性化(1972)
Medroxyprogesterone	女児雄性化(1963)	ラット胎児の雄性化(1960)
Danazol	死亡(1978), 雄性化(1981)	ラット/ウサギで発生毒性(Physicians' Desk Reference, 2002)
抗生物質		
Streptomycin	難聴(1950)	マウス聴覚的脳の変化(1963), マウス内耳障害(1985)
Tetracycline	歯/骨灰褐色化(1961)	ラット胎児骨石灰化, コラーゲン生成(1958)
Trimethoprim	心血管系/口蓋/尿管奇形(2000)	ラット奇形性(1969)
解熱剤		
Fenicillamine	消化管/血管系/骨奇形, 皮膚異常, 死亡(1971)	ラット奇形, 成長遅延, 胚致死(1972)
Methylen Blue	腸管異常(1990)	マウス奇形, 胚致死(2000)
その他		
Quinine	耳障害(1933)	ウサギ耳神経障害(1936)
Propylthiouracil	甲状腺障害(1946)	モルモット甲状腺障害(1948)
Thalidomide	アザラン様症(1959)	ウサギ四肢奇形, 胚致死(1953), サル四肢奇形(1964)
Disulfiram	四肢奇形, 死亡(1965)	ラット胚致死(1974)
Warfarin	奇形, 機能障害(1956)	マウス口蓋裂, 出血, 胎児死亡(1971)
Methimazole	四肢奇形, 成長遅延(1966)	ラット生後行動変化(1982)
Diethylstilbestrol	陰萎かみ(1970)	ラット陽性(1949)
Ergotamine	心臓奇形, 死亡(1971)	ラット/マウス胎児体重, 骨化遅延(1973)
Propranolol	子宮内成長遅延(1974)	ラット出生児数減少, 出生児低成長(1985)
Captopril	腎臓/尿管/膀胱奇形(1981)	ウサギ/ヒツジ死産(1980)
Misoprostol	頭蓋奇形(1991)	ラット胎児障害(妊娠0-7日に経内投与)(1982)
Pseudoephedrine	産婦破裂(1992)	ラット胎児体重/骨化遅延(1990)
Fluconazole	頭蓋/口蓋/骨格奇形(1992)	ラット口蓋裂, 顔面骨化異常, 胚致死, ウサギ胎産(unpublished data)
Valisarian	頭蓋/顔面/腎臓/指趾奇形(2001)	ウサギ/マウス/ラット胚致死, 成長遅延(unpublished data)

奇形, 機能障害のうちの3つの型の発生障害を惹起すると報告されているのは13(31%), 2つの型の発生障害を惹起すると報告されているのは9(21%), 1つの型の発生障害を惹起すると報告されているのは12(29%)であった。ヒトでは成長遅延の報告はあまり多くはないが, 胎児の成長遅延は実験動物においては最も鋭敏で,

最も検出しやすい発生毒性指標であり, 母体および胎児の両者に対する毒性影響によって起こりうる。ヒトにおける子宮内成長遅延は3~10%の頻度で起こり, これらの児の死亡率は正常児の3倍高く, 自然流産の20%程度が重篤な成長遅延を有しているとの報告もある。また, 周産期死亡, 先天奇形, 神経学的機能障害との

関連も明らかになっている²⁾。

動物実験の特徴と 評価の際の留意点

ヒトで発生毒性を現す化学物質は、いずれかの動物種で発生毒性を現し、いかなる化学物質も適切な量を適切な時期ある動物種に与えたときに発生毒性を現しうる (Karnofsky の法則)。これらのことはある動物種で発生毒性が惹起されれば、ヒトでも発生毒性が惹起される可能性があることを示している。Schardein (2000)³⁾ は、調査した 4,153 の化学物質のうち、動物で催奇形性が報告されているものは約 1/3 であり、そのうちの 291 の化学物質では 2 種以上の動物において催奇形性の報告があるが、2,760 の化学物質については催奇形性は示されていないと述べている。さらに、70,000 以上の化学物質が環境中に存在し、そのうち 70 物質がヒトでの発生毒性物質であると述べている⁴⁾。また、実験動物で催奇形性を示した 1,200 の化学物質のうち 40 物質がヒトにおける催奇形性物質であったとの記述もある⁵⁾。動物を用いた生殖発生毒性試験では、その動物における試験の科学的真実性を考察し、その動物種における生殖発生毒性の機序と薬物動態を検索し、曝露量を考慮し、ヒトへの外挿を行う⁶⁾。ヒトの生殖発生障害の情報がない場合には、動物を用いた実験結果からヒトへの外挿を行わなければならない。

生殖発生毒性の発現には、因子特異性、時期特異性、投与量と投与経路、母児の遺伝子、母体の生理及び病態等が複雑に係わっている⁷⁾。これらの要因を十分に考慮して実験データを考察する必要がある。特定の型の発生障害には特定の感受期が存在し、観察の時期によって検出する発生障害の型が限定される。したがって、同じ化学物質が投与条件によって異なった発生

障害を惹起し、同じ発生障害でも異なった機序や発生過程から惹起されうる。このように、発生障害発現には多くの要因が関与しているので、実験結果の再現性に問題がある場合がある。動物の生殖発生毒性試験では、生殖周期のあらゆる時期に化学物質が投与されるので、あらゆる型の生殖発生異常が惹起される可能性がある。投与量が高いと、胚/胎児死亡が惹起され、投与量が低くなれば、奇形、成長遅延、次いで、機能障害、さらに低くなれば作用はみられなくなるのが一般的である。胚/胎児致死作用が強くみられたときには、催奇形性が隠されていないかを吟味する必要がある。また、実験動物とヒトでは系統発生学的な差、生殖生理学的な差があり、実験動物とヒトとの比較が困難な場合がある。子宮内発生にも差があり、発生毒性試験によく用いられるラットやマウスなどのげっ歯類、ウサギでは主要な奇形の感受期である器官形成期は 1-2 週間と短い⁸⁾が、ヒトを含めて高等霊長類では 4-6 週間と長く、高等霊長類では催奇形因子の侵襲に対する修復過程の時間がある。また、出生時の成熟の程度がヒトと実験動物では異なっており、ラットやマウスでは、ヒトに比べて未熟な状態で出生するので、周産期の発生障害の評価には注意を要する。さらに、代謝の種差、薬物動態の差異も考慮する必要がある。生殖発生毒性試験に用いられる用語および異常の分類等については、文献ごとに違いがある場合があり、毒性評価の際に注意を要するが、これらについては統一化の試みが行われている⁹⁾。また、公表されている生殖発生毒性試験の報告には質的な差があり、公表された催奇形性についての試験のうち 10% しか適切に実施されていない¹⁰⁾ともいわれており、ヒトへの外挿を難しくしている要因となっている。

ヒトにおける生殖発生毒性を検出するための理想的な動物種はなく、動物 1 種における毒性だけをヒトにおける作用を予測することは不可