

研究要旨：

我々が開発したラット肝中期発がん性試験法を用いて検索した 295 化合物のうち、内分泌かく乱物質とされる 14 化合物うち 10 が陽性を示した。DES も陽性を示し、肝発がん性が示唆されるデータである。この系を用いて Nonylphenol の発がんプロモーション作用の有無を用量相関性に検討し、Nonylphenol の発がんリスクを評価するとともに、雄ラットに対する性ホルモン環境への影響を血中のホルモンレベルならびに内分泌臓器の病理組織学的に検討する。

A. 研究目的

環境中に存在する各種ホルモン様物質の中には、多くの内分泌かく乱物質が含まれている。これら内分泌攪乱物質による発がん性や発がん促進作用が危惧されているが、これらの発がんならびに発がんプロモーション作用のリスクを評価するには動物を用いた *in vivo* の検索系が不可欠である。しかも、数多く存在すると考えられているこれらの物質のリスク評価のためには、比較的短期間で、信頼されるデータを得ることのできる検索系を用いる必要がある。我々はラット肝中期発がん性試験法を開発してきたが、これはこのような目的のために適した検索系と考えられる。この肝中期発がん性試験法は、被験物質のプロモーション作用の用量相関性を検索するのに適していることや、少ない量の被験物質でも検索可能であり、低用量での評価も可能であることなど、この検索系は内分泌攪乱物質の発がん性や発がんプロモーション作用を検索する検索系として適していると考えられる。

B. 研究方法

この肝中期発がん性試験法は 6 週齢の F344 雄ラットを用い、DEN (200mg/kg) を、単回 ip 投与し、その 2 週間後より被験物質を 6 週間経口投与する。実験途中、実験開始 3 週目に、肝の 2/3 を部分切除し、肝臓の増殖を刺激する。そして実験は 8 週間で終了し、肝を摘出後、冷アセトンで固定し、発生した前がん病変である胎盤型 Glutathione S transferase (GST-P) 陽性細胞巣を免疫組織学的に染色する。この GST-P 陽性細胞巣を指標として、画像処理装置により定量的に解析し、対照群の値と比較検討することにより、これら被験物質のリスク評価を行う試験法である。

このラット中期発がん性試験法を用いて、内因性の性ホルモンが肝の前がん病変発生に対して影響をおよぼすかどうかを検討する。

実験には雌雄の F344 ラットを用い、DEN, 200mg/kg の単回 ip 投与と、3 週目の 2/3 肝部分切除は中期発がん性試験法と同様に行い、実験開始 2 週目に雄では去勢を、雌では卵巣摘出をそれぞれ行い、精巣と卵巣からの性ホルモンのない状態での、肝前がん病変

発生の影響を検討する。これは現在実験は進行中であり、この結果をふまえて、内分泌攪乱物質の発がんプロモーション作用の有無を検討する。

C. 研究結果および考察

環境中に存在する多くの内分泌かく乱物質による発がん性や発がん促進作用が危惧されているが、これらの発がんのリスクを評価するには動物を用いた *in vivo* の検索系が不可欠である。しかも、これらの物質のリスク評価のためには、比較的短期間で、信頼されるデータを得ることのできる検索系を用いる必要がある。ラット肝中期発がん性試験法はこの目的のために適した検索系と考えられる。この肝中期発がん性試験法は、被験物質のプロモーション作用の用量相関性を検索するのに適していることや、少ない量の被験物質でも検索可能であり、低用量での評価も可能であることなど、この検索系は内分泌攪乱物質の発がんリスクを検索する検索系として適していると考えられる。

このラット肝中期発がん性試験法を用いて、現在までに 295 化合物の検索を終了し、そのデータを蓄積している。その結果、肝に発癌標的性を示す物質(hepatocarcinogen) は、92% の陽性率を示し、肝に発癌標的性を示さない物質でも 21% に陽性を示した。さらに、注目すべき点は発がん性を示さない物質は極めて低い陽性率 (2%) しか示さない点で、擬陽性を示す可能性が極めて低いことは検索系としては重要な点であるといえる。また、GST-P 陽性細胞巣を指標とした本試験結果と肝細胞がんを指標とした 2 年の発がん性試験結果とが用量相関性に一致していることを確認している。

すでに検索を終了しているもののなかには多くの環境物質も含まれ、内分泌かく乱物質として報告された化合物も 14 種類含まれており、すでにその結果が出ている。その多くは農薬であり、Alachlor, Aldrin, DDT, Dieldrin, Permethrin, Trifluralin, Vinclozolin などこの検索系で陽性を示したものが多い。特に、DDT, Dieldrin, Trifluralin, Vinclozolin では前がん病変の単位面積当りの個数は比較的高い値を示した。しかし、Atrazine や Benomyl など陽性を示さない農薬も見られた。さらに、農薬以外では PCB の他、Peroxisomal proliferator である DEHP、ホルモン製剤である DES などが検索されており、PCB, DES では陽性を示した。

F. 研究発表

1 論文発表

N. Ito, A Hagiwara, S. Tamano, M. Futacuchi, K. Imaida, and T. Shirai:
Effects of pesticide mixtures at the acceptable daily intake levels on rat carcinogenesis, Food and Chemical Toxicology, 34, 1091-1096, 1996.

R Hasegawa, T Kato, M Hirose, S Takahashi, T Shirai and N Ito:
Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines and low doses in the rat, Food and Chemical Toxicology, 34, 1097-1101, 1996.

Tomoyuki Shirai: A medium-term rat liver bioassay as a rapid *in vivo* test for

carcinogenic potential: A historical review of model development and summary of results from 291 tests, *Toxicologic Pathology*, 25, 453-460, 1997,