

Dodds による合成エストラス効果 化合物の内分泌攪乱作用の定量化

化学構造との関連性の意義

片瀬 隆 雄*

1. 内分泌攪乱作用仮説とエストロゲン

1.1 エストロゲンによる攪乱作用

1992年に、N. E. Skakkebaekらが「過去50年間で精子の質の低下の証拠」があることを報告¹⁾し、その原因の解明の過程で、1993年に、R. M. SharpeとSkakkebaekが「精子数減少や男性器障害がエストロゲンに参与しているか?」という仮説を提唱した²⁾。その提唱の例証と、妊娠中に合成エストロゲンのジエチルスチルベストロール(Diethyl stilbestrol; 以下DESと略記)を服用被曝した女性の子息に類似の障害が発生し³⁾、またこの異常障害は妊娠中にDES投与した実験動物にも誘発されたことを根拠とした。すなわち、胎児の性分化期に、エストロゲンの過剰な被曝によって、本来のホルモン作用が攪乱された結果であるとした。この説に基づく化学物質による内分泌攪乱作用仮説を、エストロゲン(女性ホルモン)による攪乱作用として、主としてDoddsの合成したDESおよびその関連物質に焦点を絞って本稿で論究する。

1.2 ジエチルスチルベストロール(DES)のエストロゲンとしての効果

DESは、一連の合成化合物のなかでエストロゲン活性の最も大きな化合物として、1938年に、E. C. Doddsらによって合成された⁴⁾。1930年代当初からDoddsらの開発したエストラス発

生ホルモンの標準化法に基づくと、DESの効果は1g当たり推定単位として3,000,000とした。一方、天然のエストロジェンの一種であるエストロンはこの尺度で、700,000推定単位となる。現在、エストロンの発情作用は0.1 μ g/国際単位で、エストラジオールは0.05~0.06 μ g/国際単位とされている⁵⁾。DESは合成卵胞ホルモンとして月経不順、更年期障害、不妊症などに用いられた。内服用で1日0.1~0.5mg、皮下または筋注入で1週0.5~2mg投与されている⁶⁾。

1.3 エストロゲンによる攪乱作用の尺度の定義

攪乱作用のメカニズムは、まだ解明されていない。そこで、DESが明らかに攪乱作用を誘発する能力(攪乱能)をもっているとすれば、DESに対して測られたエストラス効果によるエストロン活性度を攪乱能の尺度として数量化するのとは妥当である。すなわちDESが与えたエストラス効果を攪乱作用として考えてみる。1930年代当初からDoddsらの開発したエストラス(発情)ホルモンの標準化法に基づくと、DESの効果は0.0004mgの投与で、100%の実験動物(Wistar系ラット)をエストラスな状態にさせる⁴⁾。DESのこの効果を攪乱能の尺度とすれば、Doddsらが調べた約65種類の合成化合物の攪乱能を数量化できる。ここでは、Doddsの実験動物に100%エストラス効果が誘発されるDESとの投与量で比較する。すなわち、仮想攪乱能比を次の(1)式

$$\text{仮想攪乱能比} = (\text{合成化合物のエストラス誘発投与量} / \text{DESの投与量})^{-1} \quad (1)$$

* Takao Katase 日本大学生物資源科学部 教授 理学博士
Estimation of Endocrine Disrupting Effect on Synthetic-Estrus Substances and Significance in Relation to Chemical Structure

で定義する。

2. Dodds によるエストラス効果測定

2. 1 エストラス効果標準化法

2. 2. 1 テスト動物と動物用飼料

1930年頃から、Doddsらはエストラス効果測定の標準化を試みた⁷⁾。本実験に、Glaxo Laboratoryから得たラット(Wistar系)を用いる。ラットは140gになったとき卵巣切除する。ルーチン・テストに用いるラットには、2週間ごとに注射する。もう一群のコントロールのラットで、数週間が観察されないことを確認しておく。いかなるテスト動物も完全に発情休止状態にもどることを確認する。

ラット体重100g当たり15gの飼料(組成:蛋白質3g, 脂質2g, 糖質10g)をマーガリン, カゼイン, マーミットおよびオートミールを加えたパンおよびミルクで与える。この飼料で、卵巣切除していないメスの定期的な発情と一定の体重を維持させる。

2. 1. 2 エストラス効果測定標準化法⁸⁾

供試化合物の100mgを、3mlのセサミ油に溶解し、実験動物に三日連続(毎朝10:00am)で、各1mlずつ注射投与する。最後の投与の12時間後とその後三日間の朝夕に、エストラス変化が消えるまで膣スメアを採取する。スライド上で採取スメアにそれぞれ一滴の水を加えて、ヘマトクリンとエオシンで固定し観察する。一定の評価法で、全体部の膣上皮角化と完全な白血球欠損を陽性(+)とする。また、いかなる少量であっても、白血球や凝集細胞が存在するなどの陽性に典型的な場合、エストラス効果がないとする。陽性の場合、さらに投与量を少なくしてエストラス効果の消える量を定める。通常、3~5匹の実験動物を用いて判定する。

2. 2 合成化合物のエストラス効果の測定結果と仮想攪乱能比

1930年頃から、Doddsらはエストラス効果測定の標準化を試み^{7,8)}、文献の引用を含めて約55化合物について同効果の有無を整理した⁸⁾。Doddsの実験以前に示されたエストラス効果のない化合物一覧を付表1に示す。その結果にもと

ずき、化学構造との関連を考察し⁹⁾、あらたに65種の化合物についてエストラス効果を測定した^{4, 10-18)}。その結果を表1に示す。エストラジオールとほぼ同程度のエストラス効果を持つDESを合成した。65化合物のエストラス効果測定結果と前項でDESと比較して(1)式で定義した仮想攪乱能比を表1にまとめる¹⁷⁾。

また、実験動物に対して100%以下の発情率の場合、攪乱能比を<印で示す。

3. 化合物の攪乱効果度評価と化学構造との関係

3. 1 Doddsが求めたエストラス効果と化学構造

化合物の化学構造式とエストラス効果検討で、化学物質の生理作用として、発癌作用とエストラス効果が関連していることから、発癌物質の構造式が注目された。表1の結果を考察すると、1,2-ベンツピレンなどの例外を除いて、アントラセンおよびフェナンスレン(以上三環構造)やクリセン(四環構造)などの多くの縮合環芳香族炭化水素類自身にエストラス効果がない。しかし、これらの化合物に酸素(ヒドロキシル基やカルボニル基)が導入されると弱い同効果物質(ケトハイドロフェナンスレン, ベンツアントラセンジオール)となり、さらに(側鎖アルキル基の導入で活性で効果が変動する(C₂およびC₃で増加し、C₆以上で失効)¹⁰⁾。多環を分解する過程で、フェナントレン環がない二環構造のナフタレンであっても、複数個やヒドロキシル基をもつものに同様の効果がある¹¹⁾。単環であっても、複数のフェノール型構造(このなかに、ビスフェノールAがある)にも同様の効果があり、なかでも側鎖エチレン型二重結合を有するスチルベンの活性は強く、ヒドロキシル基を有するスチルベストロールはさらに強い¹²⁾。側鎖エチレン型二重結合の単環炭化水素(不含酸素)類では、スチレンにこの効果はなく、ジフェニルブタジエン(スチレンの二量体の一種)とトリフェルエチレンが、それぞれスチルベンとスチルベストロールの活性と同程度である¹³⁾。ヒドロキシアセトフェノンに活性はないが、ヒドロキシプロピオフェノンで最大で、ヒドロキシブチロキシフェノンにも弱い活性がある¹⁴⁾。この多環芳香族

表1 Doddsらによる合成化合物のエストラ効果実験結果と
仮想攪乱能比 (片瀬, 1998)

合成化合物 (天然エストロゲンを含み)	量 mg	ラット飼料 %	攪乱能比 (DES=1)
N Estrogenic substances in nature			
N-1 estriol			(4) ⁻¹ ?
N-2 estrone			
N-3 equilenin			
N-4 equilene			
N-5 estradiol			1?
S Synthetic estrogenic substances			
S1 1-Keto-1,2,3,4-tetrahydrophenanthrene ¹⁰⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S2 Dialkyl-dibenzanthracene diols¹⁰⁾			
S2-1 dimethyl dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	100	nil	0
S2-2 diethyl dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	1	100	(2500) ⁻¹
S2-3 di-n-propyl dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	1	100	(2500) ⁻¹
S2-4 di-n-butyl dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S2-5 di-n-amyI dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	100	nil	0
S2-6 di-n-hexyl dibenzanthracene diols ¹⁰⁾	100	nil	0
S3 Substances without phenanthrene nucleus¹¹⁾			
S3-1 1,2-dihydroxy-1,2-di-a-naphthyl-acenaphthene ¹¹⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S3-2 1,1-di-a-naphthyl-acenaphthene ¹⁰⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S3-3 triphenyl carbinol ¹⁰⁾			nil
S3-4 a-naphthyl benzoin ¹⁰⁾	100	40	<(250000) ⁻¹
S3-5 diphenyl-a-naphthyl glycol ¹⁰⁾	100	60	<(250000) ⁻¹
S3-6 diphenyl-a-naphthyl carbinol ¹⁰⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4 Dihydroxy-diphenyl methanes¹¹⁾			
S4-1 4,4-dihydroxy-diphenyl methane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-2 di-(p-hydroxyphenyl)dimethyl methane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-3 di-(p-hydroxyphenyl)methyl ethyl methane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-4 di-(p-hydroxyphenyl)methyl propyl methane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-5 di-(4-hydroxy-3-methyl phenyl)dimethyl methane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-6 di-(4-hydroxy-3-methyl phenyl)1,1-cyclohexane ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-7 2,4-dihydroxy-triphenyl methane carboxylic acid lactone ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S4-8 4,4-dihydroxy benzophenone ¹¹⁾	100	60	<(250000) ⁻¹
S4-9 4,4-dihydroxy diphenyl ¹¹⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S5 Simple aromatic substances¹²⁾			
S5-1 4,4-dihydroxy dibenzyl ¹²⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S5-2 4,4-dihydroxy stilbene (stilbestrol) ¹²⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S5-3 4-hydroxy stilbene ¹²⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S5-4 stilbene ¹²⁾	25	100	(62500) ⁻¹
S5-5 4,4-dihydroxytolane ¹²⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S5-6 4,4-dihydroxy diphenyl ether ¹²⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S5-7 4-hydroxy-phenyl cyclohexane ¹²⁾	100	80	<(250000) ⁻¹
S5-8 p-hydroxy phenyl ethyl alcohol ¹²⁾	100	60	<(250000) ⁻¹
S5-9 p-hydroxy propenyl benzene (anol) ¹²⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S5-10 p-propyl phenol ¹²⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S6 Hydrocarbon derivatives of ethylene¹³⁾			
S6-1 styrene ¹³⁾	100	nil	0
S6-2 propenyl benzene ¹³⁾	100	nil	0
S6-3 stilbene ¹³⁾	25	100	(62500) ⁻¹
S6-4 a,a-diphenyl ethylene ¹³⁾	100	nil	0
S6-5 triphenyl ethylene ¹³⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S6-6 tetraphenyl ethylene ¹³⁾	25	nil	0
S6-7 a,b-di-1-naphthyl ethylene ¹³⁾	25	nil	0
S6-8 a-methyl stilbene ¹³⁾	25	nil	0
S6-9 a,r-diphenyl propylene ¹³⁾	25	nil	0
S6-10 f-methyl-a,r-diphenyl propylene ¹³⁾	25	nil	0
S6-11 a,b-diphenyl butadiene ¹³⁾	25	100	(62500) ⁻¹
S7 Certain synthetic compounds¹⁴⁾			
S7-1 4-hydroxy acetophenone ¹⁴⁾	100	nil	0
S7-2 4-hydroxy propiophenone ¹⁴⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S7-3 4-hydroxy butyrophenone ¹⁴⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S7-4 4,4,a,b-tetrahydroxy-a,b-dimethyl diphenyl ethane ¹⁴⁾	100	100	(250000) ⁻¹
S7-5 4,4,a,b-tetrahydroxy-a,b-diethyl diphenyl ethane ¹⁴⁾	0.1	100	(250) ⁻¹
S7-6 4,4,a,b-tetrahydroxy-a,b-di-n-propyl diphenyl ethane ¹⁴⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S7-7 4,4-dihydroxy-a,b-diethyl diphenyl ethane ¹⁴⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S7-8 trans-4,10-dihydroxy-1,2,7,8,13,14-hexahydrochrysene ¹⁴⁾	1	100	(2500) ⁻¹
S7-9 4,4-dihydroxy-a,b-diethyl stilbene (DES) ¹⁴⁾	4x10 ⁻⁴	100	1
S7-10 diacetate of 4,4-dihydroxy-a,b-diethyl stilbene ¹⁴⁾	1x10 ⁻³	100	(3) ⁻¹
S8 Dimerides of anethol and anol¹⁵⁾			
S8-1 dimer of anethole ¹⁵⁾	100	60	<(250000) ⁻¹
S8-2 dimer of acetate of anole ¹⁵⁾	2x10 ⁻¹	100	(500) ⁻¹
S8-3 di-anole ¹⁵⁾	1x10 ⁻¹	100	(250) ⁻¹
S9 Alkylated stilbestrols¹⁶⁾			
S9-1 stilbestrol ¹⁶⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S9-2 ethylstilbestrol ¹⁶⁾	0.1	50	<(250) ⁻¹
S9-3 dimethylstilbestrol ¹⁶⁾	3x10 ⁻²	100	(75) ⁻¹
S9-4 ethyl,methylstilbestrol ¹⁶⁾	1x10 ⁻²	100	(3) ⁻¹
S9-5 diethylstilbestrol (DES) ¹⁶⁾	4x10 ⁻⁴	100	13
S9-6 di-n-propylstilbestrol ¹⁶⁾	0.1	100	(250) ⁻¹
S9-7 di-n-butylstilbestrol ¹⁶⁾	0.1	40	<(250) ⁻¹
S9-8 monohydroxydiethylstilbestrol ¹⁶⁾	1.0	100	(2500) ⁻¹
S10 Dihydroxy-diphenyl alkadienes (R)¹⁷⁾			
S10-1 4,4'-dihydroxy-β,γ-diphenylbutadiene ¹⁷⁾	10	100	(25000) ⁻¹
S10-2 4,4'-dihydroxy-γ,δ-diphenyl-a,β-exadiene ¹⁷⁾	5x10 ⁻⁴	100	1
S10-3 4,4'-dihydroxy-γ,δ-diphenyl-β,δ-octadiene ¹⁷⁾	1x10 ⁻²	100	(25) ⁻¹
S10-4 β,δ-di(4-hydroxyphenyl)-a,δ-diphenylbutadiene ¹⁷⁾	10	nil	0

化合物の単純化の過程で、ヒドロキシフェニルメチルエチレン(4-プロペニルフェノール; アノール)を、天然のエストロゲンの一種のエストロンと同程度のエストラ効果物質としたが、実際にはこの二量体がジエチルスチルベストロール(DES)である^{14,15)}。一連のアルキル化スチルベストロール類のエストラ効果はアルキル基置換で活性が変動する。ジエチル体まで増加し、以後減少し、DESが最大のエストラ効果を示す¹⁾。一方、分子量が増大する二量体過程で、DESと構造異性体の関係にあるanol二量体もDESより弱いかなりの活性をもつ¹⁵⁾。また、一連のヒドロキシフェニルアルカジエンでヘキサジエン体がほぼDESと同程度のエストラ効果を持つことが分かる¹⁾。

3. 2 仮想攪乱能化合物関連図から予想される攪乱物質の化学構造の一般的特性

表1に示した化合物を攪乱能効果度の順に整理し、その一部の分子について系統的に化学構造との関連を図1に示す。本項ではこのエストラ効果を化合物の分子のもつ攪乱作用と仮定して、以下に、分子の化学構造とこの生理作用の関連を考察する。図1のように整理すると、関連化合物の分子をエチレン誘導体としてみる。エチレンにこの作用はないと予想され、そのアリル化そのメチル化誘導体(⇒記号)のスチレンにもこの作用はない。また、そのメチル化誘導体にもない。しかし、さらにヒドロキシル化(↘記号)、二量体化(⇨)およびアリル化された分子は、攪乱作用をもつ。ヒドロキシル化誘導体のプロペニルフェノール(アノール)の側鎖二重結合が水素化されたアルキルフェノールでもこの作用の強さは変わらず、今日的課題となっているビスフェノールAと同程度でDESの25万分の一ある。一方、二量体化(ジヒドロキシフェニルブタジエン)またはアリル化誘導体(スチルベン)は、これより四倍の強さの約6万分の一である。ジフェニルブタジエンやスチルベンがさらに、アルキルされたジヒドロキシフェニルオクタジエンやエチルメチルスチルベンはDESの約25分の一までこの効果が增大する。さらに、前者のオクタジエン化合物はアルキル基の炭素数を減少させ、一方、後者のスチルベン化

量 $M=288$, エストロン($C_{18}H_{22}O_2$)の分子量 $M=270$ である。

3. 3. 1 天然物高等植物由来の C_6C_3 化合物 (DES のモノマー関連構造分子)

化学構造上最も単純な攪乱物質はアノール ($C_8H_{10}O$, $M=184$)で、ビスフェノール A と同程度の効果をもつ。このアノールが二量体になると同効果活性度が1000倍に増大され、この構造異性体の DES になると、さらに1000倍活性度が増大される。すなわち、DES のモノマーの化学構造関連物質も攪乱作用をもつことが推定される。天然にあるアノールのメチルエーテル(anethole)はダイウイキョウ油・アニス油・ウイキョウ油中に含まれる精油の成分である¹⁸⁾。また、アノールの化学構造に類似する一連の化合物群であるヒドロキシ桂皮酸類(4-ヒドロキシ桂皮酸 (*p*-クマル酸)、フェルラ酸およびシナピン酸)は高等植物体内のリグニン合成中間生成物として、また植物体枯死後の分解生成物として水・土壌などの自然環境に広く分布している¹⁹⁾。同様に、そのアルデヒドまたはケトン体およびアルコール体が存在する。すなわち、これらの二量体分子が攪乱作用をもつことが推定される。

3. 3. 2 人工合成化合物プラスチック

図1の仮想攪乱能化合物関連図の最も単純な分子はエチレンである。エチレンにこの効果はないと思われる。汎用プラスチックは、エチレンを出発物質にする。エチレンおよびエチレン関連物質のポリマー生成化学反応過程は攪乱能物質の活性度関連図と類似している。その例がスチレンである。図1によると、スチレンにもこの効果はないが、二量体化あるいはアリル化されたジフェニルブタジエンやスチルベンになると、ビスフェノール A より約4倍強い効果をもつことが推定される。その後、ヒドロキシル化された分子の二量体の活性度は分子量の増大とともに活性度も増大するとみられる。しかし、ある一定以上の分子の大きさになると、逆に活性度が減少する。図1のジヒドロキシジフェニルオクタジエンとジヒドロキシジフェニルヘキサジエンの関係がその例を示している。これから判断すると分子量 M が約250~300の間、スチレンの場合なら三量体が最大効果を示すと推定される。ビスフェノール A

やスチレンのようにプラスチック・モノマーが液体の場合、ポリマー中にこれらのモノマーや二~三量体が残留する傾向が強い。酸素のない化学構造でこの効果をもつのは、二重結合やベンゼン環がその役割をしていることも推定される。ただし、ここで示したスチレン二量体はスチレンモノマーから合成されたものではない。

3. 3. 3 スチルベン・スチルベストロール 関連構造分子

スチルベンやスチルベストロール自身は、DES の効果のそれぞれ、約6万分の一および約3万分の一のエストラス作用をもつ。スチルベストロールが、それぞれジメチルおよびエチルメチル化されるとそれぞれ、25分の一および約3分の一までの大きさに活性度が増大する。さらに、そのジエチル体の DES となってエストラス効果最大を示す。最近の報告によると、蛍光増白剤としてスチルベン関連化合物の4,4'-ビス(2-スルフォチリル)ピフェニル(DSBP)や4,4'-ビス[(4-アニリノ-6-モルフォリノ-1,3,5-トリアジン-2-イル)アミノ]スチルベン-2,2'-ジスルフォネート(DAS 1)が使用されている²⁰⁾。また、天然のブドウの果肉や果皮にスチルベストロール関連化合物の3,5,4'-トリヒドロキシルスチルベン(レスベラトール)が含まれている²¹⁾。

3. 3. 4 エストロン誘導体関連分子

DESはその化学構造類似の天然の女性ホルモンのエストラジオールとほぼ同程度のエストラス効果をもつ。天然にはないが、エストラジオールや類似構造のエストロンから合成された医薬品として、エチニルエストラジオール(卵胞ホルモン)があり、エストラジオールとほぼ同程度のホルモン作用があり、経口避妊薬として使用されている。この他、黄体ホルモン作用としての、エチステロン(エチニルテストステロン)やエチニルノルテストステロン(黄体ホルモン)が使用されている²²⁾。Doddsらの報告に、これらの化合物の実験結果は示されていない。

3. 3. 5 クリセン類似化学構造分子

Doddsはエストラス効果最大化合物のDES合成過程で、DESがエストロンに構造式が類似していることから、クリセン類似化学構造分子のジヒドロキシヘキサヒドロクリセンの効果を測定し

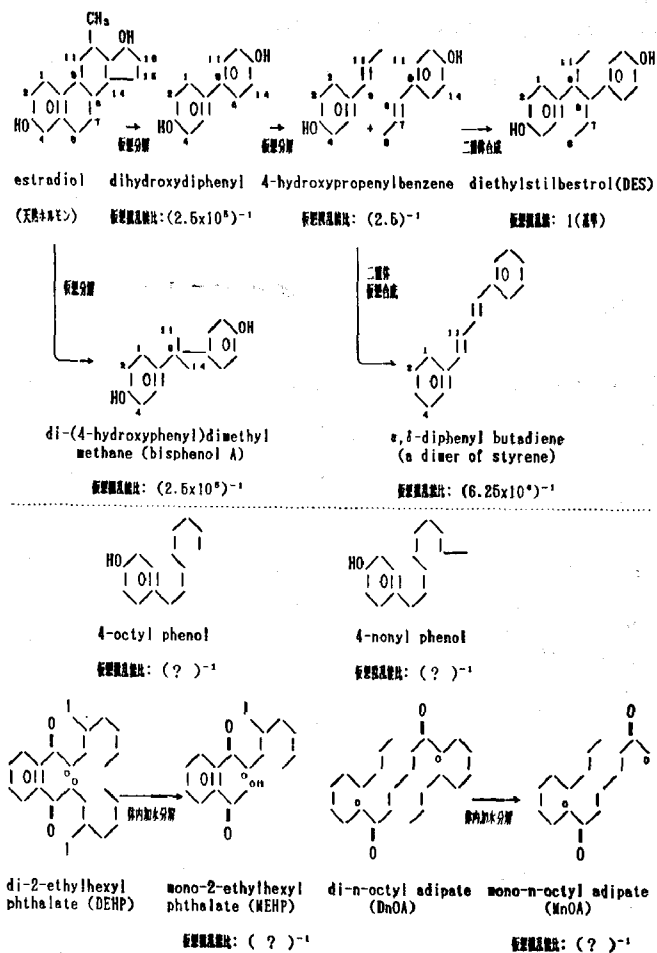


図2 合成化合物の攪乱能と原因を推定する化学構造式 (片瀬, 1998)¹⁷⁾

た。その結果、DESの2500分の一の効果であることから、クリセン構造はエストラス効果に要求される条件でないとしている¹⁴⁾、しかし、この作用でも、ビスフェノールAの効果と比較すれば、その100倍であるから、攪乱作用として考察することは必要である。図2にフタル酸ジ2-エチルヘキシル(DEHP; 分子量 M390)、アジピン酸ジn-オクチル(DnOA; M=370)、アルキルフェノール(オクチル体; M=206、ノニル体; M=220)の構造式の一例を示す。これらの分子内の単結合は基本的に自由回転するから一時的にせよ有りうる構造式である。ただし、立体的障害が明らかとなれば存在しない。DEHPより、その生体内で分解生成するモノ体(MEHP; M=288)の構造式がクリセン構造に近く、分子量も300程度である。同様に、DnOAについても、分解物のMnOAが効果をもつ可能性がある。

フタル酸エステルやアジピン酸エステルの一部の分子に、培養細胞実験によるエストロゲン活性

のあることが報告されている。この文献によれば²³⁾、DEHPの活性はないと示されている。しかし、MEHPは実験されていない。また、この実験で比較的この活性が強いと報告されたフタル酸ジブチル(M=278)、フタル酸ベンジルブチル(M=312)の分子量が300前後であることも興味深い。一方、同様の培養実験²⁴⁾で、DnOAの異性体であるアジピン酸ジ2-エチルヘキシル(DEHA)の活性は陽性である。しかし、DnOAおよびMnOAについて未実験である。ビスフェノールA²⁵⁾やアルキルフェノール²⁶⁾のこの活性は陽性である。

3.4 Dodds 関連化合物と塩素系化合物の位置付け

今日の話題となっているビスフェノールA、アルキルフェノール(ただし、プロピルフェノールやプロペニルフェノール)、スチレン二量体などの攪乱物質の候補者²⁷⁾は、すでに、表1または図1に示したようにDoddsらの実験によって60年以上前にエストラス効果をもつことが分かっている。しかし、前述の候補者になっている塩素系有機化合物についてのデータはない。単なる記載にすぎないが、有機塩素系環境汚染物質をDESとの関連で図3に位置付ける²⁸⁾。

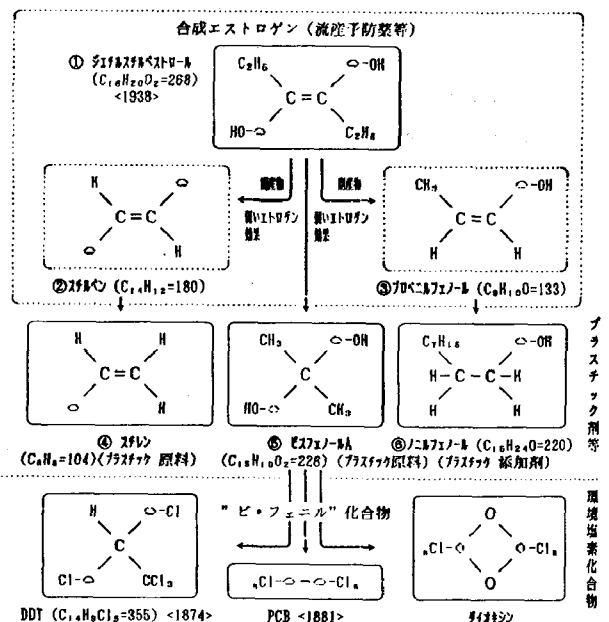


図3 Dodds 関連化合物と塩素系化合物の位置づけ (片瀬, 1998)²⁸⁾

4. これまでに検討した関連課題

4.1 天然化合物, カシンベック病の病因物質;

4-ヒドロキシ桂皮酸類

4-ヒドロキシ桂皮酸類はアノールのカルボキシル基置換体で、分子量 M164(*p*-クマル酸)から M224(シナピン酸)である。攪乱効果に関与すると推測されるフェルラ酸(M194)の二量体のジフェルラ酸が植物体細胞壁等に存在している²⁹⁾、また、微生物で分解されるとスチレンやヒドロキシルスチレン(4-ビニルフェノール)になる³⁰⁾。内分泌障害が起因と考えられ、その原因物質として *p*-クマル酸やフェルラ酸が検討されている。これらの化合物は内分泌耳下腺条部組織を変性し、脛骨骨端軟骨組織に影響を与えることに起因するカシン・ベック病の病因物質と報告されている。本病病毒作用を起こす最小量は、いずれの化合物も 0.001 mM とされ、この量を 1 日 0.5 ml ずつ 10 日間マウスに皮下注射した場合、約 1 μg となる³¹⁾。これまで、筆者はこれらの化合物の分析法を開発し、自然環境とりわけ土壤中の存在量を測定している。また、*p*-クマル酸の二量体が酵素反応によって容易に生成される³²⁾。自然界で、穀物中のこれらの桂皮酸類に関連する化合物が野生動物(ゲツ菌類, *Microtus montanus*)の生殖阻止剤として作用し、自然の繁殖を自ら調整しているとされている³³⁾。フェルラ酸がラット前立腺のアンドロゲン作用を阻止することが報告されている³⁴⁾。本稿の目的の内分泌攪乱に関連するかどうか今後の課題といえる。

4.2 人工化合物, プラスチック添加剤;

フタル酸エステル

プラスチックには多数の化合物の添加が必要である。ヒトの化合物摂取の点で、とりわけ、食品用プラスチックに関心がもたれる。これらに対して、日本の食品衛生法は使用化合物の指定制度を採用していないので化合物数は不明である。しかし、業界の自主規制等の資料によりポジティブリストに 592 種類の化合物が主要物質として記載されている^{28, 35)}。1980 年以前の約 10 年間の可塑剤フタル酸エステルの環境汚染などについて³⁶⁾、また、エストロゲン活性による攪乱物質として指摘

されたフタル酸エステルについて筆者による記載がある³⁷⁾。これらの化合物についても今後の課題といえる。

5. これからの検討課題

5.1 攪乱能の微量被曝の考え方

外来性化学物質による内分泌攪乱作用の問題を、はじめに示したようにエストラス効果物質として考察した。実際に悪影響の起こったジエチルstilベストロールのラットへの作用量と、医薬品としてのヒトへの投与量を考えるとき、今日的課題となっているビスフェノール A などの弱いエストラス効果だけで影響を受けることは考えにくい。この仮説の検討が重要な課題であるとするれば、日常生活にある多数の攪乱作用をもつ化合物の微量被曝による影響を考える必要がある。たとえば、食品添加物・香料・医薬品・製薬・プラスチック製品などである。自然界に存在するものまたは人工的合成であるにかかわらず、例えば本稿に示した Dodds の合成したエストラス効果物質と化学構造との関連の考察から推定される化合物についてあらためて同効果の検討が必要と思われる。無論、すでに指摘された一群の約 70 種類の化合物²⁷⁾や、現在、米国で年間 1 万ポンド(約 4.5 万トン)以上生産されている約 1 万 5 千種の化合物(EPA)³⁸⁾などの検討が重要な試みであることはいうまでもない。

5.2 エストラス効果と培養細胞スクリーニング

現在、推測されている化合物²⁷⁾のうち、ビスフェノール A やアルキルフェノールは培養細胞スクリーニングでエストロゲン活性のあることで攪乱性があると推定されている。これらの化合物(ただし、アルキルフェノールはプロピル体)は Dodds によるエストラス効果も確認されている。したがって、表 1 に示したエストラス効果を有する物質を攪乱物質とすることに妥当性がある。しかし、これらのうち、前項で今後の検討対象となる化合物についてはラットによるエストラス効果と培養細胞スクリーニングの二方法の比較検討が必要である。

付表1 Doddsの実験以前のエストラス効果がないとされた化合物一覽^{*)}

Substance.	Prepared by method of—
3-Hydroxyphenanthrene	Sandqvist (1909).
4-Keto-1:2:3:4-tetrahydrophenanthrene	Haworth (1932).
1-Keto-9-methyl-1:2:3:4-tetrahydrophenanthrene	Haworth and Mavin (1932).
2:4-Diketo-1:2:3:4:9:10:11:12-octahydrophenanthrene	Rabe (1898).
1-Carbethoxy-2:4-diketo-1:2:3:4:9:10:11:12-octahydrophenanthrene	—
4-Keto-7-methyl-1:2:3:4-tetrahydrophenanthrene	Haworth, Letsky, and Mavin (1932).
1-Keto-9-hydroxy-1:2:3:4-tetrahydrophenanthrene	—
Phenanthrene	—
1-Methylphenanthrene	Haworth (1932).
1:2-cyclopentenophenanthrene	Cook and Hewett (1933, b).
Anthracene	Reduction of synthetic anthraquinone.
1:2-Benzanthracene	Reduction of synthetic 1:2-benzanthraquinone.
Retene	—
Fluorene	—
Chrysene	—
2':6-Dimethyl-1:2-benzanthracene	Cook (1932, b).
1:2:5:6-Dibenzanthracene	Clar (1929).
4'-Keto-1':2':3':4'-tetrahydro-1:2-benzopyrene	Cook and Hewett (1933, a).
9:10-Dihydroxy-9:10-dimethyl-9:10-dihydro-1:2:5:6-dibenzanthracene	Cook (1931).
9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-amy-9:10-dihydro-1:2:5:6-dibenzanthracene	—
9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-hexyl-9:10-dihydro-1:2:5:6-dibenzanthracene	—
9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-butyl-9:10-dihydrophenanthrene	—
9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-butyl-9:10-dihydro-1:2-benzanthracene	—
9:10-Dihydroxy-9:10-diethyl-9:10-dihydroanthracene	Clarke (1908).
Cholesterol	—
"Isocholesterol"	—
Hydrocarbon, C ₂₂ H ₃₆ , resulting from pyrolysis of cholesterol chloride	Mauthner and Suida (1896).
6-Cholestanone	Windaus (1920).
Lumisterol	—
Isolumisterol	—
Dehydrocholic acid	Hammarsten (1881).
Pyrooxybilianic acid	Wieland and Kulenkampf (1919).
Ketone, C ₂₂ H ₃₆ O, formed by pyrolysis of deoxybilianic acid	Wieland (1925).
1-Keto-1:2:3:4-tetrahydronaphthalene	Kipping and Hill (1899).
1-Phenylacetyl-Δ ¹ -cyclohexene	Cook and Hewett (1933, b).
1-α-Naphthylacetyl-2-methyl-Δ ¹ -cyclopentene	" "
7:8-Dihydrophenyl-9-spirocyclopentane*	" "
Benzene and pyridine extracts of coal	" "

* Previously erroneously termed *trans*-1:2-cyclopentano-1:2:3:4-tetrahydrophenanthrene.

参考文献

- Carlsen, E., A. Giwerzman, N. Keiding and Skakkebaek, N. E.: *Brit. Med. J.* 35:609-613 (1992)
- Sharpe, R. M., and N. E. Skakkebaek: *Lancet*, 841;1392-1395 (1983)
- Stillman, R. J.: *Am. J. Obstec. Gynecol.*, 142:905-921 (1882)
- Stenchever, M. A. et al.: *Am. J. Obstec. Gynecol.*, 140:186- (1981)
- E. C. Dodds, L. Goldberg, W. Lawson, R. Robinson: *Nature*, 142:34 (1938)
- 化学大辞典①, エストラジオール/エストロンの項, p.876-877 (共立出版) (1960)
- 化学大辞典④, ジエチルスチルベストロールの項, p.89 (共立出版) (1960)
- Allan, H., D. Dickens and E. C. Dodds: *J. Physiol.*, 68:348-382 (1930)
- Cook, J. W., E. C. Dodds, C. L. Hewett and W. Lawson: *Proc. Roy. Soc.*, 114:[B] 272-285 (1934)
- Dodds, E. C.: *Helv. Chim. Acta*, 19:E49-57 (1936)
- Cook, J. W., E. C. Dodds and C. L. Hewett: *Nature*, 131:56-57 (1933)
- Dodds, E. C. and W. Lawson: *Nature*, 137:996 (1986)
- Dodds, E. C. and W. Lawson: *Nature*, 139:627 (1937)
- Dodds, E. C., M. E. H. Fitzgerald and W. Lawson: *Nature*, 140:772 (1937)
- Dodds, E. C., L. Goldberg, W. Lawson and R. Robinson: *Nature*, 141:247-248 (1938)
- Campbell, N. R., E. C. Dodds, W. Lawson: *Nature*, 141:78 (1938)
- Dodds, E. C. and W. Lawson: *Nature*, 140:1068-1069 (1937)
- 片瀬隆雄: 化学と生物, 36:(12) 印刷中 (1998)
- 化学大辞典①: アネトールの項 (p.210) (1960)
- Katase, T., Analytical chemistry of 4-hydroxycinnamic acids and its related compounds (学位論文), pp.119 (1981).
- 林 優子, 高田秀重, 小倉紀雄: 日本地球化学会年会講演要旨集, p.297-298 (1998)
- 岩男由紀子, 和田光弘, 黒田直敬, 中島憲一朗, 谷川美保子: 日本分析化学会第47年会講演要旨集, p.163 (1998)
- 化学大辞典①, エチステロン/エチニルエストラジオール/エチニル/ルテストステロンの各項, p.884-885 (共立出版) (1960)
- Harris, C. A., P. Henttu, M. G. Parker and J. P. Sumpter: *Environ. Health Perspect.*, 105:802-811 (1997)

24) Jobling, S., T. Reynolds, R. White, M.G. Parker and J.P. Sumpter: *Environ. Health Perspect.* 103: 582-587 (1995)

25) Krishnan, A.V., P. Stathis, S.F. Permeth, L. Tokes and D. Feldman: *Endocrinol.* 132: 2279-2286 (1993)

26) Soto, A.M., H. Justica, J.W. Wray and C. Sonnenschein: *Environ. Health Perspect.*, 92: 167-173 (1991)

27) 環境庁研究班: 外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する中間報告書, 表1 (1997)

28) 片瀬隆雄: 食べもの文化, No.252, 46-54 (1998)

29) Hartley, R.D. and E.C. Jones: *Phytochem.*, 15: 1157-1160 (1976)

30) Doodey, A.R. and R.S. Tubb: *Internal. General Microbiol.*, 128: 2615-2620 (1982)

31) 滝沢延次郎: 日本におけるカシンベック病の研究, 緒方書店, 265pp (1970)

32) Katase, T., J-M. Bollag: *Soil Sci.*, 151: 291-296 (1991)

33) Berger, P.J., E.H. Snders, P.D. Gardner, N.C. Negus: *Science*, 185: 575-577 (1977).

34) Saito, T., T. Nohno, H. Yoshida and H. Yokoya: *Expeientia*, 35: 896-889 (1979)

35) 厚生省食品化学課編: 「食品用プラスチック衛生学」, 講談社サイエンティフィック (1980)

36) 片瀬隆雄: 「フタル酸エステルの存在と分析 (1972-1980)」, 論文集, 112pp (1980)

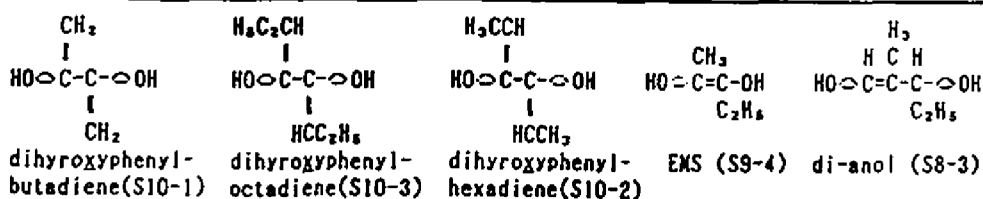
37) 片瀬隆雄: 「化学」, 11月別冊「環境ホルモン & ダイオキシン」, 70-78 (1998)

38) Macilwain, C.: *Nature*, 395: 828 (1988)

化学工業46巻12号 正誤表

頁	行	誤	正
1左	12	その提唱の例証と、	その提唱の例証として、
2左	11	が観察されない-----	異常が観察されない-----
2左	30	陽性に典型的な	陽性に典型的でない
2右	26	さらに(側鎖アルキル基の導入で活性で効果が変動	さらに、側鎖アルキル基の導入で活性で効果が変動
3左	表1	第3列 ラット陽性率	第3列 ラット発癌率
		S4-1 4,4'-dihydroxy-	S4-1 4,4'-dihydroxy-
		S5-9 参考文献番号 ¹⁸⁾	S5-9 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S5-10 参考文献番号 ⁴⁻⁵⁾	S5-10 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S7-9 参考文献番号 ¹⁸⁾	S7-9 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S8 参考文献番号 ¹⁸⁾	S8 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S8-1 参考文献番号 ¹⁸⁾	S8-1 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S8-2 参考文献番号 ¹⁸⁾	S8-2 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S8-3 参考文献番号 ¹⁸⁾	S8-3 参考文献番号 ¹⁸⁾
		S10-2 -exadiene	S10-2 -hexadiene
3右	34	DES の25万分の一ある。	DES の25万分の一である。
3右	38	アルキルされた-----	アルキル化された-----
4	図1	diethylstilbestrol(S10-1)	diethylstilbestrol(S7-9)
4	図1	備考: 化合物----区分を示す。	備考: 化合物----区分を示す。
4	図1	備考: 化学物質--実験はない。	備考: 化学物質--実験はない。
5左	3	天然物-----C ₈ C ₃ 化合物	天然物-----C ₈ C ₃ 化合物
6左	図2	イストラジオール(1200mg)	イストラジオール(1300mg)
		DES の構造式 (C ₈ -C ₃ 結合)	DES の構造式 (C ₈ -C ₃ 結合)
		4-hydroxypropenylbenzene	hydroxypropenylbenzene(4位)
		仮想攪乱能比(2.5) ⁻¹	仮想攪乱能比(2.5x10 ⁸) ⁻¹
		----測定している。--	----測定している ¹⁸⁾ 。
7左	21	-----今日の課題	-----今日の課題
7右	10	-----医薬品, 製薬, ----	-----医薬品, 農薬, ----
7右	16	3) Stillman---(1882)	3) Stillman---(1982)
8左	表数	11) Dodds----- (1986)	11) Dodds----- (1936)
8左	表数	16) Dodds-- Nature, 140:	16) Dodds-- Nature, 139: 8)
8右	表数	17) --化学と生, 36: (12)脚中(1978)	17) --化学と生, 36: 768-770(1978)

4 (図1の構造式の訂正)



片瀬隆雄: Dodds による合成エストラス効果化合物の内分泌攪乱作用の定量化 (p1-9)