

28日間反復投与試験等に関する調査研究

(OECD テストガイドライン国際共同バリデーションプロジェクト)

子宮重量等を指標とした生体試験による相加相乗効果の検討

分担研究者 菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所・毒性部・室長

研究要旨

内分泌かく乱化学物質は、その環境化学物質としての性格上、複合暴露の影響が一つの問題として常に検討対象となってきた。しかし、複合作用に関する研究は *in vitro* 試験系によるものがほとんどであるとともに、系統立った比較検討がなされたプロジェクトはほとんどない。本研究では、一世代試験を頂点に、子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験を用いて、内分泌かく乱作用が実験的に知られている代表的な化合物について、その複合作用を検討した。その組み合わせは、それらが結合することが想定される、あるいは知られている核内受容体毎になされた。使用する化学物質の単一ロットの確保、必要なものについては新規合成、あるいは調達に予想を上回る時間を要したため、全体的に実験開始の遅延が生じ、現段階では一部の子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験からの preliminary data を得ている段階である。

A. 研究目的

内分泌かく乱化学物質は、その環境化学物質としての性格上、複合暴露の影響が一つの問題として常に検討対象となってきた。しかし、複合作用に関する研究は *in vitro* 試験系によるものがほとんどであるとともに、系統立った比較検討がなされたプロジェクトはほとんどない。

本研究では、一世代試験を頂点に、子宮肥大試験およびハーシュバーガー試験を用いて、内分泌かく乱作用が実験的に知られている代表的な化合物について、その複合作用を検討することを目的とする。

B. 研究方法

子宮肥大試験は、卵巣摘出成熟雌ラットを用いた14日間皮下投与実験法および21日齢未熟雌ラットを用いた3日間皮下投与実験法、去勢成熟雄ラットを用いた14日間皮下投与ハーシュバーガー試験法、および一世代繁殖試験法を用い、複合投与による影響を検討する。前3者

は、単体2用量、複合2用量および対照群の7群構成であり、後者の一世代試験は単体1用量、複合1用量および対照群の4群構成で行った。

検討する物質の組み合わせは、エストロゲン受容体を介するもの同士、エストロゲン受容体を介するものとペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体 (PPAR) を介すると思われるものの組み合わせ、エストロゲン受容体を介するものとダイオキシン受容体を介するものの組み合わせ (子宮肥大試験および一世代試験)、エストロゲン受容体を介するものとアンドロゲン受容体を介するものの組み合わせ (ハーシュバーガー試験) とした。

これら4種の試験法において、結合するであろう受容体毎に estradiol, bisphenol A, genistein, diethylstilbestrol, butylbenzylphthalate, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin, testosterone, vinclozolin, p,p'-ジクロロジフェニルジクロロエチレン (p,p'-DDE), flutamide.

の化合物を適宜組み合わせ、その複合作用を

検討した。

C. 研究結果

上記の理由により、現在、一部の子宮肥大試験、およびハーシュバーガー試験の生データを徐々に得ている段階である。限定的な判断であるが、試験系の違いにより反応の差異、相加的、相乗的あるいは相殺的な作用が示唆される結果が集積されつつある。

D. 考察

現在までのところ、*in vivo*による複合投与の報告を散見するが、組織立って、網羅的になおかつ、受容体別に組み合わせを設定したものは例を見ない。また、用量設定の点からも、組み合わせられる物質の双方が飽和濃度以下に設定された実験はほとんどない。本研究の結果が出揃った暁には、複合投与による影響の全容のある程度の部分が科学的考察を持って解明されるものと期待される。

E. 結論

すべての実験で用いる化合物のロットの統一を含め、新規合成を待たねばならなかった化合物があったことなどにより計画の開始が遅れたため、結果の全容の解析には、時間を要する結果となったのは遺憾であるが、preliminary dataにも、すでに興味深い事象が現れており、今後のデータ集積とその解析が大いに期待されるものである。この結果は、環境化学物質の特性としての内分泌かく乱化学物質の複合作用に関して有用な情報を提供するものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

菅野 純、相賀 裕美子、井上 達 化学物質の生物毒性試験 -内分泌障害性を中心に- 組織培養工学 24 H10年7月

菅野 純 内分泌攪乱化学物質について-生物学的立場から- 有機合成化学協会誌 57(1) H11年1月

菅野 純 内分泌かく乱化学物質の生物影響
ファルマシア 35 H11年3月

2. 学会発表

井上達、菅野純 内分泌障害性化学物質 (endocrine disruptors) の検出の為の新しい試み。第14回日本毒性病理学会 H10年2月

菅野 純 エンドクリン問題の最近の動向。ポリオレフィン等衛生協議会安全性セミナー H10年3月

井上 達、菅野 純 内分泌攪乱物質とは何か。内分泌攪乱物質をめぐる生活と食の安全についての国際シンポジウム H10年6月

菅野 純 内分泌攪乱化学物質について-生物学的立場から- 第169回有機合成化学協会懇談会 H10年7月

井上 達、菅野 純 エンドクリン問題の最近の動向 ポリ衛協会報 3 H10年8月

菅野 純 内分泌かく乱化学物質について平成10年度化工誌ニュース委員会第1回研究会 H10年10月

菅野 純 内分泌攪乱化学物質について-生物学的立場から-学術情報センター軽井沢公開ワークショップ パネルディスカッション H10年10月

宮城恵理、松島裕子、平林容子、井上 達、菅野 純 内分泌かく乱化学物質 (Xenoestrogen) 高感度検出系としての卵巣摘出マウスのエストロゲン反応性の経時変化 第15回日本疾患モデル学会 H10年11月

菅野 純 動物の生態と内分泌攪乱物質(環境ホルモン)についてパネルディスカッション
第 25 回環境保全・公害防止研究発表会 H10
年 11 月

菅野 純、Kyung-Sun Kang、武木田薫、宮城恵理、斉藤 実、松島裕子、山本雅也、平林容子、金子豊蔵、井上 達 内分泌かく乱化学物質における *in vitro* 試験系の *in vivo* 試験に対する代替性 第 12 回日本動物実験代替法学会
H10 年 11 月

菅野 純 内分泌攪乱化学物質について 第 9
回安科研学術講演会 H10 年 12 月

菅野 純、山本雅也、松島裕子、西岡暢彦、宮城恵理、Byung-Il Yoon 内分泌かく乱物質の短期 *in vivo* 試験系について 日本内分泌攪乱化学物質学会第 1 回研究会 H10 年 12 月

小野 敦、山本雅也、高木敦也、菅野 純、井上 達 Molecular mechanism of endocrine disrupting chemicals (EDCs) (Celebrating the 10th Anniversary of the AACR Special Conferences in Cancer Research) H11 年 1 月

菅野 純 内分泌かく乱化学物質について 第 26 回建築物環境衛生管理全国大会 H11 年 1 月