

雄生殖器系に及ぼす影響

分担研究者 白井 智之 名古屋市立大学医学部教授

研究要旨

本研究では内分泌かく乱作用が疑われている女性ホルモン様作用を持つビスフェノール A の雄性生殖器とくに前立腺の形態発生、分化および腫瘍発生に対する影響を感受性の高い胎児・乳児期への影響をみるために、F344 妊娠ラット妊娠 0 日から離乳までビスフェノール A を 0, 7.5 および 120 mg/kg/day の投与量で毎日強制経口投与した。母獣動物の妊娠期間、出産児数および死産児数のいずれにおいても影響はなかった。10 週齢児の精巣の精子数が 120 mg/kg 投与群で有意に低値を示した。精子形態異常の発現および精子運動率に有意な差は認められなかった。前立腺発がん物質と DNA の付加体形成には免疫染色上明らかな変化はなかった。現在、細胞増殖活性とアポトーシスについては検討中である。現在ビスフェノール A の最大投与量を 120mg/kg./day として 5 段階濃度で胎内・授乳期曝露し、前立腺発がんへの影響を 60 週間の DMAB 発がんモデルを用いて検討中である。

A. 研究の目的

近年、環境中に存在する内分泌かく乱化学物質が、野生ならびに海生動物などの生態に影響を与えていることが指摘されている。また、ヒトにおいても女性生殖器、男性生殖器、甲状腺、視床下部・下垂体等への影響が懸念されている。しかし、環境中の内分泌かく乱作用が指摘されている化学物質の胎児期、乳児期曝露により、出生児が成長したのちに、学習・精神障害、発がん、生殖機能の異常などが発現する可能性

がある。本研究では内分泌かく乱作用が疑われている女性ホルモン様作用を持つビスフェノール A の雄性生殖器とくに前立腺の形態発生、分化および腫瘍発生に対する影響を感受性の高い胎児・乳児期のラットに投与して、実験的に追究することにある。

B. 研究方法

2つの実験からなる。1) 11 週齢 F344 ラットを交配させ、交尾を確認した雌動物に妊娠 0 日から離乳までビスフェノール A

を 0, 7.5 および 120 mg/kg/day の投与量で毎日強制経口投与した。分娩時、出生児数を確認し、生後 4 日に 1 腹 8 匹になるように淘汰した。児動物は生後 22 日に離乳させ、離乳 2 日、7 日および 10 週後に屠殺剖検し、生殖器系の器官重量、BrdU 標識率、アポトーシスについて検討するとともに前立腺発がん物質である DMAB と PhIP の前立腺上皮細胞 DNA との付加体形成についても検討した。また 10 週後屠殺時には精子検査も実施した。2) 予備実験の結果を踏まえて長期間の前立腺、精囊に対するビスフェノール A の発がん修飾作用を 60 週間の DMAB 発がんモデルを用いて検討する。ビスフェノール A の投与濃度は 0.006, 7.5, 30 および 120 mg/kg/day とする。

(倫理面への配慮)

動物実験は本大学の動物委員会の承諾を得て、動物愛護に則ったプロトコールに従って行った。

C. 研究結果

妊娠および授乳期間中の母獣動物の体重および飼料摂取量に有意な差は認められなかった。児動物の離乳後の体重変化で有意な差はなかったが、離乳 10 週後の児動物の 7.5 mg/kg 投与群で前立腺背側葉の相対重量が有意な高値を示した。母獣動物の妊娠期間、出産児数および死産児数のいずれにおいても群間に有意な差は認められなかった。精子検査においては、精巢の精子数が 120 mg/kg 投与群で有意に低値を示した。

精子形態異常の発現および精子運動率に有意な差は認められなかった。DMAB および PhIP-DNA 付加体形成については免疫染色上明らかな差はなかった。現在、細胞増殖活性とアポトーシスについては検討中である。

D. 考察

前立腺など雄性副生殖器には形態学的変化は認めなかったものの、離乳 10 週後の精子検査において精子数の有意な減少があった。最高濃度での変化であるが、追試が必要と考えられる。次年度はビスフェノール A 前処置された動物の前立腺発がん物質への感受性を前立腺の異型過形成および癌の発生を指標とした実験によって追究する。

E. 結論

F344 ラットの妊娠期及び授乳期にビスフェノール A を投与したところ、妊娠期間、出産児数および死産児数のいずれに対しても影響なく、また出生児においても前立腺には著変は認められなかった。ただし最高濃度では精子数に有意な減少をみとめた。この結果から長期発がん実験にはビスフェノール A の最高濃度は 120mg/kg/day と結論づけた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Iwasaki, S., Kato, K., Mori, T., Takahashi, S., Futakuchi, M., and Shirai, T.: Development of

androgen-independent carcinomas from androgen-dependent preneoplastic lesions in the male accessory sex organs of rats treated with 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl and testosterone propionate. *Jpn. J. Cancer Res.* 90: 23-30, 1999.

Shirai, T.: Commentary: Oncosis and apoptosis: Two faces of necrosis in a new proposal to clear up the confusion regarding cell death. *Toxicol. Pathol.* 27: 495-496, 1999.

Shirai, T., Cui, L., Takahashi, S., Futakuchi, M., Asamoto, M., Kato, K., and Ito, N.: Carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in the rat prostate and induction of invasive carcinomas by subsequent treatment with testosterone propionate. *Cancer Lett.* 143: 217-221, 1999.

Hirose, M., Takahashi, S., Ogawa, K., Futakuchi, M., Shirai, T., Shibutani, M., Uneyama, C., Toyoda, K., and Iwata, H.: Chemoprevention of heterocyclic amine-induced carcinogenesis by phenolic compounds in rats. *Cancer Lett.* 143: 173-178, 1999.

Hirose, M., Fukushima, S., Imaida, K., Ito, N., and Shirai, T.: Modifying effects of phytic acid and γ -oryzanol on the promotion stage of

rat carcinogenesis. *Anticancer Res.* 19: 3665-3670, 1999.

Hirose, M., Takahashi, S., Ogawa, K., Futakuchi, M., and Shirai, T.: Phenolics: Blocking agents for heterocyclic amine-induced carcinogenesis. *Fd. Chem. Toxic.* 37: 985-992, 1999.

Kawabe, M., Lin, C., Kimoto, N., Sano, M., Hirose, M., Shirai, T.: Modifying effects of propolis on 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx)-promotion of rat hepatocarcinogenesis and in a female rat 2-stage carcinogenesis model after multiple carcinogen initiation. *Nutrition and Cancer*, in press.

2. 学会発表

澤村文子, 佐野真士, 田中 光, 高橋 智, 二口 充, 白井智之, DMAB ラット前立腺癌発生に対する PhIP による促進作用の検討, 平成 11 年 1 月, 水戸

崔 林, 二口 充, 今井田克己, 佐野真士, 加藤浩司, 白井智之, DMAB 誘発ラット前立腺癌に対する植物由来女性ホルモン活性物質 genistin/genistein および daidzin/daidzein の抑制物質, 平成 11 年 1 月, 水戸

加藤浩司, 高橋 智, 今井田克己, 崔 林, 曹 永晩, 二口 充, 白井智之, 加熱分解

産物 PhIP によるラット前立腺癌の発生と大量テストステロンの促進作用, 平成 11 年 1 月, 水戸

Mitsuru Futakuchi, Koji Kato, Lin Cui, Satoru Takahashi, Satoshi Sugiura, Toshiya Toda and Tomoyuki Shirai, Suppressive effects of dietary genistein and daidzein on rat prostate carcinogenesis, 第 10 回前立腺癌ワークショップ, 平成 11 年 9 月, 東京

加藤浩司, 池田佳久, 朝元誠人, 高橋 智, 今井田克己, 村越倫明, 大嶋俊二, 西野輔翼, 白井智之, DMAB 誘発ラット前立腺癌に対する lycopene および curcumin の用量依存的効果の検討, 平成 11 年 9 月, 広島

加藤俊男, 玉野静光, 二口 充, 萩原昭裕, 朝元誠人, 河部真弓, 広瀬雅雄, 白井智之, DMAB ラット前立腺癌に testosterone と estrogen のによる発癌修飾作用の検討, 平成 11 年 9 月, 広島

朝元誠人, 高橋 智, 池田佳久, 加藤浩司, 崔 林, 外岩戸尚美, 白井智之, PhIP による発癌作用の用量相関性と高脂肪食の影響, 平成 11 年 9 月, 広島

G. 知的所有権の取得状況

なし