

**セッション3： 化学物質の内分泌かく乱作用に関する取組と  
今後の展望について**

**Session 3: Endocrine disrupting Effects of Chemicals: Initiatives  
and Prospect**

**ヒト・実験動物における化学物質の  
内分泌かく乱作用に関する最近の話題**

**Recent topics in research on endocrine disrupting effects  
of chemicals on humans and lab animals**

**遠山 千春**

**TOHYAMA Chiharu, Ph.D., D. Med.Sci.**

**東京大学医学系研究科 疾患生命工学センター**

**健康環境医工学部門**

**Lab. Environ. Health Sci., Center for Disease Biology/ Integrated Medicine,  
Graduate School of Medicine, The University of Tokyo**

## **本日の話題 Today's Topics**

### **ヒト・実験動物における化学物質の 内分泌かく乱作用に関する最近の話題**

**Recent topics in research on endocrine disrupting effects  
of chemicals on humans and lab animals**

**1. 内分泌かく乱化学物質(「環境ホルモン」)問題を代表する物質、  
Bisphenol Aのリスク評価と管理を巡る最近の問題**

**Recent issues on risk assessment/management of bisphenol A,  
a representative endocrine disrupting chemical ('environmental  
hormone')**

**2. 内分泌かく乱化学物質を含む化学物質の健康リスク評価に関  
する最新の研究動向**

**A new perspective of research on health risk assessment of  
chemicals, including EDCs**





沈黙の春  
レイチェル・カーソン

よくわかる 環境ホルモン学  
岡田隆雄

環境ホルモンの問題  
立花隆

日本発 環境ホルモン報告  
山本猛嗣

環境ホルモンと日本の危機  
小島正美

生命と環境 21  
環境ホルモン緊急対策  
立川

よくわかるダイオキシン汚染  
北野大

ダイオキシンゼロへの新たな道  
浅井敏雄

環境ホルモンの元凶は除草剤だった  
浅井敏雄

化学物質過敏症ってどんな病気  
浅井敏雄

お役所からダイオキシン  
浅井敏雄

Our Stolen Future  
THOMAS COLORED, ROBERT SODEN, JOHN RITSON

奪われし未来  
浅井敏雄

環境ホルモンに挑む  
浅井敏雄

検証・ダイオキシン汚染  
危機と対策  
浅井敏雄

環境ホルモンの恐怖  
浅井敏雄

「環境ホルモン」安全生活読本  
浅井敏雄

環境ホルモンって何だろう  
浅井敏雄

環境問題としてのダイオキシン  
伊藤幸治

図解 環境ホルモンを正しく知る本  
吉田昌史

環境ホルモンとは何か  
緊急出版

環境ホルモンとは何かⅡ  
緊急出版

毒物ダイオキシン  
緊急出版

ダイオキシン汚染のすべて  
緊急出版

有害化学物質をコントロールするか  
どうコントロールするか  
PAPs, POPs, PCB, PCP, PVC, ショレックス  
60

わが家がいま  
ダイオキシンの正体  
の危ない  
アフリカの1000の子ども

ホルモン  
どこまで  
第一線研究

環境ホルモン  
おなたの家

環境ホルモン  
おなたの家

環境ホルモン  
おなたの家

環境ホルモン  
おなたの家

環境ホルモン  
おなたの家

環境ホルモン  
おなたの家



# Tolerable Daily Intake Levels in Japan, USA and Europe

## 日米欧における耐容一日摂取量

### TDI 設定に用いられた主な報告 Studies Used for TDI Setting

#### ➤一般毒性 Systemic Toxicity

肝毒性 Liver toxicity

肝細胞の多核巨細胞化

体重増加の抑制 Suppression of body weight gain

#### ➤発がん性 Carcinogenicity

ヒトと動物ともに観察されない

#### ➤生殖発生毒性 Reproductive / Developmental Toxicity

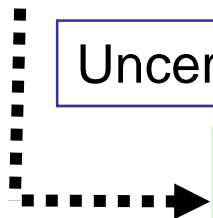
卵巣重量減少 Decrease in ovary weight、

全仔数と生存仔数の減少 Decrease in number of offspring

体重増加抑制（3世代繁殖試験） Suppression of BW gain (3-gen. test)

**NOAEL (5 – 50 mg/kg bw/day)**

Uncertainty Factors（不確実係数）



**耐容一日摂取量 (TDI): 0.05 mg/kg bw/ day**

# Positive and Negative Findings on Endocrine Effects of Bisphenol A Reported from Different Laboratories

Presented by C. Tohyama at the International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors, Yokohama, 2000

## Positive Findings (LOAEL, 2.4 µg/kg b.w./day or over)

Mouse (Offspring)	Prostate Weight	Nagel et al., 1997
Mouse (Offspring)	Daily Sperm Production	vom Saal et al., 1998
Mouse (Offspring)	Puberty	Howdeshell et al., 1999
Mouse (Offspring)	BW Vaginal opening and puberty	Honma and Iguchi, 2000
Mouse (Suckling)	Histology of uterus and vagina	Fukumori et al., 2000
Rat (Offspring)	Testis Weight	Sharpe et al., 1998
Rat (Adult)	DSP & DSP Efficiency	Ohsako et al., 1999
Rat (Suckling)	Testis Weight	Tayama et al., 2000
Rat (Offspring)	Behavior and locus coeruleus size	Kubo et al., 2000

## Negative Findings

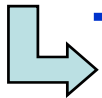
Mouse (Offspring)	Sex organ Wt; Sperm count	Cagen et al., 1999
Mouse (Offspring)	Prostate Wt, DSP	Ashby et al., 1999
Rat (Offspring)	Male sexual development	Cagen et al., 1999
Rat (Offspring)	3-Generation study	Tyl et al., 2000
Rat (Offspring)	2-Generation study	Ema and Kanno, 2000

## ビスフェノールAの健康リスク評価と管理に関する動向 (1) The Current Situation of Risk Assessment /Management on Bisphenol A (1)

### Government of Canada (April, 2008) カナダ政府

\* The neurodevelopment and behavioral dataset in rodents, though highly uncertain, is suggestive of potential effects at doses at the same order of magnitude or 1-2 order of magnitude higher than exposures.

実験動物への影響は不確かだが、ヒトの曝露量に近いレベルで神経発達や行動に影響が出る可能性を示唆



According to the precautionary measures, import, selling and advertisement of polycarbonate baby bottles are to be banned.

予防的措置に従い、ポリカーボネート性のほ乳瓶の輸入、販売、使用を禁止へ

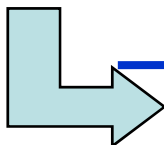
## ビスフェノールAの健康リスク評価と対策に関する動向(2)

The Current Situation of Risk Assessment/ Management on Bisphenol A (2)

**May, 2008: Nat'l Inst. Health Sci. (国立医薬品食品衛生研究所)**

妊娠ラットへの低用量 (0.005 mg/kg bw) の BPA の投与により、雌の仔ラットが成育後に性周期の異常が出現

Pregnant rats were administered bisphenol A, at a dose of 0.005 mg/kg b.w./day, from gestation days 6-20 disrupted estrous cycle of the female offspring.



**July, 2008: The Ministry of Health, Labour and Welfare made a consultation to the Food Safety Commission for risk assessment of bisphenol A (Under discussion)**

厚生労働省は、内閣府食品安全委員会にリスク評価を諮問  
(現在検討中)

## ビスフェノールA の健康リスク評価と管理に関する動向 (3)

The Current Situation of Risk Assessment /Management on Bisphenol A (3)

**European Food Safety Agency (EFSA) (July, 2008) 欧州食品安全庁**

**US Food Drug Administration (Draft) (August, 2008) 米国食品医薬品局**

➤ 現行のTDIで十分に安全を確保 The current TDI (0.05 mg/ kg bw / day) has ample margin of safety for consumers.

### US FDA (Draft)

- 2世代/3世代繁殖試験の2つの研究に重き。Priority to the two reports of 2- or 3-generation reproductive test using rats and mice to derive the TDI.
- 次世代の仔動物の生殖器官と神経発達や行動変化に関する研究を除外  
Exclusion of papers showing the effects of bisphenol A on the development of the prostate and brain and the alteration of behavior of offspring



**Inappropriate application of the adoption / exclusion criteria to reference papers. 論文の採用・除外規準の不適切な適用**



## 参照論文の採用・除外の規準 (1)

### Criteria for Adoption/Exclusion of Research Papers (1)

FDA草案が、仔動物の生殖器官と神経発達、行動へのビスフェノールAの影響の論文を除外した際に用いられた主なポイント

In FDA draft report, the criteria below were used to exclude many papers that show effects of reproductive and neural development and behavior of offspring.

---

**Good Laboratory Practice (GLP)** 「優良試験所基準」

**Positive Control** (陽性対照)

**Size of Experiments** (実験の規模)

## 参照論文の採用・除外の規準（２）

### Criteria for Adoption/Exclusion of Research Papers (2)

**GLP**：分析機器やデータ取り扱いについて、一定の保証を与えるもの。一流術雑誌に発表された毒性学論文のほとんどは、GLPに依拠していない。

**GLP** only assures minimal credibility on the maintenance of analytical apparatuses and the collection and handling of data. Nearly no toxicology papers published in high-quality journals are based on GLP.

---

**陽性対照**：試験系が正しく動いていることを確認するためのコントロール。陽性結果が出ているときには、必ずしも必要ではない。

**Positive control** is used to given test system works properly. It is not always essential under the condition verify that a that a test chemical shows a positive effect.

---

**実験の規模**：生物を対象とした実験では、数が多ければ信頼性が担保されるということにはならない。

**Size of Experiments**: Too many animals and specimens spoil the quality of research.

# Comments on Positive / Negative Findings on Endocrine Effects of Bisphenol A from Different Laboratories

Presented by C. Tohyama at the International Symposium on Environmental Endocrine Disrupters, Yokohama, 16-18 December 2000

➤ Nearly all the positive findings on low-dose BPA findings were reported by relatively small-scale experiments under flexible conditions while almost all the negative observations were obtained by large-scale formatted-toxicity tests.

低用量影響があるとのポジティブなデータは、柔軟な条件のもとで小規模な実験からの報告。

---

➤ Since we are targeting to clarify the presence or absence of “low-dose” subtle effects and no established endpoints are available for EDCs, **research-oriented studies** are needed to solve the low-dose issue not only for BPA but for other possible EDCs.

**研究指向性の試験**が内分泌かく乱化学物質の低用量問題の解明に必要

# **Scientific Peer-Review of the Draft Assessment of Bisphenol A for Use in Food Contact Applications**

**ビスフェノールAに関するFDAの小委員会報告書内容 (Oct 31, 2008)**

## **Summary**

**(omission)**

**The draft lacks a clear description of the criteria for eliminating an increasing number of non-GLP studies that indicate the possibility of toxic effects that are not mediated by interaction of BPA with the estrogen receptor, and the Subcommittee does not agree with the exclusion of the non-GLP studies in the safety assessment**

**(omission)**

**FDA報告草案ではnon-GLPの研究論文を不採用の規準が不明確であり、それらを適切にリスク評価に用いることを要求**



## ビスフェノールAの胎児期曝露による影響の最新の研究

### ➤エピジェネティック制御による形質変化

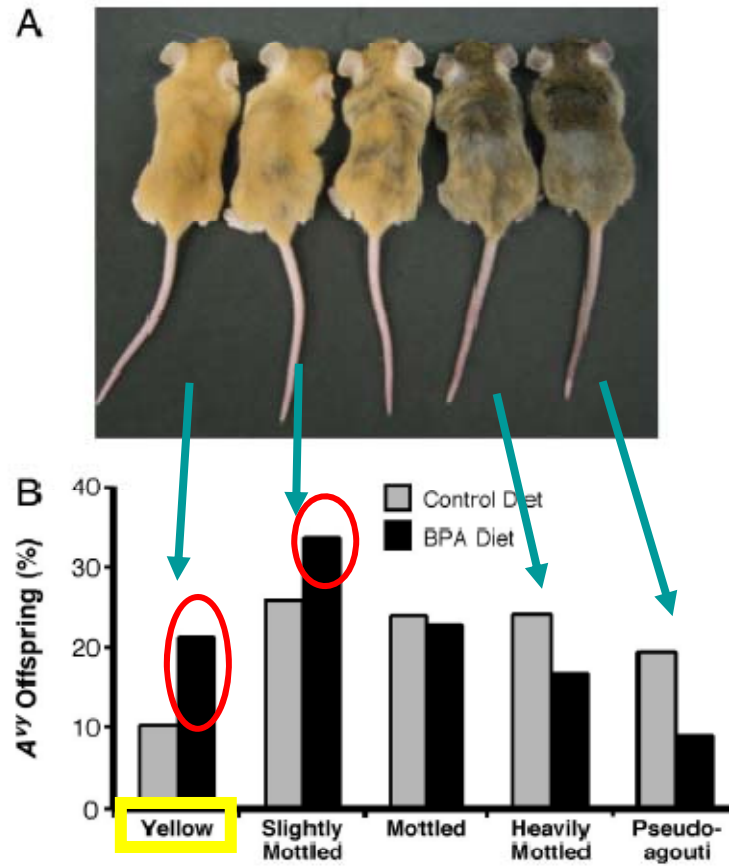
(Alteration of phenotype by epigenetic modifications)

遺伝子の塩基配列に変化をもたらさず、エピジェネティックな修飾（DNAのメチル化/脱メチル化やヒストンの脱アセチル化/脱アセチル化）を介して、遺伝子発現が影響を受け、様々な形質が変化すること。 No alterations in the genome sequence, but with modifications, such as DNA methylation status and histone acetylation status to affect phenotype

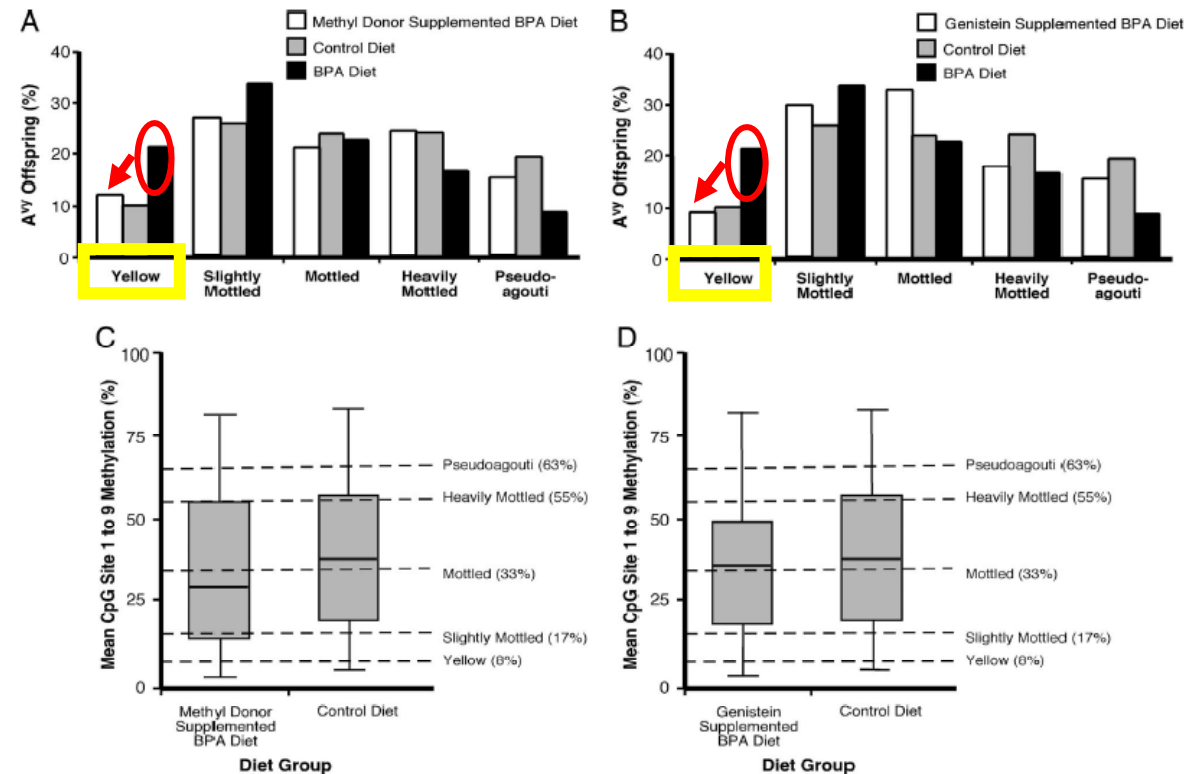
### ➤神経発達毒性 (Neuro-developmental toxicity)

# Maternal Nutrient Supplementation Counteracts BPA-induced DNA Hypomethylation In Early Development Dolinoy et al., PNAS, 104: 13056-13061 (2007)

遺伝子の低メチル化によって毛色が褐色 (Agouti) から黄色に変わる系統のマウスの実験。BPA摂食した母親から生まれた仔では、毛色が黄色になる割合が増加し、BPA による低メチル化を抑えると毛色変化は抑制された。



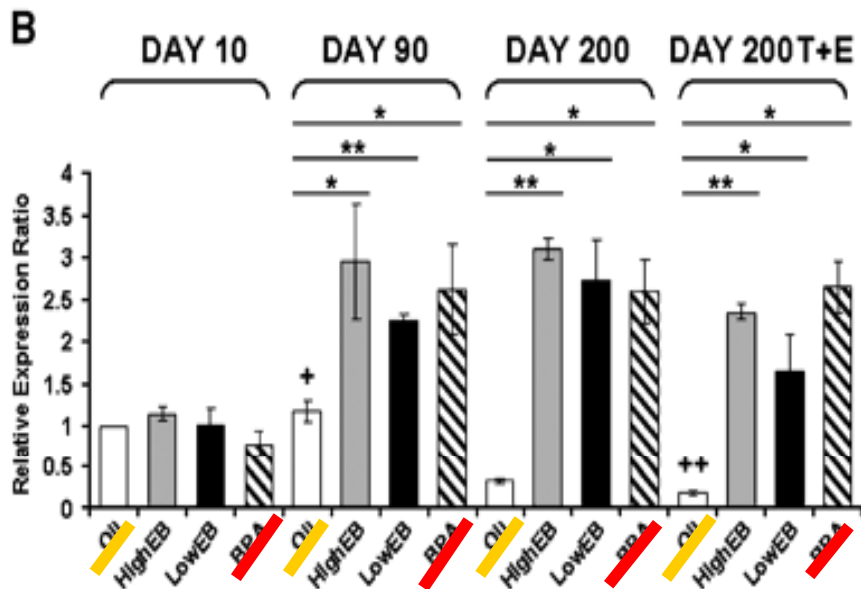
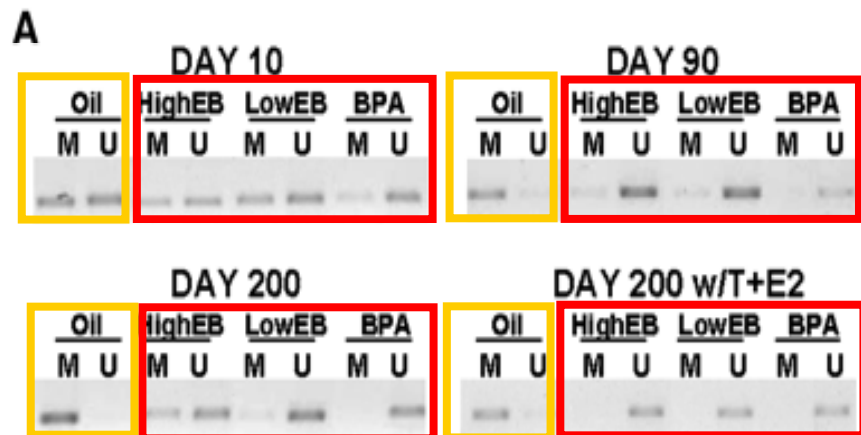
**Fig. 1.** Maternal BPA exposure shifts offspring coat color distribution toward yellow. (A) Genetically identical  $A^y/a$  offspring representing the five coat color phenotypes. (B) Coat color distribution of  $A^y/a$  offspring born to 16 control ( $n = 60$ ) and 17 BPA-exposed ( $n = 73$ ) litters (50-mg BPA/kg diet).



**Fig. 4.** Maternal nutritional supplementation counteracts BPA-induced DNA hypomethylation and the shift in coat color distribution to yellow. (A) Coat color distribution of  $A^y/a$  offspring born to 14 BPA-exposed/methyl donor-supplemented mothers ( $n = 54$ ), 16 control mothers ( $n = 60$ ), and 17 BPA-exposed mothers ( $n = 73$ ). (B) Coat color distribution of  $A^y/a$  offspring born to 13 BPA-exposed/genistein-supplemented mothers ( $n = 39$ ), 16 control mothers ( $n = 60$ ), and 17 BPA-exposed mothers ( $n = 73$ ). (C) Box plots representing the percentage of cells methylated at CpG sites 1–9 in BPA-exposed/methyl donor-supplemented ( $n = 54$ ) and control ( $n = 60$ ) offspring ( $P = 0.25$ ). (D) Box plots representing the percentage of cells methylated at CpG sites 1–9 in BPA-exposed/genistein-supplemented ( $n = 39$ ) and control ( $n = 60$ ) offspring ( $P = 0.46$ ).

# Developmental Exposure to Estradiol and Bisphenol A Increases Susceptibility to Prostate Carcinogenesis and Epigenetically Regulates Phosphodiesterase Type 4 Variant 4

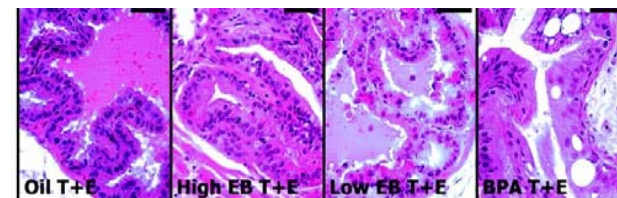
Ho et al., Cancer Res 2006; 66: 5624-32



妊娠マウスに、エストラジオール (EB)や、ヒトが曝露するレベルのBPAを投与し、仔マウスの前立腺を採取

前立腺ガン発症に関与する酵素 Phosphodiesterase 遺伝子にエピジェネティックな変化 (脱メチル化) を分析  
BPAやEB投与で、メチル化が現象し、加齢に伴い、遺伝子発現レベルが上昇

BPA投与群の組織学的検索で前立腺ガンの前ガン状態の発症を確認。



# マウスにおける胎仔期の低用量のビスフェノールA曝露が 大脳の神経発達に及ぼす影響

➤ Prenatal exposure to bisphenol A affects adult murine neocortical structure. Nakamura et al., Neurosci Lett. 2007; 420: 100-5

マウス大脳皮質の形成過程における神経細胞の新皮質における移動の攪乱。また、視床-皮質間の神経線維の連絡の構造異常。

➤ Effects of pre- and neonatal exposure to bisphenol A on murine brain development. Tando et al, Brain Dev. 2007; 29: 352-6

曝露マウスから生まれた雌マウスが成熟後において、黒質のチロシン水酸化酵素の免疫陽性細胞が減少。BPAがドーパミン作動性神経細胞の分化を、性依存的に影響している可能性を示唆。

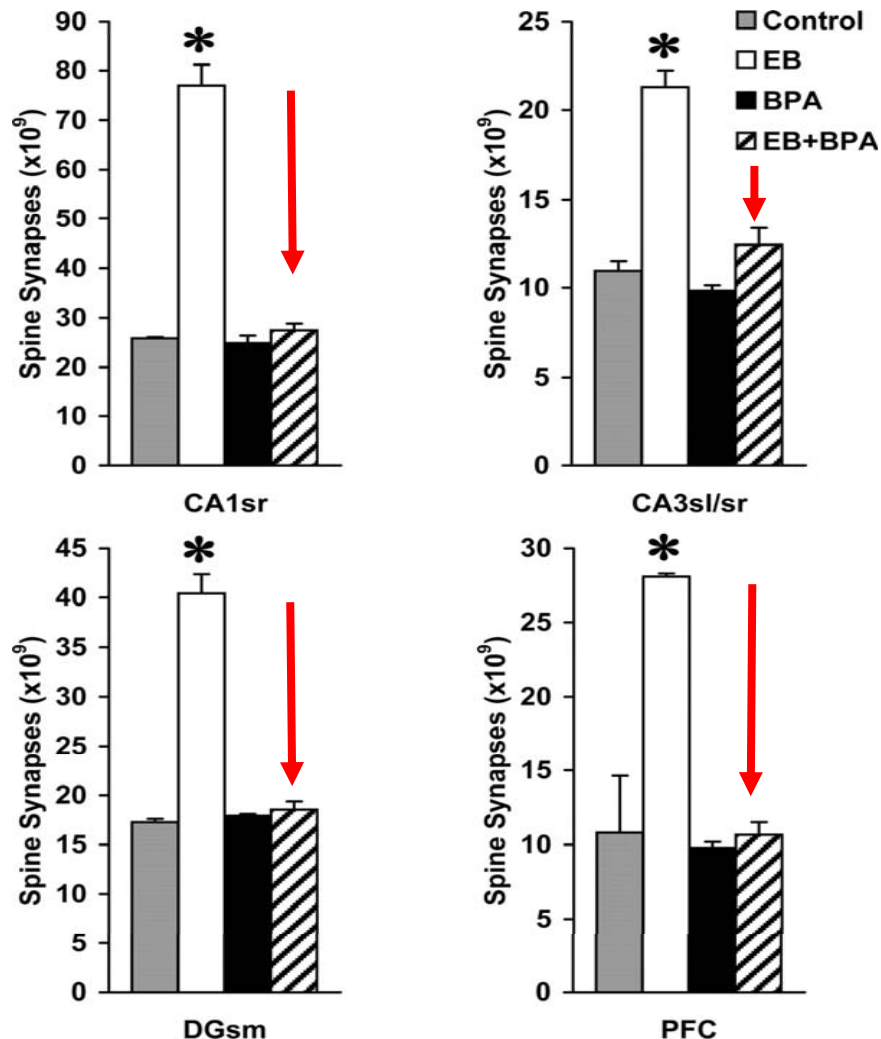
➤ Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. Yaoi et al., Biochem Biophys Res Commun. 2008; 376: 563-7.

妊娠マウスにBPAを投与し、妊娠中期に胎仔から前脳をとりだして、エピジェネティックな変化を解析。DNA制御領域のCpGアイランドが高メチル化および低メチル化している箇所が多数、存在しており、このうち、低メチル化により発現レベルが上昇している2つの遺伝子を発見。



# Bisphenol A Prevents the Synaptogenic Response to Estradiol in Hippocampus and Prefrontal Cortex of Ovariectomized Nonhuman Primates

Leranth et al., PNAS 2008 105:14187- 14191



耐容一日摂取量と同じ用量の BPA (50 ug/kg) を 毎日、サルに投与

海馬や前頭葉皮質でエストラジオールに反応して増加するシナプス形成がBisAによって阻害

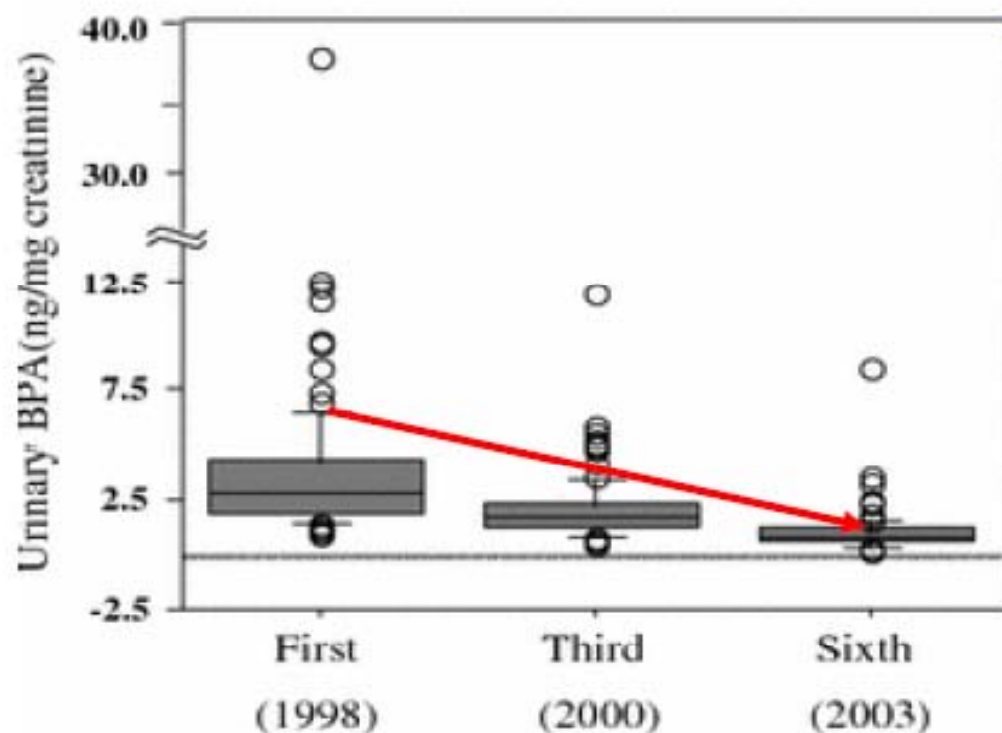
その結果、認知・情動が障害を受ける可能性がある

An adverse effect of BPA on spine synapse numbers in the brain of a nonhuman primate model. The powerful inhibition of estradiol-induced hippocampal and PFC spine synapse formation by BPA was observed at the low exposure level defined by the EPA as the reference safe daily limit.

# 日本における小中学生の尿中ビスフェノールAの尿中排泄量の経年的減少

Yamano et al., Long-term study of urinary bisphenol A in elementary school children. Environ. Health Prevent. Med., (2008) 13; 332-337.

A cohort of 104 pupils in an elementary school in Tokyo.  
The urine samples stored at -80 and determined for BPA simultaneously.



曝露量の減少理由の著者らの考察:  
Speculation by the authors:

1. 缶飲料のコーティングをPCからPETフィルムやBPAフリーの樹脂への交換を、(日本では)2001までに達成(?). Substitution of PC coating of beverage and food cans with a PET film or painting of a BPA-free resin. This process was accomplished by 2001 (in Japan)(?).
2. 給食用食器の材質をPCからメラミン/プロピレンに変更  
Replacement of polycarbonate dishes used for school lunch with melamine /polypropylene dishes

## まとめ Epilogue

胎児期・授乳期の化学物質への曝露により、悪影響が次世代に引き起こされる可能性がある。予防的な観点から、食品に接触しないような措置をとることが賢い選択である

*In utero* and lactational exposure to chemicals may induce adverse effects in the offspring. From the viewpoint of precautionary measures, it would be wise to take an action to reduce the contact of food with these chemicals.

私たちは、生物という天賦なシステムについて知っていることより、知らないことのほうが遙かに多い。化学物質の次世代影響の研究は、化学物質のリスク評価のみならず様々な疾患の成り立ちについて、新たな知見を提供する

We do not know much less than we know about the system of life endowed by nature. Studies on effects of chemicals on the offspring will provide new information for risk assessment of chemicals but will shed light to the pathogenesis of various diseases.





Thank you all for your attention!

ご清聴ありがとうございます

Chiharu TOHYAMA