内分泌攪乱物質とその周辺

長尾 哲二

財団法人 食品薬品安全センター 秦野研究所 生殖生物部

Health Effects of Endocrine Disruptors

Tetsuji NAGAO

*Department of Reproductive and Developmental Toxicology,
Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center
729-5 Ochiai, Hadano 257-8523, Japan*

(Received February 9, 1998)

Several reports on the decreasing quantity of sperm production in human over the last four decades and on the increased incidence of certain cancers and endometriosis have increased concern about environmental chemicals, *i.e.*, drugs, agricultural and industrial chemicals, and dioxins that can disrupt the endocrine system, although no link has been established between an endocrine-based disease and exposure to an environmental chemicals. Therefore, there is accumulating evidence that wild animals have suffered adverse reproductive consequences from exposure to environmental chemicals and a wide variety of environmental chemicals has been identified to have ability to interact with the endocrine system. Moreover, it is well recognized that the normal functions of all organ systems are regulated by endocrine factors, and small disturbances in the endocrine function, especially during certain stages of the life cycle such as development, pregnancy, and lactation, can lead to profound and lasting effects. Here, I compile representative classes of possible endocrine disruptors, and review the toxicities in animal models and possible mechanisms proposed to explain their effects as endocrine disruptors.

Key words — endocrine disruptor ; estrogen ; hormone-mimic ; receptor ; reproduction ; development

1. はじめに

1996年の春に米国で出版された“*Our Stolen Future*”¹⁾の中で、「PCB（ポリ塩化ビフェニール）類やダイオキシン類などに代表される環境汚染物質は深く静かにヒトや野生動物の体内に蓄積し、その内分泌系に作用して生殖機能、免疫機能あるいは中枢神経機能にも障害を与え、その結果として、あるときは生殖障害を引き起こし、あるときには胎児に先天性奇形を引き起こす。」（長尾 力訳「奪われし未来」²⁾による）という説を著者ら（Colborn, Dumanoski, Myers）は唱え、早急な科学研究と対策の実施を講ずるよう強く警告した。欧米では、ここ数年、何らかの原因により野生生物の異常（水棲生物の雌性化現象、肉食性鳥類の卵殻の薄化、次世代の繁殖障害など）が観察されていたこと^{3,4)}に加え、過去40年間に

わたるヒトの精子密度の減少並びに質の低下の報告⁵⁾や、内分泌系に関連のある癌(乳癌, 前立腺癌, 精巣癌あるいは腫瘍など)や子宮内膜症の発生率の増加^{6,7)}が知られていただけに, この警告に一般の関心が集まった。実際, 米国では国家科学アカデミーにおける特別調査委員会が設置され, また, ヨーロッパのいくつかの国では, ダイオキシンをはじめとするさまざまな環境汚染物質の危険性(エンドクリン問題)を深く受け止め, 国をあげて対策を講じている。⁸⁻¹²⁾

エンドクリン問題とは, 環境中の化学物質が, 生物の内分泌系に作用してその個体もしくは次世代の何れかの健康に深刻な影響を及ぼしている可能性を巡って, その現状の認識と将来に向けて我々がとるべき方策などの全般を指すものである。¹³⁾ この内分泌系を攪乱したり障害したりする化学物質(内分泌攪乱物質, endocrine disruptors)は, “An exogenous agent that interferes with the synthesis, secretion, transport, binding, action or elimination of natural hormones in the body, which are responsible for the maintenance of homeostasis, reproduction, development and/or behavior” (生体の恒常性, 生殖, 発生, あるいは行動に参与する種々の生体内ホルモンの合成, 貯蔵, 分泌, 体内輸送, 受容体結合, そしてそのホルモン作用それ自体, あるいはそのクリアランス, などの諸過程を攪乱し障害する性質を持つ外来性の物質)と定義されている。¹⁴⁾

本稿では, 内分泌攪乱作用を危惧する状況証拠を紹介した後, 内分泌攪乱物質の具体例とその生殖への影響を解説し, さらに内分泌攪乱物質としての毒性発現機構について言及する。

Fig. 1. Linear Regression of Mean Sperm Density Reported in 61 Publications (Represented by Circles the Area of Which is Proportional to the Logarithm of the Number of Subjects in the Study), Each Weighted According to Number of Subjects, 1938-1990

The figure is based on the data reported by Carlsen *et al.*⁵⁾

2. 内分泌攪乱作用を危惧する状況証拠

この章では、男性、女性及び次世代児で報告されている生殖器系の変化を中心に概説する。

1) 雌性生殖障害と乳癌 近年、20代、30代の女性の間で子宮内膜症が急増しているといわれている。¹⁵⁾ 子宮内膜症とは、子宮内膜またはそれに似た細胞組織が子宮以外のところで増殖する病気で、月経のたびに子宮以外からも出血して激しい月経痛を起したり、不妊の大きな原因にもなったりする。米国では子供を産める年代の女性の10人に1人、日本では100万人以上の女性が子宮内膜症に悩まされているといわれている。また、欧米諸国では最近、乳腺腫瘍、特に乳癌の発生率が増加していることを示す調査結果が報告されている。¹⁶⁻¹⁸⁾ 例えば、北欧5か国の癌登録データによると、癌発生率の最も低いフィンランドでも、1953年の10万人あたり約25人から1980年では40人以上に増加し、発生率の最も高いデンマークでは、1945年の10万人あたり40人から1980年の約60人へと上昇している。また米国ではさらに顕著で、1973年から1980年の間に、50才未満の女性の乳癌発生率は8%から32%に増加した。

2) 雄性生殖障害 Carlsen ら⁵⁾は、過去50年間(1940—1990年)の研究において報告された成人男子の精子濃度を統計学的に解析し、平均精子数はこの50年間に40%以上減少したと推定した (Fig. 1)。Pike ら¹⁹⁾は、ヨーロッパやその他の国においても、精子数の減少及び精子の質の低下を含めた男性生殖機能障害が増加していると結論し、その原因としては、子宮内でエストロゲン様作用を受けた男子胎児のセルトリ細胞の増殖抑制を挙げている。このような背景から、精子数の変動に関する調査・研究は注目を集めている。

3) 次世代に及ぼす影響 膣癌をもつ若い女性の母親は、流産を避けるために妊娠中にジエチルスチルベストロール (diethylstilbestrol; DES, Fig. 2 参照) を使用した経験が多い。また、男児に尿道下裂、停留睪丸、精巣腫瘍 (睪丸の癌) などの先天性泌尿生殖器異常が増加しているという調査結果が、イギリスで報告されている。¹⁹⁾

4) 野生動物に認められる異常 現在、多くの鳥類や魚類が環境汚染によって生殖機能障害を受けて絶滅の危機にさらされている。爬虫類でも、過去10年間、多量

Fig. 2. Structure of Synthetic Estrogens

の除草剤が散布されたフロリダの Apoka 湖のワニでテストステロンの減少が認められ、産卵数が著しく低下している。³⁾ 哺乳類も例外ではなく、フロリダ黒豹のほとんどすべての雄が精子の量的、質的異常を有している。また雌の体内有機塩素系化合物の蓄積量が、体脂肪 1 グラム当たり数十ミリigramのレベルに達しており、これらの雌から産まれる雄の子供には、過去 20 年間に停留睾丸が指数関数的に増加し、現在では雄の黒豹の 90%以上が停留睾丸を有するという悲劇的状况が生まれている。⁴⁾

3. 内分泌攪乱性を有する化学物質

Table 1 に、*in vitro* 試験系において内分泌攪乱作用が認められ、しかも動物で生殖機能障害が報告されている化学物質を示した。²⁰⁻⁶⁹⁾ これらを、医薬品、有機塩素系殺虫剤、ポリ塩化ビフェニール類、ダイオキシン類及びダイベンゾフラン類、非イオン性界面活性剤、植物性エストロゲン、フタル酸に分けて、以下各グループの特徴と毒性知見をまとめる。

1) 医薬品 エストロゲンは、卵胞ホルモン、発情ホルモンなどと呼ばれる女性ホルモン

Table 1. Chemicals That Are Positive *in vitro* Estrogen Assays And Show Reproductive Toxicity *in vivo*

Compounds	Species	Reproductive toxicity	Reference
Aminotriazole (3-amino-1,2,4-triazole)	Mouse	Growth retardation of fetus; delayed ossification of fetus	20
Aroclor 1254 (PCB mixture)	Rat	Decrease in copulation rate in offspring; reduced fertility; increased testis weight	21-23
	Mouse	Prolongation of estrous cycling	24
	Rhesus monkey	Prolongation of menstrual cycle; abortion	25-27
Atrazine	Rat	Abnormal estrous cycling; reduction in ovary and uterus weights	28, 29
Benomyl (methyl 1-(buthylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate)	Rat	Testicular swelling; reduced testis weight; seminiferous tubular atrophy; cessation of spermatogenesis	30
Bisphenol A	Mouse	Reduction in sperm motility; reduction in the number of delivery	31
Cadmium	Rat	Testicular atrophy; extensive necrosis of the seminiferous tubules	32
Chlordecone (kepone)	Rat	Anovulation	33
	Mouse	Extensive keratinization of vaginal epithelium; cellular hypertrophy, hyperplasia and glandular formation in the uterus	34
Chlordimeform	Rat	Delayed ovulation	35
Coumestrol	Mouse	Delayed estrous cycling	36
	Sheep	Delayed sexual behavior in females; drop in sperm counts	37, 38
DDT	Rat	Testicular atrophy; delayed sexual maturation	39
	Mouse	Abnormal estrous cycling; reduction in the number of implantation sites	39, 40

<i>o, p'</i> -DDT	Rat	Loss of pre-implantation embryos	41
1,2-Dibromo-3-chloropropane (DBCP)	Rat	Reduction in the diameter of seminiferous tubules; cessation of spermatogenesis; drop in sperm counts	42-44
Dieldrin	Rat	Reduced fertility	45
	Mouse	Reduction in the number of live offspring	46
Diethylstilbestrol (DES)	Mouse	Hypospadias; morphological abnormality of uterus	47
Di- <i>n</i> -buthyl phthalate (DBP)	Rat	Testicular atrophy; hypoestrogenic anovulatory cycles; polycystic ovaries	48
Di- <i>n</i> -pentyl phthalate (DPP)	Rat	Reduction in the diameter of seminiferous tubules	49
Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	Rat	Reduction in the diameter of seminiferous tubules; cessation of spermatogenesis; testicular atrophy; hypoestrogenic anovulatory cycles; polycystic ovaries	50
	Mouse	Reduced fertility	51
Ethinyl estradiol	Mouse	Reduction in the diameter of seminiferous tubules	52
Hexachlorobenzene (HCB)	Rat	Reduction in the pup viability; hyperactivity in pups; hyperplasia of Leydig cells	53
Indole-3-carbinol	Rat	Impaired spermatogenesis in offspring	54
Lead	Rat	Decrease in serum testosterone; decrease in sperm concentration	55
Mercury	Rat	Impaired spermatogenesis; damage of seminiferous epithelium	56
Methoxychlor	Rat	Acceleration of the age at vaginal opening and first estrus; abnormal estrous cycling; reduced fertility; reduced seminal vesicle and caudal epididymal weights; reduced caudal sperm count; delayed puberty; suppression of decidualization	57
Mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)	Rat	Reduction in the number of Sertoli cells	58
<i>p</i> -Nonylphenol	Rat	Vaginal cornification in ovariectomized animal	59
Octylphenol	Rat	Drop in sperm counts	60
PCBs	Rat	Reduced fertility	61
2,3,7,8-Tetrachloro dibenzo- <i>p</i> -dioxin (TCDD)	Rat	Feminization of male; altered sexual behavior; impairment of sexual differentiation of the central nervous system; reduced fertility; inability to maintain pregnancy; reduced testis and caudal epididymal weights	62-67
	Rhesus monkey	Endometriosis; decrease in learning ability in offspring; neonatal death; abortion	68
Vinclozolin	Rat	Hypospadias; atrophy of seminal vesicle; impaired copulatory behavior	69

で、卵巣の成熟した卵胞や妊娠時の胎児胎盤系で合成・分泌される。エストラジオール-17 β (E_2) やその代謝物のエストロン (E_1)、エストリオール (E_3)、エステトロール (E_4) などの天然型エストロゲン (Fig. 3) とは別に、エチニルエストラジオール、エストラジオールベンゾエイト、メストラノールなどステロイド骨格を有するもの、及びステロイド骨格を持たない (非ステロイド系エストロゲン) DES など、主として産婦人科の医薬品としての利用目的のために開発された合成エストロゲン (Fig. 2) がある。

合成エストロゲンは、皮膚及び粘膜から容易に吸収されることから、局所使用でも血流を介して全身へと循環し、特定の組織 (エストロゲン反応性を示す組織：女性生殖器、乳腺、下垂体と視床下部など) で特異的作用を発揮する。

しかしその害として、哺乳動物を用いた実験では、合成エストロゲン投与の胎児への影響は、主として半陰陽性変化として認められる。すなわち、合成エストロゲンを妊娠動物に投与すると、雄胎児はミュー管由来器官と雌性型外陰の両方を有し、雄性生殖器構造の発生が抑制される。 E_2 を充填したシリコンチューブを背部皮下に埋植した成熟雄ウサギの精子運動性の変化を8週間にわたり調べた結果、埋植5週後には精子運動性の廃絶が、6週後には乗駕あるいは射精などのリビドーの減弱がみられた。さらに8週後の剖検では、乳頭の著しい突出及び内部生殖器の萎縮が観察され、また病理組織学的にも精原細胞とセルトリ細胞のみで構成される、著しく萎縮した精細管が認められた。⁷⁰⁾

1950年の初めから1970年頃までヒトの切迫流産予防のために、200万人以上の女性に使用

Fig. 3. Metabolic Pattern for Estrogen Metabolism

Pathway I yields the catechol estrogen antagonist 2-hydroxyestrone (2-OHE₁), which is rapidly converted to 2-methoxyestrone; pathway II yields the estrogen agonist 16 α -hydroxyestrone (16 α -OHE₁), which is ultimately converted to estriol.⁹⁷⁾

されたDESあるいはジェネストロールのような非ステロイド系合成エストロゲン類のヒトに対する影響は、まず経胎盤発癌として明らかにされた。⁷¹⁾ 胎盤を通して胎児に移行したこれらの薬物は、細胞内でエストロゲン受容体と結合し、生体内エストロゲンよりも容易に核内に入ることができ、しかも強力なエストロゲン活性を有するため、これらを妊娠期に投与された母親から出生した女兒に生殖機能障害、異常妊娠及び膣の透明細胞腺癌が、また男児には停留睪丸、短小陰茎、副睪丸嚢腫などが稀に認められる。^{72,73)} さらに、最近の製薬産業に従事する女性の妊娠転帰調査では、妊娠前期に合成エストロゲンに曝露された女性では流産が高率に起こる傾向が認められ、⁶⁾ 職業性エストロゲン曝露と流産との関連が疑われる。実験的にも、妊娠マウスにエストラジオールベンゾエイトを皮下投与すると、早産が高率に観察される。⁷⁴⁾

2) 有機塩素系殺虫剤 ジクロロジフェニルエタン類 (dichlorodiphenyl trichloroethane, DDT; dichlorodiphenyl dichloroethane, DDD; dichlorodiphenyl dichloroethylene, DDE), ジコフォール (dicofol), ペルトン (perthane), メトキシクロル (methoxychlor), シクロジエン (cyclodienes), ヘキサクロロベンゼン (hexachlorobenzene) 及びヘキサクロロシクロヘキサン (hexachlorohexanes, HCB) などが含まれる。これらの化合物のなかで最も強いエストロゲン様作用を示すのは DDT である。DDT の代謝物のなかで、*o,p'*-DDT は E_2 と同等のエストロゲン受容体への結合能を示す。⁷⁵⁾ また、有機塩素系化合物は一般に脂溶性が高く、分解と消失が極めて遅いため (DDT の環境中での半減期は 60 年以上)、長期にわたって曝露されると、極微量でもヒト及び動物の肝臓など生体内組織、特に脂肪組織に蓄積されていく。それゆえこれらの化合物のエストロゲン様作用は持続し、次世代に伝わる危険性が高い。

3) ポリ塩化ビフェニール類 脂溶性物質のポリ塩化ビフェニール類 (polychlorinated biphenyls, PCB 類) は、熱交換媒体、粘着剤、耐炎剤、絶縁剤、ワックス、印刷インク、農薬などとして長年、産業分野で使用されてきた化合物で、209 種の異性体が存在するが、環境中に広く分布しているのは、20—60 種の異性体を含む塩化多環化合物の混合物である。これらは極めて安定で、これまで合成されたものの大部分が環境中に残存している。

PCB 類は食物摂取、吸入、皮膚からの吸収などによって体内に入ると、脂肪組織に蓄積されるため、低濃度であっても慢性的に曝露されれば、ヒトの健康へ影響を与える。Fig. 4 は、

Fig. 4. Decline in Concentration of PCBs in the Mother's Blood⁷⁶⁾

母親の授乳後の血液中 PCB 濃度の推移を示したものであるが、母親が摂取した PCB 類がその脂溶性により母乳に溶けて新生児に移行することがわかる。⁷⁶⁾

一方、PCB 類は、構造的にスチルベストロールと類似しているため、数種の PCB 類は弱いエストロゲン活性を示すが、その活性は最も高い 4-hydroxy-2',4',6'-trichlorobiphenyl でも、 E_2 の 100 万分の 1 くらいと推定されている。⁷⁷⁾ したがって、PCB 類の内分泌攪乱物質としての作用は、直接作用ではなく

むしろチトクロム P 450 依存性のモノオキシゲナーゼの誘導能と関係していると思われる。

PCB 類に曝露されたヒトの生殖機能障害についての調査報告は今のところない。しかし、ヒトの精液及び卵胞液中に数種の PCB 類が認められたという報告があり、実験動物での研究結果と、PCB 類による性ステロイドホルモンへの影響とを考えあわせると、PCB 類のヒト生殖機能に及ぼす影響について、さらに検討が必要であると思われる。

4) ダイオキシン類およびダイベンゾフラン類 ポリ塩化ダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (polychlorinated dibenzodioxins; PCDDs) 及びポリ塩化ダイベンゾフラン (polychlorinated dibenzofurans; PCDFs) には多くの同属種があり、中でも 2,3,7,8-テトラクロロダイベンゾ-*p*-ダイオキシン (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDD, Fig. 5) は、最も毒性の強い化合物で、LD₅₀値は、モルモットで 0.6 µg/kg である。

PCDDs 及び PCDFs の発生源は有機塩素系の農薬や殺虫剤の製造過程で副産物として生成されたり、たばこや車の排気ガスからなどさまざまであるが、塩化ビニールや塩素を含むプラスチックなどを燃やすゴミ焼却施設からの排出が 8 割以上を占めるといわれている。ダイオキシン類は河川や土壌を汚染し、極めて分解されにくいので、農作物や魚介類で濃縮され、食物連鎖でヒトが最も多く摂取することになる。体内に取り込まれたダイオキシン類は脂肪中に多く蓄積する。⁷⁸⁾ 母乳からダイオキシン類が多く検出されるのも、母乳に含まれる脂肪に溶け込むためである。このようにして体内に入ると、細胞内で芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) と結合して核内に取り込まれ、それら Ah 受容体に結合したダイオキシン類は、①エストロゲン誘導遺伝子に直接作用しその働きを阻害する、②調節タンパクを誘導し、核内のエストロゲン受容体を分解する、③エストロゲン誘導遺伝子の転写を阻害する、④エストロゲン誘導増殖因子の作用を阻害する、といった作用が考えられている。⁷⁹⁾

この他動物実験でもダイオキシン類には、受精卵の着床阻害や先天性奇形 (口蓋裂) の誘発など胚芽、胎児への影響⁸⁰⁾のほかに、雄マウスでは精子形成 (spermatogenesis) の阻害、雌マウスでは卵胞の成長並びに排卵の抑制、その他、性行動の変化や性ホルモンに反応する器官に二次的变化が起る可能性もある。^{62,64)} 雄の泌尿生殖器系に対するダイオキシン類の毒性を実験的に証明した報告は多く、胎児期及び授乳期の雄ラットがダイオキシン類に曝露されると、泌尿生殖器の発達が著しく阻害されることが確認されている。^{81,82)} また、米ウイコンシン大学のグループは、極微量のダイオキシンが繁殖機能に与える影響を赤毛ザルを用いて実験した結果、飼料 1 kg あたり 5 ppt のダイオキシンの長期摂取でも重篤な子宮内膜症がみられ (Fig. 6),⁶⁸⁾ また体内脂肪 1 g あたり 5—7 pg のダイオキシンが検出されたことを報告した。これは、環境汚染物質が子宮内膜症の発症に関係している可能性を示唆している。ヒトでも、ダイオキシン類に曝露された労働者の血中テストステロン濃度の低下と黄体形成ホルモン (luteinizing hormone; LH) 濃度の上昇が認められている。⁸³⁾ また、ダイオキシン類や PCB 類は、その構造が脳の発達に欠かせない甲状腺ホルモン (チロキシンやトリヨー

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

Fig. 5. Structure of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)

Fig. 6. Incidence of Endometriosis in Dioxin-exposed Rhesus Monkeys

Monkeys were randomly assigned to three groups of eight animals each. Control animals were not exposed to dioxin, animals in the low-dose group were exposed to 5 ppt dioxin, and monkeys in the high-dose group were exposed to 25 ppt dioxin; dioxin was administered in the feed for five years. Ten years after termination of dioxin treatment, the presence of endometriosis was documented by surgical laparoscopy.⁶⁸⁾ Chi-square analysis demonstrated significances between groups in absolute percentages of animals exhibiting endometriosis. * $p < 0.17$, comparing control and 5 ppt animals. ** $p < 0.05$, comparing control and 25 ppt animals.

ドチロニン) に似ていることから、甲状腺ホルモン受容体と相互作用を有し、胎児や新生児の中枢神経系の正常な発達を妨害し、児の学習能力の低下を招来するとも考えられている。⁸⁴⁾

5) 非イオン性界面活性剤 アルキルフェノールポリエトキシレート (alkylphenolpolyethoxylates; APEs) は、水溶性物質で飲料水などから取り込まれる非イオン性界面活性剤である。洗剤、化粧品、塗料、除草剤、殺虫剤などに広く用いられており、年間 30 万トンを超える APEs が製造されている。⁸⁵⁾ 基本化学構造は、エトキシレート側鎖を 1 つもつアルキルフェノールで、容易には分解しない。エトキシレートをもつ種々の化合物のうち、80% 近くはノニルフェノールエトキシレートであり、MCF-7 (ヒト乳腺腫瘍由来樹立細胞株) の増殖を誘発し、プロゲステロン受容体レベルを増加させるが、エストロゲン活性は E_2 より 1000 倍も弱い。

APEs とアルキルフェノールは、污水处理では分解されず環境中に残存し、その後の分解で生じる中間体がエストロゲン様作用を有するものと思われる。

6) 植物性エストロゲン 植物性エストロゲンは、インゲン豆、エンドウ豆、キャベツ、ホウレン草、大豆、ホップなどの植物中に存在する天然の化合物であり、ヒト、家畜及び野生動物が摂取する環境化学物質である。エストロゲン活性を示す物質としては、イソフラボン (ゲニステインとダイドゼン) とクメスタン (クメステロール) がある⁸⁶⁾ (Fig. 7)。これらは、 E_2 に構造が類似しているため、エストロゲン受容体と結合するが、その親和性は E_2 と比べると極めて弱い。⁸⁷⁻⁸⁹⁾ ラットの妊娠及び授乳期にクメステロールを投与すると、次世代の雌で性周期の停止が認められ、新生児期に投与すると、雌雄で黄体形成ホルモンの分泌異常及び中枢神経系の異常がみられる。⁹⁰⁾

一方、植物性エストロゲンには、抗エストロゲン活性を示すものがある。その機序としては、P450 を誘導して生体内エストロゲンの C-2 位及び C-4 位の水酸化を促進し、その結果、 16α -ヒドロキシエストロンの生成を減少させることによって標的細胞を保護すると考えられている⁹¹⁾ (4. 内分泌攪乱物質の毒性発現機構参照)。食品中のイソフラボンは抗エストロゲン作用によりホルモン依存性の腫瘍発生を減少させるという報告があり、その摂取が推奨されている。また、ゲニステインを大量に含む赤クローバーを摂取した羊に生殖機能障害が起きていることが確認されている。^{92,93)} 大豆は、植物性エストロゲンを最も多く含む穀物であり、幼児用ミルクの代用蛋白源として使用されていることは注目されているが、植物性エ

Isoflavonoids

Genistein

Daidzein

O-Demethylangolensin

Equol

Lignans

Matairesinol

Secoisolariciresinol

Enterolactone

Enterodiols

Fig. 7. Structure of the Most Important Isoflavonoids and Lignans Identified by Human Biological Samples

ストロゲン曝露の有害性が危惧される新生児期及び幼児期の、その使用法に対してはあまり配慮されていないのが現状である。

7) フタル酸 ヒトが作り出した環境化学物質のなかで最も多いのがフタル酸である。プラスチック産業で使用されている一般的な化学薬品のフタル酸エステル、ブチルベンジルフタル酸及びジ-*n*-ブチルフタル酸は、ヒト胸部癌細胞に対して弱いエストロゲン活性を示す。一方、動物においては、雌ラットにdi-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)を投与すると、性周期の延長、排卵障害及び血中エストラジオールの低下並びに卵胞刺激ホルモン (follicle stimulating hormone; FSH) の増加が、また雄ラットでは精巣毒性が認められる。⁵⁰⁾

4. 内分泌攪乱物質の毒性発現機構

性ホルモンや甲状腺ホルモンは、細胞質内に存在する各々に固有の受容体にリガンドとして結合後、これが核内遺伝子のプロモーター領域にあるホルモン応答配列に二量体となって結合し、下流遺伝子の転写を制御する。一般的には、この際、下流遺伝子の転写を活性化し、ホルモン作用の発現に必要な蛋白を合成する。他方、内分泌攪乱物質は一般的には受容体のアゴニストもしくはアンタゴニストとして機能する。そして、生体内ホルモンと同様に種々の分子機構を通して

細胞内に入り込むが、そのいくつかのモデルを Fig. 8 に示した。⁹⁴⁾ E₂のような生体内エストロゲンの多くは血漿蛋白と結合した状態で全身を循環しているが、血漿蛋白と結合していない生体内エストロゲンは、濃度勾配に従って血中から標的細胞に取り込まれて核内に侵入し、そこで、エストロゲン受容体と高い親和性で結合する。しかし、これらの生体内エストロゲンは、核内で急速に分解される。一方、エストロゲン、抗エストロゲン作用を示す内分泌攪乱物質は、血漿蛋白とは結合しにくい性質のため、血漿中を循環している内分泌攪乱物質のほとんどが標的器官の細胞内に容易に侵入する。また、内分泌攪乱物質の多くは生体内エストロゲンと同様に脂溶性であるため、細胞膜を通過しやすく、特に脂肪組織などの細胞内に

Fig. 8. Representation of the Model for the Functioning of Estrogens⁹⁴⁾

(1) Natural estrogens (E), such as estradiol-17 β , are found in the plasma but the major of these estrogens are bound to plasma binding proteins (BP) limiting their availability. (2) A small percentage of E in plasma, free E, is available for transfer to the cytoplasm and nucleus. (3) In the nucleus, the E interact with the estrogen receptor (ER) with high affinity. (4) E, have a limited half-life in the nucleus since they are rapidly degraded. (5) Unlike E, synthetic estrogens (EE) and endocrine disruptors (ED) do not show great affinity for plasma BP. Thus, a significant portion of the EE or ED in the serum are available for transfer to the cell. (6) Given the lipophilic nature of many of these compounds, they cross the cell membrane and bioaccumulate in the cell. (7) EE or ED have a lower affinity for the ER. However, the bioaccumulation and slow metabolism of EE or ED may allow these compounds to achieve concentrations required for interaction with ER. (8) In contrast to E, EE may persist in the cell and resist degradation, allowing them to be recycled.

蓄積される。さらに、E₂と比較して一般にエストロゲン受容体との親和性が低く、DDT、トキサフェン、ノニルフェノールなどは、エストロゲン受容体との親和性がE₂と比較して10⁵—10⁶倍低い。しかし、生体内蓄積性が高く、代謝が遅いことから、エストロゲン受容体と結合できる濃度まで蓄積される。細胞質に蓄積した内分泌攪乱物質は、核内に侵入しエストロゲン様作用を示す。なお、内分泌攪乱物質には、エストロゲン、アンドロゲン、プロゲステロンなどの単一のステロイドホルモン受容体と結合するだけでなく、異なるステロイドホルモン受容体と結合し、複雑な作用機構を示すものもある。

McLachlan⁹⁵⁾は、内分泌攪乱物質など環境化学物質がホルモン受容体の場でホルモン

作用を発揮する様式を2つの簡単なモデルで説明している (Fig. 9)。1つはホルモンの模倣物としてホルモン受容体と結合し、ホルモン作用を引き出すもの、他の1つはホルモン阻害剤としてホルモン受容体と結合し、生体内ホルモンの作用を阻止するものである。いずれも、内分泌攪乱物質が生体内のホルモン制御、すなわちホルモン合成、分泌、体内輸送、結合、そしてそのホルモン作用そのもの、あるいはそのクリアランスなどの諸過程を障害し、毒性を発現させる。

また、毒性発現には、内分泌攪乱物質のホルモン受容体を介した内分泌系への直接

Fig. 9. Exogenous Chemicals May Act at Hormon Action Sites⁹⁵⁾

Fig. 10. Abstract Representation of the Interplay between the Endocrine System and the Reproductive, Neurological and Immunological Systems to Illustrate the Complexity of Determining the Mode of Action for Chemicals That Cause Adverse Effects through Involvement of the Endocrine System⁹⁶⁾

的な作用に起因して神経系，生殖系あるいは免疫系に影響が及ぶ場合と，内分泌系を経由することなく，神経系，生殖系あるいは免疫系などの標的器官に直接影響を与え，これらの影響が次に内分泌系を通して二次的に毒性を引き起こす場合がある⁹⁶⁾ (Fig. 10)。

次に，内分泌攪乱物質が生体内エストロゲン代謝に影響する機序について，例を挙げてみたい。E₂は通常，Fig. 3に示す経路で代謝を受ける。⁹⁷⁾ このうち，E₁からの主な代謝経路はC-2位及びC-4位並びにC-16 α 位の水酸化である。多環式芳香族炭化水素などの環境化学物質には，C-2位あるいはC-4位の水酸化を阻害し，C-16 α 位の水酸化代謝物の生成を増加させるものがある。C-16 α 位の水酸化経路で生じる16 α -ヒドロキシエストロン(16 α -OHE₁)及びE₃はいずれも強力なエストロゲン活性を有している。16 α -ヒドロキシエストロンはエストロゲン受容体と共有結合して核内に局在する⁹⁸⁾ことが確認されており，この複合体がホルモン代謝異常のメカニズムを説明する。その他，生体内エストロゲン代謝に及ぼす影響には，薬物代謝酵素チトクロムP450の誘導あるいは阻害効果が挙げられる。エタノール，ジメチルベンツアントラセン，ベンツピレンなどは，代謝酵素を誘導し，逆に，E₂のC-2位あるいはC-4位の水酸化に関連するチトクロムP450サブフォーム(CYP3A4と3A5)は，シクロスポリン，ジルチアゼム，シメチジンなどによって阻害される。

植物性エストロゲンの生体内エストロゲンの生合成・代謝に及ぼす影響については広範に検討されている。例えばクメステロールやゲニステインは，17 β -ヒドロキシステロイドオキシレダクターゼ(Type I)を阻害してE₂のE₁への変換を阻害し，生体内エストロゲンの生理活性を低下させる。⁹⁹⁾ エンテロラクトンはP450アロマターゼ阻害によってアンドロゲンからエストロゲンへの変換を阻害する。¹⁰⁰⁾ また，前述したようにエストロゲンのC-2位，C-16位の水酸化調節はエストロゲンの毒性発現に関与すると言われているが，制癌効果が知ら

れている植物性エストロゲンのインドール-3-カルビノールは P450 1A1, 1A2 を誘導する一方、フラビンモノオキシゲナーゼの阻害効果を発揮し、エストロゲンの C-2 位水酸化の代謝に影響を及ぼす可能性がある。¹⁰¹⁾ 植物性エストロゲン摂取によって生体内エストロゲンの血中動態が影響を受けることが示唆されており、¹⁰²⁾ さらに脂肪摂取量の少ない集団でも β -グルクロニダーゼ活性の低下によりエストロゲンの再循環が減少することが明らかになっている。¹⁰³⁾ このように種々の食生活習慣からくる植物性エストロゲンの摂取の違いが、ヒトのエストロゲン代謝に少なからず影響を与えていると思われる。

5. おわりに

増え続ける内分泌攪乱物質によると思われる障害の証拠に対処するため、米国では科学アカデミーが危機評価のための専門家グループを組織した。わが国でも内分泌攪乱物質のヒトへの影響に関する調査及び研究に着手している。これらは重要な一歩であるが、今後さらに、環境化学物質とその毒性発現の因果関係の明確化、ヒトや野生動物のデータの蓄積、毒性発現機構に関しての基礎的検討、極低濃度曝露による微弱な影響及び複合曝露による相乗性と相加性並びに相殺性についての検討、短期間で信頼性が高く、かつ安価なスクリーニング系の確立などによる内分泌攪乱物質と同じような特性をもつ環境化学物質の同定、環境化学物質の曝露発生形態の見極めなどを行う必要がある。加えて、環境化学物質はしばしば、目には見えない障害を引き起こすことも忘れてはならない。したがって、次世代の健康を守る方策を探る必要もある。というのも子供は、機能的、形態的に未熟なため、胎児期及び出生後の成長期に、内分泌攪乱物質の作用を受ける危険性が高いからである。また、ヒトと野生生物に及ぼす影響に共通する事象を探り当てることが重要である。

内分泌攪乱物質と女性の子宮内膜症、乳癌及び男性の精子減少症などヒトの健康障害との関連は、現時点では疫学的には証明されていない。また、個々の物質の動態と標的器官での濃度、受容体相互作用、間接的ホルモン機構についてはほとんど解明されていない。しかし、既に体内に蓄積し、日々その蓄積量を増している内分泌攪乱物質が我々の体に何の害も与えないという保証も、また、ない。内分泌攪乱物質は、水銀、カドミウムなど重金属の有害物質に比べ、ヒトに対する直接的な毒性が明瞭に認められないこともあり、その危険性が明らかになるまでに長時間を要する。本問題の解析には、長期的展望に立って、ヒト集団への曝露状況を物質別にモニタリングする必要がある、そのためのサーベイランス・システムを確立しなければならない。

わが国はダイオキシン類の高度汚染地域 (30ppt 以上) であり、さらに日本人はダイオキシン類に汚染された魚介類を多く食べるため、ダイオキシン類の摂取量が多い。¹⁰⁴⁾ このような背景から、日本人の内分泌機能とダイオキシン汚染の関連を長期的に追跡することの重要性は言をまたない。内分泌攪乱物質のリスクを評価するためには、広範な基礎科学の研究者と臨床分野の専門家が密接に協力しあい、一層の情報・知識を得る必要がある。

謝 辞 本総説をまとめるにあたり、国立公衆衛生院の市川勇博士、近畿大学原子力研究所の藤川和男博士並びに食品薬品安全センター秦野研究所の中込まどか氏から有益な助言をいただいた。また、同研究所の畔上敦子氏には文献収集をしていただいた。記して深謝する。

References

- 1) Colborn T., Dumanoski D., Myers J.P., "Our Stolen Future," A Dutton Book, 1996, New York, p.307.
- 2) Colborn T., Dumanoski D., Myers J.P., "Ubawaresi Mirai, Translated by Nagao T.," Syoueisya, Tokyo, 1997.
- 3) Guillette L.J.Jr., Gross T.S., Masson G.R., Matter J.M., Percival H.J., Woodward A.R., *Environ. Health Perspect.*, **102**, 680 (1994).
- 4) Facemire C.F., Gross T.S., Guillette L.J. Jr., *Environ. Health Perspect.*, **103**, 79 (1995).
- 5) Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E., *Br. Med. J.*, **305**, 609 (1992).
- 6) Brown L.M., Pottern L.M., Hoover R.N., Devesa S.S., Aselton P., Flannery J.T., *Int. J. Epidemiol.*, **15**, 164 (1986).
- 7) Feuer E.J., Wun L-P., *Am. J. Epidemiol.*, **136**, 1423 (1992).
- 8) European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife. —Report of Proceedings—, 1996.
- 9) EPA: Special Report on Environmental Endocrine Disruption, 1997.
- 10) IEH Assessment on Environmental Oestrogens, 1995.
- 11) OECD Environment Directorate, "Draft Detailed Review Paper," Series on Testing and Assessment, OECD Environmental Health and Safety Publications, Paris, 1997.
- 12) Toppari J., Larsen J.C., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette L.J.Jr., Jegou B., Jensen T.K., Jouannet P., Keiding N., Leffers H., McLachlan J.A., Meyer O., Mueller J., Meyts E.R.-D., Scheike T., Sharpe R., Sumpter J., Skakkebaek N.E., *Environ. Health Perspect.*, **104**, 741 (1996).
- 13) Inoue T., *Kankyō Kenkyū*, **106**, 24 (1997).
- 14) Inoue T., Endocrine Disruptor Workshop, Washington, 1997.
- 15) Wheeler J.M., *Infertil. Reprod. Med. Clin.*, **NA3**, 545 (1992).
- 16) Kakulinen T., Andersen A.A., Malker B., Rikkala E., Shou G., Tulinius H., *Acta Pathologica Microbiologica Immunologica Scandinavica*, **94** (Section A), 1 (1986).
- 17) Ries L.A.G., Hankey B.F., Miler B.A., DHEW (NIH) Publ. No. 91-2789, US Government Printing Office, Washington DC., 1991.
- 18) Wolff M.S., Toniolo P.G., Lee E.W., Rivera M., Dubin N., *J. Natl. Cancer Inst.*, **85**, 648 (1993).
- 19) Pike M.C., Chilvers C.E.D., Bobrow L.G., *Br. J. Cancer*, **56**, 83 (1987).
- 20) Tjälve H., *Arch. Toxicol.*, **33**, 41 (1974).
- 21) Sager D.B., *Environ. Res.*, **31**, 76 (1983).
- 22) Sager D.B., Girard D., Nelson D., *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**, 737 (1991).
- 23) Garthoff H., Friedman L., Farber T.M., Locke K.K., Sobotka T.J., Green S., Hurley N. E., Peters E.L., Story G.E., Moreland F.M., Graham C.H., Keys J.E., Taylor M.J., Scalera J.V., Rothlein J.E., Marks E.M., Cerra F.E., Rodi S.B., Sporn E.M., *J. Toxicol. Environ. Health*, **3**, 769 (1977).
- 24) Orverg J., Kihlstrom J.E., *Environ. Res.*, **6**, 176 (1973).
- 25) Allen J.R., Barsotti D.A., Lambrecht L.K., Van Miller J.P., *Ann. NY. Acad. Sci.*, **320**, 419 (1979).
- 26) Allen J.R., Barsotti D.A., Carstens L.A., *J. Toxicol. Environ. Health*, **6**, 55 (1980).

- 27) Barsotti D.A., Marlar R.J., Allen J.R., *Food Cosmet. Toxicol.*, **14**, 99 (1976).
- 28) Eldridge J.C., Fleenor-Heyser D.G., Extrom P.C., Wetzel L.T., Breckenridge C.B., Gillis J.H., Luempert L.G., Stevens J.T., *J. Toxicol. Environ. Health*, **43**, 155 (1994).
- 29) Simic B., Kniewald J., Kniewald Z., *Appl. Toxicol.*, **14**, 401 (1994).
- 30) Hess R.A., Moore B.J., Forrer J., Linder R.E., Abuel-Atta A.A., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **17**, 733 (1991).
- 31) Morrissey R.E., Lamb J.C., Schwetz B.A., Teague J.L., Morris R.W., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **11**, 359 (1988).
- 32) Wong K.L., Klaassen C.D., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **55**, 456 (1980).
- 33) Gellert R.J., Wilson C., *Environ. Res.*, **18**, 437 (1979).
- 34) Eroschenko V.P., Mousa M.A., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **49**, 151 (1979).
- 35) Cooper R.L., Barrett M.A., Goldman J.M., Rehnberg G.L., McElroy W.K., Stoker T.E., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **22**, 474 (1994).
- 36) Fredricks G.R., Kincaid R.L., Bondioli K.R., Wright R.W., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **167**, 237 (1981).
- 37) Adams N.R., *J. Reprod. Fertil.*, **68**, 113 (1983).
- 38) Setchell K.D.R., Borriello S.P., Hulme P., Kirk D.N., Axelson M., *Am. J. Clin. Nutr.*, **40**, 569 (1984).
- 39) Heinrichs W.L., Gellert R.J., Bakke J.L., Lawrence N.L., *Science*, **173**, 642 (1971).
- 40) Lundberg C., Kihlstrom J.E., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **9**, 267 (1973).
- 41) Johnson D.C., Kogo H., Sen M., Dey S.K., *Toxicology*, **53**, 79 (1988).
- 42) Kluwe W.M., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **59**, 71 (1981).
- 43) Kluwe W.M., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **59**, 84 (1981).
- 44) Rao K.S., Burek J.D., Murray F.J., John J.A., Schwetz B.A., Bell T.J., Potts W.J., Parker C.M., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **3**, 104 (1983).
- 45) Harr J.R., Claeys R.R., Bone J.F., McCorcle T.W., *Am. J. Vet. Res.*, **31**, 181 (1970).
- 46) Good E.E., Ware G.W., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **14**, 201 (1969).
- 47) Stillman R.J., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **142**, 905 (1982).
- 48) Gray T.J.B., Butterworth K.R., Gaunt I.F., Grasso P., Gangolli S.D., *Food Cosmet. Toxicol.*, **15**, 389 (1977).
- 49) Gangolli S.D., *Environ. Health Perspect.*, **45**, 77 (1982).
- 50) Davis B.J., Maronpot R.R., Heindel J.J., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **128**, 216 (1994).
- 51) Lamb J.C., Chapin R.E., Teague J.L., Lawton A.D., Reel J.R., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **88**, 255 (1987).
- 52) Yasuda Y., Ohara I., Konishi H., Tanimura T., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **159**, 1246 (1988).
- 53) Arnold D.L., Moodie C.A., Charbonneau S.M., Grice H.C., McGuire P.F., Bryce F.R., Collins B.T., Zawidzka Z.Z., Krewski D.R., Nera E.A., Munro I.C., *Fundam. Chem. Toxicol.*, **23**, 779 (1985).
- 54) Wilker C., Johnson L., Safe S., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **141**, 68 (1996).
- 55) Sokol R.Z., Berman N., *Toxicology*, **69**, 269 (1991).
- 56) Vachhrajani K.D., Chowdhury A.R., Dutta K.K., *Reprod. Toxicol.*, **6**, 355 (1992).
- 57) Gray L.E., Ostby J., Ferrell J., Rehnberg G., Linder R., Cooper R., Goldman J., Slott V., Laskey J., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **12**, 92 (1989).
- 58) Lloyd S., Foster P.M.D., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **95**, 484 (1988).
- 59) Soto A.M., Justicia H., Wray J.W., Sonnenschein C., *Environ. Health Perspect.*, **92**, 167

- (1991).
- 60) Sharpe R.M., Fisher J.S., Millar M.M., Jobling S., Sumpter J.P., *Environ. Health Perspect.*, **103**, 1136 (1995).
 - 61) Sager D., Girard D., Nelson D., *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**, 737 (1991).
 - 62) Mably T.A., Bjerke D.L., Moore R.W., Fitzpatrick A.G., Peterson R.E., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 118 (1992).
 - 63) Mably T.A., Moore R.W., Peterson R.E., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 97 (1992).
 - 64) Mably T.A., Moore R.W., Goy R., Peterson R.E., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 108 (1992).
 - 65) Kociba R.J., Keeler P.A., Park C.N., Gehring P.J., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **35**, 553 (1976).
 - 66) Gray L.E., Ostby J.S., Kelce W.R., Marshall R., Diliberto J.J., Birnbaum L.S., *Dioxin '93*, **13**, 337 (1993).
 - 67) Gray L.E., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **131**, 108 (1995).
 - 68) Rier S.E., Martin D.C., Bowman R.E., Dmowski W.P., Becker J.L., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **21**, 433 (1993).
 - 69) Gray L.E., Ostby J.S., Kelce W.R., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **129**, 46 (1994).
 - 70) Nagao T., unpublished data.
 - 71) Herbst A.L., Cole P., Colton T., Robboy S.J., Scully R.E., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **128**, 43 (1977).
 - 72) Greenwald P., Barlow J.J., Nasca P.C., Burnett W.S., *N. Engl. J. Med.*, **285**, 390 (1971).
 - 73) Herbst A.L., Kurman R.J., Scully R.E., Poslanzer D.C., *N. Engl. J. Med.*, **287**, 1259 (1972).
 - 74) Nagao T., unpublished data.
 - 75) Ahlborg U.G., Lipworth L., Titus-Ernstoff L., Hsieh C-C., Hanberg A., Baron J., Trichopoulos D., Adami H-O., *Crit. Rev. Tox.*, **25**, 463 (1995).
 - 76) Yakushiji Y., Watanabe I., Kuwabara K., Yoshida S., Koyama K., Hara I., Kunita N., *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **7**, 493 (1978).
 - 77) Lione A., *Reprod. Toxicol.*, **2**, 83 (1988).
 - 78) Nagao T., Yamashita K., Golor G., Bittman H., Körner W., Hagenmaier H., Neubert D., *Life Sciences*, **58**, 325 (1996).
 - 79) Safe S., Astroff M.H., Zacharewski T., Dickerson R., Romkes M., Biegel L., *Pharmacol. Toxicol.*, **69**, 400 (1991).
 - 80) Nagao T., Golor G., Hagenmaier H., Neubert D., *Arch. Toxicol.*, **67**, 591 (1993).
 - 81) Moore R.W., Potter C.L., Theobald H.M., Robinson J.A., Peterson R.E., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **79**, 99 (1985).
 - 82) Gray L.E., Ostby J.S., Kelce W.R., Marshall R., Diliberto J.J., Birnbaum L.S., *Dioxin '93*, **13**, 337 (1993).
 - 83) Egeland G.M., Sweeney M.H., Fingerhut M.A., Wille K.K., Schnorr T.M., Halperin W.E., *Am. J. Epidemiol.*, **139**, 272 (1994).
 - 84) Porterfield S.P., *Environ. Health Perspect.*, **102**, 125 (1994).
 - 85) EcEvoy A.M., Giger W., *Environ. Pollut.*, **79**, 243 (1993).
 - 86) Verdeal K., Ryan D.S., *Food Add. Contam.*, **2**, 73 (1985).
 - 87) Shutt D.A., Cox R.I., *J. Endocrinol.*, **52**, 299 (1972).
 - 88) Martin P.M., Horowitz K.B., Ryan D.S., McGuire W.L., *Endocrinol.*, **103**, 1860 (1978).
 - 89) Verdeal K., Brown R.R., Richardson T., Ryan D.S., *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**, 285 (1980).

- 90) Chapin R.E., Stevens J.T., Hughes C.L., Kelce W.R., Hwaa R.A., Daston G.P., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **29**, 1 (1996).
- 91) Jellinck P.H., Forkert P.G., Riddick D.S., Okey A.B., Michnovicz J.J., Bradlow H.L., *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 1129 (1993).
- 92) Moule G.R., Braden A.W.H., Lamond D.R., *Anim. Breed. Abstr.*, **32**, 139 (1963).
- 93) Price K.R., Fenwick G.R., *Food Add. Contam.*, **2**, 73 (1985).
- 94) Guillette L.J.Jr., Arnold S.F., McLachlan J.A., *Anim. Reprod. Sci.*, **42**, 13 (1996).
- 95) McLachlan J.A., *Environ. Health Perspect.*, **101**, 386 (1993).
- 96) Kavlock R.J., Daston G.P., DeRosa C., Fenner-Crisp P., Gray E., Kaattari S., Lucier G., Luster M., Mac M.J., Maczka C., Miller R., Moore J., Rolland R., Scott G., Sheehan D.M., Sinks T., Tilson H.A., *Environ. Health Perspect.*, **104**, 715 (1996).
- 97) Bradlow H.L., Davis D.L., Lin G., Sepkovic D., Tiwari XX., *Environ. Health Perspect.*, **103**, 147 (1995).
- 98) Swaneck G.E., Fishman J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**, 7831 (1988).
- 99) Makela S., Poutanen M., Lehtimaki J., Kostian R., Santti R., Vihko R., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **208**, 51 (1995).
- 100) Adlercreutz H., Bannwart C., Wähälä K., Mäkelä T., Brunow G., Hase T., Arosemena P.J., Kellis J.T.Jr., Vickery L.E., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **44**, 147 (1993).
- 101) Larsen-Su S., Williams D.E., *Drug Metab. Dispos.*, **24**, 927 (1996).
- 102) Goldin B.R., Adlercreutz H., Gorbach S.L., Warra J.H., Dwyer J.T., Swenson L., Woods M.N., *N. Engl. J. Med.*, **307**, 1542 (1982).
- 103) Goldin B.R., Adlercreutz H., Gorbach S.L., Woods M.N., Dwyer J.T., Conlon T., Bohn E., Gershow S.N., *Am. J. Clin. Nutr.*, **44**, 945 (1986).
- 104) Daiokisin No Risuku Hyouka, Kankyoucho Daiokisin Risuku Hyouka Kenkyukai, Cyuouhouki Syuppan, Tokyo, 1997.