

内分泌かく乱物質(環境ホルモン)の「ガン、認知症などへの影響」研究の最近の進歩：新しい化学物質群とそれらの複合汚染

黒田 洋一郎
環境脳神経科学情報センター

この学会も創立 27 年に成るが、世界・国内でも内分泌かく乱物質(環境ホルモン)の研究は進み、新しい情報は尽きない。老後のボランティア活動としての「環境脳神経科学情報センター」の為に、毒性論文の情報検索をしている。特に日本で著しく増えている、各種ガンやアルツハイマー病など認知症の患者、発達障害者(大人の発達障害を含む)の増加は、世界的に見ても異常なレベルで、その結果、日本社会の少子化や老人介護、発達障害支援学校などの対策費用が著しく増え、日本国民/国家を悩ましています。残念ながら、日本では『環境ホルモンなど問題は無い』などと、根拠も無いのに主張した無知な勢力が活躍し、政府の後押しもあり、実際の毒性のある化学物質、特に農薬など工業製品の化学物質規制が著しく甘く、かつ遅くなってしまった。

具体的な、医学/科学情報：

問題になっている主な毒性化学物質とエンドポイントを挙げると、

- ① リタリン(メチルフェニデート)の多用による ADHD 患者の激増(韓国でも多い)
- ② アルマイト鍋など、アルミ製調理器具による、アルツハイマー病など認知症患者の激増
- ③ 内分泌かく乱物質による、アルツハイマー病など認知症の発症
- ④ 内分泌かく乱物質類による、ガンなどのヒトの健康被害
- ⑤ 有機塩素系農薬による、甲状腺ガン
- ⑥ カーボン・ナノチューブによる、発がん

などがあり、講演で詳しく説明する。

複合汚染問題

多数の内分泌かく乱物質が知られているが、近年の重大な課題は、それらが同時に汚染し毒性を発揮する『複合汚染』の問題であろう。例えば各化学物質の汚染濃度が低くても、他の毒性化学物質と複合汚染すれば、単独の無作用量でも、無作用ではなくなるだろう。実は前世紀に日本の作家：有吉佐和子が小説『複合汚染』を書いて、新聞に連載したが、研究者の方は、理屈はそうだが、個々の事例を追ってもキリがないので、手をつけてはいないようだ。今でも原因不明の疾患は以外に多い。

Recent advance of endocrine disrupter chemicals research of human diseases and disorders: increase of Alzheimer disease and Developmental disorders in Japan

Yoichiro KURODA

Environmental Neuroscience Information Centre Tokyo

Twenty-seven years past since Japan Society of Endocrine Disrupter Chemicals. During that time EDC research has developed in the world also in Japan. As a member of Environmental Neuroscience Information Centre the author introduce many articles concerning cancers and Alzheimer type of dementia both of which very much increased in Japan. One of the historical reason is that some people against EDC concept which appreciated by chemical enterprise and even Japanese Government. So restriction of toxic chemicals especially pesticides has been very weak and delayed. New types of EDC are introduced and complex pollution of EDCs work the human health effects.

Nanoplastics and the Developing Brain: Early-Life Oral Exposure and Size-Dependent Accumulation

発達期脳へのナノプラスチック蓄積：経口曝露と粒径依存性の解析

Yang Mi¹, Tomohiro ITO¹, Kosuke TANAKA², Fumihiko Maekawa¹

¹ Health and Environmental Risk Division, National Institute for Environmental Studies

² Material Cycles Division, National Institute for Environmental Studies

Micro- and nanoplastics (MPs/NPs) have emerged as persistent environmental contaminants, originating from fragmented consumer products, industrial waste, and synthetic textiles. Their widespread presence in air, water, and food raises growing concern about biological uptake and long-term health effects. Among these, nanoplastics (NPs; diameter < 1 µm) are particularly concerning due to their small size, surface reactivity, and ability to cross biological barriers—including the intestinal epithelium, placenta, and blood–brain barrier.

During neonatal development, when protective barriers are immature, the brain—an organ orchestrating key developmental processes—may be especially vulnerable to NP exposure. However, the biodistribution and brain-specific accumulation of NPs during early life remain poorly understood. In this study, we investigated the size-dependent uptake of polystyrene NPs (PS-NPs) in neonatal mice following oral administration—a route relevant to environmental ingestion scenarios. Neonatal mice (P0) received a single oral gavage of 30 µl fluorescent yellow-green (excitation/emission: 441/486 nm) labeled PS-NPs (PS-YG) at varying diameters (50 nm, 500 nm) and concentrations (2.5–12.5 mg/ml), with double-distilled water as a control. Fluorescence stereomicroscopy revealed PS-YG accumulation in multiple organs—including intestine, liver, kidney, and brain—within 24 hours. Notably, 50 nm particles showed significantly higher tissue uptake than 500 nm particles, underscoring the role of particle size in tissue accessibility.

To assess brain-specific localization, we applied tissue-clearing and lightsheet microscopy, enabling intact 3D visualization of PS-YG distribution in the cortex, thalamus, hindbrain, and cerebellum. These findings suggest that neonatal exposure to NPs may result in rapid and region-specific brain accumulation, raising concern about developmental susceptibility and potential neurotoxic outcomes.

In the context of increasing environmental burdens, this study highlights the biological vulnerability of early life and the need for precautionary approaches to nanoplastic regulation. Understanding how synthetic particles interact with developing systems is essential for protecting future generations and guiding risk assessment toward a more sustainable and equitable coexistence.

素材やサイズの異なるマイクロプラスチックの生態影響評価

○兼藤 亮太郎、岡崎 友紀代、鑓迫 典久

愛媛大学大学院農学研究科

マイクロプラスチック (MP) は一般に 5 mm 以下の微細なプラスチック類を指し、プラスチック製品の欠片や化粧品や洗剤等のスクラブ剤、合成繊維の衣類由来などから発生する。これらは製造過程や環境流出後に化学物質が含有・付着することで食物連鎖に取り込まれた際に及ぼす影響が懸念されている。しかし、具体的な影響は必ずしも明らかではない。また、従来の生態毒性試験は水溶性物質向けに設計されており、水に不溶な MP は適切に評価されていないのが現状である。たとえば、体表への付着、餌との競合、腸管への擦過といった MP に特有の影響は、従来の試験法では評価の対象外となっている。そこで、MP の物理的な影響を評価可能な新たな試験法の開発を目的として、MP の影響を検討した。実環境を模倣するには、自然界で粉砕されたプラスチックの使用が望ましいが、被験物質の入手困難性および試験の再現性を考慮し、粒子計測装置用の校正標準品として市販されている真球の MPs を選択した。100 μm 超から数 nm に至るまで、様々な粒子径の MPs が存在している。また、素材にはポリエチレン (PE) とポリスチレン (PS) の二種があり、それぞれの粒子径の守備範囲が異なるため (重複しているサイズもある)、必要に応じて両方使用した。生物試験はオオミジンコ (*Daphnia magna*) を被験生物として、通常の急性遊泳阻害試験 (OECD TG202) をもとに、MPs の物理化学的な影響を確認するため 48 時間以降は給餌をおこなう急性遊泳阻害延長試験を提案した。また、PE 粒子は乾燥粉末だが、PS 粒子は水分散試料であり、分散液中に含まれている安定化剤 (界面活性剤、抗菌剤など) を除くための前処理が必要であった。遠心分離により上澄み液と MP 粒子に分け、それぞれで生物試験をおこない、分散液の影響および MP の素材や粒子サイズによる影響の違いを明らかにした。

Ecotoxicological Assessment of Microplastics with Different Materials and Sizes

Kanefuji Ryotaro, Okazaki Yukiyo, Tatarazako Norihisa

Graduate School of Agriculture, Ehime University

Microplastics (MPs) are generally defined as plastic particles smaller than 5 mm, originating from fragments of plastic products, exfoliating agents in cosmetics and detergents, or synthetic fibers from textiles. These particles are of concern because they can adsorb or contain various chemicals during manufacturing or after being released into the environment, potentially exerting adverse effects when incorporated into food chains. However, their specific impacts have not yet been fully elucidated. Conventional ecotoxicity tests are designed primarily for water-soluble substances, and thus, insoluble MPs are not appropriately evaluated. For instance, MP-specific effects such as adhesion to body surfaces, competition with food, and abrasion of the intestinal tract are excluded from traditional testing frameworks. Therefore, this study aimed to develop a novel testing method capable of evaluating the physical effects of MPs. To mimic real-world conditions, the use of naturally weathered plastics would be preferable. However, due to the difficulty of obtaining such materials and ensuring test reproducibility, perfectly spherical MPs, which are commercially available as calibration standards for particle size analyzers, were selected. MPs exist in a wide range of particle sizes, from over 100 μm to several nanometers. Two polymer types, polyethylene (PE) and polystyrene (PS), were used, each covering different particle size ranges (with some overlapping sizes). Both types were employed as necessary. Ecotoxicity tests were conducted using *Daphnia magna* as the test organism. Based on the standard acute toxicity test (OECD TG 202), we proposed an extended acute toxicity test with feeding after 48 hours to evaluate the physicochemical effects of MPs. PE particles were obtained as dry powders, while PS particles were supplied as aqueous dispersions, necessitating pretreatment to remove stabilizing agents, including surfactants and preservatives. Centrifugation was used to separate the supernatant and MP particles, and biological tests were conducted on each to clarify the effects of the dispersion medium as well as the differences associated with MP material and particle size.

有機フッ素化合物による胎盤合胞体化・機能攪乱における脱リン酸化阻害剤の効果

○宮崎 航^{1, 2}、櫻木 青¹、宮崎 光江^{1, 2}

¹弘前大学大学院保健学研究科生体検査科学領域

²弘前大学大学院保健学研究科生体応答科学研究センター

有機フッ素化合物(PFASs)のばく露により、ヒトの生殖機能障害が引き起こされることが報告されているが、PFASsの胎盤の成熟と機能における毒性発現メカニズムは不明なままである。我々はこれまで、PFASsにより胎盤細胞の合胞体化と機能発達の攪乱が引き起こされていると仮説を立て、検証を進めてきた。先行研究から、胎盤合胞体化細胞モデルを用い、フォルスコリン(FSK)の添加による合胞体化誘導を行うと同時にPFASs(ペルフルオロオクタン酸:PFOA、ペルフルオロオクタンスルホン酸:PFOS)を曝露すると、cyclic AMP(cAMP)シグナル伝達経路が攪乱され、胎盤の合胞体化ならびに機能(ホルモン分泌)が抑制されることを明らかにした。本研究では、このPFASsによるcAMP経路の攪乱について、ホスホジエステラーゼ阻害剤(cAMP濃度上昇)ならびに脱リン酸化阻害剤(cAMP経路の各タンパクのリン酸化亢進)を用いて、PFASsによる攪乱を低減できるか検証した。その結果、脱リン酸化阻害剤により、PFASsの影響の一部が低減されることを観察した。また、用量依存的なPFASsによる影響についても確認し、一定の用量であれば、PFASsの影響を完全に低減させることが明らかとなった。

以上から、PFASsの胎盤へ毒性発現は、主にcAMP経路のリン酸化のかく乱により引き起こされ、またその影響は脱リン酸化抑制により軽減できることが明らかとなった。今後、PFASsによる脱リン酸化能について検証を進める予定である。

PFAS-Induced Inhibition of Placental Syncytialization via Altered Phosphorylation in the cAMP Pathway

Wataru Miyazaki^{1, 2}, Joh Sakuragi¹, Mitsue Miyazaki^{1, 2},

¹ Hirosaki University Graduate School of Health Sciences

² Hirosaki University Research Center for Biomedical Science

Exposure to perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) has been reported to cause reproductive dysfunction in humans; however, the toxicological mechanisms underlying PFAS-induced placental maturation and functional impairment remain unclear. We have hypothesized that PFAS exposure disrupts the syncytialization and functional development of placental cells, and we have been investigating this mechanism. In our previous study using a trophoblast syncytialization model, we demonstrated that exposure to PFASs—specifically perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS)—during forskolin (FSK)-induced syncytialization disturbed the cyclic AMP (cAMP) signaling pathway, thereby suppressing syncytialization and placental hormone secretion. In this study, we examined whether the disruption caused by PFASs could be mitigated by a phosphodiesterase inhibitor (which elevates intracellular cAMP) or a dephosphorylation inhibitor (which enhances phosphorylation of cAMP pathway proteins). The results showed that inhibition of dephosphorylation partially reduced the effects of PFASs. Furthermore, dose-dependent analyses revealed that, at certain concentrations, PFAS-induced effects were completely alleviated. These findings suggest that PFAS-induced placental toxicity is primarily mediated by the disruption of protein phosphorylation within the cAMP signaling pathway, and that inhibition of dephosphorylation can ameliorate these effects. Further studies are ongoing to elucidate the dephosphorylation activity associated with PFAS exposure.

バイオプラスチック添加剤による芳香族炭化水素受容体 (AHR) 活性化能の インシリコ QSAR 予測

○山根 進太郎¹、Nurlatifah²、中田 晴彦²、Nguyen Minh Tue³、国末 達也³、岩田 久人³

¹愛媛大学大学院 理工学研究科、²熊本大学 先端科学研究部、

³愛媛大学 沿岸環境科学研究センター (CMES)

プラスチック廃棄物は年々増加しており、マイクロプラスチックが多様な環境媒体で検出されている。これに代わる素材として、生分解性やバイオマス由来のバイオプラスチックが注目されているが、その添加剤の毒性情報は乏しい。したがって、代替利用前にリスク評価が必要である。Tue ら (2023) は芳香族炭化水素受容体 (AHR) を発現した CALUX アッセイにより、バイオプラスチック袋の抽出液中に AHR 活性化物質が存在することを報告した。本研究では、この知見を基に、AHR 活性化能を予測する QSAR モデルを構築し、バイオプラスチック袋に含まれる AHR 活性化型添加剤の選定を試みた。まず、TOX21_AHR_LUC_Agonist のデータベースにある被験物質の分子記述子と毒性データに加え、AHR ドッキングシミュレーションの結果 (U_dock およびタンパク質-リガンド相互作用フィンガープリント: PLIF) を用い、部分最小二乗判別分析 (PLS-DA) により AHR 活性化の有無を判別した。その結果、テストセットで精度 ≥ 0.78 、AUC ≥ 0.89 、F1 スコア ≥ 0.41 を達成した。変数重要度解析の結果、添加剤の極性・表面積・体積・回転可能結合数といった分子記述子が主要な寄与因子であることが示され、これら上位 20 記述子を機械学習モデルに採用した。予測の信頼性を向上させるためにコンフォーマル予測法 (CP) を導入したところ、ACE (Adaptive Calibrated Ensemble) 法は 14 種の機械学習モデルにおいて、目標カバレッジ 85% ($\alpha=0.15$) を維持しつつ、予測区間を最適化し、予測精度と再現性の向上に寄与した。開発した QSAR モデルを用いて、バイオプラスチック袋由来添加物 (外部データセット) に対する予測をおこなったところ、2,4-di-tert-butylphenol および 3,5-dimethoxystilbene が強力な AHR 活性化候補物質として特定された。これらの成果は、新興バイオプラスチックに含まれる添加剤のリスク評価に向けた科学的基盤を提供する。

***In Silico* QSAR Prediction of Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) Activation by Bioplastic Additives**

Shintaro Yamane¹, Nurlatifah², Haruhiko Nakata², Nguyen Minh Tue³, Tatsuya Kunisue³, Hisato Iwata³

¹Graduate School of Science and Engineering, Ehime University, ²Faculty of Advanced Science and Technology, Kumamoto University, ³Center for Marine Environmental Studies (CMES), Ehime University

Biodegradable and biomass-based bioplastics have emerged as promising alternatives to conventional plastics; however, toxicological information on their additives remains limited. Tue et al. (2023) reported the presence of AHR-activating substances in extracts of bioplastic bags using a CALUX assay. Building on these findings, this study developed a quantitative structure–activity relationship (QSAR) model to predict AHR activation potential and to identify AHR-activating additives present in bioplastic bags. Molecular descriptors and toxicity data of test compounds from the TOX21_AHR_LUC_Agonist database, combined with AHR docking simulation results (U_dock scores and protein–ligand interaction fingerprints, PLIF), were used to classify AHR activators and non-activators via partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). The model achieved an accuracy ≥ 0.78 , area under the curve (AUC) ≥ 0.89 , and F1 score ≥ 0.41 in the test set. Variable importance analysis revealed that molecular descriptors such as polarity, surface area, molecular volume, and the number of rotatable bonds were the primary contributing factors; the top 20 descriptors were subsequently employed for machine learning modeling. To enhance prediction reliability, a conformal prediction (CP) framework was introduced. The Adaptive Calibrated Ensemble (ACE) method maintained a target coverage of 85% ($\alpha = 0.15$) while optimizing prediction intervals across 14 machine learning models, thereby improving predictive accuracy and reproducibility. Predictions performed using the developed QSAR model for additives derived from bioplastic bags (external dataset) identified 2,4-di-tert-butylphenol and 3,5-dimethoxystilbene as strong candidate AHR-activating compounds.

オオミジンコのキトビアーゼ活性は脱皮ホルモン作用のバイオマーカーとして使えるか？

○渡部 春奈¹、阿部 良子¹、小田 悠介¹、山本 裕史¹

¹ 国立環境研究所 環境リスク・健康領域

脱皮ホルモンは幼若ホルモンと共に、節足動物において胚発生や成長を制御する重要なホルモンであり、脱皮ホルモン作用を攪乱する殺虫剤等の化学物質を適切に評価・管理する必要がある。環境省が実施している EXTEND2022 の、化学物質の内分泌かく乱作用に係る 2 段階の試験・評価枠組みにおいて、ミジンコを用いた脱皮ホルモン作用を検出するための第 1 段階生物試験（in vivo スクリーニング試験）の開発が必要とされている。発表者らは、仔虫から初産まで脱皮回数を観察する脱皮ホルモン作用短期スクリーニング試験の開発を行っているが、脱皮は一般毒性による影響も受けるため、脱皮ホルモン作用に特異的なバイオマーカーを用いた判別が必要である。

そこで、脱皮中に水中に放出される、古い外殻を分解するキチン分解酵素のキトビアーゼを脱皮阻害に特有なバイオマーカーとして活用できないか検討を行った。ミジンコ 1 頭 1 回脱皮あたりの活性値や水中放出後の経時変化、ミジンコから抽出した場合との比較などの基礎的データを踏まえた上で、陽性対照物質の脱皮ホルモン受容体アゴニストやアンタゴニスト、キチン合成阻害剤などにばく露した際の脱皮数とキトビアーゼ活性の相関関係について考察する。

Can chitinase activity in *Daphnia magna* be used as a biomarker for molting activity?

Haruna Watanabe¹, Ryoko Abe¹, Yusuke Oda¹, Hiroshi Yamamoto¹

¹ Health and Environmental Risk Division, National Institute for Environmental Studies

Ecdysone (molting hormone), along with juvenile hormone, is crucial hormone regulating embryonic development and molting in arthropods. It is necessary to appropriately evaluate and manage chemicals such as insecticides that disrupt molting hormone activity. Under EXTEND2022 two-tiered framework on testing and assessment of endocrine disrupting effects of substances implemented by the Ministry of Environment, development of a Tier 1 in vivo screening assay using *Daphnia magna* for ecdysone activity is required. The presenters have been developing this assay that observes the number of molts from offspring to adult (until first reproduction). However, since molting is also affected by general toxicity, specific biomarkers for molting activity are needed for differentiation.

Therefore, we investigated whether chitinase, a chitin-degrading enzyme breaking down the old exoskeleton and released into the water during molting, could be utilized as the biomarker. First, we investigated the fundamental data such as the chitinase activity per molting per *Daphnia*, temporal changes after release into the water, and comparisons with the chitinase activity extracted from *Daphnia*. Then, we examined the correlation between the number of molt and chitinase activity when exposed to positive control substances: ecdysone receptor agonists/antagonists and chitin synthesis inhibitors.

甲状腺刺激ホルモンノックアウトと T4 レスキューによる甲状腺ホルモン依存的生殖能力 障害の因果評価

○明正 大純^{1,2}、小林 亨^{1,2}

¹ 静岡県立大学食品栄養科学部学部環境生命科学科、

² 静岡県立大学院薬食生命学府生態発生遺伝学研究室

甲状腺ホルモン (TH) は発生・代謝に必須である一方、その生殖成熟における役割は十分に理解されていない。現在、環境中の TH かく乱化学物質 (TDC) の評価にはアフリカツメガエルの変態試験 (OECD TG231) が用いられているが、この試験系は四肢伸長など形態変化の観察に依存しており、判定が主観的で感度が低く、両生類以外の脊椎動物に外挿できないという課題がある。また、TH かく乱による「生殖」への影響を直接検出できる系は存在せず、魚類を含む多くの分類群において、普遍的に適用できる明確な有害影響指標が欠如している。本研究では、CRISPR/Cas9 により甲状腺刺激ホルモン β サブユニット a を欠損させたメダカ ($\Delta tshba$) を作出し、遺伝学的に TH を低下させた状態で生殖機能に及ぼす影響を解析した。 $\Delta tshba$ 個体はいずれの性においても生殖腺が小型かつ未成熟であり、二次性徴 (SSC) を欠如し、交尾行動を示さず不妊であった。エストラジオール-17 β および 11-ケトテストステロン濃度は野生型と同等であったことから、ステロイド合成そのものではなく、標的組織におけるエストロゲン受容体および TH 受容体の発現低下により、ステロイド応答性が失われたことが示唆された。さらに L-チロキシン (T4) を連続補充することで、生殖腺発達・SSC・交尾行動・受精能の全てが完全に回復したことから、TH 欠損が生殖不全の直接的原因であることを実証した。本研究は、生殖成熟を指標とした新たな高感度 TDC 評価系の確立に資するものである。

¹ Myosho et al. ES&T (2022)

Causal Evaluation of Thyroid Hormone-Dependent Reproductive Impairment via Thyroid-Stimulating Hormone beta a Knockout and T4 Rescue in Medaka

Taijun Myosho^{1,2}, Tohru Kobayashi^{1,2}

¹ Graduate School of Pharmaceutical and Nutritional Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka, Japan,

² Laboratory of Molecular Reproductive Biology, Institute for Environmental Sciences,
University of Shizuoka, Shizuoka, Japan

Thyroid hormones (THs) are essential for development and metabolism, yet their role in reproductive maturation remains unclear. Current assessment of thyroid-disrupting chemicals (TDCs) relies on the amphibian metamorphosis assay (OECD TG231), which depends on morphology-based observations and lacks sensitivity and cross-species applicability, particularly to fish. Moreover, no test system directly detects the reproductive consequences of TH disruption. Here, we generated medaka (*Oryzias latipes*) lacking the thyroid-stimulating hormone β subunit a ($\Delta tshba$) via CRISPR/Cas9 to evaluate the causal role of TH in reproduction. Both sexes of $\Delta tshba$ mutants displayed small, immature gonads, lacked secondary sexual characteristics, exhibited no mating behavior, and were infertile. Estradiol-17 β and 11-ketotestosterone levels were comparable to wild type, suggesting reproductive failure was not due to impaired steroid synthesis. Instead, reduced expression of estrogen and TH receptors in target tissues implied a loss of steroid responsiveness. Continuous L-thyroxine (T4) supplementation completely restored gonadal development, mating behavior, and fertility, demonstrating that TH deficiency directly causes reproductive impairment. These findings identify reproductive dysfunction as a robust and quantifiable endpoint of TH disruption and provide a basis for establishing a high-sensitivity TDC evaluation system in fish.

¹ Myosho et al. ES&T (2022)

エピジェネティック毒性から見た生殖発生毒性試験

○澁谷 徹、堀谷 幸治
環境エピジェネティクス研究所

エピジェネティクス Waddington(1942) によって提唱された、遺伝学と発生学を統合する生物学の重要な概念である。彼はエピジェネティクスによって、動物の一個の受精卵から細胞分化を伴った個体発生を、環境による高度な遺伝子発現調節の結果として説明した。

生殖発生毒性試験は、試験物質による個体発生や世代間におけるさまざまな生殖毒性現象を検証することがその目的である。そのために生殖発生毒性試験においては、試験物質によるさまざまなエピジェネティック変異による「エピジェネティック毒性」が深く関与していることは自明である。

近年 Golding(2023) によって「エピ催奇形性：Epiteratogen」という概念が提唱されている。これは受精前の卵子や精子の形成過程における、環境因子によるエピジェネティック変異が、次世代以降の子孫において、形態および機能的な毒性を示すという現象である。さらに親世代のエピジェネティック変異が、その子の生後において、健康や疾患に影響を与えるという学説：DOHaD説(Barker, 1968)においても、受精前の父系あるいは母系生殖細胞の変異による、Paternal/Maternal Origin of Health and Disease (P/MOHaD) の重要性も認識されてきており、これらにも親世代の生殖細胞のエピジェネティック変異が関与していることが示唆されている。

さらに、連続交配試験において、試験物質にばく露されていない世代においても、何らかの毒性事象が観察されるという「経世代エピジェネティック遺伝：Transgenerational Epigenetic Inheritance (TEI)」という現象も知られてきている (Skinner, 2018)。これは生殖細胞における、エピジェネティック変異が誘発されることが原因である。以上のことから、生殖発生毒性試験は、今後「エピジェネティック毒性」の立場から再構築することが必要であろう。

Reproductive toxicity tests on the standpoint of Epigenetic toxicities

Tohru Shibuya, Yuki Haru Horiya
Laboratory of Environmental Epigenetics, Japan

Epigenetics is a biological concept to combine genetics and development of animals through gene expression by internal and environmental factors, which issued by Waddington (1942). An animal was developed from a fertilized egg through division and differentiation of cells under the control of genetic expression influenced by environment, epigenetics.

“Reproductive toxicity tests” aim to estimate the side effects of the test substance to humans on the development and generational problems before introduction. Therefore, it might be supposed that “Epigenetic toxicity” are very important to the reproductive toxicity tests.

Recently, Golding (2023) proposed a concept of “Epiteratogen”, which explain the teratogenesis induce by epigenetic mutations of male and/or female germ cell development before implantation. Environmental epigenetic mutation may induce various morphological and/or physical disturbance of offsprings. Furthermore, “Developmental Origin of Heath and Disease (DOHaD)”, which explain the health and disease may be decided from the environmental factors of embryos (Barker, 1968). On the DOHaD theory, “paternal/maternal Origin of Health and Disease (P/M OHaD)”, which explain the importance of epigenetic mutations of sperm or egg on various animals including human.

Furthermore, “Transgenerational Epigenetic Inheritance : TEI” induced by various environmental factors have been issued by Skinner (2018). TEI is a phenomenon which showed any toxic effect on the offsprings which are not exposed to environmental factors in the successive reproductive matings. So, it is very important to re-construct “Reproductive toxicity tests” on the stand point of “epigenetic toxicity”.

03-1

ベトナム枯葉剤汚染地における臍帯血液中ホルモン濃度と新生児の先天性代謝異常疾患

○尾山 木綿子¹, Khanh Nguyen², Nguyen Thanh Hai², Xuyen Thi Nguyen³, Le Thai Anh², Nam Duc Vu³, Chi Van Vo⁴, 中山 祥嗣⁵, 城戸 照彦⁶, 溝上 敦⁶, 板谷 智也⁷, 本間 誠次郎^{2,6}

¹東京純心大学、²ベトナム国家大学、³ベトナムアカデミー、

⁴フーカット医療センター（ビンデン省）、⁵国立環境研究所、⁶金沢大学、⁷宮崎大学

（背景・目的）：胎生期の内分泌は胎児の発育・成長に重要な役割を果たしている。胎児の成長障害として出生時の低体重児、臓器成熟障害として先天性副腎過形成（CAH）や性分化疾患（DSD）がある。ベトナム・ダイオキシン汚染地区で出生時の低体重児や性分化障害が報告されている。我々は胎児ホルモン環境と出生児の異常との関係性を評価する目的で、臍帯血液中のステロイドホルモンに着目した。

（方法）：ダイオキシン汚染地区で出生時の臍帯血液を採取、血液中のステロイドホルモンは液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析計（LC-MS/MS）による一斉分析法で測定。注目したホルモンは Cortisol(F)の前駆物質（21-Deoxy F および 11-Deoxy F 等の 8 種）および性ホルモン（Testosterone, Dihydrotestosterone や Estriol 等の 9 種類）である。胎児のみで生成する 16-OH Dehydroepiandrosterone（16-OH DHEA）にも注目した。ダイオキシン汚染地区と非汚染地区との区別は出産した母親の母乳中ダイオキシン濃度から判定した。

（結果）：CAH 疾患は Cortisol 前駆体の濃度から、DSD 疾患は性ホルモン濃度から推定した。CAH の割合は約 4%、DSD は 2% であり、それらの発生に地域差を認めた。一方、胎児のみで生成する 16-OH DHEA は新生児の体重と正の相関を認めた。臍帯血液中のホルモン濃度は新生児の先天性代謝異常を評価する有益な方法の一つである。

Umbilical cord blood hormone concentrations and congenital metabolic disorders in newborns in Agent Orange-contaminated areas of Vietnam

○ Oyama Y¹, Khanh Nguyen², Nguyen Thanh Hai², Xuyen Thi Nguyen³, Le Thai Anh², Nam Duc Vu³, Chi Van Vo⁴, Nakayama S⁵, Kido T⁶, Mizokami A⁶, Itatani T⁷, Honma S^{2,6}

¹Tokyo Junshin Univ, ²Vietnam National University, ³Vietnam Academy, ⁴Phu Cat Health Centre, ⁵National Env Research, ⁶Kanazawa Univ, ⁷Miyazaki Univ

(Background/Objective): Fetal endocrine secretion plays an important role in fetal development and growth. Fetal growth disorders include low birth weight and organ maturation disorders such as congenital adrenal hyperplasia (CAH) and disorders of sex development (DSD). Low birth weight and disorders of sex development have been reported in dioxin-contaminated areas of Vietnam. We focused on steroid hormones in umbilical cord blood to evaluate the relationship between fetal hormonal environment and fetal abnormalities.

(Method): Umbilical cord blood was collected at birth in dioxin-contaminated areas, and steroid hormones in the blood were measured using a simultaneous analysis method using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The hormones of interest were cortisol (F) precursors (eight types, including 21-deoxy F and 11-deoxy F) and sex hormones (nine types, including testosterone, dihydrotestosterone and estriol). We also focused on 16-OH dehydroepiandrosterone (16-OH DHEA), which is produced exclusively in the fetus. The distinction between dioxin-contaminated and non-contaminated areas was determined by the dioxin concentration in the breast milk of mothers who gave birth.

(Results): CAH disease was estimated from the concentration of cortisol precursors, and DSD disease from sex hormone concentrations. The rate of CAH was approximately 4% and DSD was 2%, with regional differences in their occurrence. The 16-OH DHEA, which is produced only in the fetus, showed a positive correlation with the weight of the newborn. Hormone assay in umbilical cord blood is one of the useful methods for evaluating congenital metabolic disorders in newborns.

農薬再評価、新規農薬登録におけるリスク評価の課題

木村－黒田 純子
環境脳神経科学情報センター

2018年の農薬取締法改訂において、農薬の登録審査において見直しが行われた。このうち以下の重要な3つの課題について、進捗状況の概要を報告する。

1. 農薬再評価：従来使われてきた農薬の再評価が進んでいる。これまで農薬は一旦登録されると、3年毎に形式的に再登録されてきたが、再評価では最新の科学情報として公表文献が使われるようになった。しかし公表文献の収集・選択・評価の主体は、再評価を受ける当事者の農薬企業となっている。文献を一般からも募集するシステムが後から導入されたが、本来、利益相反のない第三者が主体となって文献報告書を作成することが必要だ。さらに各リスク評価機関において、収集された公表文献が適切に透明性をもって評価に使用されているのか、確認する必要がある。
2. 登録審査で見直された項目：農薬取締法改訂では、農薬使用者（農業従事者）への影響が新たに設けられ、動植物に対する影響評価の充実などが取り入れられ、生態系への環境影響も見直された。とくに、ミツバチや生物多様性への影響が懸念されているネオニコチノイドなど浸透性農薬のリスク評価がどう進んでいるか、各評価機関の公表資料を紹介する。
3. PFAS農薬の課題：農薬においても、最近社会問題となっている有機フッ素化合物PFASに属する成分が多種類使用されているが、PFASの難分解性などがリスク評価で考慮されているだろうか。農薬に使用される補助成分にPFASが使用されている可能性もあるが、実態は不明である。農薬は環境中に放出され回収が不可能であるため、今後の重要な課題となる。

Scientific issues in Risk Assessment for Pesticide Re-evaluation and New Pesticide Registration

Junko Kimura-Kuroda

Environmental Neuroscience Information Center

The 2018 revision of the Pesticide Control introduced reforms to the pesticide registration review process. This report outlines progress on the following three key issues:

1. Pesticide Re-evaluation: Re-evaluation of existing pesticides is ongoing. Previously, once registered, pesticides underwent formal re-registration every three years. Under the new re-evaluation system, published literature is now used as the latest scientific information. However, the collection, selection, and evaluation of published literature are currently performed by the pesticide companies themselves. While a system to solicit literature from the general public was introduced later, it is considered necessary for third parties, free from conflicts of interest, to take the lead in preparing literature reports. Furthermore, it is essential to verify whether the collected published literature is being used appropriately and transparently in the risk assessments conducted by each risk assessment agency.
2. Items reviewed during registration screening: The revision of the Pesticide Control Law introduced new provisions regarding impacts on pesticide users (agricultural workers), enhanced evaluations of effects on plants and animals, and reassessed environmental impacts on ecosystems. This section introduces publicly available materials from each evaluation body, focusing on how risk assessments are progressing for systemic pesticides like neonicotinoids, which raise concerns about impacts on honeybees and biodiversity.
3. Issues with PFAS Pesticides: Many types of components belonging to PFAS, which have recently become a social issue, are also used in pesticides. However, are PFAS characteristics like their persistent nature being considered in risk assessments? PFAS may also be used in adjuvants within pesticides, but the actual situation is unclear. Since pesticides are released to the environment and cannot be collected, this represents a critical challenge for the future.

03-3

因果推論の科学、反応論、用量反応曲線の適用による自閉症など発達障害児をもたらす主な原因である農薬の特定、無毒性量(NOEL), 一日摂取許容量(ADI) の算定

○橋本 正則 理学博士
MS パフォーマンス研究所

農薬汚染は、子どもを含む最も脆弱な脳で高次脳機能の発達を侵害し、自閉症などの発達障害の増加をもたらした主な原因である可能性がある」と指摘されている 1)。原因となる農薬を特定し、その許容レベルを明らかにするために、文部科学省「令和5年度通級による指導実施状況調査」及び消費者庁「令和3年度 食品中の残留農薬等の一日摂取量調査結果」に因果推論の科学、反応速度論、用量反応曲線を適用した。

結果：因果ダイアグラム 2) を作成し、上記報告書中の 16 種類の農薬の因果関係を検証した。グリホサートの国内出荷量と障害児童生徒数の関係は、上記報告書中の他の 15 農薬とは異なり、3 種類の異なるタイプの因果関係を示した。自閉症、学習障害、注意欠陥・移動障害は閾値を有するタイプである事がわかった。無毒性量は、国内出荷量 3,607t/年である。安全係数 3) 10 と現在の平均一日摂取量を考慮すると、一日摂取許容量 (ADI) は $0.416 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ と算出される。

1) 発達障害の原因と病態、黒田洋一郎・木村順子著、河出書房新社、2014 年 5 月、242 頁

2) 因果推論の科学、ジューディア・パール、ダナ・マッケンジー著、松尾豊監修・解説、夏目大訳、文藝春秋、2022 年 9 月 22 頁

3) 環境リスクマネジメントハンドブック、中西順子・賀茂正志・岸本充・宮本憲一編、朝倉書店、2003 年 6 月、232 頁

Identifying pesticides that are the main cause of autism and other developmental disorders and calculating NOEL, ADI through the application of the science of causal inference, kinetics, and dose-response curves.

Masanori HASHIMOTO Doctor of Science

MS Performance Lab

Pesticide contamination has been pointed out as potentially a major cause of the increase in developmental disorders such as autism, impairing the development of higher brain functions in the most vulnerable brain regions, including children. 1) To identify the causal pesticides and clarify their acceptable levels, we applied causal inference 2), kinetics, and dose-response curves to the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology's "FY2023 Survey on the Implementation of Part-Time Classroom Instruction" and the Consumer Affairs Agency's "FY2021 Survey on Daily Intake of Pesticide Residues in Food."

Results: We created a causal diagram 2) and verified the causal relationships of the 16 pesticides listed in the report. The relationship between domestic shipments of glyphosate and the number of children with disabilities showed three distinct types of causal relationships, unlike the other 15 pesticides listed in the report. Autism, learning disabilities, and attention deficit/motivation disorders were found to be threshold-specific. The no-observed-toxicity level (NOEL) was 3,607 t/year for domestic shipments. Taking into account the safety factor 3) of 10 and the current average daily intake, ADI is calculated to be $0.416 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$.

1) Causes and Pathogenesis of Developmental Disorders, by Yoichiro Kuroda and Junko Kimura, Kawade Shobo Shinsha, May 2014, 242 pages

2) The Science of Causal Inference, by Judea Pearl Dana McKenzie, supervised and annotated by Yutaka Matsuo, translated by Dai Natsume, Bungeishunju, September 2022 22pages

3) Environmental Risk Management Handbook, edited by Junko Nakanishi, Masashi Kamo, Mitsuru Kishimoto, and Kenichi Miyamoto, Asakura Shoten, June 2003, 232 pages

複合汚染の現在と今後 — 生殖機能・神経発達・呼吸器疾患への長期的影響を中心に —

○曾根 秀子¹、加藤 毅²

¹横浜薬科大学大学院薬学研究科、²群馬大学情報学部

環境中には内分泌かく乱作用を有する化学物質に加え、農薬や重金属など多様な汚染物質が共存しており、複合汚染としての健康影響が存在している。これらの物質は単独では安全基準内であっても、低用量での複合曝露により相加・相乗的な毒性を示す可能性がある。特に、生殖機能、神経発達、呼吸器疾患への長期的影響の報告が蓄積されつつある。本研究の目的は、複合汚染の現状を整理し、これら主要な生体機能への影響と今後の課題を明らかにすることである。方法は、2015～2025年に報告された国内外の研究を対象に、農薬・重金属・内分泌かく乱化学物質の複合曝露と生体影響に関する文献を系統的にレビューした。加えて、環境省、WHO、ECHAの公開データを用い、水質・土壌・大気中の汚染実態を整理し、地域別・世代別の暴露特性を比較検討した。その結果、農薬残留物（有機リン系、ネオニコチノイド系）と重金属（カドミウム、鉛、ヒ素）の併存が広範囲で確認された。実験的複合曝露モデルにおいては、性ホルモン受容体の異常発現、神経細胞分化の抑制、酸化ストレスによる呼吸器組織障害が認められた。疫学的には、複合汚染地域において不妊症・発達障害・肺がんおよび肺線維症の発症率上昇が示唆された。複合汚染は、内分泌かく乱作用を基盤として、生殖・神経・呼吸系にわたる慢性的・世代間の影響を及ぼす可能性がある。今後は、相乗・拮抗作用を考慮した統合毒性評価モデルの確立、ライフステージ別曝露リスク評価、多経路・多成分を対象とした長期モニタリングが必要である。環境ホルモン学は単一物質中心の枠を超え、複合影響の科学的可視化と健康影響予測の高度化を進める新たな段階に入っている。

The Current Status and Future Perspectives of Combined Pollution

Hideko Sone¹, Tsuyoshi Kato²

¹Yokohama University of Pharmacy, ² Faculty of Informatics, Gunma University

Environmental media contain a variety of contaminants, including endocrine-disrupting chemicals, pesticides, and heavy metals, which coexist as complex mixtures and exert combined effects on human health. Even at concentrations below individual safety thresholds, these substances may exhibit additive or synergistic toxicities through low-dose combined exposure. In particular, growing evidence suggests long-term impacts on reproductive function, neurodevelopment, and respiratory diseases. The objective of this study was to review the current state of combined pollution and to elucidate its major biological effects and future research challenges. A systematic review was conducted on domestic and international studies published between 2015 and 2025 addressing combined exposure to pesticides, heavy metals, and endocrine-disrupting chemicals and their biological effects. In addition, public datasets from the Ministry of the Environment (Japan), WHO, and ECHA were analyzed to assess contamination levels in water, soil, and air, and to compare exposure characteristics across regions and generations. As a result, the coexistence of pesticide residues (organophosphates, neonicotinoids) and heavy metals (cadmium, lead, arsenic) was confirmed across wide areas. Experimental combined exposure models demonstrated abnormal expression of sex hormone receptors, inhibition of neuronal differentiation, and oxidative stress-induced respiratory tissue damage. Epidemiological evidence suggested increased incidence rates of infertility, developmental disorders, lung cancer, and pulmonary fibrosis in regions with combined pollution. These findings indicate that combined pollution, based on endocrine-disrupting mechanisms, may exert chronic and transgenerational effects on reproductive, neural, and respiratory systems. Future efforts should focus on establishing integrated toxicological models that account for synergistic and antagonistic interactions, developing life stage-specific exposure assessments, and implementing long-term monitoring of multi-route, multi-component exposures. Environmental endocrinology is now entering a new stage beyond single-substance evaluation, aiming for scientific visualization and advanced prediction of complex exposure effects.