



Endocrine Disruptor Regulation in the United States 米国における環境ホルモン規制

Bruce Blumberg, Ph.D.

Department of Developmental and Cell Biology

Department of Pharmaceutical Sciences

Department of Biomedical Engineering

University of California, Irvine

ブルース・ブルームバーグ

カリフォルニア大学アーバイン校 生医学工学センター

薬学科／発達細胞生物学科

Main Points

要点

- 内分泌攪乱物質（環境ホルモン、EDC）を規制する理由
- EDC曝露がもたらす影響
- 最新の研究成果のEDCリスク評価への反映
- スクリーニングに関する昨今の取り組みの有効性
- 有毒化学物質問題に対する解決策

Non-communicable Diseases On the Rise

増加傾向にある非伝染性疾患

- 白血病、脳腫瘍：1975年から現在まで20%超の増加
- ぜんそく：1980年から1995年の間に倍増し、なおも増加したまま
- 受胎・妊娠維持障害：1982年から2002年までに40%増（18～25歳女性では倍増）
- 自閉症診断：最近30年間で1000%増加
- 肥満：米国では最近40年間で3倍、世界的には最近20年間で倍増



- 毎年3500万人の死亡原因
- 世界の全死亡数の60%（80%は発展途上国）

根本原因は何か？ 遺伝ではないことは明らか…

We all Carry a Chemical Body Burden

誰もが化学物質の体負担

- 臍帯血
- 試験
- 以
- 母
- C
-
-
- PFC
- PBDE
- トリクロサン
- PCB 100%

- 子宮内で化学物質が検出されたからといって害を及ぼすとは限らない
- しかし、妊婦が知らないうちに何百もの人工化学物質で汚染されていることは否定できない
- 化学物質は害を及ぼす可能性がある
- 実際その害は人体に及んでいる



Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)

内分泌攪乱物質(環境ホルモン)(EDC)

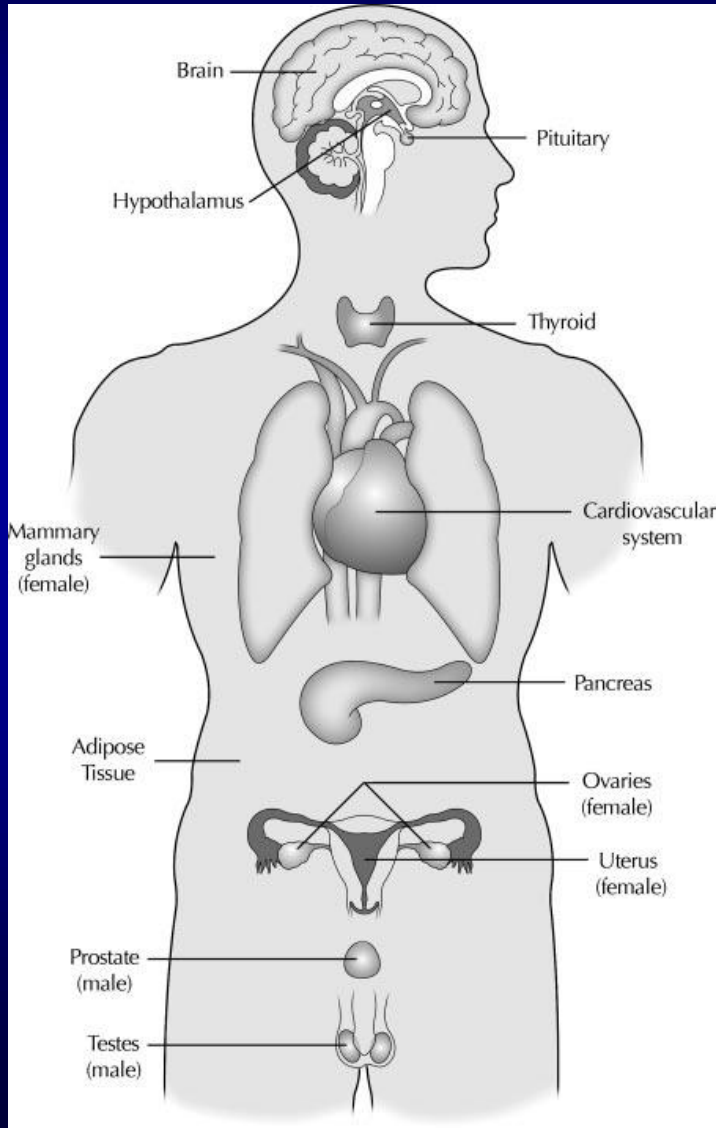
- 「EDCとは、恒常性の維持と発達過程の調整を司る天然ホルモンの産生、放出、輸送、代謝、結合、作用、排出を阻害する外因性の原因物質であり、有機体・子孫・亜母集団に悪影響をもたらす」(Kavlock – 米国環境保護庁)
 - 内分泌攪乱はそれ自体が有害影響なのではなく、発がん性、生殖毒性、発達への影響など別の悪影響を招く可能性のある作用機序である。
- 「環境ホルモンとは、内分泌系の機能を変化させて、正常な有機体、その子孫あるいは(亜)母集団の健康に悪影響をもたらす外因性物質またはその混合物のことである。」(WHO/IPCS 2002年)
- 「内分泌攪乱物質－ホルモン作用を阻害する外因性化学物質またはその混合物」
内分泌学会、2012年

Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)

affect many organ systems

内分泌攪乱物質(環境ホルモン)(EDC)

多くの臓器系に作用



- 「内分泌攪乱物質—ホルモン作用を阻害する外因性化学物質またはその混合物」
- 内分泌学会、2012年
 - 間違った信号、信号の喪失、不適切な伝達場所とタイミング
 - ホルモン同様にEDCも低濃度で作用
- EDCに曝露する機会
 - 残留性汚染物質(POP)
 - 食事成分(農薬)
 - パーソナルケア製品
 - 洗剤
 - 食品包装

Endocrine-Disrupting Chemicals

An Endocrine Society Scientific Statement

Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T. and Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* 30, 293-342.



- EDC曝露が生殖機能の有害転帰をもたらすことを示す有力な証拠
 - 甲状腺、神経内分泌、肥満、代謝、インスリン／グルコース恒常性への影響を示す数々の証拠
- ヒトの内分泌系疾患と環境汚染物質曝露との関連性はほとんど解明されておらず、科学的論争の的となっている (Kavlockら、1996年、EPA、1997年)
- 欧州議会 (2013年3月15日) が欧州委員会に、2015年6月までにEDC使用の禁止／制限を提示するよう指示
 - (賛成489、反対102)

Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) 内分泌攪乱物質 (EDC)

農薬

アラクロール
アミトロール

除草剤

ニトロフェン
トリフルラリン

殺菌剤

エチレンチオウレア
フェナリモル
ヘキサクロロベンゼン

溶剤

トリブチルスズ
ピンクロゾリン
ジネブ

金属

難燃剤

カルバリル
クロルデン

産業排水

ディルドリン
DDTおよびその代謝物

表面保護剤

マフナオン
メミル
トキシクロル

日焼け防止剤

トランスノナクロル
トキサフェン

プラスチック

ブチルヒドロキシアニソール(BHA)
カドミウム

可塑剤

鉛
マンガン

化粧品

PBDE
PCB
ペンタクロロフェノール

1,000を超える EDC

p-tert-ペンチルフェノール
フタル酸エステル
スチレン

テストステロン合成阻害物質
甲状腺ホルモン攪乱物質

エストロゲン受容体作動物質
アンドロゲン受容体拮抗物質

EDCs are in many personal care products

多くのパーソナルケア製品に含まれるEDC

SHAMPOO

AVERAGE NO. OF CHEMICALS MOST WORRY: Lauryl Sulphate and Propylene Glycol
POSSIBLE SIDE EFFECTS: Irritation; possible damage.

EYE SHAMPOO

CHEMICALS MOST WORRY: Polyethylene glycol
POSSIBLE SIDE EFFECTS: Linked to cancer; infertility; hormonal disruptions to the body

LIPSTICK

CHEMICALS MOST WORRY: Polymethyl methacrylate
POSSIBLE SIDE EFFECTS: Allergies; linked to cancer.

NAIL VARNISH

CHEMICALS MOST WORRY: Formaldehyde
POSSIBLE SIDE EFFECTS: to fertility is in development

PERFUME

CHEMICALS MOST WORRY: Phthalates
POSSIBLE SIDE EFFECTS: to mouth, throat; nausea; linked to cancer.

FAKE TANNING

CHEMICALS MOST WORRY: Ethylparaben, Methylparaben, Propylparaben
POSSIBLE SIDE EFFECTS: Rashes; irritation; disruption.

RICK SMITH / BRUCE LOURIE

SLOW DEATH BY RUBBER DUCK



HOW THE TOXIC CHEMISTRY OF EVERYDAY LIFE AFFECTS OUR HEALTH

ate,
Allergies;
throat;
to changes

6
NG:
s,
en,
in.
:-
es;

N
G:
thacrylate.
EFFECTS:
pts immune
cancer.

propyl
TS:
is and
ziness;
is.

I

col,
nd in

EFFECTS:
;
rtion.

Not everyone agrees about the hazards of EDCs (e.g., industry stakeholders)

共通認識とはなっていないEDCの危険性
(業界関係者などは否定的)



Recent trends in select reproductive disease, disorders and function

代表的な生殖器系疾患・障害・機能に関する最近の動向

生殖疾患・障害	参考資料
↑ 精巣腫瘍	20] 21]
特定の小児癌	22]
自閉症	23]
注意欠陥・多動性障害	24]
先天性異常 停留精巣	25]

- EDCが有害な影響を及ぼすという確信はどうすれば得られるか？

- 少量の化学物質が及ぼす非単調な影響は常識や理屈では測れない。

- 動物実験の結果は信頼に足るか？



Developmental Origins of Health and Disease

健康と疾患の発生的起源

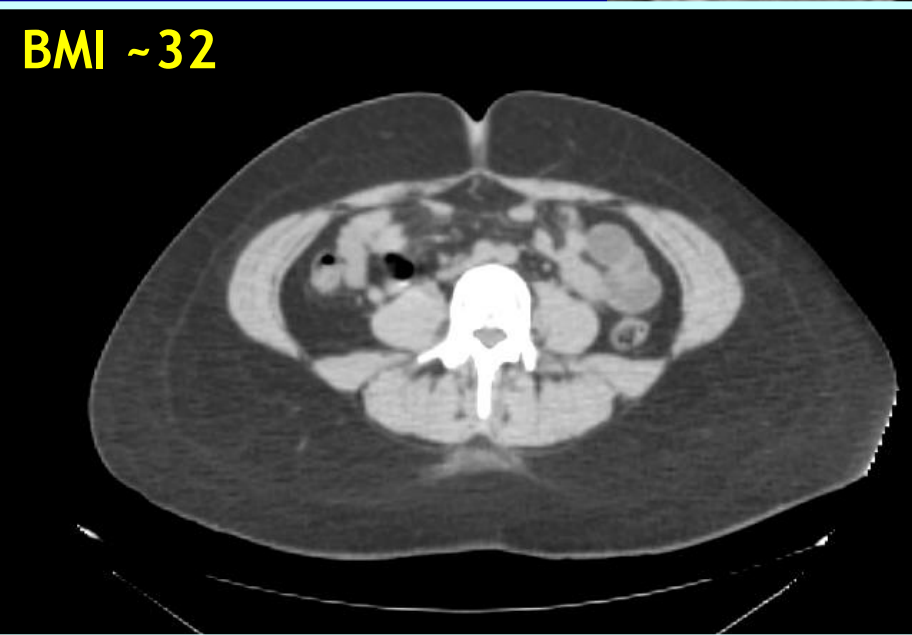
- **健康と疾患の発生的起源 (DOHaD) (Barker/Hanson)** — 発達過程は健康および疾患感受性の永続的変化をもたらす変動に対して非常に敏感
 - 胎児期の成長不良と高齢期の慢性疾患との間に強い関連性
 - 糖尿病、肥満、心血管疾患
- **発達プログラミングは青年期まで継続**
 - Överkalixの研究(スウェーデン)によると、思春期前の栄養状態が父系の孫の寿命に影響
 - 脂肪細胞数のプログラミングは青年期まで継続
- **発生的起源をもつ疾患(動物モデル)**
 - 心血管疾患、肺疾患(ぜんそく)
 - 神経疾患(ADHD、神経変性疾患)
 - 免疫疾患／自己免疫疾患
 - 内分泌疾患、生殖器系疾患、がん
 - 肥満、糖尿病

感受性の高い発達期に受けた影響は永続的に存続

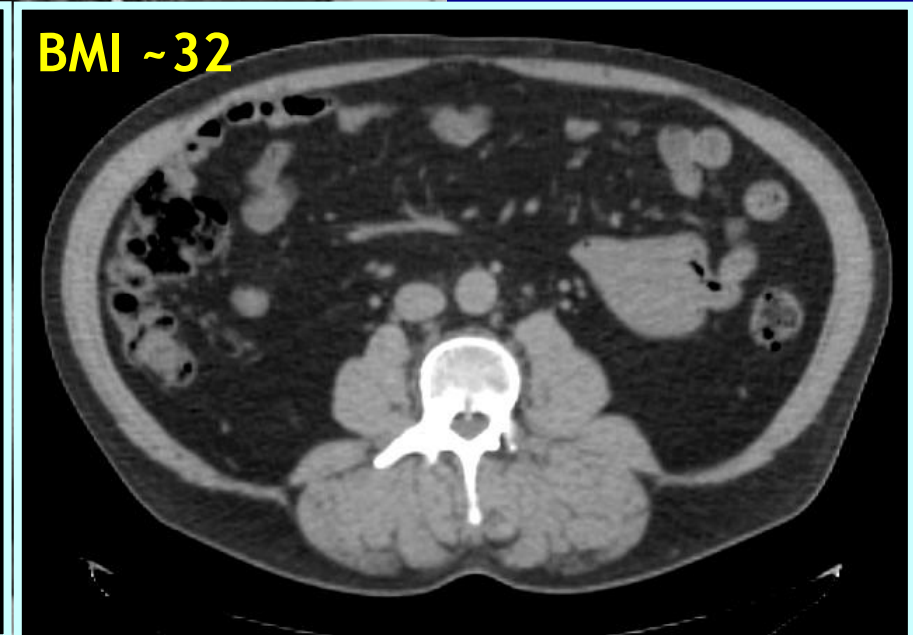
The Worldwide Obesity Epidemic

世界的な肥満の蔓延

- 米国民の35%超が臨床上の肥満 (BMIが30超)
 - 世界平均の2倍 (Flegal et al. JAMA 2010;303:235-241)
- 68%が体重過多 (BMIが25超) – 推定では2020年までに86%に



皮下肥満
適応



内臓型肥満
病的



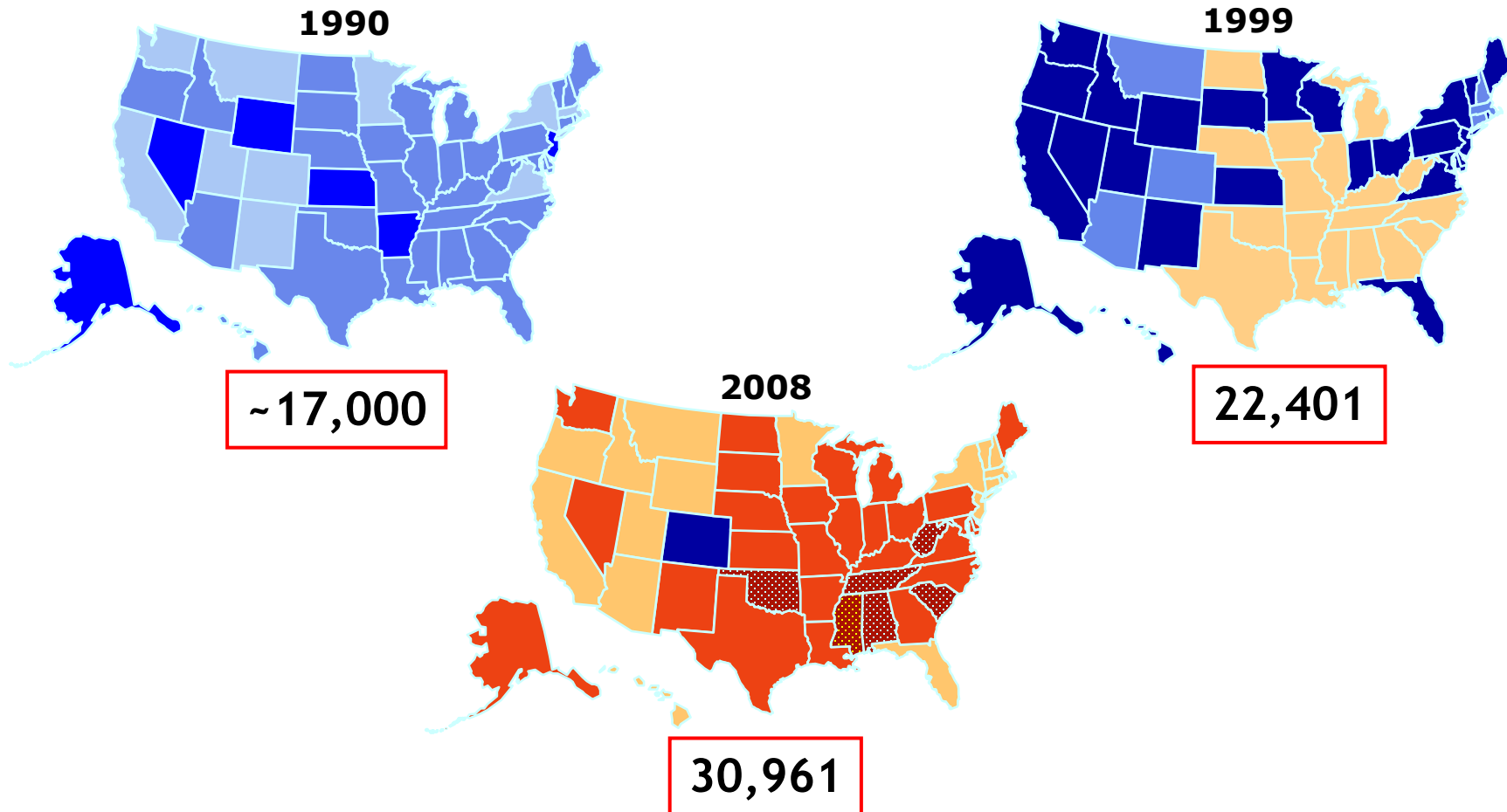
Obesity Trends* Among U.S. Adults

BRFSS, 1990, 1999, 2008

米国成人の肥満の動向*

BRFSS (1990年、1999年、2008年)

(*BMI 30以上 / 身長5フィート4インチ[約163cm]の人で約30ポンド[約13.6kg]の体重過多)



出典: CDC (地図)、米国国勢調査局(数値)

The Worldwide Obesity Epidemic

世界的な肥満の蔓延

- 米国民の35%超が臨床上の肥満 (BMIが30超)
 - 世界平均の2倍 (Flegal et al. JAMA 2010;303:235-241)
- 68%が体重過多 (BMIが25超) – 推定では2020年までに86%に
- 肥満対策が医療費の非常に大きな部分を占める
 - 米国では年間857億ドル (2005年)、1470億ドル (2009年)
 - 新たなモデル (J. Health Economics, 2012) – 2097億ドル (2008年)
 - 米国の医療費の20.6%
- 肥満は次の疾患の増加に関連
 - メタボリック症候群 → 2型糖尿病
 - 心血管疾患
 - 高血圧症
 - 脳卒中

How does obesity occur ?

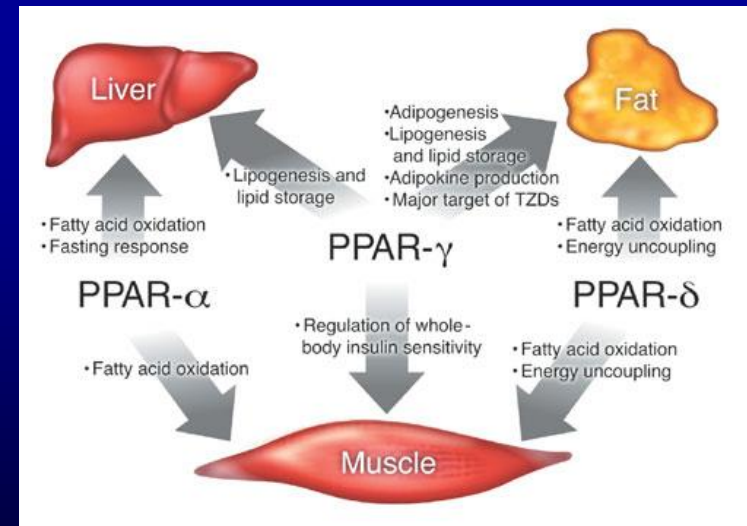
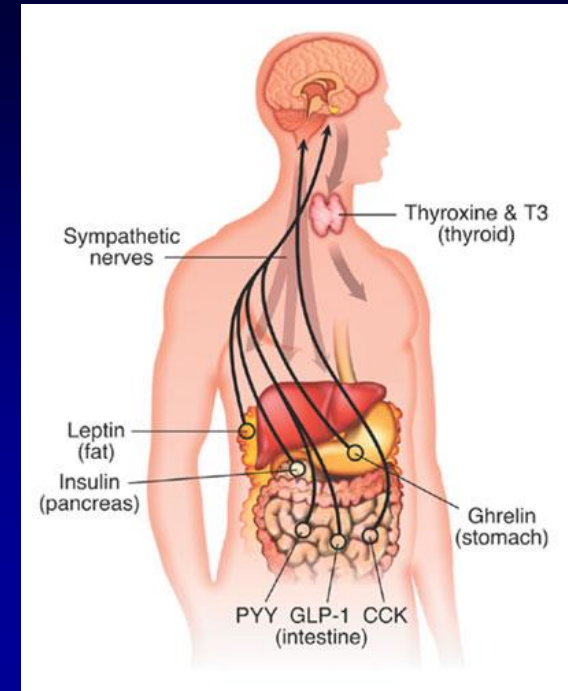
肥満の原因

- 一般的社会常識—「カウチポテト症候群」
 - エネルギー収支がプラス＝食べ過ぎ、運動不足
- 肥満を招くその他の要因
 - ストレス(糖質コルチコイドの上昇)
 - 睡眠不足(ストレス?)
 - 乏しいカロリーを最大限に活用するように進化した「儉約」遺伝子
 - ウイルス、腸内細菌、SNP
- 出生前栄養摂取／子宮内経験の影響
 - サウサンプトン大学の研究
 - 妊婦の喫煙に起因する出生体重の低下と肥満の増加
- 工業化学物質が肥満増加に及ぼす影響
 - Baillie-Hamilton (2002) が化学的毒素の影響を主張
 - 肥満の蔓延は化学物質使用量の増加とほぼ相関
 - Heindel (2003) 「Endocrine Disruptors and the Obesity Epidemic(内分泌攪乱物質と肥満の蔓延)」
- **化学物質の多くが内分泌系に影響を及ぼす**

Hormonal control of weight

ホルモンによる体重制御

- 食欲と代謝をホルモンが制御
 - レプチン、アディポネクチン、グレリンが主要な役割
 - レプチン、アディポネクチン - 脂肪細胞
 - グレリン - 胃
 - 甲状腺ホルモン / 受容体
 - 基礎代謝率を決定
- 脂肪細胞の発生と脂質バランスをホルモンが制御
 - 核内ホルモン受容体RXRとPPAR γ により制御
 - PPAR γ - 脂肪細胞の発生を制御する主要な受容体
 - 脂肪細胞の分化を増進
 - 既存細胞の蓄積を増大
 - インスリン感受性を亢進



Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs)

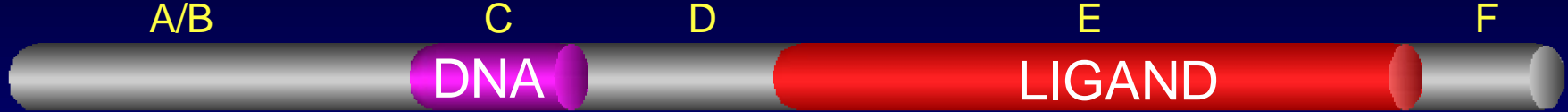
内分泌攪乱物質 (EDC)



- EDC媒介の内分泌信号伝達経路の混乱は、脂質生成や肥満に関与しているか

The Nuclear Hormone Receptor Superfamily

核ホルモン受容体スーパーファミリー



既知の受容体

旧知の受容体(生化学)

GR	コルチゾル
MR	アルドステロン
→ AR	テストステロン
PR	黄体ホルモン
→ ER α, β	エストラジオール
VDR	1,25-(OH) ₂ ビタミンD3
→ TR α, β	トリヨードチロニン
EcR	20-OHエクジソン

リガンドが同定された(元)オーファン受容体

RAR α, β, γ	全トランス型レチノイン酸
→ RXR α, β, γ	9- <i>cis</i> レチノイン酸
→ PPAR α, β, γ	脂肪酸、エイコサノイド
LXR α, β	オキシステロール
FXR α, β	胆汁酸
BXR α, β	安息香酸

リガンドがほぼ同定されているオーファン受容体(天然リガンド?)

CAR	アンドロスタン、生体異物
SXR/PXR	ステロイド、生体異物

オーファン受容体

脊椎動物

TR-2 α, β	DHR78
NGFI-B α, β, γ	DHR38
ROR α, β, γ	DHR3
Rev-erb α, β	E75, E78
SF-1 α, β	FTZ-F1 α, β
COUP α, β, γ	<i>svp</i>
HNF-4 α, β	HNF-4
Tlx α, β	<i>tll</i>

ショウジョウバエ

未知のホモログ

ERR α, β, γ	knirps
DAX-1	knirps関連
SHP	胚性腺
GCNF	DHR96

線虫の一種

キロショウジョウバエ
ホモ・サビエンス
シロイヌナズナ

核内受容体: ~250
核内受容体: ~20
遺伝子: ~48
ファミリーなし

EDCs and the obesogen hypothesis

EDCとオビースゲン仮説

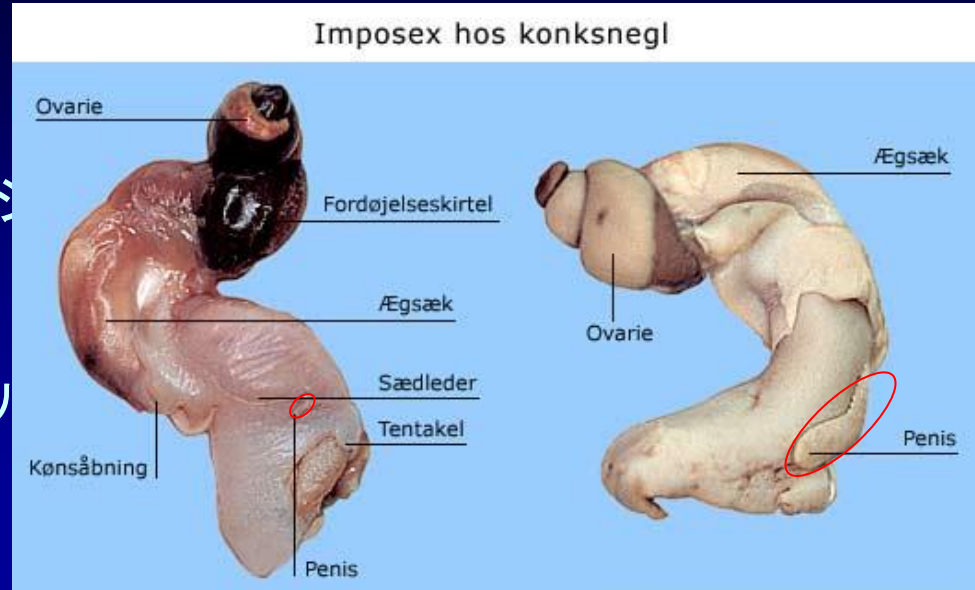
- **オビースゲン** - 脂質生成と脂肪蓄積を不適切に刺激、脂肪組織の恒常性を阻害、あるいは食欲／満腹感の制御を改変して、体重増加や肥満を引き起こす化学物質
- 環境エストロゲン(ER)などのEDCへの出生前／出生後曝露により体重が増加
 - DES、ゲニステイン、ビスフェノールA
- チアゾリジンジオン抗糖尿病薬(PPAR γ)
 - 全年齢のヒトで脂肪蓄積と脂肪細胞数が増加
- 尿中フタル酸濃度とヒトの胴囲およびインスリン抵抗性との間に相関関係
 - 疫学的研究では多くの化学物質を肥満と関連付け
- 体外実験では複数の化合物によって脂肪細胞の分化が発生(PPAR γ)
 - フタル酸、BPA、アルキルフェノール、PFOA、**有機スズ**
- オビースゲンの存在は信憑性が高い



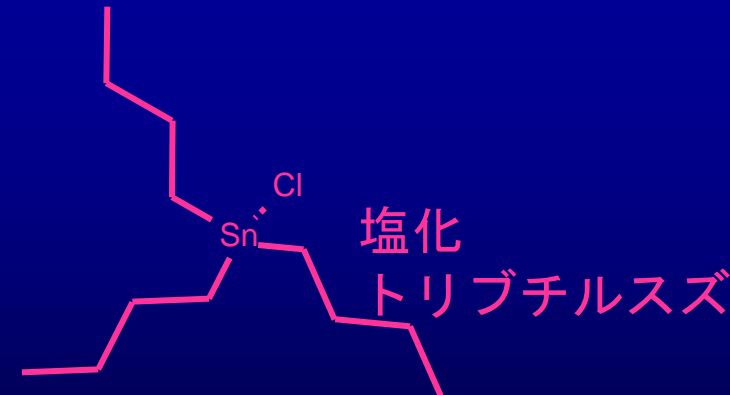
Endocrine disruption by organotins

有機スズによる内分泌攪乱

- 有機スズ → 軟体動物の生殖不能
- メスのカレイ／ヒラメやゼブラフィッシュが遺伝子レベルでオス化
- 有機スズの標的となるのはどのホルモン受容体か？



- トリブチルスズ (TBT) に関する所見
 - 脂質生成に不可欠な2つの核内受容体であるRXRとPPAR γ に結合し、ppbレベル(低nM)で活性化
 - 細胞培養モデル(nM)で脂質生成を誘導
 - マウスでは出生前TBT曝露により体重が増加



How does TBT exposure cause weight gain?

TBT曝露が体重増加を引き起こすしくみ

- ホルモンによる食欲／満腹感の制御が変化

- 脂肪細胞の脂質生成・蓄積能力が変化

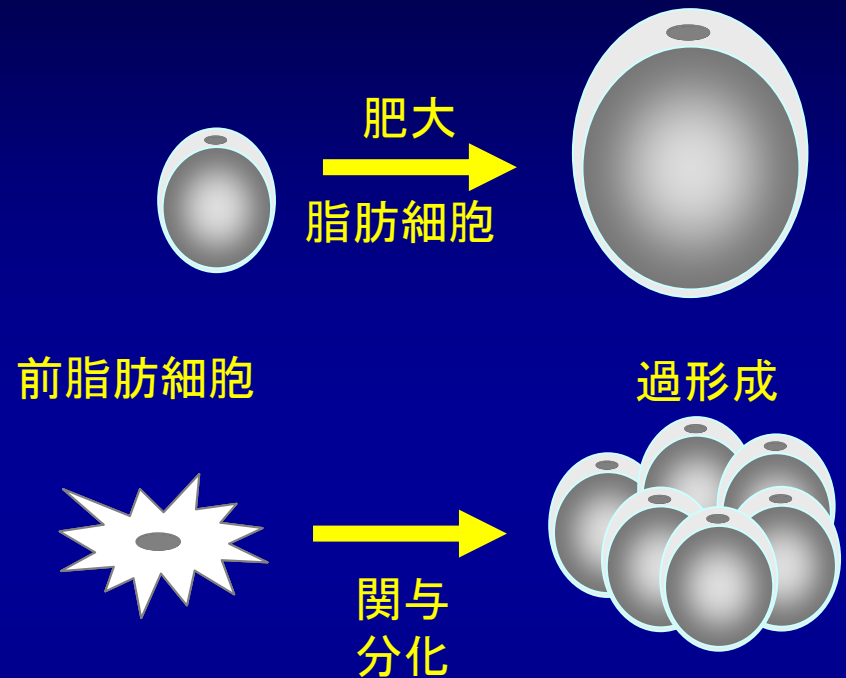
- 脂肪細胞／前脂肪細胞の数が増加

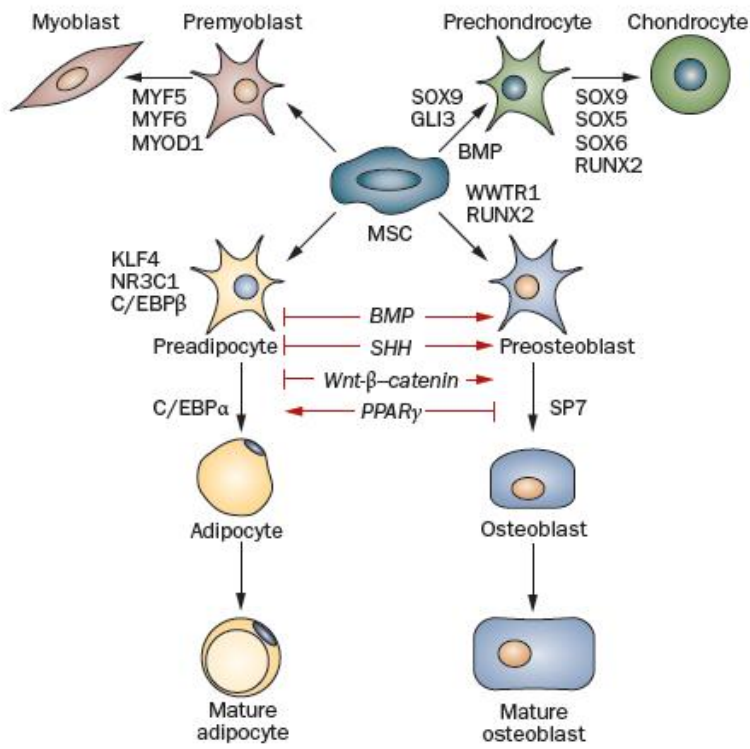
- 間葉系幹細胞(MSC、現在の呼称は多能性間質細胞)は、骨、軟骨、脂肪など多くの系統に分化

- ロシグリタゾン曝露でMSCが脂肪細胞に分化

- 誘導後、MSCが蓄積脂肪化する？

- **仮説:** TBTがMSCの脂質生成を誘導





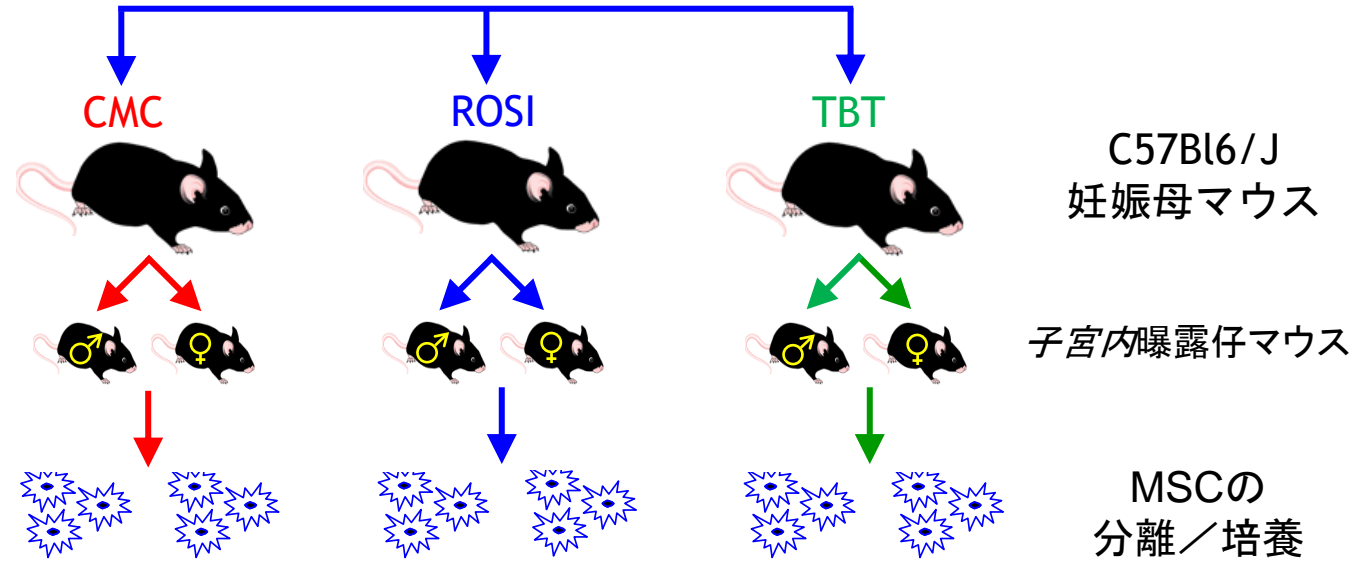
MSCs can give rise to many cell types in vivo

体内でさまざまな細胞種になるMSC

- MSCが脂肪になるか骨になるかは PPAR γ が制御
- PPAR γ の発現・活性化は脂質生成を促し、骨形成を抑制

Takada et al., 2009 Nature Reviews Immunology 5, 442-447

出生前曝露



Kirchner et al, 2010 Molecular Endocrinology 24, 526-539

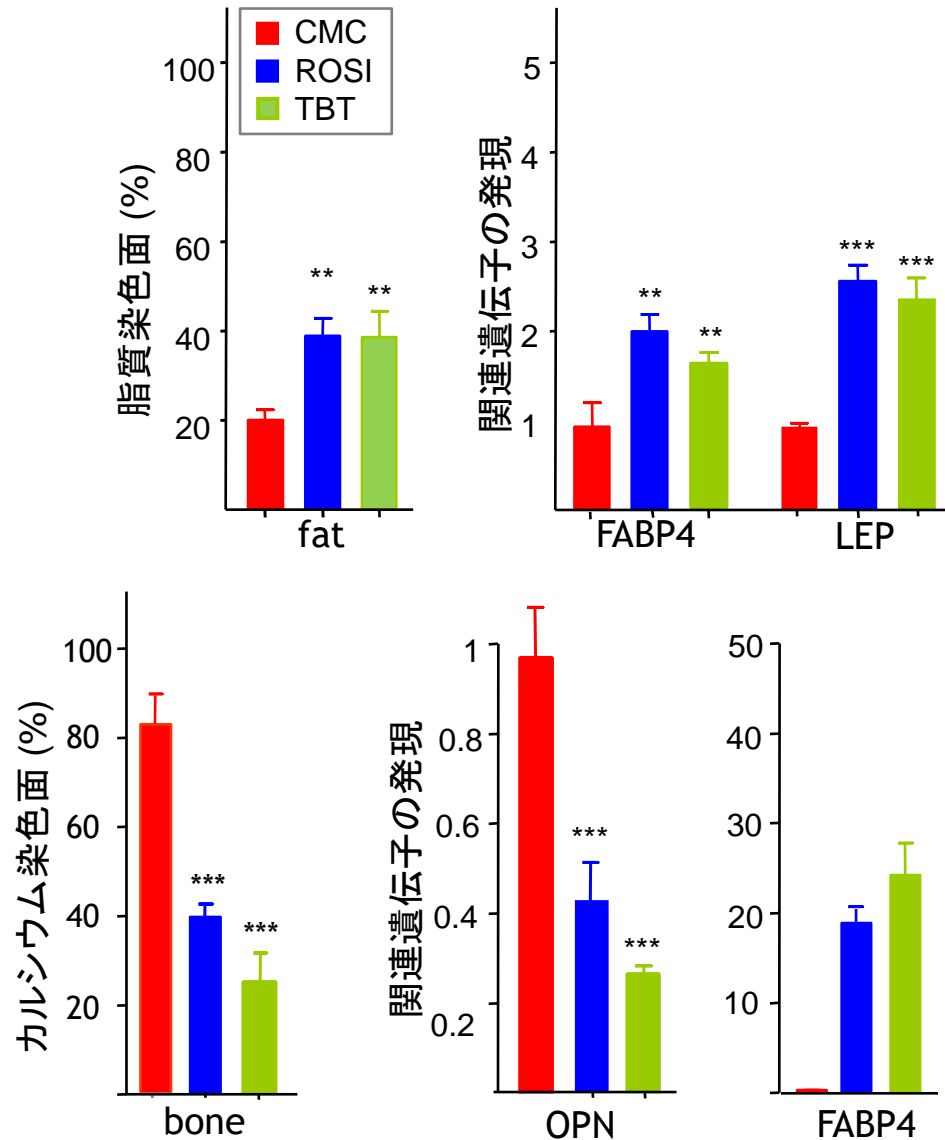
C57Bl6/J
妊娠母マウス

子宮内曝露仔マウス

MSCの
分離／培養

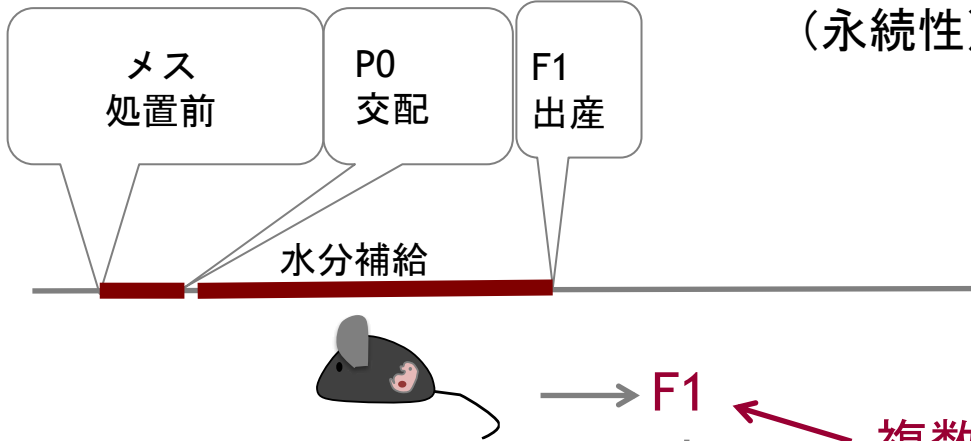
Prenatal TBT exposure reprograms MSCs to become fat cells instead of bone cells

MSCの骨細胞化抑制／脂肪細胞化促進を再プログラム化する出生前TBT曝露

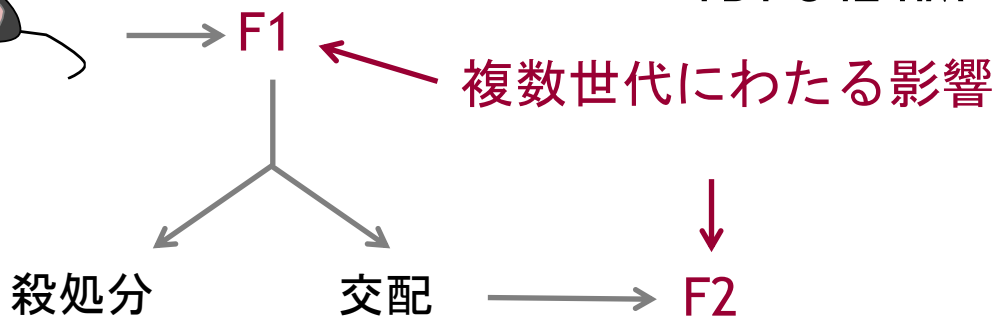


Are effects of TBT exposure transgenerational? (i.e., permanent)

TBT曝露の影響は世代を超える？
(永続性) **処置**

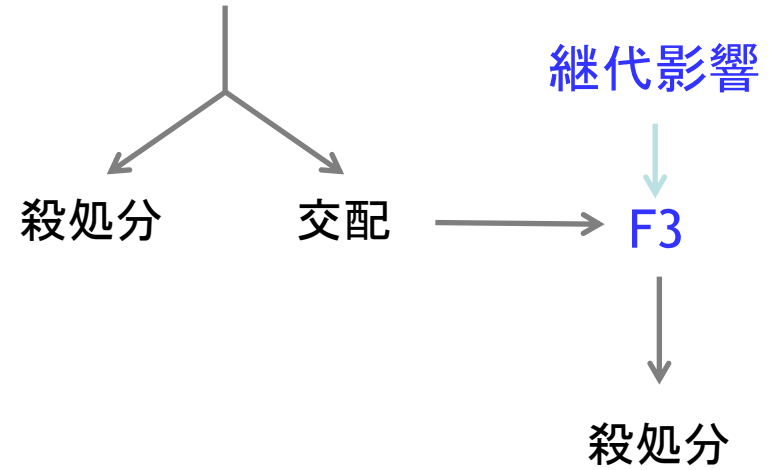


- DMSO
- ROSI 0.5 uM
- TBT 5.42 nM (50x < NOAEL)
- TBT 54.2 nM (5x < NOAEL)
- TBT 542 nM



生後8週

- 体重
- 脂肪組織重量
- 脂肪細胞の大きさ
- MSC遺伝子発現プロファイル
- 肝臓脂肪症
- 肝臓遺伝子発現



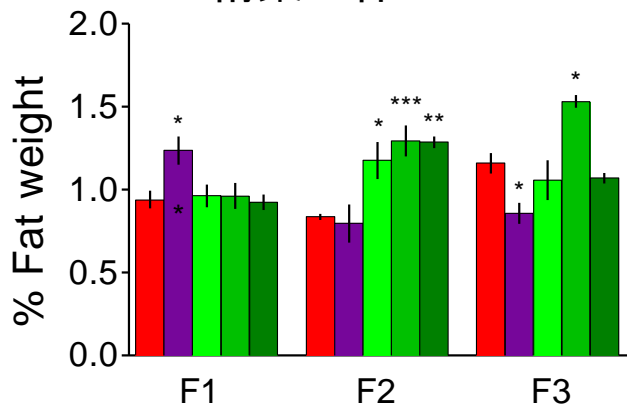
TBT exposure has transgenerational effects

Heavier fat depots

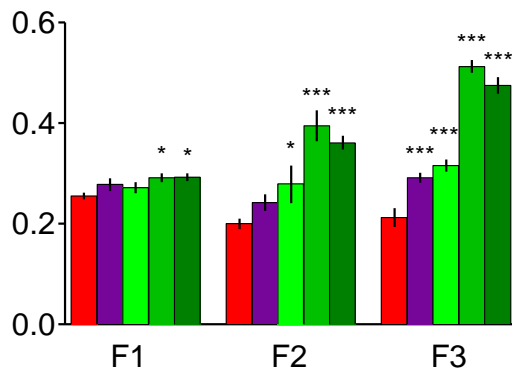
TBT曝露の継代影響

脂肪蓄積の増大

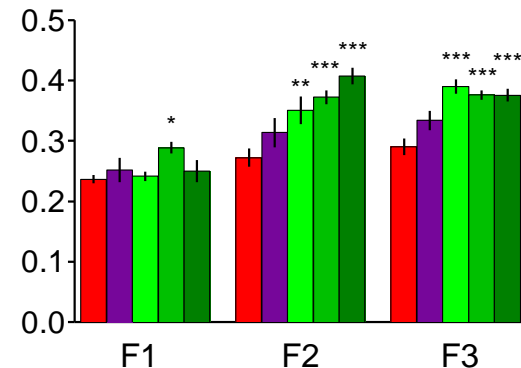
精巣上体WAT



腎周囲WAT



肩甲骨間WAT



溶媒

ROSI

TBT 5.4 nM

TBT 54.2 nM

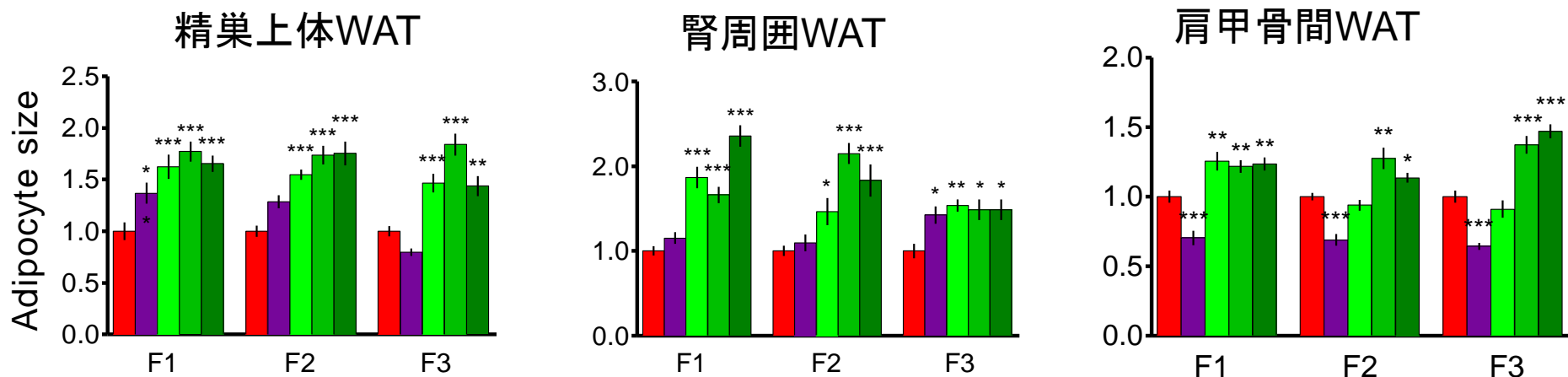
TBT 542 nM

TBT exposure has transgenerational effects

Larger fat cells

TBT曝露の継代影響

脂肪細胞の肥大



■ 溶媒

■ ROSI

■ TBT 5.4 nM

■ TBT 54.2 nM

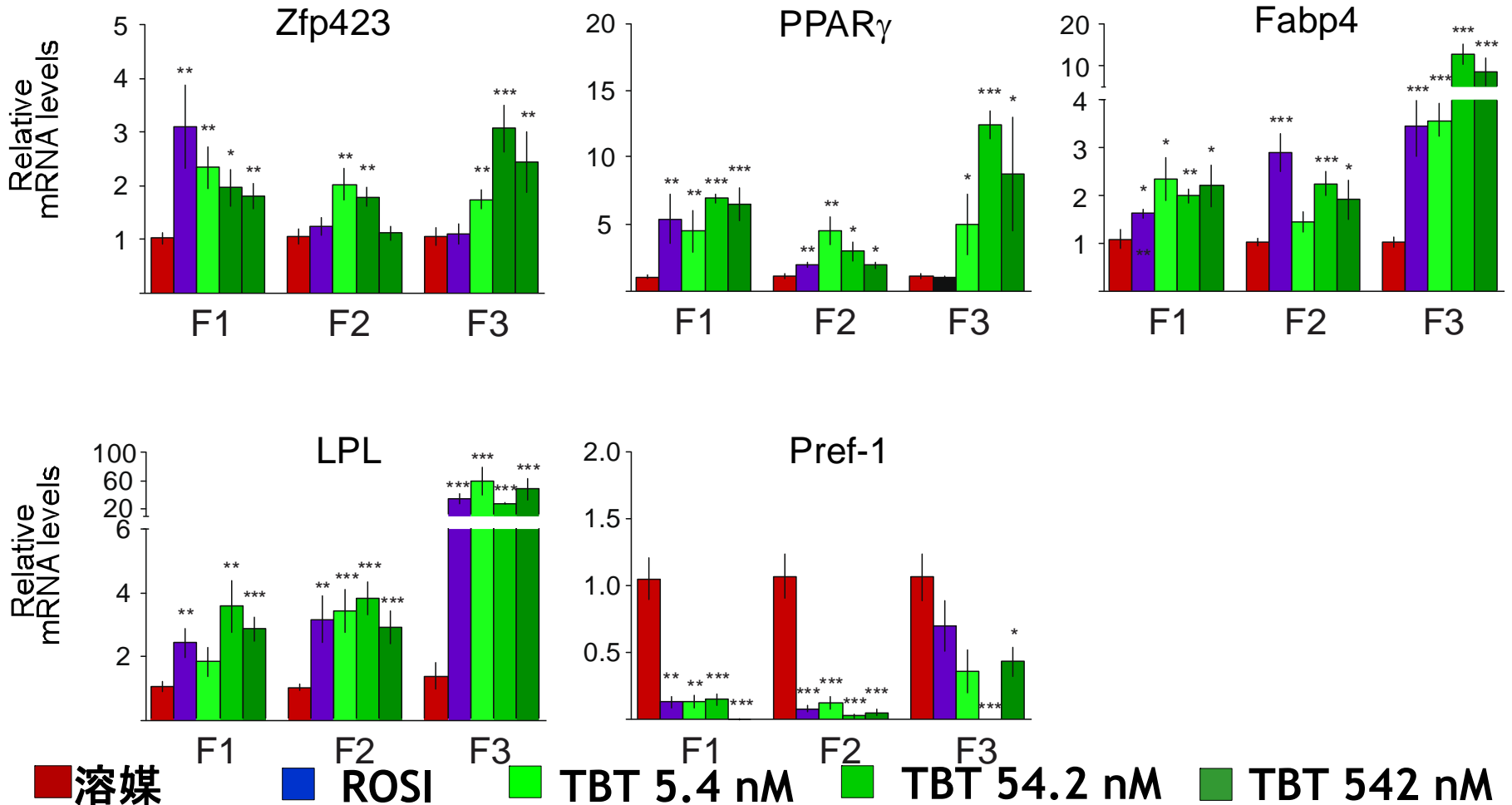
■ TBT 542 nM

TBT exposure has transgenerational effects

Increased expression of fat-specific genes in MSCs

TBT曝露の継代影響

MSCの脂肪特異的遺伝子発現の増加



Obesogen exposure and development

オビソゲン曝露と発達

- 有機スズは環境濃度 (ppb) で極めて強力な作用を及ぼすRXRおよびPPAR γ のアゴニスト
 - RXR α : $\sim 5\text{nM}$ EC $_{50}$ 、 12.5nM K $_d$
 - PPAR γ : $\sim 20\text{nM}$ EC $_{50}$ / K $_d$
- 細胞培養モデルでは、TBTが脂肪細胞分化を活性化
- 2種類の脊椎動物 (マウスとアフリカツメガエル) では、発達過程でのTBT曝露が脂質生成を誘導
 - 培養細胞とメスで骨形成を抑制
- 母体のTBT曝露がもたらす影響は継代的
 - 脂肪蓄積量、脂肪細胞の大きさ、MSC遺伝子発現 - オス
 - 脂肪細胞の大きさ、MSC遺伝子発現 - メス
 - 生後8週時は、体重への影響はほとんどなし
- 作用機序が複数存在する可能性
 - PPAR γ -RXR
 - アロマターゼ発現 / 作用 - エストラジオール濃度
 - 糖質コルチコイド濃度
 - その他のストレス因子？

Conclusions - organotins and obesity

結論 - 有機スズと肥満

- 有機スズ曝露は肥満の要因か？
 - 成人では曝露が脂質生成遺伝子を急速に誘導
 - PPAR γ 活性薬が肥満を増進
 - 出生前TBT曝露により成人表現型が永続的に改変
 - 出生前TBT曝露がMSCを骨系列から脂肪細胞系列に分化経路を転換
- ヒトは懸念すべき濃度のTBTに曝露しているのか？
 - ポリ塩化ビニルは最大3% w/w (0.1M) の有機スズを含有
 - 汚染物質が食物由来で蔓延
 - 高価な農作物では給水設備に防かび剤を使用
 - 無作為抽出被験者32人の検査では平均血中濃度27nM
 - フィンランドの漁師ではTPT濃度が0.5~2nM
- 人体の有機スズ曝露は、高親和性受容体を活性化させる濃度に達している可能性がある
 - 食物から自然に摂取するRXR/PPAR γ リガンドより1000倍少ない量

環境が肥満をもたらすのか？

Obesogens - Just the Tip of the Iceberg ?

オビソゲン - 氷山の一角？

TBT/TPT

DES

ニコチン

果糖

フタル酸

ビスフェノールA

大気汚染

COX-2阻害剤

PFOA

ゲニステイン

BaP

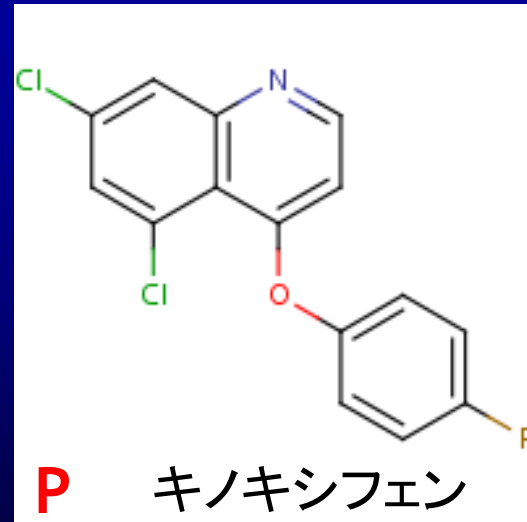
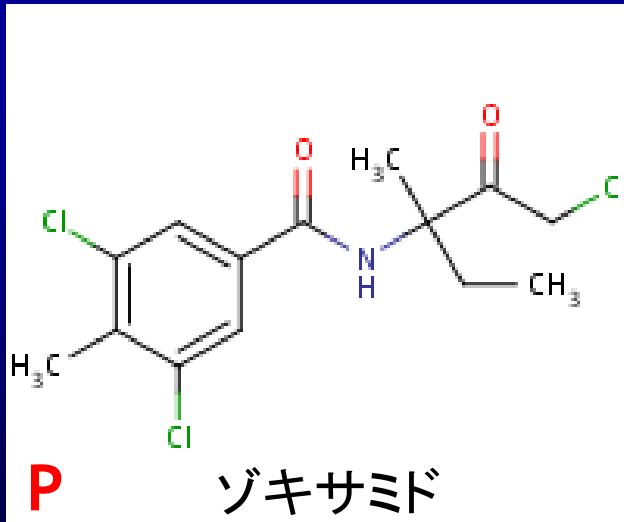
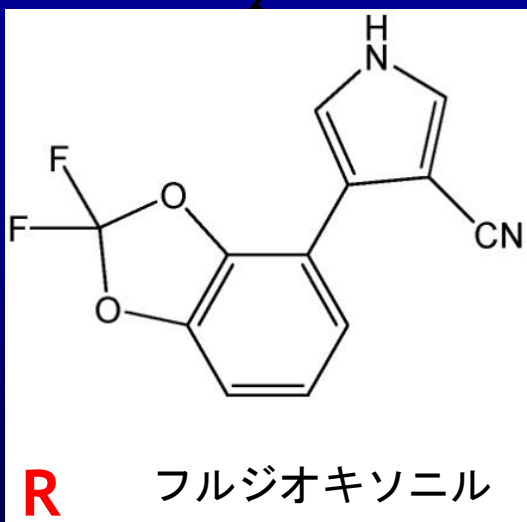
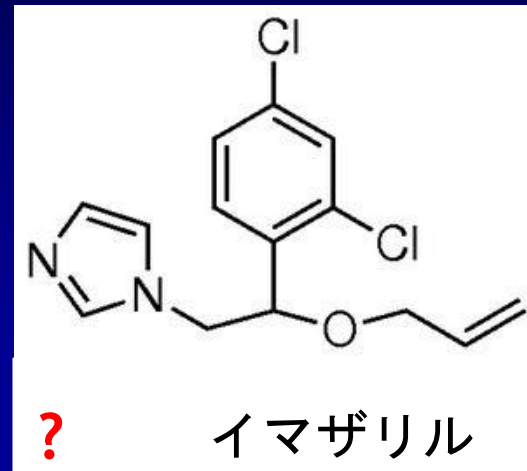
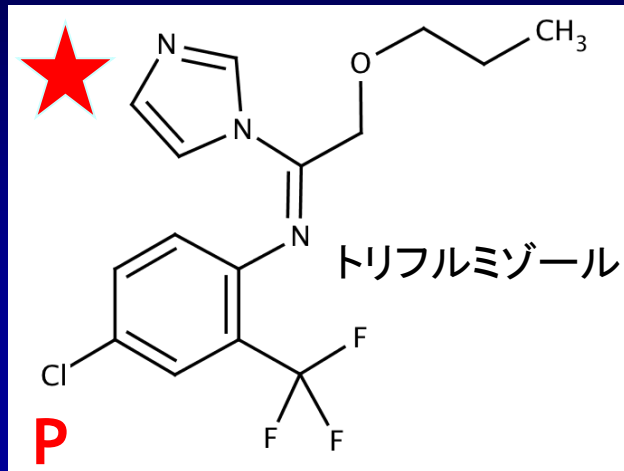
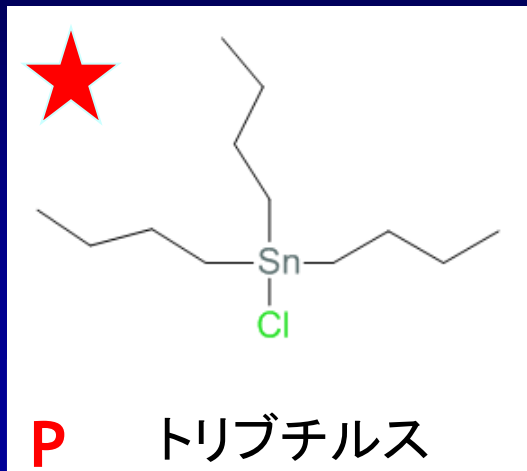
PCBs ?, PBDEs ?

有機リン農薬

多くの防かび剤

Surprisingly, Many Fungicides are Obesogens

多くの防かび剤はオビースゲンであるという驚き



Obesogens - Just the Tip of the Iceberg ?

オビーソゲン - 氷山の一角？

TBT/TPT

DES

ニコチン

果糖

フタル酸

ビスフェノールA

大気汚染

COX-2阻害剤

PFOA

ゲニステイン

BaP

PCBs ?, PBDEs ?

有機リン農薬

多くの防かび剤

- まだわかっていないこと
- 世の中に存在するオビーソゲンの種類
- 有害物質の体内負荷量
- RXR-PPAR γ を超えた作用の分子標的
- 危険な曝露時期(クリティカルウィンドウ)
- 出生前曝露により成人表現型が改変される機序
- 出生前再プログラム化はエピジェネティックか？

Implications For Human Health

健康への影響

- 特に低年齢層での肥満蔓延の原因を食習慣と運動だけで説明するのは不十分
- オビースゲンが脂質生成と脂肪蓄積を不適切に刺激
 - 処方薬
 - チアゾリジンジオン抗糖尿病薬(アクトス、アバンディア)
 - 非定型抗精神病薬、抗うつ剤
 - 環境汚染物質
 - 有機スズ、エストロゲン(BPA、DEHP)、PFOA/S、DDE、POP
 - トリフルミゾール、ゾキサミド、有機リン、パラベン
- 動物実験では、出生前オビースゲン曝露による再プログラム化で肥満化
 - エピジェネティックな変化が幹細胞コンパートメントの運命を改変 → 前脂肪細胞、脂肪前駆細胞が増加
- オビースゲンの存在によって胎児期・小児期・思春期の対応が治療から予防にパラダイム転換
 - オビースゲン曝露の低減、栄養摂取の最適化

Chemicals with Transgenerational Effects

継代影響を及ぼす化学物質

- トリブチルスズ (RXR、PPAR γ) [プラスチック、工業用、水道管) - 脂肪塊の増大、幹細胞の再プログラム化による脂肪細胞の経年増加、脂肪肝疾患 (Chamorro-Garcia et al, 2013)
- **継代影響が判明したことで、化学物質規制の是非、規制対象物質の選定に関する議論が激化**
an, Skinner, 2005; Aylward et al, 2005
- プラスチック混合物、BPA、DEHP、DBP、(エストロゲン、抗アンドロゲンに関する) **人体への害の確証を得るまで行動を起こさない場合の代償は？**
Manikkam et al, 2013
- 炭化水素、JP-8ジェット燃料に関連する(?) 肥満、生殖器系疾患、精子エピソード (Tracey et al, 2013)
- BPA、エストロゲン (プラスチック、感熱紙、再生紙、食品包装)、社会的交流の変化、遺伝子発現の修正 (Wolstenholme et al, 2012)
- DDT、エストロゲン (農薬) - F3 (オス/メス) の50%で肥満発生 (Skinner et al, 2013)

肥満と糖尿病は注目すべき環境ホルモン
評価項目と考えられていないため、
現行の検査や規制プロセスでは
看過されている

Toxic Substances Control Act (TSCA)

有害物質規制法(TSCA)

- 有害物質規制法(1976年)により、化学物質・混合物に関する報告・記録・検査を義務化し、制限を求める権限が環境保護庁(EPA)に付与されている。
 - 食品、医薬品、化粧品、農薬を始めとする特定の物品は、一般的にTSCAの適用外(実質的にすべての既存化学物質)
- EPAに付与されている権限
 - 「新規」化学物質の製造前届出の義務付け
 - 危険性または曝露が懸念される製造業者、輸入業者および加工業者による検査の義務付け
 - 環境負荷物質への曝露またはその放出をもたらす可能性のある「重要新規利用」に際しての規則の発令
 - TSCA化学物質インベントリーの維持
 - 輸入業者に対する認証報告等の要件順守の義務付け
 - 製造業者、輸入業者、加工業者および販売業者による記録管理の義務付け
 - 製造業者が自社の取り扱う化学物質・混合物において健康や環境に対する重大な危険性が認められた場合にEPAへ報告することの義務付け

Screening for EDC activity

EDC作用のスクリーニング

- 1996年食品品質保護法
 - ヒトホルモンに影響を及ぼす可能性のある物質を特定するために、適切かつ有効な検査システムおよび科学的関連情報に基づくスクリーニング計画の策定をEPAに指示
- 飲料水安全法の修正(1996年)により、飲料水中のEDCをスクリーニングする権限をEPAに付与
- 連邦公報: 2009年10月21日、74巻202号54422-5
 - 第1段階スクリーニングに関する初の指令!

EPA's Approach to Assess Chemical Risk

化学物質のリスク評価に対するEPAの取り組み

インビトロ・アッセイとコンピュータ解析によって、ヒトへの潜在毒性を基準に化学物質をスクリーニング／優先順位付け



化学物質



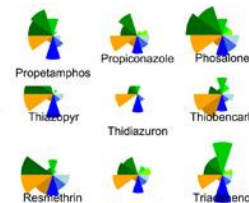
ToxCastの高速自動化学物質スクリーニング



曝露フォーカスター (ExpoCastDB)



オンライン・コンピュータ・シミュレーションおよびアプリケーション



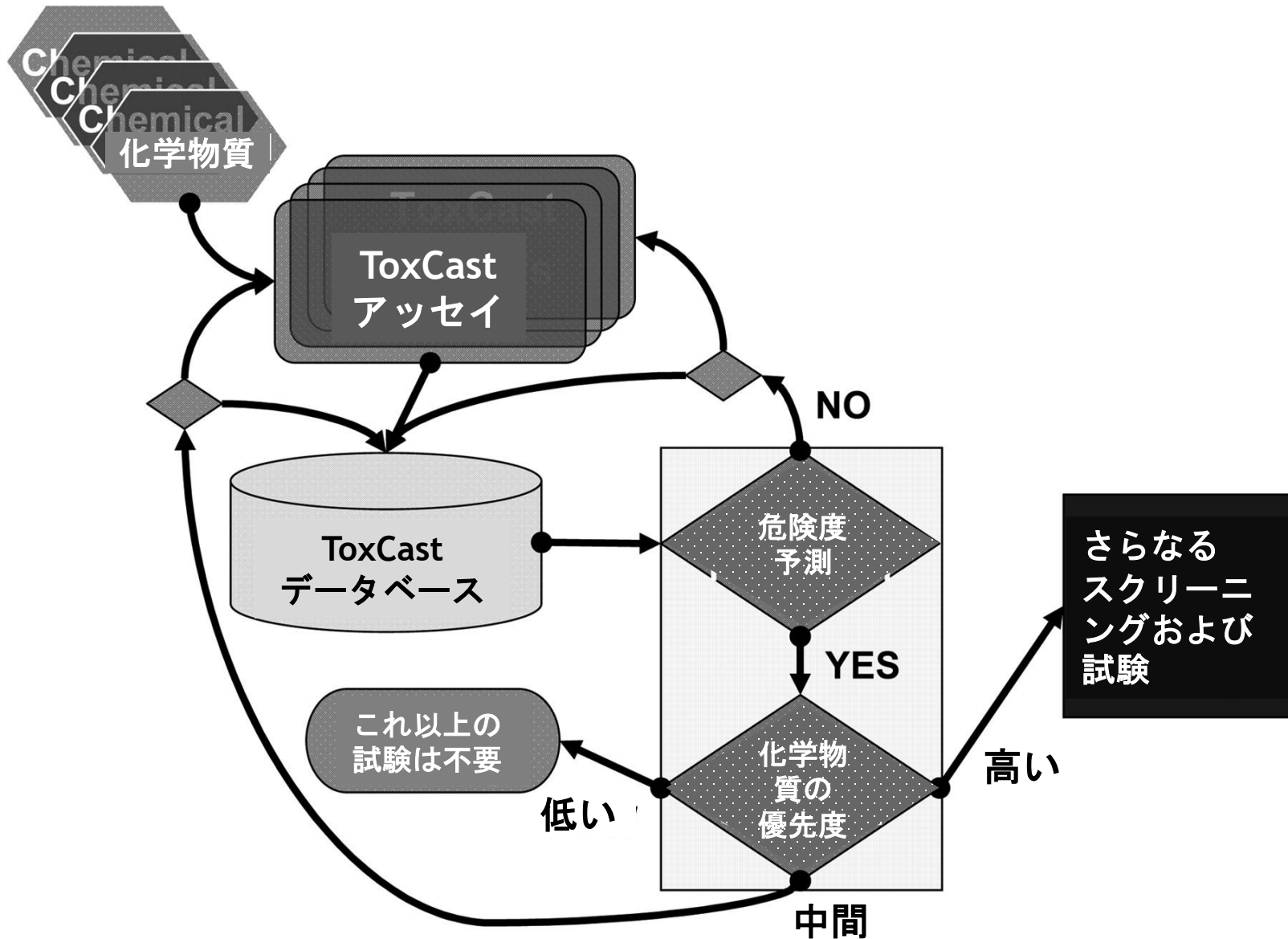
ヒトの健康に影響を及ぼす可能性を基準に化学物質を優先順位付け



動物毒性試験データベース (ToxRefDB) との比較
30年で20億ドルの動物実験

ToxCast - EPA's Approach to Assess Chemical Risk

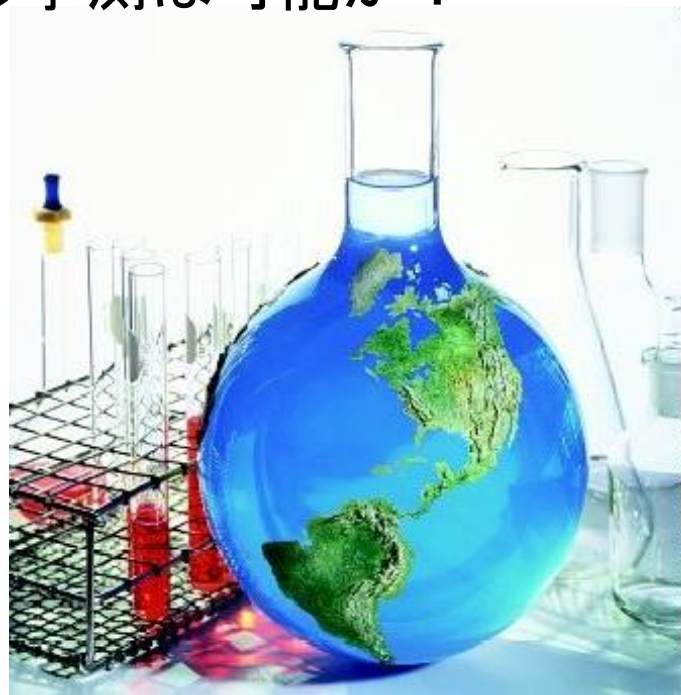
ToxCast - 化学物質のリスク評価に向けたEPAの取り組み



Can we use ToxCast to predict adipogenic activity?

ToxCastによる脂質生成作用予測の可能性

- PPAR γ は脂質生成を調整する重要なタンパク質
 - ToxCast のPPAR γ アッセイ
 - Attagene社の「新型」レポーターアッセイ
 - 一般的なレポーターアッセイ(NCGC)
 - 直接リガンド結合アッセイ(NCGC)
 - ToxCastの結果の有効性(検査実績なし)
 - 検査対象化学物質の脂質生成作用の予測は可能か？
-
- PPAR γ の活性検査
 - 脂質生成作用の検査
 - 3T3-L1およびMSCの細胞分化アッセイ



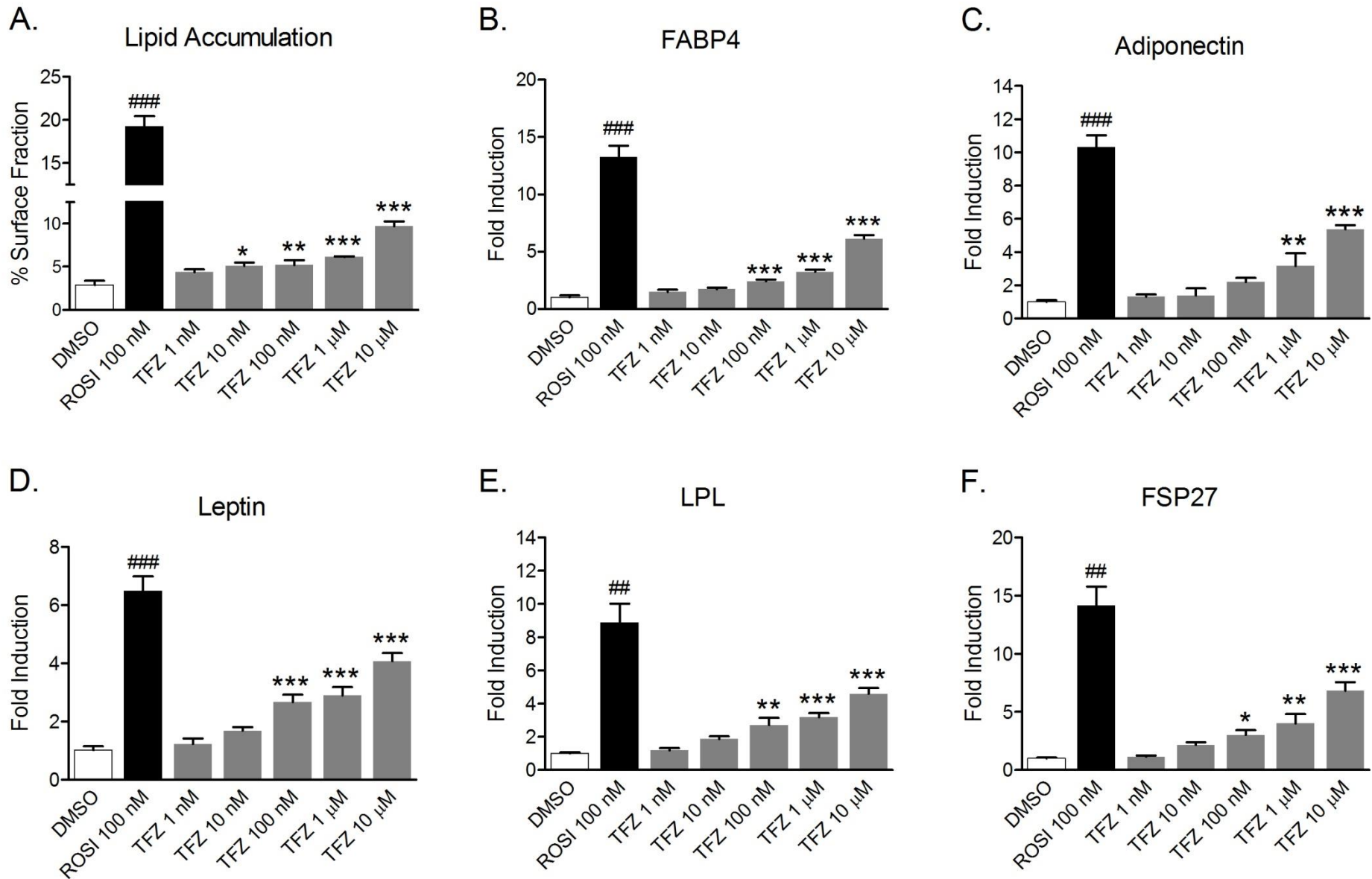
Testing Toxcast Predictions of Activity - PPAR γ

ToxCastの作用予測能力試験－PPAR γ

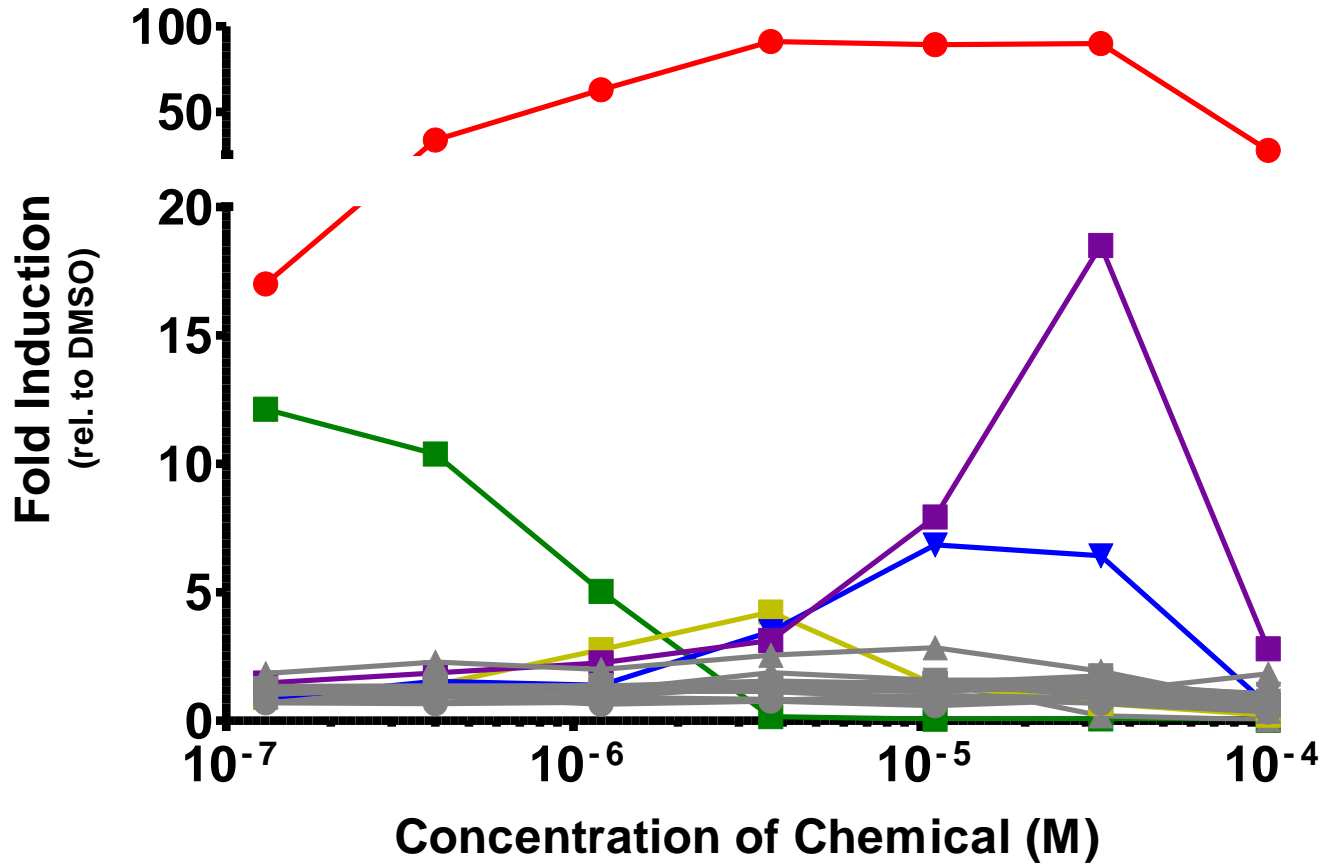
再試験したToxCast化学物質	Toxcastアッセイ (AC50値 (μ M))			PPAR γ の再試験結果
	ATGレポーターアッセイ	標準レポーターアッセイ	リガンド結合アッセイ	
フェンチン	0.02		0.54	活性
フルアジナム	0.51		0.3	不活性
ニコロサミド	0.56			不活性
ピラクロストロビン	0.76			不活性
ゾキサミド	1.5			活性
アセトクロール	1.7			アンタゴニスト
ブタクロール	2.1			アンタゴニスト
トリフルミゾール	2.8		25.3	活性
プロクロラズ	3.5			不活性
スピロジクロフェン	3.6	2.78		活性
アラクロール	3.7		37.8	アンタゴニスト
テブフェンピラド	4.9			不活性
ジメテナミド	5.6			不活性
テブフェノジド	6.3			不活性
キノキシフェン	6.6	6.7		活性
インドキサカルブ	8.5			不活性
フェンピロキシメート (Z、E)	8.6			不活性
S-ピオアレトリン	9.2			不活性
シアゾファミド	11			不活性
ジメトモルフ	11			不活性
クロロタロニル			0.54	不活性

Triflumizole induces adipogenesis in 3T3-L1 cells

3T3-L1細胞の脂質生成を誘導するトリフルミゾール



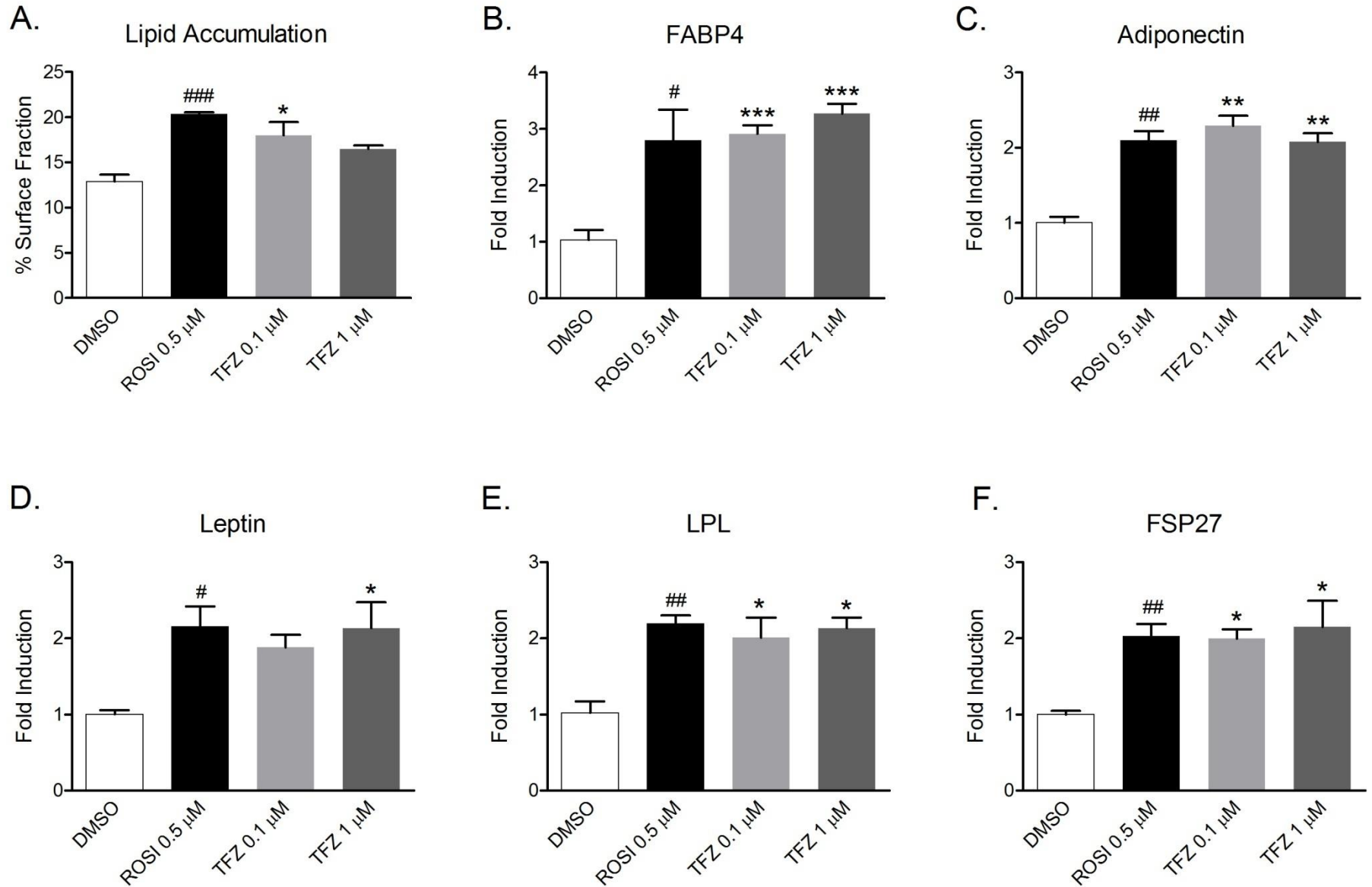
概要



- Rosiglitazone
- Fentin (0.02)
- ▲ Fluazinam (0.51)
- ▼ Niclosamide (0.56)
- Pyraclostrobin (0.76)
- Zoxamide (1.5)
- ▲ Acetochlor (1.7)
- ▼ Triflumizole (2.8)
- Prochloraz (3.5)
- Spirodiclofen (3.6)
- ▲ Alachlor (3.7)
- ▼ Tebufenpyrad (4.9)
- Dimethenamid (5.6)
- Tebufenozide (6.3)
- ▲ Quinoxifen (6.6)
- ▼ Indoxacarb (8.5)
- Fenpyroximate (8.6)
- S-Bioallethrin (9.2)
- ▲ Cyazofamid (11)
- ▼ Dimethomorph (11)

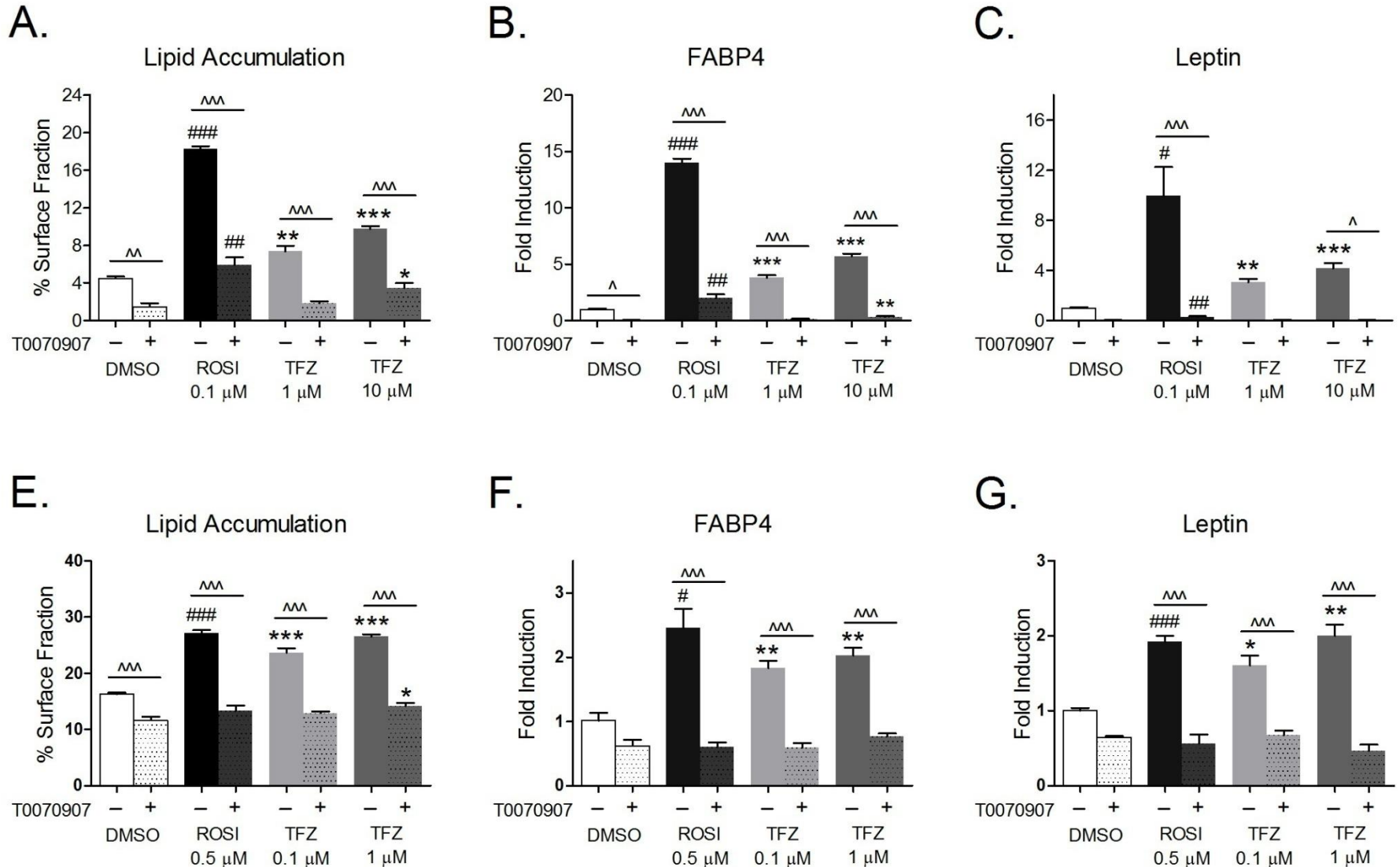
Triflumizole induces adipogenesis in hMSCs

hMSCの脂質生成を誘導するトリフルミゾール



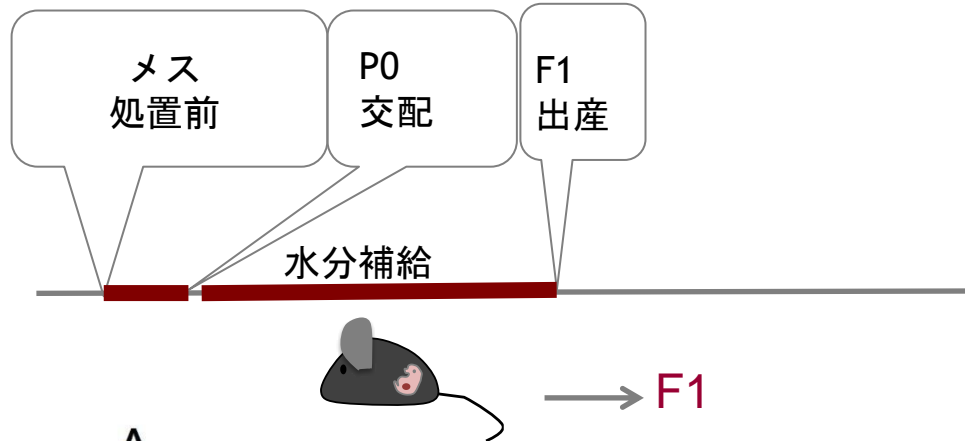
Triflumizole action is blocked by antagonizing PPAR γ in 3T3-L1 cells and hMSCs

3T3-L1細胞／hMSC内PPAR γ に対する拮抗により阻害されるトリフルミゾールの作用



Prenatal triflumizole exposure increased fat depot weight, in vivo

出生前トリフルミゾール曝露による蓄積脂肪重量の増加(生体)



処置

DMSO

ROSI 0.5 μ M

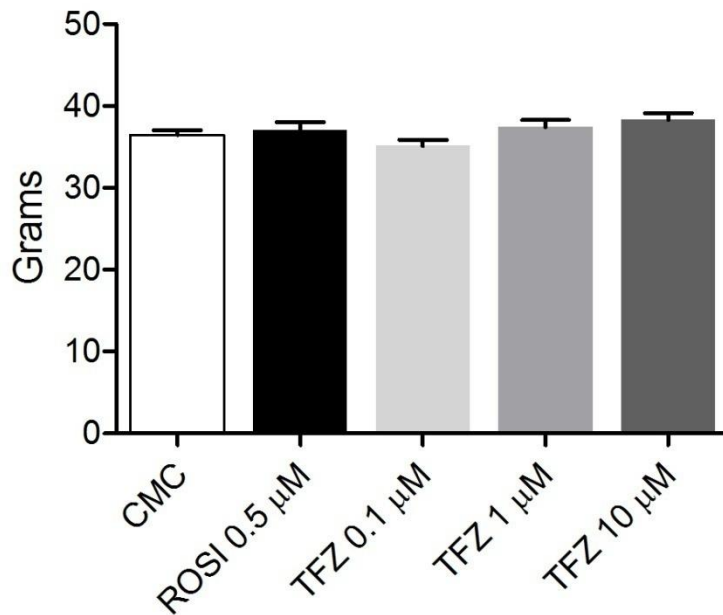
TFZ 100 nM (400x < NOAEL)

TFZ 1 μ M (40x < NOAEL)

TFZ 10 μ M (4x < NOAEL)

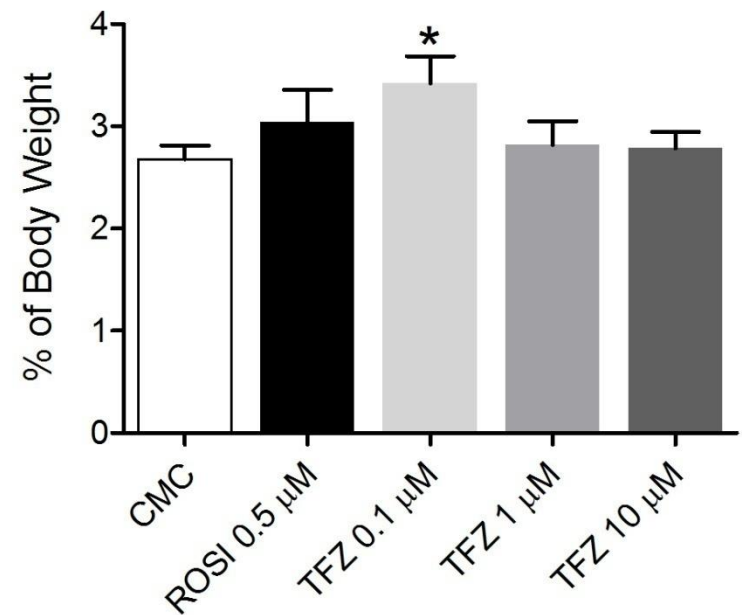
A.

Body Weight



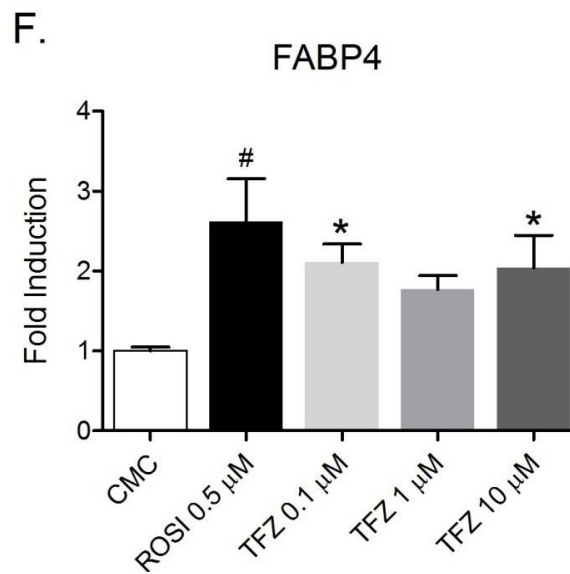
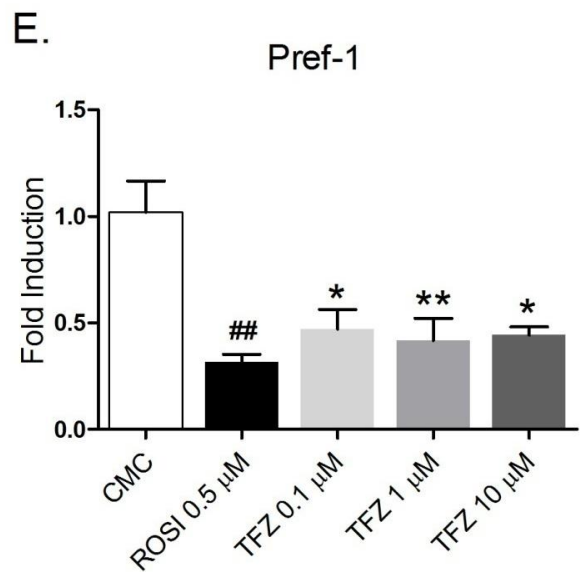
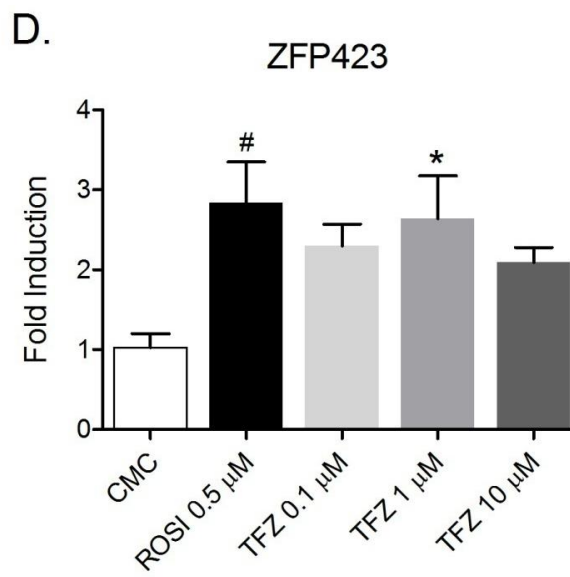
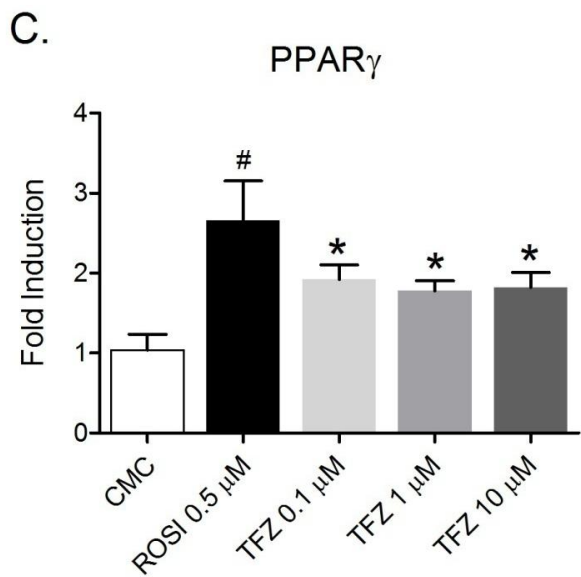
B.

Body Fat Content



Prenatal triflumizole exposure predisposes MSCs to favor the adipogenic pathway

出生前トリフルミゾール曝露が誘導するMSCの脂質生成



Summary

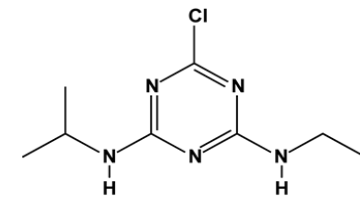
要約

- PPAR γ /RXR転写活性化をスクリーニングすることによって、本物のオビースゲンやその候補を多数特定できると期待される
 - ただし、ToxCastアッセイは不使用
- 受容体活性化アッセイと細胞レベル脂質生成アッセイの組み合わせは、生体内作用の予測に適したツールになると思われる(現在 n=4)
- RXR/PPAR γ 活性のToxCastアッセイは実現可能性が低い
 - 年間1億ドル？
- フィルターとしてToxPIを活用することの有効性立証は今後の課題
- 未確認のオビースゲンは相当数存在する可能性が高い

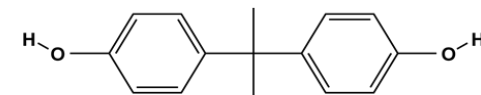
How to Deal With Problem Chemicals

問題のある化学物質への対処法

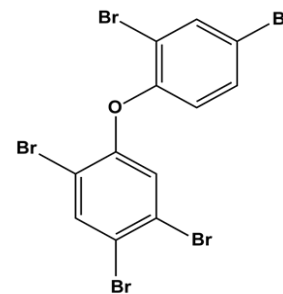
- 現在使用されている83,000を超える数の化学物質の多くがヒトの健康や環境に有害な影響を及ぼす
 - ほとんどが未検査
- 有害物質の禁止には時間と費用がかかる
 - TSCA施行後37年間で禁止された化学物質は5種類
 - CFC、アスベスト、PCB、ダイオキシン、Cr⁶⁺
 - 化学物質安全性改善法(S.1009、2013年5月22日) – 重大な不備
- 業界の「もぐらたたきのような」場当たりの対応
 - 有害化学物質を、組成が近く危険性や安全性に関する科学的根拠の乏しい類縁物質に置き換え
 - BPA → BPS
 - DDT → 他の有機塩素剤
 - TBT → TPT
 - PBDE → PBB、TBBPA、FM550



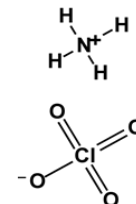
アトラジン



BPA



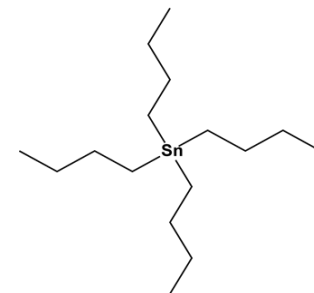
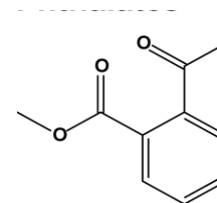
PBDE



過塩素酸塩

有機スズ

フタル酸エステル



Creating Substances Inherently Without Hazard

本質的に危険性のない物質の開発

グリーンケミストリーの12原則

1. 廃棄物の防止
2. アトムエコノミー
3. 害の少ない合成
4. 害のない物質の生成
5. 害のない溶剤・試薬
6. エネルギー効率の良い工程
7. 再生可能な原料の使用
8. 誘導体の削減
9. 化学量論反応より触媒反応の採用
10. 分解しやすさを考慮した化学物質生成
11. 汚染予防のリアルタイム解析
12. 事故防止を念頭においた本質的に害のない化学物質の使用

John Warner, Paul Anastas

Eliminating Endocrine Disruption with Green Chemistry

グリーンケミストリーによる内分泌攪乱の排除

- 2007年、2009年、2011年、2012年 – グリーンケミストリー研究者、生物学者、毒物学者が会して、化学者の「環境にやさしい」化学物質開発を支援する戦略を策定
- EDCの特定に重点
 - 科学重視
 - 実行基準
 - 段階的取り組み
 - 計画の一般公開
- 化学者にとって重要な意味をもつ知識の格差とデータニーズが判明

Environmental Factor
April 2011
Your Online Source for NIEHS News

NIEHS scientists join forces with green chemists
By Thaddeus Schrag
April 2011

NIEHS/NTP scientists joined forces with leaders in the field of green chemistry in what may turn out to be a groundbreaking meeting, "Green Chemistry and Endocrine Disruption Out of the Next Sciences — Designing Endocrine Disruption Out of the Next Generation of Materials," held March 21-23 in Sausalito, Calif.

The challenges facing scientists trying to design such new materials are daunting. Say a chemist has developed a compound that he or she believes could be a replacement for the bisphenol A (BPA). How will the scientist determine if the molecule is safer to human health and the environment? What testing will need to be done and what will guide scientists through this process?

The goals of the meeting in Sausalito were ambitious — to develop a consensus statement on the principles that guide the science needed to assess risks of potential endocrine disruptors, and to develop a reliable and rational testing protocol to aid chemists as they develop and bring the next generation of chemicals into the marketplace.

The intersection of green chemistry and environmental health science

Karen O'Brien, Ph.D., from Advancing Green Chemistry (AGC) and Pete Myers, Ph.D., of Environmental Health Sciences (EHS), welcomed participants to the event, which brought together an equal mix of biologists and chemists. Representatives from NIEHS and NTP included Division of Extramural Research and Training (DERT) program administrator Jerry Heindel, Ph.D., and Kristina Thayer, Ph.D., director of the NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR).

Following a social ice-breaking exercise on the evening of March 21, the first full day of the meeting opened with presentations from Terry Collins, Ph.D., the Teresa Heinz Professor of Green Chemistry at Carnegie Mellon University, and John Warner, Ph.D., president and founder of the Warner Babcock Institute for Green Chemistry.

Endocrine Disruptor Tiered Screening Protocol

A representative diagram of the draft screening protocol unveiled at the meeting. The protocol is designed in a tiered approach, with rapid and cost effective screens conducted in the early phases and more extensive testing toward the end. (Slide courtesy of Pete Myers)

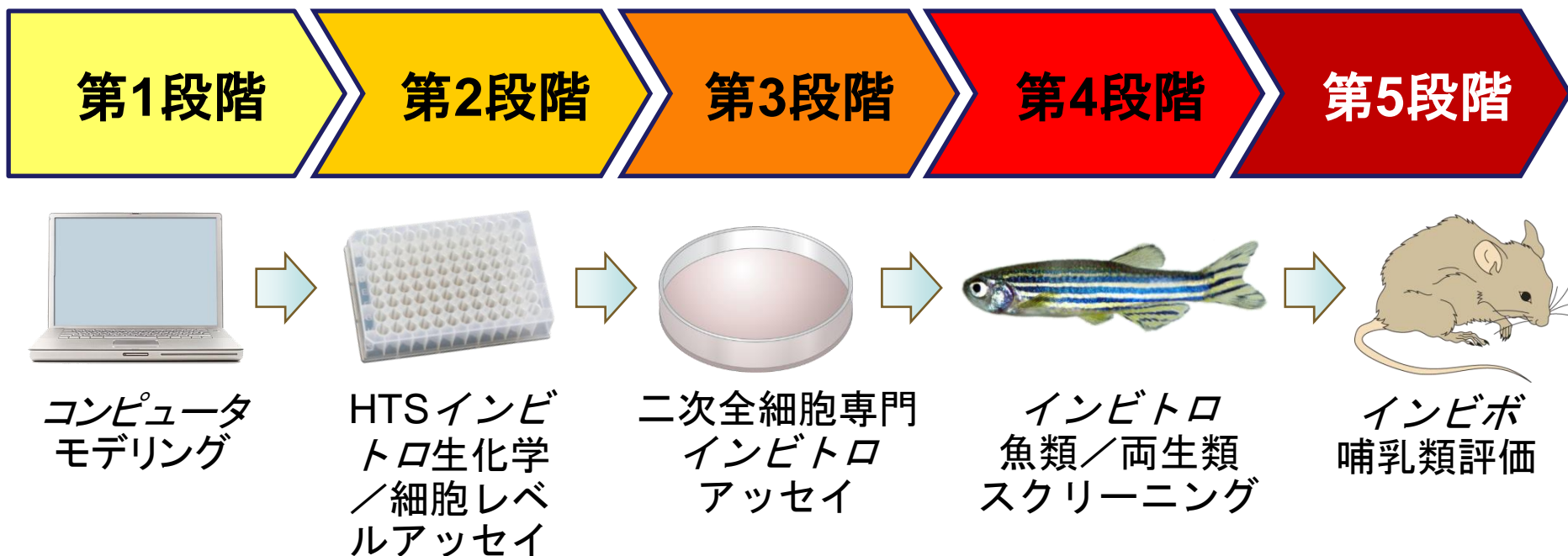
Left to right, Collins, Heindel, and Warner mix ingredients for a batch of salmon tartare. The cooking exercise was used as an ice-breaking event to demonstrate how environmental health scientists and chemists can work together to solve complex issues. (Photo courtesy of Pete Myers)

Designing endocrine disruption out of the next generation of chemicals†

T. T. Schug,*^a R. Abagyan,^b B. Blumberg,^c T. J. Collins,^d D. Crews,^e P. L. DeFur,^f S. M. Dickerson,^g
T. M. Edwards,^h A. C. Gore,ⁱ L. J. Guillette,^j T. Hayes,^k J. J. Heindel,^a A. Moores,^l H. B. Patisaul,^m T. L. Tal,ⁿ
K. A. Thayer,^o L. N. Vandenberg,^p J. C. Warner,^q C. S. Watson,^r F. S. vom Saal,^s R. T. Zoeller,^t
K. P. O'Brien*^g and J. P. Myers*^u

Received 12th January 2012, Accepted 4th September 2012

DOI: 10.1039/c2gc35055f





TiPED

Tiered Protocol For
Endocrine Disruption

TiPED: a dynamic tool to facilitate efficient and early identification of potentially endocrine disrupting chemicals.

- Home
- TiPED™ Guiding Principles
- What is TiPED
- About
- TiPED™ in Action
- FAQ

- Computer Based
- Targeted Cell
- Cell Processes
- Fish and Amphibian
- Mammalian

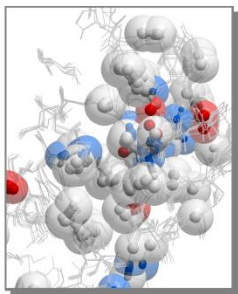
TiPED is a tool for chemists. It guides the synthesis of inherently safer materials by helping chemists identify and avoid chemicals likely to disrupt the endocrine system.

TiPED broadly interrogates the endocrine system to determine whether a chemical of interest has the potential to disrupt the endocrine system. Chemicals identified through TiPED as potential EDCs can then be removed from product development, or redesigned to avoid identified mechanisms of EDC action.

CURRENT NEWS

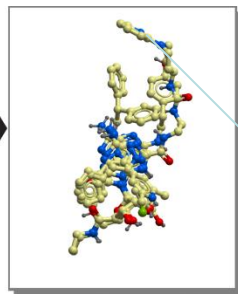
- ▼ [Meet us at GC&E 2013 in Maryland](#)
- ▼ [Chemical and Engineering News Covers TiPED](#)
- ▼ [Developing TiPED: Building the Path Forward.](#)
- ▼ [A Little TiPED History: Putting the Protocol Together.](#)

TWEETS

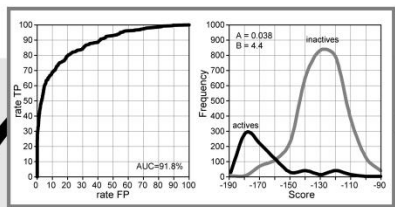


囊状集合体

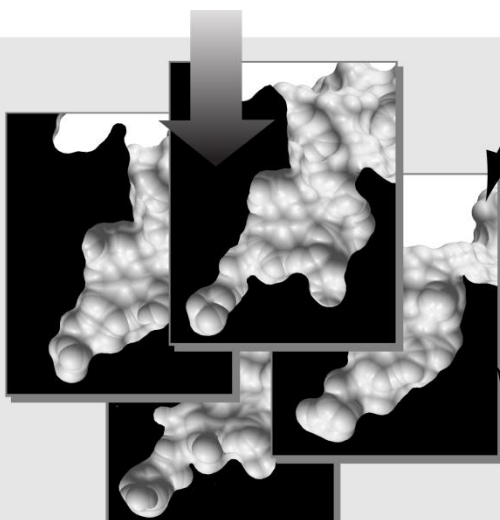
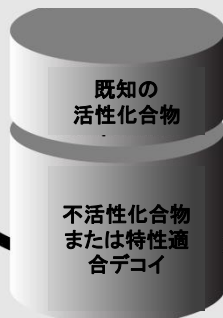
構造集合体:
 アンドロゲン受容体
 エストロゲン受容体 α
 エストロゲン受容体 β
 甲状腺ホルモン受容体 α
 甲状腺ホルモン受容体 β
 ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 γ



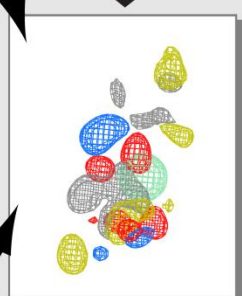
リガンド集合体



ベンチマーク、最適化、パラメーター



囊単位
作用モデル

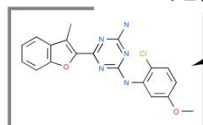
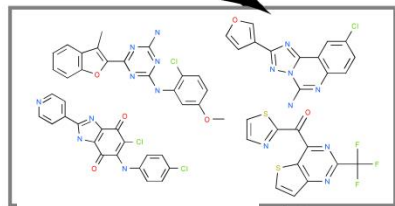


リガンド単位
作用モデル

化合物の仮想スクリーニング
作用予測



他のネットワーク由来の化学物質



インビトロ(第2段階)
およびインセルロ(第3段階)でのヒットの実験検証

NEEDコンソーシアム

Ruben Abagyan - UCSD

Bruce Blumberg - UCI

Ana Soto - Tufts

Tom Zoeller - UMass

John Warner - WBI

Pete Myers - EHS

Karen O'Brien - AGC

環境負荷化学物質

1. 感熱記録剤
2. 重合缶ライニング
3. 難燃剤

持続可能な分子設計

- ・ 内分泌を攪乱する傾向がごく少ない化学物質の特定
- ・ 初期合成前の化学物質評価

第1段階

構造レベルおよびリガンドレベルの手法による投入化学物質のコンピュータ・スクリーニング

第2段階

ハイスループット結合／機能アッセイ

第3段階

全細胞評価

第4段階

水生モデル - 全個体評価
(ゼブラフィッシュ、両生類)

第5段階

げっ歯類モデル - 全個体評価

第1段階

投入化学物質のコンピュータ・スクリーニング

第2段階

ハイスループット結合／機能アッセイ

第3段階

全細胞評価

第4段階

水生全個体
モデル

第5段階

げっ歯類モデル

データの普及

誰でも利用できるウェブサイト／データレポジトリー
安全性の高い化学物質を設計するために環境ホルモン負荷を予測するオンラインツール群

Myths and Realities in EDC Science

EDCの科学にまつわる虚像と現実

虚像

- EPAは連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法(FIFRA)やTSCAなどの法律に基づいて、ヒト、動物、環境に化学物質が及ぼす影響について検査を行っている。
- 化学物質を規制するにあたって、EPAは「予防原則」(後悔より安全)を実践している。
- EPAと食品医薬品局(FDA)は、日常生活での曝露を測る曝露評価を行って、危険な化学物質から人々を守っている。
- EPAなどの機関では「最先端」科学を駆使して化学的安全性の評価を行っている。

現実

- EPAは「一切」検査を行っておらず、毒性と発がん性について必要最小限の毒性試験を製造者が実施するように求めているだけ。
- むしろ逆—ある化学物質を無認可とする以前に、疑念など抱いていないのが通例。
- 曝露評価はモデルを基に行われ、曝露の実測はまれ。
 - 少量曝露の影響評価向け
- 使用されている実験科学は大部分が古めかしいもので、規制される側の事業体に大きく影響される。
 - EDCスクリーニングバッテリー

Implications For Human Health

ヒトの健康への影響

- 内分泌攪乱物質は環境に少量存在するだけで作用し、さまざまな臓器系に有害な影響を及ぼす。
- 内分泌攪乱物質は、食物、パーソナルケア製品、環境汚染物質の中に広く存在している。
- 出生前や若年期の内分泌攪乱物質への曝露は、当事者の健康や疾患に対する脆弱性に永続的な影響を及ぼす可能性がある。
- 出生前曝露の影響は、後代の人たち(自分の子孫)に受け継がれる可能性がある。
- 後代に影響を及ぼす化学物質が存在することにより、そうした物質への曝露を低減できなかった場合の危険性が増大する。

Key Issues to Resolve for the Future

今後の解決が求められる重要課題

- いま必要なのは検査の実施であり、仲間内で審査した結果の発表ではない
 - すべてを白日の下に晒すことが安全確保の最善策
- 規制に関する決定を下す際に使用されるデータの質はどうすれば正当に評価できるか？
- 無毒性、非発がん性の評価項目(肥満、糖尿病、内分泌攪乱)に関するデータを活かすにはどうすればよいか？
 - この3つは最も重要な評価項目といえる
- どうすれば少量曝露データを規制に関する決定に活かすことができるか？
 - 少量曝露でも影響はある
 - 非単調性曝露反応は起こる
 - 両者とも内分泌系の作用に基づくと思われるが、従来の毒性学的理解の範疇を超えている
- 製造業者が自社の製品を検査して規制に関わるデータを提供することを信頼していくにはどうすればよいか？
 - 疑う余地のない、解決不能な利害対立

Risk Assessment

リスク評価

- リスク評価 - 「政府と企業が結託して、大衆を有害化学物質に晒して利益を得ようとしている」 - R. Thomas Zoeller (マサチューセッツ州立大学)
- リスク - 環境ストレス(有害反応を引き起こしうる化学物質)への曝露に由来するヒトの健康や生態系への悪影響の可能性—米国環境保護庁
 - 身の周りに存在する化学物質の量
 - 曝露量
 - 各化学物質特有の毒性
 - ただし、影響の大きさはノータッチ！
- 化学物質リスク評価では、それ未満だと影響がないとされる、げっ歯類の無毒性量を基準とした毒性閾値が想定されている。
 - 多くのEDCが既成の無毒性量よりはるかに低い数値で作用
- 多くの内分泌評価項目には閾値が存在しない可能性
- 化学物質リスク評価の考え方に致命的欠陥があるのか？

EDCs - the take home messages

EDC - 結論

