内閣府食品安全委員会事務局
平成16年度食品安全確保総合調査報告書

平成16年度
食品に含まれる肥育ホルモンの健康影響評価に関する情報収集調査報告書

平成17年２月

株式会社三菱化学安全科学研究所

はじめに

本調査は、食品健康影響評価を実施する必要性を検討するための基礎資料とすることを目的として、食品健康影響評価を実施する必要性について検討するとされた肥育ホルモンを対象として、各種毒性試験における知見に関する毒性評価、ヒト医薬品としての使用に関する疫学調査等の広範にわたる分野の最新の科学情報について、収拾、整理することを目的として実施したものである。

具体的には、17β-エストラジオール、プロゲステロン、テストステロンを対象として、国際的評価機関等で作成されている評価文書、および別途指定された文献、その他本調査に必要な文献について原著等を収集し、これらから得られた情報をもとに、肥育ホルモン毎に、基本的に下記の項目にしたがって、科学的知見の整理を行った。

① 薬剤の概要

物質名、分子式、分子量、化学的性状、性質、肥育ホルモンとしての使用、肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル

② 毒性の概要

吸収･分布・代謝・排泄、修飾、作用機序

毒性試験（急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性／及び発がん性、繁殖および催奇形性試験）

遺伝毒性

ヒトにおける医療上の副作用･疫学的知見

③ 国際機関および諸外国における評価の概要（JECFA、EU、FDA、AU）

食品に含まれる肥育ホルモンの健康影響評価に関する情報収集調査

目　　次

17β-エストラジオール

1．薬剤の概要……1

（1）物質名……1

（2）性質……1

（3）肥育ホルモンとしての使用……2

（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル……2

2．毒性の概要……5

2．1　薬物動態……5

（1）吸収・分布・代謝・排泄……5

（2）水酸化とメチル化……10

（3）生合成……12

（4）作用機序……14

2．2　毒性学的知見……16

（1）急性毒性……16

（2）短期毒性……16

（3）慢性毒性および発がん性……16

（4）繁殖および催奇形性試験……18

（5）遺伝毒性……21

（6）その他の知見……29

1）　免疫系に及ぼす影響に関する知見……29

2）発がんの作用機序に関する知見……30

2．3　ヒトにおける知見……36

（1）ヒトにおける医療上の知見……36

（2）疫学的知見……38

2．4　国際機関および諸外国における評価の概要……40

3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定……45

参考文献……46

プロゲステロン

1．薬剤の概要……59
（1）物質名……59
（2）性質……59
（3）肥育ホルモンとしての使用……60
（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル……60
2．毒性の概要……62
2．1　薬物動態……62
（1）吸収・分布・代謝・排泄……62
（2）生体内変化……66
（3）生合成……67
（4）作用機序……67
2．2　毒性学的知見……69
（1）急性毒性……69
（2）短期毒性……69
（3）慢性毒性および発がん性……70
（4）繁殖および催奇形性試験……71
（5）遺伝毒性……72
（6）その他の知見……73
1）　免疫系に及ぼす影響に関する知見……74
2）ヒトにおける発がん性に関する考察……74
2．3　ヒトにおける知見……74
（1）ヒトにおける医療上の知見……74
（2）疫学的知見……77
2．4　国際機関および諸外国における評価の概要……83
3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定……88
参考文献……89

テストステロン

1．薬剤の概要……95

（1）物質名……95

（2）性質……95

（3）肥育ホルモンとしての使用……96

（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル……97

2．毒性の概要……98

2．1　薬物動態……98

（1）吸収・分布・代謝・排泄……98

（2）生体内変化……101

（3）生合成……102

（4）作用機序……103

2．2　毒性学的知見……104

（1）急性毒性……104

（2）短期毒性……105

（3）慢性毒性および発がん性……105

（4）繁殖および催奇形性試験……107

（5）遺伝毒性……107

（6）その他の知見……109

1）　免疫系に及ぼす影響に関する知見……109

2．3　ヒトにおける知見……109

（1）ヒトにおける医療上の知見……109

2．4　国際機関および諸外国における評価の概要……112

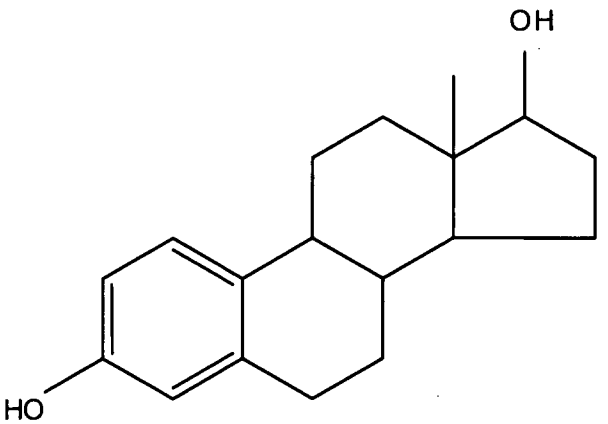
3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定……116

参考文献……117

17β-エストラジオール

1．薬剤の概要

（1）物質名



Estradiol

分　子　式	: $C_{18}H_{24}O_2$
分　子　量	: 272.38
常温における性状	: 白色～微黄色の結晶または結晶性粉末
融　　点	: 173～179 ℃

（2）性質

動物に発情作用を示すステロイド骨格を持つホルモンおよび類似の作用を示す物質は、エストロゲンと総称される。エストロゲンには①生体内で合成されるもの、②その化学的誘導体、③ステロイド骨格を持たない合成物質がある。エストラジオールは①に該当する天然型ホルモンであり、17 位の水酸基の配位によりα型とβ型の異性体が存在している。β型の異性体、すなわちエストラジオール-17β（E_2）はセストロゲン活性が強いが、α型の異性体、エストラジオール-17αのエストロゲン活性は弱い。エストロゲンには他に①としてエストロン（E_1）、エストリオール（E_3）等、②としてエチニルエストラジオール等、③としてスチルベストロール、ゼラノール等がある。安息香酸エストラジオールについては、生体内で速やかにエストラジオール-17βに変換され生理作用を発揮するため①の範疇として考えられている。

エストラジオール-17β、即ちエストラ-1,3,5(10)-トリエン-3,17β-ジオールは 18-炭素のステロイドホルモンであり、主に卵巣（特に成人女性卵巣中の発達中の卵胞）、副腎および

精巣（これらはエストロゲンも分泌する）で合成、分泌される最も強力な雌性ホルモン（エストロゲン）である。この性ホルモンはヒトの器官および臓器系において多数の機能に影響を及ぼしている。このうち最も重要なのが生殖機能である。エストラジオールは胚形成の初期段階で合成、分泌され、雌の生涯において雌性付属器の正常な発達に大きく関わっている。(EU SCVPH, 1999)

（3）肥育ホルモンとしての使用

安息香酸エストラジオール（10～28 mg）またはエストラジオール-17β（E2：8～24 mg）は、体重増加率（すなわち生長促進）の上昇と飼料効率の向上を目的として耳埋込製剤の形で牛に投与されている。吉草酸エストラジオールは、牛の発情期を同調させることを目的に皮下または筋肉内注射投与されている。安息香酸エストラジオールや吉草酸エストラジオール等のエストラジオールのエステルは *in vivo* では直ちに開裂してエストラジオールになるが、こうして生じたエストラジオールは内因性の E2 と構造的に同一であることから、これも内因性物質と考えられている。(引用：JECFA, 2000)

我が国では E2 を主成分とする動物用医薬品が、繁殖用の注射剤や膣内挿入剤として既に承認されており、単独、あるいはプロゲステロンと併用される。オーストラリア、米国、カナダ、ニュージーランドなどの牛肉輸出国では、ウシの成長促進物質として合成ステロイドであるゼラノール、メレンゲステロールアセテート、トレンボロンアセテートの使用も認められている。

（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル

FAO/WHO の合同専門家会議は 2000 年、動物および食品中の動物医薬品残留物の評価を行った（FAO/WHO, 2000）。この結果をもとに、17β-エストラジオールを肥育ホルモンとして使用した時の食肉中の 17β-エストラジオールレベルを表 1 にまとめた。

表 1-1　動物薬処理された食肉（筋肉）中のエストラジオール-17β の濃度

動物	処理薬と屠殺日		濃度 (ng/kg)		
			Min	Max	Median
雄牛(去勢牛)	SYNOVEX-S (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	4.58	15.3	9.71
		30 日後	1.00	15.3	8.74
		61 日後	3.75	11.3	7.23
		90 日後	0.97	7.81	4.51
		120 日後	1.04	3.33	2.23
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	0.34	1.21	0.68
雌牛(未経産牛)	SYNOVEX-H (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	30 日後	2.14	65.8	30.5
		60 日後	3.57	20.5	10.2
		89 日後	2.39	16.8	10.4
		119 日後	1.09	5.58	2.07
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	1.05	35.2	2.91
雄牛(去勢牛)	SREER-oid (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	29.0	76.0	55.3
		30 日後	25.5	77.0	41.8
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	28.5	61.0	44.3
雄牛(去勢牛)	HEIFER-oid (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	10.5	71.0	42.0
		30 日後	24.0	76.0	38.0
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	13.5	58.5	37.5
雌牛(成熟未経産牛，ﾍﾚﾌｫｰﾄﾞ種)	COMPUDOSE 200 (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	84 日後	5.8±1.1		
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	7.1±3.3		
雄牛(ﾍﾚﾌｫｰﾄﾞ種)	COMPUDOSE (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	63 日後	5.6	12.3	8.0
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	5	9.4	5
雌牛(成熟未経産牛)	Finaplix	15 日後	－	－	15.5
		30 日後	－	－	22.5
		60 日後	－	－	7.0
		75 日後	－	－	9.5
雄牛(去勢牛)	TORELOR	15 日後	12.0	100.0	34.5
		30 日後	15.0	82.0	36.0
		60 日後	16.0	56.0	38.0
		75 日後	8.0	47.0	27.0
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	13.0	46.0	17.5
雄牛(去勢牛)	REVALOR	15 日後	－	－	4.2
		30 日後	－	－	4.6
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	－	－	2.1

表 1-2　動物薬（SYNOVEX-H）処理された妊娠牛（未経産牛）の食肉（筋肉）中のエストラジオール-17β の濃度

処理薬と屠殺日	妊娠日数	濃度 (ng/kg)		
		Min	Max	Median
ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ 61 日後	120	21	44.3	24.4
	180	13.7	35.0	23.4
	240	15.0	33	28.7
同期ｺﾝﾄﾛｰﾙ	120	4.3	31.6	11.3
	180	9.82	57.8	24.0
	240	9.54	48.5	37.8
非同期ｺﾝﾄﾛｰﾙ	120	4.3	31.6	11.3

表 1-3　動物薬処理された食肉（筋肉）中のエストラジオール-17β の濃度
（括弧内の数字はコントロール）

動物	処理薬と処理方法		屠殺日	濃度 (ng/kg)			備考
				Min	Max	Median	(*:処理/ｺﾝﾄﾛｰﾙ)
雄牛(去勢牛)	SYNOVEX-C 及び S (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目	61 日後	10.7 (0.72)	12.2 (1.44)	11.7 (1.01)	12*
			119 日後	3.75 (0.36)	6.87 (0.73)	5.84 (0.47)	12*
		2 回処理: 0, 118 日目	241 日後	2.78 (1.89)	13.4 (2.72)	5.52 (2.18)	2.5*
		3 回処理: 0, 118, 240 日目	301 日後	15.1 (0.75)	71.4 (8.79)	21.75 (1.3)	17*
			329 日後	6.9 (0.81)	14.8 (1.84)	9.06 (1.02)	8.9*
			360 日後	3.77 (0.52)	9.78 (3.64)	5.68 (0.97)	5.9*
雌牛(未経産牛)	SYNOVEX-C 及び H (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目	61 日後	6.15 (0.96)	22.9 (1.91)	12.3 (1.51)	8.1*
			119 日後	3.23 (0.8)	14.1 (1.43)	5.57 (1.16)	4.8*
		2 回処理: 0, 118 日目	241 日後	6.17 (2.15)	11.7 (9.01)	7.86 (2.41)	3.3*
		3 回処理: 0, 118, 240 日目	301 日後	13.6 (1.38)	97.9 (6.37)	23.05 (2.74)	8.4*
			329 日後	2.64 (1.19)	17.6 (7.01)	9.21 (2.03)	4.5*
			360 日後	1.2 (1.93)	10.7 (17.3)	2.06 (8.1)	0.25*
雄牛(去勢牛)	COMPUDOSE (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目, 70-180 日後に除去	除去時	2.1	11.7	7.4	脂肪等他の部位では除去後、減少するが筋肉でのみ上昇
			除去 100 時間後	2.4	28.9	10.4	
雄牛	COMPUDOSE (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目, 56 日後に除去	除去時	7.6	30.5	18.8	
			除去 24 時間後	5.0	10.1	5.3	
		ｺﾝﾄﾛｰﾙ	―	5.0	17.1	5.0	
雄牛(去勢牛，ｺﾌﾞｳｼ)	COMPUDOSE (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目, 後に除去(期間の記載なし)	除去時	<5	12.0	5.45	
			除去 24 時間後	<5	6.4	5.65	
		ｺﾝﾄﾛｰﾙ	―	<5	27.5	8.6	

2．毒性の概要

2．1　薬物動態

（1）吸収・分布・代謝・排泄

エストラジオールの主要代謝物を以下の図 1 に示す。

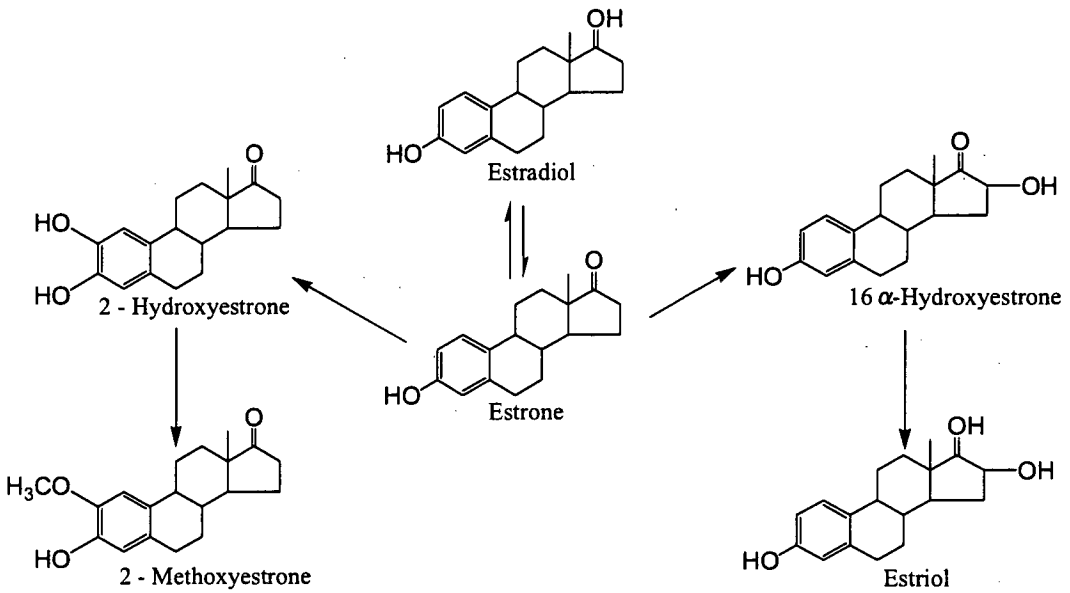


図 1 エストラジオールの主要代謝物

【ヒトにおける知見】

<u>吸収および排泄</u>

エストラジオール-17β は、脂溶性であり経口投与された場合腸管より吸収されるが、他のステロイドホルモンと同様に初回通過時に不活性化されるため、絶対的な生物学的利用能は低いとされている。エストラジオール-17β の主要代謝経路は、肝臓でエストロンに変換され、これがさらに 16α-水酸化エストロンを経てエストリオールとなる経路である。これらは、またグルクロン酸あるいは硫酸抱合を受ける。血中に最も多く存在するエストロゲンである硫酸エストロンとその他のエストロゲン抱合体は、エストラジオール-17β の血中リザーバーの役割を果たしていると考えられており、脱抱合反応の制御はエストラジオール-17β の細胞内濃度に影響すると思われる。排泄経路は主として尿で、エストリオールが主要な尿中代謝物であるが、C3 部位でグルクロン酸または硫酸抱合された種々のポリ水酸化体抱合体も排泄される。胆汁へも排泄されるが、これは腸肝循環するため、エスト

ロゲンの20%は糞から排泄されると考えられる。高繊維食は、おそらくは消化管の通過時間を短縮することで、この経路からのエストロゲンの排泄を増す（Lewis et al., 1997）。エストラジオール・グルクロン酸抱合体を経口投与されたヒト・ボランティアでは、高繊維食で血清エストラジオール-17βのAUC（血漿中濃度-時間曲線下積分面積）を有意に低下させることはなかった（Lewis et al., 1998）。

月経周期の初期卵胞期にある6名の女性ボランティアに微粒子状のエストラジオール-17βを空腹時に0.5 mg経口投与したところ、投与4時間後に平均エストラジオール-17β濃度211 pg/mLのピークが認められた（平均エストラジオール-17β濃度は138 pg/mL）。血清中エストロン濃度も同時にピークが認められ、ピーク：ベースライン比はより高かった。硫酸エストロンは投与4時間後、硫酸エストラジオールは投与6時間後にピークが観察された。硫酸エストロンのピークは常に硫酸エストラジオールのピークより高かった（Nahoul et al., 1993）。また、閉経後の女性に0.625 mgのエストラジオール-17βを投与した場合、血漿中濃度は40 pg/mL程度であった（O'connell, 1995）。

14名の若い女性にエストラジオール-17βを単回経口投与（2、4、8 mg）、または静脈投与（0.3 mg）した。8 mgの経口投与では、期待された吸収率が得られなかった。4 mgの投与時の絶対的なバイオアベイラビリティは5%であった。2コンパートメントモデルでは、静脈投与におけるAUC（血漿中濃度-時間曲線下積分面積）は4,000 pg/時間/mL、トータルクリアランスは22 mL/分/kg体重であった。薬物動態パラメータは個人内および個人間で大きな変動を示した（Kuhnz et al., 1993）。

ヒトに静脈注射した場合のエストラジオール-17βの血漿半減期は27分で、分布容積は0.082 L/kg体重であった（White et al., 1998）。別の報告では、エストラジオール-17βの血漿半減期は約30分であった（Wingard et al., 1991）。

2 mgのエストラジオール-17β（微粉末）を経口投与したところ、およそ20%が吸収され、血漿半減期は2～16時間であったとする報告がある（Zimmermann et al., 1998 ; Vree and timmer, 1998 ; Ginsburg et al., 1998）。また、閉経後の女性に2 mg/日の吉草酸エストラジオールを2週間経口投与したところ、血漿中のエストラジオール-17β、エストロン、2-水酸化

エストロン、16α-水酸化エストロンの濃度が上昇したとする報告がある（Lippert et al., 1998）。

炭素 C-1、C-2、C-4、C-6、C-7、C-11、C-14、C-15、C-16、C-18 など幾つかの部位で、内因性エストロゲンの酸化的代謝が起こることが知られている。血清および尿中で検出される主なエストロゲンは 2-水酸化代謝物である。肝臓はエストロゲン代謝の主要な場所であり、P4501A2、P4503A3 および P4503A4 に触媒される 2-および 16α-水酸化の速度は 4-水酸化の速度を大きく上回る。尿中で検出される全エストロゲンのうち 4-水酸化代謝物が占める割合はわずかに過ぎないため、4-水酸化は代謝経路としては副次的なものと考えられてきた。しかし最近では、エストラジオール-17β の肝臓外組織で 4-水酸化がエストロゲンホメオスタシスにおいて重要な役割をはたしているらしいことが明らかになった。エストロゲン誘発性腫瘍が発生するいくつかの器官では、エストラジオール-17β の 4-水酸化の速度が 2-水酸化の場合と同等ないしこれを上回り、乳房腫瘍および子宮腫瘍から採取したサンプルでは、正常組織に比べて高い 4-水酸化エストラジオール-17β 化活性が観察されている。ヒトでは、シトクローム P4501B1 が最も重要なエストラジオール-17β の 4-ヒドロキシラーゼであることが確認されている。この酵素は主に肝臓外組織で発現する（Zhu and Conney, 1998a ; Martucci and Fishman, 1993）。

なお、水酸化については、後で詳述する。

【動物における知見】

雌の Wistar ラットに 0.1 mg/kg を静脈内投与あるいは 10 mg/kg を胃内投与し、ラジオイムノアッセイ法（RIA）により心臓、肝臓、腎臓、脳および血漿のエストラジオール-17β 量を測定した。10 mg/kg 体重を胃内投与した場合の絶対的な生物学的利用率は、用量補正を行った AUC（血漿中濃度-時間曲線下積分面積）にもとづき、8.3％であった。トータルクリアランスは 154 mL/分/kg 体重であった。肝臓でのエストラジオール-17β の半減期は 2.6 時間であった（Schleicher et al., 1998）。

^{14}C-エストラジオール-17β を未経産の雌ブタの胃腸管に注入したところ、頸静脈血液中の遊離エストロゲン濃度は、標識エストラジオール-17β 注入後のいずれの時点でも低く（<1％）、検出可能期間もごく短かった。抱合化が注入後速やかに認められ、血中の放射線標

識の約 60～90%はグルクロン酸抱合され、少量の硫酸抱合体が検出された。脱抱合体は約 1%であった。抱合体を脱抱合化した場合に検出される最も一般的なステロイドはエストロンであった（Moore et al., 1982）。

結晶のエストラジオール-17β（カカオバター内に 10 mg）を 26 時間絶食させた成熟期前の雌ブタの胃内に投与したところ、肝門脈から採取した血液中では 5 分以内にエストラジオール-17β、エストロン、エストラジオール・グルクロン酸抱合体、硫酸エストロンの濃度が上昇し、数時間の維持が認められた。エストラジオール-17β量は全エストロゲン量の 6%であった。頸静脈から採取した血液中では、抱合体の濃度は上昇したが、遊離型ホルモンの濃度は上昇しなかった。エストロゲンを含む胆汁を十二指腸に注入したところ、数分以内に肝門脈と頸静脈のグルクロン酸抱合体濃度はピークに達し、さらに 180 分後に第二のピークが認められた。最初のピークは胆汁をエーテル処理して遊離型のエストラジオール-17βとエストロンを除去すると認められず、第二のピークは胆汁注入前に抗生物質を経口投与すると認められなかった（Ruoff and Dziuk, 1994）。

雄の仔牛に安息香酸エストラジオールを投与すると、筋肉中で見いだされる主代謝物はエストラジオール-17β（検出された放射能の 38～70%）およびエストロン（17～45%）であった。脂肪中の代謝物パターンは筋肉中と同様であった。残留値が最も高かったのは腎臓および肝臓であった。腎臓で検出された主なエストロゲン代謝物はエストラジオール-17α、エストラジオー-17αのグルクロン酸抱合体、エストラジオール-17βおよびエストロンであった。肝臓中の主代謝物は同定できなかった（検出された放射能の 40%）。残りの放射能はエストラジオール-17β、エストロン、エストリオール、グルクロン酸抱合体であった（JECFA, 1988；Dunn et al., 1977）。

上記の肝臓中の同定されなかった主代謝物は、放射性物質で標識したエストラジオール-17βを用いた別の試験で、エストラジオール-17αのβ-D-グルコピラノシドであることが示された。エストラジオール-17αの 3-β-D-グルクロン酸およびエストラジオールの他の 17-グリコシドも確認された（JECFA, 1988；Rao et al., 1979）。

Henricks et al.（1997）は、成長促進ステロイド エストラジオール-17β、トレンボロンアセテート（TBA）およびメレンゲステロールアセテート（MGA）の血清中エストラジオー

ル-17βおよびトレンボロン-17β（TBOH）への影響を未経産雌ウシを用いて評価した。MGA (0.5 mg/日)、レバロール-H (14 mg エストラジオール-17β＋140 mg TBA)、レバロール-H＋MGA、フィナプリックス-H（200 mg TBA)、フィナプリックス-H＋MGA を投与した後、0、1、3、5、7、13、21、28、42、56、84、112、140 日後にエストラジオール-17βおよび TBOH の血清中濃度を測定した。レバロール-H（14 mg エストラジオール-17β＋140 mg TBA）またはレバロール-H＋MGA 投与群では、血清エストラジオール-17β濃度が上昇した（$p<0.05$)。ピーク濃度（62.7～117.0 pg/mL）は 21～56 日目であった。MGA の投与は血清中エストラジオール-17β濃度の上昇（70.4～82.5 pg/mL）に何ら影響を及ぼさなかった。84 日後から 140 日後まで、血清中エストラジオール-17β濃度はレバロール-H 投与（19 pg/mL）後の方が対照（7 pg/mL）またはフィナプリックス-H 投与後（6.5 pg/mL）よりも高かった。MGA を投与した対照では、56～140 日目における血清中エストラジオール-17β濃度が MGA を与えなかった対照に比べて 2～3 倍であった。皮下埋込除去と薬物排出の関係はこの試験では扱われていない（EU SCVPH, 1999)。

4-水酸化エストラジオールまたは 17β-エストラジオール-3,4-キノンの腹腔内投与（6 μmol/100 g 体重）後に、ラットの前立腺からさまざまなエストロゲン代謝物が検出されたが、それらが前立腺がんの発生に果たした役割は確認されなかった（Cavalieri et al., 2002)。エストロゲン受容体-αノックアウトマウスから採取した乳腺腫瘍および増殖性組織の代謝物プロファイルは、さまざまな濃度（pmol/g 組織）のカテコールエストロゲン代謝物ならびにそれらのグルタチオン抱合体およびシステイン抱合体を含んでいた（Devanesan et al., 2001)。

【性ホルモン結合グロブリン（SHBG）に関する知見】

血中ではエストラジオール-17βは、性ホルモン結合グロブリン（SHBG)、およびわずかに血清アルブミンに結合している。血中エストラジオール-17βのうち非結合型はわずか 1～2%に過ぎず、40%は SHBG と結合し、残りはアルブミンと結合している（Carr, 1998)。SHBG と結合したエストラジオール-17βはほとんどホルモン活性を示さない。血漿中の SHBG は肝臓から分泌される。また生殖組織や脳を含む多くの組織に類似の非分泌型の SHBG が存在している。ヒト血漿中の SHBG 濃度は成人よりも思春期前の子供で高い（Andersson et al., 1997)。

性ホルモン結合グロブリン（SHBG）の血漿中濃度は、エストロゲンにより 5～10 倍上昇し、テストステロンにより 2 倍低下する（Griffin and Wilson, 1998）。男性は女性に比べ総テストステロン濃度が 20 倍高く、よって遊離型テストステロンの濃度には 40 倍の差が生ずる（Grumbach and Styne, 1998）。非配位型の血漿 SHBG はステロイドおよび SHBG-受容体と結合する。SHBG はまず受容体に結合し、次にステロイドと結合して作用を発揮すると考えられているが、ステロイドを配位した SHBG は受容体に結合できない（Hryb et al., 1990）。SHBG-受容体複合体は標的組織の膜上に存在し、cAMP シグナルトランスダクションに関与すると考えられている（Rosner, 1991）。SHBG は *in vitro* の試験においてヒト前立腺由来培養細胞および MCF-7 細胞を用いた増殖試験で、遊離型のエストロゲンの機能を阻害する作用を示した（Damassa et al., 1991 ; Fortunati et al., 1998）。

（2）水酸化とメチル化

ヒトにおけるエストラジオール-17β の主要代謝経路は、まず 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素によりエストロンに変換され、さらに 16α 水酸化および 17 ケト基の還元によってエストリオールに変換されるものである。これ以外に 2-あるいは 4-水酸化という 2 つの主要な経路によって、2-あるいは 4-水酸化エストロゲン（2-あるいは 4-水酸化カテコール類）に変換される経路が存在することが知られている。水酸化カテコール類はさらにセミキノンを介してキノンに代謝される。特に、4-水酸化により生じる 17β-エストラジオール-3,4-キノンあるいはエストロン-3,4-キノンが DNA 塩基のグアニンあるいはアデニンと付加体を形成し、脱プリン化を起こし DNA に損傷を与える可能性があると報告されている。キノンはまた、生体内でセミキノンに還元される（酸化還元サイクル）。このサイクルで DNA に酸化的傷害を与える活性酸素種が生じるとする報告もあることから、水酸化については数多くの報告がある（Ball and Knuppen, 1980 ; Service, 1998 ; Cavalieri et al., 2001, 2002 ; Devanesan et al., 2001 ; Lavigne et al., 2001 ; Sasco, 2001）。

【水酸化】

ヒトやその他多くの種では、肝臓におけるエストラジオールの水酸化は主に 2-水酸化である。4-水酸化エストロゲンも形成されるが、その量ははるかに少ない。これらの水酸化には種々のシトクローム P450（CYP）が関与している。2-あるいは 4-水酸化を触媒するヒ

ト型CYPにはCYP1A2と、その量は少ないがCYP3A4およびCYP2C9とがある(Shou et al., 1997；Yamazaki et al., 1998)。16α-水酸化はCYP1A2（エストラジオール-17β）とCYP3A4（エストラジオール-17βとエストロン）により触媒される。この他に、4-水酸化を特異的に触媒するCYPとしてCYP1B1が知られている。これは肝臓以外の一部組織、特にステロイド産生組織とその標的組織で、エストロゲン代謝の主要酵素経路となっているという報告がある（Martucci and Fishman, 1993；Larsen et al., 1998；Zhu and Conney, 1998a)。ラットの下垂体、マウスおよびヒトの子宮、ヒトの乳腺ではエストロゲン4-水酸化酵素が高レベルに発現している（Liehr et al., 1995；Liehr and Ricci, 1996；Yager and Liehr, 1996；Larsen et al., 1998)。なお、ヒトのCYP1B1はエストラジオール-17βを4-水酸化するが、マウスのCYP1B1がエストラジオール-17βに結合するという証拠はない（Savas et al., 1997)。

ヒドロキシルカテコール類は、生体内でさらにセミキノンやキノンに酸化される可能性がある。セミキノン中間体を介したカテコールからキノンへの酸化は、ペルオキシダーゼまたはCYP1A1により触媒されている。キノンからセミキノンへの還元はNADPH-依存型P450還元酵素により触媒されている（Wang and Liehr, 1994；Yager and Liehr, 1996)。

【水酸化カテコール類のメチル化】

水酸化カテコール類は、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）の作用によりメチル化される。肝臓や腎臓、血球、子宮内膜、乳腺を含む多くの組織で高いCOMT活性が見つかっている。この酵素の活性には3種の遺伝多形があるが、乳癌リスクとの関連性に関する疫学研究からは活性とリスクとの間で矛盾する結果が得られている（Lavigne et al., 1997；Millikan et al., 1998；Thompson et al., 1998)。水酸化カテコール類のメチル化は、これら化合物が前述の酸化還元サイクルに入ることを阻止するメカニズムとして作用していると考えられている（Zhu and Conney, 1998a, b)。

カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）による4-水酸化エストラジオールのメチル化は2-水酸化エストラジオールによって阻害される（Roy et al., 1990)。エストラジオール誘導癌を発生することが知られている動物組織（例えば、ラットの下垂体、雄シリアンハムスターの腎臓、マウスの子宮）では、その他の系統、種、あるいは同一個体の他組織と比べ、高い濃度の内因性カテコールアミンが存在している（最大50倍の濃度)。カ

テコールアミンはCOMTによるメチル化を阻害またはこれと競合することにより、結果的にエストラジオールの水酸化代謝物の濃度を上昇させると考えられている（Zhu and Conney, 1998a）。

メチル化カテコール類の脱メチル化も報告されている。腎臓ミクロゾームでは 2-と 4-メトキシエストラジオールの脱メチル化率はほぼ同等であるが、肝臓では2-メトキシエストラジオールの脱メチル化率の方が4-メトキシエストラジオールの脱メチル化率より5倍高い。エストラジオール処理は、肝臓の2-メトキシエストラジオールの脱メチル化をコントロールに比べ約20%低下させるが、4-メトキシエストラジオールの脱メチル化に対してはほとんど影響しない。腎臓ではこれと逆の現象が観察されている（Zhu et al., 1996）。

（3）生合成

哺乳類ではエストラジオール-17β、エストロン、エリスリトール等のエストロゲンは生殖腺、副腎皮質そして胎盤中のステロイド前駆体より合成されるか、末梢組織でアンドロゲン性の前駆物質から合成される。

妊娠していない閉経前の成人女性では、エストラジオール-17βは主に卵巣で生合成され分泌される。妊娠女性においては胎盤においても合成される。合成されたエストラジオール-17βはエストリオールにまで代謝されるが、妊婦の場合ではエストリオールは胎児副腎由来のデヒドロエピアンドロステロンからも形成される。この時の尿中エストリオールの少なくとも90%は胎児由来であるとされている（Carr, 1992）。

男性や閉経後の女性では、エストロゲンの供給源は末梢でのアロマターゼによるアンドロゲンからの変換である。男性では血漿テストステロンの約 0.3%がエストラジオール-17βに変換されている。全エストラジオール-17βの約 25%は精巣からの分泌によるものと考えられている（Griffin and Wilson, 1998）。

ヒトでは、12 歳までは血漿エストラジオール-17β濃度は低く維持されている。初経を迎える頃には下垂体前葉からの性腺刺激ホルモンの血漿濃度が増加し、卵巣でのエストラジオール-17βの産生が刺激される。月経が始まった女性においては、月経周期により血漿エストラジオール-17β濃度は変動する。血漿中エストラジオール-17β濃度は卵胞成熟に伴って増加し、排卵直前にピークを迎え、排卵後に一旦急激に低下し、黄体期の間に再び

徐々に上昇し、その後8～10日間一定値を保ってから低下し月経を迎えるというサイクルを繰り返す。受精が起こると、排卵後に優勢卵胞から形成された黄体は活性化された状態を保ち、妊娠初期6～8週間は主にこの黄体から、その後は胎盤からエストラジオール-17βが供給される。エストラジオール-17β濃度は妊娠後期には最大値に達し、出産後に通常のサイクルに復帰する（JECFA, 2000）。

血中エストロゲン濃度、日々の産生、そして代謝排泄率については様々な報告がなされているが、JECFAにおいては表2のようにまとめられている。

表2 血中エストロゲン、代謝排泄率、一日産生量

性	年齢または周期	血清中濃度（pg/mL）	代謝クリアランス（L/日）	一日総産生量（mg/日）
男子			1,400	
	思春期前	< 10		< 0.014
	12-16 歳	< 23		< 0.031
	> 16 歳	20-50		0.027-0.068
女子			1,400	
	< 8 歳	< 7		< 0.01
	2-12	8-18		0.01-0.024
	12-14	16-34		0.02-0.09
	14-16	20-68		0.03-0.09
	卵胞初期	20-100		0.03-0.14
	排卵前	100-350		0.14-0.47
	黄体期	100-350		0.14-0.47
	妊娠後期	18 000		24
	閉経後	10-30		0.01-0.04

思春期前の男子あるいは女子における血清中のエストラジオール-17β濃度は低く、男子で2.6 pg/mL、女子で4.5 pg/mLであったとする報告がある（Potau et al., 1999）。一方で、思春期前の男子あるいは女子のエストラジオール-17β濃度はこれよりも低く、女子で0.6 pg/mL、男子では0.08 pg/mLとする報告がある（Klein et al., 1994）

前者の報告ではエストラジオール-17βの測定にラジオイムノアッセイ法（RIA）が用いられており、後者ではリコンビナント酵母細胞バイオアッセイ（RCBA）が用いられている。15 pg/mLより低い濃度領域ではRCBAはRIAと比較して低い値を示すといわれている。RIAは抗原抗体反応、RCBAはエストロゲンレセプターへの結合能を測定原理としているという違いがあり、両者に影響を与えるファクターについてはいくつか報告されてい

る。また、測定に先立つ試料の抽出方法によっても影響を受けるとする報告もある（Burdge et al., 1998）が、両者の違いがなぜ起こるかについて明確な結論は出ていない。最近、多段階の抽出・濃縮の精製操作と GC/MS の組み合わせにより、2～10 ppt の検出限界が得られたとする報告がある（Marchand et al., 2000；Le Bizec, 2000）が、分析法のバリデーションが課題とされている。

（4）作用機序

【細胞内レセプターを介する作用】

ステロイド性ホルモンの作用は、一般的にはステロイド性ホルモンと特異的細胞内レセプターとが相互作用し、ゲノム中の特異的 DNA 配列と結合し特定の遺伝子の転写を活性化することにより現れると考えられている（Malayer and Gorski, 1993）。代表的な例としては生殖組織の発達、卵胞の成熟、子宮および膣の発達、乳房での乳腺の発達がある。生殖組織以外の組織では、エストロゲンは骨成長に影響し骨吸収を阻止し、肝臓への作用を通して血漿脂質のプロフィールに影響を及ぼす。またエストロゲンは、エストロゲンレセプターを持つ細胞（例えば MCF-7 細胞）の成長あるいは増殖を促進する。一方、エストロゲンレセプターを持たない細胞（例えば MDA-MB-231 細胞）の増殖はエストロゲンに依存しない（Bernstein and Ross, 1993；Russo and Russo, 1996；Tsai et al., 1998）。

現時点ではエストラジオール-17β に関しては、エストロゲン受容体（ER）として ERα、および ERβ と ERβ2 の 3 種類のレセプターが同定されている。ERα と ERβ の RNA 分析から、ERα は様々な組織に広く分布しているが、ERβ は前立腺、卵巣（成熟過程の卵巣の顆粒層細胞に局在）、表皮、膀胱、子宮、肺、胸腺、結腸、小腸、血管壁、下垂体、視床下部、小脳、脳皮質に多く分布していることが示されている（Couse et al., 1997；Kuiper et al., 1998）。ERα と ERβ は異なる機能を担っていると考えられている（JECFA, 2000）。

エストラジオール-17β は、主として受容体が仲介するメカニズムにより、細胞の増殖および分化に多面的生物学的影響を及ぼす。エストラジオール-17β は、エストロゲン受容体と高い親和性および高い特異性で結合する（JECFA, 1988, 1999；Anstead et al., 1997）。エストロゲン受容体（ER）には 2 つのサブタイプが知られている（ER-α および ER-β）。これらのタンパク質はホモおよびヘテロダイマー複合体を形成することが知られているが、

ER-βサブタイプに関する情報は限られている。エストラジオール-17βの ER-αについての解離定数は、0.1～1.0 nmol/L である（Anstead et al., 1997 ; Giguere et al., 1998）。エストラジオール-17βの芳香族 A-環および 3-OH 基は、エストラジオール-17βのリガンド結合活性および受容体活性化活性の重要な構成要素である（EU SCVPH, 1999）。

エストロゲン代謝物のほとんどは、ER-αへの相対的結合親和性が親化合物よりかなり低いのに対し、カテコール代謝物の 2-水酸化エストラジオール-17β（2-OH-E_2）および 4-水酸化エストラジオール-17β（4-OH-E_2）は、エストラジオールの相対結合親和性のそれぞれ約 100 および 150%で結合することが知られている。これらカテコールエストロゲンはさらにメチル化すると、相対結合親和性が大きく低下する（Anstead et al., 1997 ; Giguere et al., 1998 ; Katzenellenbogen et al., 1996 ; Jenster, 1998）。

【細胞内レセプターを介さない作用】

細胞内レセプターを介さないエストラジオール-17βの生理学的作用として、子宮筋、神経、下垂体、成熟卵細胞、顆粒層細胞への作用が報告されている（Wehling, 1997）。また、エストラジオール-17βには抗酸化作用があることが報告されている。例えば、エストラジオール-17βは 10^{-5} mol/L の濃度で神経細胞を酸化損傷から保護したが、この作用は 10^{-7}mol/L 濃度では認められなかった（Behl et al., 1995）。生理学的な血中濃度では低密度リポタンパク質の酸化を防止したとする報告がある（Rifici and Kachadurian, 1992 ; Hoogerbrugge et al., 1998）。また、酸化に対する作用は代謝物によって異なっており、エストラジオール-17β、エストリオールそしてメトキシエストロゲン代謝物は抗酸化特性を示すが、カテコールエストロゲンは低濃度（5 pmol/L～100 nmol/L）では酸化促進特性を示し、高濃度（0.5～50 μmol/L）では抗酸化特性を示した（Markides et al., 1998）。$E_{1/2}$（エストラジオール-17β／エストロン）-3,4-キノンの DNA 付加体形成もレセプターを介さない作用と考えられる。

また、エストラジオール-17βにはおそらくは cAMP、Ca^{++}、あるいはイオンチャンネル・ゲーティング等の細胞内シグナルトランスダクションを介すると思われる、速効性・非ゲノム性の作用も考えられている（Moss et al., 1997）。前述した性ホルモン結合グロブリン（SHBG）-受容体複合体を介した細胞内の cAMP シグナルトランスダクションの活性化は遺伝子の転写を介さない作用である（JECFA, 2000）。

２．２　毒性学的知見

（１）急性毒性

【ヒトでのデータ】

エストロゲン微粒子化製剤を経口投与する場合の治療用量は0.5～2 mg/日である。小児がエストロゲンを含む経口避妊薬を誤って大量に飲み込んだ事例において有害な作用は報告されなかった（Physician's Desk Reference, 1999）。吉草酸エストラジオール（*in vivo* でエストラジオール-17βに変換される）を160mg（2mg錠を80錠）服用した若い女性において、服用当日の脳波に典型的な大脳皮質下障害が認められたが、1週間後には正常に回復した（Punnonen and Salmi, 1983）。

（２）短期毒性

【動物でのデータ】

チャールスリバーCD BR ラットを用いたエストラジオール-17βの混餌投与試験（0、0.003、0.17、0.69あるいは4.1 mg/kg体重/日）において認められた毒性所見は以下の通りであった。

0.17 mg 以上の投与群において、用量依存的に体重、食物摂取量、飼料効率の上昇が認められた。血液学的および血液生化学的な所見として、0.69および4.1 mg投与群で軽度から中程度の再生不良性貧血、リンパ球減少症、血清コレステロール低下（最高用量時のみ）と脾臓リンパ細胞のサブタイプの変化が観察された。複数の臓器で重量の変化が認められた。0.17 mg 以上投与群で卵巣機能の不全を示す証拠（黄体の減少や大型の空濾胞）が認められた。病理組織学的所見として、0.69または4.1 mg/kg投与群の雌雄で、小葉中心性肝細胞肥大、下垂体のびまん性肥大が認められた。また、雄で乳腺の女性化、精上皮の退行や精巣および副性腺の萎縮、雌で乳腺の肥大、嚢胞性卵胞、子宮内膜の子宮内膜腺の肥大が認められた（Biegel et al., 1998）。

（３）慢性毒性および発がん性

【動物でのデータ】

エストラジオール-17βの発がん性については非常に多くの報告があり、マウスにおける乳腺、下垂体、子宮、子宮頸部、膣、精巣、リンパおよび骨の腫瘍の発生率上昇が報告されている（Huseby, 1980；Highman et al., 1980, 1981；Nagasawa et al., 1980）。また、ラット

においては、エストラジオールまたはエストロン投与により乳腺および／または下垂体腫瘍の発生率上昇が認められた（Inoh et al., 1985；Noble et al., 1975；Shull et al., 1997）。ハムスターにおいては、エストラジオール-17βは雄および卵巣切除した雌の腎臓腫瘍を誘発した（Kirkman, 1959）。

表3にJECFA（2000）がレビューしている論文等をまとめて示す。

表3 エストロゲンの慢性毒性および発がん性試験の結果

動物種	用量	所見	参考文献
マウス	－	乳腺、下垂体、子宮、子宮頸部、膣、精巣、リンパ節および骨における腫瘍発生頻度の上昇	IARC, 1979
ラット	－	乳腺および下垂体の腫瘍発生頻度が上昇 部分肝切除およびN-ニトロソジエチルアミン投与により誘導された変性肝細胞の増殖巣および肝小結節の発生頻度の上昇（統計的に有意ではない）	
ハムスター	－	未処置および去勢した雄、また卵巣を摘出した雌で悪性の腎臓腫瘍の発生頻度の上昇	
シリアンハムスター（去勢雄；9ヶ月）	110 μg/日 皮下埋込み、	全ての処理動物で腎臓腫瘍発生頻度が上昇	Li et al., 1995
シリアンハムスター（去勢雄；8ヶ月）	96 μg/日 皮下埋込み、	全ての処理動物で腎臓腫瘍発生頻度が上昇 エチニルエストラジオールの同時処理により無効化	Li et al., 1998
マウス（B6C3F$_1$；4日連続）	30 μmol/kg 体重 腹腔内注射	発がん性は認められなかった。カテコールエストロゲンとエストロン-3,4-キノンのみ雄肝に腫瘍誘導	Cavalieri et al., 1997
シリアンハムスター（雄；175日）	25 mg 皮下埋込み	5匹中4匹に腎臓腫瘍の発生	Liehr et al., 1986*
シリアンハムスター（去勢雄；9ヶ月）	100-200 μg/日	20%の動物で腎臓腫瘍が発生	Li et al., 1983
マウス（Virgin C3H/HeJ；6-110週齢）	0.015-0.75（mg/kg 体重/日；混餌）	用量依存的に子宮頸部腺腫症および乳腺の肥大性房症結節の発生頻度が上昇、発生時間短縮	Highman et al., 1978, 1980*
マウス（C3H/Hej；1年間）	0.5 mg/L（飲水）	乳腺腫瘍発生頻度が上昇	Welsch, 1976

なお、エストラジオール-17βの発がん性については、親化合物の細胞増殖促進作用によるプロモーター作用によるものか、あるいは代謝物の遺伝毒性に由来するイニシエーター作用によるものかを巡って多数の研究が行われている。遺伝毒性については（5）それ以外の発がん性の機序に関する知見については（6）を参照されたい。

（4）繁殖および催奇形性試験

エストラジオール-17βの繁殖および催奇形性に関しては、多くの試験が実施されている。JECFA（2000）においては表4のようにまとめられている。

表4 エストロゲンの生殖および催奇形性試験の結果

動物種	用量	所見	参考文献
マウス、ラット	0.1 - 35 mg/日 皮下投与	催奇形性	IARC, 1979
ラット（雌）	0.003 - 4.1 mg/kg 体重/日、90 日	NOEL 特定できず	Biegel et al., 1998
トランスジェニックマウス	2-3 倍のエストゲン濃度	NOEL 示されず （10.75～11 日目に影響が観察された）	Mahendroo et al., 1997
マウス	0 - 300 μg/匹	NOEL 示されず （胎児前立腺への影響）	vom Saal et al., 1997
Sprague-Dawley ラットより得た全培養胚	0.05 - 0.5 mmol/L	0.1 - 0.2 mmol/L 濃度で形態異常	Beyer et al., 1989
Sprague-Dawley ラット	10 mg 埋込	胚吸収	Sarkar et al., 1986
ヒト	経口避妊薬	影響の報告なし	Rothman and Louik, 1978

Biegel et al.（1998a,b）は雌の Crl:CD BR ラットをエストラジオール-17βに 90 日間混餌(F_0；0, 0.003, 0.17, 0.69, 4.1mg/kg 体重/日、F_1；0, 0.005, 0.27mg/kg 体重/日)投与した。この試験において、F_0 ラットは試験 0 日時には 49 日齢であり、血清ホルモン濃度を摂餌開始 7、28 および 90 日目に測定した。F_1 世代については出産後 98 日に測定を行った。

0.69mg 以上の投与群では子孫は得られなかった。0.17mg 以下の投与群では子孫は得られたが、対照群と比較して体重が軽値であった。0.003mg 投与群の F_0 世代の子（F_1 世代については 0.005mg）の体重は出産後に回復した。この群の平均妊娠期間は統計的有意ではないが短縮しており、これが体重減少の原因であると考えられた。0.27mg/kg 体重/日群のラットの体重は研究期間を通じてコントロールより軽かった。

F_0 世代については、試験 90 日目において 0.17mg 以上の投与群で用量依存的に血清 E2

濃度が上昇した。また、全ての投与群で用量依存的に血清プロゲステロン濃度が低下した。これらの変化と子宮の萎縮、および黄体の消失とは相関していた。黄体形成ホルモンの血清濃度は、0.69mg 以上の投与群の全測定日で、0.17mg 投与群では試験 90 日目に低下が認められた。濾胞刺激ホルモンの血清濃度には変化は殆ど見られなかった。4.1mg 投与群では、試験 90 日目にプロラクチンの血清濃度が上昇した。F_1 世代に関しては、0.27mg 投与群で出産後 28 日目に血清 E2 濃度の上昇と血清プロゲステロン濃度の低下が見られた。血清プロラクチン、濾胞刺激ホルモン及び黄体形成ホルモンに変化は見られなかった。

F_0 の 0.17mg 以上投与群および F_1 の 0.27mg 投与群で発情周期に顕著な影響が認められた。親世代への投与は雄・雌いずれの子についても肛門性器間距離に影響しなかった。雄で prepubertal separation、雌で膣開口を指標とした場合、性成熟は遅れていた。いくつかの病理組織学的所見は F_0 よりも F_1 世代で顕著であった（Biegel et al., 1998a,b）。

妊娠 10 日目のの雌 Sprague-Dawley ラットに 10mg のエストラジオール-17β またはテストステロンを皮下に埋め込んだところ、エストラジオール-17β またはテストステロンが埋め込まれた全てのラット(5/5、7/7)で胎児の完全な吸収が起こった（Sarkar et al., 1986）。

Beyer et al.（1989）はステロイド性および非ステロイド性エストロゲンの胚毒性を Sprague-Dawley ラットより得た全胚培養体を用いて調べた。調べた 0.05 から 0.5mmol/L の範囲で、傾きの強い用量反応曲線が得られ、0.1～0.2mmol/L の濃度で異形態形成作用を示した。最も多く観察された異常は前脳の形成不全であった。

エストラジオール-17β の作用は代謝活性化条件下で、より顕著かつ統計的に有意に、より強い毒性を示した。エストラジオール-17β は、雄の肝を代謝活性化系として用いた場合、より効率的に水酸化カテコール類に変換された。雌ラットの肝を用いた場合は妊娠の有無に関わらず、エチニルエストラジオールがエストラジオール-17β に比べて約 3 倍の効率で水酸化カテコール類に変換された。著者は観察された作用はステロイドの構造またはエストロゲン活性に依存しておらず、一部の（全てではない）親化合物の生物変換経路および速度に強く依存していると結論した（Beyer et al., 1989）。

タイプⅠステロイド 5α-還元酵素のノックアウト雌マウス（SRD5α1-/-、野生型 c57B1/6J/129sv）の平均同腹子数は野生型に比べ少なく、妊娠 10.75 から 11 日目に、胎盤

のアンドロゲン産生の急増と一致して胎児損失が起こっていた。ノックアウトマウスの卵形成、受精、着床および胎盤の形態は正常と考えられた。エストロゲンレセプター拮抗剤またはアロマターゼ阻害剤を投与すると、胎児損失の増加を防いだ。テストステロンはこのノックアウトマウスの胎児損失をある程度防止した。著者は5α還元酵素が妊娠中のエストロゲンの有害作用を防御していると結論した。またヒトの胎盤は齧歯類の胎盤と違って高レベルのアロマターゼを含んでおり、その結果羊水中のエストロゲン濃度が極めて高くなることから、ヒトでは、胎児胎盤系がエストロゲンから自分自身を防御する機序を発達させていると推論している（Mahendroo et al., 1997）。

CF-1マウスに、妊娠13日目に0、25、100、200または300□gのE2を含むシリコンカプセルを皮下に埋め込み、子宮内で雄と雌の間に位置した雄の胎児（MF 雄）を対象に、前立腺への影響について検討した。MF雄は7ヶ月齢時に去勢し、500□gのテストステロンを含むカプセルを皮下に埋込み、その後3週目に試験に供した。18日目に採取したMF雄の血清総エストラジオール-17β濃度は、各用量でそれぞれ94、150、230、360および530 pg/mlであり、用量依存的に増加していた。この時、25□g のエストラジオール-17βで処理された母マウスのMF雄では、前立腺上皮芽状突起の数が対照群に比べ40%増加していた。前立腺の大きさも増加していたが、個々の突起の大きさに変化は見られなかった。生後8ヶ月では、低用量投与群のMF雄で前立腺重量の増加が見られたが、高用量投与群では低下しており、逆U字型の用量反応曲線が得られた。著者は胎児血清エストロゲンの濃度の上昇が前立腺分化のアンドロゲン制御に影響し、結果として前立腺のアンドロゲンレセプターの数と前立腺の大きさを永久的に増加したと結論している（vom Saal et al., 1997）。なおこの研究に用いられた投与量はNOELより低い。

エストロゲン合成低下を示すヒトの病気（アロマターゼ欠失、胎盤スルファターゼ欠失、胎児無脳症）では、エストロゲンの産生量及び濃度は共に80～90%低下する。しかし、プロゲステロンの産生と胎児の発達は正常を保たれることから、正常妊娠では必要以上のエストロゲンが産生されていることが示唆されている（Fisher, 1998）。

経口避妊薬を服用したことのある母親より産まれた7,723名の乳児の出産証明とカルテを調べたところ、大きな生殖リスクは認められなかった（Rothman & Louik, 1978）。

なお、EU SCVPH（1999）では、エストラジオール-17βの成長および生殖への影響に関して、ホルモンのヒトの成長との関係に関するさまざま知見を総合して、外因性のエストラジオール-17βに由来する 4-ヒドロキシエストラジオール-17βがさまざまな直接的・間接的メカニズムを通して、男性および女性の生殖能力に有害影響を及ぼす可能性があるとしている。しかし、UK SGVPC（1999）は、高レベルの外因性性ホルモンはこれら生殖・発達の過程の多くの面を攪乱し、場合によっては永久的に攪乱することはありうることであるが、外因性性ホルモンへの低レベルでの環境暴露がヒトの生殖または発達に影響を与えたという証拠はない、としている。

（5）遺伝毒性

エストラジオール-17βの遺伝毒性に関しては、その代謝物も含め、非常に多くの試験が実施されている。JECFA（2000）においては表 5 のようにまとめられている。

表 5-1 エストロゲンの遺伝毒性試験の結果

エンドポイント	試験系	試験用量	結果	参考文献
In vitro				
復帰突然変異	ネスミチフス菌 TA100	50-1,500 μg/plate	陰性	Liehr et al., 1986
	ネスミチフス菌 TA100, TA1535, TA97a, TA98	1-10,000 μg/plate -S9 1-1,000 μg/plate +S9	陰性	Dhillon and Dhillon, 1995
染色体異常、姉妹染色分体交換	ヒト末梢血リンパ球	1, 10, 100 μg/mL	陽性（1μg/mL,72 時間処理以上）	Dhillon and Dhillon, 1995
小核形成	ヒト細胞	−	陽性	IARC, 1987
異数性、染色体異常、姉妹染色分体交換	ヒト細胞	−	陰性	IARC, 1987
異数性、不定期 DNA 合成	げっ歯類細胞	−	陽性	IARC, 1987
変異原性、DNA 損傷性、姉妹染色分体	げっ歯類細胞	−	陰性	IARC, 1987
細胞形質転換、染色体数変化	シリアンハムスター胚細胞（-S9）	1-10 μg/mL	陽性	Tsutsui et al., 1987
遺伝子変異、染色体異常、姉妹染色分体交換、不定期 DNA 合成	シリアンハムスター胚細胞（-S9）	1-10 μg/mL	陰性	Tsutsui et al., 1987
染色体数変化	培養ヒトリンパ細胞	0.05-75 μmol/L	陽性	Schuler et al., 1998
染色体切断	培養	0.05-75 μmol/L	陰性	Schuler et al., 1998
DNA 損傷	pBR322（-S9）	0.01-0.1 mmol/L	2-および 4-ヒドロキシエストラジオールおよびエストロンで一本鎖切断	Yoshie and Ohshima, 1998
微小管機能阻害	チャイニーズハムスターV79 細胞	0-100 μmol/L	EC_{50}, 10 μmol/L	Aizu-Yokota et al., 1995

表 5-2 エストロゲンの遺伝毒性試験の結果（続き）

エンドポイント	試験系	試験用量	結果	参考文献
DNA 付加体形成				
未同定（Postlabelling 法）	シリアンハムスター胚細胞（-S9）	1 μg/mL(E2, 2-OH-E2, 4-OH-E2)	陽性；(4-OH-E2 ＞E2, 2-OH-E2)	Hayashi et al., 1996
8-OHdG 量	シリアンハムスター（雄）	5-150 mg/kg 体重腹腔内投与	50 mg/kg で腎臓にいて増加、用量依存性なし、時間の経過に無関係	Han and Liehr, 1994
8-OHdG 量	シリアンハムスター（雄）	100 mg/kg 体重腹腔内投与	肝臓で投与 1～2 時間後に増加、それ以降は増加なし	Han and Liehr, 1994
8-OHdG 量	シリアンハムスター（雄）	25 mg 皮下埋込、3、6 日後	腎臓で 3 日後に増加、6 日後では増加なし 肝臓では 3 および 6 日後の対照群との差は認められず	Han and Liehr, 1994
未同定（Postlabelling 法）	NBL ラット	投与量（非記載：ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ＋ｴｽﾄﾗｼﾞｵｰﾙ 17β を含む埋込み剤の皮下埋め込み）対照群の 14 倍の血漿中濃度	16 週後に不特定の付加体が認められた 8 週後では認められず	Han et al., 1995
蛋白質カルボニル化	イヌ（雑種）	投与量（非記載）	前立腺での付加体値の減少、カルボニル量の増加	Winter and Liehr, 1996
未同定（Postlabelling 法）	ヒト生体肝細胞	2 mmol/L	陰性	Seraj et al., 1996
未同定（Postlabelling 法）	ラット肝臓	2 mg/kg 体重/日（経口）	14 日後で雄で付加体の形成が認められたが、雌では認められず	Feser et al., 1996
8-OHdG 量	ヒト乳房組織細胞	正常、良性腫瘍、腺がん組織より採取	陽性の関連性あり	Musarrat et al., 1996
	ヒト乳房組織細胞	乳がん組織と周辺正常組織より採取	関連性なし	Nagashima et al., 1995

表 5-3 エストロゲンの遺伝毒性試験の結果（続き）

エンドポイント	試験系	試験用量	結果	参考文献
In vivo				
小核形成、姉妹染色分体交換	マウス骨髄	100-10 000 μg/kg 体重、単回腹腔内投与	最高用量で陽性	Dhillon and Dhillon, 1995
小核形成	ラット骨髄	20 μg/kg 体重/日、3 回皮下投与	陰性	Ashby et al., 1997
	マウス骨髄	10-10 mg/kg 体重、単回腹腔内投与	陰性	Ashby et al., 1997
	ラットおよびマウス骨髄	0.1-10 mg/kg 体重、腹腔内投与	陰性	Shelby et al., 1997
多染性赤血球の発生頻度	マウス（雌雄）	310-1,250 mg/kg 体重、3 回投与	陰性	Shelby et al., 1997
DNA 損傷	シリアンハムスター（雄）	5-150 mg/kg 体重、腹腔内投与	陰性；肝、腎の一本鎖切断	Han and Liehr, 1994
	シリアンハムスター（雄）	25 mg 皮下埋込、2 週間	腎臓；一本鎖切断 10%増加 肝臓；陰性	Han and Liehr, 1994
	シリアンハムスター（雄）	250 μg/動物/日、7 日間の皮下連続注入	腎臓；エストラジオールおよび 4-ヒドロキシエストラジオールで一本鎖切断、2-ヒドロキシエストラジオールで認められず	Han and Liehr, 1994
	NBL ラット	16 週間皮下投与、投与量（非記載）	前立腺でエストラジオール＋テトステロンで一本鎖切断	Ho and Roy, 1994
染色体異常	シリアンハムスター（雄）	約 100 μg/動物/日、5 ヶ月皮下埋め込み	腎臓で陽性	Banerjee et al., 1994

これ以外にも数多くの報告があり、陰性・陽性双方の報告があるが、概略、以下のようにまとめられる。

- 復帰変異試験では陰性の報告しか得られていない。
- in vitro の染色体異常についてはヒト末梢血リンパ球に対して 1μg/ml 以上、72 時間の培養で陽性との報告がある。またヒト末梢血リンパ球、シリアンハムスター胚細胞で異数性を誘導する。
- シリアンハムスターでは、in vivo の試験で、約 100μg/動物/日を放出させた埋め込み試験で染色体異常の誘導、250 μg/動物/日、7 日間の皮下連続注入試験で DNA 損傷誘導の

報告がある。

- DNA 付加体形成については、シリアンハムスターの腎臓細胞で一貫して陽性の報告がある。

これらのことから、17β-エストラジオールは変異原性を示さないが、染色体に対しては傷害性を示し、DNA 付加体を形成するといえる。

上記の報告の多くは、通常の生理条件における濃度（表 1 によると、最高でも血中濃度 18ng/mL）より相当高濃度の状態における知見であるが、低濃度で陽性が示されている報告が複数存在している。

Rajah and Pento (1995)はチャイニーズハムスターV79 細胞を 10^{-8}～10^{-10}mol/L の 17β-エストラジオールに暴露し *hprt* locus における突然変異の誘導について調べた。その結果、10^{-10}mol/l では変異原性が認められたが、これより高用量では突然変異の誘導は見られず、用量相関性は認められていない。

また、Thibedeau et al.（1998）は MCF-7 細胞において、10^{-8}mol/L の 17β-エストラジオールに細胞倍加時間の 12 倍の時間暴露後、抗がん剤であるメトトキサレートに暴露したところ、メトトキサレートへの耐性が誘導されたことを報告している。しかし、この耐性の誘導は通常化学物質の変異原性の証明にはならないと考えられている。また、この耐性は可逆的であり、メトトキサレートの投与を停止すると回復したことから、エンドポイントが遺伝毒性であるのか、非遺伝毒性であるのかについて明確な結論は出されていない。

一方、17β-エストラジオールの代謝物の遺伝毒性についても様々なデータが得られている。

Tsutsui et al. (2000ab) は E_2、E_1、2-OHE_1、4-OHE_1、2-メトキシエストロン（2-OCH_3E_1）、16α-ヒドロキシエストロン（16α-OHE_1）、2-OHE_2 および 4-OHE_2 の、細胞形質転換、遺伝子突然変異、染色体異常および異数性を誘発する能力を、シリアンゴールデンハムスター胚（SHE）細胞を用いて調べた。その結果、4-OHE_2 は高濃度および／または細胞毒性濃度で Na/K ATPase 遺伝子座において突然変異の有意な増加を引き起こしたが、E_2 およびその代謝物は変異原性を示さなかった（Tsutsui et al 2000a）。また、2-OCH_3E_2 を用いて SHE 細

胞に細胞形質転換、遺伝子突然変異、染色体異常および異数性を誘発する能力を調べた。2-OCH_3E_2は最初に SHE 細胞の分裂指数を上昇させ、細胞成長の低下と多核化の増加が引き起こした。2-OCH_3E_2は、細胞形質転換、*hprt* 遺伝子座での突然変異、染色体異常および異数性のすべてを誘発した（Tsutsui et al., 2000b）。しかし、明らかな細胞毒性がみられたり、あるいは陽性対照が含まれていなかったため、AU ACPH (2003)は、これらの知見には曖昧な点が残っているとしている。

E_2の代謝物と DNA は様々な付加体を形成することが知られている。SENCAR マウスの皮膚に 200 nmol の E_2-3,4-Q を直接塗布し、^{32}P-ポストラベリング法または HPLC で測定したところ、1 時間後に表皮に DNA 付加体が形成された。脱プリン化を起こす付加体の濃度は安定な付加体の約 6000 倍であった。皮膚サンプルから表皮 DNA を分離し、H-*ras* 遺伝子の突然変異を調べたところ、突然変異は検出されなかったが、処理時間を長くした場合には（最大 2 日間）主に A/T→G/C トランジションの突然変異が起こった（Chakravarti et al 2001）。

Yagi et al（2001）は、E_2およびエストロンの 4 種類のカテコールエストロゲンが SHE 細胞において DNA 付加体を誘発する能力を ^{32}P-ポストラベリング法を用いて調べた。1 μg/mL 以上では、2-OHE_2、4-OHE_2、2-OHE_1および 4-OHE_1が細胞毒性を示した。4 種類のカテコールエストロゲン代謝物で処理した後には 4 種類の DNA 付加体が形成された。付加体形成レベルは 4-OHE_1が最も高く、次いで 2-OHE_1、4-OHE_2、2-OHE_2の順であった。E_2およびE_1は細胞毒性を示さず、付加体も形成しなかった。この研究は、カテコールエストロゲン代謝物は細胞毒性濃度において SHE 細胞に DNA 付加体を形成する可能性があること、および、付加体を形成する能力は E_1のカテコール代謝物のほうが E_2よりも大きいことを示した。

Terashima（2001）は哺乳類細胞における 2-ヒドロキシエストロゲン由来の DNA 付加体が変異原性を示すかどうかを、N^2-(2-ヒドロキシエストロゲン-6-イル)-2'-デオキシグアノシン（2-OHE-N^2-dG）または N^6-(2-ヒドロキシエストロゲン-6-イル)-2'-デオキシアデノシン（2-OHE-N^6-dA）のいずれかを含有する環状 ss DNA（100 fmol）をサルの COS-7 腎細胞株にトランスフェクトして調べた。後代のプラスミドを回収して、形質転換された細胞の

突然変異を分析したところ、2-OHE-N^2-dG 付加体は G→T 突然変異のみを生じた。一方、2-OHE-N^6-dA 付加体は A→T と A→G の両方の突然変異を生じ、A→T 突然変異が優勢であった。突然変異の発生頻度は、2-ヒドロキシエストロゲン由来の付加体のタイプに依存していた（Terashima 2001）。

Cavalieri et al. (2000) はエストラジオール-17β およびエストロンの DNA 付加体形成および酸化傷害のプロセスを図 2 のように示している。

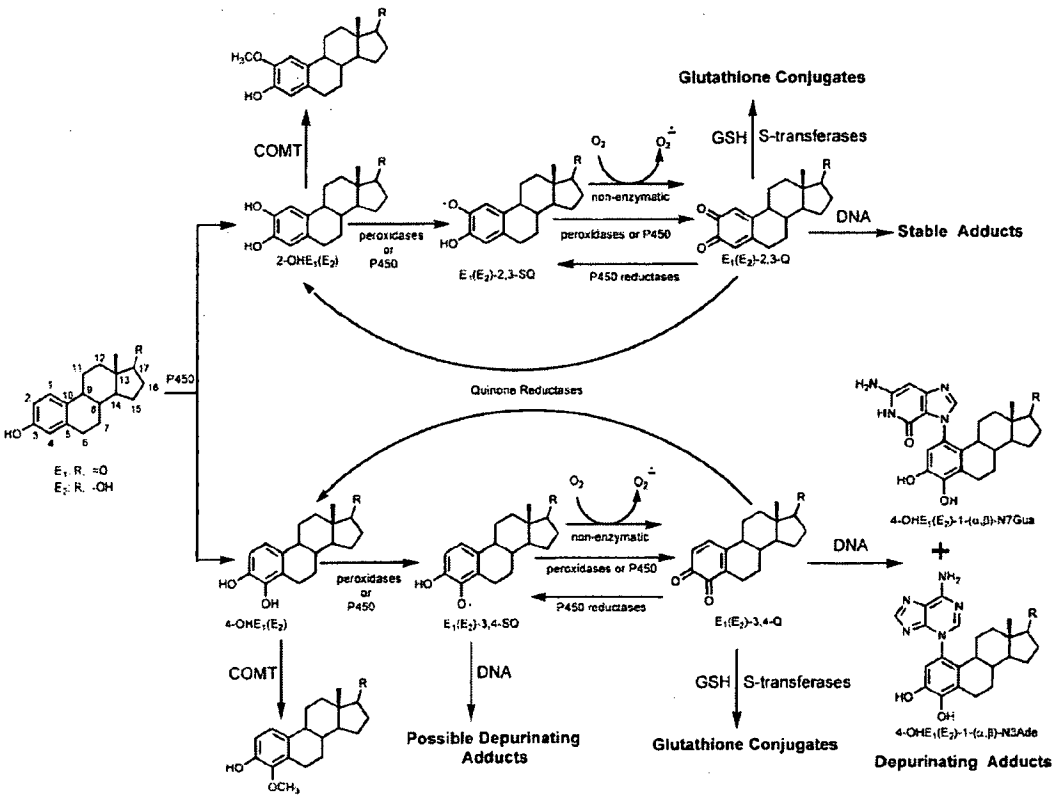


図 2 エストラジオール-17β およびエストロンの DNA 付加体形成および酸化傷害モデル　(Cavalieri et al., 2000)

E2 代謝物と DNA との付加体形成による DNA 傷害についての作用機序は次のように提案されている。(Cavalieri et al 1997,2001,2002; Stack et al. 1998; Devanesan et al. 2001; Lavigne et al. 2001; Sasco 2001)

① E2(及び E1)が CYP により 2-あるいは 4-水酸化を受け、水酸化カテコール類が生成される。

② 水酸化カテコール類がCYPもしくはペルオキシターゼによりさらにキノンに酸化される。例えば2-水酸化エストロン、4-水酸化エストラジオールからはセミキノンを経て、それぞれE1-2,3-キノン、E2-3,4-キノンが生成される。これらのキノンはCYPレダクターゼにより再びセミキノンや水酸化カテコール類に還元され得る(酸化還元サイクル)。サイクル中に生じた反応性酸化物 (ROS) はDNAに酸化傷害を起こす可能性がある。

③ E1-3,4-キノンあるいはE2-3,4-キノンとデオキシグアノシン(dG)とがN7で反応するとデオキシリボース成分が失われ、その結果脱プリン型の付加体 (depurinate adducts) ができる。未対合の脱プリン部位 (apurinic site) がDNA複製の際に誤って複製される。

このため、遺伝子傷害性の観点から特に重要と考えられるのは代謝物のうちE-3,4-キノン、DNA付加体のうちN7-dG付加体と考えられる。この仮説は次のような知見から導かれている。

- E-3,4-キノンはN-7でdGと、N-3でdAと付加体を形成した(Stack et al. 1996; Li et al. 1998)。
- DNA付加体はグリコシド結合の開裂で除去される。この際脱プリン塩基が起こり、DNAに脱プリン部位が生じる(Stack et al. 1996; Cavalieri et al. 1997)。
- DNAリン酸基1molにつき、E1-3,4-キノンは0.11μmol、E2-3,4-キノンはDNAリン酸基1mol当たり0.07μmolの付加体を生じた。また、脱プリン体(4-水酸化E1(E2)-1(α, β)-N7-グアニン)をDNAリン酸基1mol当たりそれぞれ59、213μmol生じた。また、200nmolのE2-3,4-キノンまたは4-水酸化エストラジオールの雌SDラット乳房への投与で、*in vivo* でも1-2μmol/molDNA-PのN7-グアニン除去体が生じた(Cavalieri et al. 1997)。
- 脱プリン体を生じないE-2,3-キノンはシリアンゴールデンハムスターに腎臓がんを誘導しなかったが、4-水酸化-Eはがんを誘導した(Liehr et al. 1986; Li and Li 1987)。
- 雌SENCARマウスの皮膚を200nmol/50μlのE2-3,4-キノンで処理したところ、処理後6時間から3日にかけてH-ras locus にA→Gへの変異が誘導された(Chakravarti et al. 2001)。

一方、これらのDNAの酸化的傷害や付加体形成は内因的に起こるごくふつうの現象であり、細胞はこれらに対する防御機構を備えていると考えられることから、これらの現象

には閾値があるとする報告がある(UK-SGVPC 1999)。水酸化カテコール類の酸化還元サイクルへの導入はCOMTによるメチル化によって阻止されることが知られている。MCF-7細胞をE2で処理した場合、COMTを阻害すると細胞DNAの酸化的傷害が増大したが、COMTの阻害がない場合では10μmol/lまで酸化的傷害は認められなかった(Lavigne et al. 2001)。E-3,4-キノンが *in vitro* でDNA付加体を形成するという所見はいくつか存在している一方で、*in vivo* の修復機構をこえてDNA傷害を与えたという明確な報告はない。また、*in vivo* で遺伝毒性を発揮するのに十分量のE-3,4-キノンが生成されるのかについても明確な報告はない。

これらのことから、E2は潜在的には遺伝子傷害性を有する可能性があると考えられる。ただし、これが *in vivo* で発がん性を誘導するという証拠は認められていない。

（6）その他の知見

1）免疫系に及ぼす影響に関する知見

エストロゲンレベルが高い仔ウシでは、血液中の白血球および好中球が増加していた。しかしこの他の免疫系機能に関する多数のパラメータ（例えば、食細胞、反応代謝物生成、細胞毒性）については、エストロゲンの刺激作用又は影響のないことが報告されている（Wessendorf et al., 1998）。

食肉用若鶏では、1 μg/kg体重/日のエストラジオール17βを50日間投与すると白血球数が減少し、マクロファージの活性が低下した（Al-Afaleq and Homeida, 1998）。

エストラジオール-17βの皮下埋込（20 mg）を施した雄ウシでは、軽度（統計学的に有意）の免疫抑制が見られた。トレンボロンアセテート（140 mg）と組み合わせると、トレンボロンアセテートだけでは見られなかった統計学的に有意な変化が観察された。この影響は雌ウシでは認められなかった（Gropp et al., 1975）。

エストラジオール-17β（500μg）を皮下注射し、40μg/Lのエストラジオール-17βを含む飲料水を7-9日間飲用させて前処理した雌マウスに *Neisseria gonorrhoeae* を感染させたところ、対照動物に比べて細菌の膣内における生存率が統計学的に有意に上昇した（Arko et

al., 1997)。

これらの知見はエストラジオール-17βが免疫系に影響を与える可能性を示しているが、UK SGVPC（1999）は、低レベルのエストロゲン様およびアンドロゲン様物質が免疫系にを刺激する傾向があることも指摘している。

2）発がんの作用機序に関する知見

① 実験動物に見られる発がんの作用機序

JECFA（2000）は、以下の見解を示している。

エストロゲンによる腫瘍形成については、主にレセプターを介するとする作用と遺伝子傷害を引き起こすであろう酸化還元サイクルと DNA 付加物の形成の 2 つの面から研究が行われている。ある種のエストロゲンは動物実験で発がん性を示す。また、$E_{1/2}$（エストロン、エストラジオール-17β)-3,4-キノン等、一部の代謝物は遺伝子傷害性を有する可能性がある。この両者に関係があるか、すなわち一部の代謝物の遺伝子傷害性が発がんを誘導しているのかについて検討が行われている。（引用：JECFA, 2000）

【ハムスターの腎臓がんについての知見】

雄のシリアンハムスターの腎臓は、エストロゲンによりがんが誘導されることで知られており、発がん性の *in vivo* の研究に広く用いられている。

雄と子宮摘出された雌のシリアンハムスターに皮下埋込によって長期間、比較的高用量で種々のエストロゲンが投与された。エチニルエストラジオール（EE）では腎臓の腫瘍発生頻度が 10%以下となったが、その他のエストロゲンでは、ほぼ全ての動物に腎臓癌が発生した。このことからハムスターにおける腎臓癌の発生にとって、エストロゲン作用は必須であるが十分ではないとされた（Yager and Liehr, 1996)。

4-ヒドロキシルエストラジオールは雄のハムスターの腎臓に腫瘍形成性を示すが（Yager and Liehr, 1996)、2-ヒドロキシルエストラジオールはこの性質を持たないことから、酸化還元サイクルにより酸素ラジカルが形成され、これが細胞の高分子を損傷するという作用

機序が提案されている。この経路が *in vivo* において生理学的なエストラジオール-17β濃度で機能するかは分かっていない。例えばチャイニーズハムスターV79細胞で微小管を破壊するにはマイクロモル濃度のエストラジオール-17βが必要であるが、この濃度は通常血清に見られるピコモルあるいはナノモル濃度に比べ極めて高い。高濃度では、毒性学の観点からエストロゲンとしての性質より、エストラジオール-17βや一部の代謝物（例えばメトキシ誘導体）が持つ親油性、そして DNA や脂質膜内に入り込む能力がより関与すると考えられる。

エチニルエストラジオール-17α（弱い発がん性を示す）とモキセストロール（強い発がん性を示す）についてヒドロキシルカテコール類およびそのメチルエステルの形成率が測定された。エストラジオール-17βと比較して、ヒドロキシル化率はモキセストロールで40～50%、エチニルエストラジオールでは25～35%であり、この差は反応時間が長くなるほど顕著であった。メチル化率は2-ヒドロキシルモキセストロールは2-ヒドロキシルエストラジオールのメチル化の約 3%であった。また、ハムスターの腎臓細胞質タンパク質抽出物中では、10 nmol/L のプロゲステロンは 2 nmol/L の ^{3}H-プロゲステロンの結合を 78%まで低下させ、そして 10 nmol/L のエチニルエストラジオール（EE）は 35%まで阻害した（Zhu et al., 1993）。

いくつかのエストロゲンについて、0.1～100 nmol/L の用量範囲における、腎臓近位尿細管始原培養細胞について増殖促進能が検討された。試験した大部分のエストロゲン（4-ヒドロキシルエストラジオールやエストロン、そして程度は低いものの 2-ヒドロキシルエストラジオールを含む）は 0.1～10 nmol/L の濃度範囲で細胞増殖を増加したが、100 nmol/L では阻害した。著者はこの系において、細胞増殖誘導能はエストロゲンによる反応のエンドポイントやカテコール代謝物の生成量よりも、より正確な発がん性予測因子であると結論している（Li et al., 1995）。

腎臓の尿細管損傷とそれに伴う細胞の修復増殖に果たすエストロゲンの役割が検討された。去勢した雄の成体シリアンハムスターに以下の速度（μg/日）でホルモンを放出するペレットを皮下埋込により投与した（ジエチルスチルベストロール、145；エストラジオール-17β、134；エストロン、104；エチニルエストラジオール、154；タモキシフェン、141；

プロゲステロン、147；およびジヒドロテストステロン、121)。ジエチルスチルベストロールは1～9ヶ月間投与したが、その他の化合物は5ヶ月間投与した。尿細管の損傷度は処置期間に比例して増大した。これは二次および三次リソゾームの数の増加を伴っていた。エストロゲン処理した腎臓ではカテプシンDの濃度が上昇し（4ヶ月と5ヶ月間でそれぞれ約2.7および3.5倍)、特に活性型のカテプシンDはエストロゲン処理動物の腎臓、原発性腎臓癌およびその転移癌にのみ大量に認められた。カテプシンDが細胞の修復増殖の第一段階である腎臓尿細管損傷を仲介する（Li et al., 1997)。

エストラジオール-17βまたはジエチルスチルベストロールにより誘導された近位腎臓尿細管培養細胞の増殖はエチニルエストラジオールによって阻害することができる。腎臓でのエストロゲン反応性の癌原遺伝子（*c-myc*、*c-fos*および*c-jun*）RNAおよびタンパク質の発現は、エストラジオール-17βまたはジエチルスチルベストロール単独処理動物に比べ、両ホルモンの同時処理を受けた動物で低下した。エチニルエストラジオールがエストロゲンレセプターを介した細胞増殖を妨害し、遺伝子の制御不全と腫瘍発生を防いでいる。この作用は、エストロゲンレセプターに対する競合阻害ではないと考えられる（Li et al., 1998)。

プロゲステロン、テストステロンおよびデオキシコルチコステロン、そして抗エストロゲン剤であるタモキシフェンは、エストロンがシリアンハムスターに誘導する腎臓癌の増殖を予防または阻止する（Yager and Liehr, 1996)。プロゲステロンとタモキシフェンは乳癌形成に対しても予防効果を発揮する（Inoh et al., 1985)。ヒト臨床においては、転移性腎細胞癌患者へのプロゲステロン補助療法は効果的でなく、シリアンハムスターの癌形成がヒトの腎臓癌形成とは異なることが示唆されている（Linehan et al., 1997)。

エストロゲン誘導型の腫瘍が発生するげっ歯類組織では、カテコールアミンの一種ノルアドレナリンの濃度が高い。ヒドロキシルカテコール類の酸化還元サイクルにより生じる過酸化水素に加えて、モノアミンオキシダーゼによるカテコールアミンの脱アミノ化によって形成された過酸化水素が、フリーラジカルの供給源となるという仮説がある。シリアンハムスターとSprague-Dawleyラットへの25 mgのエストラジオール-17βの2週間皮下埋込カプセル処置により、ハムスターの腎臓ではモノアミンオキシダーゼ活性が上昇し

たが、肝臓では活性は上昇しなかった。ラットでは肝臓または腎臓のモノアミンオキシダーゼ活性に影響は認められなかった。ハムスターの腎臓で見られたモノアミンオキシダーゼ活性の誘導は、タモキシフェンにより阻止された。レセプターを介したカテコールアミンを脱アミノ化するモノアミンオキシダーゼの誘導が、過酸化水素とヒドロキシルラジカルの産生を増加して腫瘍発生開始に寄与する（Sarabia and Liehr., 1998）。

エストラジオール-17βを61 μg/日の割合で放出する皮下ペレットで処理された動物6匹は全て腎臓腫瘍が発生したが、0.3 または 3%のケルセチン（カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ阻害剤）混餌でそれぞれ 5.7 または 6.5 ヶ月間処理されたハムスターでは腫瘍の発生は認められなかった。エストラジオール-17βとケルセチン同時投与すると、ホルモン単独処理に比べて大型の腫瘍が増え、転移の発生率も上がった。ケルセチンは2-および4-カテコールエストロゲンのメチル化をそれぞれ 34 および 22%阻害した。ケルセチンまたはエストラジオール-17β処理は肝臓と腎臓での酸化還元サイクル速度には影響しなかった（Zhu and Liehr, 1994）。

25mg のエストラジオール-17βを含むペレットを雄のシリアンハムスターに 7 ヶ月間皮下埋込処置を行った(3 ヶ月毎に交換)。この群に 1%のビタミンCを混餌投与したところ、少数例でエストロゲンによる腎臓癌の発生の 50%減少が認められた。

エストラジオール-17β、ビタミン C がキノン還元酵素、カタラーゼ、スーパーオキサイドジスムターゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオン還元酵素、グルコース-6-リン酸脱水素酵素とγ-グルタミルトランスペプチダーゼの腎臓での活性に及ぼす作用が検討された。グルタチオンペルオキシダーゼの活性は、エストラジオール-17βを 1 ヶ月間処理したハムスターの腎臓で対照の 141%となった。キノン還元酵素の活性はエストラジオール-17β処理動物の腎臓で対照の 18%となったが、ビタミン C の混餌投与によりこの活性低下は部分的に回復し、対照の 32%となった。肝臓ではビタミン C とエストラジオール-17βの同時処理により、キノン還元酵素の活性は対照の 6%に低下した。エストラジオール-17β単独処理ではこの低下は対照の 68%であった。カタラーゼについては、1 ヶ月間投与時には差が認められたが、7 ヶ月投与時には差は認められなかった。エストロゲン関連腎臓 DNA 付加物の強さまたは特異性に対しビタミン C は影響しなかった。観察された酵素の変化は、腎臓腫瘍の発生頻度の違いを説明するには不十分である。また、ビタ

ミンCはエストロゲンが誘導するがん発生を、キノン代謝物の濃度を下げることで阻害する（Lieher et al., 1989）。

カテコール-O-メチルトランスフェラーゼは、腎臓の近位曲尿細管の上皮細胞、特にエストロゲン誘導性の腫瘍が発生する部位である傍髄質糸球体に存在している。雄のシリアンハムスターをエストラジオール-17βまたはエチニルエストラジオールで2または4週間処理すると、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼに対する免疫活性の強度、分布および細胞内の局在が変化した。対照動物では、主にこの酵素は可溶性細胞質と核膜に結合した形で染色されたが、エストロゲン処理動物では核内に可溶性の形で染色された。カテコール-O-メチルトランスフェラーゼの細胞内分布の変化は、ゲノムへのカテコールエストロゲンの代謝性傷害に対する保護的反応である（Weisz et al., 1998）。（JECFA, 2000）

4匹の雄のハムスターからなる群に、E_2を含有する（8 μmol E_2/100 g bw）トリオクタノイン／DMSO（9：1）を単回腹腔内注射し、1、2または4時間後に屠殺した。別の実験では、ハムスターを、E_2を投与する2.5時間前に、グルタチオンを枯渇させる作用のあるL-ブチオニン（S, R）スルホキシミン（BSO）で前処理した（0.6 mmol/100 g bw、皮下）。さまざまなエストロゲン代謝物、エストロゲン抱合体およびエストロゲン付加体の腎臓および肝臓における濃度をHPLCを用いて分析した。最も濃度が高かったのはE_2であり、次いでE_1、2-OHE_2または2-ヒドロキシエストロン（2-OHE_1）、2-メトキシエストラジオール（2-OCH_3E_2）の順であった。β-グルクロニダーゼ／スルファターゼでインキュベーション後にE_2およびその代謝物が増加し、これらの化合物の一定割合がグルクロン酸または硫酸と抱合したことが示唆された。グルタチオン抱合体濃度は総じて腎臓のほうが高かった。グルタチオン枯渇の最も顕著な影響は、肝臓ではなく腎臓において脱プリン化DNA付加体の4-OHE_2/ E_1-1-N7Guaが形成されたことであった（Cavalieri et al 2001）。

【ラットにおける知見】

雄のNobleラットにテストステロンとエストラジオール-17βを含むシリコンを16週間埋込処置により検討された。この処置により血漿エストラジオール-17β濃度は3倍に上昇し、テストステロンの濃度は生理学的濃度に維持された。この処置により側背部の前立腺

に異形成が発生したが、肝臓には異形成は発生しなかった（Ofner et al., 1992）。

エストラジオール-17βをこの動物の肝臓ミクロゾームで処置したところ、高レベルのヒドロキシルカテコール類形成が観察されたが、前立腺抽出液では低レベルであった。著者は水酸化カテコール類の形成はエストロゲンによる腫瘍形成を介在しないと結論した（Lane et al., 1997）。

雄の Nobel 成体ラットに一日平均して 120 μg のプロピオン酸テストステロンと 110 μg のエストラジオール-17βを放出するペレットを皮下脂肪下に埋め込んで検討された。処置後 8 から 9 ヶ月目に全てのラットに乳腺癌が誘導されたが、いずれか一方のホルモンを埋込んだ場合では誘導されなかった。プロピオン酸テストステロンは乳腺管を破壊し、間質組織の増殖を引き起こしたが、エストラジオール-17βは管上皮の増殖と小結節に非定型の過形成を誘導した。アンドロゲンがエストラジオール-17βおよびプロピオン酸テストステロンにより乳腺に誘導されたアンドロゲンレセプターまたはプロゲステロンレセプターと相互作用するか、またはその両方と相互作用して腫瘍を発生させ、潜在期の短縮、腫瘍の巨大化を経て発生率を 100％まで増加した（Liao et al., 1998）。（JECFA, 2000）

前立腺がんの発生に 4-カテコールエストロゲンが果たす役割を調べるため、10 匹の雄のラットに対し、4-OHE_2 または 17β-エストラジオール-3,4-キノン（E_2-3,4-Q）（6 μmol/100 g bw）を含有するトリオクタノイン／DMSO 200 μl を単回腹腔内投与した。ラットを 90 分後に屠殺し、前立腺の 4 か所におけるさまざまなエストロゲン代謝物および抱合体の濃度を HPLC を用いて分析した。4-OHE_2 で処理したラットと E_2-3,4-Q で処理したラットでは代謝プロファイルが若干異なっていたが、代謝物の最高濃度は腹側または前前立腺で検出され、次いで背外側前立腺、尿道周囲前立腺、尿道の順であった。4-OHE_2 で処理した後には、4-OHE_2、4-OHE_1、4-メトキシ-17β-エストラジオール（4-OCH_3E_2）、4-メトキシエストロン（4-OCH_3E_1）、および 4-ヒドロキシ-17β-エストラジオールグルタチオン（4-OHE_2-2-SG）が検出された。E_2-3,4-Q を投与した場合には、上記に加えてさらに 2 種の抱合体、すなわち、4-ヒドロキシ-17β-エストラジオールシステイン（4-OHE_2-2-Cys）および 4-ヒドロキシ-17β-エストラジオール N-アセチルシステイン（4-OHE_2-2-NacCys）が形成された（Cavalieri et al 2002）。

（2）疫学的知見

・閉経後ホルモン補充療法に関する一般的知見

閉経後ホルモン補充療法において、エストロゲンを単独またはプロゲステロンおよびアンドロゲンを組合せて服用している女性を対象とした疫学研究から、これらの使用が多くの部位での癌リスクに影響しないことが示された。その一方、子宮内膜癌と乳癌のリスクの増加が認められた。閉経後エストロゲン単独治療を受けたことのある女性を対象とした30 の疫学研究では、子宮内膜癌の相対リスクは 2.3（95％信頼区間、2.1～2.5）であった。閉経後エストロゲン単独治療を 10 年以上受けた女性の相対リスクは 9.5（95％信頼区間、7.4～12）であった。閉経後エストロゲン治療にプロゲステロンを加えると、このリスク増加は大きく低下したが完全に無くなることはなかった。ホルモン補充療法を受けている女性を対象とした 51 の疫学研究の再検討では、乳癌の相対リスクが使用 1 年ごとに 1.023 倍増加した（95％信頼区間, 1.011～1.036）。これらの相対リスクの算定は、抱合型ウマエストロゲン（平均用量、0.625 mg/日）または微粒子状エストラジオール-17β（1～2 mg/日）を含む閉経後エストロゲン補充療法製剤を利用した女性に関する結果に基づいている。全体的に、入手したデータからは閉経後エストロゲン補充療法を受けている女性に見られる乳癌および子宮内膜癌の頻度増加はエストロゲンのホルモン作用によるものであることが示唆された。

・疫学的知見-閉経後エストロゲン治療

健康に及ぼす治療のその他影響という観点から、閉経後エストロゲン治療を受けたことのある女性で子宮内膜癌、そして恐らくは乳癌と診断された例数を推定する必要がある（IARC, 1999）。閉経後のエストロゲン使用は、乳房以外の器官にも影響を及ぼし冠動脈性心疾患や骨粗鬆症性の骨折頻度を低下させると考えられているが、逆に静脈の梗塞の頻度は上げる（Petitti, 1998）。

女性の死亡率に関する複数の研究では、閉経後エストロゲン治療と死亡率が逆相関の関係にあり、多くの場合相対リスクが 0.4 から 0.8 の範囲内であることを示している（Folsom et al., 1995；Sturgeon et al., 1995；Grodstein et al., 1997；Schairer et al., 1997）。米国での看護師の健康に関する研究から、ホルモン使用中の人ではホルモン投与を受けたことのない人

に比べ、混乱変数について補正を行うと死亡リスクが低いことが分かった（相対リスク = 0.63；95％信頼区間、0.56～0.7）；しかし見かけ上の利点は長期使用に伴い低下した（10年以上で相対リスク =0.8；95％信頼区間、0.67～0.96）が、これは乳癌による死亡率が増加したためである。冠動脈リスクを持つホルモン使用者（女性の69％）は死亡率が最も大きく低下し（相対リスク =0.51；95％信頼区間、0.45～0.57）、そしてリスクが低い女性への利点はより小さかった（相対リスク = 0.89；95％信頼区間、0.62～1.3）。従って閉経後にホルモンを使用している女性の死亡率は未使用者に比べ低いが、長期使用に伴いこの生存率に対する利点は低下する（Grodstein et al., 1997）。ホルモンを使用している女性は使用していない女性に比べ基本的に健康であることから（Sturgeon et al., 1995）、閉経後エストロゲン使用者に関する非無作為化試験では、エストロゲン使用に拠る利点は過剰に見積もられている可能性がある。

・疫学的知見-ホルモン避妊薬

経口避妊薬の使用は乳癌、子宮頸癌および肝癌のリスクを高めると思われるが、同時に卵巣癌と子宮内膜癌のリスクを下げるため、経口避妊薬使用の全体としての効果を評価することが重要である。リスクは、女性の年齢および経口避妊薬により影響を受ける様々な癌のバックグランドの頻度に大きく依存しているのは明らかである。

経口避妊薬利用中の 20～54 歳の米国在住女性における乳癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌および肝臓癌の発生リスクが 79 の関連研究を対象とした解析により評価されている（Schlesselman, 1995）。8 年間経口避妊薬を使用した女性の総利益は小さいと推定され、経口避妊薬を使用したことのない女性に比べ癌症例は 73 例少なかった（約 2％）。

46,000 名の英国在住女性を 25 年間にわたり追跡したところ、その半数が 1968～1969 年に経口避妊薬を使用している（Beral et al., 1999）。いずれかの癌で死亡するリスクは避妊薬を使用した全ての例を対象とした場合に 1.0（95％信頼区間、0.8～1.1）であり、10 年以上使用した場合で 1.3（95％信頼区間、1.0～1.6）であった。いずれかの原因によって死亡する相対リスクを年齢、経産数、社会的地位、喫煙について補正してみると、何らかの形で避妊薬を使用した場合は 1.0（95％信頼区間、0.9～1.1）であり、長期間使用した場合で 1.1（95％信頼区間、0.9～1.3）であった。経口避妊薬の使用を中止してから 10 年以上が経過している女性で、ある特定の原因またはいずれかの原因による死亡率が増加することも、また低下することもなかった（Beral et al., 1999）。

・その他の疫学的知見

Kaijser et al. (2001) は Swedish Twin Registry に基づき、1926～1967 年の間に妊娠 33 週目以降に出生したと報告された双子について、双子の一人が男児である場合の女児について、乳がんの発生と出生時の体重の関係を調べた。これは、双子の一人が男児である場合、子宮内でのエストロゲン暴露量が増加し、これにより体重が増加する一方、乳がんのリスクが増加するかどうかを 1972～1995 年の間に発生した乳がんに関するがん登録に基づき明らかにしようとするものであった。その結果、出生時の体重は乳がん発生率に対し非常に強い影響を示し、誕生時体重 3,500 g 以上を 2,000 g 未満と比較したオッズ比は 12 であった。このように、男女の双子のうち女性では、出生時の体重が乳がんの強力な独立リスク因子となっており、乳がんリスクは子宮内でのホルモン暴露により影響される、という仮説に信憑性を加えるものであった（Kaijser et al., 2001）。

なお、AU ACPH (2003) はこの、子宮内でのホルモンへの暴露が乳がんのリスクに影響を与えるという結論について、エストロゲン暴露と発がんリスクの関係を直接試験したわけではなく、エストロゲン暴露と出生時体重の増加との間の何らかの関係を立証するためにデータが提示または引用されたわけでもない、としている。

エストロゲンで汚染された食肉への暴露が疑われる子供たちにおける長期的影響に関する研究が発表されている（Chiumello et al., 2001）。この研究は、原因不明の女性化乳房の発生したイタリア・ミラノの学校での事象に基づいている。暴露被験者は思春期の開始が早く、子どもが少ない傾向があった。暴露被験者で睾丸精上皮腫が 1 例認められた。臨床検査の結果、暴露された女性に、より多くの男性化が認められた。エストラジオールおよびプロゲステロンレベルは暴露された被験者の方が低かった。男性の暴露された被験者は睾丸体積が僅かに低値であった。社会経済状態や慢性疾患の発生率など、その他のパラメータは同程度であった。この事象の原因は不明のままであるので、これらデータの適切性も不明である。

２．４　国際機関および諸外国における評価の概要

【JECFA（2000）における評価の概要】

エストラジオール-17β は、胃腸管および肝臓による不活性化のため、経口摂取した場合

のバイオアベイラビリティが低い。エストラジオール-17βは、急性経口毒性が低い。反復投与後に実験動物に発生した有害影響は、ホルモン活性に起因するものであった。ホルモン効果は他の形態の毒性が現れる用量よりも低い用量で起こることから、ヒトの安全性評価に適していると判断された。エストラジオール-17βは、遺伝毒性を示す可能性がある。エストラジオール-17βの発がん性は、おそらくホルモン受容体との相互作用の結果であろう。入手可能なデータからは、閉経後のエストロゲン補充療法を受けている女性の間で観察された乳がんおよび子宮内膜がん発生率の増加の原因は、エストロゲンのホルモン効果であることを示唆した。なお、エストラジオール-17βは催奇性を示さない。

また、ADI（一日摂取許容量）を設定したが（後述）、JECFA は、製品が適正に使用される場合には、ウシの可食組織についてエストラジオール-17βに対する MRL（最大残留限界）を指定する必要はないと結論付けた。この結論の理論的根拠は、処理されたウシの平均ホルモン濃度が無処理のウシの正常な生理学的濃度範囲に入っていることであった（van Leeuwen FX, 1991）。

【EU SCVPH（1999 および 2002）における評価の概要】

EU SCVPH（1999）では、以下の結論に達した。

エストラジオール-17βは完全な発がん物質（腫瘍イニシエーターでありプロモーター）であるが、入手可能なデータでは定量的なリスク推定を行うことができない。エストラジオール-17βを含む、牛肉および食肉製品中に残留するホルモンについては、発生学的、免疫生物学的、神経生物学的、免疫毒性学的、遺伝毒性学的および発がん性への影響を生じると推測することができる。思春期前の子どもは高リスク集団であると考えられるが、入手可能なデータでは定量的なリスク評価を行うことができない。疫学的知見を考慮すれば、閾値濃度または ADI（一日許容摂取量）を確立することはできない。

EU SCVPH は、新たに 17 件の試験を委託した。2002 年 4 月に EU SCVPH は 2 回目のリスク評価を発表した。その中で EU SCVPH は、上記の委託研究で得られたデータに加え、1999 年のリスク評価以降に同領域の専門家による査読を経た科学文献で明らかにされた他の研究結果のデータを検討した。全体として、EU SCVPH（2002）では、以前の見解の妥当性を確認し EU SCVPH（1999）の報告書の見解を修正する根拠はないと結論付けた。

【UK SGVPC（1999）における評価の概要】

エストラジオール-17βが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、WHO/FAO 合同食品添加物専門家委員会（Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives： JECFA）によって設定された ADI（一日許容摂取量）と比較して非常に低い。エストラジオール-17βが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、これらのホルモンが一部の人々の体内で自然に産生される量と比較して非常に低い。エストラジオールが食肉中残留に由来する適切な暴露レベルで変異原性／遺伝毒性である実質的な証拠はない。また、UK SGVPC（1999）は、EU SCVPH（1999）報告書の結論に重大な疑義を挟み以下のような結論に達している。

EU SCVPH（1999）報告書で引用された主要な論文中で採用されている主張の科学的な論拠および推論方法について評価した。その結果、ホルモン処理された家畜由来の食肉の摂取に関連するリスクがこれまで考えられていたより高いかもしれないとの EU SCVPH（1999）の結論を支持することはできなかった。

【AU ACPH（2003）における評価の概要（肥育ホルモン全体として）】

適性動物用医薬品基準(GVP)に従って市販の同化製剤を埋え込まれたウシの残留物は、毒性研究に基づいて容認された MRL（最大残留限界）または許容範囲を逸脱しない。

新たな研究結果から、肥育ホルモンに関するオーストラリアの現行の規制上の立場を修正する根拠はない。適性動物用医薬品基準に従って肥育ホルモンで処理されたウシの肉を摂食することにより、消費者に明確な健康リスクが生じる可能性はないようである。

適性動物用医薬品基準の条件に基づく現在の肥育ホルモンの使用法を、APVMA（Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority）が再検討する必要性を示す新たな科学的証拠はない。

食事を通じた総ホルモン摂取量の評価の複雑さ、および各国際的フォーラムで表明された論争を呼ぶであろうことから、畜産動物における肥育ホルモンでの使用について、AU ACPH（Advisory Committee on Pesticides and Health）による継続的な検討を行うことが望ましい。

【IARC における評価の概要】

エストラジオール-17βおよび関連エステルについては、マウスの経口投与試験、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、サルの皮下注射もしくは埋込投与による調査研究から、

エストラジオール-17βが実験動物に癌を起こすことを示す十分な証拠があると結論した。

その中では、「マウスへの投与により乳腺、下垂体、子宮、子宮頸部、膣、精巣、リンパ節および骨における腫瘍が増加した。ラットでは、乳腺および/または下垂体腫瘍の頻度が増加した。また、部分肝切除およびN-ニトロソジエチルアミン投与により誘導された変性肝細胞の増殖巣および肝小結節の発生頻度が、統計的に有意ではないが増加した。ハムスターでは、未処置および去勢した雄、また卵巣を摘出した雌で悪性の腎臓腫瘍の発生頻度が増加した。未処置の雌にはこの現象は認められなかった。モルモットでは子宮のびまん性繊維筋腫と腹部の病変が観察された」と記している。IARCは、エストラジオール-17βを「グループ2A」に分類した（IARC, 1987）。

また、エストラジオール-17βについて行われた遺伝毒性に関する試験の結果を評価し、次のように結論した。「エストラジオール-17βは*in vivo*処置したマウスの骨髄細胞に染色体異常を誘導しなかった。処置を受けたハムスターの腎臓DNAには異常ヌクレオチドが確認された。このエストラジオール-17βは、*in vitro*ではヒト細胞に小核を誘導するが、異数性、染色体異常または姉妹染色体交換は誘導しなかった。このエストラジオール-17βは、*in vitro*では、げっ歯類細胞に異数性と不定期DNA合成を誘導したが変異原性はなく、DNA鎖の断裂や姉妹染色体交換も誘導しなかった。エストラジオール-17βは、細菌に対しても突然変異を誘発しなかった。さらにIARC（1987）は、同時にエストロンおよびエストリオールに関するデータは限定的であるが、遺伝子毒性を示唆するものであると結論している。

なお、IARCの1979年の評価では、「エストラジオール-17βの胚毒性および催奇形毒性は生殖器官に対し催奇形作用があり、恐らくは他の器官に対しても同作用があると思われ、そして受精を障害する」と記載されている。

【参考：IARCにおける経口避妊約と閉経後ホルモン療法の組合せの評価の概要】

経口避妊薬および閉経後ホルモン補充療法は、頻繁に評価されてきた。経口避妊薬と閉経後エストロゲン・プロゲステロン療法の組み合わせは1987年および1999年（IARC, 1987, 1999）に評価されグループ1に、プロゲステロンのみの避妊薬と閉経後エストロゲン療法については1999年に評価されグループ2Bに分類された。

IARCは、性ホルモンの発がん可能性に関して以下の結論を下した。

・ヒトにおいては、腫瘍の発生および進行にとって内因性ホルモンが重要な役割を果たす。ヒトにおける腫瘍の発生率は、各種外因性ホルモンへの暴露（単一または組み合わせ）によって変化することがある。

・外因性エストロゲンが通常のホルモン環境を深刻に撹乱するには、摂取量が内因性エストロゲンの量と同じまたはそれ以上でなければならない。

・エストロゲンは実験動物を用いた研究によって発がん性を示す結果が得られているが、その研究の大部分は濃度が非常に高いときであった。

・ホルモンが、がんを誘発する機構は分かっていない。ホルモンは、なんらかの方法で発がんを促し、化学的、物理的またはウィルス的作用因によるその後の腫瘍形成環境を提供し、一旦腫瘍が発生すると、腫瘍の成長と転移を促進する可能性がある。

【FDA における評価の概要】

天然型のホルモンについては生理学的レベルの範囲内にある限り消費者に対するリスクは無視できるとして、ADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、MRL（最大残留限界）に相当する許容増加残留濃度（Allowable incremental residue level）を設定し、これを超える残留を認めていない（後述）。

エストラジオール-17βが承認された使用条件を守って使用されているとき、可食組織中におけるこれらの物質の濃度は、齢および性別の同じ無処理のウシに対して決定された通常の生理学的範囲内であると判断した。したがって、処理されたウシの肉に含まれる天然ホルモン残留物が消費者に対して及ぼすリスクは無視できると考えられる。FDA は ADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、ウシの可食組織におけるエストラジオール-17βの MRL（最大残留限界）に相当する許容増分残留濃度（allowable incremental residue level）を設定している（後述）。

3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定

【JECFA（1999）における設定】

エストラジオール-17βの ADI（一日許容摂取量）は、閉経後女性における複数のホルモン依存パラメータの変化に関する研究で認められた 0.3 mg/日（5 μg/kg 体重/日に相当）の NOEL を基に設定できると考えられる。安全係数としてはヒトにおける知見であることから、個人差として 10、さらに年齢によって感受性が異なる可能性を考慮して 10 を用い 100 を適用し、0.05 μg/kg 体重/日と設定できると考えられる。

無毒性量（NOEL）	5 μg/kg 体重/日
服用量/服用経路	0.3 mg/日（経口投与剤）
服用期間	14 日
安全係数	100
ADI	0.05 μg/kg 体重/日

【FDA における設定】

許容増加残留濃度（Allowable incremental residue level）を設定した。

ウシ（非処理の可食組織）の場合：

筋肉	0.12 μg/kg 組織
脂質	0.48 μg/kg 組織
腎臓	0.36 μg/kg 組織
肝臓	0.24 μg/kg 組織

羊（非処理の可食組織）の場合：

筋肉	0.12 μg/kg 組織
脂質	0.06 μg/kg 組織
腎臓	0.06 μg/kg 組織
肝臓	0.06 μg/kg 組織

参考文献

AU ACPH (Advisory Committee on Pesticides and Health). A review to update Australia's position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs) used in cattle. 2003.

Adlercreutz H, Gorbach SL, Goldin BR, Woods MN, Dwyer JT, Hamalainen E. Estrogen metabolism and excretion in Oriental and Caucasian women. J Natl Cancer Inst. 1994 Jul 20;86(14):1076-82.

Aizu-Yokota E, Susaki A, Sato Y. Natural estrogens induce modulation of microtubules in Chinese hamster V79 cells in culture. Cancer Res. 1995 May 1;55(9):1863-8.

Al-Afaleq AI and Homeida AM. Effects of low doses of oestradiol, testosterone and dihydrotestosterone on the immune response of broiler chicks. Immunopharmacol Immunotoxicol. 1998 May;20(2):315-27.

Andersson AM, Juul A, Petersen JH, Muller J, Groome NP, Skakkebaek NE. Serum inhibin B in healthy pubertal and adolescent boys: relation to age, stage of puberty, and follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone, and estradiol levels. J Clin Endocrinol Metab. 1997 Dec;82(12):3976-81.

Anstead GM, Carlson KE, Katzenellenbogen JA. The estradiol pharmacophore: ligand structure-estrogen receptor binding affinity relationships and a model for the receptor binding site. Steroids. 1997 Mar;62(3):268-303.

Arko RJ, Smith S, Chen CY. Neisseria gonorrhoeae: vaginal clearance and its correlation with resistance to infection in subcutaneous chambers in orally immunized estradiol-primed mice. Vaccine. 1997 Aug-Sep;15(12-13):1344-8.

Ashby J, Fletcher K, Williams C, Odum J, Tinwell H. Lack of activity of estradiol in rodent bone marrow micronucleus assays. Mutat Res. 1997 Dec 5;395(1):83-8.

Ball P and Knuppen R. Catecholoestrogens (2-and 4-hydroxyoestrogens): chemistry, biogenesis, metabolism, occurrence and physiological significance. Acta Endocrinol Suppl (Copenh). 1980;232:1-127.

Banerjee SK, Banerjee S, Li SA, Li JJ. Induction of chromosome aberrations in Syrian hamster renal cortical cells by various estrogens. Mutat Res. 1994 Dec 1;311(2):191-7.

Basalp A, Bermek E, Cirakoglu B, Coka V, Mustafaev MI, Sarac AS. Immune response to 17beta-estradiol in polyelectrolyte complex: antigen specificity and affinity of hybridoma clones. Hybridoma. 1996 Jun;15(3):233-8.

Behl C, Widmann M, Trapp T, Holsboer F. 17-beta estradiol protects neurons from oxidative stress-induced cell death *in vitro*. Biochem Biophys Res Commun. 1995 Nov 13;216(2):473-82.

Beral V, Hermon C, Kay C, Hannaford P, Darby S, Reeves G. Mortality associated with oral contraceptive use: 25 year follow up of cohort of 46 000 women from Royal College of General Practitioners' oral contraception study. BMJ. 1999 Jan 9;318(7176):96-100.

Bernstein L and Ross RK. Endogenous hormones and breast cancer risk. Epidemiol Rev. 1993;15(1):48-65.

Bernstein L, Ross RK, Pike MC, Brown JB, Henderson BE. Hormone levels in older women: a study of post-menopausal breast cancer patients and healthy population controls. Br J Cancer. 1990a Feb;61(2):298-302.

Bernstein L, Yuan JM, Ross RK, Pike MC, Hanisch R, Lobo R, Stanczyk F, Gao YT, Henderson BE. Serum hormone levels in pre-menopausal Chinese women in Shanghai and white women in Los Angeles: results from two breast cancer case-control studies. Cancer Causes Control. 1990b Jul;1(1):51-8.

Bernstein L. The epidemiology of breast cancer. Women and Cancer. 1998; 1:7-13.

Berrino F, Muti P, Micheli A, Bolelli G, Krogh V, Sciajno R, Pisani P, Panico S, Secreto G. Serum sex hormone levels after menopause and subsequent breast cancer. J Natl Cancer Inst. 1996 Mar 6;88(5):291-6.

Beyer BK, Stark KL, Fantel AG, Juchau MR. Biotransformation, estrogenicity, and steroid structure as determinants of dysmorphogenic and generalized embryotoxic effects of steroidal and nonsteroidal estrogens. Toxicol Appl Pharmacol. 1989 Mar 15;98(1):113-27.

Biegel LB, Cook JC, Hurtt ME, O'Connor JC. Effects of 17beta-estradiol on serum hormone concentrations and estrous cycle in female Crl:CD BR rats: effects on parental and first generation rats. Toxicol Sci. 1998 Aug;44(2):143-54.

Bocchinfuso WP, Couse JF, Hively WP, Varmus HE, Korach KS. Hormonal signaling pathways in mammary glands of ERKO/WNT-1 mice. Proc. 80th Annual Meeting Endocr. Soc. 1998;5.

Boehncke WH and Gall H. Type-IV hypersensitivity to topical estradiol in a patient tolerant to it orally. Contact Dermatitis. 1996 Sep;35(3):187-8.

Bujan L, Mieusset R, Audran F, Lumbroso S, Sultan C. Increased oestradiol level in seminal plasma in infertile men. Hum Reprod. 1993 Jan;8(1):74-7.

Burdge GC, Coldham NG, Dave M, Sauer MJ, Bleach EC. Determination of oestrogen concentrations in bovine plasma by a recombinant oestrogen receptor-reporter gene yeast bioassay. Analyst. 1998 Dec;123(12):2585-8.

Carr BR. Disorders of the ovary and female reproductive tract. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;751-817.

Carr BR. Fertilization, implantation, and endocrinology of pregnancy. In: Textbook of Endocrine Physiology: 2nd Edition (Griffin JE and Ojeda SR, Eds.) Oxford University Press, New York 1992;189-209.

Cavalieri E, Frenkel K, Liehr JG, Rogan E, Roy D. Estrogens as endogenous genotoxic agents-DNA adducts and mutations. J Natl Cancer Inst Monogr. 2000;(27):75-93.

Cavalieri EL, Devanesan P, Bosland MC, Badawi AF, Rogan EG. Catechol estrogen metabolites and conjugates in different regions of the prostate of Noble rats treated with 4-hydroxyestradiol: implications for estrogen-induced initiation of prostate cancer. Carcinogenesis. 2002 Feb;23(2):329-33.

Cavalieri EL, Kumar S, Todorovic R, Higginbotham S, Badawi AF, Rogan EG. Imbalance of estrogen homeostasis in kidney and liver of hamsters treated with estradiol: implications for estrogen-induced initiation of renal tumors. Chem Res Toxicol. 2001 Aug;14(8):1041-50.

Cavalieri EL, Stack DE, Devanesan PD, Todorovic R, Dwivedy I, Higginbotham S, Johansson SL, Patil KD, Gross ML, Gooden JK, Ramanathan R, Cerny RL, Rogan EG. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Sep 30;94(20):10937-42.

Chakravarti D, Mailander PC, Li KM, Higginbotham S, Zhang HL, Gross ML, Meza JL, Cavalieri

EL, Rogan EG. Evidence that a burst of DNA depurination in SENCAR mouse skin induces error-prone repair and forms mutations in the H-ras gene. Oncogene. 2001 Nov 29;20(55):7945-53.

Chiumello G, Guarneri MP, Russo G, Stroppa L, Sgaramella P. Accidental gynecomastia in children. APMIS. 2001 109(Suppl 103); S203-9. [EC study 12]

Couse JF, Lindzey J, Grandien K, Gustafsson JA, Korach KS. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor-alpha (ERalpha) and estrogen receptor-beta (ERbeta) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ERalpha-knockout mouse. Endocrinology. 1997 Nov;138(11):4613-21.

Cutler GB Jr. The role of estrogen in bone growth and maturation during childhood and adolescence. J Steroid Biochem Mol Biol. 1997 Apr;61(3-6):141-4.

Damassa DA, Lin TM, Sonnenschein C, Soto AM. Biological effects of sex hormone-binding globulin on androgen-induced proliferation and androgen metabolism in LNCaP prostate cells. Endocrinology. 1991 Jul;129(1):75-84.

Devanesan P, Santen RJ, Bocchinfuso WP, Korach KS, Rogan EG, Cavalieri E. Catechol estrogen metabolites and conjugates in mammary tumors and hyperplastic tissue from estrogen receptor-alpha knock-out (ERKO)/Wnt-1 mice: implications for initiation of mammary tumors. Carcinogenesis. 2001 Sep;22(9):1573-6.

Dhillon VS and Dhillon IK. Genotoxicity evaluation of estradiol. Mutat Res. 1995 Nov;345(1-2):87-95.

DoH. (Dept. of Health). Nutritional Aspects of the Development of Cancer. Report on Health and Social Subjects 48. The Stationery Office, London 1998.

Dunn TG, Kaltenbach CC, Koritnik DR, Turner DL, Niswender GD. Metabolites of estradiol-17beta and estradiol-17beta-3-benzoate in bovine tissues. J Anim Sci. 1977 Sep;45(3):659-73.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Assessment of potential risks to human health from hormone residues of bovine meat and meat products. 30th April 1999.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 10th April 2002.

FAO/WHO. Residues of Some Veterinary Drugs in Animals and Foods: Deltamethrin, Dihydrostreptomycin, Dramectine, Estradiol-17B, Neomycine, Phoxin, Procine somatotropins, Progesterone, Streptmycin, Testosterone, Thiamphenicol. (FAO Food and Nutrition Paper 41/12, 2000)

FDA (United States Food and Drug Administration). Code of Federal Regulations (CFR), Title 21, Part 522, 556 and 558.

Feigelson HS and Henderson BE. Estrogens and breast cancer. Carcinogenesis. 1996 Nov;17(11):2279-84.

Feser W, Kerdar RS, Blode H, Reimann R. Formation of DNA-adducts by selected sex steroids in rat liver. Hum Exp Toxicol. 1996 Jul;15(7):556-62.

Fisher DA. Endocrinology of fetal development. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th

Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;1273-301.

Folsom AR, Mink PJ, Sellers TA, Hong CP, Zheng W, Potter JD. Hormonal replacement therapy and morbidity and mortality in a prospective study of postmenopausal women. Am J Public Health. 1995 Aug;85(8 Pt 1):1128-32.

Fortunati N, Raineri M, Cignetti A, Hammond GL, Frairia R. Control of the membrane sex hormone-binding globulin-receptor (SHBG-R) in MCF-7 cells: effect of locally produced SHBG. Steroids. 1998 May-Jun;63(5-6):282-4.

Giguere V, Tremblay A, Tremblay GB. Estrogen receptor beta: re-evaluation of estrogen and antiestrogen signaling. Steroids. 1998 May-Jun;63(5-6):335-9.

Ginsburg ES, Gao X, Shea BF, Barbieri RL. Half-life of estradiol in postmenopausal women. Gynecol Obstet Invest. 1998;45(1):45-8.

Greenwald P, Caputo TA, Wolfgang PE. Endometrial cancer after menopausal use of estrogens. Obstet Gynecol. 1977 Aug;50(2):239-43.

Griffin JE and Wilson JD. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;819-75.

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Joffe M, Rosner B, Fuchs C, Hankinson SE, Hunter DJ, Hennekens CH, Speizer FE. Postmenopausal hormone therapy and mortality. N Engl J Med. 1997 Jun 19;336(25):1769-75.

Gropp J, Herlyn D, Boehncke E, Schulz V, Sanderleben JV, Hanichen Th, Geisel O. Physiological data including evaluation of immunoresponse in relation to anabolic effects on veal calves. Published in "Anabolic agents in animal production", FAO/WHO Symposium, 1975;131-141.

Grumbach MM and Styne DM. Puberty: Ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;1509- 625.

Han X and Liehr JG. DNA single-strand breaks in kidneys of Syrian hamsters treated with steroidal estrogens: hormone-induced free radical damage preceding renal malignancy. Carcinogenesis. 1994 May;15(5):997-1000.

Han X, Liehr JG, Bosland MC. Induction of a DNA adduct detectable by ^{32}P-postlabeling in the dorsolateral prostate of NBL/Cr rats treated with estradiol-17beta and testosterone. Carcinogenesis. 1995 Apr;16(4):951-4.

Hayashi N, Hasegawa K, Komine A, Tanaka Y, McLachian JA, Barrett JC, Tsutsui T. Estrogen-induced cell transformation and DNA adduct formation in cultured Syrian hamster embryo cells. Mol Carcinog. 1996 Jul;16(3):149-56.

Helzlsouer KJ, Huang HY, Strickland PT, Hoffman S, Alberg AJ, Comstock GW, Bell DA. Association between CYP17 polymorphisms and the development of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1998 Oct;7(10):945-9.

Henderson BE, Ross RK, Pike MC. Hormonal chemoprevention of cancer in women. Science. 1993 Jan 29;259(5095):633-8.

Henricks DM, Brandt RT Jr, Titgemeyer EC, Milton CT. Serum concentrations of trenbolone-17beta and estradiol-17beta and performance of heifers treated with trenbolone acetate, melengestrol acetate, or estradiol-17beta. J Anim Sci. 1997 Oct;75(10):2627-33.

Highman B, Greenman DL, Norvell MJ, Farmer J, Shellenberger TE. Neoplastic and preneoplastic lesions induced in female C3H mice by diets containing diethylstilbestrol or 17beta-estradiol. J Environ Pathol Toxicol. 1980 Nov;4(5-6):81-95.

Highman B, Norvell MJ, Shellenberger TE. Pathological changes in female C3H mice continuously fed diets containing diethylstilbestrol or 17beta-estradiol. J Environ Pathol Toxicol. 1978 Sep-Oct;1(1):1-30.

Highman B, Roth SI, Greenman DL. Osseous changes and osteosacomas in mice continuously fed diets containing diethylstilbestrol or 17beta-estradiol. J Natl Cancer Inst. 1981 Sep;67(3):653-62.

Ho SM and Roy D. Sex hormone-induced nuclear DNA damage and lipid peroxidation in the dorsolateral prostates of Noble rats. Cancer Lett. 1994 Sep 15;84(2):155-62.

Hoogenboom LAP, de Haan L, Hooijerink D, Bor G, Murk AJ, Brouwer A. Estrogenic activity of estradiol and its metabolites in the ER-CALUX assay with human T47D breast cells. APMIS. 2001 Feb;109(2):101-7. [EC study 3]

Hoogerbrugge N, Zillikens MC, Jansen H, Meeter K, Deckers JW, Birkenhager JC. Estrogen replacement decreases the level of antibodies against oxidized low-density lipoprotein in postmenopausal women with coronary heart disease. Metabolism. 1998 Jun;47(6):675-80.

Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W. The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. J Biol Chem. 1990 Apr 15;265(11):6048-54.

Huseby RA. Demonstration of a direct carcinogenic effect of estradiol on Leydig cells of the mouse. Cancer Res. 1980 Apr;40(4):1006-13.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 21, Sex Hormones (II), Lyon, IARC Press, 1979.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Suppl. 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Vol. 1 to 42, Lyon, IARC Press, 1987.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, Vol. 72, Hormonal Contraception and Postmenopausal Hormone Therapy Lyon, IARC Press, 1999.

Ichikawa T. A study on intratesticular aromatase activity in male infertility. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi. 1995 Apr;86(4):940-8.

Inoh A, Kamiya K, Fujii Y, Yokoro K. Protective effects of progesterone and tamoxifen in estrogen-induced mammary carcinogenesis in ovariectomized W/Fu rats. Jpn J Cancer Res. 1985 Aug;76(8):699-704.

Ivie GW, Christopher RJ, Munger CE, Coppock CE. Fate and residues of [4-^{14}C]estradiol-17beta after intramuscular injection into Holstein steer calves. J Anim Sci. 1986 Mar;62(3):681-90.

JECFA-WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-second meeting. Summary and Conclusions, Rome 2-11 February, 1999.

JECFA-WHO. Evaluation of certain veterinary drugs residues in food. Thirty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Commitee on Food Additives. WHO Technical Report Series 763, World Health Organization, Geneva 1988.

JECFA-WHO. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food: Prepared by the fifty-second meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 43, World Health Organization, Geneva 2000.

Jenster G. Coactivators and corepressors as mediators of nuclear receptor function: an update. Mol Cell Endocrinol. 1998 Aug 25;143(1-2):1-7.

Kaijser M, Lichtenstein P, Granath F, Erlandsson G, Cnattingius S, Ekbom A. In utero exposures and breast cancer: a study of opposite-sexed twins. J Natl Cancer Inst. 2001 Jan 3;93(1):60-2. [EC study 13]

Katzenellenbogen JA, O'Malley BW, Katzenellenbogen BS. Tripartite steroid hormone receptor pharmacology: interaction with multiple effector sites as a basis for the cell- and promoter-specific action of these hormones. Mol Endocrinol. 1996 Feb;10(2):119-31.

Key TJ and Pike MC. The dose-effect relationship between 'unopposed' oestrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. Br J Cancer. 1988 Feb;57(2):205-12.

Kirkman H. Estrogen-induced tumors of the kidney. III. Growth characteristics in the Syrian hamster. Natl Cancer Inst Monogr. 1959 Dec;1:1-57.

Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP, Cutler GB Jr. Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. J Clin Invest. 1994 Dec;94(6):2475-80.

Kong LY, Szaniszlo P, Albrecht T, Liehr JG. Frequency and molecular analysis of hprt mutations induced by estradiol in Chinese hamster V79 cells. Int J Oncol. 2000 Dec;17(6):1141-9. [EC study 8]

Kranz S, Pfeiffer E, Metzler M. Formation of DNA adducts of melengestrol acetate in precision-cut rat liver slices. Naunyn-Schm Arch Pharmacol. 2002 365(suppl 1): R140. ABSTRACT from the 43rd Spring Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology, Mainz, Germany, March 12-14, 2002.

Kuhnz W, Gansau C, Mahler M. Pharmacokinetics of estradiol, free and total estrone, in young women following single intravenous and oral administration of 17beta-estradiol. Arzneimittelforschung. 1993 Sep;43(9):966-73.

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. Endocrinology. 1998 Oct;139(10):4252-63.

Lane KE, Ricci MJ, Ho SM. Effect of combined testosterone and estradiol-17beta treatment on the metabolism of E2 in the prostate and liver of noble rats. Prostate. 1997 Mar 1;30(4):256-62.

Larsen MC, Angus WG, Brake PB, Eltom SE, Sukow KA, Jefcoate CR. Characterization of CYP1B1 and CYP1A1 expression in human mammary epithelial cells: role of the aryl hydrocarbon receptor in polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism. Cancer Res. 1998 Jun 1;58(11):2366-74.

Lavigne JA, Goodman JE, Fonong T, Odwin S, He P, Roberts DW, Yager JD. The effects of catechol-O-methyltransferase inhibition on estrogen metabolite and oxidative DNA damage levels in estradiol-treated MCF-7 cells. Cancer Res. 2001 Oct 15;61(20):7488-94.

Lavigne JA, Helzlsouer KJ, Huang HY, Strickland PT, Bell DA, Selmin O, Watson MA, Hoffman S, Comstock GW, Yager JD. An association between the allele coding for a low activity variant of catechol-O-methyltransferase and the risk for breast cancer. Cancer Res. 1997 Dec

15;57(24):5493-7.

Le Bizec, Marchand P, Andre F. Le controle des anabolisants dans la viande (The survey of anabolic agents in meat). Annales de Toxicologie Analytique. 2000 7(1): pages unspecified. [EC study 7]

Lee PA and Witchel SF. The influence of estrogen on growth. Curr Opin Pediatr. 1997 Aug;9(4):431-6.

Lewis SJ, Heaton KW, Oakey RE, McGarrigle HH. Lower serum oestrogen concentrations associated with faster intestinal transit. Br J Cancer. 1997;76(3):395-400.

Lewis SJ, Oakey RE, Heaton KW. Intestinal absorption of oestrogen: the effect of altering transit-time. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1998 Jan;10(1):33-9.

Li JJ and Li SA. Estrogen carcinogenesis in Syrian hamster tissues: role of metabolism. Fed Proc. 1987 Apr;46(5):1858-63.

Li JJ, Hou X, Bentel J, Yazlovitskaya EM, Li SA. Prevention of estrogen carcinogenesis in the hamster kidney by ethinylestradiol: some unique properties of a synthetic estrogen. Carcinogenesis. 1998 Mar;19(3):471-7.

Li JJ, Li SA, Klicka JK, Parsons JA, Lam LK. Relative carcinogenic activity of various synthetic and natural estrogens in the Syrian hamster kidney. Cancer Res. 1983 Nov;43(11):5200-4.

Li JJ, Li SA, Oberley TD, Parsons JA. Carcinogenic activities of various steroidal and nonsteroidal estrogens in the hamster kidney: relation to hormonal activity and cell proliferation. Cancer Res. 1995 Oct 1;55(19):4347-51.

Li SA, Liao DZ, Yazlovitskaya EM, Pantazis CG, Li JJ. Induction of cathepsin D protein during estrogen carcinogenesis: possible role in estrogen-mediated kidney tubular cell damage. Carcinogenesis. 1997 Jul;18(7):1375-80.

Liao DZ, Pantazis CG, Hou X, Li SA. Promotion of estrogen-induced mammary gland carcinogenesis by androgen in the male Noble rat: probable mediation by steroid receptors. Carcinogenesis. 1998 Dec;19(12):2173-80.

Liehr JG and Ricci MJ. 4-Hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors. Proc Natl Acad Sci USA. 1996 Apr 16;93(8):3294-6.

Liehr JG, Fang WF, Sirbasku DA, Ari-Ulubelen A. Carcinogenicity of catechol estrogens in Syrian hamsters. J Steroid Biochem. 1986 Jan;24(1):353-6.

Liehr JG, Ricci MJ, Jefcoate CR, Hannigan EV, Hokanson JA, Zhu BT. 4-Hydroxylation of estradiol by human uterine myometrium and myoma microsomes: implications for the mechanism of uterine tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 1995 Sep 26;92(20):9220-4.

Liehr JG, Roy D, Gladek A. Mechanism of inhibition of estrogen-induced renal carcinogenesis in male Syrian hamsters by vitamin C. Carcinogenesis. 1989 Nov;10(11):1983-8.

Linehan WM, Shipley WU, Parkinson DR. Cancer of the kidney and ureter. In: Cancer: Principles and Practice of Oncology, 5th Edition (DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA eds) Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997;1271-300.

Lippert TH, Seeger H, Mueck AO. Estradiol metabolism during oral and transdermal estradiol replacement therapy in postmenopausal women. Horm Metab Res. 1998 Sep;30(9):598-600.

MacGillivray MH, Morishima A, Conte F, Grumbach M, Smith EP. Pediatric endocrinology

update: an overview. The essential roles of estrogens in pubertal growth, epiphyseal fusion and bone turnover: lessons from mutations in the genes for aromatase and the estrogen receptor. Horm Res. 1998;49 Suppl 1:2-8.

Mahendroo MS, Cala KM, Landrum DP, Russell DW. Fetal death in mice lacking 5alpha-reductase type 1 caused by estrogen excess. Mol Endocrinol. 1997 Jun;11(7):917-27.

Malayer JR and Gorski J. An integrated model of estrogen receptor action. Domest Anim Endocrinol. 1993 Jul;10(3):159-77.

Marchand P, le Bizec B, Gade C, Monteau F, Andre F. Ultra trace detection of a wide range of anabolic steroids in meat by gas chromatography coupled to mass spectrometry. J Chromatogr A. 2000 Jan 21;867(1-2):219-33. [EC study 7]

Markides CS, Roy D, Liehr JG. Concentration dependence of prooxidant and antioxidant properties of catecholestrogens. Arch Biochem Biophys. 1998 Dec 1;360(1):105-12.

Martucci CP and Fishman J. P450 enzymes of estrogen metabolism. Pharmacol Ther. 1993 Feb-Mar;57(2-3):237-57.

Mashchak CA, Lobo RA, Dozono-Takano R, Eggena P, Nakamura RM, Brenner PF, Mishell DR Jr. Comparison of pharmacodynamic properties of various estrogen formulations. Am J Obstet Gynecol. 1982 Nov 1;144(5):511-8.

Mauras N, Rogol AD, Veldhuis JD. Specific, time-dependent actions of low-dose ethinyl estradiol administration on the episodic release of growth hormone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone in prepubertal girls with Turner's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1989 Nov;69(5):1053-8.

Metzler M and Pfeiffer E. Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS. 2001 Feb;109(2):89-95. [EC study 2]

Millikan RC, Pittman GS, Tse CK, Duell E, Newman B, Savitz D, Moorman PG, Boissy RJ, Bell DA. Catechol-O-methyltransferase and breast cancer risk. Carcinogenesis. 1998 Nov;19(11):1943-7.

Moore AB, Bottoms GD, Coppoc GL, Pohland RC, Roesel OF. Metabolism of estrogens in the gastrointestinal tract of swine. I. Instilled estradiol. J Anim Sci. 1982 Jul;55(1):124-34.

Moore DE, Kawagoe S, Davajan V, Nakamura RM, Mishell DR. An *in vivo* system in man for quantitation of estrogenicity. II. Pharmacologic changes in binding capacity of serum corticosteroid-binding globulin induced by conjugated estrogens, mestranol, and ethinyl estradiol. Am J Obstet Gynecol. 1978 Feb 15;130(4):482-6.

Moss RL, Gu Q, Wong M. Estrogen: nontranscriptional signaling pathway. Recent Prog Horm Res. 1997;52:33-68; discussion 68-9.

Musarrat J, Arezina-Wilson J, Wani AA. Prognostic and aetiological relevance of 8-hydroxyguanosine in human breast carcinogenesis. Eur J Cancer. 1996 Jun;32A(7):1209-14.

Nagasawa H, Mori T, Nakajima Y. Long-term effects of progesterone or diethylstilbestrol with or without estrogen after maturity on mammary tumorigenesis in mice. Eur J Cancer. 1980 Dec;16(12):1583-9.

Nagashima M, Tsuda H, Takenoshita S, Nagamachi Y, Hirohashi S, Yokota J, Kasai H. 8-hydroxydeoxyguanosine levels in DNA of human breast cancer are not significantly different from those of non-cancerous breast tissues by the HPLC-ECD method. Cancer Lett. 1995 Apr 14;90(2):157-62.

Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. Maturitas. 1993 May;16(3):185-202.

Noble RL, Hochachka BC, King D. Spontaneous and estrogen-produced tumors in Nb rats and their behavior after transplantation. Cancer Res. 1975 Mar;35(3):766-80.

O'Connell MB. Pharmacokinetic and pharmacologic variation between different estrogen products. J Clin Pharmacol. 1995 Sep;35(9 Suppl):18S-24S.

Ofner P, Bosland MC, Vena RL. Differential effects of diethylstilbestrol and estradiol-17beta in combination with testosterone on rat prostate lobes. Toxicol Appl Pharmacol. 1992 Feb;112(2):300-9.

Petitti DB. Hormone replacement therapy and heart disease prevention: experimentation trumps observation. JAMA. 1998 Aug 19;280(7):650-2.

Physicians' Desk Reference. 53rd Edition, 1999;830-833, 3124-3126.

Pike M, Bernstein L, Spicer D. Exogenous hormones and breast cancer risk. In: Current Therapy in Oncology (Neiderhuber J. Eds). BC Decker, St. Louis 1993;292-302.

Potau N, Ibanez L, Sentis M, Carrascosa A. Sexual dimorphism in the maturation of the pituitary-gonadal axis, assessed by GnRH agonist challenge. Eur J Endocrinol. 1999 Jul;141(1):27-34.

Punnonen R and Salmi T. Effects of a massive single oral dose of oestradiol valerate in a young woman. Ann Clin Res. 1983 Jun;15(3):134-6.

Rao PN, Purdy RH, Williams MC, Moore PH Jr, Goldzieher JW, Layne DS. Metabolites of estradiol-17beta in bovine liver: identification of the 17-beta-D-glucopyranoside of estradiol-17alpha. J Steroid Biochem. 1979 Feb;10(2):179-85.

Reventos J, Sullivan PM, Joseph DR, Gordon JW. Tissue-specific expression of the rat androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin gene in transgenic mice. Mol Cell Endocrinol. 1993 Oct;96(1-2):69-73.

Richold M. The genotoxicity of trenbolone, a synthetic steroid. Arch Toxicol. 1988;61(4):249-58.

Rifici VA and Khachadurian AK. The inhibition of low-density lipoprotein oxidation by 17-beta estradiol. Metabolism. 1992 Oct;41(10):1110-4.

Rosner W. Plasma steroid-binding proteins. Endocrinol Metab Clin North Am. 1991 Dec;20(4):697-720.

Ross RK, Pike MC, Coetzee GA, Reichardt JK, Yu MC, Feigelson H, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. Cancer Res. 1998 Oct 15;58(20):4497-504.

Rothman KJ and Louik C. Oral contraceptives and birth defects. N Engl J Med. 1978 Sep 7;299(10):522-4.

Roy D, Weisz J, Liehr JG. The O-methylation of 4-hydroxyestradiol is inhibited by 2-hydroxyestradiol: implications for estrogen-induced carcinogenesis. Carcinogenesis. 1990 Mar;11(3):459-62.

Ruoff WL and Dziuk PJ. Absorption and metabolism of estrogens from the stomach and duodenum

of pigs. Domest Anim Endocrinol. 1994 Apr;11(2):197-208.

Russo IH and Russo J. Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect. 1996 Sep;104(9):938-67.

Ross JL, Cassorla F, Carpenter G, Long LM, Royster MS, Loriaux DL, Cutler GB Jr. The effect of short term treatment with growth hormone and ethinyl estradiol on lower leg growth rate in girls with Turner's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 1988 Sep;67(3):515-8.

Sarabia SF and Liehr JG. Induction of monoamine oxidase B by 17beta-estradiol in the hamster kidney preceding carcinogenesis. Arch Biochem Biophys. 1998 Jul 15;355(2):249-53.

Sarkar K, Kinson GA, Rowsell HC. Embryo resorption following administration of steroidal compounds to rats in mid pregnancy. Can J Vet Res. 1986 Jul;50(3):433-7.

Sasco AJ. Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? APMIS. 2001 May;109(5):321-32.

Savas U, Carstens CP, Jefcoate CR. Biological oxidations and P450 reactions. Recombinant mouse CYP1B1 expressed in Escherichia coli exhibits selective binding by polycyclic hydrocarbons and metabolism which parallels C3H10T1/2 cell microsomes, but differs from human recombinant CYP1B1. Arch Biochem Biophys. 1997 Nov 15;347(2):181-92.

Schairer C, Adami HO, Hoover R, Persson I. Cause-specific mortality in women receiving hormone replacement therapy. Epidemiology. 1997 Jan;8(1):59-65.

Schleicher F, Tauber U, Louton T, Schunack W. Tissue distribution of sex steroids: concentration of 17beta-oestradiol and cyproterone acetate in selected organs of female Wistar rats. Pharmacol Toxicol. 1998 Jan;82(1):34-9.

Schlesselman JJ. Net effect of oral contraceptive use on the risk of cancer in women in the United States. Obstet Gynecol. 1995 May;85(5 Pt 1):793-801.

Schuler M, Hasegawa L, Parks R, Metzler M, Eastmond DA. Dose-response studies of the induction of hyperdiploidy and polyploidy by diethylstilbestrol and 17beta-estradiol in cultured human lymphocytes using multicolor fluorescence in situ hybridization. Environ Mol Mutagen. 1998;31(3):263-73.

Seegers JC, van Aswegen CH, Nieuwoudt BL, Joubert WS. Morphological effects of the catecholestrogens on cells of the seminiferous tubules of Sprague-Dawley rats. Andrologia. 1991 Sep-Oct;23(5):339-45.

Seraj MJ, Umemoto A, Tanaka M, Kajikawa A, Hamada K, Monden Y. DNA adduct formation by hormonal steroids *in vitro*. Mutat Res. 1996 Aug;370(1):49-59.

Service RF. New role for estrogen in cancer? Science. 1998 Mar 13;279(5357):1631-3.

Shelby MD, Tice RR, Witt KL. 17-beta-estradiol fails to induce micronuclei in the bone marrow cells of rodents. Mutat Res. 1997 Dec 5;395(1):89-90.

Shimizu H, Ross RK, Bernstein L, Pike MC, Henderson BE. Serum oestrogen levels in postmenopausal women: comparison of American whites and Japanese in Japan. Br J Cancer. 1990 Sep;62(3):451-3.

Shou M, Korzekwa KR, Brooks EN, Krausz KW, Gonzalez FJ, Gelboin HV. Role of human hepatic cytochrome P450 1A2 and 3A4 in the metabolic activation of estrone. Carcinogenesis. 1997 Jan;18(1):207-14.

Shull JD, Spady TJ, Snyder MC, Johansson SL, Pennington KL. Ovary-intact, but not ovariectomized female ACI rats treated with 17beta-estradiol rapidly develop mammary carcinoma. Carcinogenesis. 1997 Aug;18(8):1595-601.

Siiteri PK, Nisker JA, Hammond GL. Hormonal basis of risk factors for breast and enodmetrail cancer. In: Hormones and Cancer (Iacobelli S, King RJB, Lindner HR, Lippman ME, Eds) Raven Press, New York 1980;499-505.

Stratakis CA, Vottero A, Brodie A, Kirschner LS, DeAtkine D, Lu Q, Yue W, Mitsiades CS, Flor AW, Chrousos GP. The aromatase excess syndrome is associated with feminization of both sexes and autosomal dominant transmission of aberrant P450 aromatase gene transcription. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Apr;83(4):1348-57.

Sturgeon SR, Schairer C, Brinton LA, Pearson T, Hoover RN. Evidence of a healthy estrogen user survivor effect. Epidemiology. 1995 May;6(3):227-31.

Terashima I, Suzuki N, Shibutani S. Mutagenic properties of estrogen quinone-derived DNA adducts in simian kidney cells. Biochemistry. 2001 Jan 9;40(1):166-72.

Thompson PA, Shields PG, Freudenheim JL, Stone A, Vena JE, Marshall JR, Graham S, Laughlin R, Nemoto T, Kadlubar FF, Ambrosone CB. Genetic polymorphisms in catechol-O-methyltransferase, menopausal status, and breast cancer risk. Cancer Res. 1998 May 15;58(10):2107-10.

Toniolo PG, Levitz M, Zeleniuch-Jacquotte A, Banerjee S, Koenig KL, Shore RE, Strax P, Pasternack BS. A prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. J Natl Cancer Inst. 1995 Feb 1;87(3):190-7.

Tsai MJ, Clark JH, Schrader WT, O'Malley BW. Hormones that act as transcription-regulatory factors. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;55-94.

Tsutsui T, Suzuki N, Fukuda S, Sato M, Maizumi H, McLachlan JA, Barrett JC. 17beta-Estradiol-induced cell transformation and aneuploidy of Syrian hamster embryo cells in culture. Carcinogenesis. 1987 Nov;8(11):1715-9.

Tsutsui T, Tamura Y, Hagiwara M, Miyachi T, Hikiba H, Kubo C, Barrett JC. Induction of mammalian cell transformation and genotoxicity by 2-methoxyestradiol, an endogenous metabolite of estrogen. Carcinogenesis. 2000b Apr;21(4):735-40.

Tsutsui T, Tamura Y, Yagi E, Barrett JC. Involvement of genotoxic effects in the initiation of estrogen-induced cellular transformation: studies using Syrian hamster embryo cells treated with 17beta-estradiol and eight of its metabolites. Int J Cancer. 2000a Apr 1;86(1):8-14.

UK SGVPC (Sub-Group of the Veterinary Products Committee, Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food). Executive summary and critical evaluation of the 1999 opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health. 1999.

van Leeuwen FX. The approach taken and conclusions reached by the joint FAO-WHO expert committee on food additives. Ann. Recher. Vet.1991; 22(3):253-256.

Vingerhoets AJ, Assies J, Goodkin K, Van Heck GL, Bekker MH. Prenatal diethylstilbestrol exposure and self-reported immune-related diseases. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1998 Apr;77(2):205-9.

vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997

Mar 4;94(5):2056-61.

Vree TB and Timmer CJ. Enterohepatic cycling and pharmacokinetics of oestradiol in postmenopausal women. J Pharm Pharmacol. 1998 Aug;50(8):857-64.

Wang MY and Liehr JG. Identification of fatty acid hydroperoxide cofactors in the cytochrome P450-mediated oxidation of estrogens to quinone metabolites. Role and balance of lipid peroxides during estrogen-induced carcinogenesis. J Biol Chem. 1994 Jan 7;269(1):284-91.

Wehling M. Specific, nongenomic actions of steroid hormones. Annu Rev Physiol. 1997;59:365-93.

Weisz J, Fritz-Wolz G, Clawson GA, Benedict CM, Abendroth C, Creveling CR. Induction of nuclear catechol-O-methyltransferase by estrogens in hamster kidney: implications for estrogen-induced renal cancer. Carcinogenesis. 1998 Jul;19(7):1307-12.

Welsch CW. Interaction of estrogen and prolactin in spontaneous mammary tumorigenesis of the mouse. J Toxicol Environ Health Suppl. 1976;1:161-75.

Wessendorf G, Scheibl P, Zerbe PS. [Effect of estrogens on the immune system with regard to bovine placental retention] German, Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1998 Jan;105(1):32-4.

White CM, Ferraro-Borgida MJ, Fossati AT, McGill CC, Ahlberg AW, Feng YJ, Heller GV, Chow MS. The pharmacokinetics of intravenous estradiol-a preliminary study. Pharmacotherapy. 1998 Nov-Dec;18(6):1343-6.

Wingard LM, Brody TM, Larner J, Schwartz A. Estrogens, progestins, and oral contraceptives. In: Human Pharmacology: Molecular to Clinical Mosby-Year Book, St Louis 1991;494-514.

Winter ML and Liehr JG. Possible mechanism of induction of benign prostatic hyperplasia by estradiol and dihydrotestosterone in dogs. Toxicol Appl Pharmacol. 1996 Feb;136(2):211-9.

Wjst M and Dold S. Is asthma an endocrine disease? Pediatr Allergy Immunol. 1997 Nov;8(4):200-4.

Yager JD and Liehr JG. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 1996;36:203-32.

Yagi E, Barrett JC, Tsutsui T. The ability of four catechol estrogens of 17beta-estradiol and estrone to induce DNA adducts in Syrian hamster embryo fibroblasts. Carcinogenesis. 2001 Sep;22(9):1505-10.

Yamazaki H, Shaw PM, Guengerich FP, Shimada T. Roles of cytochromes P450 1A2 and 3A4 in the oxidation of estradiol and estrone in human liver microsomes. Chem Res Toxicol. 1998 Jun;11(6):659-65.

Yoshie Y and Ohshima H. Synergistic induction of DNA strand breakage by catechol-estrogen and nitric oxide: implications for hormonal carcinogenesis. Free Radic Biol Med. 1998 Jan 15;24(2):341-8.

Zhu BT and Conney AH. Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. Carcinogenesis. 1998a Jan;19(1):1-27.

Zhu BT and Conney AH. Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis? Cancer Res. 1998b Jun 1;58(11):2269-77.

Zhu BT and Liehr JG. Quercetin increases the severity of estradiol-induced tumorigenesis in hamster kidney. Toxicol Appl Pharmacol. 1994 Mar;125(1):149-58.

Zhu BT, Evaristus EN, Antoniak SK, Sarabia SF, Ricci MJ, Liehr JG. Metabolic deglucuronidation and demethylation of estrogen conjugates as a source of parent estrogens and catecholestrogen metabolites in Syrian hamster kidney, a target organ of estrogen-induced tumorigenesis. Toxicol Appl Pharmacol. 1996 Jan;136(1):186-93.

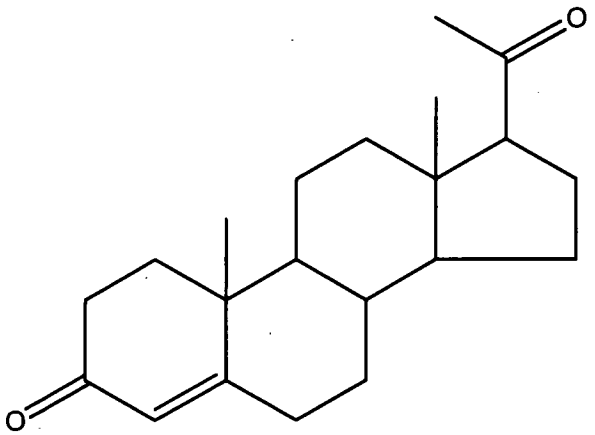
Zhu BT, Roy D, Liehr JG. The carcinogenic activity of ethinyl estrogens is determined by both their hormonal characteristics and their conversion to catechol metabolites. Endocrinology. 1993 Feb;132(2):577-83.

Zimmermann H, Koytchev R, Mayer O, Borner A, Mellinger U, Breitbarth H. Pharmacokinetics of orally administered estradiol valerate. Results of a single-dose cross-over bioequivalence study in postmenopausal women. Arzneimittelforschung. 1998 Sep;48(9):941-7.

プロゲステロン

1．薬剤の概要

（1）物質名



Progesterone

分　子　式	: $C_{21}H_{30}O_2$
分　子　量	: 272.38
常温における性状	: 白色の結晶性粉末
融　　点	: 127～131 ℃（α体） 121 ℃　（β体）

（2）性質

プロゲステロン（プレグン（pregn）-4-エン-3,20-ジオン）は月経周期の後半期に主に卵巣黄体から分泌され、黄体ホルモンとも呼ばれる C-21 ステロイド系性ホルモンである。このホルモンはステロイドを産生する全器官に存在し、その産生率は、女性の月経周期および妊娠など、時期によって大きく変動する。その分泌は排卵直前（すなわち発情周期後半）から活発となり、卵胞ホルモンの作用により、増殖した子宮粘膜に作用して、分泌腺を発達させ受精卵の着床準備をつくる。卵子が受精しない場合には、周期の末期において黄体の退化と共に本薬の分泌が止まり、次の月経が起こる。卵子が受精した場合には、黄体はさらに肥大して本薬物質が大量に分泌され、月経や子宮収縮を抑制して妊娠を維持させる重要な働きを行う。卵巣を摘出した去勢婦人女性に卵胞ホルモンとプロゲステロンとを適宜の周期で交互に投与すると、性周期を生理的に起こさせることができることから、黄体機能不全に用いられる。このほか、体温上昇作用、乳腺組織の増殖、子宮筋の静止作用などを有する（第十四改正日本薬局方；EU SCVPH, 1999）。

他の全てのホルモンと同様、プロゲステロンの合成および分泌は、脳（視床下部、下垂体）から分泌されるポリペプチドホルモンがプロゲステロンの循環レベルを左右するという正および負の一連のフィードバックメカニズムで調節されている。プロゲステロンの作用はエストロゲンの作用の一部と対立し、非妊娠女性においては黄体刺激ホルモンおよび濾胞刺激ホルモンの周期的放出を阻害する。プロゲステロンが作用するには、前もってエストロゲンによる刺激を必要とするが、これはおそらくプロゲステロン受容体（PR）の発現を増加させるためであろう。PR は受容体タンパク質のステロイドホルモン上科に属し、遺伝子調節メカニズムを通して、プロゲステロンの生物学的活性を仲介する（Mahesh et al., 1996；Katzenellenbogen, 1996；EU SCVPH, 1999）。

（3）肥育ホルモンとしての使用

プロゲステロン（100 または 200 mg）を安息香酸エストラジオール（10 または 20 mg）との組合せて耳埋込としてウシに投与すると、体重増加率の亢進（生長促進）、飼料効率が改善される。また、プロゲステロンは、乳牛または乳牛以外の乳製品用のウシやヤギに発情期を同調させることを目的として膣内スポンジの形で投与される。外因性に投与されたプロゲステロンは動物やヒト体内で産生されるプロゲステロンと構造的に同一であることから、内因性物質と考えられている（JECFA, 2000）

オーストラリア、米国、カナダ、ニュージーランドなどの牛肉輸出国では、ウシの成長促進物質としてプロゲステロンを含む肥育ホルモンの利用が認められているが、EU は 1988 年、家畜への肥育ホルモンの使用を禁止し、翌 1989 年にはこの禁止措置をさらに広げ、肥育ホルモンの使用を認めている国からの牛肉および牛肉製品の輸入も禁止している。

（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル

FAO/WHO の合同専門家会議は 2000 年、動物および食品中の動物医薬品残留物の評価を行った（FAO/WHO, 2000）。この結果をもとに、プロゲステロンを肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のプロゲステロンレベルを表 1 にまとめた。

表 1-1　動物薬処理された食肉（筋肉）中のプロゲステロンの濃度

動物	処理薬と屠殺日		濃度 (ng/kg)		
			Min	Max	Median
雄牛(去勢牛)	SYNOVEX-S (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	50	460	210
		30 日後	160	310	220
		61 日後	80	1650	260
		90 日後	90	1670	180
		120 日後	130	2460	270
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	40	1410	150
雄牛(去勢牛)	SREER-oid (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	415	1165	820
		30 日後	315	1380	742
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	90	1025	629

表 1-2　動物薬処理された食肉（筋肉）中のプロゲステロンの濃度
（括弧内の数字はコントロール）

動物	処理薬と処理日		屠殺日	濃度 (ng/kg)			処理/ｺﾝﾄﾛｰﾙ 比
				Min	Max	Median	
雄牛(去勢牛)	SYNOVEX-C 及び S (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目	61 日後	134 (49.1)	1336 (548)	863 (318)	2.7
			119 日後	128 (121)	602 (860)	242 (302)	0.8
		2 回処理: 0, 118 日目	241 日後	328 (356)	804 (946)	370 (507)	0.73
		3 回処理: 0, 118, 240 日目	301 日後	297 (148)	414 (2887)	353 (438)	0.81
			329 日後	275 (305)	1335 (1009)	331 (544)	0.61
			360 日後	357 (1339)	1461 (3642)	645 (2511)	0.26
雌牛(未経産牛)	SYNOVEX-C 及び H (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	1 回処理: 0 日目	61 日後	311 (109)	1489 (916)	447 (182)	2.5
			119 日後	209 (96.1)	744 (1089)	453 (581)	0.78

2．毒性の概要

2．1　薬物動態

（1）吸収・分布・代謝・排泄

プロゲステロンの主要代謝物を以下の図 1 に示す。

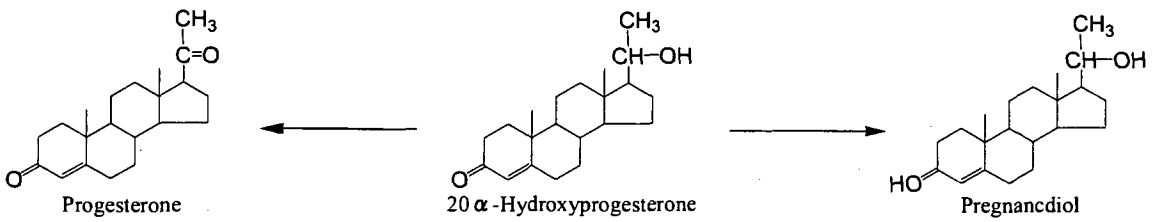


図 1 プロゲステロンの主要代謝物

【ヒトにおける知見】

初期卵胞期の女性にプロゲステロンを経口投与（微粒子状 100 mg をカプセルで 2 錠）した場合、Tmax（最高血漿中濃度到達時間）は 2 時間、Cmax（最高血漿中濃度）は 13 ng/mL であった。結晶状プロゲステロンの結果と比較すると、同一用量の微粒子状プロゲステロンの血漿濃度ピークは 2 倍に達した。主要な 3 種類の代謝物、プレグナネジオール 3α-グルクノニド、17-ヒドロプロゲステロンおよび 20a-ジヒドロプロゲステロンの血漿プロフィールは、プロゲステロンのプロフィールに類似していた（Sitruk-Ware et al., 1987）。

6 名の絶食した女性にプロゲステロンを膣内または経口投与（投与時期；月経周期の初期卵胞期、100 mg）した場合に、経口投与では Tmax は 2 時間で、投与後 6 時間以内に通常の値に戻った。プロゲステロンは、投与経路にかかわらず主に 5a 誘導体に代謝された。5a-プレグナノロンは経口投与時には観察されたが、膣投与では観察されなかった。プロゲステロン投与後デオキシコルチコステロンおよび硫酸デオキシコルチコステロンの血清濃度も上昇した。摂取されたプロゲステロンは、主に小腸で代謝される（Nahoul et al., 1993）。

7 名の被験者（閉経後の女性 6 名、男性 1 名）にプロゲステロンを数種の製剤で経口投与（200 mg）し、0.5、1、2、3、4 および 6 時間後に血液サンプルを採取した。オイルを基質とした微

粒子状製剤では、Tmax は 2 時間、Cmax は 30 ng/mL であった。その他製剤の Tmax と Cmax は、粉末製剤の場合で Tmax が 4 時間、Cmax が 9.6 ng/mL、微粒子製剤で Tmax が 3.2 時間、Cmax が 13 ng/mL、粉末のオイル製剤で Tmax が 4 時間、Cmax が 11 ng/mL、そして微粒子状腸溶カプセル製剤で Tmax は 4.1 時間、Cmax が 11 ng/mL であった（Hargrove et al., 1989）。

5 名の閉経後の女性にプロゲステロンを 5 日間経口投与（100 mg/日）した場合、Cmax は 7～11 ng/mL で、最終投与後 4 時間以内に達した。その後血漿濃度は 96 時間で高値を維持した。代謝物の 20a-ジヒドロ-プロゲステロンの濃度はプロゲステロンの濃度と類似し 3～5.1 ng/mL であった。血漿中に存在するその他の代謝物としてはプレグナネジオール-3 α-グルクロニド（550～1,000 ng/mL）と 17-ヒドロキシプロゲステロン（1.4～3.2 ng/mL）であった（Whitehead et al., 1980）。

15 名の閉経後の女性に、プロゲステロンを絶食状態または通常状態で 5 日間経口投与（200 mg）、5 日間絶食した状態で経口投与（100、200 または 300 mg）及び通常で 2 日間経口投与（200 mg, 微粒子状）、筋肉内投与（50 mg、オイル製剤）をした。食物の摂取により、AUC（血漿中濃度-時間曲線下積分面積）と Cmax が増加し、バイオアベイラビリティも 2 倍高まったが、Tmax は変化しなかった。吸収と排泄は試験した範囲では用量と無関係であった。経口投与されたプロゲステロンのバイオアベイラビリティは、筋肉内投与された場合の 8.6%であった（Simon et al., 1993）。

月経周期が正常な女性に、卵胞期にプロゲステロン製剤を舌下、経口（カプセルおよび錠剤）、膣または直腸内投与（50～200 mg, 微粒子状）して血中濃度を調べた。100 mg を越えるプロゲステロンが膣内または直腸内投与された女性では 8 時間以上、そして 200 mg の錠剤が経口投与された女性では 24 時間以上、血清濃度は高値を維持した。微粒子状経口製剤を使うことで臨床的に意味のあるプロゲステロン濃度が達成できる（Maxson and Hargrove, 1985）。

ヒトの場合、プロゲステロンの酸化的代謝は主に肝臓において 6β-位に、次いで 16α-および 2β-位に起こる。シトクロム P450 3A4 は主要なプロゲステロン水酸化酵素であり、これらの産生物の生成を触媒する（Yamazaki and Shimada, 1997）。肝臓外代謝およびクリアランスも有意な規模で存在することが観察され、シトクロム P450 を経由しない最初の 5α-還元に続い

て起こると考えられている。

外因性プロゲステロンのヒトにおける吸収は、投与経路に関わりなく迅速で、血漿中濃度は経口投与から4時間以内にピークに達する（de Lignieres et al., 1995）。しかし、このホルモンは腸管、腸壁および肝臓内で広範に代謝を受ける（Adlercreutz and Martin, 1980）。血清中でプロゲステロンとして検出されるのは投与量のうち一部のみであるのに対し、大部分が不活性の5β-プレグナン-3α-オール-ジオール-グルクロニドとして循環する（de Lignieres et al., 1995；Adlercreutz and Martin, 1980）。

【豚を用いた試験】

卵巣摘出した5頭の雌ブタに投与（47.4 nmol）したところ、2相性の消失が観察され、その$t_{1/2}$（血漿中半減期）は2.5分と34分であった。分布相の$t_{1/2}$から、肝臓が消失の主要臓器であると判断した。また、2匹の雌ブタに投与（44.7または64.6 nmol）した場合、肝門脈と腸間膜の血漿中濃度に2度目の上昇が観察され、プロゲステロンが腸肝循環している可能性が示唆された（Symonds et al., 1994）。

【ラットを用いた試験】

卵巣摘出したラットに静脈内投与（599 mg/kg体重）した場合の排泄について、2コンパートメントモデルを使った説明が行われており、その分布相および排泄相の半減期はそれぞれ0.13±0.024時間と1.2±0.21時間であり、そして分布容積は2.4 L/kg体重であった（Gangrade et al., 1992）。プロゲステロンの$t_{1/2}$（血漿中半減期）は、5分との報告もある（Williams and Stancel, 1996）。

【イヌを用いた試験】

無発情期の雌イヌ6匹にプロゲステロンを筋肉内投与（2 mg/kg体重）し、72時間の血漿プロゲステロン濃度を測定した。T max（最高血漿中濃度到達時間）は1.8時間、Cmax（最高血漿中濃度）は34 ng/mLであった。投与後72時間までに血漿中濃度は投与前の0.9 ng/mLに戻った。分布相の$t_{1/2}$は0.5 時間で、排泄相の$t_{1/2}$は12 時間であった。3 mg/kg体重を1日1回筋肉内投与した場合には、血漿中濃度が＞10 ng/mLに保たれた（Scott-Moncrieff et al., 1990）。

【ウシを用いた試験】

プロゲステロンは耳への皮下移植により投与される。耳は残留薬物と共に、屠殺時に廃棄される。プロゲステロンの投与量は動物あたり 200 mg（JECFA, 1988）である。動物の循環器系において、埋込由来のプロゲステロンと内因性プロゲステロンとを区別することはできない（Baird et al., 1969）。ウシにおけるプロゲステロンの代謝は、放射性標識化合物を用いて研究されてきた（Estergreen et al., 1977 ; Purdy et al., 1980 ; Lin et al., 1978）。プロゲステロン 50 μg/kg を 1 日 2 回、15 日間投与する試験が実施された。最後の 3 回の注射にはそれぞれ 0.9 mCi [^{14}C]-プロゲステロンが含まれ、動物は最後の処理の 2～3 時間後に屠殺された。全抽出物中の放射能の大部分は、親化合物であった（筋肉中の 54%、脂肪中の遊離放射能の 69%および抱合型放射能の 73%）（Lin et al., 1978）。筋肉中で検出された主な代謝物（総放射能の 16%）は、5α-プレグナン-3, 20-ジオン（9%）、20-β-ヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン（8%）、3α-ヒドロキシ-5β-プレグナン-20-オン（13%）および 3α-ヒドロキシ-5α-プレグナン-20-オン（3%）であった。脂肪中（総放射能の 62%）で検出された主代謝物は 20-β-ヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン（11%）であった（Estergreen et al., 1977）。ウシにおいてプロゲステロンを代謝する特異的酵素については詳細は明らかにされていないが、肝臓シトクロム P450 酵素がこのホルモンの代謝的クリアランスに関与していると考えられる。

いずれの試験とも、プロゲステロン 200 mg を耳への移植により投与している。プロゲステロン濃度の上昇が認められたのは雄ウシの脂肪組織中のみで、1.6 μg/kg から 8.7 μg/kg へと変化した（移植から 50 日後）（EU SCVPH, 1999）。

【タンパク結合に関する知見】

プロゲステロンは血清中ではコルチコステロイド結合グロブリン（CBG）とアルブミンに結合している。アルブミンはプロゲステロンに対し大きな容量をもつが、親和性は低い。一方 CBG は、親和性は高いもののその容量は小さい。血清プロゲステロンの約 17%が CBG に結合し、80%がアルブミンと結合し、そして 2.5%が遊離状態にある。CBG は、肝臓およびその他組織で合成されて分泌され、胎児肝細胞においても合成される。リガンドが結合していない状態の CBG のレセプターは標的細胞の膜表面上に存在しており、これにステロイドが結合するとアデニルシクラーゼを活性化する（Orth and Kovacs, 1998）。

プロゲステロンは、肝臓でプレグナン-3α、20α-ジオール（プレガネジオール）および C3

位グルクロン酸抱合体に変換されてから尿中に排泄される。プロゲステロンの主要尿中代謝物は、プレグナネジオールであり、プロゲステロン分泌の指標として利用されている。プロゲステロンの代謝クリアランス速度は約 2200 L/日である（Goldfien and Monroe, 1994）。

（2）生体内変化

プロゲステロンは、特に C21、C6 および C16 位がヒドロキシ化されることにより、より極性が強く活性の低い化合物に不可逆的に変換され排泄される。プロゲステロンのヒドロキシ化は、肝臓および肝臓以外の組織に認められる様々なシトクロム P450CYP ファミリーのメンバーやその他酵素を触媒として行われる。ヒト 6β-水酸化酵素活性は、CYP3A4 が最も効率的に触媒として作用し、それより効率が下がるが CYP2D6 も触媒として作用する。一方、16α位のヒドロキシ化には CYP3A4、1A1、2D6 が触媒として作用している（Niwa et al., 1998）。

プロゲステロンの代謝は、組織や種によって異なっている。例えばヒトの腎臓は 6β-hydoxylase 活性を有しているが、ラットの腎臓には存在しない。肝臓のステロイド 21-水酸化酵素はウサギでは主に CYP2C5 により（Kedderis and Mugford, 1998）、そしてラットでは CYP2C6 により得られるが、これらはヒトの肝臓には認められていない P450 イソ酵素である。ウサギの肝臓の CYP2C3 は、プロゲステロンを 6β位および 16α位をヒドロキシ化するが（Hsu et al., 1993）、この酵素もまたヒトの肝臓では認められていない（JECFA, 2000）。

プロゲステロンが、水酸化プロゲステロンやコルチコステロイド、アンドロゲンやエストロゲンといった他の生理活性ステロイドの前駆体として機能することはよく知られている。血漿中のプロゲステロンは、副腎ステロイド 21-水酸化酵素とは別に、21-水酸化を受けてデオキシコルチコステロンになる（Mellon and Miller, 1989）。または、プロゲステロンは 5α-デヒドロプロゲステロン（5α-プレグナンン-3,20-ジオン）に還元され、さらに 5α-プレグナン-3α-オール-20-体にまで還元されるが、これは細胞膜表面のγ-アミノ酪酸タイプ A（$GABA_A$）レセプターと結合する（Baulieu, 1997）。この 2 つの化合物は卵巣から分泌され、また視床下部と下垂体でのプロゲステロン代謝によっても生成される（Mahesh et al., 1996）。

プロゲステロンは P450 17α-水酸化酵素によって 17α-ヒドロキシプロゲステロンに、そしてさらにアンドロステネジオンまで代謝される。この酵素を発現していない細胞はプロゲステ

ロンを男性ホルモンまたは発情ホルモンに代謝することができない。ヒトの卵巣莢膜細胞では、17α-ヒドロキシプロゲステロンがさらにアンドロステネジオンあるいはその他の化合物に代謝されることはないが、一方プレグネノロンと17αヒドロキシプレグネノロンはジヒドロエピアンドロステロンとアンドロステロンに変換される（McAllister et al., 1989）。従ってプロゲステロンのアンドロゲンへの変換は一部の組織または濾胞形成の特定の期間においてはマイナーな経路である（JECFA, 2000）。

血清プロゲステロン濃度が高値を示す妊娠11から21日の間については、ラットの子宮においてプロゲステロンを5α-プレグナン-3,20-ジオンと3α-ヒドロキシ-5α-プレグナン-20-体（アロプレグナロン）に代謝可能である。前者の化合物は一部の組織のプロゲステロンレセプターと活発に結合するが、ラットの子宮ではこの能力を明らかに欠いている（Tsai et al., 1998）。子宮の収縮が、少なくとも部分的にはGABAAレセプターを介していることを示す間接的な証拠がいくつか示されている（Mahesh et al., 1996）。

（3）生合成

プロゲステロンは、哺乳動物の生殖腺、副腎皮質、そして胎盤でステロイド前駆体から合成される。血中の低密度リポタンパク質から主に得られるコレステロールがステロイド生合成の前駆体となるが、ステロイド産生細胞も局所的にコレステロールを *de novo* に合成できる。妊娠していない女性の血流中のプロゲステロンは、主に卵巣の顆粒層と莢膜細胞から分泌されるものである。プロゲステロンの性腺での合成は、下垂体前葉から放出される黄体形成ホルモンと卵胞刺激ホルモンによって制御されている。さらにこれらのホルモンの分泌は性腺刺激ホルモン放出ホルモン、ステロイドホルモン、そして完全には解明されていない複合的なフィードバックループ中のその他制御因子によって制御されている。卵胞期中はプロゲステロンの約半分は卵巣由来であり、残り半分は副腎由来である。黄体期ではプロゲステロンの産生は主に卵巣由来に移行する（JECFA, 2000）。

（4）作用機序

ステロイド性ホルモン作用の一般概念では、ホルモンは細胞内に拡散して入り、そこで特異的核内レセプターと相互作用し、ゲノムの中の特異的DNA配列に結合する（O'Malley et al., 1991）。リガンド-レセプター結合および他の核内転写因子との相互作用により、特定遺伝子

セットの転写が開始され、最終的にホルモン作用が生理学的な事象に変換される。この作用の大部分は、リガンド活性化転写因子スーパーファミリーの一つであるプロゲステロンの細胞内レセプターが仲介している。ヒトでは、3 種類の特異的プロゲステロン結合レセプター（116-kDa の B-レセプター、N-末端側が切断された 94 kDa の A-レセプター、60 kDa の C レセプター）が特定されている。最後の C レセプターは最初の亜鉛配位子を欠いているが、イソフォーム A と B 同様にホルモン結合ドメインを含んでいる（Leighton and Wei, 1998）。プロゲステロンレセプターは、他のステロイドホルモンレセプターと同様、ホルモンが結合するとダイマーを形成する。プロゲステロンレセプターの各種イソフォームがプロゲステロンに対しては類似の親和性を示すが、特定のホルモン依存性遺伝子集団の制御を変調していると考えられている。さらにプロゲステロン、グルココルチコイド、鉱質コルチコイド、そしてアンドロゲンに対するレセプターは、重複する DNA 応答因子に結合して同一遺伝子を制御することができる。しかし、これによりステロイドの生物学的機能はより複雑になっている（Tsai et al., 1998）。特異性は細胞内に存在するレセプターのタイプと数、そしてステロイド結合ドメイン外側の他の DNA 配列によって決定される（JECFA, 2000）。

プロゲステロンとエストロゲンは、相互作用により器官系、主に雌の生殖器官の増殖と発生を制御している。プロゲステロンは、エストロゲンの刺激を受けた子宮内膜の増殖を阻害し、胚盤胞の着床に備え子宮内膜の準備を行う。この過程において子宮内膜は増殖相から分泌相に転換し、それに伴って形態学的および生化学的な変化も起こる。プロゲステロンは、乳腺内の分泌胞の形成を、特に妊娠中促進する。しかし、エストロゲンによるプライミングがない状態では、子宮内では、プロゲステロン自体の効果は極めて小さい。性ステロイドホルモンの中では、プロゲステロンに対するレセプターが分布する組織は最も狭く、おそらく転写反応性遺伝子の集団も最も小さい。レセプターのレベルとホルモン反応性は、全ての種で発情周期を通じて変動する。卵胞期中はレベルが低いが、血清中のエストロゲンに反応して増加する。黄体期の間は、黄体からのプロゲステロン分泌に反応してそのレベルは下がる。ラットでは妊娠期間中を通して血中プロゲステロン濃度が高いにも関わらずプロゲステロンレセプターレベルは上昇するが、その他の種（モルモット）ではほとんど変化しないか減少する（Tsai et al., 1998）。エストロゲンに刺激されたプロゲステロンレセプターの増加は、子宮でのプロゲステロン活性に必須である。エストロゲンは細胞内のプロゲステロンレセプターレベルの維持に必要である。逆にプロゲステロンは、エストロゲンレセプター濃度とプロゲステロンレセプターのレベルを

下げる（JECFA, 2000）。

ヒトでのプロゲステロンの代謝作用としては、コレステロールと低密度リポタンパク質の血漿濃度の上昇や高密度リポタンパク質の減少、そしてプロゲステロンの持つアルドステロン拮抗作用によるナトリウム排泄量の一過性の減少等がある。プロゲステロンが、基礎体温に影響を及ぼすことはよく知られている。プロゲステロンの水酸化代謝物、すなわち3α-および3α、5α（アロプレグナノロン）誘導体は、$GABA_A$レセプターを介して神経薬理作用物質として機能すると推測されている（Mahesh et al., 1996 ; Wiebe et al., 1997 ; Concas et al., 1998 ; Smith et al., 1998）。プロゲステロン型の神経薬理作用物質の合成および蓄積とプロゲステロンの血漿濃度との間に関連性はない（Concas et al., 1998）。

２．２　毒性学的知見

（１）急性毒性

【ヒトでのデータ】

女性に対し、1ヶ月当たり10日間、就寝時300 mg/日の用量でプロゲステロンを投与した。その結果、軽い一過性の嗜眠性のみが認められた（de Lignieres, 1999）。経口投与されたプロゲステロンは、胃腸管または肝臓で不活性化されるため、投与されたうち生体で利用されるのは10%より少ない。単回経口投与された場合のプロゲステロンの毒性はほとんどない（JECFA, 2000）。

（２）短期毒性

【マウスにおける毒性試験】

マウス乳がんウィルスに感染した雌のBALB/cf3H/Crglマウス291匹に、出産後36時間から開始して5日間、毎日プロゲステロン剤（5または20 μgのエストラジオール、または100 μgのプロゲステロン；5 μgのエストラジオールと100 μgのプロゲステロン；あるいは20 μgのエストラジオールと100 μgのプロゲステロン）を皮下投与した。投与後40日目に半数のマウスの卵巣を摘出した。マウスが40～50日齢になった時点で、膣スメアーを25日間採取した。1年齢になった時点でマウスを屠殺し剖検をおこなった。プロゲステロンを単独投与されたマウスは、卵巣依存性の持続性の膣の角質化を示した。プロゲステロンとエストラジールを同時投与した群では、エストラジオール単独投与マウスに比べて膣の持続的角質化の起こる割合は

低かった。プロゲステロン単独では膣と頸管上皮の過形成性の下方増殖および病変が生じたが、その程度は胎児期にエストロゲン処理されたマウスに比べ軽度であった。プロゲステロンをエストラジオールと同時投与すると、病変の発生頻度は低下したが、その程度は上昇した。低用量のエストラジオールとプロゲステロンは、それぞれ乳がんの発生年齢の早期化と頻度の上昇をもたらした。同様の現象は、エストロゲンにプロゲステロンを加えて処理した場合でも発生した。処置マウスを 40 日目に卵巣切除しても、胎児時の処置にもかかわらず正常な乳腺の発達が認められず、乳がんも出現しなかった。プロゲステロンが卵巣依存的に持続的な膣の角質化と膣および頸管上皮の過形成性変化を引き起こし、エストラジオールが同時処理されたマウスでのこれら障害の発生頻度に影響し、そして乳がんウィルスに感染したマウスにおける乳がんの発生頻度を有意に上昇するものと考えられた（Jones and Bern, 1977）。

（3）慢性毒性および発がん性

【ヒトでのデータ】

子宮内膜での増殖抑制および分泌エンドポイントを評価することを目的にした試験で、女性に 30 日間エストロゲンを前投与した後、300～600 mg/日の微粒子プロゲステロンを 2 週間にわたり投与する試験が実施された。300 mg を投与した群は子宮の分泌活性の復帰が不完全であったのに対し、600 mg を投与した群ではこれが完全であった。200 または 300 mg のプロゲステロンを 1 年または 5 年間経口投与した試験では、子宮内膜の増殖およびがんの証拠はなかった（EU SCVPH, 1999）。

【各種動物実験】

プロゲステロンを含めたホルモンがげっ歯類の乳がんに果たす役割、およびそれらとヒトでのリスク評価との関係が検討された（Russo and Russo, 1996）。げっ歯類のモデルは、全てではないが部分的にがん発生の開始、促進および進行に関係している複雑な外因性および内因性の要素を模擬している。腫瘍のタイプと発生頻度は、曝露時の宿主の年齢や生殖歴、そして内分泌環境に影響を受ける。腫瘍の自然発生率は、ラットやマウスでは系統によって様々である。ラットでのがんを最も頻発する部位（白血病を除く）は、内分泌器官、あるいは内分泌コントロールを受けている器官である。Russo and Russo（1996）は、ヒトのリスク評価に用いうる作用機序を基礎とした毒性学はまだ十分完成しておらず、従来からの長期バイオアッセイによる検証を行う必要があるとしている（JECFA, 2000）。

雌のウサギを最長 763 日間、大用量のプロゲステロンまたはテストステロンを投与する試験、19 匹のウサギに平均 13 mg/ウサギのカプロン酸ヒドロキシプロゲステロンを 1 週おきに筋肉内投与する試験、21 匹のウサギに平均 15 mg のエナント酸テストステロンを 1 週おきに筋肉内投与する試験が実施された。プロゲステロン処理を受けたウサギでは、子宮内膜に、時に非定型過形成を伴った多数の嚢胞が認められら、活発な乳汁分泌も認められた。大用量テストステロン処理では、1 匹のウサギが子宮内膜に 2 個の腺腫性ポリープを発生したが、その他特記すべき子宮内膜の変化は認められなかった。コントロールのウサギ 1 匹で、同様のポリープを発生した。いずれのホルモンも卵巣、副腎、甲状腺および下垂体を含むその他組織に有意な変化を起こさなかった。前がん性の子宮内膜変化あるいはがんは認められなかった（Meissner and Sommers, 1966）。

（4）繁殖および催奇形性試験

Long-Evans ラットを用いて妊娠後 15～20 日の間、1 日 1 回の皮下投与（5、50、100、200 mg）試験が実施された。妊娠後 22 日目に母ラットから胎児を摘出し、肛門生殖器間距離を測定した。その 20 日後に屠殺し、生殖器系の評価を実施した。肛門生殖器間距離は、投与群と対照群との間に差は認められず、性別の判別の容易であった。生殖器系では高用量投与群で陰核の肥大が認められたが、プロゲステロンのアンドロジェン活性に関連する効果であると判断された。その他の奇形は認められなかった（Revesz et al., 1960）。

6 匹の妊娠したアカゲザルにプロゲステロンを 1 日 1 回（5 回/週）筋肉内投与（50 mg）する試験が実施された。投与は妊娠 24～28 日目に開始し、出産まで継続した。新生児は体重を測定後、屠殺した。プロゲステロンを投与した母動物の妊娠期間は 160 日程度であった。胎児の体重も正常であった。解剖学的検査、病理組織学的検査においても異常は認められなかった。アカゲザルでは比較的大用量の投与でも、異常は発生せず正常な妊娠を阻害しないことが示された（Wharton and Scott, 1964）。

JECFA (2000) では、プロゲステロンの繁殖および催奇形性に関して以下のように評価した。

- プロゲステロンを用いた生殖毒性に関する多世代研究は実施されていない。
- ラットおよびアカゲザルを使った研究では発生毒性は認められなかった。

- 妊娠14～19日に5～25 mg/kg体重/日のプロゲステロンが投与されたラットから産まれた児で、男性化は認められなかった。
- 誕生後1ヶ月目に開始して出産まで毎週5日間5 mg/kg体重/日のプロゲステロンを筋肉内投与したアカゲザルは異常の全くない健康な子ザルを出産した。
- 外因性プロゲステロンが妊娠維持のために利用されているが、正常な妊娠に対する毒性および影響を示す証拠はないと結論される。

EU SCVPH（1999）では、プロゲステロンの繁殖および催奇形性試験について、以下のように評価している。

成人女性に外からプロゲステロンを継続的に投与すると、正常な黄体期での血漿レベルに近い血漿レベルとなるような投与量の場合、卵巣周期の中断および排卵の遮断に到る。ウシにおいて、亜黄体血漿レベルに相当する低用量のプロゲステロンを放出する埋込は、LH拍動の増加、発情周期の延長および卵巣に大型持続性濾胞の存在を誘発する（Stock and Fortune, 1993）。男性では、プロゲステロン投与によって精子形成に変化を生じることがある。用量－反応関係についてはまだ評価されていない。

UK SGVPC（1999）は、肥育ホルモン全体の評価として、高レベルの外因性性ホルモンは生殖・発生の過程の多くの面を攪乱し、場合によっては永久的に攪乱することもありうるが、外因性性ホルモンへの低量環境暴露がヒトの生殖または発生に影響を与えたという証拠はないとしている。

（5）遺伝毒性

DNAを2 mmol/Lのプロゲステロンに曝露してもDNA付加物は形成されないことが、^{32}Pポストラベリング法により確認された。C17位にカルボニル基があることおよび他のステロールによるDNA結合との間には強い関連性が認められたが、プロゲステロンは17位にカルボニル基を保持しない（Seraj et al., 1996）。

シリアンハムスターの胚を3～30 μg/mLのプロゲステロンで24時間処理したところ、染色体の構造または数の異常頻度に大きな増加は認められなかった。プロゲステロンは試験した最高用量（30 μg/L）でのみ細胞を形質転換したが、この用量においてさえ形質転換の頻度は1

μg/mL のベンゾールアルピレンの半分に過ぎなかった（Tsutsui et al., 1995）。

2/3 の肝切除 3 日前に胃管栄養法により雌のラットに 100 mg/kg 体重のプロゲステロンを投与し、肝切除後 2 日目にラットを屠殺して肝細胞を採取し、小核肝細胞および 2 核肝細胞の発生頻度を調べた。小核肝細胞率はコントロールに比べプロゲステロン処理動物で 3.5 倍高かった。小核の頻度の増加は染色体切断あるいは全染色体消失と関連すると思われた。胃管栄養法により 6 週間毎に週 100 mg/kg 体重のプロゲステロンを投与し、その後部分肝切除しても、肝臓内のγ-グルタミルトランスフェラーゼ陽性病巣の数は増加しなかった。非遺伝性肝細胞分裂促進剤である 4-アセチルアミノフルオレンを使用した場合、同様の実験条件下では似た所見が得られた。そしてプロゲステロンはラット肝臓中に DNA 付加物を形成せず、また初代ラット肝細胞では DNA 修復に関してはどちらとも取れる曖昧な反応が観察された。*In vitro* では、プロゲステロンは細菌に対し突然変異原性を示さず、培養ヒト細胞では染色体異常もしくは姉妹染色分体交換を起こさなかった。また、げっ歯類の細胞では染色体異常もしくは DNA 鎖切断を誘導しないが、げっ歯類細胞や L5178Y $TK^{+/-}$正突然変異アッセイについての結論は出ておらず、小児リンパ細胞では姉妹染色分体交換の頻度に若干あるいは有意な増加が認められている。*In vivo* では、プロゲステロンはマウスに優性致死突然変異を誘導しなかった。また、ラット骨髄に染色体異常を誘導することもなかった（Martelli et al., 1998）。

14 日間にわたり微結晶懸濁水溶液の形のプロゲステロンを 100 mg/kg 体重/日量以内投与された 3 匹の雄および雌の Han:Wistar ラットを用い、^{32}P ポストラベリング法で DNA 付加物生成の有無を調べた。肝臓にはロゲステロン特異的な付加物は観察されなかった（Feser et al., 1996）。

JECFA（2000）では、プロゲステロンの遺伝毒性に関して、単鎖 DNA 切断の誘導に関しては結果が曖昧であり、幾つかの研究では *in vitro* および *in vivo* で DNA 付加物が観察されているが、プロゲステロンは突然変異を誘導しないとし、最終的に、プロゲステロンは遺伝毒性能を有していないと結論した。また、EU SCVPH（2002）も、AU ACPH（2003）も、プロゲステロンは遺伝毒性を有していないと結論している。

（6）その他の知見

1）免疫系に及ぼす影響に関する知見

プロゲステロンは、ウシにおいて子宮に導入された細菌に対する免疫反応を低下させることが示された（Rowson et al., 1953）。また、高用量のプロゲステロンを投与した場合、実験的に感染させた鵞口瘡（がこうそう）カンジダに対する抗体産生を抑制し、低用量では、免疫への刺激性を示した（Mathur et al., 1978）。ヒツジでは、プロゲステロンが免疫機能を調節しており、全身の免疫を抑制することなく、子宮－胎盤中間面の免疫機能を抑制している（Hansen, 1998）。

EU SCVPH（1999）は上記のデータを引用して、プロゲステロンは免疫低下を引き起こし得るが、用量－反応関係を評価するには充分なデータはないとしている。これに対し、UK SGVPC（1999）は、たとえ極端な肉食の人であっても、通常の食物による成長促進物質の最大摂取量は、体内で毎日正常に産生されるホルモン量の何分の一かにしかすぎず、ホルモン活性物質への‘暴露’増加分は、たとえウシの体内に天然に存在するホルモンや成長促進物質の使用後に存在するかもしれない付加的残留を考えたとしても、取るに足らないほどわずかな量であるとして、EU SCVPH（1999）の報告書を批判している。

2）ヒトにおける発がん性に関する考察

JECFA (2000) は、プロゲステロンは、発がん性を示さないと評価している。一方、EU SCVPH（1999）は、プロゲステロンは、実験動物の乳腺、卵巣、子宮および膣において腫瘍の発生率を増加させる（Jones and Bern, 1977；Frank et al., 1979）とされているが、ヒトにおける発がん性の証拠は不適切であるとしている。また、現在のところ、投与動物の食肉および食肉製品中残留物への暴露から生じるリスクについて、定量的推定値を引き出すだけのデータはないとしている。

2．3　ヒトにおける知見

（1）ヒトにおける医療上の知見

閉経後の女性に、5 年間、28 日中 21 日間 1.5 mg/日のエストラジオールを経皮投与し、最初の 6 ヶ月の間は、一部の女性には 3 mg/日のエストラジールを 28 日中 25 日間投与した。エストラジール処置の後半 14 日に行ったプロゲステロン投与に用いた初期用量は 200 mg/日であった。低用量で希望の臨床効果（すなわち消退出血）が得られなかった女性に対しては、用量を 300 mg/日まで上げた。ベースラインの血漿濃度は 18 pg/mL であったが、この値は処置期間中

様々な時点で平均 68～89 pg/mL まで上昇した。処置終了前 12 ヶ月間に 2%の女性に不規則出血が見られ、21%に規則的な出血周期が認められた。77%の女性では、出血は起こらなかった。周期出血が最も多かったのは 3 mg/日のエストラジオールに 300 mg/日のプロゲステロンを組み合わせ処方された女性であった。一方、無月経が最も多かったのは 1.5 mg/日のエストラジオールと 200 mg/日のプロゲステロンが処方された女性であった。5 年間のエストラジオールとプロゲステロンによる処置後、子宮内膜に過形成を示す証拠は認められなかった（Moyer et al., 1993）。200 mg の細粒状プロゲステロンを単回経口投与（3.3 mg/kg 体重に相当）した女性では、その血中濃度は排卵周期の黄体期に見られる濃度に類似したいた。この用量がヒトにおける最小作用量（LOEL）と考えられる（JECFA, 2000）。

プロゲステロンは避妊とホルモン補充療法で最も多く利用されている。これらを目的とする場合には通常合成プロゲステロン剤が投与されるが、合成プロゲステロン剤は天然プロゲステロンと異なる構造および機能を有している（Williams and Stancel, 1996）。

卵巣を摘出した 43 名の患者に、プロゲステロンを膣内（100mgx3 回/日：21 サイクル、200mgx3 回/日：8 サイクル）、筋肉内（50mgx2 回/日：34 サイクル）または経口投与（100mgx3 回/日：12 サイクル）して子宮内膜への形態学的な影響を調べた。オイル剤の筋肉内投与への反応は多様であったが、細粒状プロゲステロンを膣内投与した場合の子宮内膜形態は、自然周期に見られる形態と良く一致し、2 名の女性では妊娠がサポートされた。プロゲステロンの経口投与は、子宮内膜の形態に影響することはなかった（Bourgain et al., 1990）。

過少月経または無月経症の女性 60 名に 10 日間、プロゲステロンを経口投与した（0、200 または 300 mg）。その結果、300mg 投与群では 90%、200 mg 投与群では 58%、対照群では 29%の消退出血が認められた。投与 7～10 日目の血中濃度は、300 mg 投与群で 12.4±2.6 ng/mL、200 mg 投与群で 4.4±0.5 ng/mL、プラセボ群で 1.0±0.4 ng/mL であった。脂質濃度に変化は認められなかった。消退出血、投与後の血中濃度においては、300 mg 投与群のみ、プラセボ群と比較して有意差が認められた（Shangold et al., 1991）。

黄体期欠損の 7 名の女性に 1 日 3 回、経口投与 （200 mg×3）した結果、全ての被験者が子宮内膜の組織検査上で黄体期が認められた（Frishman et al., 1995）。

ホルモン補充療法の一環として細粒状プロゲステロンを経口投与(200 mg)された女性では、子宮内膜上の抗エストロゲン作用、抗鉱質コルチコイド作用を再現したが、アンドロゲン作用は再現しなかった。副作用として、全ての研究ではなく一部の研究で血漿リポタンパク質のプロフィールの変化が認められたが、止血パラメータ（血小板凝集および線溶能等）についての影響は観察されなかった（Sitruk-Ware et al., 1987)。

エストロゲンプライミング処置（30 日間）を行った 6 名の健康な閉経後の女性に 14 日間の投与（300 mg×1，300mg×2）を行った。初回投与後および最終投与後の薬物動態の測定、子宮内膜の生検サンプルを使って、組織学的外観、グリコーゲン含有量、リボソーマル RNA および腺内、表面上皮および間質の核エストロゲンレセプターに及ぼす影響を検討した。300 mg 投与後の血中濃度を測定した結果、Cmax（最高血漿中濃度） 62.7±67.8 ng/mL、Tmax（最高血漿中濃度到達時間） 2.0±1.6 時間であり、初回及び最終投与後の薬物動態に変化は認められなかった。組織学的検査等では、300 mg/日投与群で不完全な分泌転換を示したのに対し、600mg/日投与群では有糸分裂活性の抑制と前脱落膜反応伴う完全な分泌転換が認められた。グリコーゲン染色は両投与群ともに顕著に増加し、300 mg/日投与群で 124%、600 mg/日投与群で 291%であった。リボソーマル RNA は両投与群で、それぞれ 50 および 73%低下した。核レセプター含有量は両投与群とも子宮内膜の各領域で減少した。300 mg/日投与群では核エストロゲンレセプターの減少については、有意差は認められなかった。これはサンプル数が不足したことによるものであった（Kim et al., 1996)。

閉経後の女性に、5 年間、28 日中 21 日間 1.5mg/day のエストラジオールを経皮投与した。最初の 6 ヶ月の間は一部の女性に 3mg/day のエストラジールを 28 日中 25 日間投与した。エストラジール処置の後半 14 日に行ったプロゲステロン投与に用いた初期用量は 200mg/day であった。低用量で希望の臨床効果（即ち消退出血）が得られなかった女性に対しては用量を 300mg/日まで上げた。ベースラインの血漿濃度は 18 pg/ml であったが、この値は処置期間中様々な時点で平均 68～89 pg/ml まで上昇した。処置終了前 12 ヶ月間に 2%の女性に不規則出血が見られ、21%に規則的な出血周期が起こった。77%の女性では、出血は起こらなかった。周期出血が最も多かったのは 3mg/day のエストラジオールに 300mg/day のプロゲステロンを組合せ処方された女性であり、一方無月経が最も多かったのはい 1.5mg/day のエストラジオー

ルと 200mg/day のプロゲステロンが処方された女性であった。5 年間のエストラジオールとプロゲステロンによる処置後、子宮内膜に過形成を示す証拠は認められなかった（Moyer et al., 1993）。

（2）疫学的知見

1）ヒト発がん性

乳がん

10 を越えるコホート研究と 50 を越えるケースコントロールが複合（エストロゲンとプロゲステロン）経口避妊薬と乳癌リスクとの関係を調べている （IARC, 1999）。25 の国で実施された 54 の研究から 53,297 例の乳癌女性と 100,239 例の乳癌を持たない女性に関する個別のデータが解析された。その結果から複合経口避妊薬を服用し、服用中止後 10 年以内の女性で乳癌と診断される相対リスクが僅かではあるが上昇することを示す証拠が得られた：現在使用者の RR=1.2；95% CI, 1.12～1.3；中止後 1～4 年の RR=1.2；95% CI, 1.1～1.2；使用中止から 5～9 年の RR=1.1；95% CI, 1～1.1。結果はまた使用中止後 10 年を越えて乳癌と診断されるリスクは有意ではないことも示している（RR=1.01；95% CI, 0.96～1.05）。

最近の使用を考慮に入れた場合、使用期間、使用開始年齢や避妊薬の用量とタイプといったホルモン性経口避妊薬の使用に関するその他特徴がリスクを更に押し上げることは殆どなかった。20 歳前に使用開始した女性は、20 歳以後に使用を開始した女性に比べて、複合避妊薬使用中および使用中止後 5 年以内に乳癌と診断される相対リスクが高かったが、この高い相対リスクは乳癌が稀な年齢を対象としたものであり、ある使用期間については早い使用が遅い使用に比べ癌と診断される頻度が高くはならない（JECFA（2000）。

乳癌の発生頻度は年齢とともに段階的に増加することから、使用開始から中止後 10 年の間に癌と診断される推定過剰数は、最終使用年齢に伴って増加する：例えば経口避妊薬を 16 歳から 19 歳、20 歳から 24 歳、そして 25 歳から 29 歳の間に使用した欧州と北米の女性 10,000 名を対象に、使用中止後 10 年までに癌と診断される推測過剰数はそれぞれ 0.5 （95% CI, 0.3～0.7）、1.5（95% CI, 0.7～2.3）および 4.7（95% CI, 2.6～6.7）であった。使用中止後 20 年まででは、過去に経口避妊薬と使用したことのある女性と使用したことのない女性との間に癌と診断された総数に大きな差は無かったが、その臨床症状に差が認められた：使用経験のあ

る女性で乳癌と診断された例は、使用経験のない乳癌と診断された例に比べ臨床的に進行度が小さく、局所腫瘍に対し乳房を越えて腫瘍が拡大する相対リスクは 0.88（95% CI, 0.81～0.95）であった。乳癌リスクとホルモン使用の間に観察された関係は異常であり、これらデータから経口避妊薬使用経験のある女性が乳癌と診断される時期が早いことが、ホルモン避妊薬の生物学的作用によるものか、何らかの組合せによるものか推断することは不可能である（ホルモン因子に関する共同研究グループ（Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer）1996)。

プロゲステロン注射による避妊に関するデータが 2 つのケースコントロール研究と原データのプール分析から得られており、全体でこれら薬剤を使用した乳癌女性患者約 350 例が対象となった （IARC,1999)。プロゲステロンのみを含む経口避妊薬に関するデータは、725 例の乳癌女性患者原データのプール解析から得られている。総じてプロゲステロンのみの避妊薬利用者に於いて乳癌リスクが上昇することを示す証拠は認められなかった（ホルモン因子に関する共同研究グループ（Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer（1996)。

<u>子宮内膜癌</u>

- 3 つのコホート研究と 16 のケースコントロール研究が複合経口避妊薬の使用と子宮内膜癌リスクとの関連性について研究を行った結果はいずれ、複合経口避妊薬を服用した女性の子宮内膜癌のリスクはおおよそ半分であるというものであった（JECFA（2000)。

1970 年代に市場から除かれた連続経口避妊薬の使用は子宮内膜癌のリスク増加に関連していた（JECFA（2000)。

プロゲステロンのみを含む経口避妊薬の使用と子宮内膜癌リスクとの関係を調べたケースコントロール研究が 1 例あった。コントロール女性でこれら避妊薬を使用したことのある率は 2%未満であり、子宮内膜癌の女性はコントロール女性に比べプロゲステロンのみの経口避妊薬の使用頻度は低いと思われるが、有意ではなかった。(IARC、1999)。

1 つのコホート研究と 1 つのケースコントロール研究で、デポー型酢酸メドロキシプロゲステロンの使用が子宮内膜癌に及ぼす影響が評価した。コホート研究ではリスク低下は認められなかったが、ケースコントロール研究では大きなリスクの低下が観察された。この証拠は少数の女性を基にしたものであるが、これら研究の結果はプロゲステロン単独避妊薬を使用

している女性では子宮内膜癌のリスクが低いことを示唆している（JECFA（2000）。

子宮頸癌

2つのコホート研究と16のケースコントロール研究が複合経口避妊薬と浸潤性子宮頸癌について評価している。これらの結果は避妊薬の長期使用に伴う相対リスクが1.5～2であることで一致している。デポー型の酢酸メドロキシプロゲステロンまたはその他プロゲステロン避妊注射薬を使用した例では、子宮頸部の扁平上皮癌または腺癌のリスクの変化を示す証拠はほとんどなかった。（IARC, 1999）

卵巣癌

4つのコホート研究と21のケースコントロール研究が、卵巣癌と複合経口避妊薬との関連性を評価している（IARC, 1999）。合計で3100例を越える症例と11,000例を越えるコントロールが解析された。病院をベースとする欧州の3研究の原データをプール解析した結果、いずれかの複合避妊薬を使用した場合の相対リスクは0.6（95% CI, 0.4～0.8）であり、長期使用（5年以上）した場合のリスクは0.4（95% CI, 0.2～0.7）であることが分かった。分析では年齢およびその他の社会人口統計因子、閉経状態、および経産数が考慮された。米国で行われた研究の生データのプール解析では、年齢、研究および経産数について補正が行われ、いずれかの形の経口避妊薬を利用した場合の相対リスクは0.7（95% CI, 0.6～0.8）であり、6年以上の使用した場合のそれは0.3（95% CI, 0.2～0.4）であった。同様の結果は集団ベースおよび病院ベースの研究を別々に考察した場合でも得られ、何らかの形で複合経口避妊薬を使用した場合の相対リスクはいずれの研究でも0.7であり、そして6年を越える使用についての相対リスクは病院ベースでは0.6、そして集団ベースでは0.3であった。それ以上の使用年数例の相対リスクはそれぞれ0.95（有意差なし）および0.90（$p<0.001$）であった。

米国でのプール分析の一環として行われた110例の黒人症例と251例の黒人コントロール例を対象とする7つの研究の追加分析でも観察されており、いずれかの形で避妊薬を使用した場合の相対リスクは0.7であり、長期使用例の相対リスクは0.6であった。白人女性の悪性度境界例を対象とした上皮性卵巣癌327例のデータ分析では、複合経口避妊薬を使用した場合の相対リスクは0.8（95% CI, 0.6～1）であり、そして使用5年以上の場合の相対リスクは0.6（95% CI, 0.4～0.9）であった（Harris et al., 1992）。

1つのケースコントロール研究がプロゲステロン単独経口避妊薬の使用を対象に、そして別の1つのケースコントロール研究がデポー型酢酸メドロキシプロゲステロンの使用を特に対象として行われている。いずれも全体的としても、あるいは使用期間との関係に於いてもリスクに変化は認められなかった（JECFA（2000）。

肝臓癌と胆管癌

3つのコホート研究が複合経口避妊薬の使用と肝臓癌の発生頻度または肝臓癌による死亡率との間に有意な関連性がないことを示しているが、症例期待数が極めて少ないため統計的検出力は低い（JECFA（2000）。

11のケースコントロール研究が複合経口避妊薬の使用と肝臓癌との関連性を評価している。欧州で行われた3つの研究と北米で行われた2つの研究が、相対リスクが有意に増加することを示している（IARC、1999）。

2つのケースコントロール研究が肝臓癌のリスクと注射によるプロゲステロン単独避妊薬の使用との関連性を評価している。いずれの研究でも肝臓癌のリスクはこの種の避妊薬を使用したことがある女性とそうでない女性とで大きく異なっていた（JECFA（2000）。

結腸直腸癌

4つのコホート研究と10のケースコントロール研究が複合経口避妊薬の使用と結腸直腸癌のリスクとの関連性を評価している。（IARC、1999；Franceschi & La Vecchia, 1998b）。この種の製剤をいずれかの期間使用したことのある女性でリスクが有意に上昇するということはなかった。9つの研究では相対リスクは1.0より低く、2つの研究ではリスクは有意に低下した。

皮膚悪性メラノーマ

4つのコホート研究と18のケースコントロール研究が複合経口避妊薬の使用と皮膚悪性メラノーマ形成との関連性を評価している。（IARC、1999）。相対リスクは一般には約1.0であり、使用期間との間に相関性はなかった。

合計3,796の症例と9,442のコントロール例を対象とする、メラノーマについて行われた18のケースコントロール研究で発表されたデータ解析では、経口避妊薬の使用に関する相対リ

スクは0.95（95% CI, 0.87～1）であったが更に分析したところ、上記の結果に実質的な変化はなかった（Gefeller et al., 1997）。

皮膚悪性メラノーマに関する1つのケースコントロール研究が、プロゲステロン単独避妊薬の使用者でリスクの上昇がないことを示した（JECFA（2000）。

甲状腺癌

10のケースコントロール研究が複合経口避妊薬の使用と甲状腺癌との関連性を評価している。一般的には経口避妊薬の使用に伴いリスクが上昇することはない。北米、アジアおよび欧州で行われた13の研究の原データが再分析されている（La Vecchia et al., 1999）。2,132例の甲状腺癌症例と3,301例のコントロール研究からは、使用期間または使用開始時の年齢、もしくは初産前の使用との間に関連性は認められなかった（JECFA（2000）。

経口避妊薬を現在使用中の者で相対リスクが有意に増加した（RR=1.45；95% CI, 1.02～2.07）が、中止からの時間経過とともにリスクは低下した（JECFA（2000）。

2）心臓血管病

急性心筋梗塞

- 1980年以降に集められたデータを含む3つのコホート研究と6つのケースコントロール研究が複合経口避妊薬と心筋梗塞との関連性を評価している。その結果、相対リスクは0.9から5と大きく変動しているが（WHO, 1998）、6研究が相対リスクの上昇を報告し、その内の3研究で統計的に有意であった。心筋梗塞と現在の使用期間との間に関連性を見いだした研究はなかった（JECFA（2000）。

9研究では、経口避妊薬の使用経験のない女性と過去に使用経験のある女性を比較した場合に過去の使用による心筋梗塞リスクの上昇または下降を示す証拠は認められなかった（JECFA（2000）。

脳卒中

1968年以来、多くの疫学研究で複合経口避妊薬の使用と虚血性卒中との間に関連性があることが実証されている（WHO, 1998）。2つのコホート研究と11のケースコントロール研究がこの関連性について見事に一致する結果を示しているが、特にコントロール群の女性の経口避妊薬使用率が10%以上の地域で行われた大規模研究により重きを置いた場合にはより顕著

な一致が観察された。多くの研究で、現在複合経口避妊薬を使用していることと全虚血性卒中リスクの増加との間に関連性を見いだしており、未使用者に比べリスクは約 3.4 倍であった。一過性の虚血性発作との関連性も報告されている（JECFA（2000）。

脳卒中と経口避妊薬の使用期間との関連性に関する研究では、関連性を示す強い証拠は提出されていない。4 つの研究は過去の使用者のリスクが有意に上昇することはないとしており、別の 2 研究は複合経口避妊薬の過去の使用者で虚血性卒中の相対リスクが経口避妊薬を使用したことのない女性に比べ低下しているとしている（WHO, 1998）。定期的に血圧をチェックしている非喫煙女性および高血圧でない非喫煙女性の虚血性卒中のリスクは、低用量型複合経口避妊薬を使用している場合に比べて使用中の者で約 1.5 倍に増加する（JECFA（2000）。

最近行われた 2 つのコホート研究と 4 つのケースコントロール研究では、避妊薬使用中の女性の出血性卒中リスクが調べられており、相対リスクが 1～2 であることが示されている。致死的または非致死的な出血性卒中の頻度は、複合経口避妊薬を使用している非喫煙・非高血圧女性では増加しなかった。この頻度は年齢、喫煙および高血圧と共に出血性卒中の頻度は上昇するが、経口避妊薬を使用することで更に増大すると考えられている（JECFA（2000）。

プロゲステロン単独の経口避妊薬または避妊注射薬の使用ては、どの様なタイプの卒中の相対リスクも増加しないと考えられている（JECFA（2000）。

<u>静脈血栓症</u>

- 1980 年以後に集められたデータを含む 3 つのコホート研究と 6 つのケースコントロール研究からは、複合経口避妊薬を使用中の女性は血栓症のリスクを有しており、そのリスクは経口避妊薬を使用していない女性に比べ 3 から 4 倍であることが示されている（WHO, 1998）。使用中のリスクは使用 1 年目が最も高いが、経口避妊薬の使用を中止すれば 3 ヶ月以内に非使用者のリスクまで下がる（JECFA（2000）。

3）全死亡率

経口避妊薬利用中の 20～54 歳の米国在住女性に於ける乳癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、卵巣癌および肝臓癌の発生リスクが 79 の関連研究を対象としたメタ解析により評価されている

(Schlesselman, 1995)。8 年間経口避妊薬を使用した女性の場合、経口避妊薬を使用したことのない女性に比べ癌症例は 73 例少なかった（約 2%の差）が、経口避妊薬の恩恵は小さいと評価されている（JECFA（2000)。

46,000 名の英国在住女性を 25 年間にわたり追跡したところ、その半数が 1968～69 年に経口避妊薬を使用していたが、(Beral et al., 1999)、いずれかの癌で死亡するリスクに増減は認められなかった。使用中止後 10 年以上経過している女性を対象とした場合でも、ある特定の原因またはいずれかの原因による死亡率が増加することも、また低下することもなかった（Beral et al., 1999)。

【JECFA（2000）の見解（肥育ホルモン全体として)】

閉経後ホルモン補充療法において、エストロゲンを単独またはプロゲステロンおよびアンドロゲンを組合せて服用している女性を対象とした疫学研究から、これらの使用が多くの部位での癌リスクに影響しないことが示された。その一方、子宮内膜癌と乳癌のリスクの増加が認められた。閉経後エストロゲン単独治療を受けたことのある女性を対象とした 30 の疫学研究では、子宮内膜癌の相対リスクは 2.3（95%信頼区間、2.1～2.5）であった。閉経後エストロゲン単独治療を 10 年以上受けた女性の相対リスクは 9.5（95%信頼区間、7.4～12）であった。閉経後エストロゲン治療にプロゲステロンを加えると、このリスク増加は大きく低下したが完全に無くなることはなかった。ホルモン補充療法を受けている女性を対象とした 51 の疫学研究の再検討では、乳癌の相対リスクが使用 1 年ごとに 1.023 倍増加した（95%信頼区間, 1.011～1.036)。これらの相対リスクの算定は、抱合型ウマエストロゲン（平均用量、0.625 mg/日）または微粒子状エストラジオール-17β（1～2 mg/日）を含む閉経後エストロゲン補充療法製剤を利用した女性に関する結果に基づいている。全体的に、入手したデータからは閉経後エストロゲン補充療法を受けている女性に見られる乳癌および子宮内膜癌の頻度増加はエストロゲンのホルモン作用によるものであることが示唆された。

２．４　国際機関および諸外国における評価の概要

【JECFA（2000）における評価の概要】

プロゲステロンは、胃腸管および肝臓による不活性化のため、経口摂取した場合のバイオアベイラビリティが低い。プロゲステロンは、急性経口毒性が低い。反復投与後に実験動物に発

生した有害影響は、ホルモン活性に起因するものであった。ホルモン効果は他の形態の毒性が現れる用量よりも低い用量で起こることから、ヒトの安全性評価に適していると判断された。プロゲステロンは変異原性ではなく、遺伝毒性も無いと判断された。また、催奇性を示さず、発がんリスクを高める事はないと判断された。

また、ADI（一日許容摂取量）を設定したが（後述）、JECFA は、製品が適正に使用される場合には、ウシの可食組織についてプロゲステロンに対する MRL（最大残留限界）を指定する必要はないと結論付けた。この結論の理論的根拠は、処理されたウシの平均ホルモン濃度が無処理のウシの正常な生理学的濃度範囲に入っていることであった（van Leeuwen FX, 1991）。

【EU SCVPH（1999 および 2002）における評価の概要】

プロゲステロンに関するデータからは、定量的なリスク推定を行うことができない。プロゲステロンを含む、牛肉および食肉製品中に残留するホルモンについては、発生学的、免疫生物学的、神経生物学的、免疫毒性学的、遺伝毒性学的および発がん性への影響を生じると推測することができる。思春期前の子どもは高リスク集団であると考えられるが、入手可能なデータでは定量的なリスク評価を行うことができない。疫学的知見を考慮すれば、閾値濃度または ADI（一日許容摂取量）を確立することはできない。

EU SCVPH は、新たに 17 件の試験を委託した。2002 年 4 月に EU SCVPH は 2 回目のリスク評価を発表した。その中で EU SCVPH は、上記の委託研究で得られたデータに加え、1999 年のリスク評価以降に同領域の専門家による査読を経た科学文献で明らかにされた他の研究結果のデータを検討した。全体として、EU SCVPH（2002）では、以前の見解の妥当性を確認し EU SCVPH（1999）の報告書の見解を修正する根拠はないと結論付けた。

【UK SGVPC（1999）における評価の概要】

プロゲステロンが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、WHO/FAO 合同食品添加物専門家委員会（Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives： JECFA）によって設定された ADI（一日許容摂取量）と比較して非常に低い。プロゲステロンが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、これらのホルモンが一部の人々の体内で自然に産生される量と比較して非常に低い。なお、UK SGVPC（1999）は、EU SCVPH（1999）報告書の結論に重大な疑義を挟み以下のような結論に達している。

EU SCVPH（1999）報告書で引用された主要な論文中で採用されている主張の科学的な論拠および推論方法について評価した。その結果、ホルモン処理された家畜由来の食肉の摂取に関連するリスクがこれまで考えられていたより高いかもしれないとの EU SCVPH（1999）の結論を支持することができない。

【AU ACPH（2003）における評価の概要（肥育ホルモン全体として）】

適性動物用医薬品基準（GVP）に従って市販の同化製剤を埋め込まれたウシの残留物は、毒性研究に基づいて容認された MRL（最大残留限界）または許容範囲を逸脱しない。

新たな研究結果から、肥育ホルモンに関するオーストラリアの現行の規制上の立場を修正する根拠はない。適性動物用医薬品基準に従って肥育ホルモンで処理されたウシの肉を摂食することにより、消費者に明確な健康リスクが生じる可能性はないようである。

適性動物用医薬品基準の条件に基づく現在の肥育ホルモンの使用法を、APVMA（Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority）が再検討する必要性を示す新たな科学的証拠はない。

食事を通じた総ホルモン摂取量の評価の複雑さ、および各国際的フォーラムで表明された論争を呼ぶであろうことから、畜産動物における肥育ホルモンでの使用について、AU ACPH（Advisory Committee on Pesticides and Health）による継続的な検討を行うことが望ましい。

【IARC における評価の概要】

皮下あるいは筋肉内注射によりプロゲステロンが投与されたマウス、ウサギおよびイヌ、皮下埋込みにより投与されたマウスでの毒性学についての評価が行われた（IARC, 1979）。プロゲステロンはマウスの卵巣、子宮および乳がん、そしてイヌの乳腺がんの発生頻度を高めた。新生児期の処理は雌マウスでの生殖腺の前がん症状およびがんの発生、ならびに乳腺腫瘍の形成を亢進した。IARC は、エストロゲンとプロゲステロンの発がん作用はホルモン環境および用量作用相関と密接に関係していると判断した（IARC, 1979, 1987）。IARC は、プロゲステロンを「グループ 2B」に分類した（IARC, 1987）。

IARC は、入手可能な情報を検証して「プロゲステロンはマウスに優性の致死突然変異を誘導することも、*in vivo* で処理されたラットに染色体異常を誘導することもない。またプロゲステロンは培養ヒト細胞に染色体異常あるいは姉妹染色分体交換を起こすことも、げっ歯類の細胞に染色体異常や DNA 鎖切断を起こすこともない。げっ歯類細胞による *in vitro* 形質転換試験

について結論は出ていない：ラット胚細胞では明らかな陽性、マウス細胞では微陽性、そしてシリアンハムスターの肺細胞を用いた試験では陰性という結果が得られている。プロゲステロンは細菌に対しては突然変異原性を示さなかった。」と記載している（IARC, 1987）。

【参考：IARC における経口避妊約と閉経後ホルモン療法の組合せの評価の概要】

経口避妊薬および閉経後ホルモン補充療法は、頻繁に評価されてきた。経口避妊薬と閉経後エストロゲン・プロゲステロン療法の組み合わせは 1987 年および 1999 年（IARC, 1987, 1999）に評価されグループ 1 に、プロゲステロンのみの避妊薬と閉経後エストロゲン療法については 1999 年に評価されグループ 2B に分類された。

IARC は、性ホルモンの発がん可能性に関して以下の結論を下した。

・ヒトにおいては、腫瘍の発生および進行にとって内因性ホルモンが重要な役割を果たす。ヒトにおける腫瘍の発生率は、各種外因性ホルモンへの暴露（単一または組み合わせ）によって変化することがある。

・外因性エストロゲンが通常のホルモン環境を深刻に撹乱するには、摂取量が内因性エストロゲンの量と同じまたはそれ以上でなければならない。

・エストロゲンは実験動物を用いた研究によって発がん性を示す結果が得られているが、その研究の大部分は濃度が非常に高いときであった。

・ホルモンが、がんを誘発する機構は分かっていない。ホルモンは、なんらかの方法で発がんを促し、化学的、物理的またはウィルス的作用因によるその後の腫瘍形成環境を提供し、一旦腫瘍が発生すると、腫瘍の成長と転移を促進する可能性がある。

【FDA における評価の概要】

天然型のホルモンについては生理学的レベルの範囲内にある限り消費者に対するリスクは無視できるとして、ADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、MRL（最大残留限界）に相当する許容増加残留濃度（Allowable incremental residue level）を設定し、これを超える残留を認めていない（後述）。

プロゲステロンが承認された使用条件を守って使用されているとき、可食組織中におけるこれらの物質の濃度は、齢および性別の同じ無処理のウシに対して決定された通常の生理学的範囲内であると判断した。したがって、処理されたウシの肉に含まれる天然ホルモン残留物が消

費者に対して及ぼすリスクは無視できると考えられる。FDA は ADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、ウシの可食組織におけるプロゲステロンの MRL（最大残留限界）に相当する許容増分残留濃度（allowable incremental residue level）を設定している（後述）。ただし、これを超える残留を認めていない。

3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定

【JECFA（1999）における設定】

プロゲステロンの ADI（一日許容摂取量）は、子宮に対する影響からの LOEL 200 mg/日（3.3 mg/kg/日 相当）に個人差 10、LOEL から NOEL への外挿で 10 の安全係数 100 を考慮して、30 μg/kg 体重/日と設定した。

最小作用量（LOEL）	200 mg/日（3.3 mg/kg 体重/日）
ヒトでの所見	子宮の変化（消退出血）
服用期間	10 日（経口投与）
安全係数	100（個体差 10、LOEL から NOEL への外挿 10）
ADI	30 μg/kg 体重/日

【FDA における設定】

FDA はプロゲステロンの ADI を設定していない。

プロゲステロンの許容増加残留レベル（Allowable incremental residue level）を下記のように設定している。

ウシ（非処理の可食組織）の場合：

筋肉	3 μg/kg 組織
脂質	1.2 μg/kg 組織
腎臓	9 μg/kg 組織
肝臓	6 μg/kg 組織

羊（非処理の可食組織）の場合：

筋肉	3 μg/kg 組織
脂質	15 μg/kg 組織
腎臓	15 μg/kg 組織
肝臓	15 μg/kg 組織

参考文献

AU ACPH (Advisory Committee on Pesticides and Health). A review to update Australia's position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs) used in cattle. 2003.

Adlercreutz H and Martin F. Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man. J Steroid Biochem. 1980 Feb;13(2):231-44.

Baird DT, Horton R, Longcope C, Tait JF. Steroid dynamics under steady-state conditions. Recent Prog Horm Res. 1969;25:611-64.

Baulieu EE. Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. Recent Prog Horm Res. 1997;52:1-32.

Beral V, Hermon C, Kay C, Hannaford P, Darby S, Reeves G. Mortality associated with oral contraceptive use: 25 year follow up of cohort of 46 000 women from Royal College of General Practitioners' oral contraception study. BMJ. 1999 Jan 9;318(7176):96-100.

Bourgain C, Devroey P, Van Waesberghe L, Smitz J, Van Steirteghem AC. Effects of natural progesterone on the morphology of the endometrium in patients with primary ovarian failure. Hum Reprod. 1990 Jul;5(5):537-43.

Chiumello G, Guarneri MP, Russo G, Stroppa L, Sgaramella P. Accidental gynecomastia in children. APMIS. 2001 109(Suppl 103); S203-9. [EC study 12]

Concas A, Mostallino MC, Porcu P, Follesa P, Barbaccia ML, Trabucchi M, Purdy RH, Grisenti P, Biggio G. Role of brain allopregnanolone in the plasticity of gamma-aminobutyric acid type A receptor in rat brain during pregnancy and after delivery. Proc Natl Acad Sci USA. 1998 Oct 27;95(22):13284-9.

de Lignieres B, Dennerstein L, Backstrom T. Influence of route of administration on progesterone metabolism. Maturitas. 1995 Apr;21(3):251-7.

de Lignieres B. Oral micronized progesterone. Clin Ther. 1999 Jan;21(1):41-60.

DoH. (Dept. of Health). Nutritional Aspects of the Development of Cancer. Report on Health and Social Subjects 48. The Stationery Office, London 1998.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Assessment of potential risks to human health from hormone residues of bovine meat and meat products. 30th April 1999.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 10th April 2002.

Estergreen VL, Lin MT, Martin EL, Moss GE, Branen AL, Luedecke LO, Shimoda W. Distribution of progesterone and its metabolites in cattle tissues following administration of progesterone-4-14C1,2,3,4. J Anim Sci. 1977 Sep;45(3):642-51.

FAO/WHO. Residues of Some Veterinary Drugs in Animals and Foods: Deltamethrin, Dihydrostreptomycin, Dramectine, Estradiol-17B, Neomycine, Phoxin, Procine somatotropins, Progesterone, Streptmycin, Testosterone, Thiamphenicol. (FAO Food and Nutrition Paper 41/12, 2000)

FDA (United States Food and Drug Administration). Code of Federal Regulations (CFR), Title 21, Part 522, 556 and 558.

Feser W, Kerdar RS, Blode H, Reimann R. Formation of DNA-adducts by selected sex steroids in rat liver. Hum Exp Toxicol. 1996 Jul;15(7):556-62.

Folsom AR, Mink PJ, Sellers TA, Hong CP, Zheng W, Potter JD. Hormonal replacement therapy and morbidity and mortality in a prospective study of postmenopausal women. Am J Public Health. 1995 Aug;85(8 Pt 1):1128-32.

Frank DW, Kirton KT, Murchison TE, Quinlan WJ, Coleman ME, Gilbertson TJ, Feenstra ES, Kimball FA. Mammary tumors and serum hormones in the bitch treated with medroxyprogesterone acetate or progesterone for four years. Fertil Steril. 1979 Mar;31(3):340-6.

Frishman GN, Klock SC, Luciano AA, Nulsen JC. Efficacy of oral micronized progesterone in the treatment of luteal phase defects. J Reprod Med. 1995 Jul;40(7):521-4.

Gangrade NK, Boudinot FD, Price JC. Pharmacokinetics of progesterone in ovariectomized rats after single dose intravenous administration. Biopharm Drug Dispos. 1992 Dec;13(9):703-9.

Goldfien A and Monroe SE. Ovaries. In: Basic and Clinical Endocrinology, 4th Edition (Greenspan FS and Baxter JD, Eds) Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut 1994;419-70.

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Joffe M, Rosner B, Fuchs C, Hankinson SE, Hunter DJ, Hennekens CH, Speizer FE. Postmenopausal hormone therapy and mortality. N Engl J Med. 1997 Jun 19;336(25):1769-75.

Hansen PJ. Regulation of uterine immune function by progesterone-lessons from the sheep. J Reprod Immunol. 1998 Oct;40(1):63-79.

Hargrove JT, Maxson WS, Wentz AC. Absorption of oral progesterone is influenced by vehicle and particle size. Am J Obstet Gynecol. 1989 Oct;161(4):948-51.

Hsu MH, Griffin KJ, Wang Y, Kemper B, Johnson EF. A single amino acid substitution confers progesterone 6 beta-hydroxylase activity to rabbit cytochrome P450 2C3. J Biol Chem. 1993 Apr 5;268(10):6939-44.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 21, Sex Hormones (II), Lyon, IARC Press, 1979.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Suppl. 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Vol. 1 to 42, Lyon, IARC Press, 1987.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, Vol. 72, Hormonal Contraception and Postmenopausal Hormone Therapy Lyon, IARC Press, 1999.

JECFA-WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-second meeting. Summary and Conclusions, Rome 2-11 February, 1999.

JECFA-WHO. Evaluation of certain veterinary drugs residues in food. Thirty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Commitee on Food Additives. WHO Technical Report Series 763, World Health Organization, Geneva 1988.

JECFA-WHO. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food: Prepared by the fifty-second meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 43, World Health Organization, Geneva 2000.

Jones LA and Bern HA. Long-term effects of neonatal treatment with progesterone, alone and in

combination with estrogen, on the mammary gland and reproductive tract of female BALB/cfC3H mice. Cancer Res. 1977 Jan;37(1):67-75.

Kaijser M, Lichtenstein P, Granath F, Erlandsson G, Cnattingius S, Ekbom A. In utero exposures and breast cancer: a study of opposite-sexed twins. J Natl Cancer Inst. 2001 Jan 3;93(1):60-2. [EC study 13]

Katzenellenbogen BS. Estrogen receptors: bioactivities and interactions with cell signaling pathways. Biol Reprod. 1996 Feb;54(2):287-93.

Kedderis GL and Mugford CA. Sex-dependent metabolism of xenobiotics. CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) Activities. 1998 Jul-Aug;18(7-8):1-7.

Kim S, Korhonen M, Wilborn W, Foldesy R, Snipes W, Hodgen GD, Anderson FD. Antiproliferative effects of low-dose micronized progesterone. Fertil Steril. 1996 Feb;65(2):323-31.

Leighton JK and Wei LL. Progesterone and development. In: Hormones and Growth Factors in Development and Neoplasia (Dickson RB and Salomon DS Eds) Wiley-Liss, New York 1998;177-90.

Lin MT, Estergreen VL, Moss GE, Willett JD, Shimoda W. The *in vivo* metabolites of [^{14}C] progesterone in bovine muscle and adipose tissue. Steroids. 1978 Dec;32(5):547-61.

Mahesh VB, Brann DW, Hendry LB. Diverse modes of action of progesterone and its metabolites. J Steroid Biochem Mol Biol. 1996 Jan;56(1-6 Spec No):209-19.

Martelli A, Mereto E, Ghia M, Orsi P, Allavena A, De Pascalis CR, Brambilla G. Induction of micronuclei and of enzyme-altered foci in the liver of female rats exposed to progesterone and three synthetic progestins. Mutat Res. 1998 Nov 9;419(1-3):33-41.

Mathur S, Mathur RS, Dowda H, Williamson HO, Faulk WP, Fudenberg HH. Sex steroid hormones and antibodies to Candida albicans. Clin Exp Immunol. 1978 Jul;33(1):79-87.

Maxson WS and Hargrove JT. Bioavailability of oral micronized progesterone. Fertil Steril. 1985 Nov;44(5):622-6.

McAllister JM, Kerin JF, Trant JM, Estabrook RW, Mason JI, Waterman MR, Simpson ER. Regulation of cholesterol side-chain cleavage and 17 alpha-hydroxylase/lyase activities in proliferating human theca interna cells in long term monolayer culture. Endocrinology. 1989 Oct;125(4):1959-66.

Meissner WA and Sommers SC. Endometrial changes after prolonged progesterone and testosterone administration to rabbits. Cancer Res. 1966 Mar;26(3):474-8.

Mellon SH and Miller WL. Extraadrenal steroid 21-hydroxylation is not mediated by P450c21. J Clin Invest. 1989 Nov;84(5):1497-502.

Metzler M and Pfeiffer E. Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS. 2001 Feb;109(2):89-95. [EC study 2]

Moyer DL, de Lignieres B, Driguez P, Pez JP. Prevention of endometrial hyperplasia by progesterone during long-term estradiol replacement: influence of bleeding pattern and secretory changes. Fertil Steril. 1993 May;59(5):992-7.

Nahoul K, Dehennin L, Jondet M, Roger M. Profiles of plasma estrogens, progesterone and their metabolites after oral or vaginal administration of estradiol or progesterone. Maturitas. 1993 May;16(3):185-202.

Niwa T, Yabusaki Y, Honma K, Matsuo N, Tatsuta K, Ishibashi F, Katagiri M. Contribution of human hepatic cytochrome P450 isoforms to regioselective hydroxylation of steroid hormones. Xenobiotica.

1998 Jun;28(6):539-47.

O'Malley BW, Tsai SY, Bagchi M, Weigel NL, Schrader WT, Tsai MJ. Molecular mechanism of action of a steroid hormone receptor. Recent Prog Horm Res. 1991;47:1-24.

Orth DN and Kovacs WJ. The adrenal cortex. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;517-664.

Petitti DB. Hormone replacement therapy and heart disease prevention: experimentation trumps observation. JAMA. 1998 Aug 19;280(7):650-2.

Purdy RH, Durocher CK, Moore PH Jr, Rao PN. Analysis of metabolites of progesterone in bovine liver, kidney, kidney fat, and milk by high performance liquid chromatography. J Steroid Biochem. 1980 Nov;13(11):1307-15.

Revesz C, Chappel CI, Gaudry R. Masculinization of female fetuses in the rat by progestational compounds. Endocrinology. 1960 66:140-144.

Rowson LEA, Lamming GE, Fry RM. The relationship between ovarian hormones and uterine infection. Vet Rec. 1953 65:335.

Russo IH and Russo J. Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect. 1996 Sep;104(9):938-67.

Schairer C, Adami HO, Hoover R, Persson I. Cause-specific mortality in women receiving hormone replacement therapy. Epidemiology. 1997 Jan;8(1):59-65.

Schlesselman JJ. Net effect of oral contraceptive use on the risk of cancer in women in the United States. Obstet Gynecol. 1995 May;85(5 Pt 1):793-801.

Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bill RL, Matlock CL, Bottoms GD. Serum disposition of exogenous progesterone after intramuscular administration in bitches. Am J Vet Res. 1990 Jun;51(6):893-5.

Seraj MJ, Umemoto A, Tanaka M, Kajikawa A, Hamada K, Monden Y. DNA adduct formation by hormonal steroids *in vitro*. Mutat Res. 1996 Aug;370(1):49-59.

Shangold MM, Tomai TP, Cook JD, Jacobs SL, Zinaman MJ, Chin SY, Simon JA. Factors associated with withdrawal bleeding after administration of oral micronized progesterone in women with secondary amenorrhea. Fertil Steril. 1991 Dec;56(6):1040-7.

Simon JA, Robinson DE, Andrews MC, Hildebrand JR. 3rd, Rocci ML Jr, Blake RE, Hodgen GD. The absorption of oral micronized progesterone: the effect of food, dose proportionality, and comparison with intramuscular progesterone. Fertil Steril. 1993 Jul;60(1):26-33.

Sitruk-Ware R, Bricaire C, De Lignieres B, Yaneva H, Mauvais-Jarvis P. Oral micronized progesterone. Bioavailability pharmacokinetics, pharmacological and therapeutic implications-a review. Contraception. 1987 Oct;36(4):373-402.

Smith SS, Gong QH, Hsu FC, Markowitz RS, ffrench-Mullen JM, Li X. GABA(A) receptor alpha4 subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid. Nature. 1998 Apr 30;392(6679):926-30.

Stock AE and Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. Endocrinology. 1993 Mar;132(3):1108-14.

Sturgeon SR, Schairer C, Brinton LA, Pearson T, Hoover RN. Evidence of a healthy estrogen user

survivor effect. Epidemiology. 1995 May;6(3):227-31.

Symonds HW, Prime GR, Pullar RA. Preliminary evidence for the enterohepatic circulation of progesterone in the pig. Br Vet J. 1994 Nov-Dec;150(6):585-93.

Tsai MJ, Clark JH, Schrader WT, O'Malley BW. Hormones that act as transcription-regulatory factors. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;55-94.

Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC. Effects of testosterone, testosterone propionate, 17beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis. 1995 Jun;16(6):1329-33.

UK SGVPC (Sub-Group of the Veterinary Products Committee, Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food). Executive summary and critical evaluation of the 1999 opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health. 1999.

van Leeuwen FX. The approach taken and conclusions reached by the joint FAO-WHO expert committee on food additives. Ann. Recher. Vet.1991; 22(3):253-256.

Wharton LR Jr and Scott RB. Experimental production of genital lesions with norethindrone. Am J Obstet Gynecol. 1964 Jul 15;89:701-15.

Whitehead MI, Townsend PT, Gill DK, Collins WP, Campbell S. Absorption and metabolism of oral progesterone. Br Med J. 1980 Mar 22;280(6217):825-7.

Wiebe JP, Boushy D, Wolfe M. Synthesis, metabolism and levels of the neuroactive steroid, 3alpha-hydroxy-4-pregnen-20-one (3alphaHP), in rat pituitaries. Brain Res. 1997 Aug 1;764(1-2):158-66.

Williams CL and Stancel GM. Estrogens and progestins. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition (Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, Eds.) McGraw-Hill, New York 1996;1411-40.

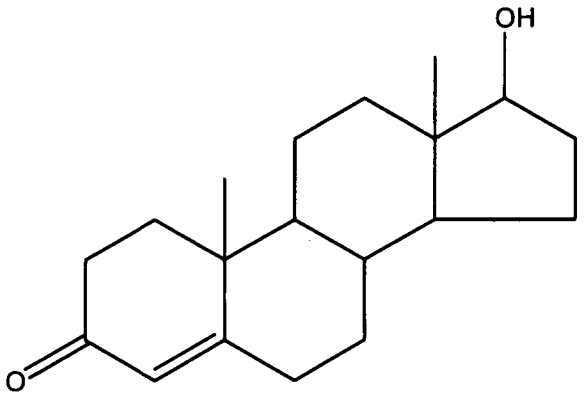
Yamazaki H and Shimada T. Progesterone and testosterone hydroxylation by cytochromes P450 2C19, 2C9, and 3A4 in human liver microsomes. Arch Biochem Biophys. 1997 Oct 1;346(1):161-9.

日本薬局方解説書編集委員会 編「第十四改正日本薬局方解説書」(廣川書店)

テストステロン

1．薬剤の概要

（1）物質名



Testosterone

分　子　式	: $C_{19}H_{28}O_2$
分　子　量	: 288.42
常温における性状	: 白色または乳白色の結晶または結晶性粉末
融　　点	: 155 ℃

（2）性質

テストステロン、すなわち 17β-ヒドロキシアンドロスト-4-エン-3-オンまたはα-4-アンドロステン-17β-オール-3-オンは、精巣のライジッヒ細胞から分泌され、初期発生と成獣期における雄の二次性徴の発達など、強力な男性化特性を有する 19 炭素ステロイドホルモンである。発生初期には、テストステロンは外性器の発達に影響を及ぼし、ウォルフ管の分化に重要な役割を示す。思春期以後、テストステロンを含むアンドロゲン（男性ホルモン）は精巣に影響を及ぼし精子形成に不可欠である。さらに、筋肉および骨の発育を補助するタンパク同化作用も認められる（Rosenfield, 1972 ; Chang et al., 1995）。テストステロンの分泌もまた、全内分泌腺間の複雑な相互作用、特に脳内の分泌腺との相互作用に影響されている（EU SCVPH, 1999）。

前立腺などの器官において、5α-レダクターゼはテストステロンを、より強力なアンドロゲンである 5α-ジヒドロテストステロン（ヒドロテストステロン）に変換することができる。テストステロンの作用もヒドロテストステロンの作用も、その高い親和性および高度の特異的結合ならびに細胞内タンパク質の一種であるアンドロゲン受容体（AR）の活性

化に仲介される。このARタンパク質は、ステロイドホルモンスーパーファミリーに属する。リガンドに活性化されたアンドロゲン受容体は、標的器官における特異的遺伝子転写の活性化または抑制を通して、細胞増殖および分化に対して影響を及ぼす（EU SCVPH, 1999）。

アンドロゲン受容体は、男性のみならず女性の組織でも検出される。この受容体が卵巣などの器官に存在することは、アンドロゲンが男女両性で有意な活性を有することを示すものである。さらに、アンドロゲン受容体は卵巣腫瘍の67%で検出されていることから、卵巣の腫瘍発生に関与していると考えられている。これまでの情報によるとアンドロゲン受容体として知られているのは1種のみであるが、別の遺伝子サブセットもテストステロンまたはヒドロテストステロンで活性化されている可能性がある（Chang et al., 1995）。このように、他のステロイドホルモン受容体経路については、アンドロゲン活性化のメカニズムは詳細に分かっていない。テストステロンはCYP450アロマターゼ（CYP19）を含有する組織中でエストラジオールへと芳香族化されることがある（EU SCVPH, 1999）。

テストステロンは男子性腺機能低下症、再生不良性貧血、その他の疾患に用いられるが、前立腺肥大や肝機能障害を起こすことがある。成人の一日の分泌量は約7 mgであり、血中テストステロン量は年齢の変化にも関わらず大きな変動を示さない（医学大辞典）。

（3）肥育ホルモンとしての使用

体重増加（成長促進）を促進し、飼料効率を向上させるために、プロピオン酸テストステロン（200 mg）と安息香酸エストラジオール（20 mg）を合わせたものが、耳埋込として家畜に投与される。プロピオン酸テストステロンは*in vivo*で急速に分解してテストステロンとなる。その残留物は動物およびヒトで産生されるテストステロンと構造上同じであるため内因性物質とみなされる（JECFA, 2000）。この作用はアンドロゲンのタンパク同化作用による可能性が最も高い（引用：EU SCVPH, 1999）。

オーストラリア、米国、カナダ、ニュージーランドなどの牛肉輸出国では、ウシの成長促進物質として特定の天然および合成ホルモンの使用が認められている。これらの肥育ホルモンとしては、エストラジオール-17β、プロゲステロン、テストステロンなどの天然ステロイドと、ゼラノール、メレンゲステロールアセテート、トレンボロンアセテートなどの合成ステロイドがある。一方、EUは1988年、家畜への肥育ホルモンの使用を禁止した。

翌 1989 年にはこの禁止措置をさらに広げ、肥育ホルモンの使用を認めている国からの牛肉および牛肉製品の輸入も禁止した。

（4）肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のレベル

FAO/WHO の合同専門家会議は 2000 年、動物および食品中の動物医薬品残留物の評価を行った（FAO/WHO, 2000）。この結果をもとに、テストステロンを肥育ホルモンとして使用した時の食肉中のテストステロンレベルを表 1 にまとめた。

表 1-1　動物薬処理された食肉（筋肉）中のテストステロンの濃度

動物	処理薬と屠殺日		濃度 (ng/kg)		
			Min	Max	Median
雌牛(未経産牛)	SYNOVEX-H (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	30 日後	11.3	183	101
		60 日後	16.8	84.4	40.9
		89 日後	20.9	135	51.9
		119 日後	14.0	54.9	27.1
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	7.58	33.3	21.7
雄牛(去勢牛)	HEIFER-oid (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	15 日後	129.5	311.5	114.3
		30 日後	71.5	203.5	107.8
	ｺﾝﾄﾛｰﾙ	－	56.5	186.5	102.0

表 1-2　動物薬（SYNOVEX-H）処理された妊娠牛（未経産牛）の食肉（筋肉）中のテストステロンの濃度

処理薬と屠殺日	妊娠日数	濃度 (ng/kg)		
		Min	Max	Median
ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ 61 日後	120	189	542	329
	180	291	479	309
	240	251	457	387
同期ｺﾝﾄﾛｰﾙ	120	174	500	230
	180	232	557	312
	240	202	630	421
非同期ｺﾝﾄﾛｰﾙ	120	126	547	247

表 1-3　動物薬処理された食肉（筋肉）中のテストステロンの濃度
（括弧内の数字はコントロール）

動物	処理薬と処理日		屠殺日	濃度 (ng/kg)			処理/ｺﾝﾄﾛｰﾙ 比
				Min	Max	Median	
雌牛(未経産牛)	SYNOVEX-C 及び H (ｲﾝﾌﾟﾗﾝﾄ)	2 回処理: 0, 118 日目	241 日後	29.7 (15)	53.6 (22.1)	33.6 (16.8)	2
		3 回処理: 0, 118, 240 日目	301 日後	77.1 (18.2)	546 (52.1)	115 (38.2)	3.0
			329 日後	13.2 (14.2)	66.6 (27.2)	52.3 (21.7)	2.4
			360 日後	23.4 (38.9)	75.7 (90.2)	46.1 (59.2)	0.78

2．毒性の概要

2．1　薬物動態

（1）吸収・分布・代謝・排泄

テストステロンの主要代謝物を以下の図 1 に示す。

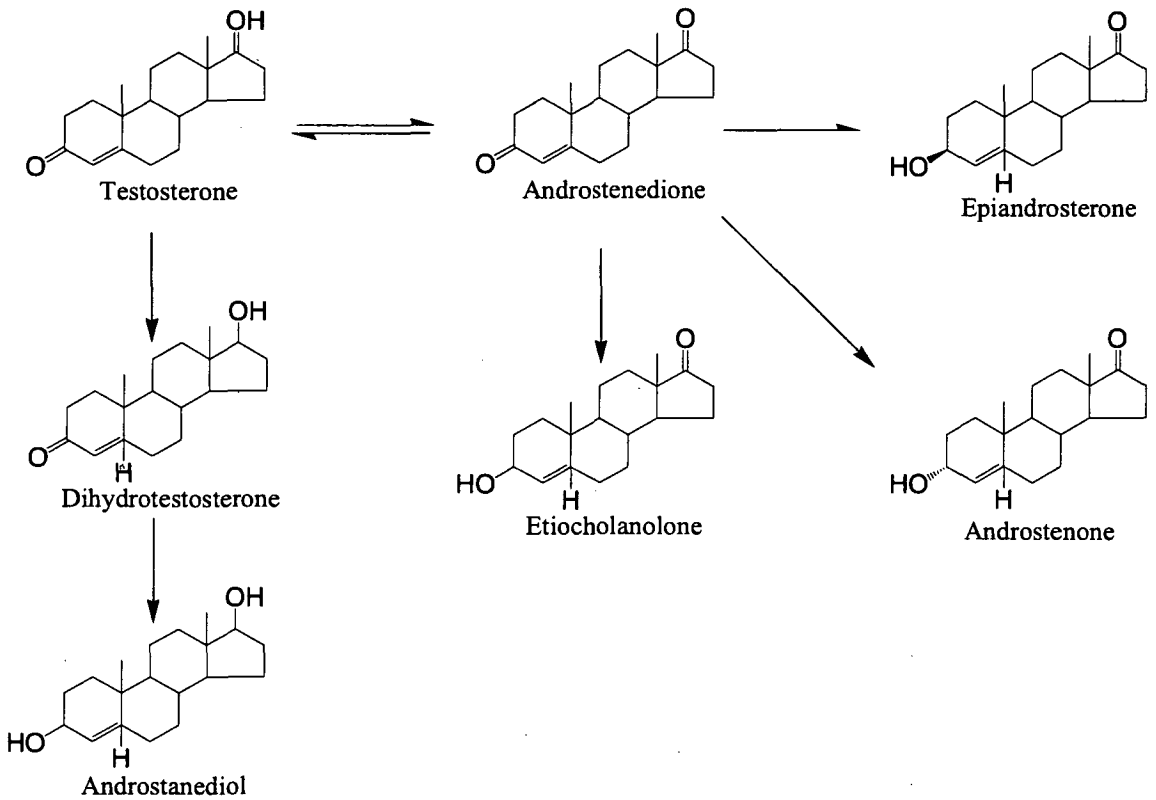


図 1 テストステロンの主要代謝物

【ヒトにおける知見】

テストステロンは、消化管あるいは肝で不活性されるため、経口経路で投与すると一般に不活性であると考えられる。注射した場合は、クリアランスが急速に起こるため、生理濃度を維持するのはやはり困難である（Griffin and Wilson, 1998）。肝臓の第一段階の代謝を乗り越えるのに必要とされる高用量は結果的に肝負荷を上昇させるため、経口型のテストステロン（すなわち、細粒剤）には臨床上の利点がほとんどないとされている（WHO, 1992；JECFA, 2000）。

エステルテストステロンウンデカノエートをテストステロン補充療法で使用できるかどうかについて、その吸収性が調べられている。若い女性に 25 mg テストステロンまたは

40 mg テストステロンウンデカノエート（約 25 mg テストステロン）を経口投与した後、ラジオイムノアッセイでテストステロンの血漿中濃度を測定した。その濃度を、1.5 μg/kg 体重のテストステロンを静脈内投与し被験者の血漿中濃度と比較したところ、生体内利用可能なテストステロンは、投与したテストステロンの 3.6%、また投与したテストステロンウンデカノエートの 6.8%であった。経口投与したテストステロンのバイオアベイラビリティの低下は、1 kg 当たり 25 mL/分という高い代謝クリアランスに起因した。バイオアベイラビリティ推定値から、1 日の産生量（5～7 mg）を補充するには高用量（120～140 mg/日）が必要である（Tauber et al., 1986）。テストステロンウンデカノエートの長い脂肪族側鎖は、リンパ管吸収を容易にし、それによって第一段階の代謝を回避すると考えられる（Butler et al., 1992；Griffin and Wilson, 1998）。また、若い女性での静脈内投与後のテストステロンの血漿中半減期は 10 分であった（Tauber et al., 1986）。

放射性物質で標識したテストステロンを投与すると、投与したテストステロンの約 90%が尿中に認められ、約 6%は腸肝循環を経て糞便中に排泄される（Wilson, 1996）。テストステロンの約 1%はグルクロニドとして尿中に排泄されるが、残りは主として 17-ケトステロイド（アンドロステロンおよびエチオコラノロン）として尿中に排泄される。アンドロスタンジオールおよびエストロゲンのグルクロニドと硫酸の抱合体が、少量で認められた（JECFA, 2000）。

ヒトでのテストステロンの酸化的代謝は、主に肝臓において 6β-位に、次いで、15α-、15β および 2β-位に起きる。シトクロム P4503A4 は、ヒト肝臓における主要なテストステロン 6β-ヒドロキシラーゼであり、15α-、15β-および 2β-位でのテストステロンヒドロキシル化を触媒する。ヒト肝臓シトクロム P4502C9 および P4502C19 も、顕著なテストステロンヒドロキシル化活性を有することが知られている（Yamazaki and Shimada, 1997）。

経口投与したテストステロンは容易に吸収されるが、そのほとんどが全身循環に入る前に肝臓を通る最初の段階で代謝されるので、バイオアベイラビリティは限定的である（Baird et al., 1969）。テストステロンの不活化は主に肝臓で起こり、肝臓でアンドロスタンジオンに、最終的にはアンドロステロンおよび他の化合物へと代謝され、これらはグルクロンサン抱合体および硫酸抱合体として排泄される（Fotherby and James, 1972）。テストステロンの代謝的クリアランス速度は、男性で 516 リットル/平方メートル/日、女性で 304

リットル/平方メートル/日である。男性の場合、ジヒドロテストステロンの生成は 0.39 mg/日で、この 50%が血漿テストステロンの変換によるものである（Saez et al., 1972；EU SCVPH, 1999）。

【ラットを用いた試験】

放射性物質で標識したテストステロンをラットに胃内投与すると、12 時間以内に、約 4 分の 1 がグルクロニドと硫酸の抱合体として胆汁内に現れる。このことから腸肝循環が存在することが分かっている（IARC, 1979）。テストステロンを基質として用いると、肝グリクロンシルトランスフェラーゼおよびスルホトランスフェラーゼの活性は、女性よりも男性で上昇し広範な個体別変動を示す（Pacifici et al., 1997）。ヒト空腸エストロゲンおよびデヒドロエピアンドロステロンスルホトランスフェラーゼの活性には、個体差が認められたが性差は認められなかった（Her et al., 1996）。

【ウシを用いた試験】

テストステロンまたはプロピオン酸テストステロンは、耳への皮下移植により投与される。テストステロンの投与量は、埋込剤のメーカーによって異なるが、大体において動物あたり 200 mg である（JECFA, 1988）。動物の循環器系において、埋込剤からのテストステロンと内因性テストステロンを区別することはできず、すなわち、生物学的活性の高い分子はより活性の低い代謝物へと酵素的変換を受ける。排泄は主に胆汁経由であり、次いで尿経由である。一般的に尿中に排出されるホルモン分画は抱合体であるのに対し、糞中に認められるのは遊離型である。プロピオン酸テストステロンについては、エステルの酵素開裂によってテストステロンを生じ、これが再び内因性テストステロンと同様に代謝される（Hoffmann and Karg, 1976；Hoffmann and Evers, 1986）。

ウシにおけるテストステロンの特異的代謝経路および排泄速度については、ほとんど情報がない。ラットにおいては、性成熟に達するとテストステロン酸化の 7 つの経路、つまりテストステロンの 2α-、2β-、6β-、15β-、16α-および 18-ヒドロキシル化およびアンドロステネジオンの 17-酸化が、性的に分化する（雄／雌＝7～200 倍）が、未成熟動物では分化しない。さらに特異的シトクロム P450 酵素が、これら多様な位置で選択的にテストステロンを代謝する（Sonderfan et al, 1987）。

テストステロンまたはプロピオン酸テストステロン 200 mg を含有する埋込剤を投与し

た妊娠ウシおよび未経産雌ウシでは、筋肉、肝臓、腎臓および脂肪中のテストステロン濃度が上昇した（EU SCVPH, 1999）。

【性ホルモン結合グロブリン（SHBG）に関する知見】

循環アンドロゲンは、正常な男性では性ホルモン結合グロブリン（SHBG）と結合し、割合は低いが血清アルブミンとも結合する。循環テストステロンのうち結合しないのは、1～2%だけである。44%は性ホルモン結合グロブリン（SHBG）と結合し、54%はアルブミンその他の蛋白質と結合する（Griffin and Wilson, 1998）。テストステロンは、SHBG よりもアルブミンと結合する方が親和性は低い。血漿 SHBG は肝臓から分泌されるが、げっ歯類成獣の肝臓では分泌型の SHBG は産生されない（Reventos et al., 1993）。SHBG の血漿中濃度はエストロゲンによって 5～10 倍上昇し、テストステロンによって 2 分の 1 に減少する（Griffin and Wilson, 1998）。非分泌型の SHBG は、生殖組織や脳など多くの組織内に存在する。一部の細胞膜の表面上に存在する SHBG 受容体は、リガンドしていない SHBG と結合する。ステロイドホルモンが SHBG と結合すると、これは受容体とは結合できない（Hryb et al., 1990）。標的組織の膜上に存在する SHBG 受容体複合体が、ステロイドホルモンと cAMP 経路間の相互作用に関係していると考えられる（Rosner, 1991）。

（引用：JECFA, 2000）

（2）生体内変化

テストステロンの代謝についてはレビューがある（IARC, 1979；Goldfien and Monroe, 1994；Wilson, 1996；Griffin and Wilson, 1998）。17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼは、アンドロステンジオンのテストステロンへの可逆性酸化還元、ならびにエストロンのエストラジオールへの可逆性酸化還元およびデヒドロエピアンドロステロンの D5-アンドロステンジオールへの可逆性酸化還元を触媒する。この経路で還元がさらに進むと（5 アルファおよび 5 ベータ、それに続いて 3 ケト）、テストステロンの主要な尿中排泄物であるアンドロステロンとエチオコラノロンが生成される（JECFA, 2000）。

げっ歯類とヒトとでは、テストステロンの代謝経路に著しい差異が認められる。ヒト肝臓にはシトクロム P450 の性特異的調節は認められないが、生体異物の代謝には性差が存在する（Kedderis and Mugford, 1998）。ヒト肝臓に、ラット肝性テストステロン 7 アルファ

ヒドロキシラーゼ（P450 2A1）およびマウステストステロン 15 アルファヒドロキラーゼ（P450 2A4）は認められない。テストステロンは、ヒト肝臓 CYP3A4 によって 6β型に変換される（Lacroix et al., 1997）。雌マウス肝臓内のテストステロンの主要な不活化経路は、16β-、6 アルファ-、および 16 アルファ-位の水酸化およびそれに続く抱合である（Wilson and LeBlanc, 1998）。P450 アイソザイム活性の診断としてラット肝臓内のテストステロンの代謝を用いたところ、7 アルファ-、6β-、16 アルファ-および 2 アルファ-ヒドロキシテストステロンが産生された（Swales et al., 1996）。ラット肝臓内のテストステロン 6β-および 16α-水酸化は、CYP3A18 または 3A 族の他の酵素により反応する（Nagata et al., 1996）。ラット肝臓で 16β ヒドロキシラーゼ（CYP2B1）活性は、全く認められなかった（Swales et al., 1996）。

テストステロンの広範な還元的代謝は、肝臓および肝外組織で起きる。ラット小腸にはテストステロンを酸化する能力があり、この酵素はラット空腸よりも胃および十二指腸粘膜のホモジネートに有意に高い値で存在する。この酵素は、回腸および結腸にも認められた。主要な門脈代謝物は、アンドロステンジオンである。このことから、肝臓よりむしろ消化管が、経口投与されたテストステロンの代謝を主に担っていることが示唆される（Farthing et al., 1982）。

テストステロンは、他の生理学的に関連するステロイドの前駆体である。5 アルファ-レダクターゼの作用によって生成される活性代謝物ヒドロテストステロンは、アンドロゲン受容体の重要な生理学的基質である。ヒドロテストステロンは、テストステロンと結合するよりも高い親和性をもってアンドロゲンと結合し、そのため、一部の組織ではアンドロゲン活性の主要な細胞性媒介物であると考えられる。ヒドロテストステロンは、代謝されてアンドロステロン、アンドロスタンジオン、3 アルファ-および-アンドロスタンジオールとなる。3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼも、テストステロン生合成経路でデヒドロエピアンドロステロンのアンドロステンジオンへの変換を触媒する。エストラジオールは、テストステロンの A 環の芳香化によって生成される。ヒドロテストステロンはエストロゲンに変換されることはない（JECFA, 2000）。

（3）生合成

テストステロンは、精巣のライディヒ細胞、卵巣の卵胞膜細胞および副腎皮質で合成される。性腺ステロイド産生合成の主要な調節は、下垂体前葉によって分泌される黄体形成ホルモンである。末梢組織でのテストステロンの還元によって誘導されるヒドロテストステロンならびにD5-アンドロステンジオールも、生理学的に関連するアンドロゲンである（Griffin and Wilson, 1998 ; Miyamoto et al., 1998）。テストステロンの合成は、妊娠の最初の1/3の期間中に、母親の絨毛膜性ゴナドトロピンによって刺激された後、胎児で開始する。男性のテストステロンの血漿中濃度は、出生前期間中は高く、月齢3ヶ月頃ピークに達し、その後約11歳まで非常に低い状態で推移する。テストステロン濃度は17歳頃でプラトーに達し、数十年高い状態を維持してから徐々に減少する。テストステロンの血中濃度は、一日を通して黄体形成ホルモンの周期的分泌に呼応して推移する。テストステロンは、負のフィードバックによって、視床下部由来のゴナドトロピン放出ホルモンおよび下垂体由来の黄体形成ホルモンの周期的放出を減少させる（Griffin and Wilson, 1998）。テストステロンの血中濃度の日周変動も認められ、早朝の血漿中濃度は午後のそれより約25％高い（Orth and Kovacs, 1998）。

血漿テストステロン濃度は思春期の女性でも上昇したが、その上昇の程度は男性のよりも低かった。成人の閉経前女性では循環テストステロンの70～80％が、副腎および卵巣由来のデヒドロキシエピアンドロステロンおよびアンドロステンジオンの変換によって誘導される。閉経後女性では、両側卵巣摘出すると循環アンドロゲンがかなり減少するため、卵巣からの分泌量はテストステロン産生量の50％以下である。40代の女性は20代の女性より循環アンドロゲンが約50％低下するが、おそらく副腎デヒドロキシエピアンドロステロン分泌量が低下するためであると考えられる（Gelfand and Wiita, 1997）。

循環アンドロゲンの濃度、1日の産生量および代謝クリアランス速度は、評価書（例えば、IARC, 1979、特に‘性ホルモンに関する一般的考察’）および内分泌学のほとんどの教科書（例えば、Braunstein, 1994 ; Goldfien and Monroe, 1994 ; Carr, 1998 ; Griffin and Wilson, 1998）に掲載されている。

（4）作用機序

テストステロンおよびジヒドロテストステロンは、容易に標的細胞内に拡散し高い親和

性をもってアンドロゲン受容体と結合する。これまでに識別された細胞内受容体の型は1つだけであり、分子解析や遺伝子解析から、複数のアンドロゲン受容体の亜型は存在しないらしいことが分かっている。受容体ホルモン複合体は、特定の標的DNA塩基配列と結合し、アンドロゲンで調節された遺伝子の転写を開始させ、ホルモン暴露を生理現象に変える（Wilson, 1996）。

思春期の発達を通じてテストステロンは、精子形成の開始と維持および性行動に必要なものである。アンドロゲンは、前立腺の成長と分化を調節する他の成長因子と相互に作用する。アンドロゲンはまた、腎臓のエリスロポイエチン産生を刺激し、造血系の幹細胞を刺激し、窒素貯留を増加させ、遺伝的に禿げやすいヒトの早期脱毛も含め、男性の発毛を調節する。アンドロゲンは成長ホルモンと共に、思春期の間の直線的成長を加速させる。アンドロゲンは血清性ホルモン結合グロブリン（SHBG）濃度を低下させ、高密度または低密度のリポ蛋白対コレステロールの比を変動させる（Griffin and Wilson, 1998；WHO, 1992）。

テストステロンおよびジヒドロテストステロンは、生殖器官および非生殖器官で、また発育期間を通じて、さまざまな生理学的な影響をもたらす。テストステロンは骨、筋肉、精巣といった組織で直接的なアンドロゲン作用をもつと考えられるが、その他の標的組織でアンドロゲン作用を持つにはジヒドロテストステロンへの変換が不可欠である。胎児においてテストステロンは、精嚢および精巣上体の発達ならびに中腎管の男性化を担うが、外見の男性化にはジヒドロテストステロンが必要である（JECFA, 2000）。

２．２　毒性学的知見

（１）急性毒性

【ヒトでのデータ】

試験で6人の健康な男性ボランティアに400 mgのテストステロン細粒剤を21日間経口投与したところ、テストステロンは十分に耐容され、肝臓酵素系への影響はほとんど認められなかったが、テストステロン代謝も含めた肝臓薬物代謝系の誘導が6人の被験者全員に認められた（Johnsen et al., 1976）。

性機能の低下した21歳の男性が、200 mgのエナント酸テストステロンを2週間ごとに筋肉内に投与したケースで、処置に起因する脳卒中が発生した。正常な男性の血漿テストステロン濃度の範囲は200～1000 ng/dLであるが、この男性の場合は11400 ng/dLであった。脳梗塞が、過剰なアンドロゲン補充の合併症になる可能性が指摘されている（Nagelberg et al., 1986）。

（2）短期毒性

【ヒヒにおける毒性試験】

去勢していない雄のヒヒの成獣6匹に200 mg（8 mg/kg体重に相当）のエナント酸テストステロンを週1回筋肉内の投与により最高28週間投与し、対照群の2匹には溶媒のみを週1回投与した。15週間の投与後、両方の前立腺小葉の重量および容積が定量的に増加し、28週目までには前立腺尾葉の腺上皮の乳頭状内殖または陥入を伴う間質組織の増加が認められた。テストステロンおよびジヒドロテストステロンの血清中濃度は有意に上昇し、それぞれ10および2～3 ng/mLから30～40および5～6 ng/mLとなった。アンドロステンジオン濃度は3～4倍上昇し、エストラジオール濃度は20から80～90 ng/mLに上昇した。これらのステロイドは、ヒヒの早発性良性前立腺肥大の誘発に直接的役割を果たしており、結果はヒトの良性前立腺肥大の観察結果とほぼ同じであった（Karr et al., 1984）。

（3）慢性毒性および発がん性

【各種動物実験】

動物モデルのヒト前立腺障害に対する適切性は、すでに評価されている（WHO, 1992）。ヒト以外では、イヌが高い頻度で前立腺がんおよび良性前立腺肥大を発症する唯一の動物である。このモデルでは前立腺肥大の発生にアンドロゲンとエストロゲンの長期投与が必要だが、そのような協働作用は他の種には認められない。ACIラットは組織学的に明白な前立腺がんを自然発生的に発症するが、このがんは薬理学的に適切な量の外因性アンドロゲンを投与すれば重篤な症状には至らない。前立腺がんは、ラットのNoble系およびLobund-Wistar系にのみ誘発されている（JECFA, 2000）。

アンドロゲンなどのホルモンが、げっ歯類の乳腺腫瘍の発生に果たす役割およびヒトのリスク評価に対するそれらげっ歯類の適切性についての評価がなされてきた（Russo and

Russo, 1996)。げっ歯類の乳発達には内因性アンドロゲンが必要である。そのため、げっ歯類モデルは、発がんの開始、促進および進行に関与する複合的な外部因子および内因性因子の一部を模擬することが指摘された。腫瘍のタイプおよび発生率は、暴露時の対象動物の齢、生殖歴および内分泌環境の影響を受ける。腫瘍の自然発生率は、ラットやマウスの系によって異なる。ラットでは、白血病は例外として大部分の自然発生的腫瘍は内分泌器官または内分泌の支配下にある器官に発生する。Russo and Russo（1996）は、メカニズムに基づく毒性学の知見はヒトのリスクを評価するにはまだ十分でなく、従来の長期試験とのみ合わせ、これにより確認すべきであるとした（JECFA, 2000)。

Fischer 344 ラットに 2 週間隔で 3,2′ ジメチル-4-アミノビフェニール（前立腺の発がん物質）を 50 mg/kg 体重で 10 回投与した。その後、20 週目からプロピオン酸テストステロンまたはジエチルスチルベストロールを皮下への埋め込みによって、30 日間投与と 10 日間休止のサイクルを 7 回として 40 週間投与した。テストステロンの間欠投与の結果、腹側前立腺腺がんの発生の抑制と、外側前立腺および精嚢での浸潤がんの発生率のわずかな(有意でない）上昇が見られた。ジエチルスチルベストロールは、腫瘍形成を完全に抑制し、プロピオン酸テストステロンと組み合せることにり前立腺腫瘍の発生が抑制された (Cui et al., 1998)。

雌ウサギ 19 匹にカプロン酸ヒドロキシプロゲステロンを 1 週おきに 13 mg の平均用量で筋肉内に、また雌ウサギ 21 匹にエナント酸テストステロンを 1 週おきに 15 mg の平均用量で筋肉内に投与した。どちらの投与も最高 763 日間行った。プロゲステロンを投与したウサギには多くの子宮内膜嚢胞が発生し、非定型性過形成を伴う場合もあった。また活発な乳汁分泌も認められた。テストステロンを投与した場合はウサギ 1 匹の子宮内膜に腺腫性ポリープが 2 つ誘発されたが、他に特記すべき子宮内膜の変化は認められず、対照群のウサギ 1 匹に同様のポリープが発生した。卵巣、副腎、甲状腺または脳下垂体などのその他の組織にも有意な変性は認められなかった。子宮内膜の前がん性変化またはがんは、認められなかった（Meissner and Sommers, 1966)。

テストステロンを混餌投与すると、マウスで子宮がんを、ラットで前立腺がんを誘発すると報告されている（Van Nie et al., 1961 ; Noble, 1977)。実験動物では、テストステロンの

発がん性を裏付ける証拠が充分にあると思われるが、ヒトでのデータは限定的である（EU SCVPH, 1999）。

（4）繁殖および催奇形性試験

雌の Sprague-Dawley 系ラットに妊娠 10 日目、10 mg のエストラジオール（5 匹）またはテストステロン（7 匹）を皮下に埋め込んだところ（25 mg/kg 体重に相当）、胚が完全に吸収された。対照群の妊娠したラットに同じ経路でデキストランを投与したところ、影響は全く認められなかった（Sarkar et al., 1986）。

JECFA（2000）によると、テストステロンを用いた生殖毒性の多世代試験は、高テストステロン濃度が雌雄ともの正常な生殖機能を阻害するため、実施されたことはないとされている。

EU SCVPH（1999）によるとはテストステロンによるホルモン刷り込み影響が、げっ歯類で報告されている。雌ラットでは、テストステロンの単回注射で生後雄性化すると、刷り込みによって子宮細胞のエストロゲン作用に対する反応が永久的に変化する（Mena et al., 1992）。さらに、ラットの雌の仔にテストステロンで刷り込みを行うと、インスリン耐性が生じ、成獣期における体脂肪の分布が変化する（Nilsson et al., 1998）。EU SCVPH（1999）は、これらの変化は、成獣雌ラットおよび成人女性で観察されたものと同様であり、この影響に関する用量反応推定値は、まだ得られていないとしている。

UK SGVPC（1999）は、一般論として、高レベルの外因性性ホルモンが生殖・発生の過程の多くの面を攪乱し、場合によっては永久的に攪乱することもありうるが、外因性性ホルモンへの低量環境暴露がヒトの生殖または発生に影響を与えたという証拠はない、としている。

（5）遺伝毒性

1～100 μg/mL 濃度のテストステロンは、シリアンハムスターの胚細胞において、用量反応関係は認められないが軽微な形質転換性を示した。これを培養すると、ベンゾ[a]ピレンの形質転換能が阻害された。テストステロンの形質転換効果はホルボールアセテートに

よって増幅されたが、デキサメタゾンによって完全に阻害された（Lasne et al., 1990）。

シリアンハムスター胚細胞の成長は、10～30 μg/mL のテストステロンまたはプロピオン酸テストステロンで培養したところ用量依存的に低下し、この 2 つの化合物は形態学的形質転換を起こす能力が等しかった。プロピオン酸は 1～30 μg/mL 濃度で用量依存性の細胞形質転換を誘発したのに対して、テストステロンは 30 μg/mL でのみ有効であった。これらの濃度のテストステロンおよびプロピオネン酸によって誘発される形質転換頻度は、1 μg/mL のベンゾ[a]ピレンによって誘発される頻度の半分であった。どちらのステロイドも、染色体異常もしくは異数性の発生頻度を有意に上昇させなかった。テストステロンは、hprt または Na^+/K^+ ATPase 遺伝子座の突然変異を誘発しなかった（Tsutsui et al., 1995）。

テストステロンおよびその他のステロイドを 2 mmol/L の最終濃度でヒト外科的切片、ラット肝臓、HepG2 細胞および仔ウシ胸腺から採取した DNA に添加した。テストステロンは、naked-DNA の付加体を生成しなかった。さらにまた、10～100 μmol/L のテストステロンで 24 時間培養した HepG2 細胞から分離された DNA にも付加体は認められなかった。テストステロンとエストラジオールを合わせたものを投与した Nobel ラットの背外側前立腺には DNA 鎖切断が認められたが、テストステロンだけを投与したラットには認められなかった（Ho and Roy, 1994）。

8～9 週齢の NBL/Cr ラットに、一方はテストステロンもう一方にはエストラジオールを含む 2 個の移植物を皮下に埋め込み、投与開始後 8、16 および 24 週目に屠殺した。放出率から、正常な血漿テストステロン濃度は維持されながら、エストラジール濃度は約 14 倍上昇することが推定された。付加体の量を ^{32}P-ポストラベル法によって測定した。前立腺には、投与にかかわらず 2 つの大きな内因性付加体と複数の微小斑点のあることが判明した。しかし、投与群においてこの 2 つの付加体の相対レベルは腹側前立腺で 1 および 10×10^9 から 0.5 および 3×10^9 に減少したのに対して、背外側または前方前立腺では減少しなかった。両方のホルモンを 16 週間投与したラットおよび 24 週間投与したラットの背外側前立腺には大きな付加体斑点がひとつ認められたが、8 週間投与したラットおよび対照群には認められなかった。この付加体の存在は、背外側前立腺の形成不全性病変の生起と同時に発生した。この付加体は、エストロゲン移植物を処置された雄ハムスターの腎臓で認めら

れた間接的なエストロゲン-DNA 付加体とも、Ⅰ-化合物とも異なっているようであった。著者らは、末梢における転換によりエストラジオールを生成することによる前立腺発がん性の亢進がおこった可能性があるとしている（Han et al., 1995）。

JECFA（2000）は、テストステロンだけを用いた場合、ほ乳類の細胞には染色体異常、突然変異または DNA 付加体が全く認めらなかったため、テストステロンには遺伝毒性がないと結論した。EU SCVPH（1999）は、テストステロンのラット肝臓 DNA への低レベルの共有結合が報告されている（Barraud et al., 1984）が、テストステロンまたはその代謝物が誘発する DNA 損傷に関する情報はないとしている。また、AU ACPH（2003）でも、テストステロンは遺伝毒性を有していないと結論している。

（6）その他の知見

1）免疫系に及ぼす影響に関する知見

テストステロン（0.9 mg を週に 2 回、3 週間投与）は、マウスの *Plasmodium Chabaudi*（マラリヤ）に対する抵抗性をコントロールする遺伝子を制限することにより、マラリヤに対する感受性を高めるとされている。この感受性亢進はテストステロンが排除された後も、少なくとも 12 週間持続する。これとは対照的に、脾臓細胞数の減少は、この期間で完全に回復した。このメカニズムには、ホルモン刷り込みが関与していると考えられる（Benten et al., 1997）。

雌マウスでは、テストステロン投与後に、対照群に比べて寄生虫数が減少した。感染用量の寄生虫を投与した後にテストステロンを投与しても、このような影響は認められなかった（Nakazawa et al, 1997）。

0.1 mg/kg 体重のテストステロンを投与した若いニワトリでは、総白血球、リンパ球数およびファブリキウス嚢の重量が有意に低下し、免疫の抑制を示した（Al-Afaleg and Homeida, 1998）。

2．3　ヒトにおける知見

（1）ヒトにおける医療上の知見

循環テストステロンの生理濃度は、男性の場合は3～10 ng/mL である。女性の場合は1 ng/mL 未満である。循環テストステロンの大部分は、副腎および卵巣源由来のデヒドロエピアンドロステロンとアンドロステロンの変換によって生じる。アンドロゲンは、正常なテストステロンレベルを回復するために精巣機能不全の男性の治療に用いられる。過剰アンドロゲンの影響、特に若年の少年における影響としては、声の低音化、座瘡、および顔の毛の成長があり、女性における影響としては脱毛や月経異常である。5 人の男性去勢者に対する臨床試験でテストステロンの細粒剤を 100 mg/日の用量で経口投与したところ、性的機能への影響は全くなかったが、400 mg/日の経口用量では十分な性的機能の回復に有効であることがわかった。したがって、100 mg/日（1 日当たり 1.7 mg/kg 体重に相当）の経口用量がこの試験における NOEL（無作用量）であった。閉経後の女性にテストステロン類似体のメチルテストステロンだけを投与した場合とエストロゲンと共に投与した場合の試験では、10 mg/日の用量でかなりの割合の女性で座瘡や多毛といった男性化徴候が誘発された。これらの影響は用量依存性および時間依存性であった。経口投与した場合、メチルテストステロンはテストステロンよりも効力が強い（JECFA, 2000）。

アンドロゲンは、正常なテストステロンを補充するために精巣機能不全の男性に治療的に用いられる。女性には、エストロゲン-アンドロゲンの併用が、閉経後のホルモン補充療法で用いられる（Sands and Studd, 1995；Wilson, 1996）。特に少年および若い女性のアンドロゲン過剰の影響例としては、男性化作用（脱毛、声の低音化、座瘡、顔の毛の成長、月経異常など）、エストロゲン様作用（男性の女性化など）、および毒性作用（浮腫および肝毒性作用、特に 17α置換を伴うもの）である。アンドロゲンを経口投与した場合の重大な副作用は、特に再生不良性貧血の治療の際に肝臓で認められるが、例えば性機能低下などの他の病気の治療中でも認められる。合併症としては、充血嚢胞および肝臓がんがある。テストステロンの血漿中濃度が上記の生理レベルまで上昇すると、卵胞刺激ホルモンおよび黄体形成ホルモンの分泌量が低下し、精巣の容積および精子生成量が減少する（Wilson, 1996；Griffin and Wilson, 1998）。

閉経後の女性に最高 10 mg/日の用量でアンドロゲン補充療法を 6 ヶ月以上行ったところ、メチルテストステロンなどの経口投与によるアルキル化アンドロゲンの男性化作用は、投与量および投与期間に依存性であることがわかった。アンドロゲンへの暴露を減少させる、

あるいはやめると、男性化作用は軽減された（Gelfand and Wiita, 1997）。テストステロンの17a 位のメチル化は、肝臓内の第一段階の代謝を効果的に低下させ、それによって生体内利用率は上昇する。したがって、テストステロンは治療的濃度で投与されると体循環に到達しうる（Griffin and Wilson, 1998）。

利用可能な唯一の経口テストステロンエステル製剤であるテストステロンウンデカノテートを、少年の思春期遅延の治療のため、1 日当たり 40 mg で 15～21 ヶ月間投与したところ、良好な結果が得られた。副作用は認められず、男性化の進行、精巣の発育、思春期関連の成長の加速化が認められた（Butler et al., 1992）。

100 mg の結晶状テストステロンを含むペレットを皮下に埋め込むと、この化合物は 1 mg/日の率で放出され、3 ヶ月目までに 0.5 mg に低下し、6 ヶ月目には 0.35 mg に低下する。閉経後の女性では、このような移植物は血清テストステロン濃度を対照群の濃度の 3 倍に上昇させる。有害作用としては綿毛のような顔の毛の発生、多毛、座瘡、および稀であるが変声および陰核巨大が認められる。エストロゲン移植物およびエストロゲンにテストステロンを加えた移植物は、低密度リポ蛋白コレステロールを低下させ、同じ割合で高密度リポ蛋白コレステロールを上昇させた（Sands and Studd, 1995）。

良性前立腺肥大および前立腺がんの発生に内因性アンドロゲンが果たす役割、ならびにアンドロゲン除去（ablation）の有効性について評価がされている（WHO, 1992 ; Osterling et al., 1997）。これらの疾患は前立腺のさまざまな部位で生じるが、統計学的に高い関連性がある。組織学的に確認できる前立腺がんの有病率は、地理的な場所で異ならないが、臨床的な前立腺がんへの進行は、環境因子および遺伝因子と関連する。これらの疾患は、思春期全体を通じて、またおそらく 40 歳までアンドロゲン濃度が正常だった男性においてのみ晩年に発症する。血清テストステロン濃度の差異は、前立腺がんの発症に地理的差異が生じる一つの原因として研究されてきた。オランダ人男性は日本人男性より平均血漿テストステロン濃度が高いことがわかり、これは統計学的に体重と関連がある。しかし、前立腺がんにかかった日本人男性の血清テストステロン濃度と前立腺がんにかかっていない男性の濃度との間に、差異は認められなかった（WHO, 1992）。

アンドロゲンおよびエストロゲンの血清中濃度と前立腺がんとの関係について、疫学的研究では一貫していないが、ほぼ陰性の結果が得られている（Dorgan et al., 1998 ; Ross et al., 1998）。アンドロゲン代謝のマーカー（グルクロン酸アンドロスタンジオールおよびヒドロテストステロン）との関連の可能性が一部の試験で認められて以降、アンドロゲンの生合成と代謝経路のどちらも包含した複合的なアンドロゲン依存性の多重遺伝子モデルが、前立腺がんの感受性には不可欠であることが示唆されている（Ross et al., 1998）。

経口投与したテストステロンの有効性が 5 人の男性去勢者において評価された。対照群にはプラセボを投与し、試験の参加者および調査者にはいずれの群に投与したのかは知らせなかった。最初の試験の結果、25 mg 用量のテストステロンは性欲、勃起、射精および全身の満足状態も含めたどの臨床検査パラメータにも影響しないことがわかった。2 回目の試験では、100 mg/日の用量は臨床検査パラメータに変化を生じさせなかったが、400 mg/日（1 日に 100 mg を 4 回）では十分有効であった（Johnsen et al., 1974）。30 mg/日のテストステロンを経口投与した場合の去勢者の性機能は回復されなかったが、100 mg/日では軽度の効果が認められた。20 mg のプロピオン酸テストステロンを注射により週 2 回投与すると、中程度の性能力が認められた。したがって、注射によるテストステロンの効果は、経口投与の場合の 16 倍以上高い（Foss and Camb, 1939）。

２．４　国際機関および諸外国における評価の概要

【JECFA（2000）における評価の概要】

テストステロンは、胃腸管および肝臓による不活性化のため、経口摂取した場合のバイオアベイラビリティが低い。テストステロンは、急性経口毒性が低い。反復投与後に実験動物に発生した有害影響は、ホルモン活性に起因するものであった。ホルモン効果は他の形態の毒性が現れる用量よりも低い用量で起こることから、ヒトの安全性評価に適していると判断された。テストステロンは、遺伝毒性を示さない。テストステロンで処理されたラットにおける前立腺がん発生率の上昇の原因は、この化合物のホルモン活性であった。また、テストステロンは胎児毒性を示す。

また、ADI（一日摂取許容量）を設定したが（後述）、JECFA は、製品が適正に使用される場合には、ウシの可食組織についてテストステロンに対する MRL（最大残留限界）を指定する必要はないと結論付けた。この結論の理論的根拠は、処理されたウシの平均ホルモ

ン濃度が無処理のウシの正常な生理学的濃度範囲に入っていることであった（van Leeuwen FX, 1991）。

【EU SCVPH（1999 および 2002）における評価の概要】

テストステロンに関するデータからは、定量的なリスク推定を行うことができない。テストステロンを含む、牛肉および食肉製品中に残留するホルモンについては、発生学的、免疫生物学的、神経生物学的、免疫毒性学的、遺伝毒性学的および発がん性への影響を生じると推測することができる。思春期前の子どもは高リスク集団であると考えられるが、入手可能なデータでは定量的なリスク評価を行うことができない。疫学的知見を考慮すれば、閾値濃度または ADI（一日許容摂取量）を確立することはできない。

EU SCVPH は、新たに 17 件の試験を委託した。2002 年 4 月に EU SCVPH は 2 回目のリスク評価を発表した。その中で EU SCVPH は、上記の委託研究で得られたデータに加え、1999 年のリスク評価以降に同領域の専門家による査読を経た科学文献で明らかにされた他の研究結果のデータを検討した。全体として、EU SCVPH（2002）では、以前の見解の妥当性を確認し EU SCVPH（1999）の報告書の見解を修正する根拠はないと結論付けた。

【UK SGVPC（1999）における評価の概要】

テストステロンが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、WHO/FAO 合同食品添加物専門家委員会（Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives： JECFA）によって設定された ADI（一日許容摂取量）と比較して非常に低い。テストステロンが肥育ホルモンとして使用されることによって消費者が暴露するであろうレベルは、これらのホルモンが一部の人々の体内で自然に産生される量と比較して非常に低い。また、UK SGVPC（1999）は、EU SCVPH（1999）報告書の結論に重大な疑義を挟み以下のような結論に達している。

EU SCVPH（1999）報告書で引用された主要な論文中で採用されている主張の科学的な論拠および推論方法について評価した。その結果、ホルモン処理された家畜由来の食肉の摂取に関連するリスクがこれまで考えられていたより高いかもしれないとの EU SCVPH（1999）の結論を支持することができない。

【AU ACPH（2003）における評価の概要（肥育ホルモン全体として）】

適性動物用医薬品基準(GVP)に従って市販の同化製剤を埋め込まれたウシの残留物は、毒性研究に基づいて容認されたMRL（最大残留限界）または許容範囲を逸脱しない。

新たな研究結果から、肥育ホルモンに関するオーストラリアの現行の規制上の立場を修正する根拠はない。適性動物用医薬品基準に従って肥育ホルモンで処理されたウシの肉を摂食することにより、消費者に明確な健康リスクが生じる可能性はないようである。

適性動物用医薬品基準の条件に基づく現在の肥育ホルモンの使用法を、APVMA（Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority）が再検討する必要性を示す新たな科学的証拠はない。

食事を通じた総ホルモン摂取量の評価の複雑さ、および各国際的フォーラムで表明された論争を呼ぶであろうことから、畜産動物における肥育ホルモンでの使用について、AU ACPH（Advisory Committee on Pesticides and Health）による継続的な検討を行うことが望ましい。

【IARCにおける評価の概要】

皮下注射または皮下への埋め込みしたテストステロンおよびそのエステルの作用は、詳細に評価されてきた（IARC, 1979）。IARCは、次のように結論した。テストステロンが実験動物において発がん性を示す十分な証拠がある。ヒトについては十分なデータが無いが、実際的には、テストステロンはヒトに発がんリスクをもたらすとの見解であった。IARCは、テストステロンを「グループ2A」に分類した（IARC, 1987）。

【FDAにおける評価の概要】

天然型のホルモンについては生理学的レベルの範囲内にある限り消費者に対するリスクは無視できるとして、ADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、MRL（最大残留限界）に相当する許容増加残留濃度（Allowable incremental residue level）を設定し、これを超える残留を認めていない（後述）。

テストステロンが承認された使用条件を守って使用されているとき、可食組織中におけるこれらの物質の濃度は、齢および性別の同じ無処理のウシに対して決定された通常の生理学的範囲内であると判断した。したがって、処理されたウシの肉に含まれる天然ホルモン残留物が消費者に対して及ぼすリスクは無視できると考えられる。FDAはADI（一日許容摂取量）は設定していない。ただし、ウシの可食組織におけるテストステロンのMRL

（最大残留限界）に相当する許容増分残留濃度（allowable incremental residue level）を設定している（後述）。ただし、これを超える残留を認めていない。

3．国際機関および諸外国における ADI（一日許容摂取量）の設定

【JECFA（1999）における設定】

男性去勢者の研究における 100 mg/日（1 日当たり 1.7 mg/kg 体重に相当）という NOEL および 1000 という安全率を参考にして、テストステロンについて 0～2 μg/kg 体重/日という ADI（一日許容摂取量）を決定した。高い安全率を使用したのは、感受性の高い母集団を保護するためと NOEL を決定した試験の被験者数（n=5）が少なかったためである。

無作用量（NOEL）	100 mg/日（1.7 mg/kg 体重/日）
安全係数	1000（個体差 10、感受性の高い母集団を保護 10、極めて重要な試験の集団規模が小さいため 10）
ADI	2 μg/kg 体重/日

【FDA における設定】

FDA はテストステロンに対して ADI を設定していない。

テストステロンに対する許容増加残留濃度（Allowable incremental residue level）は下記のように設定されている。

ウシ（非処理の可食組織）の場合：

筋肉	0.64 μg/kg 組織
脂質	2.6 μg/kg 組織
腎臓	1.9 μg/kg 組織
肝臓	1.3 μg/kg 組織

参考文献

AU ACPH (Advisory Committee on Pesticides and Health). A review to update Australia's position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs) used in cattle. 2003.

Al-Afaleq AI and Homeida AM. Effects of low doses of oestradiol, testosterone and dihydrotestosterone on the immune response of broiler chicks. Immunopharmacol Immunotoxicol. 1998 May;20(2):315-27.

Baird DT, Horton R, Longcope C, Tait JF. Steroid dynamics under steady-state conditions. Recent Prog Horm Res. 1969;25:611-64.

Barraud B, Lugnier A, Dirheimer G. Determination of the binding of trenbolone and zeranol to rat-liver DNA *in vivo* as compared to 17beta-oestradiol and testosterone. Food Addit Contam. 1984 Apr-Jun;1(2):147-55.

Benten WP, Ulrich P, Kuhn-Velten WN, Vohr HW, Wunderlich F. Testosterone-induced susceptibility to *Plasmodium chabaudi* malaria: persistence after withdrawal of testosterone. J Endocrinol. 1997 May;153(2):275-81.

Beral V, Hermon C, Kay C, Hannaford P, Darby S, Reeves G. Mortality associated with oral contraceptive use: 25 year follow up of cohort of 46 000 women from Royal College of General Practitioners' oral contraception study. BMJ. 1999 Jan 9;318(7176):96-100.

Braunstein GD. Testes. In: Basic and Clinical Endocrinology, 4th Edition (Greenspan FS and Baxter JD, Eds) Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut 1994;391-418.

Butler GE, Sellar RE, Walker RF, Hendry M, Kelnar CJ, Wu FC. Oral testosterone undecanoate in the management of delayed puberty in boys: pharmacokinetics and effects on sexual maturation and growth. J Clin Endocrinol Metab. 1992 Jul;75(1):37-44.

Carr BR. Disorders of the ovary and female reproductive tract. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;751-817.

Chang C, Saltzman A, Yeh S, Young W, Keller E, Lee HJ, Wang C, Mizokami A. Androgen receptor: an overview. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 1995;5(2):97-125.

Chiumello G, Guarneri MP, Russo G, Stroppa L, Sgaramella P. Accidental gynecomastia in children. APMIS. 2001 109(Suppl 103); S203-9. [EC study 12]

Cui L, Mori T, Takahashi S, Imaida K, Akagi K, Yada H, Yaono M, Shirai T. Slight promotion effects of intermittent administration of testosterone propionate and/or diethylstilbestrol on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-initiated rat prostate carcinogenesis. Cancer Lett. 1998 Jan 9;122(1-2):195-9.

DoH. (Dept. of Health). Nutritional Aspects of the Development of Cancer. Report on Health and Social Subjects 48. The Stationery Office, London 1998.

Dorgan JF, Albanes D, Virtamo J, Heinonen OP, Chandler DW, Galmarini M, McShane LM, Barrett MJ, Tangrea J, Taylor PR. Relationships of serum androgens and estrogens to prostate cancer risk: results from a prospective study in Finland. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1998 Dec;7(12):1069-74.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Assessment of potential risks to human health from hormone residues of bovine meat and meat products. 30th April 1999.

EU SCVPH (Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health). Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 10th April 2002.

FAO/WHO. Residues of Some Veterinary Drugs in Animals and Foods: Deltamethrin, Dihydrostreptomycin, Dramectine, Estradiol-17B, Neomycine, Phoxin, Procine somatotropins, Progesterone, Streptmycin, Testosterone, Thiamphenicol. (FAO Food and Nutrition Paper 41/12, 2000)

FDA (United States Food and Drug Administration). Code of Federal Regulations (CFR), Title 21, Part 522, 556 and 558.

Farthing MJ, Vinson GP, Edwards CR, Dawson AM. Testosterone metabolism by the rat gastrointestinal tract, *in vitro* and *in vivo*. Gut. 1982 Mar;23(3):226-34.

Folsom AR, Mink PJ, Sellers TA, Hong CP, Zheng W, Potter JD. Hormonal replacement therapy and morbidity and mortality in a prospective study of postmenopausal women. Am J Public Health. 1995 Aug;85(8 Pt 1):1128-32.

Foss GL and Camb MB. Clinical administration of androgens. Lancet, 1939 1:502-4.

Fotherby K and James FL. Metabolism of synthetic steroids. Adv Steroid Biochem Pharmacol. 1972 3: 67-165.

Gelfand MM and Wiita B. Androgen and estrogen-androgen hormone replacement therapy: a review of the safety literature, 1941 to 1996. Clin Ther. 1997 May-Jun;19(3):383-404.

Goldfien A and Monroe SE. Ovaries. In: Basic and Clinical Endocrinology, 4th Edition (Greenspan FS and Baxter JD, Eds) Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut 1994;419-70.

Griffin JE and Wilson JD. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;819-75.

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Joffe M, Rosner B, Fuchs C, Hankinson SE, Hunter DJ, Hennekens CH, Speizer FE. Postmenopausal hormone therapy and mortality. N Engl J Med. 1997 Jun 19;336(25):1769-75.

Han X, Liehr JG, Bosland MC. Induction of a DNA adduct detectable by ^{32}P-postlabeling in the dorsolateral prostate of NBL/Cr rats treated with estradiol-17beta and testosterone. Carcinogenesis. 1995 Apr;16(4):951-4.

Her C, Szumlanski C, Aksoy IA, Weinshilboum RM. Human jejunal estrogen sulfotransferase and dehydroepiandrosterone sulfotransferase: immunochemical characterization of individual variation. Drug Metab Dispos. 1996 Dec;24(12):1328-35.

Ho SM and Roy D. Sex hormone-induced nuclear DNA damage and lipid peroxidation in the dorsolateral prostates of Noble rats. Cancer Lett. 1994 Sep 15;84(2):155-62.

Hoffmann B and Evers P. Anabolic agents with sex hormone-like activities: Problems of residues. In: Drug Residues in Animals (Rico AG, Eds) Academic Press, New York. 1986;111-46.

Hoffmann B and Karg H. Metabolic fate of anabolic agents in treated animals and residue levels in their meat. Environ Qual Saf Suppl. 1976;(5):181-91.

Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W. The control of the interaction of sex hormone-binding

globulin with its receptor by steroid hormones. J Biol Chem. 1990 Apr 15;265(11):6048-54.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 21, Sex Hormones (II), Lyon, IARC Press, 1979.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Suppl. 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Vol. 1 to 42, Lyon, IARC Press, 1987.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, Vol. 72, Hormonal Contraception and Postmenopausal Hormone Therapy Lyon, IARC Press, 1999.

JECFA-WHO. Evaluation of certain veterinary drugs residues in food. Thirty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Commitee on Food Additives. WHO Technical Report Series 763, World Health Organization, Geneva 1988.

JECFA-WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-second meeting. Summary and Conclusions, Rome 2-11 February, 1999.

JECFA-WHO. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food: Prepared by the fifity-second meeting of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 43, World Health Organization, Geneva 2000.

Johnsen SG, Bennett EP, Jensen VG. Therapeutic effectiveness of oral testosterone. Lancet. 1974 Dec 21;2(7895):1473-5.

Johnsen SG, Kampmann JP, Bennett EP, Jorgensen FS. Enzyme induction by oral testosterone. Clin Ther. 1976 20: 233-237.

Kaijser M, Lichtenstein P, Granath F, Erlandsson G, Cnattingius S, Ekbom A. In utero exposures and breast cancer: a study of opposite-sexed twins. J Natl Cancer Inst. 2001 Jan 3;93(1):60-2. [EC study 13]

Karr JP, Kim U, Resko JA, Schneider S, Chai LS, Murphy GP, Sandberg AA. Induction of benign prostatic hypertrophy in baboons. Urology. 1984 Mar;23(3):276-89.

Kedderis GL and Mugford CA. Sex-dependent metabolism of xenobiotics. CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) Activities. 1998 Jul-Aug;18(7-8):1-7.

Kranz S, Pfeiffer E, Metzler M. Formation of DNA adducts of melengestrol acetate in precision-cut rat liver slices. Naunyn-Schm Arch Pharmacol. 2002 365(suppl 1): R140. ABSTRACT from the 43rd Spring Meeting of the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology, Mainz, Germany, March 12-14, 2002.

Lacroix D, Sonnier M, Moncion A, Cheron G, Cresteil T. Expression of CYP3A in the human liver--evidence that the shift between CYP3A7 and CYP3A4 occurs immediately after birth. Eur J Biochem. 1997 Jul 15;247(2):625-34.

Lasne C, Lu YP, Orfila L, Ventura L, Chouroulinkov I. Study of various transforming effects of the anabolic agents trenbolone and testosterone on Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis. 1990 Apr;11(4):541-7.

Meissner WA and Sommers SC. Endometrial changes after prolonged progesterone and testosterone administration to rabbits. Cancer Res. 1966 Mar;26(3):474-8.

Mena MA, Arriaza CA, Tchernitchin AN. Early postnatal androgenization imprints selective

changes in the action of estrogens in the rat uterus. Biol Reprod. 1992 Jun;46(6):1080-5.

Metzler M and Pfeiffer E. Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS. 2001 Feb;109(2):89-95. [EC study 2]

Miyamoto H, Yeh S, Lardy H, Messing E, Chang C. Delta5-androstenediol is a natural hormone with androgenic activity in human prostate cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1998 Sep 15;95(19):11083-8.

Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. J Clin Endocrinol Metab. 1995 Dec;80(12):3689-98.

Mullis PE, Yoshimura N, Kuhlmann B, Lippuner K, Jaeger P, Harada H. Aromatase deficiency in a female who is compound heterozygote for two new point mutations in the P450arom gene: impact of estrogens on hypergonadotropic hypogonadism, multicystic ovaries, and bone densitometry in childhood. J Clin Endocrinol Metab. 1997 Jun;82(6):1739-45.

Nagata K, Murayama N, Miyata M, Shimada M, Urahashi A, Yamazoe Y, Kato R. Isolation and characterization of a new rat P450 (CYP3A18) cDNA encoding P450(6)beta-2 catalyzing testosterone 6 beta- and 16 alpha-hydroxylations. Pharmacogenetics. 1996 Feb;6(1):103-11.

Nagelberg SB, Laue L, Loriaux DL, Liu L, Sherins RJ. Cerebrovascular accident associated with testosterone therapy in a 21-year-old hypogonadal man. N Engl J Med. 1986 Mar 6;314(10):649-50.

Nakazawa M, Fantappie MR, Freeman GL Jr, Eloi-Santos S, Olsen NJ, Kovacs WJ, Secor WE, Colley DG. Schistosoma mansoni: susceptibility differences between male and female mice can be mediated by testosterone during early infection. Exp Parasitol. 1997 Mar;85(3):233-40.

Nilsson C, Niklasson M, Eriksson E, Bjorntorp P, Holmang A. Imprinting of female offspring with testosterone results in insulin resistance and changes in body fat distribution at adult age in rats. J Clin Invest. 1998 Jan 1;101(1):74-8.

Noble RL. The development of prostatic adenocarcinoma in Nb rats following prolonged sex hormone administration. Cancer Res. 1977 Jun;37(6):1929-33.

Orth DN and Kovacs WJ. The adrenal cortex. In: Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition (Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM and Larsen PR, Eds.) WB Saunders Co., Philadelphia 1998;517-664.

Osterling J, Fuks Z, Lee CT, Scher HI. Cancer of the prostate. In: Cancer: Principles and Practice of Oncology, 5th Edition (DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA eds) Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997;1322-86.

Pacifici GM, Gucci A, Giuliani L. Testosterone sulphation and glucuronidation in the human liver: interindividual variability. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 1997 Jul-Sep;22(3):253-8.

Petitti DB. Hormone replacement therapy and heart disease prevention: experimentation trumps observation. JAMA. 1998 Aug 19;280(7):650-2.

Reventos J, Sullivan PM, Joseph DR, Gordon JW. Tissue-specific expression of the rat androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin gene in transgenic mice. Mol Cell Endocrinol. 1993 Oct;96(1-2):69-73.

Rosenfield RL. Role of androgens in growth and development of the fetus, child and adolescent. Adv Pediatr. 1972 19:172-213.

Rosner W. Plasma steroid-binding proteins. Endocrinol Metab Clin North Am. 1991 Dec;20(4):697-720.

Ross RK, Pike MC, Coetzee GA, Reichardt JK, Yu MC, Feigelson H, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. Cancer Res. 1998 Oct 15;58(20):4497-504.

Russo IH and Russo J. Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. Environ Health Perspect. 1996 Sep;104(9):938-67.

Saez JM, Forest MG, Morera AM, Bertrand J. Metabolic clearance rate and blood production rate of testosterone and dihydrotestosterone in normal subjects, during pregnancy, and in hyperthyroidism. J Clin Invest. 1972 May;51(5):1226-34.

Sands R and Studd J. Exogenous androgens in postmenopausal women. Am J Med. 1995 Jan 16;98(1A):76S-79S.

Sarkar K, Kinson GA, Rowsell HC. Embryo resorption following administration of steroidal compounds to rats in mid pregnancy. Can J Vet Res. 1986 Jul;50(3):433-7.

Schairer C, Adami HO, Hoover R, Persson I. Cause-specific mortality in women receiving hormone replacement therapy. Epidemiology. 1997 Jan;8(1):59-65.

Schlesselman JJ. Net effect of oral contraceptive use on the risk of cancer in women in the United States. Obstet Gynecol. 1995 May;85(5 Pt 1):793-801.

Seraj MJ, Umemoto A, Tanaka M, Kajikawa A, Hamada K, Monden Y. DNA adduct formation by hormonal steroids *in vitro*. Mutat Res. 1996 Aug;370(1):49-59.

Sonderfan AJ, Arlotto MP, Dutton DR, McMillen SK, Parkinson A. Regulation of testosterone hydroxylation by rat liver microsomal cytochrome P-450. Arch Biochem Biophys. 1987 May 15;255(1):27-41.

Sturgeon SR, Schairer C, Brinton LA, Pearson T, Hoover RN. Evidence of a healthy estrogen user survivor effect. Epidemiology. 1995 May;6(3):227-31.

Sturgeon SR, Schairer C, Brinton LA, Pearson T, Hoover RN. Evidence of a healthy estrogen user survivor effect. Epidemiology. 1995 May;6(3):227-31.

Swales NJ, Johnson T, Caldwell J. Cryopreservation of rat and mouse hepatocytes. II. Assessment of metabolic capacity using testosterone metabolism. Drug Metab Dispos. 1996 Nov;24(11):1224-30.

Tauber U, Schroder K, Dusterberg B, Matthes H. Absolute bioavailability of testosterone after oral administration of testosterone-undecanoate and testosterone. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 1986 Apr-Jun;11(2):145-9.

Tsutsui T, Komine A, Huff J, Barrett JC. Effects of testosterone, testosterone propionate, 17beta-trenbolone and progesterone on cell transformation and mutagenesis in Syrian hamster embryo cells. Carcinogenesis. 1995 Jun;16(6):1329-33.

UK SGVPC (Sub-Group of the Veterinary Products Committee, Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food). Executive summary and critical evaluation of the 1999 opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health. 1999.

van Leeuwen FX. The approach taken and conclusions reached by the joint FAO-WHO expert committee on food additives. Ann. Recher. Vet.1991; 22(3):253-256.

Van Nie, Benedetti EL, Muhlbock O. A carcinogenic action of testosterone, provoking uterine tumours in mice. Nature. 1961 Dec 30;192:1303.

WHO. Guidelines for the Use of Androgens in Men (WHO/HPR/MALE/92), Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. World Health Organization, Geneva 1992.

Wilson JD. Androgens. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition (Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, Eds.) McGraw-Hill, New York 1996;1441-57.

Wilson VS and LeBlanc GA. Endosulfan elevates testosterone biotransformation and clearance in CD-1 mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1998 Jan;148(1):158-68.

Yamazaki H and Shimada T. Progesterone and testosterone hydroxylation by cytochromes P450 2C19, 2C9, and 3A4 in human liver microsomes. Arch Biochem Biophys. 1997 Oct 1;346(1):161-9.

医学大辞典 （南山堂）