

令和元年 7 月 17 日

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋 殿

動物用医薬品専門調査会

座長 青山 博昭

動物用医薬品に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

平成 24 年 2 月 22 日付け厚生労働省発食安 0222 第 5 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたジエチルスチルベストロールに係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

別添

動物用医薬品評価書

ジエチルスチルベストロール

2019年7月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	5
I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態試験	8
(1) 薬物動態試験（マウス、ラット、牛及び羊）	8
(2) 代謝試験	8
2. 残留試験	9
3. 遺伝毒性試験	9
(1) 遺伝毒性試験	9
(2) 遺伝毒性メカニズムに関する知見	12
4. 急性毒性試験	12
5. 亜急性毒性試験	12
6. 慢性毒性及び発がん性試験	12
(1) 発がん性試験（マウス）	12
(2) 発がん性試験（発がんモデルマウス）①	13
(3) 発がん性試験（発がんモデルマウス）②	14
(4) 発がん性試験（周産期ばく露）	15
(5) その他の発がん性試験	15
(6) 発がん性メカニズムに関する知見	16
7. 生殖発生毒性試験	18
(1) 多世代にわたる発がん性影響試験（マウス）①	18
(2) 多世代にわたる発がん性影響試験（マウス）②	19
(3) 周産期ばく露による発がん性試験	20
(4) 周産期ばく露による精巣への影響（マウス）＜参考資料＞	20
(5) 周産期ばく露による性腺、性腺付属器官、腎臓への影響（マウス）＜参考資料＞	20

.....	20
(6) 周産期ばく露に関するその他の知見.....	21
8. ヒトにおける知見.....	21
(1) 妊娠中にDESを投与された女性（第一世代）における発がん性.....	21
(2) 妊娠中のばく露による次世代への影響.....	23
(3) その他の知見.....	24
III. 国際機関等における評価.....	26
1. JECFAにおける評価.....	26
2. EMEAにおける評価.....	26
3. IARCにおける評価.....	26
4. FDAにおける評価.....	26
IV. 食品健康影響評価.....	27
・ 別紙：検査値等略称.....	28
・ 参照.....	29

<審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2012年 2月 24日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について
要請（厚生労働省発食安0222第5号）、関係資料の接受
2012年 3月 1日 第421回食品安全委員会（要請事項説明）
2019年 2月 22日 第220回動物用医薬品専門調査会
2019年 5月 28日 第743回食品安全委員会（報告）
2019年 5月 29日から 6月 27日まで 国民からの意見・情報の募集
2019年 7月 17日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2019年 7月 23日 第750回食品安全委員会
（同日付で厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2012年6月30日まで)	(2015年6月30日まで)	(2017年1月6日まで)
小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長*）	佐藤 洋（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）	山添 康（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）	熊谷 進
野村 一正	三森 国敏（委員長代理）	吉田 緑
畑江 敬子	石井 克枝	石井 克枝
廣瀬 雅雄	上安平 湧子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

*：2011年1月13日から

*：2012年7月2日から

(2018年6月30日まで)	(2018年7月1日から)
佐藤 洋（委員長）	佐藤 洋（委員長*）
山添 康（委員長代理）	山本 茂貴（委員長代理*）
山本 茂貴	川西 徹
吉田 緑	吉田 緑
石井 克枝	香西 みどり
堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	吉田 充

*：2018年7月2日から

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2018年4月1日から)

青山 博昭 (座長)	島田 美樹	舞田 正志
小川 久美子 (座長代理)	下地 善弘	宮田 昌明
青木 博史	須永 藤子	吉田 敏則
石川 さと子	辻 尚利	渡邊 敏明
石塚 真由美	寺岡 宏樹	
島田 章則	能美 健彦	

要 約

ホルモン剤である「ジエチルスチルベストロール (DES)」(CAS No. 56-53-1) について、国際がん研究機関 (IARC) 報告書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態・代謝 (マウス、ラット、牛及び羊)、慢性毒性・発がん性 (マウス、ラット、ハムスター、リスザル及びカエル)、生殖発生毒性 (マウス及びラット)、遺伝毒性、その他の毒性試験等の試験成績である。

遺伝毒性試験では、突然変異誘発性は示さなかったが、染色体の数的異常を誘発し、遺伝毒性を有していた。染色体異常の作用機序は微小管の重合阻害によるものと考えた。

発がん性試験では、周産期ばく露ではマウス、ラット及びハムスターの各試験で F₁ 世代における発がんがみられた。発がんメカニズムは複数の要因の組合せによるものであり、主要な要因は、エストロゲン受容体 α (ER α) を活性化しエストロゲン反応性細胞の増殖及び侵襲性を刺激する作用並びに微小管の重合を阻害し染色体異常を誘発する作用と考えた。

生殖発生毒性試験では、マウスの試験で多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生率の増加がみられた。

ヒトにおける知見から、妊娠中にばく露を受けた女性の乳癌と関連していた。また、胎児期に子宮内でばく露を受けた女性の生殖器にがんを引き起こす等の知見も報告されている。

DES による発がんメカニズムについては、上記のような機序が考えられているが、現時点においては多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生のメカニズムや無毒性量を設定するための知見が不足しており、閾値の有無について判断できる状況にはないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、DES については許容一日摂取量 (ADI) を設定することは適当ではないと考えた。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

ホルモン剤

2. 有効成分の一般名

和名：ジエチルスチルベストロール

英名：Diethylstilboestrol (α,α' -Diethylstilbenediol)

3. 化学名

IUPAC

英名：4-[(*E*)-4-(4-Hydroxyphenyl)hex-3-en-3-yl]phenol

CAS (No. 56-53-1)

英名：4,4 [(*1E*)-1,2-Diethyl-1,2-ethenediyl]bisphenol

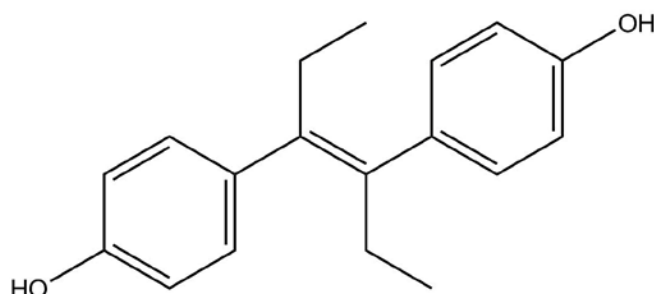
4. 分子式

$C_{18}H_{20}O_2$

5. 分子量

268.35

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況

ジエチルスチルベストロール (DES) は、エストロゲン様作用を有する非ステロイド性の合成ホルモン剤である。ヒト用医薬品として、流産の防止を目的として 1940～1970 年代にかけて広く使用されていた。また、機能不全月経周期 (dysfunctional menstrual cycles)、女性の性腺機能低下症、産後の乳房腫脹の予防等も目的として使用されていた。(参照 3～5)。過去には妊娠中に DES を投与された母親から生まれた女兒に、成長後に陰癌、子宮形成不全等が発生したとの報告がある。

また、DES の少量投与時には間脳・脳下垂体・精巣系のゴナドトロピン機能を抑制して抗アンドロゲン作用を発揮し、大量投与時には前立腺の 5α -リダクターゼを直接阻害することにより抗がん作用を発揮する。(参照 3)

現在では、妊娠中の DES の使用は多くの国で禁止され、他の適応症に対しても普及

していない。(参照 5)

海外では、動物用医薬品として肥育を目的に牛¹、羊及び家きんに用いられたが、その目的での使用は 1979 年に禁止された。日本では、動物用医薬品及びヒト用医薬品としての承認はない。(参照 4、6)

DES は、代表的な発がんプロモータ²として知られ(参照 3)、国際がん研究機関(IARC)の発がん物質分類では、Group 1 (ヒトに対して発がん性がある(carcinogenic to humans))に分類されている。(参照 5、7)

なお、ポジティブリスト制度導入に際して、食品において「不検出」とされる農薬等の成分であると規定されている。(参照 1)

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、動物用医薬品の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

² それ自体で遺伝子傷害性を示さず、その発がん促進作用により動物に長期間投与すると標的臓器にがんを誘発させる化学物質のことを指す。(参照 3、8)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、IARC 報告書（1974、1979、1987 及び 2012 年）等を基に、DES の毒性に関する主な知見を整理した。（参照 3～21）

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（マウス、ラット、牛及び羊）

DES は、経口投与後に容易に吸収され、生体全体に分布する。薬物動態試験に用いられた実験動物（霊長類を除く）では、胆汁中への排泄を介した広範な腸肝循環の後、主に糞便中に排泄され、尿中には痕跡程度の残留が検出された。

マウスに DES を投与（経路不明）し、胎盤通過性を調べた試験では、DES は胎児の血漿中濃度の 3 倍以上の濃度で胎児の生殖器に蓄積することが示されている。

ラットに放射標識した DES を静脈内投与し、全身オートラジオグラフィーにより調べた結果、放射活性は、投与 4 時間以内に肝臓及び小腸に蓄積され、投与 4 日後においてもこれらの組織から検出された。

去勢牛に放射標識した DES を単回経口投与した試験では、投与 10 日後において、小腸、糞及び尿中に残留がみられた。

牛に放射標識した DES を単回経口投与（10 mg）した試験では、肝クリアランスによる二相性の消失曲線を示した。生物学的半減期は、 α 相では 17 時間、 β 相では 5.5 日であった。

牛又は去勢牛に DES のペレットを皮下埋込み投与（24～36 mg、56～74 μ g/日相当の放出）した試験では、半減期は 80～90 日であった。

羊に放射標識した DES を単回経口投与した試験では、血漿中の放射活性の最高濃度は、投与 16 時間以内にみられた。放射活性は投与 120 時間後にほぼ完全に消失した。（参照 5）

(2) 代謝試験

マウス、ラット、ハムスター、モルモット、牛及び霊長類における代謝試験の結果が報告されている。

ヒトにおける DES の代謝は、他の種、特にヒト以外の霊長類と同様であった。ヒト（ボランティア）に注射投与された ^{14}C 標識 DES の 40%が、投与初日の尿中から回収され、グルクロン酸抱合体がその放射活性の 90%を占めた。グルクロン酸抱合体の 70%は DES と結合し、約 10%が dienoestrol と約 20%が ω -hydroxydienoestrol と結合していた。（参照 9）

ラットに DES 又は DES グルクロン酸抱合体を腸内挿管により投与した試験では、遊離体の DES は容易に上皮から吸収されたが、抱合体の場合は吸収前に腸内細菌叢による加水分解を必要とすることが示された。

DES が酸化されて生じるキノン代謝物（4,4'-diethylstilbestrol quinone）は、*in vitro* で DNA と結合することが示された。キノン代謝物は、ミクロソームモノオキシゲナーゼ（特に CYP1A1）、プロスタグランジン合成酵素及びペルオキシダーゼにより生成され、P450 還元酵素及びキサンチンオキシダーゼにより、セミキノン及び非酵素反

応を経て直接 DES に還元される。

キノン代謝物は *in vivo* においても生成され、DES を投与した雄のシリアンハムスターの腎臓、ACI ラットの乳腺組織及びラットの肝臓においてみられた。また、キノン代謝物は、DES を投与した妊娠シリアンハムスターの肝臓、腎臓、子宮及び胎盤で生成され、その胎児の肝臓及び腎臓でも生成された。DES の代謝物は、成体マウス及び妊娠マウスの雌の生殖器だけでなく、胎児の組織中にもみられた。キノン代謝物は、セミキノン中間体を経て、CYP による酸化還元を受けることが示された。

in vitro において、DES の酸化還元サイクル中に、DES のスーパーオキシドアニオンラジカルが生成した。DES を投与したハムスターの腎臓において、8-ヒドロキシデオキシングアノシン (8-OHdG) の濃度の上昇がみられ、DES が *in vivo* で DNA の酸化的損傷を誘発することが示された。さらに、脂質ヒドロペルオキシド及びマロンジアルデヒド-DNA 付加体の増加もみられた。また、DES を投与した ACI ラットの乳腺組織では、脂質ヒドロペルオキシドが増加することが示された。これらの脂質ヒドロペルオキシドは、CYP1A1 による DES のキノン代謝物への酸化を活性化する (co-activate)。

DES の投与は、グルタチオンペルオキシダーゼ、キノン還元酵素及びスーパーオキシドジスムターゼのような DES が誘導する酸化的ストレスから保護する酵素の活性を減少させた。雌ラットの乳腺組織では、DES の投与により、*Cyp1A1* 遺伝子の発現が増加したのに対して、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ及びスーパーオキシドジスムターゼをコードする遺伝子の発現は減少した。

DES の酸化的代謝は、シリアンハムスターにおける腎臓腫瘍の誘導、種々の *in vitro* 試験における遺伝的変化 (genetic change) の誘導及び子宮内で DES に周産期ばく露した動物におけるその他の腫瘍の誘導について中心的な役割を果たしている。しかし、これらの現象がヒトにおける DES への経胎盤ばく露の標的組織で起こるかどうかにについては明らかにされなかった。(参照 5)

2. 残留試験

残留試験のデータは提出されていない。

DES の残留については、1972 及び 1973 年に牛の筋肉及び羊の肝臓から検出された。DES が牛及び羊の成長促進剤として用いられた場合、消費者は最高濃度で 10 µg/kg の DES を含む牛肉及び羊肉でばく露された可能性があった。(参照 4)

3. 遺伝毒性試験

DES については、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験が多数実施され、その他の遺伝毒性に関する知見も多数得られている。

(1) 遺伝毒性試験

IARC 報告書を基に、代表的な *in vitro* 及び *in vivo* 試験の検査項目、試験対象及び結果の概要について表 1 に示した。

同じ検査項目について多数の試験結果が得られているものの、判定が付かない

(equivocal) 項目や結論に至らない (inconclusive) 項目もあった。(参照 5、10、11)

表 1 DES の遺伝毒性試験結果

区分	検査項目	試験対象	結果
<i>in vitro</i>	DNA 損傷試験	細菌	陰性
		真菌 (酵母)	陰性
	DNA 鎖切断試験	バクテリオファージ DNA	陽性 (西洋ワサビペルオキシダーゼ活性化系存在下)
		チャイニーズハムスター CHO-K1 細胞	陽性
		げっ歯類細胞	陽性
		ヒト細胞 (リンパ球培養細胞)	陽性
		ヒト細胞	陽性
	遺伝子突然変異試験	各種細菌	陰性
		真菌	陰性
		昆虫	陰性
		植物	陽性
		げっ歯類細胞	陰性
	染色体分離異常試験	ヒト細胞	結論に至らず (inconclusive)
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D61.M	(異数性 ^a 、欠損)
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター V79 細胞及びシリアンハムスター胚細胞	陽性 (異数性)
		げっ歯類細胞	陽性 (異数性)
		げっ歯類細胞 (ラット繊維芽細胞及び CHO-K1 細胞)	陽性 (異数性、構造異常 ^b)
		ヒト細胞 (リンパ球培養細胞)	陽性 (異数性)
		ヒト細胞	陽性 (異数性) 構造異常については結論に至らず (inconclusive)
	小核試験	げっ歯類細胞 (CHO、CHO-K1 及び CHL 細胞)	陽性
	姉妹染色分体交換試験	CHO-K1 細胞	陽性
		ヒト細胞	結論に至らず (inconclusive)
	不定期 DNA 合成試験	げっ歯類細胞	陰性
シリアンハムスター胚細胞		陽性 (アロクロール誘導した雄ラットの肝ポストミトコンドリア上清存在下)	
宿主経由試験 (DNA 修復試験)	ヒト細胞	大部分の試験で陰性 (mostly negative)	
	<i>Escherichia coli</i> マウス	陰性	

区分	検査項目	試験対象	結果
<i>in vivo</i>	染色体異常試験	骨髄細胞 マウス	陽性
		腎皮質細胞 雄シリアンハムスター	陽性
		腎臓近位尿細管細胞 雄シリアンハムスター (皮下移植)	陽性 (異数性)
	姉妹染色分体交換 試験	骨髄細胞 マウス	不明確 (equivocal)
		骨髄細胞 SD ラット	陽性
		子宮頸部上皮細胞 新生児マウス	陽性 (子宮及び腎臓上皮は陰性)
		骨髄細胞 マウス (腹腔内投与)	陽性
	小核試験	骨髄細胞 マウス	不明確 (equivocal)
		前期精子細胞 マウス 単回皮下投与 17 日後	陽性

a : aneuploidy b : chromosomal aberration

DES は、植物では突然変異を誘発したが、細菌や昆虫を用いた様々な試験系では突然変異を誘発しなかった。

Saccharomyces cerevisiae 及び他の酵母の系では、染色体の異数性を生じ、染色体欠損の誘導作用も示した。大部分の試験では、突然変異、組換え及び遺伝子変換 (gene conversion) を誘発しなかった。

ファージ及びプラスミド DNA を DES のキノン代謝物にばく露させた場合には、様々な変異が生じ、ある条件下ではこれらの大腸菌への形質移入により *lacZ* (α) 遺伝子の組換え頻度が上昇した。

DES は、活性化酵素 (西洋ワサビペルオキシダーゼ) 存在下でバクテリオファージの DNA に一本鎖切断を誘発するが、真菌 (酵母) 及び細菌では DNA 損傷を誘発しなかった。

DES は、アロクロールで前処理した雄ラットの肝ポストミトコンドリア上清の存在下で実施されたシリアンハムスター胚細胞を用いた試験を除き、突然変異又は不定期 DNA 合成を誘発しなかった。(参照 5)

DES は、マウスリンフォーマ L5178Y *Tk*^{+/−} 細胞を用いた染色体異常誘発物質 (clastogen) 及び紡錘糸毒検出試験において、陽性と判定された。(参照 12)

(2) 遺伝毒性メカニズムに関する知見

DES の染色体異常誘発の作用機序について調べられた。DES が、活性化系の存在下で無細胞系において微小管に共有結合すること、並びに *in vitro*、チャイニーズハムスターV79 細胞及びシリアンハムスター胚細胞を用いた系で微小管の重合を阻害することが、染色体の異数性誘発の基盤であると考えられた。この微小管損傷の性質は、他の同じように強いエストロゲンであり幾つかの系では同様に遺伝毒性を示すエストラジオールや 17 α -エチニルエストラジオールではみられず、DES に特徴的であるものと考えられた。(参照 5)

DES は、紡錘糸の伸長又は短縮を阻害し、数的異常を誘発する。(参照 3)

以上のように、DES は、ほぼ全ての遺伝毒性試験において突然変異誘発性を示さなかったが、多くの試験で染色体の数的異常を誘発し、遺伝毒性を有していた。染色体異常の作用機序は微小管の重合阻害によるものと考えられた。また、DNA 付加体を形成するとの報告もあるが、遺伝毒性試験の陽性結果は DNA との反応性に基づくものではないことから、非 DNA 損傷性遺伝毒性発がん物質と考えられた。

4. 急性毒性試験

急性毒性試験の知見は報告されていない。

5. 亜急性毒性試験

亜急性毒性試験の知見は報告されていない。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

IARC の発がん物質分類では、DES は Group 1 (ヒトに対して発がん性がある (carcinogenic to humans)) に分類されている。(参照 7)

DES については、発がん性に関する試験が多数実施された。以下に概要を示した。

発がんモデルマウスを用いた経口投与試験では、雌に卵巣、子宮内膜及び子宮頸部の腫瘍並びに乳癌が誘発された。rasH2 及び Xpa/p53 発がんモデルマウスの雄では、それぞれライディッチ細胞腫及び骨肉腫が誘発された。ラット (Wistar 系) の雌への皮下移植では、乳腺腫瘍が誘発された。周産期ばく露試験では、マウスにリンパ腫、子宮肉腫、腺癌並びに下垂体、膣及び卵巣腫瘍が誘発され、ラットには子宮腺癌並びに乳腺及び膣腫瘍が誘発された。去勢ハムスターでは、DES の移植後に腎臓腫瘍が誘発された。(参照 5)

(1) 発がん性試験 (マウス)

マウス (C57BL/6 系統、雌雄各 72 匹/群) に DES を 153 週間 (雄) 又は 143 週間 (雌) 混餌投与 (0、5、10、20、40、160、320 又は 640 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 飼料) し、発がん性試験が実施された。結果を表 2 に示した。

IARC では、甲状腺濾胞細胞腺腫の誘発がみられたと報告されている。(参照 5)

表2 DES 混餌投与による発がん性試験（マウス）における
甲状腺濾胞細胞腺腫の発生率

性別	投与量 (μg/kg 飼料)							
	0	5	10	20	40	160	320	640
雄	2/48 (4%)	0/51 (0%)	1/47 (2%)	3/48 (6%)	6/51 (11%)	27/51 (50%)	3/58 (5%)	0/43 (0%)
雌	13/64 (20%)	11/56 (20%)	10/51 (20%)	10/55 (18%)	16/61 (26%)	14/48 (29%)	4/60 (7%)	0/50 (0%)

(2) 発がん性試験（発がんモデルマウス）①

マウス乳癌ウイルス (MTV) に感染した発がんモデルマウスを用い、DES の混餌投与による 2 試験が実施された。

① 試験 1

MTV 感染マウス (C3H/HeN 系統、雌、192 匹/投与群、96 匹/対照群) に DES を 3、5、7 又は 9 週齢時から 133 週齢時まで混餌投与 (0 又は 640 μg/kg 飼料) し、発がん性が検討された。

結果を表 3 に示した。

卵巣、子宮内膜、子宮頸部等多くの部位に腫瘍が誘発され、中皮腫 (起源不明) がみられた。DES 投与開始時の週齢が、MTV 感染 C3H/HeN マウスの乳癌発症の主要因であると考えられた。(参照 5)

表3 MTV 感染 C3H/HeN 雌マウスにおける DES 混餌投与による腫瘍発生率

種類	対照群	投与開始時週齢			
		3	5	7	9
卵巣顆粒細胞腫	6/75 (8%)	0/181	1/180 (0.5%)	3/183 (2%)	0/183
卵巣管状腺腫	16/75 (21%)	1/181 (1%)	24/180 (13%)	44/183 (24%)	59/183 ^a (32%)
下垂体腺腫	1/67 (1%)	8/173 (5%)	10/180 (6%)	16/180 (9%)	21/179 ^b (12%)
子宮内膜癌	(0/77)	0/182	6/189 (3%)	9/191 ^c (5%)	8/192 (4%)
子宮頸癌	(0/77)	0/182	5/189 (3%)	13/191 ^d (7%)	9/192 ^d (5%)
中皮腫	(0/77)	0/182	13/189 (7%)	28/191 (15%)	29/192 ^a (15%)
乳癌	(0/73)	0/182	0/189	4/185 (2%)	3/182 (2%)

a: p<0.0001、b: p<0.0065、c: p<0.0449、d: p<0.05

② 試験2

MTV 感染マウス (C3H/HeN 系統、雌、48~72 匹/投与群、312 匹/対照群) に DES を 4、8、26 又は 140 週間混餌投与 (0、320 又は 640 µg/kg 飼料) し、発がん性が検討された。

結果を表 4 に示した。

投与による乳癌発生率の上昇がみられた。(参照 5)

表 4 MTV 感染 C3H/HeN 雌マウスにおける DES 混餌投与による乳癌発生率

投与量 (µg/kg 飼料)	投与期間 (週)			
	4	8	26	140
320	59/71 (83%)	60/72 (83%)	69/72 ^a (96%)	68/72 ^a (94%)
640	45/48 (94%)	46/48 ^a (96%)	46/48 ^a (96%)	47/48 ^a (98%)

対照群の乳癌発生率 : 234/295 (79%) a: p<0.05

(3) 発がん性試験 (発がんモデルマウス) ②

遺伝子改変により作成した発がんモデルマウスを用い、経口投与時における DES の発がん性について検討された。

結果を表 5 に示した。

c-Ha-ras 遺伝子導入マウスでは、雄の精巣にライディッヒ細胞腫がみられ、Xpa/p53 ノックアウトマウスでは、雄に骨肉腫及び精巣間質細胞腺腫の発生がみられた。(参照 5)

表 5 遺伝子改変発がんモデルマウスを用いた DES の経口投与による発がん性試験

試験	系統/性別/匹数	投与量	投与期間	腫瘍発生所見
1	Tg.AC ^a 雌雄各 15 匹/群	0、30、240、480 µg/kg 体重 (強制経口投与)	27 週間 (2 回/週、27 週 は週 1 回投与)	前胃乳頭腫及び皮膚腫瘍の発 生率に投与による影響なし (雌雄)
2	p53 ^{+/-} transgenic ^b 雌雄各 15 匹/群	0、50、250 mg/kg 飼料 (雄)、0、 500、1,000 mg/kg 飼料 (雌) (混餌投与)	26 週間	精巣間質細胞腫 (雄) 及び下 垂体腺腫 (雌) の発生率に野 生型との統計的有意差なし
3	CB6F1-rasH2 transgenic ^c 雌雄各 15 匹/群	0、0.1、0.3、1.0 mg/kg 飼料 (混餌投与)	26 週間	1.0 mg/kg 飼料投与群 : 精巣 ライディッヒ細胞腫 (雄、 4/15 例)
4	Xpa/p53 ^d 雌雄各 15 匹/群	0、1,500 µg/kg 飼 料 (混餌投与)	39 週間	1,500 µg/kg 飼料投与群 : 骨 肉腫 (雄、5/6 例)、精巣間質 細胞腺腫 (雄、4/6 例)

a : 変異原性又は非変異原性発がん物質の局所投与試験において投与部位に乳頭腫を形成するトランスジェニックマウス b : p53 ヘテロ型ノックアウトマウス c : ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス d : Xpa ホモ型及び p53 ヘテロ型の二重ノックアウトマウス

(4) 発がん性試験（周産期ばく露）

① マウス及びラット

妊娠動物に DES を皮下投与又は腹腔内投与し、周産期ばく露試験が実施された。雌マウス (F₁) においてリンパ腫、子宮肉腫、腺癌並びに下垂体、膣及び卵巣腫瘍が誘発された。雌ラット (F₁) においても、子宮腺癌並びに乳腺及び膣腫瘍が誘発された。(参照 5)

② マウス

DES を投与された新生児マウス (雌) では、子宮頸部の類表皮癌及び顆粒細胞性筋芽腫 (granular-cell myoblastomas) 並びに膣の扁平上皮癌が発生した。

出生前に DES を投与されたマウスでは、子宮、子宮頸部及び膣に腺癌及び類表皮癌が、卵巣及び乳腺に腫瘍がそれぞれ発生した。(参照 7)

③ ラット

DES を妊娠ラット (0.015~0.6 mg/kg 体重の用量を妊娠 13、16、18 及び 20 日に) 又は F₁雌児動物 (0.2~10 mg/kg 体重を生後 3 週間) のいずれか又はその両者に皮下投与したところ、観察した 10 匹の F₁雌動物の生殖器官で腫瘍の発生が認められた (膣扁平上皮癌 2 例、子宮内膜腺癌 1 例、卵巣腺癌 1 例)。対照群ではこのような腫瘍の発生はみられなかった。(参照 13)

プロゲステロンに対するエストロゲン比の増加に伴い発がん物質に感受性を示す系統の Donryu ラットに、DES を 0.01 又は 0.1 mg/kg の用量で妊娠 17 日目及び 19 日目に皮下投与したところ、胎児期における DES のばく露により子宮癌 (腺癌) が発生した。(参照 4)

出生前に DES のばく露を受け、約 50 日齢で 7,12-ジメチルベンゾ[a]アントラセンを投与されたラットで、乳腺の腫瘍発生が増強された。(参照 7)

④ ハムスター

出生前に DES を投与したハムスターにおいて、雌では子宮内膜腺癌、子宮頸部及び膣の扁平上皮細胞乳頭腫並びに子宮頸部の混合性ミュラー (Mullerian) 腫瘍 (筋肉腫) の発生がみられ、雄では精嚢腺の平滑筋肉腫 (leiomyosarcoma) 及びカウパー腺腫がみられた。(参照 7)

(5) その他の発がん性試験

① マウス、ラット、ハムスター及びリスザル

DES を、マウスに経口投与、皮膚局所及び皮下投与、マウス、ラット、ハムスター及びリスザルに皮下埋込み投与並びにハムスターに皮下投与し、発がん性試験が実施された。

マウスでは、生後 1 日のみのばく露例も含めて、乳腺及びリンパ系の腫瘍 (雌雄)、精巣の間細胞腫 (雄) 並びに子宮頸部及び膣の腫瘍 (雌) の発生が増加した。ラットでは、下垂体、乳腺及び膀胱の腫瘍発生が増加した。ハムスターでは、去勢した雄及

び雌並びに未去勢の雄で腎臓腫瘍の発生が高頻度で見られ、未避妊雌ではみられなかった。リスザルでは、子宮漿膜の悪性中皮腫がみられた。

乳腺腫瘍が自然発生するマウスの系統では、DES 投与により乳腺腫瘍が増加し、ウイルスの存在が関係している可能性が考えられた。また、このような腫瘍に対し特に遺伝的感受性を有する系統では、精巣腫瘍が発生した。ラットではウイルスの関与について報告はない。膀胱腫瘍は膀胱結石があるラットでのみ発生した。

埋込み投与試験では、ほとんどの場合、発がん影響を示す用量の正確な評価はできなかった。しかし、経口投与試験では、マウスで乳癌を生じた統計的に有意 ($p < 0.01$) な最低投与量は約 $0.15 \mu\text{g}/\text{日}$ ($6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) であった。この投与量は、ヒトにおいて更年期症状の調節に使用される量 ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) とほぼ同じで、乳癌又は前立腺癌の抑制に使用される量 ($300 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) の $1/30$ 以下であった。(参照 13、14)

② マウス

DES を混餌投与した雌マウスでは、子宮頸部及び子宮内膜の腺癌、乳癌、骨肉腫並びに中皮腫が発生した。

また、皮下投与したマウスでは、リンパ腫及び皮下線維肉腫 (subcutaneous fibrosarcoma) の発生がわずかに増加した。(参照 7)

③ ラット

DES のペレットを皮下投与したラットでは、乳腺及び下垂体の腫瘍が発生した。これらの動物に X 線又は中性子線を照射した場合には、乳腺腫瘍の発生率が増加した。

また、皮下、経胎盤又は経口投与した試験では、ラットに乳腺、肝臓及び下垂体の腫瘍が発生した。(参照 7)

④ ハムスター

シリアンハムスター及びヨーロッパハムスターの雄に DES のペレット (25 mg) を皮下埋込み投与した試験では、腎臓及び下垂体前葉の腺腫及び腺癌並びに精巣及び副腎の腺腫が発生した。ヨーロッパハムスターの方が感受性が高く、肝臓腫瘍 (腺腫、胆管細胞癌及び肝細胞癌) の発生もみられた。(参照 13)

成体時に去勢し DES を皮下投与した雄のハムスターには、腎腫瘍がみられた。(参照 7)

ハムスターにリン酸ポリジエチルスチルベストロールを皮下投与した試験では、腎臓腫瘍が発生した。(参照 13)

⑤ ラット及びカエル

ラット及びカエルにジプロピオン酸ジエチルスチルベストロールを皮下投与した試験では、ラットに下垂体腫瘍が、カエルには造血組織の腫瘍が発生した。(参照 13)

(6) 発がん性メカニズムに関する知見

DES は、代表的な発がんプロモータ²の一つとして知られている。(参照 3)

一般に発がん物質は、大きく遺伝毒性発がん物質と非遺伝毒性発がん物質の2種類に分類され、DESは一般には非遺伝毒性発がん物質に分類される。すなわち、狭義の遺伝毒性(変異原性)を示さない発がん物質である。今回取りまとめた知見においても、DESは非DNA損傷性遺伝毒性物質であることが示された。

非遺伝毒性発がん物質は、DNAを傷害することなくがんの発生頻度を増す。可能性のある発がんメカニズムは複数あり、その多くは発がんプロモーションとは別に分類される。多くの非遺伝毒性発がん物質は受容体に結合するが、これら受容体は組織浸潤や血管新生作用のような増殖又は発がんプロモーション作用を刺激する。エストロゲン様の発がん性物質(DES等)はエストロゲン受容体 α (ER α)を活性化し、エストロゲン反応性細胞の増殖及び侵襲性を刺激する。(参照8)

- ① DESの発がん性メカニズムに関する知見の概要は、以下の通りである。構造解析により、DES及び代謝物のいずれについても、変異原性に関する潜在的な警告構造はないと結論された。さらに、動物におけるDESの発がん作用は、ERのリガンドにかかわる分子の一部の存在によるものであり、遺伝毒性³によるものではないことが示された。(参照15)
- ② 外因性のエストロゲン及びエストロゲン活性を示す物質(DES、エストラジオール等)の投与により、プロラクチン産生細胞の腫瘍が発生するのは、エストロゲンのプロラクチン分泌機構への直接刺激が原因と考えられる。(参照3)
- ③ *in vitro*において、ラットの肝臓及び乳腺のミトコンドリアは、DESを4',4"-ジエチルスチルベストロールキノンに酸化的に代謝し、DESキノンをDESに還元した。シリアンハムスターにDESを投与し、³²Pポストラベル法で調べたところ、腎臓のミトコンドリアDNAに付加体の形成がみられた。ラットに投与した場合は、肝臓のミトコンドリアDNAに同様の付加体が誘発され、核のDNAよりも高い頻度でみられた。また、ER α 及び β は、両者ともにミトコンドリアで同定された。このように、ミトコンドリアがDESの標的部位と考えられ、DESのミトコンドリアへの作用が発がん性にかかわっていると考えられる。(参照5)
- ④ 子宮内ばく露後、マウスの胎児組織でDESの酸化的代謝が起こり、DESが胎児の標的組織(子宮)でDNAに共有結合するという幾つかの報告がある。動物の細胞及び組織では、DESがDNAに共有結合し、DNA及び脂質の酸化的損傷(oxidative damage)を引き起こす。これらのうちの幾つかの組織は、動物におけるDES誘導性のがんの標的として知られている。(参照5)
- ⑤ DESは、ヒト及び動物の細胞に染色体の異数性を引き起こす。これは、微小管への干渉作用によるものと考えられ、この作用には酸化的代謝活性化が必要とされる。また、DESは、染色体切断その他の染色体異常を誘発する。これは、DES誘発性発がんの主要なメカニズムと考えられる。(参照5)
- ⑥ DESは、*in vitro*で初代動物胚細胞を不死化し、ヒト乳腺腫瘍細胞株に形質転換させる。また、ヒト及び動物の子宮頸部及び子宮の細胞の増殖を促進し、新生児期及

³ 狭義の遺伝毒性(=変異原性)

び春機発動期前にばく露した動物の DES 標的組織(子宮)の細胞増殖を促進する。
(参照 5)

- ⑦ マウスの新生児の DES ばく露では、標的組織(前立腺及び子宮)における遺伝子発現及び DNA メチル化のパターンに持続的な変化を引き起こし、ばく露したマウスの乳腺及び前立腺組織では、ホルモン応答性が恒久的に変化したという幾つかの報告がある。また、新生児ばく露したマウスでは、前立腺の炎症性病変及び異形成病変が観察されている。

細胞増殖促進、遺伝子発現及び前立腺への影響を含む DES の作用の幾つかは、主に ER α を介している。

DES の周産期ばく露によるヒト及び動物の免疫系に及ぼす影響についても、報告がある。(参照 5)

- ⑧ DES の発がん性には、二つ又はそれ以上の要因の組合せがかかわっていると考えられる。主な要因として ER を介する作用及び遺伝毒性の両者が含まれるが、他の要因の関与も考えられる。子宮内ばく露、及びげっ歯類では新生児ばく露により引き起こされた生殖器系における初期発生の変化は、ヒト及び動物における DES の経胎盤性の発がん機構にかかわる組織及び細胞環境を構築する後成的(epigenetic)な結果であると考えられる。(参照 5)

以上の知見から、DES は、非 DNA 損傷性遺伝毒性発がん物質であり、DNA を傷害することなくがんの発生頻度を増すと考えられる。発がんメカニズムは、複数の要因の組合せによると考えられ、主要なものは、ER α を活性化しエストロゲン反応性細胞の増殖及び侵襲性を刺激する作用並びに微小管の重合を阻害し染色体異常を誘発する作用と考えられた。

7. 生殖発生毒性試験

DES は、幾つかの動物種で着床前及び着床後の胚に対し致死性を示し、生殖器系に催奇形性を示した。このことは、これらの組織で観察された DES の発がん性について重要な意味があると考えられた。(参照 13)

周産期に DES を投与し多世代にわたる発がん性が調べた試験の概要を以下に示した。

周産期ばく露による発がん性試験については、慢性毒性及び発がん性試験 [II. 6. (4)]に記載した。

(1) 多世代にわたる発がん性影響試験(マウス) ①

妊娠マウス(CD-1系、雌、匹数不明)を用い、2%エタノールを含むオリーブオイルに溶解した DES を妊娠 17 日に 1 $\mu\text{g/g}$ 体重の用量で注射投与(投与部位不明)して、出生前に DES にばく露したマウス(F₁)を得た。このマウスの雌と非ばく露対照マウスの雄とを交配し、得られた世代(F₂)の雌を更に非ばく露対照マウスの雄と交配して次の世代(F₃)のマウスを得た。この世代の雌について、腫瘍発生率が調べられた。

結果を表 6 に示した。

F₃世代の雌における生殖器系腫瘍の発生率は、脂肪含量が同じ飼料を与えられたそれぞれの非ばく露の対照群よりも有意に高かった。(参照 5、16)

表 6 F₃世代 (DES 系統マウス-2) の雌における生殖器系腫瘍の発生率

飼料中脂肪含量 ^a (%)	生殖器系腫瘍 ^b の発生率 (%)	
	DES 投与群	対照群
2.6	31/61 (51%) ^c	11/66 (17%)
29	25/54 (46%) ^d	18/68 (26%)

a : DES ばく露マウス及び DES 系統マウスにおいて 4 週齢まで給与された飼料中脂肪含量。その他のマウス及び期間には、市販飼料が給与された。 b : 卵巣、子宮、子宮頸部 (腺癌) 及び乳腺腫瘍 (腺癌及び肉腫) の合計 c : p<0.001 d : p<0.05

(2) 多世代にわたる発がん性影響試験 (マウス) ②

妊娠マウス (CD-1 系、雌、匹数不明) を用い、コーンオイルに溶解した DES を妊娠 9~16 日 (器官形成期間 : 2.5、5 又は 10 µg/kg 体重) 又は妊娠 18 日 (出生前 : 1,000 µg/kg 体重) に皮下投与した。また、妊娠時には投与せず、生まれた児動物に出生後 5 日間皮下投与 (0.002 µg/児動物/日) した。これらの周産期にばく露した F₁ 世代の雌を成熟させ、非ばく露の雄と交配し、得られた児動物 (F₂) の腫瘍発生率が調べられた。

結果を表 7 及び 8 に示した。

児動物 (F₂) では生殖器系腫瘍の増加が認められた。

雌 (F₂) では子宮腺癌の発生率が対照群より有意に高く、F₁ 世代の雌の発生段階のいずれの時期のばく露においても、雌 (F₂) において子宮腺癌の発生がみられた。肝臓、肺その他の臓器の腫瘍発生は対照群と比較して有意な差はみられなかった。

雄 (F₂) では、精巣網の増殖性病変 (過形成及び腫瘍) の発生率が有意に高く、精巣網が雄における DES の世代間にわたる影響の標的であることが示唆された。また、生殖器系の稀な腫瘍である良性及び悪性の精囊腺腫瘍 (乳頭腫及び肉腫) の発生がみられた。(参照 4、5、17、18)

表 7 F₂世代の雌における子宮腺癌発生率

試験群	F ₁ 世代の雌の DES ばく露の時期	投与量 (µg/kg 体重/日)	子宮腺癌発生率 (%)
対照群	—	—	0/55
投与群	子宮内における器官形成 期間 (妊娠 9~16 日)	2.5	5/64 ^a (8%)
		5	8/72 ^b (11%)
		10	0/40
	出生前 (妊娠 18 日)	1,000	1/48 (2%)
	出生後 5 日間	0.002 µg/児動物/日	5/65 ^a (8%)

a: p<0.05 b: p<0.01

表 8 F₂世代の雄における精巣網の増殖性病変（過形成及び腫瘍）の発生率

試験群	F ₁ 世代の雌のDES ばく露の時期	投与量 (μg/kg 体重/日)	精巣網の増殖性病変発生率 (%)
対照群	—	—	3/53 (6%)
投与群	子宮内における器官形成期間 (妊娠 9~16 日)	2.5	15/73 ^a (21%)
		5	27/83 ^{b,c} (32%)
		10	17/49 ^b (35%)
	出生前 (妊娠 18 日)	1,000	5/52 ^c (10%)
	出生後 5 日間	0.002 μg/兎動物/日	7/23 ^b (30%)

a: p<0.05 b: p<0.01 c: 腫瘍 1 例含む

(3) 周産期ばく露による発がん性試験

慢性毒性及び発がん性試験 [II. 6. (4)]に記載した。

(4) 周産期ばく露による精巣への影響（マウス）＜参考資料＞

妊娠マウス (ICR/JCL 系、雌、匹数不明) を用い、3%ポリエチレングリコールを含むタイロド溶液に溶解した DES を、妊娠 15 日から 19 日まで 9 μg/h の用量で尾静脈に連続投与し、妊娠 15 及び 17 日目の胎児の精巣並びに妊娠 19 日目に帝王切開で取り出された哺育 1、3、5、30 及び 60 日目のマウスの精巣を用い、精巣への影響を調べた。

胎児期から哺育 3 日目までの精巣の細胞数は、DES 投与群と対照群で差はなかったが、哺育 5 日目以降では DES 投与群の細胞数が多くなり、哺育 30 及び 60 日目では対照群の 2~3 倍であった。一方で、間細胞の分裂活性は哺育 3 日目までが高く、5 日目以降は対照群と同程度まで低下した。また、間質域の面積についても哺育 3 日目までに著しい拡大と結合組織の発達がみられ、5 日目以降は対照群と同程度まで縮小した。精細管断面数に対する精子が認められる断面数の割合 (spermatogenic index) は、哺育 30 日目では DES 投与群と対照群で差はなかったが、60 日目では DES 投与群が有意に低下した。(参照 19)

(5) 周産期ばく露による性腺、性腺付属器官、腎臓への影響（マウス）＜参考資料＞

妊娠マウス (系統不明、雌、匹数不明) を用い、3%ポリエチレングリコールを含むタイロド溶液に溶解した DES を、妊娠 15 日から 19 日まで 9 μg/h の用量で尾静脈に連続投与し、胎児の出生前及び出生後の性腺並びに性腺付属器官及び腎臓の形態変化を調べた。

生後 10 日で卵巣を除去した 30 日齢のマウスの膈上皮に増殖及び角化の誘導が認められたことから、胎児期の DES ばく露によって膈上皮に不可逆的变化が誘導されたと考えられた。

また、肥大細胞の集合結節が生後 1~4 日後の膈上皮に出現したが、出生日及び胎児期には観察されなかった。この集合結節の出現はエストラジオール 17β の新生児期投与による結節の出現と時期がほぼ一致していた。

さらに、生後 4 及び 30 日後の子宮に上皮の増殖がみられたほか、出生直後の精巣では散在した精細管と増大した間質域がみられた。この所見は妊娠 15 日目の正常胎児の精巣と類似していることから、胎児期の DES ばく露によって精細管及び間質の発達が抑制されたと考えられた。

胎児期に DES ばく露された雌マウスの腎臓は、出生後 3 日目まで皮質と髄質の境界が不明瞭であり、腎小体が髄質相当部にもみられ、腎細管や集合管の拡大が顕著であった。この所見についても妊娠 15 日目の正常胎児の腎形態と類似しており、胎児期の DES ばく露によって腎臓の発達が抑制されたものと考えられた。また、この腎臓の変化は雄では出生当日しかみられず、この性差は胎児の精巣アンドロゲンが DES に拮抗的に作用したものと推察された。さらに、胎児期の DES ばく露は、妊娠 16 日以降に生後まで持続する尿道腺上皮の増殖を誘導した。(参照 20)

(6) 周産期ばく露に関するその他の知見

マウスでは、DES の子宮内ばく露により、永続的なミューラー管構造が生じ、雌雄の生殖器系に異常が生じた。これは、DES のばく露を受けたヒトにみられるものと類似していた。

DES の子宮内ばく露 (妊娠 9~16 日) により、マウス (3~14 か月齢) において、子宮、子宮頸部及び膣の変化に加え、卵巣の異常が生じ、*ex vivo* で卵巣におけるプロゲステロン、エストラジオール及びテストステロンの産生が増加した。(参照 5)

8. ヒトにおける知見

ヒトにおける DES ばく露は、主に治療による経口投与であった。服用量は、更年期及び卵巣摘出後の症状の治療には 0.1~0.5 mg/日、産後の乳房腫脹の防止には 5 mg を 1 日 1~3 回、機能不全性子宮出血には 5 mg を 1 日 3~5 回、女性の性腺機能低下症には 1 mg/日であった。緊急避妊薬としては、25 mg を 1 日 2 回 5 日間の服用であった。

老人性膣炎 (萎縮性膣炎) 及び外陰ジストロフィーには、1 mg/日で服用され、または、1 mg/日までの用量で坐薬として用いられた。

閉経後の女性の乳癌治療には 10~20 mg/日、前立腺癌の治療には 1~3 mg/日で用いられた。(参照 5)

(1) 妊娠中に DES を投与された女性 (第一世代) における発がん性

ばく露群及び非ばく露群の女性を追跡した多数のコホート研究が実施され、妊娠中の DES ばく露によるその後の乳癌リスクに対する影響が評価された。

試験 1~4 では、ばく露群の女性にリスクの増加がみられた。そのうちの 2 試験 (試験 1 及び 2) は無作為化試験であった。

結果を表 9 に示した。

これら 4 試験からの全体的相対リスクは、1.5 ($p=0.001$) であった。

試験 5 では、DES ばく露群 (投与量中央値 1.5 g) の女性 408 人が経過観察された。地域の乳癌発生率に基づく期待値 8.1 例に対し、8 例の乳癌発生がみられた。

この試験を上記の 4 試験と合わせて考慮した場合、全体的な相対リスクは、1.4 ($p=$

0.0016) となった。(参照 7)

試験 6 は、試験 3 (1984 年) で調べられたコホートについて、その後更に追跡し、1993 年に報告されたものである。試験 3 の相対リスクは 1.47 であったが、試験 6 では 1.35 であった。(参照 5)

試験 1~4 では、その他のホルモンに関連するがんについての情報も示された。子宮内膜癌の発生は、いずれの試験においても増加しなかった。

試験 1 及び 4 における卵巣癌、子宮頸癌及び大腸癌の発生率を表 10 に示した (参照 7)。卵巣癌のリスクの増加が示唆されたが、例数が少なかった (参照 5)。

表 9 DES ばく露群及び非ばく露群の女性を追跡したコホート研究における乳癌発生率

試験	DES ばく露量 (g/人)	試験群	乳癌発生数 (発生率%)	備考
1	12 ^a	ばく露	32/693 (4.6%)	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠中のばく露：1951~1952 年 ・無作為化試験 ・非ばく露群：プラセボ対照群 (報告年：1978 年)
		非ばく露	21/668 (3.1%)	
2	16 ^a	ばく露	4/80 (5.0%)	<ul style="list-style-type: none"> ・追跡期間：27 年 ・無作為化試験 ・被験者：全て女性糖尿病患者 (156 名) ・ばく露群：エチステロン同時投与 (14 g/人) (報告年：1980 年)
		非ばく露	0/76 (0%)	
3	5 ^a	ばく露	118/2,680 (4.4%)	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠中のばく露：1940~1960 年 ・相対リスク：1.47 (報告年：1984 年)
		非ばく露	80/2,566 (3.1%)	
4	2 ^a	ばく露	38/1,531 (2.5%)	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠中のばく露：(出産時) 1946~1965 年 (報告年：1984 年)
		非ばく露	24/1,404 (1.7%)	
5	1.5 ^b	ばく露	8/408 (2.0%)	(報告年：1980 年)
		非ばく露	8.1/408 ^c (2.0%)	
6	比較的低い ^d	ばく露	185/2864 (6.5%)	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠中のばく露：1940~1960 年 ・相対リスク：1.35 (報告年：1993 年)
		非ばく露	140/2760 (5.1%)	

a：平均値、b：中央値、c：地域の乳癌発生率に基づく期待値、d：大部分不明であるが比較的低いと考えられている。

表 10 DES ばく露群及び非ばく露群の女性を追跡したコホート研究における
 卵巣癌、子宮頸癌及び大腸癌の発生率

試験	ばく露量	試験群	卵巣癌	子宮頸癌	大腸癌
1	12 g/人	ばく露	4/693	7/693	2/693
		非ばく露	1/668	3/668	1/668
4	2 g/人	ばく露	6/1,531	9/1,531	11/1,531
		非ばく露	2/1,404	6/1,404	7/1,404

そのほかにも多数のコホート研究が報告され、妊娠中の DES ばく露と乳癌発生率及び死亡率の増加との間に関連性が示唆された。しかし、乳癌以外のがん（子宮内膜癌、卵巣癌、子宮頸癌等）の発生については、関連性はみられなかった。（参照 5）

（2）妊娠中のばく露による次世代への影響

① 子宮内でばく露を受けた女性（第二世代）における影響

妊娠の第 1 三半期に DES を服用していた第一世代の女性から生まれた第二世代の女性に膣及び子宮頸管の腺腫の発生率増加が認められた。これは、胎児が DES を代謝することができず、蓄積したことによるものとみられる。（参照 21）

妊娠中の DES の摂取は、第二世代の女性の膣及び子宮頸部の明細胞腺癌の増加（主として 10～30 歳において）と関係があることが示された。そのリスクは、ばく露を受けた 24 歳までの第二世代の女性の 0.14～1.4/1000 程度であると考えられた。リスク集団の年齢が若いため、発がんのリスクについてこれ以上の推定はできなかった。

妊娠中に DES のばく露を受けた第二世代の女性に、女性生殖器の非腫瘍性上皮変化及び構造の変化が頻繁にみられた。これらの変化は、横線維状子宮頸部（transverse fibrous cervical）及び膣中隔（vaginal septa）、膣腺疾患（vaginal adenosis）、子宮頸部外反（cervical ectropion）等であった。（参照 13）

子宮内で DES のばく露を受けた第二世代の女性に多くの稀な腫瘍が報告された。具体的には、26 歳女性の子宮内膜の致命的腺癌（fatal adenocarcinoma of the endometrium）、18 歳女性の下垂体腺腫、21 歳女性の子宮頸部の浸潤扁平上皮癌、27 歳女性の子宮頸部の浸潤性腺扁平上皮癌及び 12 歳女性の子宮奇形腫であった。（参照 7）

② 子宮内でばく露を受けた男性（第二世代）における影響

データは少ないが、出生前に DES のばく露を受けた第二世代の男性では、非ばく露対照に比べ生殖器系の異常の出現頻度が増大していた。精巣腫瘍の主要な危険因子である停留精巣は、関連する病変の一つである。（参照 7）

妊娠中に DES のばく露を受けた第二世代の男性の生殖器において、悪性ではないが構造の変化がみられた。一方、生殖能力への影響については断定できなかった。停留精巣及び精巣の形成不全がみられた報告があり、DES ばく露との関連が示された。これらの状態は悪性変化への素因となり得るが、男性における悪性腫瘍のリスクの増加はみられなかった。（参照 13）

高用量で DES のばく露を受けた第二世代の男性に停留精巣の増加（ばく露群：17/308 例、非ばく露群：1/307 例、 $p < 0.005$ ）がみられ、DES ばく露から精巣癌発生に繋がる経路の可能性が示唆された（症例の報告はなかった。）。（参照 5）

子宮内で DES のばく露を受けた第二世代の男性の症例対照研究（5 試験）において、精巣癌について調べられた。これらの研究結果を統合した相対リスクは 2.5（ $p = 0.014$ ）であるとして、子宮内ばく露を受けた男性では精巣癌のリスクが上昇することが示された（参照 7）。しかしながら、IARC の報告書（1987 年）では、DES の子宮内ばく露と精巣癌との関連性は断定できないとされた。

以上のように、幾つかの研究で出生前 DES ばく露と精巣癌との関連が調べられたが、結果は一致しなかった。ばく露を受けた男性は、精巣癌のリスクが最も高い年齢を過ぎているため、関連性については解明されない可能性が高いと考えられた。（参照 5）

③ 子宮内ばく露を受けた女性の子供（第三世代）における影響

a. 第三世代の女性について

子宮内ばく露を受けた第二世代の女性を追跡したコホート研究（NCI 複合コホート）において、その子（第三世代の女性）の調査が実施された。

第二世代の女性からの未確認の報告では、2,539 例の第三世代の女性のうち 2 例（診断時年齢：7 歳及び 20 歳）に卵巣癌の発症がみられた。ばく露群の標準化罹患比（standardized incidence ratio。以下「SIR」という。）は、期待値 0.38 例に対して 5.3（95%信頼区間：1.3～21）であった。

子宮内ばく露を受けた第三世代の女性を追跡したコホート研究（NCI 複合コホート）が実施された。

第三世代の女性 793 例（ばく露群：463 例、非ばく露群：330 例）のうち、ばく露群で卵巣癌 2 例（診断時年齢：20 歳及び 22 歳）が確認された。そのうちの 1 例は母親からの報告に含まれていた。非ばく露群では卵巣癌の発症はみられなかった。SIR は、期待値 0.14 例に対して 14.68（95%信頼区間：3.67～58.71）であった。（参照 5）

b. 第三世代の男性について

出生前に DES のばく露を受けた第三世代の男性のがんの発症について、第二世代の女性の報告に基づきコホート研究（NCI 複合コホート）が実施された。SIR では、がんのリスクの上昇はみられなかった。（参照 5）

（3）その他の知見

① 女性

更年期症状に対するホルモン療法として投与された DES が、子宮癌の発生率の増加と深くかかわっていることが示された。（参照 5、7、13）

更年期における DES の使用による乳癌のリスクについては、体系的に評価されておらず関連性は不明であった。（参照 5）

DES による治療を受けたターナー症候群の若い女性で、子宮内膜癌のリスクの増加

がみられた。(参照 13)

② 男性

早期に報告された症例では、DES 投与による治療を受けた前立腺癌患者で乳癌の発症がみられ、DES 投与との関連性が示唆された。しかし、これらの腫瘍のうち、前立腺癌の転移によるものがどの程度であるかは、不明であった(参照 5)。原発性乳癌と考えられた 6 例の他に追加された報告はなかった(参照 7、9)。

DES を 2.5 年間投与(1 mg/日)された前立腺癌の男性で、ライディッチ細胞腫の発生が 1 例報告された。

前立腺癌の治療のために長期間投与された男性の肝血管肉腫発生には 2 例目の症例報告があった。DES(3 mg/日)を 4.5 年間(肝臓癌と診断されるまで)投与された前立腺癌患者は、肝臓癌発生の 2 例目の症例として報告された。

前立腺癌の治療のため DES のばく露を受けた後、腎臓癌を発症した例が 3 例報告された。(参照 7)

以上のように、DES は、妊娠中にばく露を受けた女性の乳癌と関連していた。また、胎児期に子宮内でばく露を受けた女性の膣及び子宮頸部に明細胞腺癌を引き起こした。さらに、DES ばく露と子宮内膜癌並びに DES の子宮内ばく露と子宮頸部扁平上皮癌及び精巣癌との間に関連性がみられた。(参照 5)

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. JECFA における評価

JECFA は 1960 年に DES に発がん性があると指摘している。(参照 22)

2. EMEA における評価

DES 及び代謝物のいずれについても、構造解析により潜在的な変異原性の警告構造はないと結論されている。動物における DES の発がん作用は、ER のリガンドと相互作用する部分構造が存在することによるもので、遺伝毒性³によるものではないことが示されたとしている。(参照 15)

3. IARC における評価

DES の遺伝毒性については種々の報告があるが、DES により生成された付加体の生物学的意義はまだ明らかではなく、DES へのばく露により生成された特異的な変異 (specific mutation) は、これまで同定されていない。

発がん性については、ヒトにおいて「十分な証拠 (sufficient evidence)」がある。DES は、妊娠中にばく露された女性に乳癌を引き起こす。また、子宮内ばく露を受けた女性の膣及び子宮頸部に明細胞腺癌を引き起こす。さらに、DES ばく露と子宮内膜癌並びに DES の子宮内ばく露と子宮頸部扁平上皮癌及び精巣癌との間に関連性がみられた。

DES の発がん性については、実験動物においても「十分な証拠 (sufficient evidence)」がある。

以上のことから、IARC は、DES は Group 1 (ヒトに対して発がん性がある (carcinogenic to humans)) に分類されるとしている。(参照 5)

4. FDA における評価

FDA では、DES の食料生産動物における適応外使用を禁じている。(参照 4)

IV. 食品健康影響評価

厚生労働省から提出されているデータは IARC の報告書のみであり、残留試験、急性毒性試験及び慢性毒性試験に関する資料は提出されていない。

DES は、経口投与後に容易に吸収され、生体全体に分布する。薬物動態試験に用いられた霊長類を除く実験動物では、DES は、胆汁中への排泄を介した広範な腸肝循環の後、主に糞便中に排泄され、尿中では痕跡程度の残留が検出された。マウスに DES を投与し、胎盤通過性を調べた試験では、DES は胎児の血漿中濃度の 3 倍以上の濃度で胎児の生殖器に蓄積することが示された。ラットに放射標識した DES を静脈内投与し、全身オートラジオグラフィにより薬物動態を調べた試験では、放射活性は、投与 4 時間以内に肝臓及び小腸に蓄積され、投与 4 日後においてもこれらの組織から検出された。

残留試験のデータの報告はなかったが、1972 及び 1973 年に牛の筋肉及び羊の肝臓で DES の残留が検出された。DES が牛及び羊の成長促進剤として用いられた場合、消費者は最高濃度で 10 µg/kg の DES を含む牛肉及び羊肉を摂取した可能性があった。去勢牛に放射標識した DES を単回経口投与した試験では、投与 10 日後において、小腸、糞及び尿中に残留がみられた。

DES は、発がんプロモータとして知られ、IARC の発がん物質分類で Group 1（ヒトに対して発がん性がある(carcinogenic to humans)）に分類されている。

遺伝毒性試験では、突然変異誘発性は示さなかったが、染色体の数的異常を誘発し、遺伝毒性を有していた。染色体異常の作用機序は微小管の重合阻害によるものと考えた。また、DNA 付加体を形成するとの報告もあるが、遺伝毒性試験陽性結果は DNA との反応性に基づくものではないことから、非 DNA 損傷性遺伝毒性発がん物質と考えた。

発がん性試験では、周産期ばく露ではマウス、ラット及びハムスターの各試験で F₁ 世代における発がんがみられた。発がんメカニズムは複数の要因の組合せによるものであり、主要な要因は、ERα を活性化しエストロゲン反応性細胞の増殖及び侵襲性を刺激する作用並びに微小管の重合を阻害し染色体異常を誘発する作用と考えた。

生殖発生毒性試験では、マウスの試験で多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生率の増加がみられた。

ヒトにおける知見から、妊娠中に DES のばく露を受けた女性の乳癌と関連していた。また、胎児期に子宮内でばく露を受けた女性の生殖器にがんを引き起こす等の知見も報告されている。なお、男性では生殖器系の異常の頻度が増大していたが、精巣癌との関連性は断定されていない。

DES による発がんメカニズムについては、上記のような機序が考えられているが、現時点においては多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生のメカニズムや無毒性量を設定するための知見が不足しており、閾値の有無について判断できる状況にはないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、DES については ADI を設定することは適当ではないと考えた。

<別紙：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	許容一日摂取量
CYP	チトクローム P450
DES	ジエチルスチルベストロール
EMEA	欧州医薬品審査庁：European Agency for the Evaluation of Medicinal Products（2004年にEMAに改称）
ER	エストロゲン受容体
FDA	米国食品医薬品局：Food and Drug Administration
IARC	国際がん研究機関：International Agency for Research on Cancer
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議：Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
MTV	マウス乳癌ウイルス
SIR	標準化罹患比

<参照>

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）の一部を改正する件（平成17年11月29日付け厚生労働省告示第499号）。
2. The Merck Index, 15th Ed., 2013.
3. 日本トキシコロジー学会教育委員会編: 新版トキシコロジー. 朝倉書店、2009.
4. NTP: Diethylstilbestrol. Report on Carcinogens, 13th Ed. 2014.
5. IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2012; 100A: 175-218.
6. JECFA: Evaluation of the carcinogenic hazards of food additives (Fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 220, 1961.
7. IARC: Summaries & Evaluations, “Diethylstilboestrol”, Suppl. 7, 1987.
8. 高折修二、橋本敬太郎、赤池昭紀、石井邦雄監訳. グッドマン・ギルマン薬理書第12版－薬物治療の基礎と臨床－ [下巻] . 廣川書店、2013.
9. IARC: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 21, Sex hormones (II), 1979, pp.131-4; 173-231.
10. Tsutsui T, Degen GH, Schiffmann D, Wong A, Maizumi H, McLachlan JA, *et al.*: Dependence on exogenous metabolic activation for induction of unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells by diethylstilbestrol and related compounds. *Cancer Res.* 1984; 44: 184-9.
11. Tayama S, Nakagawa Y, Tayama K: Genotoxic effects of environmental estrogen-like compounds in CHO-K1 cells. *Mutat Res.* 2008; 649(1-2): 114-25.
12. Sofuni T, Honma M, Hayashi M, Shimada H, Tanaka N, Wakuri S, *et al.*: Detection of *in vitro* clastogens and spindle poisons by the mouse lymphoma assay using the microwell method: interim report of an international collaborative study. *Mutagenesis.* 1996; 11: 349-55.
13. IARC: Summaries & Evaluations, “Diethylstilboestrol”, Vol. 21, 1979.
14. IARC: Summaries & Evaluations, “Diethylstilboestrol”, Vol. 6, 1974.
15. EMEA: Report of the CVMP on the Safety Evaluation of Steroidal Sex Hormones in particular for 17 β -Oestradiol, Progesterone, Altrenogest, Flugestone acetate and Norgestomet in the Light of New Data/Information made available by the European Commission. EMEA/CVMP/885/99, 2004.
16. Walker BE & Haven MI: Intensity of multigenerational carcinogenesis from diethylstilbestrol in mice. *Carcinogenesis.* 1997; 18: 791-3.
17. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Haseman J, McLachlan JA: Increased tumors but uncompromised fertility in the female descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis.* 1998; 19: 1655-63.
18. Newbold RR, Hanson RB, Jefferson WN, Bullock BC, Haseman J, McLachlan JA: Proliferative lesions and reproductive tract tumors in male descendants of mice exposed developmentally to diethylstilbestrol. *Carcinogenesis.* 2000; 21: 1355-63.

19. 高杉暹、田中政巳、加藤智保: マウス胎児に経胎盤投与されたジエチルスチルベストロール(DES)の精巣におよぼす影響. 動物学雑誌. 1982; 91(4): 549.
20. 田中政巳、加藤哲男、加藤智保、守口徹、高杉暹: 妊娠マウスに連続静注されたDESの胎児および出生後の性腺, 性腺附属器官, 腎臓に対する影響. 動物学雑誌. 1981; 90(4): 605,.
21. 高折修二、福田英臣、赤池昭紀監訳: グッドマン・ギルマン薬理書第10版—薬物治療の基礎と臨床— [下巻] . 廣川書店、2003.
22. JECFA: “Diethylstilboestrol”. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives. 1960.

動物用医薬品（ジエチルスチルベストロール）に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和元年 5 月 29 日～令和元年 6 月 27 日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1 通
4. 意見・情報の概要及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会の回答

	意見・情報の概要※	動物用医薬品専門調査会の回答
1	<p>評価書の結論が「食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、DES については一日摂取許容量(ADI)を設定することは適当ではないと考えた。」ということですが、これは許容量を設定することができないくらい危険という意味と理解してよろしいのでしょうか？</p>	<p>食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、DES による発がんメカニズムについては、エストロゲン受容体αを介した作用等の複数の要因の組合せによる機序が考えられていますが、現時点においては多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生のメカニズムや無毒性量を設定するための知見が不足しており、閾値の有無について判断できる状況にはないことから、ADI を設定することは適当ではないと考えました。</p> <p>なお、食品中の残留基準に関するポジティブリスト制度導入に際して、本成分は「食品において『不検出』とされる農薬等の成分である物質」と規定されています。</p> <p>食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、今回の審議結果に基づき、リスク管理措置が引き続き適切に実施されれば、食品の安全性は担保されるものと考えます。</p>

※頂いた意見・情報をそのまま掲載しています。

動物用医薬品「ジエチルステルベストール」に係る評価書の変更点

修正箇所	食品安全委員会 第 750 回会合資料 (変更後)	食品安全委員会 第 743 回会合資料 (変更前)
4 頁	[削除]	[食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における審議開始以前の専門委員名簿]
5 頁 5 行目	薬物動態・代謝 (マウス、ラット、牛及び羊)、	薬物動態・代謝 (マウス、ラット、 <u>モルモット</u> 、牛及び羊)、
6 頁 15 行目及び 27 頁 26 行目	生殖発生毒性試験では、 <u>マウスの試験で多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生率の増加がみられた。</u>	生殖発生毒性試験では、多世代にわたる生殖器系腫瘍の発生率の増加がみられた。
6 頁 23 行目及び 28 頁 3 行目	<u>許容一日摂取量</u>	<u>一日摂取許容量</u>
12 頁 2 行目～	DES の染色体異常誘発の作用機序について調べられた。DES が、活性化系の存在下で無細胞系において微小管に共有結合すること、並びに <u>in vitro</u> 、 <u>チャイニーズハムスターV79</u> 細胞及びシリアンハムスター胚細胞を用いた系で微小管の重合を阻害することが、染色体の異数性誘発の基盤であると考えられた。この微小管損傷の性質は、他の同じように強いエストロゲン <u>であり幾つかの系では同様に遺伝毒性を示す</u> エストラジオールや 17 α -エチニルエストラジオールではみられず、DES に特徴的 <u>である</u> ものと考えられた。	DES の染色体異常誘発の作用機序について調べられた。DES が、活性化系の存在下で無細胞系において微小管に共有結合すること、並びにチャイニーズハムスターV79 細胞及びシリアンハムスター胚細胞を用いた <u>in vitro</u> の系で微小管の重合を阻害することが、染色体の異数性誘発の基盤であると考えられた。この微小管損傷の性質は、他の同じように強いエストロゲン <u>である</u> エストラジオールや 17 α -エチニルエストラジオールではみられず、DES に特徴的 <u>であり、幾つかの系で遺伝毒性を示した</u> ものと考えられた。
12 頁 39 行目	IARC では、甲状腺濾胞細胞腺腫の誘発がみられたと報告されている。	IARC では、 <u>雄において</u> 甲状腺濾胞細胞腺腫の誘発がみられたと報告されている。

※修正箇所は、第 750 回会合資料における頁