Osaka University Knowledge Archive

Title	PRTR化学物質の各種核内受容体に対する結合性
Author(s)	井上, 大介; 松井, 久恵; 清, 和成 他
Citation	水環境学会誌. 2007, 30(2), p. 89-94
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/3122
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

水環境学会誌 Journal of Japan Society on Water Environment Vol.30, No.2, pp.89-94 (2007)
〈論 文—Original Paper〉

PRTR化学物質の各種核内受容体に対する結合性

井上大介* 松井久恵* 清和成*
楊敏** 胡建英*** 荒金淳†
廣辻淳二† 西川淳一†† 池道彦*

Binding Affinity of PRTR Chemicals to Various Human Nuclear Receptors

Daisuke INOUE*, Hisae MATSUI*, Kazunari SEI*, Min YANG, Jianying HU***, Jun ARAGANE†, Junji HIROTSUJI†, Jun-ichi NISHIKAWA†† and Michihiko IKE***

* Division of Sustainable Energy and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

** State Key Lab of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

*** College of Environmental Science, Peking University, Beijing 100871, China

† Advanced Technology R&D Center, Mitsubishi Electric Co., 8-1-1 Tsukaguchi-Honmachi, Amagasaki, Hyogo 661-8661, Japan

†† Department of Environmental Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, 1-6 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Abstract

Since the 1990s, population decreases, reproductive anomalies and malformations of highly aquatic animals have been increasingly reported. One possible cause is considered to be endocrine disruptive effects induced by environmental contaminants through a direct interaction with nuclear receptors, not only with steroid hormone receptors but also with other ones. In this study, we examined the binding affinities of 20 chemicals, which are registered in the Japanese Pollutant Release and Transfer Register (PRTR) and have been abundantly discharged into aquatic environments to eight human nuclear receptors and assessed their potential endocrine disruptive effects. Of the 20 PRTR chemicals tested, nonylphenol diethoxylate, telephthalic acid (TPA), and linear dodecyl-benzensulfonate (DBS) bound to at least two receptors at high concentrations. TPA and DBS enhanced the activities of both retinoic acid receptor (RAR) γ and vitamin D receptor (VDR) in a dose-dependent manner. This suggests that TPA and DBS may disturb the vitamin D endocrine functions mediated by a VDR-VDR homodimer or a VDR-RAR heterodimer. Also, our results indicate that endocrine disruptors unsuspected under the current assessment criteria could potentially bind to various nuclear receptors and disrupt endocrine systems mediated by such receptors.

Key words: aquatic environment, endocrine disruptive effect, nuclear receptor, PRTR chemical

1．はじめに

1990年代から，魚類や両生類など，水への依存度の高い野生生物種において，個体数の減少，生殖異常，形態異常の発生が数多く報告されている[1~6]。このような危機的状況をもたらした原因の一つは，環境中に放出された人工化学物質のホルモン様作用に起因する正常な内分泌バランスの攪乱にあるとされている[7]。内分泌攪乱化学物質（endocrine disruptors ; EDs）の内分泌機能への影響発現には，核内受容体（nuclear receptor ; NR）を介するメカニズムと介さないメカニズムが存在するが，その大部分はNRへの直接作用によると考えられている[8]。NRの中には，ヒトを含め，異なる生物種間で高い保存性を示すものもあることから[9]，EDsによる内分泌機能攪乱に伴う悪影響

＊ 大阪大学大学院工学研究科環境・エネルギー工学専攻 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘２-１
＊＊ 中国科学院生態環境研究中心 Beijing 100085, China
＊＊＊ 北京大学環境学院 Beijing 100871, China
† 三菱電機㈱先端技術総合研究所 〒661-8661 兵庫県尼崎市塚口本町８-１-１
†† 大阪大学大学院薬学研究科 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘１-６

がヒトにも生じる可能性があるものと推測される。

従来，EDsに関する研究は，主にエストロゲン受容体（estrogen receptor；ER）などの性ホルモン受容体や甲状腺ホルモン受容体（thyroid hormone receptor；TR）を中心に進められてきた。しかし近年，ヒトのNRファミリーに48種類の受容体が存在することが断定され[10]，EDsの作用点が性ホルモン受容体やTR以外のNRにもある可能性が議論されるようになった[11,12]。例えば，プラスチックの可塑剤等に使用されるフタル酸ジエステルの生体内代謝物であるフタル酸モノエステルによる雌生殖毒性等の生態毒性にはペルオキソーム増殖剤活性化受容体（peroxisome proliferator-activated receptor；PPAR）[13,14]が，また有機スズ化合物によるイボニシ貝のインポセックス発達の促進にはレチノイドX受容体（retinoid X receptor；RXR）[15]が関与していることが示唆されている。また，地下水汚染物質の一つ，トリクロロエチレンの生体内代謝物であるトリクロロ酢酸とジクロロ酢酸による肝臓癌とPPARαの関連性も指摘されている[16,17]。これらの新たな科学的事実から，化学物質の内分泌撹乱活性を評価するためには，様々なNRに対する作用を網羅的に検討することが重要であるといえる。すなわち，これまでに性ホルモン受容体やTRについて内分泌撹乱作用がないと判定された化学物質を含め，多くの人工化学物質のNRに対する作用を検討していくことが必要である。本研究では，水環境中に大量に放出されている化学物質のヒトNRに対する結合性を調査し，潜在的な内分泌撹乱作用の可能性を探った。被検物質には，環境汚染物質排出移動登録（pollutant release and transfer register；PRTR）制度の第1種指定化学物質に含まれ，公共用水域への年排出量が15tを上回る有機化学物質群の中から20種類を選定した。被検物質のNRに対する結合性の評価は，ヒトNRのうちERα，TRα，ビタミンA受容体（retinoic acid receptor；RAR）γ，RXRα，ビタミンD受容体（vitamin D receptor；VDR），PPARα/γ/δを対象として，*in vitro*でNRとコアクチベーターの相互作用を検出できるハイスループットスクリーニング法であるCoA-BAP（coactivator-bacterial alkaline phosphatase）法[18]を用いて実施した。

2．方　　法

2.1 化学物質

標準リガンドとして，ERαには17β-エストラジオール（E2），TRαには3,3',5-トリイオド-L-チロニン（T3），RARγには*all-trans*-レチノイン酸（retinoic acid；RA），RXRαには9-*cis* RA，VDRには1α,25-ジヒドロキシビタミンD3（1,25$(OH)_2$D3），PPARαにはGW7647，PPARγにはRosiglitazone，PPARδにはGW501516を用いた。

PRTR制度で第1種指定化学物質に指定され，公共用水域への年間排出量15t以上で，水より蒸気圧が低い有機化学物質群の中から20種類の化学物質（**Table 1**）を被検物質として選定した。直鎖ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム（linear dodecyl-benzenesulfonate；DBS）は，直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩（linear-alkylbenzenesulfonate；LAS）の代表として選出した。また，ノニルフェノールジエトキシレート（nonylphenol diethoxylate；NP2EO）は，ノニルフェノールポリエトキシレート（nonylphenol polyethoxylate；

Table 1 Binding affinity of 20 PRTR chemicals for various nuclear receptors[a]

No.	Compound	ERα	TRα	RARγ	RXRα	VDR	PPARα	PPARγ	PPARδ
1	Ethylene glycol	–	–	–	–	–	–	–	–
2	N,N-Dimethylformamide	–	–	–	–	–	–	–	–
3	Nonylphenol diethoxylate (NP2EO)	++	–	–	–	–	–	+	–
4	Thiourea	–	–	–	–	–	–	–	–
5	ε-Caprolactam	–	–	–	–	–	–	–	–
6	Ethylenediaminetetraacetic acid	–	–	–	–	–	–	–	–
7	Terephthalic acid (TPA)	–	–	++	–	++	–	+	–
8	Diethylenetriamine	–	–	–	–	–	–	–	–
9	Toluene	–	–	–	–	–	–	–	–
10	1,4-Dioxane	–	–	–	–	–	–	–	–
11	Methacrylic acid	–	–	–	–	–	–	–	–
12	2-Aminoethanol	–	–	–	–	–	–	–	–
13	Acrylic acid	–	–	–	–	–	–	–	–
14	Linear dodecyl-benzenesulfonate (DBS)	–	+	++	–	++	–	+	–
15	1,3-Dichloro-2-propanol	–	–	–	–	–	–	–	–
16	Hexamethylenediamine	–	–	–	–	–	–	–	–
17	*p*-Xylene	–	–	–	–	–	–	–	–
18	Aniline	–	–	–	–	–	–	–	–
19	Pyridine	–	–	–	–	–	–	–	–
20	Phenol	–	–	–	–	–	–	–	–

[a] ++, the lowest detectable effective concentrations of tested chemicals were 10^3 to 10^5 times as much as that of the cognate ligand; +, 10^6 to 10^8 times; –, not detected.

NPnEOs）の代表として使用した。NP2EOは，親物質であるNPnEOsにも含まれているが，NPnEOsの水環境中での分解の最終産物の一つである。

エチレングリコール，チオ尿素，トルエン，2-アミノエタノール，DBS，1,3-ジクロロ-2-プロパノール，*p*-キシレンは和光純薬工業，N,N-ジメチルホルムアミド，ε-カプロラクタム，テレフタル酸（telephthalic acid；TPA），1,4-ジオキサン，アニリン，フェノールはキシダ化学，NP2EO，エチレンジアミン四酢酸，ジエチレントリアミン，メタクリル酸，アクリル酸，ヘキサメチレンジアミンは東京化成工業，ピリジンは林純薬工業から購入した。

標準リガンド及び被検化学物質は，DMSOに溶解後4 ℃で保存し，使用前にDMSOで段階希釈して用いた。

2.2 CoA-BAP法

本研究では，西川らが開発したCoA-BAP法[18]を用いて，供試化学物質のNRへの結合を評価した。CoA-BAP法は，生細胞を使用せずに，リガンドに依存したNRとコアクチベーターの相互作用をマイクロプレート上で検出する*in vitro*手法である。本手法では，大腸菌を用いて予め高発現させたNRリガンド結合領域（NR-LBD）とコアクチベーター（CoA）を使用する。NR-LBDを固定したプレートにCoAとリガンドを加えると，リガンドに依存してNRの立体構造が変化し，CoAがNR-LBDに結合する。CoAにはBAPが融合されているため，NRとCoAの相互作用の強さは，BAPのアルカリフォスファターゼ（AP）活性の強さとして測定できる。このAP活性は用量反応性を示し，検出感度が酵母two-hybrid法よりも高いことが確認されている[18]。また本法は，マイクロプレート上で操作するため，一度に多数の化学物質を試験することができる。さらに，NR-LBDとCoAをタンパクとして用いているため，これまで環境汚染化学物質のホルモン様活性の検出に汎用されてきた酵母法で問題視されてきた酵母細胞膜への透過性や酵母細胞に対する毒性による影響を回避することが可能である。

CoA-BAP法は，上述した原理に則って作製されたNuLigandシリーズ（マイクロシステムズ）を用いて行った。0.1 M炭酸緩衝液に溶解させた受容体を96穴マイクロプレートに分注し，4 ℃で一晩静置することでウェルに固定化させた。緩衝液A（Tris-HCl 20 mM, KCl 100 mM, EDTA 0.25 mM, glycerol 5%, dithiothreitol 0.5 mM, Tween 20 0.05%, pH 7.2）でウェルを3回洗浄後，緩衝液Aに懸濁させた30 $\mu g \cdot m l^{-1}$ のTIF2-BAP（PPARδ以外）或いはCBP-BAP（PPARδ）を100 μl分注し，適宜希釈した標準リガンド或いは被検物質を添加して，4 ℃で1時間静置した。緩衝液B（Tris-HCl 50 mM, KCl 100 mM, $MgCl_2$ 5 mM, Nonidet P-40 0.1%, pH 7.2）でウェルを3回洗浄後，発色基質（*p*-nitrophenylphosphoric acid 10 mM, Tris-HCl 100 mM, pH 8.0）を100 μl添加して，30 ℃或いは37 ℃で反応させ，405 nmの吸光度（A_{405}）を測定した。実験は全て3連で行い，平均と標準偏差（standard deviation；SD）を算出した。ある被検物質濃度におけるA_{405}値の平均- SDがDMSOのA_{405}値の平均+SDを上回り，それより高濃度でA_{405}値がさらに上昇した場合に陽性と判定した。

3．結　　果

CoA-BAP法により，10^{-9}-10^{-3} Mの範囲で，20種のPRTR化学物質の各種NRに対する結合性を調べた。17種類の化合物では，いずれのNRに対しても有意な結合性を示さなかったが，NP2EO，TPA，DBSの3物質はそれぞれ2，3，4種類のNRに結合した（**Table 1**）。NRで見ると，RXRα，PPARα，PPARδを除く5種類のNRに対して，少なくとも1種類の被検化学物質が結合した。活性を示した物質の用量反応曲線を受容体種ごとに**Fig. 1**に示す。

NP2EOは，ERαとPPARγに対して結合性を示した。ERαでは，標準リガンドであるE2に比べて10^3倍高濃度である10^{-6} Mから結合性が確認された（**Fig. 1A**）。一方，PPARγへの結合性が認められる濃度は標準リガンドに比べて10^6倍高濃度であり，活性は非常に低かった（**Fig. 1E**）。

TPAは，RARγ，VDR及びPPARγに対して結合性を示した。RARγに対する結合は10^{-7} Mから認められ，それより高濃度では濃度依存的に活性が上昇した（**Fig. 1C**）。VDRに対しては，10^{-8} Mで活性を示し，それより高濃度では，$1,25(OH)_2D3$と同様の割合で，濃度依存的に活性が上昇した（**Fig. 1D**）。PPARγにおいては，10^{-6} M以上の濃度で結合したが，それより高濃度における活性の増大は緩やかであった（**Fig. 1E**）。

DBSは，TRα，RARγ，VDR，PPARγの4種類のNRに結合した。TRαに対する結合性は，10^{-4} M以上の濃度でのみ認められた（**Fig. 1B**）。PPARγに対しては，10^{-6} Mで結合性を示した。その活性は10^{-6}-10^{-4} Mにおいて僅かずつ高まったが，10^{-4} M以上では変化しなかった。RARγとVDRに対しては，それぞれ10^{-6} M及び10^{-7} Mで結合性を示した。また，これらより高濃度では，それぞれの標準リガンドの用量反応曲線に類似した割合で濃度依存的に活性が増大した（**Fig. 1C, D**）。

4．考　　察

従来，内分泌撹乱活性に基づく環境汚染化学物質のリスク評価は，主にERとTRを対象として進められ，現在EDsとして疑いのある物質に挙げられているアルキルフェノール類やフタル酸エステル類，ビスフェノールA，農薬類などに対して数多くの知見が得られてきた。本研究で調べた20種類のPRTR化学物質の中で，NP2EOがERαに結合することが観察された。NP2EOは，酵母法[19]やマスのビテロゲニン遺伝子発現試験[20]においてエストロゲン様活性が確認されている。また，本研究で得られたNP2EOのERαに対する最少活性発現濃度は，既往研究[18]における4-ノニルフェノールのERαに対する最少活性発現濃度の1/100-1/10であり，これは酵母法における結果[19]と同等である。これらより，CoA-BAP法で得られたNRに対する結合性はある程度妥当なものであると考えられた。他方，TRαには，10^{-4} M以上の高濃度でDBSが結合する可能性のあることが示されたが，DBSを含むLASの甲状腺ホルモン様活性に関する報告はこれまでにない。

これまで，性ホルモン受容体とTR以外のNRは水環境中における化学物質のリスク評価に考慮されてこなかった。そこで本研究では，新たな試みとして，公共用水域に大量に排出されている化学物質を対象として，ER，TR以外のNRへの結合性を調べた。その結果，NP2EOがPPARγ，TPAがRARγ，VDR及びPPARγ，DBSがRARγ，VDR及びPPARγに結合する可能性のあることが確認された。特に，TPAとDBSのRARγ及びVDRに対する結合性は標準リガン

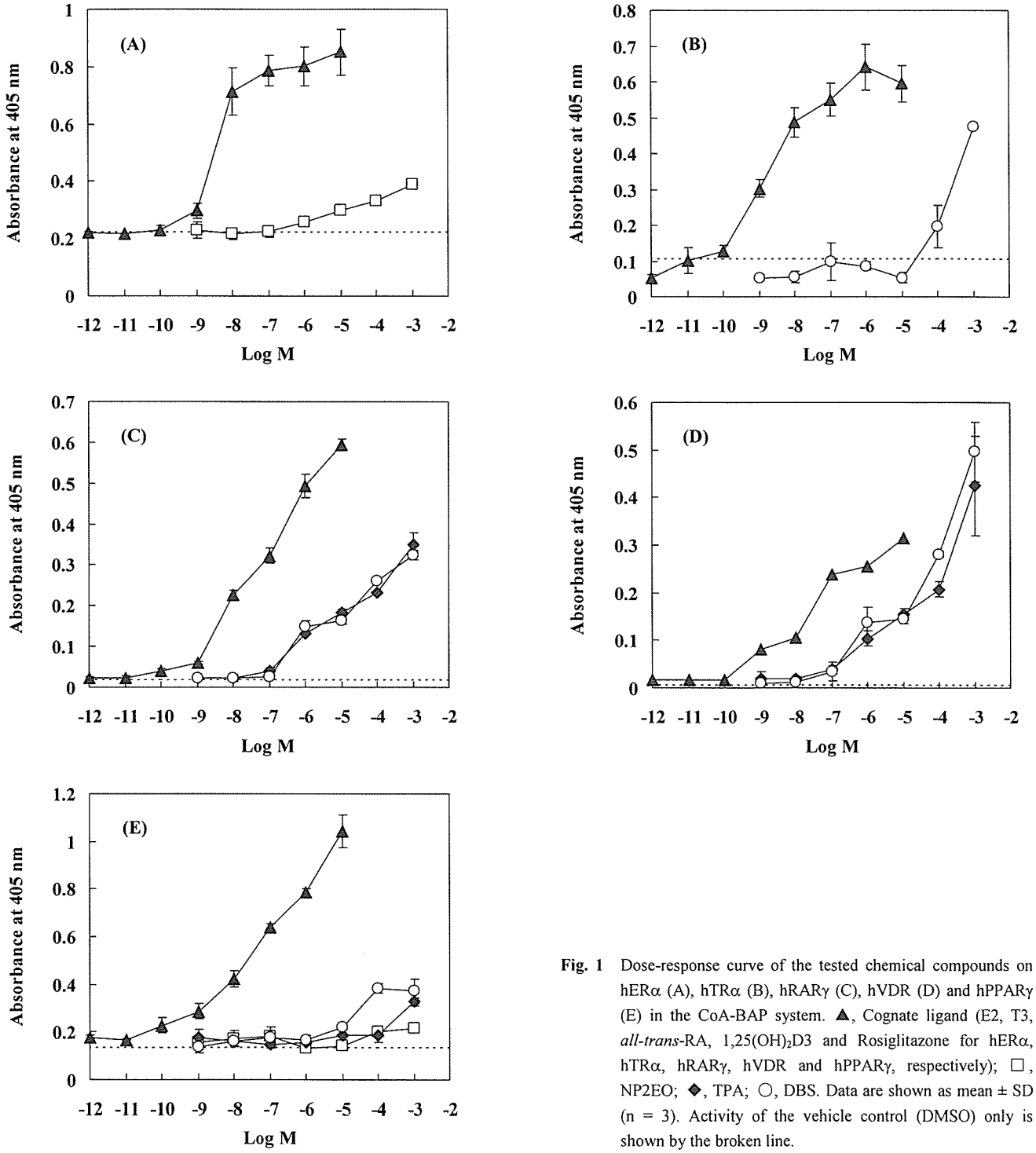

Fig. 1 Dose-response curve of the tested chemical compounds on hERα (A), hTRα (B), hRARγ (C), hVDR (D) and hPPARγ (E) in the CoA-BAP system. ▲, Cognate ligand (E2, T3, *all-trans*-RA, 1,25(OH)$_2$D3 and Rosiglitazone for hERα, hTRα, hRARγ, hVDR and hPPARγ, respectively); □, NP2EO; ◆, TPA; ○, DBS. Data are shown as mean ± SD (n = 3). Activity of the vehicle control (DMSO) only is shown by the broken line.

ドに類似した割合で濃度依存的に増大した(**Fig. 1C, D**)。これらの結果は，現在使用されている多種多様な化学物質の中に，48種類存在するNRのいずれか或いは複数に作用して，内分泌撹乱活性を示すものが数多く存在していることを強く示唆するものである。このため，今後のEDsの評価では，種々のNRを介した内分泌撹乱活性のスクリーニングを実施していくことが重要である。

本研究は被検化学物質のNRに対する結合性をスクリーニングしたものであり，陽性と判定されたケースで必ずしも生体影響が生じる訳ではない。しかし，本研究の結果はEDsによる内分泌撹乱作用の第一段階であるNRとの結合が生じる可能性を示すものであり，被検化学物質の潜在的な内分泌撹乱作用の可能性をある程度推測し得るものと言える。また，NRには種差があるため，ヒトNRを用いた本研究の結果が全野生生物種に当てはまる訳ではない。しかし，NRの種類によっては，異種間で高い保存性を示すものもあることから[9]，本研究の結果に基づき，ヒト以外の野生生物種を含め，被検物質の生物への悪影

響の可能性をある程度推察できるものと考えられる。そこで，以下では，本研究で得られた結果を基に，幾つかのNRに対する結合性が確認されたNP2EO，TPA及びDBSの潜在的な内分泌攪乱作用に関する推察を試みた。

RARは，脊椎動物の視覚や形態形成，発生，細胞分化，組織の恒常性に重要な役割を果たしている。RARのリガンドであるRAは，脊椎動物の催奇形物質であり，その過剰摂取は多種多様な奇形を発生させる[21,22]。1990年代から北米で観察されているカエルの奇形にも，水環境汚染化学物質によるRARシグナル伝達系の攪乱が関係していることが指摘されている[23,24]。VDRは，カルシウムの恒常性，骨代謝，及び他の重要な生物作用（細胞分化の誘導，細胞増殖阻害，免疫修飾，他のホルモン系の制御など）において中心的な役割を担っている[25]。PPARγは，主に脂肪とグルコースの代謝に重要な役割を果たしており，種々の臓器において抗発癌作用を発現する[26]。また，そのアゴニストは，臨床でII型糖尿病の治療薬として使用されている。現在のところ，環境中でVDR或いはPPARγを介したものと考えられる悪影響の観察事例はない。

RARγ[27]とPPARγ[26]は，RXRとヘテロ二量体を形成し，各々の標的遺伝子を転写活性化する。しかし，これらの受容体への結合性が認められたNP2EO（PPARγ），TPA（RARγ，PPARγ），DBS（RARγ，PPARγ）は，いずれもRXRαには結合しない（**Table 1**）。NRが二量体を形成して活性化されるシグナル経路においては，リガンドが二量体を成すNRの片方にしか結合しない場合の影響は，双方に結合する場合に比べて小さい可能性が指摘されている[9]。このことから，NP2EO，TPA，DBSが単独でRARやPPARγを介するシグナル伝達系を攪乱する可能性は小さいことが示唆された。しかし，有機スズ化合物のようにRXRαに結合する化学物質が共存する環境下では，RARやPPARγのシグナル伝達系への悪影響が生じる可能性もあり得る。ただし，RARとPPARγに対する最少活性発現濃度が環境水中濃度に比べて高いことから（NP2EOで10^4倍以上[28]，TPAで100倍以上[29]，DBSで5倍以上[30]），現状ではこれらの物質が生物に悪影響を及ぼしている可能性は低いものと考えられる。

他方，VDRは，ホモ二量体，或いはRARかRXRとのヘテロ二量体を形成し，VD応答遺伝子を転写制御する[31,32]。VDRへの結合が確認されたTPAとDBSはRXRに結合しないことから，上述したRAR及びPPARγのケースと同様に，VDR-RXRヘテロダイマーを介するVDRシグナル伝達機能への悪影響の可能性は低いものと予想される。一方，TPAとDBSは，RARγとVDRの両受容体に対する結合性が濃度依存的に増大したことから，それぞれ単独でVDRホモ二量体或いはVDR-RARヘテロ二量体に強く作用する可能性がある。TPAは，混餌投与によって，Fischer-344ラット離乳児に対して，TPAカルシウムを主成分とする膀胱結石を形成し，膀胱移行上皮の肥厚化と高カルシウム尿症を引き起こすことが報告されている[33]。また，DBSを含むLASは，経口投与によって哺乳動物胎児に骨化遅延を引き起こすことが明らかにされている[34]。すなわち，両物質が有する生体毒性は，VDRシグナル伝達系が関わる生体内機能と興味深い一致を示している。以上のことから，TPAとDBSは，急性毒性を示さない濃度において，VDRホモ二量体或いはVDR-RARヘテロ二量体に作用することでVDRシグナル伝達機能を乱し，生体に悪影響を及ぼす可能性のあることが示唆された。しかし，TPAは，環境水中濃度がRARγ及びVDRへの最少活性発現濃度よりもそれぞれ100倍及び10倍以上低く，また，生分解性が良好で残留性が低いことから[29]，実環境中で活性が発現する可能性は高くないものと推察される。他方，DBSは，環境水中濃度がRARγ及びVDRに対する最少活性発現濃度と同程度の場合もあることから[30]、活性発現の可能性を完全には否定できないが，水環境中での生分解性が高く，数時間～数日間で消失することから[30]，リスクはさほど高くないものと推定される。以上のように，現状のデータからでは，TPAやDBSが単独で野生動物のVDRシグナル伝達機能に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられるものの，これらが共存した場合には，相乗的な作用が生じることも否定できない。また，環境中への排出実態が明らかでない微量化学物質の中にもNRに結合性を示すものが存在すると推測されることから，多様なNRへの結合を介したリスクについて評価していくことが望まれる。

5．まとめ

本研究では，公共用水域への排出量の多いPRTR第1種指定化学物質20種のNR結合性を調査した。その結果，これまでに内分泌攪乱活性が疑われてこなかったTPAとDBSが複数のNRに結合する可能性のあることが示された。このことは，現在の評価体系で断定されている，或いは疑われているEDs以外の物質が，性ホルモン受容体やTR以外のNRを通じて，内分泌攪乱作用を示す可能性のあることを強く示唆している。今後の内分泌攪乱作用に関するリスク評価では，環境中に排出される可能性のある多様な人工化学物質を対象とし，種々のNRへの結合を介したリスクについて，網羅的，総合的に評価していくことが重要である。

謝　辞

本研究は、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)提案公募型開発支援研究協力「環境負荷低減・高安全水処理システム技術の研究開発」の一環として実施したものである。ここに謝意を表します。

（原稿受付　2006年10月 2日）
（原稿受理　2006年12月11日）

参考文献

1) Bell, B., Spotila, J. R. and Congdon, J. (2006) High incidence of deformity in aquatic turtles in the John Heinz National Wildlife refuge, *Environ. Poll.*, **142**, 457-465.

2) Edwards, T. M., Moore, B. C. and Guillette, L. J. Jr. (2006) Reproductive dysgenesis in wildlife: a comparative view, *Int. J. Androl.*, **29**, 109-121.

3) Kingsford, M. J., Suthes, I. M. and Gray, C. A. (1996) Exposure to sewage plumes and the incidence of deformities in larval fishes, *Mar. Poll. Bull.*, **33**, 201-212

4) Houlahan, J. E., Findlay, C. S., Schmidt, B. R., Meyer, A. H. and Kuzmin, S. L. (2000) Quantitative evidence for global amphibian population declines, *Nature*, **404**, 752-755.

5) Vandenlangenberg, S. M., Canfield, J. T. and Magner, J. A. (2003) A regional survey of malformed frogs in Minnesota (USA) (Minnesota malformed frogs), *Environ. Monit. Assess.*, **82**, 45-61.

6) Wake, D.B. (1991) Declining amphibian populations, *Science*, **253**, 860.

7) Vos, J. G., Dybing, E., Greim, H. A., Ladefoged, O., Lambre, C., Tarazona, J. V., Brandt, I. and Vethaak, A. D. (2000) Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation, *Crit. Rev. Toxicol.*, **30**, 71-133.

8) 遠山千春，大迫誠一郎，石村隆太（2000）内分泌撹乱化学物質の健康リスクアセスメント，日本臨牀，**58**(12)，2393-2400.

9) 西川淳一（2004）核内受容体ファミリーを介する化学物質の生態影響に関する研究，環境省 平成15年度 内分泌撹乱化学物質等の作用メカニズムの解明等基礎的研究報告書，83-99.

10) Clawla, A., Repa, J. J., Evans, R. M. and Mangelsdorf, D. J. (2001) Nuclear receptors and lipid physiology: Opening the X-files, *Science*, **294**, 1866-1870.

11) Janošek, J., Hilscherová, K., Bláha, L. and Holoubek, I. (2006) Environmental xenobiotics and nuclear receptors-Interactions, effects and in vitro assessment, *Toxicol. in Vitro*, **20**, 18-37.

12) Tabb, M. M. and Blumberg, B. (2006) New modes of action for endocrine-disrupting chemicals, *Mol. Endocrinol.*, **20**, 475-482.

13) Bility, M. T., Thompson, J. T., McKee, R. H., David, R. M., Butala, J. H., Vanden Heuvel, J. P. and Peters, J. M. (2004) Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) by phthalate monoesters, *Toxicol. Sci.*, **82**, 170-182.

14) Lovekamp-Swan, T. and Davis, B. J. (2003) Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system, *Environ. Health Perspect.*, **111**, 139-145.

15) Nishikawa, J., Mamiya, S., Kanayama, T., Nishikawa, T., Shiraishi, F. and Horiguchi, T. (2004) Involvement of the retinoid X receptor in the development of imposex caused by organotins in gastropods, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 6271-6276.

16) Laughter, A. R., Dunn, C. S., Swanson, C. L., Howroyd, P., Cattley, R. C. and Corton, J. C. (2004) Role of the peroxisome proliferator-activated receptor α (PPARα) in response to trichloroethylene and metabolites, trichloroacetate and dichloroacetate in mouse liver, *Toxicology*, **203**, 83-98.

17) Zhou, Y.-C. and Waxman, D. J. (1998) Activation of peroxisome proliferator-activated receptors by chlorinated hydrocarbons and endogenous steroids, *Environ. Health Perspect.*, **106** (Suppl. 4), 983-988.

18) Kanayama, T., Mamiya, S., Nishihara, T. and Nishikawa, J. (2003) Basis of a high-throughput method for nuclear receptor ligands, *J. Biochem.*, **133**, 791-797.

19) Routledge, E. J. and Sumpter, J. P. (1996) Estrogenic activity of surfactants and their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 241-248.

20) White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P. and Parker, M. G. (1994) Environmental persistent alkylphenolic compounds are estrogenic, *Endocrinology*, **135**, 175-182.

21) Collins, M. D. and Mao, G. E. (1999) Teratology of retinoids, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**, 399-430.

22) Soprano, D. R. and Soprano, K. J. (1995) Retinoids as teratogens, *Annu. Rev. Nutr.*, **15**, 111-132.

23) Gardiner, D. M. and Hoppe, D. M. (1999) Environmentally induced limb malformations in mink frogs (*Rana setentrionalis*). *J. Exp. Zool.*, **284**, 207-216.

24) Gardiner, D., Ndayibagira, A., Grün, F. and Blumberg, B. (2003) Deformed frogs and environmental retinoids, *Pure Appl. Chem.*, **75**, 2263-2273.

25) Dusso, A. S., Brown, A. J. and Slatopolsky, E. (2005) Vitamin D, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, **289**, 8-28.

26) Michalik, L., Devergne, B. and Wahli, W. (2004) Peroxisome-proliferator-activated receptors and cancers: complex stories, *Nature Rev. Cancer*, **4**, 61-70.

27) Chambon, P. (1996) A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J.*, **10**, 940-954.

28) Hoai, P. M., Tsunoi, S., Ike, M., Kuratani, Y., Kudou, K., Viet, P. H., Fujita, M. and Tanaka, M. (2003) Simultaneous determination of degradation products of nonylphenol polyethoxylates and their halogenated derivatives by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry after trimethylsilylation, *J. Chromatogr. A*, **1020**, 161-171.

29) 環境省（2005）化学物質ファクトシート2004年度版57. テレフタル酸，214-216.

30) 環境省（2005）化学物質ファクトシート2004年度版10. 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩，39-42.

31) Schräder, M., Bendik, I., Becker-André, M. and Carlberg, C. (1993) Interaction between retinoic acid and vitamin D signaling pathway, *J. Biol. Chem.*, **268**, 17830-17836.

32) Schräder, M., Müller, K. M., Becker-André, M. and Carlberg, C. (1994) Response element selectively for heterodimerization of vitamin D receptors with retinoic acid and retinoid X receptors, *J. Mol. Endocrinol.*, **12**, 327-339.

33) Chin, T. Y., Tyl, R. W., Popp, J. A. and Heck, H. d'A. (1981) Chemical urolithiasis 1. Characteristics of bladder stone induction by terephthalic acid and dimethyl terephthalate in weanling Fischer-344 rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **58**, 307-321.

34) IPCS. (1996) Environmental Health Criteria, 169.