

# 女性ホルモン様物質の検出系

金子秀雄 庄野文章 松尾昌季

女性ホルモン様化合物の検出のための試験系が現在検討されている。試験管内試験としては、女性ホルモンレセプターへの結合試験、培養細胞を用いた細胞増殖性および代謝変換を含めた転写活性化を指標した試験法がある。いっぽう、生きた動物を用いる種々の試験法もあり、それぞれ利点、欠点がある。検出系としてはこれらの試験を適宜組み合わせで検討すべきと考える。

近年、内分泌系を攪乱し生物に悪影響を与える環境中の化学物質が大きな社会問題として取り上げられている。このような化学物質は“内分泌攪乱物質(endocrine disruptor)”あるいは、“環境ホルモン”と呼ばれている。

この問題が広く社会で騒がれるようになった端緒は、T. COLBORNの著書‘Our Stolen Future’(邦訳‘奪われし未来’, 翔泳社(1997))の刊行であるといえるだろう。フロリダ州アポプカ湖でのワニの生殖器の短小化(本特集 Louis GUILLETTE 氏の解説参照)、日本近海でのイボニシの雌雄同体(本特集堀口敏宏氏の解説参照)および男子の精子の質・量の低下(本特集森千里氏の解説参照)などが環境ホルモンの影響として、マスコミなどによって広く伝えられている。

しかし、その明確な作用メカニズムは不明であるうえ、何万種も使用されている化学物質のうちどの物質が内分泌系を攪乱する(ホルモン様作用を示す)のかもほとんどわかっていない。作用メカニズムの解明と、ホルモン様作用を示す化学物質を検出するための試験系の開発が望まれている。

内分泌攪乱の原因は、おもに化学物質による生体内のホルモン環境の変化・攪乱であると考えられる。ホルモンは、ある器官・臓器で産出され、

血液で運搬され、標的組織に到達して、細胞に存在するアンテナ(レセプター(受容体))に結合する。この結合によってホルモン情報が細胞内で遺伝子にまで伝達されて、種々のホルモン応答が起きる。これまでの研究によって、化学物質が生体のホルモン環境を攪乱する作用点として“ホルモンとレセプターとの結合の攪乱”および“ホルモンの合成・運搬・分解の攪乱”が重要と考えられている。

本解説では、内分泌攪乱の主要原因の一つと考えられている女性ホルモン様作用を示す化合物を検出するための試験系について、主として *in vitro* (試験管内で)の試験系を概説し、*in vivo* (生体内で)の試験についても簡単に言及する。

## 細胞間情報伝達機構

個体は多くの細胞からなり、組織・器官はそれぞれの特有の機能を有している。個体が全体として調和した機能を果たすには、統合した情報が組織・器官へと伝達される必要がある。細胞の外からの情報(ホルモンなどの化学物質)を受け取るには細胞にこれらの情報に固有なアンテナが必要である。化学物質と結合し、細胞に情報を受け取る機能をするものをレセプターと呼ぶ。

レセプターには細胞膜上に存在するものと細胞

Hideo KANEKO, Fumiaki SHONO 住友化学工業  
Masatoshi MATUO 大阪大学先端科学技術共同センター

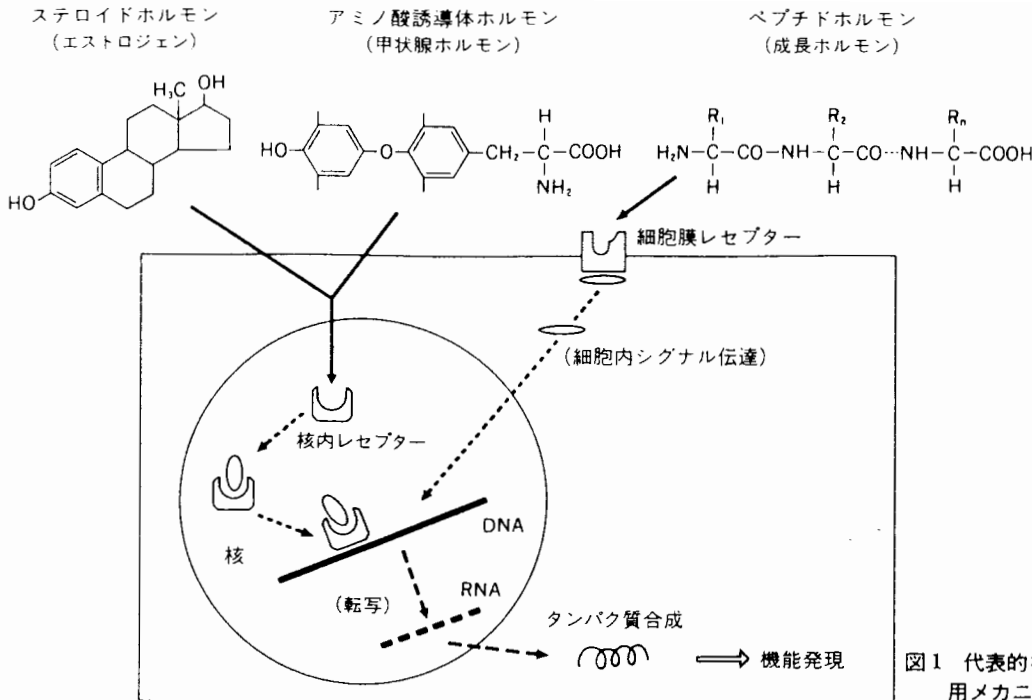


図1 代表的なホルモンの構造と作用メカニズム。

内に存在するものがある。細胞膜は脂質2重層からなるために、タンパク質のような水溶性のものは一般的には細胞膜を透過できない。このため水溶性の物質に対しては、細胞膜上にそのレセプターが存在する必要がある。いっぽう、ステロイド骨格\*を代表とする脂溶性物質は細胞膜を通過できることから細胞内にそのレセプターが存在することが多い。例えば、細胞膜レセプターに結合するリガンド(レセプターに情報を伝達する化学物質の総称)には視床下部、下垂体前葉から産出される多くのタンパク質ホルモン、カテコールアミン類があり、細胞内レセプターのリガンドにはステロイドホルモン(女性ホルモン、男性ホルモン、副腎皮質ホルモンなど)、ビタミンA、ビタミンDおよび甲状腺ホルモンなどがある(図1)<sup>(1)</sup>。

### 女性ホルモンレセプターの特徴と機能

女性ホルモンレセプターは他のステロイドホルモン(男性ホルモン、副腎皮質ホルモンなど)、ビタミンA、ビタミンD、甲状腺ホルモンレセプター

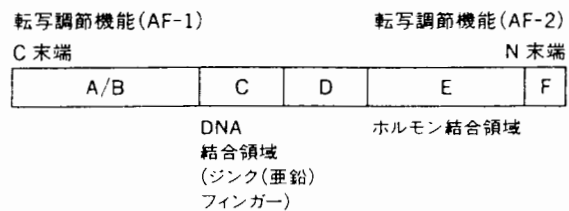


図2 女性ホルモンレセプターの構造<sup>(2)</sup>。

ーと共通構造を有していて、類似レセプター群(スーパーファミリー)を形成している。これらのDNAの塩基配列は1980年代の中頃に解明された。それ以降、DNA結合領域の相同性を利用して多くのレセプターが発見され、現在では、このファミリー群に属しているレセプターは約50種が知られている。

これらのレセプターの存在場所は細胞核内か細胞質であると考えられている。基本構造は共通で、レセプターの中央に亜鉛を含むDNA結合領域を有し(ドメインC)、C末端領域にはホルモン結合領域を有する。N末端およびC末端領域は転写活性に関連している(図2)<sup>(1)(2)</sup>。

女性ホルモンレセプターは従来1種類と考えられてきたが、1996年にもう一つの女性ホルモンレセプターが発見された<sup>(3)</sup>。そこで、従来から知られている女性ホルモンレセプターを女性ホルモンレセプター $\alpha$ と呼び、新しく発見されたほうは女性ホルモンレセプター $\beta$ と呼んでいる。女

\* 化学での正式な名称はシクロペントノペリドロフェナントレン炭素骨格といい、3個の6員環と1個の5員環からできている。この骨格をもつ化合物群を総称してステロイドと呼ぶ。性ホルモン、副腎皮質ホルモンもステロイドに含まれる。

表1 女性ホルモンレセプター $\alpha$ のホルモン結合領域のアミノ酸配列の種差<sup>(4)</sup>.

動物	相 同 性
ヒト	100%
ブタ	95
ヒツジ	95
ラット	96
マウス	96
ニワトリ	93
カエル	82
魚(ニジマス)	60

ヒトのアミノ酸配列を100%とする

性ホルモンレセプター $\beta$ の生体内での機能・役割および女性ホルモンレセプター $\alpha$ との関係は、現在世界中で研究されているが、まだよく解明されていない。

よく研究されている女性ホルモンレセプター $\alpha$ のホルモン結合領域のDNAの塩基配列は、生物種間で比較的良好に保存されているものの、完全には一致しておらず厳密には種差が存在することがわかっている(表1)<sup>(4)</sup>。これは、同一の化学物質に対するレセプターの反応性に種差があるかもしれないことを示唆している。

女性ホルモンレセプターは、細胞内でホルモンなどのリガンドと結合すると、リガンドのDNA上の特定配列を認識する。この特定配列は、一般的には標的遺伝子上流に存在して、ホルモン応答配列(レスポンスエレメント)と呼ばれている。この特定配列に、ホルモンレセプターがホモ2量体(男性ホルモン、女性ホルモンなど)かヘテロ2量体(甲状腺ホルモン、ビタミンA、ビタミンD、相手方: レチノイドXレセプター)を形成して結合する(図3)<sup>(4)</sup>。レセプターが結合すると標的遺伝子の転写が活性化する。

### 内分泌攪乱の二つの機構

レセプターと化学物質の結合性には、2種類ある。それは、化学物質がレセプターと結合してホルモンと同じような作用を示す場合(アゴニスト活性、この活性を示す物質をアゴニストと呼ぶ)とホルモンがレセプターに結合することを阻害する場合(アンタゴニスト活性、この活性を示す物質をアンタゴニストと呼ぶ)である。例えば、女

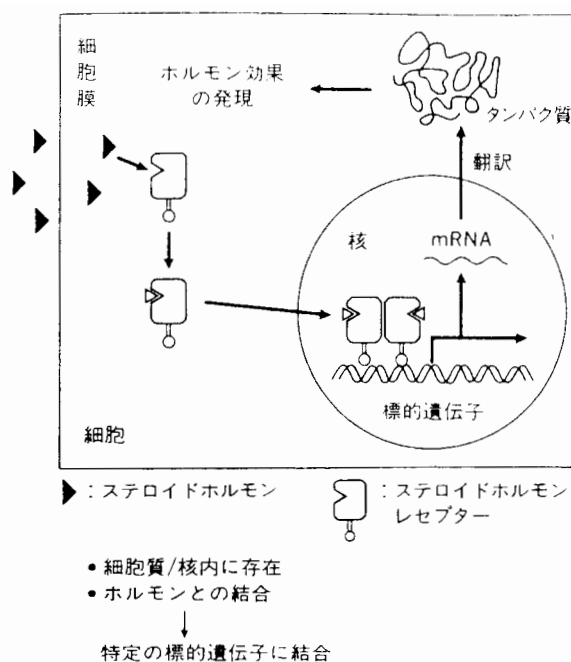


図3 スteroidホルモンレセプターの特徴と機能。

性ホルモンレセプターのアゴニストとしてよく知られているものは、合成女性ホルモン(ethinyl estradiol)、ジエチルスチルベストロール(DES; diethyl stilbestrol)および植物由来のイソフラボン(genistein, daidzein など)がある。いっぽう、アンタゴニストとしては乳がん治療薬のタモキシフェンがよく知られている<sup>(2)</sup>。

女性ホルモンレセプターに対する化学物質の結合性をみてやれば、その物質が生体本来の女性ホルモンの働きを攪乱するかどうか分かる。女性ホルモンレセプターに対する化学物質の結合性を調べる方法には、大きく3種類あり、それらは、(1)バインディングアッセイ、(2)細胞増殖を指標とする方法、(3)転写活性を指標とする方法である。それらについて以下で概説する<sup>(5)</sup>。

### バインディングアッセイ

バインディングアッセイとは、レセプターに天然のホルモンを結合させた後に、そこに試験する化学物質を添加してレセプターに結合したホルモンがレセプターからどのくらい遊離するかを調べることで試験化合物のレセプターに対する結合の強さ(親和性)を知る方法である。

女性ホルモンレセプターには女性ホルモン(エ

ストラジオール)を使用する。バインディングアッセイには、基本的には以下の3種類がある。

#### 組織・臓器からのレセプターを用いる方法

この方法で女性ホルモンレセプターのバインディングアッセイをするには、卵巣を摘出した後に子宮をホモジェナイズ(粉碎, 均一化)し, 超遠心分離によってレセプターを含むフラクション(分画)を調製する。卵巣を摘出しないで子宮を使用するとレセプター量が少なく実験上困難な場合が多いので, 通常は卵巣摘出後の子宮を用いる。

#### 細胞を用いたアッセイ法

女性ホルモンレセプターを細胞内で発現している培養細胞(例えばヒト乳がん由来の細胞 MCF-7)に通常のバインディングアッセイのように(培養液中に)女性ホルモンを添加してレセプターとホルモンを結合させた後に, 試験化合物を添加して, 遊離してくるホルモン量を測定することによって試験化合物とレセプターとの結合の強さを知る方法である。

#### 遺伝子工学的手法で大量発現させた

#### レセプターを用いる方法

昆虫細胞にバキュロウイルス(女性ホルモンレセプター遺伝子を含む)を感染させて昆虫細胞内で目的とするレセプターを大量に発現させた後にレセプターを調製するか, 同様な方法で, 哺乳動物由来の培養細胞内に女性ホルモンレセプター遺伝子を導入して, レセプターを発現させることも可能である。

#### 細胞増殖を指標とする方法

化学物質の女性ホルモンレセプターに対する作用性を調べる方法として, MCF-7の増殖活性を調べる方法がある<sup>(5)(6)</sup>。ヒト乳がん由来の細胞である MCF-7は, 女性ホルモン量に依存してその増殖が促進される。同細胞を培養し, そこに試験化合物を添加して一定時間後に細胞数を測定することで増殖度を測定すれば, 化合物の女性ホルモン活性を知ることができる。この方法はE-スクリーン(E-screen)と呼ばれている<sup>(5)(6)</sup>。

#### 転写活性を指標とした

#### アッセイ系(レポーター遺伝子アッセイ)

女性ホルモンレセプターにホルモンが結合してから標的遺伝子が活性化するまでの過程をまねした方法で, *in vitro* 試験法では最もよく利用される。培養細胞または酵母を用いる方法がある。

#### 培養細胞を用いる方法

HeLa細胞(ヒト子宮がん由来)およびHepG2細胞(ヒト肝臓がん由来)などの培養細胞に女性ホルモンレセプター遺伝子を遺伝子工学的手法を用いて導入し, さらにレポーターと呼ばれる遺伝子を同時に発現させる。また, MCF-7を使う場合は, 女性ホルモンレセプターが細胞内でもともと発現しているので, レポーター遺伝子を導入するだけでよい。

レポーター遺伝子にはクロラムフェニコールアセチラーゼカルシフェラーゼを用いる。これらのレポーター遺伝子の遺伝子上流に, ホルモンレセプター応答配列を挿入する。細胞内で発現したレセプターにホルモンが結合すると, レポーター遺伝子の上流にある応答配列に結合して下流にあるレポーター遺伝子の転写活性を増大させてレポーター酵素の量が増える。その酵素活性を測定することでレセプターと化学物質との結合を知ることができる(図4)。これがこのアッセイ系の原理である。

例えば, レポーター酵素にルシフェラーゼを用いる場合, 試験化合物がアゴニスト活性をもっていれば, ルシフェラーゼ遺伝子の転写が活性化され, ルシフェラーゼ酵素の量が増える。そこにルシフェリン(蛍の発光体)を加えると発光量が増える。いっぽう, 化学物質がアンタゴニスト作用を示す場合は, 酵素の生成量が下がるために女性ホルモンを添加した場合より発光量が減少する。これらのことによって化学物質がアゴニストかアンタゴニストかを区別できる。

このアッセイ系の特徴は, 感度が非常に高く, ロボットを用いた高速スクリーニング(high throughput screening)が可能であることだ。

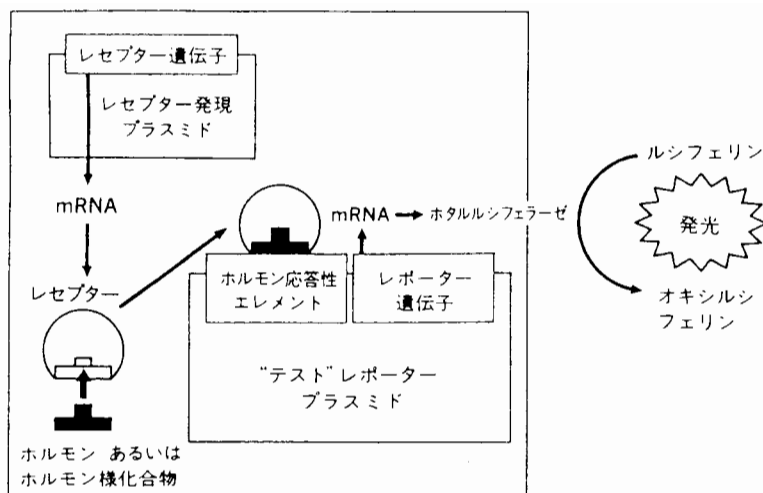


図4 ルシフェラーゼアッセイの模式図。検査化合物のホルモン作用に依ってホタルルシフェラーゼの産生量が決まる。ルシフェラーゼの作用でルシフェリンがオキシルルシフェリンに変化するときに発光するので、発光量は、ルシフェラーゼの量すなわち化合物のホルモン作用に依存して決まる。

実例として、2種の培養細胞を用いた結果を図5に示す。MCF-7では、女性ホルモンの一つエストラジオールに対して1 pM(M = mol/l)というごく低濃度から転写活性の増大が認められ、ほぼ10 pMで飽和に達する。いっぽう、HeLaの場合はエストラジオール1 nMで飽和に達する<sup>(7)</sup>。また、本試験系で化学物質を混合した場合の効果を試験した。1996年に‘Science’誌<sup>(8)</sup>で報告されたような衝撃的な相乗効果(発表後に再現性がないということでレポートが却下されている)があるかどうかをみるためである。ヒト女性ホルモンレセプター $\alpha$ を遺伝子工学的手法で発現させたHeLa細胞に環境汚染物質(トキサフェン(toxaphen)、エンドスルファン(endosulfan)、ディルドリン(dieldrin)、DDTなどの中から)2種を組み合わせてその効果を調べたところ、相乗効果は認められず、相加効果しかないことが判明した。女性ホルモンレセプター $\beta$ でも同様な結果を得た。これらの結果は、化学物質を混合してもレセプターに対する結合には相乗効果がないことを示唆している<sup>(9)</sup>。

#### 酵母を用いる方法

酵母に女性ホルモンレセプター遺伝子を遺伝子工学的手法を用いて導入し、培養細胞と同じようにレポーター遺伝子を導入して、レポーター遺伝子の転写活性を指標にして化学物質によるレポーター遺伝子(酵母の場合は、レポーター酵素として $\beta$ -ガラクトシダーゼを使用)の転写活性化を調べるものである。女性ホルモンレセプターを用いる場合はYES(yeast estrogen screen)および男

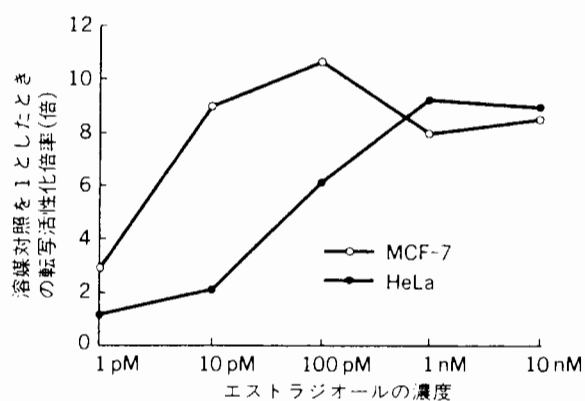


図5 MCF-7およびHeLa細胞における女性ホルモンに対する応答。

性ホルモンレセプターの場合はYAS(yeast androgen screen)と呼ばれている。

この酵母を用いた方法では、培養細胞では可能なアンタゴニストとアゴニストの区別はできず、また酵母には細胞壁があって化学物質の透過性が悪いことから、感度も若干落ちるという欠点がある。しかし、酵母の維持は培養細胞より容易で、コスト的には培養細胞よりも安くできるという利点がある。

#### ホルモン様作用をもつ代謝産物

元の化合物(親化合物)にはホルモン様活性がなくても、生体内で代謝反応を受けてホルモン様活性をもつようになる化合物がある。*in vitro*アッセイ系ではホルモン様活性を有する代謝物の検出は一般的にはできない。なぜなら、アッセイに用いられる培養細胞には代謝活性化能がないと考えられるからである。

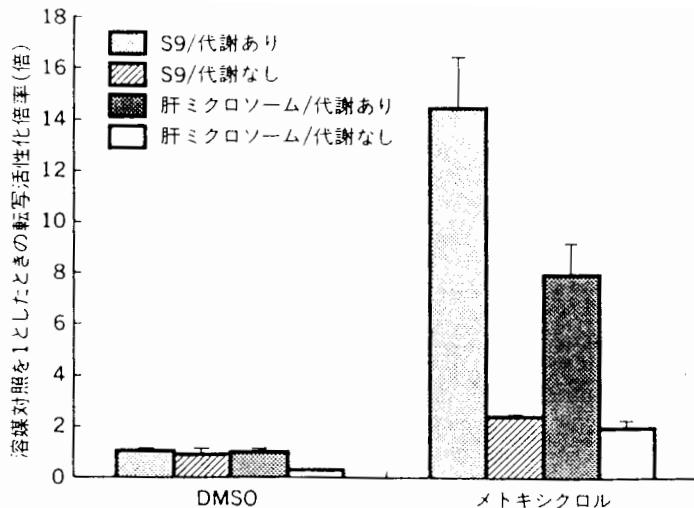


図6 代謝活性化の検討(MCF-7). メトキシクロル自身は女性ホルモン様の作用をもたないが、その代謝産物は、女性ホルモン様の作用をもつことがわかる。

代謝反応は一般的には2段階で進み、第一相反応では化学物質は酸化、還元、加水分解などを受け、第二相反応では生体分子が結合する抱合反応などを受ける(本特集有菌幸司氏の解説参照)。生体内の代謝反応はおもに肝臓で起こり、その反応を触媒する酵素のほとんどがS9分画(肝臓のホモジェネートを9000gで遠心分離したときの上清)またはミクロソーム分画(肝臓のホモジェネートを10万gで遠心分離した沈殿)に存在する。

このように代謝反応を受けてホルモン様反応を示す化合物の代表例としては、女性ホルモンレセプターではメトキシクロルがよく知られている。メトキシクロル自体は女性ホルモン様活性はもたないが、代謝物である脱O-メチルメトキシクロルは強い女性ホルモン様活性を示す。図6に示すようにMCF-7を用いた転写活性化を指標とするアッセイ系で、肝臓のS9分画またはミクロソーム分画とメトキシクロルをインキュベート(混合し37°Cで一定時間振とう)して代謝反応をおこなった後にアッセイ系に添加すると、両分画ともにメトキシクロルそのものには応答がないものの、代謝物には女性ホルモン様活性があることが証明できる<sup>(7)</sup>。この代謝活性化法は、*in vitro*の系でありながら代謝物を含めた評価ができる、きわめて有用な方法であるといえよう。

### 各 *in vitro* レセプターアッセイ法の利点と欠点

組織・臓器から調製したり、レセプター遺伝子を導入した昆虫細胞(昆虫ウイルスを利用)および培養細胞から調製したレセプターを用いたバインディングアッセイは、古くから実験法として賞用されてきた。バインディングアッセイは、検出感度が高いのが利点であるが、アンタゴニストとアゴニストの区別ができないという大きな欠点がある。また、このアッセイ系では、試験化合物が界面活性・タンパク変成作用をもっていると正しい評価ができない。とくに、高濃度の試験化合物のバインディングアッセイの結果については、その化合物の溶解度を含めて結果の解析に注意が必要である。さらに、生体では起こり得ない高濃度での条件下でも実験は可能であるが、それらの結果は実際を考える上であまり意味のないことが多い。

MCF-7などの細胞を使用したバインディングアッセイでも同様な利点と欠点があるが、高濃度での実験で細胞に対する毒性も同時に評価できることを考慮すれば、この方法が優れていると考えられる。ただ、細胞を使用すると培地中にあるタンパク質の影響で細胞内での実際の化合物濃度を知ることができないという欠点がある。

いっぽう、転写活性化を指標としたアッセイ系ではこのような点は克服できるが、手法は高度でDNA遺伝子組換え技術が必要であり、また特別

表2 女性ホルモン様化合物の検出のための *in vivo* および *in vitro* 試験法の比較.

	利 点	欠 点
<i>in vivo</i> 試験法(動物)	<ul style="list-style-type: none"> <li>●種々の被曝ルートで検証できる.</li> <li>●化合物の生体内での代謝(蓄積性, 酵素誘導など), 性ホルモンの生合成および分解, 生体内輸送を同時に評価できる.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●多くの化合物を一時に処理できない.</li> <li>●時間がかかる(最低3日以上).</li> <li>●動物に負荷をかける(卵巣摘出, 精巣摘出など)</li> <li>●化合物量が多い(mg~g オーダー/アッセイ).</li> <li>●ヒトと実験動物間でレセプターおよび酵素に種差がある可能性がある.</li> </ul>
<i>in vitro</i> 試験法(試験管内反応)	<ul style="list-style-type: none"> <li>●多数のサンプルのスクリーニングが短期間に可能(high throughput screening, 数千化合物/週).</li> <li>●アッセイに使う化合物量が少ない(~μg オーダー/アッセイ).</li> <li>●ヒトおよび実験動物のレセプター, 酵素の比較研究ができる.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●化合物の生体内での代謝(蓄積性, 酵素誘導など), 性ホルモンの生合成および分解, 生体内輸送の個々については評価できるものもあるが, 総合的に評価できない.</li> </ul>

な実験区画(P2 など)も必要である. さらに, 同じ化合物でも, 使用する培養細胞によって答えが異なる場合がたまにあるという欠点ももつ<sup>(2)</sup>.

### *in vitro* ホルモン生合成試験法

男性ホルモン, 女性ホルモンは, 生体内でほぼ同様なルートで合成される. すなわち, コレステロールから, 数種の P-450 酵素(酸化酵素の一種, 有蘭氏の解説参照)がかかわる反応を経て男性ホルモンが合成される. いっぽう, 女性ホルモンはアロマトラーゼと呼ばれる P-450 酵素によって男性ホルモンから合成される. これらの P-450 酵素が阻害されるとホルモンの生合成が攪乱されることになる. 例えば, 乳がん治療薬のファドロゾールはアロマトラーゼの働きを阻害することで, 女性ホルモンの濃度を下げてしまう.

これらの酵素の一つ一つについて, 動物組織を用いたり, 遺伝子工学的手法で動物・ヒトの酵素を培養細胞, 酵母で発現させて, 化学物質による阻害を検討することができる. また, 特定のホルモン生産組織(卵巣細胞など)に化学物質を処理して, 男性ホルモンや女性ホルモンの生合成阻害を知ることができる.

### *in vivo* アッセイ系

女性ホルモン様化合物の検出のための *in vivo*

試験は, 現在いくつか報告されている. その原理は, 女性ホルモンの作用によって変動する因子を検出することである. 女性ホルモン様化合物を検出するための比較的短期間でできる試験またはスクリーニング試験として, 卵巣を摘出したラットに化学物質を投与した後, 子宮重量または膈重量の測定, 性周期, 膈開口時期, 膈および子宮の組織病理検査をするなどの試験方法がある. また, 化学物質を投与した後, 体内の性ホルモンレベルの変動を調べるという検討方法もある. 長期試験としては, 二世代にわたる繁殖性試験がある<sup>(5)(10)</sup>.

### *in vivo* と *in vitro* の利点と欠点

表2に *in vivo* および *in vitro* 試験法の一般的な比較を記す. 試験の簡便さ, 時間, 費用, 動物愛護の面での問題点, 試験に必要な化合物量などを考慮せずに, 純粹に科学的に試験法の比較をすれば, *in vitro* の優位点はヒトのレセプターを用いて研究できることであると考え.

表1に示すように, ラット, ヒト, および他の動物ではレセプターのアミノ酸配列が必ずしも一致しておらず, 試験化合物によっては実験動物とヒトとで異なる反応が起こる可能性が理論的にはありうる. そこで, 遺伝子工学的手法を利用して, ヒトおよび実験動物の酵素, レセプターに対する試験化合物の作用性を比較検討できる *in vitro* 試験法が重要となる.

いっぽう、*in vivo* 試験法の重要性は代謝(蓄積性、分解性)、性ホルモンの生合成ルートにかかわる酵素の阻害、性ホルモン生合成にかかわる酵素の誘導をすべて含んで試験している点にあると考える。また、*in vitro* 試験では一般的には非常に高濃度まで実験できる場合があるが、試験化合物が高濃度になればホルモン作用に関係なくレセプターに影響が出ることが多い。そのような高濃度での実験からレセプターに作用があると結論した報告のなかには、動物に投与すれば死亡するような高い濃度を用いているものもある。*in vitro* の実験では、そのようなデータの解釈に十分注意しないと、とんでもない誤解を起こすことがある。

### アッセイ系をどう利用するか

本問題で諸外国での対応状況を簡単に述べる。米国では、本年8月に内分泌攪乱剤のスクリーニング系の開示をすることになっており、その考え方の大筋はつぎのようである。年間1万ポンド(約5トン)を製造もしくは輸入している1万5000種の化学物質について、女性ホルモンレセプター $\alpha$ および $\beta$ 、男性ホルモンレセプターおよび甲状腺ホルモンレセプターに対する活性を、転写活性化を指標としたアッセイ系に代謝活性化を加えた系で、高速スクリーニングで評価して、優先順位をつける。さらに段階的に高次の試験であるティア1(Tier 1 screening(T1S))、おもに*in vitro* 試験および短期動物試験)およびティア2(Tier 2 Test(T2T))、長期動物試験、2世代繁殖性試験)を優先順位に従っておこない、安全性評価をすることになっている(米国の動きについて

詳しくは本特集井田泰泉氏の解説参照)。

女性ホルモン様化合物の検出のために、現在、検討されているが、いろいろな試験系の組合せが必要であると思う。個人的には、実験動物を用いる*in vivo* 毒性試験と種々の*in vitro* 試験を組み合わせさせて評価していくべきと考えるが、どのような試験法を組み合わせれば完全かはいえないのが現状である。今後、多くの研究機関で前述のアッセイ系の再現性、選択性および感度などが検討され、女性ホルモン様化合物の検出系として、false positive\*やfalse negative\*\*のないとくにfalse negativeが回避できるアッセイ系の組合せまたは手順が確立されることが重要と考える\*\*\*。

### 文 献

- (1) 加藤茂明: 核内レセプターとシグナル伝達, 実験医学バイオサイエンス 19(1994)
- (2) B. E. GILLESBY & T. R. ZACHAREWSKI: Environ. Toxicol. Chem., 17, 3(1998)
- (3) G. G. KUIPER et al.: Proc. Natl. Acad. Sci., 93, 5925(1996)
- (4) M. R. FIELDEN et al.: Environ. Health Perspect., 105, 1238(1997)
- (5) L. E. GRAY Jr. et al.: Reprod. Toxicol., 11, 719(1997)
- (6) A. M. SATO et al.: Environ. Health Perspect., 103, 113(1995)
- (7) 住田佳代, 松永治之, 金子秀雄: NEDO 委託研究成果(準備中)
- (8) S. F. ARNOLD et al., Science, 272, 1489(1996)
- (9) 大江師久, 松永治之, 住田佳代, 金子秀雄(準備中)
- (10) J. R. REEL et al.: Fund. Appl. Toxicol., 34, 288(1996)

\* 正しくは陰性であるのに誤った陽性の結果。

\*\* 正しくは陽性であるのに誤った陰性の結果。

\*\*\* 本報告の一部はNEDO(新エネルギー・産業技術総合開発機構)の委託研究での成果である。

## 科学時事



### ルナ・プロスペクターによる月の氷の発見

今年1月6日に打ち上げられた月探査機ルナ・プロスペクターが、はやくもおもしろい結果を送ってきた。

月の北極・南極に氷が存在する強い証拠が得られたのである。

ルナ・プロスペクターは平均高度100 km、周期2時間の極軌道で月を周回している。月の表面付近に