

【特集】

佐々木研究所における

化学物質のリスク評価・管理に資する毒性病理学的研究 .

(3) 内分泌攪乱化学物質 , 特にエストロゲン様作用を示す化学物質の
評価に Donryu ラット子宮体部発がんモデルの果たした役割

- 本モデルを用いた即時型影響(androgenization)と遅発型影響(delayed anovulatory syndrome , DAS) の発現機序と子宮発癌との関連性 -

Toxicologic pathological researches conducted in the Sasaki Institute
in order to contribute to the risk assessment/management of chemicals.

(3) A significance of Donryu rat uterine cancer model for risk assessment of
endocrine disrupting chemicals with estrogenic activity

- Different pathways between androgenized and delayed anovulatory syndrome
effects on uterine carcinogenesis -

吉田 緑

財団法人 佐々木研究所 病理部

Midori Yoshida

Department of Pathology , Sasaki Institute , Sasaki Foundation

要旨: 内分泌攪乱化学物質が持つ最も重要な問題は次世代への影響である。胎生期・新生児(仔)期曝露が成熟動物と異なる点として、視床下部・下垂体・性腺系の制御系および発育・分化過程への不可逆的障害、およびこれらの障害に対する高感受性を示す時期(window または critical point)の存在が挙げられる。筆者らは各種化学物質の子宮癌への影響検出モデルとして開発された Donryu ラット二段階子宮発癌モデルを用いて、内分泌攪乱化学物質の新生児(仔)期曝露による生殖器および子宮癌発生への影響を観察した。その結果、曝露時期による違いにより生じた即時型影響(androgenization)と遅発型影響(delayed anovulatory syndrome , DAS)の発現機序が子宮発癌にまで関連していることが明らかとなった。

キーワード: 佐々木研究所, 毒性病理学, 内分泌攪乱化学物質, 子宮内膜腺癌, Donryu ラット

Abstract: Recently , environmental pollution with man-made chemicals having weak estrogenic effects , which may disturb the endocrine systems of wildlife and human beings , has become an important social problem. In particular , effects of perinatal exposure to such endocrine disrupting chemicals (EDCs) are a focus of attention , because of their potential to act as estrogens and influence on the growth and

differentiation of organs. In rodents, the reproductive tract undergoes rapid growth and differentiation within the first 2 weeks of postnatal life named 'critical point' or 'a unique window of vulnerability', because this period is very sensitive with regard to exogenous estrogens or androgens. In female mammals, inappropriate neonatal exposure to these hormones is known to induce the serious effects on the reproductive system, called 'androgenization' due to irreversible disruption of the hypothalamo-pituitary-gonadal control system immediately after birth. This paper will be presented effects of neonatal exposure to estrogenic EDCs for different periods on the female reproductive system including uterine carcinogenesis using 2-stage uterine cancer model in Donryu rat. As a result, the neonatal exposure for different periods induced different types of uterine adenocarcinomas, suggesting that two different pathways driven by androgenization or delayed anovulatory syndrome, the latter being incomplete androgenization, dependent upon exposure periods develop the tumors.

Key words: Sasaki Institute, toxicologic pathology, endocrine disrupting chemicals, endometrial adenocarcinoma, Donryu rat

1. はじめに

農薬を含む多くの化学物質が「生体の恒常性、生殖あるいは行動に關与する種々の生体内ホルモンの諸過程を阻害する性質を持つ外来性の物質」すなわち内分泌攪乱化学物質として指摘され、大きな社会問題となって10年余りが経過した。1970年代より、エストロゲンあるいはアンドロゲン類の胎生期・新生児（仔）期曝露が視床下部・下垂体・性腺系の制御を不可逆的に障害し、脳や生殖器系の發育・分化異常、さらには子宮癌の発生まで起こす実験データが精力的に報告されていたにもかかわらず、内分泌攪乱化学物質問題が起こるまでこれらに無知であった筆者自身への反省をこめて、内分泌攪乱化学物質が持つ最も重要な問題として胎生期・新生児（仔）期曝露影響を挙げたいと思う。

胎生期・新生児（仔）期の發育分化過程は複雑で未だ解明されていない部分も多いが、エストロゲン（アンドロゲン）作用を示す化学物質はホルモン作用を有するような大量を投与すると生体ホルモンと同様の变化を起こす。ヒトの子宮体部癌（子宮内膜腺癌）は増加しつつある婦人科悪性腫瘍であり、その発生と進展にエストロゲンの關与が指摘されているが、胎生期・新生児（仔）期の内分泌攪乱化学物質曝露と子宮癌の關連性を明らかに示すデータは、diethylstilbestrol (DES)胎生期曝露影響を除き認められない。胎生期・新生児（仔）期曝露と子宮癌の關連性を考えた場合、エストロゲン作用の有無は一つの鍵である。本項では、筆者らが佐々木研究所 病理部において前川 昭彦 研究所長（前 病理部長）のもとでラットモデルを用いて実施した各種化学物質の子宮発癌への影響を評価した実験の中から、内分泌攪乱化学物質の新生児（仔）期曝露が雌性生殖器および子宮発癌へ与える影響について紹介する。化学物質としては弱いエストロゲン様作用を示す *p*-tert-octylphenol (OP)を例に挙げて我々の実験データを紹介し、新生児（仔）では曝露時期による発現機序の違いによってどのような影響が検出できるのか、またどのような項目を検出指標とすべきかについて考察し、最後に本モデルを用いた検出系の有用性と限界についても言及したい。

2. 内分泌攪乱化学物質の胎生期・新生児(仔)期曝露による生体への影響の重要性和その問題点

雌性生殖系は内分泌攪乱化学物質の最も重要な標的臓器の一つであることは言うまでもないが、視床下部、下垂体、性腺系の内分泌機構に制御されている事に加えて雌では排卵に伴う性周期を有するために、これらの物質の影響は雄より複雑であり評価が困難な場合が少なくない。しかし近年多くのデータの蓄積から、組織内のエストロゲンレセプターと結合してエストロゲンあるいは抗エストロゲン様作用を示す物質の成熟動物に対する影響の検出系として、卵巣摘出あるいは幼若動物に被験物質を用いることで子宮・膣などの生殖系に対する影響を簡便かつ正確に把握することができるようになった(「内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法」, 2000)。

一方、内分泌攪乱化学物質が持つ最も重要な問題の一つとして、胎生期・新生児(仔)期曝露と成熟動物曝露では作用の機序および標的臓器に対する反応性が異なっていることから、胎生期・新生児(仔)期曝露による次世代への影響をしらべる必要性がある。成熟動物と異なる点として、まず高感受性を示す時期(window または critical point)の存在が挙げられる。つぎに胎生期・新生児(仔)期曝露は視床下部・下垂体・性腺系の制御を不可逆的に障害することから脳や生殖系の発育・分化に重大な影響を及ぼすことがヒトおよび動物で知られている。母親の流産防止用としての DES 服用による子供への膣癌の発生はその悲惨な例である。

この内分泌攪乱化学物質問題に対する社会的関心の高まりに伴い、この問題に関する多くの実験データが出てきたが、脳への影響や低用量曝露問題を含め、胎生期・新生児(仔)期影響の発生機序まで言及した報告は数少なく、解明されていない部分が多く残されている。解明が進んでいない原因の一つとして、魚類における ovo-testis のように、精度のよい検出マーカーが哺乳類の生体を用いた実験系で確立されていないことが挙げられる。

われわれは、子宮癌好発系の Donryu ラットを用いた二段階子宮発癌モデルの内分泌攪乱化学物質の生体へのリスク評価モデルとしての有用性について検討した。

3. 子宮癌好発系の Donryu ラットを用いた二段階子宮発癌モデルの特徴

まず、Donryu ラットを用いた子宮癌発癌モデルについて、その開発の経緯を説明する。

1) Donryu ラットの子宮内膜腺癌の特徴とヒトとの類似性

実験動物として汎用されているラットでは一般的に子宮癌の発生は稀であるが、前川らは老齢の Donryu ラットにおいて子宮内膜腺癌が高頻度に発生することを見出し、本系統に発生する子宮癌はヒトの子宮体部における子宮内膜腺癌とその形態だけでなく、内分泌学的にも多くの共通点を有することを発見した(Maekawa *et al*, 1986; Nagaoka *et al*, 1990; Nagaoka *et al*, 1994)。

Donryu ラットでは 10 ヶ月齢を過ぎる頃から卵巣機能の衰退により性周期が乱れ、その後排卵が停止すると大部分のラットにおいて持続発情が膣スメア像で観察される。この時期より子宮の腺上皮が限局性に増殖する異型性過形成が認められ始め、年齢とともに異型性過形成の病変数、大きさおよび異型性の程度が増加し、2 年齢では約 30~50%の動物に子宮内膜腺癌が観察される。この異型性過形成と子宮内膜腺癌との関連性について経時的に観察したところ、過形成は増殖性病変の大きさと増殖する腺上皮の異型度より、軽度、中等度および高度の 3 段階に

分類された。高度の異型性過形成病変は、細胞の異型性は認められるものの、内膜にとどまり筋層あるいは血管極への浸潤のないものとし、筋層あるいは血管極への浸潤・増殖または肺への遠隔転移を伴う病変を腺癌と診断した。これらの形態像はヒトの子宮内膜腺癌特に endometrioid type と類似性を有していた(Sherman, 2000)。

本系統ラットの子宮癌のもう一つの特徴として、子宮癌発生に卵巣機能の衰退による性ホルモンのアンバランスが重要な役割を果たしていることが挙げられる。すなわち、本系統ラットで、他系統がまだ繁殖性を示す 10 ヶ月齢頃より卵巣機能が衰退し、形態学的には、黄体がなく退縮卵胞および嚢胞性卵胞のみからなる萎縮性の卵巣が加齢とともに増加する。この萎縮性卵巣は、エストロゲンは減少するものの、黄体が殆ど観察されないためにプロゲステロンの減少が著しく、結果的にホルモン状況としては相対的高エストロゲン状態となり、膣スメア像では持続発情状態を示す。この相対的高エストロゲン状態の持続は、ヒトにおいても子宮癌の高リスクであると言われており、本系統においても相対的高エストロゲン状態が早期化すれば子宮癌が増加し、遅延すれば子宮癌が抑制されることから、相対的高エストロゲン状態は Donryu ラットの子宮癌発生の極めて重要な役割を果たしていると考えられる(Katsuda *et al*, 2004; Nishiyama *et al*, 1998)。なお、F344 あるいは Sprague-Dawley ラットなどでは 2 年齢においても黄体が優位な卵巣であり、このことが子宮癌の低頻度に関連していると考えられている(Maekawa *et al*, 1999)。

2) 二段階子宮発癌モデルの確立

前述したように Donryu ラットの子宮癌では、ヒト子宮体部癌との形態学的および内分泌学的類似性が認められたため、前川らは本系統を用いて二段階子宮発癌モデルを確立した(図 1)(Ando *et al*, 1993)。方法として、10 あるいは 11 週齢のラットに発癌起始操作として、*N*-ethyl-*N*'nitroso-*N*-nitrosoguanidine (ENNG) 20 mg/kg 体重を polyethylene glycol に溶解して子宮腔内に経膣的に金属製カテーテルにて投与し、起始操作 12 ヶ月後に剖検して子宮増殖性病変について形態学的に観察した。ちなみに ENNG による発癌起始操作は子宮以外の臓器の発がん性を増加させず、また性周期など内分泌系へも影響を与えないことが確認されている。

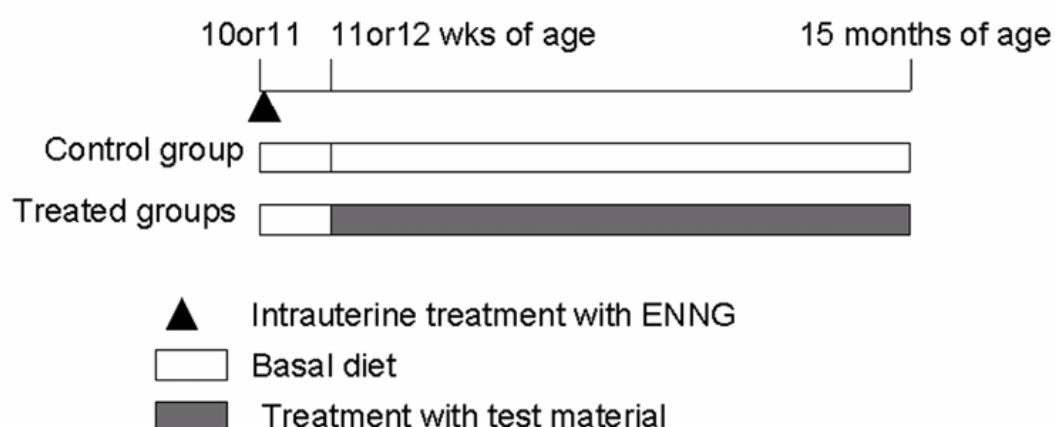


図 1 . Donryu ラットを用いた二段階子宮発癌モデル(Yoshida *et al*, 2005 より引用)

本モデルを用いることにより、以下に示すような物質の影響を評価することが可能となった。

卵巣機能を変調させて早期に高エストロゲン状態を誘発する物質

卵巣機能を変調させて高エストロゲン状態を遅延させる物質

被験物質そのものがエストロゲン活性あるいは抗エストロゲン活性を有する物質

これらの物質に対する評価の指標として、子宮内膜腺癌の発生のみならず、前腫瘍性変化と考えられる異型性過形成の発生についても有用であり、またこのモデルの子宮発癌促進あるいは抑制作用が卵巣機能と強く関連していることから、経時的に内分泌状態を推測できる膣スミア像の観察も有用な手段であると考えられる。

佐々木研究所 病理部においては、本モデルを用いて多くの化学物質あるいはホルモンの子宮癌への影響について報告してきた(Maekawa *et al*, 1998; Yoshida *et al*, 2005)。内分泌攪乱化学物質の多くはエストロゲン様作用を有する化学物質であることから、当病理部においては10年あまりに亘り、同モデルの内分泌攪乱化学物質評価モデルとしての有用性について検討してきた。

4. 大量の octylphenol の新生児(仔)期曝露が雌性生殖器に及ぼす影響 —曝露時期による影響発現の違い—

Octylphenol は alkylphenols の一種で界面活性剤、農薬、塗料に用いられている alkylphenol ethoxylates の生分解により生じて河川中に存在する弱いエストロゲン様作用を示す代表的な内分泌攪乱化学物質の一つである(Katsuda *et al*, 2000; White *et al*, 1993; Yoshida *et al*, 2000)。我々はこの octylphenol をラットの新生児(仔)期に大量曝露し、雌性生殖器にどのような影響が生ずるか検索した。また、前述のようにこの胎生期・新生児(仔)期曝露には感受性の高い時期すなわち critical point が存在することから、曝露時期の長さを2種類設定して曝露時期による影響の差の有無についても検討を行った(Katsuda *et al*, 2000; Yoshida *et al*, 2002a; Yoshida *et al*, 2002b)。実験条件としてラットの新生児(仔)に *p*-tert-octylphenol (OP) 100 mg/kg/day を隔日に皮下投与した。投与期間は生後1から5日齢(PNDs1-5)、生後1日から15日齢(PNDs1-15)の2種類を設けた。この100 mg/kgの投与量はエストロゲン様作用を示すことが明らかな量であるが、環境に存在する量と比較した場合、その100万倍以上の莫大な量である。これらの処置を施したラットについて新生児(仔)期より経時的に生殖器の変化を内分泌学および形態学的に観察した。さらに OP の新生児(仔)期曝露が子宮発癌に及ぼす影響を検索する目的で11週齢において発癌剤である ENNG を子宮腔内に投与し、15ヶ月齢まで観察して子宮内膜腺癌の発生を検索した。内分泌環境の経時的变化を捉えるために性周期を全実験期間に亘り観察した。

1) ホルモンの変化

まず内分泌学的な変動を捉えるために生後10日齢より性成熟までの性腺刺激ホルモンを測定した。その結果、PNDs1-5群の値は対照群と同様であったが、PNDs1-15群では性腺刺激ホルモンが低下し、とくに FSH において顕著であった。PNDs1-15群で観察されたホルモンの変動は、視床下部障害により性腺刺激ホルモン放出ホルモン分泌が抑制された結果で、雄の性成熟前のパターンと類似しており、OP 投与により脳が雄型へと変換(androgenization)したことを示している。

2) 卵巣の変化

性成熟前における重量はいずれの群も同様であったが、性成熟期以降、対照群および PNDs1-5

群の卵巢重量は卵胞，黄体の発達に伴い重量が増加し，発情期の午前中に卵管内に卵が観察されるようになるが，PNDs1-15 群では性成熟期以降も黄体が形成されず cystic な卵胞のみが存在することから他の 2 群と比較し有意に小さな卵巢であった．このような状態ではむしろ排卵はおこなわれていなかった．しかし，性腺刺激ホルモン放出ホルモン投与により排卵が誘発されることから，視床下部・下垂体・性腺系の制御が性成熟期以降も持続的に障害された結果と考えられた．

3) 子宮および膣の変化

ラットでは子宮腺が生後約 2 週間より形成されるが，PNDs1-5 群でその形成は正常であったのに対し，PNDs1-15 群では明らかに抑制されていた．しかし，発情期あるいは持続発情期における子宮重量はいずれの群においても同様であった．PNDs1-15 群では子宮腺形成の抑制だけでなく，子宮内膜においてエストロゲンレセプター(ER) α の発現が内膜間質細胞で 6 日齢よりすでに低下し，被覆上皮では 10 日齢より発現するなどの異常が認められた．これらの結果は OP 投与により子宮の発育・分化に異常をきたしたことを示唆する所見である．同群では興味ある所見として既に 8 週齢において同系統に老齢期に観察される変化に類似した子宮被覆上皮過形成が観察された．一方 PNDs1-5 群の子宮の発育は対照群と同様で正常像を示した．

膣開口については，PNDs1-5 群では対照群と同時期の 30 日齢前後であったのに対し，PNDs1-15 群では 26 日と開口時期が早まった．性周期の観察をさらに長期に観察すると，PNDs1-15 群では全例で発情期が持続する持続発情を示した．PNDs1-5 群では膣開口後，大部分の動物が正常の性周期を示した．しかし，持続発情を示す動物が僅かながら初期より出現し，その後加齢とともに増加し対照群より約 5 ヶ月早く 6 ヶ月齢で全例が持続発情を示した(図 2)．

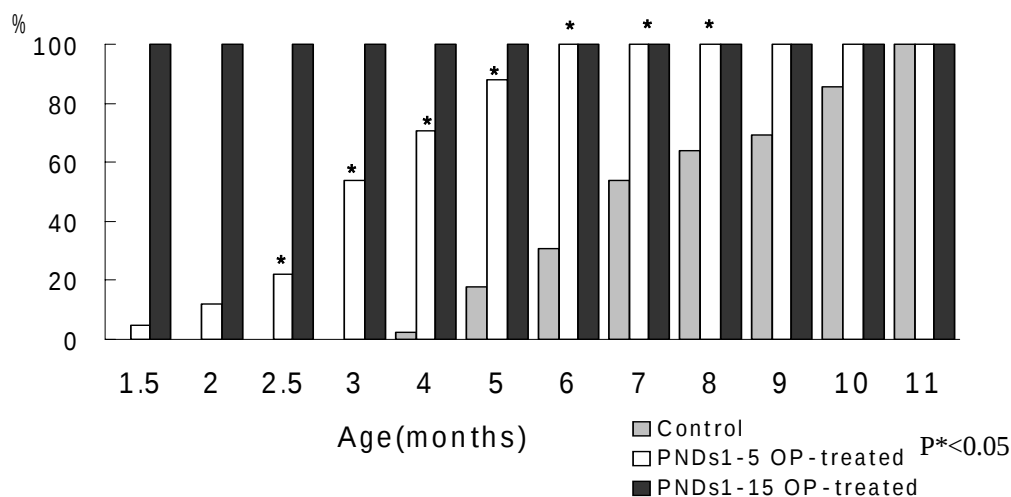


図 2 . *p-tert-Octylphenol* を生後 5 日(PNDs1-5)または生後 15 日(PNDs1-15)投与した Donryu ラットの膣スミア像で観察された持続発情の発生頻度(Yoshida *et al*, 2002b より改変)

この持続発情は上述のごとく黄体の形成がほとんどなく，小卵胞のみが存在するような萎縮した卵巢において相対的エストロゲン高値となるために起こると考えられており，今回用いた

Donryu ラットにおける子宮癌好発系の重要な因子と考えられている。性成熟までの過程を含めて雌性生殖器に異常を認めなかった PNDs1-5 群における持続発情の発生頻度の増加と早期化は同群においても OP の新生児（仔）期曝露がなんらかの影響を及ぼしていることを示唆していた。

4) 子宮増殖性病変の発生頻度

今回実験に用いた Donryu ラットでは、内膜上皮の過形成を経て子宮内膜腺癌へと進展すると考えられているが、子宮内膜における増殖性病変の発生頻度を検索した結果、12 ヶ月齢では何れの群においても有意な差は認められなかった（表 1）。しかし、15 ヶ月齢では PNDs1-5 群では対照群と比較して明らかに子宮内膜腺癌の発生頻度が増加した（表 1）。PNDs1-15 群では子宮癌の頻度は対照群と同様でむしろ増殖性病変および過形成の頻度が明らかに減少していたが、これは子宮腺形成の抑制に関連した変化であると考えられた（表 1）。

また観察された子宮癌の悪性度については、PNDs1-5 群で増加した子宮癌は対照群と同様の高分化型の腺癌で子宮内にとどまっているものが大部分であった一方、PNDs1-15 群では中分化から低分化型腺癌で漿膜面さらに腹腔内に播種性増殖を示す、または肺への遠隔転移を示す個体が有意に増加するなど増悪化が観察された（表 1）。これらの結果はいずれの時期の投与群においても OP の新生児（仔）期曝露によりラットの子宮発癌が増強することを示している。

表 1. 15 ヶ月齢における子宮癌発生頻度 (Yoshida *et al*, 2002b より改変) (* $p < 0.05$)

Group	No. of Adc	Differentiation			Invasion		
		高分化	中分化	低分化	子宮内限局	漿膜面まで	腹腔内播種・遠隔転移
Control	6	6	0	0	6	0	0
PNDs1-5	18	17	1	0	17	0	1
PNDs1-15	8	1*	3	4*	1	4*	3

6. Octylphenol の新生児（仔）期曝露の曝露時期による影響発現の違いが意味するもの

1) 遅発型影響の発現

興味ある事実として、今回の OP の新生児（仔）期曝露実験結果では生殖および内分泌系の機能や腫瘍発生以外の変化にも、曝露時期の違いによる差が認められた。すなわち、PNDs1-15 群では生後 7 日齢より性腺刺激ホルモンの低下、その後の無排卵、持続発情、子宮腺の形成低下や ER α 発現異常など子宮の発育分化異常が認められた。観察されたこれらの変化はエストロゲン類の新生児（仔）期曝露（所謂 androgenization）により性成熟前より即時型に発現する影響としてよく知られている。一方 PNDs1-5 曝露群では性成熟までは観察項目に異常は認められず膣開口後正常な性周期を示したが、持続発情の開始時期が対照群より約 5 ヶ月早まり 6 ヶ月齢で全例が持続発情となった。この性周期に対する遅発型の影響は、エストロゲン（アンドロゲン）新生児（仔）期曝露ラットにおいて遅発性に発現する中枢の障害「delayed anovulatory syndrome (DAS)」として報告されている (MacLusky NJ *et al* 1981)。DAS の機序として androgenization のように発育初期からの劇的な内分泌環境の変調ではないものの、やはり新生児（仔）期曝露影響が中枢性への変調をもたらしているのであろうと考えられているが、詳細については未だ不明である。

2) 新生児(仔)期曝露によるラット子宮癌の発生機序

今回の曝露時期による子宮癌促進の発生機序を図3のように考えた。PNDs1-15 曝露群で悪性度の高い癌が発生した機序については、性成熟後一貫して持続発情すなわち相対的高エストロゲン状態に子宮が曝されていたことに加え、ER 発現異常として観察されるような子宮の分化異常が大きく関与していると考えられた。一方、PNDs1-5 曝露による中枢の制御系への影響は直ちにこの系を変調させるほど強いものではないため動物は正常な性周期を示したが、その影響は持続発情の早期化という形で顕性化し、長期に亘る相対的高エストロゲン高値が子宮癌を増加させたと考えた。いずれにしろ共通の項目として高エストロゲン状態の長期刺激はラット子宮癌発生を促進させる要因と考えられる。

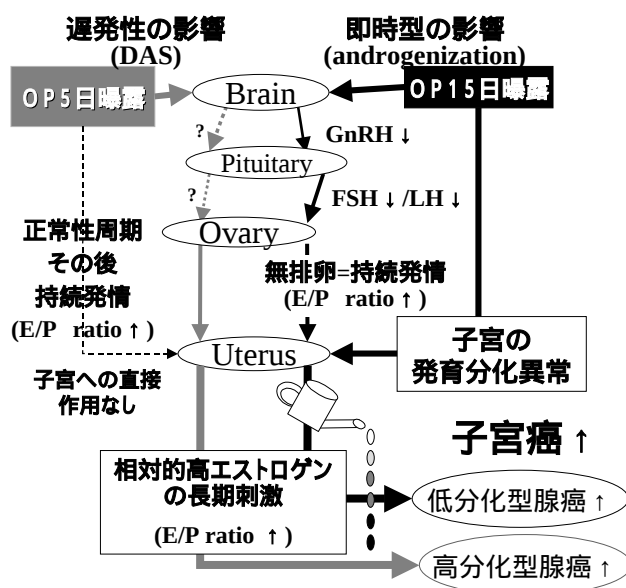


図3．曝露時期による子宮癌促進の発生機序（吉田，2005 より引用）

7．内分泌攪乱化学物質検出系としての本モデルの有用性と限界

筆者らはOPだけでなく、同様にエストロゲン様物質である nonylphenol や bisphenol A を用いて同様の実験を行ったが、ラット子宮にエストロゲン作用の発現しない用量ではなんら異常は認められず子宮癌発生の修飾も認められなかった(Yoshida *et al*, 2003; Yoshida *et al*, 2004)。本モデルを用いて内分泌攪乱化学物質の検出を行う場合、発癌への影響を確認するには約1年半という長期の観察が必要とする。また今までのところ1項目あるいはある時期のみの単回検査で雌性生殖器への影響を判断できる指標は確立されていない。即時型の androgenization については高用量投与下でのみ誘発される影響であるが、DAS については関連データが少なく、「どのくらい投与」すれば「いつ発現」するのかについては不明である。DAS による影響評価の早期指標は今後の研究課題であるが、現在の段階では、複数の項目について性成熟前およびその後により経時的に検査することが、検出には必要であると考えられ

る。簡便で有効な指標を確立することは大切であるが、胎生期・新生児（仔）期曝露影響の複雑さを考慮した場合、複数の項目による経時的観察は今後必要であろう。

8. 結論

本項において述べた OP の新生児（仔）期曝露影響は、OP の特異的な影響として出現したのではなく、高用量の OP が示すエストロゲン作用の影響と考えるのが妥当である。全てをヒトに外挿することはできないが、これらの実験結果は通常の生活環境下にあるエストロゲン様物質の胎生期曝露がヒトの子宮癌発生を修飾する可能性は極めて低いことを示唆している。しかし、遅発型の影響の機序については今後解明すべき重要な課題であると考えている。「がん」の発生は強い脅威を人々に与えがちであるが、それぞれの内分泌攪乱化学物質の作用機序を明らかにすることでその懸念が少しでも少なくなることを願っている。

参考資料

- Ando-Lu J, Takahashi M, Imai S, Ishihara R, Kitamura T, Iijima T, Takano S, Nishiyama K, Suzuki K, Maekawa A (1994). High-yield induction of endometrial adenocarcinomas in Donryu rats by a single intra-uterine administration of *N*-ethyl-*N*'nitro-*N*-nitrosoguanidine. Jpn J Cancer Res 85: 789-793.
- Katsuda S, Yoshida M, Isagawa S, Asagawa Y, Kuroda H, Watanabe T, Ando L, Takahashi M, Maekawa A (2000). Dose- and treatment duration-dependent effect of *p*-tert-octylphenol on female rats. Reprod Toxicol 14: 119-126.
- Katsuda S, Yoshida M, Saarinen N, Smeds A, Nakae D, Santti R, Maekawa A (2004). Chemopreventive effects of hydroxymatairesinol on uterine carcinogenesis in Donryu rats. Exp Biol Med 229: 417-424.
- Katsuda S, Yoshida M, Watanabe G, Taya K, Maekawa A (2000). Irreversible effects of neonatal exposure to *p*-tert-octylphenol on the reproductive tract in female rats. Toxicol Appl Pharmacol 165: 217-226.
- MacLusky NJ, Naftolin F (1981). Sexual differentiation of the central nervous system. Science 211: 1294-1303.
- Maekawa A, Onodera H, Tanigawa H, Furuata K, Kanno J, Matsuoka C, Ogiu T, Hayashi Y (1986). Spontaneous neoplastic and non-neoplastic lesions in aging Donryu rats. Jpn J Cancer Res 77: 882-890.
- Maekawa A, Takahashi M, Yoshida M (1999). Uterine carcinogenesis by chemicals/hormones in rodents. J Toxicol Pathol 12: 1-11.
- Nagaoka T, Onodera H, Matsushima Y, Todate A, Shibutani M, Ogasawara H, Maekawa A (1990). Spontaneous uterine adenocarcinomas in aged rats and their relation to endocrine imbalance. J Cancer Res Clin Oncol 116: 623-628.
- Nagaoka T, Takeuchi M, Onodera H, Matsushima Y, Ando-Lu J, Maekawa A (1994). A sequential observation of spontaneous endometrial adenocarcinoma development in Donryu rats. Toxicol Pathol 22: 261-269.
- Nishiyama K, Ando-Lu J, Nishimura S, Takahashi M, Yoshida M, Sasahara K,

- Miyajima K , Maekawa A (1998) . Initiating and promoting effects of concurrent oral administration of ethylenethiourea and sodium nitrite on uterine endometrial adenocarcinoma development in Donryu rats . In Vivo 2: 363-368.
- Sherman ME (2000) . Theories of endometrial carcinogenesis: A multidisciplinary approach. Mod Pathol 13: 295-308.
 - White R , Jobling S , Hoare SA , Sumner JP , Parker MG (1993) . Environmental persistent alkylphenolic compounds are estrogenic . Endocrinol 135: 175-182.
 - Yoshida M , Katsuda , Ando J , Kuroda H , Takahashi M , Maekawa A (2000) . Subcutaneous treatment of *p-tert*-octylphenol exerts estrogenic activity in the female reproductive tract in normal cycling rats of two different strains . Toxicol Lett 116: 89-101.
 - Yoshida M , Katsuda S , Tanimoto T , Asai S , Nakae D , Kurokawa Y , Taya K , Maekawa A (2002b) . Induction of different types of uterine adenocarcinomas in Donryu rats due to neonatal exposure to high-dose *p-tert*-octylphenol for different periods . Carcinogenesis 23: 1745-1750.
 - Yoshida M , Maekawa A (2005). Uterine carcinogenesis based on estrogen or metabolite driven pathways in the Donryu rat . In: Cancer (editors, Tanaka T, Tsuda H), in press. Research Signpost , Trivandrum.
 - Yoshida M , Shimomoto T , Katashima S , Shirai T , Nakae D , Watanabe G , Taya K , Maekawa A (2003) . Effects of maternal exposure to nonylphenol on growth and development of the female reproductive system and uterine carcinogenesis in rats . J Toxicol Pathol 16: 259-266.
 - Yoshida M , Shimomoto T , Katashima S , Watanabe G , Taya K , Maekawa A (2004) . Maternal exposure to low doses of bisphenol A has no effects on development of female reproductive tract and uterine carcinogenesis in Donryu rats . J Reprod Develop 50: 349-367.
 - Yoshida M , Takenaka A , Katuda S , Kurokawa Y , Maekawa A (2002a) . Neonatal exposure to *p-tert*-octylphenol causes abnormal expression of estrogen receptors and subsequent alteration of cell proliferating activity in the developing rat uteri . Toxicol Pathol 30: 357-364.
 - (2000) . 内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法 (editor , 井上 達) . シュプリンガー・フェアラーク東京株式会社 , 東京 .
 - 吉田 緑(2005) . 研究最前線 エストロゲン様物質の新生児 (仔) 期大量曝露によるラット子宮発癌促進のメカニズム –即時型影響と遅延型影響による発癌機序のちがいについて- . Endocrine Disrupter News Letter 18: 3 .