

# 河川水から分離した細菌による

## ビスフェノール A の分解機構\*

—分解過程におけるエストロゲンレセプター結合能の変化—

大谷 仁己\*\* · 藤波 洋征\*\* · 嶋田 好孝\*\*

**キーワード** ①ビスフェノール A ②分解菌 ③分解機構 ④スチルベン ⑤エストロゲンレセプター

### 要 旨

河川水から分離した細菌によるビスフェノール A の分解機構を調べた。分解機構は、活性汚泥から分離された分解菌によるものと同じであった。主な分解経路は、トリオールからスチルベンになり、4-ヒドロキシ安息香酸や4-ヒドロキシアセトフェンを経て分解していく経路であった。合成女性ホルモンのジエチルスチルベストロールと構造がよく似ているスチルベンは、シスとトランスの異性体がともに生成した。1週間前培養した古い菌体を用いると、分解途中でスチルベンが多量に蓄積し、エストロゲンレセプター結合能も一旦上昇する現象が見られた。しかし、一晩前培養したばかりの新鮮な菌体ではスチルベンの蓄積はわずかであり、エストロゲンレセプター結合能へのスチルベンの寄与は認められなかった。

### 1. はじめに

ビスフェノール A (BPA) は、ポリカーボネートやエポキシ樹脂などの原料、塩化ビニル樹脂の安定剤、酸化防止剤等として多量に用いられている<sup>1)</sup>。BPA は環境水や底泥、魚類からもしばしば検出されている<sup>2)</sup>が、内分泌攪乱化学作用が疑われていることから環境中における動態の解明が待たれている。

BPA は有機塩素系化合物などとは異なり、容易に生分解されることが知られている。プラスチック工場排水処理施設の活性汚泥から分離された BPA 分解菌、MV 1 株<sup>3,4)</sup>や FJ-4 株<sup>5~7)</sup>では、分解機構についても明らかにされている。しかし、河川水中でどの程度 BPA が生分解されているか

や、どのような細菌によって BPA が分解されているかについての詳しい研究はなされていない。河川水中での分解については、陳ら<sup>8)</sup>が大阪市内の河川水で調査し、44 検体中 40 検体 (91%) で生分解が認められたと報告している。彼ら<sup>8)</sup>は 8 株の BPA 分解菌を分離し、BPA 分解能を調べているが、BPA は完全に分解されるものの難分解性の 2 種類の代謝産物が残存すると述べているが、分解経路や代謝産物が何であるかについては明らかになっていない。

筆者ら<sup>9)</sup>も、群馬県内の河川水で BPA 分解能を調べたが、A 類型の比較的きれいな河川が多いにもかかわらず 29 検体中 27 検体 (93%) の高率で生分解が認められ、BPA 分解菌は河川水中に一般

\*Degradation of Bisphenol A by a Bacterium Isolated from River Water—Variation of Estrogen Receptor Binding Activity in the Process of Degradation—

\*\*Yoshimi OHTANI, Hiroyuki FUJINAMI, Yoshitaka SHIMADA (群馬県衛生環境研究所) Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences

的に存在する細菌であることが予想された。そこで、河川水から BPA 分解菌を分離し、BPA の分解機構を調べたところ、MV 1 株や FJ-4 株と同じ分解機構で BPA を分解していることが明らかになった<sup>10,11)</sup>。

MV 1 株や FJ-4 株で明らかにされている分解機構では、主な分解経路が 4,4'-ジヒドロキシ- $\alpha$ -メチルスチルベンを経ている<sup>4,6)</sup>が、このスチルベンは、構造が合成女性ホルモンのジエチルスチルベストロール (DES) とよく似ている。BPA 自体のエストロゲンレセプター結合能は弱く、17 $\beta$ -エストラジオールの数千分の 1 程度である<sup>12,13)</sup>が、一方の DES は 17 $\beta$ -エストラジオールと同等の結合能を有している<sup>12)</sup>。そのため、BPA の分解途中で生成するスチルベンのエストロゲンレセプター結合能が BPA に比べて相当に強ければ、BPA の分解途中でかえってエストロゲンレセプターに対する結合能が増加することも考えられた。そこで、スチルベンの蓄積量が培養条件等でどう変化するかを明らかにし、BPA の分解過程でのスチルベンの消長とエストロゲンレセプター結合能の変化を測定した。

## 2. 実験方法

### 2.1 供試菌株

BPA 分解菌として、桃ノ木川から分離した MO 6 株と利根川から分離した TO 1 株を用いた。

MO 6 株は、若干の分解産物が残存するものの分解がほぼ完全に進行する株であるが、TO 1 株は最初の段階で分解が止まり、2 種類のトリオールを蓄積する株である。簡易同定キット API20NE で調べたところ、MO 6 株は *Brevundimonas vesicularis* (別名 *Pseudomonas vesicularis*)、TO 1 株は *Sphingomonas paucimobilis* (別名 *Pseudomonas paucimobilis*) と同定された。両株とも FJ-4 株 (*Pseudomonas paucimobilis*)<sup>5)</sup> に近いものと思われる。なお、MV 1 株は *Chryseomonas lutola* または *Flavimonas oryzihabitans* の近縁種とされている<sup>6)</sup>。

### 2.2 供試培地

BPA 分解菌の前培養には、標準寒天培地から寒天を除いた組成の液体培地を 1/10 に薄めて用いた。培地 1 l 当たり酵母エキス 0.25g、ペプトン

0.5g、ブドウ糖 0.1g で、pH は 7.1 である。

### 2.3 BPA 分解試験

BPA 分解試験は、25°C で前培養した菌体を遠心集菌し、洗浄後、無機塩のみの培地に浮遊させて行った。600nm における吸光度は 0.5~1.5 であった。BPA は DMSO に溶解 (10,000mg/l) し、30 ないし 50mg/l となるように添加して試験した。

### 2.4 分解産物の同定・濃度変化の測定

分解産物の同定は、各ピークを LC/MS (APCI, negative) で分析し、得られた分子量と分解過程における消長の様子から、MV 1 株や FJ-4 株での分解機構を参考にして行った。トリオールやスチルベンの標準物質は入手できなかったため定量はできず、HPLC (UV, 275nm) で測定したピーク面積で相対的な濃度変化を追った。

### 2.5 エストロゲンレセプター結合能の測定

エストロゲンレセプターへの結合能は、和光純薬製のエストロゲン-R ( $\alpha$ ) コンペチタースクリーニングキット<sup>14)</sup>を用い、FITC 標識 17 $\beta$ -エストラジオールのエストロゲンレセプターへの結合を阻害する割合として測定した。キットでは DMSO 溶液を用いることになっているが、無機塩培地で BPA の分解試験を行ったので、培養液を 3,000rpm 20 分間遠心し、上清 6  $\mu$ l を加えた。各ピークを分取した実験では、分取した溶出液に窒素ガスを吹き付け、元の濃度まで濃縮して添加した。溶離液としてアセトニトリル/水 (4:6) を用いたが、濃縮後はより水リッチになっていたものと思われる。

BPA による検量線は 10,000mg/l の DMSO 溶液を無機塩培地で希釈して測定した。コントロールとして 17 $\beta$ -エストラジオールも測定したが、17 $\beta$ -エストラジオールの IC<sub>50</sub> は 10~20nM であった。このキットは、実験ごとに結合阻害 0% と 100% における蛍光強度も若干異なっていたので、実験ごとに BPA の標準液で検量線を作成した。

FITC 標識 17 $\beta$ -エストラジオールの結合阻害は、Wallac1420ARVO を用いて測定した。励起波長 485nm、蛍光波長 535nm で、0.1 秒間 10 回測定し、平均値を求めた。

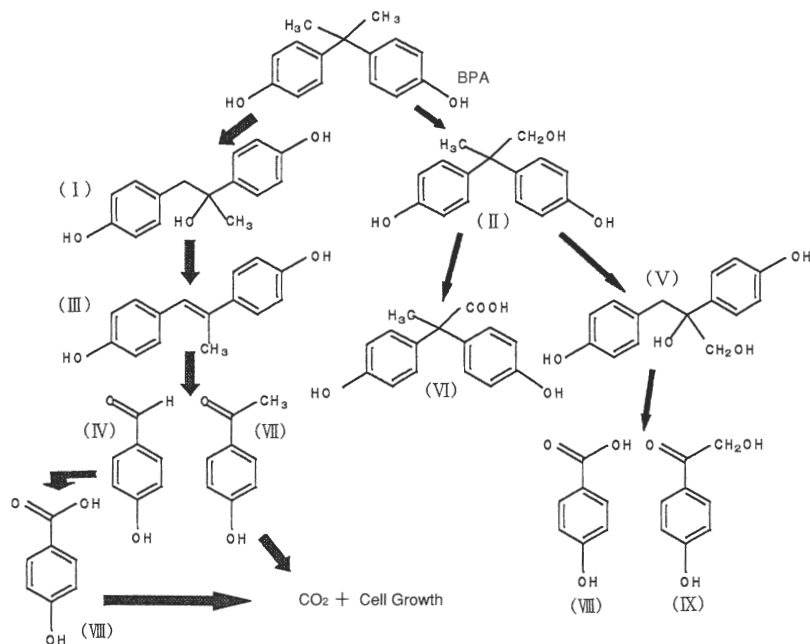


図1 MV1株とFJ-4株によるBPAの分解機構

(I) 1,2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)-2-プロパノール, (II) 2,2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)-1-プロパノール, (III) 4,4'-ジヒドロキシ- $\alpha$ -メチルスチルベン, (IV) 2,2-ビス(4-ヒドロキシフェニル)プロパン酸, (V) 2,3-ビス(4-ヒドロキシフェニル)-1,2-プロパンジオール, (VI) 4-ヒドロキシベンズアルデヒド, (VII) 4-ヒドロキシアセトフェノン, (VIII) 4-ヒドロキシ安息香酸, (IX) 4-ヒドロキシフェナシルアルコール

### 3. 実験結果および考察

#### 3.1 BPAの分解状況

プラスチック工場廃水処理施設の活性汚泥から分離されたBPA分解菌, MV1株やFJ-4株は図1に示す分解機構でBPAを分解する。本実験で使用したMO6株も基本的には図1の分解機構でBPAを分解する(図1右側のマイナーなパスの後半については明らかでない)。TO1株では, 図1の分解機構の最初の段階, 2種類のトリオールを生成する段階で分解が止まり, それ以上の分解は進行しなかった。

MO6株によるBPAの分解は, 以下のように進んでいた<sup>10)</sup>。

まず, BPAのピークの減少に伴い, 図2-1に示す3本のピークが出現する。リテンションタイムの短い2本①②は最初に生成する2種類のトリオールである。他の1本③はメインのトリオール②が分解してできたスチルベンである。さらに分解が進むと, 図2-2に示す3本のピークが新た

に出現する。リテンションタイムがBPAより長いピーク④はスチルベンの異性体, トリオール付近に出てくる2本のピークは4-ヒドロキシ安息香酸⑤と4-ヒドロキシアセトフェノン⑥である。BPAがほぼ分解される頃になると⑤⑥が主なピークになる。これらの各分解過程は明白な律速段階なしに進行し, 使用する菌体量やBPA濃度によるが, 数時間から数日かかり, 最終的には若干小さなピークが残存するもののBPAの分解はほぼ完全に行われる。4-ヒドロキシベンズアルデヒドは, すぐに酸化されて4-ヒドロキシ安息香酸になるためか検出できなかった。

このように河川水から分離したBPA分解菌MO6株もMV1株やFJ-4株とほぼ同じ分解機構でBPAを分解していた。

分子量やピークの消長から, 2本のピーク③④がともにスチルベンと同定された。MV1株やFJ-4株で2種類のスチルベンができるとの記述はないが, スチルベンはシスとトランスの異性体を取り得ることからシスとトランス両者が出現した

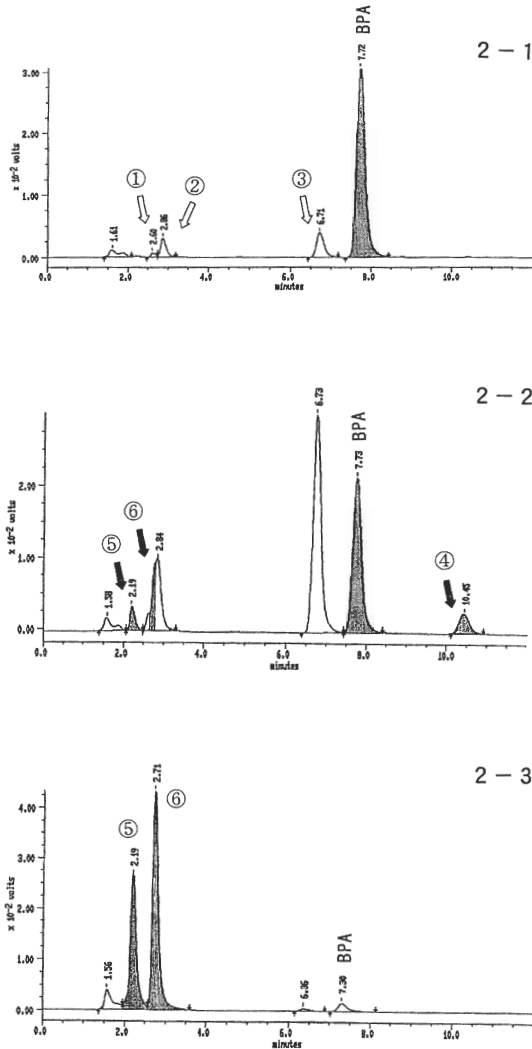


図2 MO6株によるBPAの分解過程におけるHPLCクロマトグラムの変化

ものと思われる。

スチルベンと同定された2本のピークをそれぞれLCで分取したところ、分取直後は両ピークともきれいにとれていたが、室温で窒素ガスを吹きつけて元の濃度まで濃縮したところ、分取数時間後には図3に示すようにどちらからも2本のピーク③④が出現した。上段がピーク③を分取し濃縮したもので、下段がピーク④を分取濃縮したものである。4,4'-ジヒドロキシ- $\alpha$ -メチルスチルベンはキノイド構造をとると、中心のC=C2重結合が単結合になるため、その際に回転して異性化が起こるものと思われる。③④間の平衡は③

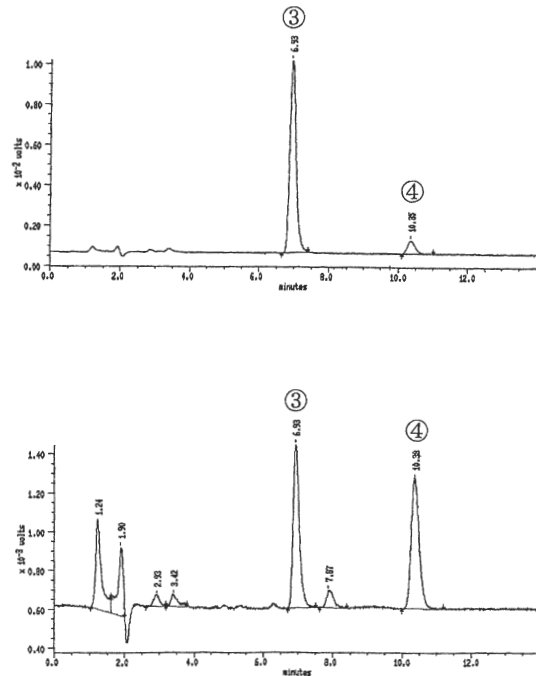


図3 分取したスチルベンのピークの異性化

側にずれていた。分子全体が平面構造をとった場合、ステリックヒンドランスからシス体の方が不安定であると思われるため、③がトランス体で④がシス体と思われるが、確認はできていない。

### 3.2 スチルベンとDESの構造類似性

以上のように、BPAの分解途中でスチルベンが生成していることがわかったが、図4に示すようにBPAが生分解してできるスチルベンのうちトランス体の4,4'-ジヒドロキシ- $\alpha$ -メチルトランススチルベンは、DESとよく似た構造をしている。元のBPAよりも炭素鎖が長くなりしかも平面構造となるため、BPAよりもよりDESの構造に近くなる。メチル基のついていない4,4'-ジヒドロキシスチルベンや4-ヒドロキシスチルベンにも強いエストロゲン様活性が認められており<sup>15,16)</sup>、BPAの分解過程で生成するスチルベンにもBPAより強いエストロゲン様活性があることが考えられる。

### 3.3 スチルベンの蓄積条件

そこでMO6株でBPAを生分解させ、その過程でスチルベンの生成に伴いエストロゲン様活性がどう変化するか、エストロゲン様活性の測定は

現状ではできないため、エストロゲンレセプター結合能の変化を測定することにした。

ところがスチルベンのピーク③④の面積は実験ごとに大幅に異なり、100倍もの違いが見られた。なぜ、このような違いが出るのか、まずスチルベンが多量に蓄積する条件を探した。

その結果、スチルベンの蓄積量は用いる培地の組成や培養温度では変わりなかったが、新鮮な培養菌体を用いるよりも長期間培養した古い菌体を用いてBPAを分解させた方がスチルベンを蓄積しやすいことがわかった。

図5にBPAの分解過程におけるスチルベンの蓄積状況を示す。1晩前培養したばかりの新鮮な

菌体では、分解過程を通してスチルベンの蓄積はわずかであった。しかし1週間前培養した菌体では分解途中でスチルベンが多量に蓄積し、添加した当初のBPAのピーク面積を超える量のスチルベンが蓄積していた。1週間前培養した菌体が多量に用い、急速にBPAを分解させた場合には、さらに多量のスチルベンが蓄積した。

このように、前培養の時間を変えることによりスチルベンの蓄積量は100倍程度変動した。

BPAの分解は何段階にも分かれて進行しており、その各段階で異なった酵素が関与しているものと考えられる。一般的に菌体が古くなると、酵素の活性も低下するが、その程度は酵素ごとに異なると思われる。新鮮な培養菌体に比べ1週間前培養した古い菌体では、BPAを分解してトリオールにする段階やトリオールからスチルベンとなる段階も若干遅くなっているが、スチルベンの分解、スチルベンを半分に切断し4-ヒドロキシベンツアルデヒドと4-ヒドロキシアセトフェノンを生成する段階で働く酵素の活性がより低下するため、多量のスチルベンが一時的に蓄積するものと思われた。

なお前培養時間を2週間まで延ばすと、すべての段階で関与する酵素の活性が落ちるためかBPAの分解自体もたいへん遅くなり、スチルベンの蓄積量も低下した。

なお図5ではスチルベンの定量はできないために、275nmにおけるピーク面積で比較してい

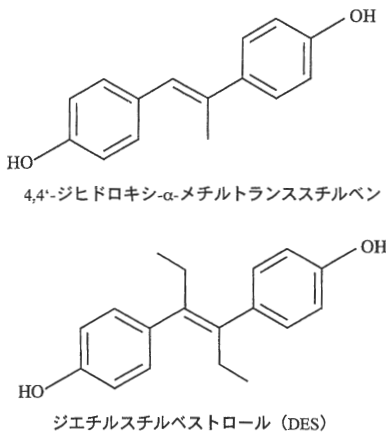


図4 スチルベンとDESの構造類似性

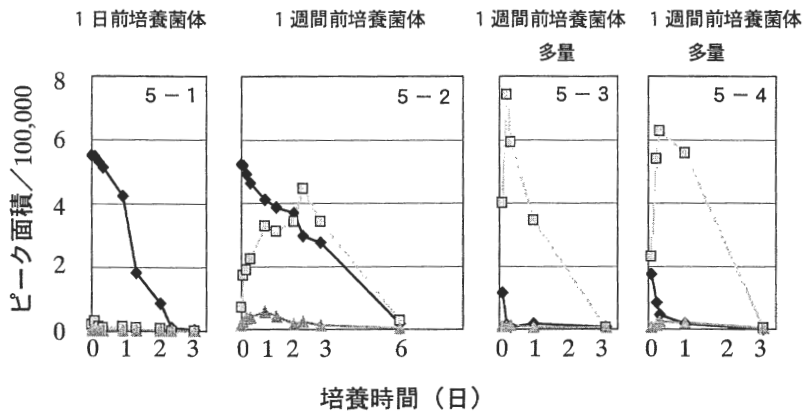


図5 BPAの分解過程におけるスチルベンの蓄積状況

◆ : BPA  
 ■, ▲ : 2種類のスチルベン異性体

る。スチルベン<sub>275nm</sub>におけるモル吸光計数は、平面構造をとった場合π電子雲が2個のベンゼンリング間に広がるため、BPAより1桁程度大きいと思われる。そのためスチルベンの濃度は、ピーク面積から感じられるほど高濃度ではないと見られる。

3.4 エストロゲンレセプター結合能の変化

図5でスチルベンのピーク面積を測定した各培養液でFITC標識エストラジオールのエストロゲンレセプターへの結合を阻害する割合を測定したところ、図6のようになった。

1晩前培養したばかりの新鮮な菌体では、BPAの分解過程におけるスチルベンの蓄積はわずかであるため、結合阻害の割合はBPA濃度の減少に伴い単調に減少した。しかし1週間前培養した後

の古くなった菌体を用いた場合には、一時的に多量のスチルベンが蓄積するために、スチルベンの蓄積に伴いエストロゲンレセプター結合能がいったん増加する（結合阻害が増加する）現象が見られた。しばらくしてスチルベンの濃度が減少し始めると結合阻害の割合も減少に転じた。この現象は、古い菌体を多量に用い急速にBPAを分解させた場合により顕著になり、一時的には添加した当初のBPA以上にエストロゲンレセプターに結合した。

図7は、得られた結合阻害の割合を検液と同等の結合阻害を示すのに必要なBPA濃度に換算した結果である。図中の破線はHPLCで測定したBPA濃度を引いた値で、検液中のBPA以外の物質のエストロゲンレセプター結合能をBPA濃度

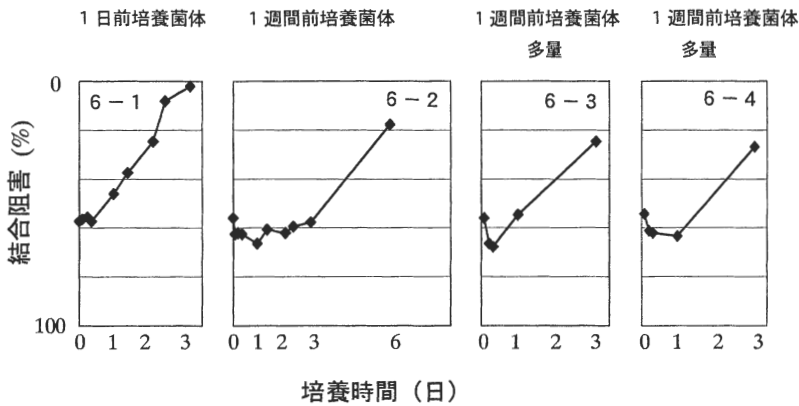


図6 前培養の違いによる結合阻害の経時変化

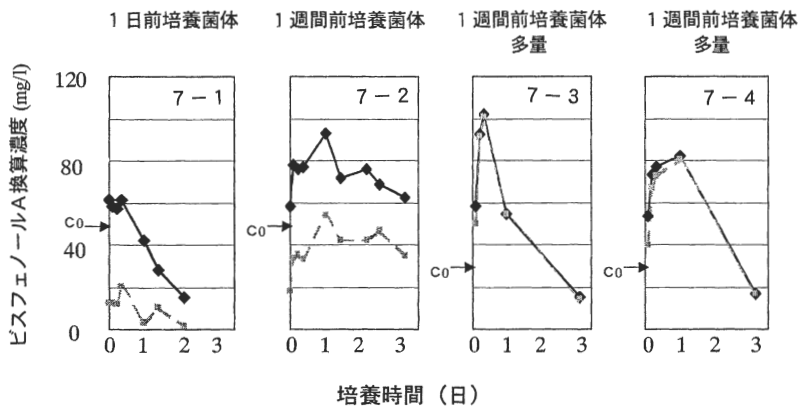


図7 阻害割合から計算したBPA濃度の経時変化

Co: 添加BPA濃度

に換算した値である。

新鮮な菌体を用いた場合には、エストロゲンレセプター結合能のほとんどはBPAによるものであった。しかし1週間前培養した古い菌体では、BPA以外の物質によるエストロゲンレセプター結合能が最高BPA57mg/l相当と、添加したBPAの初濃度50mg/lを上回る濃度になった。古い菌体を多量に用いた図7-3の例では、30mg/lのBPAを添加後7時間で溶液中のBPA濃度は1mg/lまで低下していたが、この時のBPA以外の物質のエストロゲンレセプター結合能はBPA100mg/l相当を超え、エストロゲンレセプター結合能の大部分はBPA以外の物質によるものであった。

実際、BPA以外の物質が示したエストロゲンレセプター結合能がスチルベンのみによるのか、HPLCで各ピークを5分割して分取し、各分画の結合能を調べた結果が表1である。

No. 1はボイドボリューム付近に溶出する複数のピークで、若干持ち込んだ前培養の培地成分などを含んでいる。No. 2は2種類のトリオール、4-ヒドロキシ安息香酸、4-ヒドロキシアセトフェノン等を含むピークである、No. 3と5はスチルベンのピークで、No. 4がBPAのピークである。結合阻害が見られたのはBPA分画と2種類のスチルベンの分画だけであった。分取前の検液の結合阻害から算出した見かけのBPA濃度と、分取した各分画（ほぼ元のピーク面積まで濃縮）の結合阻害から算出した見かけのBPA濃度の和はほぼ等しく、BPA分画の結合阻害から算出したBPA濃度は、HPLCで測定したBPA濃度と同程度であった。

またトリオールで分解が止まってしまうTO1株でBPAを分解した場合には、表2の結果となった。TO1株では、BPAの減少に伴いエストロゲンレセプター結合能も単調に減少した。最終的に完全にトリオールまで分解されると、エストロゲンレセプター結合能はなくなっており、BPAの分解で最初に行ける2種類のトリオールにはエストロゲンレセプター結合能はほとんどないものと思われる。

これらのことから、BPAを生分解した際に生成する分解産物のうち、エストロゲンレセプター結合能を示すのはスチルベンのみと思われた。2

表1 各分画の結合阻害から算出されたBPA換算濃度

分画 No.	検液 1	検液 2
1	< 3	< 3
2	< 3	< 3
3	67	97
4	33(30)	42(32)
5	7	32
分画後合計	107	171
分画前	141	140

単位：mg/l

( )内はHPLCで測定したBPA濃度

表2 TO1株によるBPAの分解と結合阻害の変化

培養時間	結合阻害から算出したBPA濃度	HPLCで測定したBPA濃度
添加直後	46	38
2時間	44	34
4時間	39	30
6時間	15	17
24時間	< 3	< 1

単位：mg/l

種類のスチルベンのどちらにエストロゲンレセプター結合能があるかは、分取しても室温で異性化が起こって平衡状態になってしまうため判定できなかった。構造がDESに似ているトランススチルベンの方が結合能が高いと思われるが、シス体に結合能がないかは不明である。

### 3.5 河川水中でのスチルベンの蓄積はあるか

3.2で記したように、1週間前培養した古くなった菌体をレスティングセルアッセイで用いた場合には、分解途中でスチルベンが蓄積するため、BPAの分解過程でいったんエストロゲンレセプター結合能が増大する現象が見られた。河川水からは、しばしばBPAが検出されている<sup>2)</sup>が、河川水中でもスチルベンが蓄積している可能性があるか検討した。

以前、河川水にBPA30mg/lを添加し分解が起きるか検討し、29検体中27検体でBPAの分解を認め<sup>8)</sup>。その際のHPLCクロマトグラムを見直したところ、BPAは分解しているが分解率は90%以下であった検体が9検体あった。このうちの6検体でスチルベンに相当するリテンションタイムのピークが認められた（5検体ではトランス体と思われるピークのみで、シス体と思われるピーク

も認められたのは 1 検体のみ)。

また、スチルベンのピークが見られない 3 検体も、うち 2 検体で 2 本のトリオールに相当するピークが認められた。90%以上の分解が見られた 18 検体では、スチルベンは分解され消失したためか 2 検体で微少なピークが見られただけであった。分解が進んだ場合、4-ヒドロキシ安息香酸や 4-ヒドロキシアセトフェノン付近には多数の小さなピークが出る事が多く、これらの物質についてはクロマトグラムだけからでは生成していたか確認できなかった。

以上の結果は、河川水の多くで MV 1 株や FJ-4 株と同じ分解機構で BPA が分解されていることを支持しているように思われた。しかし観測されたスチルベンのピークはいずれも小さく、分離株をレストイングセルアッセイで試験したときのように、BPA のピークをはるかに上回るピーク面積を示したものはなく、通常 BPA のピーク面積の 1/10 以下、最大でも 1/2 (添加当初の BPA と比べると約 1/20) であった。

また 4,4'-ジヒドロキシ- $\alpha$ -メチルスチルベンは分解しやすく、分取後に濃縮する際ロータリーエバポレーターを用いると、シストランスの異性化とともに若干分解も起こっていた。

これらのことから、たとえ河川水中に BPA が存在し生分解を受けていたとしても、スチルベンの蓄積はわずかで、本報告で行った分離株の新鮮な菌体を用いたレストイングアッセイで見られる場合と同程度であり、エストロゲンレセプター結合能に寄与するほどのスチルベンは蓄積していないものと思われた。

#### 4. ま と め

- ① 河川水から分離したビスフェノール A 分解菌も、活性汚泥から分離された MV 1 株や FJ-4 株と同じ分解機構でビスフェノール A を分解していた。
- ② 主要な分解経路はスチルベンを経ていたが、シストランスの 2 種類のスチルベンが生成していた。
- ③ スチルベンは室温でも徐々に異性化していた。
- ④ 分解菌の前培養の時間により、分解途中に

おけるスチルベンの蓄積量は大幅に異なった。

- ⑤ 1 週間前培養した古い菌体を用いた場合、多量のスチルベンが蓄積し、スチルベンの蓄積に伴い、一時的に添加したビスフェノール A 以上にエストロゲンレセプターに結合した。
- ⑥ ビスフェノール A の生分解で生成する物質のうち、エストロゲンレセプター結合能があるのはスチルベンのみであり、スチルベンのエストロゲンレセプター結合能は、元のビスフェノール A 以上であった。
- ⑦ 河川水中では、スチルベンの蓄積は起こっていないものとみられた。

\* \* \*

本論文の一部は、環境ホルモン学会 (正式名: 日本内分泌攪乱化学物質学会) 第 3 回研究発表会 (横浜市, 2000年10月) で発表した。

#### — 参 考 文 献 —

- 1) 13197の化学物質, 化学工業日報社, 東京, 1997.
- 2) 平成9年版化学物質と環境, 環境庁環境保健部環境安全課, 平成10年1月.
- 3) Lobos J.H., Leib T.K. and Su T-M.: Biodegradation of Bisphenol A and Other Bisphenols by a Gram-Negative Aerobic Bacterium. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 58, 1823-1831, 1992.
- 4) Spivack J., Leib T.K. and Lobos J.H.: Novel Pathway for Bacterial Metabolism of Bisphenol A, Rearrangements and Stilbene Cleavage in Bisphenol A Metabolism. *J. of Biol. Chem.*, 269, 7323-7329, 1994.
- 5) Ike M., Jin C-S. and Fujita M.: Isolation and Characterization of a Novel Bisphenol A-degrading Bacterium *Pseudomonas paucimobilis* Strain FJ-4. *Japanese J. Wat. Treat. Biol.*, 31, 203-212, 1995.
- 6) 陳昌淑, 池道彦, 藤田正憲: *Pseudomonas paucimobilis* FJ-4 株によるビスフェノール A の代謝経路, 日本水処理生物学会誌, 32, 199-210, 1996.
- 7) 池道彦, 藤田正憲: 水環境における内分泌攪乱物質の生分解挙動—ノニルフェノールエトキシレイトとビスフェノール A を例として—, 環境技術, 29, 450-454, 2000.
- 8) 陳昌淑, 徳弘健郎, 池道彦, 古川憲治, 藤田正憲: 河川水マイクロコズムによるビスフェノール A (BPA) の分解, 水環境学会誌, 19, 878-884, 1996
- 9) 大谷仁己, 藤波洋征, 齋藤武夫: 河川水によるビスフェノール A の分解について, 第34回日本水環境学会年會講演集 p. 8, 2000
- 10) 大谷仁己, 藤波洋征, 齋藤武夫: 河川水から分離したビスフェノール A 分解菌, 第9回環境化学討論會講演要旨集, pp. 130-131, 2000
- 11) 大谷仁己, 藤波洋征, 齋藤武夫: ビスフェノール A 分解



- 菌の河川水からの分離, 群馬県衛生環境研究所年報, 32, 92-98, 2000
- 12) 麻柄由樹, 辻本善政, 近藤昭宏, 加藤郁之進: 蛍光偏光度を用いた環境ホルモンの測定, 日本内分泌攪乱化学物質学会第一回研究発表会要旨集, p. 1, 1998
  - 13) 根岸治美, 白石寛明, 森田昌敏: 蛍光偏光度を用いた環境ホルモン活性測定の化学物質スクリーニングへの応用, 日本内分泌攪乱化学物質学会第一回研究発表会要旨集, p. 14, 1998
  - 14) 西部隆宏, 平安一成, 伊達陸廣, 田中巧: 固相化ERを用いる環境ホルモンの簡易検出法, 日本内分泌攪乱化学物質学会第二回研究発表会要旨集, p. 15, 1999
  - 15) 太田茂, 佐能正剛, 杉原数美, 北村繁幸, 藤本成明, 丸山聡, 伊藤明弘: 代謝活性化とエストロゲン様作用, 第6回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会講演要旨集, pp. 7-8, 2000
  - 16) 佐能正剛, 杉原数美, 北村繁幸, 太田茂, 藤本成明, 丸山聡, 伊藤明弘: スチルベンおよびその関連化合物のエストロゲン活性発現機構, 環境ホルモン学会(正式名日本内分泌攪乱化学物質学会)第3回研究発表会要旨集, p. 98, 2000