

化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究

平成11年3月に開催されたG8環境大臣会合において、内分泌かく乱化学物質について日英両国間で共同研究を実施することが合意され、5カ年の日英共同研究事業が開始された。また、5年目となる平成16年度(2004年)に、日英両国間の協議により、さらに5年間の延長が決定された(第2期)。第2期(2004~2009年)の日英共同研究では、4つのテーマを設定し、日英両国の研究者によって、それぞれ研究を推進している。研究成果の概要を以下に示した。

①排水由来エストロゲン様作用の評価に関する研究

エストロゲン作用が高い河川でのエストロゲンの環境中運命を予測する方法及びエストロゲン作用の削減効果の評価方法を開発することを目的とした。

遊離体及び抱合体エストロゲンの分析法の開発を行い、エストロゲン及びその抱合体に対し、これまで開発されたLC/MS/MSによる分析方法を改善し、遊離体及び抱合体エストロゲンについて高い回収率を得る有効な方法を開発した。

下水処理でのエストロゲン(E1及びE2)の挙動に関し、実態調査(窒素除去プロセスにおける挙動調査、小規模処理場対応の処理プロセスにおける挙動調査、追加的高度処理プロセスにおける挙動調査)を実施した。下水処理での挙動について、我国における下水のエストロゲン様活性はE1の寄与が大きいことが確認でき、好気条件の維持が水中からエストロゲン除去に大きく影響すること、二次処理した後に接触酸化法で高度処理を行うと、エストロゲン濃度が減少することが明らかとなった。

エストロゲンの環境中運命を予測する方法として、淀川水系における河川のエストロゲン類濃度のモデル化を行い、実測データと比較した結果、モデルの予測値と適合性が見られた。

②イトヨを用いたアンドロゲン様作用の評価手法の研究

OECD に向けた化学物質のアンドロゲン作用を評価するための試験法開発に貢献するため、イトヨ雌を用いたアンドロゲン様物質の影響評価手法の確立を目的とした。

スピギン及びアンドロゲン受容体(AR)mRNA の定量 RT-PCR 測定系を構築し、高感度測定を可能とした。また、イトヨのばく露に際しては、水温は15℃が好適であり、またスピギン mRNA をエンドポイントとした場合、1週間程度のばく露で影響を評価できることを示唆した。さらに、飼育環境下でのイトヨの育成にも取り組み、人工授精及び稚仔魚の育成に成功した。

イトヨアンドロゲン受容体 α 及び β の腎臓並びに精巣での発現解析を遺伝子及びタンパク質の両面から行い(精巣、成熟雄腎臓及びアンドロゲン処理雌

腎臓での発現パターンを明らかにする)、その機能性を評価した。また、イトヨアンドロゲン受容体のレポータージーンアッセイを確立した。

③魚類精巣卵の誘導機構に関する研究及び魚類エストロゲン受容体の種特異性の調査

OECD に向けた国際貢献に資するため、ステロイドホルモン及び化学物質による転写活性を指標としたホルモン受容体の種差を評価すること及びメダカで見られるエストロゲン誘導性精巣卵を遺伝子発現の観点から解析し、ローチ精巣卵解析の足がかりとすることを目的とした。

ローチ、メダカ、ファットヘッドミノー、ゼブラフィッシュ、イトヨ、コイ等のエストロゲン受容体アルファとベータを培養細胞で発現させ、レポータージーンアッセイ系を確立した。これにより、エストロゲン作用を発揮すると推測される化学物質(ビスフェノール A(BPA)、ノニルフェノール(NP)、オクチルフェノール(OP))の転写活性の強さを調べた。

メダカで見られるエストロゲン誘導性精巣卵を遺伝子発現の観点から解析し、ローチ精巣卵解析の足がかりが得られた。遺伝子発現解析により、精巣卵誘起時に発現する遺伝子群を見出し、ZPA、ZPB、ZPC1、ZPC2、ZPC3及びZPC5については、精巣卵誘起のためのバイオマーカーとして活用できる可能性を示した。

④両生類の生態影響評価手法の研究

OECD において必要性が議論されている両生類のための生殖影響試験について、陽性対象物質(エチニルエストラジオール:EE2)に対する影響を整理・評価し、試験法の必要性について検討すると共に、その運用を検討することを目的とした。

ニシツメガエル(*Xenopus (Silurana) tropicalis*)に陽性対象物質(EE2)をばく露し、定期的に全長、後肢長、発生段階、生殖腺、甲状腺について、形態学的な測定、観察、記録を行い、これらのデータを OECD 等で広く活用できるよう、標準データベースを作成した。さらに、各種ホルモンレセプター・ビテロジェニンの発現等について測定、観察、記録を行い、遺伝子発現に関する標準データベースを作成した。

ニシツメガエルを使い、各種ホルモン受容体遺伝子(エストロゲン受容体 α 及び β 並びに甲状腺ホルモン受容体 α 及び β)の単離、発生過程におけるホルモン受容体遺伝子の発現解析、エストロゲン応答遺伝子の探索及びエストロゲン受容体を用いたレポータージーンアッセイ系の構築を行った。

ニシツメガエルの全雄集団を得るための性転換個体の作製を行った。

○今年度の実務者会議

平成20年10月に英国で開催された第10回日英共同ワークショップにおいて、日英共同研究を2010年から引き続き5年間、延長することが合意されている。平成21年11月の第11回ワークショップにおいて、今後の研究テーマについて行政官及び研究者により議論し、日英共同研究の延長に関する調印を行った。

第11回ワークショップの成果について別添に記載した。

(別添)

第 11 回 化学物質の内分泌かく乱作用に関する 日英共同研究ワークショップの結果について

平成 21 年 11 月 16 日 (月)
環境省総合環境政策局
環境保健部環境安全課
直 通 03-5521-8261
代 表 03-3581-3351
課 長 早水 輝好(内 6350)
課長補佐 佐方 信夫(内 6352)

第 11 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究ワークショップを、11 月 13、14 日に大阪府大阪市で開催しました(公開)。本ワークショップでは、両国の研究担当者によるこれまでの成果の発表、意見交換が行われたほか、今後の研究テーマについても議論がなされ、共同研究の今後 5 年間の継続に関する文書の調印式が行われました。

1 目的

平成 11 年 3 月に開催された G 8 環境大臣会合において、化学物質の内分泌かく乱作用に関して英国と共同研究を実施することが合意され、5 カ年の日英共同研究事業が開始されました。平成 16 年度には、5 年間の延長(2005～2009 年)が決定され、日英両国の研究者が共同で研究を推進してきました。

今年度のワークショップでは、両国の研究担当者によるこれまでの成果の発表、意見交換が行われたほか、昨年 10 月に英国で開催された第 10 回ワークショップにおいて日英共同研究を 2010 年より引き続き 5 年間延長することが合意されたことを受け、今後の研究テーマについての議論がなされ、日英共同研究の継続に関する文書の調印式が行われました。

2 日 時 平成 21 年 11 月 13 日(金) 9:00～18:20
14 日(土) 8:40～13:00

3 場 所 リーガロイヤルホテル大阪
(大阪市北区中之島 5-3-68)

4 出席者 日本：井口泰泉(研究統括者、自然科学研究機構)、田中宏明(京都大学)、
早水輝好(環境省)、他(18 名)
英国：チャールズ タイラー(研究統括者、エクセター大学)、トム ハッチ
ンソン(環境水産科学研究所)、イアン ダルトン(環境食料農村地
域省)、マイク ロバーツ(同)、他(12 名)

5 結果の概要

(1) 日英共同研究における研究プロジェクト(2005～2009 年)について

両国の研究担当者より、5 年間の第 2 期共同研究の成果についての発表がなされた。

概要は以下のとおり。

①排水由来エストロゲン様作用の評価に関する研究

下水処理水及び環境水中のエストロゲン様作用（女性ホルモン様作用）を持つと考えられる物質について、日英の現状及びその違い等に関する報告がなされた。

②イトヨを用いたアンドロゲン様作用の評価手法の研究

イトヨ（冷水性淡水魚）を用いた、アンドロゲン様作用（男性ホルモン様作用）の検出法、ホルモン剤の複合影響等に関する報告がなされた。

③魚類精巣卵の誘導機構に関する研究及び魚類エストロゲン受容体の種特異性の調査

メダカなど6種類の魚を用いて、女性ホルモン様物質をばく露した飼育試験及び試験管内試験を行い、その影響について、種差などを考慮した多角的な解析の結果が報告された。

④両生類の生態影響評価手法の研究

両生類（アフリカツメガエル・ニシツメガエル）を用いた、化学物質のエストロゲン様作用等の影響を調べるための遺伝子技術の開発、発達段階のデータベースの作成及び変態試験の検討、生態調査の方法の検討等の結果が報告された。

（2）今後の日英共同研究における研究内容について

2010年以降の共同研究は、これまでの成果を踏まえ、横断的なテーマを設定して進めることとされ、以下のテーマが設定された。

①処理排水中及び環境中の主要な内分泌かく乱作用を有すると疑われる化学物質及び新たな化学物質の挙動を推定するための研究、並びにそれら化学物質の環境中への排出を低減するための研究

②内分泌かく乱化学物質が起こしうる環境リスクを評価するための野生生物への悪影響を推定する方法（試験法）の開発

③水生生物及びその他の生物の生殖及び成長への影響を把握するための化学物質試験法における様々なエンドポイントの評価（遺伝子レベルや分子生物学的なアプローチ）に関する研究

④英国及び日本における野生生物への環境リスク（個体群レベルでの影響等）の解析

（3）次回ワークショップについて

次回ワークショップは平成22年英国にて開催されることが合意された。

6 日英共同研究の5年間の継続に関する調印

ワークショップでの検討結果を踏まえ、両国環境省代表者により5年間の継続に関する文書の調印を行った。調印内容は別添のとおり。（略）

※化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究については、下記ホームページ（専門家向け 英語のみ）でも概要を御覧いただけます。

<http://www.uk-j.org>