

2011年12月3日

平成23年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー(EXTEND2010)

化学物質の内分泌かく乱作用に係る問題の経緯と現状について

内分泌系及び 化学物質の内分泌かく乱作用とは

鑪迫典久

国立環境研究所

環境リスク研究センター

今日の話題

- 化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？
- 女性ホルモンだけがかく乱される？
- 内分泌かく乱物質にどう取り組むか
- 内分泌かく乱物質の影響例



化学物質で内分泌がかく乱されるとはということ？

外分泌と内分泌について



外分泌

分泌物が排出管(外分泌腺)を通して放出する。

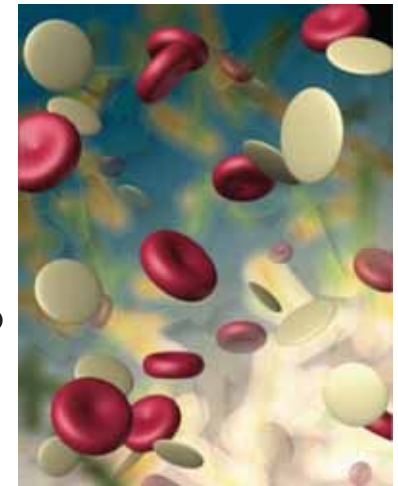
例 汗(汗腺), 唾液(だ腺), 乳(乳腺)

内分泌

分泌物が排出管を通さず内分泌腺(分泌細胞)から血液中などに放出する。

遠隔の細胞に作用することが可能。

例 生殖腺、甲状腺などのホルモン。





化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

ホルモンは化学物質



ホルモンとは

内分泌腺で作られ血液中に分泌され、標的器官に運ばれる。

微量で生理的な作用の調節を行う化学物質。

ホルモンの語源

ギリシャ語horman(「刺激する、興奮させる」という意味をもつ動詞)の現在分詞hormon



化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

ホルモン分泌と標的器官

標的器官：ホルモンが作用を及ぼす器官

ホルモン標的細胞（特定のホルモンにだけ結合する受容体をもつ）があり、その細胞にだけ選択的に情報が伝えられる。



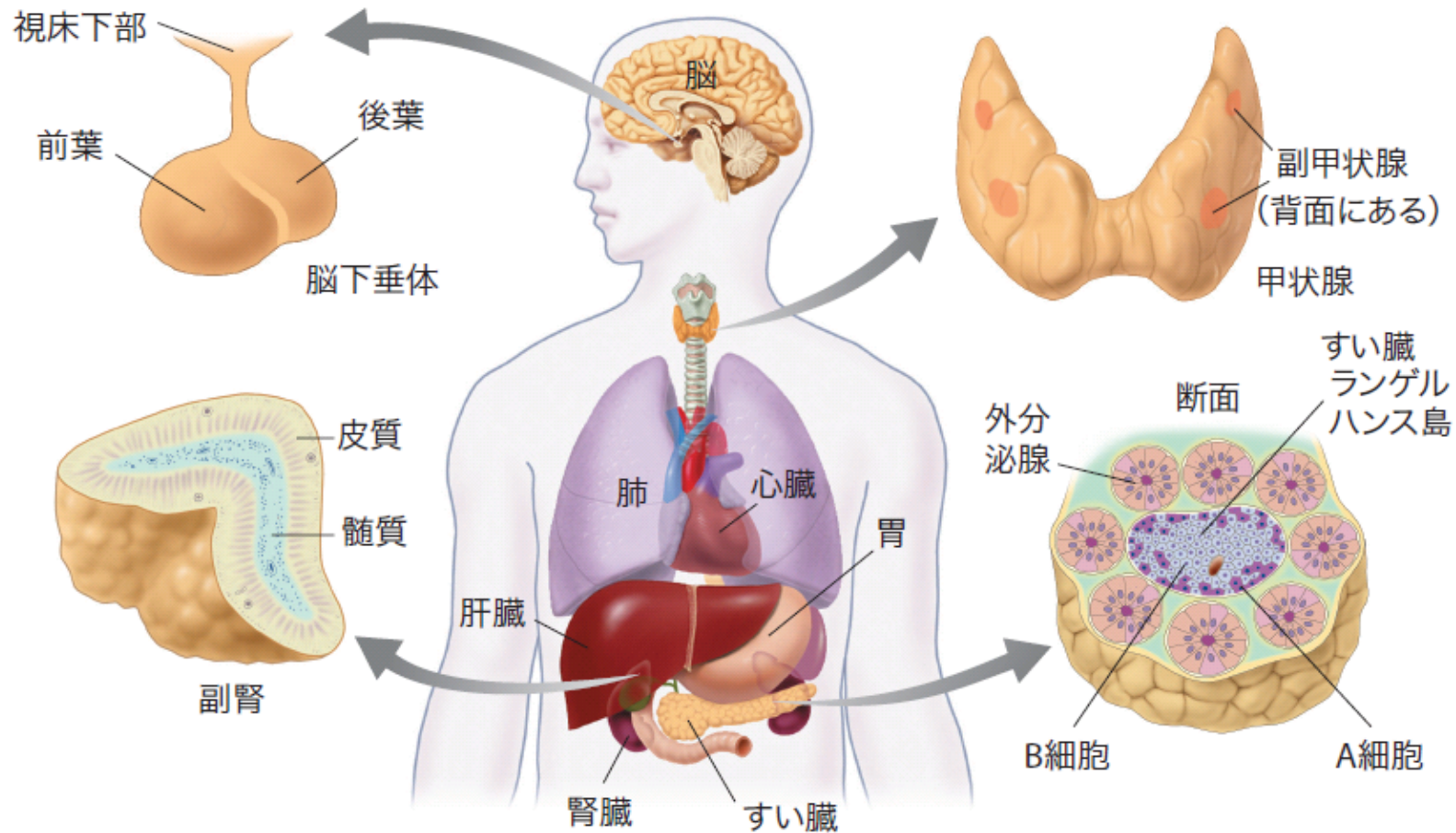
受容体＝レセプター

細胞膜、細胞質または核内にあるタンパク質で、神経伝達物質、ホルモン、細胞増殖因子その他の物質と結合し反応を開始する。



化学物質で内分泌がかく乱されるとはということ？

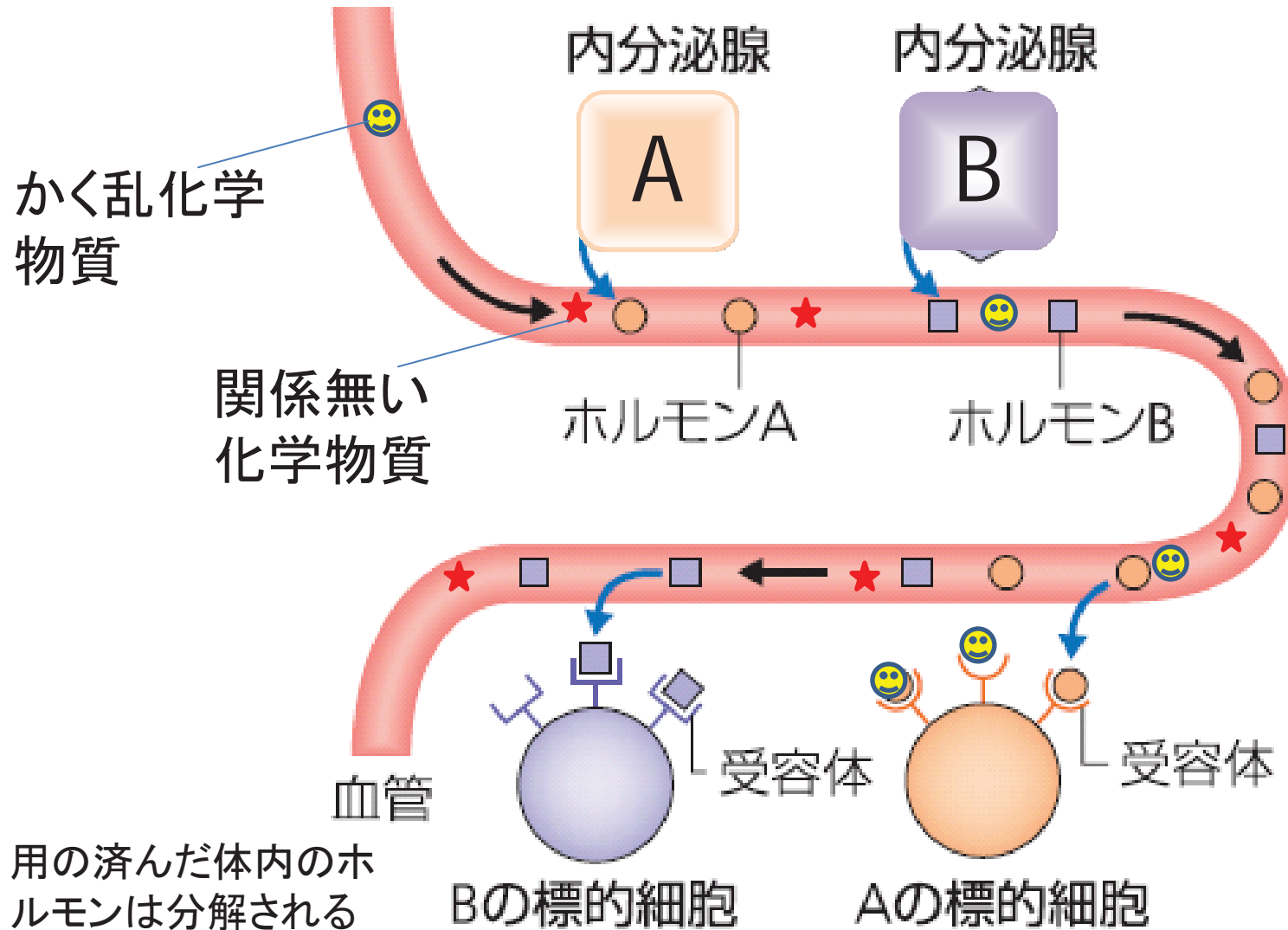
ヒトのおもな内分泌腺





化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

内分泌腺とホルモンと標的器官とかく乱作用





化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

内分泌かく乱のいろいろなメカニズム

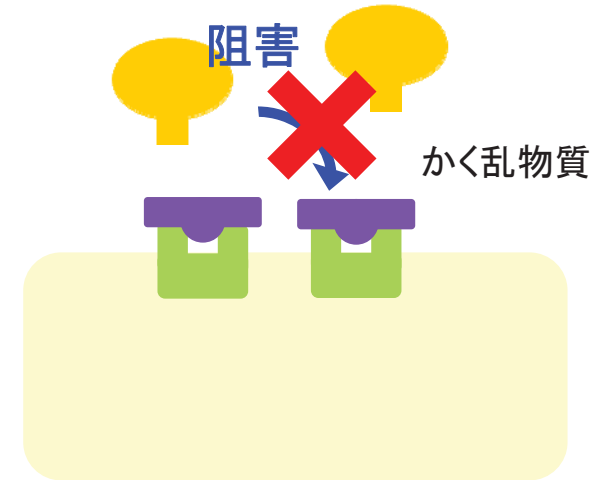
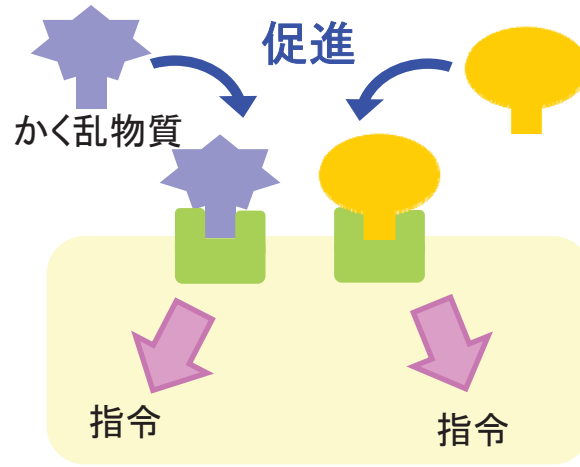
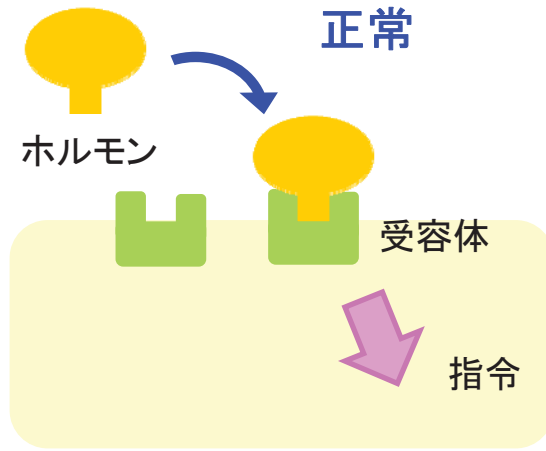
- 受容体に結合して、ホルモンのふりをする（促進）。
- 受容体に結合して、ホルモンの邪魔をする（阻害）。
- 受容体の数を増やしたり減らしたりする。
- 受容体に結合せず、ホルモンの生合成、代謝を促進/阻害する。
- 本来のホルモン量の調節（フィードバック）を狂わす。



化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

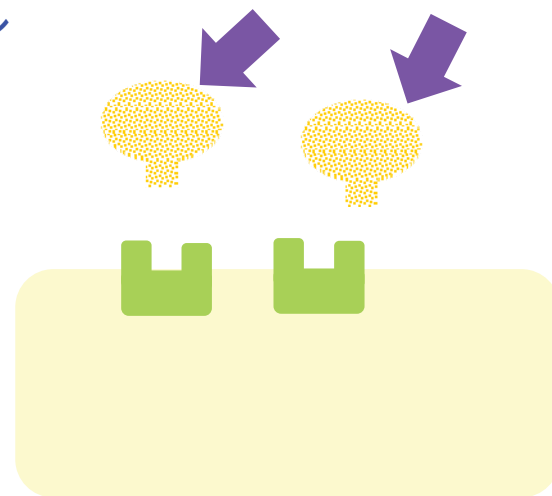
受容体に結合してホルモンのふりをする

受容体に結合してホルモンの邪魔をする

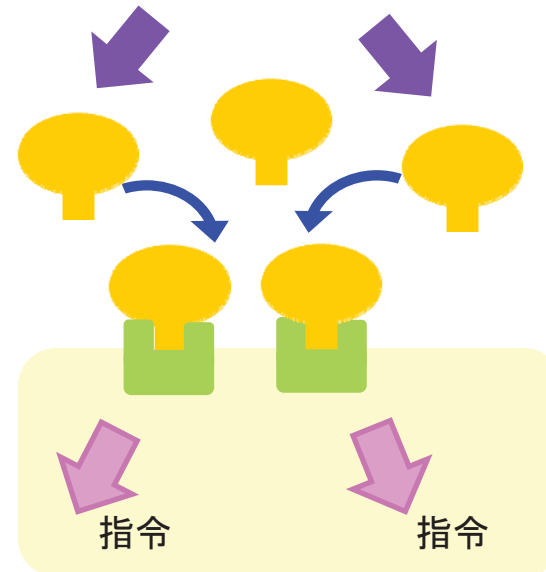


受容体に結合せず、ホルモンの生合成、代謝を促進/阻害する

合成阻害/代謝促進



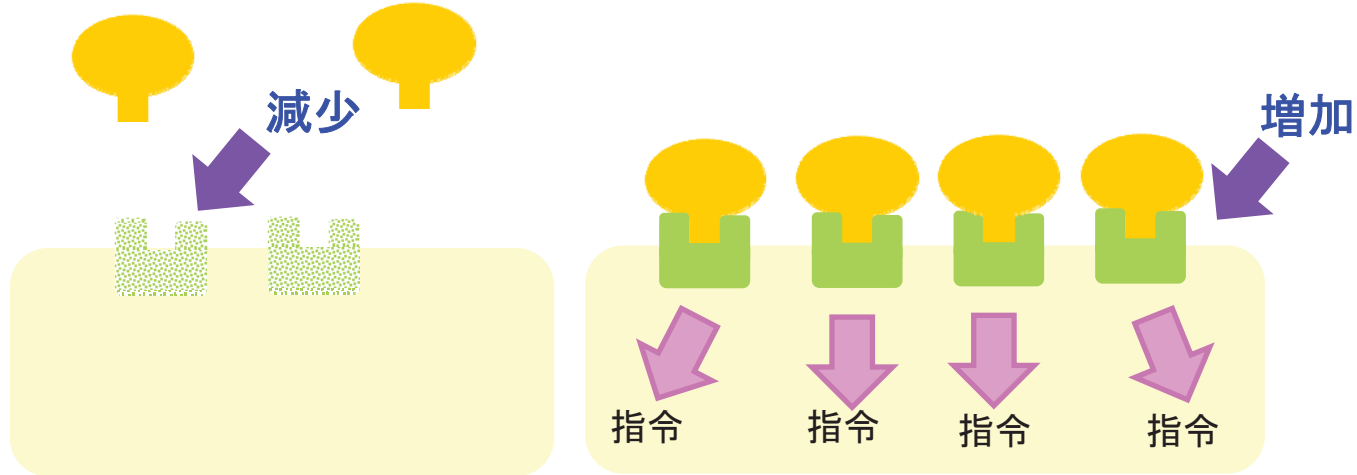
合成促進/代謝阻害



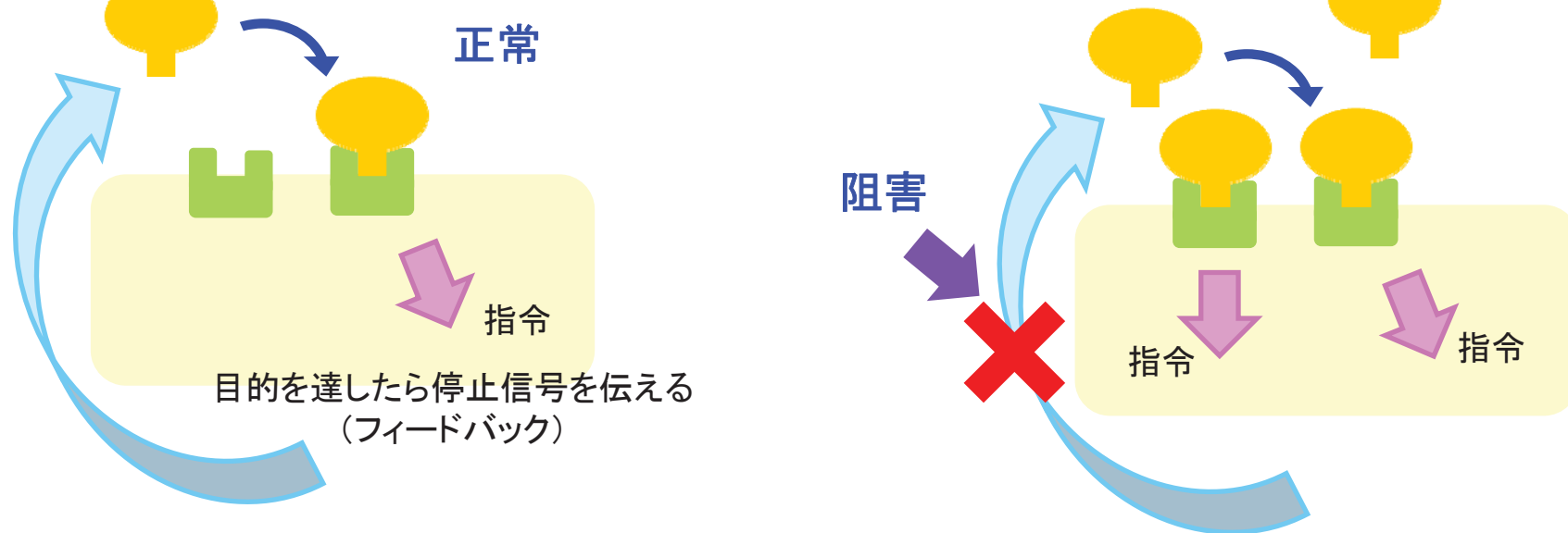


化学物質で内分泌がかく乱されるとはどういうこと？

受容体の数を増やしたり減らしたりする



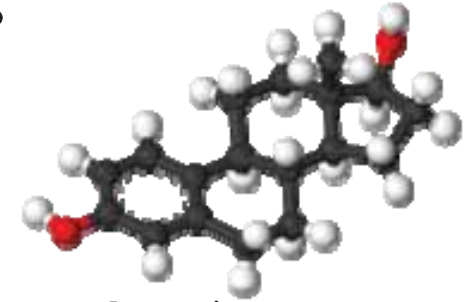
本来のホルモン量の調節(フィードバック)を狂わす



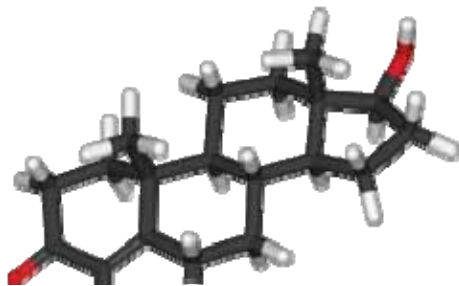


化学物質で内分泌がかく乱されるとはということ？

まとめ1



- ある化学物質によって体内の情報伝達がうまくいかなくなること。
 - 体内の情報伝達物質＝化学物質、だから
- 受容体に結合せずに、内分泌をかく乱する化学物質もある。
 - 従来の鍵と鍵穴の説明だけでは十分ではない



内分泌かく乱化学物質が全てレセプターに結合するとは限らない。

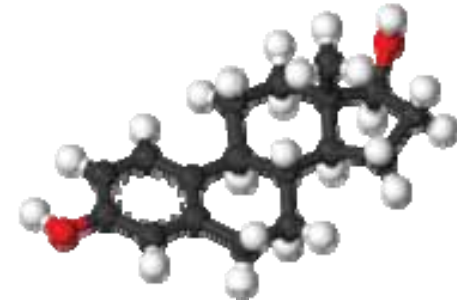


女性ホルモンだけがかく乱される？

まず、ホルモンの種類(構造)

ステロイドホルモン

- 糖質コルチコイド(副腎皮質)
- 鉱質コルチコイド(副腎皮質)
- アンドロゲン
- エストロゲン
- 黄体ホルモン
- 脱皮ホルモン(昆虫、甲殻類)



ペプチドホルモン

- 成長ホルモン、インシュリンなど
- その他

・甲状腺ホルモン

セスキテルペノイドホルモン; 幼若ホルモン(昆虫、甲殻類);

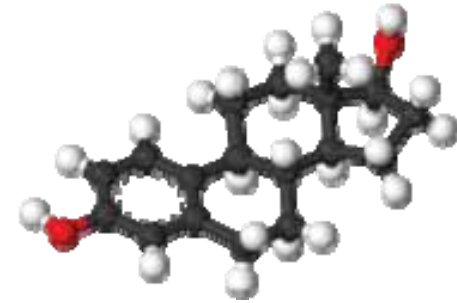


女性ホルモンだけがかく乱される？

化学物質によってかく乱される可能性がある ホルモン

ステロイドホルモン

- 糖質コルチコイド（副腎皮質）
- 鉱質コルチコイド（副腎皮質）
- アンドロゲン
- エストロゲン
- 黄体ホルモン
- 脱皮ホルモン（昆虫、甲殻類）



ペプチドホルモン

- 成長ホルモン、インシュリンなど

その他

- 甲状腺ホルモン

セスキテルペノイドホルモン；幼若ホルモン（昆虫、甲殻類）；



女性ホルモンだけがかく乱される？

なぜ女性ホルモンだけに注目？

生物	場所	影響	推定される原因物質
イボニシ(貝)	日本の海岸	雄性化、個体数の減少	有機スズ化合物
ニジマス	英国の河川	雌性化、個体数の減少	ノニルフェノール *断定されず
ローチ(鯉の一種)	英国の河川	雌雄同体化	ノニルフェノール *断定されず
サケ	米国の五大湖	甲状腺過形成、個体数減少	不明
ワニ	米フロリダ州の湖	オスのペニスの矮小	有機塩素系農薬
		卵のふ化率低下	湖内に流入したDDT
		個体数減少	不明
カモメ	米国の五大湖	雌性化、甲状腺の腫瘍	DDT,PCB *断定されず
メリケンアジサシ	米国ミシガン湖	卵の孵化率の低下	DDT,PCB *断定されず
アザラシ	オランダ	個体数の減少、免疫機能の低下	PCB
シロイルカ	カナダ	個体数の減少、免疫機能の低下	PCB
ピューマ	米国	精巣停留、精子数減少	不明
ヒツジ	オーストラリア	死産の多発、奇形の発生	植物エストロジェン (1940年代) (クローバー由来)



女性ホルモンだけがかく乱される？

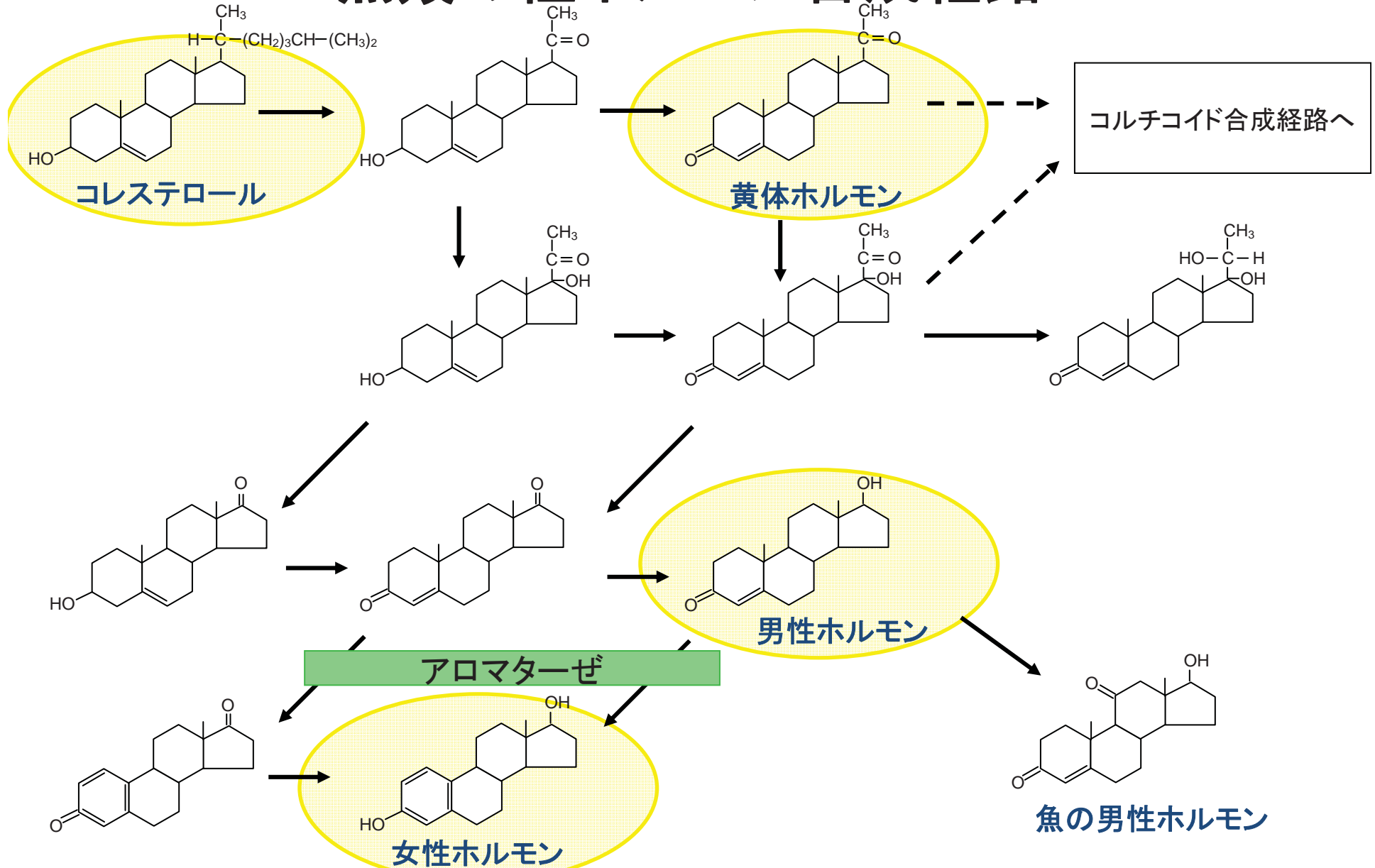
人で内分泌かく乱と考えられている現象 (WHO/IPCS)

悪影響	原因物質	関連性	回復傾向	仮説の信憑性	内分泌攪乱との関連
子宮内膜症	TCDD, PCBs	*	ND	高	中
神経行動発達異常	PCBs	***	ND	中	中
免疫機能低下	PCBs, TCDD	****	*	中	弱
乳がん	DDT, DDE, PCBs	*	ND	弱	弱
精子の質の低下	エストロゲン様物質、抗アンドロゲン物質	ND	ND	ND	弱



女性ホルモンだけがかく乱される？

魚類の性ホルモン合成経路





女性ホルモンだけがかく乱される？

まとめ2

- 内分泌かく乱は、女性ホルモンだけではない。
- ホルモン合成系の最終産物のため調節が難しい？
- 野生生物を使った試験で、SPEED' 98当時は女性ホルモン作用の検出系しかなく、検出がしやすかった。

結果として、ビスフェノールA、ノニルフェノール、オクチルフェノール、DDTの、環境省が発表した内分泌かく乱化学物質は全て女性ホルモン様作用を持つ化学物質だった。



EXTEND2010では、様々なホルモン作用に着目して試験法の開発とスクリーニングがすすめられている。



内分泌かく乱物質にどう取り組むか

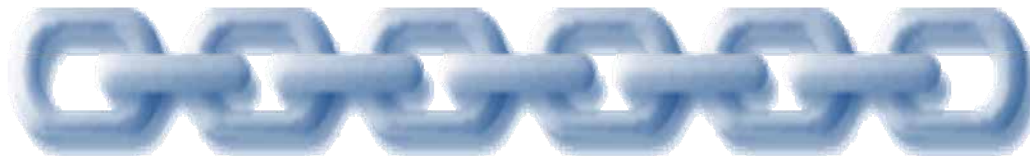
内分泌かく乱化学物質を見わけなくてはいけない

どのような試験法が必要か？

- ホルモンの作用は複雑で多岐にわたる
 - 作用に特化した簡単な試験法では影響が分からない。
 - 有害性とは何かを考えるべき。



- 個体レベルの生死、成長ではなく、
個体群レベルでの存続＝持続可能な生態系
と考え、繁殖し次世代を残せるかどうかには有害性の
重点を置いて試験法を開発する。(ある意味ホルモン
作用のみに縛られず、広く環境有害性物質を探す)





内分泌かく乱物質にどう取り組むか

魚類短期繁殖試験 (TG229)

- 21～28日間のスクリーニング試験
- ビテロジェニンに加え、生物群存続に関する観察点(繁殖率)を持ち、母親から子供への影響を検出できる。
- 米国によりファットヘッドミノーの試験として提案され、2009年にOECDのTG229として採択されたが、メダカも試験魚として適正化した。一部の試験条件を再検討中



【ばく露前2-3週間】

繁殖に関する項目の観察
・産卵数・受精率・心化率



Fathead minnow

試験魚：心化後4-6ヶ月令の雌雄成魚

ばく露
(3週間)

測定項目：
・二次性徴 -血中VTG濃度
・血中ステロイドホルモン濃度

観察項目
・外観・行動
・産卵数と受精率を毎日観察

◆試験の目的

・化学物質の繁殖への影響を調べる

◆試験の概要

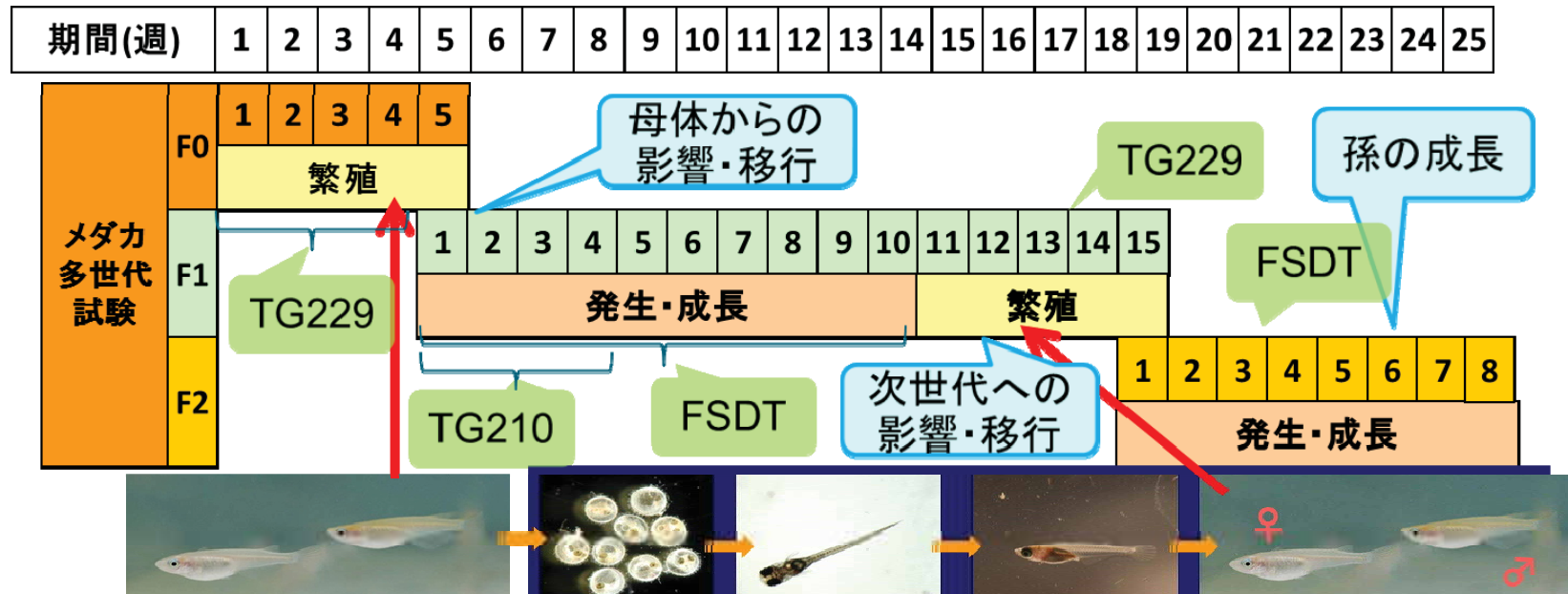
・流水式で3週間の試験 (+事前観察2～3週間)



内分泌かく乱物質にどう取り組むか

メダカ多世代試験：確定試験

- 次世代への移行、影響を調べることを目的として、化学物質の影響によって生物群が存続できるかを判断するための長期(25週間程度)の確定試験。
- 既存試験(TG229、TG210、TG234)の組合せで構成。
- メダカ多世代試験として、2009年より日米で共同でテストガイドライン化に向け検討中。





内分泌かく乱物質にどう取り組むか

両生類ライフサイクル試験

- 孵化後48時間の幼生を性成熟までの長期間(40週間)化学物質にばく露し、発生、変態、成長、生殖への影響を指標とする試験法である。
- 米国からドラフトガイドラインが示され、日米英の専門家により検討された。
- しかし米国から試験期間の短縮等を含むガイドラインの変更案が提案されている。

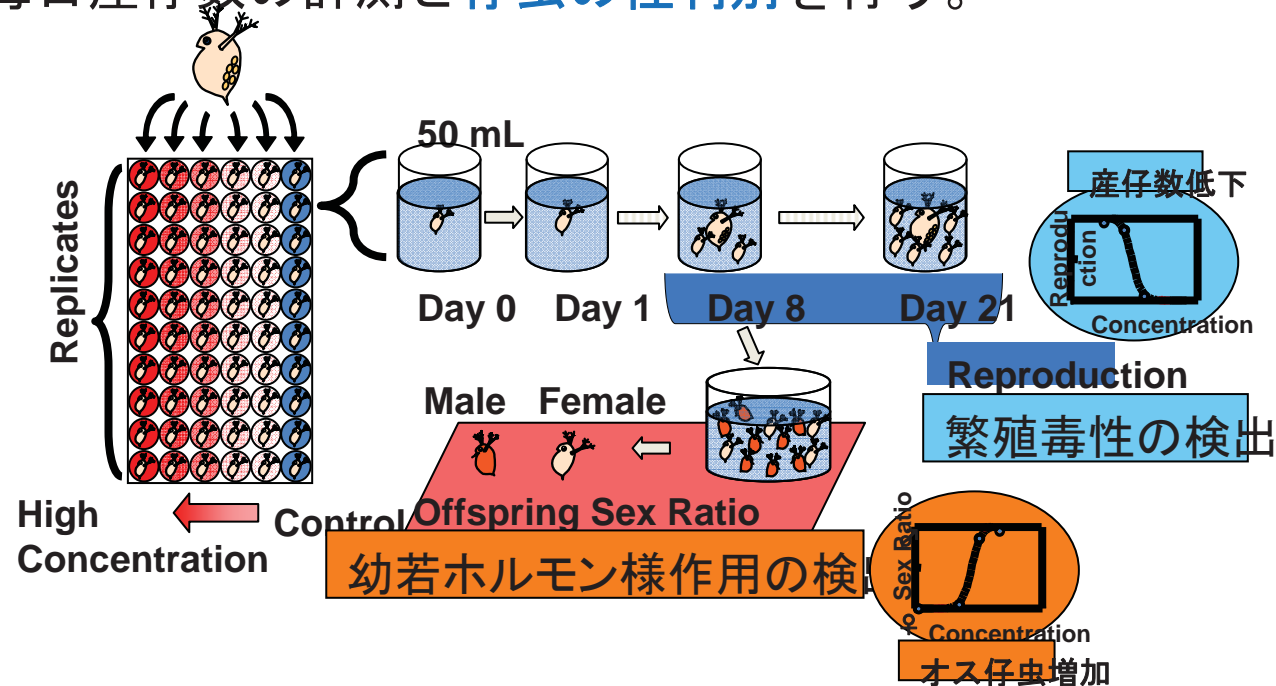




内分泌かく乱物質にどう取り組むか

甲殻類の繁殖 + 性比異常試験

- ミジンコの生後24時間以内の仔虫を個別に曝露。
- 毎日緑藻クロレラを給餌し、隔日換水する。
- およそ一日に一回脱皮をくり返しながら試験個体は成長し、試験開始後8日目頃から放仔をはじめめる。その後は2-3日に一回脱皮と放仔を繰り返す。
- 21日間毎日産仔数の計測と**仔虫の性判別**を行う。

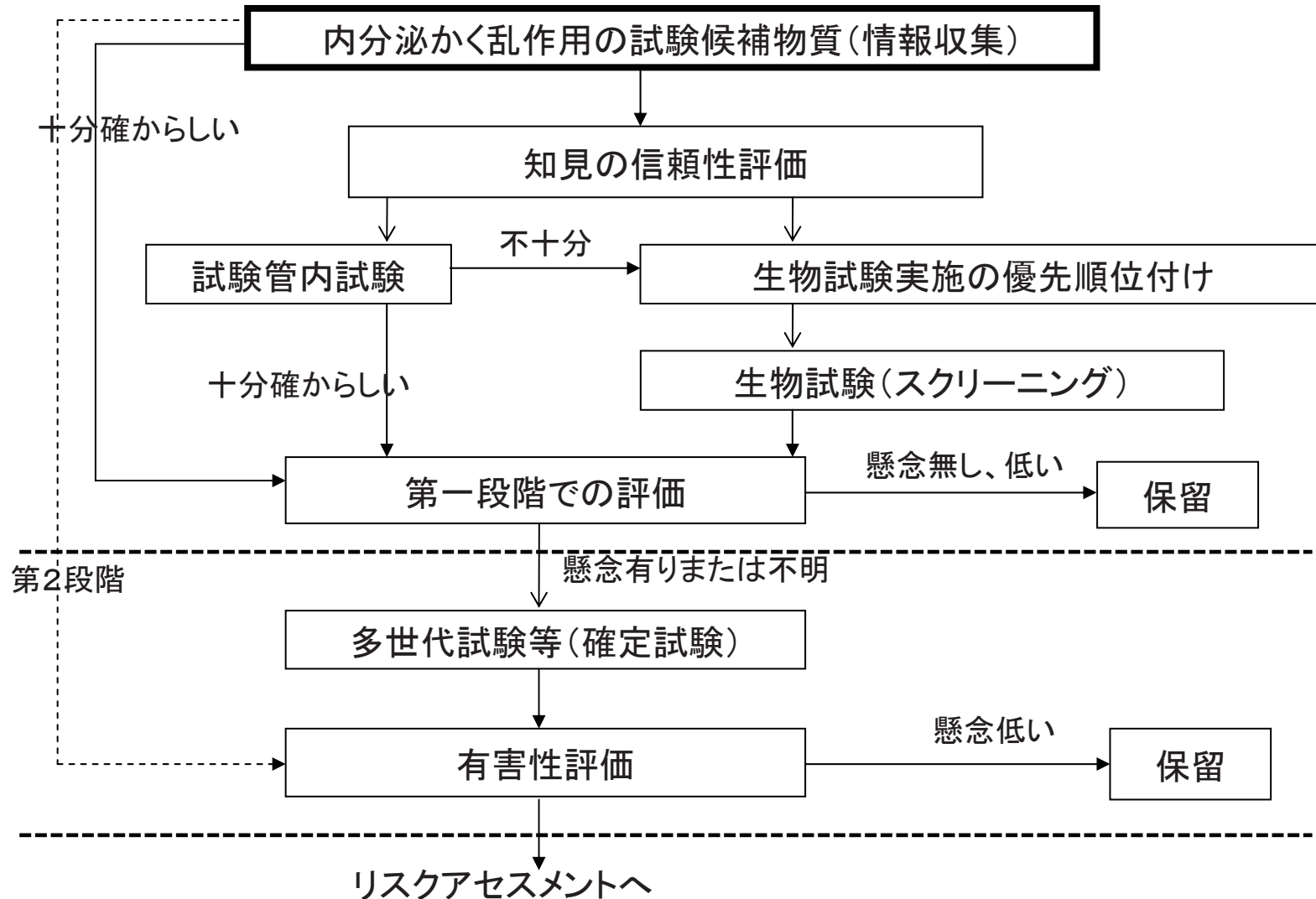




内分泌かく乱物質にどう取り組むか

EXTEND2010 の内分泌かく乱化学物質 スクリーニング法(暫定)

第一段階





内分泌かく乱物質にどう取り組むか

まとめ3(EXTEND2010)

- 個体(群)レベルのアプローチによる化学物質の作用機序等の把握
 - － 化学物質の内分泌かく乱作用等の個体(群)レベルでの影響(有害性)の評価に必要な基礎的知見を収集する。この場合、内分泌系・生殖系への影響に加え、脳神経系や免疫系への影響も視野に入れる。
- 細胞・分子レベルのアプローチ
 - － 試験管内試験(in vitro 試験)のような細胞・分子レベルの評価手法は、試験が効率的に実施可能であり、特異的な作用メカニズムの解明に役立つ知見が得られる。遺伝子発現解析技術、タンパク質解析技術(プロテオミクス)、代謝物解析技術(メタボロミクス)などの有用技術を取り入れつつ、エピジェネティクスなども含め化学物質の作用メカニズムの解明を進める。
- 試験法開発に資する基盤的研究
 - － 環境中の生物への影響を評価するための試験法の開発を進めるにあたり、その有効性や妥当性の裏付けとなる基礎的な知見を把握する。



内分泌かく乱物質の影響例

次世代での影響・レセプターが関与しない例

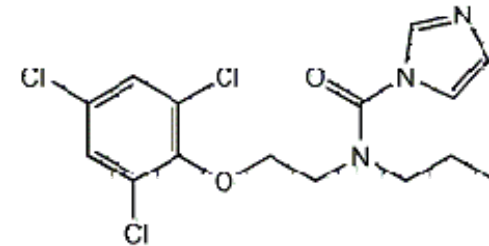
- アロマトーゼ阻害剤
プロクロラズ（農薬）のメダカへの影響
- 女性ホルモンによるメダカの性転換
次世代、次次世代への影響



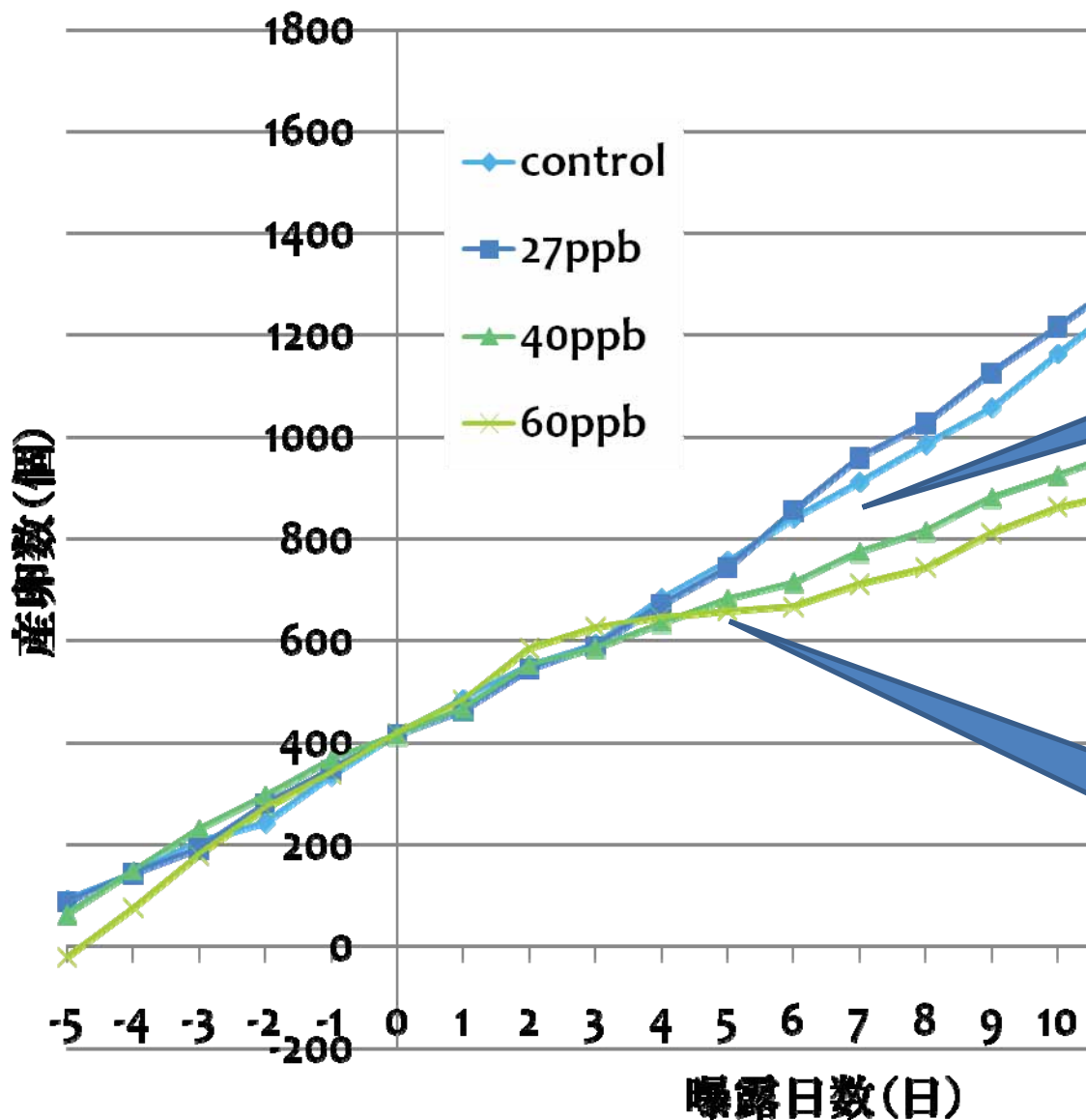
内分泌かく乱物質の影響例

レセプターが関与しない例～プロクロラズ～

- 農薬；殺菌剤(カルバモイルイミダゾール系)ばか苗病、いもち病、ごま葉枯病に効く
- 分子式;C₁₅H₁₆Cl₃N₃O₂
- 分子量 ; 376.7
- 水溶解度 ; 34.4mg/L(25°C)
- 水分配係数 ; logPow=4.12
- 残留農薬基準;玄米2ppm、クレソン、春菊、パセリ、セロリ等5ppm、みかん、グレープフルーツ、豚・牛の肝臓・腎臓10ppm(いずれも暫定)
- P450アロマトラーゼのインヒビター



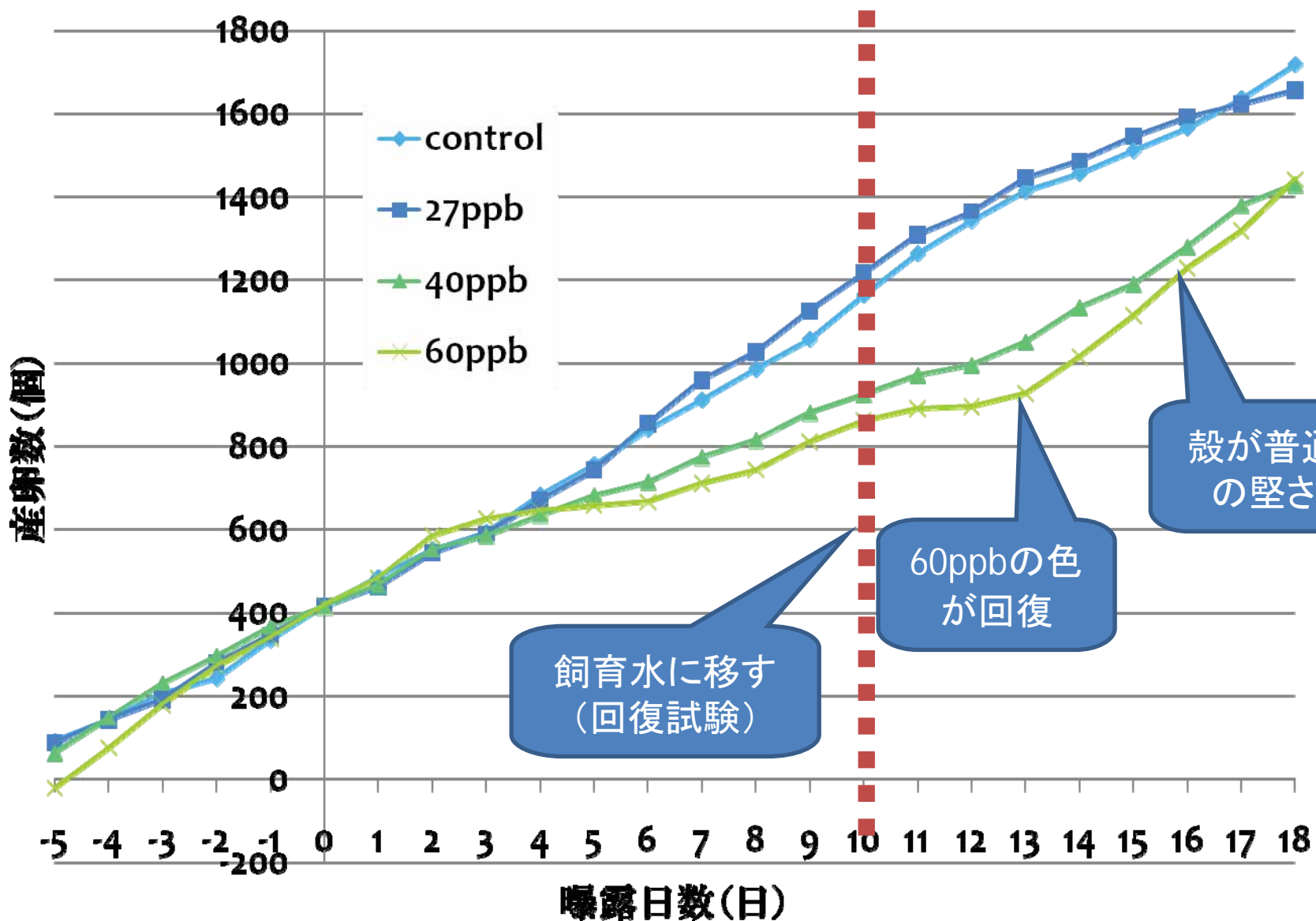
フクロロラスが産卵数に与える影響(TG229)



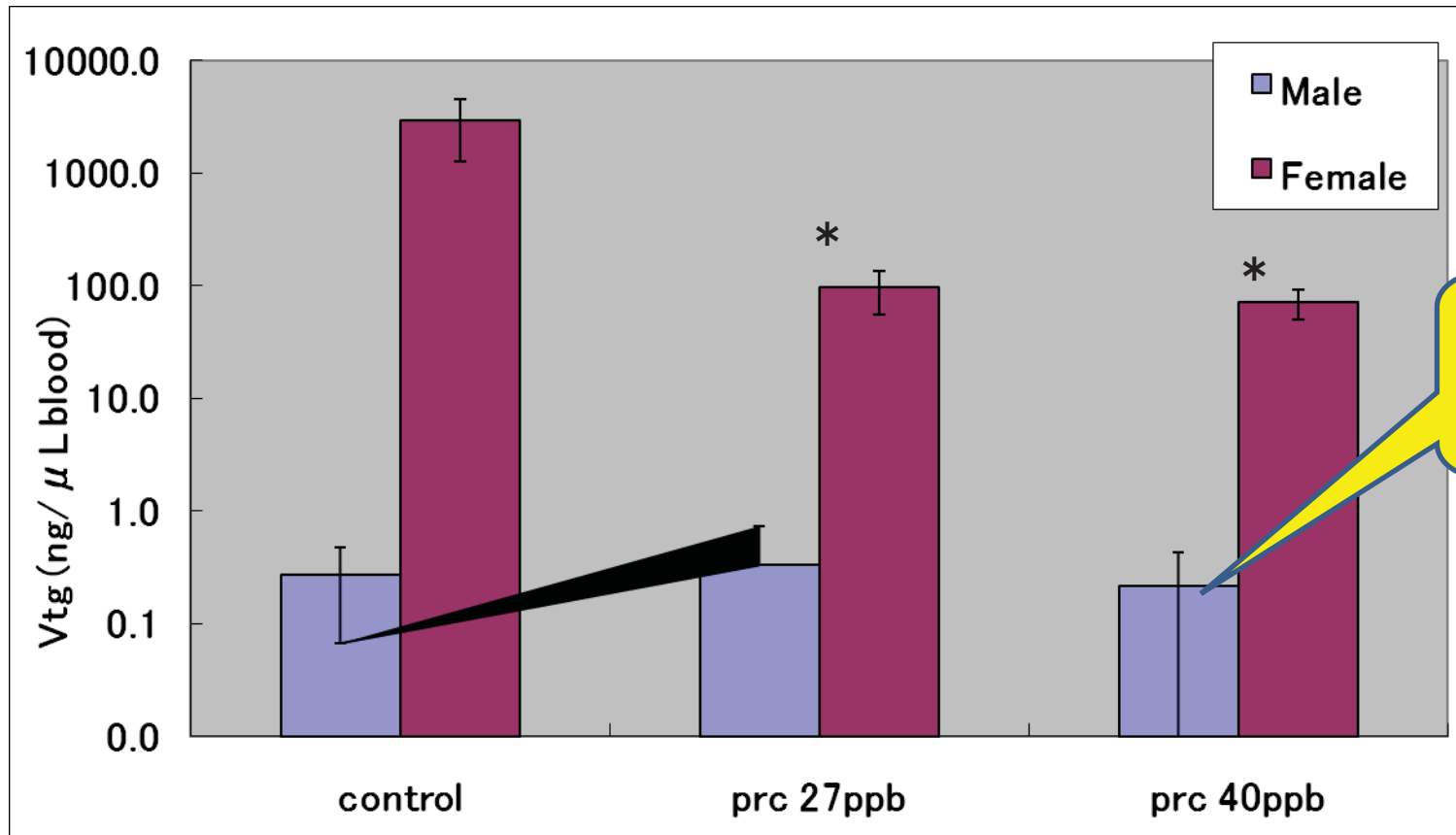
曝露7日目; 40,60ppbの卵の色が薄く、殻が柔らかくなった。

曝露5日目; 40,60ppbの卵の色が薄くなってきた

フクロロラスが産卵数に与える影響(回復性)



ビテロジェニン(卵黄前駆タンパク質)の変化



ELISAによる血中ビテロジェニンを測定したところ、曝露区ではメスのビテロジェニン濃度は27ppbで低下していた(産卵数のLOECは40ppb)。

メダカの性の基礎知識

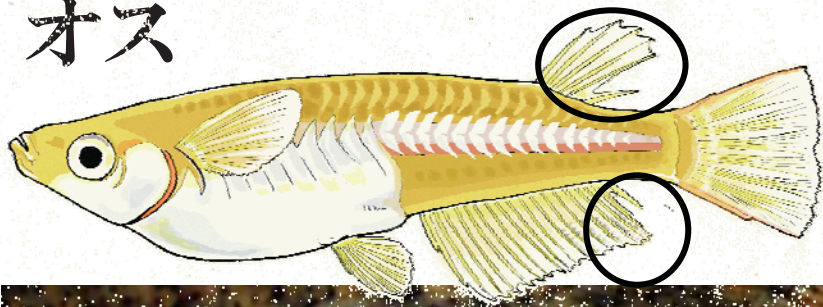


- 外見的に性を区別できる
- 通常の雄雌比は1:1
- 発生初期段階で性決定(一回)する
- 人間と同じXY型染色体をもつ
 - 性決定遺伝子がわかっている魚はメダカだけ

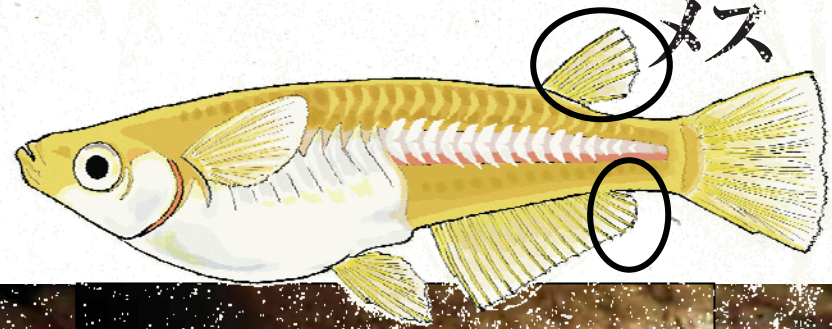
遺伝上の性
外見上の性
機能上の性 } **の重要性について考えてみる**

外見上の雌雄判定

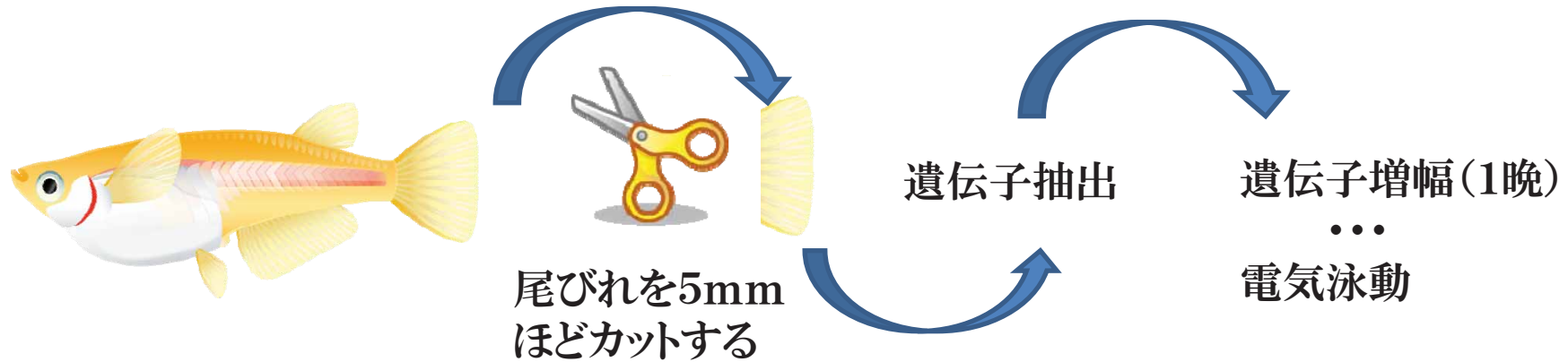
オス



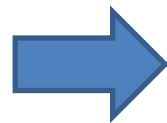
メス



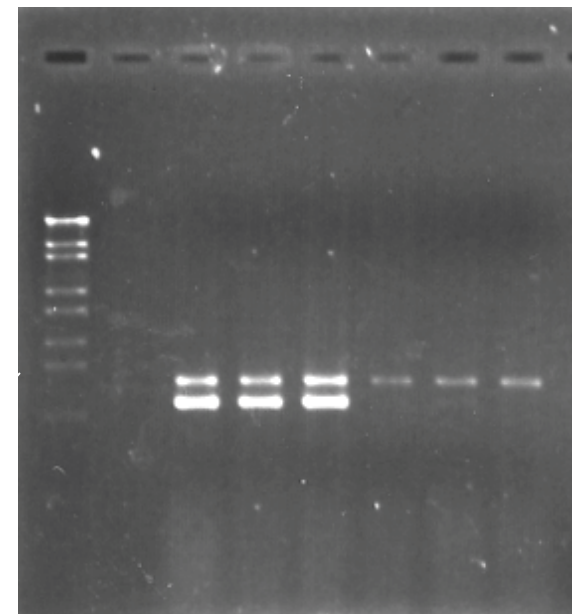
遺伝子:DMY (性判定遺伝子) による雄雌判定方法



電気泳動の結果
2本ならオス
1本ならメス



19.3 kbp
7.74 kbp
6.22 kbp
3.47 kbp
2.69 kbp
1.88 kbp
1.49 kbp
0.93 kbp

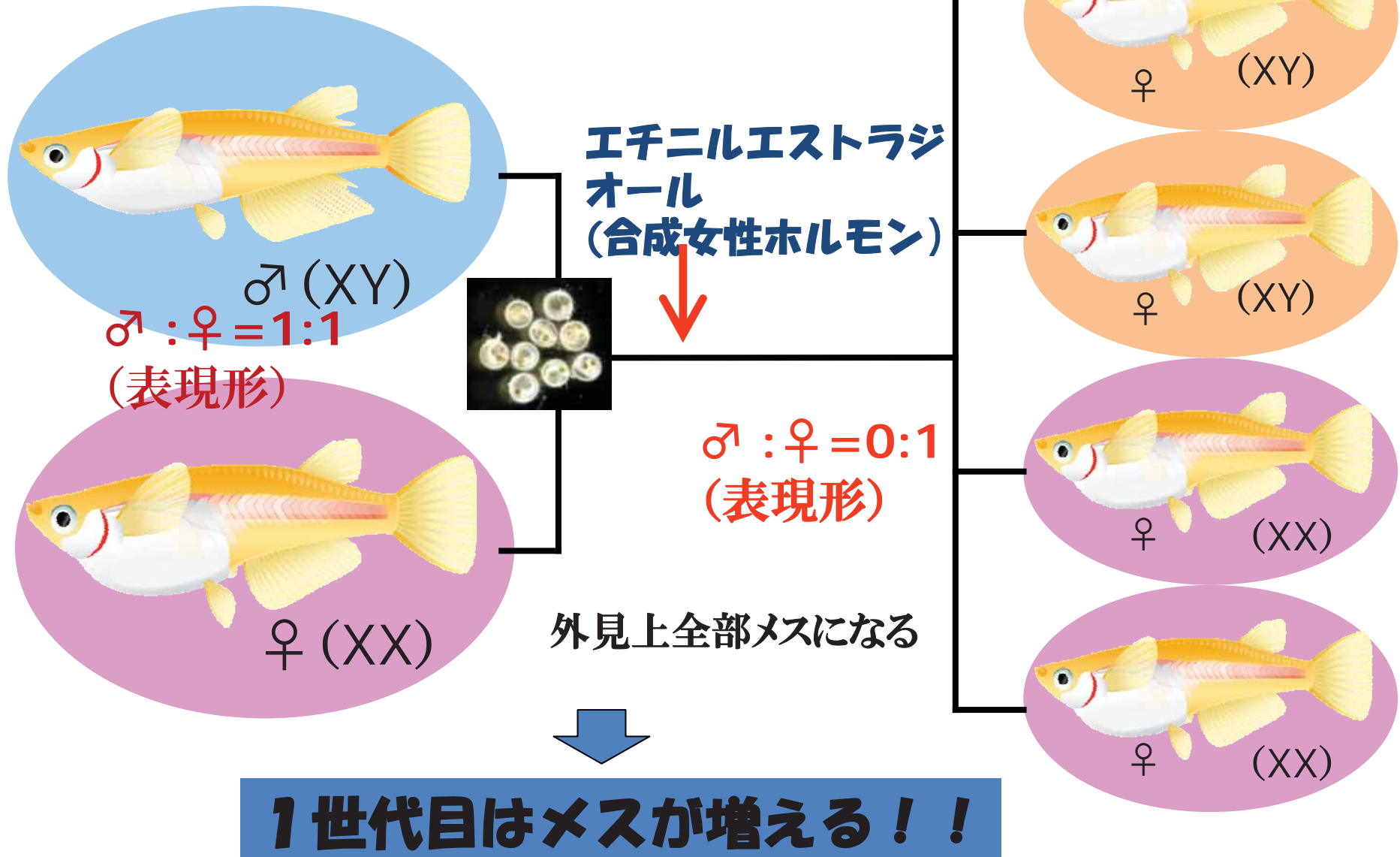


DMRT1
DMY

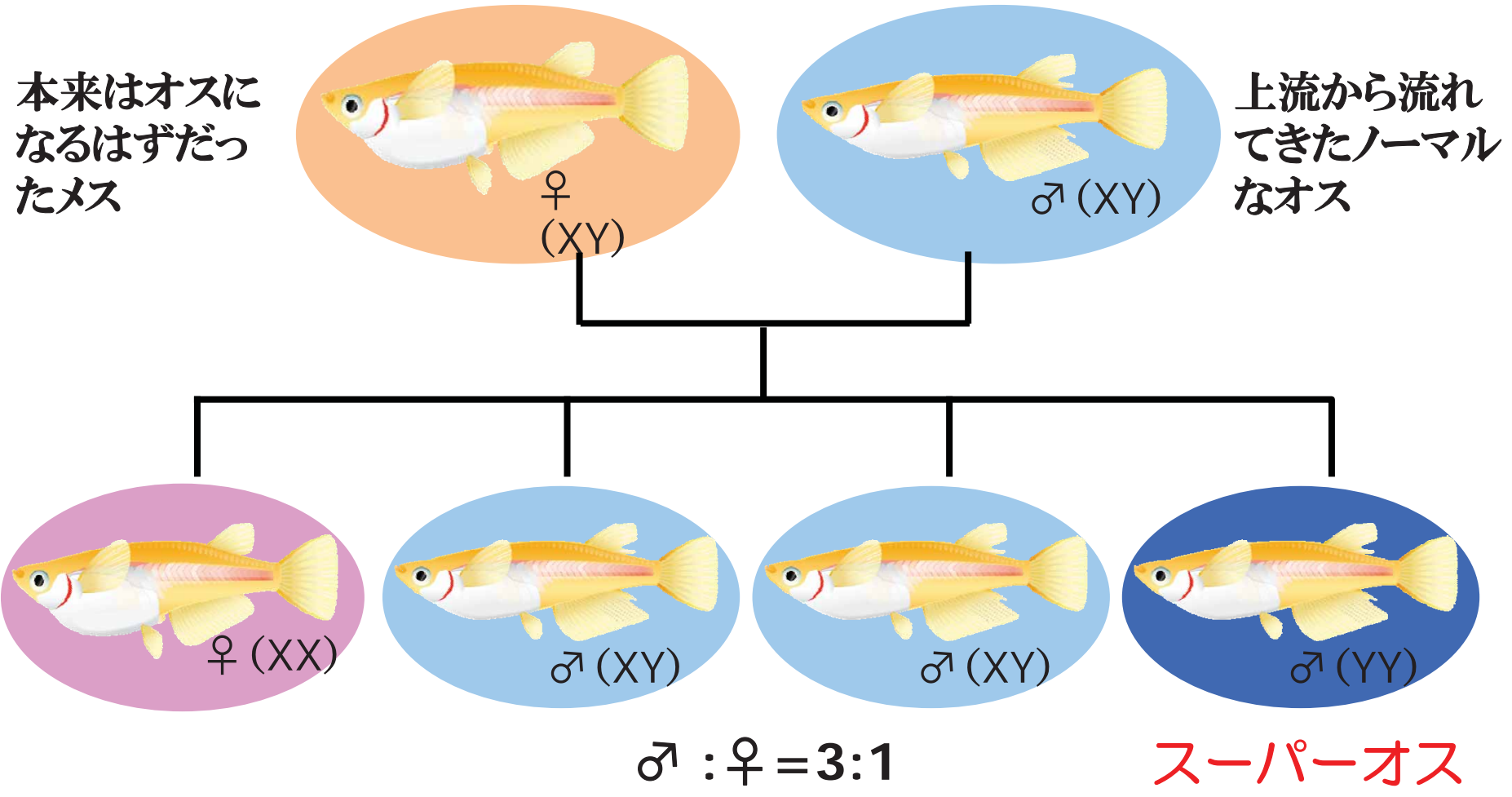
オス メス

【Ref.】 Matsuda *et al.* (2002)

メダカの卵に3週間女性ホルモン様化学物質を作用させたらどうなるか

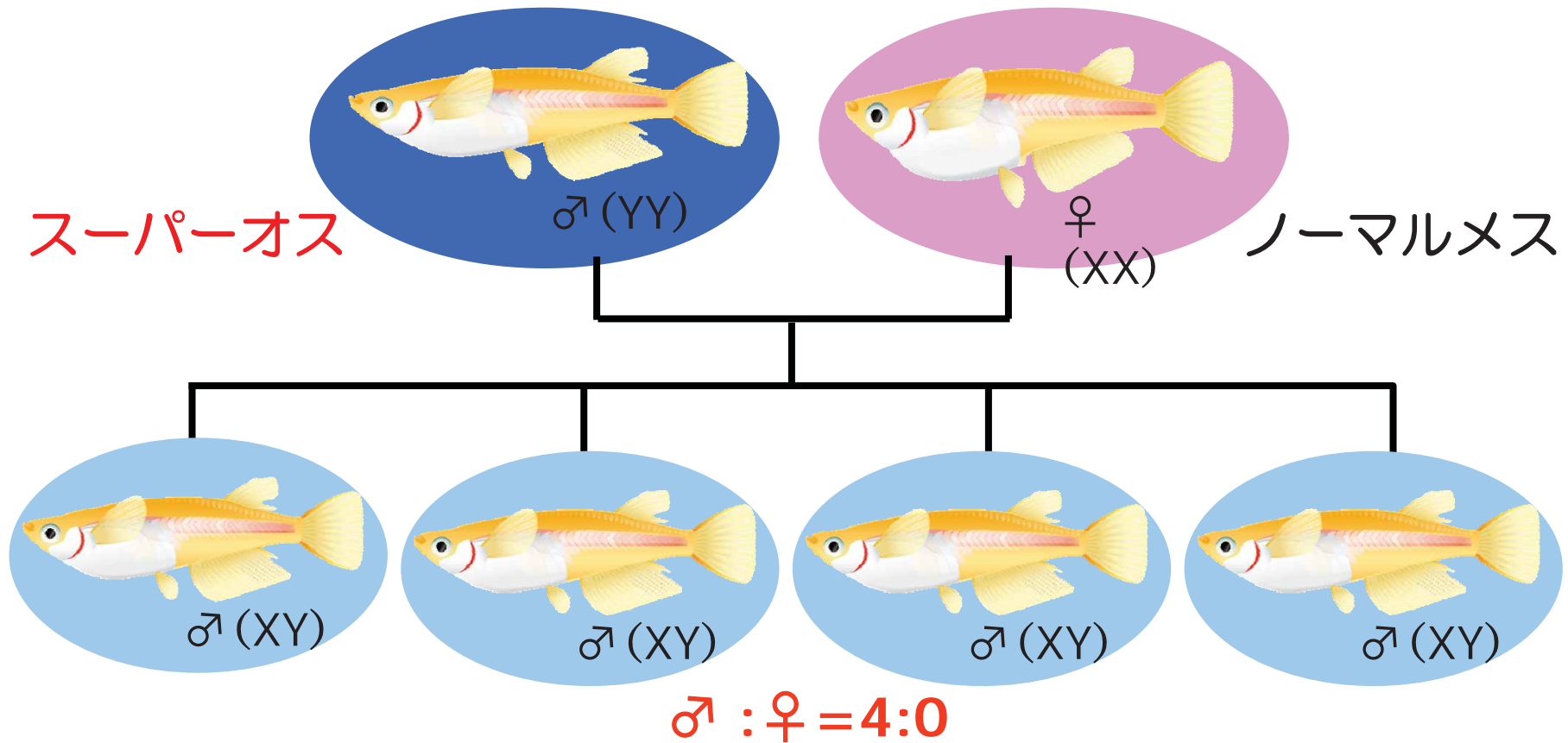


元オスのメスめだかと本当の オスメダカが出会ってしまったら・・・



あれ？2世代目はオスが増える！！

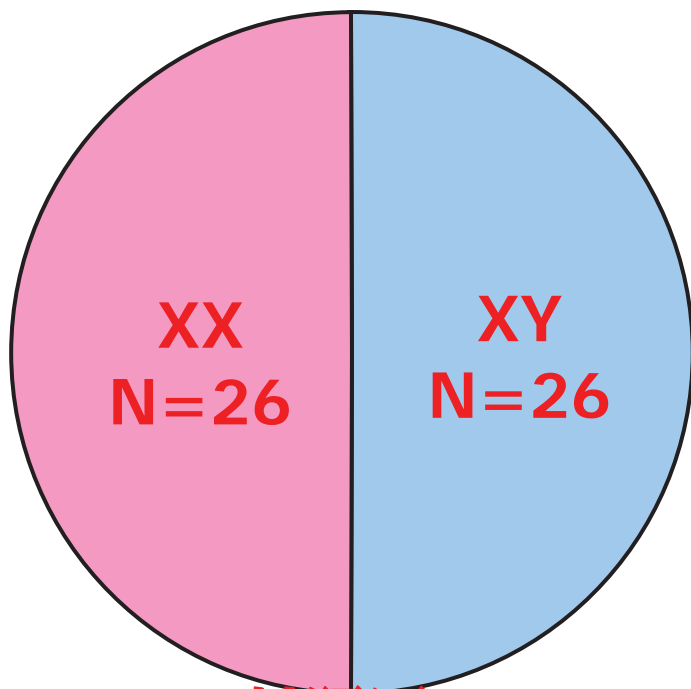
スーパーオスから生まれた 子供たちは. . .



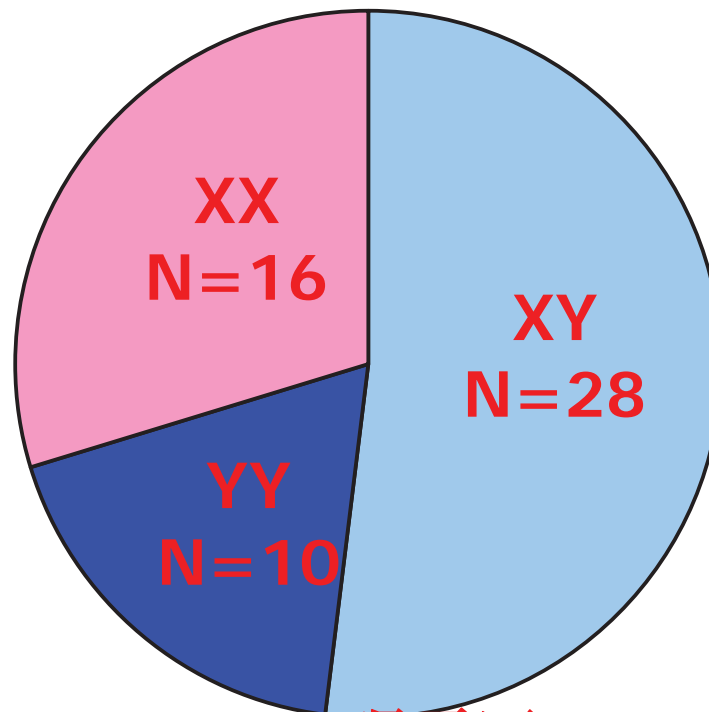
スーパーオスの子供 (3世代目) はオスばかり！！

? 女性ホルモンの影響でオスが増えてしまう?!

性転換個体の産出卵から生まれた 2世代目の性比の結果



対照区



EE2 曝露区

表現型→オス：メス = 38：16

遺伝子型→XX：XY：YY = 16：28：10



内分泌かく乱物質の影響例

まとめ4

- プロクロラズ（農薬）はレセプターに付かないが、ホルモン合成酵素を阻害してメダカへの内分泌をかく乱した。
- 但し、投与を止めると回復した。
- 女性ホルモンによってメダカは外見、機能がメス性転換した（遺伝子は変異しない）
- 化学物質が無くなった後でも、Y染色体の比率の異常が3世代目まで続く可能性がある。

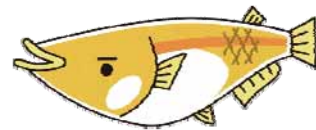
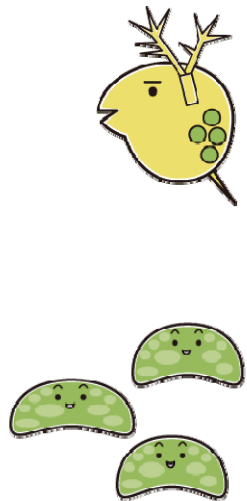
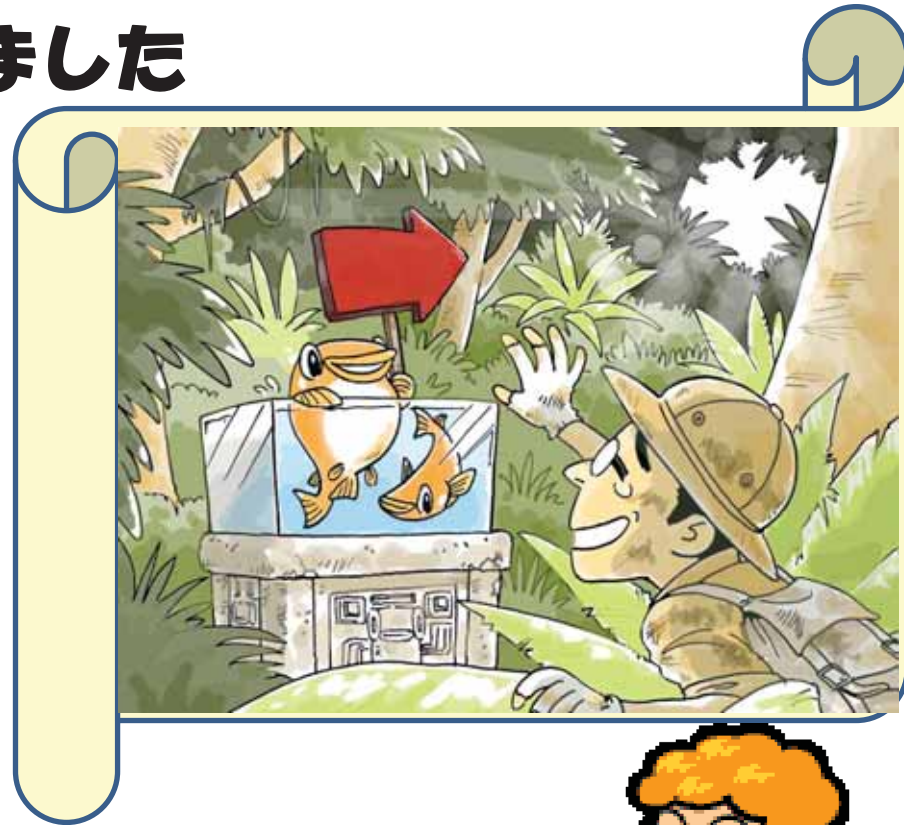


総括

- 内分泌かく乱化学物質は、直ちに個体の死に直結しないため、そのリスクは見過ごされやすいが、個体群、つまり次世代に影響を及ぼすことが懸念されている。
- “持続可能な生態系”を維持するためには、長期的な展望で研究と対策を行う必要がある。
- 我々は化学物質の恩恵を受けている反面、安全性にも気を配らなくてはならない。

未来に“正”の遺産を

ご清聴ありがとうございました



未来に翔く子供たちの世界に向けて・・・



