

資料 4 - 1

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(案)

1. 経緯

平成 11 年 3 月の 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。平成 16 年度(2004 年)には、日英両国間の協議により、さらに 5 年間の延長を決定し、第 2 期(～2009 年)の日英共同研究として、4 つのテーマを設定して研究を推進した。さらに、平成 20 年 10 月の第 10 回日英共同研究ワークショップにおいて日英共同研究を延長することの合意を受けて、第 11 回ワークショップにおいて、2009 年から 5 カ年の継続についての合意文書への調印を行い、平成 22 年度から第 3 期目の日英共同研究を実施してきた。

平成 26 年 11 月の第 16 回ワークショップにおいて、日英共同研究を 2015 年からさらに 5 年間継続することに合意し、平成 27 年 4 月に、本事業の継続に関する合意文書に調印した。

2. 第 4 期日英共同研究について

第 4 期の日英共同研究では、第 16 回日英共同ワークショップにおける日英の研究者による議論等を踏まえて、新たに設定した 4 つのコアプロジェクトのもとで調査や研究を推進している。

コアプロジェクト-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

コアプロジェクト-2

内分泌かく乱化学物質のスクリーニングのための各種メカニズムに対応する様々な分子メカニズムの解析並びに試験管内スクリーニングシステムや遺伝子組換え魚類の開発等に関する研究

コアプロジェクト-3

水生生物等に対する生殖や発達に対する影響を理解するための化学物質試験におけるエンドポイントの評価等に関する研究

コアプロジェクト-4

内分泌かく乱化学物質と疑われる物質が個体群に及ぼす影響のシミュレーション並びに英国及び日本における野生生物への環境リスクの解析に関する研究

3. 平成 27 年度の成果について

平成 27 年度は、第 16 回日英共同研究ワークショップでの検討結果等を踏まえて、各コアプロジェクトにおいて、以下に示す内容について調査・研究を実施した（詳細は別添 1 のとおり）。

また、第 17 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札幌市で開催し（平成 27 年 11 月 26 日、27 日）、日英両国の研究担当者による研究成果の発表及び意見交換並びに行政担当者による情報交換等を行った。

コアプロジェクト-1

環境中での医薬品類等の挙動を推定するために光分解や生分解に加えて底質への吸着等を考慮した数理モデルの検討並びに下水処理過程における医薬品類等の挙動及びレポータージーンアッセイ法等を用いた抗エストロゲン活性物質等に関する検討

コアプロジェクト-2

メダカ等の魚類を用いたホルモン受容体の機能及びそれらを介した化学物質の内分泌かく乱作用（悪影響）の発現メカニズム等に関する検討

コアプロジェクト-3

メダカを用いた化学物質の抗アンドロゲン様作用等を評価するための試験における新たなエンドポイントの妥当性及び有効性等に関する検討

コアプロジェクト-4

野生のカエルでの精巣卵発現等の知見の蓄積及び化学物質との関連性並びに海産魚類でのビテロゲニン等のバイオマーカーと化学物質との関連性等に関する検討

4. 平成 28 年度の実施内容について(案)

平成 28 年度は、第 17 回日英共同研究ワークショップでの検討結果等を踏まえて、各コアプロジェクトにおいて、平成 27 年度に引き続き、以下に示す内容について調査・研究を実施する。

また、第 18 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（平成 28 年 10 月 24 日、25 日、英国ウェイマスを予定）を開催し、日英両国の研究担当者による研究成果の発表及び意見交換並びに行政担当者による情報交換等を行う。

コアプロジェクト-1

環境中での医薬品類等の挙動を推定するために光分解、生分解及び底質への吸着等を考慮した数理モデルの検討並びに下水処理過程における医薬品類等の挙動及びレポータージーンアッセイ法等を用いた抗エストロゲン活性等を示す物質に関する検討

コアプロジェクト-2

メダカ等の魚類におけるホルモン受容体の機能及びそれらを介した化学物質の内分泌かく乱作用（悪影響）の発現メカニズム等の検討

コアプロジェクト-3

化学物質の内分泌かく乱作用を評価するためのエンドポイントに対するメダカの種類や系統間の感受性の違い等に関する検討

コアプロジェクト-4

野生のカエルでの精巣卵発現等の知見の蓄積及び化学物質との関連性並びに海産魚類でのビテロゲニン等のバイオマーカーと化学物質との関連性等に関する検討

平成 27 年度日英共同研究の成果について

コアプロジェクト-1

コアプロジェクト-1に関する調査研究では、内分泌かく乱作用が疑われる化学物質及び医薬品類等について下水処理過程や環境中における挙動等に関する調査研究を行い、以下に示す成果を得た。

- 水生生物への毒性が懸念される医薬品（ケトプロフェン）及び光分解産物（3物質）について河川環境中での動態を検討した結果、河川を流下する過程でケトプロフェン濃度は大幅に低下し、一方で光分解産物の濃度が上昇することが明らかとなった。また、覆蓋されていない下水処理場の放流水から光分解産物が有意に検出され、処理場内での太陽光照射により生成していることが示唆された。
- 収着性が高い抗生物質を含む医薬品類（50物質程度）について、河川水と底質間の平衡状態（分配比）を検討した結果、一部の医薬品では、実環境における分配比と実験室で接触後の分配比の差は±10%以内であったが、収着性の高い医薬品類（アジスロマイシン、レボフロキサシン等）では、実験室で接触後の分配比が実環境での分配比を大きく上回っていたことから、河川での流下過程において河川水から底質に移行するポテンシャルが十分にあることが明らかになった。
- 英国テムズ川流域の下水処理場及び河川において医薬品類の調査を行った結果、本川では医薬品類の濃度に地点間で大きな変化はみられなかったが、下水処理水の混入率が高い支川では高い濃度で検出された。また、英国と日本で下水中の医薬品類濃度が大きく異なることが明らかとなり、主な要因として使用量の差異が示唆された。
- 下水処理水中に含まれる PRTR 制度の第一種指定化学物質を対象に既存情報に基づくスクリーニング評価を実施し、選定された物質のうち5物質について、実河川での調査を実施した。それらを基に生態リスク初期評価を試みたところ、詳細なリスク評価を行う必要がある化学物質が明らかになった。
- 初沈越流水の高度処理によるエストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用の除去特性を検討した結果、生物処理を経ない下水を直接 UF 膜ろ過した場合にもエストロゲン様作用の低減が期待できること、RO 膜ろ過ではエストロゲン様作用を除去できること、NF 膜ろ過では一部のエストロゲン様物質が除去できることが示唆された。
- TGF α shedding アッセイを河川水に適用した結果、下水処理場放流水の影響を受けた河川下流域においてアンジオテンシン（AT1）、ドーパミン（D2）、ムスカリン性アセチルコリン（M1）及びヒスタミン（H1）受容体に対するアンタゴニスト活性が検出された。

コアプロジェクト-2

コアプロジェクト-2に関する調査研究では、化学物質の内分泌かく乱作用を把握するための分子生物学的アプローチによる影響評価に関する調査研究を行い、以下に示す成果を得た。

- ポリプテルス、アロワナ及びウナギのエストロゲン受容体について、種々の化学物質に対する反応性を解析した結果、ポリプテルスの ESR2 及びウナギの ESR2a は、ビスフェノールA、4-ノニルフェノール及び *o,p'*-DDT に対する反応性が著しく低いのに対して、アロワナの ESR2b 及びウナギの ESR2b は、17 β エストラジオールの最大転写活性化能と同等の転写活性化能を示したことから、このような性質が魚類一般に保存されていることが示唆された。
- エストロゲン受容体をノックアウトしたメダカの開発に向けて、遺伝子編集に必要なコンストラクトの設計及び受精卵へのマイクロインジェクションを行い、ESR1 に関して変異体のヘテロ個体、ESR2a 及び ESR2b に関して F0 モザイク個体を作製した。
- メダカのアンドロゲン受容体のサブタイプ (AR α 、AR β) について解析し、AR α における AR β よりも高い最大転写活性化能に寄与するアミノ酸 (AR α : 643 番目のチロシン、AR β : 702 番目のフェニルアラニン) を同定した。

コアプロジェクト-3

コアプロジェクト-3に関する調査研究では、化学物質の内分泌かく乱作用を評価あるいは推定するための試験法に関する調査研究を行い、以下に示す成果を得た。

- 二次性徴が発現していないメダカの遺伝的雄個体を 17 β エストラジオールでばく露した結果、尻びれ軟条先端の分枝は有意に促進された。また、これらの個体の生殖腺体指数 (GSI) は対照群と同程度で、生殖腺の卵巣への変化は観察されなかったことから、メダカでは尻びれ軟条先端の分枝形成には、女性ホルモンが直接的に関与し、かつ重要であることが示唆された。
- 幼若期のメダカの遺伝的雌個体をメチルテストステロンでばく露した結果、尻びれ軟条先端の分枝は完全に抑制された。また、これらの個体の卵巣は、卵黄がほとんど蓄積されていない未熟な状態であったことから、内因性の女性ホルモンの合成や分泌量の低下、男性ホルモン (メチルテストステロン) の効果あるいは両者のバランスが尻びれ軟条先端の分枝抑制の原因と推察された。
- 性分化期を含む受精直後から4週間の 17 β エストラジオール (500ppt 又は 100ppt) にばく露した遺伝的雄個体について尻びれ軟条先端の分枝、乳頭状突起の形成状態を調べた結果、尻びれ軟条先端の分枝形成は、遺伝的性とは関係なく、女性ホルモンレベルあ

るいは女性ホルモンと男性ホルモンのバランス（相対比）に支配されていることが示唆された。

コアプロジェクト-4

コアプロジェクト-4に関する調査研究では、野生生物における個体群レベルでの影響等に関する調査研究を行い、以下に示す成果を得た。

- 野生のトノサマガエルを対象とした精巣卵の発現状況等に関する調査した結果、新潟県北部地域の個体群では精巣卵を有する個体の出現頻度は最近6年間ほぼ同様であった。また、富山県西部地域の個体群では、精巣卵を発現している個体が高い割合で存在し、少数ではあるが10個以上の精巣卵がみられる個体など、新潟県北部地域と同様の状況にあることが示唆された。
- 新潟県北部地域の水田から採集した受精後1日の卵塊を飼育し、変態時の生殖腺を調べた結果、すべてが卵巢組織を持っていたことから、採集地域に遺伝的XX型の性転換雄個体が存在することが示唆された。
- 野生で採集された雌雄同体现象を示す個体について、生殖腺分化パターンを比較検討した結果、卵精巣を有する個体では、卵巢への分化が開始した後、環境要因によって精巣への分化転換が誘導された可能性が示唆された。
- 沿岸海域での調査対象生物としたマハゼについて、17 β エストラジオール（E2）によるばく露実験を行い、ビテロゲニン（VTG）誘導に対する影響を調べた結果、雌雄に関係なく、10ng/LのE2ばく露によって血中VTG濃度及び肝臓でのVTG遺伝子のmRNAの発現が高まることがわかった。
- 2012年から2014にかけて東京及び長崎の沿岸域で採捕したマハゼで計測された血中VTG濃度及びE2濃度をばく露実験の結果と比較検証した結果、一部の水域で採捕されたマハゼには正常値と推察されるVTGを示す個体が存在することが示唆された。
- マハゼの採捕調査を実施した水域にある下水処理場の放流水について、エストロゲン活性の測定及びメダカを用いたばく露実験を行った結果、放流水にはVTGが誘導されると推定される程度のエストロゲン活性を有していたが、ばく露したメダカではVTG遺伝子の明確な誘導（mRNAの発現）はみられず、放流水中の化学物質等の季節変動も考慮した継続的（長期的）なばく露実験等による検討の必要性が示唆された。

第 17 回日英共同研究ワークショップの結果について

1. 開催概要

第 17 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同ワークショップ (The 17th UK-Japan annual scientific workshop on research into environmental endocrine disrupting chemicals) は、下記のとおり開催された。

日時： 平成 27 年 11 月 26 日 (木)、27 日 (金)

場所： 札幌市札幌グランドホテル

出席者： 日本ー井口泰泉 (研究統括者、自然科学研究機構)、田中宏明 (京都大学)、山崎邦彦 (環境省)、他 (計 16 名)
英国ーアンドリュー・ジョンソン (生態水文センター)、マイク・ロバーツ (環境・食料・農村地域省)、他 (計 5 名)

2. 結果概要

第 17 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同ワークショップでの報告及び協議事項等は下記のとおりであった。

(1) 日英共同研究におけるこれまでの研究成果及び今後の計画について

両国の研究担当者より、これまでの研究成果についての発表が行われた。また、それらを踏まえて、今後の研究の方向性についての議論が行われた。

(2) 行政担当者等による情報交換等について

化学物質の内分泌かく乱作用に関する取組状況について、日本及び英国の担当者より説明を行い、意見交換が行われた。また、今後も引き続き緊密に情報共有を行うことが確認された。

(3) 日英共同研究ワークショップについて

第 18 回日英共同研究ワークショップは、平成 28 年に英国で開催することが合意された。