

## 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 28 年度の成果について

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、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 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を平成 28 年 10 月 24 日、25 日に英国ウェイマス（Cefas Weymouth Laboratory）で開催し、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の光分解・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レポータージーンアッセイ法等を用いた下水処理過程における医薬品類等の挙動及び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

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

### 4. 平成 29 年度の実施内容について(案)

平成 29 年度は、第 18 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 28 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 19 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日本で開催し（期日及び場所は未定）、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の数理モデルの実河川への適用性等並びに下水処理過程及びレポータージーンアッセイ法等を用いた河川内等における医薬品類等の挙動（消長機構、医薬品類由来の生理活性の把握等）に関する検討

#### コアプロジェクト-2

遺伝子改変メダカ等の開発及びそれらを用いた分子、細胞、組織レベルでの内分泌かく乱作用の発現メカニズム等に関する検討

#### コアプロジェクト-3

化学物質の内分泌かく乱作用の試験に用いるメダカ等の試験生物種の供試における課題等に関する検討

#### コアプロジェクト-4

野生のカエルや沿岸海産魚等における精巣卵発現等の知見の蓄積及びそれらの化学物質等との関連性に関する検討

## 平成 28 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。

- 水環境から検出される医薬品の一つである ketoprofen (KTP) 及びその光分解産物を対象として室内実験及び現地調査を行った。KTP の主要な光分解産物は 3-ethylbenzophenone (EBP) であり、EBP は太陽光に対して比較的安定であることが明らかとなった。また、現地調査の結果から、実河川でも、日中は流下過程で KTP が減衰し EBP が生成されていることが示唆され、過年度までに構築した推理モデルを適用することで河川中の EBP 濃度を高精度で予測できることが示唆された。
- 水環境から検出される医薬品類 (10 物質) を対象として異なる河川における減衰速度係数を推定した。数種の医薬品類に関して、河川間で減衰速度係数が異なることが示唆され、その要因として底質や水深など河川状況の違いが考えられた。
- 英国のテムズ川流域を対象に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法によりエストロゲン様作用の強さを調査した。テムズ川の本川及び支川から採取した試料 (河川水) のエストロゲン様作用は、雄メダカに vitellogenin を誘導させるほどのレベルではないことが示唆された。
- G protein coupled receptor (GPCR) に作用する医薬品の生理活性を検出できる Transforming growth factor- $\alpha$  (TGF $\alpha$ ) shedding assay を実河川水に適用した。下水処理場放流水の影響を受けた河川下流域で採取した試料では、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、それらの医薬品当量値は数十 ng/L (M1 受容体) ~ 数千 ng/L (AT1, H1 受容体) と推定された。

### 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。

- メダカの核内受容体スーパーファミリー（69種）について、ヒトの核内受容体と対比可能な形式でゲノム、遺伝子、タンパク情報を整理した。
- メダカの G タンパク連結型膜エストロゲン受容体である olGper1 及び olGper1-like をクローニングし、基本的な性質を調べた。Gper1 は、エストロゲンあるいはエストロゲン様の化学物質によって活性化され、細胞内では MAPK のシグナル伝達を活性化させることが明らかとなった。
- メダカでエストロゲン受容体 ESR1 のノックアウト系を確立した。作成した ESR1 ノックアウトメダカでは、マウスと異なり、生殖に顕著な表現型は現れなかった。

### 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。

- 2012年に別種に分類されたミナミメダカとキタノメダカについて、エストラジオール（E2）による1週間の暴露を行い、雄個体における肝臓ビテロゲニン濃度（VTG）を比較した。両種でVTGを有意に増加させたE2濃度は50ng/Lと同等であったが、低濃度のE2で暴露された場合のVTGの傾向（増加）には若干の違いがある可能性が示唆された。
- 内分泌かく乱作用に対する感受性の差異を両種間で正確に比較することは難しいと考えられ、試験生物として両種を併用するよりも、いずれか1種に限定して試験等に用いることが妥当と考えられたが、交雑種の存在や両種を確実に判別できる方法の構築などが今後の課題とな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。新潟県北部地域の個体群から採取した個体における精巣卵を有する個体の頻度等は過去6年間の調査結果とほぼ同様であったが調査域で採集した卵塊から発生した個体の性比などから、少数ではあるが性転換した雄個体（XX雄）が存在する可能性が示唆された。
- トノサマガエルを含めた無尾両生類に関して幼生期の化学物質による影響を高解像度に評価できるツールを探索した。精巣分化過程に特異的な精細管原基と精巣内輸尿管原基形成に関連する inhibin beta B が有用な分子マーカーになることが明らかとなった。

- 日本及び海外における野生のカエル種での精巣卵発現あるいは雌雄同体現象が報告された既存文献を収集し、その内容を整理（アーカイブ化）した。
- 沿岸域に生息する海産魚におけるエストロゲン物質の影響に関する既存文献をビテロゲン誘導、精巣卵発現及び行動の視点から収集し、その内容を整理した。
- 沿岸海域での調査対象生物であるボラについて、卵膜構成タンパク質の **ZPC5** 遺伝子を解析し、全塩基配列を決定した。沿岸域で捕獲したボラを試料として **ZPC5** 遺伝子の発現を確認した結果、雌の全個体で強い発現がみられ、雄でも一部に発現がみられたことから、この遺伝子がボラに対するエストロゲン作用の影響を検出するバイオマーカーとして利用できることが示唆された。

## 第 18 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 18 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 18th 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 28 年 10 月 24 日 (月)、25 日 (火)

場所： 英国ウェイマス (環境・漁業・水産養殖科学センター (Cefas) Weymouth Laboratory)

出席者： 日本ー井口泰泉 (研究統括者、横浜市立大学)、田中宏明 (京都大学)、山崎邦彦 (環境省)、他 (計 17 名)

英国ーイオアナ・カチアダキ (環境・漁業・水産養殖科学センター)、アンドリュー・ジョンソン (生態水文センター)、ケイ・ウィリアムズ (環境・食料・農村地域省)、他 (計 20 名)

### 2. 結果概要

第 18 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、各コアプロジェクトに関する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) 日英両国の研究者及び行政担当者等による情報交換等について

内分泌かく乱作用を含む化学物質の生態影響等に関する取組状況について、日本及び英国の参加者による報告及び意見交換等が行われた。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 19 回日英共同研究ワークショップは、平成 29 年に日本で開催することが合意された。