

The case studies

- 1) 17β -trenbolone – a growth-promoting synthetic androgen used in intensive livestock farming
- Can cause *e.g.* masculinisation of female fish



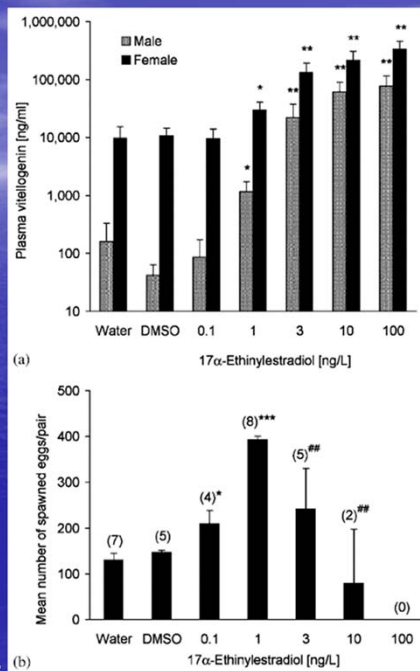
さて、ケーススタディですが、まず最初の化学物質として我々が検討したのが 17β -トレンボロン、バーグマン先生からもお話がありましたが、成長促成作用の合成アンドロゲンでありまして、集落的酪農業にて使用されているものであります。ヨーロッパでは使われていないと思いますが、米国では使われています。非常に強力な合成アンドロゲンです。

ほかにも様々な作用がありますが、雌の魚の雄性化を引き起こす可能性があります。ファッドヘッドミノーで雄のように見えますけれども、吻のところの特徴というのは、これは内因性のアンドロゲンにさらされることによって出るものですが、トレンボロンのような物質があることによって雌でもこのような作用をもたらす可能性があります。つまり二次性の雄の特徴が雌にみられるということで、完全に十分な高用量であれば性が逆転したという、このような作用をこの化学物質が示すことが観察されました。

The case studies

- 2) 17 α -ethynylestradiol – a synthetic estrogen present in sewage
- Can cause *e.g.* feminisation and yolk production in male fish and impaired reproductive output

Jobling *et al.* (2004). *Aquat. Toxicol.* 66, 207-222.



もう一つは、17 α -エチニルエストラジオールであります。非常に広範に使われている。これは避妊ピルで使われていて、下水に非常に多くある。これが河川にも流れていて、御存じだと思いますが、多くの研究がこの化学物質については長年の間に行われてきました。そして様々な作用を生むものであります。これは雄の魚の雌化と卵黄産生、繁殖不全を引き起こす可能性があります。

このデータ(右のグラフ)は、イギリスの研究者が出したものですが、上の図が示しているのは、ビテロゲニン、卵黄の前駆体であります。これが雄と雌で示したものであります。色の濃い方が雌になりますが、両方の性ととも濃度が上がれば上がるほど卵黄蛋白の濃度も上がっています。

そしてもう一つ興味深いのは下の方の曲線だと思えますが、卵の産生、これは全く同じ実験で見えています。御覧のように興味深い事例として見られる現象、先ほどバーグマン先生からも話しましたが、用量依存性が単調ではないということです。用量を増やせばそのまま上がり続けるというものではない。低用量でエチニルエストラジオールが上がっていきませんが、これは濃度が1ngぐらいに上がったところまでであります。しかし、その後、濃度を上げていっても卵の産生というのはコントロールのレベルまで下がっていて、その後はそれ以下に下がっていくということで、完全に繁殖ができなくなっています。高用量になると全く卵は産生させないということ、これがこの化学物質がもたらす作用であって、単調ではありません。

The case studies

- 3) Perchlorate – an anti-thyroid oxidising agent used in solid rocket fuels
- Can block iodine uptake by the thyroid, and thus cause reduced production of thyroid hormone, leading to delayed or failed metamorphosis in amphibians and fish

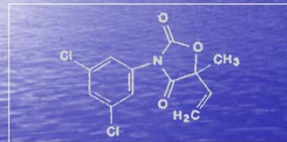


3番目はパークロレートになります。この化学物質はあまり知られていないかもしれませんが、非常に強い酸化剤でありまして、抗甲状腺ホルモン様作用を持ちます。甲状腺はみなかったと言いましたけれども、ここでは甲状腺をみています。強酸化剤として固体ロケット燃料成分として使用されています。

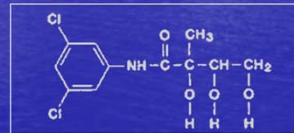
どのようにこれが作用するかというと、ヨウ素の取り込みを遮断するものであって、その結果として甲状腺ホルモン産生が低下し、アフリカツメガエルや魚の変態が遅延あるいは不全に至るということでもあります。

The case studies

- 4) Vinclozolin – an anti-androgenic fungicide
- Can cause decreased fecundity in female fish, and decreased testis size and testosterone production in males



Vinclozolin



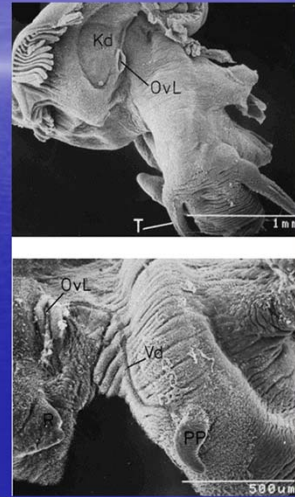
Metabolite M2 – the active anti-androgen

4つ目はビンクロゾリンですが、これは抗アンドロゲン様作用のある殺菌剤の一種です。抗アンドロゲン様作用の抗真菌剤であります。そして産卵数の低下、精巣サイズあるいはテストステロン産生の低下を引き起こす可能性があります、ほかにも様々な作用があります。

ここで興味深い点としては、問題なのは、親化合物ではなく、代謝産物M2が問題だということです。親ではないと。化合物の中には親化合物は全く問題ないけれども、代謝されたことによって大きな問題を引き起こすものもあるということがこの事例であります。

The case studies

- 5) Tributyltin – an antifouling paint ingredient (now banned) acting (*inter alia*) via the retinoid X receptor
- Caused *e.g.* masculinisation in female molluscs and collapse of marine invertebrate communities



Imposex in mudsnail - CREDO website
<http://www.credocluster.info/images/imposex>

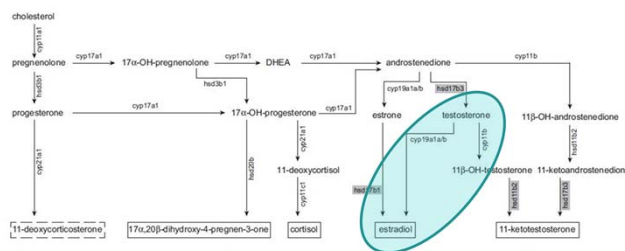
5つ目はトリブチルスズ。私の好きな化学物質の一つですが、現在は幸いなことに禁止されています。防汚剤塗料であります。レチノイドX受容体経由で作用するものでありまして、まだ今も研究は進んでいます。既に禁止された化学物質ではありますが、おそらく作用機構は複数あると考えられる。ただ、おそらくは重要なのがレチノイドX受容体経由であると考えられています。

そして、雌の軟体動物の雄性化を引き起こしていますし、また、海洋の無脊椎動物群集全体を崩壊させる可能性があるということで、世界的に大きな影響をもたらすものがあります。数百の無脊椎動物が影響を受けているということがわかっていますが、2008年にやっと世界で船体に使われないようにと禁止されて、それから回復が期待されます。

どのような作用かということ、走査電子顕微鏡で見っていますが、上が正常のマッドスネイルです。下がこれも雌のマッドスネイルになります。解剖学的に同じ部位を見ますが、御覧のようにこの卵管が遮断されています。そして雌であるにもかかわらずペニスができている。これがトリブチルスズがもたらした作用です。ほかにも様々な環境への作用があります。

The case studies

- 6) Propiconazole – a steroidogenesis-blocking fungicide used in agriculture
- Inhibits aromatase, leading to unbalanced E/T ratios and resulting masculinisation



After Tokarz *et al.*,
2013

6つ目がプロピコナゾールで、アゾール系の抗真菌薬です。副作用としてステロイドの産生を遮断します。これが脊椎動物に作用するわけですから、真菌にだけ効くわけではありません。

何をするかというと、これはアロマトラーゼという酵素を阻害して、これがテストステロンのエストラジオールへの変換を阻害する。

代謝模式図を見てみますと、この上のところから始まりますが、まずコレステロールが入ってきて、これが様々なステロイドホルモンを産生しますが、テストステロンがここにあります。これがエストラジオールに変換しますが、ここで働く鍵となる酵素がここです。これがアロマトラーゼです。プロピコナゾールが何をするかというと、この酵素を阻害することによってテストステロンのレベルがどんどん上がって行って、エストラジオールが減る。その結果として様々な有害な作用が引き起こされることは御想像のとおりです。

The cross-cutting issues i.e. common problems

- Difficulty in assigning endocrine-specific modes of action *e.g.* how to distinguish endocrine from systemic effects?
- Uncertainty in interpretation of biological responses *e.g.* has the most sensitive life-stage been tested and will delayed effects be detected?
- Methods for assessing endocrine-active substances *e.g.* how to minimise testing costs by the most efficient use of screening data?
- Population-relevant endpoints *e.g.* what are the most appropriate endpoints to allow prediction of impacts on populations?

では何が問題か。我々、解釈上の問題があって、それをワークショップで検討したわけですが、ほかにもいろいろありましたが、鍵となるのはここに挙げられているものであります。

まず第1に、内分泌系特異的な作用機構を特定することは難しい。これは内分泌系なのか、それとも全身の影響なのか、どのようにこれを区別するのかということが問題であります。ある毒性があっても、これは内分泌系に影響している、全身影響があるものを内分泌系に広がっていくことはわかりますが、直接内分泌系にのみ効くものをどのように明らかにするのかということが問題です。

それから生物学的な応答の解釈が重要。また、遅発性影響をどのようにみていくのか、どのように検出するのか。

3番目、これは様々な方法論に基づいた疑問が出てきますが、まずは何が最も費用対効果が高く化学物質の試験を行うことができるか。膨大な費用を出さずにどのように試験をすることができるかということ。

そして、これが一番重要な問題である、個体群に対する影響をどのようにみるかということになります。つまり、ヒトを守ろうとしているときに、個々のヒトを害から守っていかなければなりません。野生生物になると考え方が違います。幾つかの非常に大きなクジラであるとか、例えばトラでもいいのですが、非常に大きな動物以外は環境中の個体集団というレベルで考えます。つまり、ある集団を守ることができれば、その集団の中の個体はひょっとすると有害な作用を受けるかもしれないけれども、集団全体が守られればいいという考え方です。実験室での試験を行うことで、個体から集団全体にどのようにつなげていくかということも明らかにしなければなりません。つまり多くの問題があるわけですが。