

## 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

### 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 3 期日英共同研究について

第 3 期の日英共同研究では、第 11 回日英共同ワークショップにおいて、日英の研究者によって議論を行い、新たに設定した以下の 4 つの枠組み(コアプロジェクト)のもとで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

#### コアプロジェクト-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

#### コアプロジェクト-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. 平成 26 年度の成果について

平成 26 年度は、平成 24 年度に開催した第 15 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、下記のとおり、各コアプロジェクトにおいて、内分泌かく乱作用を持つ化学物質等の野生生物に及ぼす悪影響や個体群レベルでの影響(環境リスク)の解析・評価に繋がる調査研究を実施した(詳細は別添 1 のとおり)。

また、第 16 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開催し(平成 26 年 11 月、英国バース市)、日英両国の研究担当者による研究成果の発表、意見交換及び今後の研究計画の検討等並びに行政担当者による情報交換等を行った(詳細は別添 2 のとおり)。

#### コアプロジェクト-1

環境中での光分解、生分解及び吸着メカニズムを考慮した数理モデルの検証、並びに下水処理水等に含まれるエストロゲン又は抗エストロゲン様作用を示す物質の特定に向けた検討

#### コアプロジェクト-2

各種魚類でのエストロゲン様物質に対する感受性の差異などホルモン受容体とリガンドの相互作用の解明に向けた検討及び各種受容体を用いたレポータージーン試験法の確立等に向けた検討

#### コアプロジェクト-3

メダカでの鰭の形状による抗アンドロゲン様作用の検出など、化学物質の内分泌かく乱作用の検出に有効な新たなエンドポイント及び試験法等の検討

#### 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それらの化学物質との関連性についての検討、並びに海産の魚類及び貝類での各種バイオマーカーに関する調査研究及びそれらの化学物質との関連性についての検討

### 4. 平成 27 年度の実施内容について(案)

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、以下に示す内分泌かく乱作用を持つ化学物質等の野生生物に及ぼす悪影響や個体群レベルでの影響(環境リスク)の解析・評価に繋がる調査研究を実施す

る。

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(平成 27 年 11 月頃、札幌市を予定)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

内分泌かく乱作用が疑われる化学物質及び医薬品類等の下水処理過程及び環境中での挙動等に関する検討

#### コアプロジェクト-2

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(ホルモン受容体の機能や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(抗アンドロゲン作用等)を評価・推定するためのメダカを用いる試験法に関する検討

#### コアプロジェクト-4

野生生物における個体群レベルでの影響等(野生のカエルでの精巣卵発現や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 26 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、環境中での光分解、生分解及び吸着メカニズムを考慮した数理モデルの検証、並びに下水処理水等に含まれるエストロゲン又は抗エストロゲン様作用を示す物質の特定に向けた検討を行い、以下に示す成果を得た。

- 河川の底質に含有される医薬品類の分析手法を構築した。実河川での調査を行い、医薬品類 27 物質について河川水と底質の分配比を検討した。
- 英国テムズ川流域の河川と下水処理場を対象とした調査を行った。医薬品類 53 物質について、河川の流域における存在、流下過程での減衰及び下水処理場での除去性の実態を検討した。
- 市場流通量が多く、下水中からの検出濃度が高い医薬品類のうち水生生物に対する高い生態リスクの可能性が指摘されている物質を対象として、活性汚泥処理実験装置を用いて試験を実施し、下水処理過程での挙動や固液分配係数などの物質特性との関連性を検討した。
- 高度処理による下水中のエストロゲン様作用及び抗エストロゲン作用の除去特性、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- (TGF ) shedding assay の下水試料への適用性を検討した。

### 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、メダカのひれの形状による抗アンドロゲン様作用の検出など、化学物質の内分泌かく乱作用の検出に有効な新たなエンドポイント及び試験法等に関する検討を行い、以下に示す成果を得た。

- 雌のメダカにおける尻びれ鰭条先端の分岐と体サイズとの関連を検討した。先端分岐は全長が 23 ~ 24mm を超えると発生すること、先端分岐は主に第 8 ~ 11 節板において主に発生すること、先端分岐は尻びれ後方から前方にかけて順に発生していくことが明らかとなった。
- 雄のメダカの二次性徴形質である乳頭状小突起形成と体サイズの関連を検討した。乳頭状小突起の形成は全長が 20 ~ 21mm を超える個体で認められ、体サイズの伸長(精巣発達)との強い相関性が示唆された。

### 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、各種魚類でのエストロゲン様物質に対する感受

性の差異などホルモン受容体とリガンドの相互作用の解明に向けた検討及び各種受容体を用いたレポータージーン試験法の確立等に向けた検討を行い、以下に示す成果を得た。

- 魚類のエストロゲン受容体について、化学物質に対する転写活性のサブタイプ間で差異が生じるメカニズムをメダカのエストロゲン受容体（ESR1、ESR2a、ESR2b）をモデルとして、*in silico* 及び *in vitro* の実験系を用いて検討した。化学物質応答性は、ESR1 ではリガンド結合ドメインに依存し、ESR2a、ESR2b では、リガンド結合ドメインだけでなく、他の領域も転写活性化に影響することが示唆された。
- 哺乳類細胞で魚類エストロゲン受容体の応答性を評価するレポータージーンアッセイ系の妥当性を検討した。魚類 ESR1 では化学物質に対する応答性がリガンド結合ドメインに依存するため、哺乳類培養細胞を用いたアッセイ系でも得られた結果は信頼できることが示唆された。
- ポリプテルス、アロワナ、ウナギの各魚類からエストロゲン受容体を単離同定し、これらが E2 に応答する機能的なエストロゲン受容体であることを確認した。

#### 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、野生のカエルでの精巣卵発現等の知見の蓄積及びそれらの化学物質との関連性についての検討、並びに海産の魚介類の各種バイオマーカーに関する調査研究及びそれらの化学物質との関連性についての検討を行い、以下に示す成果を得た。

- これまでに精巣卵を有する個体が高率で見られることが報告されている野生のトノサマガエル集団について調査した。精巣卵を有する個体の出現頻度は、2010～2013年度と同様であったが、これまでに報告がない雌雄同体のカエルが見つかった。
- 1970年代に採集された野生のトノサマガエル集団について、精巣組織の発達、精子形成の進行、精巣卵の形成を調べ、2010～2014年度に採集された個体と比較検討した。両年代では、トノサマガエルの幼生期における環境要因の影響の質が異なる可能性が示唆された。
- 性成熟過程にあるトノサマガエルに種々の濃度の estradiol-17 $\beta$  を投与し、精巣組織及び配偶子形成への影響を検討した。エストロゲン投与は、精子形成開始期のカエルでは精巣卵の形成を誘導できるが、精母細胞移行期になると明瞭な効果を示さないことが示唆された。
- 野生のトノサマガエル集団に関する調査を行った地域における農薬の使用状況について文献調査を行った。使用報告がある農薬に明確なエストロゲン活性を示すものはなかった。
- 沿岸海域の下水処理場周辺で捕獲したボラを対象として血中 VTG 濃度、VTG mRNA 発現量及び精巣卵の有無を調査した。環境中のエストロゲン物質の影響は認められるものの、その程度は減少する傾向にあることが示唆された。

- 下水処理場の放流原水で飼育した雄のマハゼの血中 VTG 濃度及び VTG mRNA から、下水処理場の放流原水に VTG を誘導できる程度のエストロゲン物質が含まれていることが示唆された。
- ムラサキイガイを用いてエストラジオールによる暴露試験を実施した。ムラサキイガイはエストラジオールを速やかに取り込み、エストラジオールに対する ER mRNA の発現応答は ER1 では認められるが ER2 では認められなかった。

## 第 16 回日英共同研究ワークショップについて

### 1．開催概要

第16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 16th 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 26 年 11 月 27 日 (木) 28 日 (金)

場所： 英国バース市 Macdonald Bath Spa Hotel

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)、山崎邦彦(環境省)ほか(16 名)

英国 - トム ハッチンソン(研究統括者、プリマス大学)、デビット・ウィリアム(環境・食料・農村地域省)、マイク・ロバーツ(同)ほか(24 名)

### 2．結果概要

第16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。

- 日英両国の研究統括責任者より、日英共同研究の背景と取組の趣旨等についての説明がなされ、共同研究の枠組みについて総括的な意見交換が行われた。
- 共同研究の 4 つの枠組み (コアプロジェクト - 1 ~ 4) について、日英両国の研究担当者より、これまでの研究成果等についての報告が行われた。
- 化学物質の内分泌かく乱作用に関連する日本及び英国の取組状況、豪州における関連研究の動向等が紹介された。
- 本共同研究を 2015 年から 5 年間延長することについて、日英の行政担当者間で合意した。
- 今後の研究計画について、日英両国の研究担当者による議論 (グループ討議) が行われ、コアプロジェクトごとに報告がなされた。また、全参加者による質疑応答及び意見交換が行われた。
- 次回のワークショップは、平成 27 年に日本で開催されることが合意された。