

## 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究及び 野生生物の生物学的知見研究について(案)

### 1. 背景

EXTEND2010 では、研究課題を公募し、有識者により構成される「化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究企画評価検討部会」及び「野生生物の生物学的知見研究検討部会」により課題の採択及び研究成果の評価を行ってきた。

一方で、より行政施策への活用に適した研究成果を得ることができるよう、

- ・環境リスク評価の進展に寄与し得る研究課題を優先的に選定する
- ・必要に応じて「指定研究」の形で課題を設定する

等の見直しを行うとともに、その成果については公開セミナー等を通じて公表してきた。

EXTEND2016 の下では、研究課題の新規採択は行っていないが、EXTEND2010 の下で着手された研究の評価を行ってきている。

### 2. 平成 30 度の実施状況

平成 29 年度に実施した化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究(基盤) 1 課題及び野生生物の生物学的知見研究(野生) 1 課題の合計 2 課題について、その研究成果について、EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究企画評価検討部会及びEXTEND2016 野生生物の生物学的知見研究検討部会により開催した評価会(平成 30 年 3 月 1 日開催、非公開)において評価を行った。

その結果として、本年度は表 1 に示した 2 課題を継続して実施することとした(各代表研究者が作成した研究概要及び研究計画については別紙参照)。

なお、本年度採択した 2 研究課題については、本年度が最終実施年度となる。

表1 平成30年度に実施する研究課題一覧

(敬称略)

区分 番号	代表研究者 所属	研究課題名	実施期間
化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究			
基盤1	宮川信一 和歌山県立医科大学	魚類の代謝に関わる内分泌かく乱の <i>in vitro</i> 評価系構築	H27～H30
野生生物の生物学的知見研究			
野生1	国末達也 愛媛大学	座礁・漂着鯨類における新規 POPs および POPs 代替物質の蓄積特性とリスク評価に関する研究	H27～H30

平成 30 年度

EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する

基盤的研究企画評価検討部会委員名簿

(敬称略)

氏 名	所属・役職
井口泰泉	横浜市立大学 特任教授
小山次朗	鹿児島大学 名誉教授
遠山千春	筑波大学 客員教授
永沼章	東北大学 名誉教授
内海 透 (新任)	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 研究グループ(生体科学) グループマネージャー

平成30年度

EXTEND2016 野生生物の生物学的知見研究検討部会委員名簿

(敬称略)

氏 名	所属・役職
門上希和夫	北九州市立大学 環境技術研究所 特命教授
川合眞一郎	甲子園大学 甲子園大学栄養学部フードデザイン学科 特任教授
田辺信介	愛媛大学 特別栄誉教授／名誉教授
椿宜高	京都大学 名誉教授

(別紙)

## 平成 30 年度 EXTEND2010 化学物質の内分泌かく乱作用に関する基盤的研究等の 研究計画及び研究結果概要

### 基盤 1 : 魚類の代謝に関わる内分泌かく乱の *in vitro* 評価系構築

研究者 : 東京理科大学 : 宮川信一(代表研究者)

1. 研究概要 : 医薬品類や生活日用品等に含まれる化学物質の曝露により引き起こされる、内分泌系や核内受容体を介して発現すると予想される様々な影響に対処する必要がある。日本の代表的な環境指標動物であるメダカをモデルとして、Obesogen 問題で注目されている代謝に関わる内分泌かく乱の生体影響について、核内受容体である PPAR $\gamma$  と RXR に注目しながら、作用メカニズムの解明と評価系を構築することを目的とする。本研究は、多様な作用経路を有すると推測される様々な化学物質の内分泌かく乱作用を評価していくためのモデルケースとなるものであり、魚類に対する新たな内分泌かく乱作用のエンドポイントの策定と短期間で影響予測できるスクリーニング系の開発を目指す。

2. 研究計画 : 本研究では、日本の環境指標動物であるメダカ (*Oryzias latipes*) において、その知見がほとんどない、Obesogen による内分泌かく乱影響の可能性を探索し、その知見を集積する。我々は、稚魚期に TBT を曝露したメダカの成体において、肝臓においてエネルギー代謝(特に糖代謝)に関わる遺伝子が長期的に変動していることを発見した。この現象は、Obesogen 曝露による長期的な悪影響としては世界で初めての作用として見出されたものであり(未発表データ)、研究が先行している他の動物でも全く報告されていない。この実験系では、TBT 濃度を 1 nM 以下として設定している。これは、上記の TBT に関する毒性試験の報告書(トリブチルスズ(TBT)が魚類に与える内分泌かく乱作用の試験結果に関する報告書)でも毒性影響はほぼないと考えられる濃度である(本研究は毒性影響を誘導してその表現型を解析するものではなく、TBT をはじめとする Obesogen 候補物質によって表現型がでるかどうかも解析の目的としている)。平成 30 年度は、この実験系を利用し、遺伝子発現変化だけでなく、実際に体内のグルコース濃度などの生体レベルでの影響解析をおこなう。また、現在多くの内分泌かく乱化学物質の問題で継世代影響が話題となっている。エネルギー代謝に関わる遺伝子発現変動が世代を超えて顕れることにより、個体のみならず、動物集団への健康影響が懸念される。そこで、メダカに対する Obesogen 作用においても継世代影響がみられるかどうかを解析する。さらに、我々は、稚魚に Obesogen を曝露し、Oil red O 染色することで、メダカに対する Obesogen 活性をもつ化学物質をスクリーニングする系を開発した。このアッセイ系を応用し、脂質の蓄積を定量的に解析する手法を開発することで、メダカの稚魚に対する、化学物質の Obesogen 活性測定のための評価系構築の完成を目指す。

以上の実験結果をまとめ、その成果を論文として取りまとめる。

## 野生 1：座礁・漂着鯨類における新規 POPs および POPs 代替物質の蓄積特性とリスク評価に関する研究

研究者：愛媛大学：国末達也(代表研究者)、Nguyen Minh Tue、国立環境研究所：磯部友彦、国立科学博物館：田島木綿子

1. 研究概要：本研究では日本沿岸に座礁・漂着した鯨類を対象に、1) POPs 代替物質の分析法開発、2) 新規 POPs および POPs 代替物質による汚染実態と蓄積特性の解明、3) 保存試料を用いた既存 POPs、新規 POPs、POPs 代替物質の蓄積プロファイルの過去復元、4) 鯨類体内に蓄積する未知化学物質の探索と *in vitro* バイオアッセイ法を用いた活性評価、の課題に挑戦し、個体数減少の一要因となり得る内分泌かく乱化学物質のリスク評価を試みる。

平成 27 年度は、北海道沿岸に座礁したイシイルカとネズミイルカを対象に新規 POPs (PBDEs および HBCDs) の研究を展開した結果、沖合まで回遊するイシイルカの蓄積濃度は沿岸性の強いネズミイルカより高値を示したことに加え、生物環境試料バンク(*es*-BANK)の保存試料の分析から 1980 年以降明らかに濃度上昇していたことが判明した。また平成 28 年度に、北海道沿岸に漂着したナガスクジラ、ザトウクジラ、ミンククジラの脂皮からも PBDEs および HBCDs が検出され、ヒゲクジラに対する新規 POPs の曝露が明らかとなった。さらに、2015 年に集団座礁したカズハゴンドウと *es*-BANK 保存試料の分析から、イシイルカと同様に、近年における HBCDs の濃度上昇が確認された。平成 29 年度は、上記のクジラ 3 種を対象に、PCBs および PBDEs の主要異性体における経年変化を解析した結果、外洋性 2 種の PCB 異性体濃度は 2000 年以降低減していなかったことに加え、BDE154 はすべての種で定常状態もしくは濃度上昇を示した。また、沿岸性種であるスナメリの肝臓から初めて、代替難燃剤であるリン酸エステル系難燃剤(PFRs)を検出し、脂皮中に蓄積する化学物質の網羅的スクリーニングにより天然有機ハロゲン化合物の存在を明らかにした。

このように、多様な鯨類が POPs に曝露しており、とくに外洋性種の汚染は長期化することが示唆された。加えて、人間活動の影響を受けやすい沿岸性の鯨種は、PFRs などの代替難燃剤だけでなく多様な未同定の有機ハロゲン化合物に曝露している可能性が高く、その実態調査を展開したいと考えている。

2. 研究計画：これまでの研究から沿岸性だけでなく、外洋性鯨種にまで新規 POPs の汚染が進行しており、PBDEs の主要異性体である BDE154 および HBCDs の濃度は、現在も定常状態もしくは増加傾向にあることが判明した。PCB 主要異性体も外洋性鯨種で定常状態を示していることから、継続してストラディンクネットワークと連携をとりながら鯨類試料の採集に努め、多種の分析から蓄積特性の種差を解明する。

平成 30 年度は、とくに沿岸性の強いスナメリを対象に曝露実態と蓄積特性の解明を試みる。過去に POPs 汚染が顕著であった瀬戸内海に棲息するスナメリだけでなく、大村湾・有明海系群の脂皮も化学分析に供試し、海域による近年の汚染実態を明らかにするとともに、*es*-BANK の保存試料を用

いて POPs 汚染の経年変化を解析する。また瀬戸内海においては、過去採集した魚が *es*-BANK に保存されているため同種の試料採取を新たに試み、化学分析に供試することで PCB および PBDE 同属体濃度の変動を解析し、餌生物からの曝露プロファイルの寄与を考察する。既存・新規 POPs に加え、代替ハロゲン系難燃剤であるデクロランプラスやデカブロモジフェニルエタンも分析し、スナメリにおける曝露実態を検証する。また昨年度、予備的調査を実施したリン酸エステル系難燃剤(PFRs)についても分析を継続し、蓄積レベルの地理的分布を明らかにする。

平成 29 年度に確立した新規スクリーニング手法により、スナメリの脂皮に蓄積する多様な有機ハロゲン化合物の網羅的な検出と物質同定が可能となった。しかしながら、GC×GC-HRTtoFMS による高感度分析では、鯨類脂皮に高蓄積する PCBs や OCPs の著しいピークテーリングが観測され、他成分との共溶出やマススペクトルの干渉が認められた。このような分析化学的な課題を踏まえ、平成 30 年度は GC×GC のグラジエント条件を最適化し、2D TIC に溶出するピークの高分離化を促進するとともに、解析ソフトウェアによるスペクトルデータのデコンボリューション法を開発・検討する。また、近年漂着した瀬戸内海系群のスナメリにおける追加調査に加え、日本近海に座礁した他種の鯨類においてもスクリーニング分析を実施し、有機ハロゲン化合物の継時的蓄積プロファイルの変化と種間比較を統合的に解析する予定である。

また、研究代表者のグループがこれまでに構築した鯨類ネットワークを継続して活用し、組織試料の採集と解剖ワークショップを実施する。H27～29 年度に解析した外洋性鯨類の POPs 蓄積濃度の経年変化に関する研究成果を論文としてまとめ、国際誌への投稿を目指す。