

酵母 Two-hybrid Assay System を用いた事業所排水からの 外因性内分泌かく乱化学物質検出の試み

中嶋智子¹⁾, 白石不二雄²⁾, 白石寛明²⁾, 太田真由美¹⁾, 井上壽¹⁾

¹⁾京都府保健環境研究所, ²⁾国立環境研究所

工場や事業所の排水は、環境汚染防止のため、水質汚濁防止法で排水基準を定められている。しかし、外因性内分泌かく乱化学物質は、その複合的な汚染実態や生態系に対する影響、あるいは評価の仕方などいまだ解決していない様々な点があるため、本物質に関する実態は未知の部分が多い。

我々は、白石らが開発した酵母 Two-hybrid 法を用いた簡便なエストロゲンアッセイ法(以下 YMCE 法)を用い、事業所排水中のエストロゲン活性の実態調査を試みたので報告する。

<方法> 試料 11 をガラスフィルター(GF/C, 径 47mm; Whatmann)でろ過後、固相抽出用ディスク C18(径 47mm; 3M 社)で濃縮し、ジクロロメタンで抽出した。抽出物(冷蔵保存)を窒素ガス気流下で乾固後(-20℃保存)、試験日に 40ul の DMSO で溶解して、試験に供した。

YMCE 法は、Nishikawa の試験系を改良し、96 穴マイクロプレート培養法と化学発光によるレポータージーンアッセイを用いた測定法である。本法を用い、化学物質などが生体内に取り込まれた場合の代謝生成物のエストロゲン活性を検討するため、試料にラット肝 S9 を添加し、処理させた場合(+S9 試験)のアゴニスト作用も併せて測定した。また、発光細菌 *Photobacterium phosphorum* を利用した、発光細菌毒性試験を用いて、アゴニスト試験の供試試験液の急性毒性評価とした。

<結果と考察> 20 箇所の事業所排水からのエストロゲン活性のアゴニスト作用スクリーニングの結果、-S9 試験において 16 箇所、80%、+S9 試験では 6 箇所、30%の排水からエストロゲン活性を確認した。し尿や生活排水などが中心の集合住宅の合併処理浄化槽や下水道からの排水では、ほとんどの検体でエストロゲン活性が認められたが、+S9 試験では、その活性がほぼなくなることが確認された。その他工場などの事業所排水の多くからも、エストロゲン活性が検出された。また、これらの事業所排水では、+S9 試験で活性が減少しなかったり、むしろ強まる傾向を示すものも存在した。その結果、工場などの事業所排水ではエストロゲン活性を示す場合、何らかの化学物質により活性が生じる可能性が示唆された。

Investigation of Estrogenic Activities in Industrial Wastewaters Using the Yeast Two-Hybrid Assay System

Satoko Nakajima¹⁾, Fujio Shiraishi²⁾, Hiroaki Shiraishi²⁾, Mayumi Ohta¹⁾, and Hisashi Inoue¹⁾

¹⁾Kyoto Pref. Inst. Hyg. Environ. Sci.

²⁾National Institute for Environmental Studies

Estrogenic activities in 20 industrial wastewater samples were investigated using the yeast two-hybrid assay system. On screening assay, 16 samples showed estrogenic activity.

Estrogenic activity was detected in the most of the wastewater samples from sewage disposal plant and on-site domestic wastewater treatment system in collective housings, but it almost disappeared on rat liver S9-treated test. But on some cases of industrial wastewater samples treated rat liver S9, estrogenic activity did not decreased, but rather increased. In the fiber industry and the plating industry, it showed a tendency to increase.

These facts suggests that there exist some chemicals to induce estrogenic activities in industrial wastewater.