

酵母 Two-Hybrid アッセイ法を用いた事業所排水のエストロゲン活性

高橋 悟*、池田享司*、白石不二雄**

*岩手県環境保健研究センター、**国立環境研究所

【目的】事業所排水など環境試料の GC-MS 等の機器による環境ホルモン分析は、内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の多さと分析方法の違いが、簡便な環境ホルモンのモニタリングを困難にしている。

一方、環境ホルモン活性の総合評価手法として酵母や培養細胞を用いた *in vitro* バイオアッセイ法が開発され、環境試料への適用性が検討されてきた。

今回、バイオアッセイとして酵母 Two-Hybrid アッセイ法を用いて、さまざまな化学物質が含まれると予想される事業所排水についてエストロゲン活性を測定し、本法の適用性について検討した。

【方法】事業所排水中の有機化合物を固相抽出用 disk C18FF(3M 社)で捕集し、CH₂Cl₂で溶出したものをサンプルとして、白石ら¹⁾の方法によりエストロゲンアゴニスト活性を測定した。また、ラット肝 S9 処理による代謝試験 (+S9 試験)もあわせて実施し、代謝による活性の変化を調べた。強いエストロゲンアゴニスト活性が認められたサンプルについては、GC-MS による機器分析を行なった。

【結果及び考察】

-S9 試験：全く活性がみられないものや弱い活性を示すものが多い中で、クリーニング工場排水、機械部品製造工場排水の中に強いエストロゲンアゴニスト活性 (E2 換算値 ; 51~350ppt) を示すものがあった。また、学校 (合併処理浄化槽排水) や養豚施設排水も比較的強い活性を示した。

+S9 試験：-S9 試験で活性を示す検体であっても、+S9 試験では、活性が弱まるか、または、ほとんど消失した。

GC-MS 分析：強い活性を示したクリーニング工場排水、機械部品製造工場排水からは、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノール A が検出された。

尿尿由来の女性ホルモン関連物質やノニルフェノール等の化学物質がバイオアッセイで活性を示すことが知られている。今回の調査で活性を示した事業所のうち、尿尿が混じっている排水では尿尿由来の女性ホルモン関連物質が主な活性物質と推定された。一方、尿尿の混入がない排水ではノニルフェノール等の化学物質が活性の主体であると推定された。

1) 白石不二雄ほか：酵母 Two-Hybrid System による簡便なエストロゲンアッセイ系の開発、環境化学, 10, 57-64(2000)

Estrogenic Activity in Industrial Wastewaters Measured with a Yeast Two-Hybrid Assay System

Satoru Takahashi*, Takashi Ikeda*, and Fujio Shiraishi**

*Research Institute for Environmental Sciences and Public Health of Iwate Prefecture

**National Institute for Environmental Studies

We investigated the estrogenic activity of industrial wastewater that contained various chemical substances using a yeast two-hybrid assay system. Strong estrogenic activity was detected in effluents from a cleaning materials factory and a machine parts factory, and in the school and hogger effluents. However, the activity was weakened or eliminated when the effluent samples were subjected to treatment with rat liver S9 preparation. Nonylphenol, bisphenol A and 4-t-octylphenol were detected by GC-MS in the cleaning materials factory and machine parts factory. The measured activity was considered to result from the presence of these substances.