

Endocrine Disruption in Wildlife:

Insights from a Research Journey Over Three and a Half Decades

Professor Charles R. Tyler

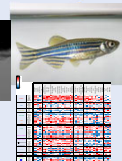
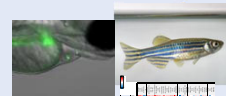
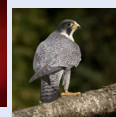
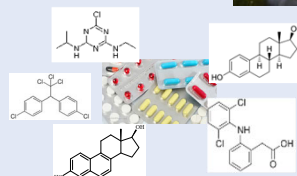
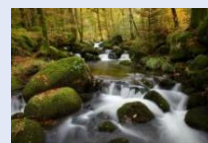


まず初めに、過分な御紹介をありがとうございました。本日、皆様の前でお話ができることをうれしく思っております。

私からは、内分泌かく乱物質についての幾つかの洞察ということで、私の分野における研究についてお話をしたいと思います。特に野生生物への内分泌かく乱物質の影響をお話いたします。

Presentation Outline

- Waking up to Planetary Health and Biodiversity Loss
- The Chemical Environment and Endocrine Disrupting Chemicals
- Endocrine Disrupting in Wildlife (with a focus on Fish)
- Deepening our understanding on how Endocrine Disrupting Chemicals can cause effects – and harm
- *Reflections and a Few Concluding Thoughts*



本日のプレゼンテーションの概要ですが、まず初めに背景についてお話をします。今、よりよく理解が進み始めているのは、ヒトの活動が地球全体の健全性へ影響を与えるということ、また、生物多様性の喪失についてお話をします。

また、より広範な環境中の化学物質について、そして、その中において内分泌かく乱物質（EDC）がどのようなになっているのか、野生生物への毒性・有害性について、またヒトへの影響についてもお話をします。

その後に、より詳しく、主として我々が行ってきている研究についてお話をいたします。どのようにEDCが水環境に影響を与えるか、淡水と魚類に焦点を当ててお話をします。

またその後、技術的な分野についてお話をいたします。どのように試験系をつくることによって我々がこれらの化学物質の有害性を理解できるか、野生生物と人間に対する影響についてお話をします。



Image – Charles R. Tyler

Waking up to Planetary Health

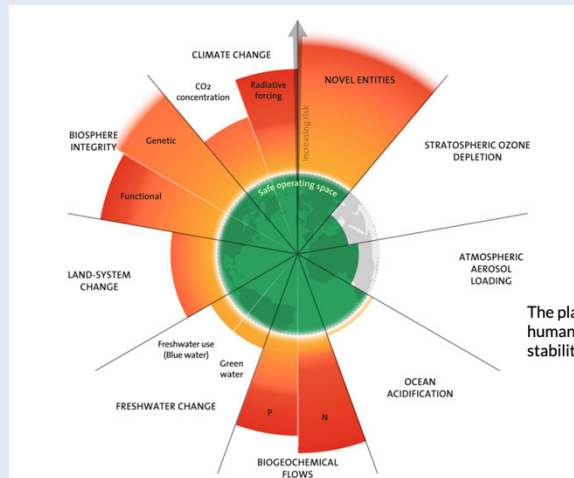
まず初めに強調しておきたいのは、皆様方も御存じのように、過去20年ほど前から、やっと、我々人類が、地球の健康に対して影響を与えているということをよりよく理解するようになりました。



なかでも特に、生物多様性の危機を理解するようになってきました。それは野生の生物種が急速に減少しているということ、脊椎動物類も無脊椎動物類も減っているということが分かっているわけですし、また、LPI（生きている全地球指数）というものがありまして、3,000以上の野生生物についての研究が行われています。この中で、今、これらの個体数の状況がどうであるかという数字を見てみますと、一部において減少が大変急速であることが分かります。中でも淡水系での減少が激しく、過去50年を振り返ってみますと、個体の数・規模・程度で3,000以上の種において80%ほどの減少が見られています。様々な理由から数の減少はありますが、多くはヒトによる圧力であるということ、あるいは、生物圏が変わる、食料生産も特にこのような個体数の減少につながっています。化学物質もまた大きく関与していて、場合によっては非常に大きな影響要因となっています。

Waking up to Planetary Health

Rising Risks from Human Pressures on Nine Critical Global Processes



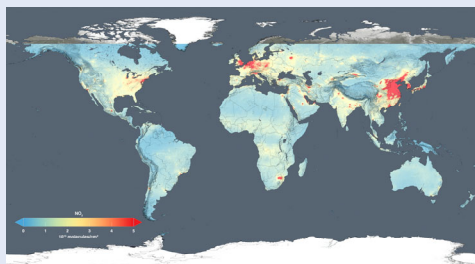
The planetary boundaries framework highlights the rising risks from human pressure on nine critical global processes that regulate the stability and resilience of the Earth

The 2025 update to the Planetary boundaries. Licensed under CC BY-NC-ND 3.0. Credit: "Azote for Stockholm Resilience Centre, based on analysis in Sakschewski and Caesar et al. 2025".

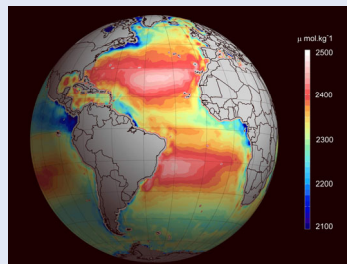
さて、いわゆる9つの深刻な地球規模のプロセスを見て、そして、これがヒトの活動によってどのようにリスクが高まっているかを見てみると、新しい分野がありまして、重要な地球規模のプロセスにおいて、もはや安全圏を離れて越えているというのが多くの分野で見られます。新しい分野というのは、現行の化学物質、そして新興化学物質もこれに含まれると考えられます。

We are fundamentally changing the chemical balance of our planet.....

Satellite images provide powerful insights into the extent of our chemical influence on the planet: here are two examples,



Nitrogen dioxide



Ocean acidification

An incredible fact: Globally, over 450 km³ of domestic, industrial and agricultural wastewater enters our aquatic environments each year, and requires 6000 km³ of freshwater for treatment –two thirds of the world's usable surface freshwater

さらに明らかな影響があるものを見ていきます。

化学的なバランスが根本的に変えられているということが衛星画像からも分かります。左側を見ていただくと、二酸化窒素が大気中で今どうなっているか、右側を見ると海洋の酸性化が示されています。左側の赤いところは、二酸化窒素の濃度が、私たちが非常に懸念する、ヒトの健康にも影響するレベルになっています。海洋の酸性化については、多くの海洋で、海の中における水素による酸性化が非常に危険域に入っております。

環境に対するプレッシャーとしては、自然資源として3分の2ぐらいの淡水を使って排出物などに対応しています。人類は、水の使用や化学物質の使用によって、非常に大きなインパクトを自然環境に及ぼしているということです。

Human Health Effects – The FACTS

- Pollution is the largest environmental cause of disease and premature deaths in humans; 9 million premature deaths in 2017 – 16% of all deaths worldwide (> AIDS, TB and Malaria combined)
- Nearly 92% of pollution –related deaths occur in low-income and middle-income countries
- Children are at the greatest overall risk
- Pollution is costs:
 - Productivity losses due to pollution related diseases are at 2%GDP in LMICs
 - Health spending: 1.7% in HIC and up to 7%in polluted, rapid developing MIC
- Welfare losses US\$4.6 trillion per year (6.2% economic output)
- Health impact burdens are probably underestimated!

Landrigan et al., : The Lancet Commission 2017

さて、私は野生生物に関心を持っているわけですが、公害・汚染というのはヒト健康への影響もあるわけです。例えば疾患の増加や死に至る最大の環境要因です。今現在、汚染によって若死することが起きています。その合計数を見てもみますと、例えば、エイズ、結核、マラリアの合計を上回るのが環境要因による死です。

汚染は主に低中所得国で発生しているということが言えます。全てのライフステージでこういったリスクがあるということではなくて、むしろ小児に対するリスクが最も高いということが総合的に言えます。

また、汚染は経済的なインパクトを持っています。例えば、疾患に対する医療費、それから、経済成長に対しての影響などもあります。病院であつたり治療のコストも考えなければなりません。汚染は社会全体に対して影響を及ぼしています。ただ野生生物だけが対象ではないということです。

Our Dependence on Chemicals



We use tens of thousands of chemicals in products (a \$3 trillion global enterprise)
..... plasticizers, fertilisers, pesticides, pharmaceuticals, etc.

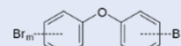
Most end up in the environment and in the bodies in of wildlife - notably animals living in aquatic environments.

Chemicals of Particular Concern

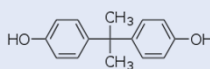
Priority Substances have been identified for which we have concern because there is good evidence for adverse health effects.

Other Chemicals for which there is increasing health concern include:

Perfluoro octanoic acid (PFOAs)
(cholesterol and chronic kidney disease)



Polycarbonate *polymers*
(obesity, reproduction)



Polybrominated diphenyl ethers (thyroid dysfunction)

Pharmaceuticals: 17 alpha-ethinyloestradiol (EE2), 17 beta-oestradiol (E2), Diclofenac, SSRIs (antidepressants)



もちろん、今、私たちはいろいろな化学物質に依存しています。今現在、何千何万という化学物質などを使っていて、それが環境に曝露されているわけです。可塑剤、肥料、農薬、医薬品などの化学物質を使っています。それが野生生物の体内あるいは水棲環境に流れ込んでいます。特に水棲環境あるいは野生生物などが大きな危険にさらされています。

化学物質に対する懸念から、優先化学物質を私たちは禁止しなければならないということで、様々な作業が行われています。研究が進むに従って、健康への懸念が高まっているということが分かってきています。有機フッ素系化合物のPFASなどもありますし、あるいは、ポリ臭化ジフェニルエーテル類といったものもあります。そして、私たちの生殖系、繁殖、甲状腺などに影響を及ぼす化学物質もあります。

Endocrine Disrupting Chemicals

The **World Health Organization (WHO)** defines an endocrine-disrupting chemical (EDC) as:

“an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations”.

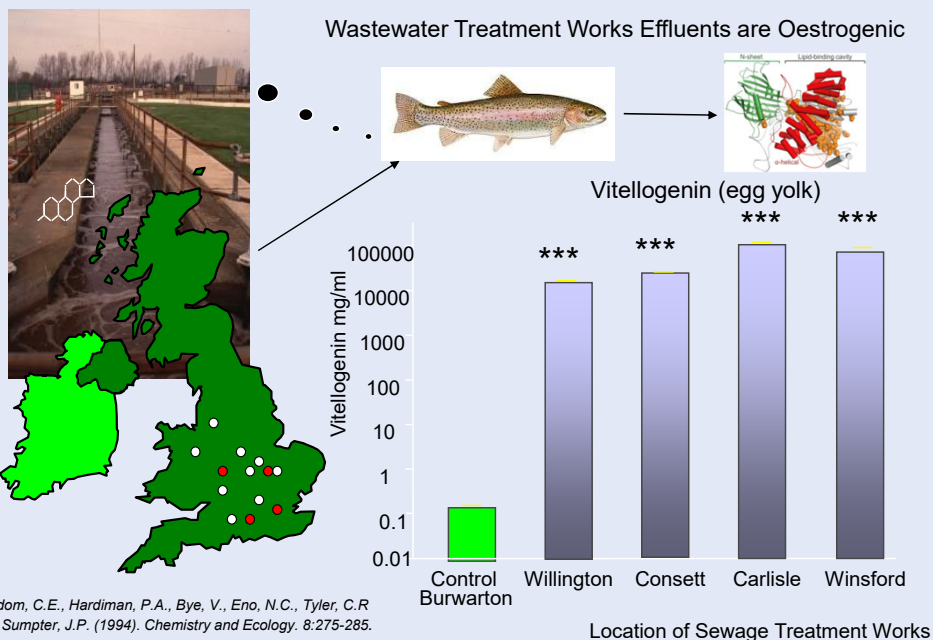
EDCs can be a man-made or natural chemical and they interfere with the body's hormones via receptors, enzymes synthesising or degrading hormones, hormone excretion, and in other ways.

野生生物と同様、ヒトへの健康影響もあるわけです。それが内分泌かく乱物質（EDC）ということになります。

いろいろなEDCに関する定義があり、私はこの分野に35年携わってきましたが、徐々に定義が変わってきています。現在は、生物個体や個体群に対して、有害な健康影響をもたらす外因性の物質または混合物という定義になっています。それは子孫に対しても影響を与えます。しかも、その化学物質がどのように作用するのかというと、人工化学物質だけではなく、天然の化学物質であったとしても影響があるということです。それは体のホルモン合成などに影響します。いろいろな機序、受容体、酵素、その分泌などを介して影響するというものです。

Endocrine Disruption in Wildlife (Fish)

Our Initial Observations



さて、内分泌かく乱物質について、私たちの大学では政府機関の一つと契約を結んで研究をすることになりました。これはDEFRA（英国 環境・食糧・農村地域省）の一部で、環境・漁業・科学の分野のCEFAS（環境・水産・養殖科学センター）と呼ばれているところです。

研究の結果、雄の魚が卵黄タンパク質のビテロゲニンを出していることが分かりました。女性ホルモンが排水から検出されるのです。これは様々な排水施設の下流から見つけられたニジマス进行调查した結果です。排水施設をX軸に、緑がコントロールになります。Y軸で見ているのはビテロゲニン産生量で、2、3回曝露された後、これらの魚では卵黄タンパク質が何百万倍もの量になっており、このタンパク質は血流タンパクの半分にもなっているということから、非常に大きな関心を引きました。そして、この排水処理施設からの排水中の女性ホルモンが雄の雌化を引き起こしているということが分かりました。

Endocrine Disruption in Wildlife (Fish)

Feminisation of Fish (Roach -*Rutilus rutilus*) in English Rivers



Impact of sewage treatment works effluents on fish health (endocrine active chemicals)

- Intersex present at 44 (86%) of 51 sites
- Overall incidence of intersex in 'males' of 23%

Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G., and Sumpter, J.P. (1998). *Environmental Science and Technology* 32: 2498-2506.
Jobling, S., Williams, R., Johnson, A., Taylor, A., Gross-Sorokin, M., Nolan, M., Tyler, C.R., van Aerle, R., Santos, E.M., and Brighty, G. (2006). *Environmental Health Perspectives* 114: 32-29

Liney, K.E., Jobling, S., Shears, J., Simpson, P., Tyler, C.R. (2005). *Environmental Health Perspectives* 113 (10): 1299-1307.

Rodgers-Gray, T. P., Jobling, S., Kelly, C., Morris, S., Brighty, G., Waldock, M., Sumpter, J.P. and Tyler C.R. (2001). *Environmental Science and Technology* 35(3): 462-470

This work was done more than two decades ago!

その後、一連の研究を行いまして、その中で野生の河川の魚を調べるようになりました。その中で注目したのはローチで、サンプルを英国の河川から捕ってきて、その下流と上流の排水処理施設の状況を見て、雄に卵黄タンパクが出ているかや、精巣卵ができていのかどうかを調べました。つまり、雄の魚の精巣に卵胞ができていものです。

これは大規模な研究でして、50か所以上の下水処理施設で行ったところ、いずれにおきましても雄での間性発現（精巣卵を持っている雄）が見られたということです。つまり、精巣の中に卵母細胞があったということで、オスが卵黄タンパクのビテログゲニンを産生していました。

また、一連の研究を行いまして、排水処理施設からの排水がこれらの、雄の雌化を引き起こしているかどうかを検討することになりました。そのために雄のローチをこの水槽に入れ、処理した下水排水に3年間曝露しました。その結果、様々な影響あるいは表現型の変化が野生のローチと同様に認められました。排水処理施設の排水が原因となって野生生物の雄の雌化が英国の河川において認められました。



Feminisation of Fish (Roach -*Rutilus rutilus*) in English Rivers- A more recent update:

Smaller Scale Survey : 8 rivers, 9 sites (30-50 fish for each site)

- Plasma vitellogenin (VTG) was present in all male fish but at lower levels compared with the historic surveys.
- Genetic males with feminised (ovo) testes were found at 60% of the survey sites and the frequency and severity of this condition was not different from historic levels at 80% of sites sampled
- Genetic male fish with a female-like gonad were present at 60% of the sites, confirming the occurrence of full sex reversal (from male to female) in wild roach.

Alice Baynes, Anke Lange, Nicola Beresford, Euan Bryden, Katie Whitelock, Charles R. Tyler and Susan Jobling. (2023) *Environmental Science and Technology* <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c02854>



Genetic Sex Probe
for the Roach

Lange, A., Paris, J.R., Gharbi, K., Cézard, T., Miyagawa, S., Iguchi, T., Studholme, D.J., Tyler, C.R., 2020. *J. Mol. Ecol. Resour.* 20, 1007–1022.

Feminisation in male roach is still a widespread phenomenon

つい最近になって行った研究があります。これは、幾つかの河川に再び戻ってみて、野生生物においてローチの状況が変化したかどうかを見たもので、これらの排水処理施設においては改善がありましたが、場合によっては同じというところもありました。

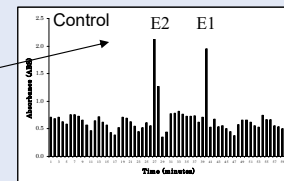
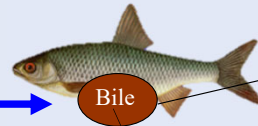
その後、8河川・9地点で調査を行ったところ、その多くにおきまして雄におけるビテロゲニン（精巣卵を持つ精巣）を見る、つまり雄の雌性化を見てみますと20年前と変わっていなかったということです。やはり、何かを根本的に変えなければ、このような状況は変化しないことが分かります。

また、その間、前回の研究と今回の研究との間に、遺伝的なSex Probeを使いました。つまり、遺伝的な雄であるか雌であるかを判断するもので、このような遺伝的なSex Probeを魚に適用いたしますと、御覧のように図の中では、雌であったものが遺伝的には雄であることが分かりましたので、場合によりましては、雄は完全に雌に性転換して、現在、外観は雌になるというものもありました。結論として、場合によっては改善が認められたが、全体的には、まだこれから根本的な変化が必要であるというのが英国河川の状況であるということです。

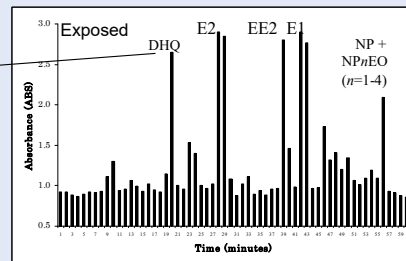
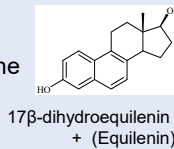
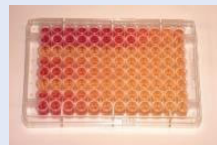


Environmental oestrogens entering fish from WwTW effluents

Mesocosm exposures



The oestrogenic activity of the test effluents measured



Fish take up a very wide range of oestrogenic chemicals into their bodies from the WWTW effluent

Bile analysed to identify (anti-)oestrogenic compounds and their metabolitesEnzymic hydrolysis -RP-HPLC + yeast screens LC-NMR-MS/GC-MSMS

Gibson, R., Smith, M.D., Spary, C., Tyler, C.R., Hill, E.M. (2005). *ES&T* 39(8) 2461-2471

Tyler C.R., Spary, C., Gibson, R., Shears, J., Santos, E., Sumpter, J.P., Hill, E.M. (2005). *ES&T* 39 (8) 2599-2607

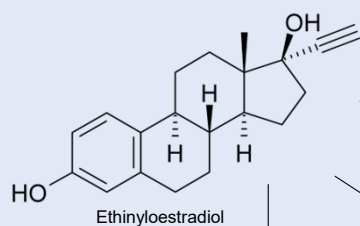
Tyler, C.R., Filby, A.L., Hill, E.M., Liney, K.E., Katsu, Y., Bickley, L.K., Lange, A., Winter, M., Gibson, R., Shears, J.A., Iguchi, T. (2009). *ES&T*. 43:3897-3904

さて、もともとの研究の疑問は、一体何がこのような雌化反応の原因であるのかということでありました。そして、一部の研究では、下水処理水中のエストロゲン（女性ホルモン）の測定を行いました。ここから非常に精度の高い分析化学を行いました。魚の体内に何が入り込んでいるのかを知ることが重要ですから、その検討を行いました。何を行ったかという、魚を下水処理排水の中に入れて、どのような化学物質が魚に入ったかを調べたということです。この場合は魚の組織への濃縮濃度を見ました。見ているのは化学物質の分画です。HPLC（高速液体クロマトグラフィー）で分画を同定して、GC-MS/LC-MS（液体クロマトグラフィー・ガスクロマトグラフィー）によって物質を同定しました。

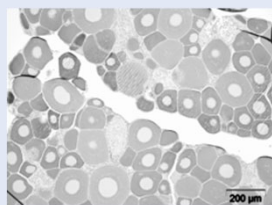
何がこの研究から分かったかといいますと、非常に多くのステロイド、エチニルエストラジオールなどが出てきていました。エチニルエストラジオールは避妊ピルからのものですが、驚いたことに、ジヒドロエクイレニンもありました。ジヒドロエクイレニンという化合物はホルモン補充療法に使われていて、女性の閉経期の治療剤になりますが、これは妊娠した馬の尿から抽出した女性ホルモンであり、これをヒトに投与し、それがまた環境に戻って魚の体内にも入ったということです。

また、弱いエストロゲンもあり、この中で大きな分画だったのはステロイドのエストロゲンです。

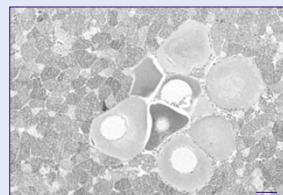
Laboratory studies show that environmental steroidal oestrogens can induce all the feminised effects seen in wild roach.....



Exposure to EE2 (0.3ng/L) can induce vitellogenin synthesis



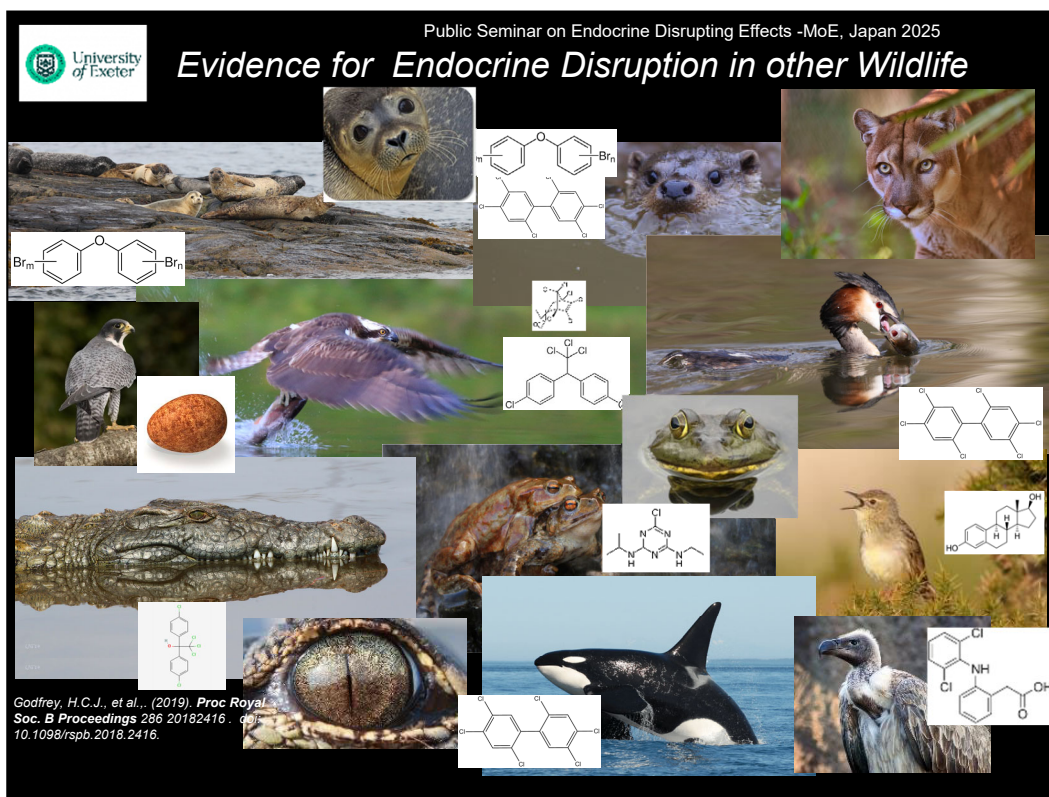
Life-long exposures to EE2 can complete sex reversal (4ng/L)



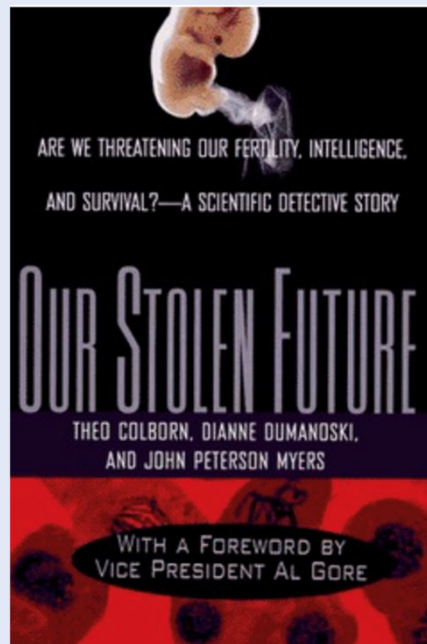
Exposure to EE2 (0.3ng/L) can induce ovarian cavity formation and intersex

Lange, A. Katsu, Y., R. Ichikawa, Greg Paull, Laura L. Chidgey, Tobias S. Coe Iguchi, T. and Tyler, C.R. (2009). *Toxicological Sciences* 106(1), 113-123
Lange, A., Katsu, Y., R. Ichikawa, Chidgey, L. Iguchi, T. and Tyler, C.R. (2009). *Environmental Science and Technology* 43 (4), 1219-1225.

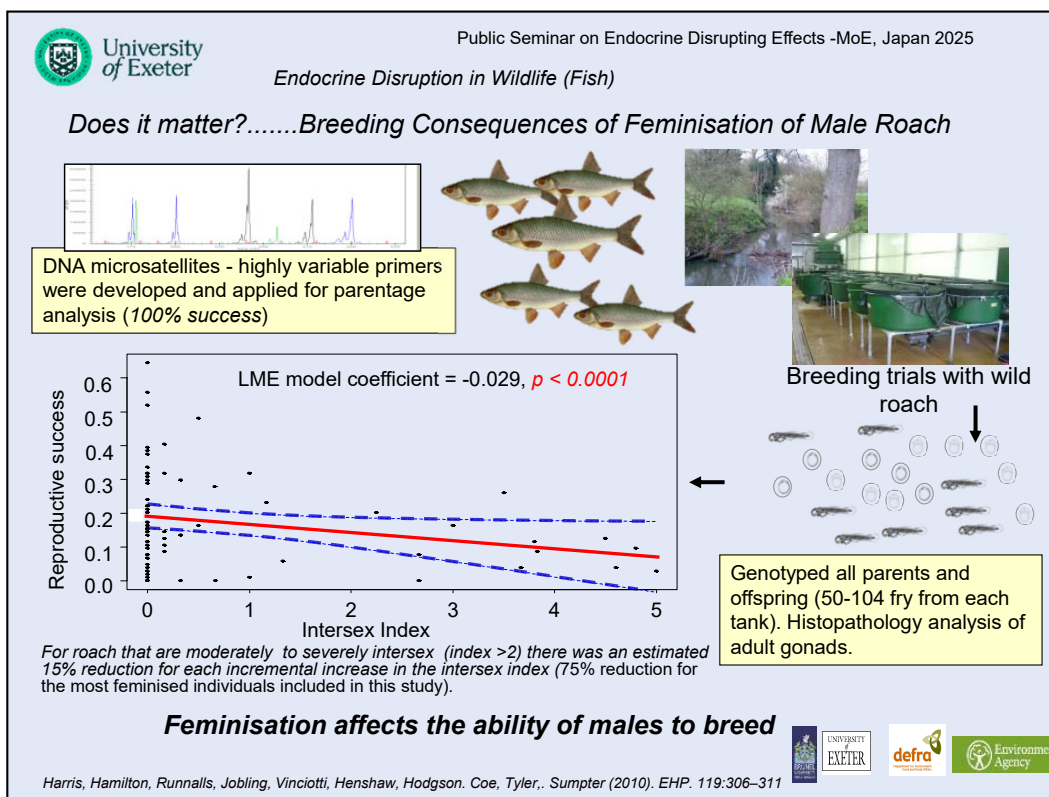
また、その後、我々は何を行ったかということ、様々な一連の実験を行いました。エチニルエストラジオールを見てみると、様々な表現型への影響がありました。雄のローチの血清中にビテロゲニンが認められ、精巣に卵母細胞もあり、また、オスからメスへの性転換も起こったということです。女性ホルモン作用を持つ合成エストロゲンや妊馬の尿中に出るジヒドロエクイレニンが、下水処理水中で確認されたということです。これらの女性ホルモン作用物質は魚類に重大な影響を及ぼしていることが明らかになりました。



そして、魚への女性ホルモン物質の影響の検討を行いながら並行して、世界中で、様々なほかの化学物質、また、野生生物にどのような影響があるかを調べました。その中で、一連の野生生物、魚から、両生類、鳥、哺乳類なども検討を行いました。生殖能力がどうかという検討、あるいは発達プロセスについても検討を行いました。



これは非常にすばらしい本になっています。皆さんも読んだことがあると思いますが、内分泌かく乱に関する内容をまとめたスーパーブックという、Theo Colborn、Peterson MyersとDianne Dumanoskiらが書いた『Our Stolen Future（奪われし未来）』という本です。



英国の河川での、雌化した雄の魚類、河川水中の女性ホルモン作用物質の問題などを紹介しました。次の課題です。

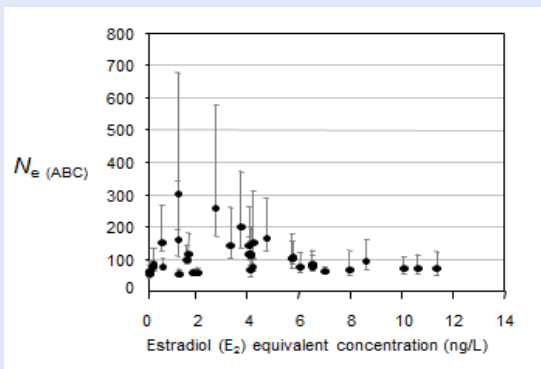
こういった雄の魚の繁殖はどうなっているのかということです。この課題に対しては、野生のローチを集めて、それを繁殖タンクに入れることで雌と雄を共生させました。それによって、DNAマイクロサテライト、それから高変異性プライマーを開発して、個体を検査しました。いわゆるゲノタイプを調べたということです。

X軸ではどのぐらいの雌化があるのか、Y軸では繁殖はどうなっているのかということを検討したわけであります。つまり、雄が雌化した場合、やはり繁殖が難しくなるということが分かりました。

Are Wild Populations of Roach Adversely Impacted?

Genetic studies undertaken investigating the relationship between the amount of oestrogen in English rivers (predicted oestrogen content) and an indicator of the breeding size in the parental population (N_e (ABC))

Patrick B. Hamilton*, Elizabeth Nicol, Eliane S. R. De-Bastos, Richard J. Williams, John P. Sumpter Susan Jobling, Jamie, R. Stevens, Tyler, C.R (2014). *BMC Biology* 12:1



Answer : We do not have a clear picture on this

次の課題は、野生のローチはどういった化学物質から影響を受けているのかということで、野生の個体群を検討しました。個体群がエストロゲンに曝露されることによって影響を受けているのかを検討したわけです。

雌雄を判定できるDNAマイクロサテライトを活用しながら、雄の個体群の中で、どのぐらいが有害影響を受けているのかということをXY軸で測定しました。そして、繁殖はどうなっているのかということを見たわけです。女性ホルモンのエストロゲン量はどうなっているのかということに対してプロット化したわけであります。

つまり、エストロゲンの量が多ければ多いほど、雄の個体群への貢献は非常に少ないということが分かりました。回答としては、この点については明解な見解はないということです。野生のローチは統計的には有害影響を受けているのかということは、まだ見解が決まっていないということです。

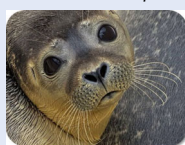
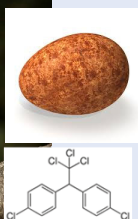
Endocrine Disruption in Wildlife

Population level Consequences of Chemicals (incl. EDCs) in Vertebrate Wildlife

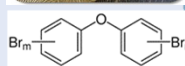
Established Cause-Effect Relationships



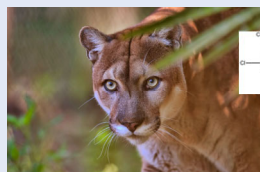
Peregrine Falcon



Seals



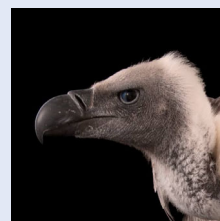
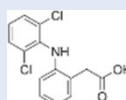
Orca



Florida Panther



White backed vulture



Key examples have been identified only after population level collapses!

Reviewed in: Godfrey, H.C.J., Stephens, A.E.A., Jepson, P.D., Jobling, S., Johnson, A.C., Matthiessen, P., Sumpter, J.P., Tyler, C.R., McLean, A.R. (2019). *Proc Royal Soc. B Proceedings* 286 20182416. doi: 10.1098/rspb.2018.2416.

しかし、内分泌かく乱物質が野生の脊椎動物に及ぼしている個体レベルでの影響は分かっています。例えばハヤブサであたりシャチでは、免疫力が低下して、疾患と闘う機能が衰えてしまう。また、シャチ（Orca）などに対しては、スコットランドの西海岸ではPCBの影響が非常に大きくなっているということです。PCBにより、アメリカ・フロリダ州のパンサーが繁殖できなくなっているということもあります。

それから、非ステロイド物質がスポーツの損傷などに使われています。それが内分泌かく乱物質だとは定義されていませんが、1つの化学物質がエコシステムに生態学的な影響を及ぼしております。

Ecosystem level consequences of diclofenac impacts on vultures in Asia



Rabies lyssavirus

- Death of over 45 million vultures
- \$350 billion loss to the country's economy (2000-2005)
- Human mortality rate increased by more than 4 %

Documentary videos:

<https://www.youtube.com/watch?v=5DO6kkOmZCQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=ZCA24OGENNo>

<https://www.youtube.com/watch?v=y8f7HftHtT4>



特にジクロフェナクがハゲワシに及ぼす影響は地球規模で、インドからハゲワシに対する影響が分かっています。ハゲワシが死んで、その遺体をきちっと除去しないと、それが特に野犬などに対して影響を与え、狂犬病などの増加に寄与しているということが言われています。都市部ではヒトに対する影響も増えています。ヒトの死亡率あるいはコスト、単一の化学物質からのヒトの死亡率がインドでは4%以上増加しているという非常に顕著な例があります。1つの化学物質がヒトの死亡率に影響を与えるということがあります。

Roles of Oestrogens in the Body

Oestrogens mediate:

- Female (and male) reproduction
- Growth
- Bone development
- Calcium Homeostasis
- Defence (Immune function)

Oestrogens signalling:

- Via specific receptors
(3 subtypes in fish- ESR1, ESR2 α , ESR2 β)
(+ membrane receptors, oestrogen related receptors)
- Cross talk

Every cell in the body probably has an oestrogen receptor!

For exposures to chemical that mimic oestrogens there are much wider potential health effects than those on reproduction.

また、イギリスの河川における魚の雌化について、この研究で我々が生殖能力について検討したときに特に意識したのは、様々な文献や資料を見ますと、エストロゲンは哺乳類でも非常に多くの役割を果たしているということでもあります。魚類、あるいは、そのほかの系も同様ですが、その中でエストロゲンが一体何を行っているかを見てみますと、女性の生殖機能だけではなく、雄についても影響があります。成長、骨の発達、カルシウム、また、恒常性防御についても、免疫機能に係るということから、エストロゲンは我々の体内で非常に多くの作用を持っています。

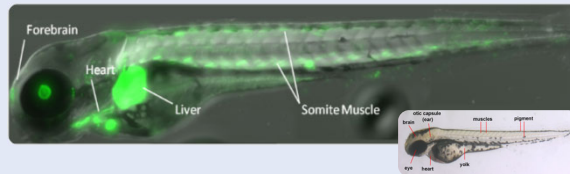
そして、そのシグナル機能、信号伝達をどうやっているかは非常に複雑であります。シグナルは受容体から来るわけですが、受容体は哺乳類、ヒトでは2つあります。細胞、そして、魚類では3つのサブタイプがあります。また、いわゆる核内受容体、あるいは膜受容体だけではありません。このようなエストロゲンの受容体は、例えば甲状腺ホルモン受容体などと相互作用するわけですから、非常に複雑な機能であります。

体内のほとんどの細胞は、恐らく、エストロゲン受容体をどこかのサイクルで発現している可能性がありますので、いろいろなプロセスが我々の生態に関わるものであり、野生生物においても、恐らく、環境中のホルモンに曝露されることによって、性的な機能や生殖以外にも影響を受けていると考えられます。

Understanding how environmental oestrogens affect fish

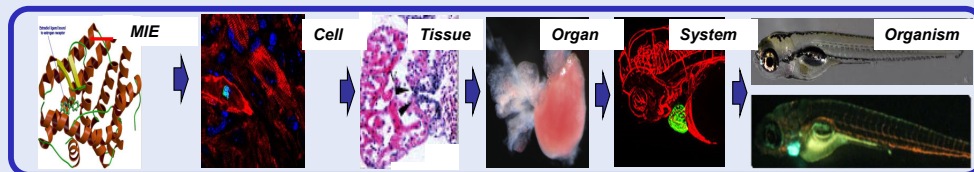
Transgenic Fish – informing interrelationships between chemical activity and AOPs

Powerful, whole body systems tool for assessing interaction of chemicals in real time for highly integrated health effects analysis.



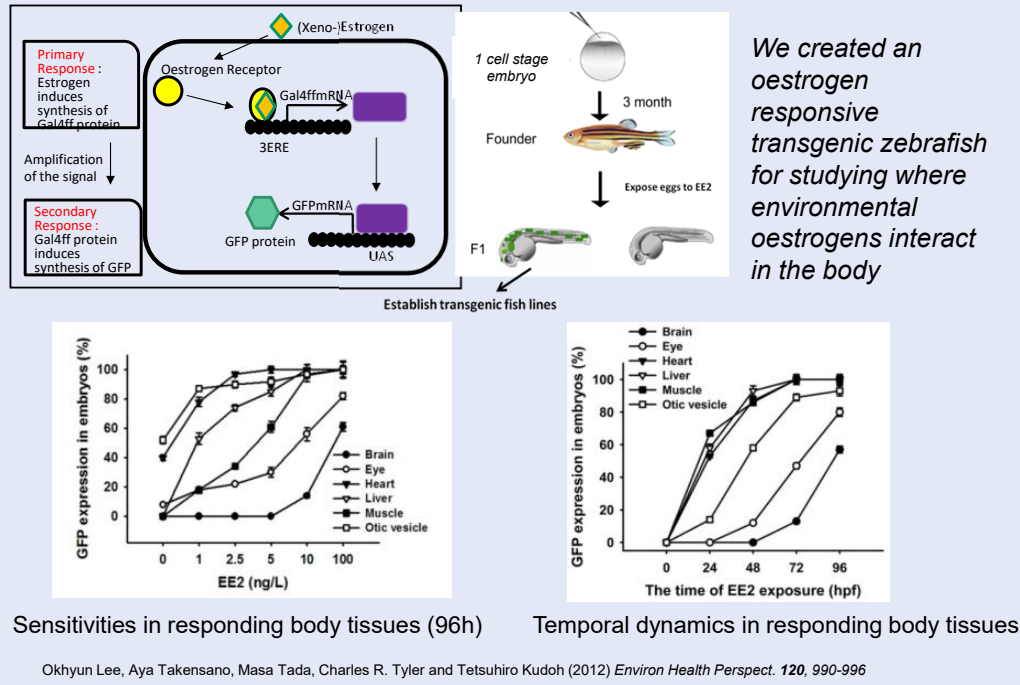
Identify tissue response specificities and relative potencies of chemicals

Adverse Outcome Pathways



そこで我々は何を行ったかという、いわゆるトランスジェニックな魚を使いました。遺伝子組み換えの魚で、ここではゲノムに関わる受容体をいじり、可視化して、どの遺伝子が活性化しているかを生きたまま外から見たものです。非常にエレガントな系でして、これを使うことによって、化学物質がこの生体の中のどこで効いているかを同定することが可能になりますし、脳であれば脳の機能あるいは行動を見ることができます。肝臓であれば、肝臓の形態機能を見ることができます。

Understanding how environmental oestrogens affect fish



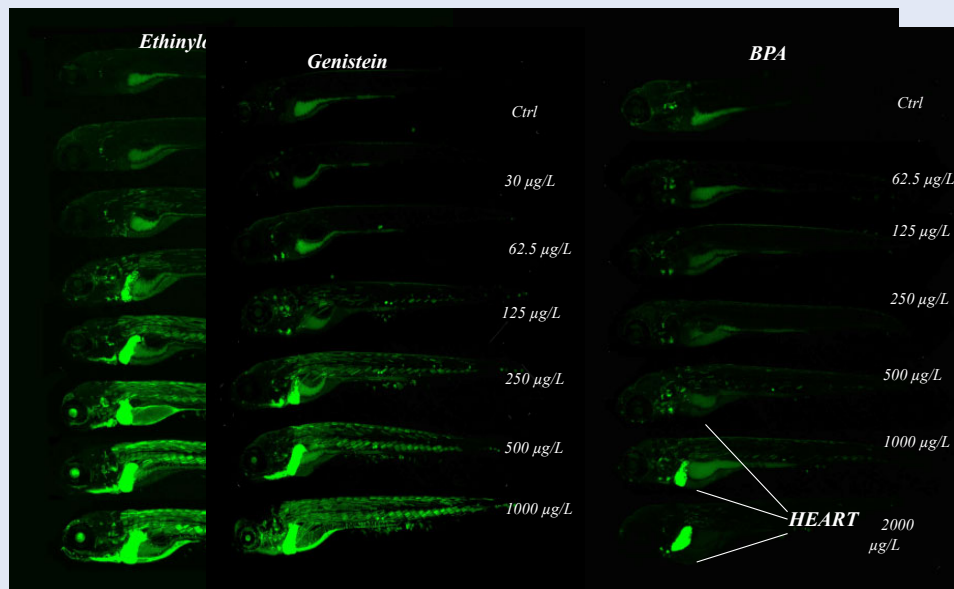
これについて、ちょっと複雑な図かもしれませんが、我々が知った最初の遺伝子組み換えの魚による環境エストロゲンの影響を見たわけです。

ゼブラフィッシュを使って検討したモデルになりまして、ダブルコンストラクトになっています。何ができたかという、まず、このゼブラフィッシュをエストロゲンに曝露して、ここから2つの遺伝的な要素が出てきて、そこからグリーンタンパクという応答を見ることができるよう蛍光色素につながっていきます。これがなぜ素晴らしいかというと、この蛍光色素を見ることによって、画像で、どの組織が反応しているのか、どの時点で反応しているのかを、リアルタイムで観察することができる、あるいは、濃度も知ることができます。体内のどの組織や細胞が、懸念化学物質に応答しているのかを知ることができます。



Understanding how environmental oestrogens affect fish

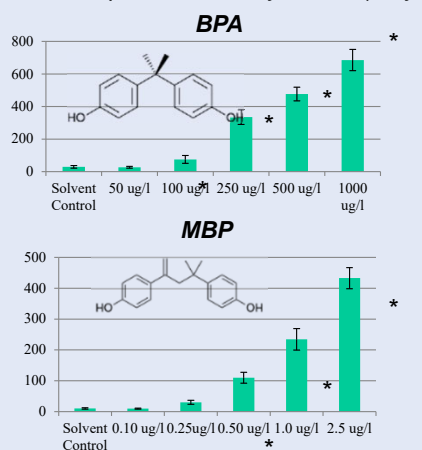
Response patterns (different target tissues) of environmental oestrogens



Green, Metz, Lee, Trznadel, Takesono, Brown, Owen, Kudoh, Tyler (2016). *Environ Sci & Technol* 50 (12) 6536–6545

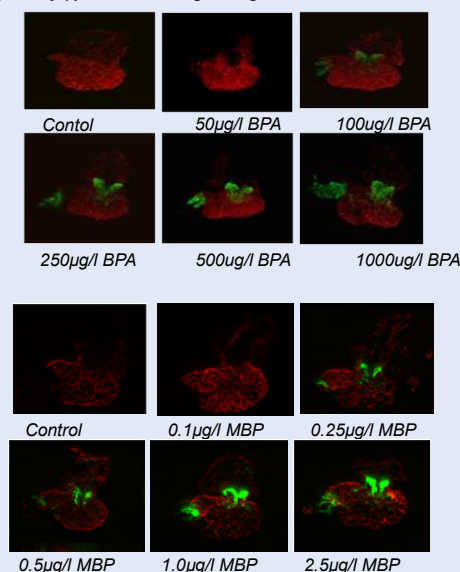
化合物がどのようにエストロゲンの応答に影響を与えるのか、魚類で検討を行いました。

ここに幾つかのイメージがあり、非常に効率よく、どこで作用が起きているのかを見ることができます。こちらは、初期のゼブラフィッシュと遺伝子組み換えで、2つのエストロゲン作用物質、エチニルエストラジオールとビスフェノールAに曝露しており、幾つかの反応を見ることができます。そして、自然のエストロゲン、ゲニステインと比較して、ビスフェノールAというのは非常に特徴的であるということで、体のパターンを御覧いただければと思います。ビスフェノールAの場合には、マークしてありまようように心臓であることが分かります。

**GFP Expression in the Heart in ERE-Transgenic Zebrafish exposed to Bisphenol A and its metabolic product 4-methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-ene [MBP]**

Fluorescence intensity values measured from hearts of ERE-TG zebrafish (5dpf) $p < 0.05$ compared to control

Brown, Green-Moreman, Gunnarsson, Mourabit, Ball, Winter, M. Trznadel, Correia, Hacker, Perry, Wood, Hetheridge, Currie, Tyler (2019) *Environ Sci Technol* DOI: 10.1021/acs.est.8b04281



Moreman, et al. (2018) *Environ Sci Technol* 52(11):6656-6665. doi: 10.1021/acs.est.8b01095

GFP, MF-20

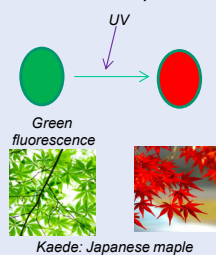
次に私たちは、ビスフェノールA及びその代謝産物の影響を見ました。化学物質が体内に入ってくると、それが全く変更を加えないということはないわけです。

私たちは、BPA、MBPを見ました。そして、これを赤で染色します。そして、エストロゲンが心臓で発現しているのか、相互作用しているのかということを見ました。そして、それは恐らく心臓だろうということが分かったわけです。こういったトランスジェニックの魚類などでは、MBP、BPAなどで心臓機能が影響されるということが分かっています。

Understanding how environmental oestrogens affect fish

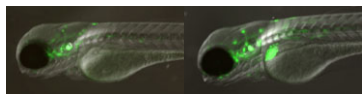
Effect of Repeat Exposures to Oestrogens

ERE-Kaede Casper Model



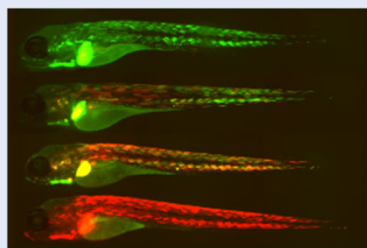
5 dpf Controls

Control (non exposed) larvae and larvae exposed initially to 10 ng EE2/L over the period of 48h (0-2 dpf) were imaged at 3 dpf (A) and the Kaede response was then converted fully from green to red fluorescence via UV exposure



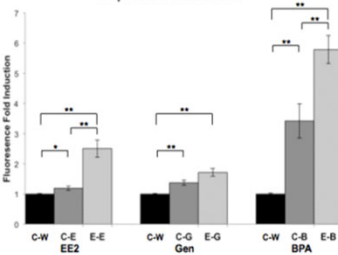
C- EE2

EE2-EE2



Sensitivity to oestrogen is enhanced for repeated exposures.

5 dpf Liver Fluorescence



5 dpf Somite Muscle Fluorescence

Quantification of target tissue responses in ERE-Kaede-Casper transgenic zebrafish exposed to estrogen treatment, as determined by fluorescence induction. Fluorescence intensity was quantified in liver and heart at 5 dpf. Responses were quantified after EE2, genistein and BPA exposures for 3-5 dpf. Data are reported as mean fold induction $\pm$ SEM (n=18). EE2-10ng/L, Genistein- 500 μ g/L, BPA- 2000 μ g/L)

Green, Lange, Scott, Trznadel, Wai, Takesono, Brown, Owen, Kudoh, Tyler (2018). Scientific Reports 8 Article number 2699

それ以外のトランスジェニックで非常に顕著なのは複合影響というものがあります。日本では、Casperのエストロゲンの曝露に対する遺伝子組み換えゼブラフィッシュにおける標的組織応答の蛍光誘導法による定量化があります。グリーンになった場合、これにUVを当てると赤に変わるということでもあります。

そして、もう一つのエストロゲンに曝露すると、最初は、その応答が変わってくるということで、連続的にエストロゲンが反復曝露によって影響を及ぼしていることが分かります。第1回目の曝露が基本となって、その魚が感化されるというものであります。そして、その曝露の歴史によって、その他の化学物質にどのように影響するかということも変わってきます。野生生物でも同じことが起こるということになります。

Mixture Effects

Humans and Wildlife are exposed to complex mixtures of chemicals

- Babies are exposed to hundreds of industrial chemicals even before birth. Cord blood (North American general population);



Polybrominated biphenyl ethers (PBDEs), Polychlorinated biphenyls (PCBs), Organochlorine pesticides, Polyaromatic hydrocarbons (PAHs), Polychlorinated dioxins and furans (PCDD/PCDFs), Phthalates

- Fish bodies are blueprints of their chemical surroundings:



Testes content in fish exposure to WwTW effluents

NSAIDs (diclofenac, ibuprofen, naproxen, mefenamic acid), SSRIs (fluoxetine, norfluoxetine, paroxetine, sertraline, nortriptyline, citalopram, venlafaxine), EDCs (bisphenol A, triclosan, chlorophene, propiconazole), Other xenobiotics (nordiazepam, clozapine, norclozapine, quetiapine, norquetiapine, warfarin, carbamazepine, propranolol, gemfibrozil, clopidogrel)

Collectively these chemical can affect steroid hormone, serotonin ('well being' hormone) and prostaglandin biosynthesis

David, A., Abdul-Sada, A.; Al-Salhi, R., Lange, A., Tyler, C.R., Hill E.M. (2014).. J. Chromatography A 1365, 72-85.
David, Arthur, Lange, Anke, Abdul-Sada, Alaa, Tyler, C.R and Hill, Elizabeth M (2016) . Env Science & Technol. 51 (1). 616-624.
Arthur David, Anke Lange, Charles R. Tyler, Elizabeth M. Hill (2018). Sci. Tott Env, 621, 782-790

さて次に、複雑な化学物質の混合物に関して、私たち自身の安全性だけでなく、野生生物の安全性も守る必要があります。

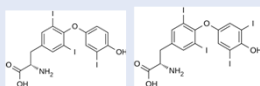
野生生物が非常に複雑な化学物質に曝露された場合、例えば血液中、あるいは母体、そして赤ちゃんといった脆弱な対象に曝露した場合や、精巣や卵巣への曝露はどうかということも調査しています。神経系に対する影響も、炎症性などといったことで検討しています。多くの標的臓器・組織について、細胞レベルで検討しています。



The Widening Landscape of Endocrine Disruption

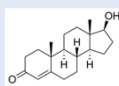
The increasing diversity of EDCs and their effects pathways

E.g.



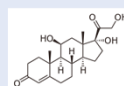
Thyroid hormone mimics/disruptors

Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs), Perchlorate, Bisphenol-A and phthalates



*Androgen mimics/disruptors
Anti-androgens*

vinclozolin, linuron, iprodione, chlozolinate, procymidone, flutamide, p,p'-DDE, a metabolite of p,p'-DDT, and ketoconazole



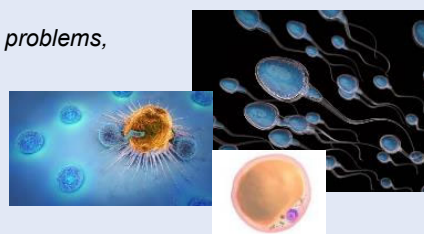
Glucocorticoid mimics/disruptors

λ-cyhalothrin, cypermethrin, resmethrin, o,p'-DDT, p,p'-DDT, methoxychlor, ethiofencarb,

The wider landscape of EDC effects- in humans

Exposure to EDCs during foetal life and/or puberty plays a role in:

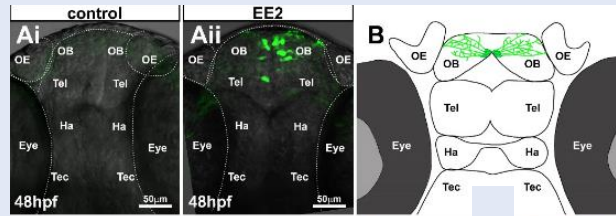
- Proliferation of male and female reproductive problems,
- Endocrine-related cancers
- Infections,
- Asthma
- Obesity,
- Diabetes,
- Behavioural and learning disorders



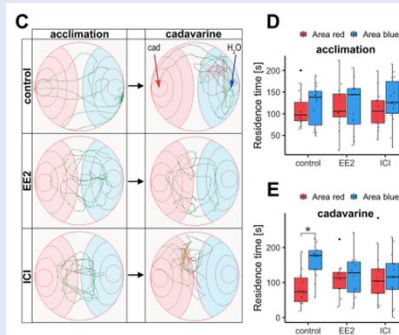
この10年ぐらいの間に、非常にEDCの多様化が起きているということが分かっています。非常に幅広い化学物質が生殖系であったり関連するいろいろな健康への影響などに関与しているということが分かっています。そのリストはこのとおりで、生殖系の疾患であったり、内分泌関連のがん、あるいはぜんそく、そして糖尿病など、そして行動及び学習障害なども実際に発見されています。

Neuro-Endocrine Interactions in Zebrafish

Effects relating to olfaction/sensing.....and behaviour



*Estrogen regulates early embryonic development of the olfactory sensory system via estrogen-responsive glia- **Estrogen Responsive Olfactory bulb Response (EROB)** cells*



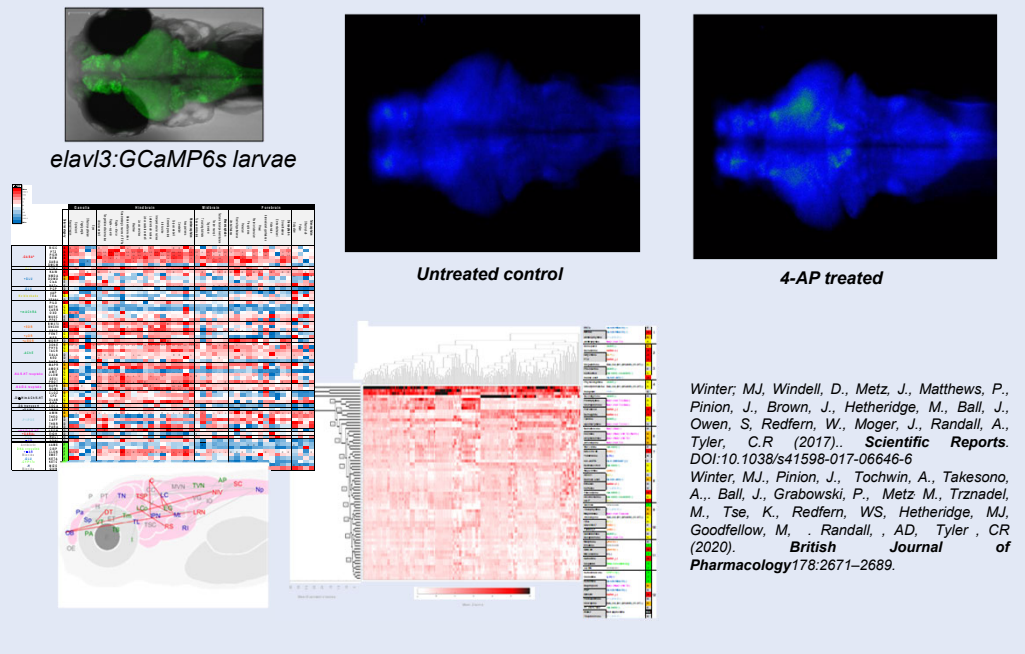
Altered oestrogen signalling during early development of the EROBs causes disruption in olfactory capabilities in later life

Aya Takesono, Paula Schirmacher, Aaron Scott, Jon M. Green, Okhyun Lee, Matthew J. Winter, Tetsuhiro Kudoh and Charles R. Tyler (2022). *Development* 149, dev199860. doi:10.1242/dev.199860

EDCにおいては、その他のシステム、特に神経系あるいは脳とどのように相互作用するのかということも非常に重要であります。

日本の博士課程のチームが新しい細胞タイプを発見しています。これは、エストロゲン応答性嗅球応答細胞、EROBと呼ばれるものであります。このEROBにおいて、いかに魚の嗅球能力の障害を引き起こしているのかということを発見しています。特に生命体の始まりの時点、初期に胚発生を調整しています。したがって、細胞に対して化学物質が複雑に神経系に影響しているということが分かっています。

EDC effects on the Brain- and Behaviour in Fish



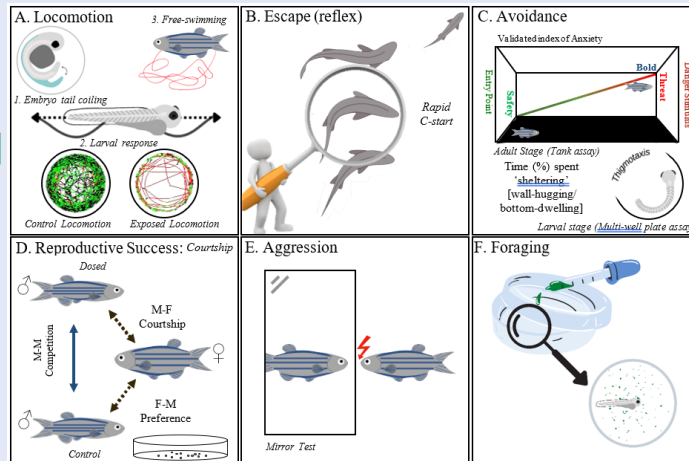
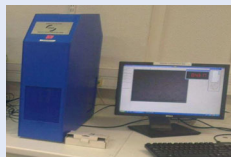
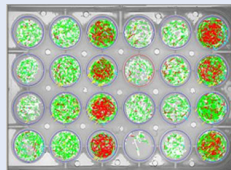
ゼブラフィッシュのもう一つの例です。内分泌かく乱物質が脳と行動に対してどのような影響を及ぼしているのかということで、これはアメリカで行われた実験で、ゼブラフィッシュの脳が静止している状態です。ゼブラフィッシュの脳が曝露された処理区では、どんどん脳の活動が増えています。非常に驚くべきこのようなシステムがあって、リアルタイムで可視化できる、脳の相互作用が見られるわけです。

そして、非常に複雑なモデル化もできます。脳の中央がどのように相互作用しているのかということで、化学物質が行動に対して、その原型に対してどのような影響を及ぼすのかということも分かっています。



Linking Changes in Brain Activity in Responses to EDCs with Behaviour

A) Semi-automated, medium through-put



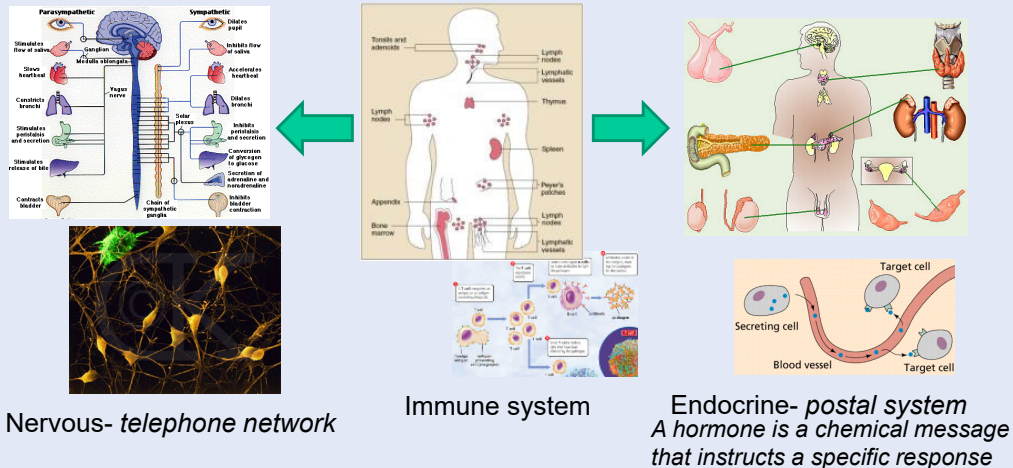
Gaby Wasser, A Ross Brown, Sam Maynard, Stewart F. Owen, Charles. R. Tyler (2024). Critical insights into the Potential Risks of Antipsychotic Drugs to Fish, including through behavioural mechanisms. *Biological Reviews* <https://doi.org/10.1111/brv.70031>

このモデルを行動モデルにリンクして関連性を理解しようとしたものがあります。化学物質が活動変化にどのような影響を及ぼして、属性、例えば移動であったり、そういった動きに対する影響、関連性、そしてシステムのモデルを関連づけていくという実験を行っています。

Wider implications EDCs on the body's communication systems

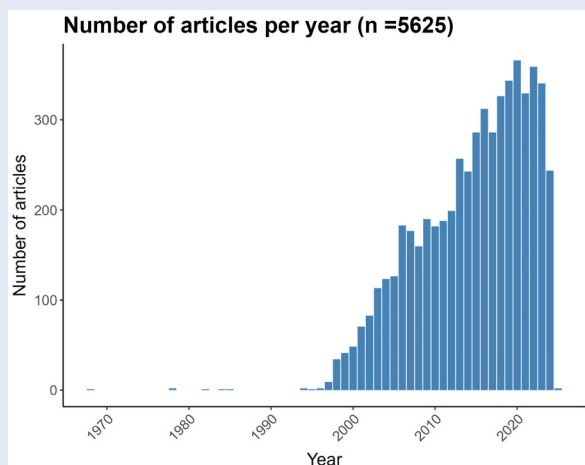
EDCs can disrupt communication pathways and in turn development and functional pathways in a far more complex manner than we ever first realised

The nervous, endocrine and immune systems are highly interconnected



最後の例ですが、私たちヒトにおける神経系あるいは免疫系、そして内分泌系というのは、今までは個別に調査されてきました。しかし、これらは高度に相互に連結されているということが分かっています。こういった化学物質がもし神経系に影響を及ぼしている場合は、それは免疫系にも影響します。そして、その他のシステムにも影響を及ぼすということであります。

Endocrine Disruption Research Activity – Scientific Publications



Web of Science using the following search queries: TS = "Endocrine Disruption" (n = 6929)
TS = "Endocrine Disruption Chemicals" (n = 40)
TS = ("Endocrine Active" AND ("Chemicals" OR "Substances")) (n = 395) TS = "Endocrine Modulating Substances" (n = 6) All selected papers were then compiled into a single dataset (n = 7,370), and duplicates were removed (n = 7,238; 132 duplicates). The papers were subsequently categorised by document type, identifying primary research articles for further analysis (n = 5,625).

There is still much Interest!!

現在のEDCの研究活動はどうなっているのかというと、非常に関心が高まっているということで、また、多くの化学物質が対象になっています。野生生物だけではなくて、研究の数も年々増えています。

A few concluding thoughts

- *EDCs potentially threaten both wildlife and human health.*
- *We have learnt a lot about a few EDCs and their biological effects but how chronic exposures manifest and over generations are poorly established*
- *We need to better understand environmental relevant exposures (incl. timing, mixtures, interactions with other stressors etc.)*
- *Studies on wildlife populations are still very limited.*
- *Molecular technologies (e.g transgenic fish) are helping us to understand how toxicants work in the body for informing more integrative health effects assessments.*
- *Endocrine Disruption has changed the way we consider the potential health consequences for exposure to chemicals more generally*
- *We (humans) are not that much different from fish and other wildlife – that provide us with sentinels for potential impact of chemicals on our own health!!*

結論です。

EDCの中には、野生生物とヒト健康の両方に潜在的な脅威をもたらすものがあります。

また、EDCが野生生物にどのように影響するのかということについて、慢性的な曝露がどのように発現して、そして世代を超えて影響を及ぼすのかについては、まだ十分に解明されていません。

そして、より私たちが理解しなければいけないのは環境に関連した曝露です。例えば、曝露のタイミング、混合物、あるいは、ほかのストレス要因との相互作用などについても理解しなければなりません。もっと着目し、そして、その化学物質が示唆するところも理解しなければなりません。

野生生物の個体群に関する研究はまだ限定的でありますので、もう少しモニタリングを進める必要があります。

そして、分子生物学的な技法、つまり、遺伝子組み換え魚などを対象に、より統合的な健康影響評価をする必要があります。

私たちはこの研究を40年ぐらいやってきました。内分泌かく乱というのは、潜在的な健康への影響に対する考え方を根本から変えたと言えるのかもしれませんが、サブリミナルな低レベルのものから、より大きな影響を考える必要があります。

私たちヒトは、野生生物とはかなり大きく違っていると考えますが、そんなことはありません。野生生物は、私たちの健康に及ぼす化学物質の潜在的な影響を前もって知らせる役目を担っていると思います。

An important part of my journey in Endocrine Disruption has been working with some great friends in Japan



International Advisor for our UK-Japan Partnership for studies into Endocrine Disrupting Chemicals and Chemicals of Concern



Thank you!

最後になりますが、この科学を日本の友人の皆様と共有してきました。英国・日本パートナーシップの内分泌かく乱化学物質及び懸念化学物質研究のチームが形成されています。多くの方たちの貢献があります。井口先生の名前をまず述べたいと思います。日本からの貢献者として、私たちのパートナーシップに大きく貢献してくださいました。



University of Exeter

Public Seminar on Endocrine Disrupting Effects -MoE, Japan 2025

Funders and the Team – with thanks!



BBSRC



UK, defra, 環境省, 日本国政府



NATURAL ENVIRONMENT RESEARCH COUNCIL



AstraZeneca



IMI



Anglian



BBSRC Japan Partnering Awards



Centre for Ecology & Hydrology





Cefas



MSD



UNIVERSITY OF SUSSEX



ESSEX & SUFFOLK WATER



BRUNEL UNIVERSITY WEST LONDON

Ex-Team contributors:
 Okhyun Lee,
 Matthew Winter,
 John Moreman,
 Jon Green,
 Ruth Cooper,
 Sulay Mourabit,
 Dylan Windell,
 Rebekah Boreham,
 Charles Hamilton,
 Sophie Gould,
 Tetsuhiro Kudoh,
 Patrick Hamilton,



NIBB



PREMIER



DEFRA
Department for Environment, Food & Rural Affairs



IPIE



ENVIRONMENT AGENCY



University College London

Masa Tada
Steve Wilson

University of Rennes
Olivier Kah

それからもう一つ、私たちのチームになりますが、ここで資金提供者とチームに感謝を述べたいと思います。

Thank you for listening



Image: Charles R. Tyler

Questions?

以上です。御清聴ありがとうございました。