

タを比較する上での主要問題となっている。将来的にデータの比較を促すには、各同族体ごとに濃度を測定することが奨励される。

6.3.2.2.1 特殊集団—魚介摂食者の濃度. Svensson ら (1995) は、バルト海産魚介摂食量と、PCDD、PCDF、ノンオルト PCB、モノオルト PCB 濃度との高い相関性を示した。この調査研究では、魚介を全く食べない集団、ある程度食べる集団 (摂取頻度 200~500 g/週)、最も多く食べる集団 (700~1,750 g/週) の 3 群について調査研究が実施された。この 3 群における血清中総 TEQ 平均濃度は、それぞれ 17.5 ppt、25.8 ppt、63.5 ppt であった。スウェーデンの魚介摂食者及び魚介非摂食者における総 TEQ に占めるノンオルト PCB の割合は 30% であった。その他、ラトビア及びスウェーデン (Sjödin ら、2000)、オランダ (Hanrahan ら、1999)、五大湖地方 (Anderson ら、1998) において魚介類を大量に消費する集団を対象とした PCB 濃度研究では、多く食べる集団は、全く食べないか少ししか食べない集団と比較して、総 PCB 濃度がより高いことが報告されている。最近になって、フェロー諸島の妊婦小集団において高濃度 PCB (CB 153) が報告された (Fängström ら、2002)。AMAP は、1995 年と 1996 年に北極周辺 8 カ国中 6 カ国の妊婦の血漿中 PCB 濃度を分析した。その結果を付属資料の表 20 にまとめて示す。また、母乳中 PCB 濃度も測定された。その結果を付属資料の表 21 にまとめて示す。PCB 濃度と濃度傾向は、グリーンランドを除くすべての国で一般に類似性を示した。グリーンランドでは、他国よりも高濃度が認められた。男性集団の一つ (ノルウェー産カニの摂食者) は、他の AMAP 参加者よりも大幅に高い PCBs 濃度中央値を示した (Jacobson ら、1996)。採取方法、分析手法、報告方式が異なるため、調査研究の比較が困難であるが、総じて全体的な科学的根拠は、このような集団で曝露が高値であること示している。

6.3.2.2.2 OH-PCBs. PCB は、野生生物 (Jansson ら、1975)、実験動物 (Sundström ら、1976) において OH-PCBs に変換される。PCBs から OH-PCBs への代謝については、いくつかの総説が出されている (Safe、2000、Letcher ら、2000)。一般的に、OH-PCBs は排出されるが、一部は血液中に残る (Bergman ら、1994、Fängström ら、2002)。ヒト血液中には 40 種以上の OH-PCBs が存在し、そのうち 39 種が同定されている (Hovander ら、2001)。OH-PCBs は、元の PCB 同族体よりやや低濃度で血液中に存在するが (Sandau ら、2000、Sjödin ら、2000)、脂肪組織中よりも血液中において、はるかに高濃度である (Bergman ら、1994、Meironyté Guvenius ら、2002)。OH-PCBs は血漿蛋白質に結合しているため、血液成分中の脂質含量は、OH-PCBs の血液中の残留に影響を及ぼさない (Brouwer ら、1998)。ヒト血液中の主要 OH-PCBs は、水酸基を選択的に 4 位に、しかし場合によっては 3 位に有する高塩素化代謝物である (Bergman ら、1994、Sandau ら、2000、Sjödin ら、2000、Hovander ら、2001)。カナダ北部、ラトビア、スウェーデン、フェロー諸島のヒト血液試料中 OH-PCBs

濃度は、元の PCB 同族体濃度の 10～20%である。

6.3.2.3 PBDEs. 先に述べた通り、先進工業国出身のヒト血漿中 PBDEs 濃度には、減少傾向が認められない。PBDEs 及び PBDEs 代謝物 (OH-PBDEs) がいずれもエストロゲン系や甲状腺系に作用する以上、PBDEs は潜在的 EDCs である (Meerts ら、2001)。PBDEs は、耐衝撃ポリスチレン、軟質ポリウレタンフォーム、繊維被膜、電線・ケーブル絶縁体、電気コネクタ中の難燃剤として利用されている。PBDEs は、テレビセットやコンピューターから放出され、生体脂質に吸収されると報告されている (Sjödin ら、1999、2000)。データは限定的であっても、PBDEs が生物学的有効性をもち、ヒト組織中に蓄積することは明らかである。ポリ臭化ビフェニール同族体の半減期は、臭素原子の数によって異なる (Sjöden、2000)。ヒトの血液や母乳中の主要 PBDE 同族体は、2,2',4,4'-テトラブロモビフェニールエーテルである (Meironyté、1999、Ryan と Parry、2000、Strandman、2000、Schröter-Kermani、2000、Sjödin ら、2001)。他に検出された PBDE 同族体には、高分子量化学物質であるデカブロモビフェニールエーテルなどがある (Sjödin ら、1999、2001)。対照群よりも高濃度の PBDEs が、電気製品分解やコンピューター作業の従事者体内において認められる (Jakobsson ら、2002)。カナダ、ドイツ、ラトビア、スウェーデン、米国で測定されたヒト曝露データを、付属資料 I の表 23 にまとめて示す。一般に北米において世界の他の地域よりも高濃度であるという科学的根拠も存在するが (She ら、2000、Päpke ら、2001、Ryan と Patry、2001)、更なる監視データが必要である。

6.3.2.3.1 経時的傾向. 塩化 POPs とは対照的に、スウェーデンで採取された母乳試料中 PBDEs 濃度は、付属資料 I の図 21 に示したとおり、1972 年から 1997 年にかけて 5 年毎に倍増した (Norén と Meironyté、2000)。カナダで採取された母乳 (Ryan と Patry、2000) とドイツで採取された血液 (Schröter-Kermani ら、2000) を対象とした予備試験的な経時的傾向データにおいても、PBDEs 濃度の経時的増加が示されている。だが、PBDE の主要成分である BDE-47 濃度は、最近の数年において母乳中で減少に転じ始めた (Meironyté Guvenius、2002)。ヒトは、高脂肪魚や鯨油等の汚染食物 (de Boer ら、2000)、吸入 (Sjödin ら、2000) を経由して PBDEs 曝露する。

PBDEs は、水酸基をもつ化学物質、あるいはおそらく含硫代謝物に代謝される (Hakk ら、1999、Örn ら、1998)。海藻類や海綿類が産生する天然化学物質としても、数種類の OH-PBDEs が報告されている (Gribble、2000)。血中 OH-PBDEs 濃度は、PBDEs と同程度である (Asplund ら、1999、2001、Hovander ら、2001)。

6.3.2.4 DDT. DDT など多数の有機塩素系殺虫剤の製造と使用は、1970 年代以降は世界各

地で禁止もしくは大幅規制されている。だが、DDT は、主に南半球での生物媒介伝染病防止という公衆衛生上の理由から、発展途上国において現在も使用されている。DDT、DDT 代謝物の DDE、メチルスルフォニル-DDT 濃度は、北半球では減少しているが、これら化学物質は、現在もいくつかの群において比較的高濃度で存在している。Norén と Meironyté (2000) は、スウェーデン人母乳試料中の 4, 4'-DDT 及びその代謝物 4, 4'-DDE 濃度が、1967 年から 1997 年にかけて劇的に減少していることを報告した。また、ディルドリン濃度も同様の速度で減少した。これとは対照的に、1995 年にメキシコシティで採集された母乳試料 50 件中の DDT とその代謝物を測定したところ、依然として比較的高濃度であることが示された (Torres-Arreola ら、1999)。血液試料にも 50,000 ng/g 脂質以上の DDT 濃度が認められた (付属資料 I)。世界各地での DDT、リンデン、HCB 濃度範囲を、図 6.6 にまとめて示す。これらのデータは、特定の塩素系殺虫剤が現在も使用されている地域において濃度が高いことを示しているが、概して、これらの残留性化学物質は低濃度ながら地球規模で見出されている。

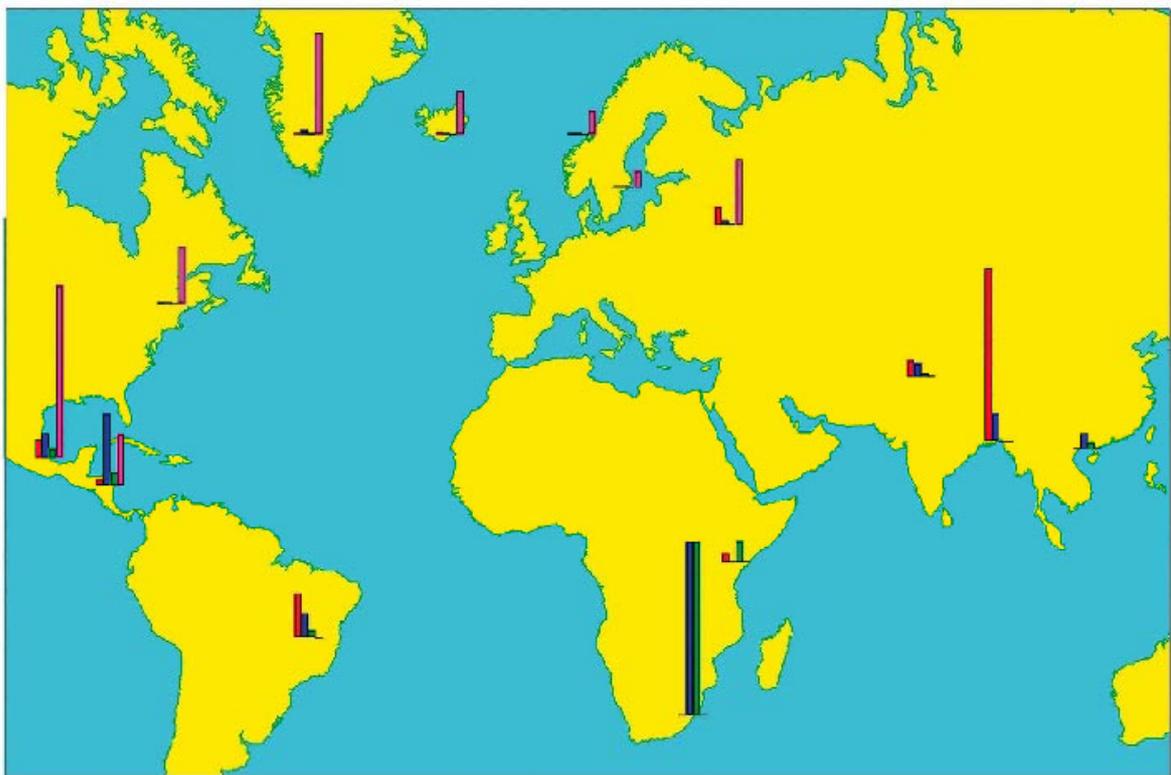


図 6.6 世界各地の人体中 DDT その他の農薬。赤色は β -HCH (ブラジルにて 560 ng/g 肝重量)、青色は DDE (メキシコにて 2,200 ng/g 肝重量)、緑色は DDT (ケニアにて 780 ng/g 肝重量)、紫色は HCB (グリーンランドにて 980ng/g 肝重量)。

6.3.2.5 フタル酸エステル類. フタル酸エステル類は、プラスチック製品を柔軟にする可塑剤として主に用いられる、フタル酸のジエステル誘導体である。テトラプロモフタル酸ジエチルヘキシルは難燃剤として使用されている。ある種のプラスチックが重量換算40%以上のフタル酸エステルを含有している場合もある。プラスチックを含有する製品としては、人工皮革、雨具、敷物、室内装飾品、床張り材、テーブルクロス、シャワーカーテン、食物包装材料、幼児の玩具、管、輸血・血液製剤の容器などがある。これら可塑剤は、製造工程においてプラスチック構造中に不可逆的（化学結合した）に組み込まれるわけではないため、ある特定条件下ではプラスチック製品から環境媒体中への移行が起きる可能性がある。その結果、フタル酸エステル類が環境中に普遍的に存在し、ヒトは、持続的に低濃度フタル酸エステルに曝露している可能性がある。特に懸念されていることは、幼児がこれら可塑剤を含有する玩具、輪形おしゃぶり、おしゃぶりを噛むことを通して経口的にフタル酸エステル曝露する可能性である（Steiner ら、1999）。フタル酸エステルは、体内に入ると直ちにモノエステル代謝物に変換される。モノエステル代謝物は、グルクロニド・エステルとして迅速に尿中に排出されるか、さらに代謝される。成人男性の生殖影響や男児の発達影響との関連から、フタル酸エステルに対する懸念が提起されている（第3章と第5章参照）。

ヒトのフタル酸エステル曝露を対象とした評価については、ほとんど報告されていない。主要な商用フタル酸エステル類には、ジエチル、ジブチル、ジシクロヘキシル、ブチル、ベンジル、ジ-2-エチルヘキシル、ジ-n-オクチル、ジ-イソノニル、ジ-イソデシルがある。U. S. NHANES III（1988～1994）調査に参加した成人から採集した尿検体、約300件についてフタル酸エステル曝露が測定された（Blount ら、2000a、2000b）。尿中最高濃度が認められたフタル酸モノエステルは、フタル酸モノエチル（95パーセンタイル値3,750 ppb、中央値305 ppb）、フタル酸モノブチル（95パーセンタイル値294 ppb、中央値41.0 ppb）、フタル酸モノベンジル（95パーセンタイル値137 ppb、中央値21.2 ppb）であり、元となる化学物質であるフタル酸ジエチル、フタル酸ジブチル、フタル酸ベンジル曝露を反映していた。この著者らは、フタル酸ジエチルヘキシルのような更に新油性が高いフタル酸エステルの代謝物は、胆汁を經由して糞中排出されると推論した。

6.3.2.6 アトラジン. アトラジンは、トリアジン系除草剤の一つであり、穀類雑草防除に広く利用されている。アトラジンは、表層水中や地下水中に頻繁に検出される。飲料水中に検出される場合もあるため、多くの国において禁止や厳しい規制の対象となっている。アトラジン曝露したラットにおいて乳腺腫瘍が発生することから、EDCsとしての懸念対象となっている（第3章参照）。ヒトのアトラジン曝露は、第一に尿（Barr ら、1999、Catenacci ら、1993、Lucas ら、1993）、第二に血液を対象とした代謝物測定によって評価されている。

アトラジンの内部曝露濃度についての限定的データから、ヒト血清中で ppt の範囲、ヒト尿中で ppb の範囲が示された (Barr ら、1999、Beeson ら、1999)。

6.3.2.7 植物エストロジェン. U. S. HANES III 調査に参加した成人の血清及び尿検体、200 件について、植物エストロジェン及び代謝物 7 種類の測定された。しかし、結果は、まだ入手できない。予備試験的データからは、血清よりも尿中で高濃度であることが示される。この尿中濃度の結果には、植物エストロジェン・サプリメントを摂取する西洋人集団を対象とした文献報告濃度と大きな差はなかった。Horn-Ross ら (1997) は、サンフランシスコ湾岸において複数民族から構成される若い女性集団から採取した試料を対象に、数種類の植物エストロジェン尿中濃度に調べた。クメステロール、リグナン、エンテロジオール、エンテロラクトンの尿中最高濃度が白人女性において、最低濃度がラテン系及びアフリカ系アメリカ人女性において検出された。イソフラボン濃度はすべてのグループにおいて一般に同濃度であったが、より高濃度のゲニステインはラテン系女性において認められた。

いくつかのマイコトキシン (種々の糸状菌が産生する低分子量の環状代謝物) がエストロジェン様活性をもつことが示されてきた。このようなマイコトキシン曝露の一般的なヒトにおける主要経路は、食物連鎖を経由するが、職業曝露 (ピーナッツやトウモロコシ工程など) が吸入経路で発生する。ヒトのマイコトキシン曝露データは不足している。カナダ人乳幼児の食物消費経路での日毎ゼアラレノン曝露は、 $0.05 \sim 0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と推定されている (Kuiper-Goodman ら、1987)。

6.3.2.8 ヒトの曝露についての結論. ヒト健康と EDCs 曝露との関連性については、依然として大きな不確定さが存在する。不確定さを解消するためには、一層正確な曝露データを得ていく必要がある。正確な曝露データの入手は、一般集団を対象とする場合も、感受性の高い小集団を対象とする場合にも重要である。ほとんどの EDCs に対する環境中ヒト曝露のほとんどは、主に食物摂取によって発生する。吸入や経皮による曝露経路は、一般に重要でない。現在まで、曝露濃度は、主に成人を対象にして測定されてきた。しかし、極めて重大な発達段階 (胎児、幼児、子供など) での曝露データが早急に必要である。胎児曝露は、一般に母親中濃度から算出されるが、このような測定では、極めて重要な胎児発達期における曝露が正確に反映されないおそれがある。臍帯血や羊水などの胎児試料も、極めて重要な発達段階における曝露を反映していない。胎便は、胎児曝露を評価する上で更に適切な生物学的試料である。EDCs 体内分布、組織濃度間の相関性、排出産物については、追加的データが必要である。コンピューターによって設計される曝露モデルについては、その有効性の確認が求められている。多くの EDCs は、個別に測定上の問題を抱えた関連化学物質の混合物、あるいは複雑な混合物の一部として存在している。関連化学物質の

ホルモン作用上の相対的重要性については、現在でもほとんど知られていないが、複雑な混合物については、さらに少ないであろう。最も重要な潜在的 EDCs を地球規模で優先順位付するために、仕組みを開発していくことが必要である。また、その仕組みには、国と地域による EDCs 監視計画を一層容易に比較すべく、情報交換の促進も期待される。

6.4 EDCs 曝露の測定

EDC 残留物の測定には、他の環境汚染物質に使用されるものに類似した特殊器材 (GLC、HPLC、MS) が用いられる。だが、ELISA やタンパク質受容体結合を原理とした測定等、生物活性に基づく方法には、検出手法としての有用性が追求されている。内分泌を攪乱する試料の化学的特性が知られていない場合があるためであり、生物活性が EDCs の存在を示す最良の（あるいは唯一の）の指標であるからである。測定方法の組み合わせを利用した階層的取り組みがの望ましい場合が多い。高質データを確保するためには、試料採取、分析、データ処理、結果整理など全段階に、QA 手法を適用せねばならない (IPCS、1992)。

6.4.1 試料採取

EDC 曝露測定を試料採取においては、以下のような重要問題がある。

- 1) 試料の代表性：曝露は、試料採取の地点や媒体に影響を与え得るような多くの異なった事情について評価される可能性がある。
- 2) 試料採取のタイミング及び頻度：試料収集を、最も懸念される曝露（長期慢性曝露と非継続的短期曝露との違いなど）、汚染パターン（例えば、継続的排出と偶発的単回汚染との違いなど）、最も懸念されるエンドポイントに対応させる必要がある。
- 3) 媒体の選定：媒体の選択は、曝露経路との関連性、試料採取の簡便性と実行可能性、更に場合によっては、倫理的配慮などの要因によって決定される。このようにして選択された媒体の検体が評価されることになる。
- 4) 統計処理：試料採取の妥当性を確保するため、適切な統計学的手法が必要である（プール試料と個別試料との違い、種々の地点・生物種について得られた試料数など）。
- 5) 試料の貯蔵・保管方法：試料採取器具や実験室設備ににおいて普通見出される潜在的 EDCs 作用をもつ化学物質（可塑剤など）汚染を回避するため、特別な方法を用いることが必要である。

6.4.2 分析上考慮すべき問題

6.4.2.1 特定化学物質の測定. ほとんどの EDCs について定められた分析方法がすぐに利用可能である。多くの国々において認定機関や認定要件が定められており、被験化学物質の基準値や食物中・環境中残留物質の検査方法が提示されている。発展途上国においては、農薬曝露監視の取り組みは不十分で、激しく変動することが普通である (Gonzales, 1999)。IOS、AOACI、IUPAC、CODEX、OECD など多くの国際機関が、容認可能なデータ取得に向けた方法の標準化とプロトコール作成の推進を主導している (Ambrus, 1999)。

大抵の環境中 OCs 監視の調査研究では、夾雑する非ハロゲン化学物質からハロゲン化学物質を選択的に検出する電子捕獲検出器を用いているために、非意図的な偏りが避けられない。これら OCs は、残留性や蓄積性も高いため、科学者の関心が偏向している。他の一連の潜在的 EDCs (APs、ビスフェノールA、2,4,6-トリブロモフェノール、テトラブロモビスフェノールA、OH-PCBs など) は、どちらかといえば特別に分析対象とする必然性に欠け、見過ごされる場合がある。また、多くのフェノール類も天然に産生するが (Gribble, 2000)、これらの化学物質は、広い意味での EDCs 監視計画において、あまり関心が払われてこなかった。

同時分析法は、単一サンプル中の広範な化学物質が検査可能であり、スクリーニングを目的とする場合に有効である。OCs、有機リン酸エステル、ジベンゾダイオキシシ/ジベンゾフランのために特別に設計された同時分析法が存在する。他種類の化学物質(フェノール、ステロイド、カルバミン酸エステルなど) は、種類や物質に特異的な方法によって分析される。特定の分析方法の適用は、特異性の向上をもたらし、従来見落されていた汚染化学物質を検出する可能性がある。食物検査に使用される化学物質一斉分析法は、他の生物媒体への適用が可能である (Seiber, 1999)。

6.4.2.2 未知試料の同定. 生物学的手法は、EDC 活性化学物質が特定環境試料中に存在するか否かを判定するための一般スクリーニングに用いることが可能だが、特定の化学物質を特異的に同定する能力は限界がある。原因化学物質を確実に同定し、存在する EDCs を定量するためには、従来の化学的手法に生物学的手法を加味すべきである (Cech ら、1008)。EDCs 化学分析は、他の残留性有機化学物質に用いられる分析に類似している。EDCs に推奨される方法は、生物学的分析方法との組み合わせによって、低濃度化学物質の構造に関する情報を最大限にもたらし方法 (質量分析法など) である (以下を参照)。

6.4.2.2.1 生物学を基礎とした方法. ホルモン活性化学物質の検出において今日利用可能な主要な生物学的方法は、エストロゲン性化学物質や抗エストロゲン性化学物質を評価する *in vitro* バイオアッセイである。アンドロゲン、抗アンドロゲン、甲状腺活性化学物質、ステロイド生合成・代謝阻害化学物質を検出するための手法も開発途上にある。EDCs を同定、選別、検出するために、標準化、有効性検証化された試験ガイドラインの開発に向け、国際的な取り組みと各国での取り組みが進行中である (OECD, 1999b)。 *In vitro* バイオアッセイには、 *in situ* 生物濃縮を適切に見積もることが出来ないこと、代謝能が欠落していること、試験そのものが通常は単一作用メカニズムのみに特異的であるという事実 (受容体結合など) など、いくつかの欠点がある。可能性のある全内分泌攪乱メカニズムについて調べる必要がある場合は、一連の選別試験を実施せねばならない。(Matthews ら、2000)。

生物学を基礎とした方法は、以下の通り分類される。

- a) **受容体結合試験**は、アゴニストやアンタゴニストの特異的細胞受容体への結合を測定する。この方法では、試験生物 (しばしばマウスやラット) から受容体リガンドを単離することが必要となる。次いで、受容体リガンドは、結合力の強い放射性リガンドと種々濃度の被験化学物質や被験混合物と同時に混合保温処理される。放射性リガンドの置換は、しばしば E_2 のような既知活性化学物質を対象にして追跡される。薬物動態及び代謝影響は *in vivo* 影響の一部であるので、受容体結合試験では考慮されない (Kramer ら、1997)。影響が検出される濃度範囲が極めて低い試験も存在し (具体的には 0.06~0.2 ppt)、このような濃度範囲は、多くの最新分析方法において検出限界の範囲内である (Woog ら、1992、Soto ら、1995)。
- b) **細胞増殖試験**は、ラット下垂体細胞、いくつかのヒト乳がん細胞系統 (MCF-7 細胞や T47-D 細胞など) のような標的器官内において、エストロゲンが細胞増殖を誘導する能力によるものである。細胞増殖は、エストロゲン作用の特徴とみなされ (Hertz、1985)、極めて低濃度のエストロゲン様化学物質によって誘導される (Soto ら、1997)。
- c) **受容体依存性遺伝子発現試験** では、単離された細胞系統において、化学物質が受容体依存性の遺伝子応答や発現遺伝子蛋白質誘導を促進する能力を測定する。種々の試験においては、組み換え遺伝子発現 (糖分解酵素の産生など) を検出可能な遺伝子導入哺乳類細胞や遺伝子導入酵母細胞の利用が必要となる。試験後の糖濃度は、化学物質の効力に相関性をもつ。この試験においても、薬物動態及び代謝影響は考慮されない。受容体依存性遺伝子を全身に安定導入されたゼブラフィッシュを用いての *in vivo* 試験が開発されている (Legler、2000)。この試験ではルシフェラーゼ遺伝子誘導が形質導入 ER 転写活性の検出に利用されており、全身曝露したゼブラフィッシュにおいて測定可能な

応答は、E₂ 0.1 nM の低濃度に及ぶ。

- d) **免疫測定法**は、特定化学物質の存在を、生物学的意味をもつ低濃度で検出することができる (Moye, 1999a)。ppb 未満の濃度範囲の化学物質を検出可能な、ELISA 法と同程度の有効性をもつ古典的の化学物質検出方法は、数えるほどしかない。古典的方法において同程度の検出限界値の達成を図るには、検体検出能力の向上のために予備濃縮、誘導体化、超高感度検出器(電子捕獲法など)の採用など、更なる取り組みが必要となる (Moye, 1999b)。その一方で、免疫測定法は、特定化学物質に対する特異的検出方法に欠けている場合がある。

6.4.2.2.2 TIE 的な取り組み. TIE 的な取り組みでは、EDCs を同定するために、化学的方法を組み合わせた *in vitro* バイオアッセイを利用する。技術的には、水や食物といった媒体中の内分泌活性成分を同定するために、毒性に基づく分画手法を用いる (Mount ら、1988)。その課題は、関連化学物質を分画・単離するための効果的方法と、対象試験における影響に関するエンドポイントを識別するバイオアッセイとを組み合わせることである。TIE 研究において用いられているバイオアッセイには、コプラナーPCBs、ダイオキシン類、ジベンゾフラン類に対する ER CALUX (Pauwels ら、2000)、ER アゴニストに対する ER CALUX、組み換え酵母試験 (Routledge ら、1996)、レポーター遺伝子試験 (Snyder ら、2000) がある。組み換え酵母 TIE システムは下水処理排水を評価するために利用され (Desbrow ら、1998)、レポーター遺伝子試験は水試料を対象に利用されている (Snyder ら、2000)。TIE 法は、混合物中のいくつかの成分が他の成分よりもホルモン活性が高い場合には有用である。外因性ホルモンに対する内因性ホルモンの相対的寄与を評価するため、TIE 法の血漿への利用が提案されてきた (Sonnenschein ら、1995、Soto ら、1997)。

6.4.3 混合物

潜在的内分泌攪乱化学物質の多くは、異性体や同族体の混合物として存在する (表 6.2 参照)。混合物中の個々の化学物質は、活性に大きく差があり、予測不可能な挙動で相互作用する可能性がある。

関連する異性体、同族体、類似物質を選択的に同定する方法を用いることは、可能ではあるが、時間と労力を要する。そのような混合物の分析方法は、正確な定量と同定のために特定異性体の標準物質が結局のところ必要である。全種類の EDCs についてではなく、一部 (PCBs、PCDDs、PBDEs など) についてのみ標準物質は入手可能である。混合物を対象に得られた過去データは今後とも価値をもち続けるが、このような過去の情報を、今日個々の成分について得られているデータに関連付ける努力が必要とされる。そうすること

によって、過去の曝露データが潜在的長期影響に関連付けられることになる。利用可能な最高技術を用いて混合物を監視し続けることも必要である。そうすることによって、個々の異性体データが得られるに従って曝露の再構成化に役立てることが可能である。

表 6.2 代表的な EDCs 混合物

化学物質名	予想される成分数	確認されている成分数	理論上の光学活性体数	入手可能な標準品	
				成分数	キラル構造数
Tech-DDT	6	6	2	6	2
Tech-クロルデン	主要成分数 7 (微量成分数 >120)	~120 (自然条件下ではこれ以上)	主要成分数 4 (微量成分数~60)	4	3 (主要成分数)
トキサフェン	>200	13	同定されている数 3 (残り 97%は理論的な存在)	9	なし
PCBs	209	209	19 (回転異性体)	209	なし
NP	40	23	>30	なし	なし
PCDDs	19	19	0	19	なし
PCDFs	16	16	0	16	なし
ポリ臭化ビフェニールエーテル	209	~15	0	41	なし
フタル酸エステル	18	18	2	7	なし
HCHs	4	4	1	4	1
エンドサルファン	2	2	2	2	2

6.4.3.1 光学活性について考慮すべき事項. 光学活性の概念は、有機化学物質の空間的、三次元的な立体配置や、重ねあわせが不可能な鏡像の存在に関連している (Kallenborn と Hühnerfusse、2001)。不斉中心をもつ化学物質や立体障害をもつ配置型に由来する異性体 (回転異性体) は、その不斉中心あるいは配置型に関して 2 種類の構造をもつ。不斉中心数の増加に伴い、可能な立体配置数は対数的に増加する。可能な各立体配置は、因果関係の評価において常に考慮すべきような、極めて特異的な生物学的影響をもつ可能性がある。いくつかの EDC 影響は、受容体結合によるものである。受容体結合は、立体配置的なパラメータに依存するので、これら光学活性構造を明確にしておくことは極めて重要である。

PCB 同族体の多くは、メチルスルフォン PCB や (Ellerichmann ら、1998) やトキサフェン異性体やクロルデンの個々成分 (Kallenborn と Hühnerfuss、2001) と同じく、一組の光学活性体あるいは回転異性体として存在する (Rodman ら、1991、Wong ら、2000)。NP 混合物には、120 もの個々の構造があり、そのうちのいくつかには光学異性体が存在する。*o,p'*-DDT の内分泌影響における立体選択性が最近報告され、Wiese ら (1999) は *o,p'*-DDT の *R*(-) 異性体の方が強い ER- α 結合力をもつことを見出した。エストロゲン依存性レポーター試験において、*o,p'*-DDT の *R*(-) 異性体が *S*(+) 異性体よりも有意に活性が強いことも判明した (Wiese ら、1999)。*o,p'*-メトキシクロルにおいても、光学異性体選択的な抗アンドロゲン活性が認められた (Wiese ら、1999)。数多くの農薬の光学活性体を分離するために、クロマトグラフィー的手法が利用されている (Buser ら、2000、Garrison ら、1996、Müller ら、1992、Ren ら、2000)。

6.4.3.2 TEF/TEQ 手法. ダイオキシン類及びダイオキシン様化学物質のために開発された TEF/TEQ 系と同様の手法が、EDCs についても開発可能であることが示唆されている (6.3.2.1 項参照)。この手法は、これら化学物質のデータ処理を容易にし、ある一試料に対して単一の毒性測定値を提示する。混合物中の個々同族体量に係数比重をかける種々の系が用いられてきた (WHO、1997)。EDCs を対象に同様の手法を用いる場合、環境試料中の活性を E₂ 当量という用語によって表記することになるかもしれない。このような手法は、Servos ら (2001) が環境試料中の NP 活性を総 E₂ 当量の用語で報告する際に既に用いられている。

6.4.4 QA/QC

化学物質曝露評価における QA/QC 手法の重要性について総説が出されている (IPCS、1992)。適切な QA/QC 手法無しに、地球規模での監視データを比較することは困難である。EDC 化学物質の測定においては、媒体への内部標準物質添加、精度測定、内部標準物質の回収の検討、検出限界の決定、手法の妥当性評価、連続的補正点検、既知の再現性をもつ標準曲線による定量、頻繁な証拠書類の提出、標準操作手順の厳守、器材性能の確認、標準物質の使用期限の厳守、可能な場合には実験室間比較、基準となる標準試料の分析、QA 審査の励行など、特定の要件が特に重要である (Fong、1999)。QA/QC の生物学的測定への適用も同じく重要である。QA/QC 手法は、実施中の調査研究において予測される EDC 濃度及び生物学的変動に対応するものである必要がある (Bignert ら、1994)。

EDCs の検出限界には大幅な差がある。ある特定の OCs は、電子捕獲型 GC 及び GC/MS に応答性をもつことから、最も小さい検出限界をもつ。0.001 ng/L より低い水中検出限界は、

高容量試料予備濃縮法によって達成される。OC 混合物 (PCBs、クロルデン、トキサフェンなど) の検出限界は、ある特異の OC 化学物質よりは高い。ハロゲン化されていない化学物質 (フタル酸エステルなど) の検出限界は、ハロゲン化 EDCs よりも 100 倍も高い場合がある。E₂ やノニルフェノールのような高極性 EDCs の検出限界も、OCs と比較して高い。このような検出限界の違いによって、残留性 EDCs に偏向したデータ収集につながる可能性がある。新たに高感度方法が開発されているが、この方法によれば広範囲の EDCs が検出可能であり、EDCs を対象とした環境曝露の分析分野に波及効果を与えつつある。曝露に影響に関連付けようとする場合、検出限界を考慮する必要がある。

6.4.5 曝露モデル

曝露モデルは、経験的なフレームワークであって、利用可能な入力データから曝露パラメータを計算することが出来る。大気・食物・水あるいはそのすべてを経由した野生生物やヒトの曝露計算のために、化学物質放出量推定値、挙動・移動モデル、生活習慣に基づく潜在的曝露が用いられる。モデルは、その階層、対象地域、必要入力データ、必須データ処理能力によって多様である (Calimari, 2001, SETAC, 1994, Mackay, 2001, IPCS, 2000)。潜在的生物濃縮性は既存モデルを用いて計算可能であり、長期に渡る監視・評価計画を実施せずして外部曝露濃度の推定が可能な場合もある (Sharp と Mackay, 2000)。US EPA 文書「燃焼設備から発生するダイオキシン類によるヒト健康リスク」において、広く認められたヒト生物濃縮曝露モデルが記載されている (Sharp と Mackay, 2000, US EPA, 1994, 1998a, 1999b)。

非残留性 EDCs について補正された曝露モデルは、モデルの妥当性確認のために入手可能なデータが目下少なく、普及していない。これら化学物質曝露は、サロゲート物質から計算する必要がある。「欧州既存化学物質規制」のもと、NP、ビスフェノール A、数種のフタル酸エステル類などの化学物質を対象に、潜在的曝露のモデル化が実施されてきた。ヒトの食物摂取を経由した農薬曝露を推定するモデルは、多くの標準的毒性学教科書に記載されている通りであり、マーケットバスケット・データとモニタリング・プログラムによる検証を用いることで農薬に対する定期的更新も実施されてきた (NRC, 1993, 01in, 1998, IPCS, 2000)。このようなモデルは、農薬以外の EDCs にも用いることが出来るが、今日まで用いられていない。これはおそらく、このような化学物質のほとんどに対し、定期的監視システムが存在しないためであろう。

Thomann ら (1984) が開発した PCB 食物連鎖モデルが、ハドソン川における将来の残留濃度と潜在的ヒト曝露とを予測するために用いられた。Thomann ら (1984) は、主要な取り

込み経路としての摂食とエア吸収についてモデル化を行った。ヒトの動物性食物摂取については、TCDDの燃焼設備排出物からのヒトへの移行を扱ったモデルが存在する (Fries と Paustenbach, 1999)。成人に対する用量に基づいた現在のモデルは、子宮内曝露や新生児曝露の計算には不向きである。現在のモデルを広く使用するに先立ち、監視データとの比較からモデルの妥当性を確認する必要がある。

6.4.6 SARs

未試験化学物質の潜在的 EDC 活性を推定するために、構造活性法を用いることが可能である。これまでのところ、進展のほとんどが ER 結合性の構造に限定されている。バイオアッセイ試験が細胞内濃度以下での結合を原理とするものであって、結合部位における活性蛋白質が十分に解明されるのなら、SAR 手法が役立つ可能性がある。ステロイド性及び非ステロイド性の種々リガンドの ER 結合力について、広範な調査研究が Waller ら (1996b) によって実施された。立体的特性及び静電的特性に基づいて 55 種類の化学物質が比較された。DES、エストロジェンのいくつか、アンドロジェン、PCBs、OCs、フタル酸エステル、これらの水酸基をもつ代謝物には、いずれも結合力と、統計的に有意性が高く内因的にも首尾一貫した相関性が認められた。この手法による予測の限界は、データ入手に用いた *in vitro* 系と *in vivo* 系との不整合性に由来するものであった (Jobling, 1998)。

SARs は、ある特定の作用機構に共通する構造上の特性を同定する際にも役立つ。Bitman ら (1986) は、動物における *o,p'*-DDT のエストロジェン活性を報告した際に、DES と *o,p'*-DDT とに構造上の類似性を認めた。環境エストロジェンのほとんどがパラ置換のフェノール基をもっている (Jordan ら, 1985)。フェノール基が 1 個以上ある場合は、化学物質のエストロジェン性は増強される (メトキシクロル代謝物やジフェノール性イソフラボノイドなど)。また、化学結合の自由回転性の乏しさも、受容体結合性を向上させ、エストロジェン活性の予想指標となっているようにみえる。立体配座的に固定された PCBs は、ステロイドに類似した構造をもつ (McKinney ら, 1994)。Dodge (1998) は、PCBs の定量的構造活性研究において、PCB 分子内芳香環電子密度と ER 結合力とに相関関係があることを報告している。また、PCB フェノール環が水酸基で置換されると、ER 結合力を強化する (Korach ら, 1988)。立体配座的な固定化の概念は、*o,p'* DDT がエストロジェン活性をもつのに対し、*p,p'*-DDT では大幅に活性が弱いという事実の説明に役立つ。

Ashby (1998) は、各内分泌攪乱作用メカニズムに対し、異なった SARs が必要であることを示唆した。現在 SARs のほとんどは、 E_2 化学構造に関連した ER との相互作用に基づいており、構造的に E_2 と隔たりのある類縁体 (キーポンやディルドリンなど) やテストステロ

ン（ビンクロゾリンなど）に対しては、予測性が乏しい。その他 SAR 手法の欠点としては、本来の分子の活性に影響するような代謝変換を考慮していないことである。例えば、*s*-メソプレンは、光分解後にレチノイン酸受容体結合性の分子種を産生し、エストロジェン活性を示す（La Clair ら、1998）。ビンクロゾリンの場合にも同様の事例が存在し、この場合は、*in vivo* 活性化によって *in vitro* 試験では検出不可能なアンドロジェン活性代謝物が生成する（Kelce ら、1994）。

6.5 まとめ

本章では、野生生物及びヒトの EDCs 曝露測定に伴う複雑性と特別課題について説明した。野生生物種とヒト集団に EDCs 曝露が発生していることを、データは明らかに示している。だが、限定的な場合を除き、曝露と内分泌系経路有害影響とに特異的な相関性を強く示すデータは入手できない。曝露データの大部分は、ヨーロッパ及び北米の POPs に集中している。他地域における非残留性 EDCs を対象にした比較可能なデータは入手出来ず、真の意味で地球規模的な評価を行うことを困難にしている。既存の曝露データセットは、母乳中 POPs 濃度やいくつかのヒト血中濃度を対象にしたデータを除き、内因的曝露（血液、組織など）ではなく外因的曝露（空気、食物、水など）に関連したものである。あらゆる生物種と媒体を対象に潜在的 EDCs のすべてを監視することは、地球規模的には非現実的である。監視及び曝露データ収集の優先度を確立しデータの比較性を確保するために、国際的で協調的な努力と機構を確立する必要がある。

