



**International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors 2001**

*Saturday, December 15 - Monday, December 17, 2001*

**パート 1**

2001年12月15日(土)

**Part 1**

Saturday, December 15, 2001

**我が国の取組の現状**

---

**Current Strategy in Japan**

## 環境省における内分泌攪乱化学物質問題への対応について

安達 一彦  
環境省

### 1. はじめに

国際的な意見交換を行うこと等を目的として平成10年から内分泌攪乱化学物質国際シンポジウムを開催して今年で第4回を迎えることとなりました。

本年3月には、国立環境研究所に環境ホルモン総合研究棟が完成。

環境省では、内分泌攪乱化学物質問題において、国際的なリーダーシップをとりつつ、今後とも科学的知見の蓄積に貢献してまいりたいと考えています。

### 2. 内分泌攪乱化学物質問題についての取り組み

内分泌攪乱化学物質は、生体内の内分泌作用を攪乱し、生殖機能障害や悪性腫瘍などを引き起こすことによって、世代を越えて人の健康や生態系に甚大な影響をもたらす恐れのあるものとして、国際的にも重要な課題の一つとなっています。

1998年5月、内分泌攪乱化学物質問題についての環境省の基本的な考え方や今後進めていく具体的な方針等を示したものとして「環境ホルモン戦略計画SPEED '98」を公表しました。

### 3. 「環境ホルモン戦略計画SPEED '98」（2001年11月更新）の概要

「環境ホルモン戦略計画SPEED '98」では、内分泌攪乱作用の有無、強弱、メカニズム等を解明するための調査研究を推進することを提言し、具体的には、以下の4点について取り組みを進めることとしています。

- (1) 環境中での検出状況、野生生物等への影響に係る実態調査の推進
- (2) 試験研究及び技術開発の推進
- (3) 環境リスク評価、環境リスク管理及び情報提供の推進
- (4) 国際的なネットワーク強化のための努力

### 4. 環境リスク評価の実施状況

政府のミレニアムプロジェクトの一環として、SPEED '98で内分泌攪乱作用を有すると疑われている化学物質としてリストアップされた化学物質から、平成12年度には12物質、平成13年度には8物質を選定し、現在、環境リスク評価を進めています。

このうち、本年8月にはノニルフェノールについて、メダカに対する影響評価試験を行った結果、環境中で見られるような低濃度で精巣卵の出現が見られ、また、試験管内試験によっても女性ホルモン受容体との結合性が強いことを、世界ではじめて確認しました。

## 5. 国際共同研究等への取組み

OECDを中心として先進各国が協力・分担して取り組んでいるスクリーニング試験法等の開発に参加するとともに、一昨年12月からは、内分泌攪乱化学物質の生態影響についての日英国際共同研究、本年からは日韓の実施取極めに基づく共同研究を開始しました。

## 6. 残留性有機汚染物質（いわゆるPOPs）についての対応状況

環境中での残留性が高いPCB、DDT等の有害化学物質は、地球規模の環境汚染が報告されており、国際的な枠組みでの対策が求められていることから、平成13年5月に残留性有機汚染物質（POPs）に関するストックホルム条約（通称POPs条約）が採択された。

我が国としても、早期締結に向けて国内体制の整備に取り組んで参りたいと考えている。

注) POPs : Persistent Organic Pollutants、残留性有機汚染物質

### ストックホルム（POPs）条約の概要

#### 背景

環境中での残留性が高いPCB、DDT等の12種類のPOPs（Persistent Organic Pollutants、残留性有機汚染物質）については、一部の国々のみの取組では地球環境汚染の防止には不十分であることから、国際的に協調してその製造・使用の禁止、排出の削減等を行う必要性が高まった。

#### 条約案の概要

##### 1 目的

リオ宣言第15原則に掲げられた予防的アプローチに留意し、残留性有機汚染物質に対して、人の健康の保護及び環境の保全を図る。

##### 2 主な対策手法

- ①製造、使用の原則禁止（アルドリノ、クロルデン、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、ヘキサクロロベンゼン、マイレックス、トキサフェン、PCB）
- ②製造、使用の制限（DDT（マラリア対策用のみ対象外））
- ③非意図的生成物質（ダイオキシン・ジベンゾフラン、ヘキサクロロベンゼン、PCB）の排出の削減
- ④POPsを含む廃棄物・ストックパイルの適正処理（実施計画を各国が策定）

##### 3 その他の措置

- 新規POPsの製造を予防するための措置を既存の規制・評価スキームに導入
- POPsの製造、使用の廃絶や排出の削減、代替物質に関する締約国間の情報交換
- POPsに関する情報の公開、教育等の実施、PRTR等による排出量・廃棄量の把握・公表等
- POPsによる影響の評価・排出抑制技術等の調査研究、モニタリングの推進等
- 途上国に対する技術・資金援助の実施

#### 今後の予定

- 50ヶ国の締結で条約が発効

## 内分泌攪乱化学物質問題に関する我が国の取組の現状 —環境省全国一斉調査の結果—

田辺 信介

愛媛大学 沿岸環境科学研究センター

シーア・コルボーンらの著書「Our Stolen Future（訳本名：奪われし未来）」が1996年に米国で出版され、内分泌攪乱化学物質による環境汚染と生態影響に大きな社会的関心が寄せられて以来5年が経過した。この間わが国では多くの研究機関や行政機関がこの問題に取り組んできたが、環境省（当時：環境庁）は「外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する研究班（座長：鈴木継美元国立環境研究所所長）」がまとめた中間報告を受け、「環境ホルモン戦略計画SPEED'98」を1998年5月に発表し、この問題に対処する基本的な考え方と具体策を打ち出した。SPEED'98では、内分泌攪乱作用を有する可能性があり、優先的に調査を行う必要があると思われる化学物質約70種を選定するとともに、

- 1) 環境中での検出状況、野生生物等への影響に係る実態調査
- 2) 試験研究及び技術開発
- 3) 環境リスク評価、環境リスク管理及び情報提供
- 4) 国際的なネットワーク強化

の四つの対策の推進することを提示した。このうち1)の方針を受けて環境省は、SPEED'98で示された約70物質を中心に、一般環境（大気・水質・底質・土壌・水生生物）や野生生物等を対象とした全国一斉調査を平成10年度から実施している。平成10年度から12年度に行われた調査結果は検討会の審議を経て、環境省のホームページ等で公表されている。

ここでは、これまでに公表されている一斉調査の結果をとりまとめ、日本の環境においてどのような内分泌攪乱化学物質が検出され、どのようなメディアに存在しているのか、また生態系やヒト、野生生物にどのように移行し、蓄積しているのか、その分布や挙動の態様について紹介したい。

調査結果の取りまとめにあたっては、主に下記の資料を活用した。

- ・平成11年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料  
（平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査結果等）
- ・平成12年度第2回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料  
（平成11年度環境負荷量調査の結果等）
- ・平成13年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料  
（魚類における内分泌攪乱作用の試験結果等）
- ・平成13年度第2回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料  
（平成12年度内分泌攪乱化学物質に係る環境実態調査結果等）

ダイオキシン類については、内分泌攪乱化学物質と別途の扱いで全国一斉調査等が行われているが、本報告では下記の資料をもとに内分泌攪乱化学物質と併せて考察した。

- ・ダイオキシン類緊急全国一斉調査結果について（平成10年度実施）
- ・ダイオキシン類の人体、血液、野生生物及び食事中的蓄積状況等について—平成10年度調査結果—

- ・野生生物のダイオキシン類蓄積状況等調査結果についてー平成11年度調査結果ー
- ・平成10年度ダイオキシン類コアサンプリング調査（年代別ダイオキシン類測定）結果について

<参考>

上記の資料は、環境省の下記のホームページで公開されている。

「環境・化学物質対策（環境保健部担当）」：<http://www.env.go.jp/chemi/index.html>  
報告書・行政資料

ー内分泌攪乱化学物質問題について：<http://www.env.go.jp/chemi/end/index.html>

ーダイオキシン対策について：<http://www.env.go.jp/chemi/dioxin/index.html>

「報道発表資料」：<http://www.env.go.jp/press/index.html>

# 内分泌攪乱化学物質の日本におけるヒト胎児複合曝露の現状

森 千里

千葉大学大学院医学研究院

はじめに

現在われわれの体の中には、ホルモンの状態を乱すとされる多くの化学物質(内分泌攪乱化学物質)が存在している。ヒトや動物が胎児期あるいは新生児期に、これらの内分泌攪乱化学物質に曝露されると、生殖系や神経系に悪影響をおよぼすことが心配されている。

われわれは、へその緒や臍帯血を用いて、内分泌攪乱化学物質の日本におけるヒト胎児曝露について調査を行っている。胎児の組織の一部であるへその緒は、健康な新生児から集められた。なお、この研究は、千葉大学、山梨医科大学、京都大学の倫理委員会で承認を得ており、新生児のへその緒を分析することについては、母親の同意も得ている。

結果および考察

- 1) へその緒および臍帯血から、ダイオキシン類(PCDDs+PCDFs+co-PCBs)、PCB類、DDT類、DDE類、アルドリン、ヘキサクロロシクロヘキサン(HCH)、クロルデン、HCB、重金属(カドミウム、鉛)、ビスフェノールA、そして植物エストロゲンが検出された。
- 2) 第1子から検出されるダイオキシン類やPCB、DDEなどの蓄積性のある化学物質の濃度は、第2子や第3子における濃度よりも高い傾向が認められた。
- 3) へその緒中のPCB類と、DDE類、HCB、HCHの濃度には相関関係があることが明らかになった。
- 4) 蓄積性のある化学物質による胎児への曝露量は、母親の年齢と相関関係がある。妊娠中に蓄積性化学物質の摂取を避けたとしても、人体にはすでに化合物が蓄積されているため、母親から胎児へと移行すると見られる。
- 5) 胎児の内分泌状態は、母親から胎児へと移行する植物エストロゲンに影響されている。

へその緒および臍帯血を調査することによって、われわれは、日本人の胎児が多くの化学物質に曝露している可能性を見出した。

内分泌攪乱化学物質問題を解決するためには、化学物質の曝露によるリスクを評価することが非常に重要である。今回の発表では、内分泌攪乱化学物質問題を含めた化学物質によるヒト胎児複合曝露についての新しいリスク評価を確立する必要性についても言及したい。

## 魚類への有害性評価のための試験体系

横田 弘文、関 雅範、野坂 俊樹、中井 誠、前田 正伸、矢可部芳洲、田所 博  
財団法人 化学物質評価研究機構

内分泌攪乱作用が疑われる化学物質については、環境実態調査の結果や内分泌攪乱作用に関する科学的知見を踏まえ、優先物質について有害性を評価する取り組みが環境省において開始されている。この中で魚類への有害性を評価する試験体系は、主としてエストロジェン様及びアンドロジェン様作用を評価する目的で、以下に示すメダカを用いたいくつかのスクリーニング法及び試験法から構成されている。

### <スクリーニング法>

#### 1. ビテロジェニンアッセイ

本アッセイはメダカのビテロジェニン産生に対する化学物質の影響を調査することを目的としている。成熟したメダカを化学物質に21日間流水条件下で暴露し、暴露終了に肝臓中のビテロジェニン濃度を測定する。ビテロジェニンは卵黄前駆タンパク質であり、通常はエストロジェンに依存して成熟したメスの肝臓でのみ合成される。そのため、オスにおけるビテロジェニン合成は、エストロジェン様物質の暴露に対する特異的なバイオマーカーとして用いられている。

#### 2. パーシャルライフサイクル試験

本試験はメダカの性分化に及ぼす化学物質の内分泌攪乱作用を評価するものである。メダカを受精卵からふ化後約60日令まで化学物質に暴露し、その間、胚発生、ふ化、ふ化後の死亡、成長、二次性徴、生殖腺異常及びビテロジェニン濃度を調べる。メダカをエストロジェンやアンドロジェンのホルモンで処理すると、両性生殖腺（精巣卵）を発達させることが知られているため、メダカは性分化に対する内分泌攪乱作用を評価するための優れた試験魚種である。

### <試験法>

#### 1. フルライフサイクル試験

本試験はメダカを2世代にわたり連続して暴露し、化学物質の全生涯に及ぼす影響を評価するものである。観察する項目は胚発生、ふ化、ふ化後の死亡、成長、二次性徴、生殖腺異常、産卵数、受精率であり、次世代についても産卵数、受精率以外の項目については同様に観察する。

### <in vitro アッセイ>

#### 1. エストロジェン受容体結合アッセイ

大腸菌により発現させたメダカのエストロジェン受容体を用いて、化学物質の受容体への結合能力を測定するアッセイ法である。本アッセイ法は上記の生体を用いた試験結果を補完し、化学物質の作用機序を確認することを目的としている。

## 内分泌攪乱作用が疑われる物質の低用量における影響評価の試み

青山 博昭

財団法人 残留農薬研究所

化学物質がヒトや野生生物に及ぼす影響の程度は、一般に暴露された用量（濃度）に比例するものと考えられてきた。しかしながら、主としてエストロゲン様作用をもつある種の化学物質に関しては、このような一般法則が当てはまらないことを示唆する最新の研究成果も少なからず存在する。内分泌攪乱作用が疑われる物質の多くはエストロゲン様作用をもつことが知られているが、これらの物質を低用量で動物に投与したいくつかの実験では、高用量でみられた影響が用量の低下と共に一旦消失し、従来から実施されている毒性試験で得られた無影響量よりもさらに低い用量で再度影響が現れる可能性を示唆する現象が認められると報告されているのである。我々は、エストロゲン様作用を持つことが明らかにされているノニルフェノールとオクチルフェノールについて低用量域における内分泌攪乱作用の有無を評価するため、まず合成エストロゲンの一種であるエチニルエストラジオールを陽性対照物質に用いたパイロット試験を実施して、エストロゲン様作用を持つ化学物質の低用量影響を正確に検出する試験法の開発に取り組んでいる。我々が提唱する方法は、ラットを用いた1世代生殖試験に種々の改良を加えた、トランスジェネレーションアッセイと呼ばれる試験法である。

通常の生殖試験では、実験動物として用いる齧歯類の動物（ラットやマウスなど）の1腹あたりの産児数が多いため、産児の一部を哺育期間中に間引きして、哺育児数を一定に保つ手法が用いられる。また、児動物の性成熟や生殖能力は、同腹児の一部（通常は1腹当たり雌雄各1匹）についてのみ丹念に調べられる。このような手法には、どの腹についても哺育児の栄養状態を一定に保つことにより児動物の成長を正確に評価することができること、限られた人員や設備であっても精度の高い検査を実施することができることなどの長所がある。しかし、この試験法には、出現頻度の低い異常を見落とす恐れも同時に存在する。また、選抜された個体が集団の平均から大きくはずれた特性を持つような動物であった場合には、偶然の偏りにより化学物質の影響を過大評価する可能性も否定できない。そこで、エストロゲン様作用を持つ物質の低用量暴露で引き起こされる可能性のある微妙な変化を正確に検出するため、今回のトランスジェネレーションアッセイでは哺育児の間引きを一切行わず、すべての児動物について一定時期に同一の検査が実施される。また、検査項目についても、エストロゲン様作用の指標となることが期待される項目が可能な限り盛り込まれている。

我々が通常摂取する食品や動物に与える飼料には、植物に由来するエストロゲン様物質（植物エストロゲン）が豊富に含まれている。また、環境汚染物質の混入も極微量ながら認められる。エストロゲン様作用が疑われる化学物質の低用量影響を正確に評価するためには、動物に給与する飼料からあらゆるエストロゲン様作用物質を可能な限り除去する必要がある。我々が実施している一連の実験では、必要に応じて植物エストロゲンを除去し、汚染物質の混入濃度も正確に分析した飼料を動物に給与することにより、被験物質以外の影響を極力排除した正確な評価を心がけている。

上述のごとき改良を加えた今回の実験では、陽性対照物質として用いたエチニルエストラジオールの低用量影響を、ほぼ満足の得られる水準で検出することができた。今回のシンポジウムでは、これまでに得られた研究成果をできるだけ平易に紹介する。

## DNAマイクロアレイ技術を用いた内分泌攪乱化学物質の影響評価の試験法開発

近藤 昭宏

宝酒造株式会社 バイオ研究所

近年、内分泌攪乱化学物質（いわゆる「環境ホルモン」）のヒトへの影響については、野生生物に見られるような深刻な影響があるのか、また胎児に対しての影響はどうかなど、さまざまな不安を人々に抱かせている。しかし、環境ホルモンの「毒性」は、従来の毒性学では十分に評価できないと考えられている。それは、環境ホルモンの作用が内分泌ホルモンレセプターを介したものであり、通常の毒性学で用いられるより低用量で作用するとか、いわゆる用量作用関係が成立しないとか、胎児期から直接あるいは間接に影響を及ぼす可能性があるなどの概念が毒性学における新しいパラダイムにあたるからである。低用量作用とは毒性学における標準的な生殖・発生毒性試験法に一般的に用いられる用量よりも低い用量で生物学的変化が引き起こされるのである。しかし、いくつかのグループでは、論文で報告されているような低用量作用は観察できなかつたと報告している。低用量作用が必ずしも追試できないとしても、無視できる現象ではないと考えられるため、この試験に我々は遺伝子技術を用いる方法を適用することを提案している。我々は、環境ホルモンの影響評価にレセプターを介した情報を遺伝子の発現パターンを用いて分析するという新しい試験法の確立を目指して研究を行っている。本日のシンポジウムでは、その成果の一端を紹介する。

遺伝子の発現量の変化は、最近の進歩がめざまいDNAマイクロアレイ技術を用いて測定することとした。DNAマイクロアレイ技術を用いれば、数千種以上の遺伝子の発現量の変化を一度に測定できるという大変な利点を持っている。よって、この技術は環境ホルモン研究分野でたいへん魅力ある技術で、上手く使えば、環境ホルモンといわれている化合物の分類が可能となる。つまり、遺伝子発現パターンを用いた新しい環境ホルモンの影響評価の試験法となると考える。しかもこの試験法では、従来の動物実験による試験法に比べて短期間で高感度な試験結果が得られ、その得られる情報量も多い。

我々が試験に用いた化合物は、SPEED 98に掲載された化合物のうち内分泌攪乱化学物質問題検討会により選定された優先してリスク評価に取り組む物質を中心に行った。実験の対象には、ステロイドホルモン感受性のヒトおよびマウスの培養細胞、加えてマウスの胎仔を用いた。その結果、ヒトの遺伝子約8,400種から約1,000種、マウスの遺伝子約9,000種から約1,500種の環境ホルモンの内分泌攪乱作用と関連すると考えられる遺伝子をDNAマイクロアレイ技術を用い選別することができた。

現在は、選別した遺伝子を整列配置したDNAチップを作成しており、それらを用いてより詳細なデータ解析を行っている。これらのデータは、化学物質ごとの遺伝子発現パターンを表しており、環境ホルモン研究の立場から見た化学物質のカテゴリー分類に役立ち、環境ホルモンの影響評価に大いに貢献できる。また、DNAチップによる解析データのデータベースを構築しつつあり、研究者間の情報の共有化を図るため早期公開を目標としている。なお、今後はかかる遺伝子技術を用いた新試験法の評価にあたり、従来のげっ歯類による子宮肥大試験法などと感度や信頼性等の点を比較検討を行いつつ試験法の確立を推進する予定である。

本研究の多くの部分は、環境省のミレニアムプロジェクトの一環として行われたものであり、共同研究者の武田健教授（東京理科大学）、井口泰泉教授（岡崎基生研）およびそれぞれの教室の皆様のご協力に深謝する。

## 水環境における内分泌攪乱化学物質に関する日英共同研究について

有菌 幸司  
熊本県立大学

内分泌攪乱化学物質に対する取り組みにおいて、各国の進歩状況についての情報交換を行うことは問題解決への課程において必要不可欠なものである。

英国は、1980年代中頃以降今日に至るまで、継続して内分泌攪乱化学物質に関する調査研究を先進的に実施してきており、本問題についての科学的知見が最も充実している国の一つである。平成11年3月に開催されたG8環境大臣会合の際、当時の真鍋環境庁長官と英国ミーチャー環境大臣との会談において、先進的な研究実績を有する両国間で内分泌攪乱化学物質について共同研究を実施することが合意され、同年12月には共同研究の実施取り決めが締結されたところである。

環境省では、本取り決めを具体化するためいくつかの重要テーマについて「内分泌攪乱化学物質問題に関する日英共同研究」として具体化した。1999年12月には日英共同研究に関するワークショップを神戸で開催し、2001年1月には英国プリマス大において第二回目のワークショップを開催した。

2001年までに、①海洋生物と淡水生物の異常に関する研究の比較分析、②魚ビテロジェニン抗体のクロスチェック、③無脊椎動物を用いた内分泌攪乱作用評価法の開発を実施するとともに、④メダカ関連のホームページを開設した。これらの研究実績等を取りまとめ報告する。

## 国立環境研究所における内分泌攪乱化学物質研究

森田 昌敏

独立行政法人国立環境研究所

国立環境研究所においては1980年代後半より内分泌攪乱物質による野生生物や人の生殖系に対する影響についての研究をダイオキシンや有機スズ化合物を中心に行ってきた。1995年にダイオキシン研究のための施設が稼動し始めてダイオキシン関連研究がより広く行われてきており、更に2001年3月には新たに環境ホルモン研究棟が竣工し、内分泌攪乱化学物質に関する研究を加速することになった。

環境ホルモン研究棟は国内外の研究者に開かれた実験研究施設であり、また環境ホルモン研究情報の交差点となるべく設計されている。陸水や海の魚貝類に対する影響の評価、環境ホルモンの化学的、生体学的計測手法の開発、哺乳類や鳥類に対する影響、環境ホルモンの環境分布や毒性等に関する情報科学研究を行う場となっている。主要な機器としては、高分解能磁気共鳴装置（800MHz）、液体クロマトグラフ質量分析装置、磁気共鳴イメージング装置（MRI）等を装備し、また特殊仕様な実験室として、有機クリーンルーム、8PF動物実験室等を整備している。環境ホルモンに生体影響は多岐にまたがるが、本研究においては、人及び野生生物の生殖系への影響及び脳神経系への影響の理解を主なターゲットとしている。

また環境ホルモンが、多数の化学物質にわたることもふまえ、物質の情報データベースを整備し、国内外の期待に答えるべく準備をはじめている。