

## 今回、紹介する調査研究

- 1 内分泌かく乱化学物質に関する研究
- 2 業務用ビルの省エネルギー対策とその削減効果について

# 1 内分泌かく乱化学物質に関する研究

## 1 はじめに

わが国では、「奪われし未来」の発売以来、内分泌かく乱化学物質問題は国民を巻き込んだ一大センセーショナルな「事件」となり、東京都では1998年7月に「東京都環境ホルモン取組方針」を策定し、全庁的な組織である検討委員会をつくりこの問題の解決に向けて取り組んでいます。当研究所でもその一環として、内分泌かく乱作用の疑われている化学物質の生態影響評価に関する研究に取り組み、1999年3月には魚類等暴露試験施設を設置し、一層の研究体制の強化を図っています。

1960年代から、北米などのDDTやPCBの汚染地域で、野生生物に繁殖力の減少などが観察されました。このような生物への影響については、DDTなどの物質による汚染が原因となって起こることが明らかにされています。しかし、どのようなメカニズムで生殖に異常を生じさせるかについては必ずしも定説はありませんでした。1991年に米国のRacineで開催された会議でこの問題に関する議論が行われ、数十の化学物質に内分泌かく乱作用がある可能性が確認され、各国で研究を進める必要性が確認されました。

そこで、当研究所では、これら内分泌かく乱作用が疑われている化学物質が実際に魚の繁殖能力に影響を与えるかどうかを調べる研究を1998年度の始めから本格的に開始しました。

この時点までに行われた多くの研究機関での研究では、いくつかの物質に暴露された魚に病理学的あるいは生理学的変化が見られたことが報告されていますが、繁殖能力との関係を明らかにした研究結果は出されていませんでした。当研究所の開始した繁殖に与える影響を調べる試験は、全体で8週間程度かかり忍耐力を必要とした試験でした。試験は予想した期間よりも速いペースで順調に進み、一定の結果を出すことができましたので、その結果を紹介します。



暴露試験に使用するメダカ

## 2 試験方法

化学物質として、人畜由来の女性ホルモン（ $17\beta$ -エストラジオール）及び女性ホルモン作用を持つといわれている化学物質（ビスフェノールA、*p*-ノニルフェノール、ジ（2-エチルヘキシル）フタル酸エステル）をメダカの雄に暴露し、産卵数と孵化数を指標として繁殖に及ぼす影響を評価しました。メダカは孵化時にすでに生殖腺が雌雄に分化していること、適正な飼育条件下では毎日産卵すること、及び小型で飼育管理が容易であることから、繁殖影響を調べる試験魚として用いました。

試験では、まず雌2尾と雄1尾のペアをつくり、2週間程度にわたり産卵数と孵化数の計測を行い、安定した受精卵を生む組み合わせを試験に用いました。対象物質として、女性ホルモン様作用が疑われている化学物質を用いているため、雄のみを2週間化学物質に暴露し、その後、雄を元のペアの雌と一緒にして1週間採卵し産卵数と孵化数を確認しました。

### 3 研究結果

図1に $17\beta$ -エストラジオールを暴露した結果を示しました。1 nmol/l暴露群では対照群と比較して産卵数及び孵化数ともに有意差は見られませんでした。3 nmol/l以上の暴露群から産卵数及び孵化数ともに有意に低下をはじめ、10 nmol/l以上の群ではほとんど孵化しませんでした。

#### 用語解説

- 1) 1 nmol/l = 0.001  $\mu$ mol/l  
mol/lは、g/lをその物質の分子量で割った値。  
1 nmol/lは、1 mol/lの10億分の1
- 2) ファットヘッドミノー  
北米において毒性試験によく用いられる小魚。
- 3) ピテロジェニン  
成熟期の雌の血清中に特異的に現れるタンパク質で卵黄タンパクの前駆物質

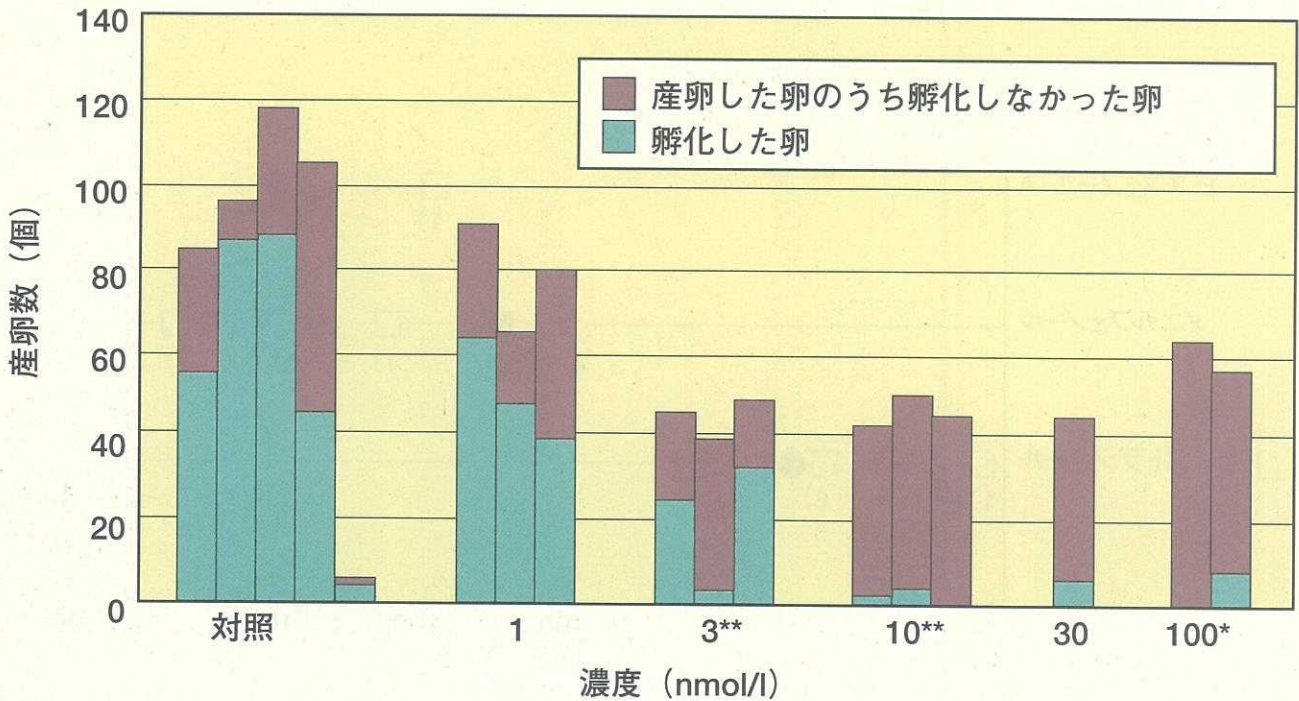


図1  $17\beta$  エストラジオールのメダカの産卵数と孵化数に与える影響

\*孵化に対照と比較して有意の差あり

\*\*産卵と孵化に対照と比較して有意の差あり

ビスフェノールAでは、3  $\mu\text{mol/l}$  (3,000nmol/l) 以下の暴露群では孵化数・産卵数ともに対照群に比較して有意な低下は見られませんでした。しかし、10  $\mu\text{mol/l}$  暴露群では孵化数・産卵数ともに対照群に比較して有意な低下が見られ、この暴露群における平均孵化数は対照群の約半分でした。

ノニルフェノールでは、各暴露群でのバラツキが大きいため、対照群と比較して孵化数に統計的な有意差は見られませんでした。しかし、0.3  $\mu\text{mol/l}$  暴露群において平均孵化数の低下が見られました。

上記3物質に暴露したメダカでは産卵数に比較して孵化数の低下が著しく、特に高濃度の暴露群において多くの未受精卵が見られました。未受精卵が多く生まれた理由としては、化学物質への暴露により雄の排精能力が低下あるいは消失したにもかかわらず、雌の産卵を促す性行動を行ったか、雄の性行動の有無に関わらず雌が産卵を行ったためのいずれかと思われます。一方、ジ(2-エチルヘキシル)フタル酸エステルに暴露したメダカでは、対照群と比較して産卵数・孵化数に暴露の影響は見られませんでした。

今回の試験結果から、繁殖能力を適切に評価するためには産卵数だけでなく孵化数も合わせて評価する試験手法の検討が重要であることを明らかにしました。

また、当所の試験で繁殖に影響の見られた濃度を、既往の文献に示された魚類を用いた試験 (in vivo) 及び細胞を用いた試験 (in vitro) において影響の見られた濃度と比較しました (図2)。

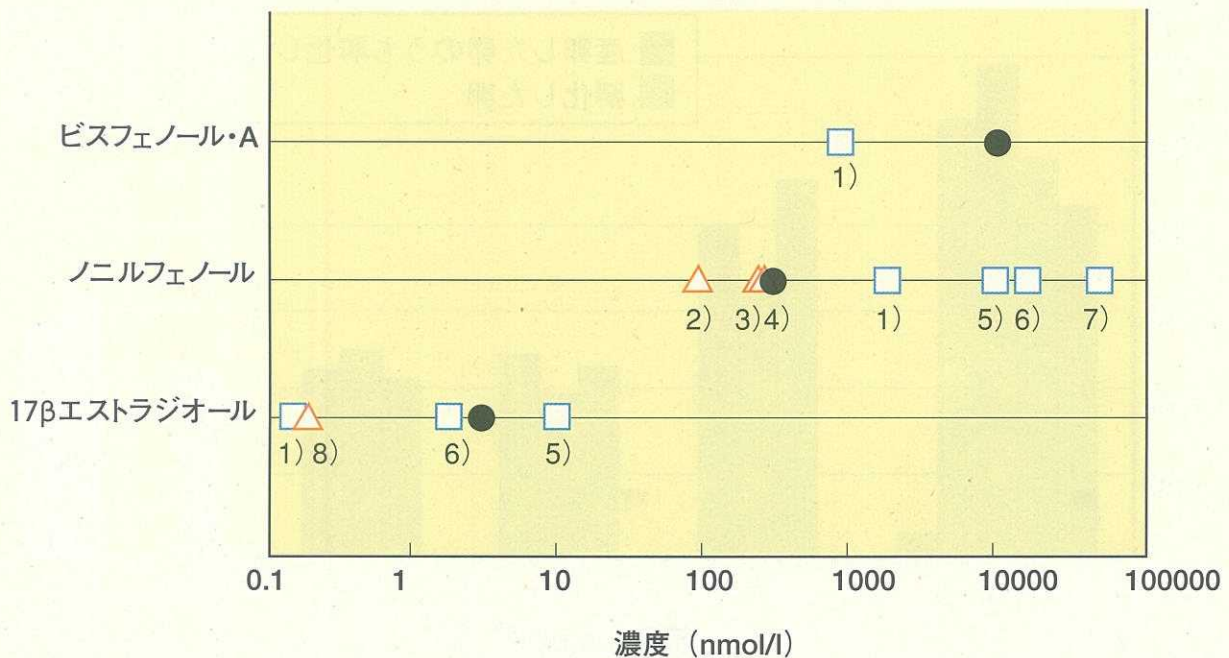


図2 本試験で毒性影響の出た濃度と文献値との比較  
 ●本試験、□ in vitro試験の文献値、△ in vivo試験の文献値  
 1) 酵母でのエストロゲンレセプターへの親和性  
 2) ニジマス魚体中でのビテロジェニンの生成  
 3) ニジマスの精巣の成長阻害  
 4) メダカ雄の精巣での卵組織の発生  
 5) ヒト乳がん細胞の増殖  
 6) マス肝細胞でのビテロジェニン遺伝子の誘導  
 7) 培養細胞でのエストロゲンレセプターへの親和性  
 8) ファットヘッドミノーでのビテロジェニンの生成

---

酵母や培養細胞あるいはヒト乳がん細胞を用いて女性ホルモン様活性を測定した結果と比較してみると、当所の試験で繁殖に影響が見られた濃度はそれらより概して低い濃度でした。唯一、酵母を用いた試験は当所試験より常に高い感受性を示しました。また、上記の多くのin vitro試験において17β-エストラジオールの影響濃度は、ノニルフェノールのそれより1000倍から100000倍低いと報告されていますが、本試験で繁殖に影響が見られたノニルフェノールの濃度は17β-エストラジオールより100倍程度低い濃度でした。この原因の一つとしては暴露期間が2週間と、in vitro試験に比較して長いことため化学物質が魚体内に蓄積したことが考えられます。

一方、他のin vivo試験において卵精巣の形成や生殖巣の生育阻害といった影響が見られた濃度は、当所試験において影響が見られた濃度とほぼ同程度でした。しかし、17β-エストラジオールでファットヘッドミノーに血中ビテロジェニンの上昇が見られた濃度は、当所試験での値より約15倍低い濃度でした。感受性は試験生物種や条件によって異なりますが、血中ビテロジェニン濃度に変化が生じる暴露濃度は、実際に繁殖能力の低下が見られる濃度に比較してかなり低い可能性があることが示唆されました。

## 4 むすび

今後、これまでの研究成果を踏まえ、これらの生理的・病理的变化と繁殖能力の関係についての検討を進めることにしています。

現在、引き続きこれらの物質を雌に暴露した時の繁殖に及ぼす影響や、女性ホルモン様物質ばかりでなく他のメカニズムで作用する可能性のある物質の雄への暴露試験での影響も検討しています。