

環境ホルモンを測る

－女性ホルモンと化学物質－

分析研究部 嶋津暉之

1 はじめに

ホルモンは個体発生、細胞の増殖・分化、性の分化と行動、神経情報伝達の制御などの重要な生理機能を司っている。そのため、環境ホルモン（内分泌かく乱化学物質）によるホルモン作用のかく乱は、野生生物等に様々な影響を及ぼすことが懸念されている。なかでも、性ホルモン作用のかく乱、生殖機能への影響は、種の保存に関わる問題である。河川水には女性ホルモンの様に作用する人工化学物質(女性ホルモン様物質)が幾種類もあり、それらの女性ホルモン様作用によって、オスの生殖機能が影響を受けた事例が各地で報告されている。ただし、河川に生息する魚類などの生物に及ぼす影響を把握するためには、人畜から排出され、河川に流入している天然女性ホルモンや避妊薬の合成女性ホルモンも合わせて総合的な評価を行う必要がある。

本研究所では、3年前から多摩川を対象として、ホルモン様作用が疑われる化学物質だけでなく、女性ホルモンも含めた女性ホルモン作用強度の測定に取り組み、魚類への影響とその対策を検討してきた。その結果を報告する。

2 女性ホルモン作用強度の測定法

生物体内における女性ホルモン(エストロジェン)の作用機構とは、女性ホルモンがその受容体(レセプター)に結合して、遺伝子を活性化させ、必要なタンパク質(例えば、卵黄タンパク質)を合成するよう指令を出すことにある。そこで、遺伝子組み換え技術を使ってこの作用機構を再現する下記の測定方法を用いて、女性ホルモン作用強度を検討した。

- (1) バインディングアッセイ法(女性ホルモンのレセプターへの結合度測定法)
- (2) 遺伝子組み換え酵母法(英国 Brunel 大学の酵母法)
- (3) 遺伝子組み換え酵母法(大阪大学のツーハイブリッド酵母法)
- (4) ヒト乳ガン細胞法(MV LN法)

四種類の測定法を用いて河川水等の女性ホルモン作用強度を測定した結果、(2)の酵母法が女性ホルモン様物質以外の物質の妨害などが最も少なかった。そこで、この酵母法を用いて、河川水並びに人工化学物質、女性ホルモン等の作用強度を評価することにした。

3 女性ホルモンと人工化学物質の女性ホルモン作用強度

女性ホルモンおよび人工化学物質の女性ホルモン作用強度を(2)の酵母法で測定した結果を表1に示す。三種類の天然女性ホルモンはその形態によって作用強度が大きく異なった。また、経口避妊薬ピルの主成分であるエチニルエストラジオールの作用強度は、エストラジオールと同程度であった。これに対して、ビスフェノールA等の人工化学物質の作用強度は、同じ濃度であれば、エストラジオールの5千分の1以下であり、きわめて小さいことがわかった。

表1 各物質の女性ホルモン作用強度 (Brunel大学の酵母法)

天然女性ホルモン			合成女性ホルモン	人工化学物質			
17β-エストラジオール	エストロン	エストリオール	イチニルエストラジオール	ビスフェノール A	ニルフェノール	4-tert-オクチルフェノール	フタル酸ジ-2-エチルヘキシル
1	0.27	0.0045	1.1	0.00006	0.0002	0.00001	0.00000

(17β-エストラジオールの強度を1とした場合の値を示す。)

図1は多摩川の水質測定値に、表1の作用強度を乗じて、河川水中における個々の物質の作用強度を求めたものである。人工化学物質は女性ホルモンに比して河川水中の濃度が二桁以上高いことがあるが、作用強度としては女性ホルモンの数十分の一以下であった。水環境は様々な化学物質で汚染されていることから、人工化学物質による作用強度の高い河川が存在する可能性はあるが、多摩川における雄の魚類の生殖異変は、人工化学物質よりも下水処理場等から排出される女性ホルモンによって引き起こされたと考えられる。

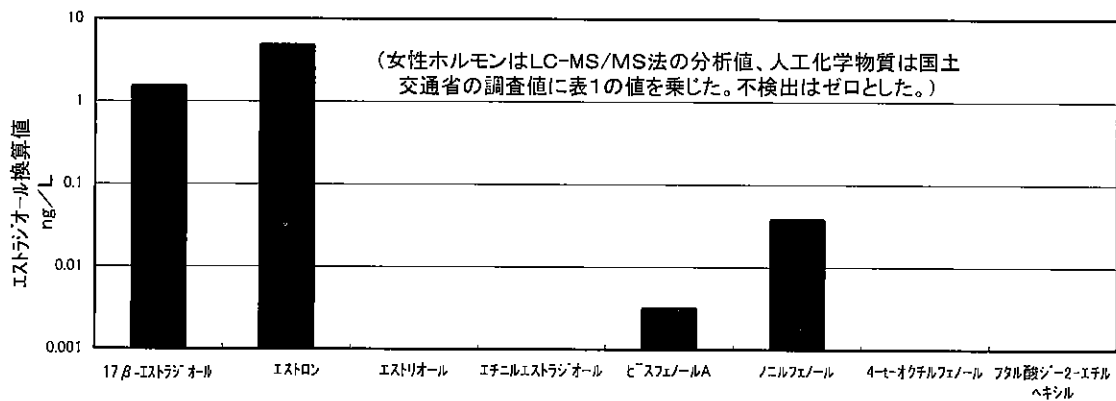


図1 河川水中の女性ホルモンおよび人工化学物質の女性ホルモン作用強度(多摩川・多摩川原橋)

4 河川水の作用強度の測定

多摩川の稲城大橋から田園調布堰までの6地点において、女性ホルモン作用強度を酵母法で、天然女性ホルモンの成分をELISA法とLC-MS/MS法(用語説明参照)で測定した結果を図2に示す。酵母法による総合作用強度は、ELISA法とLC-MS/MS法で得られた女性ホルモンの作用強度に近い値であり、女性ホルモン総合作用強度の大半は女性ホルモンで説明されることを示している。

同図を見ると、下水処理場放流水の流入で河川水の女性ホルモン作用強度は3~4倍に上昇するけ

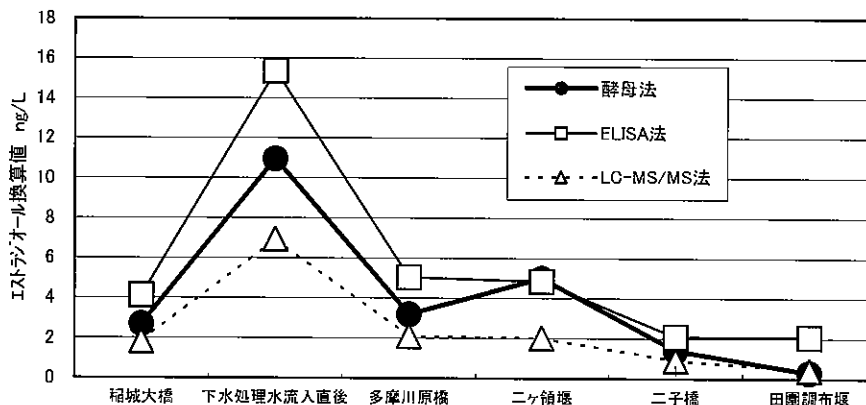


図2 多摩川の女性ホルモン作用強度(2000年5月)

れども、その後、流下とともにすみやかに低下している。このことから、女性ホルモン作用強度を持つ物質のほとんどは下水処理場からの排出によるものであること、しかし、その影響で濃度が大きく上昇する範囲は比較的短い距離に限られると考えられる。

5 今後の課題

多摩川の水質環境ホルモン問題については、人工化学物質よりも、女性ホルモンの寄与が大きいことが分かった。雄魚の精巣異常に対する女性ホルモンの作用の仕組み、河川における女性ホルモン濃度の変化の機構、下水処理場における女性ホルモン除去率向上の方法など、明らかにすべき研究課題がいくつか残されている。今後もこれらの課題に取り組んでいきたい。

用語説明

内分泌かく乱化学物質

環境省の環境ホルモン戦略計画SPEED'98によれば、「動物の生体内に取り込まれた場合に、本来、その生体内で営まれる正常なホルモン作用に影響を与える外因性の物質」と定義されているもので、日本では通称として環境ホルモンといわれている。

女性ホルモン

女性ホルモンは女性の生殖器官の発育を促進する卵胞ホルモン（エストロゲン）と妊娠に関係する黄体ホルモン（プロゲステロン）があるが、一般には、前者のエストロゲンを意味することが多い。エストロゲンはエストラジオール、エストロン、エストリオールの三つがある。

女性ホルモン作用強度

人工化学物質や天然女性ホルモンを含む河川水等が、女性ホルモン（エストロゲン）として作用する強さをいう。天然女性ホルモンの中で最強の強度を持つ17β-エストラジオールの換算濃度で表示する。

遺伝子組み換え酵母法

女性ホルモン作用強度を測定する方法である。遺伝子組み換え技術を用いて酵母内に女性ホルモンの作用機構をつくり、女性ホルモンや女性ホルモン様物質によって合成されたタンパク質の量を発色度で測定する。

ELISA法

抗原抗体反応を利用した酵素免疫法のことで、エストラジオール等の測定に使用される。抗原（エストラジオール等）と特異的に結合するタンパク質（抗体）を支持体（マイクロプレート）に塗布しておき、抗体に結合した抗原の量を酵素反応により発色させて測定する。

LC-MS/MS法

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析装置を用いてエストラジオール等を分析する方法である。高速液体クロマトグラフ（LC）と2段の質量分析計（MS）を結合させたもので、定性性、定量性に優れている。