

# 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

# 共同研究者

和波一夫 (応用研究部)

宮下雄博 (非常勤研究員)

柳田房洋 (埼玉工業大学)

田村 基 (埼玉工業大学)

村田 望 (埼玉工業大学)

大月正人 (埼玉工業大学) 他

# 環境ホルモン

(外因性内分泌かく乱化学物質)

ホルモンと類似の作用をしたり、ホルモンの作用を阻害する物質

顕在化している環境ホルモン問題

性ホルモン作用のかく乱(生殖異変)

とりわけ、環境ホルモンが女性ホルモンのように作用して雄の精巣異常やメス化を引き起こすことが問題になっている。



多摩川

羽村堰

浅川

多摩川原橋

仙川

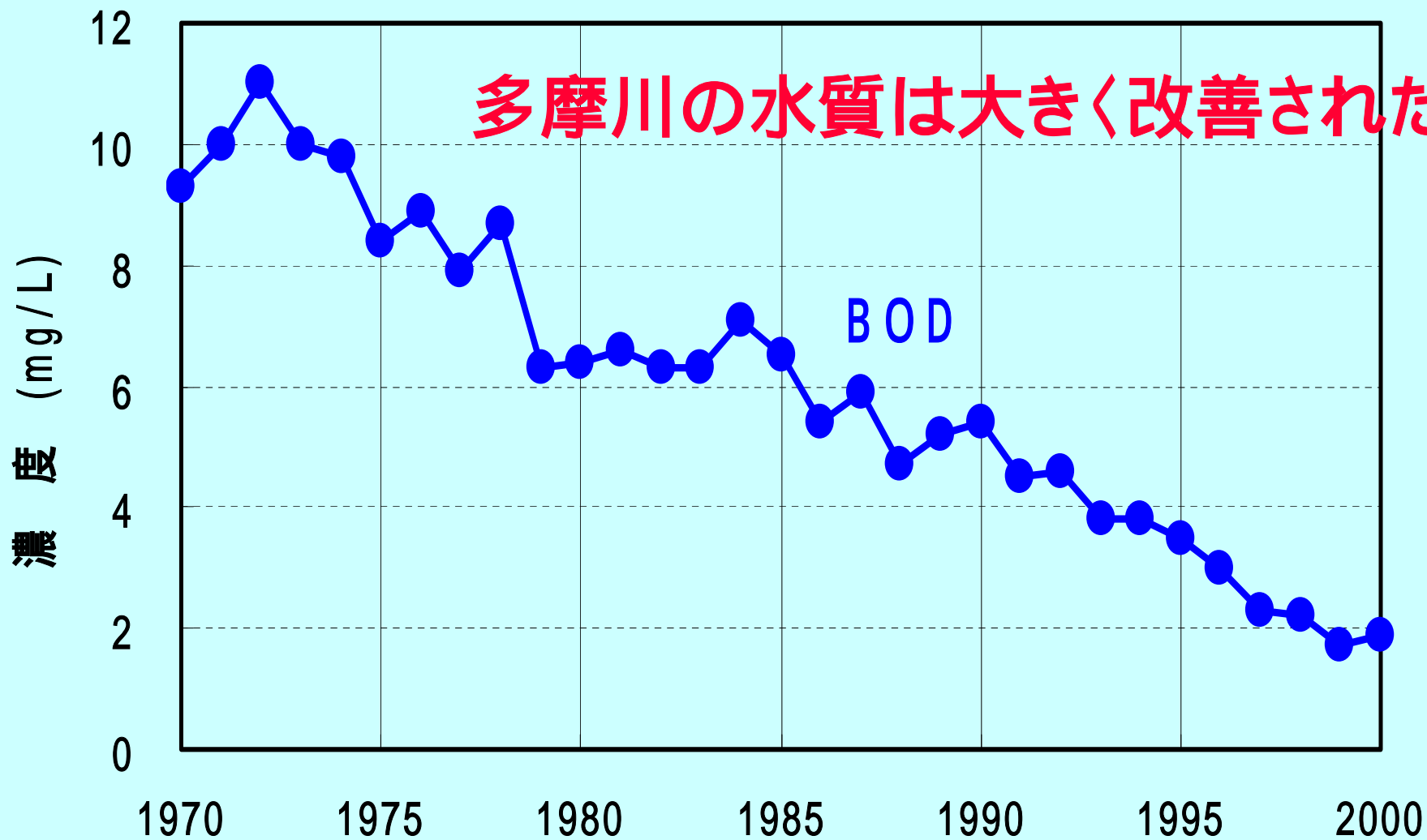
田園調布堰

東京湾

# 多摩川

# 1998年の横浜市立大学等の 調査結果が示唆したこと

- 環境ホルモンによって雄コイの精巣異常が進み、更に、メス化が進行しているのではないか。
- 環境ホルモンとして影響しているのは、ノニルフェノール等の人工化学物質ではないか。



多摩川・田園調布堰のBODの推移

# 多摩川の環境ホルモン問題について 私たちが取り組んだ研究課題

(1) コイの生殖異変の実態

(2) 環境ホルモンによる河川水の  
汚染状況



# 多摩川の環境ホルモンの研究課題

## (1) コイの生殖異変

- 雄コイのメス化は進んでいるのか。
- 雄コイの精巣異常は進行しているのか。

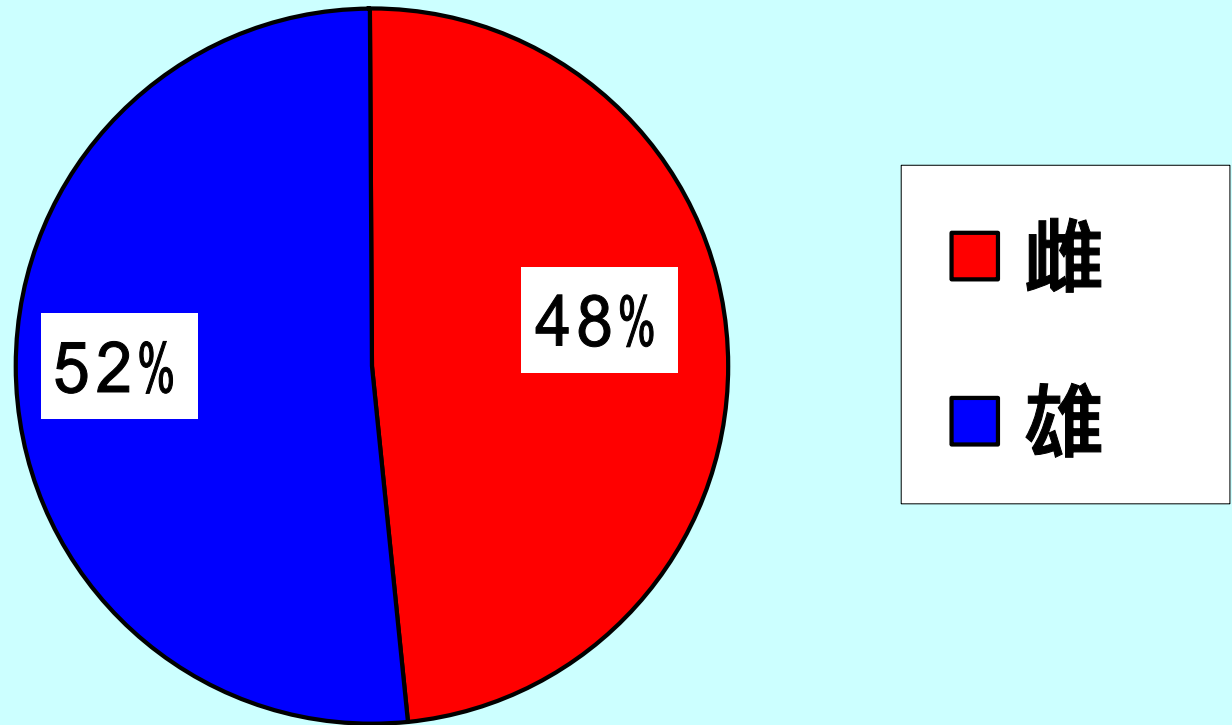
## (2) 環境ホルモンによる河川水の 汚染状況

- どのような環境ホルモンがコイ等に影響を与えているのか。
- その環境ホルモンはどこから排出されているのか。

# 多摩川のコイについての研究課題

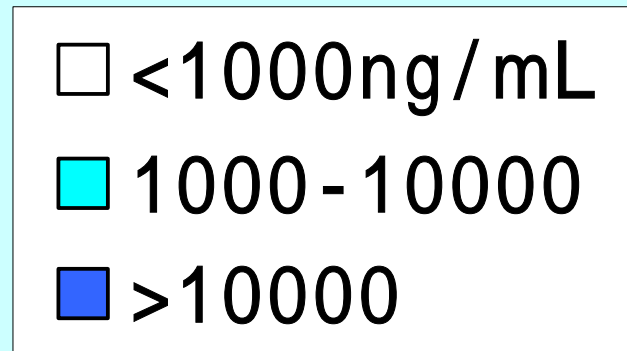
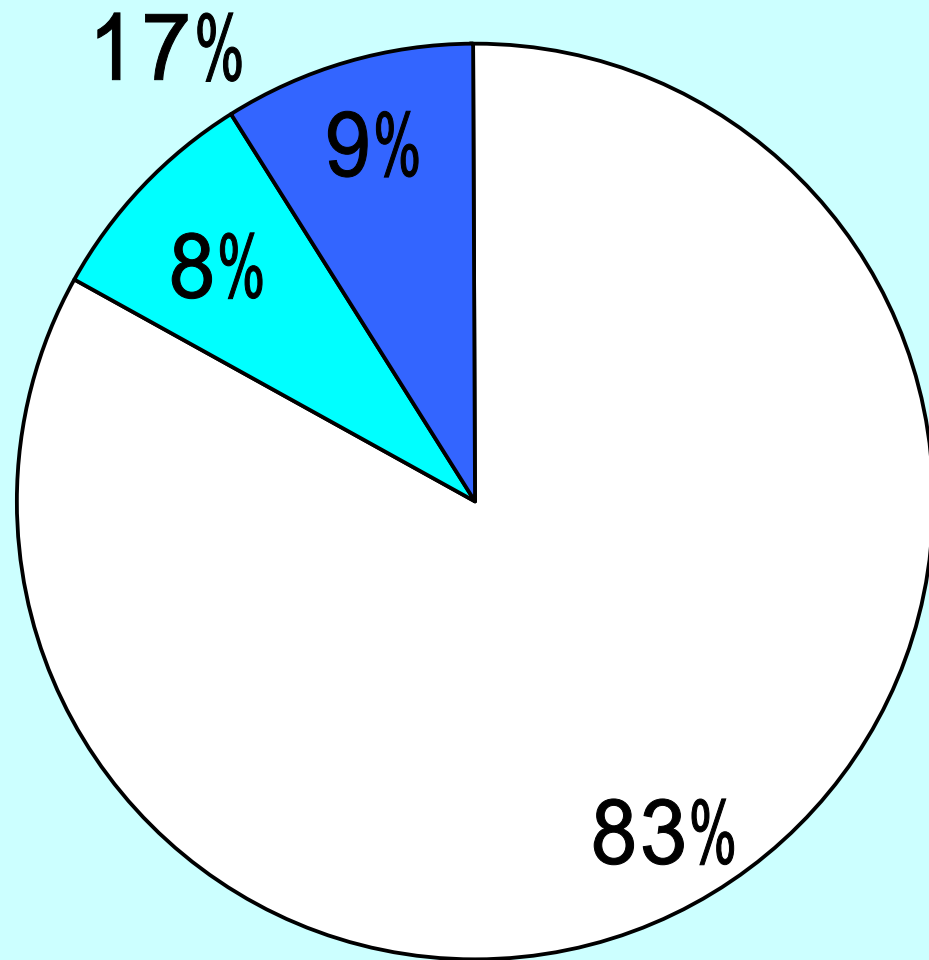
- 雄コイのメス化は進んでいるのか。
- 雄コイの精巢異常は進行しているのか。

(和波一夫らの調査研究)



多摩川水系のコイの雄雌割合  
(合計962尾)

(1998 ~ 2001年度の合計)



ビテロジェニン  
(卵黄蛋白質)  
:メス特有の蛋白質

雄コイの血液中のビテロジェニン濃度割合  
(多摩川水系496尾)

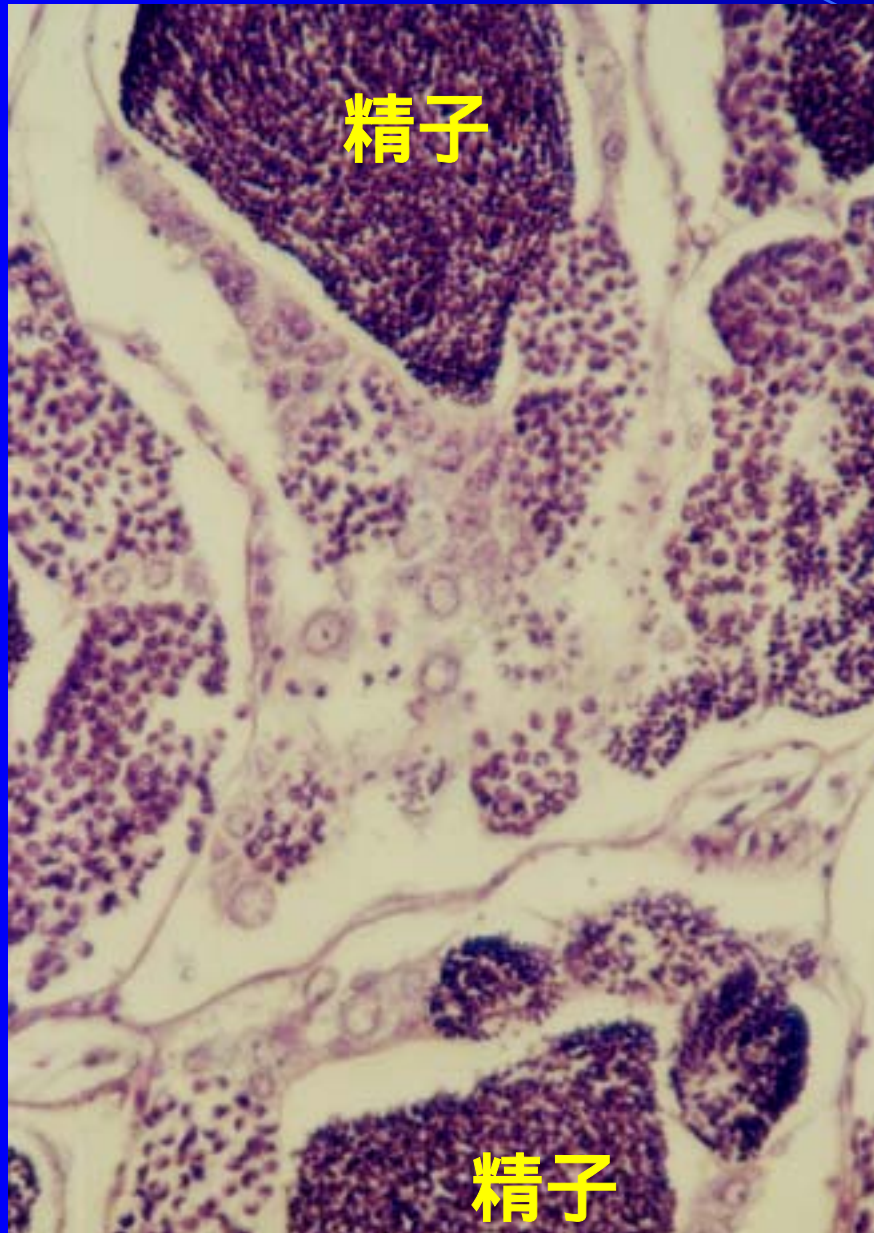
# 正常な精巣



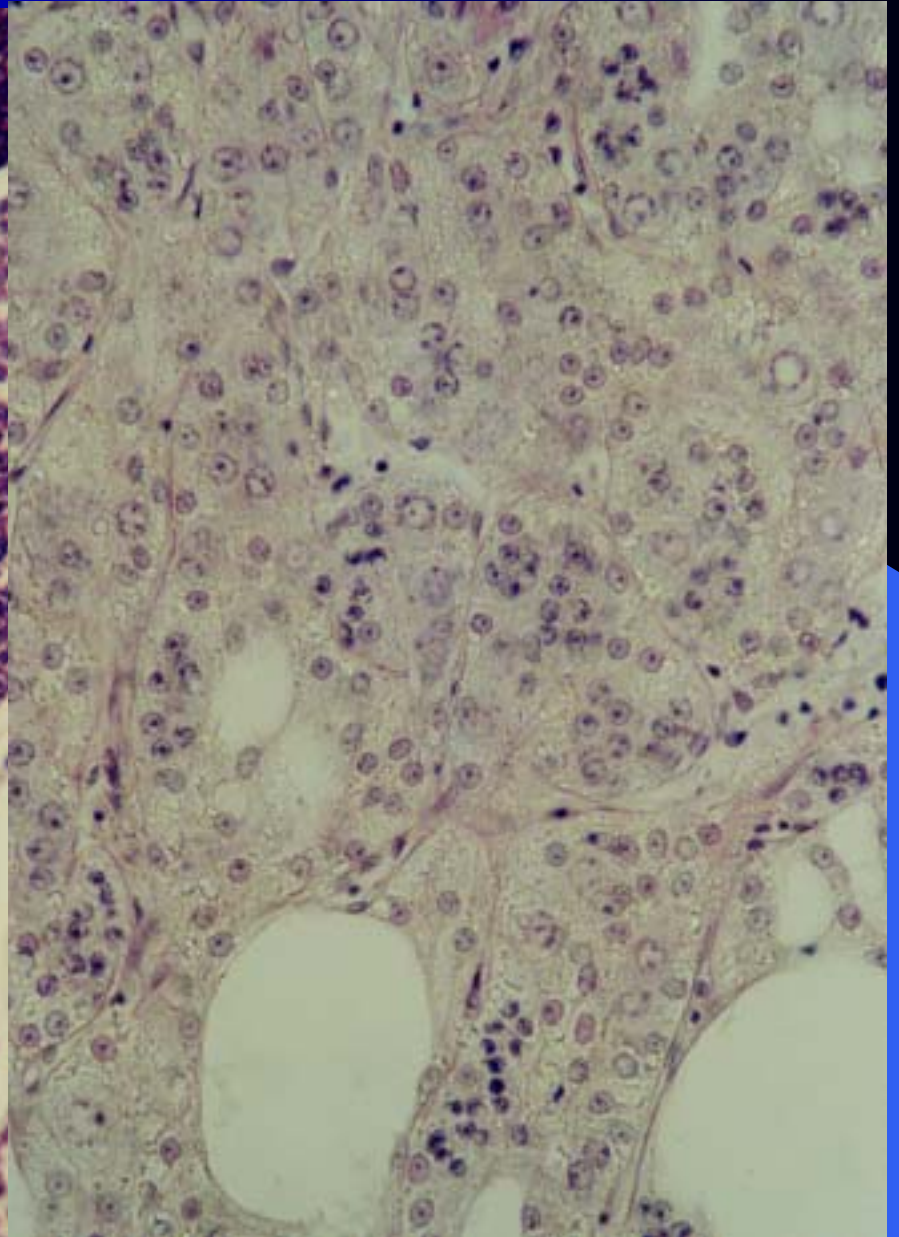
# 異常な精巣(ひも状)



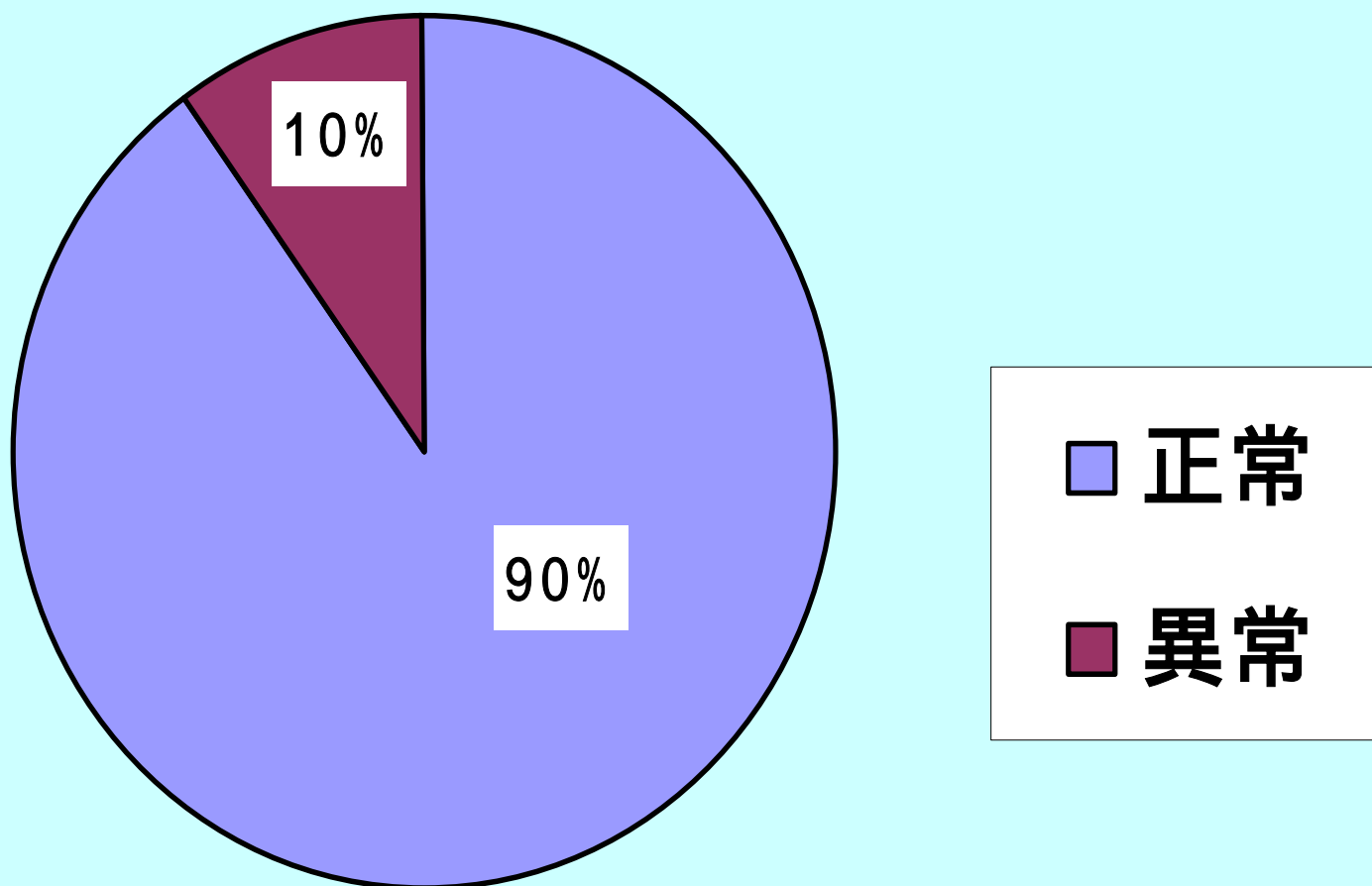
# 正常な精巣組織



# 不明細胞の異常増殖







**多摩川水系の雄コイ496尾の精巢異常割合**

**(1998～2001年度の合計)**

# 多摩川のコイの調査結果

- 雄と雌の比はほぼ1:1で、雄のメス化は進んでいない。
- 雄コイの約2割から、メス特有のビテロジェニン(卵黄蛋白質)が高濃度で検出された。
- 雄コイの約1割から精巢異常がみられた。

# 環境ホルモンによる河川水の 汚染状況についての研究課題

どのような環境ホルモンがコイ等に影響を与えているのか。

環境ホルモンはどこから排出されているのか。

# 環境ホルモンの中で女性ホルモンのように作用する人工化学物質

ビスフェノールA

ニルフェノール

4-t-オクチルフェノール

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

フタル酸ジ-n-ブチル

フタル酸ブチルベンジル

アジピン酸-シ-2-エチルヘキシル

.....

.....

# 天然女性ホルモンと合成女性ホルモン

## 天然女性ホルモン

- ・ 17 -エストラジオール
- ・ エストロン
- ・ エストリオール

## 合成女性ホルモン

- ・ エチニルエストラジオール  
(経口避妊薬ピルの主成分)

# 女性ホルモンおよび女性ホルモンのように作用する物質

## 天然女性ホルモン

- ・ 17 $\beta$ -エストラジオール
- ・ エストロン
- ・ エストリオール

## 合成女性ホルモン

- ・ エチニルエストラジオール

## 人工化学物質

- ・ ノルフェノール
- ・ ビスフェノールA
- ・ 4-t-オクチルフェノール
- ・ フタル酸ジ-n-ブチル
- ・ フタル酸ジ-n-ペンチル
- ・ フタル酸ジ-n-ヘキシル
- ・ アジピン酸-シ-2-エチルヘキシル

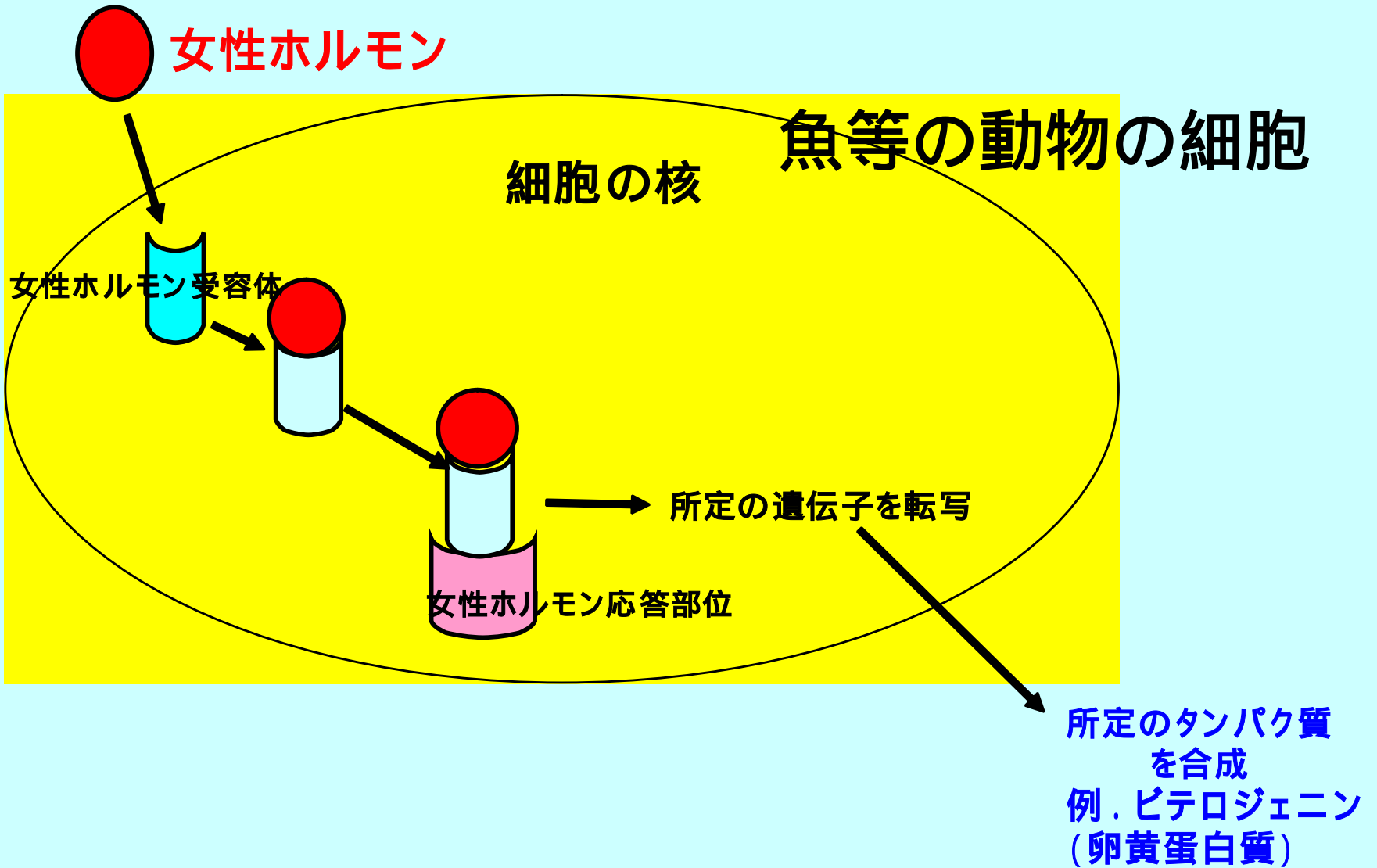
.....  
.....

天然女性ホルモン

合成女性ホルモン

人工化学物質

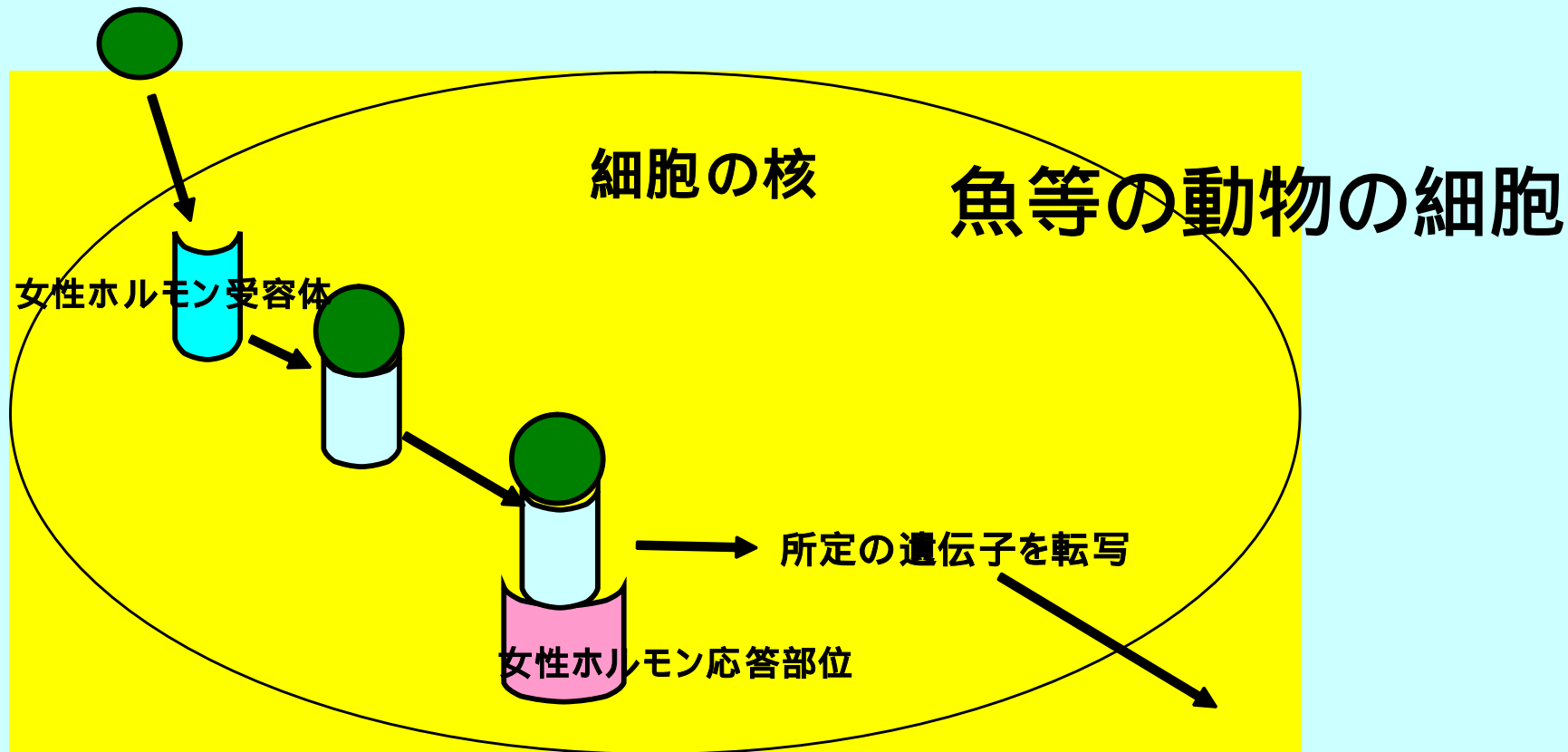
- 河川水中でそれぞれの物質が魚等に対してどの程度、女性ホルモンのような作用をしているのか？
- それらが合わさって河川水としてどの程度の作用をしているのか？



# 女性ホルモンの作用機構の模式図



# 女性ホルモン作用を持つ物質



所定のタンパク質  
を合成  
例・ピテロジェニン  
(卵黄蛋白質)

## 環境ホルモンの作用機構の模式図

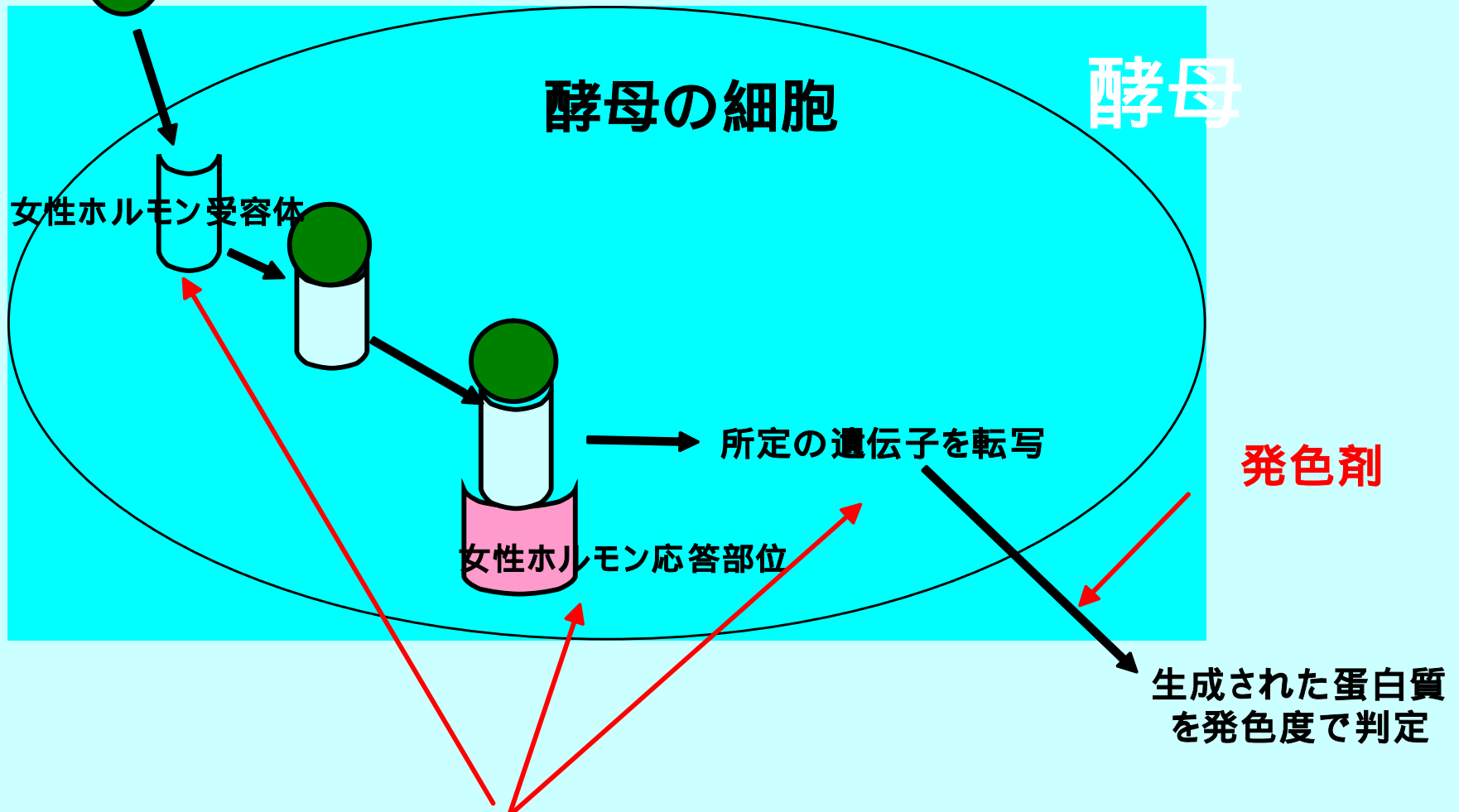
個々の物質や河川水が  
女性ホルモンとして作用する強度  
を測定するためには、

女性ホルモンの作用機構を  
実験室内で再現することが必要



遺伝子組み換え酵母法

女性ホルモンのように作用する物質



ヒト遺伝子の組み換えで作用機構を再現

# 遺伝子組み換え酵母法的作用機構

# 河川水の女性ホルモン作用強度の分析手順

試料（河川水）

固相抽出で2000～4000倍に濃縮

濃縮試料

## 遺伝子組み換え酵母法

マイクロプレート

酵母と培養液

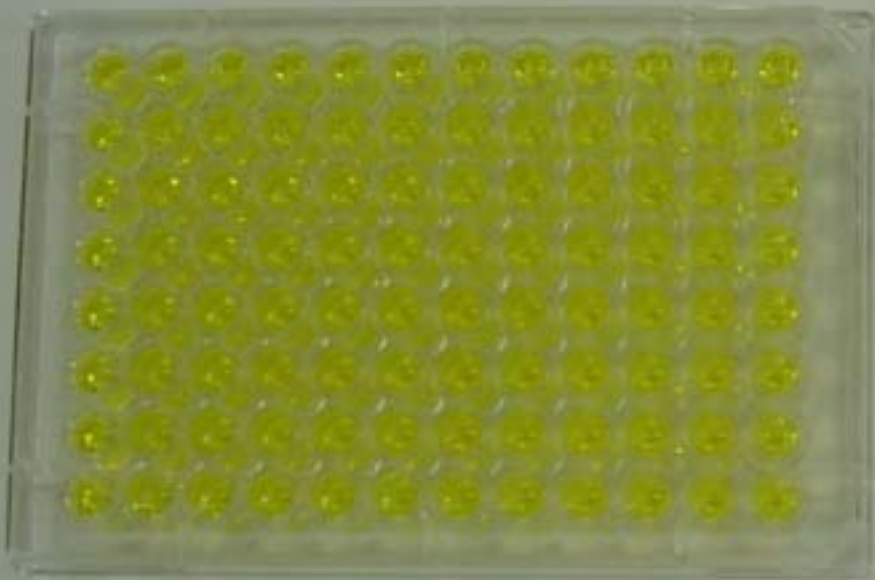
発色液

28、7日間

発色度を測定

# 遺伝子組み換え酵母法

0日目のマイクロプレート



7日目のマイクロプレート



# 女性ホルモンとして作用する 強度の測定法

(遺伝子組み換え技術を用いた方法)

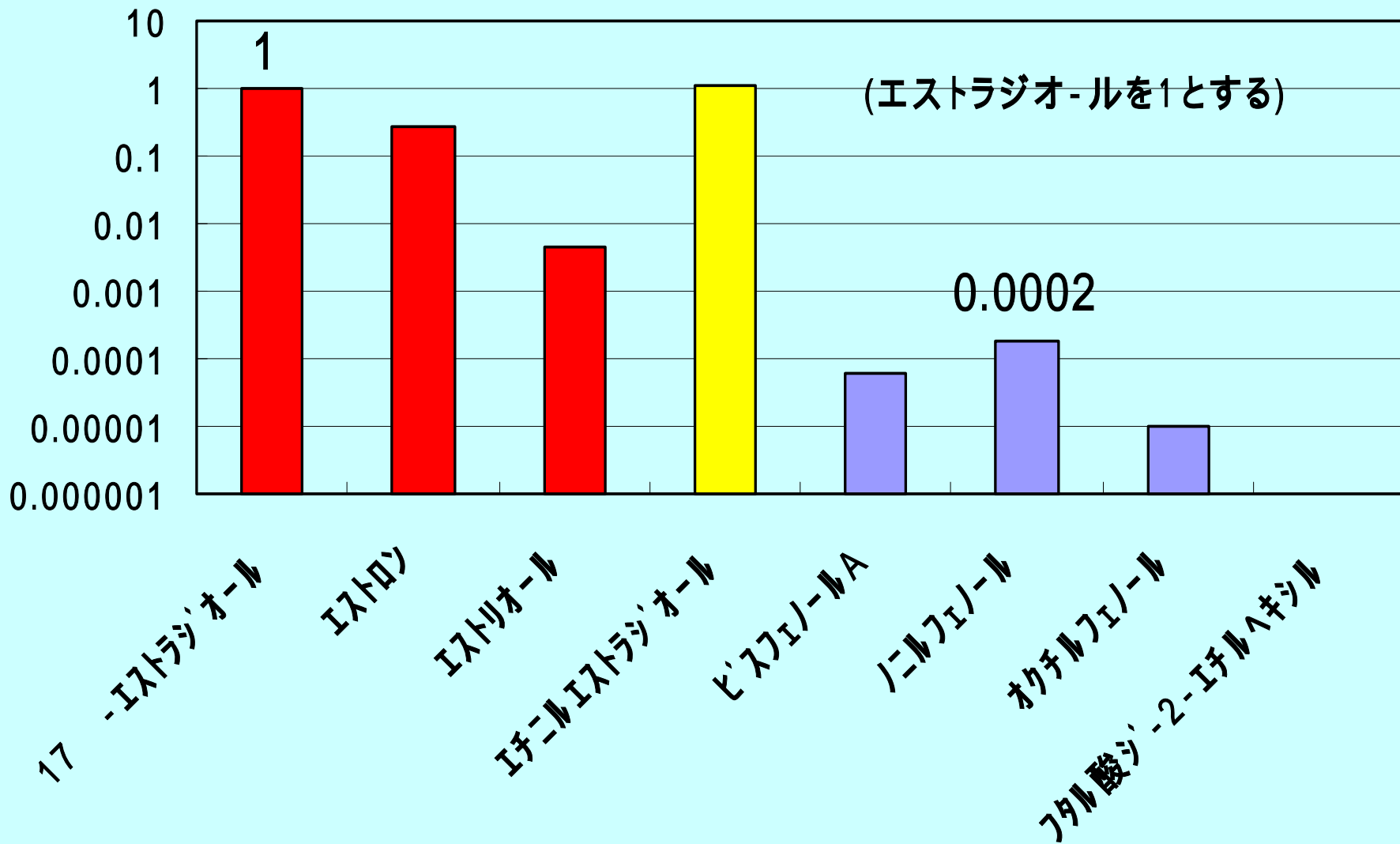
遺伝子組み換え酵母法

(イギリスBrunel大学の酵母)

遺伝子組み換え酵母法(大阪大学の酵母)

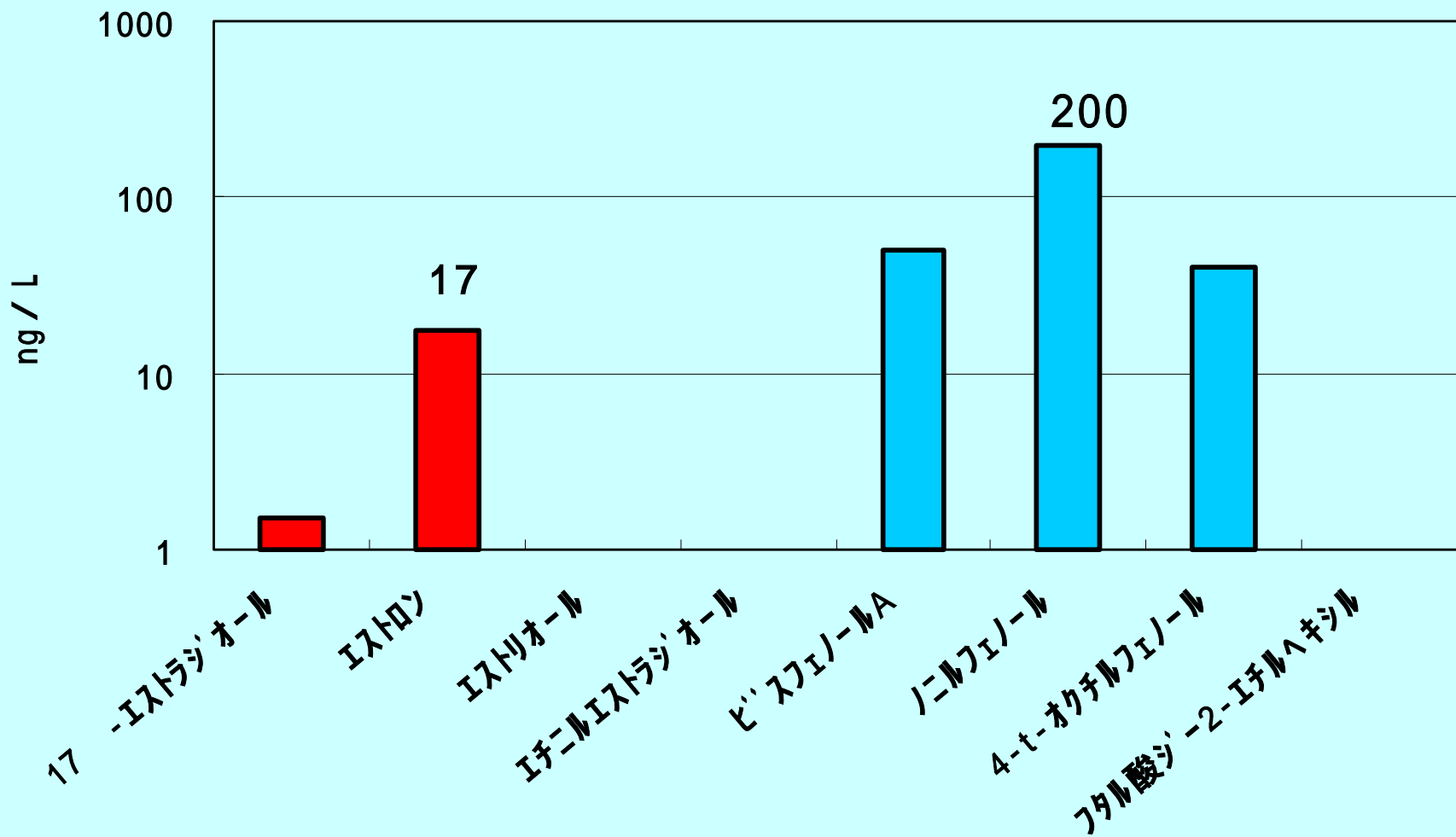
バインディングアッセイ法

乳がん細胞法



各物質の女性ホルモン作用強度 (遺伝子組み換え酵母法)

(女性ホルモンはLC-MS/MS法の分析値、人工化学物質は国土交通省の調査値を用いた。不検出はゼロとした。)



河川水中の濃度(多摩川・多摩川原橋)



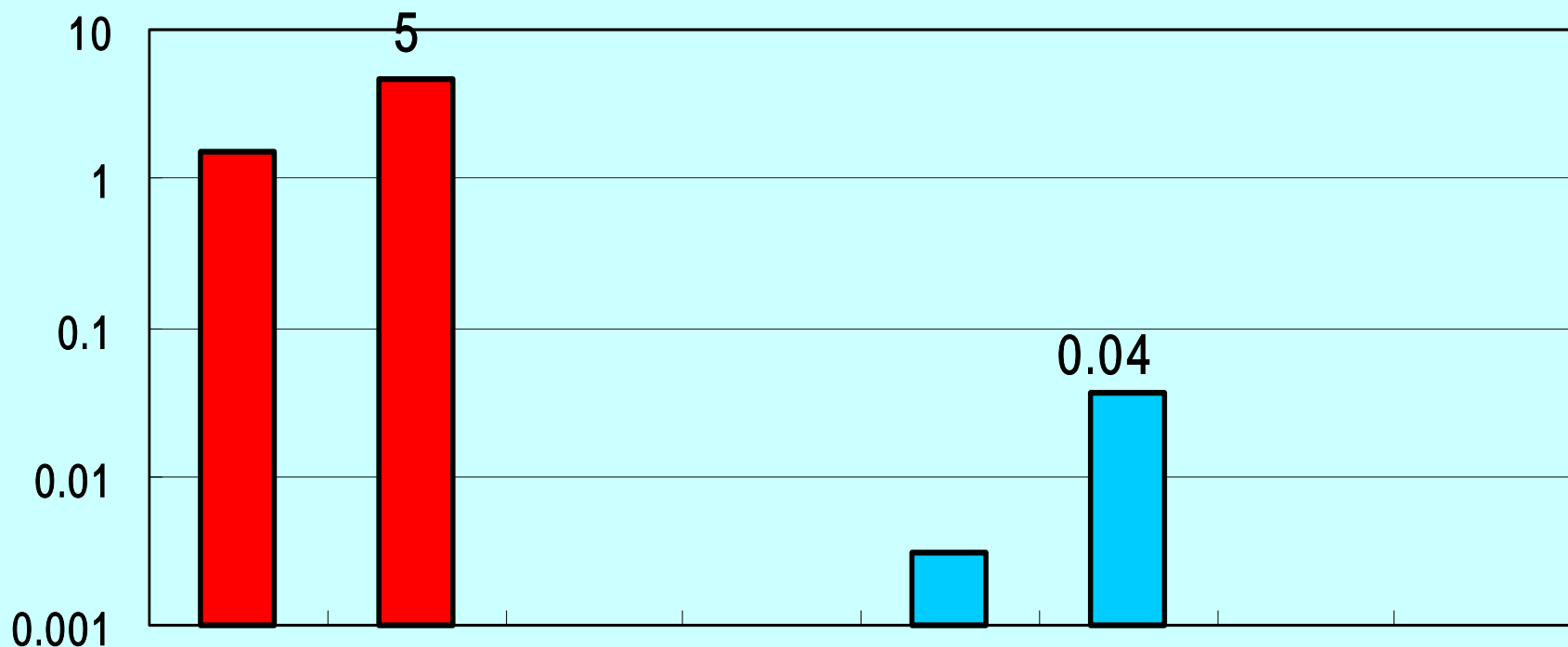
# 河川水中の各物質の 女性ホルモン作用強度 の求め方

**[河川水中の各物質の濃度]**

**× [各物質の女性ホルモン作用強度]**

イストラジオール換算値

ng/L



17-イストラジオール

イストラジーン

イストラオール

イチニルイストラジオール

ビスフェノールA

ノニルフェノール

4-t-オクチルフェノール

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル

河川水中の各物質の作用強度  
(多摩川・多摩川原橋)

# 多摩川において女性ホルモンとして作用している物質

- ◆ビスフェノールA、ノニルフェノールなどの人工化学物質の影響は小さい。
- ◆天然女性ホルモンの影響が非常に大きい。
- ◆合成女性ホルモンの影響は現段階では明らかではない。

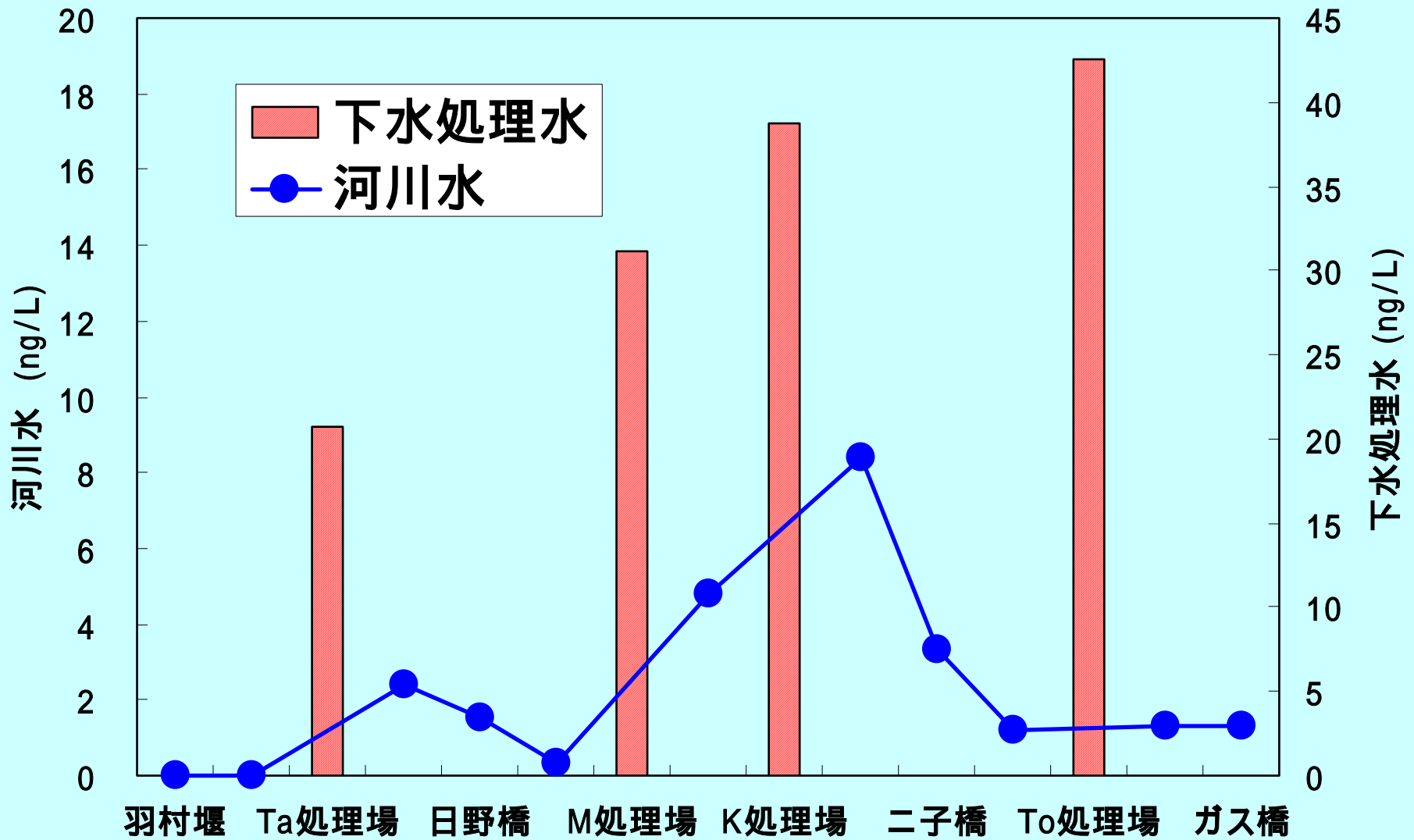
多摩川では環境ホルモン(女性ホルモン)はどこから排出されているのか。



- 多摩川の調査地点
- 調査対象の下水処理場

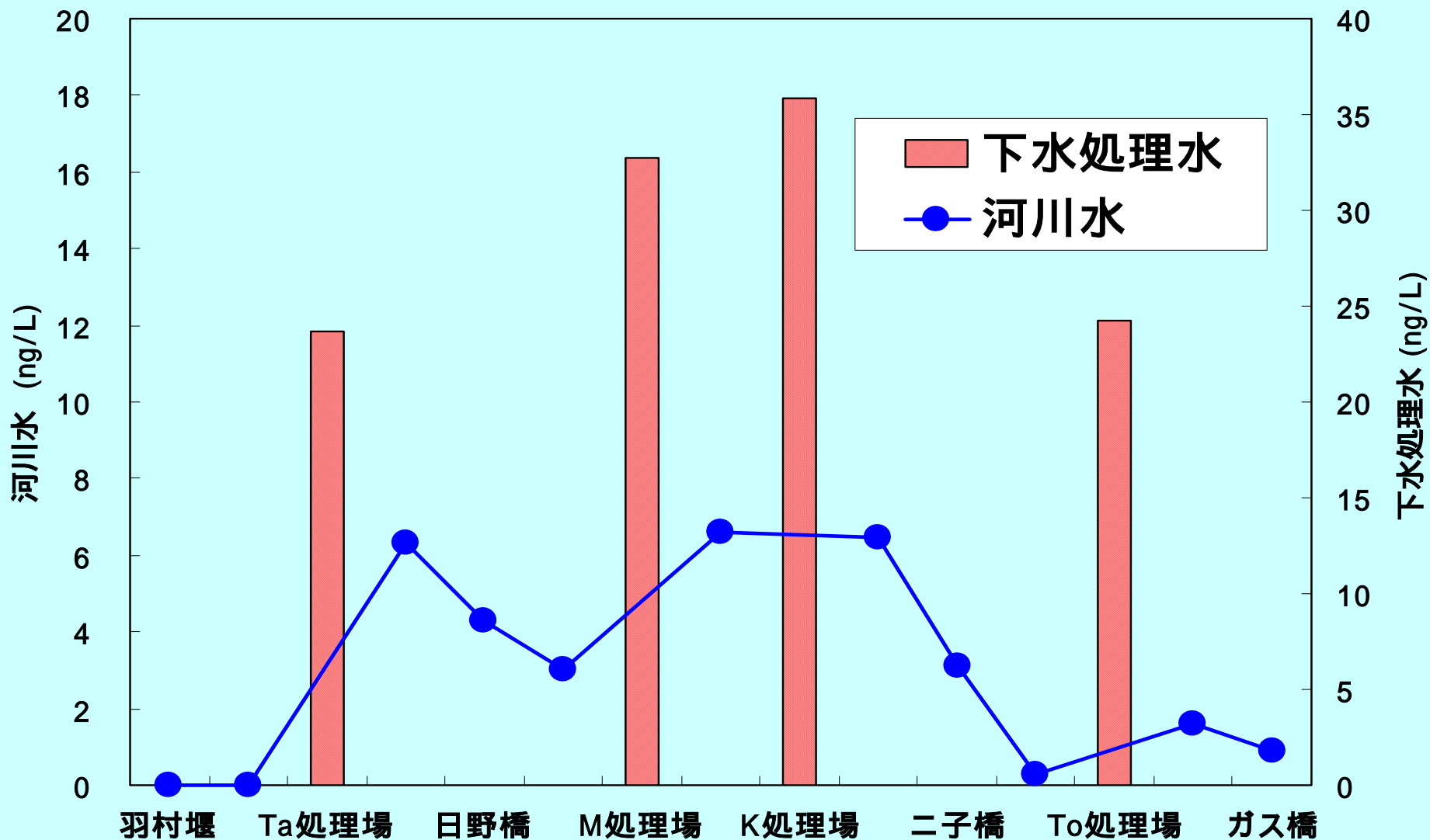
# 多摩川の調査範囲

# (遺伝子組み換え酵母法)

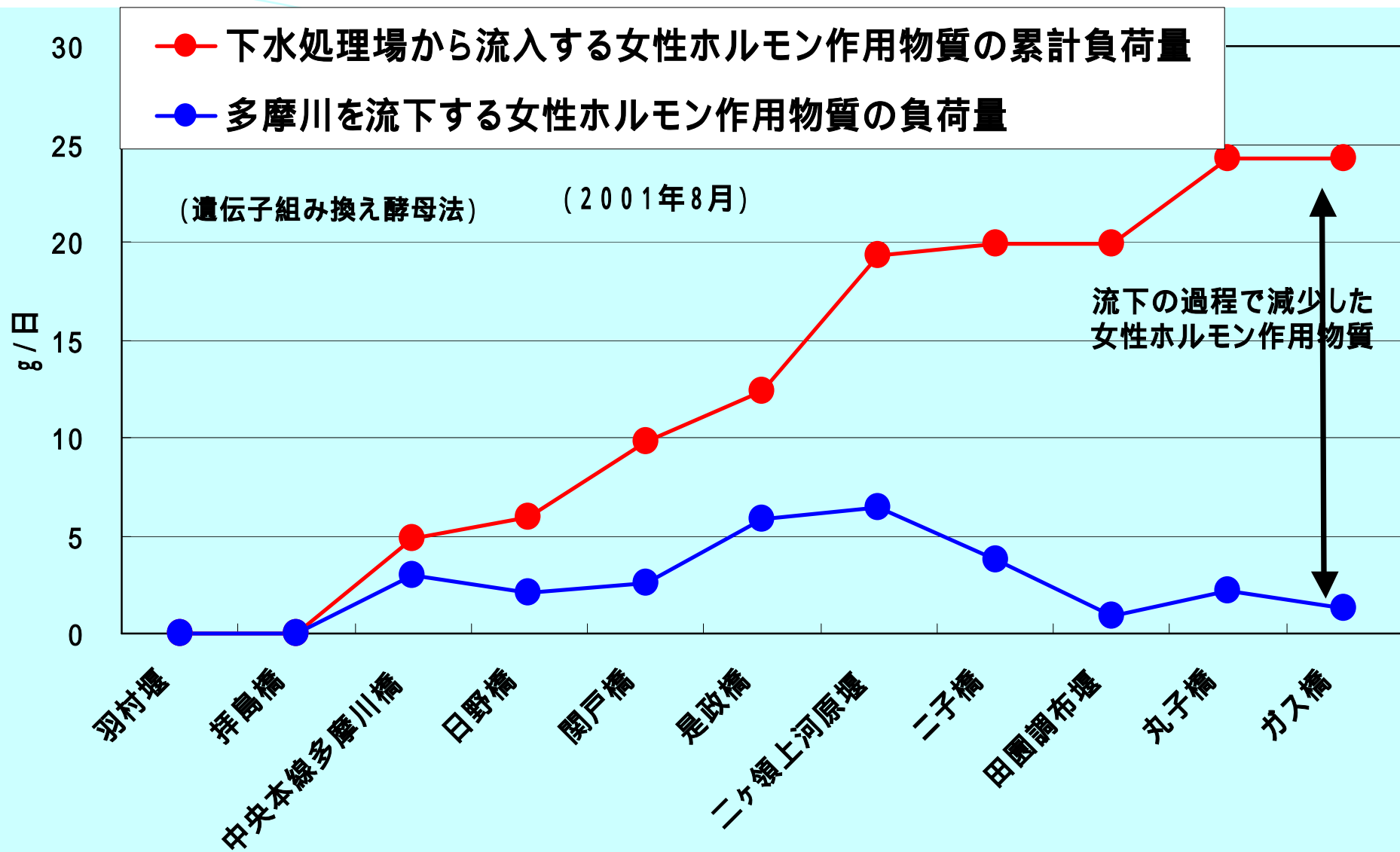


多摩川の女性ホルモン作用強度(2001年5月)

# (遺伝子組み換え酵母法)



多摩川の女性ホルモン作用強度(2001年8月)



多摩川での流下で減少する女性ホルモン作用物質



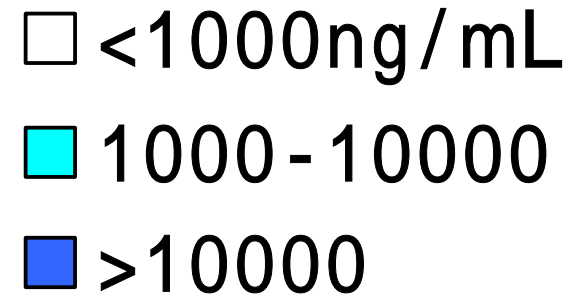
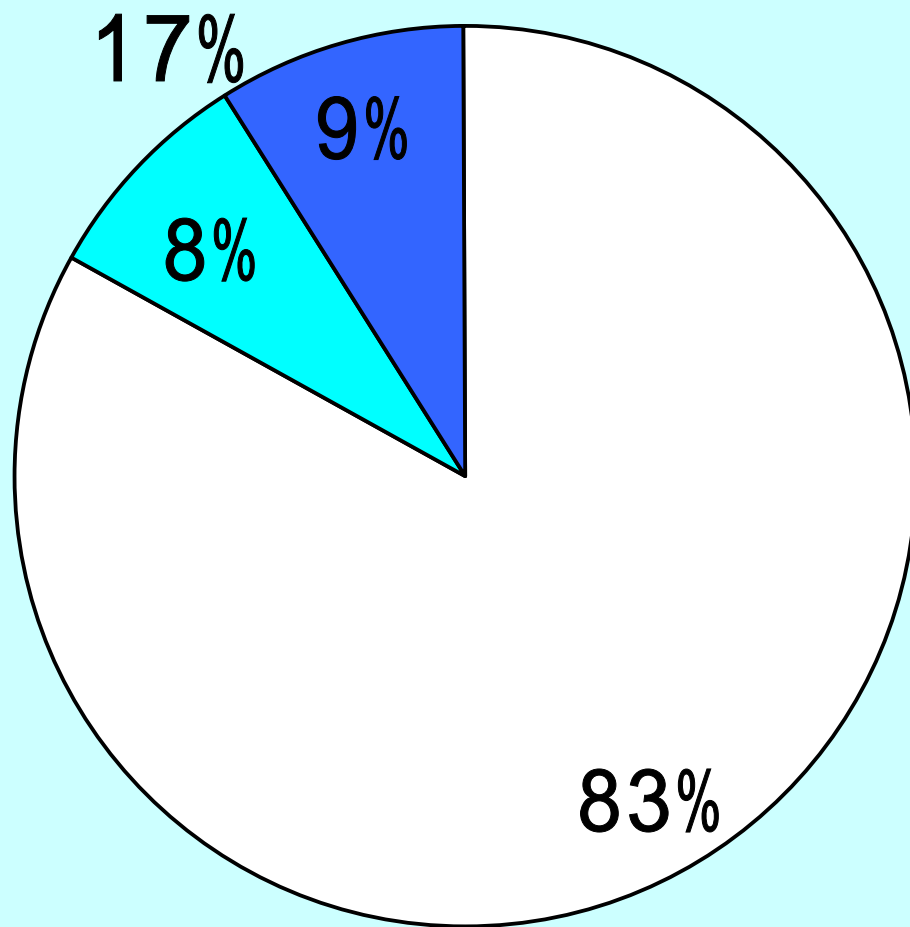
# 多摩川の水質調査で分かったこと

多摩川の河川水において女性ホルモンとして作用する強度の大半は天然女性ホルモンによるものである。

**女性ホルモンは多摩川流域の下水処理場から排出されている。**

**処理場から排出された女性ホルモンの濃度は、多摩川を流下する過程で比較的早く低下していく。**

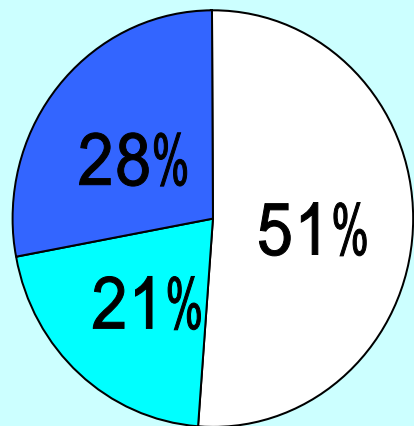
多摩川・河川水の女性ホルモンと  
コイの生殖異変との関係は？



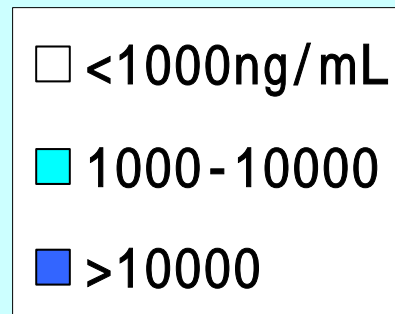
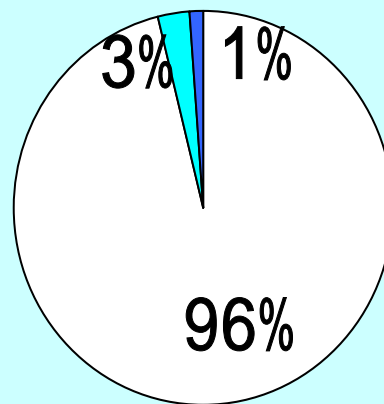
ビテロジェニン  
(卵黄蛋白質)  
:メス特有の蛋白質

雄コイの血液中のビテロジェニン濃度割合  
(多摩川水系496尾)

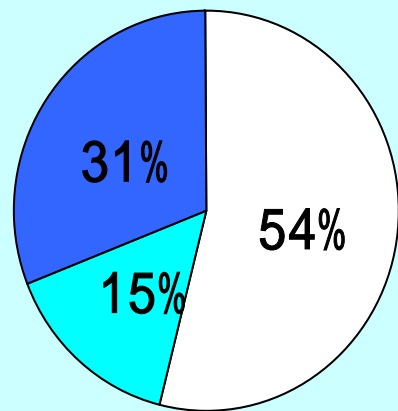
浅川新浅川橋



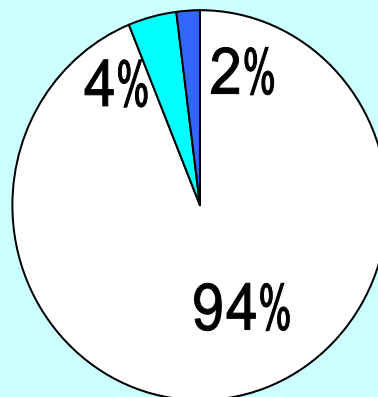
野川・仙川合流点



多摩川原橋



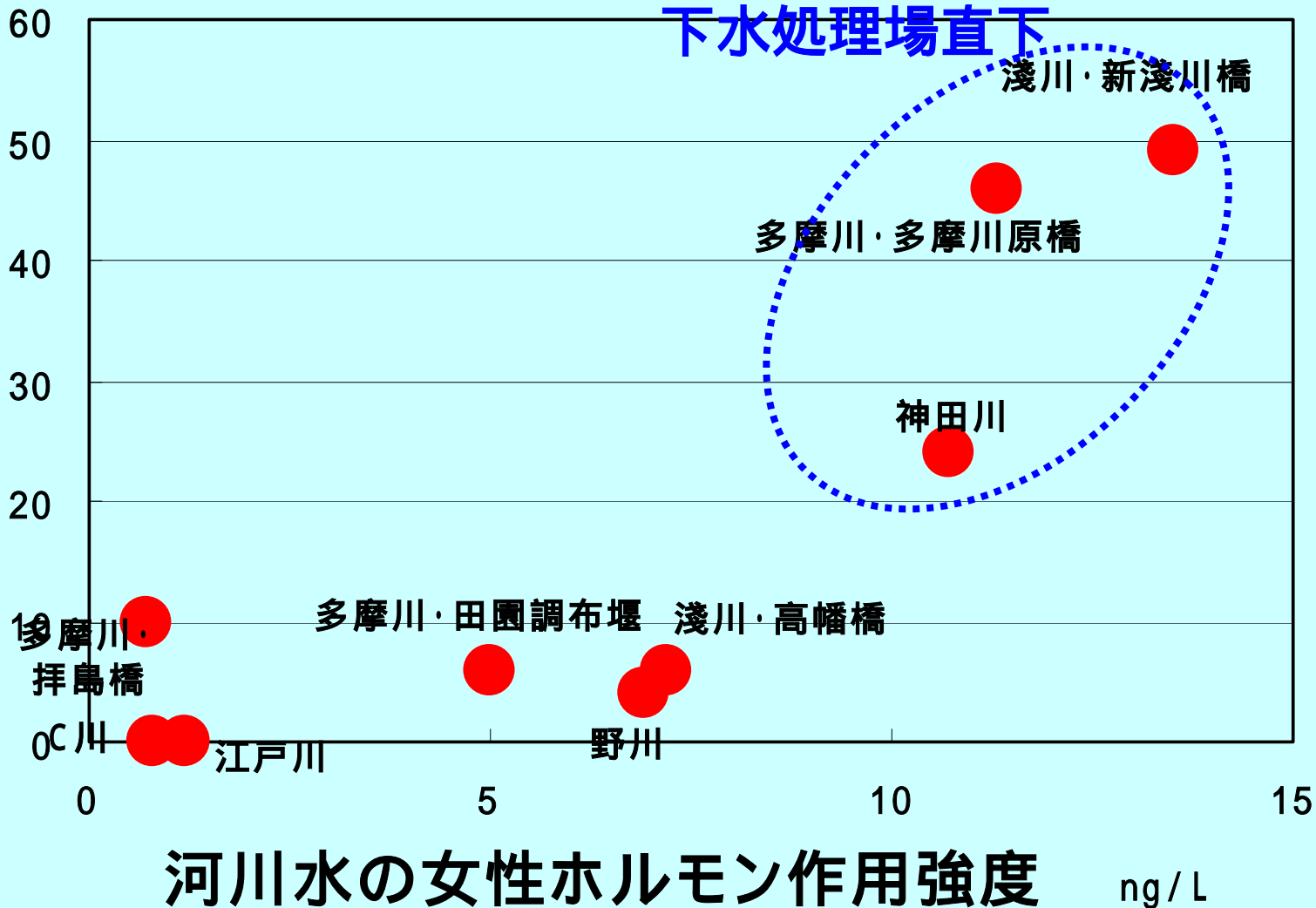
田園調布堰



雄コイの血液中のビテロジェニン濃度割合

ビテロジェニン<sup>1000ng/ml以上</sup>

の雄コイの割合 %



河川水の女性ホルモン作用強度と雄コイの血中ビテロジェニン

# 多摩川の環境ホルモンの調査で 明らかになったこと

下水処理水放流直下の河川水には比較的高濃度の女性ホルモンが含まれている。

下水処理場直下に生息する雄コイから高濃度のビテロジェニンが検出される割合が高い。

下水処理場から放流された女性ホルモンがコイの生殖異変を引き起こしている可能性が十分にある。



多摩川の環境ホルモン問題に関して現在取り組んでいること

女性ホルモンはコイの精巢異常の発生にどのように、どの程度関与しているのか。

→ 下水処理水の混入率の高い神田川の水を使ってコイの飼育実験

河川での流下とともに女性ホルモン濃度が比較的早く低下するのはなぜか。消失した女性ホルモンはどこへ？

→ 実験室内の人工水路を使って女性ホルモンの挙動を調べる実験

下水処理場において女性ホルモンの除去率を高めるためにはどのような改善が必要か。

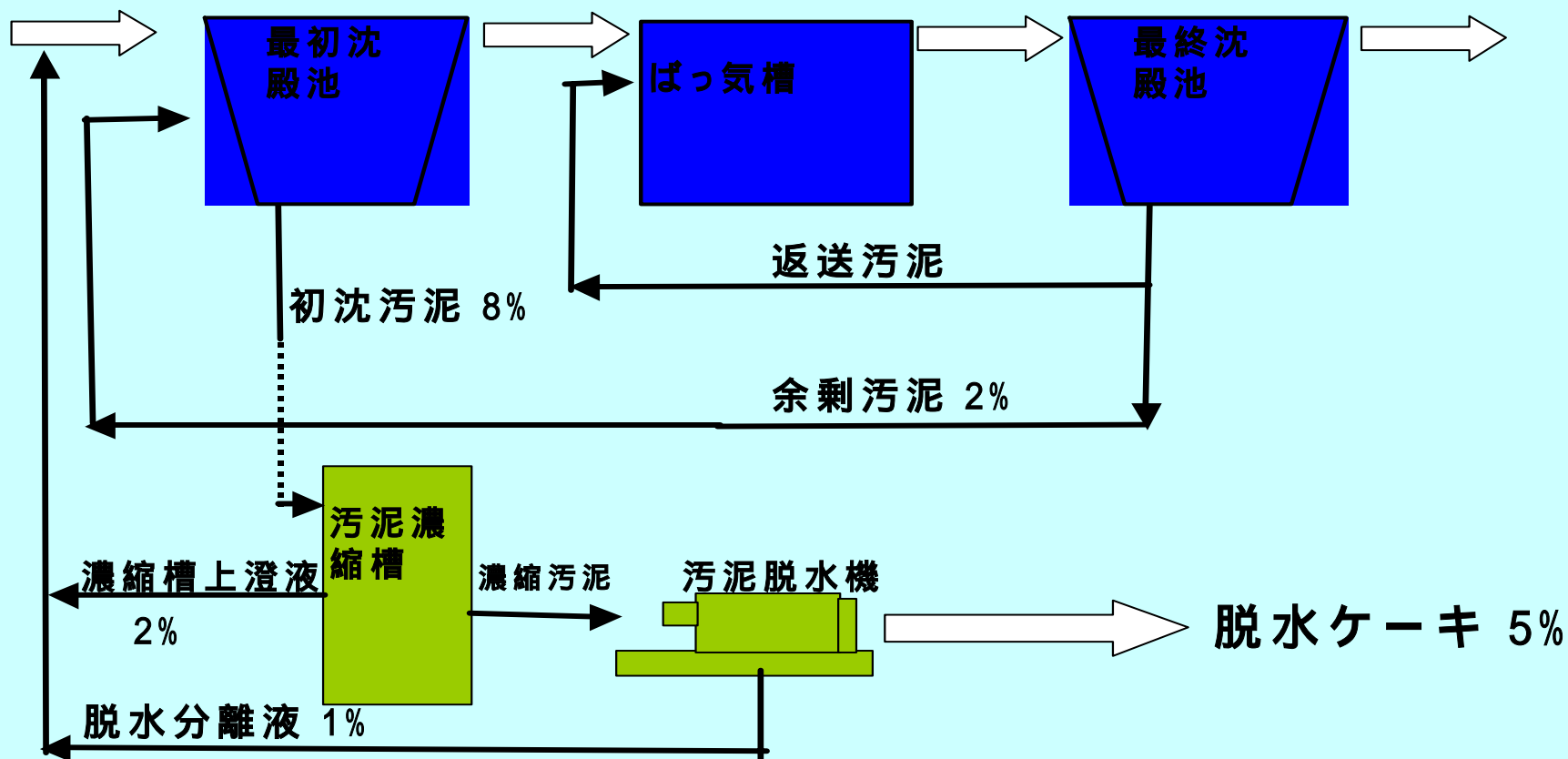
→ 下水処理場の調査

(3処理場、延べ6回の24時間調査の平均)

流入水 100%

最初沈殿池出口 95%

放流水 31%



下水処理場における女性ホルモンの収支  
(女性ホルモン作用強度)

# 多摩川の環境ホルモン問題に関して 現在取り組んでいる研究課題

河川水中の女性ホルモンとコイの精巢異常  
との関係

河川における女性ホルモンの挙動

下水処理場における女性ホルモンの除去率  
向上の方法