

## (資料42) 平成13年度終了特別研究の評価状況

### 1. 環境ホルモンの新たな計測手法の開発と環境動態に関する研究

#### 研究の概要

本研究では、環境媒体中でのホルモン作用の有無の確認とその原因物質の究明に向け、環境媒体に適用可能なホルモン活性のスクリーニング手法と化学物質の高感度分析法を開発し、これを応用して環境媒体のホルモン作用の実態の把握を試みた。イオントラップ質量分析法、負イオン化学イオン化法(NCI)、液体クロマトグラフ質量分析法(LC-MS)や免疫化学的測定法(ELISA)を導入し、超微量成分を精度よくしかも簡単に測定できる手法の開発を行った。受容体結合試験の高感度化や簡便な酵母 two hybrid アッセイ法によるアゴニスト活性とアンタゴニスト活性を評価するシステムを構築し、環境試料に応用した。

#### 研究期間

平成11～13年度(3年間)

#### 研究予算額

総額約103百万円

#### 課題代表者

白石寛明(環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト)

#### 研究成果

通常のホルモンは極微量でその作用を示すことから、環境ホルモンと疑われる物質の環境モニタリングにおいても通常のホルモンと同様に超微量分析が必要であるため、イオントラップ質量分析法、負イオン化学イオン化法(NCI)、液体クロマトグラフ質量分析法(LC-MS)や、処理が早く多くの試料の測定が必要な環境モニタリングには非常に有用な手法である免疫化学的測定法(ELISA)を導入し、超微量成分を精度よくしかも簡単に測定できる手法の開発を行った。また、分子プリンティングによるビスフェノールAの選択的吸着剤の開発をあわせて行った。一方、環境ホルモンの評価法開発研究では、環境媒体のホルモン作用を捕らえることができる方法を中心に開発を行い、受容体結合試験の高感度化や簡便な酵母 two hybrid アッセイ法によるアゴニスト活性とアンタゴニスト活性を評価するシステムを構築した。この結果、1日で多数の検体に対するホルモン作用の評価ができる高感度な酵母 two hybrid アッセイ法が構築された。さらに、アッセイ系を拡張し、ヒトのエストロゲン受容体、甲状腺ホルモン受容体、アンドロゲン受容体に加え、それ以外の動物への作用を評価できるようになった。また、モノクローナル抗体を用いるメダカピテロゲニン測定法の開発を行った。これらの成果を環境に応用した結果、都市河川ではエストロゲン作用が認められるものの、東京湾や霞ヶ浦等ではほとんどエストロゲン活性が認められないことが示された。発生源である工場排水などからは、

ノニルフェノールやビスフェノールAが原因と考えられるエストロゲン活性が認められる場合があったが、環境中のエストロゲン活性の大部分は本物のホルモンであるエストラジオール類に起因すること、したがって、下水からの流入水の多い河川に高いエストロゲン活性があることが示された。また、これら天然ホルモンは分解しやすく、移動拡散の過程で分解除去されること、エストロゲンの硫酸抱合体の分解が比較的遅いことが示された。

## 評価結果

A : 5    B : 9    C : 1    D    E

( A:大変すぐれている B:すぐれている C:普通 D:やや改善が必要 E:大幅な改善が必要 )

## 評価者意見の概要

プロジェクト全体として、環境ホルモン類のバイオアッセイ系の可能性をさぐり、エストラジオールなどの高精度測定法の開発を行い、環境媒体中のホルモン類のスクリーニング技法を確立した実績を高く評価された。特に、環境媒体中のエストロゲン活性について、極微量物質の高感度計測手法を機器計測および生物学的手法による計測の両面から進め、環境水中のエストロゲン濃度について従来のデータを見直す必要性を提示したことや、ELISA法の有用性の検証、メダカビテロゲニンの自動測定法の開発等が評価された。一方で、野外への応用を進めるべき、河川、海への応用は測定頻度が十分でなく予備的レベルであると評価された。また、発生源へ応用し、環境負荷の低減策を提案ができると好ましいとの指摘があった。

## 対処方針

重点特別研究プロジェクト「環境ホルモン・ダイオキシン研究プロジェクト」の中で本研究で得られた計測、評価手法を活用し、環境管理に展開するために発生源(工場排水、生活排水など)の調査を引き続き行うとともに、野外調査ではサンプル数、季節性を考慮し、河川や東京湾を中心に研究を強化し、環境動態を明らかにしていく。また、ヒトエストロゲン以外の系をモニタリング項目に含め、環境媒体の様々なホルモン活性を把握するとともに、活性物質の同定を着実に進めて、生態系への影響を明らかにしていきたい。

## 2. 空中浮遊粒子 (PM2.5) の心肺循環器系に及ぼす障害作用の解明に関する研究

### 研究の概要

日本の大都市部の空中浮遊微粒子 (PM2.5) の主要部分を占めるディーゼル排気粒子 (DEP) を対象物質として、ディーゼル排気の曝露実験と組織培養を含む実験を組み合わせることにより、そのDEPがどのような機序で心肺循環器系に障害を及ぼしているかを明らかにすることを目的とした。そのため本研究では、DEPの心肺循環器系に及ぼす障害作用を明らかにするために、1. 循環器に対する影響の解明研究として、(1) DEPの曝露を受けた動物の心電図解析をはじめとする電気生理学的解析、(2) 心臓と肺の病理組織学的変化の解析、(3) それら組織にとって重要な各種構成細胞に対するDEP影響を解析するとともに、2. 呼吸循環影響に関する免疫学的研究として、(4) 肺胞マクロファージの反応、(5) 鼻アレルギー反応および(6) 感染性肺傷害の憎悪とメカニズムの解明の実験を行った。

### 研究期間

平成 11 ~ 13 年度 (3 年間)

### 研究予算額

総額約 62 百万円

### 課題代表者

鈴木 明 (PM2.5・DEP 研究プロジェクト)

### 研究成果

ディーゼル排気 (DE) あるいはDEPの曝露によって、呼吸ガス交換障害を主とする呼吸機能の低下が起こり、それに伴い、動脈血液中の酸素濃度の低下および二酸化炭素濃度の増加が起こることが確認された。また、これらの変化は、心臓負荷を増大させ、循環機能の低下をもたらすことが、右心室壁の肥厚や不整脈の出現によって明らかにされた。さらに、DEP曝露は、生体の免疫力を低下させ、細菌感染を起こりやすくし、細菌の出す毒素を増悪させることが示唆された。細菌毒素による炎症の悪化は肺水腫や肺での循環障害を引き起こすことから、心臓と血管の負荷を大きくする可能性が考えられた。さらに、DEP中に血管弛緩と心筋強縮作用をもつ化学物質が存在することがはじめて確認されたことから、循環器の障害は極めて大きくなることが推察された。なお、DEP中から単離、同定された数種類の化学物質についてはPM2.5・DEP研究プロジェクトの研究の中で詳細に検討される予定である。

### 評価結果

A : 9      B : 7      C : 1      D      E

## 評価者意見の概要

DEあるいはDEPへの暴露が心肺循環器への負荷を高めるいくつかのメカニズムが動物実験により明らかにされ、その過程で気体交換の測定に関する新しい技術が開発されたこと、また、DEPの心肺循環器系におよぼす影響を多角的に研究されたことが高く評価され、今後、さらなる研究の展開が期待された。一方、ここで観察された作用がPM2.5の作用であると断定することは出来ない、また、DEPの発生に実機関の定常運転による排ガス粒子発生に依っているため、PM2.5と他の要因(ガス中NO<sub>x</sub>、PM10等)との分離が出来ていないとの指摘を受けた。さらに、0.3mg/m<sup>3</sup>より低い濃度で長期間の影響研究の遂行と、予防原則に則って行政的軽減方策(例えばDEPの目標値)を提案してほしいとの意見が出された。

## 対処方針

欧米における疫学での報告では、PM2.5の呼吸・循環器影響は、現実の大気環境で起こったものと理解されている。したがって、そこには粒子状物質(PM2.5)とガス状物質が混在しており、この混在状態での健康影響がいわゆるPM2.5の健康影響と考えられる。今回の報告は、沿道に近い状況でのDE曝露を想定したものであり、正確な意味でのPM2.5の粒子だけの作用とは言い切れないが、疫学的な意味でのPM2.5の健康影響の一側面を反映していると考えられる。なお、重点特別研究プロジェクト「PM2.5・DEP研究プロジェクト」の中では、除粒子をしたDEの曝露と、ガス成分を除いたDE曝露を計画しており、PM2.5の粒子およびガス成分による健康影響のより詳細なメカニズムの解明をしたいと考えている。また、行政的な提案としては、例えば、DEP中の有害物質を減少させたエンジンの開発促進、DEPの排出規制値、地理・地形と気象学を考慮した粒子濃度予想による対策などが考えられる。今回の曝露は、1年間の曝露を2回繰り返したが、より低濃度で実験動物が老化する2年以上の長期曝露を「PM2.5・DEP研究プロジェクト」の中で、出来るように計画したいと考えている。

