

ISSN 1346-776X



NIES RESEARCH BOOKLET

環境儀

NO. 17 JULY 2005

国立環境研究所の研究情報誌

有機スズと生殖異常 海産巻貝に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響



独立行政法人
国立環境研究所
<http://www.nies.go.jp/>

環境儀

NIES RESEARCH BOOKLET No. 17 JULY 2005 独立行政法人 国立環境研究所

フィールド調査と実験から
内分泌かく乱作用に関する
新しい仮説が検証されつつあります。





有機スズ化合物がごく低濃度で、巻貝のなかの前鰓(ぜんさい)類に影響を与え、雌を雄性化させることが明らかになっています。しかし、メカニズムは不明のままです。これを巡って、「性ホルモンのアンバランスが雄性化を引き起こす」などを筆頭に、さまざまな仮説が登場しました。そのような中、これまでの視点をガラリと変える「性ホルモンによらない雄性化」の斬新な知見に基づく仮説が国立環境研究所から生まれました。この仮説は、今後の「巻貝の雄性化」の研究を発展させる上で新しい糸口を示しています。国立環境研究所では、『環境ホルモン問題』に対して「重点特別研究プロジェクト」として以前から研究に取り組んでいます。本号では、その中から巻貝に及ぼす「有機スズ」の内分泌かく乱作用について、自然界における影響を明らかにするための個体群を対象とするフィールド研究と、なぜそのようなことが起こるのかを明らかにするための実験室における雄性化のメカニズム研究の最新動向を紹介します。

C O N T E N T S



有機スズと生殖異常 海産巻貝に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響

- Interview
研究者に聞く P4~P9
- Summary
「有機スズ汚染がイボニシに及ぼす影響の実態とメカニズムの解明」の研究から P10~P11
- 研究をめぐって
内分泌かく乱化学物質問題
—— 着実に進む研究 P12~P13
- 「内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロジェクト」の全体構成
..... P14

●本研究プロジェクトに関連する情報は、国立環境研究所のホームページでご覧いただけます。
<http://www.nies.go.jp/edc/edrep/index.html>

Interview 研究者に聞く!!

ダイオキシンをはじめとする内分泌かく乱化学物質問題は関心が高く注目が集まっているものの、生体や環境に与える影響については、科学的に解明されていない点も数多く残されています。このため、国立環境研究所では、重点特別研究プロジェクト「内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロジェクト」を立ち上げ、七つの専門チームから構成された総合的な研究として取り組んでいます。

この中で、「有機スズ化合物による巻貝の生殖異常」研究に取り組む堀口敏宏さんに、研究の動機、そのねらい、新しく得られた内分泌かく乱現象のメカニズムなどをお聞きしました。



堀口敏宏 / 内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロ

イボニシの悲鳴ー海からのSOS

1: 研究までの道程

Q: まず、研究者になったきっかけをお願いします。

堀口: 私は子供の頃から魚釣りを続けたせいで、海が好きでした。将来海と関係する仕事がしたくて、大学も水産関係を選びました。入ったサークルで「公害原論」(宇井純・著)と出会い、水俣病の本格的な知識の獲得が大きなきっかけになり「水俣病のようなことを起こさないために何かできないか」というのが研究者になった最初の動機です。水俣病を含む日本の四大公害のうち三つまでが水質汚濁、それも人間活動に伴う排出物が水域を汚染し、ヒトや野生動物の健康を損なってきました。一方、今回の研究の元となった有機ス

ズ汚染は、船底・漁網防汚剤に用いられた有機スズそのものの作用が、予期しなかった悪影響を水生生物に及ぼしたということになります。

Q: 水域問題という点では共通するわけですね。それでは、今回の研究について伺います。きっかけはどのようなことだったのですか。

堀口: 大学院生の時、イギリスの文献で「巻貝の仲間に非常に低濃度のTBTでインポセックスを引き起こした例が見られた」という報告を読みました。インポセ

TBT・TPT

TBTは有機スズ化合物。そのうち、一般によく知られているのは酸化トリブチルスズTBTO。船底、漁網などにイガイ類、フジツボ類、海藻などが付着するのを防ぐ船底・漁網防汚剤。TBTOは1990年1月に化審法による第一種特定化学物質に指定され、製造、輸入、使用が禁止されています。研究では13種類(第二種特定化学物質)あるTBTO以外のトリブチルスズ化合物のうち塩化トリブチルスズを使用しました。化学式は(C₄H₉)₃SnCl(構造式は図a)。

イボニシとインポセックス

イボニシは大人の人差し指の第一関節くらいの大きさの貝です。小型の巻貝で、日本では北海道の積丹半島以西から、鹿児島県まで広く分布しています。岩場にごく普通に見られます。市場価値はありませんが食べられるので、地元の人は酒のつまみなどとして採る場合があります。

イボニシの雄には右の触角の後ろにペニスがあり、輸精管もあります。一方、雌にはペニスも輸精管もなく、輸卵管があります。

インポセックスは、Imposed sexual organを短縮させた造語であるといわれています。雌の証である輸卵管を持っているにもかかわらず、ペニスや輸精管の少なくとも一つを持っているものとして定義されます。また、ある地点で採集さ





リスク評価と 管理研究プロジェクト 生態影響研究チーム 総合研究官



いほどひどい状態でした。1990年2月のことです。

そのときから研究テーマとしてインボセックスにねらいを絞ったのですが、バイ貝はサンプルがほとんど手に入りません。自分で採るといっても生息しているのは水深数十mですから、漁業者の手を借りないと無理でした。そんなとき、神奈川県の大磯半島に東京大学の三崎臨海実験所があることを思い出しました。臨海実験所近くにはマリーナがあります。ここにはたくさんの船が集まりますから有機スズ汚染が予想され、またそこに生息する巻貝のイボニシが「影響を受けているかも知れない」という情報も伝わってきました。ここなら東京に近いので通うことができますし、イボニシなら自分で採集することも可能です。

ックスは、簡単にいうと雌の雄性化です。当時、日本でも「有機スズによる環境汚染はかなり進んでいる」という報告がいくつもありました。そのため、巻貝にもきっとインボセックスが出ているだろうと思ったのですが、それを裏づける調査研究は、日本にはほとんどありませんでした。

そんなときに、ある県の水産試験場の方から「バイ貝がおかしい」という情報が入ったのです。バイ貝は人間の飼育下で受精・産卵させ稚貝まで育てた後、海に放流する種苗生産・増殖事業が行われています。そのバイ貝が「卵を産まない」というのです。実物をよく見ると雌にペニスがあり、イギリスの文献と同じような症状でした。しかもバイ貝は卵を産めず子孫を残せな

2: イボニシの研究

Q: イボニシの様子はいかがでした。

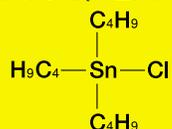
堀口: 1990年当時の調査では、100%インボセックスの雌しかいませんでした。ただ、症状の程度に差はあります。軽いうちは、ペニスや輸精管を持っていても一応産卵し、重症のものだけが産卵不能となります。しかし、いずれにしても共に異常な状態です。

Q: 症状の程度と地域との関連はあるのですか。

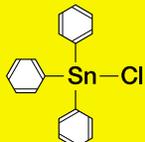
堀口: インボセックスはTBTやTPTが原因で起きるという因果関係が分かっています。高濃度汚染地域のイボニシほど重症です。1990年5月の臨海実験所周辺の調査では輸精管の発達で産卵口が塞がり腐った卵の塊を持つ個体、また輸卵管が破れたり、その手前のパンパンに張った個体も多数観察されました。

Q: TBTやTPTとインボセックスとの間の因果関係は、どのように見出されたのでしょうか。

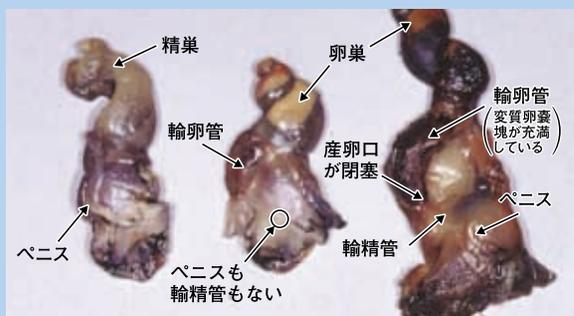
TPTは同じく有機スズ化合物で、7種類あり、すべて1990年1月に第二種特定化学物質に指定され、現在は防汚剤としては使用されていません。研究では塩化トリフェニルスズ(C₆H₅)₃SnClを使いました(構造式は図b)。



図a 塩化トリブチルスズ



図b 塩化トリフェニルスズ



左: オス、中: メス、右: インボセックスのメス

➤ れた雌の総数に対する、インボセックスになった雌の割合をインボセックスの出現率と呼びます。

なお、インボセックスの症状には軽いものから重いものまであり、症状の見方には二つの方法があります。

一つは相対ペニス長指数 (Relative Penis Length Index: RPL Index)。これは雌雄のペニスの長さの比に基づく指数で、 $RPL = \{(\text{その地点の雌の平均ペニス長}) \div (\text{その地点の雄の平均ペニス長})\} \times 100$ となります。RPLは0~100の数値で表わされ、たとえば40だとその地点の雌の半数以上が産卵できなくなっています。

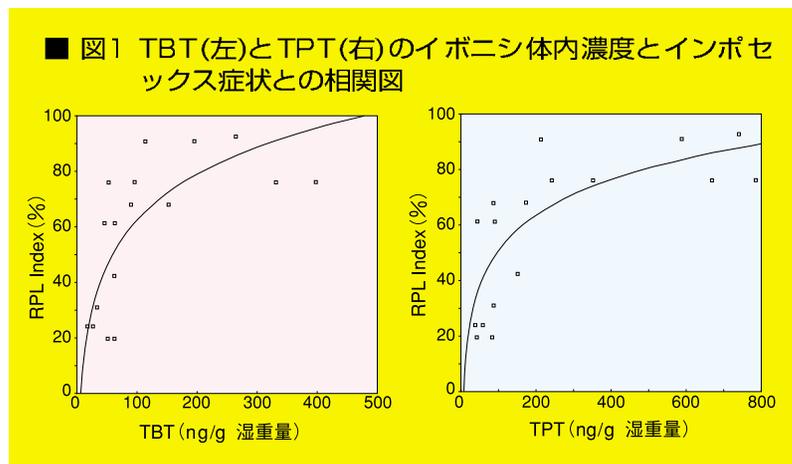
もう一つは輸精管順位指数 (Vas Deferens Sequence Index: VDS Index) です。これは輸精管の発達の程度を表わす指数です。ペニスと違い、定性的な評価法ですが1~6に分類されます。数字が大きくなるにつれて症状が重くなり、5と6が産卵できなくなった不妊個体です。

Interview 研究者に聞く!!

堀口: 因果関係を探るには普通、全国的なエリアで疫学調査を行います。イボニシの場合でいえば、インボセックスの出現率、症状の程度（ペニスの長さや輸精管の発達度合い）と、さまざまな環境要因のどれが相関するか調べる必要があります。当時この研究はイギリスが先行し、船底塗料などに使われていたTBTが原因であろうと指摘されていました。日本での調査ではTBTだけでなく船底塗料などとしていっしょに使われているTPTも考慮しました。実際、環境中からは両方検出され、分析結果（図1）は共に右肩上がりで、相関も見られています。

実は、イギリスの論文ではTPTはインボセックスと無関係とっています。つまり、私たちの研究は、イギリスの報告とは異なる結果になったのです。もちろん相関があることと因果関係があることは、完全にイコールではありません。その検証のために、イボニシの足（筋肉）にTBT、TPTを直接注射する実験を行いました。結果は共に雌にペニスが出現し、成長しました。

筋肉注射は、短時間で因果関係を調べるには便利な



方法ですが、自然に体内に取り込まれる状態とは異なります。そこで、佐渡産の正常な雌のイボニシをTBT含有海水中で3カ月間飼育し、インボセックスの症状がどのように進行するかを観察する実験も行いました。具体的には、TBT濃度1、10、100ppt (ppt:1兆分の1) の水槽での飼育です。その結果、1pptという最小濃度でさえ約3週間で症状が出始め、最終的には9割がインボセックスとなりました。イボニシの場合「ペニスはそれほど劇的に伸びなかったものの、TBT 1ppt程度のごく低濃度でもインボセックスを引き起こす」という結論に至りました。さらに、これまで入手したイボニシを含めた69種類の巻貝のうち39種類の貝でインボセックスが起きていました。

3: アワビの研究

Q: アワビの研究もされていませんか。

堀口: はい、1994年から研究を始めました。アワビの漁獲量は1970年がピークで、1980年半ばからはほぼ一貫して減少傾向にあります。海域によってばらつきはありますが、減少の激しい海域ほど種苗生産されたアワビの割合が高く天然アワビが少ない傾向にあ

メカニズム、4つの仮説

インボセックスを引き起こす誘導メカニズムについては、これまでに以下の4つの仮説が立てられていました。

①アロマトラーゼ阻害説（1996年）

巻貝もヒトなど脊椎動物と同様のステロイドホルモンを持っている、という前提に立った説です。ヒトの場合はコレステロールがさまざまな酵素の働きによって種々のステロイドホルモンに変わっていきます。そのうち、代表的な男性ホルモンであるテストステロンは、アロマトラーゼという酵素の働きで代表的な女性ホルモンであるエストラジオールに変わります。ところが、TBTによってそのアロマトラーゼが阻害されることにより、エストラジオールの生成が減り、逆にテストステロンが増大して雄性化するといふものです。

②男性ホルモン排出阻害説（1996年）

ヒトの場合、体の中から余剰の男性ホルモン(テストステロン)を排出するときには、テストステロンが硫酸抱合体やグルクロン酸抱合体となります。巻貝も同様と考え、そのときにTBTの作用でテストステロンの硫酸抱合体としての排出が阻害され、体内に残留するため雄性化するといふものです。

③脳神経節障害説（1983年）

巻貝には脳に相当する器官として神経節(神経の束)があります。この説は、中枢の神経節から分泌される、ある種の神経ホルモン(ペニス形成因子)がペニスの形成に関与し、雌の場合は同時にペニスを作らせない別の神経ホルモン(ペニス形成抑制因子)もあって、正常な状態では両者の拮抗作用により、雌にペニスが生じないといふものです。しかし、TBTによってペニス形成抑制因子(の分泌)が阻害されるため、雌にペニスが生じる、といふものです。



りました。これらの状況は有機スズ汚染が始まった時期、あるいは進行していた海域とおおむね一致するということが分かりました。

アワビやサザエは原始的な巻貝で卵と精子を水中に放出して受精します。外見上雌雄が判別できないため影響の有無が分かりづらく、調査当初は苦労しました。その後、ようやく異変の端緒をつかみました。それはバイ貝の時と同じような知見で「雄は成熟するが雌の成熟程度が低い」または「卵巣の一部で精子を作っている雌がいる」というものでした。

Q: アワビもインポセックスになったのですね。

堀口: インポセックスの定義には当てはまりませんが、雌の雄性化は見られました。1997年当時です。そのときはまだ「可能性が高い」というレベルでした。その後、基礎的な研究を続ける一方で、有機スズにあまり汚染されていない海域（A海域）と、漁獲量の激減している海域（B海域）で獲れたアワビの比較も行いました。するとA海域のアワビでは、雄と雌が晩秋から初冬にかけてほぼ同時期に性成熟するのに対し、B海域のアワビでは雌の性成熟が全体としてよくないのです。しかも、成熟のピークが雄と雌でずれていました。これは、体外受精から誕生するアワビにとって致

命的なことです。しかも、卵巣の一部で精子を作っています。体内に蓄積されている有機スズの含有量を調べると、B海域の方が有意に高いことも分かりました。

そこで、今度は移植実験を行いました。これは、A海域のアワビをB海域に移植して飼育する方法です。その結果、実験した7カ月の間にアワビの筋肉中の有機スズ濃度が有意に上昇し、雌の約9割が精子をつくったのです。正直、驚きました。次は室内実験で有機スズとの因果関係を調べました。水槽に有機スズを含む人工海水を満たし2カ月間飼育実験を行った結果、卵巣の中で精子を形成する雌が観察されました。アワビについても有機スズが雄性化させることが分かりました。これはイボニシに続いて2番目の因果関係を断定した例となりました。

なお、B海域でもアワビに含まれる有機スズの含有量は、厚生省（当時）が出した一日摂取許容量よりはるかに低い量です。このアワビを毎日40個ずつ食べても影響が心配される数値ではありません。

4: インポセックスの発現メカニズムについて

Q: 有機スズは、体内でどのように作用してインポセックスとなるのでしょうか。

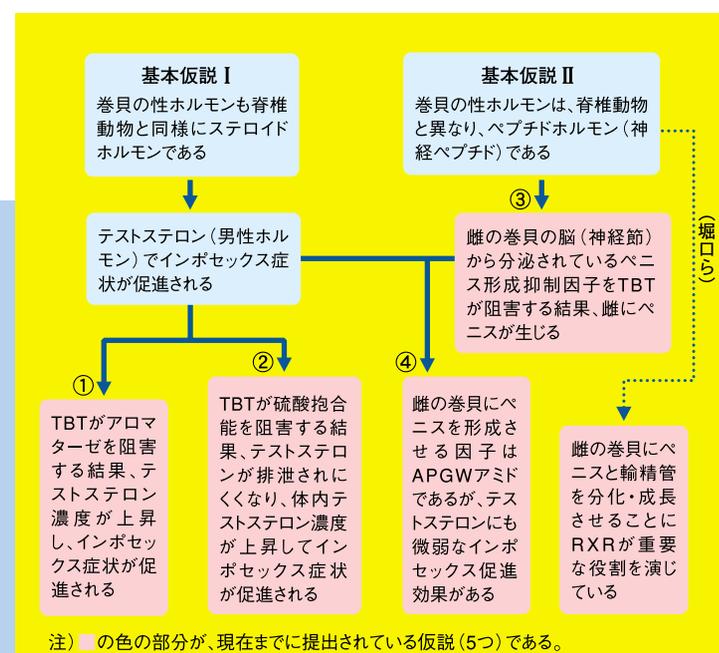
堀口: インポセックス発現メカニズムに関してはこれまで4つの仮説（欄外）があります。その中で、有名なのは男性ホルモンから女性ホルモンを作るアロマター

④APGW アミド説（2000年）

③の仮説に立脚し、ペニス形成に関する神経ホルモンはAPGW アミドであるとしたものです。なおAPGW アミドとは、アラニン、プロリン、グリシンおよびトリプトファン

* * *

2004年に堀口さんらが提唱したレチノイドX受容体(RXR)説(RXRが巻貝のインポセックス発現メカニズムに重要な役割を演じているという仮説)は、これまでとまったく異なるインポセックス発現の仮説として注目されています。なお、RXRの本来のリガンドと考えられる9-cisレチノイン酸は、ビタミンAの活性型であり、視覚細胞中のロドプシンの構成要素として必須であるばかりでなく、脊椎動物などにおいて発生や組織の分化に大きな役割を担っていると考えられています。



●インポセックス誘導メカニズム仮説関連図

Interview 研究者に聞く!!

ぜという酵素が、有機スズによって阻害されインボセックスとなる、というものです。

この仮説を考えると「果たして巻貝は人間と同じような性ホルモンを持っているのだろうか」と疑問を感じました。しかし、誰に聞いても「論文に書いてあるから」という答えばかりです。そこで論文と同じように貝をすりつぶして調べると、確かに5つのほ乳類関連の性ホルモンが検出されました。でも、そのうちの 하나가エチニルエストラジオール (EE2) だったのです。これは経口避妊薬のピルの成分で人工のホルモンです。「何で巻貝がピルの成分を持っているの?」の疑問がわかります。「巻貝は特別な酵素を持っていて体内でEE2を合成できる」、「何らかの形で環境中に存在しているEE2を体内に取り込んで、汚染物質として持っていた」という二つの理由が考えられます。後者の場合、他の4つの性ホルモンにも同様な疑問が生じます。いずれにしても、化学分析ではその違いがわかりません。つまり、化学分析結果をまとめた論文の結論は全部疑問符が付くことになります。

さらに「巻貝が性ホルモンを持つとしても、その受容体はあるのか」という疑問もあります。ホルモンがあっても受容体がなければ機能しません。巻貝から性ホルモンの受容体の存在を証明した論文はほとんどありません。男性ホルモンの受容体の存在はだれもみつけられず、女性ホルモンの受容体に関しては科学雑誌「サイエンス」に載った一例のみです。イボニシから同じような女性ホルモン受容体様のタンパクを取り出して試験してみましたが、代表的な女性ホルモンであるエストラジオールが結合しませんでした。となると、



女性ホルモンの受容体というよいのかどうか。また、残りの仮説に関しても追試を行ったのですが、どれも満足な結果が得られませんでした。

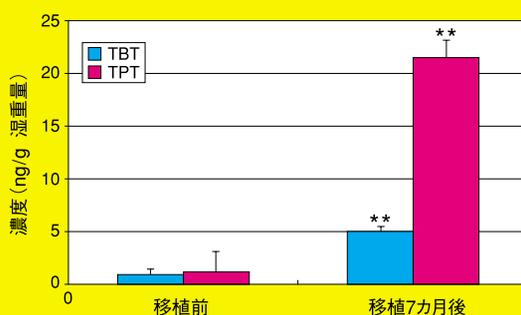
Q: 堀口さんはどうお考えになったのですか。

堀口: インボセックスは、最初にペニスと輸精管ができます。次に症状が重くなると輸卵管が塞がったり卵巣で精子を作り始めます。つまり、時間的なずれがあるのです。そこで、こうした症状の変化は一つのメカニズムだけではなく、複数のメカニズムが関係し合っ

て一連の反応が起きる方が自然だと考えました。そんなときに、ヒトの核内受容体の一つであるレチノイドX受容体 (RXR) が有機スズと非常によく結合することが共同研究者である大阪大学の西川淳一助教授のグループによって観察されました。ヒトの細胞核内には、女性ホルモン受容体をはじめたくさんの受容体があり、その中でRXRだけが有機スズとすぐく反応するのです。つまり、有機スズは本来の結合相手のニセモノである可能性が高い。RXRは脊椎動物だけではなく無脊椎動物にも見つかっているので、軟体動物の巻貝も持っているかも知れない。少なくとも性ホルモンの受容体よりは信頼性が高そうだと思います。

そこで、RXRのリガンドとして知られる9-*cis*レチ

■ 図2 非汚染地区のアワビをかごに入れて汚染地区(造船所近辺)へ移植してのTBT、TPT曝露試験 (1998.6~1999.1)



** : 危険率1%で有意差がある。

受容体の働き

受容体は、内分泌系、神経系、免疫系からの情報伝達物質を認識し結合して、細胞内の核へ情報を伝える役目を果たします。その指令に基づき、細胞は目的とする酵素などを作り出します。個々の受容体は、それぞれ一つの物質しか受けることができません。結合する物質をリガンドと呼び、受容体との関係はカギとカギ穴のようなしくみになっています。

細胞の外側を包む細胞膜は脂質層です。このため水溶性物質と結合する受容体は細胞膜を通過できず、細胞膜上に存在します。一方、脂溶性物質は細胞膜を通過できるため該当の受容体は核の中にあります。前者を細胞膜受容体と呼び、ペプチドホルモン(成長ホルモン)受容体などがそれにあたります。これらは結合後、細胞内の情報伝達物質(細胞内シグナ



●イボニシの卵

ノイン酸をイボニシに注射してみました。すると、なんとインボセックスが起きてしまいました（サマリーに詳説）。私の15年の経験で、有機スズ以外でこんなにはっきり出たのは初めてでした。「これはすごい」と思いました。検証実験でも、結果は9-*cis*レチノイン酸を投与したイボニシに関して濃度依存的にインボセックスが観察されました。最初の実験と同じ結果が、みごとに再現されたのです。

また、イボニシRXRはヒトRXRとアミノ酸配列が似ており、ヒトRXRと同様に、イボニシRXRに対して、TBT、TPTともに9-*cis*レチノイン酸と同程度の強い結合性（アゴニスト活性：結合すると細胞が活性化するように指令を出すこと）を持っていることが観察されました。つまり、RXRに9-*cis*レチノイン酸のニセモノであるアゴニストのTBTやTPTがくっつくことで誤って転写反応が起き、最終的に雌にペニスや輸精管ができるのだと考えられます。

Q: つまり、性ホルモンでペニス伸びるわけではないのですね。

堀口: そうです。雌が雄になるので、みんなテストステロンなどの性ホルモンだと思ったのですね。

Q: こうした現象はヒトにも起きるかもしれない、とい

ル伝達)を介してDNAへ届きます。後者を核内受容体と呼び、ステロイドホルモン(性ホルモン)受容体、アミノ酸誘導体ホルモン(甲状腺ホルモン)受容体、そして本文に登場するRXRなどがそれにあたります。

内分泌かく乱化学物質は、受容体を巡ってさまざまな悪影響を与えます。まずあげられるのは受容体と結合するためのカギを持つ偽のリガンド作用です。本来のリガンドは必要なときだけ作られて作用します。ところが、内分泌かく乱化学物質は外から入ってきますから勝手にどんどん受容体と結合し、スイッチをオンにして作用(本来の作用とは別の作用)を開始してしまいます。一方、必要なときに本来のリガンドが受容体と結合するのを妨害する内分泌かく乱化学物質もあります。これは、スイッチをオフにするわけですから体内のホルモンなどの作用が行われなくなります。



うことでしょうか。

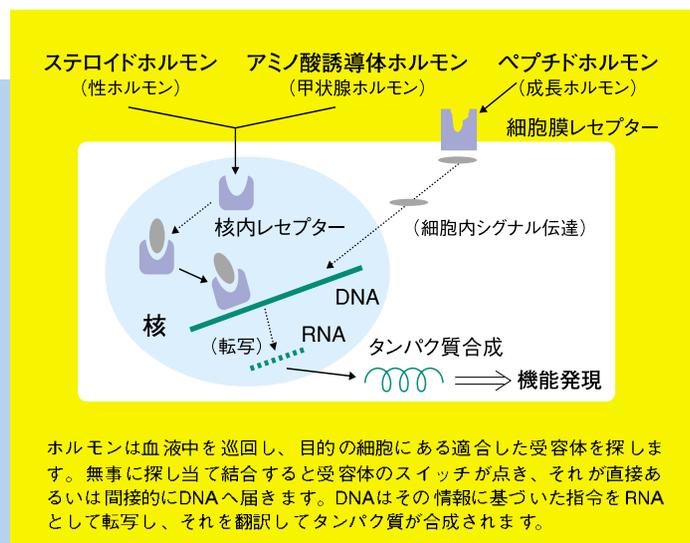
堀口: 似たことが起きる可能性はあると考えられます。RXRはヒトも持っていますから。ですから、私はヒトに対する有機スズの毒性の再評価をするべきだと思っています。有機スズは巻貝にインボセックスを起こします。それは巻貝特有の話と考えられていますが「ヒトはまったく関係がない」と本当にいえるのでしょうか。この点の検証が必要でしょう。

5: 今後の研究について

Q: さて、今後の研究に期待がかかります。方向性などをお聞かせください。

堀口: フィールド分野では、モニタリング調査を中心とする研究を続けていきたいと思っています。日本では1990年以降、化審法と行政指導により有機スズの製造や使用が厳しく制限されています。しかし、汚染レベルの高いホットスポットはいまだに各地に存在し、モニタリングによる規制効果の確認が必要です。アワビに関しては、親貝だけではなく稚貝の生残や成長などへの影響も監視していきたいと思っています。そうした蓄積が、重要水産資源の復活につながると思います。

一方、メカニズムですが、TBTやTPTがRXRと結合してスイッチが入り、何段階かの反応を経てペニスや輸精管の元となる細胞の分化を誘導し、成長させていくのであろうと推察されますが、今のところ詳細は分かっていません。その解明に向けて、一つひとつ実験結果を積み重ねていきたいと考えています。



ホルモンは血液中を巡回し、目的の細胞にある適合した受容体を探します。無事に探し当て結合すると受容体のスイッチが点き、それが直接あるいは間接的にDNAへ届きます。DNAはその情報に基づいた指令をRNAとして転写し、それを翻訳してタンパク質が合成されます。

●代表的なホルモンの構造と作用メカニズム

Summary

「有機スズ汚染がイボニシメカニズムの

沿岸部の有機スズ汚染が巻貝にどのような影響を与えるか、という研究は、1990年から続けられており、2001年からは重点特別研究プロジェクトの一環としてフィールド研究に加えメカニズム研究などさらに広い角度からの検討が進められました。ここでは、フィールド調査および室内実験の両分野からの最新の研究成果を紹介します。

● 日本におけるイボニシのインポセックスと有機スズ汚染に関する全国実態調査

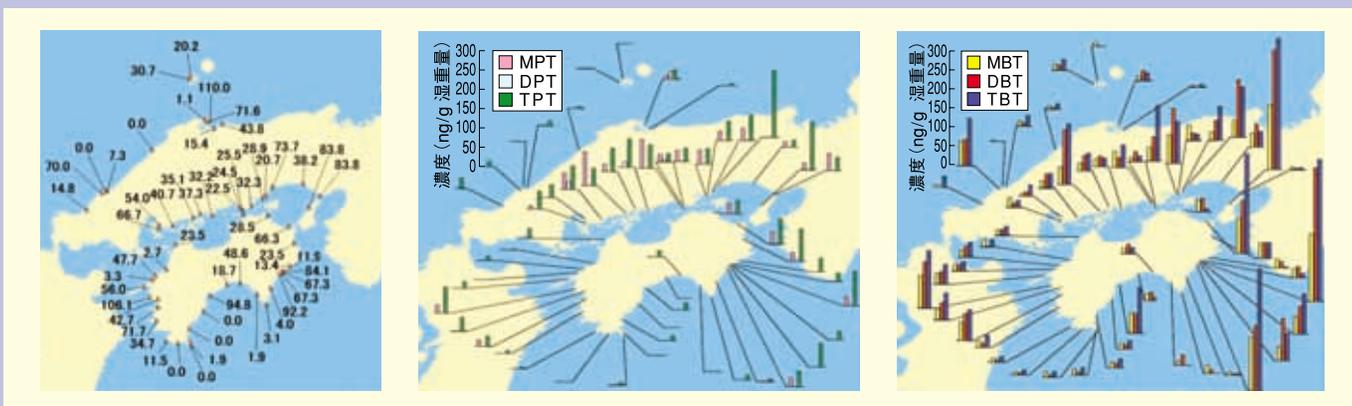
1999年1月から2001年10月までに全国の174地点で採集されたイボニシ試料を用いて解剖学的な観察を行い、各地点におけるインポセックスの出現率、相対ペニス指数(RPL Index)、輸精管順位指数(VDS Index)および陰門閉塞個体の出現率を算出しました。一部の試料の生殖巣組織から病理標本を作製し、光学顕微鏡で観察しました。またイボニシの全組織に含まれる有機スズ化合物〔TBT、TPTおよびその分解産物(MBT：モノブチルスズ、DBT：ジブチルスズ、MPT：モノフェニルスズ、DPT：ジフェニルスズ)〕の濃度を分析・測定しました。さらに、過去の調査結果との比較により、イボニシにおける有機スズ汚染レベルとインポセックス症状の経年推移について検討しました。

インポセックスは全国的になお広く観察されましたが、ペニスの発達の程度は小さくRPL Indexは多くの地点で40を下回りました。しかし、輸精管の形成および発達にペニスに先行して進むため、ペニス小さくても輸精管の形成が完了している個体が多く、VDS Indexが4を上回る地点が多く見られました。また、ペニスは短いながらVDS Indexが5や6と判定される不妊(産卵不能)の個体が、低頻度ですが各地で観察されました。イボニシのインポセックスでは、輸精管の発達に伴う周辺組織の増殖(過形成)により陰門が閉塞して産卵不能に至るため、輸精管の発達の程度を詳細に観察する必要があります。なお、造船所や漁港、養殖場の近傍や船舶航行量の多い複数の調査地点でVDS Indexが5を上回る不妊(産卵不能)個体が多数観察され、卵巣で精子形成を認める重篤な症状の個体も見られました。

イボニシの全組織中TPT、TBT濃度は、20ng/g湿重を下回る地点が多かったのですが、長崎港、瀬戸内海、鳴門海峡、関門海峡などの地点では、TBT濃度が40ng/g湿重を上回っていました。最高濃度はTPTが174ng/g湿重、TBTは329ng/g湿重でした。兵庫や徳島、高知、愛媛、長崎各県の一部の地点では局所的にTBTの高レベル汚染が見られるなど、いわゆる有機スズ汚染のホットスポットが観察されました。また、イボニシ全組織中のTPT濃度については、おおむね経年的に減少する傾向が見られました。しかし、TBT濃度に関してはさまざま、緩やかな低減傾向の

■ 図3 日本におけるイボニシのインポセックスと有機スズ汚染に関する全国実態調査

左：RPL Index 値の分布、中：TPT、DPT、MPT濃度、右：TBT、DBT、MBT濃度(いずれも一部地域のデータのみを提示)





シに及ぼす影響の実態と 「解明」の研究から

地域が比較的多かったものの、ほぼ横ばいと見られる地点や、経年的に上昇傾向を示す地点もありました。

● 9-cisレチノイン酸がイボニシのインポセックスに及ぼす影響

インポセックスの発現メカニズムについては、いくつかの仮説が提示されてきたにもかかわらず、いまだに明らかではありません。それを解明する一環として、細胞の核の中にあるレセプター(受容体)の一つであるレチノイドXレセプター(RXR)に注目し、その特異的リガンド(受容体にくっつく物質)である9-cisレチノイン酸を用いてイボニシのインポセックスに及ぼす影響を検討しました。

実験は①対照区として手を加えていないイボニシ、②9-cisレチノイン酸を注射したイボニシ、③TPTを注射したイボニシ、の3グループに分け、個々のガラス水槽で1カ月間飼育しました。

その結果、②ではインポセックス出現率が50%と、①の10%に対して1%の危険率で有意差が認められ(図4)、ペニス長および輸精管順位においても、それぞれ1%および0.1%危険率で対照区と有意差が見られました。ペニスが伸びた個体では、③と同様、最長で6mmを超え、明瞭にその形成ならびに伸長が認められました(図5)。これまでに、インポセックス発症メカニズムを探る種々の実験を行ってきましたが、これほど明瞭にペニス伸張を引き起こした物質はTBTや

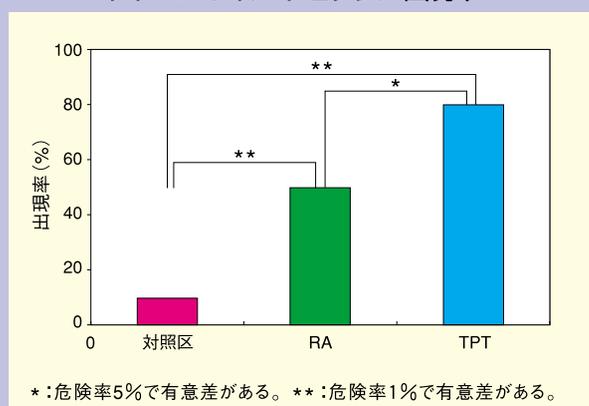


●9-cisレチノイン酸投与実験中の雌イボニシ(2002年に茨城県ひたちなか市平磯で採集。20個体ずつを3グループに分け、試験溶液を注射後、ガラス水槽で人工海水を10ℓ/日で通水している流水環境下)

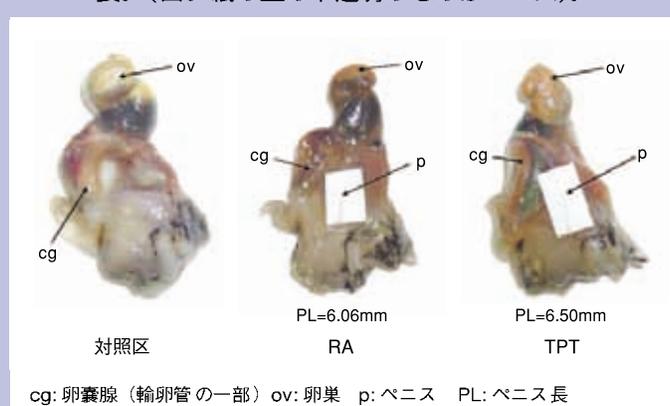
TPTなど特定の有機スズ化合物以外では9-cisレチノイン酸が初めてです。このような例は文献にも見あたりません。世界規模で見ても9-cisレチノイン酸は初めて確認された有機スズ化合物以外のインポセックス増進作用を持つ物質でした。

一方、興味深いことに、共同研究者である大阪大学の西川淳一助教授グループは、TBTやTPTがヒトRXRに対して、(RXR)本来のリガンドである9-cisレチノイン酸と同等の強いアゴニスト活性を有していることを観察しています。したがって、RXRに対するTBTやTPTのアゴニスト作用が、インポセックスの誘導・発現に深く関わっていることが強く示唆されました。

■ 図4 TPTおよび9-cisレチノイン酸(RA)によるイボニシのインポセックス出現率



■ 図5 9-cisレチノイン酸(RA)による雌イボニシのペニス伸長。(白い紙の上の半透明のものがペニス)。



〈内分泌かく乱化学物質問題〉

内分泌かく乱化学物質研究は、人間への影響に大きな関心が現在までに野生生物では内分泌かく乱化学物質による悪影響が実証されています。野生生物への影響に関する研究が明らかにしたこ



■ 世界では

1991年7月、当時WWFに所属していたシーア・コルボーン女史の呼びかけで開催された「野生動物種の性器異常及び生殖異常に関するウィングスブレッド会議」(米国・ウィスコンシン州)で、化学物質が持つホルモン様作用が参加した科学者の共通認識となりました。その後、同女史の「奪われし未来(原題はOur Stolen Future)」出版(1996年)を契機に、内分泌かく乱化学物質に対する関心が世界中で高まりました。

その後、人間への影響に関する調査・研究では、精子数の減少などに関するものだけでなく、大規模な疫学調査が米国などで実施されようとしているほか、極微量の化学物質が生物の内分泌系をかく乱するという“低用量効果”や、複数の内分泌かく乱化学物質が作用すると単独で作用したときよりもその効果が強まるという“相乗効果”、世代を超えて悪影響が生じるという“継世代影響”などの研究が続けられています。

一方、免疫系や神経系に対する内分泌かく乱化学物質の影響も調査・研究が少しずつ進みつつあります。さらに、薬物で動物細胞を処理した後の遺伝子発現の変化の解析を行うことにより、遺伝子(ゲノム)レベルで毒性発現メカニズムの解明や毒性予測を行う「トキシコゲノミクス」という新たな研究手法が、最近、内分泌かく乱化学物質による影響研究に導入されてきました。

これに対して野生生物に対する影響の調査・研究では、たとえば巻貝類や甲殻類などの無脊椎動物から魚類、両生類、爬虫類、鳥類および哺乳類などの脊椎動物に至るまでさまざまな生物を対象に行われてきました。そのうち、生殖に関連した異常とその原因物質が特定されているものは、巻貝類の140種以上で観察されてきたインボセックス(船底防汚剤などに含まれるTBTやTPT)、ヨーロッパタマキビにおける間性(TBT)、アワビ類における雌の雄化(TBTおよびTPT)、また魚類ではローチ(コイ科)などの雄の雌化(羊毛工場や下水処理場の排水中のノニルフェノールおよび

17β-エストラジオール)です。その他の野生生物でも生殖や免疫機能、行動に関する異常がいくつも観察されていますが、必ずしも原因物質の特定には至っていません。

これらの研究成果はWHOによる国際評価などに反映され、同時に、化学物質の安全性を確保するために、OECDでは内分泌かく乱作用の評価方法を国際的な枠組みで定める作業を進めています。

■ 日本では

国内でも一部の研究者の間では1980年代から研究は始まっていましたが、本格的に取り組まれ出したのは、1998年に政府が多額の予算を内分泌かく乱化学物質研究に投入してからです。その後、急速に全国の大学・試験研究機関で内分泌かく乱化学物質による人間や野生生物への影響に関する調査・研究がなされるようになりました。

研究の多くは人間への影響を明らかにするためのもので、実験動物を用いたメカニズム研究などで成果をあげてきていますが、人間集団に対する疫学調査は長い時間と多くの費用がかかることもあり、現状では十分に研究が進んだとはいえ、今後の課題として残されています。

一方、野生生物に対する影響の調査・研究は、実態解明に関するものが少なく、多くが飼育可能な種を用いて室内実験で影響や作用メカニズムを調べたものです。実態解明に関する調査・研究は、巻貝類(イボニシ、バイ、アワビ類など)の他、魚類(コイ、マダイ、マコガレイなど)や両生類(カエル類)、爬虫類(クサガメ)、鳥類(トビやカワウ)などで行われてきましたが、生殖に関連した異常とその原因物質が明確に特定されているものは、本号で取り上げた研究だけです。今後はさらに、異常と認められる現象とその原因究明に向け、系統的なサンプリングによるフィールド調査が必要です。また個体群の減少に対する内分泌かく乱作用の寄与度を推定する必要もあります。

—— 着実に進む研究 ——

払われ、動物実験から疫学調査まで幅広く行われてきました。
一方で、人の健康への影響については、必ずしも明確にはなっていません。
とを、今後さらに充実させていく必要があります。

行政面に目を向けますと、環境庁(当時)は1998年5月に「内分泌かく乱化学物質問題への環境庁の対応方針について－環境ホルモン戦略計画－SPEED'98」(Strategic Program for Environmental Endocrine Disruptors '98)を公表し、内分泌かく乱作用の疑いのある物質について、組織的な環境調査と影響評価を進めてきました。

そして2005年3月、SPEED'98の改訂版ともいえる「化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について－ExTEND2005」(Enhanced Tack on Endocrine Disruption 2005)を公表し、一部の野生生物(巻貝など)に内分泌かく乱化学物質による影響が観察されるものの、動物実験と疫学調査の結果から人間への影響は明らかでないとして、リスト化した物質の内分泌かく乱作用の評価から、野生生物の観察、いろいろな化学物質の環境中濃度の実態把握および曝露量測定、環境教育やリスクコミュニケーションといった側面に施策の中心を移しつつあります。

■ 国立環境研究所では

国立環境研究所では、2001年より内分泌かく乱化学物質およびダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロジェクトを開始し、同年に竣工した環境ホルモン総合研究棟を拠点として研究を進め、多くの研究成果を上げ情報を蓄積・発信してきました。本稿で取り上げた研究以外では、



●本研究プロジェクトを推進した前プロジェクトリーダー(2001～2004年度) 森田 昌敏博士(右から2番目)

- ①すべての環境媒体中に含まれる内分泌かく乱化学物質の量を定量的に測定するための高感度計測技術の開発
- ②内分泌かく乱の強度を測定するための生物や受容体結合性等を用いた評価法の開発
- ③人や動植物への曝露の程度を測るためのバイオマーカーの開発
- ④内分泌かく乱化学物質がヒトの脳・神経系や免疫系に与える影響を解明するための超高磁場MRIを用いる画像診断法の開発
- ⑤実験動物を用いる行動科学的、神経生化学的、分子生物学的および組織学的手法の研究——等を行っています。

国立環境研究所では、内分泌かく乱化学物質の問題は、野生生物の異常だけでなく、人の次世代影響のような未解明の現象について、見逃すべきでない重要な示唆を含んでいる可能性を考えています。欧米諸国を含め、世界の国々との研究協力のもとで、今後とも着実に本課題の調査・研究を進めていきます。



「内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロジェクト」の全体構成

本研究プロジェクトは、以下の課題に沿って、平成13～17年度にかけて実施されています。

課題1

内分泌かく乱化学物質・ダイオキシン類の計測法および生物検定法

環境庁SPEED'98に示された内分泌かく乱化学物質候補(65物質群)の中で、GC-MSによる一般的な分析法では定量が困難であった物質の新たな分析法の開発や、内分泌かく乱作用の評価法(生物試験法)の確立を目指して、さまざまな使用目的に応じた分析法・試験法を開発しています。

課題2

内分泌かく乱化学物質・ダイオキシン類の環境動態

水生生物に雌性化作用を示す物質群(ビスフェノールA、ノニルフェノールなど)の野外分布状況や環境中での分解・消失などを明らかにする研究を行っています。

課題3

内分泌かく乱化学物質・ダイオキシン類のヒトの健康および野生生物に及ぼす影響に関する研究

●3-1 内分泌かく乱化学物質・ダイオキシン類のヒトの健康に及ぼす影響に関する研究

ヒト(とくに感受性が高いと考えられる胎児、新生児)のダイオキシン類曝露量を評価する一環として、インフォームドコンセントのもと、羊水、臍帯および母乳を採取し、ダイオキシン類の測定を行っています。

●3-2 野生生物の生殖に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響に関する研究

有機スズ汚染による、アワビの生殖への影響や、イボニシの全国174地点調査およびインボセックスのメカニズム解明などの研究を行っています。

(本号は課題3-2をテーマに掲載しております)

課題4

内分泌かく乱化学物質の対策技術・手法の開発

内分泌かく乱化学物質による環境影響を低減するために、微生物や植物を用いた処理技術の開発の研究や、内分泌かく乱化学物質の環境動態およびリスク評価と管理のための、総合的な情報システムと方法論を構築する研究、および内分泌かく乱作用を中心に文献調査によりデータベースの作成を行っています。

<研究担当者>

●内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理研究プロジェクト(平成13～17年度)

リーダー・サブリーダー	森田昌敏、遠山千春、高野裕久、米元純三、鈴木規之
計測・生物検定・動態研究チーム	白石寛明、白石不二雄、John S.Edmonds、高木博夫、柴田康行
生体機能評価研究チーム	三森文行、梅津豊司、渡邊英宏、黒河佳香
病態生理研究チーム	高野裕久、今井秀樹、石堂正美、柳澤利枝、井上健一郎
健康影響研究チーム	米元純三、曾根秀子、西村典子
生態影響研究チーム	堀口敏宏、多田満、高橋慎司、菅谷芳雄、鑑迫典久
対策技術チーム	安原昭夫、伊藤裕康、橋本俊次
総合化研究チーム	鈴木規之、桜井健郎

●課題3-2 研究協力者(順不同)

趙顯書(麗水大学校)、鈴木英雄、関本実、関藤守(東京大学三崎臨海実験所)、山川紘(東京海洋大学)、西川淳一(大阪大学大学院薬学研究科)、太田康彦(鳥取大学農学部)、森下文浩(広島大学大学院理学研究科)、松島治(広島工業大学)、長尾隆司(金沢工業大学)、勝義直、井口泰泉(岡崎統合バイオサイエンスセンター)、濱田文彦、梶川晃、今井利為、滝口直之、池田武男、金子栄一、小嶋光浩、小津淳一

『環境儀』既刊の紹介

NO.1	環境中の「ホルモン様化学物質」の生殖・発生影響に関する研究	2001年 7月
NO.2	地球温暖化の影響と対策—AIM: アジア太平洋地域における温暖化対策統合評価モデル	2001年 10月
NO.3	干潟・浅海域—生物による水質浄化に関する研究	2002年 1月
NO.4	熱帯林—持続可能な森林管理をめざして	2002年 4月
NO.5	VOC—揮発性有機化合物による都市大気汚染	2002年 7月
NO.6	海の呼吸—北太平洋海洋表層のCO ₂ 吸収に関する研究	2002年 10月
NO.7	バイオ・エコエンジニアリング—開発途上国の水環境改善をめざして	2003年 1月
NO.8	黄砂研究最前線—科学的観測手法で黄砂の流れを遡る	2003年 4月
NO.9	湖沼のエコシステム—持続可能な利用と保全をめざして	2003年 7月
NO.10	オゾン層変動の機構解明—宇宙から探る 地球の大気を探る	2003年 10月
NO.11	持続可能な交通への道—環境負荷の少ない乗り物の普及をめざして	2004年 1月
NO.12	東アジアの広域大気汚染—国境を越える酸性雨	2004年 4月
NO.13	難分解性溶存有機物—湖沼環境研究の新展開	2004年 7月
NO.14	マテリアルフロー分析—モノの流れから循環型社会・経済を考える	2004年 10月
NO.15	干潟の生態系—その機能評価と類似化	2005年 1月
NO.16	長江流域で検証する「流域圏環境管理」のあり方	2005年 4月



『環境儀』

地球儀が地球上の自分の位置を知るための道具であるように『環境儀』という命名には、われわれを取り巻く多様な環境問題の中で、われわれは今どこに位置するのか、どこに向かおうとしているのか、それを明確に指し示すしるべとしたいという意図が込められています。『環境儀』に正確な地図・航路を書き込んでいくことが、環境研究に携わるものの任務であると考えています。

2001年7月

理事長 合志 陽一

(環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)

環境儀 No.17

— 国立環境研究所の研究情報誌 —

2005年7月31日発行

編集 国立環境研究所編集委員会

(担当WG: 鈴木 規之、堀口 敏宏、佐藤 邦雄、藤巻 秀和、植弘 崇嗣、清水 英幸、中野 正博)

発行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

問合せ先 (出版物の入手) 国立環境研究所情報企画室 029(850)2343

(出版物の内容) // 企画・広報室 029(850)2310

環境儀は国立環境研究所のホームページでもご覧になれます。

<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/index.html>

編集協力 (社)国際環境研究協会

〒105-0011 東京都港区芝公園3-1-13

無断転載を禁じます