



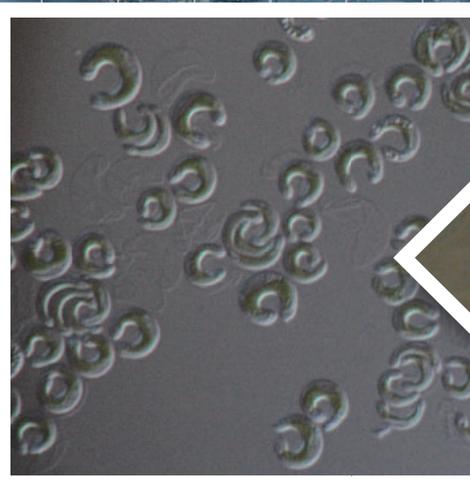
環境儀

No. 38

OCTOBER 2010

国立環境研究所の研究情報誌

バイオアッセイによって環境をはかる 持続可能な生態系を目指して



独立行政法人

国立環境研究所

<http://www.nies.go.jp/>



国内で使用される化学物質は年々増えており、個別に管理することが難しくなっています。排水等の環境水の生態影響の大きさを、生物を使って直接測定し、改善目標と手法を提案して、市民が安心して暮らせる環境づくりに貢献したいと考えています。

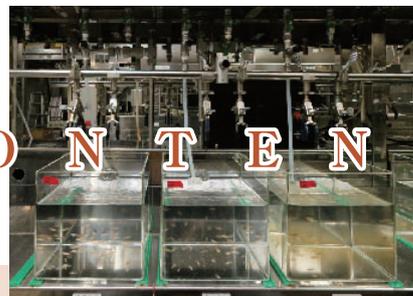


私たちの周りには、3000万種を超える膨大な化学物質が存在しており、人々の生活向上に役立つ反面で、健康に有害な影響をおよぼすものもあります。有害な汚染物質については「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)」「農薬取締法」「ダイオキシン類対策特別措置法」などによって、規制措置が講じられていますが、新しく輸入や製造される化学物質の量は飛躍的に増大しています。さらに、1990年代になって、野生動物種の性器異常や生殖異常を引き起こす、内分泌かく乱化学物質の存在が明らかになりました。環境省の生物試験では、ノニフェノール、オクチルフェノール、ビスフェノール、DDTがメダカに対して内分泌かく乱作用があると推察されていますが、原因物質の究明、検査方法の妥当性、現象と原因物質の因果関係、ヒト健康への影響など、科学的に解明しなければならない問題が山積しています。

国立環境研究所では、2002年、化審法に水生生物試験が導入されたことに前後して、「環境ホルモンプロジェクト」の中で、メダカを用いた内分泌かく乱物質の評価法、ミジンコを用いた無脊椎動物の内分泌かく乱作用検出法などの研究を行っています。さらに、近年では、未同定および複合汚染物質の検出に、米国で既に採用されている、事業所排水等の環境に放流される水をそのままバイオアッセイで検査する方法(WET)を日本でも導入するための基準作りにも取り組んでいます。

今回はこの生物を使った環境リスク問題に最初から手がけられてる鑑迫典久さんに現状と課題、これからの見通しなどについておうかがいしました。

C O N T E N T S



バイオアッセイによって環境をはかる 持続可能な生態系を目指して

- Interview
研究者に聞く!!..... p4 ~ 9
- Summary
化学物質の内分泌かく乱作用の対応と生物応答手法を活用した排水管理のシステム..... p10 ~ 11
- 研究をめぐる
化学物質の内分泌かく乱作用に関わる試験法の開発と生物応答を用いた化学物質の総合的な管理手法の研究..... p12 ~ 13
- バイオアッセイを用いた内分泌かく乱化学物質への対応と水環境管理手法への応用に関する研究のあゆみ... p14

●本研究に関する成果は以下のURLで紹介されています。

<http://www.nies.go.jp/rsdb/vdetail.php?id=100083>

●表紙写真(左上から時計回りに)メダカ、メダカの卵、ミジンコ♀、緑藻

Interview 研究者に聞く!!

米国では、1995年に、化学物質を特定しないで、生物の応答反応を利用して排水等を規制するWET (Whole Effluent Toxicity)システムが施行されました。市民が直感的にわかりやすい安心指標であることから、日本でも導入をいち早く提案し、率先して活動しています。何も無い状態の中で、生物実験に必要なメダカやミジンコの飼育用水槽の設計から始められたという、鑑迫(たたらざこ)さんの今日までの研究成果をご紹介します。



鑑迫典久 / 環境リスク研究センター環境曝露計測研究室 主任研究員

日本版WETでヒトにも生態系にもやさしい環境水を目指す

1: 生物実験に必要な設備を1から作り上げる

Q: 最初に大学時代のご研究の経歴からお話をうかがいたいと思います。

鑑迫: 東京大学農学部で、リグニンの生物分解に関する研究をしていました。その後王子製紙に入社しました。そこでキノコの遺伝子組換えをやっていたのですが、入社4年目に、つくばにある製紙会社5社が集まって作られた研究所に出向しました。当時、米国では1995年からWET(Whole Effluent Toxicity)が施行されるという情報が入っており、製紙業界は対象になると予見して研究することになったのですが、生物系出身の私にまずメダカを飼う命令が下りました。

Q: 今から見ると、ずいぶん先行していたわけですね。

鑑迫: そうなのですが、95年に米国で施行されても、日本では全く動きがありませんでした。その間、私は日本中の製紙会社の工場を回り、工場排水と周辺河川の生態調査をしていました。そしてなぜか、国立環境研究所に来ないかと誘っていただいたのです。

Q: 環境研究所もそういう研究を始めたいと考えていたわけですか。

鑑迫: いいえ。排水ではなく、内分泌かく乱化学物質でした。

Q: 環境ホルモンがちょうど話題になっていた頃ですね。

鑑迫: そうです。SPEED '98 (内分泌かく乱化学物質問題への環境庁(当時)の対応方針である環境ホルモン戦略計画)が出て、内分泌かく乱化学物質によって魚が性転換するとか、ワニや鳥などの異常が取りざたされていましたが、実験室でうまく再現できない。そこで、メダカのような小さな生き物を使った試験が必要と考えられ、水生生物試験ができる研究者を探しておられたようです。環境研究所に来てから最初にした仕事は、メダカの流水式曝露装置の設計でした。

Q: その装置を設計する時には、当然今までやってこられたことが役に立ったわけですね。

鑑迫: 民間にいる時から構想はありました。全てオリジナル設計で、材料から吟味して作りました。内分泌かく乱化学物質は微量でも生物に影響し、身近な物質

無脊椎動物を用いた試験法の概要 (オオミジンコ繁殖試験)

化学物質による雄仔虫の発生の有無を調べることで、無脊椎動物の内分泌かく乱の影響(幼若ホルモン作用)を明らかにする試験法が、OECDテストガイドライン211のANNEX7として採用されました。従来の仔虫数減少だけによる有害性評価は、仔虫に雄が増えた場合の有害影響を正当に検出できていませんでした。簡易な幼若ホルモン作用をもつ化学物質のスクリーニングに用いることもできます。

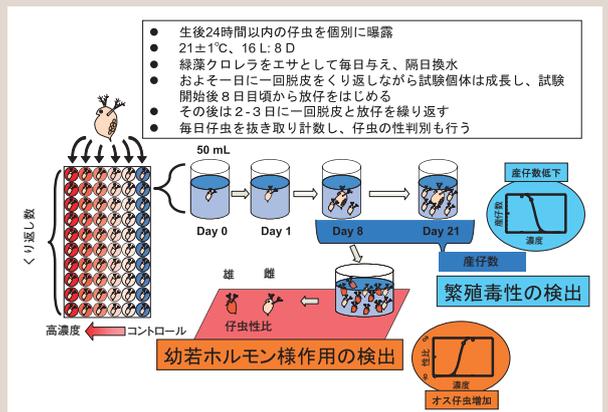


図1 ミジンコを用いた試験法



鑑迫: 化学物質によっては内分泌かく乱の影響を確実に示しています。今、日本では内分泌かく乱化学物質問題は終わったように思われていますが、単に話題になっていないだけで化学物質が消えたわけではありません。私たちの周りに内分泌をかく乱する作用を有する物質はまだたくさんあるでしょう。

Q: 試験をして、結果的に内分泌をかく乱する作用があるとわかった物質はどのくらいあるのでしょうか。

鑑迫: SPEED '98では、65物質の候補の中から36を調べて環境省がメダカに内分泌をかく乱する作用があると公表した物質は、ビスフェノールA、ノニルフェノール、オクチルフェノールとDDTの4物質です。人によってたった4つという人と、4つもあつたのかという人がいます。受け取り方の違いでしょう。当時(1998年)は新しい概念に対する考えやデータが整理されないまま、内分泌をかく乱する物質の候補リストができて、検証する前にメーカーがリストに載っただけで製造を停止したりしたために、社会的な不安や、経済的損失が広がりました。その後、誤解を招くリストを作るのをやめ、2005年から2010年までの間、リストを作らないでどうやって内分泌かく乱化学物質を絞りこむかという妙な議論になって、ちょっと寄り道したかもしれません。2005年から何をやってきたかということ、生物は死なないけど子孫に影響を及ぼすかもしれないという内分泌かく乱化学物質の特徴を鋭敏に検出できる試験法の開発及び見直しをしました。そして、世界の生物試験方法を標準化しているOECD(経済協力開発機構)に日本で行ってきたメダカやミジンコの試験などを提案しました。試験法の必要性が認められた上で、複数の国で同じ化学物質を同じ試験方法でやって結果を相互比較するとい

の中にも存在しているので、それらが入りこむ可能性を究極まで減らしました。そこまでやらなくても、という意見もありましたが、誰かが実際にやって結果を出してみる必要があり、それは国立環研所くらいしか多分できないだろうと思ったので、日本国内でこれ以上のものはないというレベルまでやってみました。水槽はガラス製で、接着剤を使わずに一体成形したものです。洗浄も極力界面活性剤を使わず、熱湯でやります。容器や器具にもプラスチックは使用していません。

Q: 当時、そのくらい非常に清浄な環境で環境ホルモンのテストをするという施設は欧米にはあったのですか。

鑑迫: 米国のダルー스에EPA(環境保護局)の研究所があって、そこに同様の施設があります。でもその研究者が、うちの装置を見に来て「負けた」と言いましたよ。

Q: そうすると世界最高。

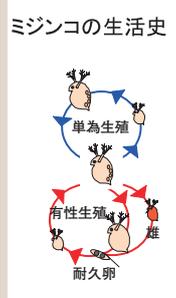
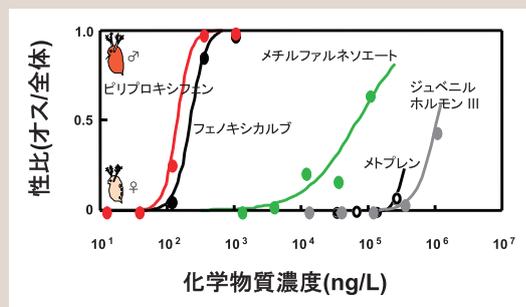
鑑迫: かもしれません。競争相手が少ないですから。

2: 世界に認められた生物試験法を実現

Q: その試験で確かめた結果はどうだったのでしょうか。

幼若ホルモン様物質によるミジンコ仔虫の性比の変化

ミジンコに幼若ホルモン様物質(昆虫の幼若ホルモンや農薬など)を投与すると、生まれてくる仔虫の性比が濃度依存的に雄に偏ってきます。何も投与していないときにはほとんど雄は生まれてきません(雄は数千匹に1匹程度)。個体数だけに注目して性を見落としていると、再生産に関与しない雄ばかりになってしまって、次の世代が作れなくなってしまう、いつの間にか絶滅する可能性があります。



■図2 無脊椎動物の内分泌かく乱の例



■図3 ミジンコの雄雌

♀ Imm ♂

うリングテストを数回行い、再現性、普遍性、信頼性が確かめられるとOECDのリストに登録されます。昨年までに、やっとメダカ2つとミジンコ、カエルの試験が1つずつ、全部で4つの試験法がOECDのリストに載りました。今まで化審法もそうですが、試験法は、欧米で作ったガイドラインに従っていました。近年は、日本が主導的に提案して、発信したものが採用されているんです。日本も新しい試験方法の開発に貢献できたと自負しています。

Q：メダカを使ったのはどうしてですか。

鑑迫：世界で試験に使っている小さな魚は、米国のファットヘッドミノー、ヨーロッパのゼブラフィッシュ、そしてアジア系のメダカの3種が有名です。それらを使って試験をやってみると、メダカが優れているところがいくつもありました。例えば、メダカだけが遺伝子でオス、メスが判定できるのです。内分泌をかく乱するような化学物質を与えると、魚は性転換したりするのですが、メダカ以外の魚はオスがメスになったのか、メスがオスになったのか正確にはわかりません。ところがメダカを使うとオスの遺伝子を持っているのに外見がメスになるといった判定ができ、化学物質の影響だと考えることが出来ます。

Q：メダカの試験法というのも最初のものからだんだんと改良されているのでしょうか。

鑑迫：SPEED '98当時から比べると改良されています。以前は女性ホルモン様物質の検出（メス化）に特化していましたが、OECDの専門家会議の中でオス化もわかるような仕組みに変えています。メスの機



流水式連続曝露装置の外観

能（卵を産めるか）への影響も判断に加えています。今、OECDに提案しているのが、母親（父親）から曝露を開始して、その卵がまた母親（父親）になって、そこから生まれた卵がまた大人になるかを観察する、3世代にわたる試験です。SPEED '98では2世代まででした。多世代の影響を人間で調べると大変ですが、メダカでは半年で調べられます。

Q：次に、ミジンコの試験法についてお話しください。

鑑迫：ミジンコは全くホルモンの形がヒトと違います。しかし地球上の生き物の95%は無脊椎動物で、そのほとんどは昆虫ですが、昆虫のホルモンの脱皮ホルモンと幼若ホルモンはミジンコも持っています。だからミジンコを使って調べた結果というのは、ヒトには当てはまりませんが、昆虫とかエビ・カニには通用する可能性があるわけです。

Q：ミジンコのホルモンはどうやって発見されたのですか。

鑑迫：偶然幼若ホルモンをミジンコに与えてみたの



■図4 メダカ多世代試験 (multi-generation test)

内分泌かく乱化学物質の影響を確定するための試験法

日本と米国環境庁が共同で、メダカを用いた内分泌かく乱化学物質の確定試験法を開発しています。3世代にわたり、約半年間の曝露期間を有する試験法です。部分的には幾つかの既存試験法の組み合わせで構成されており、ほとんどすべての観点からの有害性影響を検出できるようになっています。



■図5 内分泌かく乱の組織学的な観察

ノニルフェノール (女性ホルモン様内分泌かく乱物質)を メダカに投与した時の精巣の異常

メダカの組織切片の写真です。Aが正常な雄の精巣。Bが正常な雌の卵巣です。CおよびDが、ノニルフェノールを23.5、44.7 μg/L投与した時に現れた精巣卵の写真です。精巣卵というのは、精巣中に存在する卵細胞を指します。化学物質によって雄の精巣がメス化（卵細胞の出現）したことが観察されました。化学物質の濃度に依存して卵細胞の量が増えています。



ミジンコを取り出しているところ

です。ミジンコは通常メスが交尾せずにメスを産んで繁殖していく単為生殖をします。エサが豊富にあって、環境の良い実験室内だとオスはほとんど生まれてこない。化審法のミジンコ繁殖試験も、原則としてオスが出ないという前提で作られています。ところが、幼若ホルモンを与えてみたら、生まれた子供が全部オスになってしまったのです。昆虫のホルモンでミジンコが生む子供の性が偏るといふ発見を、世界で初めて2002年に国際学会で発表しました。

Q：国内での内分泌かく乱物質についての研究はどの程度進んでいるのですか。

鑑迫：内分泌かく乱物質だけどうして特別扱いにするかということ、現在の化審法で使われている生物試験は、その個体が生きるか死ぬかに重点が置かれています。でも内分泌かく乱は次の世代が存続するかがポイントです。子供が作れるかとか、その子供がさらに子供を作れるかを調べる必要があります。そのような指標は既存の試験法にないので新しい試験法を作りましょうという事になりました。試験法が出揃うまでにはあと数年かかるでしょうが、試験法ができれば、今度は何を対象に調べるかというスキームを作ります。これは一般化学物質の規制でいい、これはひょっとしたら世代をまたぐ試験をやった方がいいだろう、というスキームを作るわけです。

Q：最初は、人間に対する毒性というところから色々



な規制が出てきた。今は広く生態系まで考えなくてはいけないという時代の流れでしょうか。

鑑迫：気付かないうちに生物が絶滅していくのは、生きていけないからではなく、繁殖できない環境要因が大きいでしょう。死体が転がっていれば気が付きまますから。日本は遅れているとは言いませんが、ヨーロッパの方はヒトじゃない生き物に対する保護意識が非常に強い。日本はまだヒト中心ですが、これからはそこが重要だと思いますね。持続可能な生態系という考えは重要だと思います。

3：日本版 WET 導入に向けて着々と準備

Q：実際に米国でWETが始まったということをお知りになった時、どんなふうにお考えになりましたか。

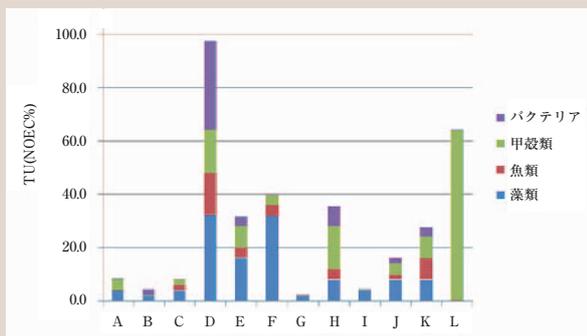
鑑迫：かなり割り切ったやり方だと思いましたね。日本は化学物質をちゃんと分析してから同定していくのに対して、WETは何も同定しないで、どうやったら減らせるかという対策に行くんです。必ずしも原因が明確にならなくても、毒性影響さえなくなればいい。つまり物質の規制ではなくて影響の規制なんです。その概念は全く新しく、そこが多分日本人はなかなか受け入れ難いかもしれません。

Q：先生ご自身は、WETについては、どのように考えられて、どのような行動をされていらっしゃるのでしょうか。

鑑迫：まず自分ができるところからやろうと思ひ、WETで使う生物試験ができる体制を準備して、次に協力してくれる民間企業を探しました。幸いにもいくつかの企業が協力してくれて、WETが導入されたらどうなるかというシミュレーションを一緒にやってみて、データを3、4年分くらい貯めました。また環境省内の若手の勉強会に呼ばれてWETについて話をしたところ、検討だけでも始めようという気運が高まり、大気水局の若手の人たちが種をまいてくれて、そのの

事業所排水の生物試験の結果

排水基準を遵守している12か所の事業所排水について、藻類、魚類、甲殻類の短期慢性毒性試験と発光バクテリアの急性毒性試験を行いました。縦軸の数値は、影響のなかった排水濃度 (%) の逆数×100 (=毒性単位: Toxicity Units) で示しています。棒の長さが長い方が毒性が強くなります。横軸は工場を記号で示しました。D工場はすべての生物に対して影響が大きく、E、Fは藻類に対する影響、H、Lは甲殻類に対する影響が大きいことがわかります。



■図6 日本版WETの試行

予算に乗ったのをきっかけに動き出したんです。環境省主催の委員会では、事務局を担当し、学識経験者を集めて懇談会を開いて、WETをやる必要性、運営形態などを議論して頂き、EPAから関係者を呼んで講演会を開いたりもしました。今年は、日本に導入するにあたって、米国のWETをそのまま利用するには不具合のある部分とか、科学的に古くなっているところを全部直して最新型の日本版WETを作ろうと、マニュアル作成を始めます。来年はWETのリングテストを予定しています。それには、協力してくれるラボが不可欠です。実験設備や実績のある研究機関や企業に集まってもらい、新しいプロトコルでリングテストをやる予定です。それが終わったら実践テストを予定しています。詳細はまだ何も決まっていますが、例えば県や政令都市単位で、PRTR（環境汚染物質排出・移動登録制度）事業所を対象にして、数十か所を一斉に調査してみたいと思っています。興味を持ってもらってどんどん広げていければいいと考えています。

Q：日本でやるとして、技術的にはどんな手法が考えられますか。

鑑迫：生物試験は米国を参考にして短期慢性毒性試験というのを検討中です。ニセネコゼミジンコの繁殖試験がその1つです。それを日本にも導入したいと思っています。魚類は、WETに関してはメダカよりもゼブラフィッシュの方が扱いやすいです。卵の孵化までメダカだと10日程度かかりますが、ゼブラフィッシュは3日程度で孵化し、稚魚が泳ぎ出すまで1週間の観察で済みます。藻類の試験は化審法とほとんど同じ試験を検討しています。来年3月に生物試験法マニュアルのドラフトができる予定になっています。



生物試験で使用する試験生物種

4：WET で地方の環境研究所を活性化

Q：仮にバイオアッセイをやって、それで影響が出た場合には、このWETのシステムはその後、どういうふうなことをやるのですか。

鑑迫：結果から何らかの改善をした方が良いと思われる事業所には通知をして、改善をしてもらうように促します。改善の方法としては、既に米国で用いられている毒性削減評価（TRE: Toxicity Reduction Evaluation）や毒性同定評価（TIE: Toxicity Identification Evaluation）の方法が参考になると思います。どこまでガイドラインに書き込むかはこれから決まっていくでしょう。必ずしも物質を同定せずに、生物試験の結果を参考にしながら毒性影響を削減する方法なので、ある程度の経験と知識が必要になります。

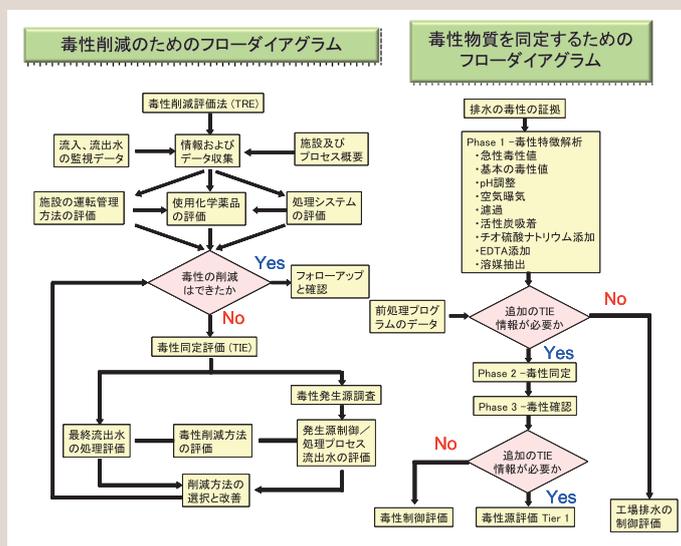
Q：改善手法まで示す点が従前の物質の規制とちょっと違う発想ですね。

鑑迫：改善は企業の体力、経済効果、社会貢献度や企業のポリシーに照らし合わせて好きなやり方でやっ

米国環境庁で行われている 毒性削減評価手法の概略

事業所排水等に生物影響があると確認された場合に、その影響を削減するための手法としてTREが提案されています。まず最初に様々な情報を収集して、既存の知見から生物影響の原因となる要因を推測し、それらの改善によって影響が削減された場合にはフォローアップに移行します。もし既存の知見で生物影響を削減できなかった場合には毒性同定評価（次の図に示す）に移行します。原因物質（群）が判明したら、原因物質の発生源またはプロセスで対処するか、終末処理を強化して対処するかは事業所の判断となります。影響の削減に成功したら、継続監視に移行します。

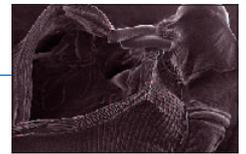
TIEにおける同定とは、原因となる化学物質を単離して物質名を明らかにすることではなく、原因となる化学物質群の物理化学的特徴を明らかにして、それらを除去または無毒化するための方策を探ることを意味しています。



■図7 毒性削減評価(TRE: Toxicity Reduction Evaluation)・毒性同定評価(TIE: Toxicity Identification Evaluation)



曝露試験の様子。親ミジンコを移し替えてから仔虫の数を数える



の排水基準を順守していますが、生物影響の観点では、大きな影響を与える排水もあれば、あまり影響を与えない排水もあります(図6参照)。今、世界では、5000万種化学物質が登録され、ここ1年間で1000万種増えています。日本でも、年間300～400種が新たに登録されています。ですから、そのひとつひとつについて、生物への影響を確認することは、お金も時間もかかり、現実的ではありません。そこで、未知や未規制の化学物質に対して、とりあえず環境影響を大ざっぱに見るWETのようなやり方と、PRTRとか化審法での、特定の化学物質の規制を両立させないと、管理が間に合わなくなるし、複合影響についてもWETのような手法を用いないと対応できないでしょう。今、河川を調べると、医薬品の風邪薬とか抗生物質等が検出されます。それが上水にも入っているの、みんなそれを飲んでいるのではないかと心配して、大きな問題になっています。それらの規制は厚生労働省で検討しているようですが、それは排出基準の規制になります。排水として放流された後の評価はやっぱりWETの様な手法を使うしかないだろうという気がします。

Q：今後で自身としてはどんなふうに行っていくとお考えですか。

鑑迫：環境ホルモンの時の大騒動と、いつの間にか鎮まったのを間近で見ているので、慌てないで、利害関係のある人たちの合意も得ながら、win-winでやらなければいけないと思っています。環境省だけではなくいろいろな省も関係してくる。WETはリスク予知(Risk Prediction)のための手法で、あくまでも環境負荷の可能性を示しているにすぎません。しかし、これがもっとも大切なことですが、野生生物と共存しながら市民が安心して暮らせるための仕組みになれば良いと考えています。ゆっくり、着実に広げていこうと思っています。

Q：どうもありがとうございました

てもらいます。行政は「改善しました」と報告を受けた時に、再検査して、何らかの承認の印を与える。承認をもらった企業はどんどんPRする。市民はそれを聞いて、「あの企業の排水は環境負荷まで考慮して、野生生物にもちゃんと気を使っている」とみてくれるので企業のステータスも上がるし市民も安心を得られます。

Q：WETが日本に導入されるとすると、実際に試験する機関、例えば自治体だとかそういった所になるのですか。

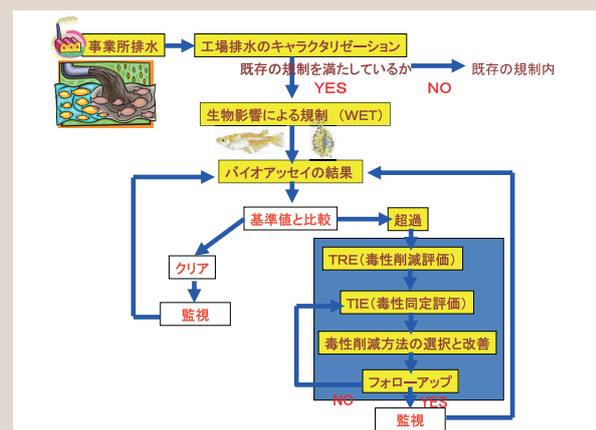
鑑迫：地方自治体の地方環境研究所に最初の段階の生物試験をやってもらえないかと考えています。地方の活性化にもなりますし、実際に地元で環境測定をやっているところですから、やり方さえ教えてあげれば出来ると思います。最初は3つの試験のうちの1つだけでもいい。例えば、3県で別々にひとつひとつ手分けしてやって、結果を纏めてはどうだろうか。民間の環境コンサルタント会社にも協力してもらいます。だからある段階から、教育とか研修が主要になるかもしれません。

Q：日本の場合は、公害があった頃はずいぶん問題があったにしても、今いろんな面で解決していますね。ただこの部分はまだ残っていたということなのでしょうか。

鑑迫：そうです。通常の事業所排水は、CODなど

日本版WETの概略図

事業所の排水は、まず既存の排水規制をクリアしているかどうか確認します。もしクリアされていない場合は既存の法律が優先されます。現行の規制を満たしている排水に対して生物影響を調べます。その試験結果がある基準値以内に収まっている場合は、問題なしとして、定期的な継続監視を行います。基準を超過している場合には、TRE(毒性削減評価)およびTIE(毒性同定評価)を行うことによって毒性の削減を行い、その効果が確認できた場合には定期的な継続監視に移行します。



■図8 日本版WETの適用のフロー

化学物質の内分泌かく乱作用の対応と生物応答

化学物質は、私たちの生活を豊かにする一方で、人の健康や生態系に有害な影響を及ぼす恐れがあり、毎年1000万種類以上新しく登録されていく化学物質の環境リスクを適切に管理することは喫緊の課題ですが、現行の化学物質毎に濃度規制を敷く方法では、とても化学物質の増加スピードについていけません。また、工場、事業場からの排水の中には多様な化学物質が含まれていることが考えられ、それらが総和された時の影響が懸念されます。よって、河川等の環境水の安全性を確保するためには、現行の個別物質規制を補完し、未規制物質も含めて総和的に管理する手法が必要になっています。

さらに、化学物質の多様化に伴い、例えば内分泌かく乱化学物質等の特殊な作用を有する化学物質を検出するには、新たな観察項目（エンドポイント）に着目した生態毒性試験法の開発も必要となってきました。つまり内分泌かく乱化学物質は、生物個体が死なないごくわずかな濃度で、生物の生殖機能、発生・分化、性決定などに影響を与えるため、次の世代の個体群減少に影響する可能性が示唆されており、現行のエンドポイントでは評価できません。

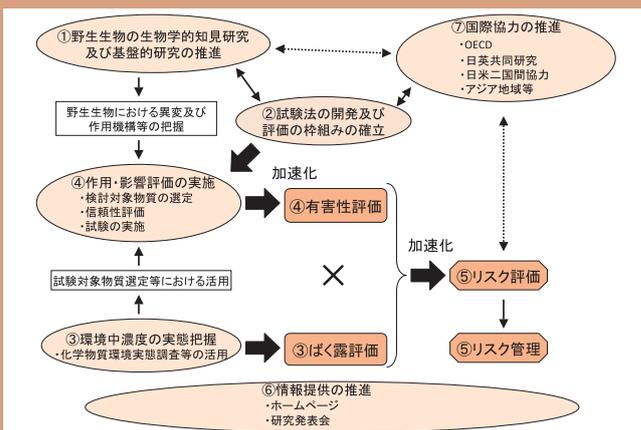
●内分泌かく乱化学物質に関する動向

環境庁（当時）は、平成10年、「内分泌攪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——」を策定、内分泌かく乱作用の有無、強弱、メカニズム等を解明するため、優先度の高い物質群として、67物質をリストアップ（平成12年に65物質に修正）し、調査、研究を始めました。生態系への影響評価のための魚類を用いた実験で

は、SPEED'98のリストに基づき、専門家による信頼性評価を経て、試験対象物質を選び、メダカを用いて試験を行いました。その結果、試験を実施した36物質のうち、環境中濃度を考慮した濃度で、4-ノニルフェノール（分岐型）、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノールAとo,p'-DDTはメダカに内分泌かく乱作用を有することが推察されました。ビスフェノールAの評価には私たちのグループのデータが使用されました。

人の健康への影響を評価するために、ラットによる改良世代試験を開発して、36物質について試験を行いました。ヒト推定暴露量を考慮した用量では、明らかな内分泌かく乱作用は認められないと判断されています。

SPEED'98を進化させた平成17年度からのExTE ND2005では、平成21年度までにのべ38テーマが基盤的研究事業として行われています。その結果の1つに、無脊椎動物の内分泌かく乱化学物質検出法の深化がありました。これは単為発生のため通常はメス仔虫しか発生しないミジンコ類に、昆虫やエビ・カニ類が持つセスキテルペノイド系ホルモン（幼若ホルモン）を投与すると、オス仔虫が発生することが2002年に鑑迫らによって発見されたことがきっかけでした。その研究成果を受けて、日本が発案国となってオオミジンコ繁殖試験TG211の改良試験法をOECDに提案し、2度の国際リングテストを経て、平成20年にOECDに採択されました。その他、両生類では、日独共同で提案したアフリカツメガエル変態アッセイがTG231として平成21年に採択されています。他にもメダカのオス決定遺伝子の発見や、遺伝的オスメダカに卵細胞を形成させるメカニズムの一部が解明されるなどの多くの成果がExTEND2005で上がっています。さらに、環境省は作用・影響評価に関する取り組みとして、積極的にOECDに



■図9 EXTEND2010における取組みの概念図

EXTEND2010における内分泌かく乱化学物質取組みの概念

EXTEND2010では、有害性評価とばく露評価からなるリスクベースでの内分泌かく乱化学物質の評価が行われる。EU、北米やアジア各国との連携もさらに推進される。さらに、リスクコミュニケーションの充実も図られる。



手法を活用した排水管理のシステム

試験法を提案することで、試験法の国際化・標準化を目指しました。私たちのグループでは、OECD魚類試験法開発に参加し、幾度かの国際的なリングテストに協力して、試験法の再現性や普遍性、評価項目の妥当性の検討を行い、試験法ガイドラインの作成にも参加するなどしてOECDのテストガイドラインTG230およびTG229の採択（平成21年度）に貢献しています。現在は上位のスクリーニング試験に相当する魚類性発達試験（Fish Sexual Development Test）のテストガイドライン化に向けた検証試験、および最終確定試験に相当する、魚類多世代影響試験の開発が行われていますが、いずれにも私たちのグループは参加しています。また、無脊椎動物については、先の無脊椎動物の内分泌かく乱に関する化学物質の内分泌かく乱作用については、さまざまな調査研究や試験法開発などが進められてきましたが、その影響については未解明の部分も多く、引き続き対応を進めるべき重要な課題と考えられます。ExTEND2005に必要な改善を加え、今後5年間程度を見据えた内分泌かく乱作用にともなう環境リスクの評価手法の確立と評価の実施を加速化するために本年EXTEND2010がスタートしました。基盤的研究、試験法の開発・評価の枠組み確立のほか、作用・影響評価の実施、リスク評価とリスク管理などが実施される予定です。魚類、両生類、無脊椎動物の新たな試験法として、多世代影響試験が検討されており、特に魚類と無脊椎動物については引き続き私たちのグループで開発を進めています。

●生物応答を利用した新たな排水管理システム（日本版 WET）の導入に向けた検討

WET（Whole Effluent Toxicity）システムは、アメリカ環境保護庁が導入した水環境評価および管理手法ですが、環境省ではわが国の水環境行政の中長期的な目標を考慮して、このシステムを導入した場合のメリットや課題、さらに、生物応答（バイオアッセイ）を利用した水環境管理手法の将来的な利用に関する基本的な方向性を検討しています。

昨年度は有識者で構成する「WET手法等による水環境管理に関する懇談会」の設置と、WETプログラムを導入しているアメリカの関係者を招聘してのセミナー開催、および懇談会委員との意見交換会等を環境リスク研究センターが中心となって行いました。

●これまでの検討事項

WETシステムを優先的に導入すべき水域の条件検討、および水生生物による水環境の評価手法に関する国内外の情報を収集・整理しました。

WETシステムのツールとして既存の試験方法を導入するにあたっては、国内対象事業場の特徴、現行化学物質管理の特性の2つの視点に配慮し、国内外で公表されている毒性試験の長所、短所を検討、整理しました。さらに、アメリカ環境保護庁のWETプログラムで用いられている試験方法を参考に、国内16か所の事業場排水について、藻類生長阻害試験、ミジンコ類繁殖阻害試験、魚類初期胚・仔魚短期毒性試験等を実施し、選定された試験方法の適用可能性を検証しました。

WETシステムの導入に関する今後の調査検討内容の行程表を作成し、これに基づいて今後も調査、検討を継続していく予定です。

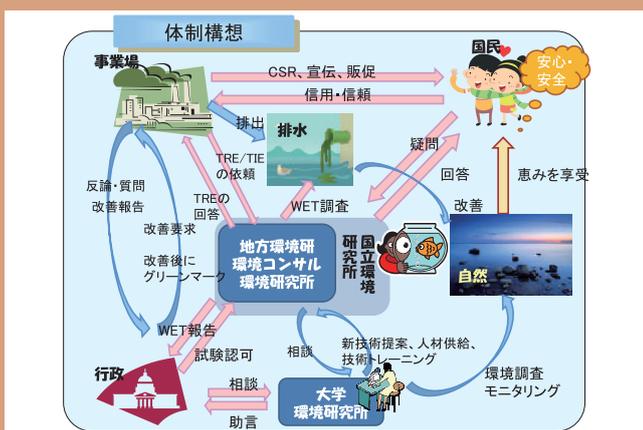


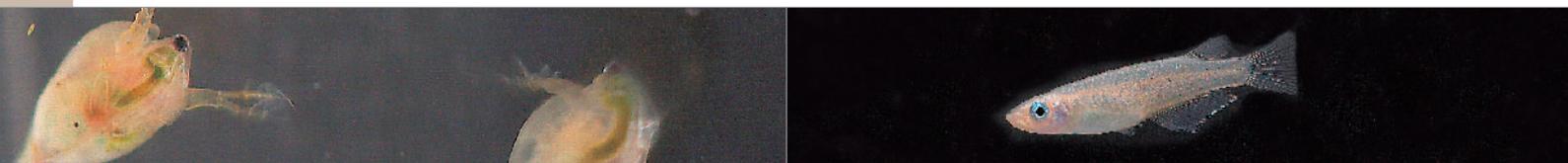
図10 日本版WETの体制構想

国民、事業所、行政、教育機関と 国立環境研究所の関連

● 関連する機関とそれぞれの役割を簡単に示した。すべての組織が相互に連携し、誰もが何らかの利益を得るような構想が理想である。

化学物質の内分泌かく乱作用に関わる試験法の開発

既存の水生試験方法では対応できない特殊な作用をもつ化学物質～内分泌
また、種類が増え続ける化学物質に対しては既存の試験法を用



化学物質の内分泌かく乱作用に関わる試験法の開発

米国の動物学者シーア・コルボーンらにより1996年に刊行された「奪われし未来」では、化学物質が野生生物の内分泌をかく乱する可能性が示唆され、人の健康に対しても同様な作用があるのではないかと懸念から、国内外の関心を集めました。しかしこの問題に対しては、当時、科学的に未解明な部分が多く、日本だけでなく、国際的にも早急な対応が求められました。このような中、経済協力開発機構(OECD)では、1996年に、化学物質のテストガイドラインプログラムの一環として、内分泌かく乱化学物質の試験及び評価(Endocrine Disruptors Testing and Assessment: EDTA)に関する検討が始まり、その手法が開発されることとなりました。

■世界では

米国環境保護庁(USEPA)では、1999年にEDSP(内分泌かく乱物質スクリーニング計画)が策定され、人の健康に有害な影響を及ぼすようなエストロゲン作用をもつ農薬及び飲料水中の汚染化学物質を中心にスクリーニングすることが計画されています。Tier 1(スクリーニング)とTier 2(多世代試験)の2段階の試験体系を採用しており、現在、Tier 2の試験法について、妥当性が検証されています。また、2010年にTier 1の対象物質(ヒト曝露の可能性のある物質)が選定され、登録者、製造者及び輸入業者に対して試験の実施命令が出され、2012年までに試験が完了するものとされています。

欧州委員会では、1996年から内分泌かく乱化学物質に対する取り組みを継続して進めています。また、2007年に発効したREACH規則(欧州連合における化学物質の登録・評価・認可及び制限に関する規則)においては、高懸念物質の許可対象物質となりうる要件の1つとして、「内分泌かく乱作用を有する」物質であって、

人や環境に対する深刻な影響をもたらす恐れがあるとの科学的根拠がある場合、が挙げられています。

■日本では

1998年、環境庁(当時)は、国内の内分泌かく乱化学物質問題に対し、専門家の研究班による検討結果に基づき、それまでの科学的知見や今後の対応方針等をとりまとめた「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」を策定し、本格的に研究が推進されました。この取り組みによって得られた多方面かつ科学的知見を踏まえ、2005年以降、環境省では、今後の対応方針について取りまとめた、「ExTEND2005」を策定し、内分泌かく乱化学物質問題における新たな方向性が示されました。また、OECD等の国際協力の下で生物を用いた試験法開発を積極的に推進し、成果の一部については、OECDに提案され、テストガイドラインとして採択されています。

■今後は

OECDでは、2009年に内分泌かく乱化学物質の試験、評価及び管理に関するワークショップを開催し、今後OECDにおいて検討を進めるべき事項や研究ニーズについての提言がなされました。これを受け、2010年に内分泌かく乱化学物質の評価に関するガイダンス文書を作成するための検討が開始されました。

環境省は、内分泌かく乱化学物質問題について、新たなプログラムである「EXTEND2010」を構築し、今後、国内の内分泌かく乱作用に関する検討を発展的に推進するとしています。この新たなプログラムは、化学物質の内分泌かく乱作用に伴う環境リスクを適切に評価し、必要に応じ管理していくことを目標としています。化学物質が環境を経由して人の健康や生態系に及ぼす影響を防止する観点から、引き続き、生態系への影響について優先的に取り組み、試験評価手法の確立と評価の実施を重点的に進めることとなります。

発と生物応答を用いた化学物質の総和的な管理手法の研究

かく乱化学物質への対策は新しい試験法を考案する必要がありました。
いた新たな方策～生物応答を用いた総合指標～を提案します。



生物応答を用いた化学物質の 総和的な管理手法の研究

工場・事業場からの排水には、低濃度ではあっても多様な化学物質が含まれている場合があり、これら化学物質の毒性影響や複合影響については、解明されていません。よって従来の個別の物質、項目を対象とした水環境管理手法だけでは、新たな水質問題に確実かつ迅速に対応することが困難です。安全・安心な水環境を確保し、水質汚濁や有害な汚染による水生生物等への悪影響を未然に、効率的に防止するためには、河川等の公共用水域及び事業場排水中の多様な化学物質を総和的に管理する手法が必要です。

国立環境研究所では、有識者による「WET 手法等による水環境管理に関する懇談会」を設置して、環境中や事業場排水中の化学物質による影響を総和的に把握し、影響の低減を図る米国 WET (Whole Effluent Toxicity) システムを参考にした、新たな水環境管理手法の国内への導入について調査、検討を行っています。

■世界では

バイオアッセイ(生物応答)を用いた化学物質の総和的な管理手法は、アメリカ、カナダなど複数の国で導入されています。アメリカでは、水質浄化法(Clean Water Act : CWA) の下で水環境管理が行われています。このうち、事業場等の点源からのすべての水域への排出には、全国汚染物質排水削減制度が適用され、①技術基準に基づく排水規制(全米一律)、②水質基準に基づく排水規制(州毎)が規定され、後者について WET が導入されています。CWA101条に、最終的な目的として、「国内の水域の物理化学的及び生物学的に元の状態を維持、回復させること」が掲げられており、これに基づいて、WETによる水生生物保全基準といった水質環境基準が策定されています。

WET は、水生生物を保護するためのモニタリングや NPDES (米国における汚染物質排出認可制度)

認可を取得するための試験法として、1995年に制度化され、排水や周辺水域の総合的な影響を毒性試験によりとらえる手法である、と定義されています。試験法については、供試生物として、甲殻類、魚類(ファットヘッドミノー)、藻類(緑藻)などが用いられ、急性または短期的な慢性毒性試験により評価します。また、試験の有効性の判断基準は、供試生物別、毒性別に細かく規定されています。

■国立環境研究所では

水生生物を用いた水環境管理手法としては、①生物応答を利用した毒性試験により、事業場からの排水を管理する、②水生生物、生物群集の生息状況のモニタリングにより環境水の状況を評価する、2つが挙げられます。懇談会では、まず、①の生物応答手法を事業場からの排水管理に用いるための手法の確立に向けた検討を優先させることにし、その後可能であれば、②の環境水のモニタリングについても検討することとしています。

生物応答手法の導入にあたっては、水生生物の保全を目的とした手法として、人の生活と密接に関連している魚介類とその餌生物を対象とします。適用対象施設は水質汚濁防止法の排水規制対象施設を想定しているほか、標準的な試験法の確立や、試験実施機関の整備、排水サンプリング技術などの課題について検討しています。

WETシステムは、事業場排水に対して運用され、2009年の化管法(特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律)の公表データから、公共用水域に排出している事業場は4801事業場、排出されている物質は192物質、排出されている水域は2021か所(県別水域別)となっています。相対的に排水の割合が大きい水域では、水質汚濁物質排出量総合調査結果のうち、排水量が1日あたり1万㎡を超える代表特定施設を取り上げましたが、下水道、化学工業、繊維工業などが公共用水域への排水量が多く、化学物質も多く排出されている可能性があります。こうした実態を踏まえ、WET対象の事業場、水域を検討する予定です。

バイオアッセイを用いた内分泌かく乱化学物質への対応と水環境管理手法への応用に関する研究のあゆみ

本研究は、2003年より、環境省事業の一環として実施しており、生態影響試験を中心に、内分泌かく乱化学物質問題への対応や増加し続ける化学物質への管理手法の検討に取り組んできました。

課題名

ミジンコを用いた甲殻類の内分泌攪乱作用メカニズムの解明（2003～2004年度）

ミジンコ類の内分泌かく乱作用におけるメカニズムを解明し、無脊椎動物の内分泌かく乱化学物質検出法の開発に資する研究を行いました。通常、単為発生のためメス仔虫しか発生しないミジンコ類に、セスキテルペノイド系ホルモン（幼若ホルモン）を投与すると、オス仔虫が発生することを発見しました。

課題名

内分泌かく乱化学物質に対する試験法開発に関わる研究（2003～2010年度）

魚類及び無脊椎動物を用いた試験法及び評価法を開発するための基礎研究を行い、また、国際的な枠組みの中で試験法の妥当性を検証しました。この成果の一部は、内分泌かく乱化学物質に対するスクリーニング法（TG229, TG230, 改良TG211）としてOECDテストガイドライン化に貢献しました。最近では、親から孫の代まで調べる試験（多世代試験）を構築するため、メダカを用いた試験法の検証作業を行っています。

課題名

生物応答を利用した水環境管理手法の検討（2009～2010）

生物応答（バイオアッセイ）を利用した水環境管理手法の将来的な利用に関する基本的な方向性を検討しています。また、藻類生長阻害試験、ミジンコ類繁殖阻害試験、魚類初期胚・仔魚短期毒性試験等を実施し、選定された試験方法の適用可能性を検証しました。

これらの研究は以下のスタッフ・組織によって実施されました（所属は当時、敬称略）

<研究担当者>

国立環境研究所 …… 鐘迫典久、平井慈恵、小田重人、小塩正朗、岡 知宏、白石不二雄、白石寛明

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 … 渡邊 肇、井口泰泉

熊本県立大学 …… 有蘭幸司

徳島大学 …… 山本裕史

愛媛大学 …… 森田昌敏

● 過去の環境儀から ●

これまでの環境儀から、内分泌かく乱化学物質に関連するものをいくつかで紹介します。

No.17 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

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ですが、そのメカニズムは不明のままです。本号では、「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を導きだし、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。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ています。

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

ダイオキシンを題材に、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を紹介しています。環境ホルモンが人や生態系に影響を及ぼす恐れがあることを哺乳動物の研究から指摘し、また、当時、未解明な点が多かったこの問題について、日本と世界各国の研究の取り組みについても紹介しています。

環境儀 No.38

—国立環境研究所の研究情報誌—

2010年10月31日発行

編集 国立環境研究所編集委員会

(担当 WG: 鐘迫典久、田中嘉成、玉置雅紀、橋本征二、森 保文、
滝村 朗)

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) // 広報・国際室 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 財団法人日本宇宙フォーラム

〒100-0004 東京都千代田区大手町 2-2-1 新大手町ビル 7階

無断転載を禁じます

リサイクル適性の表示：紙へリサイクル可

本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料「Aランク」のみを用いて作製しています。

「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—その機能評価と類型化	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
No.17	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	2005年 7月
No.18	外来生物による生物多様性への影響を探る	2005年 10月
No.19	最先端の気候モデルで予測する「地球温暖化」	2006年 1月
No.20	地球環境保全に向けた国際合意をめざして—温暖化対策における社会科学的アプローチ	2006年 4月
No.21	中国の都市大気汚染と健康影響	2006年 7月
No.22	微小粒子の健康影響—アレルギーと循環機能	2006年 10月
No.23	地球規模の海洋汚染—観測と実態	2007年 1月
No.24	21世紀の廃棄物最終処分場—高規格最終処分システムの研究	2007年 4月
No.25	環境知覚研究の勧め—好ましい環境をめざして	2007年 7月
No.26	成層圏オゾン層の行方—3次元化学モデルで見るオゾン層回復予測	2007年 10月
No.27	アレルギー性疾患への環境化学物質の影響	2008年 1月
No.28	森の息づかいを測る—森林生態系のCO ₂ フラックス観測研究	2008年 4月
No.29	ライダーネットワークの展開—東アジア地域のエアロゾルの挙動解明を目指して	2008年 7月
No.30	河川生態系への人為的影響に関する評価—よりよい流域環境を未来に残す	2008年 10月
No.31	有害廃棄物の処理—アスベスト、PCB処理の一翼を担う分析研究	2009年 1月
No.32	熱中症の原因を探る—救急搬送データから見るその実態と将来予測	2009年 4月
No.33	越境大気汚染の日本への影響—光化学オキシダント増加の謎	2009年 7月
No.34	セイリング型洋上風力発電システム構想—海を旅するウィンドファーム	2010年 3月
No.35	環境負荷を低減する産業・生活排水の処理システム—低濃度有機性排水処理の「省」「創」エネ化—	2010年 1月
No.36	日本低炭素社会シナリオ研究—2050年温室効果ガス70%削減への道筋	2010年 4月
No.37	科学の目で見える生物多様性—空の目とミクロの目	2010年 7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べしという意図が込められています。「環境儀」に正確な地図・行路を書き込んでいくことが、環境研究に携わる者の任務であると考えています。

2001年7月 合志 陽一
(環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)



このロゴマークは国立環境研究所の英語文字N.I.E.Sで構成されています。
N=波(大気と水)、I=木(生命)、E=Sで構成されるOで地球(世界)を表現しています。
ロゴマーク全体が風を切って左側に進むように動かし、研究所の躍動性・進歩・向上・発展を表現しています。