

はじめに

環境中には膨大な種類の化学物質が放出されて存在し、またその化学物質の一部は環境中で形態(化学構造)が変化していると考えられます。このため、特定の化学物質の検出を目的とした従来の化学分析から得られる結果(特定化学物質の濃度値)のみでは、生物や生態系に対する影響の評価、あるいは生態系保全の視点での環境管理の基礎データとして、不十分であるという認識が広がりつつあります。このような状況から、現在では環境汚染等の評価手法として、従来の化学分析(化学物質質量での評価)に加え、生物材料を用いて「毒性などに対する生物応答変化」で評価するバイオアッセイ(=生物試験)が注目されています。

魚類を対象としたバイオアッセイは、従来から急性毒性・慢性毒性試験など、化学物質等の致死性や一般毒性の評価を目的に行われています。しかし、近年、社会的な問題となった内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)は、一般毒性よりさらに低濃度で生物の内分泌系に影響を与える危険性が指摘されています。特に環境ホルモンの多くは女性ホルモンと類似した作用で雄の生殖機能に影響を与えることから、女性ホルモン様作用の有無を検出、評価するためのバイオアッセイ法の確立が急務になっています。

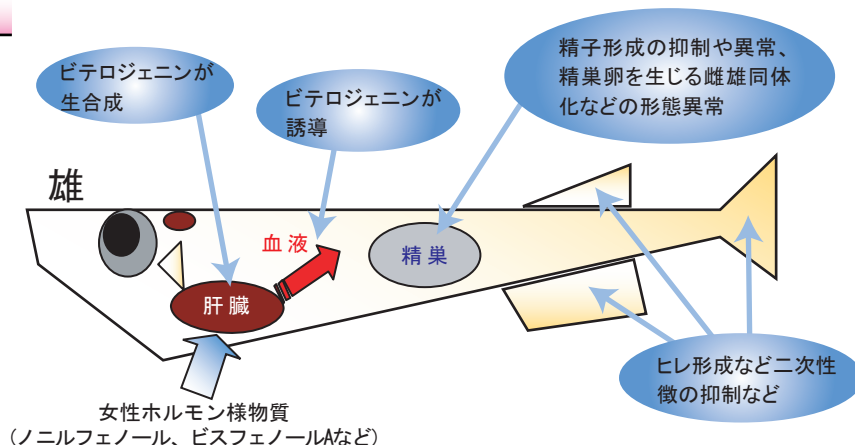
本レポートでは、魚類を用いた化学物質の女性ホルモン様作用を調べるバイオアッセイ法として注目されているビテロジェニン・アッセイについて、当社の取り組みと併せて紹介します。

魚類に対する女性ホルモン様作用を調べるには？

女性ホルモンと類似した作用を示す化学物質(女性ホルモン様物質)の魚類への影響として懸念されるのは、雄の生殖機能が影響を受けること(雄の雌化)です。具体的な問題としては、精巣での精子形成の抑制や異常、精巣卵を生じる雌雄同体化などの形態異常、性行動や二次性徴の抑制などがあげられます。しかし、これら組織学的な変化などを調べるには、組織標本の作製に労力を必要とし、また異常の有無を判断するにも専門的な知識が必要です。

そのため組織学的な評価にかわる鋭敏かつ簡便な指標(バイオマーカー)として、ビテロジェニンという蛋白質が注目されています。ビテロジェニンは、女性ホルモンの働きで生合成される卵黄蛋白質の前駆体です(魚類は肝臓で生合成)。体内で女性ホルモンを合成している雌は、ビテロジェニンが生合成され肝臓や血液中に高濃度で存在しますが、雄の肝臓や血液中にはほとんど存在しません。しかし、雄でも女性ホルモン(様)物質で暴露すると、ビテロジェニンが生合成され、肝臓や血液中から高濃度で検出されることが判っています。すなわち化学物質や河川水などの被験試料で暴露した雄の肝臓や血液中からビテロジェニンが検出されれば、被験試料が魚類に対して女性ホルモン様作用を持つことが示唆されます。

雄の雌化



当社での取り組み

当社では、平成10年から内分泌攪乱化学物質のOECD試験法ガイドライン(案)において試験魚種として推奨されているヒメダカを用いて、ビテロジェニンを指標とした女性ホルモン様作用の評価系に関する検討を行っております。また、河川水、下水処理水、各種排水、廃棄物浸出水など環境試料を対象とした包括的な毒性評価や環境管理への適用を目的とした様々な研究にも取り組んでいます。

ヒメダカを用いたビテロジェニン・アッセイ(女性ホルモン

様作用のスクリーニング試験)の流れを下図に示しました。現在、環境創造研究所では、試験に用いるヒメダカの自家繁殖から清浄な環境での飼育、流水式による化学物質等での暴露試験、暴露したヒメダカの血液や肝臓の採取及びビテロジェニン濃度分析(当社とトランスジェニック(株)とで共同開発した「メダカビテロジェニンELISAキット」を用いた分析)から試験結果の評価まで、ヒメダカによるビテロジェニン・アッセイを実施できる施設及び体制を備えています。

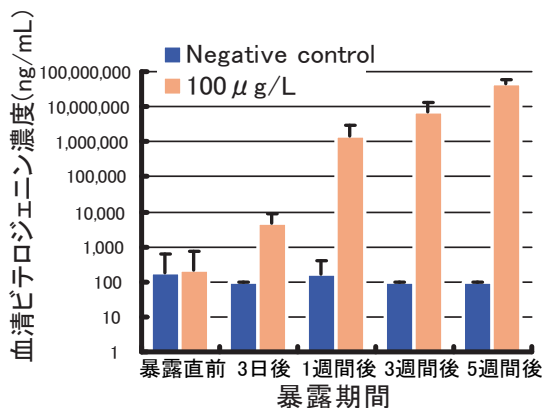
女性ホルモン様作用のスクリーニング試験



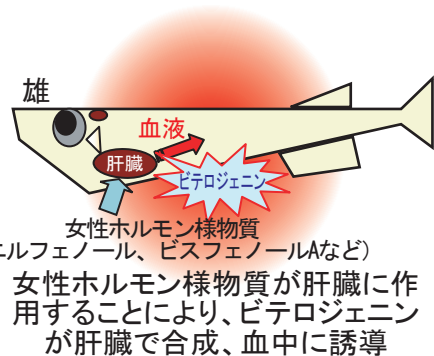
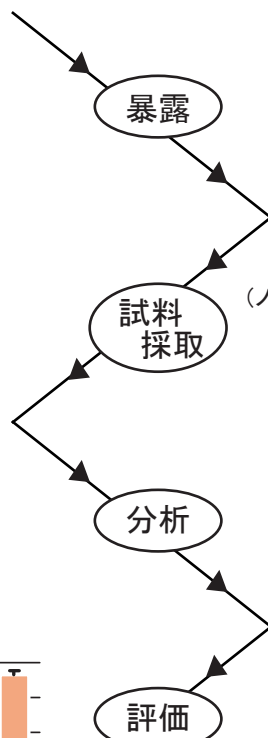
恒温室内(内張:ステンレス製)に設置した流水式暴露装置



暴露したヒメダカの血液および肝臓の採取



ノニルフェノール100 µg/Lに5週間暴露したヒメダカ雄血清中のビテロジェニン濃度の経時変化



メダカビテロジェニンELISAキットによるビテロジェニン濃度の測定

コントロールと比べて3日後からビテロジェニン濃度が有意に上昇し、5週間後まで増加し続けていることから、ノニルフェノールは女性ホルモン様作用を有すると判定