

酵母Two-hybridアッセイ法による環境水中の 化学物質によるエストロゲン様活性の検索

Investigations of the Estrogenic Activity in Environmental Waters using Yeast Two-Hybrid Assay System

三沢 松子*¹ 名村 真由美*² 千葉 美子
阿部 公恵 大庭 和彦

Matsuko MISAWA, Mayumi NAMURA, Yoshiko CHIBA,
Kimie ABE, Kazuhiko OHBA

酵母Two-Hybridアッセイ法を用いて、県内の河川水中エストロゲン・アゴニスト活性の検索を試みたところ、既往の報告と検出頻度、検出濃度とも同程度の結果が得られたが、一部の水域では魚類の雌化に影響があるとされるエストラジオール換算で10pptを上回る値が繰り返し認められ、一過性のものではないことが示唆された。また、同一試料でも、ヒトとメダカという生物種の異なる受容体遺伝子組込酵母を用いた試験で結果に差がみられたことから、生物種により受ける影響の違いがあるものと推察され、水圏を対象としてリスク評価をしようとする場合、そこで生活する生物への影響についての考慮が不可欠であると考えられた。バイオアッセイでは活性を示す構成物質の詳細な内訳をみることはできないものの、全体としての作用を反映しようという点から、環境試料の持つ複合的な作用の評価を行う場合において有用であるものと考えられた。

キーワード：酵母Two-Hybridアッセイ法；エストロゲン活性；環境水；ヒトエストロゲン受容体アルファ遺伝子；メダカエストロゲン受容体アルファ遺伝子

Keywords : yeast two-hybrid assay system ; estrogenic activity ; environmental waters ; hER α ; mER α

1 はじめに

環境中の化学物質による包括的な生物の内分泌攪乱作用の検索に各種バイオアッセイ法が検討されている。今回、バイオアッセイ手法として水圏試料のエストロゲン様活性を対象とした場合に報告例の多い酵母Two-Hybridアッセイ法を導入すべく検討した。この手法には、測定原理として、吸光度を測定する「発色法」の他に「化学発光」を用いた方法があり、「化学発光法」は「発色法」に比べ試薬や装置のコストはやや高くなるものの、作業時間が短く、感度が高く、試料由来の濁りの影響を排除できる等のメリットがありスクリーニング手法としてより適しているとされている。

そこで、国立環境研究所との共同研究も併行して可能となったため、より迅速な方法として「化学発光法」による環境水の測定を通じ、スクリーニング手法としての環境水試料への適用とその有効性について検討を行ったので報告する。

なお、本調査研究は、平成13年度～15年度の所内プロ

* 1 現 環境生活部廃棄物対策課

* 2 現 県立がんセンター

ジェクト研究及び平成15年度地方公共団体研究機関と国立環境研究所との共同研究の一部として行ったものである。

2 方 法

2.1 供 試 菌 株

試験は、平成14年度に独立行政法人国立環境研究所から分与された、環境ホルモン検出のためのヒトのエストロゲン受容体 α 遺伝子（以下「hER α 」と略す。）を組み込んだ酵母を用いて行った。また、後述の生物種の違いに関する試験として、国立環境研究所所有のメダカのエストロゲン受容体 α 遺伝子（以下「mER α 」と略す。）を組み込んだ酵母を用いた。

2.2 酵母Two-Hybridアッセイ法の原理

酵母Two-hybrid法の測定原理は、ホルモンや化学物質がホルモン受容体に結合すると β -ガラクトシダーゼ（ β -gal）が発現するしくみを酵母に組み込み、 β -galと外部から添加した基質との反応による発色もしくは発光の度合を測定することにより、ホルモンや化学物質の作用を評価するものである。

2.3 エストロゲン・アゴニスト作用の判定と評価

エストロゲン様活性のうち、今回対象としているアゴニスト作用とはホルモン様作用を誘発する作用である。その作用活性の有無の判定と評価は白石らの方法¹⁾²⁾によった。すなわち、判定は、試料の各濃度ごとの化学発光強度の平均値 (T) を求め、ジメチルスルホキシド (以下「DMSO」と略す。) (ブランク) での化学発光強度の平均値 (B) に対する化学発光強度比 (T/B) を算出し、濃度に依存した化学発光強度比の増加がみられ、かつ最大化学発光強度比が4以上を示すものをアゴニスト作用陽性とした。また、その評価は、化学発光強度比が次の希釈濃度の2倍以上を示すような試験濃度領域で回帰直線式を求め、T/Bを10倍誘導する濃度を算出し10倍影響濃度 (EC_{x10}) として指標とした。

2.4 化学物質標準品での測定

まず試験系の確認をするため、アルキルフェノール類を主とした化学物質標準品を被検試料として活性を測定した。今回使用した化学物質は表1のとおりであり、4-n-ノニルフェノールはDr.Ehrenstorfer GmbH製を、その他は関東化学製の標準品をDMSOに溶解し調製した。

2.5 水試料の前処理操作

河川水等水試料の前処理操作は、白石らの方法¹⁾²⁾に準じた。試料に対しその1/100容の酢酸緩衝液：メタノール (1：9) 液を添加しガラスフィルター (GF/C) でろ過する。ここで試料に添加する酢酸緩衝液：メタノール (1：9) 液は、まず1M-酢酸溶液14.6mlと1M-水酸化ナトリウム溶液10mlを混合しDWで100mlとした酢酸緩衝液を調製し、その酢酸緩衝液とメタノールを1：9の割合で混合したものである。ろ液は、予めメタノール、ジクロロメタン各10mlで洗浄した後メタノール10mlと蒸留水20mlでコンディショニングした固相ディスク (3M製C18FF) に通水し、ディスクはDWで洗浄し、35~40℃のホットプレート上で1時間乾燥した後、ジクロロメタン8ml (4ml×2) で溶出し、溶出液はねじり口ガラス試験管に-20℃で測定時まで保存した。測定直前に窒素ガスの吹きつけにより溶媒を除去した後DMSOに溶解し (原則として10,000倍濃縮とした。) 供試試料とした。

2.6 17β-エストラジオールの添加回収試験

前処理操作の確認を行うため、蒸留水及び環境水400mlに、それぞれアセトン転溶した17β-エストラジオール (以下「E2」と略す。) 200nMの溶液を40μl添加

した試料を調製し前処理操作及び測定を行った。この試料は、DMSOに転溶した段階で10,000倍濃縮となるため、添加分のE2の最終濃度は理論上200nMとなる。

2.7 環境試料の測定

2.7.1 試験区分の設定

今回の検討において、実試料の測定では比較のため2つの視点で試験区分の設定を行った。

まず、異なる生物種のエストロゲン受容体遺伝子組込酵母を用いた場合における活性の差の有無という視点で、ヒト (hERα) とメダカ (mERα) による試験を行った。ここで、メダカは、生活の場が常に水中にある生物種として設定したものであり、当センターではmERα株を所有していないため、測定には独立行政法人国立環境研究所の白石不二雄氏の協力をいただいた。

次に、一般に、取り込まれた化学物質は生体内で薬物代謝酵素により代謝されるという過程を考慮し、代謝に伴う活性の変化の有無をみるため、前処理した試料を直接評価する試験 (-S9試験) 及び前処理した試料に予めラット肝ホモジネート上清を含む溶液 (S9 mix) を加えて処理し、代謝生成物の活性を評価する試験 (+S9試験) の区分を設定した。

2.7.2 環境水の採取

測定対象を県内の河川水とし、下記のとおり計3回採水を行い、試験に供した。また、環境水の前処理操作に伴い試料中の夾雑物も一緒に濃縮されるため、試料自体の毒性影響について発光細菌を用いた試験 (マイクロトックス試験)¹⁾²⁾を併せて行った。

- (1) 増田川流域 (平成15年4月採水) 13地点
- (2) 中小都市河川8水域 (平成15年6月採水) 10地点
- (3) (2)のうち鉛川中流域及び森越戸排水路の再調査 (平成15年9月採水) 9地点

3 結果及び考察

3.1 化学物質標準品のエストロゲン様活性と10倍影響濃度 (EC_{x10})

各化学物質標準品をhERαに曝露した時の用量反応曲線を図1に、10倍影響濃度を算定した結果を表2に、またE2の活性を100としたときの各物質の相対活性を図2に示した。

算定した10倍影響濃度は、既往の報告²⁾とほぼ同じであり、アッセイ系として同程度の感度であることが確認できた。

表1 単独曝露試験に使用した化学物質標準品

化学物質名	化学式	分子量	化学物質名	化学式	分子量
4-t-ブチルフェノール	(CH ₃) ₃ CC ₆ H ₄ OH	150.22	4-オクチルフェノール (mix)	C ₈ H ₁₇ C ₆ H ₄ OH	206.32
4-n-ペンチルフェノール	C ₅ H ₁₁ C ₆ H ₄ OH	164.24	4-n-ノニルフェノール	C ₉ H ₁₉ C ₆ H ₄ OH	220.36
4-n-ヘキシルフェノール	C ₆ H ₁₃ C ₆ H ₄ OH	178.27	4-ノニルフェノール (mix)	C ₉ H ₁₉ C ₆ H ₄ OH	220.36
4-n-ヘプチルフェノール	C ₇ H ₁₅ C ₆ H ₄ OH	192.3	ビスフェノールA	(CH ₃) ₂ C(C ₆ H ₄ OH)	228.29
4-n-オクチルフェノール	C ₈ H ₁₇ C ₆ H ₄ OH	206.32	ビスフェノールF	CH ₂ (C ₆ H ₄ OH) ₂	200.23

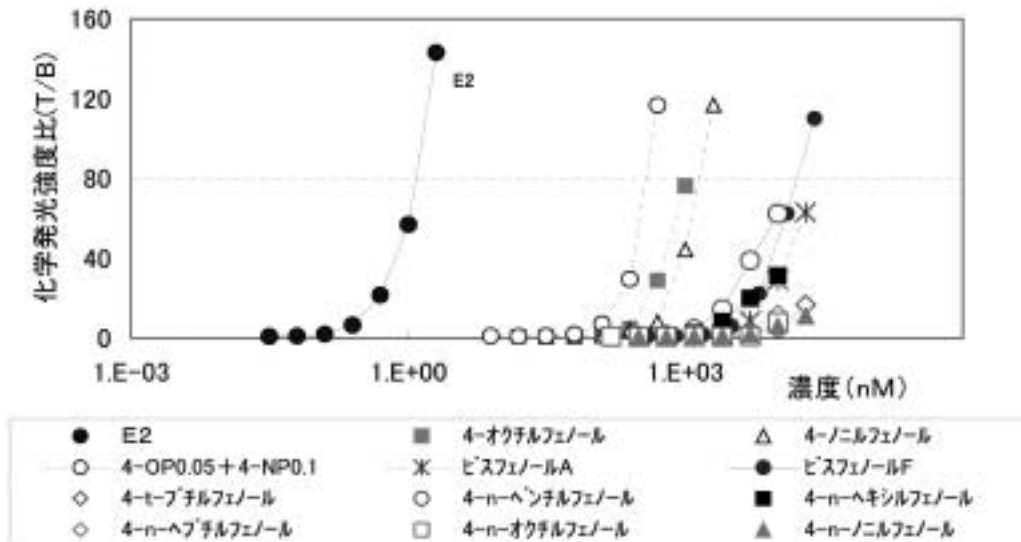


図1 各被検化学物質の用量反応曲線

表2 各物質の10倍影響濃度

化学物質	EC ₁₀ (M)
① 4-t-ブチルフェノール	1.55×10 ⁻⁵
② 4-n-ペンチルフェノール	1.90×10 ⁻⁶
③ 4-n-ヘキシルフェノール	2.83×10 ⁻⁶
④ 4-n-ヘプチルフェノール	8.11×10 ⁻⁶
⑤ 4-n-オクチルフェノール	1.99×10 ⁻⁷
⑥ 4-オクチルフェノール	3.02×10 ⁻⁷
⑦ 4-n-ノニルフェノール	1.70×10 ⁻⁵
⑧ 4-ノニルフェノール (mix)	5.24×10 ⁻⁷
⑨ ビスフェノールA	4.98×10 ⁻⁶
⑩ ビスフェノールF	3.96×10 ⁻⁶

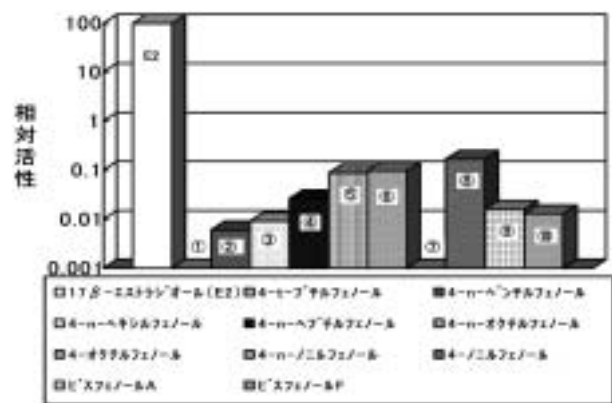


図2 アルキルフェノール類等標準品での活性比 (hERα)

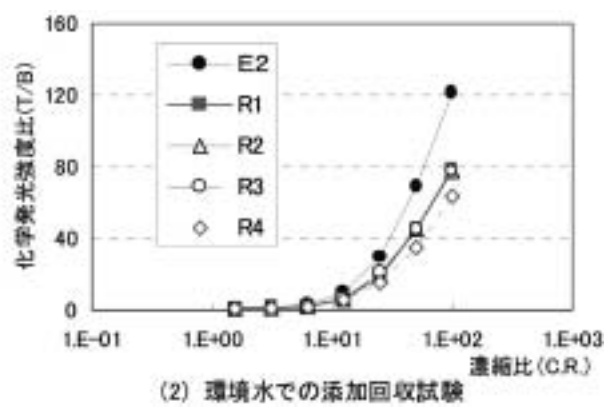
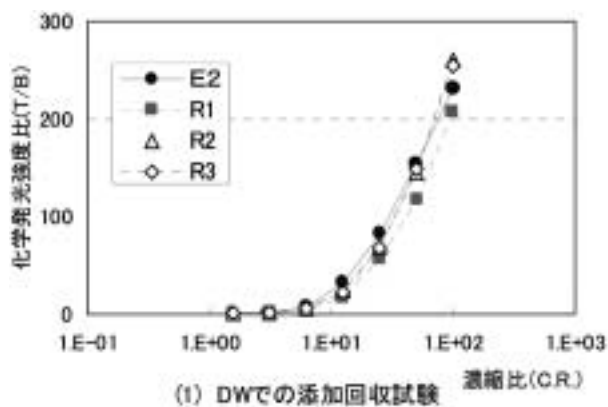


図3 E2の添加回収試験による用量反応曲線

また、hERα試験系における各化学物質のE2に対する相対活性は、1,000分の1～10,000分の1であった。すなわち、ヒトでは、これら化学物質は、単独の場合、E2の1,000～10,000倍の量でE2に匹敵する活性を発現するものと考えられる。

3.2 E2の添加回収試験

E2を添加した蒸留水及び環境水（増田川流域で採水

したものを使用した。）試料の試験結果を図3に示した。この試験操作に用いた蒸留水及び環境水自体には活性は認められず、添加原液と添加後前処理した試料の活性から計算した回収率は、蒸留水に添加した場合で80.6～90.7%（平均86.0%，n=3）、環境水に添加した場合は76.4～84.1%（平均79.3%，n=4）であり、概ね良好であると考えられた。

表3 増田川流域の測定結果

本 支 川		増 田 川 (本 川)										館 腰 承 水 路		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
採 水 地 点		ダム流入前 (業師橋)	ダム下流 (朝町橋)	観音橋	吉合橋	増田川 上 橋	小山橋	増田飯 野坂橋	舟橋	柚の木橋	寺野橋	箱塚橋	小山一丁 目公園前	増田川 合流前
hER(-S9)	ppt as E2	N.A. ^{注2)}	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0.21	0.47	0.44	0.17
hER(+S9)	ppt as E2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
mER(-S9)	ppt as E2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	1.3	1.1	N.A.	N.A.	2.5	N.A.	N.A.	N.A.
mER(+S9)	ppt as E2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
P.B.test ^{注1)}	IC ₅₀ (C.R.)	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100

注1) 発光細菌による毒性試験
 注2) N.A.: 活性を認めず

表4 中小都市河川の測定結果

水域・地点等		鉛川・ 佐野橋	鉛 川・ 五輪原橋	鉛川・ 久保橋	新町川	砂押川	新 堀 サ イ フ ォ ン 入 口	出来川	緒絶川	荒川都市 下 水 路	森越戸排水 路・出口
hER(-S9)	ppt as E2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	0.86	1.9
hER(+S9)	ppt as E2	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
mER(-S9)	ppt as E2	3.5	4.2	N.A.	N.A.	N.A.	2.4	N.A.	2.7	4.6	18
mER(+S9)	ppt as E2	N.A.	1.7	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
P.B.test	IC ₅₀ (C.R.)	150	140	280	weak	weak	weak	weak	<100	140	150

3.3 環境試料のエストロゲン・アゴニスト活性

3.3.1 増田川流域

名取市内の増田川流域は、その流域が比較的コンパクトであり、これまでの県の実態調査結果³⁾においてアルキルフェノール類等の検出頻度が高かったことから、上流から下流、代表的な流入支川を含む13地点で試料を採取し、測定した結果を表3に示した。

この流域での調査地点の活性の検出率は、hER α では-S9試験で4/13、+S9試験で0/13、mER α では-S9試験で3/13、+S9試験で0/13であった。また検出範囲はE2換算値で、hER α ではN.A.~0.47ppt、mER α ではN.A.~2.5pptであった。中流の市街地の部分や市街地を流下する流入支川で活性がみられ、下流で最大の活性値を示している。なお、発光細菌を用いた毒性試験では100倍濃縮までは毒性は認められなかった。

3.3.2 中小都市河川8水域

以前実施した河川水中のフタル酸エステルの実態調査結果⁴⁾も参考に、下水道がそれほど普及していない中小都市河川等8水域(10地点)での試料を採取し測定した結果を表4に示した。

全調査地点の活性の検出率は、hER α では-S9試験で2/10、+S9試験で0/10、mER α では-S9試験で6/10、+S9試験で1/10であった。また検出範囲はE2換算値で、hER α ではN.A.~1.9ppt、mER α ではN.A.~18pptであった。前回の増田川流域より検出率、活性ともに高い値が認められ、特に森越戸排水路出口ではメダカで18pptを示し、魚類の雌化に影響があるとされる10pptを超える値であった。なお、発光細菌を用いた毒性試験では100倍濃

縮までは毒性は認められなかった。

3.3.3 鉛川中流域及び森越戸排水路の再調査

6月の調査水域のうち、メダカのみで活性が認められた鉛川流域と、ヒト、メダカともに活性が認められた森越戸排水路において、再調査を行った。測定結果を表5に示した。

鉛川流域では、6月の調査で下流の久保橋において活性がみられなかったため、対象地点は佐野橋~藤沢橋までの中流域のみ調査を実施した。再調査では6月の調査と同様に、ヒトに比べメダカで高い活性がみられ、3地点の結果をみると、流下に伴い活性値は低下した。佐野橋付近或いはその上流域に活性をもたらす要因があるものと推察される。なお、発光細菌による毒性試験では、佐野橋で100倍以下の濃縮でやや毒性がみられ、50%阻害濃度(IC₅₀)は83倍と算定された。

森越戸排水路では上流~出口までの5地点と最も大きな流入支川1地点の計6地点でサンプリングを行った。6月の調査時よりもさらに大きい値で活性が確認された。まず上流の地点AB間にメダカの活性に大きな上昇がみられ、地点B~Cでそれにつぐ上昇となっている。地点CE間には流入支川が多い。最も大きな支川の出口地点Dは、水の外観や性状、一般的な水質指標の値からかなり汚濁が進んでいると思われたが、全く活性がみられなかった。また地点EF間で活性は大きく上昇し、特にヒトで顕著であった。これら活性の推移には流入する支川の影響が大きいものと考えられる。特に地点E~Fでは水路に隣接する住宅や工場からの放流水が直接流入する状況にあることからその影響によるものと推察される。この6地点の

表5 2水域の再調査結果

採水地点		hER α (-S9)	mER α (-S9)	P.B.test (IC ₅₀)
		ppt as E2	ppt as E2	C.R.
鉛川	佐野橋	0.16	8.3	83
	五輪原橋	0.15	6.3	130
	藤沢橋	0.13	4.8	120
森越戸排水路	Aため池出口	0.59	14	weak
	B	5.5	103	68
	C	7.3	129	94
	D	-	-	9.8
	E	6.2	74	58
	F排水路出口	66	85	82

表6 各化学物質の比活性²⁾

	hER α	mER α
17β-エストラジオール	100	100
エストリオール	0.46	
エストロン	16	17
4-t-プチルフェノール	-	-
4-n-ペンチルフェノール	0.011	0.19
4-n-オクチルフェノール	0.0033	0.16
4-t-オクチルフェノール	0.21	0.44
4-n-ノニルフェノール	0.0025	0.085
4-ノニルフェノール	0.033	0.26
ビスフェノールA	0.0042	0.029

試料の発光細菌による毒性試験の結果では、地点Aでは殆ど毒性は認められなかったが、地点B以降ではいずれも100倍以下の濃縮率で毒性がみられた。IC₅₀を算定したところ、地点Bから順に、68倍、94倍、10倍、58倍、82倍であり、地点Dではかなり強い毒性と考えられた。この毒性により地点Dで活性が認められなかった可能性が疑われたが、毒性影響のない濃縮段階で試験しても活性はみられなかったため、毒性によるものではないことが明らかとなった。

3.4 機器分析値からの換算値と酵母アッセイによる測定結果の比較

9月の鉛川3地点において、酵母アッセイによる実測活性値と表7に示すエストラジール関連物質及びアルキルフェノール類及びビスフェノールAの機器分析値(LC/MS)をもとに積み上げ換算した値の比較を行った。

機器分析からの換算は、①各物質の検出濃度 ②各化学物質を酵母アッセイで単独曝露した場合の比活性(比活性の値は白石ら²⁾による)の積の総和により算出した。その結果等を表6~7及び図4に示した。結果として、両者には大きな乖離が生じ、今回の機器分析対象物質だけでは実際の試料のエストロゲン様活性を説明づけるこ

表7 機器分析による検出状況と換算

No		1	2	3
水 域		鉛 川		
橋 の 名 前 等		佐野橋	五輪原橋	藤沢橋
17β-エストラジオール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
エチニルエストラジオール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
エストリオール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
エストロン	μg/l	<0.005	<0.005	<0.005
4-t-プチルフェノール	μg/l	0.576	0.365	0.250
エストラジール換算	LC/MS→hER			
	ppt LC/MS→mER			
4-n-ペンチルフェノール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-ヘキシルフェノール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-ヘプチルフェノール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
4-n-オクチルフェノール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
4-t-オクチルフェノール	μg/l	<0.01	<0.01	<0.01
4-ノニルフェノール	μg/l	0.109	0.042	0.036
エストラジール換算	LC/MS→hER	0.044	0.017	0.015
	ppt LC/MS→mER	0.350	0.135	0.116
ビスフェノールA	μg/l	0.53	0.26	0.23
エストラジール換算	LC/MS→hER	0.027	0.013	0.012
	ppt LC/MS→mER	0.183	0.090	0.080
エストラジール換算合計	LC/MS→hER	0.071	0.030	0.026
	ppt LC/MS→mER	0.534	0.225	0.195

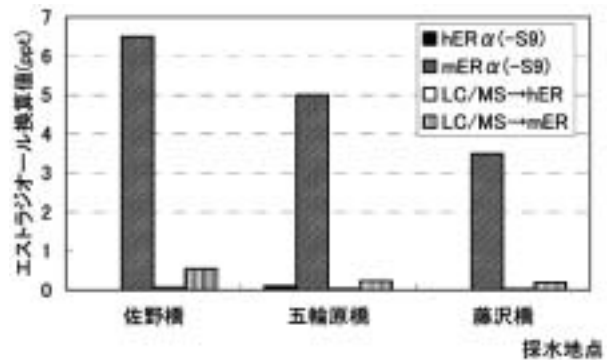


図4 鉛川中流域における活性比較

とはできなかった。

3.5 化学物質の組み合わせ試験による活性の変化

化学物質をそれぞれ単独で確実に活性がみられる濃度と量で添加量を設定し、単品ではなく複合で曝露した場合の活性を測定した結果を図5に示した。

E2にエストロン (E1), オクチルフェノール (OP), ビスフェノールA (BPA) を添加したところ、複合による実測値は単独曝露による実測値の和として想定した理論値とほぼ符合し、活性値は相加的な変化をみせたことになる。

次に同じ試料であってもヒトとメダカとで活性に差がみられた点について検証するため、複数の化学物質を混

合した場合の両者の活性値を比較し図6に示した。

E2にエストラジオール関連物質(E1, エストリオール(E3), エチニルエストラジオール(EE2))を複数混合した場合は、ヒトとメダカでは大きな差はみられなかった。一方、E2にアルキルフェノール関連物質(ノニルフェノール(NP), OP, BPA)を複数混合した場合は、ヒトとメダカとで活性値に4倍以上の大きな差がみられた。このことから、メダカ酵母ではヒト酵母に比べアルキルフェノール類による影響を活性として大きく反映しうることが考えられる。ヒトとメダカの試験系に関して、白石らはヒト試験系に比べメダカ試験系のE2及びE2関連物質に対する感受性が低く、逆にアルキルフェノール類に対しては高い感受性を示すことから、ヒトとメダカの両試験系を併用することで水環境試料の主たるエストロゲン・アゴニスト活性が工業系化学物質によるのかあるいはE2関連物質によるのかを判別可能である⁵⁾としており、異なった生物種で試験することはモニタリングの上で有意義であるものと考えられた。

4 ま と め

化学発光を利用した場合、曝露培養が短時間であり、実際の測定が1日で終了できるため、より迅速な方法であることを実際の操作を通して確認できた。

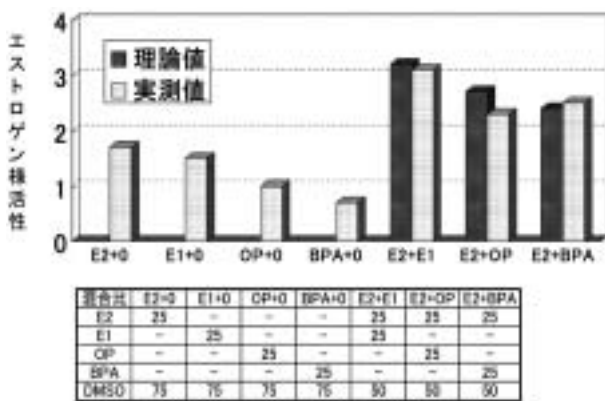


図5 複合曝露した場合の活性 (hERα)

1)ヒト用試験系 関連物質	hERα	mERα	m/h (%)	7)メダカ用試験系 関連物質	hERα	mERα	m/h
E2+0	1.0	(2.7)		E2+0	0.88	0.89	1.01
E2+E3	1.7	1.7	1.00	E2+NP	1.0	3.9	3.90
E2+E3+E1	3.4	2.9	0.85	E2+NP+OP	1.3	5.1	3.92
E2+E3+E1+EE2	4.2	5.3	1.26	E2+NP+OP+BPA	1.8	13	7.22

注) 表中のm/hは、mERαとhERαの活性比を示す。

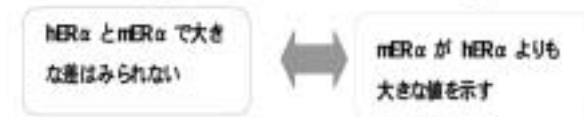


図6 ヒトとメダカでの活性変化

また、±S9試験系で比較することにより、生体内の代謝による疑似的な活性変化が確認できることがわかった。一般に、天然の人畜由来のホルモン関連物質は、S9処理により活性が消失する³⁾といわれており、±S9試験結果によりおおまかな活性の由来を区別できるものと考えられる。

今回の増田川や中小都市河川の測定結果は、あまり汚濁が進んでいない河川や湖沼を測定対象とした既往の報告²⁾⁶⁾⁷⁾と検出頻度、検出濃度とも同等であり、河川水の結果としては妥当なものと考えられる。しかし、森越戸排水路では、魚類の雌化に影響があるとされるエストラジオール換算で10pptを上回った値が繰り返し認められたことから、この値は一過性のものではないことが示唆され、より詳細な調査が必要と考えられた。

さらに、同一試料でも、ヒトとメダカという生物種の異なる受容体遺伝子組込酵母を用いた試験結果に差がみられたことから、生物種によって受ける影響に違いがあることが推察され、水圏を対象としてリスク評価をしようとする場合、水圏で生活する生物への影響についての考慮が不可欠であると考えられた。

今回の検討の中では、限られた数種類の化学物質の分析値から環境試料が持つエストロゲン様活性を説明づけることができなかった。酵母Two-Hybrid法のようなバイオアッセイでは環境試料に含まれる物質の詳細な内訳をみることはできないものの、全体としての作用は反映するという点から、環境試料の持つ複合的な作用をモニタリングし評価を行う場合において有用であると考えられた。

今後は、まず現在の試料前処理操作の効率化とその手技の標準化を図り、水圏を対象とする上で化学物質の特性や生物の生活史も考慮し、単に「水」試料の「濃度」のみに終始せず、「量」や「底質」試料も含めた水圏全体のポテンシャルとしての評価を行うとともに、モニタリングで高い活性を示した場合の試料中活性寄与主要因の解明に備えた分析技術の充実を図る必要がある。特に、実試料中には、よく知られた活性寄与物質以外のものが含まれている可能性が大きく、それら未想定活性物質による影響や無活性濃度・無活性物質と活性物質との相互作用による複合曝露影響については今後検討を行うこととしたい。

5 謝 辞

この調査研究の一部は、平成15年度地方公共団体研究機関と国立環境研究所との共同研究により実施したものである。今回の調査研究にあたり、供試菌株の分与やメダカ試験系の測定、発光細菌による毒性試験をはじめ、共同研究として種々のご指導ご協力をいただきました独立行政法人国立環境研究所の白石不二雄氏に心から深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 白石不二雄, 白石寛明, 西川淳一, 西原力, 森田昌敏: 環境化学, 10, 57 (2000).
- 2) 国立環境研究所: 特別研究報告 “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 (内分泌攪乱化学物質総合対策研究) 平成8~13年度”, (2002).
- 3) 宮城県環境生活部環境対策課, “報道発表資料 環境ホルモンの調査結果について”,
<http://www.pref.miyagi.jp/kankyo-t/press.htm>,
(2003. 3. 31).
- 4) 宮城県保健環境センター: 化学物質の環境汚染に関する調査研究-外因性内分泌攪乱化学物質へのアプローチ-平成10~12年度プロジェクト研究報告書,
p.22 (2002).
- 5) 白石不二雄, 白石寛明, 西川智浩, 西川淳一, 丸尾直子, 森田昌敏: 第12回環境化学討論会要旨集, p.58 (2003).
- 6) 永洞真一郎, 阿賀裕英, 村田清康, 坂田康一: 第37回日本水環境学会年会講演集, p.443 (2003).
- 7) 高橋悟, 池田享司, 金一和, 白石不二雄: 第12回環境化学討論会要旨集, p.494 (2003).