

特集 I「内分泌かく乱物質（環境ホルモン）」
研究の最前線

（臨床環境 8 : 62~71, 1999）

内分泌かく乱物質（環境ホルモン）の生物への影響井口 泰 泉¹⁾

1) 横浜市立大学理学部・大学院総合理学研究科

I. はじめに

環境中にはダイオキシン、PCB などの健康に障害を与える化学物質が放出されており社会問題となっている。このような残留性の高い化学物質に加えて、今までは安全と考えられていた農薬、界面活性剤、プラスチックの原材料などの化学物質の中に、生体のホルモン受容体、特に女性ホルモン受容体に結合することにより、あたかも女性ホルモンと同じ様な働きをする化学物質、男性ホルモンや甲状腺ホルモンの受容体に結合してホルモン作用を阻止する物質など（環境ホルモン、内分泌かく乱物質）があることがわかってきた。ヒトでは精子数がこの50年間で半減している、先天奇形の尿道下裂がこの20年間で倍になっている、精巣癌が増加しており30代がピークになるとの報告もあり、胎児期の内分泌かく乱物質が原因になっているとの仮説も提出されている。また、ダイオキシンや PCB などは生物濃縮により食物連鎖の上位の動物であるヒトのみならずイルカ、クジラ、アザラシなどの皮下脂肪に蓄積されている。内分泌かく乱物質は、水系に入り水棲動物の生殖を攪乱する懸念がある。日本の沿岸では有機スズによる巻貝の雌に雄の生殖器ができるインポセックス現象が見られている。環境庁や建設省などは河川中の内分泌かく乱物質を測定し、さらに、雄のコイでの卵黄タンパク発現を指標にした生物調査も開始されている。また、厚生省や科学技術庁の支援による作用メカニズムの研究も行われている。

この問題に対しては、まだ科学的な根拠が十分でないとの批判もあるが、かつての公害の対応と異なり、ヒトに影響が顕著にあらわれる前に調査

をし、対応を考えようとされている。日本でも各省庁の調査研究も行われている。世界的には、WHO、OECD、IUPAC を中心にした取り組みもある。

II. 歴史的背景（表1）

カーソン女史は1962年の「沈黙の春」で、北アメリカでは DDT をはじめとする化学物質による大規模な汚染が、野生動物の繁殖力の減少と関連していることを指摘した¹⁾。野生動物の生殖異常はこれらの化学物質による汚染が原因であると考えられているが、そのメカニズムは必ずしも定説が無かった。アメリカフロリダ州のアポプカ湖のワニ、フロリダ州のヒョウ、パリのセーヌ川の雌性化したウナギ、イギリスの河川でのコイ科の魚の生殖異常など、多くの地域の多種類の野生動物種で生殖異常や性器異常等がみられることから、化学物質の曝露を受けた野生動物に生理的な攪乱が生じている。さらに、ヒトで精巣ガンの増加、尿道下裂、停留精巣の増加が報告され、ヒトの精子数は過去50年間で半減したとの報告もある。これらのことから、野生動物に見られる現象はヒトにも関連しており、ヒトの生殖に深刻な問題が生じる可能性がある。

1991年7月に世界自然保護基金のホルボーン博士が、動物の生殖問題に取り組んでいる科学者をアメリカウイソコンシン州のウイングスプレッドに集めて会議を開き、環境中に放出された化学物質の野生動物、実験動物およびヒトへの影響について議論して以下の合意を得た。

1. 化学物質は生体内で女性ホルモンと類似の作

別刷請求宛先：井口泰泉

〒236-0027 横浜市金沢区瀬戸22-2 横浜市立大学理学部機能科学科内分泌研究室

Reprint Requests to Taisen Iguchi, Department of Biology, Yokohama City University, 22-2 Seto, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa 236-0027 Japan

表1 内分泌かく乱物質関連の動向

1962年		カーソン女史による「沈黙の春」の出版
1979		有吉佐和子女史による「複合汚染」の出版
		第1回環境エストロゲン会議
1985	4月	第2回環境エストロゲン会議
1991	7	コルボーン女史によるウイングスプレッド会議
1994	1	第3回環境エストロゲン会議
1995	1	英国医学研究審議会のワークショップ
	4	米国環境保護庁(EPA)のワークショップ
	7	魚類に関するウイングスプレッド会議
1996	3	コルボーン女史らによる「奪われし未来」出版
	7	通産省の内分泌かく乱物質関連の研究班発足
	8	EPAによる内分泌かく乱物質スクリーニング法の開発着手
	10	厚生省の内分泌かく乱物質関連の研究班発足
	11	OECDによる内分泌かく乱物質スクリーニング法の開発着手
	12	欧州委員会とWHOがイギリスでウエイブリッジ会議
1997	1	ホワイトハウス・EPAによるスミソニアン会議
	1	環境・通産・厚生・労働・農水による省庁連絡会議
	2	IFCS化学物質安全政府間フォーラムで検討開始
	3	キャドバリー女史による「メス化する自然」出版
	3	環境庁による研究班発足
	5	G8環境大臣会合で内分泌かく乱物質を討議
	5	サイエンスアイで「環境ホルモン問題」を放映
	7	環境庁研究班による中間発表
	9	「奪われし未来」翻訳出版
	11	横浜での国際比較内分泌学会でシンポジウム
	11	NHKスペシャル「生殖異常」
1998	3	OECDによる試験法に関する専門家会議を開催
	5	環境庁による環境ホルモン戦略計画SPEED'98を公表
	6	日本内分泌攪乱化学物質学会(通称 環境ホルモン学会)設立
	7	米国で「内分泌かく乱物質」のゴードン会議開催
	10	NHKスペシャル
	12	環境庁主催による「国際内分泌攪乱化学物質シンポジウム」を京都で開催
	12	通称環境ホルモン学会を京都で開催
1999	1-2	レイクタホにて「内分泌攪乱化学物質」のキーストン会議開催

用、抗男性ホルモン作用などのホルモン等の内
分泌を攪乱させる作用を持つ。

- 多くの野生動物種はすでにこれらの化学物質
の影響を受けている。
- これらの化学物質は人体にも蓄積されている。

このような作用を示す一連の化学物質は内分泌
かく乱物質 (Environmental Endocrine Disruptors;
Endocrine-Disrupting Chemicals; Endocrine Dis-
ruptors Environmental Hormones) と呼ばれてい
る。ヒトでの被害も近い将来顕在化するおそれ
があるため、ヒトへの影響に対する研究を優先的
に実施する必要があるとした²⁾。

1950年には DDT などの農業に女性ホルモン
(エストロゲン) 様作用があることが、1960年代
には PCB にもエストロゲン様作用があることが

動物実験によって証明されていた。1970年には、
ヒトで流産防止のために妊娠中に服用した合成エ
ストロゲンであるジエチルスチルベストロール
(DES) が生まれた女兒の膣ガンの原因となってい
る事例も見出されていた。そこで、NIEHS のマ
クララン博士 (現: チューレーン大学教授) ら
は、哺乳動物の生殖およびガン化に対するエスト
ロゲンの影響に関する会議を1979年より定期的
に開催してきた。1994年1月にワシントン D. C.
で第3回目として内分泌かく乱物質問題をも取り込
んだ会議を開催し、魚類、爬虫類、鳥類、哺乳類
に生殖異常が観察されていることが報告された。
例えば、イギリスの河川でのアルキルフェノール
化合物による雌雄両性のローチ (コイ科の一種)
の出現、雄のニジマスの雌性化、ワニのペニスの

矮小化、血中テストステロンの低下などが報告された。トリブチルスズで汚染されたアメリカ西海岸、北海、東南アジア等では巻貝のインポセックス等も見られている³⁾。

1995年7月にはウイングスプレッドに魚類の研究者が集まり、「化学物質による魚類の発生・生殖の変化」に関する会議を開き、魚類の発生・生殖・生理・薬理に対する内分泌かく乱物質の影響について議論して下記の合意を得た。

- 1) 水系に存在する合成化学物質の幾つか (DDT、PCB、ダイオキシン、アルキルフェノール等) は、魚類の内分泌系、免疫系、神経系、成長、発生を攪乱する。
- 2) これらの化学物質により解剖学的な奇形、機能変化、生化学的、分子的な変化がおこる。発生中の胚や幼生は成体より化学物質に対して感受性が高い。
- 3) 多くの海産および淡水産魚類の数は化学物質により減少している。
- 4) 化学物質に対する最も感受性の高い発生時期を知る必要がある。
- 5) 化学物質の作用機構、作用部位を明らかにするための基礎研究が必要である。
- 6) 発生・生殖に影響を与える物質をスクリーニングするための *in vivo*、*in vitro* の系が必要である。
- 7) 政府及び民間の研究者の長期にわたる国際的な研究が必要である。

1996年3月にはコルボーン等の *Our Stolen Future*⁴⁾ が出版され、ゴア副大統領が序文を書いたこともあって内分泌かく乱物質に対する関心が高まってきた。さらに、研究者らによる総説が *Comments on Toxicology* の1冊を使ってまとめられた⁵⁾。

以上の流れを受けて、内分泌かく乱物質の研究はオゾンホール・地球温暖化・生物の多様性と同等に世界的な研究が必要であるとの意識が高まり、1997年1月にワシントン D. C. で、ホワイトハウス、スミソニアン財団、EPA、UNEP 等の後援により「内分泌かく乱物質のワークショップ」が開催された。各国の研究の現状を紹介すると共に政府の取り組みに関しても紹介し、それを基に

研究の方向付け及び世界的なコンセンサスをまとめることを目的にした会議であった。とりまとめとしては、

- (1) 国際共同研究の必要性
- (2) 国際的なデータベースの作成
- (3) 濃度-反応関係の確立
- (4) 受容体に基づいたアッセイの改良 (機能毒性学、発生中の反応、甲状腺ホルモンの作用機構、形態形成因子)
- (5) スクリーニングの評価の必要性

である。

日本では、環境庁は化学物質の河川水や魚介類でのモニターを行っており、「化学物質と環境」として出版している。建設省は定期的に河川環境での生物調査を行っている。しかし、内分泌かく乱物質の観点からの研究はされておらず、研究者も極めて少ない。また、精子数に関しても日本には過去の十分なデータがない。

1997年3月より環境庁の「外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する研究班」が発足し、研究方針等を6月に中間答申としてまとめた⁶⁾。通産省は「内分泌 (エンドクリン) 系に作用する化学物質に関する調査研究班」(日本化学工業協会に委託)⁷⁾、厚生省は「化学物質のクライシスマネジメントに関する研究班」が報告書を作成している。現在では、労働省、建設省、水産庁、農水省、科学技術省、運輸省も内分泌かく乱物質問題に対応している。環境庁と建設省は河川水中の内分泌かく乱物質の測定と雄のコイを用いた調査を行っている。環境庁では、カエル、鳥類、哺乳動物の体内の内分泌かく乱物質の調査も行っている。厚生省は人体の内分泌かく乱物質の測定、水道水関連の調査、包装材料からの食物中への移行などの調査を行っている。建設省は内分泌かく乱物質の下水処理での動態に関連した調査も行っている。

BBC 放送のディレクターのまとめに「メス化する自然」⁸⁾ は内分泌かく乱物質の研究現場を興味深く紹介している。

Ⅲ. ホルモンと内分泌かく乱物質

「内分泌かく乱物質は、生体の恒常性、生殖、

発生あるいは行動に関する種々の生体内ホルモンの合成、貯蔵、分泌、体内輸送、受容体結合、ホルモン作用あるいはクリアランス等の諸過程を阻害する外因性の物質」という定義がある。

ホルモンは体の恒常性を維持するために内分泌器官から極微量分泌され、主に血中を運ばれて標的器官・細胞に作用を及ぼす。現在ではホルモンの定義が変わり、体の中でつくられて標的器官・細胞に作用する化学伝達物質を総称してホルモンという用語を用いている。ホルモンを分泌する器官としては、松果体、脳、視床下部、下垂体、甲状腺、消化管、膵臓、副腎、腎臓などの他に精巣や卵巣等の生殖腺がある。ホルモンにはアミノ酸が連なったペプチドホルモンと、コレステロールからできるステロイドホルモンがある。内分泌かく乱物質は環境中に放出された化学物質で体内に入るとあたかもホルモンの様に作用する化学物質のことである。内分泌かく乱物質のほとんどは女性ホルモン（エストロゲン）様の作用を示す。視床下部で生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）がつくられ、正中隆起部に分泌されて下垂体門脈系を通過して下垂体前葉へと運ばれる。GnRHの刺激により下垂体前葉からは黄体形成ホルモン（LH）および卵胞刺激ホルモン（FSH）が分泌される。FSHは卵胞の成熟を刺激し、LHは卵胞細胞からのエストロゲン分泌を刺激する。エストロゲンは血中では結合タンパクに結合して運ばれる。エストロゲン量が多いと、視床下部・下垂体へ作用し、刺激ホルモンの分泌が抑制される、負のフィードバックがかかる。排卵の時にのみ、エストロゲンはさらに視床下部・下垂体を刺激し（正のフィードバック）LHの大量分泌を促し、これによって排卵がおこる。

エストロゲンは標的細胞に作用する場合は核内のエストロゲン受容体（レセプター）タンパクに結合し、2量体になって遺伝子のエストロゲン反応エレメントに結合して遺伝子発現を誘導する。エストロゲンによって発現誘導される遺伝子としては、ラクトフェリン、プロゲステロンレセプターなどがある。特に、魚類、両生類、爬虫類、鳥類では卵黄タンパク（ビテロゲニン）の発現が誘導

される。ホルモン（リガンド）とホルモンレセプターは鍵と鍵穴と言われてきたように、1対1の対応があると考えられてきた。しかし、エストロゲンレセプターに関しては50種類以上もの合い鍵（化学物質）があり、弱いながらエストロゲン活性を示すことがわかっている。

IV. 実験動物での研究例

内分泌かく乱物質とされている多くの化学物質⁶⁾のほとんどはエストロゲンレセプターに結合してエストロゲン様の作用を示す。著者らはエストロゲンの作用を新生仔期および胎仔期のマウスを用いて研究してきた^{9,10)}。周生期（胎仔期から新生仔期）にエストロゲンを投与された雌マウスでは一つの卵胞に多数の卵が囲まれる多卵性卵胞が高率に発現する。多卵性卵胞からの卵は受精しにくく、視床下部・下垂体系の異常により無排卵にもなる。子宮、輸卵管、膣ではガン化することもある。特に、膣はエストロゲン依存的に細胞増殖を示すが、周生期のエストロゲン投与によりエストロゲン非依存的に細胞増殖を続け癌化に至ることもある。雄では精子形成の低下あるいは停止、前立腺の過剰増殖、癌化等も報告されている。さらに、骨形成の異常、免疫系の低下、生殖行動の異常等もおこる。これらの異常は生後数日以内にエストロゲンを投与したときのみ誘導され、不可逆的に続くことから、エストロゲンに対する異常反応には臨界期がある。これに対して、臨界期をはずれたエストロゲン投与に対してはホルモン存在下でのみ反応し、ホルモンがなくなればもとに戻るという可逆的な反応をする。

卵巣を摘出し体内のエストロゲンを無くした雌マウスにエストロゲンおよび内分泌かく乱物質を投与し、子宮重量の増加を指標として調べた結果、ビスフェノール A、ノニルフェノール、メトキシクロールはエストロゲンの1万-10万倍の投与で子宮重量が増加したことから、エストロゲン活性は弱いながらも確実に存在することが明らかである。さらに、ラクトフェリン遺伝子の発現を指標にしても、エストロゲン作用を確認している。

内分泌かく乱物質はエストロゲン様に作用する

ものが多いこと、化学物質は水系に入る可能性が最も高いことから、カエルおよび魚を用いて卵からの発生に対してのエストロゲンの影響を調べている。この実験で得られた結果をもとに、内分泌かく乱物質の作用を推定することも可能であろうし、どの器官あるいはどの発生ステージがエストロゲンおよびエストロゲン様化学物質に対して敏感かを知ることが可能となる。

アフリカツメガエルを卵からエストロゲン入り (10^{-6} M) の水で飼育すると生存率の低下、頭部の形成異常、脊椎の彎曲等の形態異常が誘起される。エストロゲン処理は24時間以内でも有効であること、エストロゲンレセプターは卵にも存在していることから、エストロゲンの作用はレセプターを介しており、臨界期も存在する事を明らかにした¹¹⁾。

海産メダカ的一种マミチヨグの卵をエストロゲンの入った水で発生させた結果、正常な精巣を持つ個体はなく全て卵巣あるいは未発達の生殖腺を持つ個体になった。骨形成に異常を示す個体も多く、特に頭部の骨形成が不完全であった¹²⁾。さらに、エストロゲンを雌に投与すると卵にエストロゲンが入り、発生した魚の骨形成にも異常が認められた。界面活性剤として知られているノニルフェノールやポリカーボネートの原材料であるビスフェノール-Aを雄に投与すると、ビテロゲニン遺伝子の発現が雄の肝臓で誘導された。ビテロゲニンはエストロゲン活性を見るための指標となるため、有菌(熊本県立大)、原(北大)および

熊本抗体研究所と共同で、コイ、マミチヨグ等の各種魚類のビテロゲニン抗体を作成した。この抗体を用いることにより、飼育水中のエストロゲン様物質の存在の有無を確認する事が可能となる。

以上の実験からは、大量のエストロゲンの存在下では影響があらわれることが明かであるが、実際の環境中に存在するホルモン様物質の濃度を反映してはいない。

V. 生態系への影響の代表例

内分泌かく乱化学物質によると考えられる野生動物への影響について表2にまとめた。

1. 無脊椎動物

海産巻貝の雌で雄の生殖器(ペニスおよび輸精管)を持つものが、イギリス、アメリカ、日本(イボニシ)でも見つかっている。この現象の原因は船底防汚塗料として用いられていたトリブチルスズ(TBT)化合物である。TBTは極めて毒性が強く致死量よりも低いところで雌に対して雄の性徴(インボセックス)を不可逆的に誘導する¹³⁻¹⁶⁾。日本では39種の巻貝でインボセックスが見出されている。国立環境研究所の堀口により、アワビの雌雄の生殖周期のずれや雌で精子を形成しているものがあることが報道されている。この原因としても有機スズ化合物が疑われている。

2. 魚類

イギリスでは、1980年代に雌雄同体のコイ科の魚(ローチ)が見つかり、河川水の分析から天然

表2 野生動物に観察された影響とその原因と考えられる環境ホルモン

生 物	化 学 物 質	影 響
サケ	PCBs, ダイオキシン, 有機塩素系殺虫剤	甲状腺機能異常
セグロカモメ	PCBs, ダイオキシン, 有機塩素系殺虫剤	甲状腺機能異常
アメリカオオセグロカモメ	DDT, DDE	雌性化
海産巻貝	トリブチルスズ	雄性化
カダヤシ	製紙工場排水	雄性化
ニジマス	生活排水, エストラジオール	雌性化
ワニ	有機塩素系殺虫剤	脱雄性化
フロリダビューマ	水銀, DDE, PCBs	脱雄性化
サッカー	製紙工場排水	脱雌性化, 生殖の減少
ニベ科の魚	鉛, カドミウム, ベンゾピレン, PCBs	脱雌性化
ハクトウワシ	DDT, DDE	孵卵率の減少
メリケンアジサシ	ダイオキシン, PCDD, PCBs	孵卵率の減少
スッポン	PCBs, ダイオキシン, フラン類	孵卵率の減少
ヒツジ	植物性エストロゲン	生殖の減少

のエストロゲンや経口避妊薬として用いられたエチニールエストラジオールが見出された。これらのホルモンが下水施設を通して流れたことにより雌雄同体の魚の出現に参与した可能性もある。イギリスの環境庁では雄のニジマスを下処理施設の下流に置いてバイオマーカーとして血清中のビテロゲニンを定期的に調べた。ビテロゲニンは通常雌でエストロゲンに反応して肝臓でつくられ、血液中を通過して卵巣に運ばれ、卵巣でリポビテリンとフォスビチンの2つの卵黄たんぱくに変換される。雄でのビテロゲニン発現はエストロゲン様物質の影響と判断できることから、アメリカや日本でも魚類の環境調査に用いられている。このためには、調べたい魚ごとのビテロゲニンの抗体を作成することが必要である。勿論、ビテロゲニンは動物種を越えて保存された部分が存在するとの観点から、ユニバーサル抗体の作成が試みられているが成功には至っていない。1986年から4年間の調査の結果、下水処理場からの放出水にはビテロゲニンアッセイからエストロゲン様の化学物質が存在することが結論された。エアール川では雄の魚のビテロゲニン濃度が汚染されていない場所の産卵雌と同じであり精巣も小さかった。エアール川の近くの羊毛洗浄工場では、界面活性剤として用いられているノニルフェノールエトキシレートの分解産物であるノニルフェノールがエストロゲン作用の原因物質と推定されている。成熟雄のニジマスを用いた実験から、ノニルフェノールはビテロゲニン形成と精子形成の抑制を引き起こす事が示されている^{17,18)}。さらに、イギリスでは湾のカレイの雄を調べてビテロゲニンの産生と精巣への卵の発現を見出しており、エストロゲン様物質の汚染を懸念している¹⁹⁾。魚の雄性化の例として、フロリダのパルプ製紙工場の下流で、カダヤシの雌が雄性生殖器官を発達させた例がある。工場排水にはシトステロールがあり、微生物でC-19ステロイドに転換されて観察されたようなアンドロゲン様作用が出たのであろう²⁰⁾。

我々はコイのビテロゲニンに対するモノクローナル抗体を作成し、コイのビテロゲニンをELISA法により簡便に測定する系を作成している。多摩

川でオスのコイの約3割で精巣が小さく精子形成の悪い生殖異常がみられ、また5割でビテロゲニン発現が見出されている²¹⁾。多摩川ではノニルフェノールが検出されているが、イギリスの比べると極めて少なく、ノニルフェノールのみがコイのビテロゲニン産生を誘導しているとは言えない。しかし、環境庁の平成8年度の調査では調べた約6割の河川でビスフェノールAが検出されており、フタル酸も検出されていることから、内分泌かく乱物質の生態影響の調査が必要である。内分泌かく乱物質は相加的に作用することもわかっているため、今後は複数の化学物質の複合作用の研究も重要である。建設省と環境庁は雄のコイを捕獲して、ビテロゲニンを指標とした調査を開始している。

3. 爬虫類

環境破壊と考えられる例として最もよく知られているのはフロリダのアポプカ湖である。この湖は1980年に近くの化学工場からの農薬の流出によって汚染された。ジコホール、DDT、DDEの混合物の流出であり、ジコホールが主な物質である。この流出の結果として湖の雄のワニの大半に生殖器が正常の1/4-1/2といった脱雄性化が見られた。さらに血中のテストステロン(T)およびエストロゲン(E)の両方が極めて低い特徴があり、比較的エストロゲンの比が高い。このホルモンレベルの減少、T/E比の変化が孵化直後および幼体で明らかである^{22,23)}。また、卵の中の化学物質の量が多いことから、母親の体内に蓄積されていたものが卵へと渡されて異常を引き起こしたものである。

4. 鳥類

鳥類の孵化率の減少も内分泌かく乱物質に影響されていることが疑われている。五大湖ではDDTおよびDDEは壊れにくく生物濃縮するので今だに問題である。魚を食べるメリケンアジサシの生殖率が有機塩素系物質汚染のあるミシガン湖のグリーンベイでは極端に低下している。対照となるウイスコンシンのポイガン湖からの卵と比べて、グリーンベイの卵にはTCDD、PCDD、PCBsが極めて多く含まれていた。グリーンベイでの孵化

成功率は75%でポイガン湖のものより低かった。1983年の巣作りの季節に採卵した卵を人工的に孵卵した結果、グリーンベイの卵はポイガン湖のものとの孵化率の半分であった²⁴⁾。ワシカモメの幾つかのコロニーでの卵殻は各々8-10%薄くなっていた。カモメの種ではこれだけの卵殻の減少は著しく、1960年代のミシガン湖での高濃度の DDT によって引き起こされた減少に匹敵する。このカモメは50-100%右側に輸卵管があり、エストロゲン物質に曝露された証拠である²⁵⁾。

VI. 性の決定機構の違い

内分泌かく乱物質のほとんどは女性ホルモン受容体に結合することによって弱いエストロゲン様作用を示す。抗アンドロゲン作用をする物質も見出されている。哺乳類は受精の瞬間に性染色体によって性が決定されるが、魚類や両生類では性ホルモンによって、爬虫類では孵卵の温度と性ホルモンによって性の決定が行われるといった多様な性の決定様式があり、内分泌かく乱物質の影響で性が変わることもあり得る。従って、多くの動物種を用いた研究が必要である。

哺乳動物の性決定機構の詳細に関して簡単に説明すると、性染色体の組み合わせが XY であれば生殖隆起は精巣に、XX であれば卵巣に分化することから、Y染色体から精巣決定遺伝子として Sry 遺伝子が単離された。ロベルブリッジらは1991年に Sry 遺伝子をマウスの XX 卵に導入し、核型が XX でありながら精巣の形成が認められるトランスジェニックマウスを作成した。マウスでは、Sry は胎生10.5-12日に発現し、10.5-11.5日に生殖隆起が形成されるが、雌雄の差は認められない。胎生12.5日には精巣ができ、Ad4BP(SF-1)は雄でのみ発現する。生殖腺附属器官の原基としては雌雄ともにミュラー管とヴォルフ管ができるが、雄では精巣のセルトリ細胞からのミュラー管抑制ホルモンにより、ミュラー管が退化する。ライディッシュ細胞からは男性ホルモンが分泌され、ヴォルフ管を精囊、副精巣などの雄性生殖器へと分化させる。また、尿生殖洞からは前立腺が分化する。雌では、卵巣からはホルモン分泌がないた

め、ヴォルフ管は退化し、ミュラー管からは雌性生殖器官が分化する。

鳥類は哺乳類と異なり、雌が異型性で ZW、雄は ZZ 型の性染色体をもつ。両生類は、ニホンアカガエルやヒョウガエルのように XX/XY 型のものもあるが、トラフサンショウウオやアフリカツメガエルはニワトリと同様に ZW/ZZ 型であるが、ニワトリでは Z と W 染色体の機能的な分化が進んでおり、W は Z 染色体の代わりはできない。すなわち、WW 型や WO 型の性染色体を持つ個体は生存できない。両生類は性染色体間の機能的分化は進んでおらず、WをZで置き換えても支障がない。アフリカツメガエルではエストラジオールを添加して卵から発生させると全て雌に分化する。

魚類の生殖は全て有性生殖である。始原生殖細胞は生殖腺のできる場所から離れた所につくられ、分裂・増殖しながら生殖腺原基に移動する。生殖腺原基の卵巣、精巣への分化にともない、始原生殖細胞は卵巣では卵原細胞に、精巣では精原細胞になる。硬骨魚は雌雄異体を示す種がほとんどであるので、受精の瞬間に性決定がおこる。しかし、魚類では性染色体が知られている種はわずかしかない。多くの種では形態的な性の分化が始まる前に性ホルモン処理を行うと比較的容易に性転換が誘起される。ベラなどはハーレムをつくっている雄がいなくなると、成体でも雌が自然条件下で雄に性転換する。ヒラメでは同じ親からの雌性発生二倍体を、性分化が始まる頃から20度で飼育した群は全て雌であったが、25度では雄が40%雌が60%となったことから、高水温では遺伝的な雌の性分化を阻止し雄への性分化を促進している。生殖腺の性分化の起こる時期も魚種によって異なる。メダカでは孵化時に生殖腺は分化しており、テイラピアでは孵化後23-26日に卵巣への分化が起こるが、ゼブラフィッシュでは稚魚の生殖腺は卵巣として分化し、孵化後23-25日に約半数の稚魚の卵巣で卵母細胞の退化が始まり、精子形成がおこる。

爬虫類では、多くの種で未分化生殖腺の分化が孵卵温度によって左右される。温度によって性比

が左右されるという現象は西アフリカに棲息するトカゲで1966年に発見された。続いて、ヨーロッパの淡水ガメおよび地中海のウミガメで1971-72年に見つかり、1976年にはアメリカで新大陸ガメでもこの現象が見つかった。ワニ類の全種、大部分のカメ類、トカゲ類でも観察されているが、ヘビ類では観察されていない。温度依存性性決定機構は“全か無か”の法則に従い、多くのトカゲ、ワニでは低温では雌になり、高温では雄になる。ほとんどのカメ類ではこの逆で低温で雄に、高温で雌になる。例えば、アリゲーターでは33度では全て雄に、30度では全て雌になる。アカミミガメでは26度で全て雄に、32度で全て雌になり、29.2度では雄・雌は1対1になる。

Ⅶ. 内分泌かく乱化学物質の検出系

ヒトのホルモン受容体遺伝子を導入した培養細胞や酵母を用いて、簡便にホルモン作用を検出する系が確立されている。これに関しては、西原の総説を参照されたい²⁶⁾。

ラットを用いた、エストロゲンやアンドロゲンの作用の検出系の改良も行われている。生殖腺を摘出して性ホルモンの無い状態にした動物を用いるのか、性ホルモンが分泌される前の未成熟動物を用いるのかに関する議論、経口投与か皮下投与に関する議論がある。何れにしる、感度の高いものを用いるべきであろう。あまり議論されないが、動物実験では、ホルモンの感受性に対して系統差が大きいことを考慮すべきである。エストロゲンによる多卵性卵胞の誘導に関しても、マウスによる系統差があり、C57BL系はICR(CD-1)系に比較して、エストロゲンに対する反応性が10倍以上高い⁹⁾。ラットではビスフェノールAのエストロゲン作用が見られない系統が知られている²⁷⁾。

Ⅷ. 新たな観点からの研究が必要

内分泌かく乱物質はすべて猛毒であり、食物連鎖により生物濃縮し、超微量で大変な作用を及ぼし、成人にも悪影響があるとの誤解もある。化学物質によってはこのどれかに相当するものもあるが、内分泌かく乱物質にリストされたものが全て

この3つを満足するものではなく、どの物質を考えるのかにより取るべき対応が異なる。

内分泌かく乱物質はエストロゲン等と同じように作用するとすれば、成体に対してはおそらく可逆的に作用し、原因物質を除去あるいは少なくすることにより問題の解決がはかれると思われる。しかしながら、胎仔期から新生仔期では不可逆的な作用を及ぼす可能性がある。また、水系に棲息するカエルや魚に関しては、卵の発生ステージによってはホルモンおよびホルモン様化学物質に対して敏感な時期があり、発生異常、性分化の異常が引き起こされる可能性もある。生殖に異常をきたせば種の絶滅にもつながる恐れがある。発生中の胚および胎仔に対する内分泌かく乱化学物質の影響の研究および検出系の確立が急務であると同時に、胎仔期から新生仔期に内分泌かく乱化学物質に曝露された個体の免疫系、行動を含めた長期的な研究も必要であろう。

環境庁、厚生省、通産省が研究班を平成8年度に組織し、現在では、建設省、農林水産省、労働省、運輸省、文部省、科学技術庁などが本問題に対して対応している。主としてエストロゲン様作用を正確に、簡便に検出する系の確立、日本人の精子数の調査等が行われている。さらに、環境庁や建設省の河川調査の結果、ビスフェノールAやノニルフェノール、フタル酸、天然のエストロゲンなどは、微量ながら多くの河川で検出されている。野生生物での生殖異常の調査、化学物質の体内での代謝、化学物質が複合したときの影響、発生中の卵、胚、胎盤を通した胎児(胎仔)への影響および、世代を越えた影響を調べるのが重要である。

人間が作り出した化学物質は1,000万種類以上もあり、その中で現代生活に関わりの深い物として75,000種類の化学物質があると言われている。これらの化学物質のホルモン作用を調べることも重要である。OECDは、現在のラットを用いた急性毒性、発ガン性試験とは別に、ホルモン様作用(エストロゲン様作用・アンドロゲン様作用)を検出する試験法を作っている。また、環境中の動物に対する影響を考慮して、魚類、両生類およ

び鳥類に対する影響を検出する試験法を作成し、世代を越えて影響が出る物質は市場に出さないようにしようと考えている。

科学的な根拠が弱いことから、一部の影響を除いては無視できるとも考えられるが、この際、化学物質に対する取り組みを総点検する良い機会とも言える。PRTR（環境汚染物質の排出・移動登録制度）などを用いて、ヒトの健康影響の観点からだけではなく、野生動物を含めた地球環境を考慮した対応が必要であろう。

文献

- 1) Carson R: Silent Spring. 1962, 青樹訳: 「沈黙の春」, 新潮社, 1964
- 2) Colborn T, Clement C (eds): Chemically-Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection, Princeton Sci Pub, pp.403, 1992
- 3) Estrogens in the Environment, Environ Health Perspect 103 Suppl 7:1-178, 1995
- 4) Colborn T, Dumanoski D, et al: Our Stolen Future. Dutton, New York, pp.306, 1996, 長尾力訳, 「奪われし未来」 翔泳社, 1997
- 5) Soto A, Sonnenschein C, et al (eds): Special Issue: Endocrine Disruption and Reproductive Effects in Wildlife and Humans. Comments Toxicol 5: 315-506, 1996
- 6) 環境庁リスク対策検討会監修「環境ホルモン」, 環境新聞社, pp.167, 1997
- 7) 内分泌(エンドクリン)系に作用する化学物質に関する調査研究, pp.423, 1997
- 8) Cadbury D: The Feminization of Nature, Our Future at Risk, Hamish Hamilton Ltd, London, pp.303, 1997, 古草秀子訳「メス化する自然」集英社, 1998
- 9) Iguchi T: Cellular effects of early exposure to sex hormones and antihormones. Int Rev Cytol 139:1-57, 1992
- 10) Iguchi T, Bern HA: Transgenerational effects: intrauterine exposure to diethylstilbestrol in humans and the neonatal mouse model. Comments Toxicol 5: 367-380, 1996
- 11) Nishimura N, Fukazawa Y, et al: Effects of estrogenic hormones on early development of *Xenopus laevis*. J Exp Zool 278: 221-233, 1997
- 12) Urushitani H, Fukazawa Y: Effect of estrogen on development and reproduction in cyprinodont fish, mummichog (*Fundulus heteroclitus*). Zool Sci 13, Suppl: 8, 1996
- 13) Gibbs PE Bryan GW: Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. J Mar Biol Assoc UK 66: 767-777, 1986
- 14) Horiguchi T, Shiraishi H, et al: Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. J Mar Biol Assoc UK 74: 651-669, 1994
- 15) Horiguchi T, Shiraishi H, et al: Imposex in Japanese gastropods (neogastropoda and mesogastropoda): Effects of tributyltin and triphenyltin from antifouling paints. Mar Pollu Bull 31: 4-12, 1995
- 16) Horiguchi T, Shiraishi H, et al: Effects of triphenyltin chloride and five other organotin compounds in the development of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*. Environ Pollu 95: 85-91, 1997
- 17) Jobling S, Sheahan D, et al: Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. Environ Toxicol Chem 15: 194-202, 1996
- 18) Jobling S, Sumpter JP: Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: an in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. Aquatic Toxicol 27: 361-372, 1993
- 19) Matthiessen P, Allen YT, et al: Oestrogenic endocrine disruption in flounder (*Platichthys flesus L.*) from United Kingdom estuarine

- and marine waters. CEFAS Science Series Technical Report No. 107, 1998
- 20) Davis WP, Bartone SA: Effects of kraft mill effluent on the sexuality of fishes: an environmental early warning? In: Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection, Colborn T, Clement T, eds. Princeton Scientific Publishing Co. Inc, Princeton, NJ, 1992, pp 113-127
 - 21) 中村将, 井口泰泉: 多摩川にみる魚類の異変科学68: 515-517, 1998
 - 22) Guillette LJ Jr, Gross TS, et al: Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. Environ Health Perspect 102: 680-688, 1994
 - 23) Guillette LJ Jr, Pickford DB, et al: Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. Gen Comp Endocrinol 101: 32-34, 1996
 - 24) Kubiak TJ, Harris HJ, et al: Microcontaminants and reproductive impairment of the Forster's tern on Green Bay, Lake Michigan-1983. Arch Environ Contam Toxicol 18: 706-727, 1989
 - 25) Fry DM, Toone CK, et al: Sex ratio skew and breeding patterns of gulls: demographic and toxicological considerations. Stud Avian Biol 10: 26-43, 1987
 - 26) 西原 力: 内分泌攪乱化学物質のスクリーニング試験. J. Antibact. Antifung. Agents, 27: 393-402, 1999.
 - 27) Steinmetz R, Brown NG, et al: The environmental estrogen bisphenol A stimulates prolactin release *in vitro* and *in vivo*. Endocrinology 138: 1780-1786, 1997