

博士論文要旨

氏名	松岡 須美子
学位の種類	博士（人間科学）
学位記番号	甲第6号
学位授与年月日	平成17年3月16日
学位授与の条件	神戸女学院大学学位規程第5条1項の規程による
学位論文題目	数種の <i>in vitro</i> アッセイを用いた我国沿岸海水および河川水中の エストロゲン様物質の測定

論文の要旨

内分泌攪乱物質の1種であるエストロゲン様物質は未成熟魚やオスの魚において卵黄蛋白の前駆体であるビテロジェニン合成を促進させることが明らかとなっており、近年の研究から下水処理水中に存在する天然のエストロゲンおよび合成エストロゲンがビテロジェニン合成に大きく関わっていることがわかっている。環境中の内分泌攪乱物質を迅速に検出するには、*in vitro* アッセイが適している。エストロゲン様物質を検出することを目的とした *in vitro* アッセイは数種あるが、本研究では組み換え酵母を用いる YES アッセイ、ヒト乳がん由来細胞を用いる E-Screen アッセイ、ヒト子宮内膜がん由来細胞を用いる Ishikawa cell 3 H-12-ALP アッセイおよび ELISA 法（酵素免疫測定法）を用いて北海道から九州までの我国沿岸の海水、河川水および下水処理水中に潜在的に分布するエストロゲン様物質の濃度を測定し、 17β -エストラジオール（E2）濃度に換算し E2 当量として表わした。同時に GC/MS や LC/MS を用いた化学分析によりエストロゲン様物質の定量を行い、*in vitro* アッセイにより測定したエストロゲン活性におけるそれぞれの化合物の寄与率を再構成実験から求めた。水試料中のエストロゲン様物質は、Sep-pakC18カートリッジを用いて固相抽出した。

各 *in vitro* アッセイに試料を供した結果を比較すると、長野県千曲川下水処理場の放流口付近において非常に高い濃度のエストロゲン様物質が認められ、次に東京湾の西部沿岸や北海道小樽の表層海水において高い濃度が見られた。しかし、大阪湾、広島湾、有明海においてはエストロゲン様物質の濃度は低かった。各 *in vitro* アッセイの結果は類似した傾向を示したが、全体的に E2 当量は E-Screen において最も高い値が得られた。化学分析の結果から、下水処理水中には天然のエストロゲンであるエストロン（E1）と E2 が存在し、特に E1 が高かった。他の化学物質ではオクチルフェノール、ノニルフェノール、ビスフェノール A、エチニルエストラジオールが検出されたが、検出頻度は天然のエストロゲンと比較して低かった。また、フタル酸エステル類は全く検出されなかった。再構成実験の結果から、化学分析により定量した化学物質は、程

度の差はあるものの環境水中のエストロゲン様物質に寄与しており、特に天然のエストロゲンである E1 の寄与が大きいことがわかった。

上に述べた結果から、水環境試料中に存在するエストロゲン様物質に関して数種の *in vitro* アッセイによる応答性や感受性の違いを一定程度、明らかにすることができた。濃縮試料中に細胞の増殖を阻害する物質が存在すると細胞、酵母ともに E2 当量の算出を妨害するため、結果の解析には注意を要する。したがって、*in vitro* アッセイにより環境水中のエストロゲン濃度を正確に測定するためにはまだ検討すべき課題がいくつかあり、アッセイの方法に改良の余地があると考えられる。化学分析は目的の化学物質のみを検出し、未知の、あるいは潜在的なエストロゲン様物質を検出するには至らないこと、多量のサンプルを測定するにはコストがかかることなどが問題点としてあげられる。よって、数種の *in vitro* アッセイと化学分析を併用し、さまざまな角度から結果を考察することが、環境中におけるエストロゲン様物質の有無やその生物影響を、迅速かつ正確に把握する際に有効であると考えられる。