

固相検出法による内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測法の開発

— 内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測法における応用化に係る魚血中ビデロジェニン採取及び河川中の内分泌攪乱物質に関する研究 —

研究期間（平成 14 年度）

黒川陽一*, 今任稔彦**, 浅野泰一**, 田部井久男**, 正留 隆***

固相検出法による内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測法の開発研究の一環として河川水中の内分泌攪乱物質の測定及び魚血中ビデロジェニンへの影響度を調査するための実際的適用に関する研究を行った。

河川として御笠川を選定し、河川水中の内分泌攪乱物質（アルキルフェノール類）の測定を行い、また河川水に暴露させた魚の血液を採取した。アルキルフェノール類の濃度範囲は、*p-tert*-ブチルフェノールについては、0.0007~0.0044 $\mu\text{g/L}$ 、*p-tert*-オクチルフェノールについては、0.0011~0.010 $\mu\text{g/L}$ 、ノニルフェノールでは、0.014~0.22 $\mu\text{g/L}$ 、ビスフェノール A では 0.0027~0.015 $\mu\text{g/L}$ であった。

本実験手法は、ビデロジェニン発現の魚種としてコメットを用い 1 ヶ月間籠の中に入れ河川水に暴露する点に特徴があった。雌雄の判別が解剖によらず簡易に行える点及び一定の条件で生育された養殖魚を用い比較する手法は、もともと河川に生息する魚を捕獲する方法よりもはるかに容易であり、ビデロジェニン発現を検出する有用な手法であった。

[キーワード：内分泌攪乱物質，ビデロジェニン，ノニルフェノール]

1 はじめに

内分泌攪乱物質は、広く環境を汚染することにより、そこに生息する種々の生物に環境ホルモン作用を引き起こしている。人に対しても世代を越える深刻な影響を与える恐れから環境行政の立場からの実態把握調査が進められている。しかし内分泌攪乱汚染物質の種類は多く、それぞれの測定法も異なりかつ長時間の煩雑な分析操作を要することより、既存の分析法では早急な環境汚染対策を講じる際の障壁となる状況も懸念されている。そのためより迅速かつ簡易に全体的に内分泌攪乱物質汚染を把握する手法が望まれている。有明高専及び九州大学大学院工学部によって開発された内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測器は、その期待を担うものである。そこで本装置の実用性を検証するための応用化研究として福岡県内の河川水中で飼育された魚の血中のビデロジェニンを測定し、従来法と比較しての優位性の検討を行い、

河川水中の内分泌攪乱汚染物質との関連性について調査することとなった。この実用化実験を通して河川水の汚濁に伴う魚血中のビデロジェニン発現をより簡単に、効率的に検出する実際的手法の検討を行った。

2 研究方法

2.1 魚血液中のビデロジェニンの分析

1) 魚血清の採取

鯉の養殖場からひごいの一様であるコメット種を雄に限定して入手した。雌雄の判別は、下腹部を強く押さえることで精子放出を確認する方法によった。これらのコメットを御笠川の 3 調査地点（A：田中小橋下 5 匹，B：保健環境研究所裏 3 匹，C：那珂 4 匹，これらの地点は採取地点図 1 に示す。）にそれぞれ網籠（32cm×65cm の円筒形）に入れ約 1 月間（平成 14 年 12 月 10 日から平成 15 年 1 月 7 日まで）放置した。なお最初にコントロールとしての魚血清を 3 検体採取した。採取後の血液は 2500

* 福岡県保健環境研究所，福岡県太宰府市

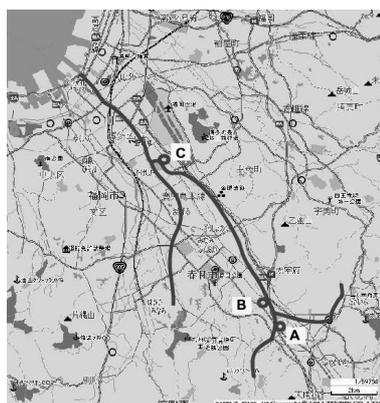
** 九州大学工学部，福岡市東区

*** 有明工業専門高等学校

回転で遠沈し、血清について冷凍保存した。

2) 魚血液中のビデロジェニンの測定

有明高等専門学校及び九州大学大学院工学部によって開発された内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測機器を用いた分析及び内分泌攪乱物質との関係性の解析は九州大学が行う予定である。



3 結果及び考察

御笠川における内分泌攪乱物質（アルキルフェノール類）の分析結果を表 1 に示した。濃度範囲は、*p-tert*-ブチルフェノールについては、0.0007～0.0044 $\mu\text{g/L}$ 、*p-tert*-オクチルフェノールについては、0.0011～0.010 $\mu\text{g/L}$ 、ノニルフェノールでは、0.014～0.22 $\mu\text{g/L}$ 、ビスフェノール A では 0.0027～0.015 $\mu\text{g/L}$ であり、文献値²⁾と比較すると比較的汚染の少ない河川の値に近いものであった。アルキルフェノール類の濃度は 3 地点間で大きな差は見られなかったが、下流の地点 C（那珂）で全体的に少し高い傾向があった。

4 まとめ

本実験手法は、ビデロジェニン発現の魚種としてコメットを用いたが、この種類は比較的環境の変化に強く、約 1 ヶ月間籠の中に入れた調査でも全て生存していた。また雌雄の判別が解剖によらず簡易に行える点が有利であり、一定の条件で生育された養殖魚を用い、実際の河川水で長期間飼育後の結果を比較する手法は、もともと河川に生息する魚を捕獲する方法よりもはるかに容易であり、ビデロジェニン発現を検出する有用な手法であると推察された。

5 行政的意義、貢献

県は、環境省における総合的調査、研究に協力しながら県内環境の把握や情報の収集整理に努めている。本研究の成果は内分泌攪乱物質による環境汚染情報を迅速簡易に収集することを可能としている。また保健環境研究所が実施した実際的な手法が加わるにより具体的、迅速な環境対策に役立つものとなることが期待される。

文献

- 1) 正留 隆, 浅野泰一, 今任稔彦, 田部井久男, 黒川陽一: 固相検出法による内分泌攪乱物質の迅速・高感度簡易計測法の開発, 平成 12～14 年度 科学研究費補助金(基盤研究 B(1)) 研究成果報告書
- 2) 奥村為男, 西川嘉範: 水質・底質及び生物試料中の内分泌攪乱性フェノール類(14 種)の一斉分析と環境中の濃度レベル, 環境化学討論会講演要旨集, p36-37, 1999.

表1 御笠川における内分泌攪乱物質（アルキルフェノール類）の分析結果（ $\mu\text{g/L}$ ）

	4-t-Butylphenol	4-t-Octylphenol	Nonylphenol	Bisphenol-A
A (H14. 12/10)	N. D.	N. D.	0.014	0.0053
A (H15. 1/7)	0.0041	0.010	0.12	0.015
A (H15. 1/8)	0.0008	0.0020	0.042	0.010
平均	0.0025	0.0061	0.058	0.010
	4-t-Butylphenol	4-t-Octylphenol	Nonylphenol	Bisphenol-A
B (H14. 12/10)	0.0007	0.0011	0.021	0.0027
B (H15. 1/7)	0.0017	0.0041	0.088	0.0084
B (H15. 1/8)	0.0006	0.0018	0.035	0.0040
平均	0.0010	0.0023	0.048	0.0050
	4-t-Butylphenol	4-t-Octylphenol	Nonylphenol	Bisphenol-A
C (H14. 12/10)	0.0018	0.0024	0.14	0.013
C (H15. 1/7)	0.0014	0.0026	0.05	0.012
C (H15. 1/8)	0.0044	0.0082	0.22	0.015
平均	0.0025	0.0044	0.14	0.013