

底質中に存在するエストロゲン活性に寄与する化学物質に関する研究
 Identification of the Organic Compounds Contributing to Estrogenic Activity in Sediment

横浜国立大学大学院環境情報学府環境マネジメント専攻 山崎首春

1. はじめに

環境中に存在するエストロゲン活性物質としては2通りの物質の影響が考えられている。1つは微量でも強い活性を持つ天然エストロゲン物質。もう1つは活性は弱いながらも広範囲で使用されているアルキルフェノール類やビスフェノールA(BPA)などの合成物質である。しかし、環境中での物質がどの程度、総エストロゲン活性に寄与しているのか明らかにされていない。このため底質においてバイオアッセイと化学分析を用いて、エストロゲン活性に寄与する物質の推定を行なった。

2. 実験方法

2.1 対象物質 天然エストロゲン物質であるエストロン(E1)、17β-エストラジオール(E2)、エストリオール(E3)の3物質、合成物質ではアルキルフェノール類のノニルフェノール(NP)、オクチルフェノール(OP)、それにBPAの3物質、計6物質を対象物質とした。さらに、多環芳香族炭化水素(PAHs)の内、エストロゲン活性があると考えられている、ベンゾ[a]ピレン(B[a]P)、ベンゾ[a]アントラセン(B[a]A)、クリセン(Chy)¹⁾の3物質についても測定した。

2.2 調査試料 都市河川である多摩川の上流処理場放流地点から丸子橋までの6地点および工業地帯である市原港付近の6地点で採泥を行なった。(図1)

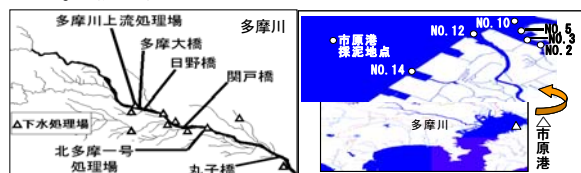


図1. 試料採取地点

2.3 試料の前処理 採取した底質を凍結乾燥した後、乾燥重量5gの底質について100%メタノール、メタノール/ジクロロメタン(50/50)、100%ジクロロメタンの順で超音波抽出を行なった。1mlまで濃縮した抽出物を、水・有機溶媒両用のGPCカラム(Asahipak GF-310HQ)を用いHPLCで分画し、バイオアッセイに供した。次いでLC/MS(/MS)を用い、

調査対象物質の測定を行なった。

2.4 エストロゲン活性の測定 人乳癌細胞由来のMVLN細胞を使用した。細胞を96穴マイクロプレートに播種した後、24時間後に試料を添加した。さらに、72時間後にルシフェリンを添加して発光量を測定した。活性はE2の最大発光量に対する相対発光量を%E2-maxで示した。

3. 結果と考察

3.1 バイオアッセイの結果 多摩川底質における各画分のエストロゲン活性の結果を図2に示す。画分F7~F9にエストロゲン活性を有する物質が存在していることが確認された。F7にはE2、E3、BPA、F8にはE1、E2、エチニールエストラジオール(EE2)、BPA、さらにF9にはE1が溶出するため、これらの物質が活性に寄与している可能性が示唆された。また、北多摩一号処理場放流地点で最も高い活性を示した。この結果は河川水における活性と同様の結果²⁾であったことから、多摩川底質においても、河川水と同様の物質による寄与が示唆された。

市原底質における各画分のエストロゲン活性の結果を図3に示す。多摩川底質と同様の結果が得られた。また、活性画分の傾向には違いが見られたため寄与物質の割合に違いがあることが示唆され

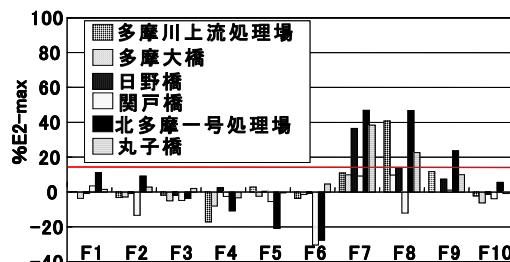


図2. 各画分におけるエストロゲン活性(多摩川)

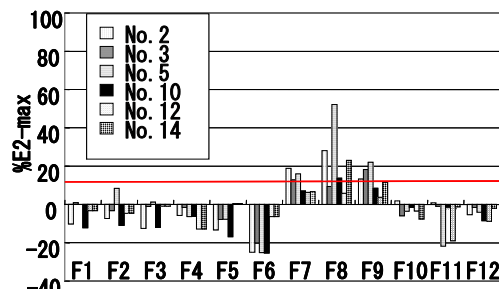


図3. 各画分におけるエストロゲン活性(市原)

た。

3.2 化学分析とバイオアッセイの結果からの考察

考察 図4に多摩川底質、図5に市原底質における各物質の溶出画分における対象物質濃度を示す。天然エストロゲン物質はどの画分においても検出限界以下(多摩川底質:<0.2 ng/g-dry sed. 市原底質:<3.1 ng/g-dry sed.)であった。検出されたNP、OP、BPAの濃度とE2に対する活性比(E2:1、E1:0.1、NP:1.25×10⁻⁵、OP:1.88×10⁻⁵、BPA:1.65×10⁻⁶)から各物質のE2等価量を求めた結果、最も高濃度で検出されたNPで多摩川底質では4.3~0.4 pg E2eq/g-dry sed.、市原底質では5.0~0.7 pg E2eq/g-dry sed.であり、市原のNo. 2の地点を除いてOP、BPAはそれよりも1桁程度低い濃度であった。これらの物質濃度はバイオアッセイにおける検出限界以下(多摩川底質:<10 pg E2eq/g-dry sed. 市原底質:<100 pg E2eq/g-dry sed.)であることから、これらの物質による活性への寄与は小さいと考えられた。天然エストロゲン物質は検出限界以下の濃度であってもバイオアッセイにおいて最大で、多摩川底質では60%E2-max前後、市原底質では最大で50%E2-max前後の活性を示す可能性がある。また、東京湾における研究で底質中のエストロゲン活性のほぼ100%がE1、E2による寄与であるという報告がなされている³⁾。以上のことは、天然エストロゲン物質の寄与を示唆する。さらに、市原底質ではこの活性値よりも高い活性を示す画分も存在することから、他の物質の寄与が示唆された。しかし、天然エストロゲン物質は化学分析で検出限界以下であったため活性への寄与を明らかにすることはできなかった。

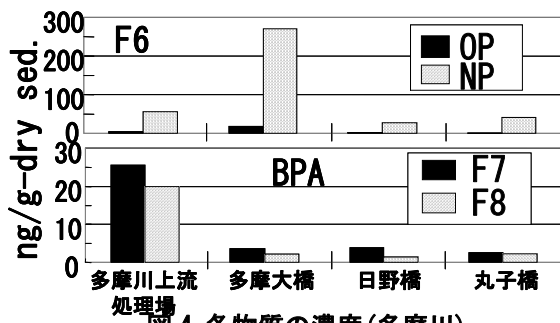


図4. 各物質の濃度(多摩川)

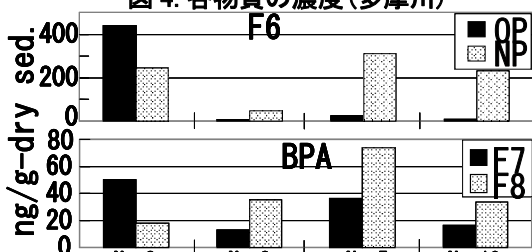


図5. 各物質の濃度(市原)

3.3 底質中の天然エストロゲン推定濃度 多摩川

川において河川水中の天然エストロゲン物質濃度²⁾から、底質中の濃度を推定した結果を図6に示す。環境水中の濃度と底質中の濃度が平衡状態にあると仮定すると、底質中の濃度は底質の有機炭素含有率に依存するため下記の式によって表現できる。

$$Cs = Cd \cdot Koc \cdot foc$$

Cs : 底質中濃度、Cd : 環境水中濃度

Koc : 有機炭素-水分分配係数、foc : 有機炭素含有率

推定された底質中濃度から算出したE2等価量の方がバイオアッセイによって求められたE2等価量よりも高かった。このため、平衡状態には達していないか、あるいは、今回推定に用いた河川水中の濃度が通常時より高いものであった可能性がある。しかし、これらの結果は底質中にも天然エストロゲン物質が存在することを示唆するものである。

3.4 PAHsにおける結果と考察 底質中に存在する

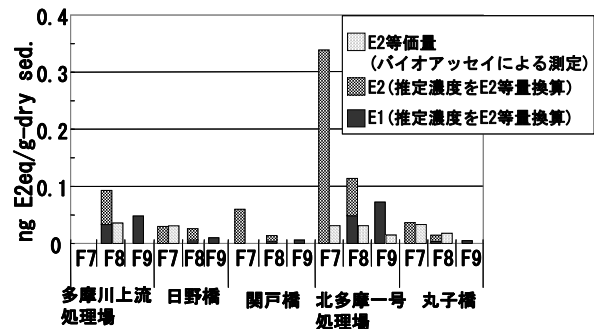


図6 底質中の推定濃度

PAHsがエストロゲン活性に寄与しているのではないかと報告がなされている⁴⁾。このため、粗抽出液からHPLCを用いて活性があるとされる3物質の濃度を測定した。報告されているE2に対する活性比¹⁾からE2等価量を求めた結果、どの地点においてもバイオアッセイにおいて20%E2-max以上の活性を示すことが示唆された。しかし、バイオアッセイにおける活性画分からは検出されなかったことから、今回のバイオアッセイで得られた活性には寄与していないことが示めされた。

参考文献

- 1) Clemons et al., Environ. Sci. Technol., 32, 1853-1860(1998)、2) 古市ら、第37回日本水環境学会年会 (2003)、3) 中田ら、第10回環境化学討論会講演要旨集 59-60(2001)、4) Kannan et al., Environ. Sci. Technol., 34, 3568-3573 (2000)。