

植物の多様な代謝能を利用した 内分泌攪乱物質除去技術の開発



研究ノート

平田 收正*

Remediation of endocrine disruptors by using metabolizing activities of higher plants

Key Words : phytoremediation, endocrine disruptor, higher plant, bisphenol A

1. はじめに

内分泌攪乱物質 (Endocrine disrupting chemicals : EDCs) いわゆる環境ホルモンは、野生生物に対して生殖機能不全等の機能障害を引き起こすことが知られる化学物質である¹⁾。ダイオキシンやPCBを始め多くの物質について内分泌攪乱作用を持つことが動物実験によって確認されているが、一般に環境ホルモンの実験動物に対する作用は種間の差が非常に大きい。ヒトに対してどの程度の濃度でどのような影響が現れるのかを予測することは難しい。しかし、少なくとも自然環境で環境ホルモンが増え続ければ、当然ヒトに対する重篤な健康被害が発生することが予想できることから、早急な対策が望まれている。環境ホルモンによる被害を防ぐためには、これらの発生源から環境中への拡散を防止する技術や、汚染された土壌や水源から効率よくこれらを除去する技術の開発が必要となる。

我々の研究室では、光合成生物の環境ストレス応答機能の解析とその環境浄化・修復技術開発への応用を目的として研究を行っており、その一つに関西電力(株)研究開発室電力技術研究所環境技術研究センターと奈良先端科学技術大学院大学との共同研究による高等植物の多様な代謝能を利用した環境ホルモン浄化技術の開発がある。そこで本稿では、この中から代表的な環境ホルモンとして知られるビス

フェノールA (BPA) の浄化技術について紹介したい。

2. 優れたビスフェノールA代謝能を有する植物のスクリーニング

BPA (図1) は、ポリカーボネートやエポキシ樹脂の原料、プラスチックの安定化剤などとして広く使用されており、身近なところではカップラーメンの容器や缶詰のコーティング剤として使われている。国内のBPAの需要は諸外国に比べて非常に大きく、2004年には年間約26万トンが使用されている。このため高レベルのBPAが廃棄物処分場の浸出水やプラスチック工場の廃水から検出され²⁾、また環境水中でも高頻度に検出されている³⁾。したがって、まずは環境中に放出されたBPAに対する有効な浄化技術の開発が望まれるところであるが、浸出水や廃水中の希釈されたBPAは、既存の物理化学的な方法での浄化が難しいことから、BPA分解能を持つ微生物を利用した浄化技術、いわゆるバイオレメディエーションの開発研究が盛んに行なわれている。BPAに対して高分解能を有する微生物に関しては既に多数の報告があり、例えば、河川水から単離さ

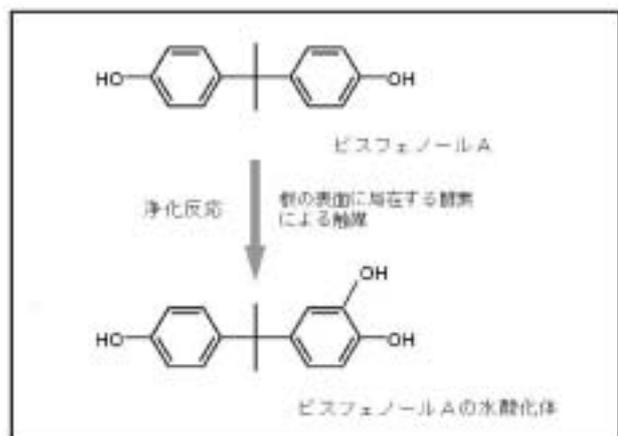


図1. ビスフェノールAとポーチュラカの根による代謝産物



* Kazumasa HIRATA
1957年6月生
大阪大学大学院 薬学研究科 博士後期課程修了
現在、大阪大学大学院 薬学研究科 応用環境生物学分野 教授 薬学博士 環境生物学
TEL : 06-6879-8236
FAX : 06-6879-8239
E-mail : hirata@phs.osaka-u.ac.jp

れた *Streptomyces* sp. は10日間で1 ppmのBPAを90%分解することができる⁴⁾。しかし、このような微生物の生育には炭素源など外部からの栄養源の供給が必要であり、また多くの微生物が混在し温度などの条件も多様な自然環境中で十分な浄化能が期待できるとは言い難く、実際の汚染現場への普遍的な適用は容易ではない。そこで近年注目されているのが、高等植物を利用した浄化技術、いわゆるファイトレメディエーションである。ファイトレメディエーションは、微生物を用いるバイオレメディエーションと比較して、

高等植物が持つ独自の代謝活性を利用した多様な物質に対する浄化が可能なこと

栽培方法を工夫すれば、土壌だけでなく工場廃水や河川、湖沼などの水源の浄化にも適用できること

一般の土壌や廃水については栄養源添加が不要であり、低栄養条件での適用が可能なこと

美観保持や周囲の環境との調和が可能であり、パブリックアクセプタンスが得やすいこと

二酸化炭素放出などの環境負荷がないこと

など、実環境での運用における利点は多い。しかし、一般的に高等植物の対象物質に対する浄化速度は、既存の物理化学的方法や微生物に比べて大きく劣り、浄化を達成するまでに長い期間を必要とする。この浄化能の低さがファイトレメディエーションの普及を阻む最大の要因となっており、実用的な技術とするためには浄化速度が少なくとも微生物に匹敵する

ような植物を用いることが必須である。

そこで筆者らは、まずBPAに対して優れた浄化速度を有する植物を得るために、草本の園芸植物を対象としたスクリーニングを実施した。園芸植物を用いた理由としては、上記のような利点に加え、栽培方法が確立されているため維持管理が容易であることがあげられる。また研究上は、分類上広範な科にわたる多くの種類の植物が比較的安価で入手することも利点である。約100種類の園芸植物について、処理水25 mlあたり全草1 gを根全体が浸かるように入れ、25、3,000 luxの白色蛍光灯連続照射下で水耕栽培することによってBPA浄化能を調べた結果、20%近い数の植物が、50 μMのBPAを48時間後に50%以下に減少させる能力を持つことが明らかとなった(未発表)。その中で、南米原産のポーチュラカ(*Portulaca oleracea*)(図2)が最も高い浄化能を示し、BPAは24時間後にほぼ完全に浄化された(図3)。



図2 . “環境浄化” ポーチュラカ (関西電力提供)

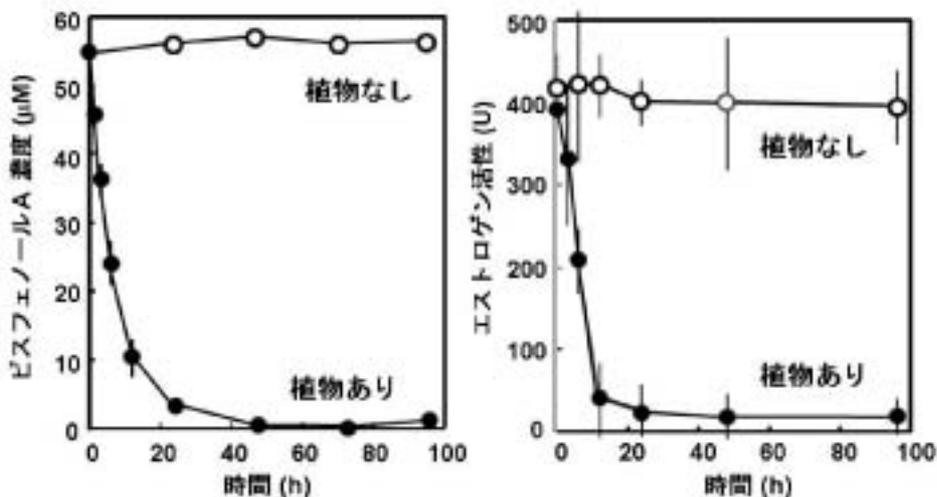


図3 . ポーチュラカによるビスフェノールAの浄化とエストロゲン活性の変化 (文献5から引用)

3. ポーチュラカのビスフェノール A 浄化能の評価

そこで次に、ポーチュラカの BPA 浄化について詳しい検討を行なった⁵⁾。まず無菌化した植物について浄化能を調べたところ、無菌化前の植物と同等の浄化能が得られたことから、通常の状態では根に付着している微生物による浄化あるいは植物と微生物の協働作用による浄化ではなく、植物自体が高い浄化能を有することが示された。そこで、全草を茎葉部と根部分けて浄化能を比較したところ、重量当たりの浄化能は根の方がはるかに高かった。また、酵母ツーハイブリッド法⁶⁾を用いて外液中の環境ホルモン活性(エストロゲン活性)を調べたところ、BPA の減少に伴って、その活性も失われることが明らかとなった(図3)。さらに、熱処理により根の浄化能が失われること、浄化過程で BPA あるいはその配糖体が植物内で検出されないこと、外液中に BPA の水酸化体が検出され、その濃度が BPA の減少に比例して上昇することが明らかになった。また、浄化過程での根部表面への黒色物質の付着が観察された。以上の結果から、ポーチュラカによる BPA の浄化は、根の表面あるいは表面近くに存在する酵素によって行われ、生成した水酸化体(図1)はさらに代謝されて最終的には重合して不溶化すると考えられる。また、BPA の代謝過程で生成される物質はいずれもエストロゲン活性を持たず、BPA の消失と共に浄化が完了すると考えられる。

これまで、植物による BPA 代謝については数件の報告があるが⁷⁻⁹⁾、これらについては主に細胞内に BPA が取り込まれた後に、水酸化とそれに続く配糖体化が起こる。一方ポーチュラカについては、細胞を破壊しないように注意しながら根部を細胞壁溶解酵素で処理した場合、BPA 浄化活性が可溶性画分に認められるようになることから、BPA の水酸化酵素は細胞外に存在すると考えられる。即ち、酵素が細胞表面に提示されるか、あるいは細胞壁に結合した状態で存在し、ちょうど固定化酵素のように外液に接した状態で BPA を直接代謝していると予想される。現在までに BPA 水酸化を触媒すると考えられる酵素をコードする 5 つ遺伝子の同定に成功しており、細胞外における BPA 代謝経路もほぼ解明されているが(未発表)これらの詳細についてはあらためて紹介することとして、ここではポー

チュラカの実環境への適用を図る上で必要な基礎情報を得るために行なった実験の結果を紹介したい。

検討した項目は、他の環境ホルモンに対する浄化能と、BPA 浄化能に対する濃度、温度、光照射条件、pH の影響である。その結果、まず他の環境ホルモンに対する浄化能については、オクチルフェノール、ノニルフェノール及び 17-β-エストラジオールに対して優れた浄化能を持つことが明らかとなった。女性ホルモンである 17-β-エストラジオールについては最近自然環境への流出が問題となっており、ポーチュラカが浄化に利用できる意義は大きい(図4)。一方、ジクロロフェノールやフタル酸エステルなどに対する浄化能は非常に低かったことから、ポーチュラカはアルキルフェノールや 17-β-エストラジオールに共通の水酸基に対してオルト位が水素であるフェノール基を持つ物質を特異的に浄化できると考えられる。また浄化能に対する濃度の影響については、通常の試験濃度の 10 倍に相当する 500 μM についても 24 時間後に 90% 以上が浄化されることが示された。このように非常に大きな浄化速度が期待できるため、例えばビオトープのような水質浄化システムの場合、一定の区画へポーチュラカを密植させ、そこを排水が通過する間に浄化が完了できるような連続的な運用も可能となる。温度については、15 から 35 の範囲で適用可能で、さらに浄化は光照射条件の影響を受けず、pH も比較的広い範囲で浄化が可能であることが示された。これらの知見は、ポーチュラカが実環境での環境ホル

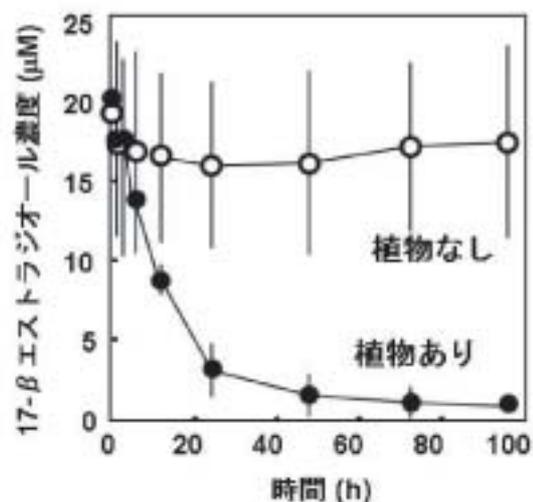


図4. ポーチュラカによる 17-β-エストラジオールの浄化 (文献5から引用)

モン浄化に適した植物であることを示すものである。

さらに本研究については、平成17年から実施した経済産業省の委託事業である地域新生コンソーシアム研究開発事業「リサイクル濾材と植物を利用した高度廃水処理システムの開発」により、屋外でのパイロットプラント実験による実用化に向けた検討を行った。当初、乾燥・高温の環境でも旺盛な生育を示すポーチュラカは屋外での水耕栽培には不向きと予想したが、夏期に公共の排水処理場において生活排水の処理水による実地試験を行ったところ、非常に良好な生育を示した。また微量含まれる17-エストラジオールを有意に減少させることも確認した。生活排水の処理水には、環境基準には適合しているものの、植物の生育に有効な窒素源やリン、ミネラルなどの栄養分が残留しており、ポーチュラカにとって非常に良好な生育条件が提供されたと考えられる。先述のように、環境ホルモンによる健康被害を未然に防ぐためには、発生源における環境中への拡散の防止と、汚染された土壌や水源からの効率的な除去が必要であるが、ポーチュラカについては、上記のような条件での生育が可能であり、後者については実環境への適用が期待できる。一方、BPAの主な発生源である廃棄物処分場の浸出水や化学工場廃水の浄化については、高濃度BPAの浄化が可能であることは示されたことから能力的には十分適用可能と考えられるが、劣悪な栄養条件など生活排水にはない生育に不利な条件も想定されることから、今後こういった高濃度発生源を対象とした実証試験にも取り組んでいきたい。

4. おわりに

以上のように、本稿ではポーチュラカによるBPA浄化について紹介した。本植物は非常に栽培し易い夏期の園芸植物として広く親しまれている。この研究で最初にBPAの高い浄化能が認められた株は、現在(株)かんでんエルハートで栽培され、“エコ浄花”として販売されている。今回我々が用いた

100種類ほどの園芸植物の中には、植物の科によって特徴的な代謝が認められるものや、ポーチュラカとは異なった浄化機構が予想されるものもあった。また共同研究者である奥畑らは、スクリーニングの範囲を広げ、サルビアにおいてポーチュラカに匹敵するBPA浄化能を確認しており¹⁰⁾、さらにポーチュラカでは浄化できなかった環境ホルモンへ適用できる可能性も示している。今後これらの研究がさらに発展し、近い将来、数多くの“環境浄花”が様々な実環境において浄化能を発揮することにより、環境ホルモンによる健康被害の防止に貢献できる日が来ることを期待したい。

参考文献

- 1) 化学物質の内分泌かく乱作用について
(<http://www.env.go.jp/chemi/end/>)。環境省 (2005)
- 2) Yamamoto *et al.*, *Chemosphere*, **42**, 415 (2001)
- 3) 平成13年度内分泌攪乱物質における環境実態調査のまとめ
(<http://www.env.go.jp/chemi/end/kento1402/mat/mat02-1a.pdf#search>)
環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課 (2002)
- 4) J. H. Kang, *et al.*, *Toxicology*, **217**, 81-90 (2006)
- 5) F. Imai *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, **103**, 420 (2007)
- 6) 西川淳一ほか。“酵母を用いたツーハイブリッド試験”。内分泌攪乱化学物質の生物試験研究法(今井清ほか編), p.20 (2000)
- 7) M. Nouredin *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **68**, 1398 (2004)
- 8) H. Hamada *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **43**, 4087 (2002)
- 9) N. Nakajima *et al.*, *Plant Cell Physiol.*, **43**, 1036 (2002)
- 10) H. Okuhata *et al.*, *J. Biosci. Bioeng.*, in press