

多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(1)

—都内河川におけるコイの精巣等の調査について—

和波一夫 嶋津暉之

要 旨

都内河川の5地点についてコイの性比、生殖腺の異常の有無、血液中のビテロジェニン濃度を調査した。その結果、次のことが明らかになった。

- ① 採捕したコイは全体では雌48尾、雄47尾で、ほぼ同じ性比であった。ただし、野川では雄が少なく雌雄比は2:1であり、河川によってコイの性比は異なった。
- ② コイ95尾の生殖腺を観察した結果、異常がみられたのは1尾であった。これは、神田川で採捕した雄コイで、精巣が腫瘍化していた。
- ③ 雄コイ47尾のうち10尾にビテロジェニンが検出された。河川別にみると検出割合が高かったのは、神田川の雄コイで9尾中4尾(44%)であった。ビテロジェニン濃度も他の河川の雄コイに比べ高い値で、最高値は4000ng/mlであった。

キーワード：内分泌かく乱化学物質(環境ホルモン)、コイ、生殖腺、ビテロジェニン

Study on Endocrine Disrupters in Tokyo's Rivers (1)

— The State of Sex, Gonad, and Vitellogenin of Carp —

Kazuo Wanami and Teruyuki Simazu

Summary

Endocrine disrupters were assessed for five sites in Tokyo's Rivers. The sex, gonad condition, and vitellogenin of 95 carps were studied and following results were obtained:

- (1) The ratio of male and female carps was 47/48, although 1/2 in the Nogawa River.
- (2) The gonads of all the carps were normal, excepting cancerous one caught in the Kandagawa River.
- (3) Ten of the male carps had vitellogenin in their blood. In the Kandagawa River, 4 in 9 male carps had vitellogenin with the highest ratio among the rivers, and the max VTG, 4000 ng/ml, was observed.

Keywords: endocrine disrupters (EDs), carp, gonad, vitellogenin (VTG)

1 はじめに

野生生物に対する内分泌かく乱化学物質(以下、環境ホルモンという)の影響のひとつとしてエストロジェン(女性ホルモン)様作用による雄の雌性化が懸念されており、魚類の性に対する内分泌かく乱についても国外の事例が紹介されている¹⁾。日本では、中村ら²⁾が多摩川の1か所でコイを採捕し、性比、生殖腺の異常の有無や雄コイのビテロジェニン濃度等を測定した。この結果、

性比は雌コイの割合が高く、雄コイについては外見的に明らかに発達が悪い異常な精巣が多くみられ、また、雄コイの半数以上の個体でビテロジェニンが検出されたことからエストロジェン様作用をもつ物質の影響を受けていることが示唆されると報告している。

水環境中に流入した環境ホルモンは、水中にすむ魚類などの野生生物の生殖に影響を与える可能性が高いと考えられることから、都内河川の環境ホルモンの濃度レベ

ルや野生生物への影響実態を明らかにしていくことが必要である。東京都は、「東京都の内分泌かく乱化学物質に対する当面の取組について—東京都環境ホルモン取組方針—」³⁾を1998年7月策定し、都において実施すべき取組を示した。この取組方針にもとづき、野生生物への影響実態を明らかにするため、都内河川に生息するコイ等を対象として、性比、生殖腺の異常の有無、雄の血液中のピテロジェニン濃度等の調査を実施したので報告する。

2 調査方法

(1) 調査対象魚種

都内河川に広く分布する魚類であるコイ [*Cyprinus carpio* Linnaeus] を調査対象とした。コイが採捕できない場合は、ゲンゴロウブナ [*Carassius auratus cuvieri* Temminck et Schlegel]、ニゴイ [*Hemibarbus barbus* (Temminck et Schlegel)] をコイの代替種とした。

(2) 調査地点と調査期間

都内河川の5か所を調査地点とした。図1に調査地点の位置を示す。各調査地点の具体的範囲と採捕期日は表1のとおりである。

(3) 採捕方法

コイ等の採捕は投網で行った。江戸川と荒川は、舟の先端から投網を打ち(舟打ち)、神田川は舟打ちと徒打ちを併用し、野川と浅川は徒打ちによりコイ等を採捕し

表1 採捕場所と採捕期日

河川	採捕場所	採捕日
江戸川	新葛飾橋付近(葛飾区金町)から下流方向	1998年11月25日
荒川	掘切橋付近(葛飾区堀切)の上流、下流方向	1998年11月24日
神田川	水道橋付近(千代田区三崎町)と曙橋(豊島区高田)	1998年11月30日
野川	仙川合流点付近と兵庫島(世田谷区玉川)	1998年11月27日
浅川	高橋橋付近(日野市南平)	1998年11月26日

た。採捕したコイ等は、採捕作業が終了するまで生け簀に入れて畜養しておき、採捕終了後一括して計測した。

(4) 計測・採血方法等

採捕したコイ等の全長・体長・体重を測定し、外部異常の有無を確認した。尾部血管から注射器(5ml注射筒18ゲージ注射針)を用いて採血し、10ml容量の血清分離用スピッツ管に入れてピテロジェニン用の試料とし、血清を分離するまで、氷を入れたアイスボックス又は4℃設定の冷蔵庫内で保冷した。スピッツ管内の血液を冷却遠心機により遠心(4℃、3000rpm×20min)し、血清を分離した。血清はマイクロチューブに分注し、直ちに-35℃に設定した冷凍庫に収納し、ピテロジェニン濃度の測定に供するまで凍結保存した。

(5) 雌雄の確認と生殖腺組織標本の作成等

上記(4)の作業終了後、コイ等の腹部を解剖し、生殖腺観察により雌雄を判定した。また、内蔵部の肉眼観察を

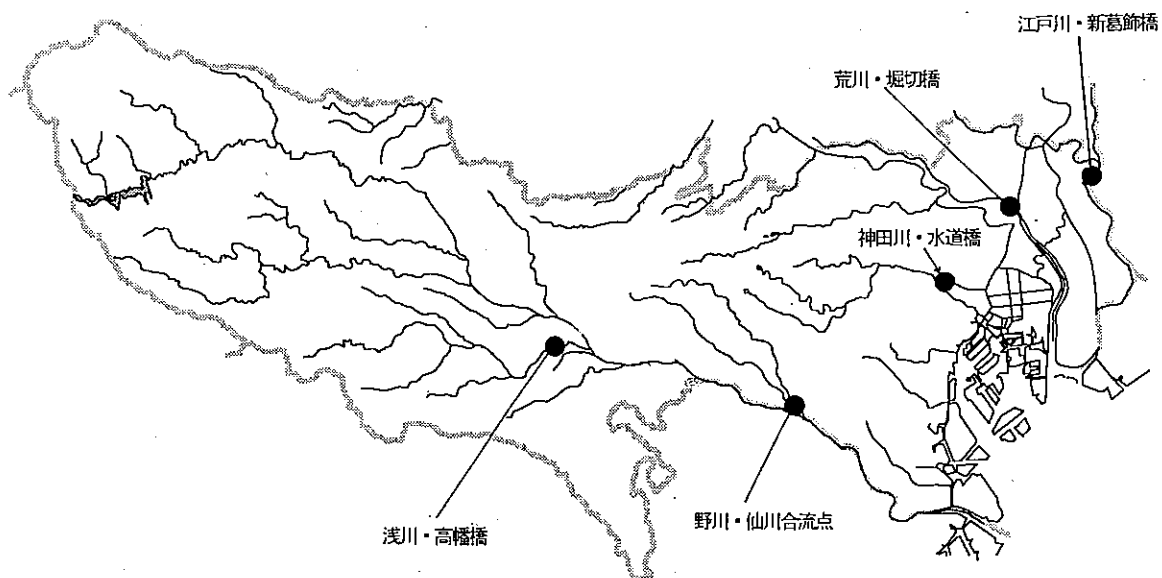


図1 調査地点

行い形、色、大きさ、結節や水泡など病的部位の有無を確認した。生殖腺全体を摘出し、付着している脂肪組織などを取り除き、生殖腺の重量を測定した。

組織標本用試料として摘出した生殖腺から厚さ5mm程度に横断した組織片を採取した。組織標本用試料はブアン液に1週間程度固定した後、70%エタノールに入替えて保存した。組織片の断面が小さい場合は全体を検体とし、大きい場合は、生殖腺の背面側に位置する部分を1.5×1cm程度の大きさに切り出したものを検体とした。各検体は、常法に従い脱水しパラフィン包埋した。これを厚さ5μmに薄切し、スライドガラスに貼付けした後ヘマトキシリンとエオシンの二重染色を施した。

精巣については、生殖細胞の発達状況、構造、組織の変性及び精巣卵の有無等を組織学的に観察し、その状態を記録した。精巣内の細胞や組織に顕著な変性等が認められない場合を正常、腫瘍化した組織や細胞の存在など構造や組織に明らかな変性が認められる場合を異常とした。また、確実に正常と判断できる標本とは異なる組織像が認められるものの、現時点の知見では異常と判断できない場合を所見ありとした。卵巣については、生殖細胞の発達状況、構造、組織の変性及び変性退化卵の有無等を組織学的に観察し、その状態を記録した。

(6) ビテロジェニンの測定

血清中のビテロジェニンは、株式会社クマモト抗体研究所「コイ ビテロジェニンELISA キット」により測定した。同キットは、コイのビテロジェニンに特異的な2つの抗体を用いたサンドイッチ型固相ELISA法に基づいたものである。同キットは、ビテロジェニン標準液の最低濃度が7.8ng/ml、検体の最低希釈倍率が5倍とされているため、検体におけるビテロジェニン濃度の定量下限値は39ng/ml (7.8ng/ml×5) とした。また、5倍希釈した検体の吸光度がブランクの吸光度以下であった場合は、試料中のビテロジェニン濃度がELISAの検出限界未満であるものとした。以上のことから、測定結果については、ビテロジェニン濃度が検出限界以上で定量下限値未満のものを「<39ng/ml」、5倍希釈で検出限界未満のものをビテロジェニン非検出「N. D.」とした。なお、コイ以外の魚類についても前述の方法に従い測定した検体の吸光度とコイのビテロジェニンでの標準曲線から求めた濃度を測定値とした。

3 結果及び考察

(1) 採捕尾数と性比

表2 コイ等の雌雄数 単位:尾

河川	コイ		ゲンゴロウブナ		ニゴイ		計
	雌♀	雄♂	雌♀	雄♂	雌♀	雄♂	
江戸川	1		12	7	1		21
荒川	2				1	1	4
神田川	5	9		1			15
野川	22	11					33
浅川	18	27					45
計	48	47	12	8	2	1	118
雌雄の率	51%	49%					

各河川で採捕したコイ等の尾数および雌雄数を表2に示す。江戸川ではコイ1尾、荒川では2尾、神田川では14尾、野川では33尾、浅川では45尾を採捕した。採捕したコイの性比は全体では雌が48尾、雄が47尾とほぼ同じであったが、野川では雄が少なく、雌雄比は1:0.5であり、一方、神田川では雄が多く雌雄比は1:1.8、浅川では1:1.5で、河川によってコイの性比は異なった。また、江戸川ではゲンゴロウブナを21尾採捕したが、雌雄比は1:0.6であった。今回の採捕数では、各地点ごとの性比実態把握には十分な数とはいえないので今後引き続き採捕調査を実施していく。なお、一般に魚類は溯上流下により同一水系内を移動することから、採捕されたコイが他の地点で孵化し成長したものである可能性は高い。よって、コイの性比については同一地点だけでなく同一水系全体でも評価検討することが必要である。本調査と同じ時期に建設省が行った魚類調査のうち、多摩川での調査結果は調査地点によってコイの性比は大きく異なるが、全体では雌28尾、雄27尾でほぼ同じ性比であった(雌:羽村堰4、拝島橋5、多摩川原橋13、田園調布堰6、雄:羽村堰1、拝島橋15、多摩川原橋4、田園調布堰7)。この結果に本調査の浅川、野川の雌雄数を加えると多摩川水系全体では雌68尾、雄65尾となり、コイの性比はほぼ同じであった。

都内河川では、他の地域で養殖されたコイが漁業協同組合等によって放流されている⁹⁾。多摩川では、多摩川漁業協同組合により、近年は毎年約18万尾の稚魚コイ(霞ヶ浦産)が放流されている。都内の主要河川(江戸川・中川・多摩川・秋川)総計では、毎年約30万尾が放流されている。このような放流事業等により、コイは都

内の多くの河川で生息しているが、自然繁殖による稚魚の生残があまり確認されておらず、再生産が少ないことが考えられている⁶⁾。したがって、都内河川で採捕されたコイの性比は、養殖コイの性比が反映している可能性もある。

表3 精巢の観察結果 単位：尾

河川	魚種	外部の肉眼観察			標本の組織学的観察			計
		正常	所見有り	異常	正常	所見有り	異常	
江戸川	ゲンゴロウブナ	7			7			7
荒川	ニゴイ	1			1			1
神田川	コイ	4	4	1	8		1	9
"	ゲンゴロウブナ	1			1			1
野川	コイ	9	2		10	1		11
浅川	コイ	27			27			27
計		49	6	1	54	1	1	56

所見有り：外部の肉眼観察では、正常な精巢と異なる形態のもの。組織学的観察では、全体の構造や組織には顕著な異常がないものの一部で正常と異なるもの。
 異常：外部の肉眼観察では、明らかに異常がみられたもの。組織学的観察では、腫瘍化した組織や細胞など明らかな異常が認められたもの。

(2) 生殖腺の異常の有無、発達状態

コイ等の雄における精巢の観察結果を表3に、雄コイの生殖腺体指数（生殖腺の発達状況を量的に検討する場合の指標で、次の式で算出する。生殖腺体指数＝生殖腺重量／体重×100）を図2に示す。今回の調査で雄の精巢の外観に明らかに異常が認められたのは神田川のコイ1尾のみであった。この個体の精巢は両葉に大きな瘤が形成されており、生殖腺体指数も29%と生殖腺が著しく肥大していた。この精巢を組織学的に観察した結果、内部は通常の精巢にはみられない細胞が増殖し、腫瘍化した状態であった。また、精子及び生殖細胞が全く存在していないことが確認された。

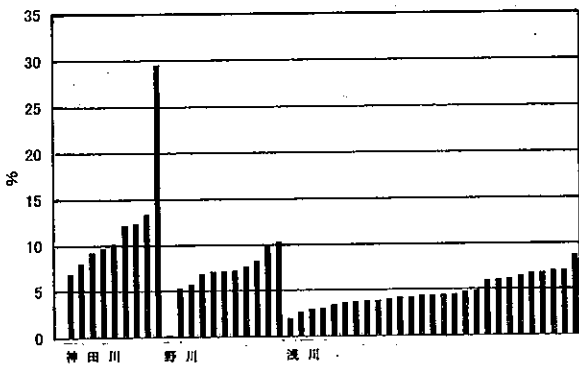


図2 雄コイの生殖腺体指数

合の指標で、次の式で算出する。生殖腺体指数＝生殖腺重量／体重×100）を図2に示す。今回の調査で雄の精巢の外観に明らかに異常が認められたのは神田川のコイ1尾のみであった。この個体の精巢は両葉に大きな瘤が形成されており、生殖腺体指数も29%と生殖腺が著しく肥大していた。この精巢を組織学的に観察した結果、内部は通常の精巢にはみられない細胞が増殖し、腫瘍化した状態であった。また、精子及び生殖細胞が全く存在していないことが確認された。

上記のものの中には、外見的に異常が疑われる精巢を持つコイが6尾みられた。このうち1尾（野川で採捕）は、外見的に精巢の発達が悪く、生殖腺体指数も0.2%と低い値であった。この精巢を組織学的に観察した結果、全体の構造や組織の状態には顕著な異常は認められないが、精巢のごく一部でしか精子形成が行われていないことが確認された。この個体の体長は300mm程度でほぼ成熟魚に近いが、体重は600gで他のコイの半分以下の小さなものであることから未成熟である可能性が高い。このほかは、やや変形した精巢を持つコイが3尾、左葉が小さい精巢をもつコイが1尾、一部に鬱血が認められる精巢をもつコイが1尾みられた。しかし、これらを組織学的に観察した結果、構造や精子形成などの成熟状態に異常はなかった。やや変形した精巢を持つコイ及び左葉が小さい精巢をもつコイについては、生殖腺体指数も10%前後と高く、精巢の発達も良好なことから正常の範囲で起こり得る形態の変化と考えられた。また、鬱血が認められる精巢をもつコイについても、組織学的な観察では異常が認められなかったことから、採捕時や計測時の飛び跳ねによる激突などの衝撃で出血が生じた可能性が高いと考えられた。

以上、明らかに組織学的に異常がみられた1尾と所見ありの1尾を除けば、各河川で採捕したコイの精巢は、精巢内で活発に精子形成が行われている段階や十分な精子が貯留されている段階にあり、産卵期に通常の生殖活動が行える状態であった。なお、雌では、外見的に明らかな異常が認められる卵巣を持つ個体はみられなかった。

(3) 血清中のピテロジェニン濃度

コイ等の雄の血清中のピテロジェニン濃度を図3に示

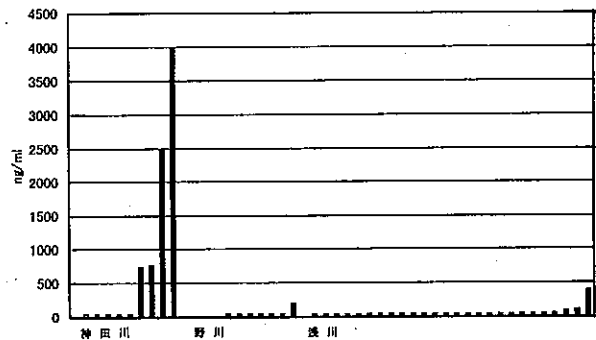


図3 雄コイのピテロジェニン濃度

す。ビテロジェニンは卵黄に含まれるリントタンパク質の前駆体で、エストロゲン（女性ホルモン）の刺激により鳥類、爬虫類、両生類、魚類などの肝臓中で生合成され、血中に分泌される雌特異的タンパク質である。ビテロジェニンはリン酸のほかに糖、脂肪、カルシウムを含み、成熟中の卵に取り込まれ卵内で成長する胚にとって栄養源となっている。雌の血中にはごく普通に存在する

物質である⁷⁾。今回の調査で卵巣が卵黄形成期にある雌コイ26尾のビテロジェニン濃度は、1,800,000~12,000,000ng/ml、卵巣が卵黄形成期前の雌コイ5尾のビテロジェニン濃度は、570~190,000ng/mlであった。

正常の雄にはほとんど検出されないもののエストロゲン処理によって雄の血中にビテロジェニンが検出されることが知られている。このことから、魚類の血中ビテ

表4 雄の調査結果

年月日	採取場所		魚種	識別番号	性別	全長 (mm)	体長 (mm)	体重 (g)	生殖腺重量 (g)	生殖腺体指数 (%)	ビテロジェニン濃度 (ng/mL血清)	肥満度					
	河川	調査地点										A	B				
98/11/25	江戸川	新葛飾橋	ゲンゴウウナ	ED-21	♂	353	261	702	36.7	5.23	1,400	159.6	151.2				
				ED-15	♂	350	266	697	28.7	4.12	64	162.6	155.9				
				ED-04	♂	352	268	666	39.1	5.87	<39	152.7	143.7				
				ED-17	♂	347	268	655	31.2	4.76	<39	156.8	149.3				
				ED-13	♂	371	282	764	33.1	4.33	100	149.6	143.1				
				ED-20	♂	366	288	703	29.9	4.25	<39	143.4	137.3				
				ED-18	♂	385	295	850	35.5	4.18	<39	148.9	142.7				
				AR-03	♂	430	360	696	3.0	0.43	<39	87.5	87.2				
98/11/24 98/11/30	荒川 神田川	堀切橋 水道橋	コイ	KA-09	♂	529	424	2,151	172.4	8.01	<39	145.3	133.7				
				KA-06	♂	545	434	2,475	168.3	6.80	<39	152.9	142.5				
				KA-12	♂	660	538	4,187	383.7	9.16	2,500	145.6	132.3				
				KA-14	♂	682	541	4,740	574.6	12.12	<39	149.4	131.3				
				KA-05	♂	701	551	5,083	675.5	13.29	<39	147.6	127.9				
				KA-10	♂	698	567	5,775	582.3	10.08	740	169.8	152.7				
				KA-08	♂	695	575	6,370	784.6	12.32	760	189.8	166.4				
				KA-07	♂	720	593	6,284	603.6	9.61	4,000	168.4	152.2				
				KA-13	♂	768	620	5,560	1,638.9	29.48	<39	122.7	86.6				
				KA-15	♂	374	290	883	43.7	4.95	400	168.8	160.4				
				NO-12	♂	370	298	597	1.1	0.18	N.D.	117.9	117.6				
				98/11/27	野川	仙川合流点	コイ	NO-14	♂	468	360	1,432	142.7	9.97	<39	139.7	125.8
NO-13	♂	463	365					1,163	64.8	5.57	N.D.	117.2	110.6				
NO-15	♂	489	380					1,045	70.5	6.75	<39	89.4	83.3				
NO-27	♂	502	388					1,480	104.0	7.03	N.D.	117.0	108.8				
NO-20	♂	512	415					1,751	131.2	7.49	N.D.	130.5	120.7				
NO-06	♂	530	418					2,066	211.6	10.24	<39	138.8	124.6				
NO-25	♂	519	420					1,976	138.1	6.99	<39	141.3	131.5				
NO-01	♂	546	438					2,266	118.4	5.23	200	139.2	131.9				
NO-24	♂	564	448					2,287	162.1	7.09	<39	127.5	118.4				
NO-22	♂	596	468					2,452	199.9	8.15	<39	115.8	106.4				
98/11/26	浅川	高橋橋	コイ					AS-03	♂	438	333	1,104	67.0	6.07	<39	133.2	125.1
								AS-24	♂	445	337	1,273	88.5	6.95	91	144.5	134.4
								AS-39	♂	461	354	1,253	107.9	8.61	<39	127.9	116.9
								AS-36	♂	462	355	1,197	49.7	4.15	<39	121.4	116.3
				AS-45	♂	460	362	1,397	96.8	6.93	390	143.5	133.6				
				AS-09	♂	478	365	1,467	64.1	4.37	<39	134.3	128.5				
				AS-44	♂	461	368	1,379	87.6	6.35	<39	140.8	131.8				
				AS-43	♂	472	371	1,485	58.9	3.97	51	141.2	135.6				
				AS-26	♂	478	380	1,476	63.8	4.32	<39	135.1	129.3				
				AS-27	♂	498	380	1,562	104.6	6.70	<39	126.5	118.0				
				AS-01	♂	494	387	1,542	73.9	4.79	<39	127.9	121.8				
				AS-23	♂	501	398	1,632	61.8	3.79	<39	129.8	124.9				
				AS-29	♂	512	398	1,759	118.0	6.71	<39	131.1	122.3				
				AS-38	♂	508	403	1,755	82.7	4.71	<39	133.9	127.6				
				AS-35	♂	528	405	1,879	67.1	3.57	39	127.7	123.1				
				AS-15	♂	523	407	1,591	60.2	3.78	<39	111.2	107.0				
				AS-22	♂	530	414	1,818	108.1	5.95	N.D.	122.1	114.9				
				AS-02	♂	527	415	1,303	24.9	1.91	<39	89.0	87.3				
				AS-30	♂	513	415	1,550	45.6	2.94	<39	114.8	111.4				
				AS-19	♂	541	419	1,583	47.1	2.98	<39	100.0	97.0				
				AS-11	♂	523	425	2,405	81.3	3.38	<39	168.1	162.4				
				AS-14	♂	543	425	1,739	103.7	5.96	<39	108.6	102.1				
				AS-13	♂	568	448	1,997	73.0	3.66	<39	109.0	105.0				
				AS-12	♂	576	451	2,003	88.4	4.41	<39	104.8	100.2				
AS-20	♂	571	452	1,954	83.8	4.29	<39	105.0	100.5								
AS-16	♂	555	454	2,006	82.6	4.12	<39	117.3	112.5								
AS-18	♂	600	485	2,246	57.8	2.57	110	104.0	101.3								

肥満度 A = 体重 / (全長)³ × 10³
 肥満度 B = (体重 - 生殖腺重量) / (全長)³ × 10³

ロジェニンを調査することで水環境中に存在する環境ホルモン物質の存在をスクリーニングすることが試みられている。雄魚でビテロジェニンが検出されることは、環境水から直接もしくは餌をとおして外因性のエストロジェン様物質に曝されていることを意味し、現在では自然界の雄魚にビテロジェニンが検出された場合、それは環境水中のエストロジェン様物質に一時的にせよ暴露されたことを示唆すると考えられている⁷⁾⁸⁾。河川中に存在するエストロジェン様作用を持つ物質としては、いわゆる環境ホルモンや人畜由来のエストロジェンのほかに、同所に生息する雌から排出されたエストロジェン、植物ホルモンなど、もともと自然界に存在するものもあるといわれている。

表4に雄に関する調査結果のまとめを示す(表のデータは、河川別のコイ体長順)。本調査で、定量下限値39ng/mlを超える値が検出された雄コイは47尾中10尾(21%)であった。河川ごとにみると神田川の雄コイのビテロジェニン検出割合は9尾中4尾(44%)であり、ビテロジェニン濃度も他の河川の雄コイに比べ高い値で、最高値は4000ng/mlであった。なお、神田川の精巢が腫瘍化したコイのビテロジェニンは<39ng/mlであった。

コイ以外の魚類についてもビテロジェニン濃度を測定したが、ビテロジェニン測定キットは、コイのビテロジェニンに対する抗体を用いた測定であるため、現段階ではコイ以外のコイ科魚類のビテロジェニン濃度は参考値である。雄ゲンゴロウブナのビテロジェニン検出は8尾中4尾(50%)であった。

一般に魚類の生殖に関連する生理活性は、季節的な変動や周期性があり、成長や成熟状態にも個体差があるため、ビテロジェニン濃度についても年間を通じた変化や個体差があるものと考えられ、実態把握には十分なサンプル数と年間を通じた調査が必要である。また、河川中のエストロジェン様物質濃度も合わせて調査し、雄コイのビテロジェニン濃度との関連を調べていくことが必要である。

4 おわりに

採捕したコイは都内河川全体では雌48尾、雄47尾で、ほぼ同じ性比であった。ただし、野川では雄が少なく雌雄比は2:1であり、コイの性比は河川により異なった。

都内河川のコイの性比に偏りがあるかどうかについては、十分な尾数を調査し実態を明らかにしていくことが必要である。

コイの精巢を観察した結果、異常がみられたのは1尾であった。これとは別の所見ありの1尾を除けば、採捕したコイの精巢は、精巢内で活発に精子形成が行われている段階や十分な精子が貯留されている段階にあり、産卵期に通常の生殖活動が行える状態であった。

雄コイ47尾のうち10尾に雌特異的タンパク質ビテロジェニンが検出された。雄のビテロジェニン検出状況と水環境中のエストロジェン様物質濃度との関係については、今後調査研究を進め検討していく予定である。

謝 辞

本調査を進めるにあたり、加藤憲司氏(東京都水産試験場)、大西悠太氏・権田 基氏・富永恭司氏(新日本気象海洋株式会社)をはじめ、ご協力をいただいた関係各位に謝意を表する。

引用文献

- 1) 外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する研究班中間報告書, 128pp, 財団法人 日本公衆衛生協会, 1997.
- 2) 中村 將, 井口泰泉: 多摩川にみる魚類の異変, 科学, 68(7), 515~517, 1998.
- 3) 東京都の内分泌かく乱化学物質問題に対する当面の取組について—東京都環境ホルモン取組方針一, 19pp, 東京都環境保全局環境管理部, 1998.
- 4) 平成10年度 水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査結果, 82pp, 建設省河川局・都市局下水道部, 1999.
- 5) 東京都の水産, 平成10年度版, 253pp, 東京都労働経済局農林水産部水産課, 1999.
- 6) 都市河川における魚類の生息、繁殖条件について, 平成5年東京都水産試験場成果速報, 144, 1994.
- 7) 原 彰彦: 魚の血液で環境ホルモン汚染をみる, 科学, 68(7), 591~596, 1998.
- 8) 有菌幸司: 河川海域などにおける内分泌攪乱化学物質の検出, 資源環境対策 34, 844~848, 1998.