

多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その2） -都内河川におけるコイの精巣等の調査-

和波一夫 嶋津暉之 加地弘一* 高橋憲一**
(*非常勤研究員 **埼玉工業大学)

要旨

都内河川の5地点についてコイの性比、雄コイの血清中のビテロジエニン濃度、生殖腺の異常の有無を調査し、次のことが明らかになった。

- (1) 東京都内河川5地点でコイを538尾採捕した結果、雌雄数は、雌248尾、雄290尾であった。このうち多摩川水系では雌204尾、雄229尾で、性比はほぼ1:1であった。
- (2) 多摩川・多摩川原橋、神田川・水道橋の雄コイに高い濃度のビテロジエニンが検出された。この2地点の上流には規模の大きい下水処理場があり、ビテロジエニンの検出に下水処理水中のエストロジエンやエストロジエン様物質の影響が示唆された。
- (3) コイの精巣を肉眼観察した結果、全数の9%に瘤状や萎縮等の異常な精巣が認められた。組織学的観察結果では、全数の9%に腫瘍形成などの異常な精巣が認められた。

キーワード：内分泌かく乱化学物質（環境ホルモン）、コイ、精巣、ビテロジエニン

1 はじめに

水環境中に流入した内分泌かく乱化学物質（以下、環境ホルモンという）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ところから、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必要がある。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－」を1998年7月策定し、都において実施すべき取組を示した¹⁾。この取組方針のもと、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魚類の性比、生殖腺の異常の有無、雄の血清中のビテロジエニン濃度等の調査を行った。

98年度実施調査では、既報²⁾で述べたように、都内河川で採捕した合計コイ95尾の雌雄はほぼ同数、雄コイ47尾のうち10尾にビテロジエニンが検出、精巣に組織異常があるものが1尾、という結果が得られた。99年度は、多摩川水系を調査対象河川の中心にし、98年度と同様に生殖腺の観察やビテロジエニン測定を行った

ので、その結果を報告する。

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。調査時に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] 等のフナ類、ニゴイ [*Hemibarbus barbus* (Temminck et Schlegel)] をコイの代替種とした。

(2) 調査地点と調査期日

図1に示す多摩川・拝島橋、多摩川・多摩川原橋、浅川・高幡橋、野川・仙川合流点、神田川・水道橋の4河川5地点で調査を実施した。多摩川・拝島橋は、多摩川中流域の中ではBODが最も低く水質は比較的良好。この地点の上流には下水処理場はなく、下流約2km地点から多摩川上流処理場の処理水が多摩川に流入する。多摩川・多摩川原橋は、多摩川流域で最も放流量が多い北多摩一号処理場の下流約1.5kmに位置し、

河川水質に処理水が大きく影響している地点である。浅川・高幡橋は、八王子市北野処理場の処理水流入点から下流約6kmに位置する。野川・仙川合流点付近は、野川と仙川の河川水が混じり合う地点であるが、近年は野川の流量減少で仙川の流量割合が大きくなっている。この仙川の上流部には三鷹市東部処理場の処理水が流入している。神田川・水道橋はJR水道橋駅前の地点で、上流には落合処理場の処理水が流入しており、神田川の流量の大半がこの処理水によって占められている³⁾。これらの調査地点での具体的な採捕範囲と採捕期日は表1のとおりである。

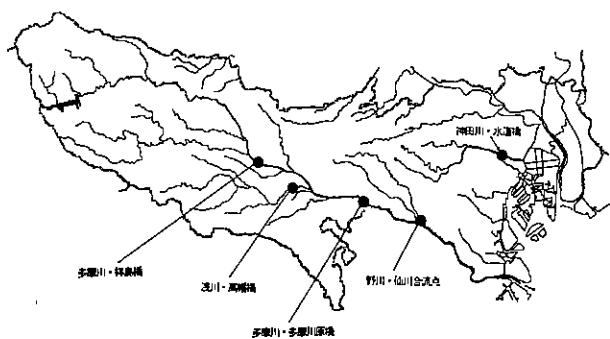


図1 調査地点

表1 採捕場所と採捕期日

河川・地点名	採 捕 場 所	採 捕 日
多摩川・拜島橋	拜島橋直上下流と日野用水堰付近 (昭島市田中町、大神町)	99/6/7, 7/22, 8/9, 9/6, 10/26, 00/2/24
多摩川・多摩川原橋	多摩川原橋直下流と北多摩一号 処理場放流水口付近 (調布市田中町、府中市押立町)	99/6/8, 7/7, 8/2, 9/7, 10/25, 00/2/29
浅川・高幡橋	高幡橋直下流付近 (日野市南平)	99/6/15, 7/12, 8/3, 9/8, 10/20, 00/2/23
野川・仙川合流点	仙川合流点直下流 (世田谷区雄田)	99/5/31, 7/14, 8/10, 9/13, 10/28, 00/3/2
神田川・水道橋	水道橋、江戸川橋、高戸橋付近 (文京区本郷、関口、高田)	99/6/14, 7/5, 8/16, 9/16, 10/19, 00/2/21

(3) 採捕方法

コイ等の採捕は投網で行った。多摩川、浅川、野川では徒打ちにより採捕した。神田川では6回調査のうち5回は舟の先端からの投網（舟打ち）、1回は徒打ちで行った。体長40cm以上のコイを目途に採捕作業を行った。舟打ちのコイ等については現場の河川水が入った生け簀に蓄養しておき、舟を接岸した後、直ちに計測・採血した。

(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ゲージ注射針等）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ビテロジエニン用の試料とし、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分離（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後、直ちに-80℃に設定した冷凍庫に収納して、ビテロジエニン濃度の測定に供するまで凍結保存した。

(5) ビテロジエニンの測定

血清中のビテロジエニンは、株式会社クマモト抗体研究所「コイ ビテロジエニンELISA キット」により測定した。同キットは、コイのビテロジエニンに特異的な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。

(6) 雄雌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、内臓部の肉眼観察を行い、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、生殖腺の外観を肉眼観察した。前年度の解剖観察結果を参考にしながら、外見的に変形や変色などが認められない場合を正常、腫瘍が形成されるなど、外見的に明らかな変形などが認められた場合を異常と記録した。また、外見的には正常のものとやや異なるものを所見ありとして記録した。その後、生殖腺の重量を測定し、生殖腺の全体を写真撮影した。

摘出した生殖腺から組織標本用試料として厚さ5mm程度に横断した組織片を採取した。この組織標本用試料をブアン固定液につけこんだ後、70%エタノールに入れ替えて保存した。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1×1cm程度の大きさに切り出したものを検体とした。組織標本用試料は、常法に従い脱水しパラフィン包埋した。これを厚さ7μmに薄切し、スライドグラスに貼付けした後ヘマトキシリンとエオジ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。卵巣については、組織標本を作成中であり、

今後、生殖細胞の発達状況、構造、組織の変性及び変性退行卵の有無等を観察する予定である。

3 結果及び考察

(1) コイの性比

各河川で採捕したコイの雌雄割合を図2に示す。5地点のうち、雄が多かった地点は多摩川・押島橋、多摩川・多摩川原橋、浅川・高幡橋（以下、浅川と記す）、神田川・水道橋（以下、神田川）の4地点であり、雌が多かった地点は野川・仙川合流点（以下、野川）の1地点であった。

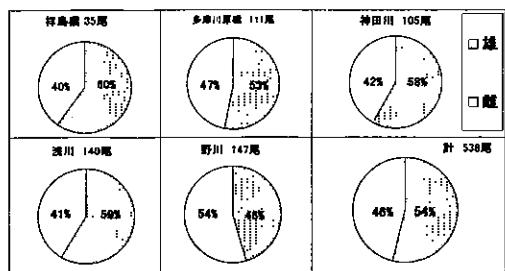


図2 コイの雌雄割合

コイは短期的には同一地点付近に生息しているが、長期的には溯上や流下により同一水系内を移動するので、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、コイの性比は、ダムなどの著しい移動阻害構造物がある水域を除いて同一水系全体で評価検討することが必要である。今回の調査では多摩川水系4地点合計のコイ433尾のうち、雌が204尾、雄が229尾で、性比はほぼ1:1であった。

中村ら⁴⁾は多摩川の下水処理場放流口付近でコイを採捕し、性比等を測定した結果、雌66尾、雄38尾で、雌の割合が著しく高いと報告している。しかし、今回の調査や前年度調査では、表2のように雌雄数はほぼ同じであった。多摩川水系のコイの母集団雌雄比を1:1と仮説し、表2の雌雄数を標本として危険率5%で統計的検定を行ったところ、仮説は棄却されなかった。つまり、雌または雄に偏った性比であるとはいえず、現段階では、多摩川水系のコイの性比はほぼ1:1といえる。

表2 コイの雌雄数

調査地点	1998年度		1999年度		合計		
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	
多 摩 川 水 系	多摩川・呉服橋			14	21	14	21
	多摩川・多摩川原橋			52	59	52	59
	浅川・高幡橋	18	27	58	82	76	109
	野川・仙川合流点	22	11	80	67	102	78
	多摩川水系 合計	40	38	204	229	244	267
神田川・水道橋	5	8	44	51	49	70	

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⁵⁾。多摩川では、多摩川漁業協同組合によりコイが放流されているが、1992年度までは東京都水産試験場（葛飾区水元）で養殖したコイが毎年約20万～40万尾放流され、それ以降は霞ヶ浦産の養殖コイが毎年放流されている。神田川は、かつて水質汚濁が著しく、魚類はほとんど生息していなかった。水質がやや改善した1990年以降、都市河川への魚の放流事業として東京都水産試験場で養殖したコイ、フナ等が6年間にわたり毎年約2万尾放流された。よって、多摩川や神田川では養殖放流されたコイが多く生息しているものと考えられる。コイは稚魚の段階で性が分化する魚類であることから、都内河川で採捕されたコイの性比には、養殖コイの性比が反映している可能性が高い。

(2) フナ類、ニゴイの雌雄数

都内に生息するフナ類は、ゲンゴロウブナ、ギンブナ、キンブナで、コイと同様に養殖放流が行われている。このうち、ギンブナは雌性発生という特殊な繁殖を行い、関東地方ではほとんどが雌という偏った性比となっている。近年は雌雄の数が同じで正常な発生を行う関西系のギンブナも関東に混入しているといわれているが詳細は不明である。このことから、鰾耙数や背びれの軟条数からギンブナと明らかに区別できるゲンゴロウブナについてのみ集計すると、多摩川・押島橋では雌5尾、雄6尾であり、神田川では雌5尾、雄10尾であった。ニゴイは、多摩川水系で7尾採捕されたが、すべて雌であった。今回の採捕数は、性比を把握するにはあまりにも少ないサンプル数であることから、尾数が十分に確保された時点で性比の実態を明らかにしていくことが必要である。

(3) 血清中のビテロジエニン濃度

図3に各調査地点の雄コイの血清ビテロジエニン濃度分布を示し、調査月別のビテロジエニン濃度を図4に示す。今回用いたビテロジエニン分析キットは、ビテロジエ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エニン濃度の定量下限値は39ng/ml (7.8ng/ml × 5)である。同一サンプルの繰り返し分析の結果やE.L.I.S.A法による分析感度等を考慮し、図3の凡例に示すビテロジエニン濃度のランク分けを行った。

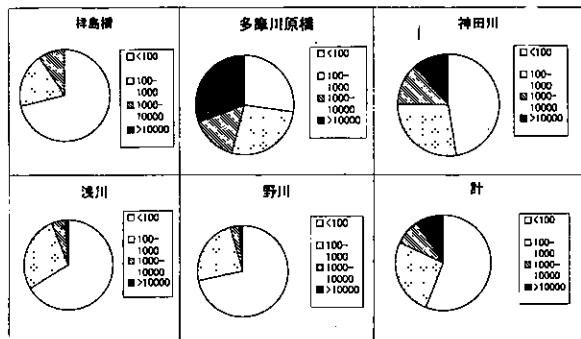


図3 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

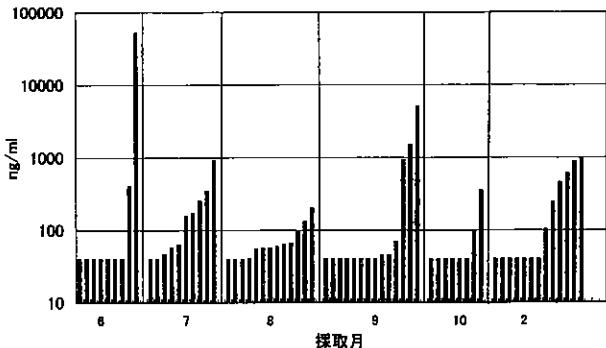


図4(4) 野川・仙川合流点 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

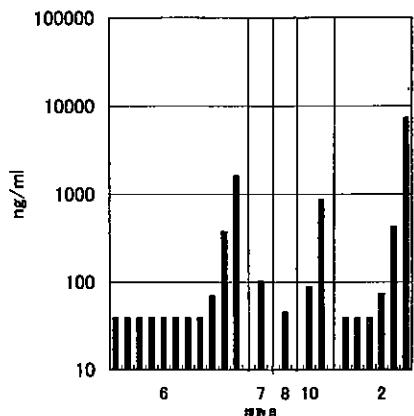


図4(1) 多摩川・拝島橋 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

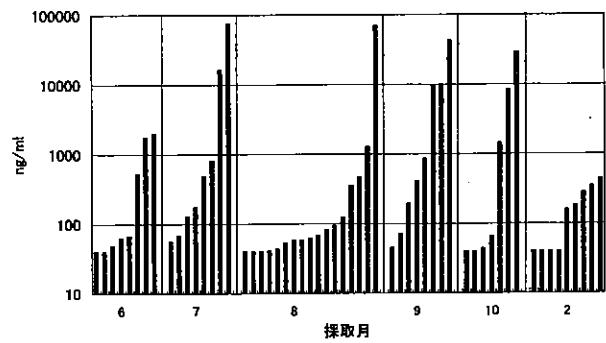


図4(5) 神田川・水道橋 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

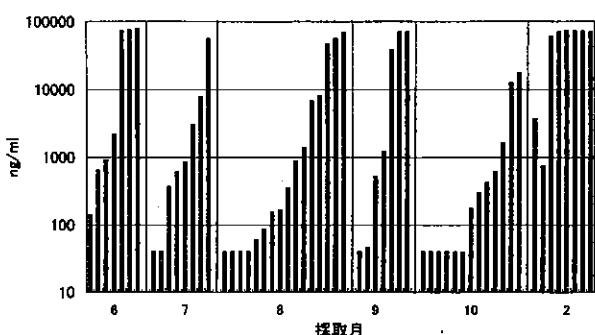


図4(2) 多摩川・多摩川原橋 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

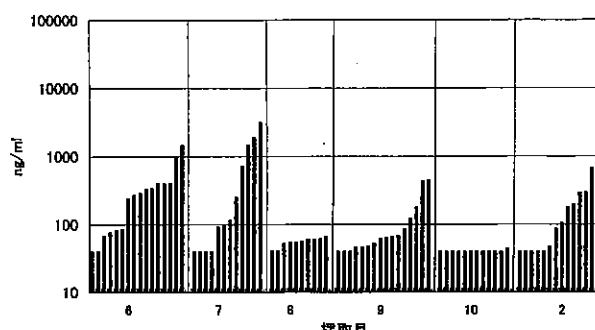


図4(3) 浅川・高幡橋 雄コイの血清ビテロジエニン濃度 ng/ml

ビテロジエニン濃度が著しく高いものは多摩川・多摩川原橋で多くみられ、雄コイの3割が10000ng/mlより高く、およそ4分の3が100ng/ml以上のビテロジエニン濃度であった。神田川の雄コイも全体的にビテロジエニン濃度が高い傾向がみられ、1割が10000ng/mlより高く、およそ2分の1が100ng/ml以上であった。一方、多摩川・拝島橋、浅川、野川の雄コイは10000ng/mlをこえるものはほとんど無く、大半は100ng/mlより小さい濃度であった。

通常、血清タンパク質のビテロジエニンの産生は雄に限られ、雄にはほとんどビテロジエニンが検出されない。しかしながら、雄にエストロジエン（女性ホルモン）処理すると血中にビテロジエニンが検出されることが知られている⁶⁾。このことから、魚類のビテロジエ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^{7),8)}。自然界の雄魚にビテロジエニンが検出された場合、それは環境水中の天然エストロジエンや環境ホルモンなどのエストロジエ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。環境水中に存在するエストロジエン様作用をもつ物質として

は、人畜由来のエストロジエンや環境ホルモンのほかに、同所に生息する雌から排出されたエストロジエンや植物性エストロジエンなど、天然に存在するものもある。

雄魚にエストロジエンを投与すると半日か1日以内に血中にこれまで検出されなかつたビテロジエニンが出現する⁷⁾。一方、ビテロジエニンが出現した雄をエストロジエンを含まない清水で飼育すると、ビテロジエニンは1~2ヶ月程度の短期間に減少する。つまり、雄コイがエストロジエン及びエストロジエン様物質の一時的な暴露を受けただけの場合は、長期にわたってビテロジエニンが産生することはない。よって、各調査地点で採捕したコイのビテロジエニン検出は、採捕時からあまりさかのばらない時期に、エストロジエン及びエストロジエン様物質が調査地点付近に存在したことを見示すものと考えられる。

調査地点の河川水のエストロジエンやエストロジエン様物質の詳細については、次報⁹⁾で報告する。ここでは、河川水のエストロジエン作用強度（Brunel大学酵母法による分析で 17β -エストラジオール換算値）と雄コイのビテロジエニン濃度の関係を図5に示す。

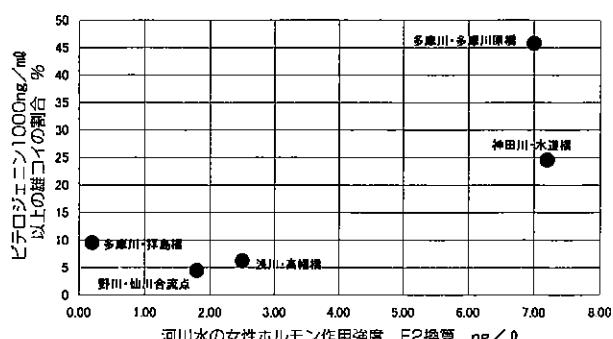


図5 河川水の女性ホルモン作用強度と雄コイの血清ビテロジエニン（河川水は2月の値を示す）

エストロジエン作用強度が高い多摩川・多摩川原橋や神田川で、ビテロジエニンは1000ng/mlをこえる割合が高かった。この2地点は、上記2(2) 調査地点の説明で述べたように下水処理水の影響が大きい地点である。近年、多摩川中流部では河川水量の約4割、神田川の下流では約8割が下水処理水で占められている³⁾。また、次報で示すように下水処理水のエストロジエン作用強度は、河川水のエストロジエン作用強度より強い。これらのことから、下水処理水由來のエストロジエンやエストロジエン様物質が雄コイに高い濃度のビテロジエニンを産生させている可能性が高いと推測された。

ただし、下水処理水放流地点より上流の拝島橋でも、一部の雄コイに比較的高濃度のビテロジエニンが検出されており、雄コイのビテロジエニン産生に関しては、下水処理水以外の影響要因についても今後、検討していくことが必要である。

今回は、図3のようにビテロジエニン濃度のランク分けを行ったが、清水域の正常な雄コイのビテロジエニン産生の程度についてはいまだ明確になっていない。現在、建設省により全国規模でコイのビテロジエニン調査が行われているが、調査結果を比較するうえで雄のビテロジエニンのベースラインを見極めることが課題としてあげられている⁷⁾。ビテロジエニンは単なる卵黄蛋白前駆物質で、それ以外の生理作用を持たず、雄の生殖巣を雌雄化する働きもないとの見解¹⁰⁾があることや、雄のビテロジエニン産生による生化学的反応と成長、生殖、生存との関係が明確になっていないことから、雄で検出されるビテロジエニンが魚類の再生産にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることは、今後の大きな課題である。

(4) 肉眼観察による精巣の異常の有無

上記2(6)の判定基準にもとづき精巣の肉眼観察を行った結果を表3、図6に示す。

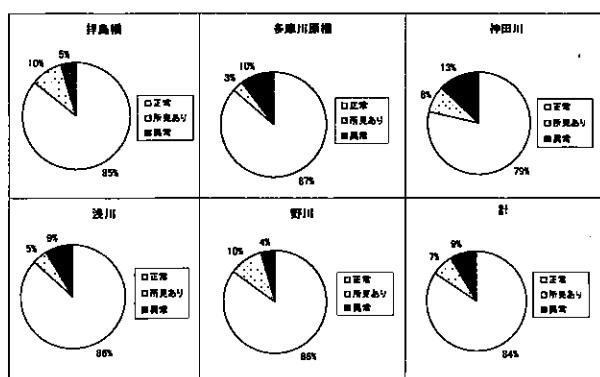


図6 コイ精巣の肉眼観察結果

全雄コイの9%に異常が認められた。多摩川・多摩川原橋や浅川の雄コイは、ひも状や極めて小さな精巣のものが他地点にくらべ多く認められた。神田川の雄コイは、瘤状の精巣のものが他地点にくらべ多く認められた。

正常な精巣や異常な精巣の代表的なものを写真1~4に示す。写真2は、右側の精巣全体が瘤状に膨隆したものである。外見的には全体が瘤状となったものの他に、数cm程度の瘤状のものがみられるものもあり、瘤

表3 肉眼観察および組織標本観察結果等

河川名	地点名	識別番号	魚種	全長(cm)	体長(cm)	性別(♂)	肥満度	生残臍重量(g)	GS(%)	ピラミッド	内眼観察による精管の外観異常の区分				組織標本観察による精管異常の区分						
											硬質症状	軟質症状	赤斑	くくれ	腫瘍形成	間質肥厚	不明細胞増殖	小量欠損	組織退縮	卵巣退化	外縁肥厚
多摩川	羽島橋	6-H-10	コイ	500	392	1550	124	34.6	22	38	○	●左ひも状			●						
	羽島橋	6-H-11	コイ	615	506	2880	122	119	43	70	○				○						
	羽島橋	6-H-13	コイ	532	430	1870	124	77.9	42	1600					○						
	羽島橋	2-A-20	オニョウ	335	274	543	144	158	29						○						
	多摩川原橋	6-T-1	コイ	620	534	3200	134	31	1	78000		●小さい									
	多摩川原橋	6-T-2	コイ	580	458	2050	136	72.7	35	2200					○						
	多摩川原橋	6-T-8	コイ	518	403	1950	147	28.3	15	74000		●小さい			○						
	多摩川原橋	7-T-9	コイ	582	465	2300	117	34.5	15	370					○						
	多摩川原橋	7-T-14	コイ	515	420	1700	124	39.1	22	7900					○						
	多摩川原橋	7-T-15	コイ	530	435	1760	119	10.8	0.6	510		●ひも状			●						
	多摩川原橋	7-T-16	コイ	640	535	2650	101	17.8	0.7	20		●小さい			●						
	多摩川原橋	8-T-9	コイ	547	438	1950	119	39	2	150					○						
	多摩川原橋	8-T-15	コイ	520	398	1760	125	25.3	14	29		●左腹部			●						
	多摩川原橋	8-T-20	コイ	494	382	1310	108	11.9	0.9	5					○						
	多摩川原橋	8-T-23	コイ	517	412	1650	118	33.2	2	350					○						
	多摩川原橋	8-T-29	コイ	470	377	1370	132	27.3	2	85	●	●	○								
	多摩川原橋	9-T-7	コイ	496	400	1560	128	75.3	4.8	38000					○						
	多摩川原橋	2-T-2	コイ	484	386	1460	129	167.1	11.4	3700					○						
	多摩川原橋	2-T-4	コイ	517	413	1620	117	72.8	4.5	740					○						
淀川	古瀬橋	6-A-B	コイ	690	420	3200	97	16.7	0.5	400	●左石	●ひも状			●						
	古瀬橋	6-A-19	コイ	560	445	2000	114	56.3	2.8	240		●左中央			○						
	古瀬橋	6-A-21	コイ	455	356	1220	130	40.9	3.4	20		●左ひも状			○						
	古瀬橋	6-A-23	コイ	445	354	1180	134	30.4	2.6	68		●左腹部			○						
	古瀬橋	7-A-1	コイ	614	492	2540	110	31.5	12	1500					●						
	古瀬橋	7-A-2	コイ	578	466	2170	112	46.5	2.1	26					○						
	古瀬橋	7-A-3	コイ	491	400	1750	148	21.5	12	730					○						
	古瀬橋	7-A-12	コイ	473	381	1720	163	27.7	1.6	93					○						
	古瀬橋	7-A-14	コイ	561	478	2850	161	105.4	3.7	250					○						
	古瀬橋	8-A-10	コイ	524	427	2010	140	19	0.9	60					○						
	古瀬橋	B-A-20	コイ	536	433	1540	100	17.9	1.2	40					○						
	古瀬橋	B-A-23	コイ	542	452	1640	103	12	0.7	53					○						
	古瀬橋	9-A-2	コイ	620	506	3130	132	119.7	3.8	440					●						
	古瀬橋	9-A-17	コイ	538	420	1820	118	9.6	0.5	430	●ひも状	●			○						
	古瀬橋	10-A-2	コイ	501	390	1580	124	24.2	1.6	5					●						
	古瀬橋	10-A-3	コイ	554	440	2150	126	60.7	2.8	7					●						
	古瀬橋	10-A-7	コイ	545	428	2030	125	86.9	4.3	5	●左	●石ひも状			●						
	古瀬橋	10-A-14	コイ	537	439	1700	110	62.5	3.7	5					○						
	古瀬橋	10-A-16	コイ	529	413	2080	141	11.1	0.5	5	●一部	●ひも状			●						
	古瀬橋	10-A-19	コイ	522	421	2110	148	783	3.7	5					○						
	古瀬橋	2-A-3	コイ	584	460	2260	113	68.3	3	5					○						
	古瀬橋	2-A-7	コイ	528	439	1760	125	50.1	2.8	85					○						
	古瀬橋	2-A-24	コイ	487	368	1650	162	123.2	7.5	19					●						
野川	仙川合流点	6-N-10	コイ	595	480	1900	94	32.4	1.8	0					○						
	仙川合流点	6-N-15	コイ	520	424	1860	139	122.2	6.3	400	●左石中天				●						
	仙川合流点	6-N-17	コイ	574	470	2680	142	103.3	3.9	0					○						
	仙川合流点	6-N-20	コイ	600	486	3150	145	69.5	2.2	0					○						
	仙川合流点	N-N-3	コイ	592	466	3450	158	50.3	1.5	62					○						
	仙川合流点	7-N-10	コイ	590	462	2400	117	36	1.6	160					○						
	仙川合流点	7-N-18	コイ	580	471	3150	161	45	1.4	46					○						
	仙川合流点	8-N-2	コイ	580	462	2340	120	79.8	3.4	65					○						
	仙川合流点	8-N-6	コイ	470	382	1570	151	33	2.1	58					○						
	仙川合流点	8-N-9	コイ	534	484	2000	131	46.1	2.3	95		●つぶつ状			●						
	仙川合流点	10-N-3	コイ	668	532	3810	128	39.3	1	350	●左先端	●石ひも状			●						
	仙川合流点	10-N-18	コイ	556	400	2060	120	164.2	8	5		●でこぼこ			○						
	仙川合流点	10-N-20	コイ	571	469	1990	107	19.7	1	3					○						
	仙川合流点	2-D-6	コイ	621	492	3380	141	95.1	2.8						○						
神田川	水道橋	6-K-11	コイ	550	470	3340	190	64	1.9	1700	●右腹部										
	水道橋	6-K-19	フナ類	390	300	900	152	44.8	5	940		●分離しやすい									
	水道橋	6-K-26	フナ類	354	288	680	153	46.3	6.8	1800					○						
	水道橋	6-K-29	フナ類	350	270	780	182	23	2.9	70000	●左中央ひも状										
	水道橋	7-K-2	コイ	666	556	5280	164	145.9	3	68					○						
	水道橋	7-K-5	コイ	714	580	4510	124	142.6	3.2	480					○						
	水道橋	7-K-10	コイ	641	525	4110	155	88.1	2.1	15000					○						
	水道橋	8-K-6	コイ	730	599	5220	134	4305	8.2	42		●ドツ状									
	水道橋	8-K-9	コイ	481	378	1600	144	64.7	4	93		●左ひも状				○					
	水道橋	19-K-6	コイ	670	548	5030	167	341.5	6.8	71		○左右バランス									
	水道橋	19-K-8	コイ	632	511	4850	192	276.3	5.7	860	●法部										
	水道橋	19-K-10	コイ	676	538	5050	163	402.5	8	29000	●円形				●						
	水道橋	10-K-B	コイ	593	546	5500	173	211.3	3.8	1400	●右中央				●						
	水道橋	2-K-7	コイ	497	405	2230	162	113.7	5.1	13					●						
	水道橋	2-K-8	コイ	593	655	10600	149	286	2.7	440	●全体				●						
	水道橋	2-K-11	コイ	730	591	7500	193	186.5	2.5	71000	●左腹部				○						
	水道橋	2-K-13	コイ	782	628	8210	172	342.2	4.2	350					○						
	水道橋	2-K-14	コイ	605	657	8010	153	177.1	2.2	5	●右	●左後部			●						

注) ●:異常 ○:所見あり 肥満度:体重／(全長)³×10⁷
 GSI:生殖腺体指数(生殖腺重量×100) ビテロジエニンの単位:ng/mℓ

状の部分は、硬いものと、水様物質の貯留（写真3）が認められる場合があった。写真4は、精巣が極端に萎縮してひも状となっているものである。外見的には組織が軟化するなど、放精にともなう正常な萎縮とは異なる萎縮部分が認められた。写真のように全体がひも状になる場合のほかに、片側の精巣だけに萎縮がみられるものや両側又は片側にくびれたような萎縮部分があるものも認められた。

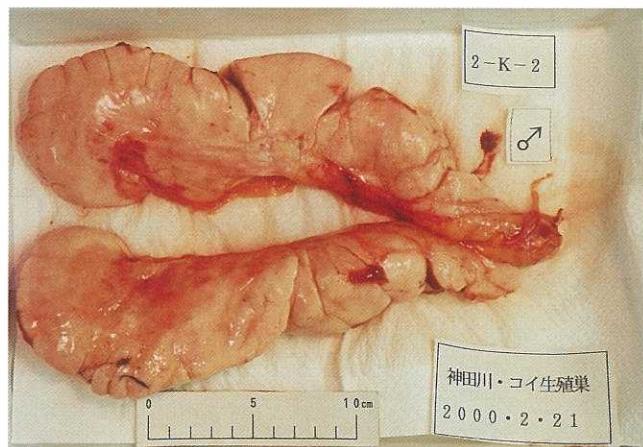


写真1 正常な精巢

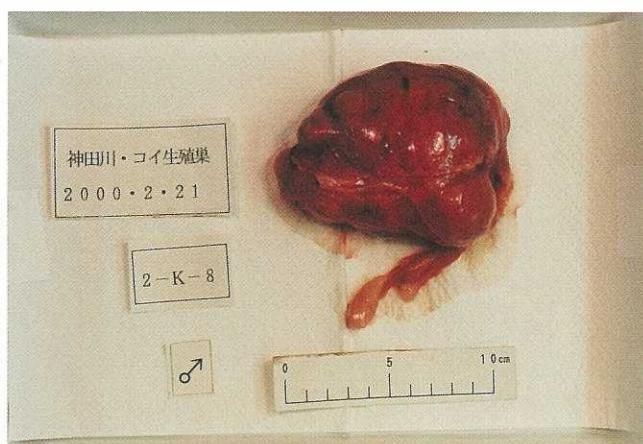


写真2 瘤状

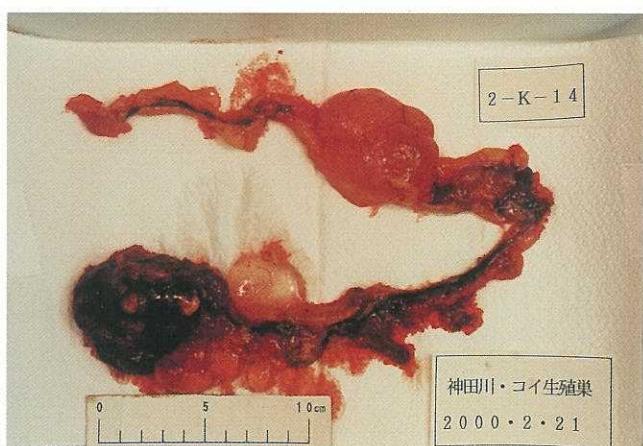


写真3 水様物質の貯留

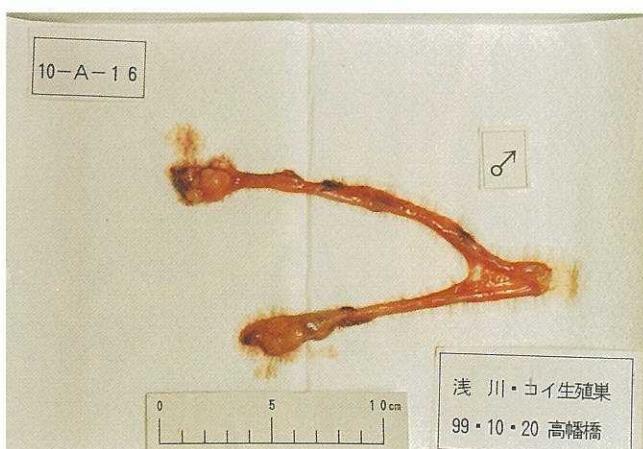


写真4 ひも状

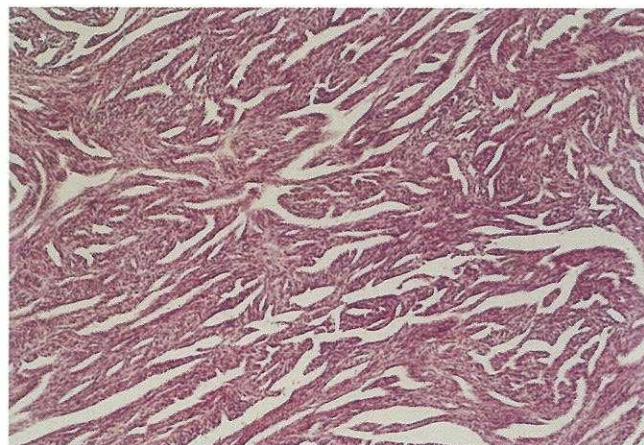


写真5 腫瘍形成

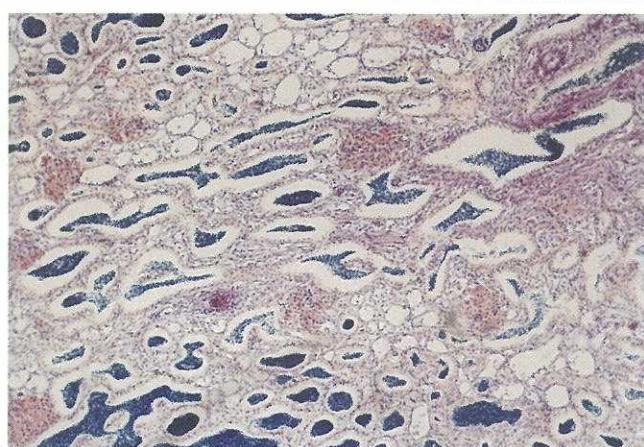


写真6 間質組織の肥厚

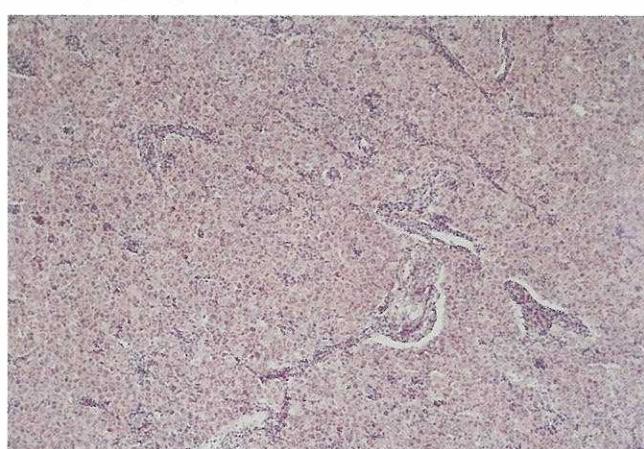


写真7 不明細胞の増殖

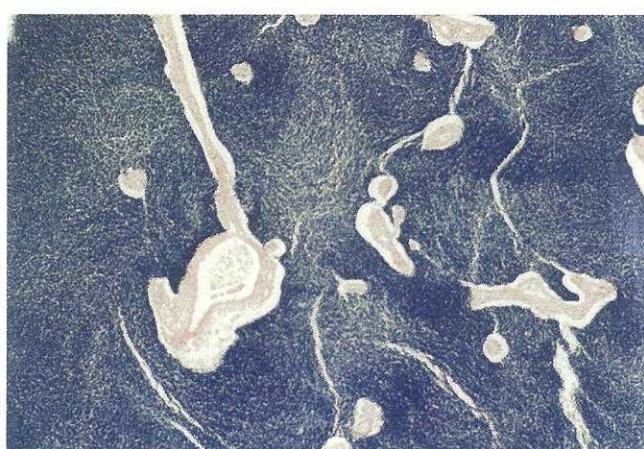


写真8 小嚢構造の欠損

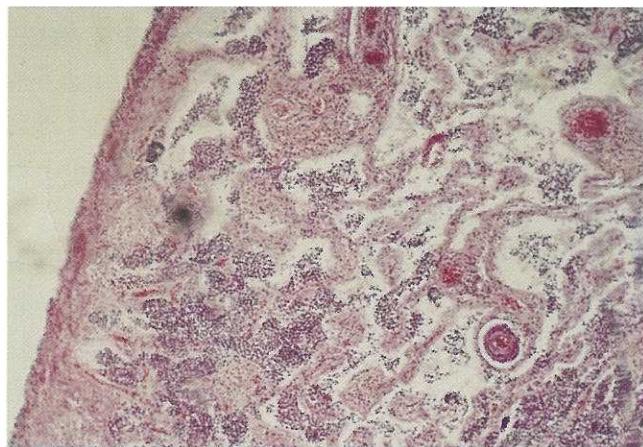


写真9 間質および生殖細胞の退縮

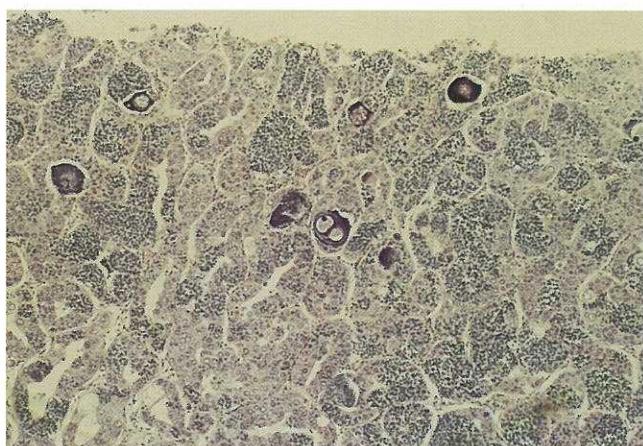


写真10 卵巣起源の細胞の存在

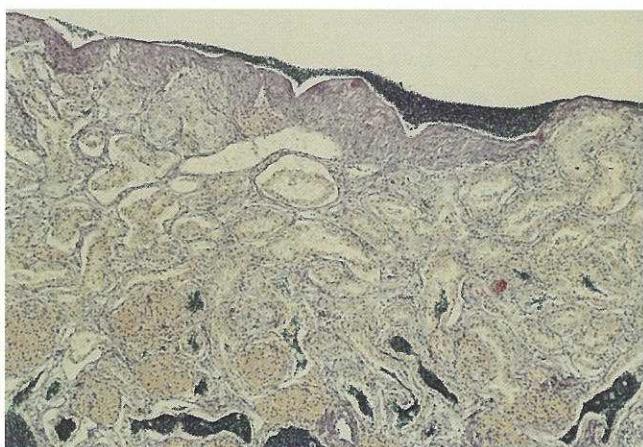


写真11 外膜肥厚



写真12 正常な精巣組織

(5) 細胞学的観察による精巣の異常の有無

精巣の発達状況、構造、組織の変性などを顕微鏡観察し、その状態を写真記録した。コイの精巣については、組織学的観察にもとづく異常や成熟過程についての知見が非常に少ないとや、異常の程度に関する判定基準についての報告例がないことから、現時点では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は正常とし、細胞増殖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、極一部に正常なものと異なる細胞や組織が認められる場合を所見ありとした。なお、組織標本は、精巣の一部から採取した組織片について作製したものであるから、組織片の検体に異常がなくても、その他の部分に異常がある可能性は否定できない。しかし、精巣全体の組織学的観察は現実的には困難であるので、組織片での観察を各精巣の組織学的観察結果とした。具体的には下記の所見にもとづき、精巣の組織、細胞の変性に着目して組織学的観察を行った。

① 繊維細胞由来と推定される腫瘍の形成

精巣内にヘマトキシンに濃く染色される核をもち、細胞質が不明瞭な纖維細胞と思われる細胞によって結節状に集塊したもの。腫瘍内部は増殖した纖維細胞によって占められ、小囊構造はほとんど認められないもの（写真5）。なお、局所的に腫瘍が形成された精巣で、腫瘍部以外には顕著な異常がみとめられないものが観察されるが、この場合も異常と判断する。

② 間質組織の肥厚

精小囊の間質を構成する結合組織に肥厚が認められるもの（写真6）。間質組織が小囊内に入り組んだ状態になり小囊構造が不明確になる場合や小囊内部に生殖細胞や精子がほとんど存在しないもの。

③ 体細胞（不明細胞）の異常増殖

精小囊内に精子形成に関与していないと思われる体細胞の異常増殖がみられるもの（写真7）。

④ 小囊構造の欠損

精巣内に小囊構造がみられず、粗雑な結合組織が一部にみられるもの。精子はみられるが、精原細胞を含めた生殖細胞が存在しないもの（写真8）。内部の精子が存在するのは、反対側の精巣で形成された精子が輸精管をとおして流入したと推定される。

⑤ 間質および生殖細胞の退縮

間質が退縮し、小囊構造が不明瞭になるもの。構成細胞が欠落した部分が認められるもの（写真9）。

⑥ 卵巣起源の組織や細胞の混在

精巣内に卵巣起源の雌性生殖細胞が混在する、いわゆる雌雄同体のもの（写真10）。

⑦ 外膜肥厚

精巣に外膜の肥厚が認められるもの（写真11）。

⑧ 正常な精巣組織（写真12）。

以上の所見にもとづき、組織学的観察を行った結果を表3、図7に示す。全雄コイの9%に異常が認められた。多摩川・多摩川原橋や浅川の雄コイは、多摩川・押島橋、野川にくらべ異常精巣が多く認められた。5地点のなかで異常なものの割合が最も多かったのは神田川で、15%に異常が認められた。

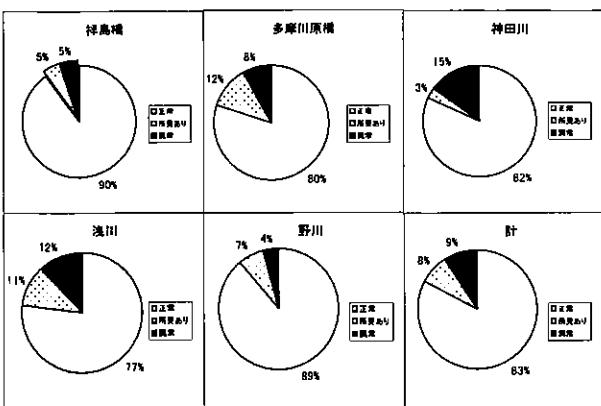


図7 コイ精巣の組織学的観察結果

肉眼観察による精巣異常で瘤状（硬質）のものは、上記①の纖維細胞由来と推定される腫瘍の形成とほぼ対応していた。表3中のコイの生殖腺体指数（生殖腺体指数 = 生殖腺重量 / 体重 × 100）は、生殖腺の発達状況を量的に検討する場合の指標で、図8に示すように季節変動をするが、両側が萎縮した精巣をもつコイの場合は、この値は小さい。上記②③の間質肥厚、不明細胞増殖に対応するものは萎縮した精巣であることが

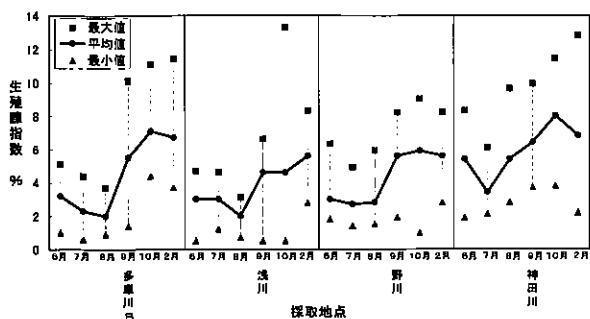


図8 雄コイの生殖腺体指数月変化 (B: 多摩川原橋)

多いが、不明細胞増殖があっても外観には異常が認められないものもあった。今回の観察結果では、⑥雌雄同体のものは所見ありレベルの1検体のみであった。

なお、外観観察、組織観察を問わず、精巣異常が認められたコイのビテロジェニン濃度は表3の中で示したように高低まちまちで、精巣異常とビテロジェニン濃度との相関関係はみられなかった。

中村ら¹¹⁾は、多摩川の雄コイの約30%で、精巣が著しく小さい、精子形成量が少ない、精巣内に体細胞組織が著しく発達しているなどの異常が観察されたとしている。本研究でも同様な精巣異常が観察された。多摩川水系では、外観観察では雄コイの7%に、組織観察では8%に異常が認められた。外観異常と組織異常をあわせると11%のものに異常がみられた。中村らの結果にくらべると低い割合であったが、コイの精巣異常が少なからず存在することが分かった。

神田川のコイの組織学的観察結果は、①の腫瘍形成したもののが他地点にくらべて多く、雄コイの11%に①の異常が認められた。なお、神田川のコイについては、雌雄とも内蔵や生殖腺のまわりに大量の脂肪がついたものが多くみられ、生殖腺全体の摘出作業は脂肪を取り除くため、通常の解剖より時間を要した。体重は、図9に示すように他地点にくらべて重く、肥満度（体重／（全長）³×10⁷）も表3の中に示したように高い数値であることから、栄養過多や加齢の影響による生殖腺異常も考えられる。

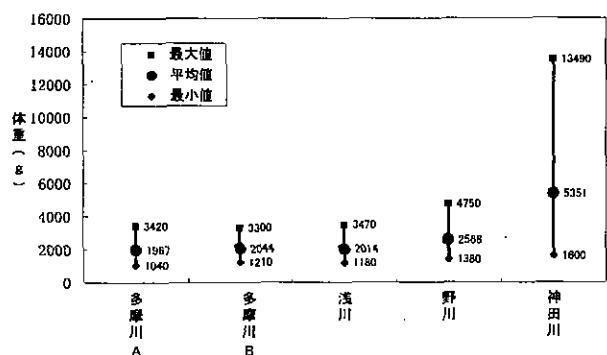


図9 コイ（雌雄）体重データ（A：拝島橋、B：多摩川原橋）

魚類の生殖腺の発達は、河川水質のほか、水温、個体群密度、餌など、さまざまな環境要因によって支配されている⁴⁾。エストロジエンや環境ホルモンをはじめ、どのような要因が生殖腺の発達に大きな影響を及ぼしているかを検討し、本調査でみられた精巣異常の原因を明らかにしていくことが必要である。

4 おわりに

都内河川5地点で538尾のコイを採捕した結果、雌雄数は、雌248尾、雄290尾であった。このうち多摩川水系では雌204尾、雄229尾で、性比はほぼ1:1であった。前年度調査結果をあわせても同様であり、現段階では、コイの性比に大きな偏りはないといえる。

多摩川・多摩川原橋、神田川・水道橋の雄コイは、他の地点に比べ高い濃度のビテロジェニンが検出された。この2地点の上流には規模の大きい下水処理場があり、ビテロジェニン検出に下水処理水中のエストロジエン、エストロジエン様物質の影響が示唆された。

コイの精巣を肉眼観察および組織学的観察した結果、全体の約8割は精巣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が、他方、約1割に瘤状、ひも状等の異常な精巣や腫瘍形成して精子がないものが認められた。また、明らかな異常とはいえないものの、組織の一部に不明細胞増殖や組織退縮などが認められるものが約1割あった。

都内河川の魚類の生殖腺異常やビテロジェニン濃度の実態については引き続き調査研究を進め、あわせて河川水等のエストロジエンやエストロジエン様物質の挙動調査もしていく予定である。

本調査研究における魚類採捕は、新日本環境調査株式会社に委託して行った。

組織学的観察の所見については、帝京大学の中村将氏（現琉球大学）、新日本気象海洋株式会社環境創造研究所の大西悠太氏からご教示をいただいた。関係各位に深く感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 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－, 19pp. 東京都環境保全局環境管理部, 1998.
- 2) 和波一夫, 鶴津暉之: 多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その1), 東京都環境科学研究所年報 1999, 212~217.
- 3) 平成10年度公共用水域の水質測定結果(総括編), 東京都環境保全局水質保全部, 424pp. 1999.
- 4) 中村 将, 井口泰泉: 多摩川にみる魚類の異変, 科学, 68(7), 515~517, 1998.