

多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その5） —都内河川のコイ等にみられた卵巣異常の実態と雌雄の生殖腺異常の比較—

宮下 雄博* 和波 一夫 嶋津 晖之

加地 弘一** 大月 正人*** 高橋 憲一***

(*非常勤研究員 **現山梨県水産技術センター ***埼玉工業大学)

要　旨

都内河川で採捕されたコイ等（計528尾）の卵巣異常の有無を調査し、精巣異常との比較を行った結果、主に以下の3点が明らかとなった。

- (1) コイの卵巣異常の出現率は約3%（11尾/374尾）で、精巣異常（約11%）よりも低い頻度で出現していた。フナ類では123尾のうち1尾に異常がみられたが、個体数の少なかったニゴイ（11尾）とハクレン（20尾）にはみられなかった。
- (2) 卵巣の組織異常には、退行変性卵と纖維芽細胞由来の腫瘍の2種類が認められた。
- (3) 精巣と卵巣の組織異常を比較した結果、精巣に特異的にみられた不明細胞の異常増殖はエストロジエンやエストロジエン様物質の影響をうけている可能性が示唆された。

キーワード：内分泌かく乱化学物質（環境ホルモン）、コイ、生殖腺異常、卵巣、精巣

1 はじめに

河川に流入する内分泌かく乱化学物質は魚類の生殖異変を引き起こす可能性があると考えられている。中村ら¹⁾は多摩川のコイでは性比が雄に偏っていること、コイの精巣には約30%もの異常がみされることを報告した。東京都では、1998年7月に策定された環境ホルモン取組方針のもとに、多摩川をはじめ都内河川に生息するコイ等の生殖異変の実態について本格的な調査を実施してきた。その結果、コイの性比はほぼ1:1で性比に偏りはみられないが、コイの精巣には約11%の異常が認められることが明らかとなった^{2,3)}。

雄にみられるこのような生殖異変は、下水処理場などから排出されるエストロジエンやエストロジエン様物質が原因となっている可能性が指摘されている。一方、雌では体内でエストロジエンが大量に分泌されるため、そのような影響はないと考えられている。従って、エストロジエンやエストロジエン様物質の影響を

適切に評価するためには、生殖異変の実態を雌雄間で比較する必要がある。そこで、本研究では都内河川におけるコイ等の卵巣異常の実態を明らかにし、雌雄の生殖腺異常を比較することによって、これまで報告されてきたコイ等の精巣異常がエストロジエンやエストロジエン様物質と関連するのかどうかを検討した。

2 材料と方法

1999年度から2000年度にかけて都内河川の8地点（図1、表1）で採捕されたコイ [*Cyprinus carpio*]（計374尾）、ゲンゴロウブナ [*Carassius cuvieri*]などのフナ類（計123尾）、ニゴイ [*Hemibarbus barbus*]（計11尾）、ハクレン [*Hypophthalmichthys molitrix*]（計20尾）の計528尾を対象として、卵巣の外観および組織学的観察を行った。卵巣の摘出作業や組織標本の作製法は既報²⁾、前報³⁾と同様に行った。

卵巣の外観に変形や変色などが認められた場合には、

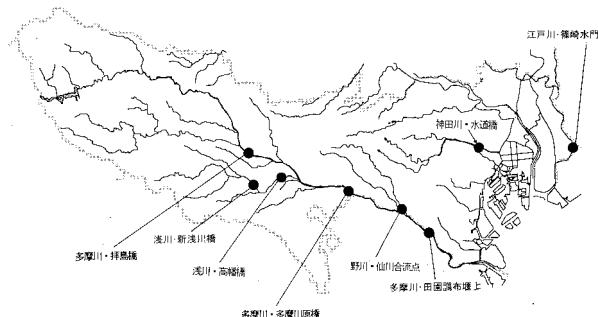


図1 都内河川のコイ等の採捕地点

表1 各地点において採捕された魚種と尾数（雌）

河川	地点	採捕年月日	魚種(尾数)
多摩川	拝島橋	99/6/7, 7/22, 8/9, 9/6, 10/26, 00/2/24	コイ(14)、フナ類(31)、ニゴイ(8)
	多摩川原橋	99/8/8, 7/7, 8/2, 9/7, 10/25, 00/2/29	コイ(52)、ニゴイ(1)
	田園調布堰上	00/6/29, 9/11, 12/11, 01/3/1	コイ(46)、フナ類(32)、ニゴイ(1)
浅川	新浅川橋	00/6/19, 9/6, 12/19, 01/3/5	コイ(54)
	高幡橋	99/6/15, 7/12, 8/3, 9/8, 10/20, 00/2/23	コイ(58)
野川	仙川合流点	99/5/31, 7/14, 8/10, 9/13, 10/28, 00/3/2	コイ(80)、フナ類(3)
神田川	水道橋	99/6/14, 7/5, 8/16, 9/16, 10/19, 00/2/21	コイ(44)、フナ類(17)
江戸川	篠崎水門上	00/6/26, 9/28, 12/4, 01/3/8	コイ(16)、フナ類(40)、ニゴイ(1)、ハクレン(20)
合計			…コイ(374個体)、フナ類(123個体)、ニゴイ(11個体)、ハクレン(20個体)

それらを外観異常として記録した。組織学的観察では細胞や組織に顕著な変性等が認められた場合に、組織異常として記録した。本研究では、卵巣異常の判定は組織異常にもとづいて行い、組織標本の全体にわたって細胞や組織に顕著な変性等が認められた場合を卵巣異常として判定した。また、組織標本の一部に同様の変性が一様にみられた場合には、所見ありとして記録した。

卵巣は時期により、その外観と組織像が大きく異なる。コイ等は5月頃から産卵期に入るため、冬から春頃にかけて卵巣は大きく、その内部には成熟した卵が充满している（写真1、1'）。一方、産卵後の夏から秋頃にかけて卵巣は小さく、肉眼では卵はまばらにしか認められない。また、卵巣全体はやや赤みを帯びている（写真2）。この赤みを帯びた部分を組織学的に観察すると、内部には未成熟な卵が数多く形成されており（写真2'）、翌年の産卵期に向けての再生産が行われていると考えられた。従って、卵がまばらにしかみられず、全体に赤みを帯びた卵巣であっても外観異常としては記載しなかった。

精巣については、本研究で材料とした雌と同地点で採捕された雄の情報を既報²⁾と前報³⁾から抽出して、卵巣との比較を行った。卵巣異常の判定基準と同様に、既報²⁾の表3と前報³⁾の表5にもとづき、組織標本の全体に顕著な変性が認められた場合を精巣異常と判定した。ただし、多摩川・田園調布堰上で採捕された雄コイの1尾（識別番号6-D-10）では、精巣の左葉の大

部分を輸精管が占め、精子形成が十分に行われていなかった。このような状態は精巣異常であると考えられるが、細胞や組織そのものに変性がみられる訳ではない。従って、この雄コイについては、精巣異常をもつと判定したが、組織異常の中には含めなかった。既報²⁾、前報³⁾とともにコイが調査の中心であり、精巣異常のほとんどがコイにみられた。一方、その他の魚種については尾数が少なく、情報が不十分であるため、雌雄の生殖腺異常の比較はコイにおいてのみ行った。

3 結果及び考察

3-1 卵巣異常の実態

コイの卵巣異常は374尾のうち11尾に出現し（表2）、その出現率は2.9%であった。各地点別にコイの卵巣異常の出現率をみると、多摩川・拝島橋、浅川・高幡橋及び江戸川・篠崎水門上では0%、多摩川・多摩川原橋では1.9%、多摩川・田園調布堰上では2.2%、神田川・水道橋では2.3%、野川・仙川合流点では2.5%、浅川・新浅川橋では9.4%であり、新浅川橋は他の地点と比べて高い頻度で出現した。フナ類では123尾のうち江戸川・篠崎水門上で採捕された1尾に異常がみられたが、個体数の少なかったニゴイとハクレンにはみられなかった。

卵巣の外観異常には以下の4つのタイプが認められた：(1)硬変した卵塊が卵巣全体、または一部にみられるもの（写真3）；(2)卵巣の片側が萎縮、またはひも状になったもの（写真4）；(3)こぶ状に膨隆したもの（写真5）；(4)水様物質の貯留（水胞）がみられるもの（写真6）。外観に異常がみられた部分には、それぞれ以下のよう組織異常が認められた：(1)硬変した卵塊の部分では、組織の大部分が退行変性卵によって占められていた（写真3'）。これらの退行変性卵には、円形のものや卵が変形してつぶれているもの等があり、その形態は様々であった。また、退行変性卵の周辺部には、食作用をもつ顆粒膜細胞やマクロファージ等の集塊がみられた；(2)萎縮、またはひも状になった部分では、組織の大部分を卵黄球などの卵の内容物やマクロファージ、纖維芽細胞等が占めており、局所的に退行変性卵や卵膜の残骸がみられた（写真4'）。そのため、これらの組織は(1)の退行変性卵が再吸収される過程の組織像であると考えられる；(3)こぶ状に膨隆した部分は、纖維芽細胞由来の腫瘍が組織全体を占めており、卵は

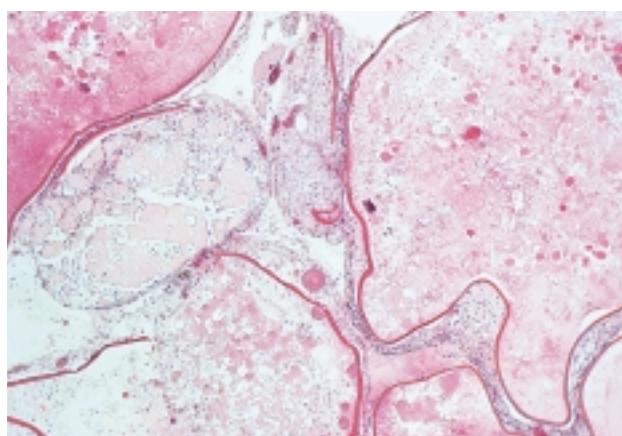
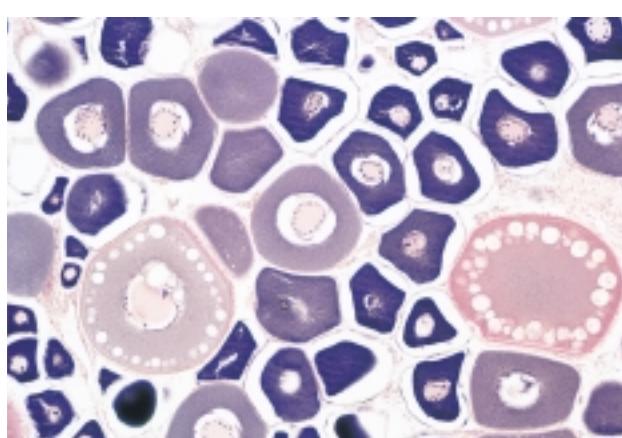
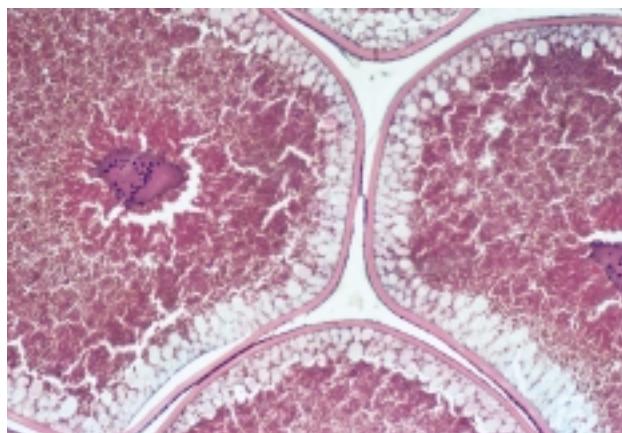




写真4 婆縮した卵巣（下側）

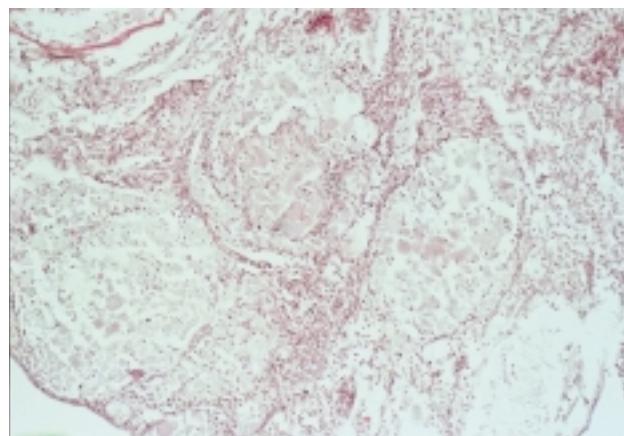


写真4' 再吸收される過程の退行変性卵



写真5 こぶ状部をもつ卵巣

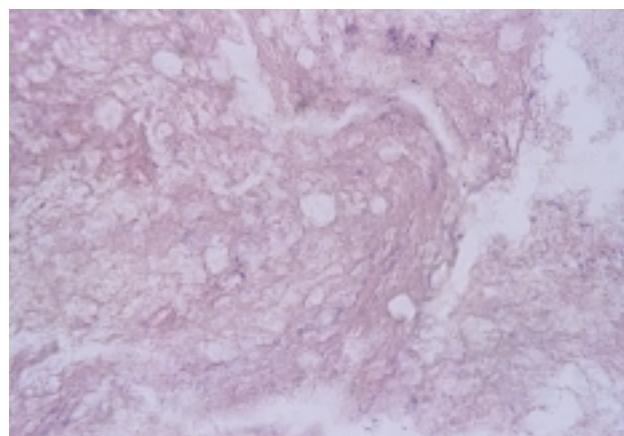


写真5' 繊維芽細胞由来の腫瘍



写真6 水胞をもつ卵巣

形成されていなかった(写真5')。外観に異常がみられた部分では、いずれも顕著な組織異常が認められたが、これら以外の部分では卵巣組織は正常で、卵が形成されていた。(4)水胞をもつ卵巣は1尾でのみ観察されたが、この部分については、組織標本が作製できなかつたために、正常か異常かの判定は下していない。

以上のように、卵巣の組織異常は退行変性卵と纖維芽細胞由来の腫瘍の2種類に整理される。このうち、卵巣に特異的にみられる退行変性卵については加齢による影響が考えられるため、体重との関係を検討してみた。その結果、退行変性卵をもつ雌コイは、正常な卵巣をもつ雌コイと比べてやや大きな傾向がみられたが(図2)、統計的に有意な差は認められなかつた。退

行変性卵をもつ雌コイの大部分は新浅川橋で採集されているが、その原因については今後の検討が必要である。

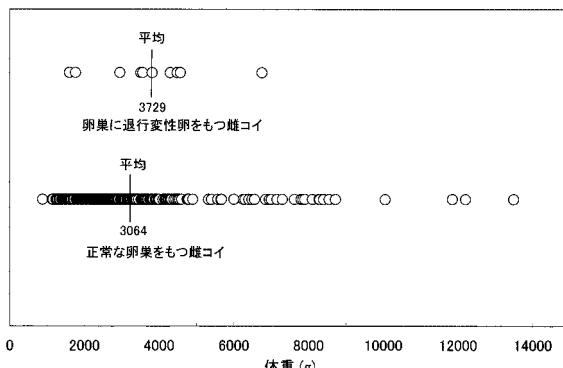


図2 卵巣に退行変性卵をもつ雌コイと正常な卵巣をもつ雌コイの体重の比較

表2 コイ等の卵巣にみられた外観及び組織異常

河川名	地点名	識別番号	魚種	体重(g)	外観異常				組織異常		備考	総合判定
					硬変した卵塊	こぶ状	萎縮、ひも状	水胞	退行変性卵	腫瘍		
多摩川	拝島橋	8-H-1	コイ	1960					○			○
		8-H-3	フナ類	460					○			○
		8-H-4	ニゴイ	855					○			○
		8-H-6	フナ類	570					○			○
		8-H-8	フナ類	580					○			○
多摩川原橋	7-T-7	コイ	2400						○			○
	7-T-11	コイ	2210						○			○
	9-T-4	コイ	2790					●			組織標本なし?	
	10-T-23	コイ	1740		●右葉後部					●		●
田園調布堰上	6-D-19	コイ	1600	●卵巣全体					●			●
	9-D-16	フナ類	810						○			○
浅川	新浅川橋	6-S-5	コイ	4300	●右葉	●左葉ひも状			●ひも状部	●こぶ状部		●
		6-S-6	コイ	4570	●卵巣全体				●			●
		6-S-10	コイ	3560	●部分的				●			●
		6-S-14	コイ	4480	●部分的				●			●
		6-S-18	コイ	3810	●部分的				●			●
		9-S-24	コイ	3510	●卵巣全体				●			●
高幡橋	8-A-6	コイ	2590						○			○
	8-A-17	コイ	1420						○			○
野川	仙川合流点	6-N-3	コイ	1760	●部分的				●			●
		8-N-10	コイ	2950	●部分的				●			●
神田川	水道橋	7-K-12	コイ	5670					○			○
		10-K-13	コイ	6750	●部分部						組織標本なし	●
江戸川	篠崎水門上	6-E-30	フナ類	628		●右葉萎縮			●			●
		3-E-14	ハクレン	3240					○			○

○所見あり
●異常

3-2 雌雄の生殖腺異常の比較

コイでは雌雄ほぼ同数の生殖腺を比較したが、卵巣と精巢の異常頻度は大きく異なっていた(表3)。卵巣異常は約3%であったのに対して、精巢異常は約11%出現している。本研究により、都内河川のコイにおいては卵巣異常の出現率は精巢異常と比べて低いことが明らかとなった。しかし、このような違いは、精巢と卵巣の発生過程や生理的な違いによって、外因性の化学

物質とは無関係に生じる可能性も考えられるため、今後、この点についてはさらに検討していく必要がある。

卵巣と精巢には組織異常の違いが認められた。卵巣では2種類の組織異常がみられたのに対して、精巢には7種類の組織異常が観察されている(表3)。卵巣と精巢と共に通してみられた組織異常は纖維芽細胞由来の腫瘍のみで、その他の組織異常は雌雄どちらか一方にしか観察されなかつた。理論的には、エストロジエン

表3 コイにおける卵巣異常と精巣異常の比較

雌雄の生殖腺の区分	卵巣		精巣						
生殖腺異常の出現率	2.9%		10.5%						
出現尾数／総尾数	11/374		41/389						
組織異常の区分	退行変性卵	腫瘍	不明細胞	精巣卵	間質肥厚	小囊欠損	組織退縮	外膜肥厚	腫瘍
組織異常の出現率	2.4%	0.5%	5.1%	0.3 (1.5) %	0.5%	0.3%	0.3%	0.5%	4.6%
出現尾数／総尾数	9/374	2/374	20/389	1(6)/389	2/389	1/389	1/389	2/389	18/389

()内は所見ありも含めた尾数と出現頻度

やエストロジエン様物質は魚類の雄に生殖異変をもたらす可能性があると指摘されているので、雄に特異的にみられた組織異常に、その影響が反映されていると考えられる。

① 機能不明な細胞の異常増殖 雄のみに観察された組織異常のうち、最も多くみられたのは不明細胞の異常増殖である（表3）。この組織異常は中村¹⁾らによつても報告されており、「機能不明な黄色を呈する体細胞の集塊が精巣組織の大部分を占め、正常なものと比べて精子を含む生殖細胞がわずかしかみられない」と記述されている。このような組織異常をもつ精巣は、ひも状や萎縮などの外観異常を伴う場合が多い。同様の外観異常は卵巣にも認められるが、卵巣ではこの部分の組織は退行変性卵からなり、不明細胞は存在しない。前報³⁾で記述されているように、不明細胞は精小囊内にあり、その形態は精原細胞とよく似ている。

この不明細胞が精原細胞であるとすれば、この組織異常は、エストロジエンやエストロジエン様物質の影響を受けている可能性がある。精子形成に関するホルモン調節機構の解明についてはウナギを用いた優れた実験系がある。同実験では^{4,5)}、エストラジオール 17β (E_2) は精原細胞の増殖を促進する作用をもつが、精原細胞から精子への形成過程を誘導できないことが明らか

にされている。そのため、精原細胞のみからなるウナギの精巣を E_2 で培養すると、精子は出現せず、精小囊内には精原細胞だけが存在する。このように、 E_2 は精子形成の初期の段階においてのみ作用することから、本来 E_2 が作用しない段階で、エストロジエン様物質が精原細胞の増殖をもたらし、正常な精子形成過程に悪影響を与える可能性が指摘されている⁴⁾。

以上のことから、多摩川のコイの精巣にみられた不明細胞の異常増殖は、河川中に流入した外因性のエストロジエンやエストロジエン様物質などの影響により引き起こされた可能性がある。不明細胞の増殖がみられた雄コイの平均体重は、正常な精巣をもつ雄コイのそれよりもやや大きく、信頼度97%で有意な差がみられた（図3）。そのため、これらの雄コイは正常な雄と比べて老齢であると考えられ、長期にわたってエストロジエンやエストロジエン様物質に暴露してきた可能性がある。

② 精巣卵 精巣にのみ観察された他の組織異常のうち、精巣卵の存在については、Joblingら⁶⁾によって、これがエストロジエン様物質の影響によるものであることが示唆されている。彼らはコイ科のローチを用いた実験から精巣卵が5%程度の低い頻度で出現する状態は、エストロジエン様物質の影響ではなく、自然状態でも起こりうることを示している。都内河川のコイでは、精巣卵の出現率は所見あり程度の組織異常を含めても、2%以下である（表3）。従って、コイにみられた精巣卵は自然状態でも起こりうる可能性がある。

③ 繊維芽細胞由来の腫瘍 肿瘍は雌雄共にみられたが、雄コイでは雌に比べてその出現率は著しく高かった（表3）。また、精巣に腫瘍をもつ雄コイの平均体重は正常な雄コイのそれよりも大きく、信頼度97%で有意な差がみられた（図4）。これに対して、雌ではそのような傾向はみられなかった（図5）。既報³⁾では、雄コイの腫瘍は神田川で最も多く現れること、また、神田川で採

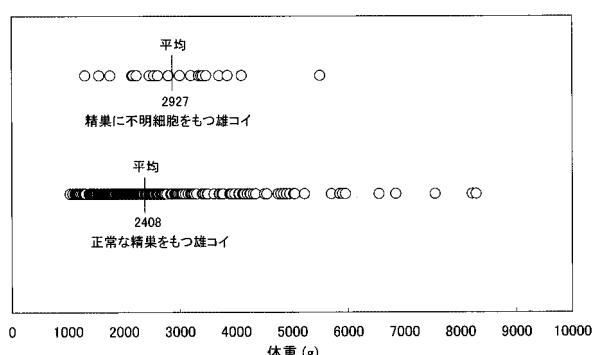


図3 精巣に不明細胞をもつ雄コイと正常な精巣をもつ雄コイの体重の比較

捕されたコイが他の地点と比べて著しく大きいことから、腫瘍の原因の1つとして加齢の可能性があると述べられている。しかし、神田川で採捕された雌コイは、雄コイと同様に他の地点のものと比べて著しく大きいにもかかわらず（既報³の図9）、腫瘍は出現しなかつた。これらの事実により、腫瘍の原因是加齢ではなく、雄に特異的に作用する他の要因であることが示唆される。しかし、腫瘍のメカニズムはよく分かっておらず、雌雄で腫瘍の出現率が潜在的に異なる可能性も考えられる。そのため、都内河川の雄コイに多くみられた腫

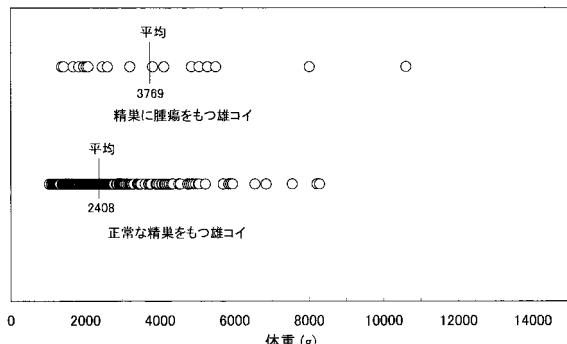


図4 精巣に腫瘍をもつ雄コイと正常な精巣をもつ雄コイの体重の比較

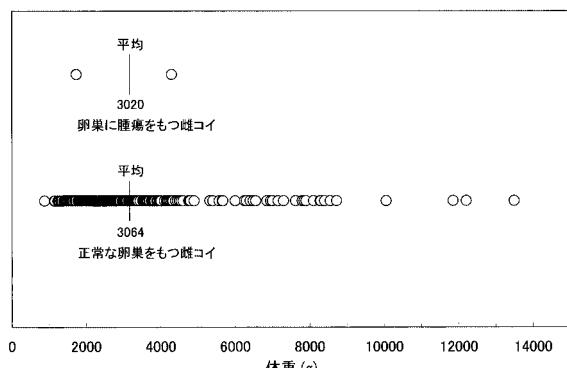


図5 卵巣に腫瘍をもつ雌コイと正常な卵巣をもつ雌コイの体重の比較

瘍がエストロジエンやエストロジエン様物質の影響によるものかどうかは今後、検討していく必要がある。

精巣に特異的に観察された残りの4種類の組織異常についてはその出現率が低く、これらに関する知見もないために、エストロジエンやエストロジエン様物質との関連性については現段階では評価できない。

4 おわりに

都内河川の8地点から採捕されたコイ等の卵巣異常

の有無を調査した結果、コイの卵巣異常の出現率は2.9%（11尾/374尾）であった。また、フナ類では卵巣異常は123尾のうち1尾にみられたが、個体数の少なかったニゴイとハクレンにはみられなかった。卵巣の外観異常には、(1)硬変した卵塊があるもの、(2)萎縮またはひも状になったもの、(3)こぶ状に膨隆したもの、(4)水胞のあるものがみられた。これらの部分を組織学的に観察すると、(1)硬変した卵塊と(2)萎縮またはひも状の部分には退行変性卵がみられ、(3)こぶ状の部分には纖維芽細胞由来の腫瘍が認められた。

雌雄の生殖腺異常を比較すると、卵巣異常（約3%）は精巣異常（約11%）よりも低い頻度で出現していることが明らかとなった。また、卵巣と精巣の組織異常を比較した結果、精巣に特異的にみられた不明細胞の異常増殖は、(1)不明細胞が精原細胞とよく似ていること、(2)ウナギを用いた実験系では、E₂は精原細胞の増殖を促進する作用をもつが、精原細胞から精子への形成過程を誘導できないことから、この組織異常がエストロジエンやエストロジエン様物質の影響をうけている可能性が示唆された。

本研究によって、都内河川のコイにおいては雄の生殖異変は雌よりも多く出現すること、また、精巣にはエストロジエンやエストロジエン様物質の影響が疑われる組織異常が認められた。従って、これまで報告されてきた雄コイ等にみられる生殖異変はエストロジエンやエストロジエン様物質によって引き起こされている可能性がある。しかし、本研究で示した根拠は、いずれも直接的な因果関係が明らかになっていないため、今後は暴露実験などによって、これらの生殖異変がエストロジエンやエストロジエン様物質の影響によって引き起こされるかどうかを検証していく必要がある。また、腫瘍などを含めて未解決な問題点も多く、環境ホルモン問題を考える上で、生殖異変に関する基礎的な研究が望まれる。

本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。精巣の組織学的観察所見及びそれらとエストロジエンやエストロジエン様物質との関連性については、大西悠太氏（国土環境株式会社環境創造研究所）からご教示を頂いた。卵巣の組織学的所見については、酒井清氏（東京水産大学）からご教示頂いた。関係各位に深く感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 中村 将、井口泰泉：多摩川にみる魚類の異変、科学、**68**(7), pp.515-517 (1998)
- 2) 和波一夫ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その2)、東京都環境科学研究所年報、pp.153-164 (2000)
- 3) 和波一夫ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その6)、東京都環境科学研究所年報、pp.72-81 (2001)
- 4) Miura, T. et al. : Estradiol-17 β stimulates the renewal of spermatogonial stem cells in males, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **264**, pp.230-234 (1999)
- 5) 三浦猛、三浦智恵美：精子形成機構、月刊海洋、**32**(2), pp.102-106 (2000)
- 6) Jobling, S. et al. : Widespread sexual disruption in wild fish, *Environ. Sci. Technol.*, **32**(17), pp.2498-2506 (1998)

Study on Endocrine Disrupters in Tokyo's Rivers (5)

—Ovarian Abnormalities of Carp and Other Cyprinid Fishes with Comments on Effects of Endocrine Disrupters Based on Comparison between Male and Female Gonad Abnormalities—

Takehiro Miyashita*, Kazuo Wanami, Teruyuki Shimazu, Koichi Kaji**,
Masato Otsuki*** and Kenichi Takahashi***

(* Associate researcher, ** Yamanashi Prefectural Fisheries
Technology Center, *** Saitama Institute of Technology)

Summary

To evaluate whether the incidence of gonad abnormalities in males of carp found in Tokyo's rivers as reported in the previous paper was due to the effects of endocrine disrupters, ovarian abnormalities of 528 fish were assessed, and compared with that of testes in terms of frequency and histopathology. The following results were found:

- (1) The frequency of ovarian abnormalities in carp was about 3% (11/374 fish), a very low level as compared to that of testes (11%). In other cyprinid fishes, ovarian abnormality was found in only a single specimen of Japanese *Carassius* sp.;
- (2) Ovarian abnormalities could be divided into two histopathological types, atretic oocytes and fibromas;
- (3) Gonad histopathological comparison between male and female carp revealed that among testes abnormalities there is a possibility that excessive proliferation of what appears to be spermatogonia was induced by endocrine disrupters.

Keywords: endocrine disrupters (EDs), carp, gonad abnormalities, ovary, testis