

内分泌かく乱化学物質の影響を実験室で調べる

—メダカを用いた試験—

基盤研究部 塩田 勉

1 はじめに

内分泌かく乱化学物質による魚類の生殖異常が疑われる事例として、英国河川に生息する淡水魚ローチ（コイ科）の雌雄同体や、東京湾で採取された魚類における精巢卵（卵を有する精巢）の出現等が報告されている。東京都においても、都内河川水中から内分泌かく乱化学物質が検出されることから、魚類に及ぼす影響についての調査研究を行っている。魚類は様々な外的要因（水温、餌、化学物質等）の影響を受けており、現場調査だけで生殖異常の原因を把握することは難しい。そのため、外的要因を排除可能な実験室内において魚類を内分泌かく乱作用が疑われる化学物質に暴露し、生殖などへの影響を調べる必要がある。本研究では、メダカを実験室内で内分泌かく乱化学物質に暴露し、産卵や孵化といった繁殖能力そのものを指標にこれらの物質の影響を調べた。

2 試験魚としてのメダカの有用性

メダカは、①孵化後数ヶ月で成魚になる、②自然環境中では性転換しない、③良好な飼育条件下では毎日産卵する、等の性質から、内分泌かく乱化学物質の影響を調べるのに非常に適した魚種である。また近年、遺伝的な雌雄が体表の白色素胞により判別できるFLF系統や、体が透明で外部から生殖巣等の観察が可能なシースルーメダカなど、新たな系統もつくられている。

3 メダカを用いた内分泌かく乱化学物質の試験

(1) 試験方法

メダカ成魚を雌雄ペアとして飼育し、正常な産卵・受精を確認した後、雄あるいは雌のみを化学物質に2週間暴露した。暴露終了後、清水中に戻して再び産卵させ、1週間分の産卵数と孵化数を対照のそれと比較し、繁殖に及ぼす影響を評価した。また、暴露の影響がどの程度の期間で回復するかを、雄あるいは雌を化学物質に2週間暴露した後14日間採卵することにより調べた。

(2) 結果

a) 雄に対する暴露試験

人畜由来の女性ホルモンである17βエストラジオール(E2)への暴露では、非常に低濃度(0.82 μg/L)で対照に比べ産卵数と孵化数が低下した(図1 a)。2.7 μg/L以上でも50個程度が産卵されたが、そのほとんどは未受精卵で孵化しなかった。他の化学物質では、ビスフェノールA(BPA)において産卵数と孵化数が低下したが、E2に比べるとかなり高い濃度(2700 μg/L)であった。フタル酸ジエチルヘキシル、ベンゾフェノンへの暴露は産卵数・孵化数に影響を及ぼさなかった。

b) 雌に対する暴露試験

E2への暴露では、雄に影響を与えた濃度よりさらに低い濃度(0.027 μg/L)で孵化数が低下した(図1 b)。他の化学物質では、雄に対しては影響を与えなかった低濃度のノニルフェノール(NP) 6.6 μg/Lにおいて産卵数が低下した。しかし、トリブチルスズへの暴露は影響を与えなかった。

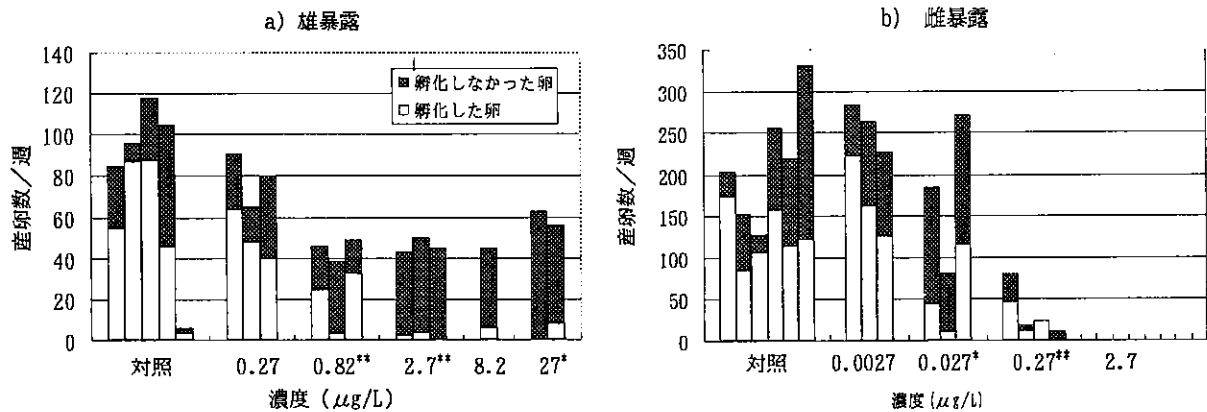


図1 雄 (a) あるいは雌 (b) を17βエストラジオール (E2) に2週間暴露した群における産卵数および孵化数 (対照と比較して、*孵化数に有意差有り **孵化数と産卵数に有意差有り)

c) 繁殖能力の回復試験

雄をE2に暴露した結果、暴露後14日を経ても繁殖能力の回復は見られず、産卵数及び孵化数は対照より少なかった。それに対し雌へのE2暴露では、日数の経過に従い産卵が再開され、繁殖能力は回復して来ると思われた。産卵の再開には、E2の濃度が高いほど日数を要した。

d) 環境中濃度との比較

平成10年～12年に東京都環境局が行った都内水域の内分泌かく乱化学物質調査によると、E2、NP、BPAは表1に示す濃度範囲で検出された。これらを、本研究において繁殖能力に影響が見られなかった濃度 (NOEC：無影響濃度) と比較すると、BPAは環境中濃度との差が非常に大きかったが、E2とNPについては環境中の最高検出濃度は無影響濃度に近かった。今後、これらの物質の水環境中での安全性について、さらに詳細な調査研究が必要と考えられる。

4 まとめ

本研究により、内分泌かく乱化学物質の試験法としてメダカを2週間暴露する繁殖試験が有効であることが示された。本研究や我が国の他の研究成果を元に、内分泌かく乱化学物質に関するOECDテストガイドライン (案) の試験魚としてメダカが採用された。今後は、新たに作られたFLFシステムなどを用いて、内分泌かく乱化学物質に対する暴露の影響を検討する予定である。

表1 各化学物質の無影響濃度 (NOEC) および環境中濃度 (μg/L)

物質名	NOEC	環境中濃度 (検出率)
E2	0.27*1	<0.0001~0.0005*3 (6/34)
	0.0027*2	
NP	<6.6	<0.1~1.6 (44/102)
BPA	680	<0.01~0.88 (79/102)

*1 雄暴露試験
 *2 雌暴露試験
 *3 平成12年の測定結果

用語説明

内分泌かく乱化学物質

内分泌かく乱化学物質の定義については、そのメカニズムが必ずしも明らかでないため、国際的に議論が続けられている。環境省は、1998年に公表した環境ホルモン戦略計画SPEED'98の中で「動物の生体内に取り込まれた場合に、本来、その生体内で営まれている正常なホルモン作用に影響を与える外因性の物質」と定義している。

魚類の雌性化現象

1980年代、英国リー川で下水処理場の下流に生息するローチに生殖腺の雌雄同体が確認された。原因物質として、人畜由来女性ホルモンのエストラジオールやエストロン、また合成化学物質であるアルキルフェノール類等が疑われている。日本では、東京湾で採取したカレイやコノシロの雄に精巣卵（精巣中に卵細胞が出現したもの）が認められ、内分泌かく乱化学物質による影響が疑われている。

メダカFLF系統

近年、名古屋大学において開発された生殖研究用のメダカ。メダカの性はXY染色体により決定されるが、本系統はY染色体上に白色素細胞の遺伝子があり、遺伝的雄にのみ体表に白色素が現れる。これを利用して雌雄の遺伝的性が判別できる。本系統の利点は、遺伝的雌雄の判別が受精後3日目と、早い時期に可能なことである。ただ、X染色体とY染色体の間の交差率が3～4%と高い。

暴露

生物が化学物質等に接触すること。魚類を用いた試験では、化学物質を水に溶かすほか、餌に混ぜる、注射などにより直接注入する、等の方法が用いられる。

無影響濃度（NOEC）

毒性試験において、試験生物への影響が対照群と比べて有意な差を示さない無作用濃度のうちの最高試験濃度をいう。No Observed Effect Concentration の略。

本研究で用いた化学物質と主な用途等

17βエストラジオール	女性ホルモンの一種。体内で代謝された後、尿中に排泄される。
ノニルフェノール	界面活性剤等の合成原料
ビスフェノールA	エポキシ樹脂及びポリカーボネートの原料
フタル酸ジエチルヘキシル	プラスチックの可塑剤
ベンゾフェノン	医薬品合成原料、保香剤等
トリブチルスズ	船底塗料や魚網の防汚剤。現在、国内では生産されていない。