

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

内分泌かく乱化学物質問題の発端

野生生物に対する影響の事例

「Our Stolen Future」 邦題 「奪われし未来」
(シーア・コルボーン他、1996年)

魚類に対する影響の事例

- ・英国河川でコイ科のローチに生殖腺の雌雄同体が出現 (Sumpterら、1980年代)
- ・多摩川のコイに生殖異常？ (中村ら、1998年)

東京都の公共用水域

- ・河川の水量に占める下水処理水の割合高い
- ・河川や内湾に他県からも汚濁物質が流入

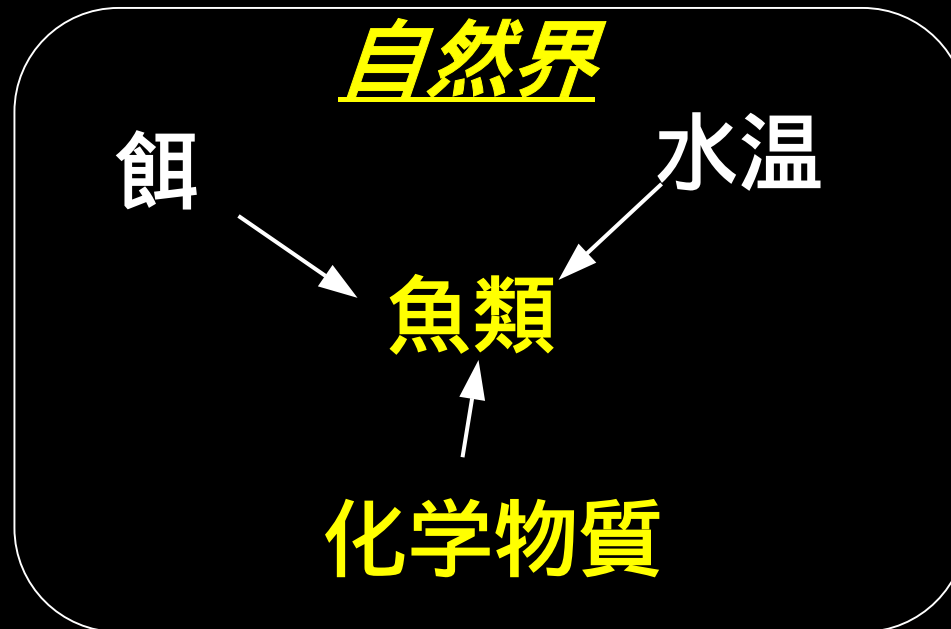
→ 化学物質のリスク高い



1998年東京都環境ホルモン取り組み方針を策定。
魚類への影響に関する調査・研究を開始。

原因を明らかにするためには？

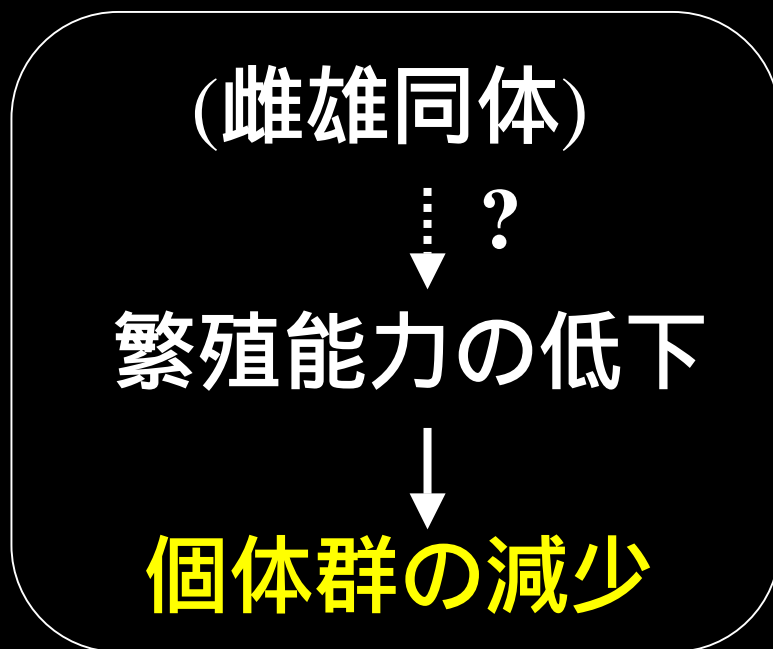
自然界の魚類は様々な影響を受けている



外的影響を排除可能な室内実験が必要

化学物質の水生態系への影響を把握するには？

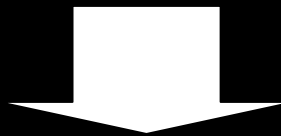
雌雄同体は個体群の減少に結びつくか？



化学物質が魚類の繁殖能力に及ぼす影響を調べる

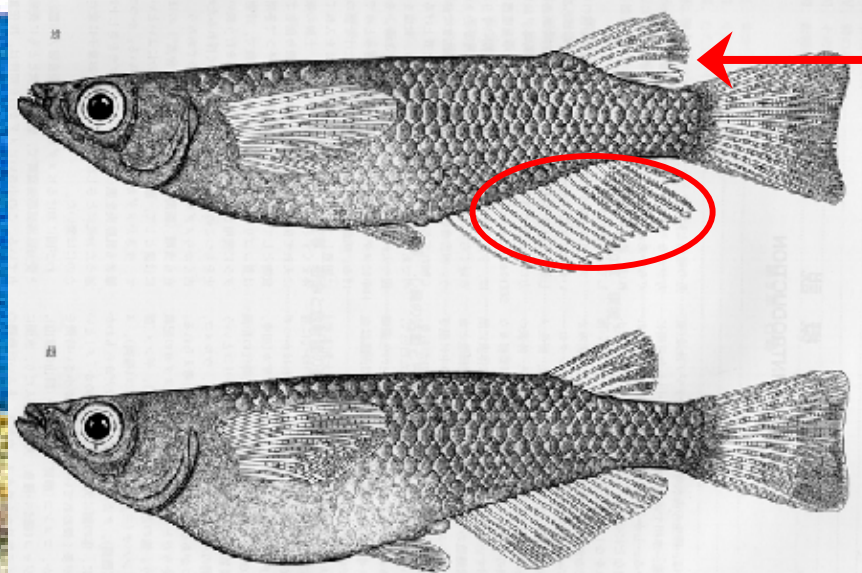
本研究の目的

化学物質が魚類の繁殖に及ぼす影響を
実験室内で調べる



ビテロジェニン濃度、都内河川水の汚染レベルと
比較し、実際の水環境中での影響について検討

メダカの有用性



オス

メス

岩松 鷹司 「メダカ学全書」より

孵化後数ヶ月で成熟する
良好な飼育条件下では毎日産卵する
化学物質の影響以外では性転換しない
ひれの形態で雌雄が判別できる
小型で取り扱いが容易

実験方法

予備産卵
(2週間)

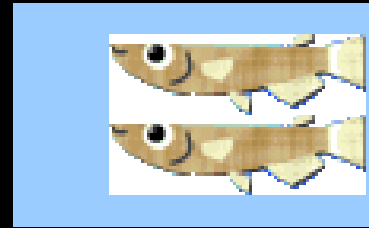
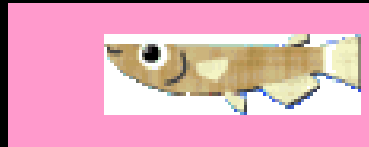


暴露
(2週間)

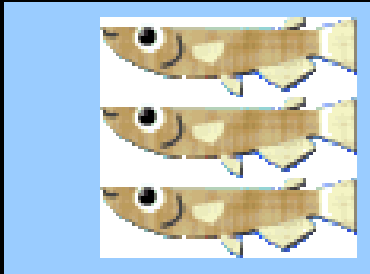
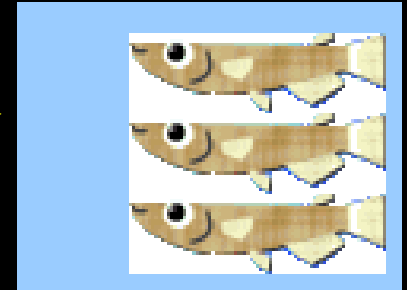
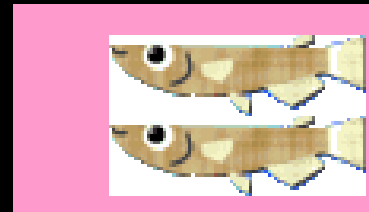
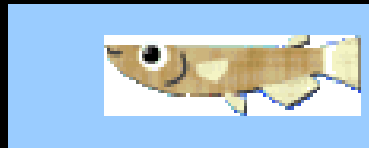


産卵
(1週間)

オス暴露



メス暴露



産卵数、受精率
チェック

産卵数、孵化数計数

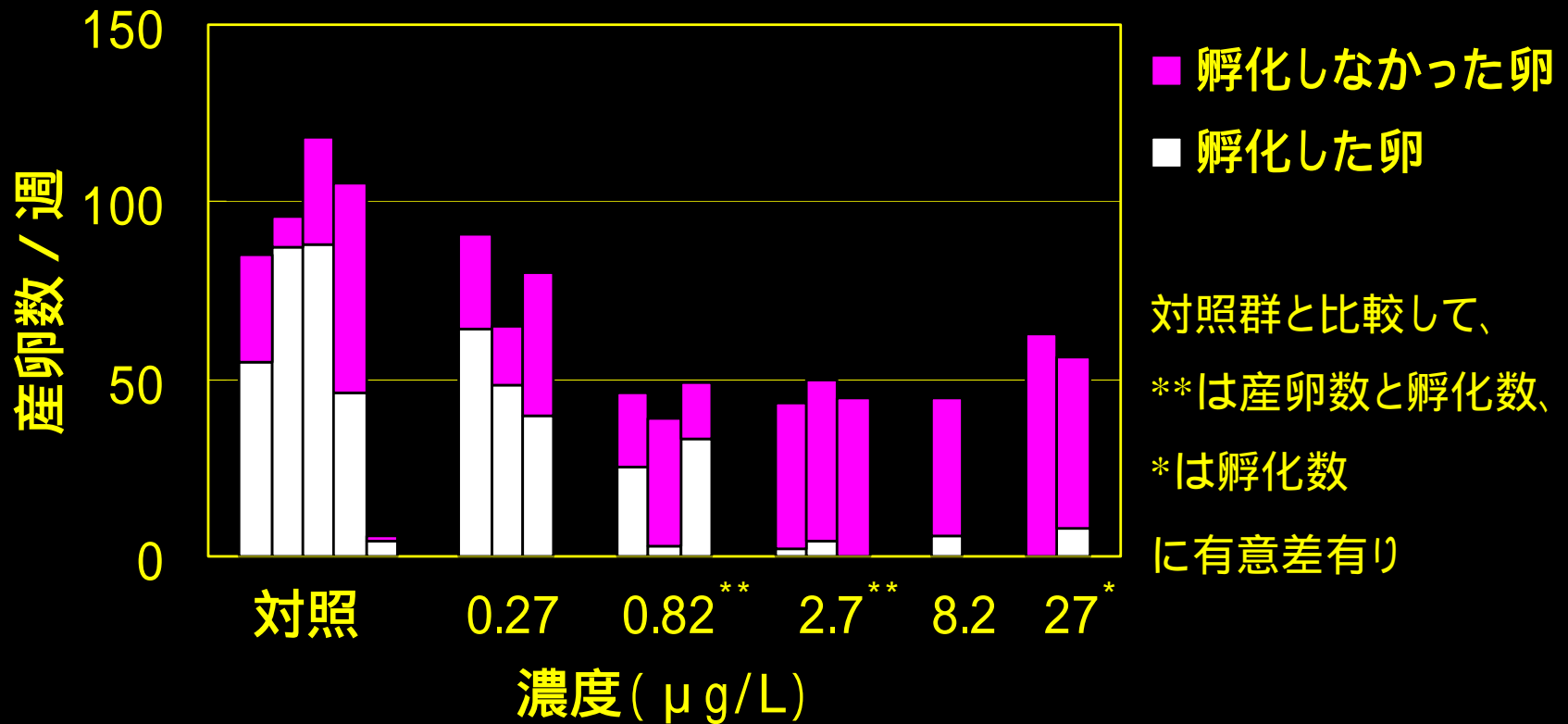
試験に用いた化学物質

*ND: 検出せず **平成12年度のみ

| 物質名 | 主な用途 | 過去3年間の都内水域における | |
|--------------|---------------|-----------------------------|--------|
| | | 検出濃度 ($\mu\text{g/L}$) | 検出頻度 |
| 17 エストラジオール | (人畜由来の女性ホルモン) | ND* ~ 0.0005 | 6/34** |
| ノニルフェノール | (界面活性剤の分解生成物) | ND ~ 1.6 | 44/102 |
| ビスフェノールA | ポリカーボネート樹脂 | ND ~ 0.88 | 79/102 |
| フタル酸ジエチルヘキシル | 塩ビの可塑剤 | ND ~ 17 | 24/102 |
| ベンゾフェノン | 医薬品合成原料、保香剤など | ND ~ 0.23 | 63/102 |
| トリブチルスズ | 船底塗料、漁網の防汚剤 | ND ~ 0.006 | 9/102 |

エストラジオール以外は環境省が優先的にリスク評価を実施している

結果(オス暴露 エストラジオール)



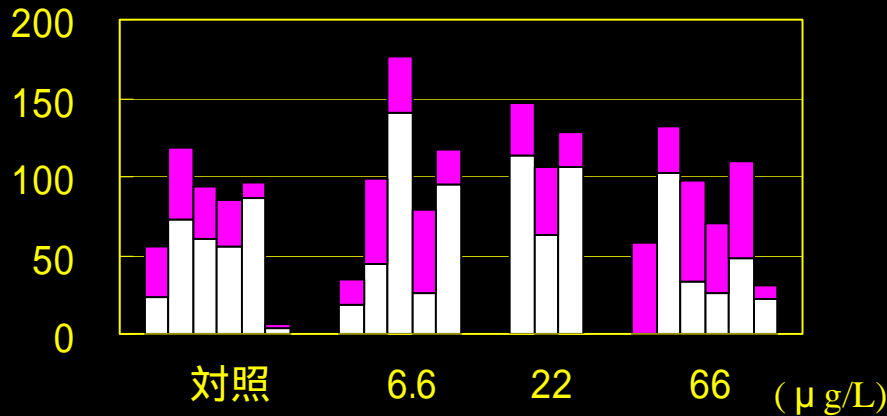
産卵数以上に孵化数が著しく低下。高濃度区ではほとんどが未受精卵。

エストラジオールの影響によりオスの排精能力が低下？

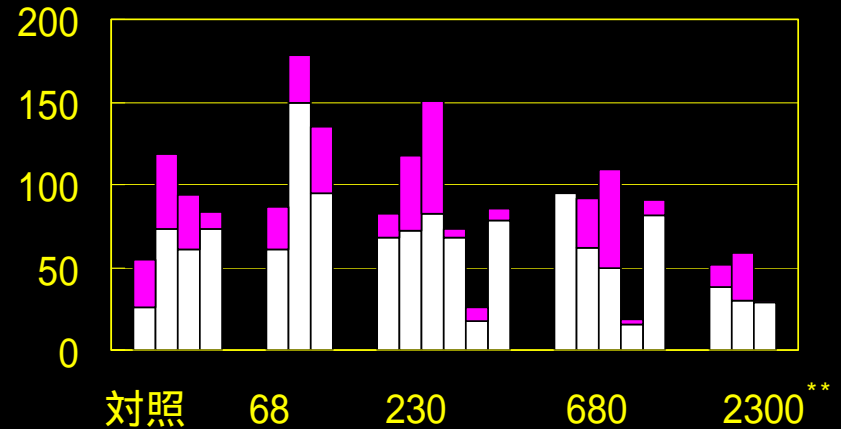
結果(オス暴露 合成化学物質)

産卵数/週

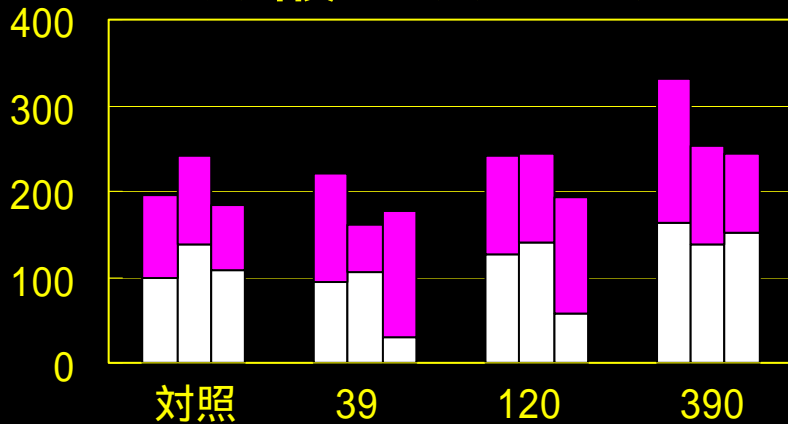
ノニルフェノール



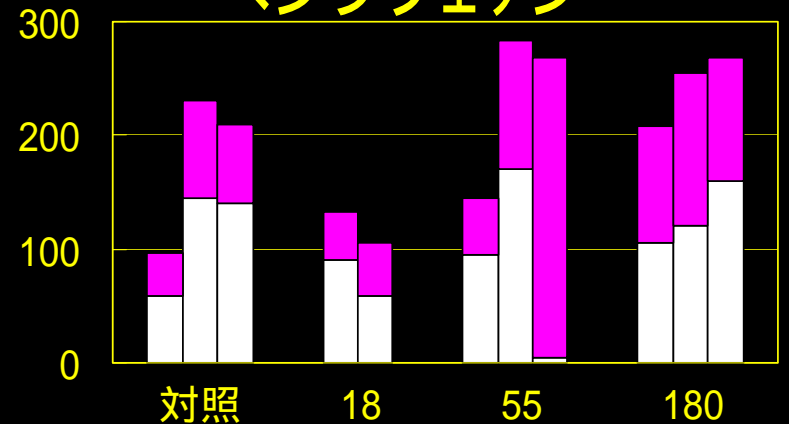
ビスフェノールA



フタル酸ジエチルヘキシル



ベンゾフェノン

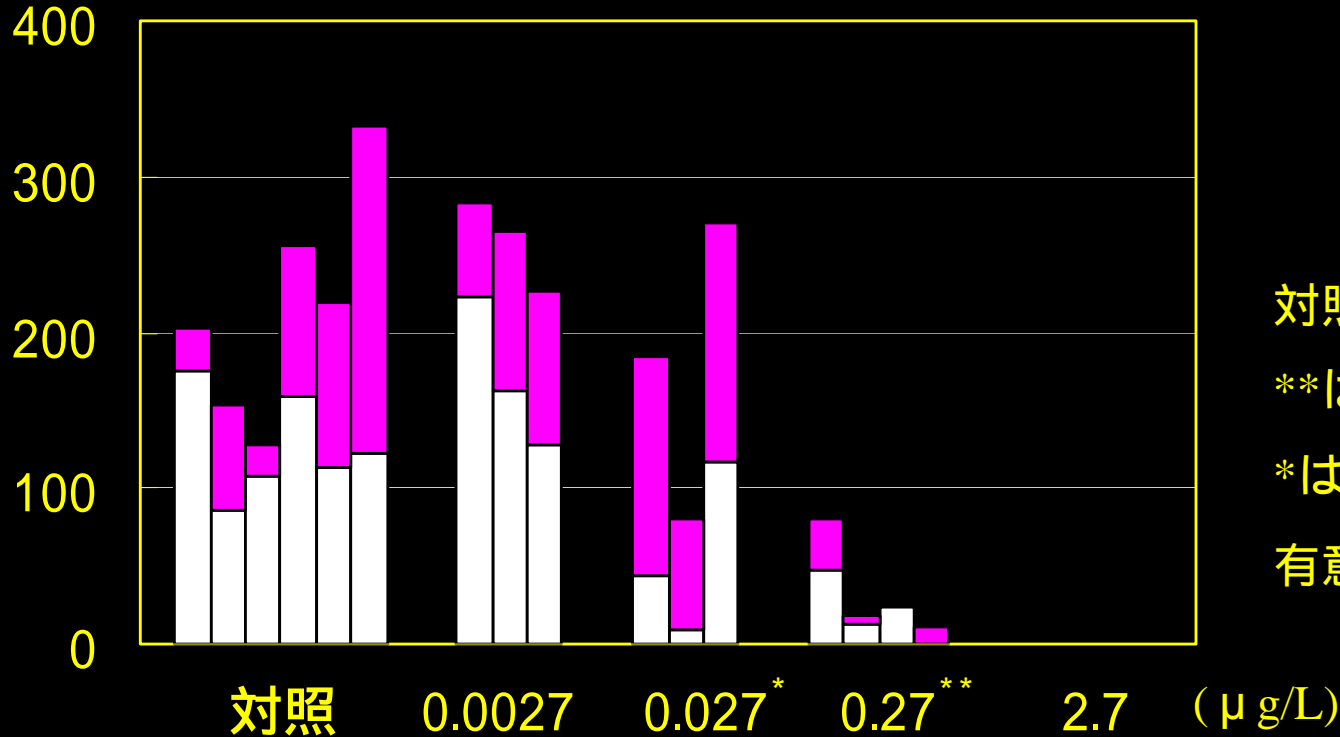


ニルフェノール、ビスフェノールA … 高濃度で繁殖能力が低下。
ただし、影響濃度は、エストラジオールより高い。

フタル酸ジエチルヘキシル、ベンゾフェノン … 繁殖能力に影響無し。

結果(メス暴露 エストラジオール)

産卵数 / 週



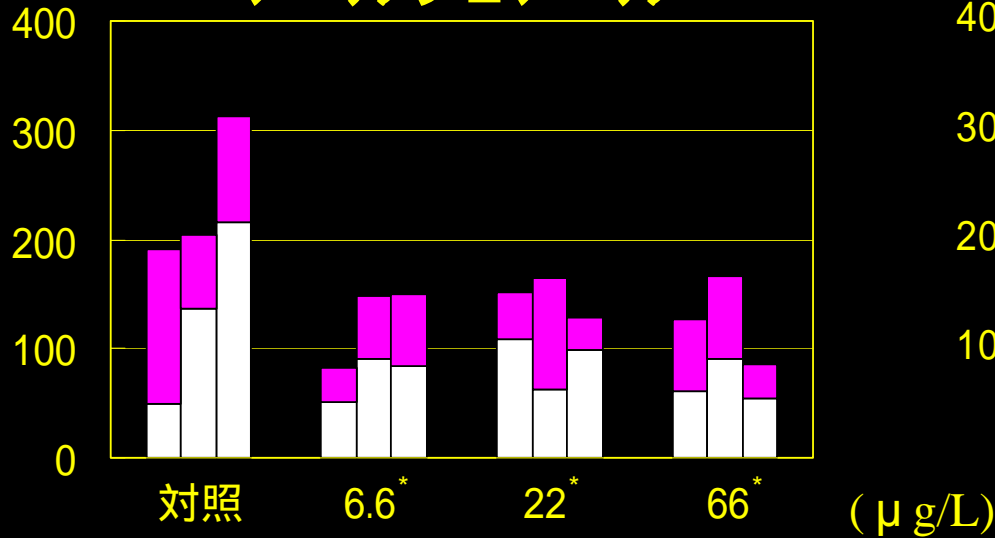
対照群と比較して、
**は産卵数と孵化数、
*は孵化数に
有意差有り

濃度の上昇に従い、産卵数が著しく低下
オスより低濃度で繁殖能力が低下

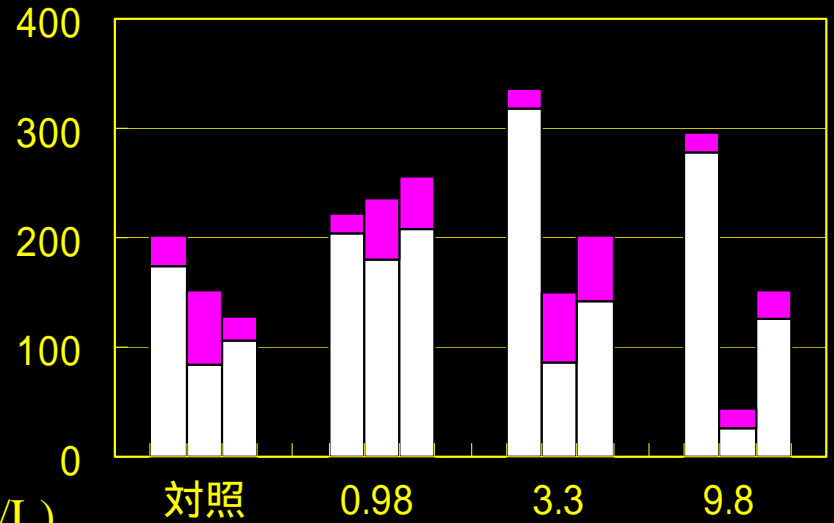
結果(メス暴露 合成化学物質)

産卵数 / 週

ノニルフェノール



トリブチルスズ

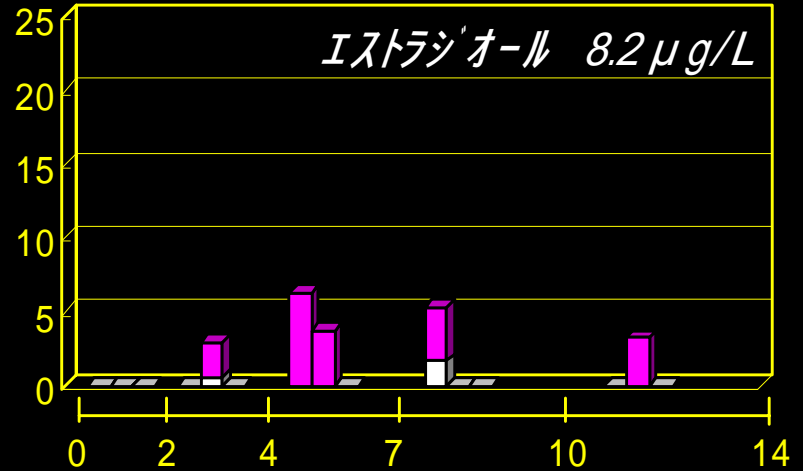
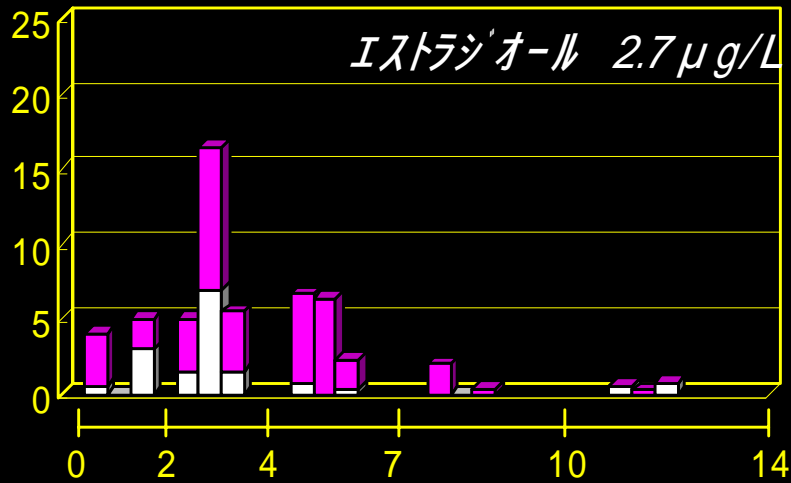
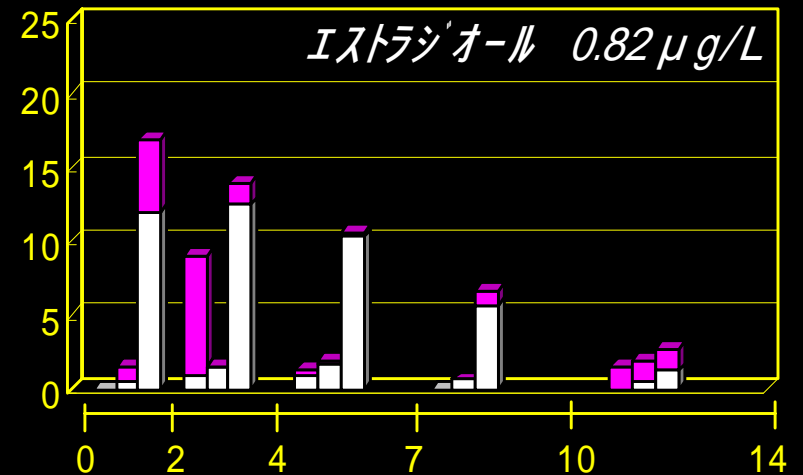
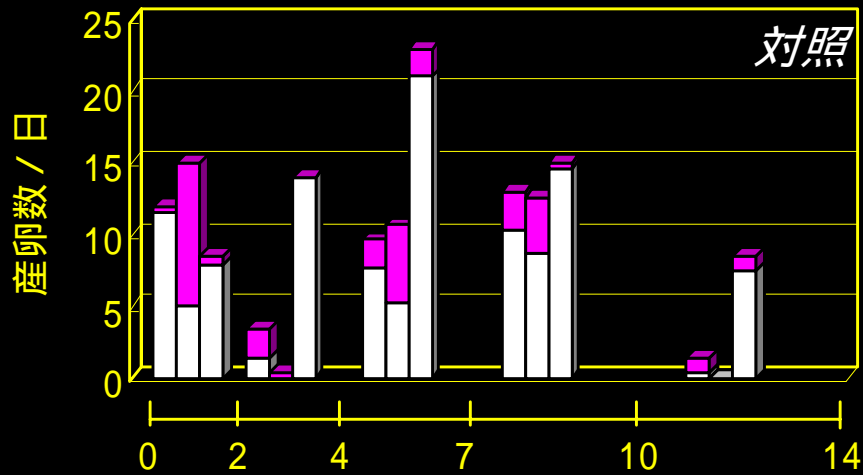


*対照群と比較して産卵数に有意差有り

ノニルフェノール … 産卵数が顕著に低下
オスより低濃度で繁殖能力が低下

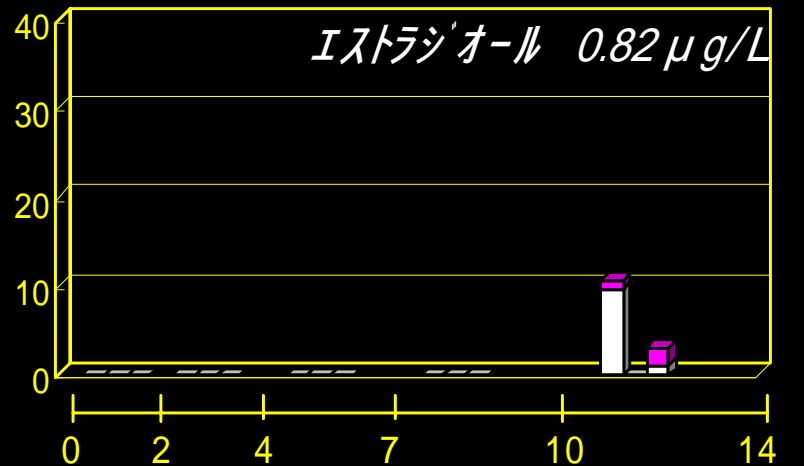
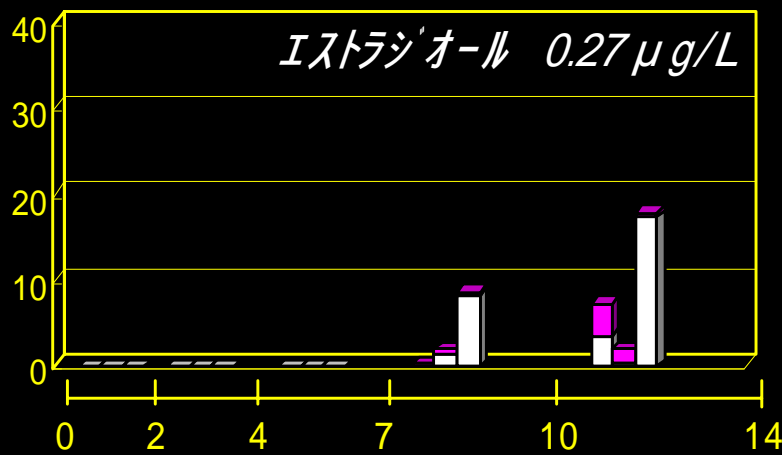
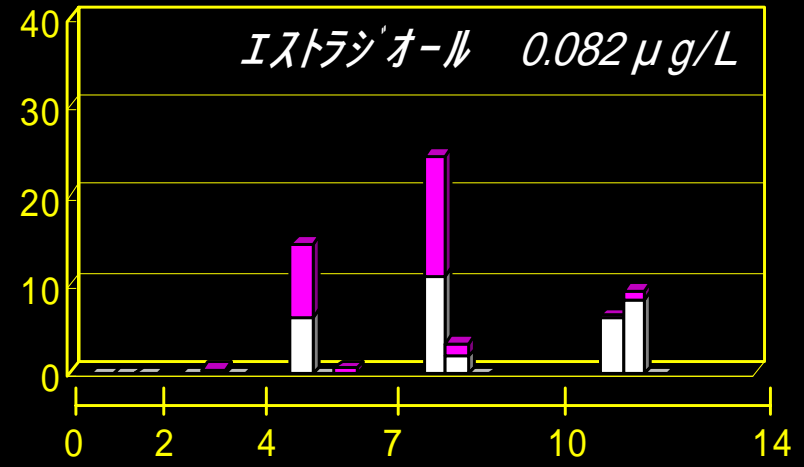
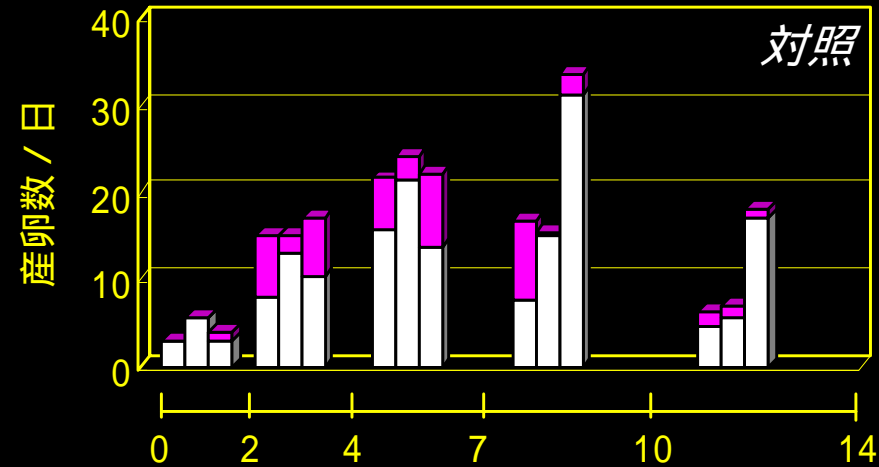
トリブチルスズ … 繁殖能力に影響無し

結果(オス回復試験)



暴露後14日経っても繁殖能力の回復は見られない

結果(メス回復試験)



暴露濃度が高いほど産卵の再開に日数を要するが、
繁殖能力は回復してきている

急性毒性値との比較

(単位: $\mu\text{g/L}$)

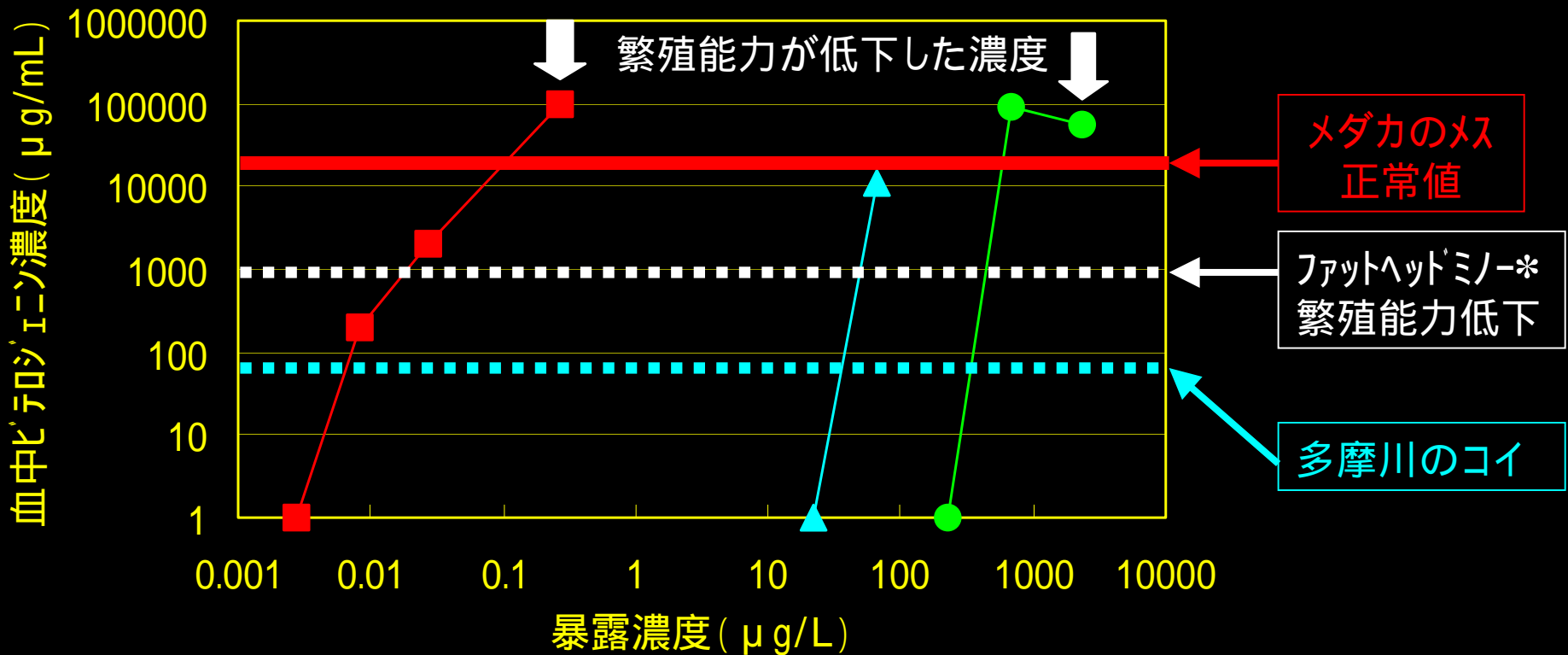
| | 繁殖への無影響濃度 (NOEC) | 96時間半数致死濃度 (LC50) | LC50/NOEC |
|---------------|---------------------|----------------------|-----------|
| エストラジオール (オス) | 0.27 | >2200 | >8100 |
| エストラジオール (メス) | 0.0027 | >2200 | >810000 |
| ニルフェノール (オス) | 66 | 220 | 3.3 |
| ニルフェノール (メス) | <6.6 | 440 | >67 |
| ビスフェノールA (オス) | 680 | 8900 | 13 |

内分泌かく乱化学物質は急性毒性値より低濃度で繁殖能力に影響を及ぼす。化学物質のリスク評価に当たっては、急性毒性値に対する安全係数をより大きくする必要がある。

ビテロジェニン濃度と繁殖能力の関係

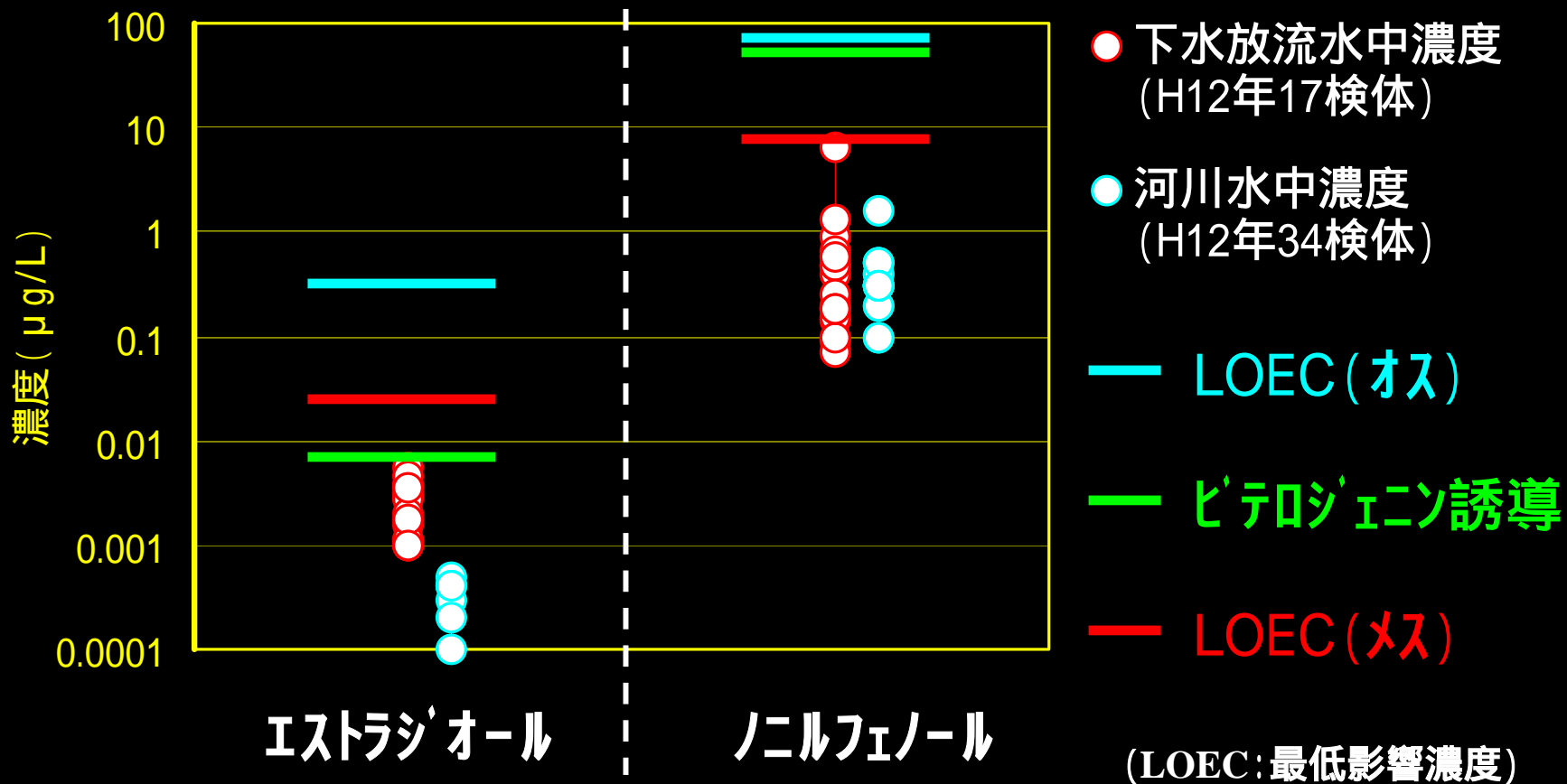
ビテロジェニン(VTG)・・・メスが有する卵黄タンパク前駆物質。女性ホルモンの作用によりオスでも誘導される。女性ホルモンの影響を示す指標。

■ エストラジオール ▲ ノルフェノール ● ビスフェノールA



繁殖能力が低下した暴露濃度で高濃度のVTGが誘導された


環境中濃度との比較



下水処理場直下などの河川水は、オスのビテロジエン濃度に影響を及ぼす可能性がある

魚類影響評価の試験体系

OECD (経済協力開発機構) の試験体系案



| Tier (段階) | 目的 | 試験方法 |
|-----------|---------|------------------|
| 1 | スクリーニング | 1. 仔魚成長試験 |
| | | 2. 生殖腺復帰試験 |
| | | 3. 短期繁殖試験 |
| | | 4. d-rR メダカ性転換試験 |
| 2 | 試験 | 1. 延長初期成長段階試験 |
| | | 2. 繁殖試験 |
| 3 | 確定試験 | 1. 全生涯試験 |

OECD スクリーニング試験として、成魚2週間暴露試験を提案中
(試験魚) メダカ、ファットヘッドミノー、ゼブラフィッシュ

環境省 メダカを用いた試験体系を確立中

本研究から得られた知見

エストロゲン (E2)、ニルフェノール (NP)、ビスフェノールA (BPA) への暴露によりメダカの繁殖能力が低下した。その影響濃度は、E2 > NP > BPA の順であった。E2とNPはメスの繁殖能力に対し、オスより低濃度で影響を与えた。

繁殖能力が低下したオスでは、正常なメスより高い濃度のビテロジェニンが誘導された。

下水処理場直下などの河川水は、オスのビテロジェニン濃度に影響を及ぼす可能性がある。

今後の展開

複数の化学物質が同時に存在する場合の複合作用の評価

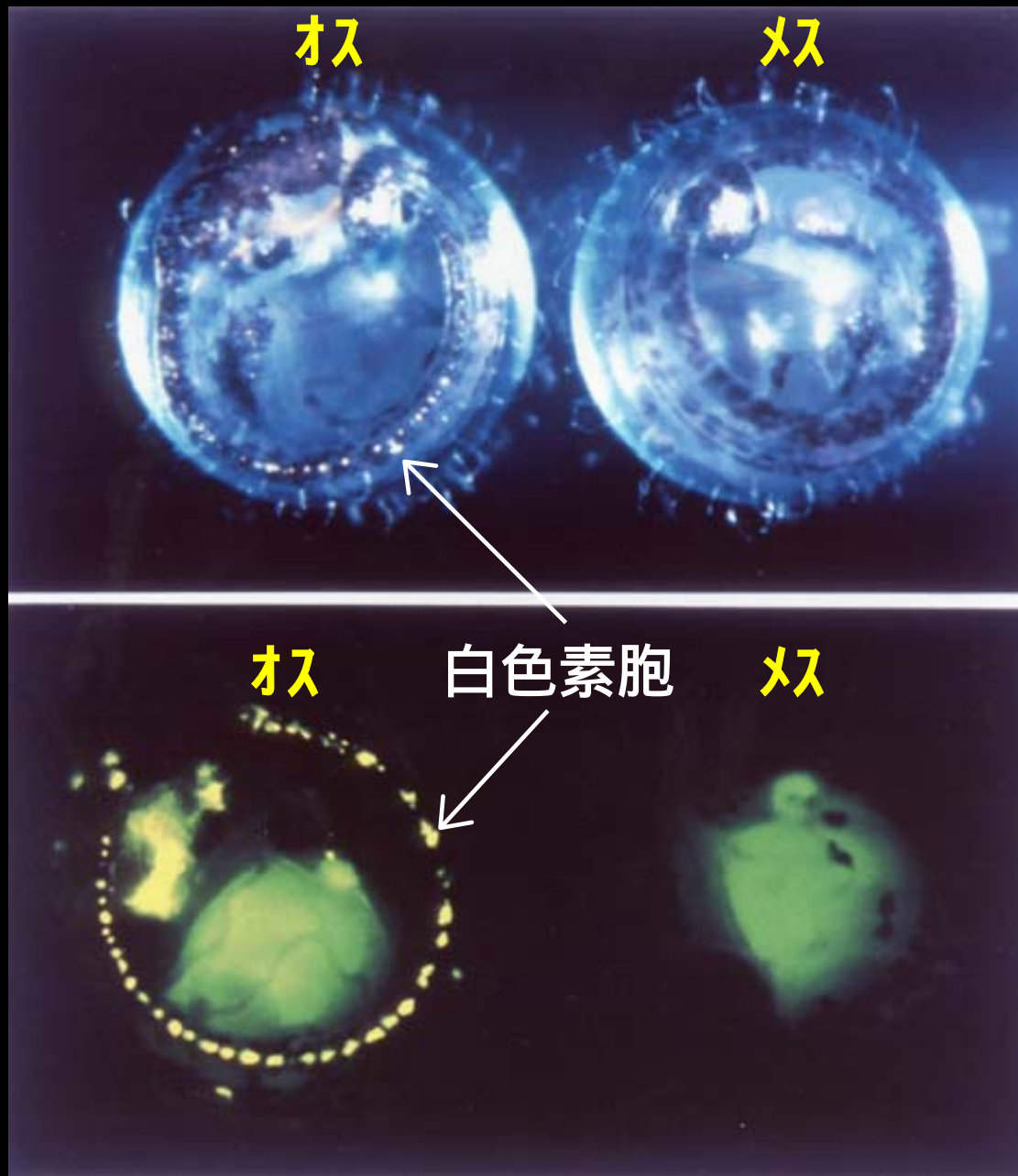
成魚ビテロジェニン誘導試験

下水処理水に対するメダカ暴露試験

成魚ビテロジェニン誘導試験

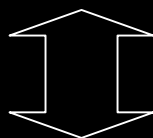
FLF系統仔魚性転換試験

卵段階で雌雄の判別が可能なメダカFLF系統

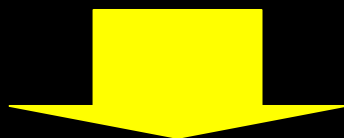


生態系の保全に向けて

欧米・・・人及び生態系の保全を目的とした化学物質対策



日本・・・人の健康影響のみを考慮した化学物質対策



今後、我が国でも生態系の保全を目的とした
化学物質対策の推進が望まれる