[自主研究]

水生生物に対する内分泌かく乱化学物質の影響
ートウキョウダルマガエルの性分化に対するノニルフェノールの影響ー

茂木守　野尻喜好　細野繁雄　田中仁志　長田泰宣　金主鉉

1　目的

脊椎動物に対する内分泌かく乱化学物質の作用の一つにエストロゲン様作用がある。この作用機構は、エストロゲンリセプター(ER)を介して行われることが知られている。県内の河川から検出された内分泌かく乱化学物質のER結合能を測定したところ、4-ノニルフェノール(NP)の寄与が高いことがわかった。そこで水圏生態系の上位に位置する両生類のうち、県内に比較的広く分布するトウキョウダルマガエル(*Rana porosa porosa*)を用いて、その幼生期の生殖腺分化に対するNPの影響を調べた。

2　方法

活性炭処理した5Lの水道水をステンレスバットに入れ、エタノールに溶解したNPを0.1、1、10μg/L(以下NP0.1、NP1、NP10とする)の濃度になるように添加した。対照区はエタノールのみを加え、全ての処理区のエタノール濃度は0.01%に統一した。トウキョウダルマガエルの繁殖期である5月に騎西町の水路で成体を採取し、自然交配により産卵させた。産卵後1日以内に約100個の卵を各処理区に入れ、室温で飼育した。死んだ卵は適宜取り除き、換水は2～3日に1回行った。餌は、ゆでたほうれん草及びベビーフードのほうれん草を与えた。オタマジャクシはカエルに変態した後、速やかにbouin液で固定し、生殖腺を取り出した後、定法に従ってパラフィン包埋を行った。ミクロトームで4μmの連続切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン染色した。作製した組織切片を光学顕微鏡で観察し、性比と生殖腺の異常を調べた。

3　結果

3.1　性比

雄の比率は、対照区、NP0.1、NP1、NP10μg/Lの順に25%、56%、11%、57%であった(表)。対照区の比率が低いのは、個体数が少ないためと考えられる。NP0.1、NP10では56%、57%であったが、NP1では11%と非常に低い割合であった。

3.2　雌雄同体

今回調査では、NP1、NP10においてそれぞれ1個体ずつ精巣と卵巣を持つ雌雄同体が出現した(表)。図は同一個体の生殖腺であるが、上部にあるのが精巣で、下部にあるのが卵巣である。卵巣には大きな卵母細胞が見られる。比較的濃度の高い曝露区で雌雄同体が見られたが、NP0.1ではこのような個体は見られなかった。

3.3　精巣卵

精巣中に存在する卵様細胞を精巣卵といい、メダカなどの内分泌かく乱化学物質の曝露実験でも雌化の指標とされている。NP0.1では精巣卵の出現割合が64%であったが、それ以上の濃度区では100%であった(表)。

表　NP曝露によるカエルの性比及び精巣卵出現率

処理区分	性別個体数 雄	雌	雌雄同体	精巣卵出現率
対照区	1(25%)	3(75%)	0(0%)	0/1(0%)
NP0.1	14(56%)	11(44%)	0(0%)	9/14(64%)
NP1	1(11%)	7(78%)	1(11%)	2/2(100%)
NP10	4(57%)	2(29%)	1(14%)	5/5(100%)

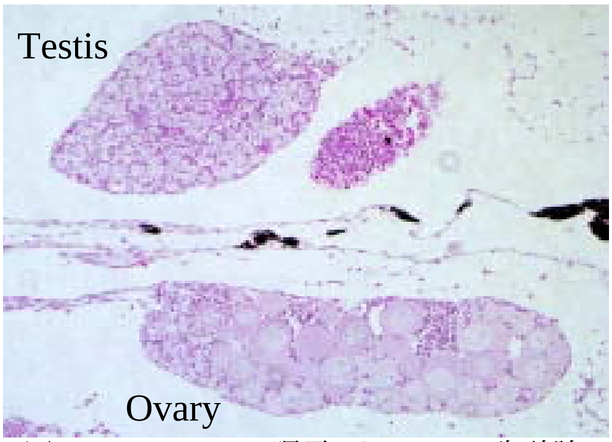

図　10μg/LのNPに曝露したカエルの生殖腺

4　今後の研究方向等

今回の研究では実験期間中に死亡した個体が多く、十分な試料数を確保できなかったが、比較的高濃度の処理区で生殖腺の異常が多く見られたため、今後も実験を継続する予定である。また、幼生期に内分泌かく乱化学物質に曝露したカエルの成長後の生殖機能について検討するとともに、内分泌かく乱化学物質が模擬生態系（マイクロコズム、メソコズム）に与える影響を調べる。

Study on Effects of Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) on Aquatic Organisms