

[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

トウキョウダルマガエル幼生の生殖腺に対するノニルフェノール、エストラジオールの影響

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

4-ノニルフェノール (NP) に曝露したメダカ (*Oryzias latipes*) の精巢中に精巢卵が出現したり、血中ピテロジェニン濃度が上昇することが知られている。この作用は、エストロゲンリセプターを介すると考えられているため、魚類以外の水生脊椎動物についても、NP が同様の影響をもたらすおそれがある。そこで水圏生態系の上位に位置する両生類のうち、県内に広く分布するトウキョウダルマガエル (*Rana porosa porosa*) 幼生の生殖腺に対する NP の影響を調べた。

2 方法

NP 処理区は、活性炭処理した水道水 1L をステンレスバットに入れ、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した NP を 0.5、5、50nM (以下、NP0.5、NP5、NP50) 添加した。溶媒対照区は DMSO のみ (以下、Cont.)、陽性対照区は DMSO に溶解した 17 β -エストラジオール (E2) を 0.5、5nM (以下、E0.5、E5) 加えた。全処理区の DMSO 濃度は 0.005 % に統一した。使用した卵は、当センター内の水田で採取した。これを各処理区に 25 個 \times 2 系列ずつ入れ、カエルに変態するまでゆでたほうれん草を与えて飼育した。飼育温度は 22 \pm 2 $^{\circ}$ C、照明は 12L : 12D、死んだ卵や幼生は取り除き、換水は 2 日に 1 回行った。幼生がカエルに変態した後、bouin 液で固定し、生殖腺を取り出した。これをパラフィン包埋後、マイクロトームで 5 μ m の連続切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン染色した。組織切片は光学顕微鏡で観察し、生殖腺の状態を調べた。

3 結果

各処理区の生存率は、68 ~ 84 % であった。幼生が変態する日令にばらつきがあり、曝露期間を合わせるため、各処理区から 96 日 (変態時日令の中央値) \pm 20 日令の個体を抽出し、性比等の比較に用いた。

3.1 性比と雌雄同体

生殖腺の外観及び顕微鏡による観察から、性を判別した。どちらかの生殖腺中に雄性細胞が認められる個体を雄とした。また、片方の生殖腺がほぼ卵巣化している雄については、雌雄同体とした。各処理区の性別個体数等は表のとおり。Cont. の性比は、ほぼ 1 : 1 であった。雌の割合は、E5 で 66 % と他の処理区 (42 ~ 53

%) に比べて高かった。NP 各処理区の値は、Cont. とほぼ同様であった。雌雄同体率は、Cont. の 8 % に対し、E5 では 50 % と高い値であった。これ以外の処理区では、18 ~ 29 % であった。これらのことから、5nM のエストラジオール曝露は、トウキョウダルマガエル幼生の生殖腺を卵巣化させる傾向があることが示唆された。NP 曝露は、Cont. と比較して雌雄同体率を若干増加させたが、0.5 ~ 50nM の各処理区間で顕著な差は見られなかった。

表 NP 及び E2 処理した個体の性別数、割合

	n	雄	雌雄同体	雌	※雌雄同体率
Cont.	23	11(48%)	1(4%)	11(48%)	8%
NP0.5	19	7(37%)	2(10%)	10(53%)	22%
NP5	24	10(42%)	4(16%)	10(42%)	29%
NP50	19	9(47%)	2(11%)	8(42%)	18%
E0.5	26	10(38%)	3(12%)	13(50%)	23%
E5	23	4(17%)	4(17%)	15(66%)	50%

※雌雄同体率 = 雌雄同体の数 \div (雄の数 + 雌雄同体の数)

3.2 精巢卵

各雄個体の 1 対の精巢中の精巢卵数を計測した。精巢卵の出現率は、Cont. で 67 %、NP0.5、NP5、NP50、E0.5 で約 90 %、E5 では 100 % であった (図)。1 対の精巢のうち、片方に精巢卵が多く認められるもの (図の $\leq 50 + > 50$) は、生殖に不利であると考えられる。この割合に着目すると、Cont. では 8 % であるが、NP 処理区ではどれも 25 % 前後、E 処理区では 40 % 程度であった。このことから、NP や E2 が 1 対の精巢中の精巢卵数の偏りに影響する可能性が示唆された。

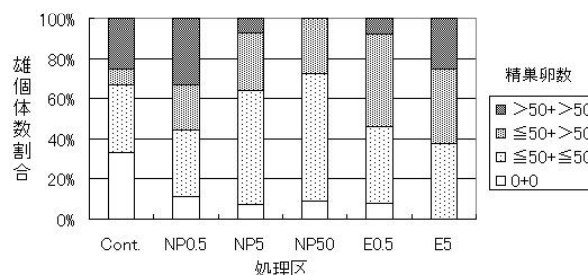


図 精巢中の精巢卵数別処理区別雄個体数割合

4 今後の研究方向等

内分泌かく乱化学物質が生態系に与える影響をマイクロゾウム、メソゾウムを用いて評価する。