

分のカメ、多くのトカゲでみられる性決定温度(TSD)などの環境依存的な性決定(Lance, 1994)がある。TSDをもつ爬虫類では、卵の孵化温度が生まれる幼体の雌雄を決定する。しかしながら、爬虫類におけるTSDの様式も非常に変化に富んでいる(Wibbels et al., 1998)。この多様性のため、EDCsが爬虫類の性決定プロセスに及ぼす影響についての解釈が困難となっている。

ステロイドホルモン(エストロゲン、テストステロン)は、TSD種の性決定温度の影響を無視して作用することが報告された(Wibbels and Crews, 1995)。例えば、外因性エストロゲンを与えると、卵を完全に雄にさせる温度で孵化させても、その卵は雌に性決定される。同様に、ある種の環境化学物質(PCBs、トランス-ノナクロル、シス-ノナクロル、クロルデン、*p,p'*DDE)がカメの性決定を変化させることが示された(Bergeron et al., 1994; Crews et al., 1995; Willingham et al., 2001)。さらに、PCBsとクロルデンは、孵化したカメの幼体におけるステロイドホルモンの特性に変化を与えた(Willingham et al., 2001)。ホルモンおよびEDCsの疑いのある物質が、性の決定に影響を及ぼすメカニズムは不明である。テストステロンはE₂および5 α -ジヒドロテストステロンの前駆物質であるため、爬虫類のTSD現象は5 α -還元酵素とアロマターゼの間の競合に起因するという仮説がたてられた(Crews and Bergeron, 1994; Jeyasuria and Place, 1998)。アロマターゼ活性は、ヨーロッパヌマガメ(*Emys orbicularis*) (Desvages and Pieau, 1992)、オサガメ(*Dermochelys coriacea*) (Desvages et al., 1993)、カミツキガメ(*Chelydra serpentina*) (Rhen and Lang, 1994)、ミシシippアカミガメ(*Trachemys scripta*) (Crews and Bergeron, 1994)などのカメ類における雌への性決定温度に関係している。ダイヤモンドガメ(*Malaclemys terrapin*)ではアロマターゼのmRNAが精巣ではなく卵巣になると予測される器官で発現が増大していた(Jeyasuria and Place, 1997; Jeyasuria and Place, 1998)。ミシシippアカミガメでは、アロマターゼ活性が雌の脳で著しく亢進していたが、副腎-腎臓-生殖腺軸には両性の間に差が認められなかった。さらに、アロマターゼ阻害剤の処理により、アロマターゼが多く爬虫類の性決定に関わる重要な酵素であることが示唆された(Jeyasuria et al., 1994; Richard-Mercier et al., 1995; Rhen and Lang, 1994; Crews and Bergeron, 1994)。E₂は、カメの生殖腺形成における転写因子SF-1(steroidogenic factor 1)の制御を変化させる(Fleming and Crews, 2001)。

温度に加えて、他の環境要因も爬虫類の性決定の役割を果たしており、これらが潜在的EDCsと内分泌機能の変化との因果関係をさらに不明確にしていると考えられる。このような要因とは、卵のpHの低下を引き起こす水環境の変化(Gutzke and Paukstis, 1983)、CO₂濃度(Jeyasuria and Place, 1998)、高温などである。5 α -還元酵素は強いpH依存性を示すため、pH値を変化させることにより温度が性決定に間接的に作用する可能性があり、これに続いて鍵となるステロイド代謝酵素の活性

に影響を与える(Etchberger et al., 1992)。

爬虫類の食性は、生体内に蓄積する環境毒の摂取量を増大させる。爬虫類の摂食生態は草食から肉食にまで及び、いくつかの肉食性の爬虫類は、食物連鎖の中でその頂点あるいは頂点近傍に位置している。カメ類、ワニ類、大ヘビなどの多くの爬虫類は、野生における平均寿命が30年を超える長命である(Bowler, 1977; Gibbons and Semlitsch, 1982; Congdon et al., 1983)。このことは、環境汚染物質が組織へ蓄積するのに十分な時間を提供するということである。実際、爬虫類では汚染物質の生体内蓄積や生物濃縮レベルが、鳥類や哺乳類に比べて同等かそれ以上であることが報告されている(Olafsson et al., 1983; Hall and Henry, 1992; Cobb and Wood, 1997)。

4.3.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.3.2.1 アポプカ湖のアリゲーターにおける発生異常

米国フロリダのアポプカ湖のアリゲーター(*Alligator mississippiensis*)は、野生生物の個体群におけるEDCの影響の例として最も一般に知られた事例の1つである。1980年に化学物質の漏出により、アポプカ湖に流れ込む水が高濃度のジコホル(その代謝物DDD、DDE、クロロ-DDTを含む)とその他の化合物に汚染された。その後(1980~1984年)にはアリゲーターの個体数が90%減少した(Guillette et al., 1994)。卵の生存率の低下については1984年までは認められなかった。アポプカ湖のアリゲーターでは

*p,p'*DDE、ディルドリン、エンドリン、マイレックス、オキシクロルデン、DDT、PCBsの濃度が増大していた(Guillette et al., 1999a)。この卵の生存率低下は現在も続いており、成体の個体数の減少に結びついている。

若齢のアポプカ湖アリゲーターには、様々な発生異常(生殖腺形態の奇形、生殖腺ステロイド合成における変化、雌および雄における性ステロイド濃度の変化)がみられ、その原因は内分泌機能をかく乱する汚染物質とされている。これらのエンドポイントの評価は、比較的汚染の少ないフロリダのウッドラフ湖のアリゲーターと比較して行われた。特に、アポプカ湖の若齢アリゲーターは、雄は血漿テストステロン濃度が低下し、雌はE₂濃度が上昇していた(Guillette et al., 1994, 1999a)。さらに、*in vitro*において卵巣と精巣におけるステロイド(E₂、テストステロン)合成能力にも変化がみられた(Guillette et al., 1995; Crain et al., 1997)。通常、発生過程の器官におけるホルモン濃度は、発生の段階あるいは器官のサイズに関係がある。予測されたとおり、ウッドラフ湖の幼若アリゲーターではステロイドおよび甲状腺ホルモン濃度は体のサイズに相関していたが、アポプカ湖のものには相関性がなかった(Crain et al., 1998a, 1998b)。

アポプカ湖のアリゲーターには、血漿ステロイド濃度異常に伴う一連の生殖腺の奇形がみられた(Guillette et al., 1994, 1996)。雌では、いくつかの卵胞で多卵性が確認され(3~4個の卵母細胞をもつ)、また選択的に調べた卵母細胞は多核(2~3個の核をもつ)であった(Guillette

et al., 1994)。雄の精巣では精細管が適切に形成されておらず、多くのものが立方上皮に沿って並んでいた。さらに、伸長した棒状の核を持つ精子変性が確認された(Guillette et al., 1994)。雄のペニスは著しく縮小化されていたが、アポプカ湖の汚染度の異なる地域によって差がみられた(Guillette et al., 1996; 図4.2参照)。これらの生殖腺の奇形を持つアリゲーターの雌雄が、性的に機能するかどうかは不明である。さらに詳細な研究では、ステロイドホルモン濃度およびペニスの大きさの変化がフロリダの湖で広範囲に認められることが示された(Guillette et al., 1999b)。

アポプカ湖のアリゲーターの卵および若いアリゲーターの主な体内汚染物質として(*p,p'*-DDE)が同定されたが(Vos et al., 2000)、観察された影響の原因となる特定の化学物質は認知されていない(Ankley and Giesy, 1998)。汚染物質が引き起こす内分泌かく乱作用を説明するいくつかの仮説が提案された。例えば、いくつかのEDCsが複合的にアリゲーターエストロゲン受容体に相互作用している可能性や、*p,p'*-DDEが胚や幼若アリゲーターのアンドロゲンアンタゴニストとして作用することも考えられる(Guillette et al., 1996; Crain and Guillette, 1998)。さらに、汚染物質による内分泌かく乱のメカニズムには、アロマトーゼ活性の変化および甲状腺-性腺軸のかく乱も関与していると考えられる(Crain et al., 1997, 1998)。

4.3.2.2 五大湖のカミツキガメにおける発生異常 五大湖のセントローレンス川流域のカミツキガメ(*Chelydra serpentina serpentina*)で観察された発生異常(Bishop et al., 1998)の事例は、爬虫類におけるEDCの影響に関する別ケースである可能性を示している。Bishopらによる報告(1991)では、1986~1988年においてカミツキガメの孵化しない卵および孵化した仔ガメの奇形が塩素化炭化水素の最高濃度を示す地域で発生したことを指摘している。Bishopら(1998)は、同定

された多くの化学物質の中でも、1989~1991年の期間における卵のPCBs、PCDDs、PCDFsの濃度がカメの発生異常に深く関与していることを特定した。孵化した奇形のカメでは、尾の欠損あるいは奇形、甲羅の異常(甲板欠損あるいは過剰)、不完全な卵黄嚢吸収、前脚後脚の奇形などがみられた。さらに、EDCsがカミツキガメの成体の性的二型に影響する可能性も示唆された。カミツキガメでは、総排泄腔-腹甲距離(PPR)の比率は性的二型を示す。de Solla et al. (1998)は、OCsに汚染された地域のカミツキガメ(*Chelydra serpentina serpentina*)の成体は、対照地域のカメと比較してPPRが著しく減少していることを報告した。同じカメにおける性ステロイド(E_2 およびテストステロン)濃度には変化がみられなかった。カメの内分泌生理学(および生殖適応度)に与えるポリ塩素化炭化水素の影響についての因果関係を立証するためには比較研究が必要である。

4.3.3 結論

爬虫類は、環境毒性学的な視点からはほとんど考察されていない。爬虫類において、特に性決定、生殖腺の発生、ステロイドホルモン合成、第二性徴の発達などの発生過程の一部が内分泌かく乱を受けやすいことは明白である。いくつかの爬虫類の個体群では内分泌かく乱を起こす環境汚染物質の影響を受けているが、その現象がどの程度広がっているのかわかっていない。陸生の爬虫類と比較して、水生の爬虫類の方が内分泌かく乱の危険性が高いのかどうかについて、現状ではデータが少なく評価することはできない。

4.4 両生類

4.4.1 特異事象

両性類では、ほぼ全種が変態を行い、また脊椎動物の中で無類類(ヤツメウナギ)および硬骨魚類(硬骨魚)も変態をする。その他の脊椎動物(軟骨魚類(軟骨魚)、爬虫類、鳥類および哺乳類)は変態しない(Norris, 1983)。現存する両生類の発育経歴は多様であり、ある種では自由遊泳の水生生活から陸にあがるまでに複雑な形態変化を経験する。この変化には、呼吸、浸透圧調節、老廃物(窒素)排泄、移動などのプロセスの構造的あるいは生化学的な変換が多く伴っている。したがって、このクラスの脊椎動物は、そのライフサイクルの異なる段階においてEDC暴露を受ける可能性があり、特にEDCsの影響の危険性が高いと考えられる(Vos et al., 2000)。変態の内分泌制御は、EDCsに影響される恐れのあるいくつかの発生に関わるホルモン、特に甲状腺ホルモン(トリヨードチロニン/チロキシン)だけでなく、コルチコイド、プロラクチン、レチノイン酸(RA)などによって行われている(Norris, 1996)。水溶性で残留性のない化学物質が変態に影響を与えているという仮説も示されている。従来の環境毒性試験では、生体内蓄積性のある化学物質に焦点がおかれていたため、このようなEDCの疑いのある物質は判別されにくいであろう。現状では、両生類の変態が内分泌かく乱作用をもつ水溶性汚染物質の影響に受けやすいかどうかを確認するデータは不十分であ

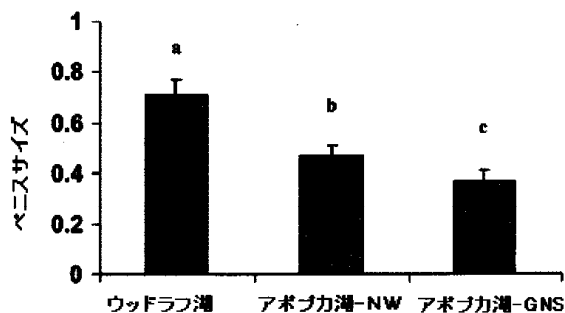


図4.2 対照湖沼(ウッドラフ湖; n=40)および汚染湖沼(アポプカ湖)のそれぞれ2ヶ所の水域におけるアリゲーター(*Alligator mississippiensis*)の平均陰茎サイズ。アポプカ湖のサンプルは、タワケミカル社の流出物中の汚染物質が湖水へ流入しているガードネックスプリング地域(Apopka-GNS; n=34)、および流出地点から離れた湖の北西部地域(Apopka-NW; n=20)の2地点のものである。陰茎サイズは、指標[陰茎の先端までの長さ×陰茎基部の幅/鼻の穴の長さ]として表す。a, b, cの文字は、湖の水域間の有意差(p>.05)を示す。Guilletteら(1996)のデータより作り直した。

る。両生類は、半透性の皮膚を有し、卵およびエラ呼吸をする幼生が水の中で発育する。また、食物連鎖における位置が草食性のオタマジャクシから肉食性の成体に変化するために、いくつかの異なる経路を通じてEDCsに暴露する可能性がある(Gutleb et al., 1999)。冬眠は、多くの両生類の生活史の特性で、その期間その種は十の中にもぐっているため有毒物質の影響を受けやすくなる可能性がある。DDTを経口摂取した成体のヨーロッパアカガエル(*Rana temporaria* L.)では弱い毒性が示されたのに対して、同じ用量を絶食条件で投与すると死に至ったということ(Harri et al., 1979)から、両生類は冬眠期間には環境汚染物質の影響をより受けやすいことが示唆された(Russel et al., 1995)。

4.4.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.4.2.1 両生類における個体数の変化 現在、科学者たちの間では、両生類の個体数に有害な影響が現れていることについては議論の余地はほとんどない(Pechmann et al., 1991; Pechmann and Wilbur, 1994)。全世界の汚染のない生息地および汚染された生息地でともに個体数が減少傾向にあり(Vos et al., 2000)、また、最近のいくつかの調査では、影響を受けた両生類の個体群の報告がある(Sarkar, 1996; Green, 1997a, 1997b; Lannoo, 1998; Corn, 1999)。種の絶滅、個体数の減少、特定の種における空間分布の変化など様々な両生類の個体群の変動が指摘されている。最初はオーストラリア、ヨーロッパとともに、米国北部および中央部で両生類の個体群の変化を中心とした調査が行われた(Corn, 1999)。それに比べてアジアとアフリカにおける個体群の状況はほとんどわかっていない。

Carey と Bryant (1995)による研究では、環境汚染物質が幼若両生類の成長と発生をかく乱することにより、両生類の個体数に影響を与える可能性について調べた。彼らは、報告されている事例の大部分は重大なデータが不足しており、個体数の変化と化学物質への暴露とを関連づけることはできないと結論した。現状では、両生類の野外調査での観察結果がEDCsの影響によるという仮説を支持する証拠はほとんどない。例外としてKirk (1988)による報告は、アカガエル(*Rana pretiosa*)の地域的個体数におけるDDT散布とその影響との強い相関を示していた。他のいくつかの報告は、より推論的なものである(Drost and Fellers, 1996; McConnell et al., 1998)。例えば、Russellら(1995)は1993年、カナダのポイントピーリー国立公園でトリゴエアマガエル(*Pseudacris crucifer*)の個体群を調査し、これらのカエルがかなりの濃度のDDT、DDE、DDD、ディルドリンに汚染されていることを発見した。この地域では1967年までDDT散布が頻繁に行われていた。1972年以降、コオロギガエル(*Acris crepitans*)、ハイイロアマガエル(*Hyla versicolor*)およびウシガエル(*R. catesbeiana*)はこの地域から絶滅した。研究者たちは、両生類の個体数減少の原因となる明確な環境要因を特定することがで

きなかった(生息地は現在では改善され、酸性雨もなくなった)。著者らは、この公園での個体数減少は、数十年前の殺虫剤の使用が重要な要因である可能性を示唆した。これらの例では、推定された物質の作用機序については不明であり、また、その機構が内分泌系を介するものかどうかもわからない。

実験研究でも、既知のEDCsによって両生類が他の脊椎動物の種と同じように影響を受けることを示すには証拠が不足している(Hall and Henry, 1992)。例えば、アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)では、*o,p*-DDT、ディルドリン、トキサフェンへの暴露によって卵黄形成が誘導される(Palmer and Palmer, 1995; Palmer et al., 1997)。Carey と Bryant (1995)が提言しているように、EDCsは両生類に直接(発生におけるホルモンの変化)、あるいは間接的(免疫不全による疾病感受性亢進)に影響する可能性がある。

4.4.2.2 両生類における奇形 最近、北米全域でカエルの奇形が異常発生しているといういくつかの報告がなされた(Ouellet et al., 1997; Schmidt, 1997; Ankley and Giesy, 1998)。共通して最も影響を受けていると思われる種は、ヒョウガエル(*Rana pipiens*)、ブロンズガエル(*R. clamitans*)およびミンクガエル(*R. septentrionalis*)などのアカガエルの仲間である。主な奇形は、四肢の欠損や過剰、骨質の肢状突起、指や筋組織の奇形、目や中枢神経系の異常などである(Ankley and Giesy, 1998b)。個体数減少が奇形に起因するものか、あるいは、この2つの現象が同じ環境要因によるものかについては明らかではない。

EDCsと両生類の奇形との因果関係は解明されていないが、両生類の奇形の原因が化学物質であるとする強力な分子論的根拠がある。環境中のレチノイド、すなわち「レチノイド様物質」が野生のアカガエルの発生に影響を与えるのではないかと推測されている(Ankley and Giesy, 1998b)。両生類の胚発生初期は、甲状腺ホルモンに加えて、活性レチノイド(全-トランス-RA、9-シス-RA、および類似構造誘導体)および多くのレチノイド受容体から構成されるRAホルモン系に強く依存している(Schena, 1989)。RA系は、パターン形成および四肢発生などの異なる発生過程を制御する(Wagner et al., 1990; Shimeld, 1996)。胚形成期におけるRA処理では、アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)の胚でみられるような発生異常が引き起こされ(Papalopulu et al., 1991)、また、他の様々な脊椎動物モデルにおいて四肢の欠陥が報告された(Maden, 1993; Rutledge et al., 1994; Scott et al., 1994)。Gutlebらの最近の研究(1999)では、アフリカツメガエル*X. laevis*において、ノンオルトPCB同族体(PCB 126)が用量依存的に奇形(浮腫、腸回旋欠如、目および尾の形態異常)を引き起こし、またPCB投与胚におけるレチノイド濃度が著しく変化したことが報告された。RA受容体導入細胞株において、環境汚染物質であるメトプレンの代謝物がRA受容体を活性化することが示され(Harmon et al., 1995)、この殺虫剤が野生の無尾類の四肢の奇形の発現に関係すると推定された。し

かし、この仮説を裏付ける調査が必要である。さらに、観察された両生類の奇形に環境汚染物質が関与するかどうかを明らかにし、もしそうならば、その結果が内分泌かく乱の作用機序によるものであるかどうかを解明する詳細な研究を行う必要がある。

両生類の奇形を引き起こす可能性のある物質としては、化学物質以外の他のストレス要因も考慮する必要がある。両生類の四肢の奇形は、吸虫のシストによる肢芽の物理的損傷が原因であると考えられる(Sessions and Ruth, 1990)。第2中間宿主として両生類の幼生を利用する一部の吸虫は、発生過程の肢芽にメタセルカリアとしてかなり大量に寄生していることがある。最近の研究では、吸虫のセルカリアを寄生させたパシフィックツリーフロッグ(*Hyla regilla*)に重度の四肢奇形が生じたことが示された(Johnson et al., 1999)。これらの異常は、野外において観察されたものに極めて似ていた。さらに、成層圏のオゾン破壊により増加した紫外線への暴露がある種の両生類の奇形の原因かもしれないという仮説もある(国連環境計画(UNEP), 1998)。比較実験では、キタヒョウガエルにおいて、紫外線や自然太陽光でも後肢の奇形(四肢欠損症と指欠損症)が引き起こされることが示された(Ankley et al., 1998b)。

4.4.3 結論

現状では、両生類の減少の原因物質としてのEDCsの関与を裏付けるデータは十分ではない。また、観察された奇形の原因が環境汚染物質であると言えるだけの決定的な証拠も不十分である。この可能性を評価するためには詳細な研究が必要である。しかし、EDCsの標的である可能性のある種として両生類に着目する研究が増加傾向にあることは特記すべきことである(Harris et al., 1998a, 1998b)。

4.5 魚類

4.5.1 特異事象

魚類は、脊椎動物の中で最も繁栄したグループで、生理学、解剖学、行動および生態学的に極めて多様性に富んでいる。軟骨魚類(板鰓類とギンザメ類)は3,000種以上、硬骨魚類(真骨魚類、肺魚類、全骨類)は20,000種以上、およびそれより少ないが古生物の無顎類(ヤツメウナギとメクラウナギ)が存在する。詳しく調査されている種は少なく、コイ科とサケ科(両者とも硬骨魚類)のデータが論文の大半を占めている。

魚類は浸透性の異なる水環境(真水、汽水、海水)に生息するための進化を遂げてきた。水中での呼吸および浸透圧調節は、ともに魚類へのEDCs暴露を増加させる可能性がある。ヒトに比べて魚類では換気率が高いため、呼吸においてエラの表面への水中汚染物質の暴露が増大すると考えられる(Van Der Kraak et al., 2001)。また、その他のエラの特性(血液と水の対向流系、薄い上皮膜、広い表面積)により、化合物の水からの取り込み、および血流への輸送も増大すると考えられる。海洋性の硬骨魚類は低張であるため海水を飲んでおり、そのため水中の物質への暴露が起こる可能性がある。反対に高張であ

る淡水魚(これらの魚は水を飲まない)は、体内に水が入ってくるために水中の汚染物質に暴露される。

魚の生殖様式は非常に多様性に富んでいる(Kime, 1998)。大部分の魚類は卵生であるが、卵胎生および胎生の種も多く存在する。卵生の種の中でも、プランクトンとして放出される多数の小さな卵(1個体のタラで2800万まで)を産むものから、少数で大きな沈性の卵を巣の中で保護するものまで繁殖の様式は幅広い。さらに、板鰓類の中には、卵黄に富む大きい卵を少数産むものがある。魚類の初期の生活史での重要な暴露経路は、母親の脂質に蓄積した疎水性の外因性汚染物質の移行によるものである。この暴露経路が水から直接蓄積される量を上回ると考えられる。さらに、発生の初期段階では生体内変化や排泄に関わる酵素活性が限られ、発生の臨界期における暴露を最大化するおそれがある(Van Der Kraak et al., 2001)。

別の生殖様式の特徴として魚類の一部の種で見られる性の可塑性がある。一般に魚類は雌雄異体(性別が区別される)であるが、機能的な雌雄同体(ハタ科とタイ科)が存在し、これは脊椎動物にはほとんどみられない(Chan and Yeung, 1983)。硬骨魚類のある種、特に珊瑚礁の魚類では、1個体が環境(温度)や社会的行動様式(フェロモン)により可逆的に別の機能的「性」に転換することができる(Stahlschmidt-Allner and Reinboth, 1991)。一部の魚類の種に生じる性の可塑性が、内分泌かく乱を起こす環境汚染物質によってどのように影響されるかは解明されていない。しかしながら、自然な性転換が起こることという事は、魚類においては哺乳類の胎児の脳と同様な不可逆的な性の決定は起こらないことを示唆している。

4.5.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.5.2.1 幼魚あるいは雄の魚類における卵黄形成の誘導
自然環境下での幼魚あるいは雄の魚におけるVTG生成の誘導は、EDC(すなわちエストロゲン様化合物)暴露が関与する魚類の最も顕著で明確な生物学的応答の1つである(Tyler and Routledge, 1998; Kime et al., 1999)。現在では、ヨーロッパ、日本および北米など様々な水域の魚類におけるVTG誘導の事例が多数示されている。最も顕著なVTG濃度の増加は、英国の下水処理場(STW)の排水に暴露された魚類において観察された。淡水魚および海水魚の繁殖成功と生存可能性におけるこのような反応の意味については明らかでない。

Purdomらによる研究(1994)では、英国のSTW排水の中のかごに放置した雄のニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)において、血漿VTGが成熟雌と同じかそれ以上の濃度(147mg/mlまで)に上昇したことが示された。同様にかごに入れられた未成熟コイ(*Cyprinus carpio*)でもVTG濃度の増加がみられたが、その程度は低かった。続いてHarries et al. (1996, 1997)による研究では、英国のいくつかの川が、雄のニジマスで卵黄形成を誘導するのに十分な高濃度のエストロゲン様化合物を含んでいることが示された。VTG誘導に加えて、排水の下流

で暴露した魚類では時として肝臓肥大や精巣の萎縮が観察された。概して、卵黄形成の程度は汚染源から遠ざかるとともに急速に減少しており、これは主に活性のある化合物が希釈されることによるものである(Harries et al., 1999)。さらに、チャブ(*Leuciscus cephalus*)の血漿VTGの誘導は、フランス都市部の下流にあたるモーゼル川でも観察された(Flammarion et al., 2000)。

市営処理施設の排水に暴露された淡水魚でのVTG誘導の例は他にもいくつかあげられる。米国の異なる地点で、市の下水道排水に暴露された雄のコイ(Bevans et al., 1996; Folmar et al., 1996; Goodbred et al., 1997)およびファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*; Nichols et al. 1999)で同様の反応が生じたことが明らかになった。スウェーデンでは、下水処理場排水の中のかごに2週間入れられた若いニジマスの胆汁に、天然エストロゲンのE₂およびエストロンならびに合成エストロゲンの17- α エチニルエストラジオールが含まれており、また血漿VTG濃度も高かった(1.5mg/ml) (Larsson et al., 1999)。

上述のVTG誘導についての報告の事例は、主として合成あるいは天然の化合物である環境エストロゲンが原因と考えられる。例えば、エア川では、かつてNPおよびそのエトキシ化体が大量に川へ放出され、魚類のVTG反応の原因物質として関与していることが示唆された。ニジマスにおける比較研究でJobling et al. (1996)は、環境中濃度に相当するNP濃度(20 μ g/liter程度)でもVTG生成を誘導し、また精巣の発達を遅らせることができたことを実証した。天然(E₂、エストロン)や合成(エチニルエストラジオール)のエストロゲンホルモンは、観察された反応の実質的な原因である可能性がある

(Routledge et al., 1998)。これらのホルモンは不活性型で下水に入るが、バクテリアの酵素作用により再び活性化される(Panter et al., 1999)。魚類の胆汁に含まれる数種のエストロゲン様化合物の測定の結果、別のエストロゲン様化合物であるビスフェノールAが疑わしい原因物質として新たにリストに加わることとなった(Larsson et al., 1999)。

VTGの誘導は、淡水魚のみに限って起こるものではない。英国のティン川河口の下水処理場排水口付近で捕獲した雄のカレイ(*Platichthys flesus*)にVTGの誘導と精巣異常が検出された(Lye et al., 1997, 1998)。その後の研究により、これらの影響は何種かのエストロゲン作用をもつアルキルフェノールへの暴露や生体内蓄積に関連づけられた(Lye et al., 1999)。続いての英国での調査(Matthiessen et al., 1998; Allen et al., 1999a, 1999b)では、重工業化の進んだ河口付近(すなわち、ティン、ティーズ、ウイア、マージー川河口; 図4.3参照)における雄のカレイで、高濃度のVTG(血漿中最大20 mg/ml)が検出された。一方、地方や比較的軽工業化されていない都市部からの排水が流れる河口の雄のカレイでは、VTGは低濃度かあるいはほとんど検出できなかった。英国のカレイでみられたものと同様な影響が、日本の東京湾のマコガレイ(*Pleuronectes yokohamae*)においても観察された(Hashimoto et al., 2000)。原因となる物質は完全には確定されていないが、淡水の場合と同様に河口の水にも天然および合成エストロゲン様物質混合物が検出された。しかし、河口におけるエストロゲン活性の大部分は堆積物相に吸着されると考えられ、この作用についての今後の解明が待たれる(Thomas et al., 2001)。

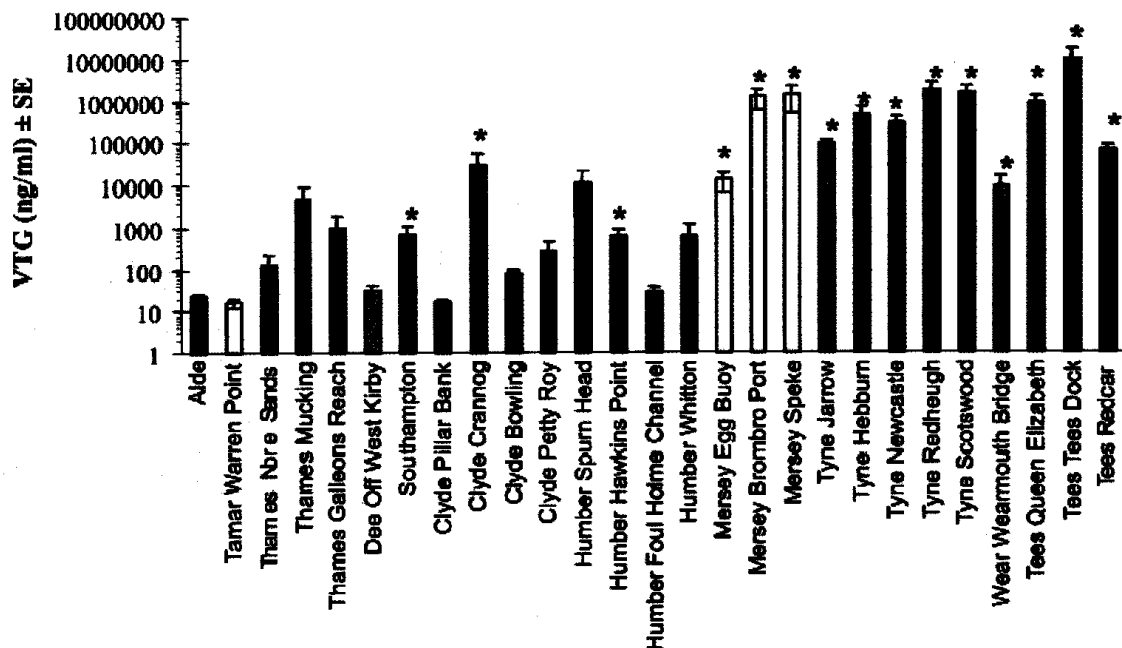


図4.3 1997年に英国内の種々の河口で採取した雄カレイ(*Platichthys flesus*)の血漿VTGの平均濃度。星印は、基準となる汚染されていないアルデ河口(左端)との有意差を示す。英国農業省環境・漁業・水産養殖科学局 (CEFAS)の許可により複製。

製紙・パルプ工場の排水にも、これに暴露した魚類の VTG 生成を変化させるエストロゲン様化合物が含まれている可能性がある。フィンランドで調査された3つの製紙工場のうちの1つでは、排水中のかごに4週間おかれたホワイトフィッシュ (*Coregonus lavaretus* L.) で VTG 遺伝子の発現が誘導された (Mellanen et al., 1999)。この工場は他の2つの工場に比べて、かなり多くの木材由来の化合物(ステロール、樹脂酸)を放出していることが確認された。Pelissero ら(1991a, 1991b)は実験室において、様々な植物エストロゲンに暴露させた雄および若いチョウザメ (*Acipenser baeri*) で VTG が合成されることを実証した。さらに Tremblay と Van Der Kraak(1998, 1999)による実験室での比較実験で、性的に未成熟なニジマス(漂白クラフト製紙工場排水(BKME)または β -シトステロール(排水で検出された植物ステロール)に3週間暴露させた結果、卵黄形成が誘導された。しかし、カナダ水域の BKME 放出下流域の野生ホワイトサッカード (*Catostomus commersoni*) の野外調査では VTG 誘導は観察されなかった (Van Der Kraak et al., 1998b)。

4.5.2.2 生殖異常

4.5.2.2.1 下水処理場排水による生殖腺発生への影響
魚類における生殖腺発生の異常について最初に報告されたのは、前節で示した VTG 誘導に付随して観察された事例である。このデータの大部分もまた英国における STW 排水への魚類の暴露実験で得られたものであった。これらの魚類は明らかに汚染物質のエストロゲン作用により影響を受けていた。アルキルフェノールに汚染されたエア川などのような、エストロゲン様化合物に激しく汚染された水の中に放置したニジマスの成魚で、精巣の発育阻害が観察された (Harries et al., 1997)。実験室において、ニジマスを実際の環境と同程度の濃度のアルキルフェノールに暴露すると、精巣の発育に同様な影響がみられた (Jobling et al., 1996)。また、英国のいくつかの川において STW 排水の下流で



図4.4 1996年に英国マージー川河口で採取した雄カレイ (*Platichthys flesus*) の精巣切片。異常な精子細胞組織に沿って大型の二次卵母細胞(卵巣精巣)がいくつか見られる。英国農業省環境・漁業・水産養殖科学局(CEFAS)の許可により複製。

捕獲した野生の雄のローチ (*Rutilus rutilus*) およびガジョン (*Gobio gobio*) で、卵精巣が生じていることが報告された。卵精巣を有する魚の比率は、エア川とネン川の野生のローチでは数%~100%までのばらつきがあった。

卵精巣の状態の度合いは、通常の精巣組織内に時折卵細胞がみられるものから、広範囲の成熟卵巣組織に異常な精巣組織が散在しているものまで様々である。おそらくこの状態は、魚が生殖腺形成の重要な時期にエストロゲン様化合物に暴露したことによって引き起こされたものである (Jobling et al., 1998a; Tyler and Routledge, 1998)。下水処理場排水に暴露した魚類の一部では輸精管の雌性化または欠失、精巣の生成障害などその他の精巣異常についても報告された (Jobling et al., 1998b)。輸精管の雌性化は、実験室において4-tert-ペンチルフェノールに暴露した雌を含まない雄のコイの仔魚に認められた (Gimeno, 1997; Gimeno et al., 1996, 1998a, 1998b)。重工業化した河口域(マージー川、タイン川)および湾(セーヌ)からの野生のカレイでは精子形成に変化 (Lye et al., 1998) が認められ、また最大 18% のカレイに卵精巣が生じていることが報告された (Matthiessen et al., 1998; Allen et al., 1999a, 1999b; Minier et al., 2000; 図 4.4 参照)。しかし、他のほとんどの河口では卵精巣をもつカレイは見つからなかった。Matthiessen ら(1998)は、カレイの卵精巣の発生率が VTG 誘導が認められた河口であっても高くならなかったのは、おそらく比較的汚染のない環境である海にいる時期に仔魚の生殖腺形成が行われるからであるという仮説を提示した。英国の河口域におけるこのような影響についての原因が解明されていないが状況証拠から天然および合成エストロゲン様化合物による内分泌かく乱作用が関与している可能性が示唆される (Lye et al., 1999; Thomas et al., 2001)。また、ミズーリ州セントルイスのミシシッピ川下流に生息する、OC に汚染されたヘラチョウザメ (*Scaphirhynchus platyrhynchus*) にも卵精巣が観察された (Harshbarger et al., 2000)。最後に Batty & Lim (1999) はオーストラ



図4.5 産卵回遊期間中に採取したホワイトサッカード (*Catostomus commersoni*) の卵巣。左側の魚は、スベリオル湖僻地の未開発地域(マウンテン湾)に生息する個体群から採取した。右側の魚は、カナダ、オンタリオ州、テラス湾の工場からBKMEが流入するスベリオル湖のジャックフィッシュ湾に生息する個体群から採取したものである。BKMEに暴露される場所由来の魚では、卵巣サイズが著しく縮小していた。写真は、M. McMaster, K. Munkittrick, & G. Van Der Kraakの各博士らによる提供。

リアの下水処理場の下流域に生息する雄のカダヤシ (*Gambusia affinis*)の交接器が萎縮していることを示した。交接器とは、性の発達過程において変形する尻鰭で精子を送り込むための器官であるが、この萎縮が繁殖成功率に影響を及ぼすかどうかは不明である。

4.5.2.2.2 製紙・パルプ工場の排水による異常 製紙・パルプ工場の排水に暴露した魚類の生殖異常が報告されている。始めに、カナダ水域の魚類(ホワイトサッカー、ロングノーズサッカー(*Catostomus catostomus*)、レイクホワイトフィッシュ(*Coregonus clupeaformis*))に対する排水の影響に焦点をあてた野外調査が行われたが(Munkittrick et al., 1991; Gagnon et al., 1995; Van Der Kraak et al., 1998b; Munkittrick et al., 1998)、同様な現象がスカンジナビアの魚類(ユーラシアパーチ(*Perca fluviatilis*)、イソギンポ(*Zoarces viviparus*))においても報告された(Andersson et al., 1988; Neuman and Karås, 1988; Sandström et al., 1988; Larsson et al., 1997)。

カナダでは、スペリオール湖ジャックフィッシュ湾のBKME下流にあたる河口域で捕獲したホワイトサッカーで、対照地域に比べて、生殖腺の縮小、性成熟遅延、第二性徴の発現の低下(雄の生殖突起が小さい)などの広範囲にわたる生殖系の応答の変異が観察された(Van Der Kraak et al., 1998b; 図4.5参照)。このホワイトサッカーの卵と精子の生存能力および仔魚の発育能力は正常であると思われる(McMaster et al., 1992)。BKMEに暴露させたファットヘッドミノーを用いた実験では、これと同様の生殖への影響が観察された(Kovacs et al., 1995)。また、ジャックフィッシュ湾(Jackfish Bay)で集められたレイクホワイトフィッシュにも生殖異常および性成熟遅延が認められた(Munkittrick et al., 1992a, 1992b)。パーチでは、稚魚生産不能、胚の萎縮、幼魚死亡率の増加、個体数の減少とともに、同様の結果(生殖腺の縮小、性的成熟遅延)が観察された(Larsson et al., 1997)。製紙・パルプ工場の下流で観察される影響は、排水口からの距離が増加するにしたがって減少する傾向がある。ほとんどの事例では、観察された結果の原因は排水であると結論づけるのに十分な証拠がある。

BKME暴露した魚類における生殖異常の原因となる活性化化合物は同定されていない。しかしながら、 β -システロール、他のステロール類、リグナン、スチルベンおよび樹脂酸などのいくつかの化合物は弱いエストロゲン活性をもち、このような作用をおこしている可能性がある(Adlerkreutz, 1988; Mellanen et al., 1996)。他に可能性のある化合物として、アンドロゲンの特性をもつスチグマスタノールおよび β -システロールの分解生成物がある(Rosa-Molinar and Williams, 1984; Howell and Denton, 1989)。さらに製紙・パルプ工場の排水は *in vitro*で哺乳類の細胞に対して、エストロゲンおよび抗エストロゲンの両活性を示しうる(Balaguer et al., 1996)。その上、BKMEを暴露したホワイトサッカーの肝臓では、エストロゲン受容体、アンドロゲン受容体、および性ステロイド結合蛋白質のリガンドを急速に蓄積される(Hewitt et al., 2000)。状況は複雑であるが、こ

のような生殖への影響やホルモンの変化は、製紙・パルプ工場の排水の含有物質が暴露した魚類の内分泌機能にかく乱を起こすことを示唆している。

米国フロリダでは、製紙工場下流の川で雌のカダヤシ (*Gambusia affinis*)の第二性徴に、BKMEの対照的な効果が観察された。これらの魚は、尻鰭に著しい雄性化がみられ、雄のような交接器に変化していた(Howell et al., 1980; Bortone and Cody, 1999)。雄では、アンドロゲンの制御下で尻鰭が交接器へと変化する。したがって、雌のカダヤシは、排水の中に含まれるアンドロゲン様化合物に暴露されたと考えられた。Parks ら(2001)は最近の研究で、フロリダの製紙工場からのパルプ排水中に、雌のカダヤシの雄性化に十分な濃度のアンドロゲン様活性を示す化合物を同定した。フロリダとカナダの魚に対するBKMEの影響の差が、種による感受性の差であるか、あるいはBKMEで放出された物質の差によるものであるかについては明らかではない。

BKMEの第二性徴への影響の背景にあるメカニズムの詳細はまだ解明されていないが、ジャックフィッシュ湾の野生の魚類におけるBKMEの脱雄性化作用は、血漿アンドロゲン(11-ケトテストステロン(11-KT))濃度の減少が同時に起こるためであると考えられる(Munkittrick et al., 1991)。排水による雄性化の影響は、植物ステロールの作用が関与している可能性がある。Denton et al. (1985) およびHowell & Denton (1989) は、部分的に生分解された植物ステロール類(β -システロール、カンペステロールおよびスチグマスタノール)混合物が、雌のカダヤシ成魚の尻鰭を不可逆的に雄性化させることができたが、分解していないステロールは不活性であったことを示した。このような分解ステロールの正確な作用機序はほとんど解明されていない。しかし、アンドロステン様化合物が生成されれば、脳下垂体-性腺軸内の部位に作用したり、あるいはアンドロゲン受容体にアゴニストとして作用するかもしれない。後者の作用は雌の金魚(*Carassius auratus*)の成魚で観察され、11-KTの注入暴露後に雄の第2次生殖結節の発達が引き起こされた。

4.5.2.2.3 繁殖不成功例の増加 EDCsへの暴露により、野生生物が集団レベルで影響を受けたという例はごくまれにしかない。魚類において、自然環境下での繁殖能力についてのEDCsの影響例の1つに米国西海岸のピューージェット湾のPAH-およびPCB汚染地域の事例があげられる(Collier et al., 1998)。カレイ類の個体群に関する明快な一連の研究では、シウムシュガレイ (*Pleuronectes bilineatus*, Johnson et al., 1998)、カレイ (*Pleuronectes americanus*, Johnson et al., 1992)、イギリスガレイ (*Parophrys vetulus*, Johnson et al., 1988, 1997; Casillas et al., 1991; Landahl et al., 1997)などにおいて、雌の早期成熟、卵巣の発育阻害、卵重量の減少、産卵量の減少、および幼魚の生存率の低下が示された。これらの結果を引き起こすメカニズムは解明されていないが、PAHs、DDT/DDEおよびPCBs濃度の上昇が関係するとされた。この結果の大部分(特に受精能お