

メダカを使って化学物質の内分泌かく乱作用を簡易に検出する

化学環境部有機化学物質研究グループ農薬動態評価ユニット

堀尾 剛

はじめに

近年、農薬等化学物質の内分泌かく乱作用が問題になっており、ヒトに対する影響だけではなく、野生生物、特に農薬などに曝露される機会が多い水生生物への影響が心配されている。

淡水性魚類に対する内分泌かく乱作用の中で、女性ホルモン様作用については、細胞・生体を用いた数多くの細胞・組織学的試験法や、化学物質を生育過程の数ヶ月間あるいは全生育期間を通して魚類に曝露する個体試験法が開発されているが、いずれの方法も多くの労力と長い期間を要する。そのため、生物個体を使った簡易な試験法の開発が望まれていた。我々は孵化したばかりのメダカに化学物質を2週間曝露させ、孵化後2ヶ月以内にその内分泌かく乱作用を簡易に判定する試験法を開発した。

試験法の原理

試験生物として用いたメダカ(*d-rR* 系統)のオスの体色は黄色、メスは白色で遺伝的に決定され不変である。一方、本メダカでは、遺伝的な性別とは無関係に、性ホルモンの強さによって生殖器官における性分化の方向や尻ひれの形が変化するため、体色とこれらの変化をもとに性転換した個体を容易に検出することができる(図1)。

メダカ仔魚を流水式の曝露装置内で試験物質に2週間曝露して、その後試験物質を含まない飼育水に移し、外見的に雌雄が判別できるまで40日間飼育する。そして体色と尻ひれの形状等の観察を行い、オスからメスに性転換した個体を調査し、性転換率により内分泌かく乱の程度を判定する(図2)。

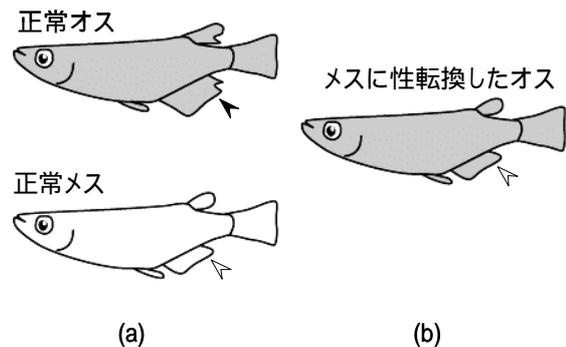


図1 *d-rR*系統メダカを用いた性転換個体検出方法の原理

- (a) 体色からわかる遺伝的性別と尻ひれ(矢印)の形状から分かる性別が一致している。
- (b) 体色から遺伝的性別はオスであるが、尻ひれ(矢印)の形状からメスになったことがわかる。

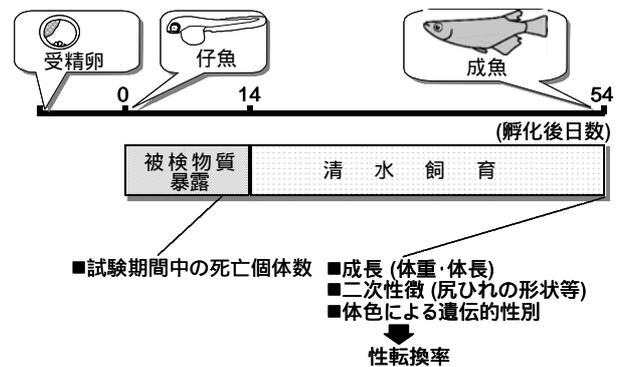


図2 メダカを使った化学物質の内分泌かく乱作用簡易検定法

試験法の実際

まず、本試験法を用いて、弱い女性ホルモン様作用を有し、内分泌かく乱作用があるとされる4-ノニルフェノールについて調べた。その結果、300 μ g/l濃度区におけるオスからメスへ

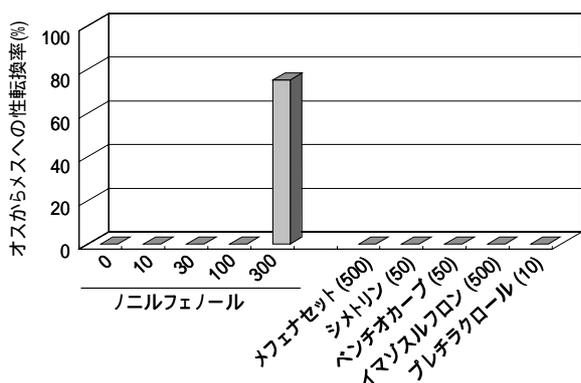


図3 メダカ仔魚に対するノニルフェノールおよび各種除草剤の内分泌かく乱作用
横軸は被検物質とそれらの暴露濃度(µg/l)

の性転換率は75%であった(図3)。これ以下の濃度では性転換は観察されなかった。また、全ての濃度区において体重および体長において有意差が見られなかった。したがって、300µg/l濃度区で観察された性転換は一般毒性によるものではなく、ノニルフェノールの内分泌かく乱作用によるものと結論できた。さらに、水田で使用されることが多い除草剤である、メフェナセット、シメトリン、ベンチオカーブ、イマゾ

スルフロン、プレチラクロールについて試験を行った。曝露濃度は仔魚に対する72時間半数致死濃度の約1/20に設定した。試験の結果、どの化合物においても性転換した個体は検出されず、これら農薬には女性ホルモン様内分泌かく乱作用がないことが確認された(図3)。

おわりに

新しく開発した試験法により、これまで多くの労力を要していた生殖組織の顕微鏡観察の作業を省くことができ、また、これまで2ヶ月以上必要であった曝露期間を2週間に短縮することができ、簡易な検定が可能となる。さらに本試験法は、ここで紹介したオスのメス化(女性ホルモン様作用)だけでなく、逆のケース(男性ホルモン様作用)の検定にも使える。

内分泌かく乱作用の解明に関する研究は、本研究のような生体を用いた研究のみでなく、生物体内における動態・作用機構の解明等細胞・分子レベルでの研究との連携が不可欠である。しかしながら、後者においてもいまだ、内分泌かく乱作用を解明するに十分な知見が揃っていないのが現状であり、さらなる知見の蓄積が必要であると考えられる。