

第4章 野生生物

これまでの伝統的な実験動物モデルやヒトと比較して、EDC暴露リスクを増大させる野生生物固有の生活史特性の解明はかなり進んできている。実際、野生生物が特定のEDCsの影響を受けやすいという考えは、いくつかの理由で支持されている。実験動物モデルの結果からEDCsと確認されなかった化学物質が、全く異なる種の内分泌系に影響を及ぼす可能性も考えられる。さらに、生物種的生活史の特定部分では、特にEDCsの影響を受けやすい場合もある(発生の臨界期)。他の動物と質的あるいは量的に異なる生活史の他の特徴が、ある種における化学物質暴露汚染の危険を増大させる(食料源および生息地の汚染レベル)かもしれない。

脊椎動物の内分泌学からの視点では、生殖および発生に関与するホルモン制御の重要な現象については、野生生物と動物モデルあるいはヒトの間にほとんど差がみられない(Norris, 1996; Ankley et al., 1998a; Van Der Kraak et al., 1998a)。おそらく驚くまでもないが、野生の脊椎動物は、実験動物モデルやヒトよりもEDCsに対して本質的に感受性が高いという見解を裏付ける決定的な検証はこれまでの研究努力にもかかわらずまだ示されていない。最近ではある種の野生生物における内分泌系の解明が進んでいるが、これら野生生物の多くは生体反応の理解が不足しているためこの点に関する結論はまだでない。

野生の脊椎動物の種だけがEDCsによって有害な影響を受けるわけではない。無脊椎動物へのEDCsの潜在的なリスクを評価するとき、脊椎動物とは著しく異なるそれら動物種の中で高度に多様に進化した内分泌系の特性を特別に考慮しなければならない。例えば、無脊椎動物の内分泌系は無脊椎特有のホルモンの他に、テルペノイドやエクジステロイド(エクジソン、20-ヒドロキシエクジソン)などのタンパク質で制御されている。他の脊椎動物にはないホルモンの例としては、エポキシホモセスキテルペノイド、およびメチルファルネソエイトがあり、それぞれ昆虫および甲殻類の幼若ホルモンとして作用する(Cymborowski, 1992; Laufer et al., 1993)。このような顕著な違いを考えると、従来の実験動物モデルやヒトの内分泌作用に基づいて無脊椎動物のEDCsに対する応答を予測できないことは明らかである。

幅広い野生生物の種に共通で、一般の動物モデルには

ない生活史の1つが卵生である。卵生の種における発生初期の暴露については、特別な視点からの考察が必要になる。卵生種へのEDCs暴露の影響の特徴に関してはKleinowら(1999)による詳細な解説がある(1999)。ここでは彼らの分析結果について特に重要な点のみをとりあげた。まず、卵生種の発生初期における化学物質への暴露は胎生の種と違って、栄養素が成熟卵母細胞へ移送されるため主に母方からの受け渡しにより生じるものである。したがって、卵は外部環境の汚染物質からある程度保護されてはいるが、潜在的に感受性の高い発生初期の胚は、濃縮された母体由来の化学物質に暴露されることになる。卵生の胚における初期暴露の一次近似は、母体の汚染物質濃度を卵と母体の脂質の割合で補正して得られる(Russell et al., 1999)。しかし、この関係は比較的安定した非イオン性の有機化学物質のみに適用しうる。さらに卵の閉じた環境(すなわち、排出機能が無いと幼生胚の最小限の生体内変換能力では、発生過程で予想外の(毒物動態学的に)暴露の変動を起こす。汚染物質は、貯蔵された栄養が発生組織へ運ばれる経路を遮断することもある。卵生がどの程度EDCの影響の予測に重要でかつ固有の変数としての意味をもつかは、懸念される汚染物質の物理化学的特性および予想される作用機序に依存するであろう。

すべての種におけるEDCsの重大な影響を一般化しようとする試みも、野生生物種での生活史の相違を考えるとかえって複雑になるであろう。例えば、両生類、ヒラメ、無顎綱(ヤツメウナギ)の変態や、サケ科におけるスモルト化など脊椎動物の特定の種や綱における特有の発育現象がある。さらに、ある種の無脊椎動物に特有なプロセス(脱皮、四肢再生、休眠、フェロモン生成、色素形成、変態など)も内分泌の制御下にある。一般に、野生生物研究では、このような生殖や発生の重大な局面に関係したEDCsへの暴露時期の影響についての考察がなかった。

本章では、主たる作用機序が内分泌かく乱である環境化学物質が、脊椎動物および無脊椎動物両者の野生生物に与える影響について評価を行っている。この中ではEDCsの影響を受けやすいと思われる様々な種特有の様相についても考察している。したがって、野外観察やそれを支持する実験データの検証には、EDCsとして機能する物質への暴露が本当にその結果につながるかどうかについて厳密に評価した。ここでは、化学物質の暴

第4章 略語表

11-KT	11-ケトテストステロン	EMS	早期死亡症候群	PPR	腹甲後部に対するペニスの長さ
17 α ,20 β -P	17 α ,20 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン	HPI	視床下部-脳下垂体-腎間	RA	レチノイン酸
ACTH	副腎皮質刺激ホルモン	NP	ノニルフェノール	STW	下水処理場
AhR	芳香族炭化水素受容体	NRC	米国学術研究協議会	TBT	トリブチルスズ
BKME	漂白クラフト工場排水	OCs	有機塩素系化合物	TCDD	2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン
DDD	テトラクロロジフェニルエタン	PAH	多環芳香族炭化水素	TSD	温度による性決定
DDE	ジクロロジフェニルジクロロエチレ	PCBs	ポリ塩化ビフェニル	UNEP	国連環境計画
DDT	ジクロロジフェニルトリクロロエタン	PCDDs	ポリ塩化ジベンゾジオキシン	USA	米国
E ₂	17 β -エストラジオール	PCDFs	ポリ塩化ジベンゾフラン	VTG	ビテロゲニン
EDCs	内分泌かく乱化学物質				

露による生殖および発生に関わる変異の全ての例を詳細に検討することが目的ではない。むしろ、ここでは、最終的には証拠の重み付けにより評価できるような十分に検証されたいくつかの事例に絞った (Hill, 1965; Fox, 1991; Ankley and Giesy, 1998a)。最後に、野生生物種が今までの程度EDCsの暴露で影響を受け、また今後も影響を受けるかについて、我々の理解を困難とさせる不確定部分や欠損データを検討しなければならない。

4.1 哺乳類

4.1.1 特異事象

現在、哺乳類は4,500以上の種が存在しており、したがって、それぞれが多様な生活史をもつことは驚くべきことではない (Vaughan et al., 2000)。アヒルのような嘴のカモノハシやハリモグラのみに代表される単孔類では、雌が皮のような殻を持つカメの卵に似た卵を産む。カンガルー、ウォンバット、オポッサムなどの有袋類では、胎児は自力で動ける力や機能が十分発達するまで子宮の中で发育する。子供はやがて子宮を離れ、這って母親の小袋へ入り、母親の乳腺にしがみついて发育を続ける。しかしながら、大多数の哺乳類の子供は胎盤を持つ子宮の中で成長する。哺乳類は全て授乳により子供を育てるため、このことが发育の重要な期間における化学汚染物質の暴露経路となるのである。

魚を食べる哺乳類は、以下の理由によりEDCsの被害を受けやすい可能性がある。(1) 食物連鎖の中での位置 (2) 地上よりも水生/海洋性の食物に依存する (3) 工業、農業の影響を受けた地域に生息する (4) それぞれがもつ特定の生殖生理学的様相。高次栄養段階に位置するこれらの種では、汚染された餌からの化合物を生物濃縮して様々な潜在的EDCsを含む多くの残留汚染物質を摂取している (Tanabe et al., 1988)。ひれ足類とクジラ類は、身を保護するために比較的大量の脂肪を持つため、容易に残留性の高い有機塩素系殺虫剤、ポリ塩化ビフェニル(PCBs)および他の脂溶性化合物などを生体内に蓄積する。実際に、河岸あるいは沿岸地区は一般に外洋や外海よりも汚染の程度が高いために、そこに生息する多くの魚食の哺乳類に生殖毒性または非生殖毒性がともに認められる。有機塩素系化合物(OCs)と生殖毒性の関連についての明白な証明は、アザラシ(Bergman and Olsson, 1985; Reijnders, 1986)、およびイタチ(Wren, 1991; Kihlström et al., 1992; Leonards, 1997)の野外調査からいくつか得られている。これらの種では、胚の休眠(着床遅延)の現象がみられ、この時期は生殖周期において汚染物質によるかく乱を受けやすい重要な段階である可能性がある(Reijnders and Brasseur, 1992)。

食物摂取の様式は、EDCへの暴露に直接影響をもつであろう。例えば、げっ歯類の汚染物質への負荷を比較したTalmage と Walton (1991)の研究では、食虫性(トガリネズミ)が最も高い負荷をもち、続いて雑食性(キヌゲネズミ)、最後に草食性(ハタネズミ)の順であった。しかし、草食性のものは、また別に内分泌系に影響する植物由来の化合物に暴露される可能性がある。例えば、

ステロイドアルカロイド植物毒(jervine、11-deoxyjervineおよび3-O-glucosyl 11-deoxyjervine)は、北米西部の放牧地でスカンクキャベツ (*Veratrum Calitornicum*という牧草)を食べる羊に催奇性を生じさせる(Omnell et al., 1990; Cooper et al., 1998)。その他にも発生の様々な局面を変化させる植物由来の化合物の例が数多くある(Keeler and Panter, 1989; Bunch et al., 1992)。しかし、これらの化合物が内分泌機能に実際に影響するかどうか、また影響するならばその影響が野生生物に現れるのかについての検証にはさらに調査が必要である。

4.1.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.1.2.1 イタチ科における生殖機能障害 五大湖周辺地域におけるミンク(*Mustela vison*)やカナダカワウソ(*Lutra canadensis*)を含むイタチ科は、魚を主体とした食餌を摂取しているが、その数が減少した(Wren, 1991)。五大湖の魚類は、殺虫剤やPCBsなどの多くの合成OCsが高濃度に含まれているため、汚染物質を原因と仮定することには妥当性がある。いくつかの調査では、五大湖のサケを主体とした魚類を餌にして飼育したミンクに生殖への有害な影響がみられたことが示された(Ankley et al., 1997)。五大湖のミンクが暴露された全汚染物質の中でも、PCBsおよびそれより多少少ないTCDDが最も大きな影響を与えていた(Giesy et al., 1994a)。しかし、これらの化合物が野生のミンク集団の変動に影響するという決定的な証拠はまだ十分ではない。特に、PCBs、PCDFs、PCDDsなどの残留OCsに暴露された野生のミンクと個体数の変動、あるいは内分泌機能障害とを結びつけるデータが不足している。これらの影響のなかだちとなる基本的なメカニズムについての理解がなければ、これらの化合物と内分泌機能の関連性は仮定にすぎないものとなる。

ミンクにおける最近の研究では、2回の繁殖期を含む18カ月間、低用量のPCBsに暴露した結果、生殖系に損傷を与えることが示された(Brunstrom et al., 2001)。観察された結果では、胎児死亡、奇形、仔ミンクの生存率および成長率の低下がみられた。この実験者は、投与したクロフェンA50(工業用PCB製剤)の用量は、汚染地域での野生生物の食餌によるPCB暴露量に匹敵すると述べている。さらに、生殖機能障害にはAhRアゴニストであるPCB同族体が関係していることが見出された(Brunstrom et al., 2001)。

イタチが環境化学物質に対して感受性が高いという証拠が、米国北西部のコロンビア川のカワウソに関する研究から得られた。この研究では、ペニスの骨(baculum)の長さおよび重量の減少がみられ、また、8~10カ月齢の個体での精子形成が認められなかったことが報告された(Henny et al., 1996)。これらの影響は、成体まで持続しないため、发育遅延による一過性の現象であると考えられる。このような反応は、多くのOC殺虫剤、PCBs、ダイオキシン、フランと関連付けられた。さらに、ヨーロッパにおけるユーラシアカワウソ(*Lutra lutra*)の数

は、1960年代から1980年代の間に激減したが、生殖系の損傷を引き起こすPCBsへの暴露がこの激減の主な原因であると考えられている(Kihlström et al., 1992; Leonards, 1997; Brunstrom et al., 1998; Roos et al., 2001)。Roosら(2001)による最近の研究では、スウェーデンのカワウソの個体数が1990年代に増加したという結果が得られた。この回復は、スウェーデンの環境中のPCB濃度の減少に合致している。すなわち、過去数十年間にユーラシアカワウソの個体数の減少を引き起こした主たる原因は、PCB汚染であったことを支持するものである(Roos et al., 2001)。しかしながら現時点では、暴露と生殖系への影響の相関性を裏付ける適切な個体数データがなく、また他の環境ストレスの影響に関する知識も不十分である。

4.1.2.2 海洋哺乳類における生殖機能障害 オランダのWadden Seaにおけるゼニガタアザラシ(*Phoca vitulina*)で、PCBsの影響により繁殖成功度の低下および個体数の減少が認められた(Reijnders, 1980)。個体数の比較研究から、この個体数の減少(66%)は、まさに観察された生殖能の低下が原因である可能性が示唆された。他の調査では、汚染されたWadden Seaからの魚を与えた雌のゼニガタアザラシが、汚染度がより低い大西洋からの魚を与えたものに比べて低い繁殖成功度(50%)を示したことが報告された。同じ研究で、着床障害がE₂濃度の低下に関係していることが明らかになった(Reijnders, 1986; Reijnders, 1990)。OCへの暴露との強い相関性にもかかわらず、病理学的影響の原因となる化合物やその作用機序についてはまだ完全に解明されていない(Troisi and Mason, 1998; Reijnders, 1999)。PCBによるE₂の減少は、酵素代謝の変化が原因であると考えるのが妥当であろう(Reijnders, 1999)。この仮説は、PCBに暴露されたゼニガタアザラシでP450アイソザイムのCYP1A(2)の有意な誘導が引き起こされるという結果とCYP1A(2)の誘導によってE₂のヒドロキシル化が増加するという観察に基づくものである(Boon et al., 1987)。さらに詳細な調査がこの仮説を実証するために必要である。

DeLongら(1973)は、カリフォルニアアシカ(*Zalophus californianus*)において、高濃度のPCBおよびDDEに伴う死産および早産を発見した。さらなる研究では、アシカに疾病(レプトスピラ症とカルシウィルスの伝染病)が流行し、それが流産、内分泌障害、早産の原因にもなることが明らかになった(Gilmartin et al., 1976)。EDCsと疾病が共に同じ結果をもたらす可能性があるため、生殖における汚染物質濃度と影響の因果関係を識別することはできない。裏付けとなる基本的なメカニズムを明確にする詳細な研究がさらに要求される。

バルチックアザラシ(*Phoca hispida botnica*)およびハイロアザラシ(*Halichoerus grypus*)の個体数が、過去100年にわたって著しく減少したことについては十分な証拠がある(Helle, 1983; Bergman and Olsson 1985; ICES, 1992)。乱獲および生息地破壊が要因となっているかもしれないが、一般的には、雌の生殖機能に有害な

影響を及ぼす残留汚染物質がアザラシの数の減少を引き起こしたと考えられる。暴露により、妊娠初期における流産、子宮の狭窄および閉塞、不完全または完全不妊などの障害がバルチックアザラシ(70%)およびハイロアザラシ(30%)で観察された。Roos et al. (1998) による時系列研究では、1969年と1997年の間にスウェーデンのバルト海沿岸で集めた177頭の幼ハイロアザラシのPCBおよびDDT濃度を調べた。その結果、このハイロアザラシで観察された生殖機能障害の主な原因がPCBsであることが示唆された。バルト海のアザラシが、高濃度のPCBおよびDDE/DDTによる内分泌系の障害を受けていることは明白であるが、生殖機能障害につながる作用機序を解明するためにさらに研究を進めることが必要である。

4.1.2.3 野生げっ歯類における生殖機能障害 PCBとカドミウムに汚染された地域に生息する雄の成獣シロアシマウス(*Peromyscus leucopus*)は、汚染されていない地域のマウスに比べて精巣の相対重量が著しく低かった(Batty et al., 1990)。両地域のマウスの精巣重量には大きな差がみられなかったが、汚染された地域のマウスにはかなりのばらつきがあった。汚染物質に暴露された個体の影響は、集団の個体数に反映される。なぜなら、PCBとカドミウム汚染地域では夏の間の幼および亜成体の個体数の割合が増加せず、暴露していない対照群では増加したからである(Batty et al., 1990)。これらの影響がPCBsやカドミウムに起因するものであるか、また観察された生殖への影響メカニズムが内分泌かく乱によるものかどうかを決定するには詳細な研究が必要である。

小型げっ歯類の野生個体群における汚染物質による生殖への影響を示唆する報告がいくつかある。低濃度のPCB汚染地域の森に生息するシロアシマウスは汚染されていない地域のマウスと比較して、個体群密度は高いが、年による一時的変動が大きく、また一時的に棲息する個体の数が多かった(Linzey and Grant, 1994)。ナイアガラ市で化学廃棄物処理場周辺に生息するハタネズミ(*Microtus pennsylvanicus*)は、対照地域のネズミと比較して肝臓、副腎および精巣の重量の減少と共に、著しい集団密度の減少と平均寿命の低下がみられた。廃棄物処理場からのハタネズミの体内組織にはヘキサクロロシクロヘキサンおよび他の塩素化炭化水素が含まれていた。これらの物質は、比較地域のハタネズミの体内組織には認められなかった(Rowley et al., 1983)。広域野外調査では、PomeroyとBarrett (1975)が、カーバメート系殺虫剤セヴィンの使用がコットンラット(*Sigmodon hispidus*)の生殖系の発育遅延および仔数の減少に関係していることを報告した。これらの研究では、小型げっ歯類の個体群は環境化学物質への暴露による生殖系への有害な影響を受けている可能性が示唆されたが、毒性のメカニズムを解明するにはさらに詳細な研究が必要である。

4.1.2.4 調査の進んでいないケーススタディ これま

でに論じた種に加えて、内分泌かく乱作用をもつ物質に暴露された結果、内分泌かく乱や他の生理学的に有害な影響の徴候が示された種が数多く知られている。しかし、こうした事例では、決定的なデータがないことやあるいは状況証拠しかないため、これらの動物におけるEDC暴露がその健康影響の原因かどうかは明確ではない。次の例では、生殖系および非生殖系の両者における機能障害(病理学的な障害および免疫変性など)を含む広範囲にわたる影響の可能性について取り上げている。

4.1.2.4.1 生殖への影響 絶滅の危機にさらされているフロリダパンサー(*Felis concolor coryi*)は、生殖系、内分泌系、免疫系に様々な障害が現れた顕著な例である(Facemire et al., 1995)。この例では、精子異常、精子密度の低下、甲状腺機能障害、不妊、停留精巣などの発生が高い割合(雄の数の90%)で認められた。

カナダのアルバータでは、ツキノワグマとヒグマに雄性化(つまり偽雌雄同体現象)が認められたが、その原因は不明である(Cattet, 1988)。偽雌雄同体現象は、雌クマの幼体(6か月)および高齢体(14年)の両者で観察された。発生率からみて、この結果は外因性のものであることが示唆されている(Cattet, 1988)。ツキノワグマとヒグマはその草食の習性により、アンドロゲン作用をもつ催奇性の除草剤あるいは植物由来アルカロイドに暴露される可能性がある。また、偽雌雄同体現象が内因性の要因(すなわち母方のアンドロゲン過剰)の結果であることも考えられる(Benirschke, 1981)。同様に、Wiigら(1998)によって、ノルウェーのスピッツベルゲンのスバルバルの雌のホッキョクグマ(269頭中の4頭)に偽雌雄同体が認められたことが報告された。この判定は、2頭のクマに陰茎骨を含む20mmのペニス認められ、また他の2頭では生殖器の形態異常および高度の陰核の異常発達が生じたことに基づいている。また、スバルバルのホッキョクグマのPCB濃度が高いことが知られているが(Bernhoft et al., 1997)、汚染物質と内分泌機能の関係は明らかではない。

OC殺虫剤およびPCBsへの暴露が海洋哺乳類の内分泌機能と生殖に影響を与えることが、その他多数の例で示唆されている。例えば、北太平洋ミンククジラ(*Balaenoptera acutorostrata*)では精巣上体と精巣の組織変性が観察された(Fujise et al., 1998)。雌雄同体現象は事例数が限られているが、セントローレンス川のシロイルカ(*Delphinapterus leucas*)で観察された(De Guise et al., 1994)。これは、妊娠初期段階においてPCB/DDTが関与したホルモン阻害に起因するものであり、それによって雄と雌の器官の正常な分化がかく乱されたのである。Subramanianら(1987)は、北西太平洋のシロイルカの血漿テストステロン濃度と脂肪中のDDE(PCBでは認められなかった)濃度が逆相関にあることを報告した。

4.1.2.4.2 非生殖系への影響 病理学的病変は、既知の内分泌かく乱作用をもつ汚染物質に暴露された野生生物のいくつかの種で報告されている。例えば、重度の副腎皮質過形成、骨粗鬆症、腸潰瘍、爪奇形、動脈硬化症、

子宮がん、および上皮の厚みの減少が、バルチックアザラシとハイイロアザラシで報告された(Bergman and Olsson, 1985; Bergman, 1999a, 1999b)。これらの影響は、PCBsとDDTおよびそれらの代謝物、特にPCBメチルスルホン、DDEメチルスルホンおよびDDDが原因であり(Lund, 1994)、視床下部-下垂体-性腺軸と視床下部-下垂体-副腎皮質軸の機能に影響を及ぼしている。副腎過形成や腫瘍の高い発生率などの病変は、セントローレンス川のシロイルカ(*Delphinapterus leucas*)で報告された(De Guise et al., 1994; Martineau et al., 1994)。これらの影響は、ポリハロゲン化芳香族炭化水素およびPCBsへの暴露が関係しているが、汚染物質が病変の原因かどうかは不明である。

内分泌かく乱作用をもつ汚染物質が、野生の哺乳類の免疫機能に及ぼす影響に関して、間接的証拠及び背景となる実験的証拠がある。汚染物質が引き起こす免疫機能障害が内分泌かく乱作用の結果であるかどうかを識別する上で、2つの系の複雑に絡み合った特性が混乱の要因となっている。したがって、この仮説を支持する確固たる証拠はほとんど得られていない(Reijnders, 1999)。このメカニズムが関与すると考えられる1つの例は、ゼニガタアザラシ、バイカルアザラシ(*Phoca sibirica*)、スジイルカ(*Stenella coeruleoalba*)、バンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)などの海洋哺乳類の大量死の原因と指摘された汚染物質が引き起こす免疫機能の抑制である(Dietz et al., 1989)。比較実験では、汚染されたワッデ海の魚を与えた雌のゼニガタアザラシは大西洋の汚染の少ない魚を与えたアザラシと比較して、遅延型過敏症(Ross et al., 1995)とともにナチュラルキラー細胞の活性およびTリンパ球の機能の低下が引き起こされた(de Swart et al., 1994)。魚に含まれる汚染物質が免疫毒性をもつことがこの研究で示されたが、野生生物の生存への影響という点ではこの結果の重要性はよくわかっていない。

4.1.3 結論

現在の科学では、野生の哺乳類が環境汚染物質によって有害な影響を受けたという十分な証拠が提示されている。しかし、これらの結果が内分泌系に依存したメカニズムによって起こるという仮定を裏付けるには、検証が不十分である。内分泌学/生殖生物学に関する知識、また、他の環境上のストレスがどのような影響を与えるかについて一般的に不足しているため、野生の哺乳類に対する環境化学物質の作用機序を評価することは困難である。

4.2 鳥類

4.2.1 特異事象

潜在的EDCsに特別に影響を受けやすくなるような鳥類の生物学上の特徴がいくつかある。鳥類は代謝率が高く、同サイズの有胎盤哺乳類よりも体重あたりの代謝および食物消費が高い。これらの要因と、生体異物の生体内代謝率の増加とが環境汚染物質への暴露を増強させている可能性がある。渡り、求愛、繁殖、餌を与える

親鳥の世話行動は高いエネルギー消費が要求され、また、しばしば飢餓期間を伴う。鳥は貯蔵された脂肪を使ってこれらの状況に対応し、そのために、次々と放出される脂溶性の汚染物質への暴露の可能性が増大する。

鳥類は種によって孵化時のヒナの发育の度合いが異なる。发育の進んだ状態で孵化する鳥を早成性と呼び、一方、发育初期の段階で孵化する鳥は晩成性と呼ばれる。成鳥のサイズに比べて、晩成性の種の卵は、早成性のものより小さく卵黄の含有量が少ない。

晩成性の種では孵化と同時に体温調節せねばならないため、早成性の種に比べて发育により多くの摂取エネルギーを使用する。一方、晩成性の種では養育行動の制限が比較的少ないため、親鳥への要求が大きい(Kleinow et al., 1999)。この2つの発生特性が、毒性学のおよび毒性力学的に重大な意味を持つ。

鳥類の性分化の特徴には、エストロゲン活性をもつEDCsの影響に感受性が高くなる可能性がある。鳥類の胚は発生の重要な時期に外因性のエストロゲンに暴露されると、同じ時期の哺乳類の胎児の場合よりも有害な影響がもたらされる可能性がある。このことは、鳥類と哺乳類におけるエストロゲンの役割の差異によって説明できる。エストロゲンは、鳥類では生殖腺および行動の両者の分化に関与するホルモンであるが、哺乳類の生殖腺分化には関与しない。E₂は、他の内分泌およびパラクリン因子と共に、左卵巢の片側性の発達と右卵巢の退縮に関わっている。さらにE₂は、卵管および卵殻腺部に分化する胚の組織が発達あるいは退縮するかどうかに影響する(NRC, 1999)。ニホンウズラ(*Coturnix coturnix japonica*)の雄において、早期にエストロゲン処理をすると劇的な性行動面での転換が認められるが、これは18日間の孵卵期間中の12日以前に投与した場合にのみ起こる(Adkins, 1979)。一方、雌のキンカチョウ(*Taeniopygia guttata*)におけるE₂による雄化は、孵化後の処理でのみ起こる(Adkins-Regan et al., 1994)。ニホンウズラは早成性であり、キンカチョウは典型的な晩成性の鳴鳥である。これら2つの種で行動の性分化が起きるタイミングの違いは、早成性と晩成性の鳥が同じように发育するが全体の发育過程の中の異なる段階で孵化するという観察に一致している(Adkins-Regan et al., 1994)。

肉食性、特に魚食性の鳥類は、採餌行動の結果、多くの残留性で生体内蓄積性の高い有機化合物にさらされることになる。それらの多くはハロゲン化物である(Giesy et al. 1994b)。特に、残留性塩素化炭化水素の蓄積濃度が最も高く、胎児奇形や胎児死亡(Gilbertson, 1983; Giesy et al., 1994a, 1994b)などの鳥類の生殖機能に対して最も深刻な有害影響を与えるとされた(Kubiak et al. 1989)。これらの影響が個体数の減少に関連したのである(Peakall, 1986, 1988)。

4.2.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.2.2.1 行動における変化 野外および実験の両調査から、五大湖周辺の環境汚染物質が群生する水鳥の行動お

よび繁殖に影響を及ぼすという証拠が得られた。オンタリオ湖のセグロカモメ(*Larus argentatus*)で、抱卵や巣を守ることをしないという養育行動の異常が観察され(Fox et al., 1978)、これらの鳥に蓄積された高濃度の化学汚染物質が異常な行動の原因物質であることが示唆された。

比較研究ではOCsによる鳥類の生殖行動の変化が認められた。DDE、PCBs、マイレックス、フォトマイレックス(オンタリオ湖のサケおよびカモメで見つかった汚染物質)の混合物を餌として与えられたキジバト(*Streptopelia risoria*)で、成鳥でのホルモン濃度および生殖行動に変化がみられた(McArthur et al., 1983)。汚染された餌を食べたことにより、行動誘発性性ホルモンの増加が減少あるいは遅延し、また、汚染された雌は雄の求愛行動に対する正常な応答ができなくなった。最大用量を投与されたつがいでは、ヒナへの給餌時間が短くなった。OC処理した鳥の巣立ち成功率の減少は投与量と著しい相関関係にあり、また繁殖周期は乱れていた。養育中の成鳥ハトにPCB混合物を投与すると、孵卵(Peakall and Peakall, 1973)および求愛行動(Tori and Peterle, 1983)の異常が引き起こされた。PCB投与の雌では後者の実験において特に影響がみられ、求愛行動はごくわずかしき認められず、これが繁殖率の深刻な低下をもたらした。有機リン殺虫剤パラチオンへの暴露も鳥類の孵卵行動や繁殖率に影響を及ぼす可能性がある(Bennett et al., 1991)。

ニホンウズラとキンカチョウの研究では、鳥類の性行動の分化がアンドロゲンおよびエストロゲンに感受性があり、またホルモンの阻害が両性の生殖行動に重大かつ永久的な変化をもたらす可能性があるという重要な証拠が得られた(Adkins, 1979; Simpson and Vicario, 1991; Adkins-Regan et al., 1994; NRC, 1999)。これにより環境汚染物質が行動を変化させる可能性を裏付ける根拠が示されたが、野生の鳥類の個体群における生殖行動の変化に関わる原因物質や内在するメカニズムは解明されていない。

4.2.2.2 生殖系における形態の異常 野生の鳥類集団での生殖腺の発達が高濃度のOCs暴露により影響される可能性がある。1975年と1976年にカナダのスコッチボネット島(Scotch Bonnet Island)で集められた雄のセグロカモメ(*Larus argentatus*)の胚の57%に精巢の雌性化が認められた(Fox, 1992)。この地域の卵は、ダイオキシン、PCBs、マイレックスに汚染されていた(Gilman et al., 1979; Fox, 1992)。同様に、メリケンアジサシ(*Sterna forsteri*)のコロニーでは、高い発生率で精巢異常がみられたが(Nisbet et al., 1996)、これらの影響の原因となる汚染物質は同定されていない。また、鳥類における生殖腺の形態変化については、これが年齢とともに消失する正常な現象である可能性もあるため明確に解釈することができない。さらに、広範囲に及ぶ雌性化が集団レベルの影響に関係しているという証拠もほとんどない。

カモメの卵にE₂、ジエチルスチルベストロール、および環境汚染物質のメトキシクロルやDDTなどを注入す

る実験で、雄の胚の卵精巣形成および雌の胚の右卵管の残存が観察された(NRC, 1999)。アメリカオオセグロカモメ(*Larus occidentalis*)およびカリフォルニアカモメ(*Larus californicus*)の孵卵1日目の卵に o,p' -DDTまたはメトキシクロルを注入すると、生殖腺の発達に変化がみられた(Fry and Toone, 1981; Fry et al., 1987)。このメトキシクロルと o,p' -DDTの注入により、雄の胚の生殖腺に雌性化が起こり、また生存した雌の胚では右卵管の残存が認められた。変化の程度は対照群と E_2 注入の卵の胚における結果の中間を示していた。これらの結果の機能的な重要性を判断することは難しい。雌性化の判断基準は組織学的な小さな変化(左精巣表面の肥厚した皮質における始原生殖細胞の有無など)であり、また、この変化が成鳥の繁殖に影響を与えるかどうかは明白でない。これらの研究は内分泌系の関与の可能性を指摘しているが、決定的な証拠に欠けるのである。

プージェット湾のシロカモメ(*Larus hyperboreus*)集団での生殖腺の雌性化とOC汚染とを関連づける調査は決定的なものではなかった(Fry et al., 1987)。様々な汚染度のいくつかのコロニーから計31羽の雌の成鳥を、巣に仕掛けたわなで捕生生殖腺検査を行った。興味深いことに、右卵管の長さで予測された化学汚染度の間には相関性があった。しかしながら、全ての鳥が一巢のヒナの孵化に成功していたため、これらのデータの重要性は不明である。さらに、最も重度と分類された群(>10 mm)は、セグロカモメの正常な退化右卵管の長さ(9~10 mm)と同様であった(Boss and Witschi, 1947)ため、このエンドポイント自体の妥当性に疑問がもたれる。

4.2.2.3 カモメ個体群における性比の歪度と雌同士のつがい 北米のカモメの個体群の中で、いくつかの繁殖コロニーの雌の数が異常に多いという性比への影響が明らかにされた。性比の変化に関連して、DDTに汚染された地域では雌同士のつがいの発生率が増加した(Fry et al., 1987; Fox, 1992)。顕著な例は、1972~1978年にカリフォルニアのサンタバーバラ島のアメリカオオセグロカモメ個体群(Hunt et al., 1980)に生じた。コロニーにおける雌同士のつがいの発生率は通常、異常に多くの卵がある巣の数つまり“過剰抱卵”を記録することにより評価される。過剰抱卵の一部は雌同士のつがいから生じるが、その他には2羽の雌と1羽の雄の3羽の組み合わせによるものがある(Conover, 1984a)。基本的に1羽の雌は1~3個の卵を生むので、通常、5個以上の卵をもつ巣は複数の雌が関与した結果である(Conover et al., 1979)。過剰抱卵の発生率の増加は、1978~1981年間にミシガン湖北東に生息するセグロカモメで観察された(Shugart, 1980; Fitch and Shugart, 1983)。カリフォルニアと五大湖のカモメの両個体群は、1950年代から1970年代までの間、比較的高濃度のDDTを含むOCsに暴露されていた(Fry and Toone, 1981; Fry et al., 1987; Fox, 1992)。

いくつかの歴史的な研究において、カモメ科の過剰抱卵の発生率がDDT使用時代の前と後において実際に変化したかを判断するために、文献の引用や博物館の標本を

用いて調査が行われた。米国全体のアジサシの多くの種において、この過剰抱卵の現象が、実際には著しく減少したことが発見された(Conover, 1984b)。1950年以降、過剰抱卵の発生率はカモメ科の3種のみにおいて著しく増加した。この種は、五大湖で巣を作るアメリカオオセグロカモメとセグロカモメ、および米国で子育てをするオニアジサシ(*Hydroprogne caspia*)である。DDT時代以前でもクロワカモメ(*Larus delawarensis*)およびカリフォルニアカモメでは過剰抱卵が通常でも起こっており、その現象は時間が経ても変化がない(Conover and Hunt, 1984a)。対照的に、1950年以前には、アメリカオオセグロカモメあるいはセグロカモメでの過剰抱卵は観察されていなかったが、その後それらの個体群全体としての性比は、両種ともに急激に変化して雌の数が過剰になっている。これらの結果は、繁殖コロニーでの雄の数の不足は、成鳥数における雄/雌の比率の低下に起因しており、雌性化した雄の繁殖不能のためではないという説を支持する。

アメリカオオセグロカモメとセグロカモメの雌に対する雄の比率の減少は、この2種の雌雄間での死亡率の差によるものであると考えられる。この差異について詳細な研究はされていない。雄のカモメの方が残留OC汚染物質に汚染されやすいという可能性もある。雄のオオセグロカモメの体重は、平均して雌よりも約25%重く、摂食においては食物連鎖の高い位置にある(Pierotti, 1981)。さらに、雄のカモメは、卵を産むことによって脂溶性汚染物質を排泄する能力をもたない。これらの理由により、雌と比較して、雄はこのような毒性物質をより多く体内蓄積しているかもしれないことが予測される。カリフォルニアと五大湖のカモメで観察された性比の崩れについての別の解釈では、環境中のエストロゲン様汚染物質の暴露によって雄の死亡率の差あるいは雄の胚の雌性化が引き起こされ、それによって化学物質による不妊となり、繁殖

できなかつたとされる(Fry et al., 1987)。この仮説には妥当性があるが、この説あるいは内分泌かく乱に関するメカニズムについて立証する直接的な証拠はない。

4.2.2.4 DDEによる卵殻薄化 DDE(DDTの代謝物)を主とした有害物質による卵殻薄化は、ひびあるいは破損卵を生じたり、また他の生殖に関わる有害な影響をもたらしている(Struger and Weseloh, 1985; Struger et al., 1985; Elliott et al., 1988)。卵殻薄化は、卵殻腺部へのDDEの直接的な作用によって引き起こされるものである(第3章の可能なメカニズムについての議論を参照)。また、北米でDDTが殺虫剤として使用された期間に発生したこの現象で、数種の鳥類が絶滅寸前になった。カナダおよびロシアのハヤブサ(*Falco peregrinus*)の研究では、卵に含まれる高濃度のDDTによる卵殻薄化が現在も引き続き問題になっていると報告している(Johnstone et al., 1996)。

卵殻薄化の度合いは種の感受性によって異なる。例えば、カシヨクペリカン(*Pelecanus occidentalis*)の卵殻の厚みは、DDEの影響で30%以上薄化しているが、二

ホンウズラでは5%～15%の範囲であった。種によっては(ニワトリ、*Gallus domesticus*)、DDEは、卵殻薄化を引き起こさない。ウミガラス(*Uria aalge*)およびミミヒメウ(*Phalacrocorax auritus*)などの卵殻薄化に敏感な種の多くでは、DDTが使用禁止になってから著しく個体数が増加し卵殻厚も増加(図4.1参照)した(Ludwig, 1984; Price and Weseloh, 1986; Bignert et al., 1994; Weseloh and Ewins, 1994)。しかし、生殖能の局所的損傷(Tillitt et al., 1992)、解剖学的に見られる障害(Giesy et al., 1994b)などの他の有害影響は持続している。

4.2.2.5 奇形 魚食性のある種の鳥類で、汚染物質への暴露と直接関係する胚の異常を、特異な症候群 GLEMEDS(五大湖胚芽大量死、水腫、奇形症候群)と定義した(Gilbertson and Fox, 1977; Gilbertson et al., 1991)。GLEMEDSとは、皮下浮腫、嘴の奇形、心臓浮腫、骨の奇形(Fox et al., 1991; Ludwig et al., 1993; Gilbertson et al., 1991)など一定パターンの奇形、特に外胚葉由来の異常(Rogan et al., 1988)などを含む。鶺鴒(crossed-bill症候群)において明らかになった異常は、卵に含まれる様々なポリ塩素化ハロゲンの濃度に関係していた(Fox et al., 1991)。この症候群の発現は、魚を主食とする餌中に存在する化合物が母体で生物濃縮されることにより、卵にコプラナーPCBが蓄積された結果引き起こされたものである(Gilbertson et al., 1991)。

五大湖におけるDDT、PCBsおよびPCDDs/PCDFsの濃度の低下は、魚食性の他の鳥類とともに、セグロカモメとミミヒメウの個体数の増加にもつながった。さらに、生殖機能障害やGLEMEDS症候群の発生率の減少も認められた(Gilbertson et al., 1991; Grasman et al., 1998)。しかしながら、オンタリオ湖および他の五大湖に生息する全てのコロニーをつくる魚食性水鳥の種では、残留OCの暴露に関連した生化学的影響が持続している(Fox et al., 1991; Fox, 1993)。ポリ塩素化ハロゲンは、血中および肝中ビタミンA濃度にも影響を及ぼしている。ビタミンAは正常な胚発生に必須であるため(Twal and Zile, 1997)、ビタミンAの濃度変化が鳥類の先天性欠損症の一因となっている可能性もある。

4.2.3 結論

鳥類では、卵生の生殖様式および特定の生活史の特性による暴露のため、EDCsへの感受性が従来の動物モデルあるいはヒトに比べて高くなっている可能性がある。環境汚染物質への暴露は、内分泌制御過程(生殖)および個体群の総合的な適応度に著しい影響(卵殻薄化など)をもたらす可能性があるが、そのメカニズムは必ずしも内分泌かく乱によるものであるとは言えない。同様に、このような個体が内分泌かく乱を受けても、生殖や個体群の適応度への影響に結びつく場合もあれば、そうでない場合もある。

4.3 爬虫類

4.3.1 特異事象

爬虫類には、有鱗目(トカゲ、ヘビ)、ウミガメおよびカメ、ワニ目(クロコダイル、アリゲーター)、ムカシト

カゲ目(ムカシトカゲ)などの広範囲にわたる様々なグループがある。その進化の歴史において、これらの種は、環境中のEDCsの潜在的な影響を評価する時には考慮しなければならない系統発生的、解剖学的、生理学的そして生態学的に特有な性質を獲得してきた(Lamb et al., 1995; Palmer et al., 1997; Crain and Guillette, 1998)。さらに、爬虫綱は内分泌系が多様であるため、種に共通な生理学的反応を予測することは困難である。

こうした系統発生の背景から、生殖系および発生の特性が多様化した。例えば、ムカシトカゲ、カメ類、ワニ類は全てが卵生であるが、有鱗目では卵生および胎生の両様式がある(Palmer et al., 1997)。卵生の種の中でも、雌の生殖管は解剖学的にかなり多様である(Palmer and Guillette, 1988, 1990, 1992)。爬虫類の全ての種において、生まれる幼体は幼生の段階がなく、親のミニチュアの姿で産まれる。大部分の卵生の爬虫類は卵を埋めるため、周囲の土を通して胚への暴露経路がつくられる。胚は卵殻に取り囲まれているものの溶解した化学物質は容易に卵の中に入りこんでいくのである。

爬虫類は、様々な性決定のメカニズムを有しており、それには遺伝的な性決定、あるいは、全てのワニ、大部

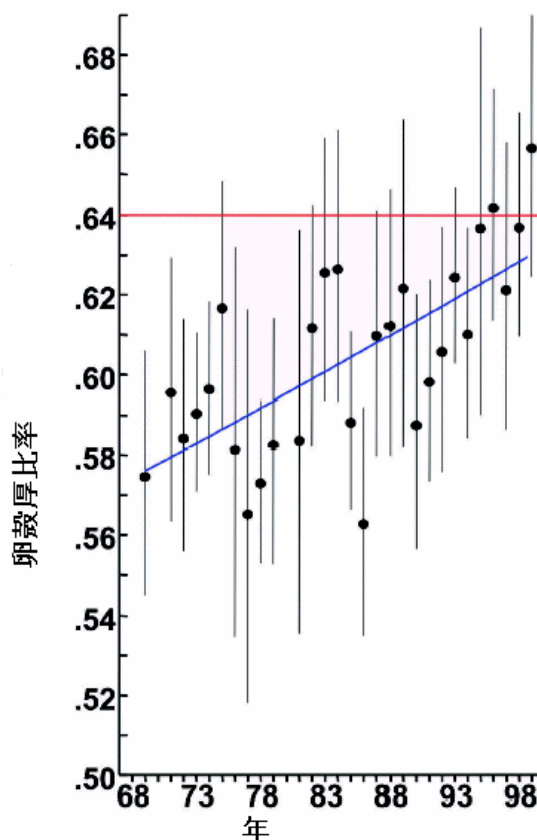


図4.1 1968年～1998年におけるバルト海のウミガラス(*Uria aalge*)の卵の卵殻厚指数 [卵殻重量/(卵殻長×卵殻幅×卵殻厚)](青線)。赤線は、1946年以前の同じひなの群れからのウミガラスの卵の卵殻厚指数を示す(Bignert et al., 1994のデータを修正)。

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の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せうる。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年を越える長命である(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、アポプカ湖に流れこ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、いくつかの卵巣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、アロマタ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はわかっていない。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

両生類では、ほぼ全種が変態を行い、また脊椎動物の中で無顎類(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を特に受けやすいかどうかを確認するデータは不十分であ

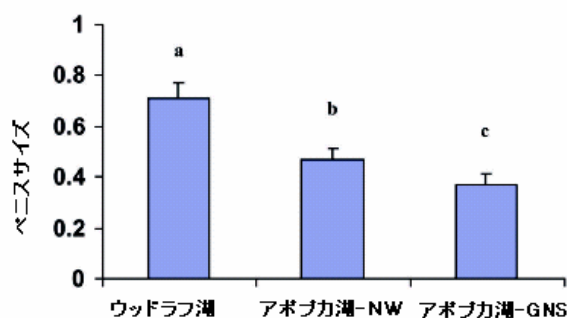


図4.2 対照湖沼(ウッドラフ湖; n=40)および汚染湖沼(アポプカ湖)のそれぞれ2ヶ所の水域におけるアリゲーター(*Alligator mississippiensis*)の平均陰茎サイズ。アポプカ湖のサンプルは、タワケミカル社の流出物中の汚染物質が湖水へ流入しているガードネックスプリング地域(Apopka-GNS; n=34)、および流出地点から離れた湖の北西部地域(Apopka-NW; n=20)の2地点のものである。陰茎サイズは、指標[(陰茎の先端までの長さ×陰茎基部の幅)/鼻の穴の長さ]として表わす。a, b, cの文字は、湖の水域間の有意差(p>.05)を示す。Guillette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、その期間その種は土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ブレンの代謝物が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、その他のエラの特徴(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いて、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ということは、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)。魚類の胆液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。英国のタイ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、タイン、ティーズ、ウイア、マージ - 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、地方や比較的重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は低濃度で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)。

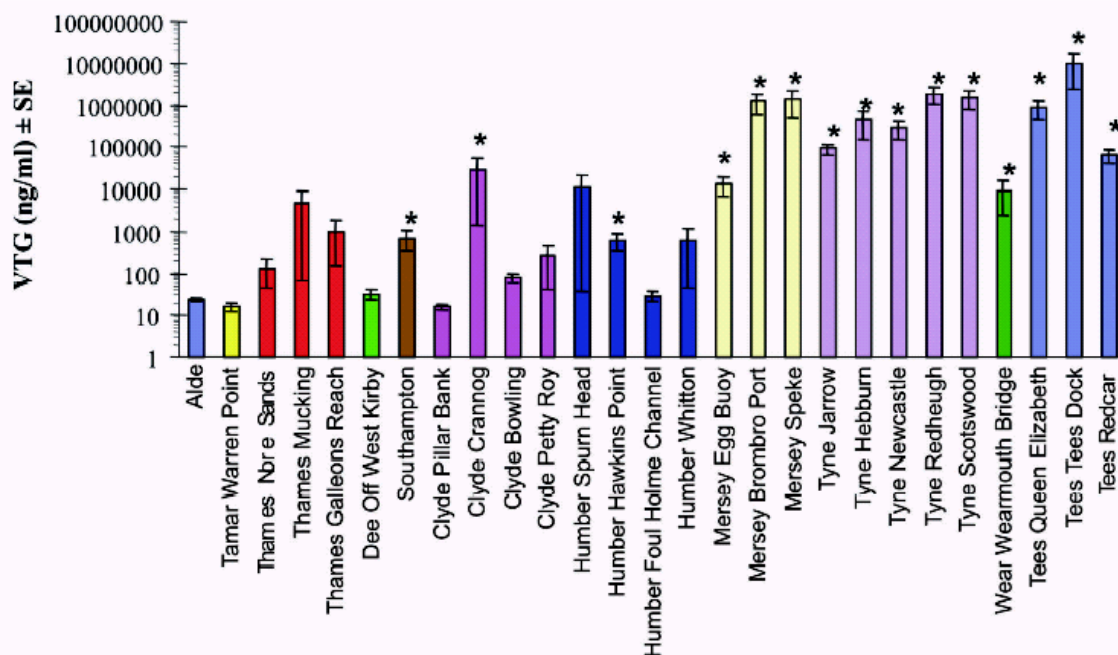


図4.3 1997年に英国内の種々の河口で採取した雄カレイ(*Platichthys flesus*)の血漿VTGの平均濃度。星印は、基準となる汚染されていないアルデ河口(左端)との有意差を示す。英国農業省環境・漁業・水産養殖科学局 (CEFAS)の許可により複製。

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。Pelissier (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 (*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

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

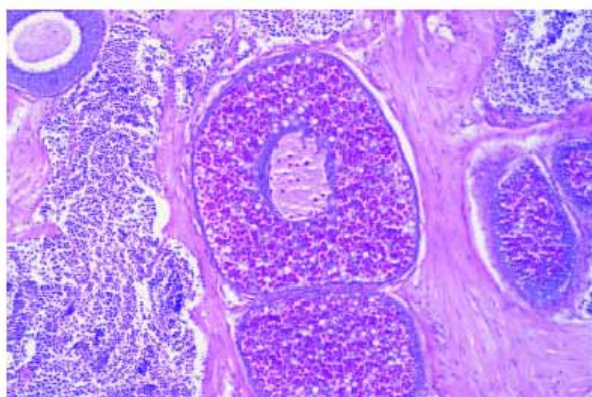


図4.4 1996年に英国マージー川河口で採取した雄カレイ (*Platichthys flesus*) の精巣切片。異常な精子細胞組織に沿って大型の二次卵母細胞(卵巣精巣)がいくつか見られる。英国農業省環境・漁業・水産養殖科学局(CEFAS)の許可により複製。



図4.5 産卵回遊期間中に採取したホワイトサッカ (*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(ホワイツァッカー、ロングノーズサッカーク (*Catostomus catostomus*)、レイクホワイツァッシュ (*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*)、イソギンボ (*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ツァッカーで、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)。このホワイツァ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ツァ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合物は同定されていない。しかしながら、 β -シトステロール、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 -シト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を暴露したホワイツァッカーの肝臓では、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 -シトステロール、カンベ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次生殖結節の発達を引き起こされた。

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

よび産卵量の低下)は、一部のPCBsおよびPAHsの抗エストロゲン作用、あるいはPAHsまたはダイオキシンのAhRへの相互作用が原因である可能性がある。Stein et al. (1991)は、ピュージェット湾の底質からの抽出物をイギリスガレイに注入した結果、血漿E₂濃度が低下することを示した。様々なOCsのエストロゲン作用は、イギリスガレイで観察された雌の早期性成熟に関与している可能性がある(Collier et al., 1998; Johnson et al., 1997)。しかしながら、ピュージェット湾には極めて大量の汚染物質が存在するため、非内分泌系の作用機序についても考慮する必要がある。

4.5.2.2.4 解明の進んでいないケーススタディ 詳細に調査されていないいくつかの事例の中にも、EDCsと疑われている物質への暴露が魚類の繁殖能力に影響を与えていることを示唆する研究がある。例えば、スウェーデンにおいて内分泌かく乱を起こすBKMEの排水がパーチ(*Perca fluviatilis*)の稚魚産生の減少に係るとされた(Neuman and Karås, 1988; Sandström et al., 1988)。さらに、孵化成功率の低下、胚および仔魚の生存率の低下、および稚魚の発育の遅れなどが、バルト海のタイセイヨウニシン(*Clupea harengus*; Hansen et al., 1985)、タイセイヨウマダラ(*Gadus morhua*; Petersen et al. 1997)、およびカレイ(Von Westernhagen et al., 1981)、五大湖のレイクトラウト(*Salvelinus namaycush*) (Mac and Edsall, 1991; Mac et al., 1993)、およびジュネーブ湖のホッキョクイワナ(*Salvelinus alpinus*) (Monod, 1985)において報告された。

潜在的EDCsが生殖腺の発育に対して内分泌かく乱に関与した影響を与えている可能性があるが確認はされていない例は多数ある。例えば、ブルターニュにおけるアモコ・カディス号の原油流出事故後に検出されたカレイにおける卵巣発育の低下と遅延(Stott et al., 1983)、米国東部の汚染された港のカレイの卵重量の減少および卵閉塞の増加(Johnson et al., 1992)、北海南部(Rijnsdorp and Vethaak, 1997)とピュージェット湾(Collier et al., 1998; Johnson et al., 1997)のカレイの早期成熟などが報告されている。このような例は内分泌系を介する様々なメカニズム(受容体を介する作用、脳下垂体-性腺伝達経路への影響、あるいはステロイド代謝に対する相互作用などを含む)によって引き起こされる可能性があるが非内分泌系の毒性や他の環境要因による可能性を除外することはできない。

4.5.2.3 性ステロイド濃度変化 上述の作用に加えて、植物エストロゲンおよびBKME暴露した雄、雌の両性の魚類で、性ステロイド濃度が低下したという報告がいくつかある。例えば、スペリオル湖のジャックフィッシュ湾では、卵黄形成期(生殖腺の発達時期)にBKMEに暴露した雌のホワイトサッカーク、対照地域の雌のホワイトサッカークのステロイド濃度と比較して、血中E₂およびテストステロン濃度の低下(Munkittrick et al., 1991, 1994; McMaster et al., 1991)、および産卵前から産卵期におけるテストステロンおよび17 α ,20 β -P濃度の低下が

示された。雄のホワイトサッカークでも同じように11-KT、テストステロン、17 α ,20 β -Pの低下がみられた。そして、ジャックフィッシュ湾付近で捕獲されたロングノーズサッカークとレイクホワイトフィッシュ(Munkittrick et al., 1992a, 1992b)、北米の別のBKME暴露地域からの他種の魚類(Hodson et al., 1992; Gagnon et al., 1994; Adams et al., 1992)、スウェーデンとフィンランドのパルプ工場排水に暴露したパーチおよびローチにおいても、ホルモン濃度が低下していたことが報告された(Larsson et al., 1997; Van Der Kraak et al., 1997; Karels et al., 1999)。同様の現象は、BKMEに暴露したマミチヨグ(*Fundulus heteroclitus*; Dubé and MacLachy, 2000)でもみられた。実験室では、ファットヘッドミノークの生活環境でBKME暴露により、血中ステロイド濃度に生殖系エンドポイントと平行した影響が現れることが示された(Robinson, 1994; Kovacs et al., 1995)。これらの結果を合わせると、生殖系への応答は、排水の暴露によるもので、生息地の変化などの他の環境要因によるものではないことが実証された。

視床下部-脳下垂体-性腺軸の複数の部位が内分泌かく乱の特性をもつBKMEの含有成分により影響を受けるようである。ジャックフィッシュ湾での産卵回遊期のホワイトサッカークでは、脳下垂体の機能に変化があったことが示された。血漿中の性腺刺激ホルモン(GtH-II)濃度が雌雄ともに対照地域の魚で検出された濃度の約30~50分の1程度であることが測定されたためである(Van Der Kraak et al., 1992)。さらに、暴露した魚では、性腺刺激ホルモン放出ホルモン類似物質への応答(GtH濃度により決定される)が低下し、また*in vitro*の研究では、卵巣のステロイド合成能力が低下していた(テストステロン、17 α ,20 β -P)。そして、BKME暴露の魚ではグルクロン酸抱合型テストステロンの濃度が低下しており、これは末梢でのステロイド代謝が変化したことを示唆している。生殖腺でのステロイド生合成経路におけるBKMEの主な影響は、プレグネノロン(コレステロールからの直接の代謝物)の下流で現れており(McMaster et al., 1995)、ステロイド産成酵素17 α -水酸化酵素/C₁₇₋₂₀リアーゼを阻害する可能性がある。

BKME暴露した魚で観察された内分泌かく乱の原因となる、あるいは作用を助長するBKME成分は最終的には同定されていない。弱いエストロゲン作用をもつ植物ステロールの β -シトステロールは、BKME中に含まれる既知の化合物の1つであり、EDCの疑いのある物質として調べられた。実験室の研究では、BKMEに暴露した野生の魚の個体群で観察されたテストステロン、11-KTおよびE₂濃度低下などの生殖への多くの影響が、 β -シトステロール暴露した金魚において示された(MacLachy et al., 1997)。他の研究では、 β -シトステロールがエストロゲン受容体の段階では作用を示さないことが報告された。むしろ、コレステロールおよびプレグネノロンの働きを妨害し(おそらくcAMP合成に影響することによる)、生殖腺でのステロイド生合成能を低下させる(MacLachy and Van Der Kraak, 1995;

Tremblay and Van Der Kraak, 1999)。BKME中の潜在的EDCsを同定し、またそれらが魚類の生殖過程に対してどのように影響を及ぼすかを解明する詳細な研究が必要であることは明らかである。

他にも自然環境下における魚類での血中性ステロイド濃度の変化の事例はいくつか報告されている。例えば、Folmarら(1996)は、米国においてエストロゲン作用をもつSTW排水の近辺で捕獲された雄のコイ(*Cyprinus carpio*)のテストステロン濃度の低下が示されたが、 E_2 では認められなかったことを発見した。 $E_2/11\text{-KT}$ の比率の上昇が、通常の濃度を超える殺虫剤の残留物が含まれた野生のコイで報告された(Goodbred et al., 1997)。南カリフォルニア湾の雌のケルブバス(*Paralabrax clathratus*)で、血漿GtHおよび E_2 濃度が低下し卵巣のテストステロン合成が増加したのは、OCs生体内蓄積量の増加に関係があった(Spies and Thomas, 1997)。主にPCBsとPAHsに汚染された港の堆積物に3年間おかれた雌のカレイは、テストステロンおよび E_2 の増加が検出されたが、これはCYP450系によるステロイド除去が低下した結果である可能性がある(Janssen et al., 1997)。さらに、エストロゲンに汚染された英国の河口の雄のカレイには、高濃度の E_2 が含まれていた(Scott et al., 2000)。野外調査で得られた魚類における性ステロイド濃度変化の全事例のうち、BKMEについての解明が最も進んでいる。

4.5.2.4 副腎の生理学的変化 他の動物と同様に、魚類におけるストレスはHPI軸を活性化し、最終的に血漿コルチゾール濃度を上昇させる。環境汚染物質が魚類に対して持続的なストレスとなり、HPIの応答を弱める可能性があることが野外調査により明らかにされた。例えば、Hontela et al. (1992, 1995) は、カナダのPAHs、PCBsおよび重金属に汚染された地域のイエローパーチ(*Perca flavescens*)およびノーザンパイク(*Esox lucius*)が急性の取扱いに伴うストレスに対応してコルチゾール生成ができなくなったことを示した。また、それらのACTH(副腎皮質刺激ホルモン)産生細胞(つまり脳下垂体の副腎皮質刺激ホルモン分泌細胞)は萎縮していた。この萎縮は細胞が長期にわたり過剰に活性化された結果であると推測された。この結果には、魚類のエネルギー代謝の調節不全が関係するかもしれない。また、汚染物質に誘導されるCYP450混合機能オキシダーゼ(MAO)システムによって、コルチゾールの除去率が増加した可能性も示唆された。イエローパーチの雌雄どちらでも生殖腺サイズおよびチロキシン濃度が減少した。Hontela et al. (1997) は、別の実験で、BKMEの作用がPCBs、PAHsおよび重金属の作用に似ていることを示した。同研究では、副腎皮質刺激ホルモン分泌細胞および間腎腺のステロイド産生細胞がともに萎縮していた。

Norris et al. (1997b, 1999)による最近の研究で、米国の金属に汚染された水域に生息するブラントラウト(*Salmo trutta*)のコルチゾール濃度は、対照地域の魚と比較して大差なかったことが示された(両群ともに電気

ショックによるストレスを与えた)。しかし、金属に暴露された魚は、コルチゾールの基礎濃度を維持するためにACTHおよび副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモンを過剰に分泌していることが判明した。同様の研究において、慢性的に金属汚染物質に暴露した魚は対照群と比較して、急性ストレスを与えた場合にACTHおよびコルチゾール濃度を維持することができないことが実証された(Norris et al., 1999)。Girard et al. (1998) による別の報告では、汚染された地域からのイエローパーチは、対照地域の魚に比べてACTHの注入に応答したコルチゾール生成量が少ないことが示された。このことは、ACTHがコルチゾール応答不全を修正できなかったことから、間腎組織の障害による影響であることが示唆された。魚類におけるECD誘発性のストレス反応不全やその集団における健康への影響についての詳細な研究が必要である。

4.5.2.5 初期の発育段階における早期死亡 五大湖のサケ科におけるブルーサック症候群(卵黄嚢の青変)は、汚染物質による内分泌かく乱が原因である可能性があり、これは卵黄嚢浮腫、局所脳虚血、出血、頭部異常および幼魚生育期における早期死亡などの特徴を呈する疾病である(Symula et al., 1990; Cook et al., 1997; Ankley and Giesy, 1998; 図4.6参照)。おそらく最も重度の症状はレイクトラウトに現れていたが、同様の症状がイワナ属、サケ属、タイセイヨウサケ属の中の数種で報告された。この状態は実験室においてTCDD(および

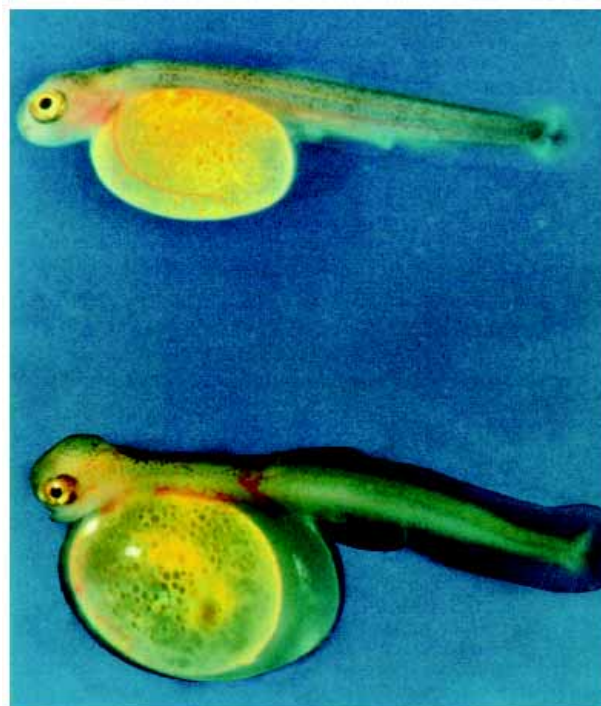


図4.6 受精卵のときに、対照物質(上)またはTCDD(下)に暴露されたレイクトラウト(*Salvelinus namaycush*)の孵化稚魚。下の稚魚は、卵黄嚢および心嚢の浮腫、皮下出血、頭蓋顔面奇形などのブルーサック症の徴候を示している。Cookら(1997)の報告から転載。

その関連物質)を用いて再現され、同様に、PCDDs、PCDFsおよびPCBの同族体などを含むミシガン湖のレイクトラウト成魚からの抽出物によっても再現された(Giesy and Snyder, 1998)。ブルーサック症候群の発生率とこれらの汚染物質への暴露に関する後ろ向き解析(Giesy and Snyder, 1998)の結果、オンタリオ湖のレイクトラウトの繁殖について観察された傾向との汚染との間に相関が示された。この報告まではこの系においてAhRアゴニストが個体群への有害な影響の主な原因であると結論づけている。しかしながら、AhRアゴニストと内分泌かく乱作用をつなげるメカニズムはほとんどわかっていない。

1968年から現在にわたって五大湖の魚類で報告されている別の現象に早期致死症候群(EMS)がある(Marquenski and Brown, 1997)。この症候群は稚魚に影響を及ぼし、平衡感覚の消失、螺旋状の遊泳、不活発、出血および死亡などの特徴を示すものである。これに似た症状が、バルト海のタイセイヨウサケ(*Salmo salar*)に発生しており、M74と呼ばれている(Börjeson and Norrgren, 1997; Bengtsson et al., 1999)。野生の魚類に発生するEMSおよびM74の正確な原因は不明であるが、食餌がその役割を果たしていることが考えられる。実験室では、EMSとM74の両者がチアミン欠乏によって引き起こされることが示され、餌となる生物のチアミンあるいはチアミナーゼ含量の違いが関係すると推察されている。

汚染物質がEMSとM74の病因として作用することを示唆するデータがある。例えば、Tillitt et al. (1996)は、チアミンが、魚類の胚発生に対するダイオキシンの有害影響保護作用があることを示した。したがって、自然下におけるチアミン欠乏がOC汚染の影響を悪化させる可能性がある。さらに、M74の発生率と、PCDFsおよびコプラナーPCBsの生体内蓄積量の増加とは相関していると考えられる(Vuorinen et al., 1997a; Vuorinen and Keinänen, 1999)。また別のメカニズムとして有害物質による甲状腺ホルモンおよびレチノール濃度変化の結果M74が生じる可能性が提案されたが、その証拠は不十分である(Vuorinen et al., 1997b)。両症候群ともEDCsの暴露の関与とは結びつけられておらず、また内分泌系に基づくメカニズムも実証されていない。

殺虫剤マタシル1.8Dに暴露されたカナダの河川流域で幼若のサケが死んだのは、野生の魚類における内分泌かく乱の可能性を示す別の事例である。マタシル1.8DはNPで安定化されている。Fairchild et al. (1999)は、タイセイヨウサケの捕獲量の激減およびサケの2年子(スモルト)の死亡率の割合が、トウヒを食い荒らすトウヒシントメハマキの幼虫駆除に使用されたマタシル1.8Dの散布に一致していることを指摘した。NPを使わず安定化させた類似製品(マタシル1.8F)ではこのような影響が認められなかった。さらにニシン科のブルーバックシャッド(*Alosa aestivalis*)の捕獲量の減少も、マタシル1.8Dの散布に一致して発生していた。Fairchild et al. (1999)は、殺虫剤の散布によって川の水の中で魚類

にエストロゲン作用を引き起こすのに十分な濃度のNPが溶け込んだのであろうと推測した。さらにMadsen et al. (1997)は実験により、NPがサケのスモルト化を抑制し、低浸透圧調節機能に障害を与えることを実証した。性ステロイドおよび性成熟の全過程は、スモルト化および海水適応のための生理学的プロセスと拮抗関係にあることが知られている。しかしながら、このプロセスの詳細な機構とNPの作用についてはよくわかっていない。

4.5.2.6 甲状腺機能障害 五大湖のサケ科の種が、異常に高い発生率で甲状腺機能障害(甲状腺腫)にかかっていることがわかった。脊椎動物の甲状腺肥大は食事における天然ヨードの欠乏によるものと考えられるが、これらのサケの場合には原因としてのヨード欠乏は除外された(Leatherland, 1994)。甲状腺ホルモン濃度の低下は、五大湖、特にミシガン湖およびエリー湖の多くのサケ科の種で観察されている(Leatherland and Sonstegard, 1980, 1984; Leatherland et al., 1989)。当初は、OCsが環境中の甲状腺腫誘発物質として機能することが原因であると疑われていた。PCBsあるいはパークロルデコンを慢性的に暴露させたサケでの実験研究では、たしかに甲状腺ホルモン濃度の低下が示された(Leatherland and Sonstegard, 1978)。しかし、混餌投与試験において、ニジマスおよびギンザケ(*Oncorhynchus kisutch*)に五大湖からのOC汚染魚を与えたところ、同様な結果は認められなかった(Leatherland, 1992, 1993; Leatherland and Sonstegard, 1982)。一方、甲状腺腫の発生および血清甲状腺ホルモン濃度の減少は、汚染魚を与えたげっ歯類で認められ(Leatherland, 1992, 1993)、これにより未確認の甲状腺腫誘発物質の存在が示唆されたのである。どの化合物が五大湖の魚類の甲状腺ホルモン減少に影響しているかはまだ明らかになっていないが、EDCs以外の環境要因がこの障害の原因である可能性を示す証拠が最近になって得られた(Leatherland, 1993, 1994)。

4.5.3 結論

この概説では、北米、アジア、オーストラリアおよびヨーロッパの野生の魚類の個体群に確実に起こっている内分泌かく乱は、ホルモン受容体の相互作用、性ステロイド生合成の阻害、および生殖系と副腎系に対する脳下垂体でのホルモン制御の乱れなどの様々なメカニズムを介していることが示された。しかし、ほとんどの現象についての正確な作用機序はまだ解明されておらず、また、大部分のデータは雌雄異体の種に限られている。観察された障害の原因となる化合物は、合成および天然両方の可能性がある。現状では、既存の内分泌かく乱作用によってどの程度個体群の適応度が影響されるかについてはあまり解明されていない。

4.6 無脊椎動物

4.6.1 特異事象

現存の大部分の主要な無脊椎動物の分類群は、脊椎動物とは異なる系統から進化してきた。したがって、ほとんどの無脊椎動物群の内分泌系は、脊椎動物とは共通点

が少なく、EDCsに対する特有な感受性を有している。さらに無脊椎動物は脊椎動物にはみられないような内分泌系に制御された様々な解剖学的および生理学的な特性をもつ。例えば、多くの無脊椎動物は複雑な生活史をもち、様々な型の雌雄同体現象を発現する。一部の種では性的二型性が明確でない。生殖周期には光強度、温度、乾燥、食餌などの環境上の刺激が関与しており非常に複雑な様相をもつことがある。さらに、ある種では性決定の様式が特有なため考慮が必要である。個々の性別は、必ずしも受精前あるいは受精時に決定されるとは限らず、胚発生または幼体の発達の間に受けた環境条件に影響されることもある(Stahl et al., 1999)。例えば、ボネリムシ(*Bonellia viridis*)は、雌が发育中の幼生を雄性化するための物質を分泌する。この物質が存在しないと幼生は雌へと成長する。EDCsの影響の可能性と多様な環境上の刺激の影響を区別することは、多くの無脊椎動物の種にとって大きな問題となるであろう。関与するホルモンは脊椎動物のものとは異なっているが、無脊椎動物では、通常ホルモンによる性分化および生殖腺発生の制御も行われている。内分泌かく乱作用をもつ環境中の化合物は、野生の脊椎動物と同様に、ホルモン制御機構に影響を及ぼす可能性がある。

脊椎動物の内分泌系の機能と同じように、無脊椎動物の内分泌系も必要な応答を誘導するために環境からの信号あるいは内因性の信号を適切な標的器官に伝達する機能をもっている(LeBlanc et al., 1999)。このような信号伝達経路は、目的の反応を直接刺激する神経ペプチドから始まることが多いが、ステロイドホルモンや幼若ホルモンなどの非ペプチドホルモンも含むホルモンカスケードの一部となることもある。脊椎動物と同様に外因性化学物質はこれらの非ペプチドホルモン受容体に結合しやすい傾向があるため、これらのホルモンは内分泌に有毒な物質の影響をより受けやすい可能性がある。

節足動物(甲殻類、昆虫類、その他の分類群)の2つの主要なホルモンに、エクジステロイドと幼若ホルモンがある。これらのホルモンは、脊椎動物の性ステロイドおよびレチノイドと構造的および機能的に類似する。エクジステロイドは、主に脱皮、胚発生、休眠、クチクラ合成、そしてVTG生成、排卵、精子形成などの様々な生殖系に関わるホルモンとして知られている(Hagedorn, 1985; Koolman, 1989)。また、テルペノイド(特に幼若ホルモン)は、始めは昆虫の幼体に変態して成体へと成長する上で役割を果たすホルモンとして発見された(LeBlanc et al., 1999)。現在では、テルペノイドはエクジステロイドと共に、また場合によっては単独で生殖、性別の決定、行動、休眠、代謝などの様々な機能を調節することが知られている(Nijhout, 1998)。エクジステロイドおよびレチノイドの両ホルモンの作用は、EDCsの標的となりうる特異的な受容体を介して行われる。

多くの無脊椎動物の特有な发育様式や生息地の選び方は、EDCsの暴露の程度を決定する上での有力な要因となる。食餌を濾過して食べる生物では、水相(あるいは水中の微粒子含有物)からEDCsに暴露され、また、沈

着物を餌とする生物は堆積物の粒子に吸着したEDCsにさらされることになる(Depledge and Billingham, 1999)。例えば、多毛類の*Dinophilus gyrociliatus*のような沈着物を餌とする生物は、微粒子に蓄積したNPにより影響を受けるおそれがある。比較実験では、環境と同じ濃度のNPを*D.gyrociliatus*へ暴露すると、卵生成が増加したが卵の生存率は減少することが示された(Price and Depledge, 1998)。草食性の種は、広範囲の天然の植物エストロゲンおよびマイコエストロゲンを摂取する可能性がある。興味深いことに、一部の植物エストロゲンは非常に水に溶けやすく、エクジステロイド(節足動物の脱皮ホルモン)に構造的に類似している(ブラシノステロイド)(Luu and Werner, 1995)。実際に、Subramanian & Varadaraj (1993)は、高濃度の植物ステロイドを含む製紙・パルプ工場の排水に暴露させた何種かの水生昆虫において、脱皮が阻止されることを発見した。同様に、肉食性の無脊椎動物は、汚染された餌からかなりの量のホルモン類似物質を摂取している可能性がある。

4.6.2 作用に基づく応答とケーススタディ

4.6.2.1 腹足類と二枚貝類に対するトリブチルスズ

(TBT)の影響 環境汚染物質による内分泌かく乱の最も顕著な例は、船体の船底防汚塗料に含まれる化合物であるTBTに暴露された軟体動物で報告されている。1980年代に、TBTに暴露した海洋性の腹足類において、インボセックス(雌にペニスおよび精管などの雄の生殖器官が形成される)の発生率が増加していることが観察された(Bryan et al., 1986; Smith and McVeagh, 1991; 図4.7参照)。実験では、雌のヨーロッパチミボラ(*Nucella lapillus*)にTBTを注入することにより、ペニス形成が引き起こされることが示された(Lee, 1991; Spooner et al., 1991)。インボセックスの発生率およびペニス形成の度合いは、TBT暴露の程度に相関する(Bryan et al., 1986)。ヨーロッパチミボラにおけるインボセックスがおこった結果、性比の不均衡、幼生の減少、そして個体数の減少などが生じた(Matthiessen et al., 1999)。前鰓亜綱の腹足類の約150の異なる種が、世界中で有機スズ類(TBTおよびトリフェニルスズ)による影響を被っている(Matthiessen et al., 1999)。TBTは、タマキビ(*Littorina littorea*)において、さらに別の雄性化現象、すなわち半陰陽(インターセックス)を引き起こす(Oehlmann, 1998)。この場合、雌の外套器官が雄の形態的構造へと変化し、前立腺が形成されることがある。インボセックスおよび半陰陽はともに雌の不妊の原因となりうる。

テストステロンおよびペプチドの1種のAPGWアミド(Ala-Pro-Gly-Trp-NH₂)は、雌の腹足類において雄の生殖器官の発生を促すことが示された(Bettin et al., 1996; Oberdorster and McClellan-Green, 2001)。これらのホルモンは雄の生殖器官の発達を促進させる機能をもつ可能性がある。現時点では、TBTがAPGWアミドの活性に影響を及ぼすかどうかについてはわかって

いない。しかしながら、TBTは、雌の腹足類のテストステロン濃度を上昇させる(Spooner et al., 1991; Bettin et al., 1996; Matthiessen and Gibbs, 1998)。TBTがテストステロン濃度を上昇させるメカニズムとして、テストステロンの芳香族化あるいは極性を持つ排泄可能なテストステロン誘導体への変換を阻害する可能性が示された(Spooner et al., 1991; Stroben et al., 1991)。コジキムシロガイ(*Ilyanassa obsoleta*)を用いた最近の研究は、テストステロンが主にこの貝が保持する脂肪酸と結合していることを明らかにした(Gooding and LeBlanc, 2001)。これはテストステロンを不活性化する方法としては特殊な形式であり、このエステル化を触媒する酵素であるアシル補酵素A：テストステロンアシルトランスフェラーゼのTBTによる阻害が、腹足類がTBTの内分泌かく乱作用に特別感受性が高い理由といえよう。

腹足類に加えて、TBTは、ヨーロッパカキ(*Ostrea edulis*)、ムササキガイ(*Mytilus edulis*)およびインタータイダル・クラム(*Scrobicularia plana*)など二枚貝の種の生殖系にも様々な影響を及ぼすことが明らかになった(Matthiessen et al., 1999)。マガキ(*Crassostrea gigas*)は、TBT暴露により、殻の厚み、内腔の増加などの殻の形態の異常が起こり、フランスのアルカションや英国では、港から遠いほど殻の変形の度合いが低下することが発見された(Alzieu, 1991)。高濃度では、雌のカキの生殖系に変化が生じ、精子形成が起こることがある。二枚貝におけるTBTの生殖への影響は、内分泌機能の変化によると考えられるが、マガキの殻厚の増加が内分泌かく乱の結果であるかどうかは不明である(Matthiessen et al., 1999)。

4.6.2.2 甲殻類の内分泌かく乱

4.6.2.2.1 エクジステロイド調節機構のかく乱 エクジステロイドはエクジソン受容体との相互作用により生理学的応答を引き起こす。環境化学物質は、エクジソン受容体に結合し、それを活性化することでエクジソンアゴニストとして機能する可能性がある。多くの植物性化合物がエクジソン受容体のアゴニストとして作用することが知られており(Dinan et al., 2001a, 2001b)、またある種の殺虫剤はエクジステロイドとして作用することで機能している(Sundaram et al., 1998)。エクジステロイドアゴニストは脱皮を加速させ、その結果、不完全な脱皮を引き起こしたり、脱皮途中で死亡させることが示された(Clare et al., 1992; Baldwin et al., 2001)。

環境化学物質は、さらにアンタゴニストとしてエクジソン受容体に結合することもできる。エクジソン受容体アンタゴニストとしての機能を示す化学物質には、ビスフェノールA、リンデン、フタル酸ジエチルなどがある(Dinan et al., 2001a, 2001b)。殺菌剤フェナリモルは、甲殻類の内因性エクジソン濃度を低下させることにより、抗エクジステロイドとして機能することが示された(Mu and LeBlanc, 2001)。甲殻類に抗エクジステロイドを暴露すると、脱皮の遅延および発生異常が引き起こされる(Mu and LeBlanc, 2001)。テストステロンとアンドロステンジオンなどのステロイド系のアンドロゲンは、

抗エクジステロイド様作用をすることが示され、この特性が、これらの化学物質の甲殻類に対する発生毒性の原因であると考えられる。

4.6.2.2.2 幼若ホルモン調節機構のかく乱 昆虫における幼若ホルモンの構造および機能について、その特性は明らかになっている。これらのホルモンは、エクジソン受容体や他の受容体とヘテロ2量体を形成するレチノイドX様受容体と結合して機能すると考えられる(Yao et al., 1993; Jones and Sharp, 1997)。甲殻類では、メチルファルネソエイト(methyl farnesoate)が昆虫の幼若ホルモンと相同な機能をもっている(LeBlanc et al., 1999)。メトプレンは幼若ホルモンの類似物質であり、甲殻類において内分泌かく乱と思われる様々な影響を誘発する。メトプレンは、生殖能力の低下(Templeton and Laufer, 1983; McKenney and Celestial, 1996; Chu et al., 1997; Olmstead and LeBlanc, 2001a)、幼生の発達阻害(Templeton and Laufer, 1983; Celestial and McKenney, 1994)、成長速度および脱皮回数の減少(Olmstead and LeBlanc, 2001a)、性成熟遅延(Olmstead and LeBlanc, 2001a)を引き起こすことが報告されている。さらにメトプレンは、オオミジンコ(*Daphnia magna*)で雄の過剰発生を促すことも指摘さ

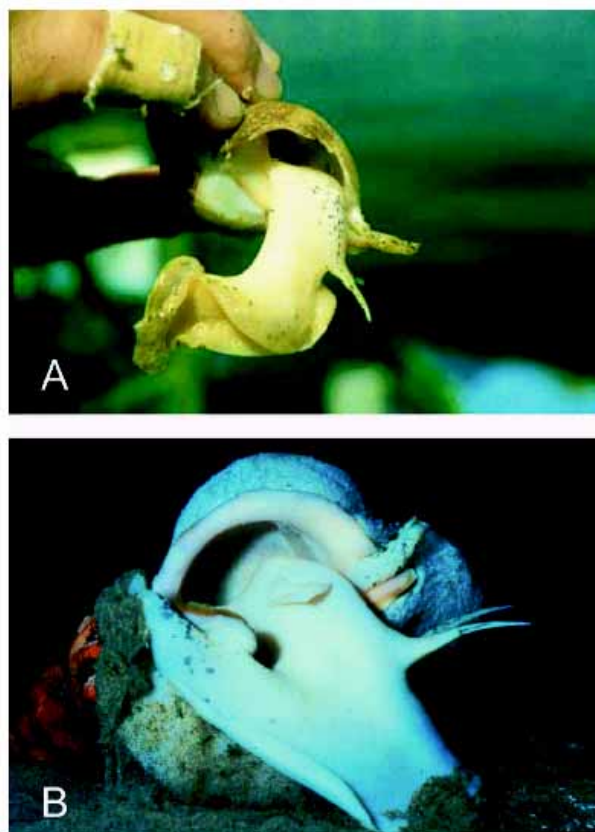


図4.7 一般的なバイガイ(*Buccinum undatum* L.)におけるインボセックス。A) インボセックスでない雌のバイガイ：頭部、触手(右側)、胴体は滑らかである(写真の左下方は伸びた足) B) インボセックスの雌：皮膚の突出は体の右側、右の触手の下に伸びている、これはインボセックスの表れである。写真は、オランダ王立海洋研究所のC.C. ten Hallers-Tjabbes, H. Kralt, J.P. Boon博士らによる提供。

れた(Olmstead and LeBlanc, 2001b)。これらの結果の多くは、環境中で測定されたメトブレン濃度よりもかなり低い濃度で起こっていた(Knuth, 1989)。また、アトラジンおよび4-NPのような環境化学物質は、ミジンコ類の雄の発生を刺激することが示されたが(Dodson et al., 1999a)、反対にディルドリンの暴露では、ミジンコから産まれる雄の数が減少した(Dodson et al., 1999b)。これらの観察により、環境化学物質が甲殻類の幼若ホルモン調節機構に作用して有害な影響を及ぼす可能性が示された。

4.6.2.3 昆虫における脱皮阻害および奇形 内分泌機能の変化を目的とする殺虫剤の開発により、ある種の化学物質が昆虫の内分泌系に及ぼす影響に関する報告が数多く公表されている。標的ではない昆虫への殺虫剤による内分泌かく乱作用についても報告がされている。例えば、果樹園へのフェノキシカルブ(幼若ホルモン類似物質)散布は、ミツバチの幼虫の発達に有害な影響を与えることが示されている(LeBlanc et al., 1999)。

エクジステロイド受容体アゴニストであるテブフェノジドは、ある種の昆虫でエクジソン分泌過剰を引き起こす(Wing, 1988)。これらの影響では、コナガ(*Plutella xylostella*)およびニクバエの仲間(*Neobellieria bullata* Parker)の後胚発生の遅れなどが認められた。テブフェノジドはまた、コロラドハムシ(*Leptinotarsa decemlineata*)およびオオモンシロチョウ(*Pieris brassicae* Hubner)の脱皮を阻害し、ニクバエの最初の脱皮を早め、トウムシの仲間(*Oncopeltus fasciatus* Dallas)で幼虫 - 成虫の中間型の発現を引き起こす。この種では暴露の結果不妊が生じた(Darvas et al., 1992)。Darvasは、さらにテブフェノジドの暴露による昆虫の翼と下顎の奇形を発見した。

植物性外因性ステロイドは水生昆虫においてホルモン作用を示すことが報告された(Adler and Grebenok, 1995)。製紙・パルプ工場の排水は植物性外因性ステロイドを含んでおり、トンボの幼虫の脱皮に影響を及ぼすことが明らかになった(Subramanian and Varadaraj, 1993)。製革工場の排水に暴露した同種のトンボは、1回目の脱皮までの時間が短縮された。著者らは、排水の含有物がエクジステロイドの代謝を阻害した可能性を示唆している。

ユスリカ科の幼虫では、DDE、重金属および製紙・パルプ工場の排水で汚染された堆積物への暴露によって、口吻やその他の頭殻の部位における奇形の発生率が増加した(Matthiessen et al., 1999)。比較実験では、自然環境下と同様の濃度の重金属に暴露させることにより、ユスリカ科の幼虫の奇形が誘導された(Dickman and Rygiel, 1996)。これらの結果の原因となる基本的メカニズムはわからないが、誘起された発生学的異常から、内分泌系に基づくメカニズムが関与しているという仮説が提示された。

4.6.3 結論

無脊椎動物門は、その多様性からこれらの動物の健康

へのEDCsの潜在的な危険性を決定するには数多くの問題が存在する。大部分の無脊椎動物の内分泌学についての知識の不足がこれらの問題を複雑にしており、また無脊椎動物の中では節足動物の内分泌学の理解が最も進んでいるにもかかわらず、我々の理解はまだ十分ではない。脊椎動物でのEDCsの影響は、無脊椎動物において観察された結果に必ずしも類似しないことは明らかである。反対に、無脊椎動物は、脊椎動物において問題にならない化合物の内分泌かく乱作用に対して感受性をもっている。水生および陸生の両無脊椎動物の種が、環境中のEDCsの暴露により影響を受けた度合いを評価するためには、さらに多くの野外を中心とした研究が必要である。

4.7 不確実性および研究の必要性

本章の中で報告されたケーススタディは、野生生物において観察された影響が、EDCsとして機能する物質に起因する可能性があるという確固たる証拠を提示している。一方、内分泌かく乱との因果関係を示す証拠が不明瞭あるいは存在しない場合が数多くある。EDCsに起因する野生生物の多様な応答は、大規模な化学物質の汚染を受けた地域に生息する種において最も顕著に現れていることは明白である。比較的低濃度の化合物に汚染された地域(つまり背景レベル)でも野生生物に重大な危険をもたらすのか、あるいは影響を及ぼす範囲がこれまで調査された野生生物に限られるのかどうかについての疑問には答えが出ていない。

こうしたケーススタディは、多様な種における化学物質の暴露と生理学的な機能障害の因果関係を立証する上で遭遇する問題の一部を明示している。全ての環境毒性学的な調査は、成長、生殖および生存に影響を及ぼす様々な要因が存在するために、複雑を極める。例えば、食物の有効性、疾病の状態、競争および生息地の消失が野生生物への深刻なストレスとなり、野生生物にもたらされるEDCsの危険性を評価する上で測定されるエンドポイントに影響を与えている。その他の混乱をまねく要因としては、多くの野生生物の種についての内分泌、生殖、発生生物学の知識の不足が関係している。EDCsの影響を特に受けるおそれのある胚発生の重要な時期が存在することが認識されているが、この問題についての研究はほとんどされていない。野生生物はこのような多様性をもつが、調査研究はごく少数の種に焦点をあてているため、反応がEDCや他のストレスによるものと推定するには不適切であるかもしれない。現時点では定常的な環境毒性評価は、数種の野生生物にのみ着目する傾向にある。このような調査法では環境に対する人為的影響の生態学的関連性を評価することは十分にできない。例として、研究の少ない鳥類の種の1つにスズメがあげられる。何種類かの鳴き鳥の個体数が広範囲で減少したことが明らかになっているにもかかわらず、このようなこと(スズメの研究がない)があるのである。同様に、無脊椎動物が生態系の構造および機能の解明の鍵であると認知されているにもかかわらず、無

脊椎動物を考慮にいれた研究はほとんどなかった。

大部分の野生生物の生態系リスク評価は、群落や個体群に焦点を置く。しかし、野生生物への EDC の影響を考察する場合、その焦点は各個体にあてられる向きがある。このことは、生理学的変化がどのように各個体に影響するか、あるいは、個々の応答の結果がどのように群落と個体群に影響するかについて、限定的にしか理解されていないため問題がある。成長阻害、生殖への影響、子孫の生存率、性比率の変化、そして世代を超えた影響の生態学的な重要性を定量化することは難しい。考慮に値する調査分野は、EDCs の多世代暴露の結果、人工的な選択が行われた可能性についてである。

一般の実験モデルと比較して、多くの野生生物種は、その生活様式のために系統的な方法で試料を採取することは難しい。野生生物の一部の種において、EDC による影響(個体数の減少、奇形)の度合いを決定するためには、個体群の状態についての基礎データを得るために長期モニタリングが必要である。EDCs の相対的危険性を他のストレス要因から描出しようと試みる場合、また環境中での新たな化学物質の放出にともなう動向分析をする上で、このような研究が基本となる。

現在までの野生生物における多様な応答の結果を踏まえて、今後も EDCs によって野生生物にもたらされる危険の及ぶ範囲について調査研究を続けることが重要である。しかし、生態リスク評価に関する限り、「内分泌かく乱化学物質仮説」の議論は、やや恣意的である。重要な問題は、成長、生殖および生存に対する影響の可能性という視点から野生生物の個体群の状況を評価することである。このためには、危険にさらされている個体群を識別し、重大な知識の不足を補うための資源を提供し、また野生生物に対する影響を評価する上で内分泌学、生理学、生態学および疫学における最新の方法が確実に採用されるべく、国際的な規模での共同作業および協力が必要であろう。最後に、EDCs による真のリスクが理解され、政策の決定および規制の実施が最適な科学的知識に基づくように、我々は研究の結果を広く効果的に伝えていく必要がある。