

実環境における水生生物への影響調査結果について

実環境において、内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質が生物に与える影響を検討するために、今回は、ノニルフェノールの水中濃度が比較的高濃度、中濃度及び低濃度^注で検出された3水域において捕獲されたコイ (*Cyprinus carpio*)の組織学的検査、血液学的検査及び化学的検査を行った。合わせて、アルキルフェノール類及びビスフェノールA等の女性ホルモン様作用が疑われている化学物質類及び女性ホルモン類の水中濃度並びに女性ホルモン様活性を測定した。

1. 調査方法

(1) 調査対象水域の選定

平成 10、11、12 年度の環境実態調査水質調査結果より、ノニルフェノールの比較的高濃度水域として石津川(大阪府、平成 12 年度調査結果は $7.1 \mu\text{g/L}$ で平成 10 年度より増加傾向)、比較的中濃度水域として日光川(愛知県、平成 12 年度調査結果は $2.4 \mu\text{g/L}$ で平成 10 年度より減少傾向)及び印旛放水路(千葉県、平成 12 年度調査結果は $0.9 \mu\text{g/L}$ で平成 10 年度より減少傾向)、比較的低濃度水域として手賀沼(千葉県、平成 12 年度調査結果は検出限界値 $\text{ND}=0.1 \mu\text{g/L}$ 未満で平成 10 年度より減少傾向)を選定した(図 1 参照)^{注 i}。

事前にコイの生育状況について目視及び聞き取り調査を行い、石津川、印

注 i 「ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告(案)」(平成 13 年 8 月、環境省)において、メダカに精巣卵が確認された最小曝露濃度($8.2 \mu\text{g/L}$)に近い水中濃度を比較的高濃度、最大無作用濃度 NOEC($6.08 \mu\text{g/L}$)未満で予想無影響濃度 PNEC($0.608 \mu\text{g/L}$)を上回る濃度を比較的中濃度、予想無影響量を下回る濃度を比較的低濃度とした。

旛放水路及び手賀沼において捕獲調査を行った。

コイの生息密度が比較的低い日光川においては、養殖されたコイを用いた飼育試験を行った。

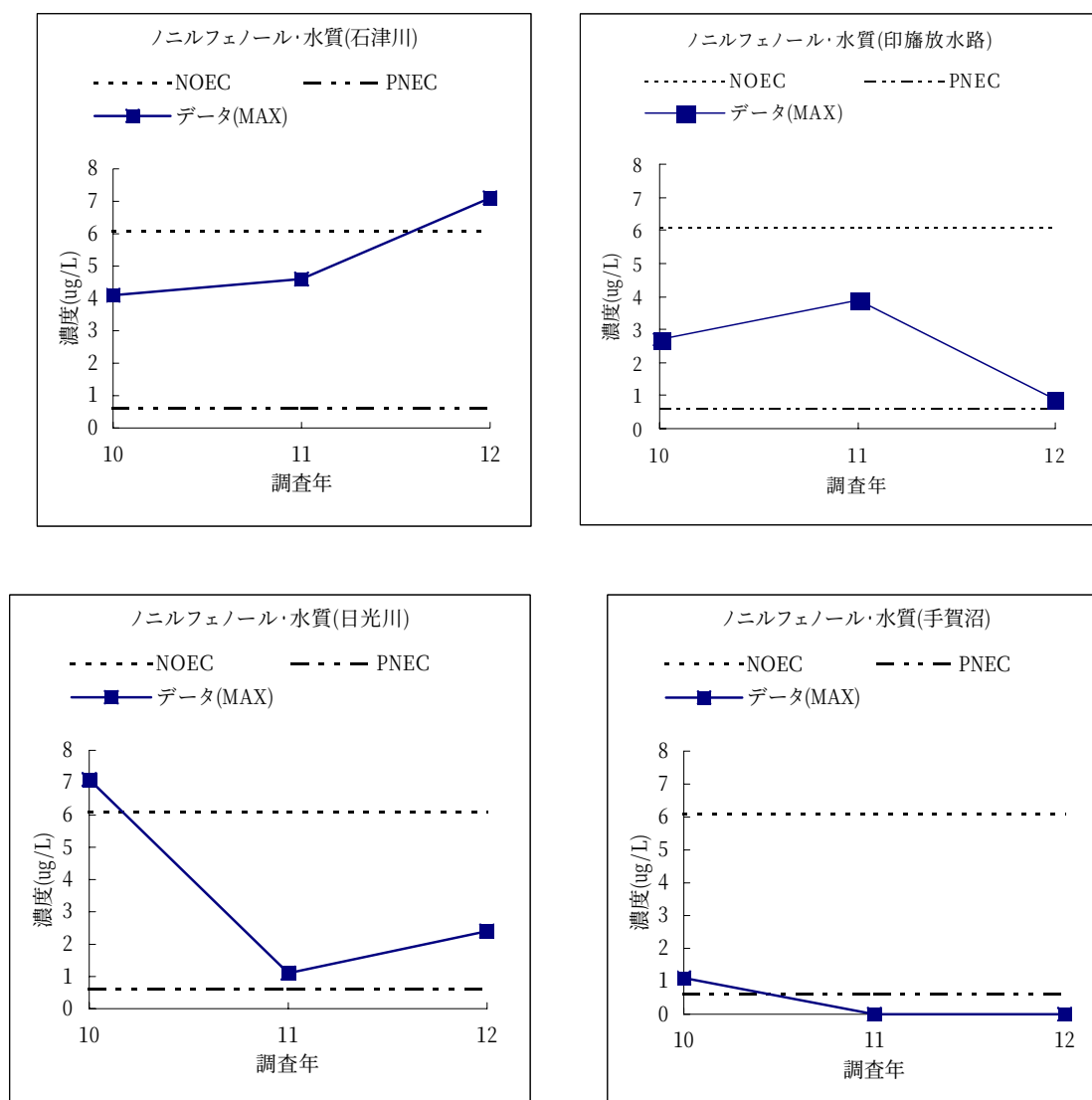


図 1 調査対象水域の環境実態調査水質調査結果の推移

(2) 調査項目

ア コイの検査項目

コイの検査項目を表 1に示した。検査は全て同一の機関が実施した。

表 1 コイの検査項目

検査項目	分析・測定項目
組織学的検査	外貌検査(外観、全長、体長、体重) 解剖学的検査(肉眼的解剖所見、生殖腺重量) 病理検査(生殖腺組織病理所見)
血液学的検査	ビテロジェニン濃度 17 β -エストラジオール濃度 テストステロン濃度
化学的検査	ノニルフェノール濃度(筋肉中) 粗脂肪(筋肉中)

(ア) 組織学的検査

捕獲あるいは飼育試験において回収されたコイは、直ちに外貌検査を経て採血を行った後、解剖し、解剖所見及び生殖腺重量を得た。採取した血液は遠心分離によって血清を分離した後、速やかに凍結保存し、血液学的検査に供した。また、生殖腺はホルマリン固定して病理検査に、筋肉は凍結保存して化学的検査に供した。

(イ) 血液学的検査

ビテロジェニン濃度の測定には市販のコイビテロジェニン測定キット(トランスジェニック社製)を用いた。

17 β -エストラジオール濃度の測定は、HRP 標識抗原として 6-oxo-E2-6-CMO-HRP(COSMO BIO 社製)及び抗体として anti-6-oxo-E2-6-CMO-BSA(COSMO BIO 社製)を用いた ELISA 法によって行った。

テストステロン濃度の測定は、HRP 標識抗原として Testosterone-3-CMO-HRP(COSMO BIO 社製)及び抗体として anti-Testosterone-3-CMO-

BSA(COSMO BIO 社製)を用いた ELISA 法によって行った。

(ウ) 化学的検査

コイ筋肉中のノニルフェノール濃度の測定は「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)」(環境庁、平成 10 年)に準じて行った。

脂質濃度の測定はジエチルエーテル法によって行った。

イ 水質調査

水質調査の項目を表 2 に示した。

表 2 水質調査項目

調査項目	分析・測定項目
化学物質の水中濃度	アルキルフェノール類 ・ノニルフェノール ・4-t-オクチルフェノール ビスフェノール A 女性ホルモン類 ・エストロン ・17 α -エストラジオール ・17 β -エストラジオール ・エストリオール ・エチニルエストラジオール
女性ホルモン様活性	・アゴニスト

(ア) 化学物質の水中濃度

アルキルフェノール類及びビスフェノール A の水中濃度の測定は「外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)」(環境庁、平成 10 年)に準じて行った。

女性ホルモン類の水中濃度の測定は「要調査項目等調査マニュアル(水質、底質、水生生物)」(環境庁、平成 11 年)に準じて行った。

(イ) 女性ホルモン様活性

女性ホルモン様活性の測定には、C18 固相抽出ー酵母 two-hybrid 法 (酵母 Y190 株(Clontech 社)にヒトのエストロゲンレセプター遺伝子 α 、コアクチベーター発現プラスミド及び β -ガラクトシダーゼ発現系レポータープラスミドを導入した酵母を使用^{19,20)})を用い、女性ホルモン様活性を相対化学発光強度として測定した。

なお、女性ホルモン様活性に寄与する物質を推定するために、C18 固相抽出ーメタノール抽出画分を、ヘキサン：ジクロロメタン(1：1)に溶媒転換し、Sep-Pak Silica 固相カートリッジに保持させ、下表の順に分画した。各画分に含まれると考えられた物質¹⁾を表 3 に示した。

表 3 分画方法

画分	溶出溶媒	溶出が確認されている物質
①	非吸着画分	BP、BAP
②	ヘキサン：ジクロロメタン(1：2)	NP
③	ジクロロメタン	NP、NP1EO
④	ジクロロメタン：アセトン(2：1)	E1、E2、E3、NP1EO、NP2EO、BPA
⑤	ジクロロメタン：アセトン(1：2)	NP2EO
⑥	アセトン	
⑦	アセトン：メタノール(2：1)	
⑧	アセトン：メタノール(1：2)	
⑨	メタノール	

BP：ベンゾフェノン、BAP：ベンツ(a)ピレン、NP：ノニルフェノール

NPnEO：ノニルフェノールエトキシレート類、E1：エストロン、

E2：17 β -エストラジオール、E3：エストリオール、BPA：ビスフェノール A

2. 調査の概要

(1) 石津川調査

石津川における調査を平成 13 年 11 月 28、29 日に行った。

コイの捕獲範囲と水質調査位置を図 2 に示した。環境実態調査の観測点が毛穴大橋であるため、その周辺で投網を用いてコイを捕獲した。

水質調査は、環境実態調査の観測点である毛穴大橋が構造上橋上からの採水が困難で夜間作業に危険が伴うため、捕獲範囲内である平岡橋で 24 時間内に 4 回の採水を行った。

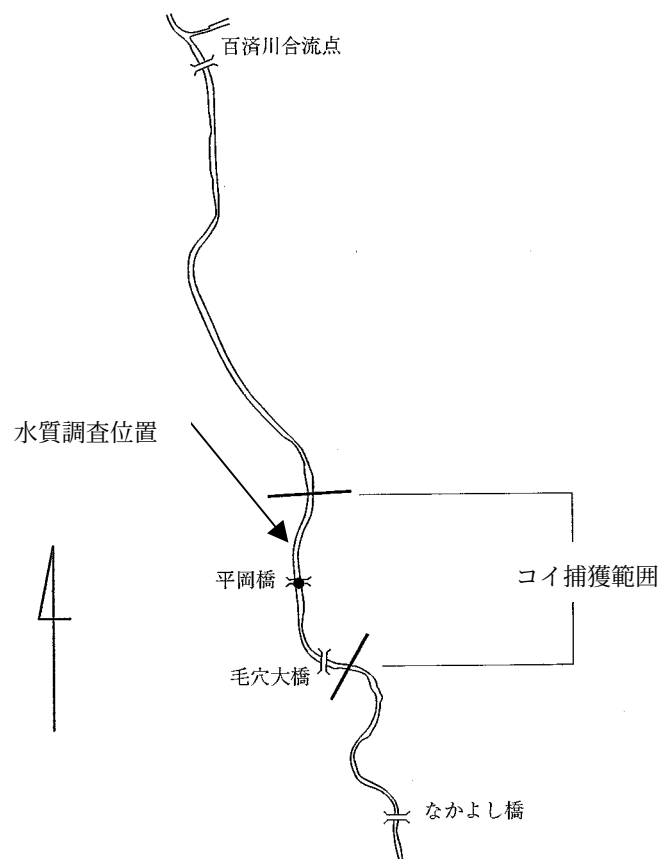


図 2 石津川調査位置図

(2) 印旛放水路

印旛放水路における調査を平成 14 年 2 月 24～28 日に行った。

コイの捕獲範囲と水質調査位置を図 3 に示した。

環境実態調査の観測点が汐留橋であること、汐留橋に堰がありそれより下流ではコイが少ないことから、汐留橋を基点としたその上流で投網及び刺し網を用いてコイを捕獲した(写真 1)。

水質調査は、環境実態調査の観測点である汐留橋で、24 時間内に 4 回の採水を行った。

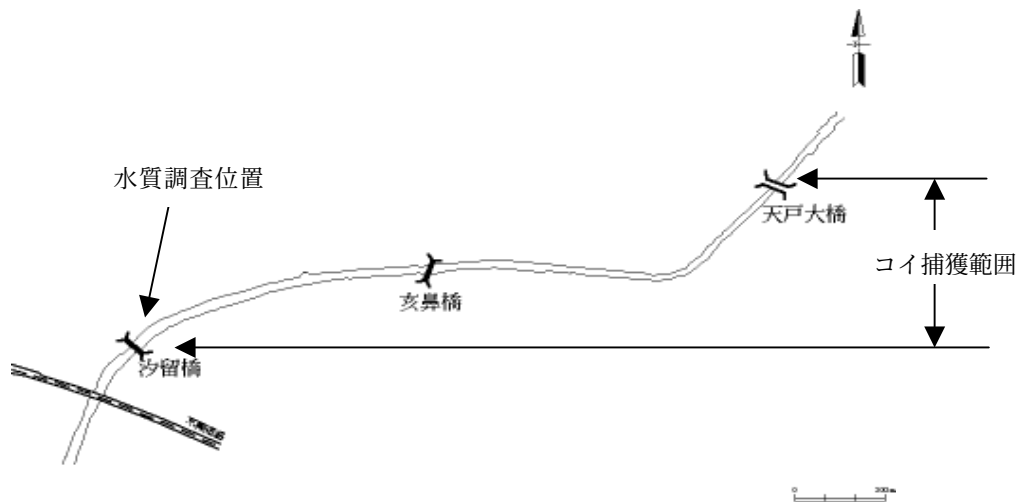


図 3 印旛放水路調査位置図



写真 1 捕獲したコイ(オス、印旛放水路)

(3) 手賀沼

手賀沼における調査を平成 13 年 12 月 11 日に行った。

コイの捕獲範囲と水質調査位置を図 4 に示した。

環境実態調査の観測点(T-B-1)近傍の水域の建網に入網したコイを漁業者より購入した。

水質調査は、手賀沼内に夜間作業可能な傭船がないことから、日中に環境実態調査の観測点(T-B-1)から最も岸に近い建網付近(T-B-4)の間の 4 箇所で行った。

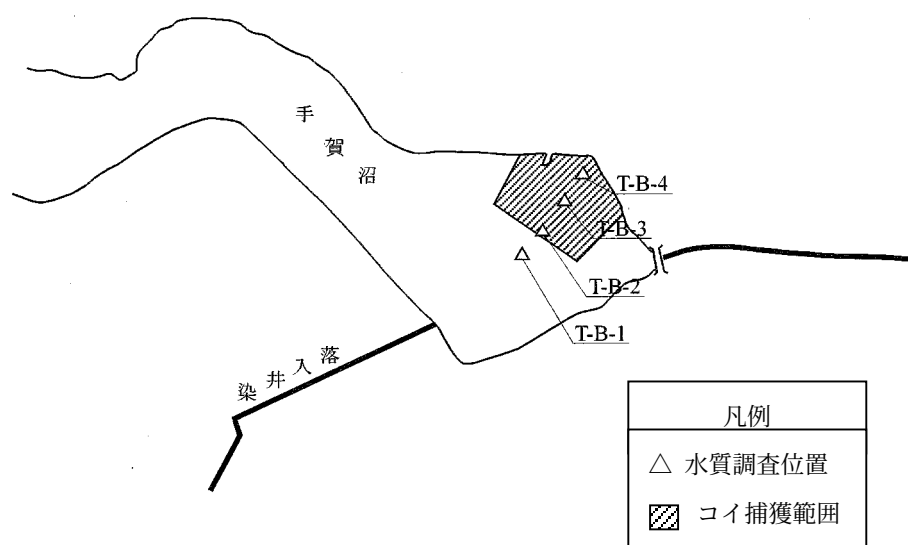


図 4 手賀沼調査位置図

(4) 日光川

日光川における飼育試験を平成 14 年 2 月 10 日～3 月 9 日に実施した。

コイの飼育位置と水質調査位置を図 5 及び図 6 に示した。

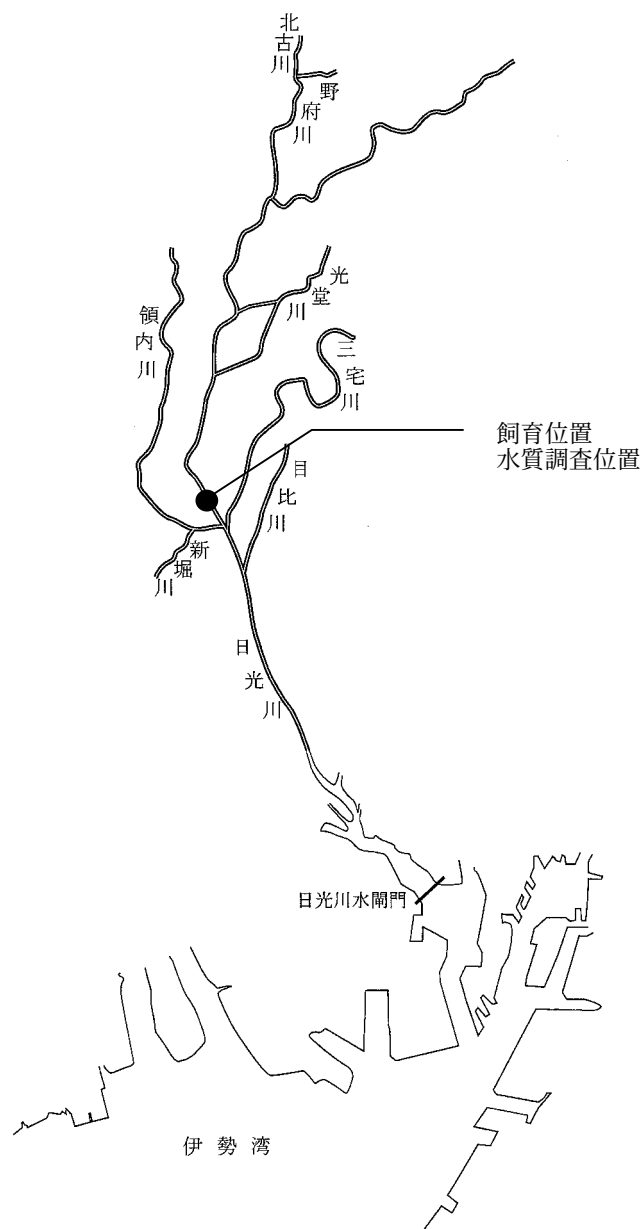


図 5 日光川調査位置図

図 6 に示した 2 箇所にてステンレス金網製の飼育ゲージ(80×50×30cm) 8 個を水中に川底から離して設置し、それぞれ 4 個体を投入した。飼育試験には、コイの筋肉中からノニルフェノールが検出されていない養殖場(杉島養魚場、熊本県)から、オスを選別して使用した。

飼育期間は当初 4 週間を予定したが、飼育 3 週間目に 5 個体の死亡が確認されたため、その時点で死亡した 5 個体と生存していた 14 個体を回収し、生存個体から 7 個体を無作為に選抜し、検査を行った。残りの 8 個体については飼育を継続し、4 週間後に回収し、検査を実施した。

水質調査は、新平和橋の 1 箇所で、飼育期間中に 4 回の調査を行った。

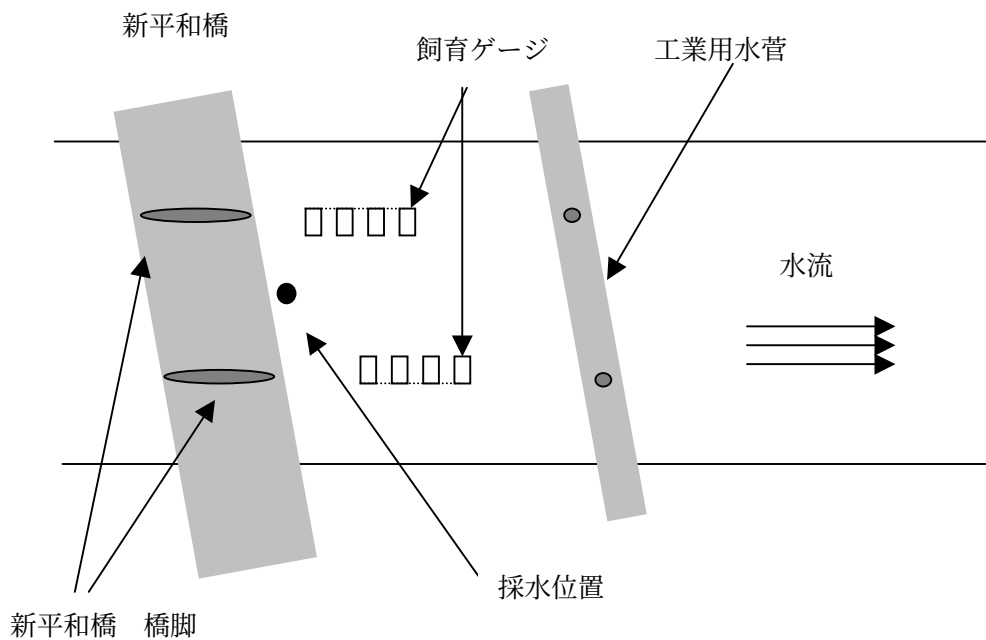


図 6 飼育ゲージ配置図

3. 捕獲調査結果

(1) 石津川

ア コイの検査

コイの検査結果を表 4に示した。

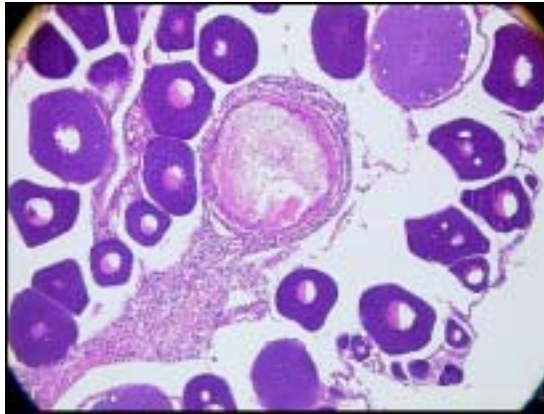
オス 15 個体、メス 5 個体の検査を実施した。検査を行ったオスの平均体重は 1,013 g (500～2,200 g)、平均標準体長は 33 cm (27～42 cm)、メスの平均体重は 942 g (610～1,400 g)、平均標準体長は 32 cm (28～37 cm) であった。

組織学的検査において、生殖腺指数は、オスの平均値は 3.9% (0.5～8.1%)、メスの平均値は 2.6% (0.2～8.3%)であった。解剖所見では、全ての雌雄とも生殖腺及び他の臓器に異常は認められなかった。病理所見では、オスに異常は認められなかったが、メスの 2 個体に退行変性卵^{注ii)}が認められた(写真 2)。

血液学的検査において、ビテロジェニン^{注i)}はオスの 40% (15 個体中 6 個体)、メスの 80% (5 個体中 4 個体)で検出され、オスで 0.071～2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、メスで 0.17～5,300 $\mu\text{g/mL}$ の範囲にあった。テストステロンは全ての雌雄で検出され、オスで 360～4,000 pg/mL 、メスで 360～1,300 pg/mL の範囲にあった。17 β -エストラジオールは全ての雌雄で検出され、オスで 200～1,900 pg/mL 、メスで 250～760 pg/mL の範囲にあった。

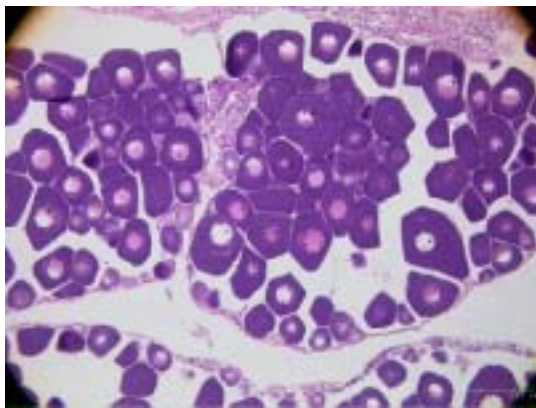
化学的検査において、ノニルフェノールは全ての雌雄で検出され、オスで 210～1,300 $\mu\text{g/kg}$ (平均 594 $\mu\text{g/kg}$)、メスで 290～700 $\mu\text{g/kg}$ (平均 462 $\mu\text{g/kg}$)の範囲にあった。

^{注ii)} 退行変性卵：卵黄蓄積した卵母細胞が退行、崩壊し、周辺の体細胞に吸収される過程の卵^{2,15)}

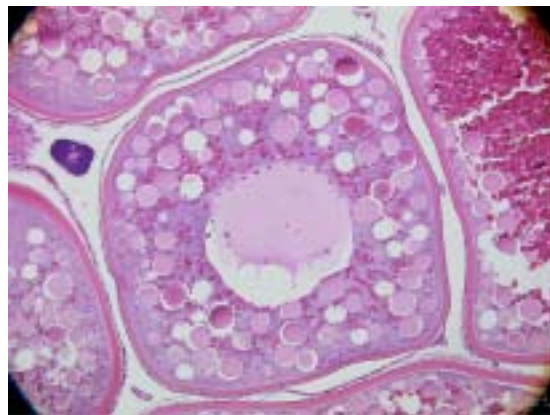


退行変性卵が認められた卵巣(石津川)

(参考)



未成熟卵巣



成熟卵巣

写真 2 病理所見(1)

イ 水質調査

水質調査結果を表 5 に示した。採水時の水温は 15.6～16.8 °C であった。

ノニルフェノールの測定値は、5.0～9.4 $\mu\text{g/L}$ (平均 6.7 $\mu\text{g/L}$)、4-t-オクチルフェノールの測定値は、0.44～1.2 $\mu\text{g/L}$ (平均 0.77 $\mu\text{g/L}$)、ビスフェノール A の測定値は、0.18～0.21 $\mu\text{g/L}$ (平均 0.19 $\mu\text{g/L}$)、エストロンの測定値は、20～21 ng/L (平均 21 ng/L)、17 α -エストラジオールの測定値は、1.3～1.5 ng/L (平均 1.4 ng/L)、17 β -エストラジオールの測定値は、4.2～4.9 ng/L (平均 4.4 ng/L)、エストリオールの測定値は、2 ng/L (平均 2 ng/L)、エチニルエストラジオールの測定値は、ND:<0.1～0.2 ng/L (平均 0.1 ng/L) であった。なお、平均値の算出に当たっては、測定結果が ND であった場合、濃度を ND 値の 1/2 と仮定し、計算した。

今回の測定結果の平均値と平成 12 年度環境実態調査水質調査結果を比較すると、4-t-オクチルフェノール、ビスフェノール A、17 α -エストラジオール、17 β -エストラジオール及びエチニルエストラジオールの平均値は平成 12 年度調査結果を上回り、ノニルフェノールは下回っていた。

酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性測定結果を表 6 に示した。全ての試料に女性ホルモン様活性が認められ、17 β -エストラジオール換算値は 9.6～16 ng/L (平均 11 ng/L) であった。各画分においては、①画分～④画分に活性が認められ、②画分及び④画分で 17 β -エストラジオール換算値が得られた。

表 4 石津川におけるコイの検査結果

検査項目						組織学的検査						血液学的検査			化学的検査	
No.	性別	捕獲日	全長	標準 体長	体重	生殖腺重量			生殖腺 指数	解剖所見	病理所見	ビ テ ロ ジ ン	テ ス ト テ ロ ン	17β-エ ス ト ラ ジ オ ール	ノ ニ ル フェ ノ ール	粗脂肪
						右	左	合計								
			cm	cm	g	g			%			μg/mL 0.039	pg/mL 50	pg/mL 50	μg/kg 15	g/100g —
1	♂	2001/11/28	43.5	36	1,150	50.9	41.8	92.7	8.1	異常なし	異常なし	ND	3,000	1,000	210	1.1
2	♂	2001/11/28	47.5	38	1,550	48.7	15.9	64.6	4.2	異常なし	異常なし	2.0	3,600	380	940	1.8
3	♂	2001/11/28	48.2	37	1,400	37.4	23.7	61.1	4.4	異常なし	異常なし	ND	2,100	1,000	810	1.4
4	♂	2001/11/28	34.0	27	550	8.8	7.8	16.5	3.0	異常なし	異常なし	ND	1,300	200	300	0.5
5	♂	2001/11/28	35.7	29	610	9.8	7.8	17.6	2.9	異常なし	異常なし	1.3	3,100	430	430	0.8
6	♂	2001/11/28	31.0	30	750	12.9	16.7	29.6	3.9	異常なし	異常なし	ND	3,000	670	480	1.3
7	♂	2001/11/28	36.6	29	660	5.6	7.9	13.5	2.0	異常なし	異常なし	ND	360	490	270	0.3
8	♂	2001/11/28	34.0	28	500	1.4	0.9	2.4	0.5	異常なし	異常なし	0.094	400	410	550	0.7
9	♂	2001/11/28	45.0	36	1,250	48.8	28.3	77.1	6.2	異常なし	異常なし	ND	3,600	320	770	2.8
10	♂	2001/11/28	38.0	31	800	4.5	3.4	7.9	1.0	異常なし	異常なし	0.071	750	380	380	0.4
11	♂	2001/11/28	35.0	28	500	14.4	8.4	22.8	4.6	異常なし	異常なし	0.17	2,700	510	490	1.5
12	♂	2001/11/29	47.5	37	1,700	38.8	31.3	70.1	4.1	異常なし	異常なし	ND	3,000	620	1,300	2.7
13	♂	2001/11/29	53.5	42	2,200	52.5	62.5	115.0	5.2	異常なし	異常なし	ND	4,000	700	1,000	4.8
14	♂	2001/11/29	35.5	29	680	20.5	11.8	32.3	4.8	異常なし	異常なし	1.3	3,300	1,900	670	0.9
15	♂	2001/11/29	39.0	31	900	17.7	16.1	33.8	3.8	異常なし	異常なし	ND	3,300	780	310	1.5
16	♀	2001/11/28	46.0	37	1,300	18.4	21.1	39.5	3.0	異常なし	退行変性卵	5,300	680	760	700	1.0
17	♀	2001/11/28	46.0	36	1,400	58.0	57.7	115.7	8.3	異常なし	異常なし	1,900	1,300	740	670	1.3
18	♀	2001/11/28	35.0	28	650	3.4	2.9	6.3	1.0	異常なし	退行変性卵	18	360	490	320	0.4
19	♀	2001/11/28	38.0	30	750	1.1	0.4	1.5	0.2	異常なし	異常なし	ND	660	250	330	0.2
20	♀	2001/11/28	37.1	29	610	1.9	2.1	3.9	0.7	異常なし	異常なし	0.17	500	550	290	0.5

表 5 石津川における水質調査結果

分析項目		4-tert-オクチルフェノール	ノニルフェノール	ビスフェノールA	17β-エストラジオール	17α-エストラジオール	エストリオール	エストラモン	エチニルエストラジオール
単 位		μg/L	μg/L	μg/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
検出限界値		0.01	0.1	0.01	0.1	0.1	1	0.2	0.1
採水日時	11/28 15時 (水温16.8℃)	0.76	7.1	0.18	4.3	1.5	2	20	ND
	11/28 21時 (水温16.4℃)	1.2	9.4	0.18	4.2	1.3	2	21	ND
	11/29 3時 (水温15.6℃)	0.44	5.4	0.18	4.9	1.3	2	21	0.1
	11/28 9時 (水温15.8℃)	0.67	5.0	0.21	4.3	1.5	2	20	0.2
平均値		0.77	6.7	0.19	4.4	1.4	2	21	0.1
(参考)平成12年度 環境実態調査結果		0.65	7.1	0.16	3	3	-	-	ND

表 6 石津川における酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性

[単位：ng/L (17β-エストラジオール換算値)]

画分		全	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
含まれる物質			BP, BAP	NP	NP, NP1E0	E1, E2, E3, NP1E0, NP2E0, BPA	NP2E0	不明			
採水日時	11/28 15時	16	weak	5.7	weak	8.9	ND	ND	ND	ND	ND
	11/28 21時	9.6	weak	6.5	weak	6.5	ND	ND	ND	ND	ND
	11/29 3時	10	weak	6.6	weak	6.6	ND	ND	ND	ND	ND
	11/28 9時	9.8	weak	5.9	weak	9.5	ND	ND	ND	ND	ND
平均		11	weak	6.2	weak	7.9	ND	ND	ND	ND	ND

検出限界値 ND：1 ng/L

Weak：対照に対する発光強度が 10 倍未満であった場合で 17β-エストラジオール換算値は 1～2.7 ng/L

(2) 印旛放水路

ア コイの検査

コイの検査結果を表 7に示した。

オス 15 個体、メス 5 個体の検査を実施した。検査を行ったオスの平均体重は 2,536 g (1,150～4,041 g)、平均標準体長は 45 cm (35～52 cm)、メスの平均体重は 3,166 g (1,683～7,400 g)、平均標準体長は 46 cm (39～60 cm)であった。

組織学的検査において、生殖腺指数は、オスの平均値は 5.6% (0.5～9.1%)、メスの平均値は 11.0% (8.7～14.5%)であった。解剖所見では、オスの 2 個体に精巣異常が認められ(写真 3)、病理所見でもこれらの個体に退縮ⁱⁱⁱと不明細胞増殖^{iv}が認められた。また、メスの 3 個体に退化性卵が認められた(写真 4)。

血液学的検査において、ビテロジェニン³はオスの 53% (15 個体中 8 個体)、メスの 100% (全 5 個体)で検出され、オスで 0.053～1.9 μ g/mL、メスで 790～5,500 μ g/mL の範囲にあった。テストステロンは全ての雌雄で検出され、オスで 3,700～18,000 pg/mL、メスで 1,700～4,900 pg/mL の範囲にあった。17 β -エストラジオールは全ての雌雄で検出され、オスで 350～1,300 pg/mL、メスで 1,100～2,500 pg/mL の範囲にあった。

化学的検査において、ノニルフェノールは全ての雌雄で検出され、オスで 25～280 μ g/kg (平均 101 μ g/kg)、メスで 33～310 μ g/kg (平均 169 μ g/kg)の範囲にあった。

iii 退縮：小嚢構造が不明瞭になった状態や構成細胞が欠落した状態^{3,16)}

iv 不明細胞増殖：精小嚢内に機能不明な体細胞が著しく増殖した状態^{3,17)}



紐状の精巣

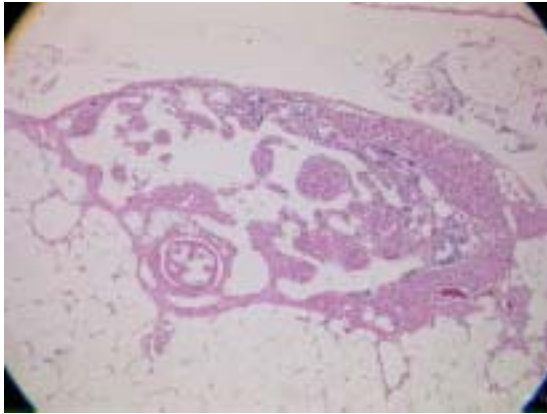


紐状の精巣

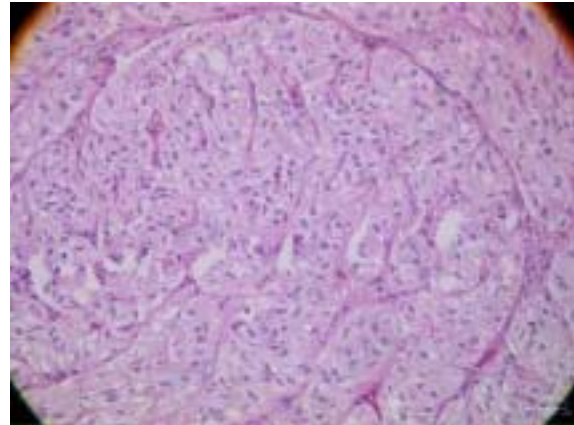


こぶ状の精巣

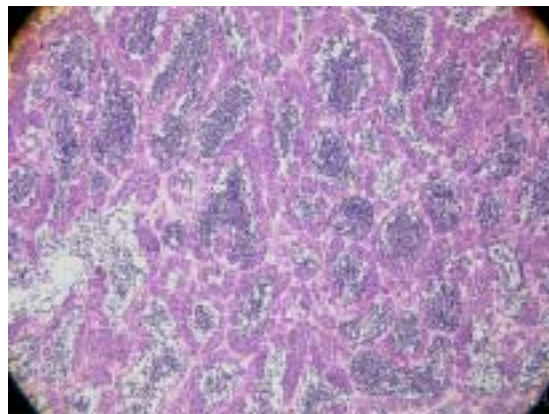
写真 3 解剖所見(印旛放水路)



退縮した精巣(印旛放水路)

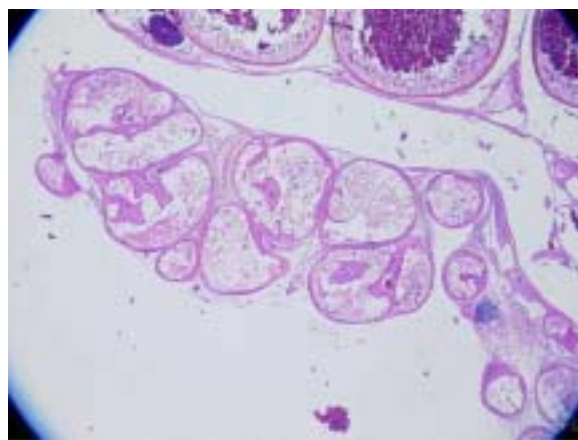


不明細胞の増殖が認められた精巣
(印旛放水路)



(参考)

正常な精巣



退行変性卵が認められた卵巣(印旛放水路)

写真 4 病理所見(2)

イ 水質調査

水質調査結果を表 8に示した。採水時の水温は10.4～12.6 °Cであった。

ノニルフェノールの測定値は、1.7～2.1 $\mu\text{g/L}$ (平均 1.9 $\mu\text{g/L}$)、4-t-オクチルフェノールの測定値は、0.09～0.14 $\mu\text{g/L}$ (平均 0.12 $\mu\text{g/L}$)、ビスフェノール A の測定値は、0.22～0.29 $\mu\text{g/L}$ (平均 0.26 $\mu\text{g/L}$)、エストロンの測定値は、3.5～4.3 ng/L (平均 3.9 ng/L)、17 α -エストラジオールの測定値は、0.2～0.3 ng/L (平均 0.2 ng/L)、17 β -エストラジオールの測定値は、0.9～1.1 ng/L (平均 1.0 ng/L)、エストリオールの測定値は、8～30 ng/L (平均 15 ng/L)であった。エチニルエストラジオールの測定値は、検出限界値 ND=0.1 ng/L 未満であった。なお、平均値の算出に当たっては、測定結果が ND であった場合、濃度を ND 値の 1/2 と仮定し、計算した。

今回の測定結果の平均値と平成 12 年度環境実態調査水質調査結果を比較すると、ノニルフェノール、4-t-オクチルフェノール及びビスフェノール A の平均値は平成 12 年度調査結果を上回り、17 α -エストラジオール及び 17 β -エストラジオールの平均値は平成 12 年度調査結果を下回っていた。

酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性測定結果を表 7に示した。弱い女性ホルモン様活性が認められ、17 β -エストラジオール換算平均値は 1～2.7 ng/L であった。各画分における活性はいずれも検出限界値 ND=1 ng/L 未満であった。

表 7 印旛放水路におけるコイの検査結果

検査項目						組織学的検査						血液学的検査			化学的検査	
No.	性別	捕獲日	全長	標準 体長	体重	生殖腺重量			生殖腺 指数	解剖所見	病理所見	ヒテロジェニン	テストステロン	17β-エストラジオール	ノニルフェノール	粗脂肪
						右	左	合計								
			cm	cm	g	g			%			μg/mL	pg/mL	pg/mL	μg/kg	g/100g
												0.039	50	50	15	—
1	♂	2002/2/26	63.0	50	3,539	61.8	228.8	290.6	8.2	異常なし	異常なし	0.32	7,700	660	110	0.9
2	♂	2002/2/26	59.0	49	3,006	58.0	44.2	102.2	3.4	異常なし	異常なし	0.19	9,000	880	97	1.1
3	♂	2002/2/26	64.0	51	3,343	95.7	49.6	145.3	4.3	異常なし	異常なし	ND	3,700	350	25	0.4
4	♂	2002/2/26	61.0	50	3,400	179.5	129.6	309.1	9.1	異常なし	異常なし	0.37	10,000	780	51	0.8
5	♂	2002/2/26	59.5	49	3,233	130.3	142.6	272.9	8.4	異常なし	異常なし	0.82	5,400	740	82	1.6
6	♂	2002/2/26	49.5	41	1,893	97.0	41.9	138.9	7.3	異常なし	異常なし	ND	6,600	610	98	0.5
7	♂	2002/2/26	49.0	40	1,907	55.8	74.4	130.2	6.8	異常なし	異常なし	0.54	8,700	970	120	2.1
8	♂	2002/2/27	43.0	35	1,150	36.5	20.4	56.9	4.9	異常なし	異常なし	ND	7,000	460	280	0.5
9	♂	2002/2/27	55.0	44	2,485	43.0	78.9	121.9	4.9	異常なし	異常なし	0.053	7,400	610	40	0.6
10	♂	2002/2/27	50.5	43	2,281	55.4	82.6	138.0	6.0	異常なし	異常なし	ND	6,300	1,100	88	0.6
11	♂	2002/2/27	50.5	42	1,955	49.0	72.0	121.0	6.2	異常なし	異常なし	0.12	12,000	640	94	0.6
12	♂	2002/2/27	64.0	52	4,041	119.0	170.5	289.5	7.2	異常なし	異常なし	ND	18,000	1,000	45	0.7
13	♂	2002/2/27	46.0	40	1,558	34.5	44.2	78.7	5.1	異常なし	異常なし	ND	6,800	1,300	150	0.3
14	♂	2002/2/28	54.5	44	2,330	32.0	11.1	43.1	1.8	精巣：左紐状、右瘤状	退縮	ND	7,300	840	130	2.6
15	♂	2002/2/28	54.0	42	1,913	10.3		10.3	0.5	精巣：紐・瘤状・左右連結	退縮・不明細胞増殖	1.9	5,000	440	110	0.5
16	♀	2002/2/26	48.5	40	1,755	99.4	147.2	246.6	14.1	異常なし	退行変性卵	5,500	4,900	1,100	310	1.0
17	♀	2002/2/26	56.5	45	2,220	98.1	95.5	193.6	8.7	異常なし	異常なし	2,100	1,700	1,200	170	0.4
18	♀	2002/2/27	59.0	46	2,772	60.0	191.0	251.0	9.1	異常なし	異常なし	790	1,900	1,300	40	0.8
19	♀	2002/2/27	49.5	39	1,683	60.0	86.8	146.8	8.7	異常なし	退行変性卵	2,100	1,700	1,500	33	1.0
20	♀	2002/2/27	71.0	60	7,400	492.0	582.0	1074.0	14.5	異常なし	退行変性卵	4,300	2,200	2,500	290	6.2

表 8 印旛放水路における水質調査結果

分析項目		4-tert-オクチルフェノール	ノニルフェノール	ビスフェノールA	17β-エストラジオール	17α-エストラジオール	エストリオール	エストロン	エチニルエストラジオール
単 位		μg/L	μg/L	μg/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
検出限界		0.01	0.1	0.01	0.1	0.1	1	0.2	0.1
採水日時	2/24 21時 (水温10.8℃)	0.09	1.7	0.28	0.9	0.2	10	3.5	ND
	2/25 3時 (水温10.4℃)	0.10	1.8	0.29	0.9	0.2	8	4.0	ND
	2/25 9時 (水温10.4℃)	0.14	2.1	0.26	1.0	0.2	11	4.3	ND
	2/25 15時 (水温12.6℃)	0.13	2.0	0.22	1.1	0.3	30	3.9	ND
平均		0.12	1.9	0.26	1.0	0.2	15	3.9	ND
(参考)平成12年度 環境実態調査結果		ND	0.9	0.12	1.1	0.5	-	-	ND

表 9 印旛放水路における酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性

〔単位：ng/L（17β-エストラジオール換算値）〕

画分		全	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
含まれる物質			BP, BAP	NP	NP, NP1E0	E1, E2, E3, NP1E0, NP2E0, BPA	NP2E0	不明			
採水日時	2/24 21時	weak	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	2/25 3時	weak	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	2/25 9時	weak	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	2/25 15時	weak	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
平均		weak	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

検出限界値 ND：1 ng/L、Weak：対照に対する発光強度が 10 倍未満であった場合で 17β-エストラジオール換算値は 1～2.7 ng/L

(3) 手賀沼

ア コイの検査

コイの検査結果を表 10に示した。

オス 15 個体、メス 5 個体の検査を実施した。検査を行ったオスの平均体重は 798 g (487～1,004g)、平均標準体長は 33 cm (26～36 cm)、メスの平均体重は 603 g (386～971 g) 、平均標準体長は 29 cm (25～38 cm)であった。

組織学的検査において、生殖腺指数は、オスの平均値は 4.2 % (0.7～8.9%)、メスの平均値は 2.0% (0.5～4.7%)であった。解剖所見では、全ての雌雄とも生殖腺及び他の臓器に異常は認められなかった。病理所見では、オスには異常は認められなかったが、メスの 3 個体に退行変性卵が認められた(写真 5)。

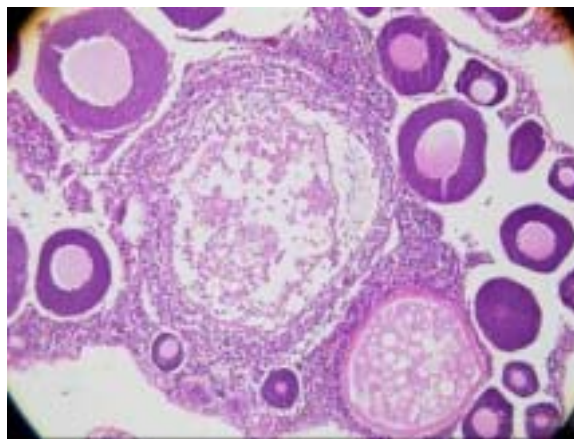


写真 5 退行変性卵が認められた卵巣(手賀沼)

血液学的検査において、ビテロジェニン全てのオスで検出限界値 ND=0.039 μ g/mL 未満であったが、メスの 100% (全 5 個体)で検出され、0.18～23 μ g/mL の範囲にあった。テストステロンは全ての雌雄で検出され、オスで 210～3,800 pg/mL、メスで 180～350 pg/mL の範囲にあった。

17 β -エストラジオールは全ての雌雄で検出され、オスで 60～550 pg/mL、メスで 180～340 pg/mL の範囲にあった。

化学的検査において、ノニルフェノールは全ての雌雄で検出限界値 ND=15 μ g/kg 未満であった。

イ 水質調査

水質調査結果を表 11に示した。採水時の水温は 5.0 $^{\circ}$ Cであった。

ノニルフェノールの測定値は、ND:<0.1～0.1 μ g/L (平均 ND:<0.1 μ g/L)、4-t-オクチルフェノールの測定値は、ND:<0.01～0.02 μ g/L (平均 0.01 μ g/L)、ビスフェノール A の測定値は、0.08～0.15 μ g/L (平均 0.12 μ g/L)、エストロンの測定値は、0.8～0.9 ng/L (平均 0.9 ng/L)、17 β -エストラジオールの測定値は、0.2～0.3 ng/L (平均 0.2 ng/L)であった。17 α -エストラジオール、エストリオール、エチニルエストラジオールの測定値は、それぞれ検出限界値 ND 未満であった。なお、平均値の算出に当たっては、測定結果が ND であった場合、濃度を ND 値の 1/2 と仮定し、計算した。

今回の測定結果の平均値と平成 12 年度環境実態調査水質調査結果を比較すると、4-t-オクチルフェノール及びビスフェノール A の平均値は平成 12 年度調査結果を上回り、17 α -エストラジオール及び 17 β -エストラジオールの平均値は平成 12 年度調査結果を下回っていた。

酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性測定結果を表 12 に示した。全ての試料で、女性ホルモン様活性は検出限界値 ND=1 ng/L 未満であった。

表 10 手賀沼におけるコイの検査結果

検査項目						組織学的検査						血液学的検査			化学的検査	
No.	性別	捕獲日	全長	標準 体長	体重	生殖腺重量			生殖腺 指数	解剖所見	病理所見	ヒ ン ジ ン ロ ン	テ ス ト ス テ ロ ン	17β- エ ス ト ラ ジ オ ール	ノ ニ ル フ ェ ノ ール	粗脂肪
						右	左	合計								
			cm	cm	g	g			%			μg/mL 0.039	pg/mL 50	pg/mL 50	μg/kg 15	g/100g —
1	♂	2001/12/11	33.0	28	609	6.9	7.0	13.9	2.3	異常なし	異常なし	ND	1,700	390	ND	0.4
2	♂	2001/12/11	42.5	36	1,004	37.9	32.4	70.3	7.0	異常なし	異常なし	ND	2,200	340	ND	0.6
3	♂	2001/12/11	39.5	33	638	12.1	10.4	22.5	3.5	異常なし	異常なし	ND	370	340	ND	0.5
4	♂	2001/12/11	36.5	31	882	35.3	29.5	64.8	7.4	異常なし	異常なし	ND	3,800	190	ND	0.9
5	♂	2001/12/11	39.5	32	799	27.1	18.8	45.9	5.8	異常なし	異常なし	ND	300	550	ND	0.4
6	♂	2001/12/11	37.0	31	659	2.5	2.2	4.7	0.7	異常なし	異常なし	ND	210	160	ND	0.5
7	♂	2001/12/11	44.5	36	876	15.2	23.9	39.1	4.5	異常なし	異常なし	ND	850	170	ND	0.3
8	♂	2001/12/11	40.0	33	759	12.0	8.6	20.6	2.7	異常なし	異常なし	ND	1,200	110	ND	0.6
9	♂	2001/12/11	42.0	35	796	15.0	10.1	25.1	3.2	異常なし	異常なし	ND	830	120	ND	0.6
10	♂	2001/12/11	31.5	26	487	5.3	5.8	11.1	2.3	異常なし	異常なし	ND	320	76	ND	0.5
11	♂	2001/12/11	45.0	34	824	25.3	14.5	39.8	4.8	異常なし	異常なし	ND	1,300	430	ND	0.9
12	♂	2001/12/11	44.0	34	872	20.0	27.2	47.2	5.4	異常なし	異常なし	ND	1,200	76	ND	0.4
13	♂	2001/12/11	46.0	35	918	12.8	10.0	22.8	2.5	異常なし	異常なし	ND	470	60	ND	0.4
14	♂	2001/12/11	44.0	35	843	11.7	6.0	17.7	2.1	異常なし	異常なし	ND	350	180	ND	0.7
15	♂	2001/12/11	41.0	34	1,003	51.1	38.4	89.5	8.9	異常なし	異常なし	ND	1,200	450	ND	0.6
16	♀	2001/12/11	44.0	38	971	22.5	23.5	46.0	4.7	異常なし	退行変性卵	23	240	320	ND	0.5
17	♀	2001/12/11	31.5	26	494	3.2	1.0	4.2	0.9	異常なし	退行変性卵	0.35	180	340	ND	0.3
18	♀	2001/12/11	30.0	25	386	3.9	3.6	7.5	1.9	異常なし	退行変性卵	0.45	240	210	ND	0.4
19	♀	2001/12/11	33.5	29	535	1.0	1.5	2.5	0.5	異常なし	異常なし	0.18	350	180	ND	0.3
20	♀	2001/12/11	34.0	28	631	6.4	5.3	11.7	1.9	異常なし	異常なし	8.1	330	260	ND	0.6

表 11 手賀沼における水質調査結果

分析項目		4-t-オクチルフェノール	ノニルフェノール	ビスフェノールA	17β-エストラジオール	17α-エストラジオール	エストリオール	エストロン	エチニルエストラジオール
単 位		μg/L	μg/L	μg/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
検出限界		0.01	0.1	0.01	0.1	0.1	1	0.2	0.1
採水位置	TB-1 (水温5.0℃)	0.02	0.1	0.15	0.3	ND	ND	0.9	ND
	TB-2	ND	0.1	0.13	0.2	ND	ND	0.8	ND
	TB-3	0.01	ND	0.12	0.2	ND	ND	0.9	ND
	TB-4	0.01	ND	0.08	0.2	ND	ND	0.8	ND
平均		0.01	ND	0.12	0.2	ND	ND	0.9	ND
(参考)平成12年度 環境実態調査結果		ND	ND	0.04	1.0	0.1	-	-	ND

表 12 手賀沼における酵母 two-hybrid 法による女性ホルモン様活性

〔単位：ng/L (17β-エストラジオール換算値)〕

画分		全	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
含まれる物質			BP, BAP	NP	NP, NP1E0	E1, E2, E3, NP1E0, NP2E0, BPA	NP2E0	不明			
採水位置	TB-1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TB-2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TB-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TB-4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
平均		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

検出限界値 ND：1 ng/L

Weak：対照に対する発光強度が 10 倍未満であった場合で 17β-エストラジオール換算値は 1～2.7 ng/L

(4) 捕獲調査結果のまとめ

捕獲調査結果の概要を表 13 に示した。

ア コイの検査結果

組織学的検査において、オスの生殖腺指数は、石津川で平均 3.9 % (0.5～8.1%)、印旛放水路で平均 5.6% (0.5～9.1%)、手賀沼で平均 4.2 % (0.7～8.9%)であった。これらの値を建設省が本調査とほぼ同一の季節の平成 10 年 11～12 月に実施したコイの調査結果⁴⁾と比較すると、平均値 (5.3%) はほぼ同程度で、その変動範囲 (0.2～13.1%)に含まれていた。

オスメダカ等が女性ホルモン様作用を示す物質に曝露された際に精巢に形成される精巢卵^{5,6)}は今回捕獲されたコイには認められなかった。

オスの解剖所見及び病理所見では、印旛放水路で捕獲された 2 個体に精巢異常が認められ、これらの個体の精巢に退縮、不明細胞増殖が認められた。

メスの生殖腺指数は、石津川で平均 2.6% (0.2～8.3%)、印旛放水路で平均 11.0% (8.7～14.5%)、手賀沼で平均 2.0% (0.5～4.7%)であった。

メスの解剖及び病理所見では、石津川で捕獲された 2 個体、印旛放水路で捕獲された 3 個体及び手賀沼で捕獲された 3 個体に退行変性卵が認められた。

血液学的検査において、オスの血清中ビテロジェニン⁷⁾は、石津川では捕獲された個体の 40%、印旛放水路では捕獲された個体の 53%で検出され、その濃度範囲は、石津川で 0.071～2 $\mu\text{g/mL}$ 、印旛放水路で 0.053～1.9 $\mu\text{g/mL}$ であった。手賀沼で捕獲された個体は全て検出限界値 $\text{ND}=0.039 \mu\text{g/mL}$ 未満であった(図 7)。

建設省が平成 10 年 11～12 月に実施した全国調査結果(参考資料 1)