生育初期段階のメダカに対するノニルフェノールの内分泌かく乱作用

堀尾剛、小原裕三、大津和久、石原悟、遠藤正造 農業環境技術研究所 化学環境部

メダカ(Oryzias latipes)は化学物質の毒性評価にしばしば使われてきた生物である。最近では飼育・管理の容易さ、ライフサイクルの短さ等の利点より内分泌かく乱作用の検定生物としても用いられている。その系統の一つに d-rR 系統がある。この系統において、性染色体(Y)上に体色をコードする遺伝子が存在するため、遺伝的な雄はヒメダカ、雌はシロメダカとなる。一方、尻ヒレの形や大きさに代表される二次性徴の変化は、性ホルモンやそのアゴニスト等により支配されている。従って、この系統のメダカを用いることにより、遺伝的な性と機能的な性とを区別して観察できるため、性転換個体の検出が容易になると考えられる。本研究では比較的性ホルモンに対する感受性が高い生育初期段階のメダカを用いた性転換試験系を構築し、弱いエストロゲン活性を示す化合物・4-ノニルフェノール(NP)を性転換試験に供試し、試験の有益性を考察した。

曝露は流水式で行い、濃度は 0、10、300、100、 $300\mu g/L$ に設定した。試験当日に孵化した仔魚を各濃度試験区ごとにガラス容器に移し、NP 溶液を 2 週間曝露した。曝露後清水に稚魚を移し、二次性徴が現れるまで 40 日間飼育した。試験期間を通し、水温は 25 ± 1.5 °C、光周期は 14 時間明期-10 時間暗期を保った。餌としては、曝露期間にはブラインシュリンプの幼生、清水飼育期にはテトラミン®フレークをそれぞれ一日二回飽食量を与えた。試験終了時に各個体の体重、体長、体色による遺伝的性の判別、雌雄とも二次性徴による機能的性の判別の調査を行った。曝露試験の結果、 $100\mu g/L$ 以下の濃度区においては、全てのエンドポイントで影響は観察されなかった。 $300\mu g/L$ 濃度区の遺伝的雌においては、全てのエンドポイントで有意な影響は観られなかった。一方、同濃度区の遺伝的雄においては、体重、体長に有意な影響は認められなかったが、約75%の雄が雌形態の二次性徴を呈しており、生殖組織の観察の結果においても卵巣を有するなど機能的雌への性転換が観察された。発表においては試験法の有効性についても考察を行う。

Endocrine disrupting effects of 4-nonylphenol to Japanese medaka in early-life stage

Takeshi Horio, Yuso Kobara, Kazuhisa Ohtsu, Satoru Ishihara and Shozo Endo

Department of Environmental Chemistry, National Institute for Agro-Environmental Sciences, Japan

The d-rR strain of medaka has a remarkable advantage of detecting the sex reversal individual. In this study, the endocrine disrupting effects of 4-nonylphenol to Japanese medaka (*Oryzias latipes*), especially in their early-life stage were investigated. The technical grade 4-nonylphenol (NP) was used as a weak estrogen compound. The fry fishes of medaka that had hatched on the day were exposed with NP for 2 weeks in glass vials in 1 L test solution using flow-through system. The concentrations of NP in the vials were adjusted to 0, 10, 30, 100 and 300 µg/L. After the exposure, the juvenile fishes were moved in glass aquaria in breeding water for 40 days until secondary sexual characteristics appeared. Then, the effects of the chemical exposure were investigated with respect to weight, standard length, genetic sex depended on the body color and functional sex depended on secondary sexual characteristics. In the 10, 30, 100 µg/L treatments, no effects were observed in all end points. In the 300 µg/L treatment, observed effects were statistically insignificant in genetic female. On the other hand, 75% of males induced reversals in sex differentiation at the same concentration.