ノニルフェノールのヒメダカ *Oryzias latipes* 繁殖に及ぼす影響と バイオマーカーとの関連

平野将司,[†] 石橋弘志,[‡] 橘勝康,[‡] 槌本六良,[‡] 松村尚美,[†] 白土英樹,[†] 有薗幸司[†] [†]熊本県立大学環境共生学部, [‡]長崎大学大学院生産科学研究科

【目的】ノニルフェノール(NP)は、主に工業用洗剤として使用されているノニルフェノールエトキシレートの分解物として水環境中で検出されており、魚類に対して内分泌かく乱作用をもつことが知られている。本研究では、NPがヒメダカの繁殖に及ぼす影響とバイオマーカーとの関連を明らかにするため、成熟したヒメダカをNP試験液に曝露し、産卵数、受精率、次世代(F₁)の孵化率及び孵化までの時間を含む繁殖影響を調べ、各種バイオマーカーとの関連について検討した。

【方法】NP 初期設定濃度 $160\sim5000\mu g/L$ 曝露区と、対照区及び助剤対照区を設定し、胚及び仔魚を用いて毒性試験を行った。これらの結果をもとに、雌雄ペアにしたヒメダカ(5 ペア/濃度区)を対照区、助剤対照区及び NP 試験液(NP 初期設定濃度 10、50 及び $100\mu g/L$)に、一定条件下において 21 日間半止水式で曝露した。曝露期間中、各ペアの総産卵数、平均受精率、親魚の生死、 F_1 世代胚の孵化率及び孵化までの時間を観察した。曝露終了後、解剖を行い、肝臓及び生殖腺を摘出して重量を測定し、肝臓体指数(HSI)及び生殖腺体指数(GSI)を算出した。バイオマーカーは肝ミクロソーム中 EROD 及び PROD 活性、肝臓中ビテロゲニン、ステロイドホルモン量を測定した。

【結果及び考察】毒性試験の結果、 LC_{50} 値は胚で $653\mu g/L$ 、仔魚で $445\mu g/L$ と、仔魚においてやや感受性が高い傾向にあった。繁殖試験において、 $100\mu g/L$ 曝露区の総産卵数は、曝露 3 週目に統計学的に有意な減少が認められ、平均受精率は曝露開始より減少し 12 日目以降は 0%となった。また雌雄ともにHSI の有意な増加が認められた。これら繁殖影響と薬物代謝酵素活性に関連性は認められなかった。さらに、 F_1 世代胚の孵化率及び孵化までの時間は、曝露 2, 3 週目において有意な減少あるいは遅延が観察された。以上のことより、NP は初期生活段階のヒメダカに対し高い致死毒性を示し、成魚の繁殖能力や次世代に影響を及ぼすことが示唆された。また、他のバイオマーカーと繁殖影響の関連性についても併せて報告する。

Effect and predictive biomarkers of nonylphenol on the reproductive disruption for medaka *Oryzias latipes*

Masashi Hirano, † Hiroshi Ishibashi, ‡ Katsuyasu Tachibana, ‡ Mutsuyoshi Tsuchimoto, ‡ Naomi Matsumura, † Hideki Shiratsuchi, † and Koji Arizono †, † Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto, ‡ Graduate School of Science and Technology, Nagasaki University

In this study, effects of endocrine-disrupting chemical, nonylphenol (NP) on the early life stage and reproduction of medaka (*Oryzias latipes*) were investigated. The 96-h median lethal concentration (LC₅₀) values of NP for 24-h-old larvae were indicated at a concentration of 445 μ g/L, and that for embryos were 653 μ g/L. The hatchability in fertilized eggs exposed to NP over 625 μ g/L for 14 days was significantly decreased. We also assessed the effects on the reproduction of paired medaka during the NP exposure period. The fecundity and fertility of paired medaka exposed to NP of 100 μ g/L for 21 days were significantly decreased relative to the control. The HSI of male and female exposed to 100 μ g/L NP was significantly greater than that of the control fish. There were no relation of the reproductive effects and liver cytochrome P450s activities. The hatching and duration to hatching of embryos in the 100 μ g/L treatment showed adverse effects in the F₁ generations. These results suggested the adverse effects of NP on the early life stage, reproductive phase and progeny generations of medaka. In the symposium, we will present the relationship between predictive biomarker (such as liver vitellogenin synthesis and plasma steroid hormone levels) and reproductive effects.