

トリブチルスズ（TBT）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

環境省総合環境政策局環境保健部

目 次

1 . 背景と経緯	1
2 . 物性、用途等	1
(1) 化学構造	1
(2) 主な物性	2
(3) 用途	2
3 . 使用・規制状況等	3
(1) 我が国における使用及び規制状況	3
(2) 諸外国における生産状況・規制状況	3
4 . 環境中分布・分解、体内動態、環境中濃度	3
(1) 環境中分布・分解	3
(2) 体内動態	4
(3) 我が国における環境実態調査結果	5
5 . 一般毒性	7
(1) 急性毒性	7
(2) 慢性毒性	8
(3) 繁殖毒性	10
(4) その他の毒性	11
6 . 内分泌攪乱作用が疑われる魚類影響等にかかる文献調査・信頼性評価	11
(1) 魚類への影響	11
(2) その他の水生生物への影響	12
(3) 哺乳類への影響	12
7 . 魚類を用いたスクリーニング・試験等	13
(1) 魚類を用いた試験管内試験 (<i>in vitro</i> 試験)	13
(2) メダカを用いた動物実験 (<i>in vivo</i> 試験)	14
8 . イボニシ等巻貝への極低濃度影響の解明のための研究状況等	17
(1) インポセックスの特徴	17
(2) インポセックスの原因物質	17
(3) インポセックスの誘導メカニズムをめぐる仮説	17
9 . トリプチルスズ (T B T) の内分泌攪乱作用にかかる評価結果について	19
(1) 魚類への影響	19
(2) その他の水生生物への影響	19
(3) 哺乳類への影響	20
10 . 評価結果と今後の取組	20
11 . 附言	20
(参考 1)	
1 . 規制等にかかる国際的動向	21
(1) I M O における動き	21

(2) 世界の動き	21
2 . 諸外国における規制状況	22
(参考 2)	
イボニシのインボセックスにかかる全国調査結果 (平成 8 年 9 月 ~ 11 年 1 月)	23
参考文献	24

トリブチルスズ (TBT) 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)

1 背景・経緯

平成10年5月に公表した「環境ホルモン戦略計画SPEED'98」¹⁾において、環境庁は内分泌攪乱作用が疑われる物質として67のリストアップを行った。その後、これらの物質について全国の環境実態調査を行うとともに、平成11年10月に開催された「内分泌攪乱化学物質問題検討会 (座長：鈴木継美東京大学名誉教授)」において、「環境実態調査結果や文献調査から優先してリスク評価等に取り組む物質として分類された4物質をはじめとし、専門家の意見を伺いつつ、リスク評価に着手すること」となった。

トリブチルスズ、ノニルフェノール、4-オクチルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル

また、平成11年12月の内閣総理大臣決定において、政府のミレニアム・プロジェクトとして、内分泌攪乱作用が疑われる物質について、平成12年度から3年計画で40物質以上のリスク評価を行うこととなり、平成12年7月、10月、13年3月に開催された「内分泌攪乱化学物質問題検討会」において、平成12年度に優先してリスク評価に取り組む物質として選定した上記4物質を含む12物質について、人の健康影響及び生態影響にかかるとスクリーニング・試験法を検討するとともに、順次試験研究を進めてきた。

このような取組のなか、トリブチルスズ化合物については、その選定の際、内分泌攪乱作用を示すと疑われた報告として魚類を除く水生生物、特にイボニシのインボセックスがみられた濃度が環境水中濃度を超えていたことから優先物質となったが、内分泌攪乱作用の有無・程度の確認には現在OECDで試験法の開発が進んでいる哺乳類、魚類を中心として実施してきており、今回は魚類 (メダカ) を用いたビテロジェニンアッセイ、パーシャルライフサイクル試験を終了したので、これまでに得られた文献調査・信頼性評価の結果等とあわせて、魚類への内分泌攪乱作用等について報告する。

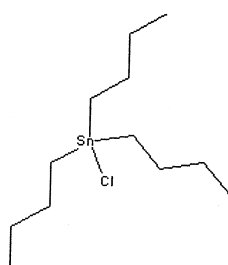
なお、人の健康影響については、有害性評価手法として現在、げっ歯類を用いた試験を実施中であり、今後実施する予定の食事調査等から得られる曝露評価結果とあわせて行う予定である。

トリブチルスズ化合物にはbis-酸化トリブチルスズや塩化トリブチルスズ等の同族体があるが、文献調査等から内分泌攪乱作用を示すと疑われた水中最低作用濃度がみられたのが塩化トリブチルスズであったことから和光純薬工業 (株) の塩化トリブチルスズを用いて実験を実施した。しかし、環境中では個々のトリブチルスズ化合物を別々には同定できないことから、環境実態調査では遊離したトリブチルスズとして測定し、塩化トリブチルスズに換算した値を用いて比較した。

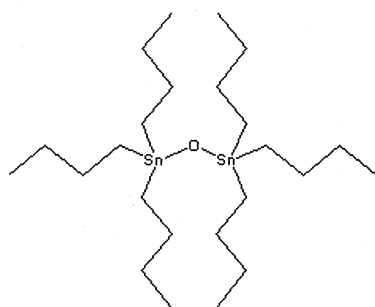
2 物性、用途等

(1) 化学構造

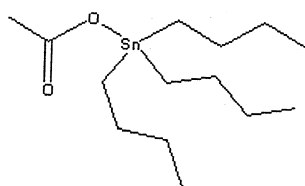
主なトリブチルスズ化合物の構造式を以下に示す。



塩化トリブチルスズ



bis-酸化トリブチルスズ



酢酸トリブチルスズ

図 1 主なトリブチルスズ化合物の構造式

(2) 主な物性^{注)}

JICSTで得られた文献情報と世界保健機関WHOのEnvironmental Health Criteriaにおける主なトリブチルスズ化合物の物性に関する情報をとりまとめると以下のとおりである²⁾。信頼性評価は行っていない。

表 1 トリブチルスズ化合物の主な物性

	塩化トリブチルスズ (TBTCl)	bis-酸化トリブチルスズ (TBTO)	酢酸トリブチルスズ (TBTA)
Cas No.	1461-22-9	56-35-9	56-36-0
分子式	$C_{12}H_{27}ClSn$	$C_{24}H_{54}OSn_2$	$C_{14}H_{30}O_2Sn$
分子量	325.49g/mole	596.07g/mole	349.08 g/mole
外観	無色透明な液体、特有な刺激臭	無色または微黄色の透明な液体、特有な刺激臭	白色粉末
比重	1.2(20)	1.17-1.18	1.4942(20)
融点	-16	<-45	84.5-85
蒸気圧	0.00927mmHg(25)	0.0016mmHg(25)	-
水溶解度	0.74786mg/L(25)	0.75mg/L	-
Log Kow	4.76	3.19-3.84	3.24

注) World Health Organization(1990)Tributyltin compounds, Environmental Health Criteria 116より作成
世界保健機関WHOのEnvironmental Health Criteriaに掲載されている文献については、環境省としては個々に信頼性評価を行っていない(以下、同じ)。

(3) 用途

JICST等で得られた文献情報と世界保健機関WHOのEnvironmental Health

Criteriaにおけるトリブチルスズ化合物の用途に関する報告について以下に記載する。

トリブチルスズ化合物は、ナシ・タマネギの殺菌剤、軟体動物駆除剤、木製品・繊維・紙・皮製品・ガラスのネズミ忌避剤・防虫剤、漁網・船底・ネオプレンゴムの防汚塗料、製紙・木材・塗料・皮革加工・繊維加工の工業用殺菌剤、還元剤、耐火性ポリエステル・硬化剤・防水加工・酸化防止剤・腐蝕抑制剤の触媒、医療用として使用されていた^{3,4)}。

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける報告²⁾によると、トリブチルスズ化合物は、住血吸虫病の媒介動物である吸虫類寄生虫の中間宿主の淡水性巻貝類に対する抗軟体動物剤、ボート・船舶・岸壁・ブイ・カニ籠・魚網等の防汚塗料、木材の保存剤、石造工事のスライム剤、冷却システム・発電所冷却塔・パルプ製紙工場・醸造所・皮革加工工場・繊維工場等の殺菌・殺生物剤として使用されていた。

3 使用・規制状況等

(1) 我が国における使用及び規制状況

我が国において、トリブチルスズ化合物は、昭和52年には農薬登録が失効（トリブチルスズオキシド）し、昭和54年には家庭用製品における使用が禁止された。その後、環境汚染の状況が明らかになってきたことから、昭和62年には養魚網への使用が全国漁業協同組合連合会により自主的に禁止され、平成元年には「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」によりトリブチルスズオキシドが第一種特定化学物質に指定され、製造、輸入、使用が原則禁止された。また、平成2年にはトリブチルスズクロリド等13種類の化合物が第二種特定化学物質に指定され、使用等に係る規制の対象とされた。これを受けて、日本造船工業会等造船業界は使用を中止し、日本塗料工業会は自主的に使用削減を行った。平成元年の防汚塗料としての原体使用量は11,840トンであったが、平成9年以降はTBT含有塗料の製造がとりやめられた⁵⁾。

我が国におけるビストリブチルスズオキシドの許容1日摂取量は、1.6 µg/kg/dayと設定されている⁶⁾。

(2) 諸外国における生産状況・規制状況⁵⁾

世界での有機スズ化合物の生産量は、平成8年には年間約50,000トンと推定されており、このうちTBT原体の生産量は年間数千トンと推定される。世界全体ではTBT含有塗料の消費量はほとんど変わっていない状況にあると言われている。

諸外国における規制状況は、参考1に記載した。

4 環境中分布・分解、体内動態、環境中濃度

(1) 環境中分布・分解

ア．環境中分布

オランダのWesteinder湖において行われたトリブチルスズの環境濃度の測定結果を図2に示す。水中濃度は未検出(<20ng/L)であった。生物の平均体内濃度を比較すると、動物プランクトンで610 µg/kg、ろ過食性の貝類（イガイ類）で3,091 µg/kg、動物食性小型魚（コイ科のbream、tench、キュウリウオ科のsmeltなど）で886 µg/kg、動物食性大型魚（カワカマス科のpikeなど）で442 µg/kg、ウナギで288 µg/kg、魚食性水鳥（ウ）で27 µg/kgであり、栄養段階が上位である生物ほど体内濃度が上昇する傾向はみられなかった⁷⁾。

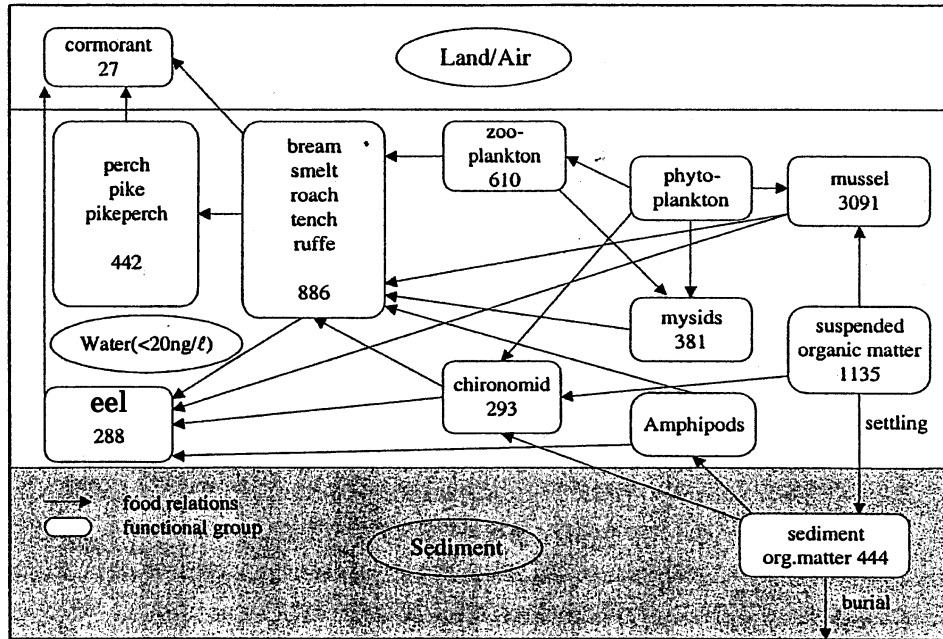


図 2 湖沼生態系食物網上で水生生物中T B T濃度 (Stab,J.A.et al.(1996)⁷⁾より計算)

イ. 分解性

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおけるトリブチルスズ化合物の分解に関する報告²⁾について以下に記載する。

スレシンガーとドレッサー⁸⁾は活性汚泥及び土壌中から分離した微生物群による酸化トリブチルスズの生分解試験について報告している。その結果として、半減期は好氣的条件下で70日、嫌氣的条件下で200日であった。

タインら⁹⁾は酸化トリブチルスズの淡水中の半減期を6日、また5 の海水中で60～90日と示唆している。

セリグマンら¹⁰⁾は酸化トリブチルスズの28 の汽水中の半減期を5～9日、また12 の海水中で7～11日としている。

マグワイアら¹¹⁾は酸化トリブチルスズの分解の特徴を以下のように記載している。

- ・ 揮発による酸化トリブチルスズの損失は、半減期が11ヶ月より長期であり、分解過程として非常に限られている。
- ・ 酸化トリブチルスズの加水分解の半減期は同様に11ヶ月と遅い。
- ・ 酸化トリブチルスズの光分解の重要性は揮発・加水分解と比較してより高いが、その半減期は3ヶ月より長い。この分解過程は理論的には生じ得るが、紫外線の透過が不十分な濁ったまたは着色した環境水中では効率的ではない。
- ・ 好氣的な生分解が水中及び堆積物中でおこる。その半減期は条件によってかなり変動するが、4～5ヶ月の範囲内である。
- ・ 嫌氣的な生分解が水中及び堆積物中でおこる。その半減期はかなり変動するが、約1.5ヶ月である。

(2) 体内動態

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおけるトリブチルスズ化合物の体内動態(濃縮と排出)に関する報告²⁾について以下に記載する。

表 2 トリブチルスズ化合物の体内動態（濃縮と排出）

	種名	生物濃縮係数	著者
植物プランクトン	緑藻 <i>Ankistrodesmus falcatus</i>	30,000 (TBTO:20 µg/L)	Maguire <i>et al.</i> (1984) ¹²⁾
	珪藻 <i>Isochrysis galbano</i>	5,500	Laughlin <i>et al.</i> (1986) ¹³⁾
軟体動物	マガキ <i>Crassostrea gigas</i>	6,000(TBTO:0.15 µg/L) 2,000(TBTO:1.25 µg/L)	Waldock <i>et al.</i> (1983) ¹⁴⁾
	ヨーロッパカキ <i>Ostrea edulis</i>	1,500(TBTO:0.15 µg/L) 1,000(TBTO:1.25 µg/L)	
	イガイ <i>Mytilus edulis</i>	1,000 ~ 7,000 (TBTO:0.023 ~0.67 µg/L)	Laughlin <i>et al.</i> (1986) ¹³⁾
	イガイ <i>Mytilus edulis</i>	5,000 ~ 60,000	Cheng and Jensen(1989) ¹⁵⁾
	<i>Biomphalaria glabrata</i>	<50	Allen <i>et al.</i> (1980) ¹⁶⁾
節足動物	カニ <i>Rhithropanopeus harrisii</i>	60 (TBTO:0.28 µg/L)	Allen <i>et al.</i> (1980) ¹⁶⁾
魚類	シーブスヘッドミノー <i>Cyprinodon variegatus</i>	2,600 (TBTO:0.96 ~2.07 µg/L)	Ward <i>et al.</i> (1981) ¹⁷⁾
	ボラ類 <i>Liza aurata</i>	20 ~ 30 (肝・腎) (TBTO: 5 µg/L)	Bressa <i>et al.</i> (1984) ¹⁸⁾
	マスノスケ <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	4,300 (肝) 1,300 (脳) 200 (筋肉) (TBTO:1.49 µg/L)	Short and Thrower (1986) ¹⁹⁾
	コイ <i>Cyprinus carpio</i>	1,000(TBTO:0.0018 ~0.0024 µg/L)	津田ら(1987) ²⁰⁾
	コイ類 <i>Carassius carassius</i> <i>grandoculis</i>	360 ~ 3,400 (TBTCI)	津田ら(1986) ²¹⁾

	種名	排出速度	著者
軟体動物	イガイ <i>Mytilus edulis</i>	半減期 有機スズ：40日 総スズ：25日	Cheng and Jensen(1989) ¹⁵⁾
魚類	シーブスヘッドミノー <i>Cyprinodon variegatus</i>	20日後の排出率 筋肉：74% 内臓：80%	Ward <i>et al.</i> (1981) ¹⁷⁾

(3) 我が国における環境実態調査結果

ア．環境ホルモン緊急全国一斉調査等

環境庁が実施した「平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査」、「平成11年度環境ホルモン全国一斉調査」、建設省が実施した「平成10年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」及び「平成11年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」において、全国のべ1,373地点について水質、底

質、土壌、水生生物、野生生物に含まれるトリブチルスズの濃度を測定した。ここでは、塩化トリブチルスズ濃度として示す。その結果、水質調査では2年間で598地点中52地点で検出され（検出率8.7%）、濃度範囲ND（<0.001~2.2）~0.098 μg/L、算術平均0.00047 μg/L（NDを0で換算）であった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は0.0097 μg/L、NDを検出限界値とした場合の算術平均は0.019 μg/Lであった。75パーセンタイル^{注)}、90パーセンタイル^{注)}はND（検出限界値：<0.01 μg/L）であった。

なお、海域に限定した場合は、2年間で81地点中33地点で検出され（検出率41%）、濃度範囲ND（<0.002~0.01）~0.098 μg/L、算術平均0.0027 μg/L（NDを0で換算）、75パーセンタイル0.003 μg/L、90パーセンタイル0.004 μg/Lであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は0.0042 μg/L、NDを検出限界値とした場合の算術平均は0.0057 μg/Lであった。

海域を除いた地点では2年間で517地点中19地点で検出され（検出率3.7%）、濃度範囲ND（<0.001~2.2）~0.0066 μg/L、算術平均0.00012 μg/L（NDを0で換算）、75パーセンタイル及び90パーセンタイルはND（<0.01 μg/L）であった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は0.011 μg/L、NDを検出限界値とした場合の算術平均は0.021 μg/Lであった。

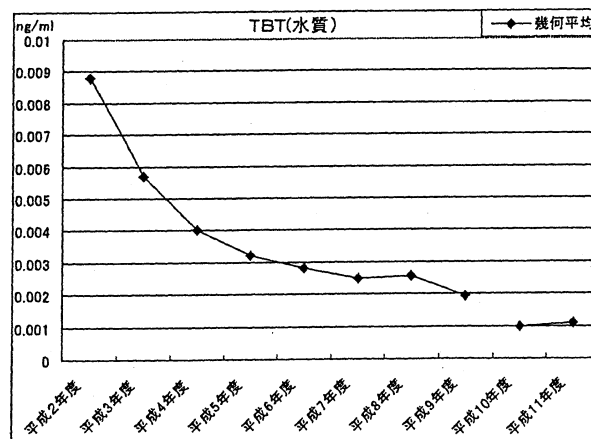
底質調査では2年間で242地点中130地点で検出され（検出率54%）、濃度範囲ND（<0.1~22）~218 μg/kg、算術平均8.0 μg/kg（NDを0で換算）、75パーセンタイル1.2 μg/kg、90パーセンタイル13.1 μg/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は8.5 μg/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は9.1 μg/kgであった。

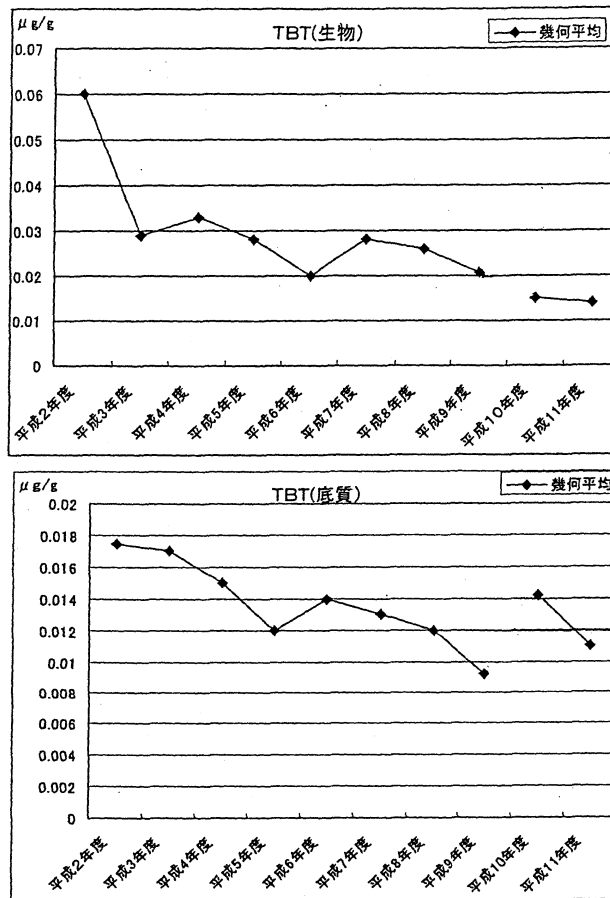
水生生物調査では141地点中113地点で検出され（検出率80%）、濃度範囲はND（<1.1）~131 μg/kg、算術平均12.3 μg/kg（NDを0で換算）、75パーセンタイル7.6 μg/kg、90パーセンタイル40.4 μg/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は12.4 μg/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は12.5 μg/kgであった。

注) 75パーセンタイル：測定値を小さい方から並べた時の全体の3/4番目の値
90パーセンタイル：測定値を小さい方から並べた時の全体の9/10番目の値

イ. 化学物質環境汚染実態調査結果

環境庁が平成2年度~11年度に実施した化学物質環境汚染実態調査によると、トリブチルスズ化合物は、環境中に広範囲に残留しており、その汚染レベルは、近年では生物及び水質において改善、底質においては概ね横ばいの傾向にある。





平成10年度からは分析法を変更したことにより、検出感度が向上している。

図 3 トリブチルスズの経年推移 (注：塩化トリブチルスズ濃度換算)

平成11年度調査結果等の評価としては、「現在の我が国のトリブチルスズ化合物の生産状況^{*}を考慮すれば、汚染状況は更に改善されていくものと期待される。しかし、未規制国・地域の存在に伴う汚染も考えられることから、今後も引き続き、環境汚染対策を継続するとともに、環境汚染状況を監視していく必要がある。また、内分泌攪乱作用を有する疑いがある化学物質との指摘があることなどから関連の情報を含め、毒性関連知見の収集に努めることも必要である。」としている。

*：国内における開放系用途の生産/使用はほとんどないこと。

5 一般毒性

(1) 急性毒性

ア. 魚類

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける魚類の急性毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

ショートとスローワー²²⁾、タイン²³⁾、角野と木村²⁴⁾、清水と木村²⁵⁾、RIVM²⁶⁾、リンデンら²⁷⁾、テミンクとエバーツ²⁸⁾、プラム²⁹⁾によるマスノスケ、ササウシノシタ類、メジナ、アゴハゼ、トゲウオ類、コイ類、トクビレ類、メダカ、グッピー、

果として、96時間半数致死濃度 LC_{50} は1.6～262 $\mu\text{g/L}$ (TBTClに換算した値)の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのはマスノスケ(*Oncorhynchus tshawytscha*)であった²²⁾。

イ．水生無脊椎動物

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける魚類以外の水生無脊椎動物の急性毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

グッドマンら³⁰⁾、ユーレン³¹⁾、タイン²³⁾、リンデンら²⁷⁾、メドー³²⁾、ウォルシュ³³⁾、テミンクとエバーツ²⁸⁾によるアミ類、コペポータ類、エビジャコ類、ヒゲエビ類、オオミジンコ、イソガニ、スジエビ類、モノアラガイ類、イガイ、ヨーロッパカキ、マガキを試験生物とした急性毒性試験について報告している。その結果として、96時間半数致死濃度 LC_{50} は1.1～317 $\mu\text{g/L}$ (TBTClに換算した値)の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのはアミ類(*Mysidopsis bahia*)であった³⁰⁾。

ウ．藻類・水生植物類

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける藻類及び水生植物類の急性毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

デイビスら³⁴⁾、ウォルシュら³⁵⁾、タイン²³⁾、サラザール³⁶⁾、ウォンら³⁷⁾、ボーマンとニューマン³⁸⁾、RIVM²⁶⁾、フロックら³⁹⁾、デスチェインズとフロック⁴⁰⁾、ボ克蘭ツとプラム⁴¹⁾による植物プランクトン類及びボウアオノリ、ウキクサ、ヒルムシロ類を試験生物とした急性毒性試験について報告している。その結果として、影響は0.001～1,092 $\mu\text{g/L}$ (TBTClに換算した値)の範囲でみられ、半数影響濃度 EC_{50} は0.001～70 $\mu\text{g/L}$ の範囲にあり、最も低濃度0.001 $\mu\text{g/L}$ でみられた影響は、緑藻類ボウアオノリ(*Enteromorpha intestinalis*)の胞子の着生阻害であった³⁴⁾。

エ．哺乳類

MEDLINE等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報と世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける哺乳類の急性毒性に関する結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

アッタヒルら⁴²⁾によって、酢酸トリブチルスズ160、208、270.4、351.5、456.98mg/kgを単回経口投与されたラットへの影響が検討されている。その結果として、24時間後の半数致死量 LD_{50} は、297.54mg/kgと計算された。

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaでは、トルホートら⁴³⁾、舟橋ら⁴⁴⁾、シュバインフルス⁴⁵⁾、シェルドン⁴⁶⁾、クリマー⁴⁷⁾、ポルスターとハラッカ⁴⁸⁾、ペリカンとカーニー⁴⁹⁾による塩化トリブチルスズ、酸化トリブチルスズ、弗化トリブチルスズ、酢酸トリブチルスズ、安息香酸トリブチルスズ、オレイン酸トリブチルスズ、リノール酸トリブチルスズ、アビエチン酸トリブチルスズ、ナフテン酸トリブチルスズ、ラウリン酸トリブチルスズを被験物質とし、ラット、マウスを試験生物とした経口急性毒性試験について報告している²⁾。その結果として、半数致死量 LD_{50} は46～234mg/kgの範囲にあった。

(2) 慢性毒性

ア．魚類

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける魚類の慢性毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

セイネンら⁵⁰⁾によって塩化トリブチルスズ0.2、1、5 $\mu\text{g/L}$ に110日間曝露されたニジマス卵黄嚢稚魚への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{g/L}$ の曝露群では全数が12日以内に死亡したが、1 $\mu\text{g/L}$ 以下の曝露群では死亡はみ

られなかった。0.2 µg/L以上の曝露群では、用量依存的な成長の遅延、体重に対する相対肝重量の増加がみられた。

ウェスター⁵¹⁾によって酸化トリブチルスズに1ヶ月間曝露されたメダカへの影響が検討されている。その結果として、3.2 µg/Lの曝露群では死亡率の増加、成長の遅延、行動異常、網膜上皮の液胞形成がみられ、全身毒性に関する無作用濃度を0.32 µg/L (TBTCIに換算すると0.35 µg/L)と報告している。また、肝臓に関する無作用濃度を1 µg/L (TBTCIに換算すると1.1 µg/L)としている。

清水と木村²⁵⁾によって酸化トリブチルスズに12週間曝露されたアゴハゼへの影響が検討されている。その結果として、2.1 µg/L (TBTCIに換算すると2.3 µg/L)の曝露群では雄の成熟度指数が有意に低下したが、雌の成熟度指数及び卵巣組織に影響はみられなかった。

ウェイス⁵²⁾によって酸化トリブチルスズ3 ~ 30 µg/Lに曝露されたメダカ類の胚への影響が検討されている。その結果として、30 µg/L (TBTCIに換算すると33 µg/L)の曝露群では若干の死亡がみられた。

イ．水生無脊椎動物

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける魚類以外の水生無脊椎動物の慢性毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

ヒズとロバート⁵³⁾によって酢酸トリブチルスズ0.02 ~ 100 µg/Lに曝露されたマガキの幼生への影響が検討されている。その結果として、0.05 µg/L (TBTCIに換算すると0.05 µg/L)以上の曝露群では成長が阻害され、10日以内に死亡がみられた。成長に関する無作用濃度を0.02 µg/L (TBTCIに換算すると0.02 µg/L)と報告している。

ポーモンとパド⁵⁴⁾によって酸化トリブチルスズ0.1、1.0、10.0 µg/Lに曝露されたムラサキイガイの幼生への影響が検討されている。その結果として、10 µg/L (TBTCIに換算すると11 µg/L)の曝露群では5日以内に、1.0 µg/L (TBTCIに換算すると1.1 µg/L)の曝露群では10日以内に死滅した。0.1 µg/L (TBTCIに換算すると0.1 µg/L)の曝露群では15日以内に約半数が死滅した。生存した個体には成長阻害がみられた。

ヴァルキリス⁵⁵⁾によって塩化トリブチルスズに曝露されたムラサキイガイへの影響が検討されている。その結果として、66日間LC₅₀を0.97 µg/Lと算出している。

ユーレン³¹⁾によって酸化トリブチルスズに曝露されたコペポーダ類への影響が検討されている。その結果として、144日間LC₅₀を0.55 µg/L (TBTCIに換算すると0.60 µg/L)と算出している。

ウ．哺乳類

MEDLINE等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報のうち、哺乳類の慢性毒性に関する結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

高木⁵⁶⁾によって、塩化トリブチルスズ29.6、44.4、66.7、100.0、150.0、225.0mg/kgを単回経口投与されたゴールデンハムスターへの影響が検討されている。その結果として、2週間後の半数致死量LD₅₀は、雄で146.9mg/kg、雌で172.0mg/kgと計算された。

ウェスター⁵⁷⁾によって、酸化トリブチルスズ0.5、5、50ppm含む餌を2年間混餌投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、50 ppm投与群において体重増加の抑制、体重の減少、死亡率の上昇がみられた。精巣及び卵巣には影響はみられなかった。

(3) 繁殖毒性

ア．魚類

JICSTで得られた魚類の繁殖毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ニルマーラら⁵⁸⁾によって、酸化トリブチルスズを1 µg/g魚体重/dayの割合で混餌投与された成熟した雌雄ヒメダカへの影響が検討されている。その結果として、産卵頻度、卵の生残率、仔魚の遊泳(swim up)率及び稚魚の生残率の減少がみられた。

イ．水生無脊椎動物

世界保健機関のEnvironmental Health Criteriaにおける水生無脊椎動物の繁殖毒性に関する報告²⁾について以下に記載する。

ヨハンセンとモーレンベルグ⁵⁹⁾によって酸化トリブチルスズ0.01、0.05、0.1 µg/Lに120時間曝露された雌コペポータ類への影響が検討されている。その結果として、0.01 µg/L (TBTCIに換算すると0.01 µg/L)以上の曝露群で卵の産生が有意に低下した。

リッチーら⁶⁰⁾によって酸化トリブチルスズ0.001、0.01、0.1、1、10 µg/Lに曝露されたヒラマキガイ類への影響が検討されている。その結果として、10 µg/L (TBTCIに換算すると11 µg/L)の曝露群では産卵が完全に阻害され、5日以内に死滅した。0.1 µg/L (TBTCIに換算すると0.1 µg/L)以上の曝露群では産卵の低下がみられた。0.01 µg/L (TBTCIに換算すると0.01 µg/L)以下の曝露群では産卵に影響はみられなかった。

ホールら⁶¹⁾によって塩化トリブチルスズ0.0125～0.5 µg/Lに13日間曝露された雌のコペポータ類への影響が検討されている。その結果として、0.1 µg/Lの曝露群で新生仔の生存に有意な低下がみられ、0.5 µg/Lの曝露群で同腹卵数の有意な減少、新生仔の死滅がみられた。0.0125～0.2 µg/Lの曝露群では同腹卵数に影響はみられなかった。0.05 µg/L以下の曝露群では新生仔の生存に影響はみられなかった。

ウ．哺乳類

MEDLINE等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報のうち、哺乳類の繁殖毒性に関する結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

伊丹ら⁶²⁾によって、塩化トリブチルスズ5、9、15、25mg/kg/dayを妊娠7～15日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、5 mg/kg/day以上の投与群において雌の胎仔の重量が有意に減少した。

25mg/kg/day投与群では10匹中7匹の母動物が死亡し、また全ての胎仔が死亡していた。

ガードランドら⁶³⁾によって、塩化トリブチルスズ1、5 mg/kg/dayを妊娠6～20日に経口投与されたSDラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day以上の投与群で仔動物の運動量の増加、*p*-アンフェタミンによる運動刺激性亢進、空間学習能の障害がみられ、5 mg/kg/day投与群において仔動物の軽度な体重増加抑制がみられた。

クロフトンら⁶⁴⁾によって、酸化トリブチルスズ2.5、5.0、10、12、16 mg/kg/dayを妊娠6～20日に経口投与されたLong-Evansラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day以上の投与群で仔動物数の減少・体重の低値、離乳後の仔動物の体重増加の抑制、膣開口時期の遅延、脳重量の減少、行動(運動量及び音響驚愕反応)への影響がみられた。12mg/kg/day以上の投与群では仔動物に催奇形性がみられた。

原園ら⁶⁵⁾によって、塩化トリブチルスズ8.1、12.2、16.3mg/kg/dayを妊娠0～7日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果とし

て、12.2mg/kg/day以上の投与群で母動物の摂餌量の減少、体重増加の抑制、妊娠失敗率の増加、胎子の体重の低値がみられた。

原園ら⁶⁶⁾によって、塩化トリブチルスズ8.1、16.3、32.5mg/kg/dayを妊娠0～3日に、または8.1、16.3、32.5、65.1mg/kg/dayを妊娠4～7日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、妊娠0～3日に投与した場合、16.3mg/kg/day以上の投与群で母動物の妊娠率の低下、胎子の体重の低値がみられ、32.5mg/kg/day投与群で着床後の胎子致死率が有意に増加した。妊娠4～7日に投与した場合、16.3mg/kg/day以上の投与群で着床後の胚の損失率が増加し、32.5mg/kg/day以上の投与群で生存胎子数が有意に減少し、雄の胎子の体重が低値であった。

江馬ら⁶⁷⁾によって、塩化トリブチルスズ25、50mg/kg/dayを妊娠7～9日に、50、100mg/kg/dayを妊娠10～12日に、または25、50、100mg/kg/dayを妊娠13～15日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、妊娠4～7日に投与した場合、25mg/kg/day以上の投与群で母動物の体重増加の抑制がみられ、50mg/kg/day投与群で生存胎子数の著しい減少がみられた。妊娠10～12日に投与した場合、100mg/kg/day投与群で母動物の体重増加の抑制、生存胎子数の減少、胎子体重の減少がみられた。また、82例の胎子のうち、11例で口蓋裂がみられた。妊娠13～15日に投与した場合、25mg/kg/day以上の投与群で口蓋裂がみられた。100mg/kg/day投与群で母動物の体重増加の抑制、胎子体重の減少がみられたが、胎子の生残率には影響がみられなかった。

江馬ら⁶⁸⁾によって、塩化トリブチルスズ40、80mg/kg/dayを妊娠7～8日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、40mg/kg/day以上の投与群で母動物の体重増加の抑制、生存胎子数の減少がみられた。

(4) その他の毒性

MEDLINE等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報のうち、哺乳類の行動影響に関する結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

江馬ら⁶⁹⁾によって、塩化トリブチルスズ1.6、3.3mg/kgを単回腹腔内投与されたWistar雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、3.3mg/kg/day投与群において体重増加の抑制、夜間の運動量の有意な減少がみられた。

6 内分泌攪乱作用が疑われる魚類影響等の文献調査・信頼性評価

(1) 魚類への影響

ア．試験管内試験 (*in vitro*試験)

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類のエストロゲン様またはアンドロゲン様作用に関する試験管内試験の報告は得られなかった。

イ．動物実験 (*in vivo*試験)

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果より、環境省が行った信頼性評価において信頼性が認められた報告について以下に記載する。

マニングら⁷⁰⁾によって、bis-酸化トリブチルスズ0.41、0.66、1.3、3.2、5.4 μg/L (TBTCIに換算すると0.45、0.72、1.4、3.5、5.9 μg/L) に180日間曝露されたシーブスヘッドミノールへの影響が検討されている。その結果として、F₀世代の0.66 μg/L (TBTCIに換算すると0.72 μg/L) 以上の曝露群において生残率の低下がみられ、5.4 μg/L (TBTCIに換算すると5.9 μg/L) 曝露群及びF₁世代の3.2 μg/L (TBTCIに換算すると3.5 μg/L) 曝露群では稚魚が全数死亡した。F₀世代の3.2 μg/L (TBTCIに換算すると3.5 μg/L) 以下、F₁世代の1.3 μg/L (TBTCIに

換算すると1.4 µg/L)以下の何れの曝露群においても生殖(生産卵数、F₁世代の生存・成長)に影響はみられなかった。

また、平成12年12月に開催された日本内分泌攪乱化学物質学会第3回研究発表会(横浜)において、講演要旨しか発表されていないが、ヒラメの雄化に関する報告について以下に記載する。なお、信頼性については評価していない。

島崎ら⁷¹⁾によって、酸化トリブチルスズ0.1、1 µg/gを含む餌を日齢35日から100日まで混餌投与された遺伝的全雌ヒラメへの影響が検討されている。その結果として、0.1及び1 µg/gの投与群においてそれぞれ25.7%、31.1%の性転換雄の出現がみられた。

(2) その他の水生生物への影響

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類以外の水生生物への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果より、作用がみられ、環境省が行った信頼性評価において信頼性が認められた報告について以下に記載する。

堀口ら⁷²⁾によって、塩化トリブチルスズ0.001、0.003、0.021 µg/L(実測値)に3ヶ月間曝露された雌イボニシへの影響が検討されている。その結果として、0.001 µg/L以上の曝露群においてインボセックスがみられた。

ウォルシュら⁷³⁾によって、bis-酸化トリ-n-ブチルスズ0.01、0.1、0.5 µg/Lに4週間曝露されたクモヒトデ類への影響が検討されている。その結果として、0.1 µg/L(TBTCIに換算すると0.1 µg/L)以上の曝露群において腕の再生阻害がみられた。

カーンら⁷⁴⁾によって、酸化トリ-n-ブチルスズ0.1、0.3、0.5、5 µg/Lに21日間曝露されたエビ類への影響が検討されている。その結果として、0.1 µg/L(TBTCIに換算すると0.1 µg/L)以上の曝露群において尾節の再生と脱皮に遅延がみられた。

ブライアンら⁷⁵⁾によって、塩化-n-トリブチルスズ0.5 µg/L(スズ濃度の測定値からの換算値)に14日間曝露された雌ヨーロッパチヂミボラへの影響が検討されている。その結果として、インボセックスがみられた。

ウエイズとキム⁷⁶⁾によって、bis-酸化トリ-n-ブチルスズ0.5、5.0 µg/Lに4週間曝露されたシオマネキ類への影響が検討されている。その結果として、0.5 µg/L(TBTCIに換算すると0.5 µg/L)以上の曝露群において再生鋏及び再生脚の奇形が増加した。

シーマら⁷⁷⁾によって、塩化トリブチルスズ33、326、3,255 µg/Lに曝露されたシロボヤ幼生への影響が検討されている。その結果として、326 µg/L以上の曝露群において発生阻害がみられた。

(3) 哺乳類への影響

MEDLINE等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報のうち、哺乳類のエストロゲン様またはアンドロゲン様作用に関する報告は得られなかった。

なお、ラットの胸腺細胞に対する影響に関する試験管内試験及びラットの免疫系または内分泌系に対する影響に関する動物実験の報告を以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア．試験管内試験(in vitro試験)

スヌーイら⁷⁸⁾によって、塩化トリブチルスズに曝露されたラット胸腺細胞への影響が検討されている。その結果として、0.1 µmol/L以上の曝露群においてエネルギー代謝に著しく影響を与え、1 µmol/L以上の曝露群において細胞膜の障害と細胞の崩壊がみられた。

イ．動物実験(in vivo試験)

スミヤロウィッツら⁷⁹⁾によって、酸化トリブチルスズ1.25、2.5、5、10 mg/kg/dayを10日間経口投与されたFischer 344雄ラットへの影響が検討されて

いる。その結果として、2.5mg/kg/day以上の投与群において胸腺重量の低下がみられた。

オカラハンとミラー⁸⁰⁾によって、酸化トリブチルスズ2.0、3.0、4.0、5.0 mg/kgを腹腔内投与された生後5日目のLong-Evansラットへの影響が検討されている。その結果として、2.0mg/kg/day以上の投与群において脳重量の低下がみられ、4.0mg/kg/day上の投与群において胸腺重量の低下がみられた。

野田ら⁸¹⁾によって、酢酸トリブチルスズ1、2、4、8、16mg/kg/dayを妊娠7～10日に経口投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、4 mg/kg/day以上の投与群において胸腺重量は用量依存的に減少していた。16mg/kg/dayの投与群では母動物の体重増加が抑制され、10匹中5匹において全ての胎仔が死胚となっていた。また、生存胎仔数及び胎仔体重は顕著に減少し、口蓋裂が増加していた。

クラインクラ⁸²⁾によって、酸化トリブチルスズ5、20、80、320ppm含む餌を4週間または6週間混餌投与されたWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、4週間投与の場合、20ppm以上の投与群において腸間膜リンパ節の萎縮、雄の胸腺重量の減少がみられた。80ppm以上の投与群において腸間膜リンパ節重量の減少、雄の体重増加の抑制、リンパ球の減少、雌の胸腺重量の減少がみられ、320ppm投与群において雌の体重増加の抑制、リンパ球の減少がみられた。6週間投与の場合、20及び80ppm投与群でインスリンの血清中濃度が減少し、80ppm投与群でTSHとT4の血清中濃度の減少、LHの血清中濃度の増加、下垂体TSH産生細胞数の減少、LH産生細胞数の増加、TSHのTRHに対する反応性低下、LHのLHRHに対する反応性亢進がみられた。

7 魚類を用いた内分泌攪乱作用にかかるスクリーニング結果等

(1) 魚類を用いた試験管内試験 (*in vitro* 試験)

ア. メダカエストロジェンレセプターを用いた結合試験

大腸菌を用いて発現したメダカ及びヒトエストロジェンレセプター()リガンド結合ドメインを用いたTBTCIの競争結合試験を行ったところ(図4)、メダカレセプターに対する相対結合強度はエストラジオールの約1/1,000であり、結合性は高くないことがわかった(表3)。さらに、TBTCIには強いタンパク質変性作用があることから、エストラジオールのエストロジェンレセプターからの脱離が、TBTCIのエストロジェンレセプターに対する特異的な結合によるものか、あるいはエストロジェンレセプターに対する変性作用によるものかを確認するために、発現しているエストロジェンレセプターに融合しているグルタチオンS-トランスフェラーゼの酵素活性を測定した(図4)。その結果、TBTCI添加濃度が100 nM以上で酵素活性の顕著な減少がみられたことから、図4で得られたエストラジオールのエストロジェンレセプターからの脱離はTBTCIの変性作用によるものである可能性が強く示唆された。

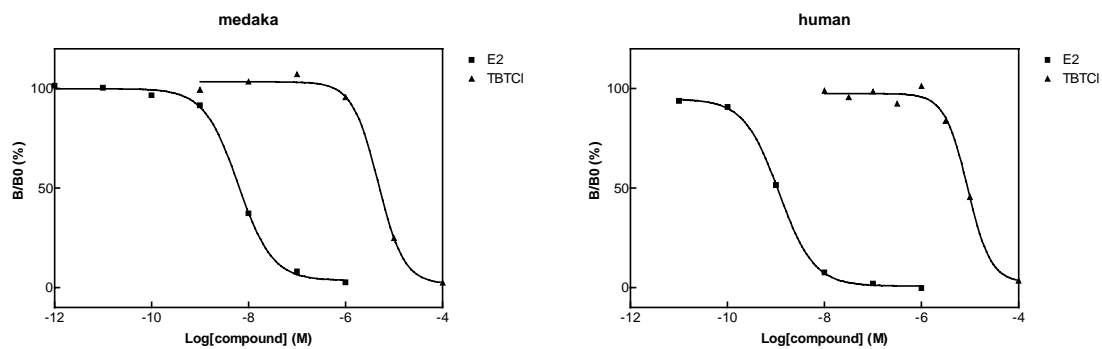


図 4 エストラジオール及びTBTCIによる³H-エストラジオールのエストロゲン受容体からの脱離（左：メダカ、右：ヒト）

表 3 ³H-エストラジオールの脱離曲線から得られたTBTCIの相対結合強度

種	相対結合強度 (%)	
	エストラジオール	TBTCI
メダカ	100	0.13
ヒト	100	0.013

イ．レポーター遺伝子アッセイ

ヒト子宮頸ガン由来HeLa細胞を用いて、TBTCIのレポーター遺伝子（ルシフェラーゼ）転写活性化能を測定した。その結果、測定した全濃度でレポーター遺伝子の転写活性化は観察されず、添加濃度が約10 nM以上でbasalな発光量の減少が観察された。発光量が大きく減少した高濃度区の培養細胞を顕微鏡観察すると細胞数に明らかな減少が観察されたことから、発光量の減少は、TBTCIによる培養細胞の成長阻害によるものと推測された。

(2) メダカを用いた動物実験（*in vivo*試験）

ア．メダカビテロジェニンアッセイ

塩化トリブチルスズ(TBTCI)のメダカビテロジェニン（卵黄タンパク前駆体）産生作用を評価するために、約3ヶ月令のメダカ(雌雄各10個体/濃度)を段階的なTBTCI濃度(117、269、606、1,640及び4,000 ng/L；平均測定濃度)の試験液に流水条件下で21日間曝露した。エストロゲン陽性対照物質としては17 β -エストラジオール(E₂、100 ng/L)を用いた。曝露期間中は死亡及び症状について毎日観察を行った。曝露終了時に各個体の肝臓を摘出し、肝臓中のビテロジェニン濃度を測定した。

その結果、曝露期間中、死亡及び特段の症状は観察されなかった。曝露終了時において、オスの肝指数(HSI)が269 ng/L区以上で対照群と比較して有意に上昇していたが、ビテロジェニン濃度については雌雄共にいずれの濃度区においても対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められなかった(図5)。

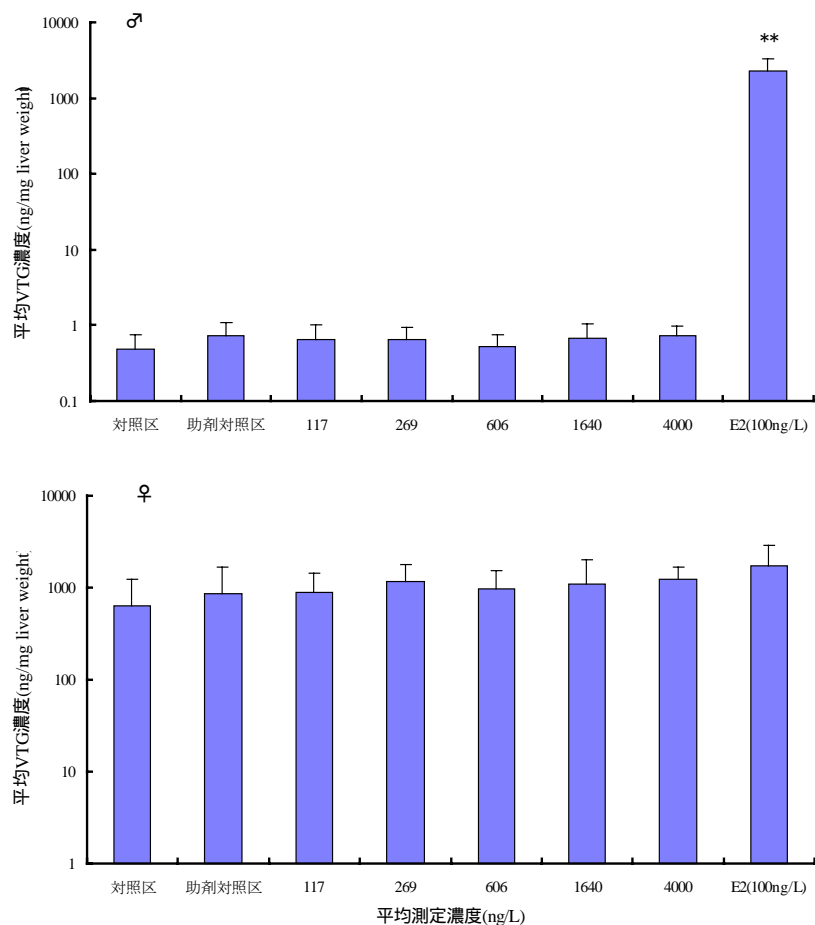


図 5 ビテロジェニンアッセイにおける雌雄個体の肝臓中ビテロジェニン濃度。データは平均±標準偏差として示した。**は $p < 0.01$ で有意であることを示す。

イ．メダカパーシャルライフ試験

塩化トリブチルスズ(TBTCl)のメダカの性分化に及ぼす内分泌攪乱作用を評価するために、メダカ(60個体/濃度)を段階的な濃度(20.1、64.1、205、594及び1,650 ng/L；平均測定濃度)の試験液に受精卵からふ化後61日令まで流水条件下で曝露した。その結果、受精卵のふ化に関しては、上記濃度範囲で特段の影響は観察されなかった。しかし、ふ化後の死亡は最高濃度区である1,650 ng/Lにおいて顕著に観察され、ふ化後61日令までの累積死亡率は1,650 ng/L区で有意に増加した。ふ化後61日令までの成長に関しても594 ng/L以上で濃度依存的に減少し、全長は594 ng/L及び1,650 ng/L区で、体重は1,650 ng/L区でそれぞれ有意差が認められた。これらの結果から、TBTClはメダカ仔稚魚に対して594 ng/L以上で致死又は成長阻害作用を示すことが示唆された。しかしながら、ふ化後61日令における生存個体の外観的二次性徴から判断した性比については、594 ng/L区以上でメスの比率の増加はみられたが、すべての濃度区で有意差は認められず、生殖腺の組織学的観察結果からも雌雄同体といった組織学的異常はいずれの濃度区においても観察されなかった(表4)。HSIの増加が594 ng/L区以上でみられ、肝毒性の濃度範囲が示唆された。曝露終了時におけるオス個体の肝臓中ビテロジェニン濃度は、処理区において助剤対照区との間に統計学的有意差が認められたものの対照区との間には認められず、ビテロジェニン濃度の変化に明瞭な濃度依存性もみられなかったことから、オス個体に明らかなビテロジェニン誘導が生じたとは結論付けられなかった(図6)。

また、メス個体のピテロジェニン濃度はすべての濃度区で有意差は認められなかった。

以上、TBTCIはメダカに対して594 ng/L以上の濃度で慢性の致死又は成長阻害作用を引き起こすことが示唆されたが、本物質の内分泌攪乱作用によりメダカの性分化に影響を及ぼすという明らかな所見は本試験から得られなかった。

表 4 ふ化後61日令個体の二次性徴及び生殖腺の組織学的観察結果から判断した性比

TBTCI濃度 ^a (ng/L)	二次性徴		生殖腺組織学		
	N	性比 (:)	N	尾数	
				精巢	卵巢
対照区	50	23 : 27	20	12	8
助剤対照区	53	28 : 25	20	14	6
20.1	53	26 : 27	20	11	9
64.1	50	23 : 27	20	7	13
205	51	25 : 26	20	10	10
594	53	22 : 31	20	7	13
1,650	33	13 : 20	20	8	12

^a平均測定濃度で示した。

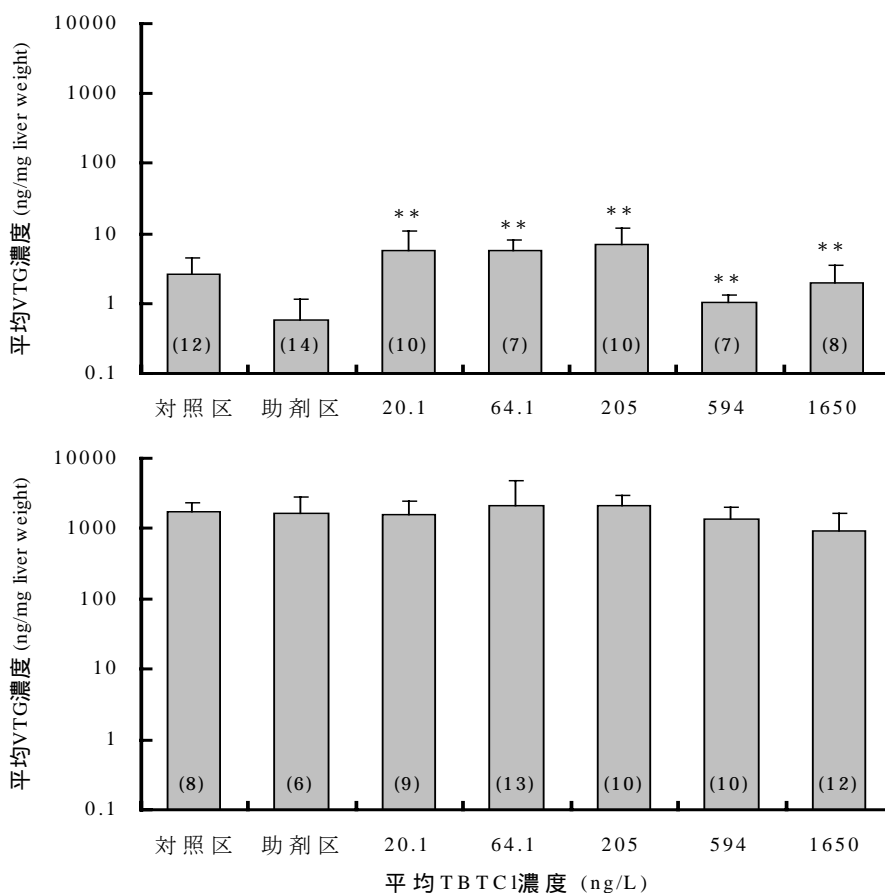


図 6 ふ化後61日令個体の各濃度区における肝臓中ピテロジェニン濃度。データは平均±標準偏差として示した。カッコ内は個体数を示す。
**は助剤区と $p < 0.01$ で有意である。

8 イボニシ等巻貝への極低濃度影響の解明のための研究状況等

(1) インポセックスの特徴

イボニシについては平成8年～11年におけるフィールド調査においても未だにインポセックスが高頻度にみられている(参考2参照)。

インポセックス(imposex)の語源はimposed sexual organsであるとされ、この言葉を最初に用いたスミス⁸³⁾によれば、それが指す意味は、概して、雌雄異体である巻貝類の雌にペニスや輸精管という雄の生殖器官が形成されて発達する現象及び雄性生殖器官が形成された雌の巻貝類である。その後、今日までの研究により、インポセックスの特徴的な症状は巻貝類における雌の雄性化であると考えられる⁸⁴⁾。具体的には、雌にペニスまたは輸精管という雄性生殖器官の一方もしくは両方が形成されて発達し、卵巣の機能低下(卵形成不全)や精巢化を伴い、輸卵管が摂護腺(雄に見られる輸精管の膨大した器官)化するなどの場合もある^{83,85,86)}。インポセックスが重症になると産卵能力が低下もしくは喪失する場合があるが、こうした産卵能力の低下あるいは喪失の様式には次の3つが知られている。すなわち、()輸精管形成に伴う周辺組織の増生による陰門(産卵口)の閉塞⁸⁷⁾、()卵巣の精巢化を含む卵形成能の低下あるいは喪失⁸⁶⁾、及び()輸卵管の開裂(発生途上の閉鎖不全)もしくは摂護腺化による交尾・産卵障害である⁸⁸⁾。

インポセックスは不可逆的な症状であり、いったんそうなると個体レベルでは元に戻らない^{85,89)}。形成されたペニスや陰門閉塞などの症状が解消することはないのである。しかし、個体群レベルでは、有機スズ汚染の軽減に伴い個体群としてのインポセックス症状が緩和・軽減され、個体数が増加して「回復」と考えられている⁹⁰⁾。なお、インポセックスに伴う産卵障害が主因となってその種の生息量の減少に帰結するかどうかは、孵化後の初期生活史における生態とも関連すると考えられ、単純に論じることができない⁹¹⁾。

また、卵巣中あるいは変質卵嚢塊を含む輸卵管(卵嚢腺)中でトリフェニルスズ(TPT)濃度がきわめて高いことにも注目する必要がある⁷²⁾。すなわち、卵における有機スズ化合物の高濃度での蓄積が疑われ、卵の発生や孵化に何らかの悪影響を及ぼしてきた可能性も考えられるためである。

なお、インポセックスと逆の現象、すなわち、雄の巻貝類の雌性化現象は、これまでのところ、野外においては観察例がない⁹²⁾。

(2) インポセックスの原因物質

インポセックスは、これまでのところ、TBTやTPTなどのある種の有機スズ化合物によってほぼ特異的に、しかもTBTの場合には1 ng/L程度のごく低濃度でも引き起こされ、また成長段階(年齢)に無関係にこうした有機スズ化合物に曝露されると誘導されることが知られている^{72,75,85,93,94)}。しかし、インポセックスを引き起こす有機スズの化学種を詳細に見ると作用の強弱とともに影響の有無に関して種間差がある^{75,93-95)}。すなわち、TBTとトリプロピルスズ(TPrT)はイボニシにおいてもヨーロッパチヂミボラ*Nucella lapillus*においても陽性であるが、TPTの作用は両種間で全く逆である^{74,92,94)}。また最近、ドイツの淡水巻貝類でTPTによりインポセックスが引き起こされることが確認された(J.Oehlmann、私信)。現在のところ、こうした結果は種間差によるものと考えざるを得ず、その差の由来を詳しく解明することは今後の課題である^{92,93)}。

TBTやTPTが腹足類のどの部位にどのような機序で作用してインポセックスを引き起こすのか、critical period やそこでの閾値がどのくらいの値であるのかなどについては不明である。現在までにインポセックスの誘導メカニズムに関していくつかの仮説が提出されており⁹⁶⁻⁹⁸⁾、それらについて以下に述べる。

(3) インポセックスの誘導メカニズムをめぐる仮説

インポセックスの誘導メカニズムに関して、アロマトラーゼ阻害説⁹⁶⁾、脳神経節障害説⁹⁷⁾、アンドロジェン排出阻害説⁹⁸⁾の3つの仮説がある。このうち、 と は

ステロイドホルモンに、⁹⁶⁾は神経ホルモンにそれぞれ注目した仮説である。⁹⁷⁾についてはTBTがアロマターゼを阻害することによって体内アンドロジェン（テストステロン）濃度の上昇を招き、エストロジェン（エストラジオール）との比の著しい不均衡をもたらして、過剰なアンドロジェン（テストステロン）が受容体との結合を介して雌の雄性化の引き金になるというものである⁹⁶⁾。また⁹⁷⁾についてはTBTが硫酸抱合能を阻害することにより、アンドロジェン（テストステロン）とその代謝産物を硫酸抱合体として体外へ排出することが抑制される結果、体内アンドロジェン（テストステロン）濃度の上昇を招き、雌の雄性化を引き起こすというものである⁹⁸⁾。⁹⁷⁾については、本来、雌では足神経節から分泌されるペニス形成促進因子に対して脳側神経節からペニス形成を抑制する因子が分泌され、それによってペニス形成が抑えられているのをTBTが阻害するために雌におけるペニスの形成・発達が起きるとするものである⁹⁷⁾。

いずれの仮説もそれぞれ複数の実験により導き出されたものであるが、なお十分でない。⁹⁷⁾については、腹足類におけるアンドロジェンやエストロジェン、アロマターゼが分離・精製されるなどしてその化学構造とともに存在が十分に確認されるに至っていないことに加えて、実験でのペニス形成がアンドロジェン（テストステロン）の濃度上昇よりも先に起こった⁹⁶⁾という時系列上の逆転現象のために、この仮説への疑問を払拭しきれない。

なお、最近、イボニシヤバイから検出されたステロイドのうち、5種が高分解能GC/MSにより同定されたが、それらの詳細な機能解析は今後に残された課題である⁹⁹⁾。また有機スズ汚染海域及び対照海域で採集された巻貝試料においてそのインボセックス症状とアロマターゼ様活性とが対応しなかったとの報告があり、アロマターゼ阻害仮説をめぐって一貫した傾向が必ずしも認められない¹⁰⁰⁾。

また、アロマターゼ阻害仮説と関連した疑問として、ステロイドホルモン受容体の構造と機能並びに情報伝達系、TBTのアロマターゼ合成阻害もしくはアロマターゼ失活の可能性、TBTとステロイドホルモン受容体との相互作用¹⁰¹⁾、TBT以外の有機スズ（例えば、TPT）でも同様の現象が引き起こされるかなど、今後解明されねばならない点も数多い。

については、その実験が高濃度のTBTによる短期間のものであったことから急性毒性による影響との見方を否定できず、実験結果を解釈する上で曖昧さを残すものとなっている。

については、アメフラシ類やモノアラガイ類の内臓神経節や脳神経節あるいは摂護腺（前立腺）から分泌される神経ペプチドがその塩基配列とともに産卵ホルモン、排卵ホルモンあるいは放卵ホルモンであることが明らかにされている^{102,103)}一方、ペニス形成に関与するとされる神経節からの分泌因子がどのようなものであるのかが明らかにされておらず、さらなる検証が困難となっている。なお、神経ホルモンに関する基礎的知見がなお不足している一方、モノアラガイ類の脳神経節から分泌される神経ペプチドの一種であるAPGWアミドがコジキムシロガイ類のインボセックスを増進させたことが最近報告され¹⁰⁴⁾、神経ペプチドのインボセックス発症への関与が改めて注目されるようになった。

このように、インボセックス誘導メカニズムの解明に関する研究には数多くの課題が残されており、巻貝類の生殖生理に関する基礎研究と応用研究をそれぞれ推進する必要がある。また、その際、インボセックスがある種の有機スズ化合物によってほぼ特異的に引き起こされることや環境水中の1 ng/L程度のごく低濃度のTBTによっても引き起こされること、巻貝類においてのみ特異的に観察されている現象であることなどを全て満たす連立方程式の解を得るように努めなければならない。

なお、インボセックスと類似の現象と考えられるヨーロッパタマキビガイ *Littorina littorea*の閏性¹⁰⁵⁾やアワビ類における雌の雄性化現象¹⁰⁶⁾の誘導メカニズムも、インボセックスと共通のメカニズムとして考えられるのか、それぞれの共通点と相違点はどのような点であるのか、についても検討が必要である。

9 トリブチルスズ (TBT) の内分泌攪乱作用にかかる評価結果について

(1) 魚類への影響

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類のエストロジェン様またはアンドロジェン様作用に関する試験管内試験の報告は得られておらず、また、動物実験においてはシーブスヘッドミノールへの影響が検討されているが、何れの曝露群においても生殖に影響はみられていなかった⁷⁰⁾。一方で、信頼性評価は行われていないが、ヒラメの性分化に影響を及ぼし、遺伝的全雌を性転換させるという結果も報告されている⁷¹⁾。

今回の試験管内試験結果のうち、メダカのレセプターバインディングアッセイによると、 E_2 と比較したエストロジェンレセプターへの相対結合強度は約1/1,000であり、結合性は高くないことがわかった。また、その結合性についても変性作用によるものである可能性が強く示唆された。

今回のスクリーニングの結果のうち、雄メダカのピテロジェニンアッセイでは、何れの濃度においても有意な変動は認められなかった。

また、メダカのパーシャルライフサイクル試験では、594 ng/L以上でメスの比率の増加はみられたが有意差は認められず、また、雌雄同体といった組織学的異常も観察されなかった。一方、雄のピテロジェニンは、何れの濃度においても助剤対照区との間に統計学的有意差が認められたものの対照区との間には認められず、ピテロジェニン濃度の変化に明瞭な濃度依存性もみられなかったことから、オス個体に明らかなピテロジェニン誘導が生じたとは結論付けられなかった。

以上、今回メダカを用いて実施した各種試験結果や信頼性評価を行った文献情報からは、トリブチルスズ (TBT) 化合物が魚類に対して内分泌攪乱作用を有するという明らかな結果は得られなかった。しかしながら、内分泌系を攪乱したことによるかは不明であるが、ヒラメにおいて性転換を引き起こすという報告⁷¹⁾がなされており、これが温度やストレスで性転換するようなヒラメ特異的な反応であり、魚種間における感受性の差異によるものか、あるいは曝露方式 (水曝露、餌曝露) やそれに伴う曝露濃度の相違等によるものかは現時点では明らかではない。また、本報告では、トリブチルスズがアロマターゼインヒビターとして作用することで雄化したと想定しているが、アロマターゼに係る影響については世界的にもその解明に向けた取組がはじまったばかりであること等から、今後はヒラメで観察された性転換の再現性の検証も含めて、種々の魚類に関するより一層の科学的知見の集積が求められる。

(2) その他の水生生物への影響

6 (2) に示したようにTOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類以外の水生生物への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果の信頼性が確認された水中濃度は、雌イボニシにインボセックスのみられた $0.001 \mu\text{g/L}$ ⁷²⁾、クモヒトデ類の腕の再生阻害がみられた $0.1 \mu\text{g/L}$ ⁷³⁾、エビ類の尾節の再生と脱皮に遅延がみられた $0.1 \mu\text{g/L}$ ⁷⁴⁾、雌ヨーロッパチヂミボラのインボセックスがみられた $0.5 \mu\text{g/L}$ ⁷⁵⁾、シオマネキ類の再生欠及び再生脚の奇形が増加した $0.5 \mu\text{g/L}$ ⁷⁶⁾、シロボヤ幼生の発生阻害がみられた $326 \mu\text{g/L}$ ⁷⁷⁾等が挙げられる。

このように、水生生物に対して内分泌攪乱作用を示すと疑われた報告は多く、最小作用濃度 (LOEC) であるインボセックスのみられた水中濃度 $0.001 \mu\text{g/L}$ ⁷²⁾は検出限界値に相当し、最大無作用濃度 (NOEC) 及び予測無影響濃度 (PNEC) は検出限界値未満となり、現在の分析技術からは両者を設定することは困難であった。

トリブチルスズ (TBT) 化合物は、様々な水生生物に極めて低い濃度で影響をもたらすと考えられているが、トリブチルスズ (TBT) 化合物はそもそも試験管内試験においても比較的濃度で変性作用がみられるなど、一般毒性の強い化学物質であり、また、これら無脊椎動物にどのようなホルモンやそのレセプターが存在し、どのように機能しているかについて、その解明に向けた科学的な取組がはじまったばかりである

ことに鑑みれば、無脊椎動物で文献上みられた生殖・発生影響が内分泌系を攪乱することによって生じたものかどうかについて、現時点で判断することは困難である。

(3) 哺乳類への影響

人の健康影響については、現在環境省が各種試験を実施中であるが、ヒト細胞を用いた試験管内 (*in vitro*) 試験では、 E_2 と比較したエストロゲンレセプターへの相対結合強度は約1/10,000であり、結合性は高くなく、また、この結合性についても変性作用によるものである可能性が強く示唆された。また、これまでの文献調査におけるげっ歯類を用いた動物実験では極低濃度での反応がこれまで報告されていないことに留意する必要がある。

10 評価結果と今後の取組

トリブチルスズ (TBT) 化合物は、様々な水生生物にごく低い濃度で影響をもたらすと考えられるが、今回の文献調査やメダカを用いた各種試験結果からは、未発表ながらヒラメでは雄化が報告されているものの、内分泌系を攪乱することによるものが不明であることを考慮し、魚類に対して内分泌攪乱作用を有するという明らかな結果は得られなかったと考えることが妥当である。

今回の試験はOECD対象魚種であるメダカを用いており、また、シープスヘッドミノーについても雄化を疑わせるような結果はみられなかった。従って、確定試験としてのフルライフサイクル試験を実施しても雄化現象がみられる可能性が低いことから、現時点ではトリブチルスズ (TBT) は魚類に対する内分泌攪乱作用を有しないか、またはその作用は極めて弱いと考えられる。ただし、ヒラメの雄化にみられるような報告の再現性については、今後の科学的知見の集積を待って、必要があれば再評価を含めて、検討していきたい。

また、他の水生生物については、内分泌攪乱作用が疑われる報告もみられたが、これらの反応が内分泌攪乱作用によるものか否かを現時点で判断することは困難であるとされた。これら無脊椎動物に対する内分泌攪乱作用を評価するための試験法については、OECDを含む先進各国でも未だ検討も始まっていないことから、今後は、イボニシ等巻貝の内分泌系を解明するための調査研究を推進するとともに、OECD等の動向を注視しながら無脊椎動物に対する内分泌攪乱作用を評価するための試験法の開発・確立を求めることが肝要である。

11 附言

トリブチルスズ (TBT) 化合物については、そもそも一般毒性が強く、また、難分解性であることから、昭和60年代のはじめから国際的にも大きく取り上げられ、我が国でも平成元年以降、「化学物質の審査及び製造等に関する法律 (化審法)」において製造、輸入、使用を厳しく規制したほか、運輸省及び水産庁の指導により、関係業界の使用自粛が進み、漁網防汚剤や船底塗料としては、現在、使用されていない。これにより、TBT船底塗料に代わる加水分解型船底塗料が用いられている。

しかし、最近の環境モニタリング調査によると、水質、水生生物でも低濃度ではあるが未だに検出されており、また、底質ではあまり改善がみられていない。その一因として分解性の低さのほか、外航船舶のTBT含有塗料が汚染源と考えられている⁵⁾。

すでに述べたように、イボニシのインボセックス等の影響は検出限界値レベルでもみられており、現に多くの港湾において未だに高頻度でインボセックスがみられていることから、さらに一層の削減が望まれる。船舶の船底塗料に含まれるトリブチルスズ (TBT) 化合物については、現在、国際海事機関 (IMO) において船底塗料としての使用禁止に関して平成13年の国際条約化を目標に審議が続けられている。このように国際的に協調した強制力のある規制を促進するほか、研究開発としてより安全な代替品の開発等の推進も必要であろう。

1 規制等にかかる国際的動向

(1) IMOにおける動き

昭和60年代はじめから、船底防汚塗料に使用されている有機スズ（特に、TBT:トリブチルスズ）化合物の海洋環境に対する悪影響が大きな問題として、国際的に取り上げられ、平成2年11月の国際海事機関（以下、IMO）第30回海洋環境保護委員会（MEPC30）において、25m未満の小型船に対するTBT系船底防汚塗料の使用禁止等を勧告するMEPC決議46が採択された。その後、先進諸国を中心にモニタリング結果、我が国からの代替塗料の性能等に関する報告が提出されていたが、積極的にTBT系船底防汚塗料を禁止するような動きには至らなかった。

しかし、平成8年7月に開催されたMEPC38において、我が国、オランダ及び北欧諸国からTBTの使用に関する世界的規制の必要性を望む提案がなされ、MEPCではこれを作業計画に盛り込むことを決め、実質的審議を開始するMEPC40までの間、Correspondence Group（以下CG）を設けて各国の意見を取りまとめることとし、「Correspondence Group on the Reduction of Harmful Effect of the Use of Anti-fouling paints for Ships」による検討作業がオランダを中心に実施された。

MEPC41（平成10年3月）においては、CGの最終レポートが提出され、これに基づいて実質的な審議を開始した。その結果、詳細を審議するためのワーキンググループ（WG）を設置し、本格的な審議を開始することとなった。また、審議の結果合意された総会決議案については第21回総会へ送ることが承認された。

これを受けて、IMO第21回総会（平成11年11月）では、次の内容の決議が採択された。

- ・ MEPCは、有機スズ系船底防汚塗料を平成15年(2003年)1月1日以降船舶への新たな塗布の禁止及び平成20年(2008年)1月1日以降船舶に塗布されていることの禁止のための法的拘束力のある枠組み（条約）を策定すること。
- ・ 各国は、産業界が海洋環境に悪影響を与えない船底防汚塗料を開発、試験、使用することを奨励すること。
- ・ 各国は、防汚塗料の評価手順を開発し、社会や環境への影響を検討し、更に、防汚塗料の環境への影響に関する科学的、技術的な研究を促進すること。

さらに、同総会においては、上記の条約を採択するために平成13年に外交会議を開催することも合意された。

MEPCの場におけるTBT条約策定に向けた論議も継続され、MEPC43（平成11年6月）において、米国からの提案をベースに条約案の具体的内容について審議が行われ、その後、MEPC44での議論を経て、MEPC45（平成12年10月）において条約の基本的部分について合意するに至った。

MEPC46（平成13年4月）においては、一部の課題が残されたものの、条約案について大筋で合意に達し、10月に開催予定の外交会議において条約が採択される見込みとなっている。

(2) 世界の動き⁵⁾

欧米先進諸国は、MEPC決議46を契機として、小型船及び沿岸航行船に対するTBTの使用を禁止したが、IMOの各種条約の対象となるような外洋航行船舶に対しては、TBT系船底防汚塗料に匹敵する代替塗料がなく、船主経済に対する影響が大きいことから、規制は行われていない。

なお、北欧諸国においては、環境汚染に対する問題意識が高く、水質基準の設定や地域を限定する動きが進んでいる。また、米国において、環境保護省（EPA）がTBTの代替船底塗料に使用する物質の登録を開始したとの情報があるが、TBTを全面的に禁止又は使用中止したとの情報はない。

2 諸外国における規制状況

各国における有機スズ含有船底塗料の使用規制

規制	USA	カナダ	オーストラリア	ニュージールランド	フランス	イギリス	オランダ アイルランド	他のEU諸国	スウェーデン*	他の多くの 非EU諸国	南アフリカ 共和国
25m未満の船舶: 全ての有機スズ含有塗料禁止(アルミニウムを除く)	○	○		○	○						
25m未満の船舶: 全ての有機スズ含有塗料禁止(例外なし)			○								
25m未満の船舶: TBT含有塗料禁止(例外なし)							○	○	○	○	○
25m未満の船舶および養殖器材に対するtri-態の有機スズ化合物含有塗料禁止						○					
25m以上の船舶: TBT含有塗料は20lの容器でのみ使用可							○	○			○
25m以上の船舶: 溶出速度4 μ g TBT/cm ² /day以下	○	○							○		
25m以上の船舶: 溶出速度5 μ g TBT/cm ² /day以下			○								
全ての防汚塗料は登録制	○	○	○	○		○	○		○		○
公認の技師によってのみTBT含有塗料の使用可	○										
全ての防汚塗料は殺生剤として登録制。販売・使用はAdvisory Committeeによる承認が必要						○					
tri-態の有機スズ含有塗料は20 l以上の容器でのみ販売可能。コポリマー中の全スズ含有率が7.5%以下もしくはfree tinとして2.5%以下でなければならない。						○					

*: 有機スズ含有塗料が全面禁止されている海域もある。

社団法人 日本造船研究協会(1998)第76基準研究部会 海洋汚染防止に関する調査研究(船底防汚塗料関係)平成9年度報告書より引用
 なお、本表は平成9年度に作成されており、現在再調査を行っている

参考文献

- 1)環境庁(1998)外因性内分泌化学物質問題への環境庁の対応方針について - 環境ホルモン戦略計画 SPEED'98 - .
- 2)World Health Organization(1990)Tributyltin compounds, Environmental Health Criteria 116.
- 3)植村振作、河村宏、辻万千子、富田重行、前田静夫(1988)農薬毒性の事典、三省堂
- 4)U.S. National Library of Medicine(1999)Hazardous Substances Data Bank
- 5)社団法人 日本造船研究協会(1998)第76基準研究部会 海洋汚染防止に関する調査研究(船底防汚塗料関係)平成9年度報告書、182pp.
- 6)食品中のビストリブチルスズオキシド(TBTO)の安全性評価検討委員会(厚生省生活衛生局)(1985)食品中のビストリブチルスズオキシド(TBTO)の安全性評価検討結果報告、7-8、昭和60年4月24日.
- 7)Stab,J.A.,Traas,T.P.,Stroomberg,G.,van Kesteren,J.,Leonards,P.,van Hattum,B.,Brinkman,U.A.T., and Cofino,W.P.(1996)Determination of organotin compounds in the foodweb of shallow freshwater lake in the Netherlands.Arch.Environ.Contam.Toxicol.,31,319-328.
- 8)Slesinger,A.E. and Dresser,I.(1978)The environmental chemistry of three organotin chemical, in Report of the organotin workshop, New Orleans,Louisiana,17-19 February,1978,115-162.
- 9)Thain,J.E.,Waldock,M.J. and Waite,M.E.(1987)Toxicity and degradation studies of tributyltin(TBT) and dibutyltin(DBT) in the aquatic environment. in Proceedings of the Organotin Symposium, Oceans'87 Conference, Halifax, Nova Scotia, Canada,28 September-1 October, 1987,New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers,4,1398-1404.
- 10)Seligman,P.F.,Valkirs,A.O. and Lee,R.F.(1986)Degradation of tributyltin in marine and estuarine waters. in Proceedings of the organotin symposium,Oceans'86,Conference, Washington,D.C.,USA,23-25 September, 1986,New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc.,4,1189-1195.
- 11)Maguire,R.J.,Tkacz,R.J.,Chau,Y.K.,Bengert,G.A. and Wong,P.T.S.(1986)Occurrence of organotin in water and sediment in Canada.Chemosphere,15,253-274.
- 12)Maguire,R.J.,Wong,P.T.S. and Rhamey,J.S.(1984)Accumulation and metabolism of tri-*n*-butyltin cation by a green alga, *Ankistrodesmus falcatus*.Can.J.Fish,Aquat.Sci.,41,537-540.
- 13)Laughlin,R.B.,French,W. and Guard,H.E.(1986)Accumulation of bis(tributyltin)oxide by the marine mussel *Mytilus edulis*.Environ.Sci.Technol.,20,884-890.
- 14)Waldock,M.J.,Thain,J.E. and Miller,D.(1983)The accumulation and depuration of bis(tributyltin)oxide in oyster. A comparison between the Pacific oyster(*Crassostrea gigas*) and the European flat oyster(*Ostrea edulis*), Copenhagen, International Council for the Exploration of the Sea(ICES),6,Report No.C.M.1983/E.52).
- 15)Cheng,Z. and Jensen,A.(1989)Accumulation of organic and inorganic tin in blue mussel, *Mytilus edulis*, under natural conditions.Mar.Pollut.Bull.,20,281-286.
- 16)Allen,A.J.,Quitter,B.M. and Radick,C.M.(1980)The biocidal mechanism of controlled release bis(tributyltin)oxide in *Biomphalaria glabrata*. in ed. Baker,R., Controlled release of bioactive materials, New York, London, Academic Press,399pp.
- 17)Ward,G.S.,Cramm,G.C.,Parrish,P.R.,Trachman,H. and Slesinger,A.(1981)Bioaccumulation and chronic toxicity of bis(tributyltin)oxide(TBTO): Tests with a saltwater fish. in ed.. Branson, D.R. and Dickson,K.L., Proceedings of the Fourth Conference on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, Philadelphia, American Society for Testing and Materials,183-200. (ASTM STP No.737).
- 18)Bressa,G.,Cima,L.,Canova,F. and Caravello,G.U.(1984)Bioaccumulation of tin in the fish tissues (*Liza aurata*). in Proceedings of the International Conference on Environmental Contamination, London, July, Geneva, International Register of Potentially Toxic Chemicals, United Nations Environment Programme,812-815.

- 19) Short, J.W. and Thrower, F.P. (1986) Accumulation of butyltins in muscle tissue of chinook salmon reared in sea pens treated with tri-*n*-butyltin. in Proceedings of the Organotin Symposium Ocean'86 Conference, Washington, DC., USA, 23-25 September, 1986, New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 4, 1177-1181.
- 20) Tsuda, T., Nakanishi, H., Aoki, S. and Takebayashi, J. (1987) Bioconcentration and metabolism of phenyl tin chlorides in carp. *Water Res.*, 21, 949-953.
- 21) Tsuda, T., Nakanishi, H., Aoki, S. and Takebayashi, J. (1986) Bioconcentration of butyltin compounds by round crucian carp. *Toxicol. Environ. Chem.*, 12, 137-143.
- 22) Short, J.W. and Thrower, F.P. (1987) Toxicity of tri-*n*-butyl-tin to chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. adapted to seawater. *Aquaculture*, 61, 193-200.
- 23) Thain, J.E. (1983) The acute toxicity of bis(tributyl tin)oxide to the adults and larvae of some marine organisms. Copenhagen, International Council for the Exploration of the Sea (ICES). 5, Report No. C/M, 1983/E.13.
- 24) Kakuno, A. and Kimura, S. (1987) Acute toxicity of bis(tributyltin)oxide to girella (*Girella punctata*). *J. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 123, 41-44.
- 25) Shimizu, A. and Kimura, S. (1987) Effect of bis(tributyltin)oxide on gonadal development of a salt-water goby, *Chasmichthys dolichognathus*. Exposed during maturing period. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 123, 45-49.
- 26) RIVM (1989) Investigation into the toxicity of TBTO for a number of freshwater organisms. in ed. Mathijssen-Spiekman, E.A.M., Canton, J.H. and Roghair, C. J., Bilthoven, National Institute of Public Health and Environmental Hygiene, 48, Report No. 668118.001.
- 27) Linden, E., Bengtsson, B.-E., Svanberg, O. and Sundstrom, G. (1979) The acute toxicity of 78 chemicals and pesticide formulations against two brackish water organisms, the bleak (*Alburnus alburnus*) and the harpacticoid *Nitcora spinipes*. *Chemosphere*, 8, 843-851.
- 28) Temmink, J.H.M. and Everts, J.W. (1987) Comparative toxicity of tributyltin-oxide (TBTO) for fish and snail. in Proceedings of the Seventh World Meeting of the ORTEP-Association. Amsterdam, 7-8 May, 1987, Vissingen-Oost, The Netherlands, ORTEP-Association, 6-20.
- 29) Plum, H. (1981) Comportement des composés organostanniques vis-à-vis de l'environnement. *Inf. Chim.*, 220, 135-139.
- 30) Goodman, L.R., Cripe, G.M., Moody, P.H. and Halsell, D.G. (1988) Acute toxicity of malathion, tetrabromobisphenol-A, and tributyltin chloride to mysids (*Mysidopsis bahia*) of three ages. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 746-753.
- 31) U'Ren, S.C. (1983) Acute toxicity of bis(tributyltin)oxide to a marine copepod. *Mar. Pollut. Bull.*, 14, 303-306.
- 32) Meador, J.P. (1986) An analysis of photobehavior of *Daphnia magna* exposed to tributyltin. in Proceedings of the Organotin Symposium Ocean'86 Conference, Washington, DC., USA, 23-25 September, 1986, New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 4, 1213-1218.
- 33) Walsh, G.E. (1986) Organotin toxicity studies conducted with selected marine organisms at EPA's environmental research laboratory, Gulf Breeze, Florida. in Proceedings of the Organotin Symposium Ocean'86 Conference, Washington, DC., USA, 23-25 September, 1986, New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 4, 1210-1212.
- 34) Davis, R.J., Fletcher, R.L. and Furtado, S.E.J. (1984) The effects of tributyltin compounds on spore development in the green alga *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. in Proceedings of the 6th International Congress on Marine Corrosion and Fouling. Athens, September, 1984, 557-565.
- 35) Walsh, G.E., McLaughlan, L.L., Lores, E.M., Louie, M.K. and Deans, C.H. (1985) Effects of organotins on growth and survival of two marine diatoms, *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*, *Chemosphere*, 14, 383-392.
- 36) Salazar, S.M. (1985) The effects of bis(tri-*n*-butyltin)oxide on three species of marine phytoplankton. San Diego, California, Naval Ocean Systems Center, 21, Technical Report No.

1039.

- 37) Wong, P.T.S., Chau, Y.K., Kramar, O. and Bengert, G.A. (1982) Structure-toxicity relationship of tin compounds on algae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 483-488.
- 38) Beaumont, A.R. and Newman, P.B. (1986) Low levels of tributyltin reduce growth of marine micro-algae. *Mar. Pollut. Bull.*, 17, 457-461.
- 39) Floch, H., Deschiens, R. and Floch, T. (1964) Sur les propriétés molluscicides de l'oxide et de l'acetate de tributyletain (prophylaxie des bilharzioses). *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 57, 454-465.
- 40) Deschiens, R. and Floch, H. (1968) Les propriétés molluscicides du chlorure et de l'acetate de triphenyltain dans le cadre de la prophylaxie des bioharzioses. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 255, 1236-1237.
- 41) Bokranz, A. and Plum, H. (1975) Industrial manufacture and use of organotin compounds. Bergkamen, Federal Republic of Germany, Schering AG, 33.
- 42) Attahiru, U.S., Iyaniwura, T.T., Adaudi, A.O. and Bonire, J.J. (1991) Acute toxicity studies tri-*n*-butyltin and triphenyltin acetates in rats. *Vet. Hum. Toxicol.*, 33, 6, 554-556.
- 43) Truhaut, R., Chauvel, Y., Anger, J.-P., Phu Lich, N., Van Den Driessche, J., Guesnier, L.R. and Morin, N. (1976) Contribution à l'étude toxicologique et pharmacologique de l'oxide de tributyletain (OTBE). *Eur. J. Toxicol.*, 9, 31-40.
- 44) Funahashi, N., Iwasaki, I. and Ide, G. (1980) Effects of bis(tri-*n*-butyltin)oxide on endocrine and lymphoid organs of male rats. *Acta Pathol. Jpn.*, 30, 955-966.
- 45) Schweinfurth, H. (1985) Toxicology of tributyltin compounds. *Tin Uses*, 143, 9-12.
- 46) Sheldon, A.W. (1975) Effects of organotin anti-fouling coatings on man and his environment. *J. Paint Technol.*, 47, 54-58.
- 47) Klimmer, O.R. (1969) The use of organic tin compounds from the viewpoint of experimental toxicology. *Arzneimittelforschung*, 19, 934-939.
- 48) Polster, M. and Halacka, K. (1971) 9. Contributions to the health-toxic problems of some antimicrobially used organo-tin compounds. *Ernährungsforschung*, 16, 527-535.
- 49) Pelikan, Z. and Cerny, E. (1968) The toxic effects of tri-*n*-butyltin compounds on white mice. *Arch. Toxikol.*, 23, 283-292.
- 50) Seinen, W., Helder, T., Vernij, H., Penninks, A. and Leeuwangh, P. (1981) Short term toxicity of tri-*n*-butyltin chloride in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) yolk sac fry. *Sci. Total Environ.*, 19, 155-166.
- 51) Wester, P.W., Canton, J.H., Van Iersal, A.A.J., Kranjc, E.I. and Vaessen, H.A.M.G. (1988) The toxicity of bis(tri-*n*-butyltin)oxide (TBTO) and di-*n*-butyltin dichloride (DBTC) in the small fish species *Oryzias latipes* (medaka) and *Poecilia reticulata* (Guppy). Utrecht, The Netherlands, University of Utrecht (Wester, P.W., Ph.D. Thesis).
- 52) Weis, J.S., Weis, P. and Wang, F. (1987) Developmental effects of tributyltin on the fiddler crab, *Uca pugilator*, and the killifish, *Fundulus heteroclitus*. in Proceedings of the Organotin Symposium Ocean'87 Conference, Halifax, Nova Scotia, Canada, 28 September-1 October, 1987, New York, The Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 4, 1456-1460.
- 53) His, E. and Robert, R. (1985) Développement des veligères de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon, études sur les mortalités larvaires. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.*, 47, 63-88.
- 54) Beaumont, A.R. and Budd, M.D. (1984) High mortality of the larvae of the common mussel at low concentrations of tributyltin. *Mar. Pollut. Bull.*, 15, 402-405.
- 55) Valkirs, A.O., Davidson, B.M. and Seligman, P.F. (1987) Sublethal growth effects and mortality to marine bivalves from long-term exposure to tributyltin. *Chemosphere*, 16, 201-220.
- 56) Takagi, S., Mano, H., Tsunoda, M., Nakadaira, H., Endoh, K. and Yamamoto, M. (1992) Acute toxicity of tri-*n*-butyltin chloride (TBTC) in the Syrian golden hamster. *Tohoku J. Exp. Med.*, 166, 3, 309-319.
- 57) Wester, P.W., Krajnc, E.I., Van Leeuwen, F.X.R., Loeber, J.G., Van der Heijden, C.A., Vaessen, H.A.M.G. and Helleman, P.W. (1990) Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-*n*-butyltin)

- oxide(TBTO) in the rat.Fd.Chem.Toxic.,28,3,179-196.
- 58)Nirmala,K.,Oshima,Y.,Lee,R.Imada,N.,Honjo,T. and Kobayashi,K.(1999)Transgenerational toxicity of tributyltin and its combined effects with polychlorinated biphenyls on reproductive processes in Japanese medaka(*Oryzias latipes*).Environmental Toxicology and Chemistry,18,4,717-721.
- 59)Johansen,K. and Mohlenberg,F.(1987)Impairment of egg production in *Acartia tonsa* exposed to tributyltin oxide. *Ophelia*,27,137-141.
- 60)Ritchie,L.S.,Lopez,V.A. and Cora,J.M.(1974)Prolonged applications of an organotin against *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. in Molluscicides in schistosomiasis control. New York, London, Academic Press,77-88.
- 61)Hall,L.W.,Bushong,S.J.,Hall,W.S. and Johnson,W.E.(1988)Acute and chronic effects of tributyltin on a Chesapeake Bay copepod. *Environ.Toxicol.Chem.*,7,41-46.
- 62)Itami,T.,Ema,M.,Amano,H.,Murai,T. and Kawasaki,H.(1990)Teratogenic evaluation of tributyltin chloride in rats following oral exposure. *Drug Chem.Toxicol.*,13,4,283-295.
- 63)Gardlund,A.T.,Archer,T.,Danielsson,K.,Danielsson,B.,Fredriksson,A.,Lidqvist,N.G.,Lidstrom,H. and Luthman,J.(1991)Effects of prenatal exposure to tributyltin and trihexyltin on behaviour in rats. *Neurotoxicol.Teratol.*,13,1,99-105.
- 64)Crofton,K.M.,Dean,K.F.,Boncek,V.M.,Rosen,M.B.,Sheets,L.P.,Chernoff,N. and Reiter,L.W.(1989) Prenatal or postnatal exposure to bis(tri-*n*-butyltin)oxide in the rat. Postnatal evaluation of teratology and behavior. *Toxicology and Applied Pharmacology*,97,113-123.
- 65)Harazono,A.,Ema,M. and Ogawa,Y.(1996)Pre-implantation embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats. *Toxicol.Lett.*,89,3,185-190.
- 66)Harazono,A.,Ema,M. and Ogawa,Y.(1998)Evaluation of early embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats. Phase- and dose-dependent antifertility effects. *Arch. Environ. Contam.Toxicol.*,34,1,94-99.
- 67)Ema,M.,Kurosaka,R.,Amano,H. and Ogawa,Y.(1995)Further evaluation of the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats. *Toxicology*,96,3,195-201.
- 68)Ema,M.,Kurosawa,R.,Amano,H. and Ogawa,Y.(1995)Comparative developmental toxicity of tributyltin trichloride, dibutyltin dichloride and tributyltin chloride in rats. *J.Appl.Toxicol.*,15, 4,297-302.
- 69)Ema,M.,Itami,T. and Kawasaki,H.(1991)Changes of spontaneous motor activity of rats after acute exposure to tributyltin chloride. *Drug Chem.Toxicol.*,65,8,651-655.
- 70)Manning,C.S., Lytle,T.F.,Walker,W.W. and Lytle,J.S.(1999)Life-cycle toxicity of bis(tributyltin) oxide to the sheepshead minnow(*Cyprinodon variegatus*). *Arch.Environ.Contam.Toxicol.*,37, 258-266.
- 71)島崎洋平、北野健、大嶋雄治、今田信良、本城凡夫(2000)トリブチルスズによるヒラメの雄化、日本内分泌攪乱化学物質学会第3回研究発表会講演要旨集、A-3-1,65.
- 72)Horiguchi,T.,Shiraishi,H.,Shimizu,M.,Yamazaki,S. and Morita,M.(1995)Imposex in Japanese gastropods(Neogastropoda and Mesogastropoda):Effects of tributyltin and triphenyltin from antifouling paints. *Marine Pollution Bulletin*,31,4-12,402-405.
- 73)Walsh,G.E.,McLaughlin,L.L.,Louie,M.K.,Deans,C.H. and Lores,E.M.(1986)Inhibition of arm regeneration by *Ophioderma brevispina*(Echinodermata, Ophiuroidea) by tributyltin oxide and triphenyltin oxide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*,12,95-100.
- 74)Khan,A.,Weis,J.S.,Saharig,C.E. and Polo,E.(1993)Effect of tributyltin on mortality and telson regeneration of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Bull.Environ.Contam.Toxicol.*,50, 152-157.
- 75)Bryan,G.E.,Gibbs,P.E. and Burt,G.R.(1988)A comparison of the effectiveness of tri-*n*-butyltin chloride and five other organotin compounds in promoting the development of imposex in the dog-whelk, *Nucella lapillus*. *J.Mar.Biol.Ass.U.K.*,68,733-744.
- 76)Weis,J.S. and Kim.K.(1988)Tributyltin is a teratogen in producing deformities in limbs of

- the fiddler crab, *Uca pugilator*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 17, 583-587.
- 77) Cima, F., Ballarin, L., Bressa, G., Martinucci, G. and Burighel, P. (1996) Toxicity of organotin compounds on embryos of a marine invertebrate (*Styrela plicata*; Tunicata). Ecotoxicology and Environmental Safety, 35, 174-182.
- 78) Snoeij, N.J., Punt, P.M., Penninks, A.H. and Seinen, W. (1986) Effects of tri-*n*-butyltin chloride on energy metabolism, macromolecular synthesis, precursor uptake and cyclic AMP production in isolated rat thymocytes. Biochim. Biophys. Acta, 852, 234-243.
- 79) Smialowicz, R.J., Riddle, M.M., Rogers, R.R., Luebke, R.W. and Copeland, C.B. (1989) Immunotoxicity of tributyltin oxide exposed as adults or pre-weanlings. Toxicology, 57, 1, 97-111.
- 80) O'Callaghan, J.P. and Miller, D.B. (1988) Acute exposure of the neonatal rat to tributyltin results in decreases in biochemical indicators of synaptogenesis and myelinogenesis. J. Pharmacol. Exp. Ther., 246, 1, 394-402.
- 81) Noda, T., Morita, S., Yamano, T., Shimizu, M., Nakamura, T., Saitoh, M. and Yamada, A. (1991) Teratogenicity study of tri-*n*-butyltin acetate in rats by oral administration. Toxicol. Lett., 55, 1, 109-115.
- 82) Krajnc, E.I., Wester, P.W., Loeber, J.G., van Leeuwen, F.X.R., Vos, J.G., Vaessen, H.A.M.G. and van der Heijden, C.A. (1984) Toxicity of bis(tri-*n*-butyltin)oxide in the rats. 1. Short-term effects on general parameters and on the endocrine and lymphoid system. Toxicology and Applied Pharmacology, 75, 363-386.
- 83) Smith, B.S. (1971) Sexuality in the American mud snail, *Nassarius obsoletus* Say. Proc. Malacol. Soc. Lond., 39, 377-378.
- 84) Matthiessen, P. and Gibbs, P.E. (1998) Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. Environmental Toxicology and Chemistry, 17, 1, 37-43.
- 85) Gibbs, P.E., Bryan, G.W., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. (1987) The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 67, 507-523.
- 86) Gibbs, P.E., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. (1988) Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 68, 715-731.
- 87) Gibbs, P.E. and Bryan, G.W. (1986) Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 66, 767-777.
- 88) Gibbs, P.E., Bryan, G.W., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. (1990) Reproductive abnormalities in female *Ocenebra erinacea* (Gastropoda) resulting from tributyltin-induced imposex. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 70, 3, 639-656.
- 89) Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Hummerstone, L.G. and Burt, G.R. (1986) The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England: Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 66, 611-640.
- 90) Gibbs, P.E. and Bryan, G.W. (1996) TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction, in "Tributyltin: case study of an environmental contaminant" ed. by S.J. de Mora, Cambridge University Press, 212-236.
- 91) 堀口敏宏 (2000) . 野生生物の内分泌攪乱現象の現状と原因物質 / 貝類, 『水産環境における内分泌攪乱物質』 (川合真一郎・小山次朗編), 恒星社厚生閣, 東京, 54-72.
- 92) de Fur, P.L., Crane, M., Ingersoll, C. and Tattersfield, L. ed. (1999) Endocrine Disruption in Invertebrates: Endocrinology, Testing, and Assessment, SETAC Press, 303pp.
- 93) Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. and Morita, M. (1997) Effects of triphenyltin chloride and five other organotin compounds on the development of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*. Environmental Pollution, 95, 1, 85-91.
- 94) 堀口敏宏、趙顯書、白石寛明、柴田康行、森田昌敏、清水誠 (1997) イボニシのインボセックスに及ぼす有機スズ18種とステロイドホルモンの効果、平成9年度日本水産学会秋

季大会講演要旨集、741、105.

- 95) Hawkins, L.E. and Hutchinson, S. (1990) Physiological and morphogenetic effects of monophenyltin trichloride on *Ocenebra erinacea*. British Ecology Society Symposium, Southampton, England, UK, 26-27 September, *Funct. Ecol.*, 4, 3, 449-454.
- 96) Bettin, C., Oehlmann, J. and Stroben, E. (1996) TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgolaender Meeresuntersuchungen*, 50, 3, 299-317.
- 97) Feral, C. and Le Gall, S. (1983) The influence of a pollutant factor (TBT) on the neurosecretory mechanism responsible for the occurrence of a penis in the females of *Ocenebra erinacea*. in "Molluscan Neuro-endocrinology", ed. by J. Lever and H.H. Boer, North Holland Publishing, 173-175.
- 98) Ronis, M.J.J. and Mason, A.Z. (1996) The metabolism of testosterone by the Periwinkle (*Littorina littorea*) *in vitro* and *in vivo*: Effects of tributyl tin. *Mar. Environ. Res.*, 42, 161-166.
- 99) 陸明、堀口敏宏、白石寛明、柴田康行、安保 充、大久保 明、山崎素直 (2001) ガスクロマトグラフィー / 質量分析法による海産巻貝類におけるステロイドホルモンの同定と定量、*分析化学*, 50, 247-255.
- 100) Morcillo, Y. and Porte, C. (1999) Evidence of endocrine disruption in the imposex-affected gastropod *Bolinus brandaris*. *Environ. Res.* 81, 4, 349-354.
- 101) Yamabe, Y., Hoshino, A., Imura, N., Suzuki, T. and Himeno, S. (2000) Enhancement of androgen-dependent transcription and cell proliferation by tributyltin and triphenyltin in human prostate cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 169, 177-184.
- 102) Chiu, A.Y., Hunkapiller, M.W., Heller, E., Stuart, D.K., Hood, L.E. and Strumwasser F. (1979) Purification and primary structure of the neuropeptide egg-laying hormone of *Aplysia californica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 12, 6656-6660.
- 103) Ebberink, R.H.M., Loenhout, H., van Geraerts, W.P.M. and Joosse, J. (1985) Purification and amino acid sequence of the ovulation neurohormone of *Lymnaea stagnalis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 82, 7767-7771.
- 104) Oberdorster, E. and McClellan-Green, P. (2000) The neuropeptide APGWamide induces imposex in the mud snail, *Ilyanassa obsoleta*. *Peptides*, 21, 9, 1323-1330.
- 105) Bauer, B., Fioroni, P., Ide, I., Liebe, S., Oehlmann, J., Stroben, E., and Watermann, B. (1995) TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*: a possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia*, 309, 15-27.
- 106) Horiguchi, T., Kojima, M., Kaya, M., Shiraiishi, H., Morita, M., Takiguchi, N., Cho, H.H., Hirose, H. and Shimizu, M. (2000) Ovo-testis and disturbed reproductive cycle in the giant abalone, *Haliotis madaka*: Possible linkage with organotin contamination in a site of population decline. *Mar. Environ. Res.*, 50, 223-229.