

14. 絶滅が危惧される両生類の国内実態調査と情報ネットワークの作成及び環境汚染モニター動物の作製に関する研究

研究代表者：中村正久（早稲田大学・教育学部・教授）

研究協力者：

田中滋康（静岡大学・理学部・教授）

弓削昌弘（福岡女子大学・人間環境学部・講師）

高瀬 稔（広島大学・理学部・助手）

門上希和夫（北九州市環境科学研究所・水質管理係長）

千木良芳範（沖縄県教育庁文化課・課長補佐）

大内 一夫（埼玉県三郷市・自営業）

武石全慈（北九州市立自然史博物館・学芸員）

倉本 満（福岡教育大学・名誉教授）

小野勇一（九州大学・名誉教授）

研究要旨

本研究は（１）両生類（カエル）の実態調査とネットワーク作り、（２）北九州市山田緑地の検出物質及び土壌の遺伝毒性調査、（３）環境汚染モニター動物（トランスジェニックカエル）の作製、の３つのテーマを骨子として行われた。（１）については、奇形カエルの情報収集を目的としてホームページ（<http://faculty.web.waseda.ac.jp/nakamra/>）を開設し、いくつかの情報が寄せられていた。また、関東、信越、東海・北陸、中国、沖縄地方で、カエル、イモリの実態調査を行った。どの地域においても両生類の生息環境が年々、厳しくなっていることが窺えた。関東地方では昨年と同様、奇形ウシガエルを８例発見した。また、東海地方並びに沖縄地方でも奇形カエルを発見した。（２）については、北九州市山田緑地におけるカエルの過剰肢が遺伝的であることが判明したため、山田緑地における検出物質及び土壌の遺伝毒性調査を行った。既検出物質のトリニトロトルエン（TNT）、及びベンゾ(a)ピレン（B(a)P）は、共に遺伝毒性を有することが分かった。また、他の検査区に比べ、山田緑地の土壌試料抽出液に高濃度のTNTを検出したので、umu試験を行ったが、高い遺伝毒性はなかった。（３）については、蛍光蛋白（GFP）をレポーターとしてカエル FTZ-F1 遺伝子の転写調節領域をアフリカツメガエル卵に導入したトランスジェニックカエルの作製に成功した。これによってカエル性腺で発現する遺伝子のカエル卵への導入が可能になった。

本年度の研究では多くの成果が得られた。しかし、調査結果の信頼性を高めるために継続して調査を行う必要がある。

A. 研究目的

〔1〕両生類（カエル）の実態調査とネットワーク作り

近年、地球環境の悪化によって生息地が狭まくなり、貴重な動物の種の急減及び絶滅が危惧されている。両生類も例外ではなく、国内外で学術的に貴重なカエルが急減している。カエルの急減の要因に、人間による自然破壊や産業廃棄物の蓄積、オゾン層破壊による紫外線の増加、病気、寄生虫、酸性雨などが挙げ

られているが、これらの要因が複合的に作用している可能性もある。従来、国内における両生類（カエル）の実態調査は限られた小区域で個別に行われており、広範囲の組織的な調査は行われていなかった。また、カエルの動態に関する情報ネットワーク作りも遅れていた。国内のカエルの現状を把握するためには、組織的な実態調査並びに情報ネットワーク作りが必要である。ここでは、環境汚染と両生類に対する影響を把握するため、国内の数カ所をモデル地区として選び、両生類（カエル及びイモリ）の実態調査を行う。調査区域は、昨年度と同様、関東、東海、信越、中国、沖縄地方とし、両生類の生息状況、奇形カエルの発生調査を行う。

〔2〕北九州市山田緑地の検出物質及び土壌の遺伝毒性調査

平成7年に北九州市小倉北区の山田緑地において発見された過剰肢ヤマアカガエルの原因究明は、これまで内分泌攪乱化学物質やダイオキシン類などに注目して行われてきた。その結果、山田緑地の土壌、カエル及びその卵が、ダイオキシン類やDDT等の有機塩素系物質によって比較的高濃度に汚染されており、さらに母ガエルから卵への移行により、卵中の濃度は親の数倍に達することが確認された。また、山田緑地の土壌からは、有機塩素系物質以外に2,4,6-トリニトロトルエン(TNT)も検出された。しかし、過剰肢の原因としては遺伝も考えられ、平成10年に確保した過剰肢を持つ幼生を成体まで飼育し、平成12年に種々の交配試験を行った。その結果、過剰肢をもつ親からのみ、過剰肢の幼生が得られ、過剰肢は遺伝的であることが確認された。そこで、12年度の調査は、遺伝毒性に注目して山田緑地の環境及び検出物質の遺伝毒性を調査した。具体的には、微生物を用いたバイオアッセイ試験により、TNTなどの検出物質及び山田緑地土壌抽出液の遺伝毒性の有無、及びその強度を求めて、山田緑地におけるカエルの生殖細胞を変異させる物質の存在（または、過去に存在した）を検討した。

〔3〕環境汚染モニター動物（トランスゲニックカエル）の作製

自然破壊及び環境汚染化学物質によるカエルの稀少種の急減や絶滅は、それらの影響が確実に人類に及んでいる警告である。環境汚染化学物質、特に内分泌攪乱化学物質に起因する動物の性分化異常は、どの動物でも発生することが懸念され、ヒトを含めた脊椎動物の生殖機能不全による種の絶滅を引き起こす可能性があるため、早急にこの問題を解決しなければならない。それには、内分泌攪乱化学物質の汚染状況を正確に把握する必要があるため、汚染モニター動物の作製が必要である。性腺で特異的に発現する遺伝子をモニターとして、その遺伝子の発現異常を指標とすることができれば、汚染の拡散状況を測ることができ、それによって汚染の拡散を防止することが可能になる。当研究班は昨年度の研究で、カエル性腺で発現する遺伝子（*FTZ-F1*）のプロモーター領域の下流に蛍光緑色蛋白（GFP）をレポーター遺伝子として繋ぎ、そのDNAコンストラクトをアフリカツメガエル卵内に注入してトランスゲニックカエルの作製を試みた。本年度はモニター遺伝子に*Sf-I*遺伝子を加え、*FTZ-F1*及び*Sf-I*遺伝子をモニターとするトランスゲニックカエルの完成を目指した。

B. 研究方法

〔1〕両生類（カエル）の実態調査とネットワーク作り

（A）インターネットによる国内の奇形カエルの発生情報の収集

インターネットを通じ全国から奇形カエルの情報を得る目的で、昨年度、ホームページ（<http://faculty.web.waseda.ac.jp/nakamura/>）を開設した。本年度もインターネットを通じて得られた情報と実態調査から国内の奇形カエルの発生状況を知った。

(B) 両生類（カエル）の国内実態調査

実態調査（１）：関東地方

昨年度の関東地方の実態調査 6 例の奇形ウシガエルを発見した。本年度も同様にウシガエルを中心として奇形カエルの発生調査を行った。

１）奇形ウシガエルの発生調査

実態調査（２）：東海地方

昨年度の静岡県内の実態調査で 11 種のカエルの生息を確認した。本年度も同様の調査を行い、2 年間にわたる両生類の種類、数、及び奇形カエルの発生などの調査を行った。

実態調査（３）：信越地方

本年度、長野県飯田市売木地区の小中学校のプールで飼育したヤマアカガエルのオタマジャクシの 18% に奇形（尾部形態異常）が発生した。この形態異常の原因の解明を目指した。

１）交配実験による遺伝的解析用奇形カエルの飼育

実態調査（４）：中国地方

中国地方の数カ所に生息するダルマガエルは、昔、西日本では多数生息していた。しかし、現在、広島県では、双三郡吉舎町で少数が生息しているにすぎない。本年度はその実態を調査した。

１）広島県双三郡吉舎町におけるダルマガエルの実態調査

実態調査（５）：沖縄地方

沖縄県沖縄本島北部（山原：やんばる）には、県の天然記念物に指定されている地方固有種（イシカワガエル、ナミエガエル、ハナサキガエル、ホルストガエルなど）が、また、宮古島には地方固有種（ミヤコヒキガエル）が生息している。沖縄群島は自然が多く残されているとはいえ、観光や米軍基地の移転のための土地開発が進行している。その結果、これらの動物の生息地が奪われつつあり、種の急減、及び絶滅が危惧されている。昨年度、当研究班は宮古島、南大東島におけるミヤコヒキガエルとオオヒキガエルの実態調査を行った。本年度は両島と、原生林が残されている沖縄本島北部、降雨量が多く地形的に宮古島、南大東島とは大きく異なる八重山諸島（石垣島、西表島）を新たに加え、カエルの実態を調査した。

１）宮古島、南大東島におけるカエルの実態調査

２）沖縄本島北部におけるカエルの実態調査

３）石垣島、西表島におけるカエルの実態調査

C. 研究結果、及びD. 考察

〔１〕両生類（カエル）の実態調査とネットワーク作り

(A) インターネットによる国内の奇形カエルの発生情報の収集

昨年度、国内の奇形カエルの発生に関する情報を得る目的でホームページ (<http://faculty.web.waseda.ac.jp/nakamra/>) を開設した。送られてきたメールの中に、市内の中学校のプール（図 A-1）で飼育したヤマアカガエルのオタマジャクシに 18.3% の奇形が出現したという情報があった。そこで、現地（長野県飯田市売木）に行き、プールから奇形オタマジャクシ（尾部屈曲、図

A-2) を捕獲し、室内で飼育した。変態後のカエルは外見的に正常（図 A-3）であった。

(B) 実態調査

実態調査（1）：関東地方における奇形ウシガエルの発生調査

平成11年度の実態調査で関東地方において6例の奇形ウシガエルを確認した（図B-1、△印）。平成12年度も奇形カエルの発生調査を行ったところ8例の奇形ウシガエルを発見した（場所、図B-1、○印；奇形部、図B-2～4）。関東地方では他種の奇形カエルは確認されなかった。昨年度の研究報告書に1929年から1998年の70年間に29例の奇形カエルが報告されていることを述べた。下記のデータで分かるように、当研究班の調査によってこの2年間に14例の奇形ウシガエルを発見した。この結果から判断すると、国内における奇形カエルの発生頻度はかなり高いと思われる。今後は奇形カエルの発生原因を明らかにし、それに内分泌攪乱化学物質が深く関わっているかどうかを解明する必要がある。

平成12年度に発見した奇形ウシガエル

①採集年月日：2000年10月 8日

採集場所： 茨城県麻生町

異常の位置：右後肢異常

②採集年月日：2000年11月12日

採集場所： 群馬県館林市

異常の位置：右後肢異常

③採集年月日：2000年12月10日

採集場所： 千葉県野田市

異常の位置：左後肢指欠損

④採集年月日：2001年 1月30日

採集場所： 茨城県土浦市

異常の位置：右前肢欠損

⑤採集年月日：2001年 1月30日

採集場所： 茨城県土浦市

異常の位置：左後肢欠損

⑥採集年月日：2000年 7月27日

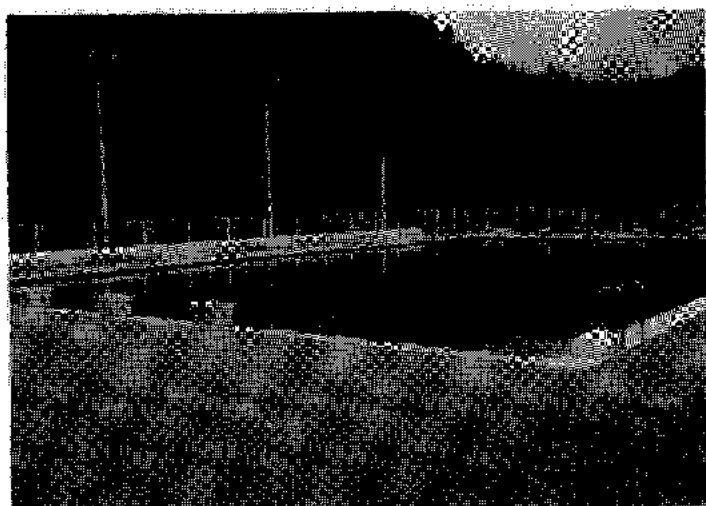
採集場所： 千葉県関宿町

異常の位置：左後肢欠損

⑦採集年月日：2001年 2月 5日

採集場所： 茨城県玉造町

インターネットによる国内の奇形カエルの発生情報の収集



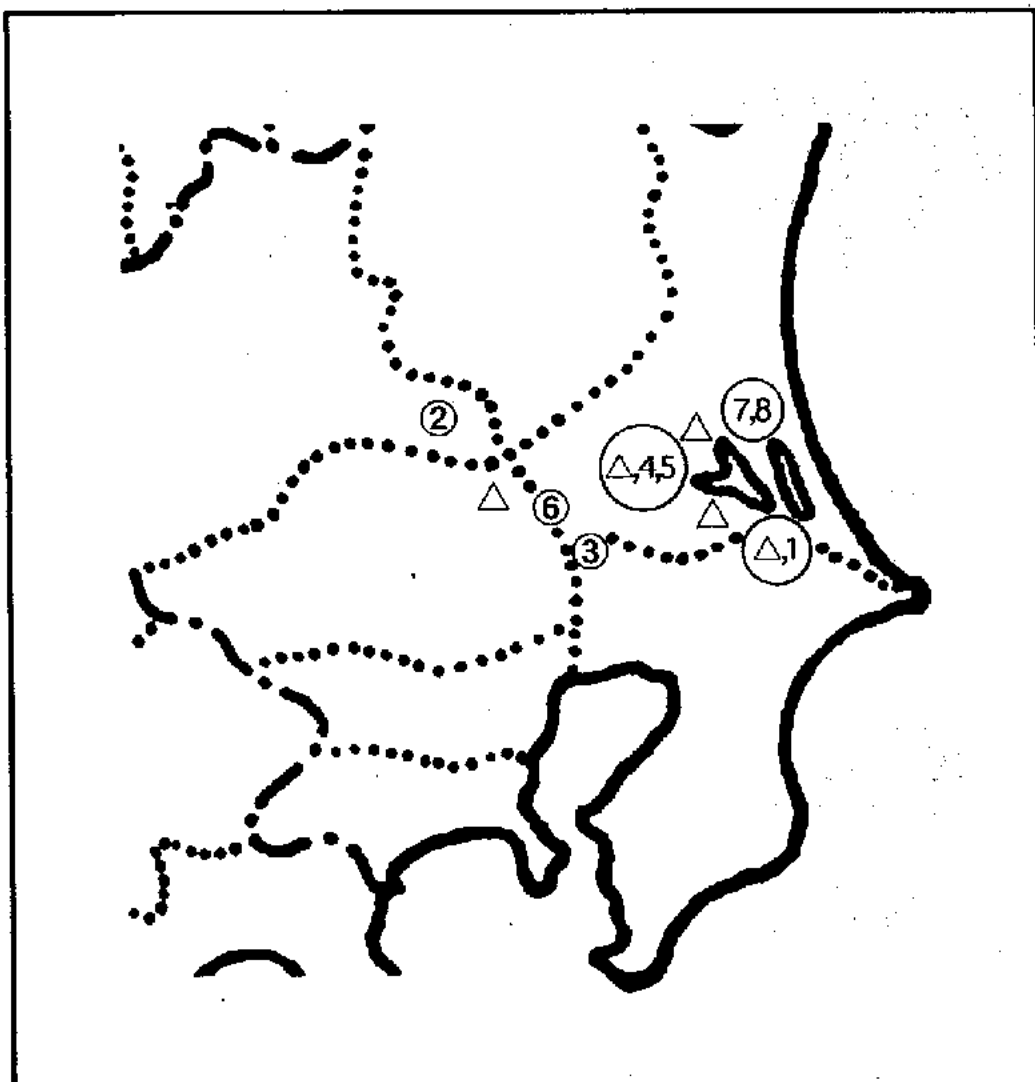
図A-1 奇形オタマジャクシが見つかった長野県飯田市売木小中学校のプール



図A-2 捕獲した奇形オタマジャクシ



図A-3 アカガエル奇形オタマジャクシの変態後



図B-1 関東地方における奇形ウシガエルの発生地