

雄コイのビテロジェニン濃度とその変動

齋藤和久・野崎隆夫（神奈川県環境科学センター）

勝呂尚之（神奈川県水産総合研究所内水面試験場）

1 はじめに

われわれの生活の中には、プラスチックや化学繊維をはじめ様々な化学物質が存在し、恩恵をもたらすとともに環境問題も引き起こしている。そのひとつとして、環境ホルモンと呼ばれる内分泌攪乱化学物質の問題があり、魚類では女性ホルモン作用によると思われる生殖異常（雄の雌化など）の現象が報告されている。そのような現象の指標として、雄には本来存在しない雌特有のタンパク質であるビテロジェニン（卵黄タンパクの前駆体）を調べる方法がある。通常ビテロジェニンは正常な雄ではほとんど検出されないが、女性ホルモンの影響を受けると雄でも合成され血液中に分泌される。このような特性から、ビテロジェニンは女性ホルモン様物質の影響を調べるための有用な方法とされている。また、人畜由来の女性ホルモン（17 β -エストラジオール）は、広く環境水から検出されており、その影響が雄に及んでいる可能性が懸念されている。しかし、雄コイにおいて、ビテロジェニン濃度がどの程度検出されたら異常といえるのか、また季節変化などの変動はあるのか、環境水中の女性ホルモン濃度と血中ビテロジェニン濃度には関係があるのか等について明確な答えはでない。

そこで、コイを飼育することにより、雄コイのビテロジェニン濃度の変動を個体レベルで調べ、更に女性ホルモンによる影響が雄コイに及んでいるかを調べるため、県内河川で採捕した雄コイのビテロジェニン濃度と水中の17 β -エストラジオールを測定した。また生殖異常の有無をコイの産卵行動などの生態的な側面からも調査検討を行った。

2 方法

2.1 飼育によるビテロジェニン濃度の変動

雄コイのビテロジェニン濃度の変動を調べるため、平成12年8月に県西部の小田原市内を流れる山王川（図1）で26尾のコイを採捕した。採捕したコイは、個体識別のためのタグを付け、県水産総合研究所内水面試験場（相模原市）の屋外の池（W6.1×D2.7×H0.6 m、注水量：毎分5～10ℓ）で平成13年8月まで飼育した（雌雄混生飼育）。給餌は、市販の人工飼料をほぼ毎日1回体重の2%与えた。飼育期間中に2カ月ごとに計7回尾部の血管から採血した。採血した血液は、その日のうちに、4℃、3000rpm、20分間遠心分離を行い血清を分離した。血清は、測定時まで-80℃で保存した。なお、採血したコ

イは、塩水浴（0.5 %）を1時間行った後に飼育池に戻した。ピテロジェニン濃度の測定は、コイのピテロジェニン ELISA キット（株式会社トランスジェニック製造）で行った。26尾のうち、最後まで生存していた19尾を解剖し、雌雄の判別と肉眼による生殖腺の観察を行った。

2.2 県内河川におけるコイのピテロジェニン濃度

県内河川における雄コイのピテロジェニン濃度を調べるために、

平成13年10月に葛川と森戸川で合計11尾、平成14年8月に金目川水系鈴川で18尾、同年10月に金目川（花水川橋）で34尾、同年11月に田越川で21尾採捕し（図1）、採捕したコイは、氷水の入った大型クーラーボックスに入れ、生かしたまま試験室に持ち帰った。採血後解剖し、雌雄の判別、肉眼による生殖腺の観察を行った。血清は測定時まで-80℃で保存した。

2.3 女性ホルモン濃度

雄コイのピテロジェニン濃度と水中の女性ホルモン物質濃度との関係を検討するため、飼育水及び河川水の17β-エストラジオールをELISAキット（武田薬品工業株式会社製造）を用いて測定した。

2.4 河川におけるコイの産卵行動

平成13年5月に山王川及び引地川、平成14年4～5月に引地川でコイの産卵行動を観察した。また、引地川では人工の産卵床を設置するなどして卵を持ち帰り、ふ化の状況を調べた。

3 結果

3.1 飼育コイ

3.1.1 ピテロジェニン濃度 1年間飼育した19尾のうち、雄は8尾であった。この8尾の飼育期間中のピテロジェニン濃度は、0.1 μg/ml未満が約41%であったが、100 μg/ml以上の検体も約7%あった（表1）。これは、同一個体の検体であった。どの雄コイでも少なくとも1回は検出されたが、季節変動などの一定の傾向は見られなかった。雌11尾のピテロジェニン濃度は、約79%の検体が100 μg/ml以上を示していたが（表1）、季節変動は見られなかった。

3.1.2 生殖腺の観察 雄8尾のうち、3尾に生殖腺の萎縮が見られた。生殖腺が萎縮した雄と正常な雄との間には、ピテロジェニン濃度が高いと生殖腺の萎縮が起こるという関係は見られなかった（表2）。雌の生殖腺には、異常は見られなかった。

3.1.3 飼育池の女性ホルモン濃度 コイ飼育池における女性ホルモンの17β-



エストラジオール濃度は、平均で0.3ng/l、原水は0.1ng/l未満であった。その変動と飼育期間中の雄コイのビテロジェニン濃度の変動との間に関係は見られなかった。なお、飼育池で女性ホルモンが検出された要因としては、雌コイに由来するよるものが考えられる。

表1 飼育期間中のビテロジェニン濃度範囲

	ビテロジェニン濃度範囲 (血清 1mlあたり)					単位 検体
	<0.1 µg	0.1 ~ 1 µg	1 ~ 10 µg	10 ~ 100 µg	>100 µg	合計
山王川 雄	23 (41.1%)	10 (17.9%)	5 (8.9%)	14 (25.0%)	4 (7.1%)	56
雌	1 (1.3%)	0	3 (3.9%)	12 (15.6%)	61 (79.2%)	77

表2 雄コイの生殖腺正常魚と萎縮魚のビテロジェニン濃度

	採捕時のビテロジェニン濃度			飼育期間中のビテロジェニン濃度		
	レンジ	中央値	個体数	レンジ	中央値	サンプル数
山王川 (正常)	<0.04 ~ 30	<0.04	5	<0.04 ~ 257	8.5	35
山王川 (萎縮)	<0.04 ~ 0.26	0.13	3	<0.04 ~ 37	0.04	21
金目川など (正常)	<0.04 ~ 0.38	<0.04	30			
金目川など (萎縮)	<0.04	<0.04	2			

3.2 県内河川で採集されたコイ

3.2.1 ビテロジェニン濃度 山王川（採捕時のデータ）、森戸川、葛川、金目川（花水川橋）、金目川（鈴川）及び田越川の雄コイのビテロジェニン濃度は、雄全体（47尾）で83%の個体が0.1 µg/ml未満であった（表3）。今回の結果は、平成10～13年度に国土交通省が全国の河川で行った結果（0.1 µg/ml未満が約62～82%）及び平成11年度に実施された桂川・相模川流域協議会の結果（0.1 µg/ml未満が約90%）とほぼ同様の傾向であった。雌コイのビテロジェニン濃度は、雌全体（55尾）の約83%の個体が100 µg/ml以上であった（表3）。

3.2.2 生殖腺の観察 山王川を除く雄コイのうち、生殖腺を肉眼で観察したところ、金目川（鈴川）と田越川で各1尾生殖腺の萎縮が見られた。この2尾のビテロジェニン濃度は0.04 µg/ml未満で（表2）、ビテロジェニンの濃度が高いと生殖腺が萎縮するという関係は見られなかった。雌の生殖腺には、異常は見られなかった。

3.2.3 河川中の女性ホルモン濃度 コイを採捕した河川の17 -エストラジオール濃度は、平均で山王川0.3ng/l、葛川2.9ng/l、森戸川1.6ng/l、金目川（鈴川）10ng/l、金目川（花水川橋）1.5ng/l、田越川0.7ng/lと雄コイのビテロジェニン濃度との間に一定の関係は見られなかった。また、これらの濃度は、平成10～13年度に国土交通省が実施した数値（0.2ng/l未満～27ng/l）と比較しても高いということはない。

3.3 コイの産卵行動

山王川と引地川でコイの産卵行動を調べたところ、両河川とも5月に多くの産卵行動が見られた。産卵行動は、1尾の雌に数尾の雄が追尾して行われた。引地川に人工の産卵床を設置するなどして卵を持ち帰ったところ、卵のふ化率は90%以上あり、ふ化仔稚魚にも特に異常は見られなかった。

表3 コイのピテロジェニン濃度範囲

	ピテロジェニン濃度範囲 (血清 1mlあたり)					合 計
	<0.1 µg	0.1 ~ 1 µg	1 ~ 10 µg	10 ~ 100 µg	>100 µg	
山王川 雄	5 (62.5%)	2 (25.0%)	0	1 (12.5%)	0	8
森戸川 "	1 (100%)	0	0	0	0	1
葛川 "	5 (83.3%)	0	1 (16.7%)	0	0	6
金目川(花水川橋) "	11 (91.7%)	1 (8.3%)	0	0	0	12
金目川(鈴川) "	7 (87.5%)	1 (12.5%)	0	0	0	8
田越川 "	10 (83.3%)	2 (16.7%)	0	0	0	12
雄全体	39 (83.0%)	6 (12.8%)	1 (2.1%)	1 (2.1%)	0	47
山王川 雌	1 (9.1%)	0	0	2 (18.2%)	8 (72.7%)	11
森戸川 "	0	0	0	0	1 (100%)	1
葛川 "	0	0	0	0	3 (100%)	3
金目川(花水川橋) "	1 (4.5%)	0	1 (4.5%)	0	20 (91.0)	22
金目川(鈴川) "	0	0	0	4 (40.0%)	6 (60.0%)	10
田越川 "	0	0	0	0	8 (100%)	8
雌全体	2 (3.6)	0	1 (1.8%)	6 (10.9%)	46 (83.6%)	55

4 まとめ

今回調査対象とした河川では、明らかな性比の偏りは見られず、また山王川及び引地川においては正常に産卵及びふ化が行われており、少なくともコイ個体群に影響するような生殖異常は起きていないと考えられる。

一方、個体レベルで見た場合、生殖腺を観察した雄コイ47個体中5個体に生殖腺の萎縮が見られた。しかし、萎縮が見られた個体中のピテロジェニン濃度が必ずしも高くなかったことや、コイ血中のピテロジェニン濃度と水中の女性ホルモン濃度との間に一定の関係が見られなかったことから、調査時点でのピテロジェニン濃度は、生殖腺萎縮や水中女性ホルモン濃度の直接的な指標にはならないと考えられる。

今後、今回観察された生殖腺萎縮が、女性ホルモン作用によるものかどうか確認するとともに、生殖異常の原因は、成魚になってからよりも成長過程で受けた影響による可能性もあるので、生殖腺萎縮のコイが見られた水域に生息する仔稚魚にどのような影響がでているのか調べる必要がある。

