

## 都内河川の環境ホルモン問題に関する研究\*

和波一夫\*\*・嶋津暉之\*\*・宮下雄博\*\*

**キーワード** ①内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン) ②エストロジェン ③ビテロジェニン  
④コイ ⑤生殖腺 ⑥下水処理

### 要 旨

都内河川のコイの性比, 雄コイのビテロジェニン濃度, 生殖腺異常の実態, 河川水や下水処理水のエストロジェンの挙動などを調査した。多摩川のコイの性比は1:1であり, 雌雄割合に偏りはなかった。下水処理水の混入率の高い地点の雄コイはビテロジェニン濃度が高かった。これは, 下水処理水中の天然エストロジェンが影響していると推測された。多摩川では雄コイの13%に精巣異常が認められた。主な異常は精巣組織の萎縮, 腫瘍形成であり, 精巣卵は極わずかであった。雌コイの3%に卵巣異常が認められたが, その多くは退化変性卵であった。河川水および下水処理水におけるエストロジェン作用強度のほとんどは天然エストロジェンであるエストラジオールとエストロンで構成され, 人工化学物質の影響は小さいと推測された。

### 1. はじめに

1998年, 多摩川のコイに関する生殖異常の調査結果<sup>1)</sup>が横浜市立大学等のグループから発表され, 多摩川のコイの雌化は環境ホルモンによる可能性があるとして大きく報道された。その発表を受けて当研究所では, 多摩川を中心に, 都内河川におけるコイ等の生殖異常の実態とその原因物質とされる内分泌攪乱化学物質(環境ホルモン)の河川および下水処理場での挙動について調査を行ってきた。

ここでは, ①コイの性比, 生殖腺の実態, 雄コイのビテロジェニン濃度に関する調査, ②エストロジェン様物質の河川縦断調査で得られた結果について報告する。

### 2. コイの調査

#### 2.1 調査方法

1998年11月~2001年3月までに図1の調査地点でコイの採取を行った。採取現地でコイの全長, 体長, 体重を測定し, また尾部血管から注射器を用いて採血した。血液は保冷して実験室に持ち帰り, 遠心分離により得られた血しょうをビテロジェニン測定(クマモトトランスジェニック研究所のコイビテロジェニンELISAキットを使用)まで冷凍保存した。

採取の翌日に解剖を行い, 生殖腺観察により雌雄を判定した。摘出した生殖腺の組織片をブアン氏固定液に漬け込んだ後, 70%エチルアルコールに入れ替えて保存した。この保存組織を脱水してパラフィン包埋した後, 薄切してヘマトキシリン

\*Study on Endocrine Disrupters in Tokyo's Rivers

\*\*Kazuo WANAMI, Teruyuki SHIMAZU, Takehiro MIYASHITA (東京都環境科学研究所) The Tokyo Metropolitan Research Institute for Environmental Protection

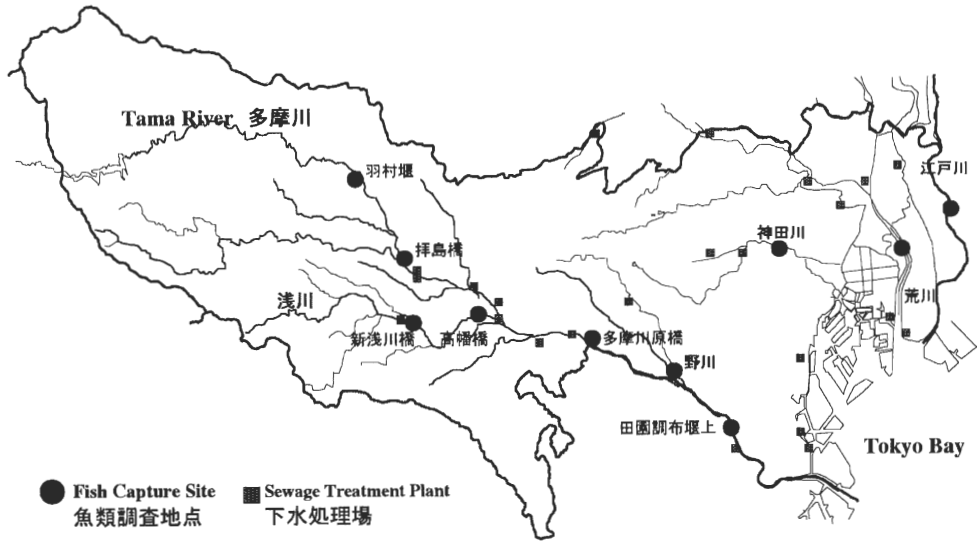


図1 都内河川の調査地点(1998~2000年度)

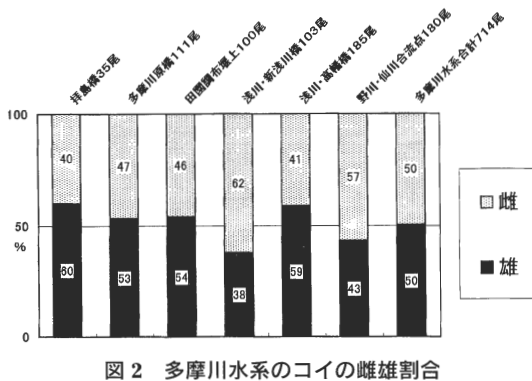


図2 多摩川水系のコイの雌雄割合

とエオシンの2重染色を施しプレパラートを作成した。生殖組織の変性等を顕微鏡で観察して、その状態を写真記録した。

2.2 コイの調査結果

2.2.1 コイの性比

2000年度末までに多摩川水系の河川で採取された成魚コイの雌雄数を図2に示す<sup>2)</sup>。コイは河川を遡上や流下するので、移動可能な範囲の水系全体で性比を検討する必要がある。多摩川の支川である浅川の新浅川橋は雌64尾、雄39尾で雌が多く、一方、下流地点の高幡橋は雌76尾、雄109尾で雄が多いが、この2地点の尾数を合計すると雌140尾、雄148尾で、浅川ではコイの性比はほぼ1:1であった。

多摩川水系の各地点は魚類の移動が可能な範囲

にあることから、各地点のコイの尾数を合計してみると雌354尾、雄360尾で、雌雄割合に大きな偏りは認められない。多摩川水系全体のコイの性比は1:1であった。

2.2.2 雄コイのビテロジェニン

卵黄タンパク前駆物質のビテロジェニンの産生は雌に限られるが、雄にエストロジェン(女性ホルモン)処理すると血中にビテロジェニンが検出される。現在、内分泌攪乱作用を有すると疑われている人工化学物質は、エストロジェン作用をするものが多い。このことから、水環境中の環境ホルモンの存在を推定する方法として、雄魚の血中ビテロジェニンの分析が行われている。雄コイのビテロジェニン濃度割合を図3に示す<sup>2)</sup>。

多摩川・多摩川原橋の雄はビテロジェニン10,000ng/ml以上のものが31%、1,000ng/ml以上のものが46%であった。浅川・新浅川橋の雄もビテロジェニンが高いものが多く、10,000ng/ml以上のものが28%、1,000ng/ml以上のものが49%であり、雄のほぼ半数から高い濃度のビテロジェニンが検出された。

一方、多摩川・田園調布堰上の雄は10,000ng/ml以上のものが2%、1,000ng/ml以上のものが6%と、高い濃度のビテロジェニンが検出した雄の割合は少なかった。国は全国の1級河川でコイの調査を行っているが、この調査<sup>3)</sup>で10,000ng/

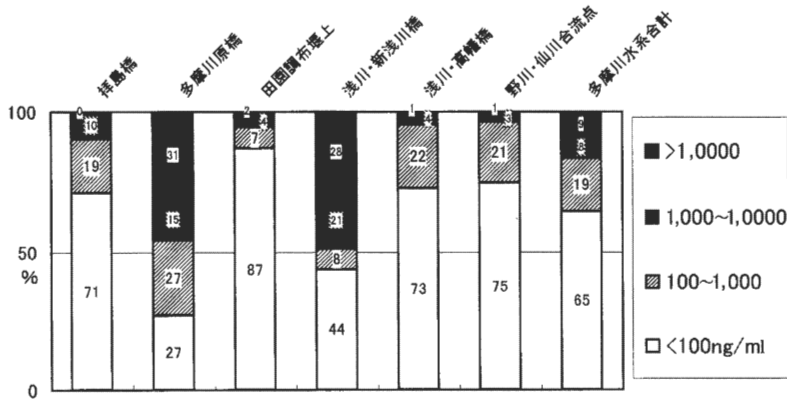


図3 雄コイの血中ピテロジェニン濃度

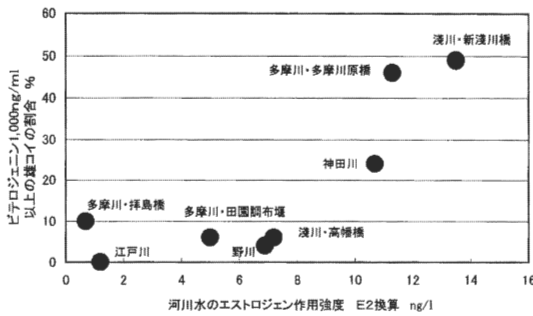


図4 河川水のエストロゲン作用強度と雄コイの血中ピテロジェニン

ml以上の雄コイは全国合計456尾中18尾で4%, 1,000ng/ml以上のものは34尾の7%である。このデータと比較すると, 多摩川・多摩川原橋や浅川・新浅川橋の雄コイはピテロジェニン濃度がかかなり高いことがわかった。

コイの採取地点のエストロゲン作用強度(天然エストロゲンの2成分の17β-エストラジオールとエストロンから算出したもの)<sup>4)</sup>とピテロジェニン濃度の関係を示したものを図4に示す<sup>2)</sup>。エストロゲン作用強度が高い地点はピテロジェニンが高く, エストロゲン作用強度が低い地点はピテロジェニンも低い。つまり, 正の相関がみられる。

エストロゲン作用強度が高い値を示した多摩川・多摩川原橋は流域下水処理場(北多摩1号処理場)の1.5kmほど下流地点で, 放流口からあまり離れていないところにある。また, 浅川・新浅川橋は八王子市処理場放流口の直下地点である。神田川・水道橋の地点も比較的高いエストロジェ

ン作用強度を示している。神田川の調査地点は下水処理場放流口から離れた下流(約5km)にあるが, 神田川の河川水量の約8割が下水処理水で占められていることから, この地点も下水処理水の影響を大きく受けている地点であるといえる。

一方, 多摩川・田園調布堰上のように下水処理場の放流口からかなり下流にある地点(約16km)や多摩川・拝島橋のように下水処理場より上流にある地点は, エストロゲン作用強度が低く, ピテロジェニン濃度も低い。

雄コイのピテロジェニン濃度が高かった多摩川・多摩川原橋地点において国がノニルフェノール等の人工化学物質を調査した結果<sup>3,5)</sup>と, 遺伝子組換え酵母法の比活性値<sup>4)</sup>を用いた各物質の17β-エストラジオール換算値を表1に示す。この表のとおり, 河川水から人工化学物質は検出されているものの, エストロゲン作用強度は天然エストロゲンの17β-エストラジオールに比べて非常に小さい値で, わずかなエストロゲン作用強度しかない。これらのことから, 雄コイに高い濃度のピテロジェニンを産生させるのは, 環境ホルモンではなく下水処理水由来の天然エストロゲン(女性ホルモン)と推測された。なお, エストロゲン作用強度の河川中の挙動については後述の河川縦断調査の項で考察する。

### 2.2.3 生殖腺観察結果

コイの正常な精巣を写真1に示す。正常な精巣の組織には精子細胞が多数みられる(写真2)。異常な外観をした精巣(写真3・5)の組織には機能不明な細胞や繊維細胞が増殖して精子形成がみ

表1 国の調査結果とエストラジオール換算濃度(mg/l) (多摩川・多摩川原橋)

	Aug-98	Dec-98	Aug-99	Nov-99	Oct-00	平均	酵母法による比活性値	エストラジオール換算濃度
4-tert-オクチルフェノール	ND	40	20	ND	10	14	0.00001	0.0001
ノニルフェノール	100	170	200	ND	0	94	0.00018	0.0170
ビスフェノールA	10	50	30	30	30	30	0.00006	0.0018
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.00000	
フタル酸ジ-n-ブチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
フタル酸ブチルベンジル	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
17β-エストラジオール	23	5.5	3.4	2	5.2	7.8	1	7.8

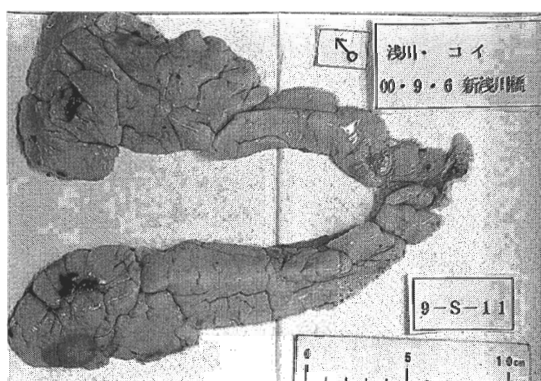


写真1 正常な精巣

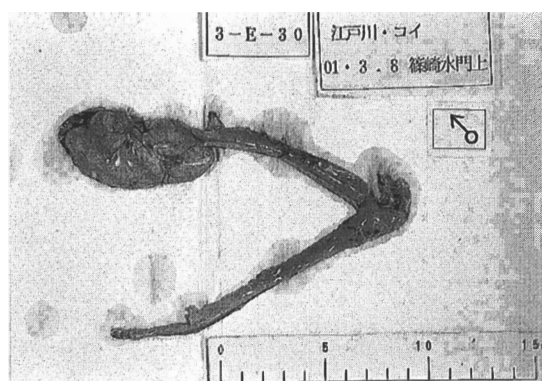


写真3 ひも状の精巣

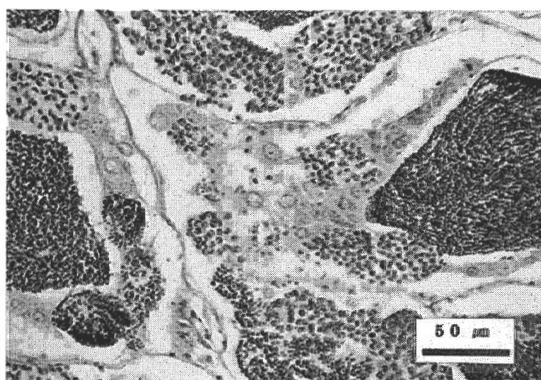


写真2 正常な精巣の組織

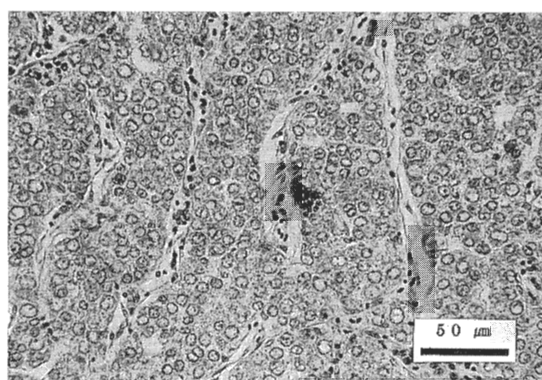


写真4 ひも状の精巣の組織

られない(写真4・6)。精巣の組織学的観察の結果、多摩川水系では13%に精巣異常が認められた。精巣異常のうち8割は機能不明な細胞が増殖した精巣(外観はヒモ状)と繊維細胞が増殖した組織の精巣(外観はコブ状)のものであった。

なお、英国の淡水魚類(ローチというコイ科魚類)で問題になっている精巣卵(精巣の中に卵が混

在しているもの<sup>6)</sup>は、都内河川のコイではほとんど認められず、外観観察および組織観察で卵細胞が精巣組織に多数認められるものは1尾、組織観察でのみ卵細胞が認められるものは2尾(卵細胞数は極わずか)であった。

雄コイの精巣異常の出現率13%に対して、雌コイの卵巣異常の出現率は3%で、精巣異常の出現

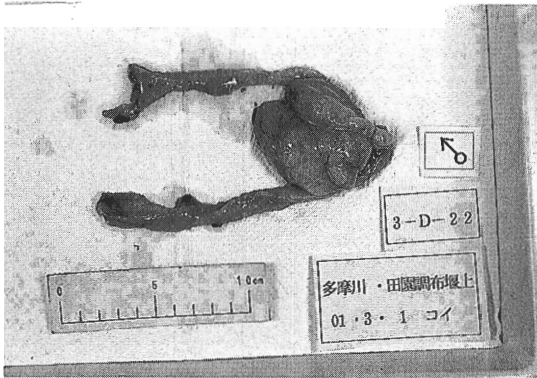


写真5 こぶ状の精巢

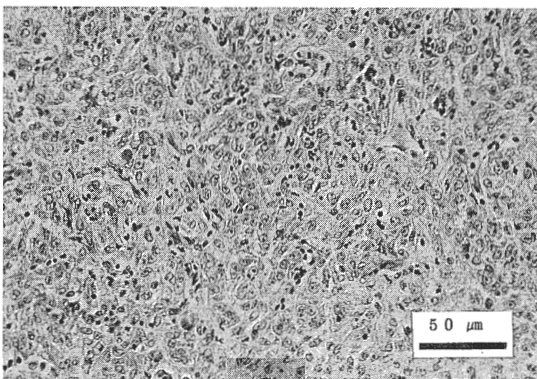


写真6 こぶ状の精巢の組織

率より低い頻度であった<sup>7)</sup>。卵巣の組織異常には、退行変性卵と繊維芽細胞由来の腫瘍の2種類が認められたが、大半は退行変性卵であった。

精巣と卵巣の組織異常の原因は現在不明であるが、精巣に特異的にみられたヒモ状の精巣異常については、①機能不明な細胞が精原細胞とよく似ていること、②ウナギを用いた実験系ではエストロジェンは精原細胞の増殖を促進する作用を持つが、精原細胞から精子への形成過程を誘導できないこと<sup>8)</sup>から、エストロジェンやエストロジェン様物質の影響を受けている可能性が示唆された。

### 3. 河川縦断調査

天然エストロジェンおよびエストロジェン様物質の濃度が、下水処理場からの流入と河川での流下の過程でどのように変化するかを明らかにするため、多摩川と多摩川支川の仙川で縦断調査を行った。

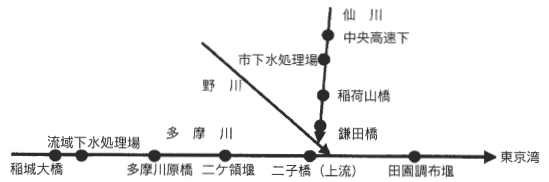


図5 河川縦断調査結果

#### 3.1 調査方法

図5に示す多摩川の6地点、支川の仙川の4地点で4回(2000年度に5月、8月、11月、2月)採水を行い、エストロジェン総合作用強度とエストロジェン(17β-エストラジオール、エストロン)、COD、BOD、窒素等の水質一般項目を測定した。なお、エストロジェン総合作用強度の測定にはBrunel大学の遺伝子組換え酵母法を採用した。エストロジェンについてはELISA法(TAKEDA ELISAキット)とLC-MS/MS法により分析を行った。COD等はJIS工場排水試験方法に従って分析を行った。

#### 3.2 調査結果

##### 3.2.1 エストロジェン作用強度

酵母法によるエストロジェン総合作用強度の結果と、ELISA法、LC-MS/MS法による天然エストロジェン2成分から計算したエストロジェン作用強度を表2<sup>9)</sup>に示す。なお、天然エストロジェン2成分からのエストロジェン作用強度は、既報<sup>4)</sup>の比活性値を使用した。多摩川の下水処理水のエストロジェン作用強度は、分析法により値が異なるものの、下水処理水合流前の河川水に比べて4~5倍ほど高い値である。下水処理水合流後の河川水のエストロジェン作用強度は合流前と同レベルであって、その後、下流にいくほど低くなる。仙川も多摩川とほぼ同様な傾向がみられた。

##### 3.2.2 河川水による希釈効果の検討

エストロジェン濃度が高い下水処理水が合流した後の河川水では、一般には合流前に比べエストロジェン濃度は高くなると想定されるが、測定結果では合流前と同レベルの濃度であった。これが河川水による希釈効果によるものか、あるいは河川内での分解、吸着、沈降作用による減少なのかを検討する必要がある。

多摩川については、河川水による希釈率を次の方法で求めた。

表 2 河川縦断調査の結果 (2000年度)

17β-エストロジオール換算濃度 ng/l

		5月			8月			11月		
		Brunel 酵 母 法によるエスト ロジェン総 合作用強度	エストロジェン2成 分の作用強度		Brunel 酵 母 法によるエスト ロジェン総 合作用強度	エストロジェン2成 分の作用強度		Brunel 酵 母 法によるエスト ロジェン総 合作用強度	エストロジェン2成 分の作用強度	
			ELISA 法	LC-MS/MS 法		ELISA 法	LC-MS/MS 法		ELISA 法	LC-MS/MS 法
多摩川	稲城大橋	2.7	4.1	1.8	2.1	7.6	0.9	3.9	6.9	2.3
	処理場放流口	31.2	42.9	19.5	12.5	23.7	6.7	10.6	23.1	6.4
	多摩川原橋	3.2	5.0	2.0	0.6	4.1	1.6	5.6	8.9	2.7
	二ヶ領堰	5.0	4.8	2.0	2.9	3.7	1.3	5.4	9.6	5.3
	二子橋	1.4	2.1	0.9	0.1	1.5	0.3	3.5	7.0	1.8
	田園調布堰	0.3	2.1	0.4	0	1.6	0.2	3.5	6.5	1.6
仙川	中央高速下	0.3	0.8	0.3	0	0.9	0.3	0.5	1.2	0.4
	処理場放流口	11.1	11.3	7.7	9.2	15.6	6.2	26.1	36.7	11.1
	稲荷山橋	1.2	1.4	0.5	2.8	5.0	1.5	10.2	25.0	5.0
	鎌田橋	3.3	3.8	1.1	0	1.7	0.1	5.5	11.8	3.0

		2月			平均		
		Brunel 酵 母 法によるエスト ロジェン総 合作用強度	エストロジェン2成 分の作用強度		Brunel 酵 母 法によるエスト ロジェン総 合作用強度	エストロジェン2成 分の作用強度	
			ELISA 法	LC-MS/MS 法		ELISA 法	LC-MS/MS 法
多摩川	稲城大橋	8.7	10.5	6.9	4.4	7.3	3.0
	処理場放流口	48.7	48.5	11.7	25.8	34.5	11.1
	多摩川原橋	16.3	16.2	6.2	6.4	8.6	3.1
	二ヶ領堰	14.7	10.6	5.3	7.0	7.2	3.5
	二子橋	8.5	8.4	3.4	3.4	4.7	1.6
	田園調布堰	7.5	8.3	3.3	2.8	4.6	1.4
仙川	中央高速下	0.0	0.6	0.1	0.2	0.9	0.3
	処理場放流口	19.0	23.9	11.4	16.4	21.9	9.1
	稲荷山橋	9.4	9.1	2.7	5.9	10.1	2.4
	鎌田橋	5.6	8.3	3.8	3.6	6.4	2.0

- ① 調査当日の田園調布堰地点の流量は、東京都水道局の測定値を使用した。田園調布堰より上流の各地点は、水質測定計画による各月流量測定値を参考にして、この田園調布堰流量値から推定した。下水処理場の放流量は、下水道事業年報の年平均値を用いた。これらの流量比から希釈率を計算した。
- ② 仙川は日流量値がないので、調査日に測定し

た電気伝導度を用い、下水処理水合流後の自然流入水は処理水に比べて十分に小さいと仮定して希釈率を推定した。

以上の下水処理水合流後の希釈率から求めた計算値および実測値の一部を図6に示す<sup>9)</sup>。

水温が20℃より高い5月、8月では、下水処理水合流後のエストロジェン作用強度の実測値は計算値に比べ急速に減少した。一方、水温が20℃よ

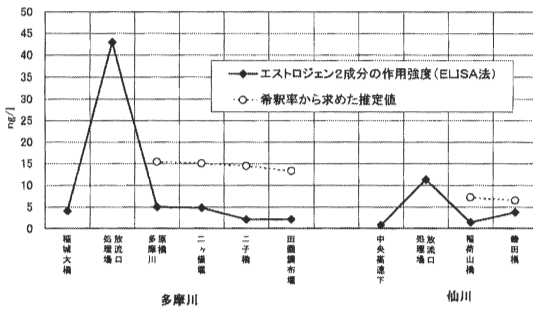


図 6.1 多摩川・仙川縦断調査結果 (5月)

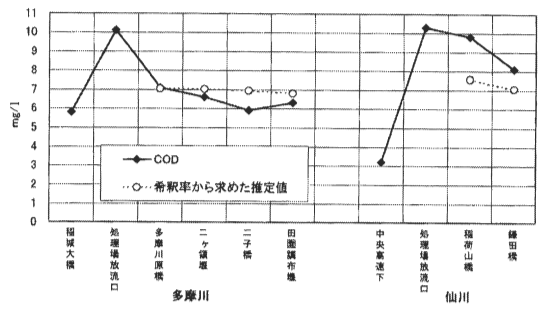


図 6.3 多摩川・仙川縦断調査結果 (5月)

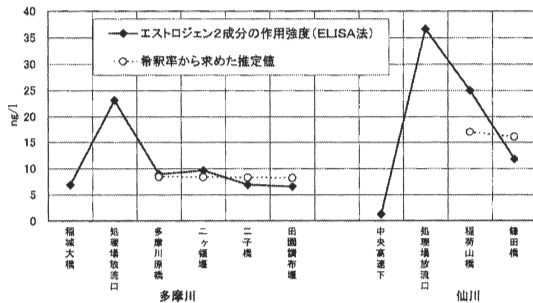


図 6.2 多摩川・仙川縦断調査結果 (11月)

り低い11月、2月は計算値との乖離が小さく、11月は計算値と実測値は同じ値を示した。仙川も多摩川と同様な傾向であった。この現象は水温の影響による微生物分解や酵素分解の違いによるものと推測された。一方、COD等の水質一般項目は各月とも計算値と実測値との乖離が小さい。

これらのことから、水温の高い時期に下水処理場から排出されたエストロゲンは河川での流下とともに、COD等比べてかなり早い速度で減少するものと考えられた。

#### 4. おわりに

都内河川のコイの調査からは、多摩川水系のコイに性比の著しい偏りは見られなかった。雄コイに高濃度のピテロジェンを産生させているのは下水処理水由来の天然エストロゲンと推定され、エストロゲン作用を持つ人工化学物質の影響はほとんどないと考えられた。都内河川に生息するコイの雄の約1割に精巣異常が認められたが、この異常を引き起こしている原因については

今のところ不明である。精巣異常に対する天然エストロゲンやエストロゲン様物質の影響の有無を明らかにするための第一歩として、全国河川のコイの精巣異常や水質を比較検討する必要がある。各地の研究機関でコイの調査研究が推進されることを期待したい。

魚類の生殖腺異常実態や下水処理水流入後における河川水のエストロゲンの挙動等については引き続き研究を進めており、それらの結果については今後まとめていく予定である。

謝辞 本研究におけるLC-MS/MS法の分析は武田薬品工業(株)生活カンパニーの多大な協力を得たことをここに記し、厚く謝意を表する。

#### 一引用文献一

- 1) 中村将, 井口泰泉; 多摩川にみる魚類の異常, 科学, 68, pp. 515~517, 1998
- 2) 和波一夫ら; 多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その4), 東京都環境科学研究所年報, 53~63, 2001
- 3) 国土交通省河川局, 都市・地域整備局; 平成12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結果, 2001
- 4) 嶋津暉之ら; 多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その3), 東京都環境科学研究所年報, 165~175, 2000
- 5) 建設省河川局, 都市局下水道部; 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結果, 1999
- 6) Jobling, S. et al.; Widespread sexual disruption in wild fish, *Enviro. Sci. Technol.*, 32, 2498~2506, 1998
- 7) 宮下雄博ら; 多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その5), 東京都環境科学研究所年報, 64~71, 2001
- 8) 三浦猛, 三浦智恵美; 精子形成機構, 月刊海洋, 32(2), 102~106, 2000
- 9) 和波一夫ら; 多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究(その6), 東京都環境科学研究所年報, 72~81, 2001