

成熟期マミチヨグの長期飼育試験による4-*tert*-オクチルフェノールの 生物濃縮と体内分布

堀 英夫*¹, 角埜 彰*², 森田孝敏*¹, 池田久美子*², 山田 久*²

Bioconcentration and distribution of 4-*tert*-octylphenol in mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) exposed during the maturation period

Hideo HORI*¹, Akira KAKUNO*², Takatoshi MORITA*¹, Kumiko IKEDA*²
and Hisashi YAMADA*²

Abstract Male and female mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) were reared for 56 days in order to understand possible sexual differences in intake, elimination and tissue distribution of 4-*tert*-octylphenol (OP). The bioconcentration factors (BCF) for the entire body of the females and the males were 34 ± 11 and 23 ± 5.1 , respectively. The difference was negligible. These BCFs were one order smaller than those reported previously for carp and Japanese medaka. The OP concentration was the highest in the digestive tract and the lowest in the blood of both the males and females. The BCF in the studied tissue and organs of the male fish was similar to that of the female fish. These results suggest that the bioconcentration of OP is independent of sex. OP was excluded rapidly from the fishes' tissues and organs in the elimination experiment, with the exception of the ovaries. The concentration of $0.08 \mu\text{g/g}$ wet weight in the ovaries was observed on the 14th day of the elimination experiment. OP in the ovaries is retained for a long period compared to other fish tissues and organs. These results suggest that OP can inhibit developmental processes in the early life stage of the next generation of fish.

Key Words: mummichog, maturation, bioconcentration, tissue distribution, 4-*tert*-octylphenol

アルキルフェノールは、脂溶性フェノール樹脂や非イオン界面活性剤（アルキルフェノールポリエトキシレート, APE）の構成物質あるいは有機合成中間体として化学工業において広く使用されている（経済産業省, 2002）。平成10年度の4-*tert*-オクチルフェノール（OP）の製造量は、7,863トンと報告されており、多量に製造・使用されている化学物質である（経済産業省, 2002）。

OPは、下水処理過程においてAPEの分解により生成されることが明らかにされた（Ahel *et al.*, 1994a,

1994b）。一方、東京周辺および名古屋市の河川水中からもAPEの分解中間物質とともにアルキルフェノールが検出されている（磯部ら, 1999）。平成10年度に環境省が実施した調査結果（環境省, 2000）を用いて、OPの水質、底質および魚類からの検出率と検出濃度を整理すると（山田, 藤井, 2001）、水質からは、405試料のうち228試料から検出され、その濃度が $<0.01 \sim 13 \mu\text{g/L}$ であった。また、底質での検出率および濃度は、それぞれ7%および $<0.005 \sim 0.038 \mu\text{g/g}$ 、同じく魚類

2004年2月18日受理 (Received on February 18, 2004)

水産総合研究センター業績 A 第50号 (Contribution No. A 50 from the Fisheries Research Agency)

*¹ 日本冷凍食品検査協会 〒105-0012 東京都港区芝大門2-4-6 (Japan Frozen Foods Inspection Corporation, 2-4-6, Shibadaimon, Minatoku, Tokyo, 105-0021, Japan)

*² 瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2-17-5, Maruishi, Ohno, Saeki, 739-0452, Japan)

でそれぞれ11%および $<0.025\sim 0.18\ \mu\text{g/g}$ であった。環境省の調査からも明らかなようにOPはしばしば環境水から検出される物質であり、小島、渡辺(1998)の研究によると、名古屋市内河川から $<0.1\sim 0.41\ \mu\text{g/L}$ の濃度で検出されている。OPの海水中濃度は $<0.01\sim 0.06\ \mu\text{g/L}$ であり、調査した範囲での最大濃度、 $0.06\ \mu\text{g/L}$ は東京湾および大阪湾で観測された(環境省, 2000)。調査データは乏しいが、海水中濃度は都市河川水中濃度よりは低く、OPが陸上から流入することが示唆された。

酵母を用いたツーハイブリッド試験法による研究により、本物質がエストロゲン様作用を有することが報告され(Routledge and Sumpter, 1996)、ゼノエストロゲンの一つとして魚類の雌化など魚類生殖機能に対する影響実態および作用機構に関して多くの研究が進められてきた。これらの研究により、本物質が卵黄タンパク質の前駆物質であるビテロジェニンを誘導するとともに、雄ニジマスの精巣の発達阻害を引き起こすことが明らかにされた(Jobling *et al.*, 1996)。さらに、ふ化直後のヒメダカ仔魚に対する本物質の暴露が精巣卵を惹起し、性分化期における暴露が精巣卵を特に顕著に引き起こすことが報告され(Gray *et al.*, 1999a)、OPのゼノエストロゲンとして作用が*in vivo*でも確認された。OPを暴露したヒメダカから産卵された卵を用いて受精率やふ化率等の次世代仔魚の発生に対する影響を調べた研究(Gray *et al.*, 1999b)では、OPが受精率およびふ化率を低下させるとともに、発生過程に各種の影響を及ぼし、循環系、眼および鰓の欠損などの奇形を引き起こすことが明らかにされた。すなわち、OPは次世代の仔魚の発生に対しても影響を及ぼすことが指摘された。

次世代の仔魚の発生に対する影響を明らかにするためには、魚卵を中心として生殖腺におけるOPの生物濃縮を明らかにすることは重要な課題である。しかし、本物質の $\log K_{ow}$ が1.4(経済産業省, 2002)と小さいことから生物濃縮係数(BCF)も小さいと考えられるために、魚類におけるOPの生物濃縮はほとんど検討されていない。わずかに、BCFはコイ(通商産業省, 1992)およびヒメダカ(Tsuda *et al.*, 2001)を用いて研究され、BCFはコイで135~469、また、ヒメダカで 261 ± 62 (平均±標準偏差)と報告されている。本物質が海域からも検出されるにも拘わらず、海産魚による生物濃縮の実態はほとんど研究されていない。

そこで、本研究では北アメリカ大陸東岸汽水域に生息する広塩性小型魚であるマミチヨグ(*Fundulus heteroclitus*)を試験魚として用いて長期の飼育実験を行い、海産魚についてのOPのBCFおよび蓄積部位を明

らかにするとともに、各部位における蓄積、排泄の動態を把握してOPの魚類生殖機能への影響解明のための基礎的情報を得ることを目的とした。

なお、本研究で試験魚として用いたマミチヨグは、アメリカ公衆衛生協会が定めたStandard Methods(1998)において魚類繁殖阻害試験の推奨魚として採用されており、化学物質の魚類に対する有害性解明の研究(Dube and MacLatchy, 2001など)に用いられている。我が国においてマミチヨグの屋外飼育環境下における成熟産卵周期はShimizu(1997)により研究され、GSIの季節変化および繁殖時期が解明されている。したがって、欧米各国において実施された研究の結果と比較検討することができ、さらに、成熟開始時期からの暴露試験計画の立案が容易なために試験魚としてマミチヨグを選定した。

材料と方法

4-tert-オクチルフェノール(OP)

Aldrich社製の試薬(純度97%)を購入し、暴露試験に用いた。暴露試験開始までは冷暗所に保存した。一方、和光純薬工業(株)製の標準品(純度97.6%)を化学分析用標準物質として使用した。

試験魚

平成12年春に産卵・ふ化した後、瀬戸内海区水産研究所の屋内水槽で自然条件下で飼育した2年魚を試験に用いた。試験は平成14年3月19日~5月14日のマミチヨグの成熟・産卵期に56日間(42日間の暴露濃縮試験とそれに続く14日間の排泄試験)実施した。試験開始時の雌マミチヨグの体長および体重は、それぞれ、 $8.1\pm 0.4\text{cm}$ および $17.1\pm 1.7\text{g}$ であり、また、雄マミチヨグの体長は $7.5\pm 0.2\text{cm}$ 、体重は $14.7\pm 0.3\text{g}$ であった。

成熟・産卵期におけるOP曝露試験

雌対照区、雄対照区、雌暴露区および雄暴露区の4試験区を設定し、瀬戸内海区水産研究所に設置している流水式曝露試験装置を用いてOPの曝露試験を行った。

試験水槽として角型ガラス水槽(容積約50L)を用い、雌雄の対照区には、雌あるいは雄マミチヨグをそれぞれ33尾、同様に、暴露区には雌あるいは雄マミチヨグをそれぞれ51尾収容した。砂および活性炭でろ過した自然海水を $22\sim 23\text{L/h}$ の流量で試験水槽に注水し、水槽内飼育水を1日に約11回換水させた。

OPのアセトン溶液の一定量を攪拌・混合させながら水道水に溶解させた中間薬液を微量定量ポンプを用いて定量的に飼育試験水に添加し、飼育水中のOP濃度を一定に維持した。平成14年3月19日~4月30日に42日間の曝露試験を行い、OPの生物濃縮を調べた。曝露試

試験終了後OPの添加を中止し、清浄な飼育水中で5月14日まで14日間マミチヨグを飼育し、OPの排泄を調べた。

暴露および排泄試験の間、試験魚を自然水温（試験期間中に12.2℃から17.6℃に上昇した）および14時間明、10時間暗の明暗周期の条件下で飼育した。また、体重の2%の配合飼料（協和発酵(株)製初期飼料C-2000）を1日2回（朝と夕方）に分けて投与するとともに、毎朝残餌および糞を取り除いた。

対照区の飼育水は試験の10日目および35日目に採水し、試験用水中のOPを測定した。暴露区の飼育水中OP濃度は暴露試験の3日目、10日目、28日目および35日目に測定した。

対照区のマミチヨグは経時的に3尾ずつ取り上げ、採血した後解剖して肝臓、生殖腺、消化管およびその他の部位（以後「その他」と言う）に分け、3尾のマミチヨグのそれぞれの部位を1試料としてひとまとめにし、分析用試料とした。対照区の魚体中OP濃度は実験終了時の試料について測定した。

暴露区のマミチヨグは経時的に3尾取り上げた。対照区と同様に血液、肝臓、生殖腺、消化管および「その他」に分けて、3尾のマミチヨグのそれぞれの部位を1試料としてまとめて分析に供した。暴露試験の終了時の42日目には、マミチヨグを3尾取り上げ、個体別に各部位別OP濃度を測定した。なお、暴露区の魚体中OP濃度は、7日目、28日目、42日目、49日目（排泄7日目）および56日目（排泄14日目）に測定した。

GSIの測定

魚体を解剖して分析用試料を調製する際に体重および生殖腺重量を測定し、次式により生殖腺指数（GSI）を計算した。

$$\text{GSI} (\%) = (\text{生殖腺重量} / \text{魚体重}) \times 100 \quad (1)$$

OPの分析方法

飼育水

OP濃度は蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用いて測定した。HPLCの測定条件は、環境省（環境省、2001）に準拠し、予備試験の結果からTable 1のように定めた。飼育水中OP濃度は、設定濃度から機器の検出限界以上であると推察されるので、抽出、濃縮、精製をせず、海水試料を直接HPLCに注

Table 1. Analytical condition of HPLC

Apparatus	Waters 2690 alliance
Column	Inertsil ODS-3 ($\phi 4.6 \times 150$ mm)
Mobil phase	Acetonitril/water (8:2)
Flow rate	1.0mL/min
Sample volume	20 μ L
Detector	Waters 474
Wavelength	excitation, 235nm, emission, 295nm

入して測定した。

マミチヨグ

組織中OPはアセトニトリルを用いて抽出し、抽出物をアセトニトリル飽和n-ヘキサンで脱脂し、ロータリーエバポレーターで濃縮した。アセトニトリルで定容した後、HPLCを用いてOP濃度を測定し、湿重当たりの濃度に換算して示した。HPLCの測定条件は飼育水中OPの分析と同様であった。

なお、対照区の「その他」を用いて添加回収試験を行った結果、回収率は93.3 \pm 3.1%（平均 \pm 標準偏差、n=4）であり、それらの変動係数は3.3%であった。

結果および考察

飼育水中のOP濃度

飼育水中のOP濃度はTable 2に示すように、暴露試験期間において雌暴露区では60~120 μ g/L、また、雄暴露区では67~180 μ g/Lであった。平均 \pm 標準偏差は、雌暴露区および雄暴露区それぞれ87 \pm 25 μ g/Lおよび130 \pm 47 μ g/Lであり、雌暴露区および雄暴露区の変動係数は、それぞれ、28.7%および36.1%であった。飼育水中のOP濃度が大きく変動した原因は明確でないが、本物質が疎水性を示すとともに、吸着しやすい性質を有することも濃度変動の一因と考えられる。雌雄マミチヨグの対照区の飼育水にはOPは検出されず、定量下限（5 μ g/L）未満であった。

Table 2. OP concentration in the rearing seawater

Exposure period(day)	OP concentration(μ g/L)			
	Control		Exposure experiment	
	Female	Male	Female	Male
3			60	67
10	<5	<5	88	140
28			79	120
35	<5	<5	120	180
Mean \pm SD			87 \pm 25	130 \pm 47

試験魚の成熟状況

対照区および暴露区の試験魚の成熟の程度をGSIを用いて調べ、試験期間におけるGSIの変化をFig. 1に示した。暴露雄魚のGSIは試験開始時の6.8%から次第に大きくなり、試験の21日目に8.1 \pm 3.2%、さらに35日目に8.8 \pm 0.9%と最大値を示し、その後時間の経過とともに次第に小さくなった。Shimizu (1992)によると、三浦半島西側沿岸の荒崎において自然環境下の屋外水槽で飼育した雄マミチヨグ当歳魚のGSIは2月から次第に大きくなり、精巣成熟のピークは4~5月

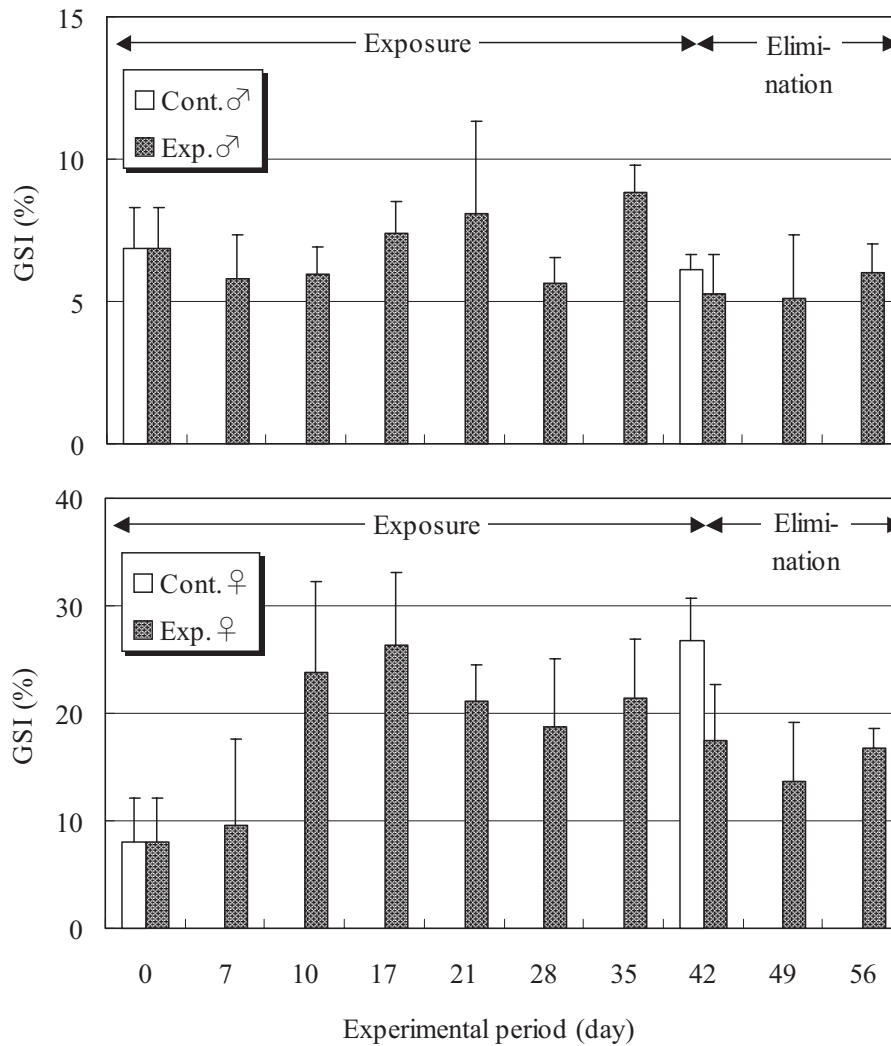


Fig. 1. Changes of gonad somatic index (GSI) during the experimental period

でこの時のGSIは5～6.5%に達することが報告されている。したがって、本研究に使用した雄マミチヨグは暴露試験開始時にはすでに成熟していたと考えられる。

暴露試験終了時（42日目）の雄マミチヨグのGSI（ $5.3 \pm 1.4\%$ ）は、対照区のそれ（ $6.1 \pm 0.5\%$ ）と大差がないために、精巣の発達にはOPの暴露の影響を受けないことが明らかであった。

雌のGSIは、実験開始時（4月30日）の8.1%から、10日目（3月29日）の23.8%、17日目には26.3%と次第に大きくなり、17日目に最大値を示した。その後、21.4%から13.6%との間を変動した。Shimizu (1997)の研究によると、当歳のマミチヨグの卵巣は3月から急激な発達を開始し、4月から6月に成熟がピークに達し、この時のGSIは16～22%であることが報告されている。これらの結果から、本研究に用いた雌マミチヨグは暴露試験の10日目には充分成熟していたと考えら

れる。暴露試験42日目の対照区の雌マミチヨグのGSI、 $26.7 \pm 4.1\%$ は、暴露区のGSI、 $17.5 \pm 5.2\%$ に比べて大きい傾向であった。しかし、35日目の暴露区の雌マミチヨグのGSIは $21.4 \pm 5.5\%$ であり、42日目の対照区の雌マミチヨグのGSIと大差がないために、本研究の濃度のOP暴露は雌の成熟を抑制しないことが示唆される。

OPのマミチヨグによる生物濃縮

対照区マミチヨグ各部位のOP濃度は、いずれの組織および器官についても定量下限（ $0.05 \mu\text{g/g}$ ）未満であった。

暴露区マミチヨグ各部位のOP濃度および全魚体に対する各部位の割合から計算した全魚体中OP濃度をTable 3に合わせて示した。OPに暴露した雌では、7日目、28日目および42日目における全魚体中OP濃度は、それぞれ、3.8、3.3および $1.9 \pm 0.23 \mu\text{g/g}$ であった。一方、雄の全魚体中濃度は、7日目で $2.9 \mu\text{g/g}$ 、28日目

で $2.4 \mu\text{g/g}$ 、また、42日目で $3.7 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$ であった。全魚体および各部位におけるOP濃度は、雌マミチヨグでは7日目と28日目では大差なく、同レベルであったが、42日目にはその濃度は低下した。しかし、雄マミチヨグでは42日目に最も高いOP濃度を示した。

魚体内の化学物質の動態は、化学物質の物性、特に水・オクタノール分配係数(Kow)に依存し、Kowの小さい水溶解度の高い物質は排泄速度定数(k_2)が大きく、魚体から排泄されやすいことが経験的に知られている(Spacie and Hamelink, 1982)。logKowが1.4(経済産業省, 2002)のOPは、 k_2 が大きいため、魚体中濃度は短時間で飼育水中濃度と平衡状態に達することが(2)式(Hawker and Connell, 1985)により明らかである。

$t_{eq} = 4.605 \times 1/k_2$ あるいは $\log t_{eq} = 0.663 - \log k_2$ (2) Tsuda *et al.* (2001)の研究によると、ヒメダカで測定したOPの k_2 は 0.09h^{-1} と報告されており、魚体中濃度が飼育水中濃度と平衡に達し、一定になるまでに要する時間(t_{eq})は、約2.1日間と推定される。すなわち、魚体中OP濃度は数日で飼育水中OP濃度と平衡状態に達するために、魚体中濃度は、飼育水中濃度の短期変動の影響を受けて変動することが考えられる。本研究の飼育水中OP濃度は雌雄の両実験区において35日目に最も高い濃度が測定されたが、35日から42日間の飼育水中濃度は不明であり、この期間における濃度変化が42日目の魚体中OP濃度にも影響していることが推察される。

上述したようにOPの魚体中濃度は短時間の暴露試験の間に平衡状態に達すると考えられるので、暴露試験開始後7日目、28日目及び42日目の魚体中濃度はいずれも飼育水濃度に対して平衡状態に達した濃度と考えられる。したがって、飼育水中のOP濃度の短期変動に伴った魚体中濃度の変動を補正するために、7日目、28日目および42日目の魚体中濃度の平均値(以下、暴露期間平均魚体中OP濃度)を求めた。

7日目および28日目の魚体中濃度は3個体を合わせて調製した試料について測定したために、得られた濃度は3個体の平均値と考えられる。一方、42日目の魚体中濃度は個体毎に測定したために、暴露期間平均魚体中OP濃度は、まず42日目の魚体中平均濃度(42日平均濃度)を求め、さらに7日目および28日目の濃度並びに42日平均濃度の平均値を求める方法で計算した。

このようにして計算した暴露期間平均魚体中OP濃度と暴露試験期間中の飼育水中平均OP濃度(Table 2)の比から暴露試験期間中の平均的なBCF(以下平均BCF)を計算した。マミチヨグ全魚体に対するOPのBCFは、暴露試験期間中に雌マミチヨグで22~44、ま

た、雄マミチヨグで18~28の間を変動したが、雌雄のマミチヨグの全魚体に対する平均BCFは、Table 3に示したようにそれぞれ、 34 ± 11 および 23 ± 5.1 であった。平均BCFは雌雄のマミチヨグで著しい差異が認められないために、OPのマミチヨグ全魚体に対する生物濃縮は、マミチヨグの性により著しく異なることが明らかであった。

マミチヨグのBCFは、コイの135(飼育水中OP濃度が $10 \mu\text{g/L}$)および469(飼育水中OP濃度が $100 \mu\text{g/L}$)(経済産業省, 2002)ならびにヒメダカの261(飼育水中濃度は $4.7 \mu\text{g/L}$)(Tsuda *et al.*, 2001)に比べて約1オーダー小さかった。コイやヒメダカに比較してマミチヨグはOPを高濃度に蓄積しないことが示唆されるが、魚種による差異を解明するためには飼育水中のOP濃度や試験水温などの試験条件を同一にした状態での詳細な試験の実施が必要であると考えられる。

マミチヨグ各部位へのOPの蓄積

雌マミチヨグの各部位における暴露試験の全期間を通じた平均OP濃度はTable 3に示したように、消化管で $17 \pm 7.6 \mu\text{g/g}$ 、肝臓で $3.0 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$ 、卵巣で $2.3 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$ 、「その他」で $1.9 \pm 0.36 \mu\text{g/g}$ 、また、血液で $0.71 \pm 0.25 \mu\text{g/g}$ であった。一方、雄マミチヨグでは、平均OP濃度は、消化管で $11 \pm 2.4 \mu\text{g/g}$ 、肝臓で $6.5 \pm 1.4 \mu\text{g/g}$ 、「その他」で $2.5 \pm 0.73 \mu\text{g/g}$ 、精巣で $2.1 \pm 0.66 \mu\text{g/g}$ 、また、血液で $0.97 \pm 0.24 \mu\text{g/g}$ であった。OP濃度は雌雄ともに消化管で特に高く、血液で最も低かった。消化管と血液以外の各部位におけるOP濃度は大差なかった。42日目の数値を用いて各位別OP濃度の有意差を検定すると、消化管の濃度が他の部位に比較して有意(Tukey, $p < 0.01$)に高く、また、血液中濃度が他の部位に比較して低い傾向であることが明らかであった。

暴露試験期間を通じた平均OP濃度と飼育水中OP濃度の平均値から求めた平均BCFをTable 3に示すが、平均BCFは雌雄のマミチヨグともに消化管で大きく、OPが消化管に高濃度に蓄積されることが明らかであった。OPは解離性基や加水分解を受けやすい化学結合を分子内に有しないために生体内では分子として存在するために、生物体内ではタンパク質等へ結合するよりは生物体内の脂質画分へ蓄積されると考えられる(経済産業省, 2002)。本研究では、消化管周辺の腹腔内脂肪も消化管として分析したために、OPを高濃度に蓄積した腹腔内脂肪が消化管のOP濃度を高めた原因の一つと考えられる。

一方、海産魚は浸透圧調節のために飲水することが知られている。OPを含有する海水の飲水および消化管からのOPの吸収が、消化管のOP濃度を高める原因と

Table 3. Changes of OP concentration in several tissues and organs and average BCF

	Tissue and organ	OP concentration($\mu\text{g/g}$ wet wt)			Average concentration during exposure	Average BCF during exposure	OP concentration($\mu\text{g/g}$ wet wt)	
		Exposure period (day)					Exposure period (day)	
		7	28	42			7	14
♀	Blood	0.77	0.93	$0.44 \pm 0.14^{*2}$	0.71 ± 0.25	8.2 ± 2.9	<0.05	<0.05
	Liver	4.6	3.2	1.1 ± 0.62	3.0 ± 1.8	34 ± 21	0.11	<0.05
	Gonad	2.7	2.4	1.9 ± 0.32	2.3 ± 0.4	26 ± 4.6	0.30	0.08
	Digestive tract	22	21	8.4 ± 1.1	17 ± 7.6	200 ± 87	0.68	<0.05
	Residue	2.0	2.2	1.5 ± 0.46	1.9 ± 0.36	22 ± 4.1	0.14	<0.05
	Whole body ^{*1}	3.8	3.3	1.9 ± 0.23	3.0 ± 0.98	34 ± 11	0.21	<0.05
♂	Blood	0.99	0.72	1.2 ± 0.22	0.97 ± 0.24	7.5 ± 1.8	<0.05	<0.05
	Liver	8.1	5.8	5.5 ± 1.7	6.5 ± 1.4	50 ± 11	0.19	<0.05
	Gonad	2.0	1.5	2.8 ± 1.1	2.1 ± 0.66	16 ± 5.1	<0.05	<0.05
	Digestive tract	9.6	10	14 ± 0.58	11 ± 2.4	85 ± 18	0.20	<0.05
	Residue	2.2	1.9	3.3 ± 0.31	2.5 ± 0.73	19 ± 5.6	<0.05	<0.05
	Whole body ^{*1}	2.9	2.4	3.7 ± 0.48	3.0 ± 0.66	23 ± 5.1	<0.05	<0.05

*1 OP concentrations were calculated by using OP concentration in each tissue and percentage of each tissue to whole body

*2 Mean \pm SD, n=3

も考えられる。酸化トリブチルスズ (Yamada and Takayanagi, 1992) および塩化トリブチルスズ (堀ら, 2004) のマダイやマミチヨグの組織・器官における蓄積濃度を検討した研究では、魚体内で各種のイオンあるいはタンパク質等に結合して存在し (Davies and Smith, 1980)、脂質に対する親和性が低い (山田, 1999) と考えられているトリブチルスズ化合物が消化管に特に高濃度に蓄積されなかったことが明らかにされている。すなわち、トリブチルスズ化合物を含有する飼育水を飲水しても消化管中トリブチルスズ濃度が消化管以外の部位における濃度よりも低いために、消化管中濃度に対する飲水の影響は小さいと推察される。したがって、生体内では分子として存在すると考えられるOPの消化管への高濃度蓄積に対して、マミチヨグによる飼育水の飲水よりは消化管周辺腹腔内脂肪への蓄積が寄与していると考えられる。今後、腹腔内脂肪組織中のOP濃度の測定などさらに詳細な解析が必要である。

Table 3 に示した各部位における平均BCFを雌雄のマミチヨグと比較すると、雌マミチヨグでは消化管で、また、雄マミチヨグでは肝臓で大きい傾向である。しかし、それらの標準偏差を考慮すると、肝臓および消化管における平均BCFは雌雄のマミチヨグで有意に異なるとは考えられない。さらに、消化管および肝臓以外の部位および全魚体における平均BCFは雌雄のマミチヨグで明確な差異は認められなかった。以上の結果から、OPの生物濃縮はマミチヨグの性により著しく異

なることはないと考えられた。

マミチヨグからのOPの排泄

排泄試験期間中の魚体中OP濃度の経時変化をTable 3 に示した。排泄試験14日目には、卵巣を除けば雌雄のマミチヨグからOPは検出されなかった。排泄試験7日目には、雄の血液、精巣および「その他」並びに雌の血液中OP濃度は定量限界 ($0.05 \mu\text{g/g}$) 未満であり、雄の方が排泄速度が大きい傾向であった。

排泄試験7日目の雌の消化管、卵巣、「その他」および肝臓中OP濃度は、それぞれ、 $0.68 \mu\text{g/g}$ 、 $0.30 \mu\text{g/g}$ 、 $0.14 \mu\text{g/g}$ および $0.11 \mu\text{g/g}$ であり、暴露試験期間中平均OP濃度の4%が消化管に、13%が卵巣に、7.4%が「その他」に、また、3.7%が肝臓に残留していた。卵巣には排泄試験14日目においても $0.08 \mu\text{g/g}$ のOPが検出され、暴露試験期間中平均OP濃度の3.5%が残留していた。雄では、排泄試験7日目の消化管と肝臓中OP濃度が $0.20 \mu\text{g/g}$ および $0.19 \mu\text{g/g}$ であり、暴露試験期間中平均OP濃度のそれぞれ1.8%および2.9%が残留していた。

以上の結果から、自然環境において実際に観察される濃度よりも10倍以上高い濃度での暴露試験ではあるが、消化管および卵巣に蓄積されたOPは排泄され難く、特に、卵巣に蓄積されたOPは精巣に比較して長期間魚体内に残留することが明らかであり、次世代仔魚の初期発生への影響が危惧される。今後、卵中のOP濃度と次世代仔魚の発生異常との関係などをさらに追求し、OPの世代を越えた影響をさらに検討する必要がある。

謝 辞

本研究は、水産庁事業「海産生物再生産影響評価技術開発事業」(平成12~14年度)によって行ったものであり、本研究の推進のためにご指導およびご助言を賜った検討委員会委員の先生方並びに瀬戸内海区水産研究所所有馬郷司化学環境部長に深謝する。また、英文要旨の校閲を賜った高柳和史博士に深く感謝する。

文 献

- Ahel M., Giger W., and Koch M., 1994a: Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res.*, **28**, 1131-1142.
- Ahel M., Giger W., and Schaffner C., 1994b: Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- II. Occurrence and transformation in rivers. *Water Res.*, **28**, 1143-1152.
- American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Federation, 1998: Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edition, **8**, 126-8.131.
- Davies A. G. and Smith P. J., 1980: Recent advances in organotin chemistry. *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, **23**, 1-77.
- Dube M. G. and MacLachy D. L., 2001: Identification and treatment of a waste stream at a bleached-kraft pulp mill that depresses a sex steroid in the mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 985-995.
- Gray M. A., Niimi A. J., and Metcalfe C. D., 1999a: Factors affecting the development of testis-ova in medaka, *Oryzias latipes*, exposed to octylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 1835-1842.
- Gray M. A., Teather K. L., and Metcalfe C. D., 1999b: Reproductive success and behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-tert-octylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 2587-2594.
- Hawker D. W. and Connell D. W., 1985: Relationships between partition coefficient, uptake rate constant, clearance rate constant and time to equilibrium for bioaccumulation. *Chemosphere*, **14**, 1205-1219.
- 磯部友彦, 佐藤正章, 小倉紀雄, 高田秀重, 1999: GC-MSを用いたノニルフェノールの分析と東京周辺の水環境中における分布. *水環境学会誌*, **22**, 118-126.
- Jobling S., Sheahan D., Osborne J. A., Matthiessen P., and Sumpter J. P., 1996: Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 194-202.
- 環境省, 2000: 平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査(大気・水質・底質・土壌・水生生物・野生生物). 官公庁公害専門資料, **35**, 110-155.
- 環境省, 2001: 非イオン界面活性剤, 「底質調査方法」環境省環境管理局水環境部監修, pp.257-259.
- 経済産業省, 2002: 4-オクチルフェノール. 化学物質ハザード・データ集, 追録第6号, 第一法規出版, pp.4431-4440.
- 小島節子, 渡辺正敏, 1998: 名古屋市内の水環境中のアルキルフェノールポリエトキシレート(APE)および分解生成物の分布. *水環境学会誌*, **21**, 302-309.
- 堀 英夫, 角埜 彰, 池田久美子, 山田 久, 2004: 塩化トリブチルスズ(TBTCI)の組織器官への生物濃縮の成熟に伴った変化. *水研センター研報*, **11**, 1-10.
- Routledge E. J. and Sumpter J. P., 1996: Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 241-248.
- Shimizu A., 1997: Reproductive cycles in a reared strain of the mummichog, a daily spawner. *J. Fish Biol.*, **51**, 724-737.
- Spacie A. and Hamelink J. L., 1982: Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, **1**, 309-320.
- Tsuda T., Takino A., Muraki K., Harada H., and Kojima M., 2001: Evaluation of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol contamination of fish in rivers by laboratory accumulation experiments. *Water Res.*, **35**, 1786-1792.
- 通商産業省, 1992: 化審法の既存化学物質安全性点検データ集, 日本化学物質安全・情報センター, pp.3-48.
- Yamada H. and Takayanagi H., 1992: Bio-

concentration and elimination of bis (tributyltin) oxide (TBTO) and triphenyltin chloride (TPTC) in several marine fish species. *Water Res.*, **26**, 1589-1595.

山田 久, 1999: 有機スズ化合物の海域環境における挙

動と魚類による生物濃縮に関する研究. 瀬戸内水研報, **1**, 97-162.

山田 久, 藤井一則, 2001: 内分泌かく乱物質による水域汚染と魚類に対する影響実態. *JAMARC*, **56**, 24-38.