

平成 22 年 4 月 10 日現在

研究種目：基盤研究 B

研究期間：平成 18 年度～平成 20 年度

課題番号：18405003

研究課題名（和文） 東アジアにおける魚類の環境ホルモン国際共同研究と  
研究者ネットワークの構築研究課題名（英文） International Research for Endocrine Disruption in Fish  
and Construction of Researcher Network in East Asia

研究代表者

征矢野 清 (SOYANO KIYOSHI)

長崎大学・環東シナ海海洋環境資源研究センター・教授

研究者番号：80260735

研究成果の概要（和文）：本研究では、日中韓各国においてボラ、マハゼ、トビハゼを調査対象生物とした環境ホルモン汚染の実態調査を実施した。血中ビテロジェニン濃度、生殖腺の組織学的観察、および環境中の化学物質分析を行った結果、日本、韓国および中国の東シナ海沿岸域の大都市部周辺海域や工業・港湾地域において環境ホルモンによる汚染が確認され、魚類の繁殖現象に異常が起きていることが解った。また、本研究の目的のひとつである環境ホルモンおよび魚類繁殖に関する研究者ネットワークの構築も着実に進み、日中韓の大学、特に韓国済州大学と中国上海水産大学との間で、大学院生を主体としたセミナーや共同研究が継続的に行われる事となった。

研究成果の概要（英文）：We carried out the monitoring of environmental estrogens in marine and estuarine areas using wild grey mullet (*Mugil cephalus*), Japanese common goby (*Acanthogobius flavimanus*), and mudskipper (*Periophthalmus modestus*). In this research, we tried to determine the plasma concentrations of vitellogenin (VTG) which is the major yolk protein produced by the liver under the influence of estrogen. Moreover, we observed gonadal abnormalities using histological technique. VTG of fishes collected from coastal and bay areas in Japan, Korea, and China indicated high levels and abnormal gonads were observed in the industrial areas in all countries. These results suggest that the coastal areas of East Asian countries were contaminated by estrogenic substances.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
18 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
19 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
20 年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	12,600,000	3,780,000	16,380,000

研究分野：生殖生理学

科研費の分科・細目：放射線・化学物質影響科学

キーワード：環境ホルモン・魚類・東アジア・生殖異常・国際共同調査

1. 研究開始当初の背景

| 沿岸域における環境ホルモン汚染は絶える

ことなくおきおり、いまだに野生生物の生殖現象に影響を及ぼしている。研究開始当時、その汚染実態は十分に把握されておらず、環境ホルモンによる汚染は、生態系保持、資源の持続的利用の面から問題視されていた。これらの物質は微量でありながら、野生生物の繁殖現象を狂わせる化学物質として注目されており、特に水域に生息する魚類はその影響を強く受けることが知られていた。そこで我々は、2003年(平成15年)度~2005年(平成17年)度にかけて採択された科学研究費基盤B「ボラを調査対象生物とした東シナ海沿岸域における環境ホルモン汚染の実態調査」において、ボラが環境ホルモンの調査対象生物として適していること明らかにし、日本各地の沿岸域で環境ホルモン汚染の実態調査を実施した。しかし、この問題はわが国一国の問題でなく、同じ海域を利用する近隣国と共同で解決しなくては成らない問題であることを強く意識するに至り、日中韓の研究者と協力し、東アジアにおける環境ホルモン汚染の実態を調査することを計画した。

## 2. 研究の目的

本研究は、韓国・中国の研究者とともに東アジア各国の沿岸域において環境ホルモン汚染の実態調査を行い、これら地域における環境ホルモン汚染の有無を明らかにすることを目的とした。また、雌性ホルモン作用を持つ化学物質による汚染の状況と、これらの物質が魚類の生殖腺発達に及ぼす影響解明を試みた。さらに、これらの地域の研究者とともに国際会議を開催し、研究成果の公表のみではなく、共同研究の推進および研究者交流を目的とした研究者ネットワークを構築を進めるとともに、次世代を担う若手研究者の養成を目指すこととした。

## 3. 研究の方法

(1) 調査生物、場所等：ボラ、マハゼ、トビハゼを調査対象生物として、日本、韓国、中国の沿岸域を中心とした環境ホルモン汚染の実態調査を行った。調査地は、日本においては、博多港、長崎港、大牟田川河口域、大村湾など、韓国においては済州島、釜山、麗水など、中国では上海近郊とした。これらの地域において魚類を採取するとともに、一部地域では海水及び底泥の採取を行った。韓国における調査は、済州大学の Lee Young-Don 教授、上海海洋大学の Zhong Junsheng 教授に協力を依頼し共同で実施した。

(2) 調査内容：雌性ホルモン様の作用を持つ環境ホルモンの影響を明らかにするため、雌性ホルモンによって誘導される卵黄前駆体タンパク質、ビテロジェニンの測定を行った。魚類より採取した血液を血清に分離した

後、酵素免疫測定法と一元放射免疫測定法を用いて血中ビテロジェニン濃度を測定した。また、生殖腺異常の有無を明らかにするため、生殖腺をブアン氏液で固定後、定法に従ってパラフィンに包埋し、組織観察を行った。さらに、底泥中の化学物質(フタル酸エステル、ノニルフェノール、有機スズ類)の測定を行った。これらの結果を総合して汚染実態の把握を目指した。

(3) 国際ネットワークの構築：毎年国際シンポジウムを開催し、研究成果の公表、今後の研究立案を行うとともに、大学院生主体のシンポジウムを開催し、若手研究者の交流を進めた。

## 4. 研究成果

我々は、韓国、中国を中心とした同一魚種、同一手法、同一評価基準による調査および分析を行い、汚染の実態の解明を進めた結果、以下の成果を得た。

(1) 中国沿岸における環境ホルモン汚染の実態：中国上海周辺でボラ採集し、生殖腺の組織学的観察を行うとともに、血中ビテロジェニン濃度の測定を行った。その結果、この地域から捕獲したボラにおいて、高濃度のビテロジェニンが検出された。また、一部の個体からは精巢中に卵母細胞が出現する精巢卵が確認された。これにより上海沿岸において環境ホルモン汚染が起きていることが確認された。

(2) 韓国における調査では、済州島のように人間活動の影響が少ないと思われる場所では、魚類生殖現象の異常は見つからなかったものの、工業都市周辺では高濃度のビテロジェニンや精巢卵をもつ個体が見つかった。この結果は、我が国と同様に沿岸域において雌性ホルモン作用をもつ環境ホルモン汚染が起きている事を示している。

(3) 日本国内の調査地点(長崎港、博多港、大牟田川河口)では、ビテロジェニンの異常値を示す個体が年毎に減少した。しかし、精巢卵を持つ個体はしばしば確認された。この結果は、九州沿岸域において雌性ホルモン作用を持つ環境ホルモン汚染が改善されつつあることを示している。しかし、大牟田川など一部の地域では化学物質も他地域より比較的高濃度で検出され、魚類の生殖現象にも異常が見られることから、局所的な汚染はいまだに改善されていないことが分かった。

(4) 日中韓の研究者とのシンポジウムの開催、ネットワークの構築：共同で進めている環境ホルモン汚染の実態調査の研究結果の公表および若手研究者の交流を目的としたシンポジウムを2006年には韓国済州島において、2007年には長崎において、また、2008年には済州島において開催した。参加大学は、我々長崎大学の他、琉球大学、北海道大学、

韓国済州大学、釜慶大学、江陵大学、上海海洋大学などであり、教員のほか、ポスドクや大学院生が多数参加した。特に、若手研究者の交流とネットワーク構築のために準備した「大学院生主導型のセミナー」を通して、今後の環境問題を担う若手の交流が進んだ。これをきっかけとして 2008 年度には長崎大学の学生が上海海洋大学において調査研究を実施するとともに、2009 年度には上海海洋大学の学生が、日本に留学を果たした。この研究活動は今も引き継がれている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1) Aoki, J., Nagae, M., Takao, Y., Hara, A., Lee, Y. D., Yeo, I. K., Lim, B. S., Park, C. B., Soyano, K.: Survey of contamination of estrogenic chemicals in Japanese and Korean coastal waters using the wild grey mullet (*Mugil cephalus*). *Science of the Total Environment*, 408, 660-665, 2010, 査読あり

2) Soyano, K., Higuchi, T., Kobayashi, M., Takushima, M., Aoki, J., Nagae, M.: Gonadal development and spawning rhythm in mudskipper (*Periophthalmus modestus*). *International Journal of Ichthyology (CYBIUM)*, 32, 234, 2008, 査読あり

3) Aoki, J., Nagae, M., Takao, Y., Hara, A., Lee, Y.D., Yeo, I.K., Lim, B.S., Park, C.B., Soyano, K.: Survey of contamination by endocrine disrupting chemicals (EDCs) using wild grey mullet in Korea and Japan, and the cloning of estrogen receptor gene as new biomarker for effect evaluation of EDCs. *International Journal of Ichthyology (CYBIUM)*, 32, 253-254, 2008, 査読あり

4) Takao, Y., Oishi, M., Nagae, M., Kohra S., Arizono, K.: Seasonal and diurnal fluctuations in the concentrations of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in residential sewage water. *Journal of Health Science*, 54, 240-243, 2008, 査読あり

5) Amano H., Fujita T., Hiramatsu N., Shimizu M., Sawaguchi S., Matsubara T., Kagawa H., Nagae M., Sullivan C.V. and Hara A.: Egg yolk proteins in gray mullet (*Mugil cephalus*): purification and classification of multiple lipovitellins and other vitellogenin-derived yolk

proteins and molecular cloning of the parent vitellogenin genes. *Journal of Experimental Zoology*, 307A, 324-341, 2007, 査読あり

6) Mori, T., Morita, F., Inokuchi, A., Takao, Y., Kohra, S., Tominaga, N., Takamasa, T., Arizono, K.: Ecotoxicological effect of polycyclic musks on *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Health Science*, 52, 276-282, 2006, 査読あり

7) 高雄雄二・征矢野清・長江真樹: 生物学的影響調査と分析化学的調査の地方フィールドにおける共有の必要性. *Endocrine Disrupter News Letter*, 8, 5, 2006, 査読なし

[学会発表] (計 15 件)

1) Aoki, J., Hatsuyama, A., Hara, A., Soyano, K.: Effect of ethynylestradiol on development of gonad in grey mullet *Mugil cephalus*. 5th World Fisheries Congress. 20-24 Oct. 2008, Yohohama, Japan.

2) Aoki, J., Hara, A., Soyano, K.: Effect of ethynylestradiol on sex differentiation in grey mullet. 5th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China Sea. Juju, Korea, 10-11 September, 2008

3) Park, C.B., Lee, Y.D., Soyano, K.: Effects of temperature and salinity on reproductive activity of the mangrove killifish, *Kryptolebias marmoratus*. 5th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China Sea. Juju, Korea, 10-11 September, 2008

4) Sobue, M., Aoki, J., Soyano, K.: Effects of photoperiod and temperature on gonadal development of the mudskipper, *Periophthalmus modestus*. 5th International Meeting on Reproductive Biology of Aquatic Animals of the East China Sea. Juju, Korea, 10-11 September, 2008

5) 青木純哉・征矢野清: 多環芳香族炭化水素がボラのエストロジェン応答遺伝子の発現に及ぼす影響. 第 11 回環境ホルモン学会. 2008 年 12 月 13-14 日, 東京

6) 大園明寛, 桑原和子, 阿曾沼健太郎, 李政勲, 高良真也, 長江真樹, 征矢野清, 有蘭幸司, 高尾雄二: 環境試料からの銅ピリチオンの高濃度検出. 第 11 回環境ホルモン学会, 2008 年 12 月 13-14 日, 東京

7) Park, C. -B., Lee, Y. -D., Soyano, K.: Effects

of methyltestosterone on gametogenesis and steroidogenesis of mangrove killifish, *Kryptolebias marmoratus*. 第 11 回環境ホルモン学会, 2008 年 12 月 13-14 日, 東京

8) 桑原和子, 大園明寛, 奈須一晃, 李政勲, 柳英硯, 趙顯書, 高良真也, 長江真樹, 征矢野清, 有菌幸司, 高尾雄二: 漁港底質中の有機スズ化合物濃度の経年変化. 第 11 回環境ホルモン学会, 2008 年 12 月 13-14 日, 東京

9) 大園明寛, 桑原和子, 阿曾沼健太郎, 長江真樹, 李政勲, 趙顯書, 征矢野清, 有菌幸司, 高尾雄二: 千葉県及び神奈川県の漁港底質中の有機スズ化合物濃度及び他地域との比較. 第 17 回環境化学討論会, 2008 年 6 月 11-13 日, 神戸

10) Aoki, J., Nagae, M., Takao, Y., Hara, A., Lee, Y-D., Yeo, I-K., Lim, B-S., Park, C-B., Soyano, K.: Survey of contaminations by endocrine disrupting chemicals (EDCs) using wild grey mullet in Korea and Japan, and the cloning of estrogen receptor gene as new biomarker for effect evaluation of EDCs. 8<sup>th</sup> International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. June 3-8, 2007, Saint Malo, France.

〔図書〕(計 4 件)

1) Hiramatsu, N., Luo, W., Hong, L., Soyano, K., Aoki, J., Amano, H., Fujita, T., Todo, T., Matsubara, T., Hara, A. Development of evaluation systems for the detection of estrogenic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in aquatic environments using estrogen-inducible biomarkers. pp 61-69, *In* National Taiwan Museum Special Publication 14, National Taiwan Museum, Taiwan, 2010

2) Soyano, K., Aoki, J., Itashiki, Y., Park, C.-B., Nagae, M., Takao, Y., Lee, Y.-D., Yeo, I.-K., Zhong, J. Contaminations by endocrine disrupting chemicals in coastal waters of the East China Sea. pp 215-226, *In* Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea. (eds. Ishimatsu, A. and Lie H.-J.). Nagasaki University/TERRAPUB, Tokyo, 2010

3) Takao, Y., Kuwahara, K., Nagae, M., Soyano, K. Relationship between concentration of chemical substances in estuarine sediments and concentration of vitellogenin in mudskipper (*Periophthalmus modestus*) and common goby (*Acanthogobius flavimanus*) serum. pp 191-204, *In* Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea. (eds. Ishimatsu, A. and Lie H.-J.). Nagasaki University/TERRAPUB,

Tokyo, 2010

4) Nagae, M., Takao, Y., Ohkubo, N., Matsubara, T., Soyano, K. Estrogenic activity in estuaries by measuring serum vitellogenin concentration of Japanese mele common goby in northwestern part of Kyushu. pp 205-214, *In* Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea. (eds. Ishimatsu, A. and Lie H.-J.). Nagasaki University/TERRAPUB, Tokyo, 2010

〔その他〕

新聞掲載

1) 朝日新聞夕刊, 2007 年 3 月 7 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

征矢野 清 (SOYANO KIYOSHI)

長崎大学・環東シナ海海洋環境資源研究センター・教授

研究者番号: 80260735

(2) 研究分担者

長江 真樹 (NAGAE MASAKI)

長崎大学・環境科学部・准教授

研究者番号: 00315227

青木純哉 (AOKI JYUN-YA)

長崎大学・環東シナ海海洋環境資源研究センター・研究員

研究者番号: 20432990

高雄 雄二 (TAKAO YUJI)

長崎大学・環境科学部・准教授

研究者番号: 20206709

(H20: 連携研究者)

石松 惇 (ISHIMATSU ATSUSHI)

長崎大学・環東シナ海海洋環境資源研究センター・教授

研究者番号: 00184565

(H20: 連携研究者)

原 彰彦 (HARA AKIHIKO)

北海道大学・大学院水産科学研究科・教授

研究者番号: 40091483

(H20: 連携研究者)