

メダカ胚形成期における有機フッ素化合物の生体影響について

半野 勝正

1 はじめに

Perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) や Perfluorooctanoic acid (PFOA) (図1)に代表される有機フッ素化合物 (Perfluoro organic compounds : PFCs) は、化学的に極めて安定な化合物であり、撥水性、撥油性を併せ持つ特異的な性質のため、テフロンなどのフッ素含有高分子の乳化剤、衣類・絨毯などの防汚加工、包装紙の撥水・撥油加工など、商業的や工業面で多岐に渡って利用されてきた。また、環境中において、長期にわたって残留し、これまでに世界中の様々な野生動物及びヒトから検出されている。PFCs は、生物体内において発がん性や種々の代謝の攪乱作用、免疫毒性などを持つことが明らかになりつつあり、生物やヒトへの悪影響が懸念されている。近年、魚類を実験対象とした化学物質の生体毒性評価に関する研究が多くなされているが、有機フッ素化合物の魚類胚への影響については、ゼブラフィッシュについての報告はある^{1,2)}が、メダカ胚への生体影響についての報告はない。そこで、今回、胚形成段階のメダカ胚に有機フッ素化合物を曝露させた場合の生体影響について2010年に検討したので報告する。

2 調査方法

2.1 検討対象有機フッ素化合物

本試験で用いた有機フッ素化合物は、パーフルオロカルボン酸(PFCAs)の Perfluoroheptanoic acid (PFA7), PFOA(PFA8), Perfluorononanoic acid

(PFA9)とパーフルオロアルキルスルホン酸 (PFASs) の PFS8 の4種類である。

2.2 生物学的試験

最初にメダカ胚へ曝露する有機フッ素化合物の曝露量を決定するため、海洋性発光細菌のマイクロトックス試験により検討した。

(1) 海洋性発光細菌のマイクロトックス試験

海洋性発光細菌マイクロトックス試験は、海洋性発光細菌(Vibrio Fisheri)を用いてその光の変化量を測定することにより毒性を評価する方法である。発光量測定には Microbics 社 (現 AZUR Environmental) の Microtox m500 を使用した。

(2) メダカ胚形成期への生体影響 (曝露試験)

産卵後1日経過したメダカ卵 (50-100 卵) を 96 穴プレート各セルに入れ、各試験液 (200uL) に曝露して胚形成期への阻害等について顕微鏡で観察した。曝露期間は最大40日間とした。

3 調査結果及び考察

(1) 海洋性発光細菌のマイクロトックス試験結果

4種類の有機フッ素化合物について、マイクロトックス試験を行った結果を表1に示す (n=3)。各化学物質に対する EC50 (半数阻害濃度; mg/L) は、PFCA がいずれも約 50mg/L, PFS8 が約 30mg/L であった。また、鑑迫らがミジンコに曝露させた毒性試験³⁾では、LOEC (最小影響濃度; mg/L) が PFA8; 50mg/L, PFA9; 100mg/L, PFS8; 25mg/L であった。一方、ゼブラフィッシュ胚で行った実験²⁾では、EC50 (mg/L) が曝露96時間後では PFS8; 9.14mg/L, PFA8; 328mg/L であった。日本国内での生産量は、PFS8 よりも PFA8 の方が多いと言われているが、今回の結果では、上記3種の生物いずれにおいても PFS8 の方が PFA8 よりも2倍以上生体毒性が強いことを示していた。この結果より、メダカ胚への有機

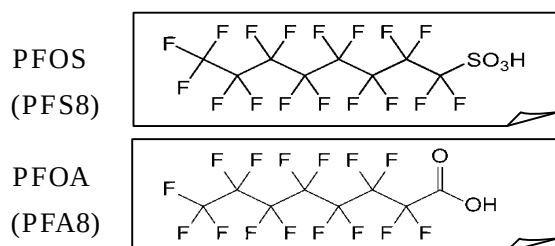


図1 PFOS, PFOA の構造

表1 マイクロトックス試験結果 (n=3)

Compounds	初期曝露濃度 (mg/L)	EC50 (%)			EC50 (mg/L)		
		5min.	15min.	30min.	5min.	15min.	30min.
PFS8	150	18.1	19.5	20.8	27.1	29.2	31.1
PFA7	120	37.5	41.0	40.9	45.0	49.2	49.0
PFA8	151	29.0	34.6	34.8	43.9	52.3	52.6
PFA9	256	18.1	20.5	21.8	46.4	52.5	55.8

(注) EC50(%)とは、試薬の光の出力が50%減少するサンプルの濃度(%)。

フッ素化合物の曝露濃度を PFCAs については 0～60mg/L, PFS8 については 0～30mg/L とした。

(2) メダカ胚形成期への生体影響(顕微鏡観察)

メダカ胚へ有機フッ素化合物を曝露した場合の EC50(半数阻害濃度; mg/L)を表2に示す。

マイクロトックス等の結果と同様に, PFS8 が PFCAs よりも強い生体毒性であることが判明した。

表2 メダカ胚への曝露試験結果 (n=3)

Compounds	曝露濃度 (mg/L)	EC50 (mg/L)
PFS8	0-30	27.1
PFA7	0-60	48.0
PFA8	0-60	46.7
PFA9	0-60	51.2

PFCAs では炭素鎖の長さによるメダカ胚への生体毒性の有意な差は認めなかった。顕微鏡観察による有機フッ素化合物のメダカ胚への主な生体毒性は, PFS8 を 30mg/L 曝露した場合, 曝露後3日後に細胞膜が溶け死に至る(細胞膜損傷; cell membrane damage)。27mg/L 曝露の場合は, 曝露11日後に半数が孵化するが, 卵黄嚢肥大, 尾が曲がるといった影響が出現した(卵黄嚢肥大; swollen yolk sac, 脊柱管狭窄症; spinal column malformation)(図2)。

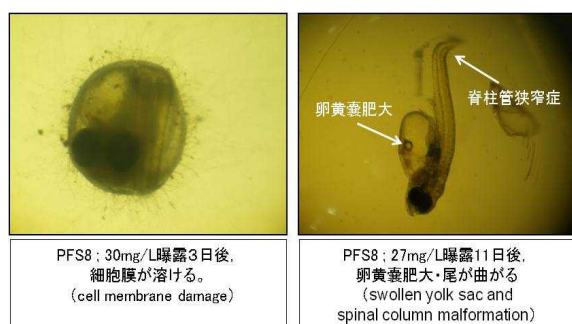


図2 有機フッ素化合物曝露後のメダカ胚形成期への影響

有機フッ素化合物をメダカ胚に曝露し, その形成過程への影響を調べた。その結果, 以下のことが判明した。

①有機フッ素化合物のメダカ胚形成期への影響は, PFCAs に比べて PFS8 の影響が大きい。

②メダカ胚形成期への主な生体影響は, 卵黄嚢肥大(swollen yolk sac)と脊柱管狭窄症(spinal column malformation)である。

今後は, 「環境水バイオマーカー遺伝子」を用いた評価法^{4,5)}により, 遺伝子の発現変動から生体影響についての詳細な解析を行う予定である。

5 参考文献

- 1)Xiongjie Shi, Youngbing Du, Paul K.S.Lam, Rudolf S.S.Wu, Bingsheng Zhou : Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* , **230**, 23-32, (2008).
- 2)Ye L, Wu LL, Jiang CJ, Chen L: Toxicological study of PFOS/PFOA to zebrafish (*Danio rerio*) embryos, *Huan Jing Ke Xue*, **30** (6), 1724-32, (2009).
- 3)鑑迫典久：水質管理における新しい生物学的評価法の動向, 日本水環境学会関東支部 特別講演会, (2009).
- 4)Hanno.K., Oda,S., and Mitani,H. : Effects of dioxin isomers on AhRs and CYP1A1 in early developmental stage embryos of Medaka (*Oryzias latipes*), *Chemosphere*, **78**, 830 – 839, (2010).
- 5)半野勝正：メダカ由来環境水バイオマーカー遺伝子を用いたダイオキシン類及び重金属類の複合影響の評価, 東京大学大学院新領域創成科学研究科 学位論文, (2010).