

腹足類の内分泌系とインポセックスの発症機構

堀口 敏宏

国立環境研究所 環境リスク研究センター

Endocrinology and Induction Mechanism of Imposex in Gastropod Molluscs

Toshihiro Horiguchi

National Institute for Environmental Studies, Tsukuba 350-8506, Japan

Abstract

Imposex, the superimposition of male type genital organs (penis and vas deferens) on female gastropod molluscs, is cause-specific and induced by low concentrations of certain organotins such as tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPT) from antifouling paints. Reproductive failure may be observed at severely affected stages, resulting in declining the populations. Fundamental knowledge of the endocrinology of gastropods is briefly described. Although some papers have suggested that steroids also function as sex hormones in gastropods, similarly to vertebrates, it is still unclear. Meanwhile, neuropeptides have been reported to control the reproduction in gastropods. Four hypotheses, such as aromatase-inhibition, regarding the induction mechanism of imposex induced by organotins in gastropods are reviewed. Finally, a new hypothesis that states that RXR plays an important role in inducing the development of imposex, the differentiation and growth of male type genitalia in female gastropods, is reviewed and discussed toward the elucidation of the entire mode of action of TBT or TPT in the development of imposex in gastropods.

Keywords : imposex, endocrine disruption, gastropod molluscs, tributyltin (TBT), triphenyltin (TPT), retinoid X receptor (RXR), steroid hormones

1. 有機スズ汚染と腹足類のインポセックス

船底防汚塗料や漁網防汚剤などとして使用されてきた有機スズ化合物(トリブチルスズ(TBT)及びトリフェニルスズ(TPT))が、pptレベルのごく低濃度でも特異的に作用して腹足類にインポセックスを引き起こすことが知

られている[1,2,3,4]。筆者らは、1990年以降、邦産腹足類におけるインポセックスと有機スズ汚染に関する野外調査と室内実験を行ってきたが、特にイボニシ *Thais clavigera* を用いた室内実験でインポセックスを引き起こす有機スズの化学種やインポセックス発症の閾値を推定し、イボニシのインポセックスが有機スズ汚染を反映する生物指標 (bioindicator) として活用できることを明らかにした[1,5,6]。そして、イボニシを対象とした全国規模の実態調査と定点観測を継続的に実施することにより、有機スズ汚染やインポセックスの実状として、その地理的分布や経年変化とともに有機スズ汚染がイボニシ個体群に及ぼす影響を検討してきた[7,8]。

さらに、インポセックスの“被害”の全貌を明らかにすることを目指して、インポセックスが腹足類の系統分類上、どの範囲にまで及んでいるのかを明らかにするための調査も行ってきた[8]。その結果、バイ *Babylonia ja-*

連絡先：堀口 敏宏

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

独立行政法人 国立環境研究所

環境リスク研究センター

TEL : 029-850-2522

FAX: 029-850-2870/2673

E-mail : thorigu@nies.go.jp

受付日：平成 19 年 7 月 25 日

受理日：平成 19 年 7 月 26 日

ponica やテングニシ *Hemifusus tuba*、ナガニシ *Fusinus perplexus perplexus*、マダライモガイ *Virroconus ebraeus* などの新腹足類 32 種とマガキガイ *Strombus luhuanus*、カコボラ *Monoplex parthenopeum echo*、ボウシウボラ *Charonia sauliae sauliae* などの中腹足類 7 種でインボセックスが確認された[8]。但し、これは筆者らが試料を入手できた範囲で観察した限りの結果である。個体群が激減あるいは消滅するなどして既に試料を入手できなかった種や、入手しても、その数が限られ、いずれも雄であったオニサザエ *Chicoreus asianus* などについては結論を得ていない。したがって、実際の“被害”はこれよりも大きかったものと推察される。

また、原始腹足類に属するアワビ類は、体外受精を行うことから、雄に交尾器であるペニスがないため、インボセックスの定義に当てはまる現象は観察されないものの、卵巣での精子形成に象徴される雌の雄性化が観察された[9,10,11]。TBT や TPT への曝露により、雌アワビの卵巣で精子形成が起きることも移植実験及び室内実験の双方によって確認されている[9,10]。イボニシなどのインボセックスにおいても、重症の場合、卵巣で精子形成が起きることが知られている[12,13]。したがって、アワビ類における雌の雄性化現象は、本質的に、イボニシなどのインボセックスと類似の現象であると筆者らは考えている。

このように、人類が合成した TBT や TPT という化学物質が海洋生態系に与えた影響は、腹足類への影響のみに絞って見ても、甚大であったといえよう。

ところで、インボセックス現象は、生物学的には、きわめて興味深い現象である。ごく微量(低濃度)の TBT あるいは TPT が、腹足類の性に関して著しい変化を引き起こすためである。しかしながら、その誘導メカニズムは、まだ完全には明らかとなっていない。そもそも、腹足類の内分泌系に関する基礎知見が著しく不足している[14,15]。腹足類の内分泌系の基礎知見がきわめて脆弱な中で立てられた既存の仮説は、また脆弱である。本稿では、腹足類の内分泌系に関する既往知見を整理するとともに、現在までに提起されてきたインボセックス誘導メカニズムに関する仮説を批判的に述べ、最後に筆者らが提起している仮説を紹介したい。

2. 腹足類の内分泌系に関する既往知見

一般に、内分泌系に関する基礎知見は、無脊椎動物においては脊椎動物ほど多く得られていない[16]。腹足類を含む軟体動物においても例外ではない[16]。腹足類の内分泌に関してこれまでに得られている知見は、ほとんどがある種の後鰓類(例えば、カリフォルニアアメフラシ *Aplysia californica*)と有肺類(例えば、ヨーロッパモノアラガイ *Lymnaea stagnalis*)についてのものに限られ、内臓神経節や脳神経節あるいは摂護腺から分泌される神

経ペプチドが産卵ホルモン、排卵ホルモンあるいは放卵ホルモンとして作用するという[17,18,19]。一方、インボセックスは腹足類の中でも前鰓類に特有の現象であることから、前鰓類の内分泌系に関する基礎知見が、有機スズ化合物がどのように作用してインボセックスが誘導され発症するかというメカニズムを考える上で参考となるであろう。しかしながら、前鰓類の内分泌に関する基礎知見は、これまでのところ、ほとんど得られていない。

LeBlanc ら[16] は、既存の文献情報を整理して腹足類の性ホルモンに関するレビューを行なった。それによると、腹足類はペプチドホルモンと共に、脊椎動物様のステロイドホルモンも持っているという[16]。但し、ペプチドホルモンとステロイドホルモンのどちらが上流(上位)にあって他方を制御しているかなどの詳細は明らかでない。LeBlanc ら[16] は、具体的な報告事例を列挙しながら、腹足類の性ホルモンとして脊椎動物様ステロイドホルモンの存在と作用を示唆している[20,21,22]。しかしながら、いくつもの疑問点を指摘せざるを得ない。まず、脊椎動物様ステロイドの存在に関して、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による同定は、決定的な証拠にはならない[15]。陸ら[23]は、イボニシとバイの生殖巣ホモゲネートからステロイド画分を抽出してシリル化した後、高分解能 GC/MS で計 5 種のステロイドを同定した。しかしながら、そのうちの 1 種は、合成ステロイドであるエチニルエストラジオール(EE2)であった[23]。EE2 の検出は、1)腹足類が生体内で EE2 を合成できる特別な酵素を有している、または、2)環境汚染の結果として体内に取り込んだものである、のいずれかと考えられる。動物は体内で EE2 を合成できないと考えられているため、おそらく 2) が正しいであろう。そうであれば、他の 4 種の脊椎動物様ステロイドの検出も、同様に考えるべきである。すなわち、腹足類が脊椎動物様ステロイドを固有に持っているのかどうか、明らかでない[15]。また、LeBlanc ら[16] の指摘には、生物学的にきわめて重要な視点が欠落している。すなわち、腹足類の生殖巣におけるステロイド産生細胞の存在が確認されていないほか、アロマトラーゼに代表されるステロイド代謝酵素に類似した活性は観察されているものの、タンパクとしての精製には成功例がない[15]。いわゆるアロマトラーゼを腹足類が本当に持っているのかどうか、未だ証明は不十分である。さらに、脊椎動物様ステロイドホルモンの受容体が、現在までのところ、腹足類においては見つかっていない[15]。カリフォルニアアメフラシでエストロゲン受容体(ER)様 cDNA が単離されたが、これはエストロゲンと結合せず、リガンド非依存的な転写活性因子であることが明らかとなった[24]。イボニシにおいても、同様に、ER 様タンパクがクローニングされたが、エストロゲンと結合せず、リガンド非依存的な転写活性因子であると考えられている[25,26]。また、無脊椎

動物のゲノム解析の結果、ER やアンドロゲン受容体 (AR) をコードする遺伝子が見い出されないと報告されている [27]。受容体がなければ、リガンドとしてのステロイドが存在したとしても生理作用は示さないであろう [15]。腹足類において脊椎動物と同様のステロイドが存在し、性ホルモンとして生理機能を有するとの作業仮説の証明は、上述の諸点に照らして為されるべきである。

3. インボセックスの形態学的及び生態学的特徴

インボセックスの誘導メカニズムに関する仮説を述べる前に、インボセックスの定義、特徴及び既往知見を改めて整理することとしたい。インボセックス (imposex) の語源は *imposed sexual organs* であるとされ、この言葉を最初に用いた Smith [28] によれば、それが指す意味は、概して、雌雄異体である腹足類 (前鰓類) の雌にペニスや輸精管という雄の生殖器官が形成されて発達する現象及び雄性生殖器官が形成された雌の前鰓類である。その後、今日までの研究により、インボセックスの特徴的な症状は、形態及び機能の双方の面における腹足類の雌の雄性化であると考えられる [29]。具体的には、雌にペニスまたは輸精管という雄性生殖器官の一方もしくは両方が形成されて発達し、卵巣の機能低下 (卵形成不全) や精巢化を伴い、輸卵管が摂護腺化するなどの場合もある [3,12,28]。インボセックスが重症になると産卵能力が低下もしくは喪失する場合があるが、こうした産卵能力の低下あるいは喪失の様式には次の 3 つが知られている。すなわち、1) 輸精管形成に伴う周辺組織の過形成による陰門 (産卵口) の閉塞 [30]、2) 卵巣の精巢化を含む卵形成能の低下あるいは喪失 [12]、及び 3) 輸卵管の開裂 (発生途上の閉鎖不全) もしくは摂護腺化による交尾・産卵障害である [31]。

インボセックスは不可逆的な症状であり、いったんそうなる個体レベルでは元に戻らないとされている [3,32]。形成されたペニスや陰門閉塞などの症状が解消することはないと考えられているのである。しかし、個体群レベルでは、有機スズ汚染の軽減に伴い、若齢個体のインボセックス症状が軽症となるため、その個体群のインボセックス症状が緩和・軽減され、個体数が増加して回復すると考えられている [33]。なお、インボセックスに伴う産卵障害が主因となってその種の生息量の減少に帰結するかどうかは、孵化後の初期生活史における生態と関連するとも考えられ、単純に論じることはできない [34]。すなわち、卵内で発生が進み稚貝として孵出する種や浮遊幼生期の短い種では、インボセックスに伴う産卵数の減少などの産卵障害が生じると、その個体群に対する幼生や稚貝の外部からの加入による補填効果が期待されにくいと、比較的短期間のうちに生息数の減少に至る可能性がある [34]。これに対して浮遊幼生期の長い種ではインボセックスに伴う産卵障害が生じて、そ

の個体群への外部からの幼生の加入がある程度期待されるため、顕著な生息数の減少は比較的起きにくいと考えられている [34]。

また卵巢中あるいは変質卵囊塊を含む輸卵管 (卵囊腺) 中で TBT や TPT の濃度がきわめて高いことにも注目する必要がある [1,35]。すなわち、卵における有機スズ化合物の高濃度での蓄積が疑われ、卵の発生や孵化に何らかの悪影響を及ぼしてきた可能性が考えられるためである。

腹足類における再生産阻害あるいは生息量減少に関する要因を考える際には、インボセックスに付随した産卵障害とともに卵への有機スズ化合物の蓄積が胚発生や孵化に及ぼす潜在的影響、初期生活史における生態の特徴とそこで有機スズが及ぼすと考えられる潜在的影響なども考慮する必要がある。

なお、インボセックスと逆の現象である、雄の腹足類の雌性化現象は、現在までのところ、実験室レベルでの報告に止まり、野外においては観察例がない [14]。

4. 腹足類にインボセックスを誘導・発症させる有機スズ化合物の作用機構

4.1 インボセックスの原因物質と誘導メカニズムを巡る仮説

4.1.1 インボセックスの原因物質

前述したように、インボセックスは、TBT や TPT などのある種の有機スズ化合物によってほぼ特異的に、しかも TBT の場合には 1 ng/L 程度のごく低濃度でも引き起こされ、また成長段階 (年齢) に無関係にこうした有機スズ化合物に曝露されると誘導される [1,3,4,6,36]。一方、インボセックスを引き起こす有機スズの化学種については作用の強弱とともに影響の有無に関して種差があり [36,37,38]、TBT とトリプロピルスズ (TPrT) はイボニシにおいてもヨーロッパチヂミボラ *Nucella lapillus* においても陽性であるが、TPT の作用は両種間で全く逆である [4,6,36] (表 1)。淡水種 *Marisa cornuarietis* でも TPT によりインボセックスが引き起こされる [38]。現在のところ、これらは各種有機スズに対する感受性の種差によるものと考えざるを得ず、種差の由来の解明は今後の課題である [6,14]。

4.1.2 インボセックスの誘導メカニズムを巡る仮説

インボセックスの誘導メカニズムに関する既存の仮説は、1) アロマターゼ阻害説 [39]、2) アンドロゲン排出阻害説 [40]、3) 脳神経節障害説 [41] 及び 4) APGWamide 関与説 [42] の 4 つである。このうち、1) と 2) はステロイドホルモンに、3) と 4) は神経ホルモンにそれぞれ注目した仮説である。1) については TBT がアロマターゼを阻害することによって体内アンドロゲン (テストステロ

表1 インボセックスを誘導もしくは発達させる有機スズ化合物[4,6,36,37]

有機スズ化合物	イボニシ[6,36]	ヨーロッパモノアラガイ[4]	イギリスヨウカイガイ[37]
メチルスズ			
モノメチルスズ	×	—	—
ジメチルスズ	×	—	—
トリメチルスズ	×	—	—
テトラメチルスズ	×	—	—
エチルスズ			
ジエチルスズ	×	—	—
トリエチルスズ	×	—	—
テトラエチルスズ	×	—	—
プロピルスズ			
トリプロピルスズ	△	△	—
ブチルスズ			
モノブチルスズ	×	×	—
ジブチルスズ	×	×	—
トリブチルスズ	◎	◎	—
テトラブチルスズ	×	×	—
ペンチルスズ			
トリペンチルスズ	×	—	—
シクロヘキシルスズ	○	—	—
トリシクロヘキシルスズ			
オクチルスズ	×	—	—
テトラオクチルスズ			
フェニルスズ	×	—	○
モノフェニルスズ	×	—	—
ジフェニルスズ	◎	×	—
トリフェニルスズ			

◎：強度； ○：中度； △：微弱； ×：効果認められず； —：データなし

ン)濃度の上昇を招き、エストロゲン(エストラジオール)との比の著しい不均衡をもたらして、過剰なアンドロゲン(テストステロン)が受容体との結合を介して雌の雄性化の引き金になるというものである[39]。また、2)についてはTBTが硫酸抱合能を阻害することにより、アンドロゲン(テストステロン)とその代謝産物を硫酸抱合体として体外へ排出することが抑制される結果、体内アンドロゲン(テストステロン)濃度の上昇を招き、雌の雄性化を引き起こすというものである[40]。一方、3)については、雌では本来、足神経節から分泌されるペニス形成促進因子に対して脳側神経節からペニス形成を抑制する因子が分泌されてペニス形成が抑えられているのをTBTが阻害するため、雌におけるペニスの形成・発達が起こるとするものである[41]。また4)は、ヨーロッパモノアラガイにおいて存在が知られている神経ペプチドの一種、APGWamideが前鰓類にも存在し、ペニス形成因子として作用するというものである[42]。

いずれの仮説もそれぞれ複数の実験により導き出されたものであるが、なお十分でない。筆者らはこれまでに各種検証実験を実施してきた(堀口ら、未発表データ)。しかしながら、いずれもインボセックスが十分に再現されなかったため[26]、これら4つの既存仮説をいずれも支持できない。さらに、それぞれの固有の実験データを

見ても、いくつもの疑問がある。1)アロマターゼ阻害説[39]と2)アンドロゲン排出阻害説[40]については、上述したステロイドホルモンの存在と作用そのものに対する疑問がある上に、付言すれば、1)アロマターゼ阻害説[39]については、テストステロン濃度の上昇とペニス成長の時系列変化に矛盾があり、2)アンドロゲン排出阻害説[40]については、急性影響の可能性を排除できない。こうした変化が生じるには、インボセックスが発症するレベル(水中のpptレベルのTBT)では不十分で、より高濃度のTBTが必要ではないかという疑問もある。一方、3)脳神経節障害説[41]については、ペニス形成促進因子と抑制因子が今もなお不明のままであり、更なる検証が困難となっている。4)APGWamide関与説[42]については、これら4仮説の中でも、とりわけインボセックス誘導実験における出現率が低い上、発達するとされるペニスの大きさ(長さ)が著しく小さい点を指摘せざるを得ない。天然海域で観察されるインボセックス個体や実験室内での有機スズ曝露によって生じたインボセックス個体と比べて、ペニスが極端に短いのである。したがって、インボセックスの出現率とともに、発達するとされるペニスの大きさ(長さ)の点で評価しても、既存の4仮説は支持されない。

4.2 インボセックスの誘導メカニズムに関する新たな仮説：レチノイドX受容体(RXR)関与説

インボセックスの誘導メカニズムに関する既存の4仮説がいずれも支持されないことから、筆者らは有機スズ化合物による腹足類のインボセックス誘導・発症機構には、従来考えられてこなかった、別のメカニズムが存在すると考えた。そして、酵母ツーハイブリッドアッセイにおいて偶然観察された、有機スズ化合物とヒトのレチノイドX受容体(hRXR)との親和性に着目した。なぜなら、レチノイドX受容体(RXR)は、無脊椎動物から脊椎動物に至る系統進化の上で幅広く保存されていること

から、腹足類にも存在する可能性が高いと考えられたためである。仮に、腹足類のインボセックスの発症過程にRXRが関与しているならば、その特異的リガンドである9-*cis*レチノイン酸(9CRA)を用いて腹足類のインボセックスに及ぼす影響を検証できると考えて、実験を行った[43]。すなわち、有機スズ汚染が軽微な茨城県ひたちなか市平磯で採集したイボニシから雌のみを選び出して20個体ずつの3グループに分け、対照区(牛胎児血清(FBS))、9CRA区及び陽性対照としての塩化トリフェニルスズ(TPTCI)区として、試験溶液をイボニシの足部に注射して流水環境下で1ヶ月間飼育した[43]。その結

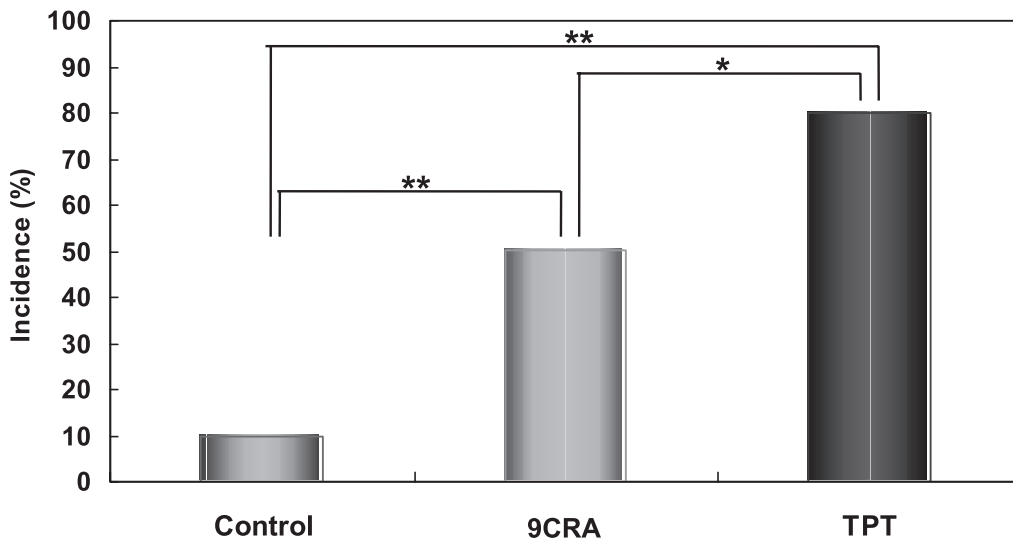


図1 雌イボニシのインボセックス誘導に及ぼす9-*cis*レチノイン酸の効果[43]
Control: 対照、RA: 9-*cis*レチノイン酸(9CRA)、TPT: 塩化トリフェニルスズ(TPTCI)
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

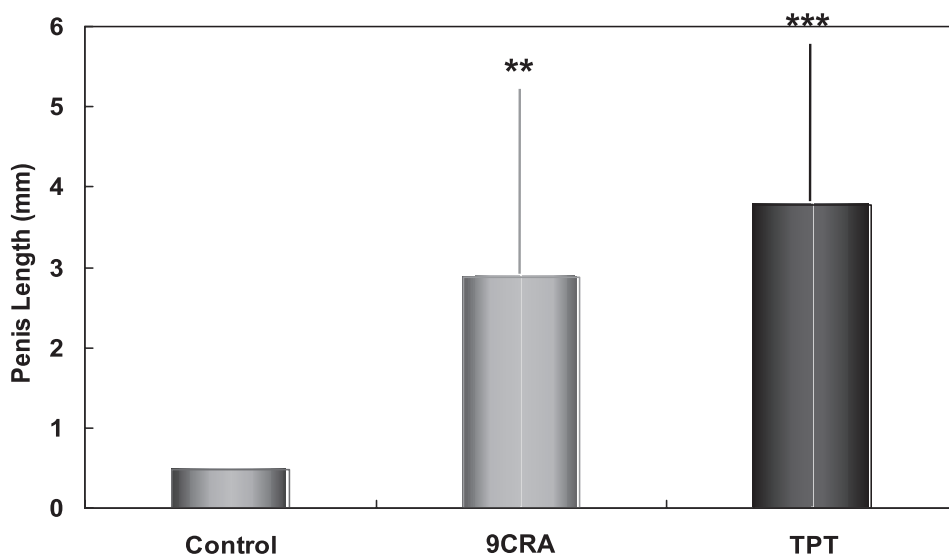


図2 雌イボニシのペニスの成長に及ぼす9-*cis*レチノイン酸の効果[43]
Control: 対照、RA: 9-*cis*レチノイン酸(9CRA)、TPT: 塩化トリフェニルスズ(TPTCI)
** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

果、9CRA 区でインポセックス出現率が 50% であり、対照区 (FBS) の 10% に対して 1% 危険率で有意差が認められ、ペニス長及び輸精管順位においても、それぞれ、1% 及び 0.1% 危険率で対照区と有意差が見られた [43] (図 1 及び図 2)。ペニスが伸びた個体では、TPT 区と同様、最長で 6mm を超え、ペニスであることが組織学的に明瞭に認められた [43] (図 3)。筆者らはこれまでにインポセックス発症機構を探る種々の実験を行ってきたが、これほど明瞭にペニス伸長を引き起こした物質は、TBT や TPT などの特定の有機スズ化合物以外では、9CRA が初めてである。また TBT などの有機スズ以外の物質でペニス伸長をこれほど明瞭に引き起こした物質は文献にも見当たらず、世界規模で見ても、9CRA は初めて確認された有機スズ以外のインポセックス増進作用を持つ物質である。

次いで、イボニシから RXR をクローニングした結果、イボニシ RXR のアミノ酸配列が hRXR と相同性が高いことが明らかとなった [43]。また、*in vitro* 試験の結果、イボニシ RXR と 9CRA との濃度依存的結合や、TBT 及び TPT の 9CRA に対する競合阻害活性が観察された [43] (図 4 及び図 5)。したがって、RXR に対する TBT や TPT のアゴニスト作用がインポセックス現象の誘導・発現に深く関わっていると示唆された [43]。また、3 種類の濃度の 9CRA を用いて筋肉注射試験を再度行った結果、9CRA のインポセックス増進効果には用量依存性が認められた (Horiguchi et al., submitted to *Cell Biology and Toxicology*)。

現在までに、RXR 遺伝子及びタンパクの部位別発現量や有機スズ曝露後の経時的な発現量変化を、フィールドで採集したイボニシや有機スズ曝露実験で供試したイ

ボニシを用いて real time RT-PCR 法やウェスタンブロットティングあるいは免疫組織化学染色を併用して検討してきているが、いずれも RXR 関与説を支持するものであった [44]。

5. 教訓と課題

有機スズ化合物 (TBT や TPT) がごく微量であっても特異的に引き起こす腹足類のインポセックスは、野生生物において観察される、因果関係の確かな内分泌攪乱現象として広く受け入れられてきた。ごく最近まで、その誘導メカニズムとしてアロマターゼ阻害説 [39] が最有力の仮説であると世界中の多くの研究者に受け止められてきたが、実際には、それは正しくないであろう。おそらくほとんど誰も予想しなかったであろう、核内受容体の RXR を介した有機スズ化合物 (TBT や TPT) の作用でインポセックスが引き起こされることが、信憑性の高い実験データによって実証されつつあるためである [43,44]。アロマターゼ阻害説 [39] が最有力であると多くの研究者に受け止められた背景には、腹足類も脊椎動物と同様のステロイドホルモンを有するという思い込みがあった可能性が高い。一つ一つ実験データを積み重ねるうちに、既存の仮説がいずれも棄却され、何も残らなくなり、さらには、腹足類の性ホルモンも脊椎動物と同様のステロイドホルモンであるとする内分泌の既往知見にさえ疑問が持たれた時、筆者は戸惑ったが、一つ一つ冷静に検証を行い、妥当な結論に辿り着いた。一連の出来事は、思い込み、あるいは先入観が真実を見る眼を曇らせる、いかに恐ろしいものであるかの教訓でもある。

RXR というキーワードで一つのブレークスルーが開かれたが、残された疑問点や解明されるべき課題は、な

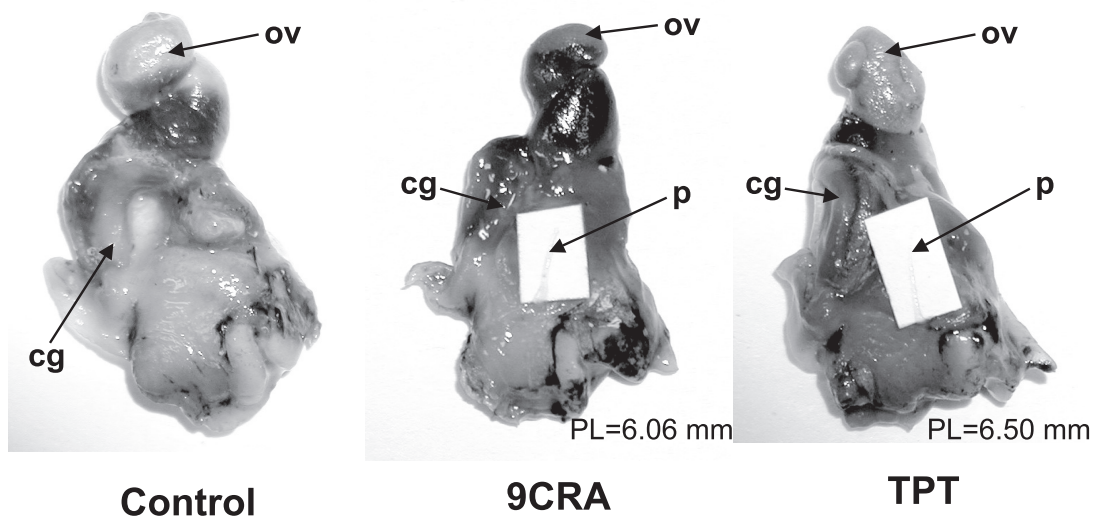


図 3 9-cis レチノイン酸の筋肉注射を受けた雌イボニシにおけるペニスの成長 [43]
Control: 対照, RA: 9-cis レチノイン酸 (9CRA), TPT: 塩化トリフェニルスズ (TPTCl)
cg: 卵嚢腺, ov: 卵巣, p: ペニス, PL: ペニス長

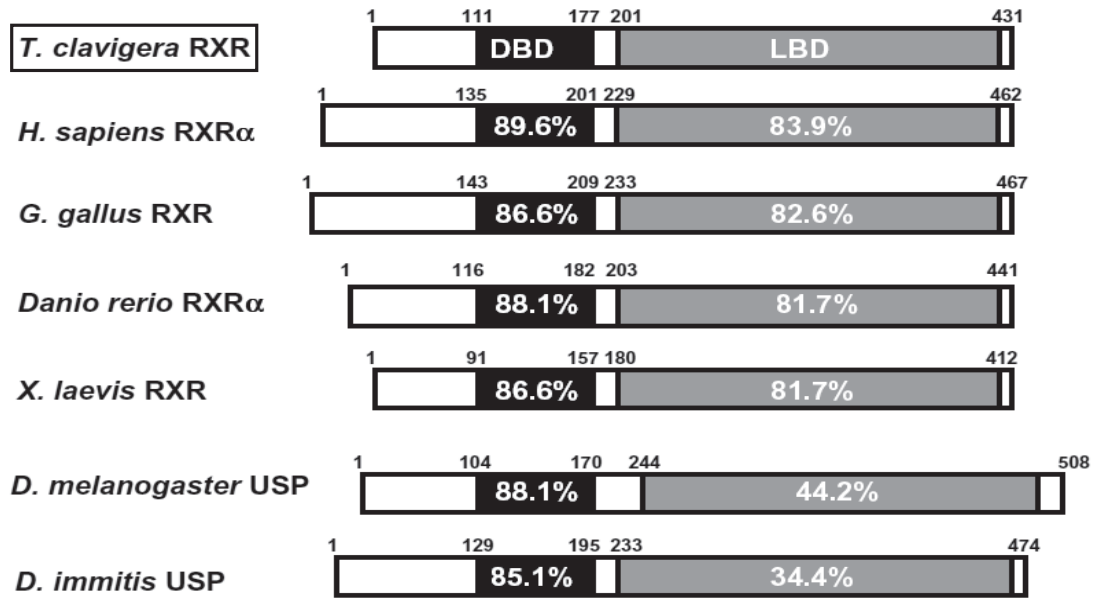


図4 イボニシ RXR と関連する核内受容体のアミノ酸配列の比較[43]

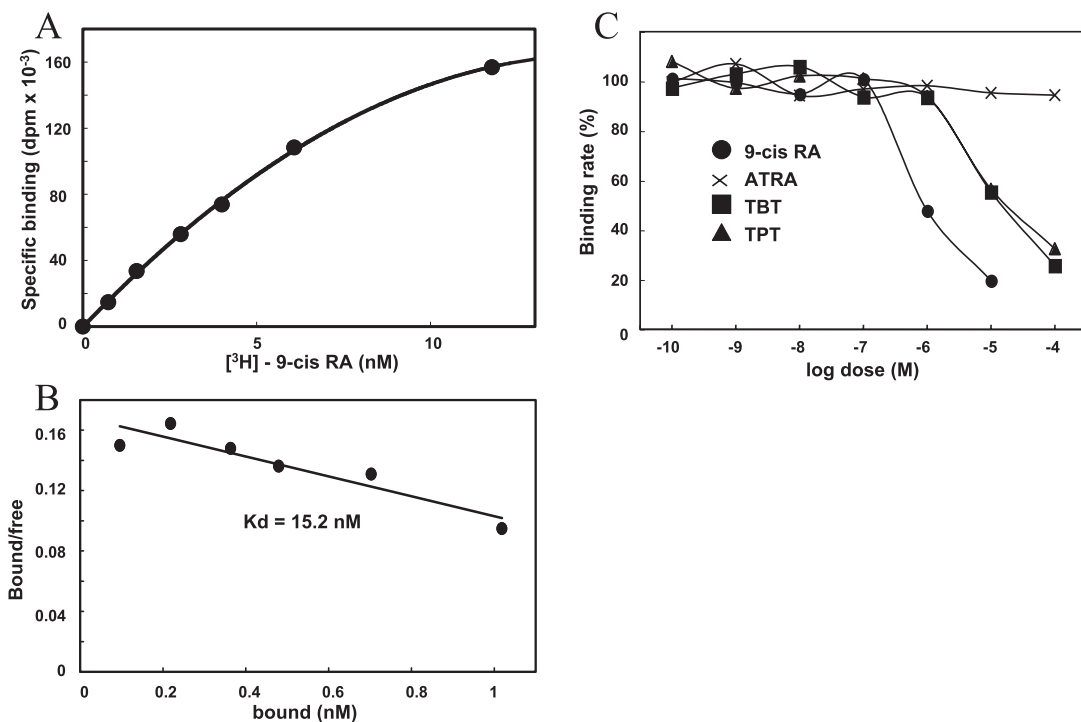


図5 イボニシ RXR と 9-cis レチノイン酸あるいは有機スズ化合物との相互作用[43]
A: Binding assay, B: Scatchard analysis, C: Competition assay

お多く残されている。TBT や TPT が腹足類にインボセックスを引き起こす、すなわち、雌にペニスや輸精管がいかにして分化し成長するかの詳細な機序のほか、曝露に関する critical period の有無やそこでの閾値などを明らかにする必要がある。また、インボセックスと類似の現

象と考えられるヨーロッパタマキビガイ *Littorina littorea* の間性[45] やアワビ類における雌の雄性化現象[9,10,11] の誘導メカニズムも、インボセックスと共通のメカニズムとして考えられるのかどうか、も今後に残された課題である。また1991年8月に神奈川県・油壺

で採集された雌イボニシ及び2005年7月に韓国のMyo-doで採集された雌イボニシにおいて、インボセックス症状とともに卵嚢腺の開裂(それぞれ、内側及び外側)が観察された(Horiguchi & Cho, in preparation)。卵嚢腺の開裂(内側)はイギリスヨウラクガイ *Ocenebra erinacea* でも報告例がある[31]。卵嚢腺の開裂や卵巣における精巣組織の形成は、ペニスや輸精管の発達と同様のメカニズムで論じることは不適当かもしれない。この点も、今後の研究を通じて解明されねばならないであろう。

参考文献

- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., Yamazaki, S., Morita, M. : Imposex in Japanese gastropods (Neogastropoda and Mesogastropoda) : Effects of tributyltin and triphenyltin from antifouling paints. *Mar. Pollut. Bull.*, **31** : 402-405, 1995.
- Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Burt, G.R. and Hummerstone, L.G. : The effects of tributyltin (TBT) accumulation on adult dog-whelks, *Nucella lapillus* : long-term field and laboratory experiments. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **67** : 525-544, 1987.
- Gibbs, P.E., Bryan, G.W., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. : The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **67** : 507-523, 1987.
- Bryan, G.W., Gibbs, P.E. and Burt, G.R. : A comparison of the effectiveness of tri-*n*-butyltin chloride and five other organotin compounds in promoting the development of imposex in the dog-whelk, *Nucella lapillus*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **68** : 733-744, 1988.
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., Morita, M. : Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bonni* in Japan. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **74** : 651-669, 1994.
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., Morita, M. : Effects of triphenyltin chloride and five other organotin compounds on the development of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*. *Environ. Pollut.*, **95** : 85-91, 1997.
- 堀口敏宏・趙 顯書・白石寛明・柴田康行・森田昌敏・清水 誠・陸 明・山崎素直 : 有機スズ汚染と腹足類のインボセックスの経年変化と現状. 沿岸海洋研究, **37** : 89-95, 2000.
- 堀口敏宏 : 貝類. 水産環境における内分泌攪乱物質 (川合真一郎・小山次朗 編)、恒星社厚生閣、東京、2000, pp.54-72.
- Horiguchi, T., Takiguchi, N., Cho, H.S., Kojima, M., Kaya, M., Shiraishi, H., Morita, M., Hirose, H., Shimizu, M. : Ovo-testis and disturbed reproductive cycle in the giant abalone, *Haliotis madaka* : possible linkage with organotin contamination in a site of population decline. *Mar. Environ. Res.*, **50** : 223-229, 2000.
- Horiguchi, T., Kojima, M., Kaya, M., Matsuo, T., Shiraishi, H., Morita, M., Adachi, Y. : Tributyltin and triphenyltin induce spermatogenesis in ovary of female abalone, *Haliotis gigantea*. *Mar. Environ. Res.*, **54** : 679-684, 2002.
- Horiguchi, T., Kojima, M., Takiguchi, N., Kaya, M., Shiraishi, H., Morita, M. : Continuing observation of disturbed reproductive cycle and ovarian spermatogenesis in the giant abalone, *Haliotis madaka* from an organotin-contaminated site of Japan. *Mar. Pollut. Bull.*, **51** : 817-822, 2005.
- Gibbs, P.E., Pascoe, P.L. and Burt, G.R. : Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **68** : 715-731, 1988.
- 堀口敏宏・清水 誠 : 貝類及び他の水生生物. 有機スズ汚染と水生生物影響(里見至弘・清水 誠編)、恒星社厚生閣、東京、1992, pp.99-135.
- Matthiessen, P., Reynoldson, T., Billingham, Z., Brassard, D.W., Cameron, P., Chandler, G.T., Davies, I.M., Horiguchi, T., Mount, D.R., Oehlmann, J., Pottinger, T.G., Sibley, P.K., Thompson, A. and Vethaak, A.D. : Field assessment for endocrine disruption in invertebrates. in "Endocrine Disruption in Invertebrates : Endocrinology, Testing, and Assessment" (de Fur, P.L., Ingersoll, C. & Tattersfield, L. eds.), SETAC Press, Florida, U.S.A., 1999, pp.199-270.
- Horiguchi, T. : Masculinization of females caused by organotin compounds in gastropod mollusks, focusing on the mode of action of tributyltin and triphenyltin on the development of imposex. *Environ. Sci.* **13** : 77-87, 2006.
- LeBlanc GA, Campbell PM, den Besten P, Brown RP, Chang ES, Coats JR, deFur PL, Dhadialla T, Edwards J, Riddiford LM, Simpson MG, Snell TW, Thorndyke M, Matsumura F. : The endocrinology of invertebrates. In : Endocrine Disruption in Invertebrates : Endocrinology, Testing, and Assessment (deFur PL, Crane M, Ingersoll C, Tattersfield L, eds.). Pensacola, Florida : SETAC Press, 1999, pp.23-106.
- Chiu AY, Hunkapiller MW, Heller E, Stuart DK, Hood LE, Strumwasser F. : Purification and pri-

- mary structure of neuropeptide egg-laying hormone of *Aplysia californica*. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.*, **76** : 6656-6660, 1979.
- 18) Ebberink RHM, Loenhout H, van Geraerts WPM, Joosse J. : Purification and amino acid sequence of the ovulation neurohormone of *Lymnaea stagnalis*. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.*, **82** : 7767-7771, 1985.
- 19) Joosse J, Geraerts WPM. : Endocrinology. In : The Mollusca Vol. 4 Physiology Part 1 (Saleuddin ASM, Wilbur KM, eds.). New York : Academic Press, 1983, pp.317-406.
- 20) Takeda N. : Induction of egg-laying by steroid hormones in slugs. *Comp. Biochem. Physiol.*, **62A** : 273-278, 1979.
- 21) Takeda N. : Endocrine regulation of reproduction in the snail, *Euhadra peliomphala*. In : Molluscan Neuro-endocrinology (Lever J, Boer HH, eds.). Amsterdam : North Holland Publishing, 1983, pp.106-111.
- 22) Le Guellec D, Thiard MC, Remy-Martin JP, Deray A, Gomot L, Adessi GL. : *In vitro* metabolism of androstenedione and identification of endogenous steroids in *Helix aspersa*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **66** : 425-433, 1987.
- 23) 陸 明・堀口敏宏・白石寛明・柴田康行・安保充・大久保明・山崎素直 : ガスクロマトグラフィー/質量分析法による海産巻貝類におけるステロイドホルモンの同定と定量. *分析化学*, **50** : 247-255, 2001.
- 24) Thornton JW, Need E, Crews D. : Resurrecting the ancestral steroid receptor : ancient origin of estrogen signaling. *Science* **301** : 1714-1717, 2003.
- 25) Kajiwara, M., Kuraku, S., Kurokawa, T., Kato, K., Toda, S., Hirose, H., Takahashi, S., Shibata, Y., Iguchi, T., Matsumoto, T., Miyata, T., Miura, T., Takahashi, Y. 2006. Tissue preferential expression of estrogen receptor gene in the marine snail, *Thais clavigera*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 148, 315-326. Epub 2006 Jun 19.
- 26) Iguchi, T., Katsu, Y., Horiguchi, T., Watanabe, H., Blumberg, B., Ohta, Y. 2007. Endocrine disrupting organotin compounds are potent inducers of imposex in gastropods and adipogenesis in vertebrates. *Mol. Cell Toxicol.* 3, 1-10.
- 27) Escriva H, Safi R, Hänni C, Langlois M-C, Saumitou-Laprade P, Stehelin D, Capron A, Pierce R, Laudet V. : Ligand binding was acquired during evolution of nuclear receptors. *Proc. Nat'l. Acad. Sci. U.S.A.*, **94** : 6803-6808, 1997.
- 28) Smith, B.S. : Sexuality in the American mud snail, *Nassarius obsoletus* Say. *Proc. Malacol. Soc. Lond.*, **39** : 377-378, 1971.
- 29) Matthiessen, P. and Gibbs, P.E. : Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ. Toxicol. Chem.*, **17** : 37-43, 1998.
- 30) Gibbs, P.E. and Bryan, G.W. : Reproductive failure in populations of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from anti-fouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **66** : 767-777, 1986.
- 31) Gibbs, P.E., Bryan, G.W., Pascoe, P.L. and Burt, G. R. : Reproductive abnormalities in female *Ocenebra erinacea* (Gastropoda) resulting from tributyltin-induced imposex. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **70** : 639-656, 1990.
- 32) Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Hummerstone, L.G. and Burt, G.R. : The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England : evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **66** : 611-640, 1986.
- 33) Gibbs, P.E. and Bryan, G.W. : TBT-induced imposex in neogastropod snails : masculinization to mass extinction, in "Tributyltin : case study of an environmental contaminant" (ed. by S.J. de Mora), Cambridge University Press, Cambridge, 1996, pp.212-236.
- 34) 堀口敏宏 : 巻貝の性とインボセックス. *性差医学*, (6) 30-35, 2000.
- 35) Horiguchi, T., Kojima, M., Hamada, F., Kajikawa, A., Shiraishi, H., Morita, M., Shimizu, M. : Impact of tributyltin and triphenyltin on ivory shell (*Babylonia japonica*) populations. *Environ. Health Perspectives*, **114** : 13-19, 2006.
- 36) 堀口敏宏・趙 顯書・白石寛明・柴田康行・森田昌敏・清水 誠 : イボニシのインボセックスに及ぼす有機スズ 18 種とステロイドホルモンの効果. 平成 9 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 105, 1997.
- 37) Hawkins, L.E. and Hutchinson, S. : Physiological and morphogenetic effects of monophenyltin trichloride on *Ocenebra erinacea* (L.). *Funct. Ecol.*, **4** : 449-454, 1990.
- 38) Schulte-Oehlmann, U, Watermann, B., Tillmann, M., Scherf, S., Markert, B. & Oehlmann, J. : Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca : Gastropoda) in the laboratory. Part II : Triphenyltin as a xeno-androgen. *Ecotoxicology* **9** : 399-412, 2000.

- 39) Bettin, C., Oehlmann, J. and Stroben, E. : TBT-induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgol. Meeresunters*, **50** : 299-317, 1996.
- 40) Ronis, M.J.J. and Mason, A.Z. : The metabolism of testosterone by the periwinkle (*Littorina littorea*) *in vitro* and *in vivo* : Effects of tributyltin. *Mar. Environ. Res.*, **42** : 161-166, 1996.
- 41) Féral, C. and Le Gall, S. : The influence of a pollutant factor (TBT) on the neurosecretory mechanism responsible for the occurrence of a penis in the females of *Ocenebra erinacea*. in "Molluscan Neuroendocrinology" (ed. by J. Lever and H.H. Boer), North Holland Publishing, Amsterdam, The Netherlands, 1983, pp.173-175.
- 42) Oberdörster, E. and McClellan-Green, P. : The neuropeptide APGWamide induces imposex in the mud snail *Ilyanassa obsoleta*. *Peptides*, **21** : 1323-1330, 2000.
- 43) Nishikawa, J., Mamiya, S., Kanayama, T., Nishikawa, T., Shiraishi, F. and Horiguchi, T. : Involvement of the retinoid X receptor in the development of imposex caused by organotins in gastropods. *Environ. Sci. Technol.* **38** : 6271-6276, 2004.
- 44) Horiguchi, T., Nishikawa, T., Ohta, Y., Shiraishi, H., Morita, M. : Retinoid X receptor gene expression and protein content in tissues of the rock shell *Thais clavigera*. *Aquat. Toxicol.*, **84** : 379-388, 2007 (doi : 10.1016/j.aqua.tox.2007.06.019)
- 45) Bauer, B., Fioroni, P., Ide, I., Liebe, S., Oehlmann, J., Stroben, E. and Watermann, B. : TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*, a possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia*, **309** : 15-27, 1995.