環境汚染化学物質の魚類の鰓に対する影響

立川真理子,^a 澤村良二,^a 岡田昌二^b

日本大学理工学部薬学科,^a 静岡県立大学薬学部^b

The Effects of Environmental Chemical Pollutants on Fish Gills

MARIKO TACHIKAWA,^a RYOJI SAWAMURA^a and SHOJI OKADA^b

Department of Pharmacy, College of Science & Technology, Nihon University,^a 1-8

Kanda Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan and School of

Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka,^b

395 Yada, Shizuoka 422, Japan

The structure and function of fish gills are briefly summarized, and the responses to the environmental pollutants are reviewed. Some of environmental pollutants, such as acid rain, metals and organic xenobiotics cause morphological and physiological changes in the gill. The toxicities of these environmental pollutants are often influenced by the conditions of surrounding water, such as pH, hardness, salinity, etc.. Therefore, these information will be helpful for evaluating aquatic ecological effects of environmental pollutants.

Keywords — fish gill; environmental pollutant; pH; metals; organic xenobiotics; toxicity; morphological change; physiological change

1. はじめに

環境汚染化学物質による水系生態系への影響は近年とみに増大し、大きな社会的関心を集めている。水系での環境汚染化学物質の影響を評価する場合、食物連鎖による生物濃縮を含めた総合的な検討が必要であるが、構成する環境要因は数多く複雑に入り組んでおり、いまだ評価についての概念は十分に確立されていない。現段階では水系生態系を構成する個々の生物に対する環境汚染化学物質の影響(毒性、蓄積性)とそれらに影響を与えと考えられる様々な環境因子個々との関連を把握することに重点がおかれている。著者らは機会あって、「環境化学物質の魚類に対する影響の淡水域と海水域での相違」というテーマに取り組んできた。その過程で、環境への適応により魚の化学物質の蓄積と排泄が著しく大きな差異を示すこと^{1,2)}を知り、また水質環境のさまざまな因子(pH, Ca²⁺, 海水濃度など)から受ける影響の存在を目のあたりにしてきた。魚類でのこれら水質環境へのすばやい対応の中心となっている器官は鰓であり、その機能を把握することは、魚類への環境化学物質の影響を考える際に極めて重要であ

る。鰓の機能は複雑であり、近年ようやくその詳細が明らかになってきたが、鰓での環境化学物質の吸収排泄のメカニズムは、淡水魚と海水魚の違いを含めて、もう1つのイオン調節と排泄をつかさどる器官である腎ほどには明らかになっていないのが現状である。前総説³⁾では魚類への環境汚染化学物質の影響について取り込み、代謝及び排泄の研究の概況を紹介したが、本報では鰓機能に対する環境化学物質の作用を中心に、環境因子との関連を重視しながら、魚類に対する環境汚染化学物質の影響の研究の現況をまとめることを試みた。

2. 鰓の構造と機能

魚類の鰓のはたらきにはガス交換、イオン調節、酸-塩基平衡の調節及び窒素系老廃物(NH₃, NH₄⁺)の排泄などがあり、⁴⁾魚の生理機構の保持に極めて重要な役割を果たしている。しかも鰓は直接外部環境にさらされており、その機能は水質によって大きな影響を受けている。そして逆に、鰓が受けた影響(障害)は環境である水質の現状を知る手掛りともなりうる。

淡水硬骨魚類の鰓の構造と機能を Fig. 1⁵⁾に示

す。鰓はわずかな例外はあるが多くは4対の鰓弓 (gill arch) より成り、鰓弓には鰓弁 (gill filament) が2列に並んでいる。更にこの鰓弁上には二次鰓弁 (secondary gill lamellae) と呼ばれる薄い葉状の突起層が並んでいる (Fig. 1-A)。血液は鰓導入動脈 (afferent filament artery) から鰓導出動脈 (efferent filament artery) へと二次鰓弁上の毛細血管網を流れる。この血流に対して水は反対方向に流れ、この間にガス交換やイオン交換などを効率よく行う。この血液の流れはカテコールアミン類によって調節を受けている。⁶⁾ 鰓弁の大部分は呼吸上皮細胞 (pavement cell or respiratory cell) におおわれているが、その間に塩類細胞 (chloride cell) がもぐったかたちで存在している。⁷⁾ 粘液細胞 (mucus cell) は鰓弁の水の導入側に多く存在し、分泌した粘液上皮表面に広がりやすくなっている (Fig. 1-B)。鰓上皮は2-3層の細胞からなり、二次鰓弁上皮 (呼吸細胞) はその薄さ (2-3 μm) にもかかわらず、イオン、水そして有機物質分子に対しては非透過的で

ある。上皮細胞同志は橋小体 (desmosome) などできちんと結合している ("tight junction")。⁸⁾ これに対して内側の層の結合は比較的ゆるやかで上皮細胞が細胞外液と直接接合できるようになっている。⁹⁾ 上皮表面は微絨毛 (microvilli) におおわれ粘液の付着が容易になっている (Fig. 1-C)。呼吸細胞のしっかりした結合に対して鰓弁に存在する塩類細胞周囲の結合は比較的ゆるやか (leaky "tight junction") であり、溶質の透過性が高い。^{10,11)} 淡水魚では、呼吸細胞で体内の浸透圧調節に必要な Na^+ や Cl^- の能動的な取り込みが行われており、¹²⁾ それぞれ Na^+/H^+ (NH_4^+) 及び $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (OH^-) の組み合わせのイオン交換により細胞内に取り込まれている。¹³⁾ これらのイオン輸送に関わる ATPase のうち Na^+/K^+ ATPase は細胞基底部の膜 (baso-lateral membrane) に、¹⁴⁾ $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ や $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ATPase は表面の膜 (apical membrane) に^{14,15)} 存在している (Fig. 1-D)。

塩類細胞のはたらきは淡水魚では有機物質の排

Fig. 1. Structure and Function of the Freshwater Gill⁵⁾

(A) Horizontal section through the head showing gill arches with filaments. (B) Section of gill filament showing individual secondary lamellae. (C) Cross section through the lamellar epithelium showing cell layers. (D) Model of ion diffusion and transport in the freshwater fish gill.

泄¹⁶⁾やCa⁺の能動的な取り込み¹⁷⁾と考えられている。一方、海水魚では塩類細胞は体内に入った余分な塩類(Na⁺, Cl⁻)を排泄するはたらきを持ち、¹⁸⁾Na⁺/K⁺ATPaseが高濃度に存在していて¹¹⁾能動的にこの仕事を行っている。また淡水魚と同様に分子量の大きい有機物質の排泄を行っている。¹⁹⁾塩類細胞の数は淡水魚に比べて海水魚に多く、種々の広塩魚で海水馴致によりその数が増加する²⁰⁾ことが明らかになっており、海水化に必要なイオン交換や透過性の増加に大きな役割を果たしている。

以上述べてきたことから、鰓の機能は外部環境のイオン(Na⁺, Cl⁻, H⁺, HCO₃⁻, NH₄⁺)のわずかな変化によっても影響を受けやすいことがうかがえ、また淡水魚と海水魚とでは鰓に存在する各細胞のはたらきも異なるのでその受ける影響も異なることが予想される。

3. 環境化学物質の影響

3.1 鰓の形態変化 Mayerら²¹⁾は水系生物の体内組織に病変を起す種々の環境化学物質をとりあげ、各物質の引き起す影響をまとめている。とりあげた90種余りの化学物質のうち鰓組織に病変を起こす物質は40種以上あり、各種の環境汚染物質に及んでいる(Table I)。

Mallat²²⁾は各種の環境化学物質によって引き起こされる鰓の形態的变化について、100余りの事例

をもとにして14の症状に分類している(Fig. 2)。そしてこれらの症状と曝露条件(投与量、化学物質の種類、温度及び水中の塩濃度)との関連について統計的な処理による解析を行い次のような結論を得ている。

(ア) 環境化学物質によって引き起こされる鰓の形態的な変化の症状は全般的に非特異的である。

(イ) 症状の多くは致死量レベル(急性及び慢性)で現われるが、過形成(hyperplasia)、脈瘤の形成(clavate lamella)及び鬱血(vascular congestion)などは、致死量以下での長期曝露で出現頻度が高い。

(ウ) 前にも述べたように現われた症状が曝露物質に特異な症状と断定することは難しいが、いわゆる有機化学物質より重金属によって起こりやすい症状として、鰓上皮の壊死(necrosis)、肥大(hypertrophy)及び粘液分泌の亢進などがあげられる。

(エ) 温度による影響はほとんどない。

(オ) 鰓への影響としてもっとも頻繁に観察される症状である腫れ(epithelial lifting)は、海水魚では少なく、環境水の浸透圧の影響があることが示唆される。

水質環境を反映する慢性的な曝露による鰓の病変として先に述べた3つの症状((イ))以外に鰓弁の棍棒化(通常は離れている二次鰓弁が次から次へと融合して鰓弁が棒のように見える)がある。²³⁾ 福田²³⁾

TABLE I. Organic and Inorganic Environmental Contaminants and Chemotherapeutic Agents Which Cause Pathological Changes in Gills of Finfish.^{a)}

Organochlorine insecticides	Organochlorine herbicides	Organophosphate insecticides	Carbamate insecticides
DDT	Dichlobenil	Fenthion	Carbaryl
Dieldrin	Diuron	Malathion	(Sevin)
Endrine	Esteron	Methyl parathion	Propoxur
Heptachlor	2,4-D		
Methoxychlor	Tordon 101		
Mirex			Other compounds
Toxaphene			Bis (tri- <i>n</i> -butyltin) oxide (molluscicide)
			Dimethylsulfoxide (DMSO)
Peroleum Compounds	Miscellaneous herbicides	Metals and nitrogenous compounds	
Crude oil	Acrolein	Ammonia (NH ₃)	
Whole	Amitrole-T	CdCl ₂	
Saltwater insoluble	Atrazine	CuCl ₂	Chemotherapeutic agents
Saltwater soluble	Dinoseb	CuSO ₄	
	Diquat	HgCl ₂	Formalin (fungicide, ectoparasiticide)
Naphthalene	Paraquat-CL	CH ₃ HgCl ₂	
Phenol	Sodium trichloroacetate (NaTA ₂)	Nitrite (NO ₂)	
		ZnCl ₂	

a) Modified from Table 1. in Meyers and Hendricks (1982).²²⁾

Fig. 2. Composite Diagram of the Common Irritant-Induced Gill Lesions²²⁾

Six respiratory lamellae are shown (a—f), the top of which is normal (*Salmo gairdneri*, modified from Skidmore and Tovell (1972).⁶⁸⁾ The lesions are numbered: 1, epithelial lifting; 2, necrosis; 3, lamellar fusion (c and d); 4, hypertrophy; 5, hyperplasia; 6, epidermal rupture and bleeding into pharynx; 7, mucous secretion; 8, clavate lamella, or lamellar aneurism (e); 9, vascular congestion; 10, mucous cell proliferation; 11, chloride cells damaged early; 12, chloride cell proliferation; 13, leukocyte infiltration of epidermum; 14A, lamellar blood sinus dilates; 14B, lamellar blood sinus constricts. Abbreviations: bl, basal lamina; cc, chloride cell; e, typical lamellar epithelial cells; lbs, lamellar blood sinus; ma, marginal blood channel; mu, mucous cell; pi, pillar cell; rbc, erythrocyte.

は棍棒形成のメカニズムは原因物質により異なること、また長時間の曝露により形成されたものは環境の改善によっても常態には戻らないが、比較的短時間の曝露により形成されたものは常態に戻りうると述べている。このような慢性的な病変を起こす物質には NH_4^+ 、^{23,24)} NH_4^+ と残留塩素、²⁵⁾ 界面活性剤、²⁶⁾ 原油の水溶性成分、^{27,28)} 及びカドミウム^{29,30)} などがある。

鰓への障害は環境水からの曝露だけでなく endrin、³¹⁾ methyl mercury chloride³²⁾ 及び殺虫剤の permethrin³³⁾ などの経口投与や、DMSO³⁴⁾ の腹腔内投与によっても生じる。これは血液循環により

鰓に到達し作用が発現するものと考えられる。

3.2 pH の影響 水中の pH の変化は、鰓の形態及びイオン調節機能に影響を与える^{5,6)} と同時に水中に溶存する化学物質のイオン化にも影響を及ぼし、毒性や蓄積性に大きな影響を与える。このことに関連して筆者らが注目した主なものを列挙すると、毒性に対する pH の影響についてはクロロフェノール類、³⁵⁾ フェニトロチオン、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸及びアミノカルボ (aminocarb)、³⁶⁾ シアン酸及びチオシアン酸³⁷⁾ などがある。また蓄積性に対する pH の影響については、ペンタクロロフェノール、³⁸⁾ メタンスルホン酸、2-メチルキノリン及び3-トリフルオロメチル-4-ニトロフェノール³⁹⁾ などがある。

近年酸性雨などによって淡水環境の酸性化が進む傾向にあり、環境レベルでの有害化学物質の影響を検討してゆく場合もこの pH との関連を無視することはできない。

Haines⁴⁰⁾ は酸性化による水系生態系への影響をまとめ、魚類では (ア) 死亡率の増加、(イ) 増殖不能、(ウ) 生長率の低下、(エ) 骨形成障害、及び (オ) 金属蓄積の増加などが起こると報告している。

McDonald⁵⁾ は水中の pH の低下によって生じる鰓での生理的な変化を次のようにまとめている。(ア) Na^+ 及び Cl^- 取り込みの阻害、(イ) Na^+ 、 Cl^- の透過流出の増加、(ウ) H^+ の透過性の増加、(エ) 粘液分泌の亢進、(オ) 粘液の凝固や沈着、(カ) ガス交換の阻害、及び (キ) 緊上皮の損傷や剥離などである。

pH の低下による鰓の形態的な変化は、pH 5.2 付近から上皮の腫れが観察され (brook trout)、⁴¹⁾ 酸性が増すと (pH 4.5) 粘液の分泌の亢進、二次鰓弁の融合や上皮細胞上の microridge 構造の消失などが起こる (sunapee trout)。⁴²⁾ Leino ら⁴³⁾ は fathead minnow (ハヤの一種) では pH 5.5—5.0 の長期曝露によって塩類細胞が増加及び変形することを報告している。塩類細胞の増加は海水への適応現象の1つであることから、この場合も酸性化した環境への適応現象とも考えられる。

魚を pH 以下の酸性下におくと、血中の pH の低下と Na^+ 及び Cl^- 濃度の減少が起こる (brook trout;⁴⁴⁾ brown trout;⁴⁵⁾ white sucker⁴⁶⁾)。pH 低下による血中の Na^+ 及び Cl^- 濃度の減少は、鰓での Na^+ 及び Cl^- の取り込みの減少と排出の増加によるためである。⁴⁷⁾ またこの Na^+ と Cl^- 濃度の減少は、水中の Ca^{2+} 濃度が高くなると軽減される。^{47,48)} 血中の pH の低下は、鰓上皮が H^+ に対して高い透過性を

持っている⁴⁹⁾ので、水中の H^+ が増加すると直ちに体中に流入するために起こると考えられる。 H^+ の増加は Na^+/H^+ の交換システムに直接影響を及ぼし、 Na^+ の取り込みを妨げる。⁴⁸⁾ H^+ の増加による鰓上皮の膜電位の変化(負→正)も Na^+ の透過性の増加に影響を及ぼしていると考えられている。⁴⁹⁾ 鰓上皮に結合している Ca^{2+} は鰓の透過性のコントロールに関与しており、酸性下では膜上皮から Ca^{2+} が流出してしまうことが膜の透過性を増加させる一因となっている。⁵⁰⁾ 魚種による低pH耐性の相違の原因の1つはこの膜- Ca^{2+} 結合の強弱にあり、^{50,51)} brown troutの鰓上皮からの硫酸による Ca^{2+} の流出は硝酸や塩酸より著しかったとの報告がある。⁵⁰⁾

酸性の水に曝露すると、鰓のイオン透過性が曝露開始時に増加するが、長時間の曝露によって減少してイオンの体外流出が軽減されるという適応現象が起こるとの報告がある(rainbow trout;⁴⁷⁾ brown trout⁵²⁾). brown troutであらかじめpH 6で6週間の馴致をしておくと、引き続いてのpH 4での曝露による Na^+ の流出を減少させるが、この馴致では致死pH値の低下は起こらず、真の低pH耐性の獲得には至らないという。⁵²⁾

pHの低下は鰓の Na^+/K^+ ATPase活性にも影響を及ぼす。若いAtlantic salmon (parr)を長期、低pH (4.2–4.7)の水で飼育すると、対照の魚(pH 6.4–6.7)で起きたsmolt化(回遊サケの生長段階を示し、parrからsmoltへの生長移行中に、海水耐性の獲得、鈍化や Na^+/K^+ ATPase活性の増加などが起こる現象)が起こらず、血漿中の Na^+ 及び Cl^- 濃度の減少とともに、 Na^+/K^+ ATPase活性が減少する。同時に死亡率の増加、体重減少が見られ、低pHによる生長阻害が著しい。⁵³⁾

酸性化にともない水中に溶存する金属が増加するが、⁴⁰⁾ 特にアルミニウム(Al)の共存は低pHによる障害を増強する。^{54–57)} Brown troutでは酸性化(pH 4.91)によって鰓の塩類細胞の増加が起こるが、Alの共存(pH 4.45, 393 $\mu g Al/l$)により、更に腫張、白血球の浸出及び上皮細胞の肥厚が起こる。⁵⁷⁾ これらの形態的な変化は、生理的な変化すなわちイオン調節障害^{55,58)} 及び呼吸効率の低下⁵⁶⁾ と一致している。

低pHとAlにより鰓の炭酸脱水酵素と Na^+/K^+ ATPaseが阻害される。⁵⁴⁾ Na^+/K^+ ATPaseの阻害により、 Na^+/H^+ の交換システムが壊れ、これによって Na^+ の取り込みと H^+ の排出が妨げられる。また炭酸脱水酵素の阻害により、 Na^+/H^+ 及び Cl^- /

HCO_3^- の交換が妨げられ、その結果 Na^+ と Cl^- の取り込みが妨げられるらしい。Alの共存により Na^+ の流出は更に増加し、⁵⁵⁾ 換気量のコントロールが阻害され、⁵⁹⁾ Alの鰓上皮への蓄積^{55,60)} が酸素の取り込みを妨害する。

Alの毒性は水中での溶存形態によっても異なる。Ramamoorthy⁶¹⁾はAl凝集剤($Al_2(SO_4)_3$)スラッジから水中へ分配する画分はpHによって異なり、魚に致死毒性をもたらす主要因は、pH 4.5では酸-Alによるストレス障害とコロイド粒子、pH 6ではコロイド粒子であり、pH 7–9で多く存在するAl(OH)₃は致死毒性を示さなかったと報告している。コロイド粒子の毒性が高いことはAlの毒性が鰓表面への蓄積によることと一致している。Palmerら⁶²⁾は塩化アルミニウム($AlCl_3$)をもちいてpH 4.5–7.5でAlの水中溶存形(Al^{3+} , $AlOH^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, $AlSO_4^+$, $Al(OH)_4^-$)に対する魚種(blue gill, channel catfish 及び fathead minnow)による感受性の相違を調べている。他の2種よりも感受性の低いblue gillでは、Alの溶存形による致死率の違いが明確に出ており、全Alのうち70%が Al^{3+} で存在するpH 4.5よりも60%が $Al(OH)_2^+$ で存在するpH 5.5の方が致死率が2倍も高かったと報告している。

Alを含む酸性の環境に対しては「酸性だけの環境」では起こらなかった適応が魚に見られる。Evansら⁶³⁾は低濃度のAlの共存下の曝露($Al < 10 \mu mol/l$, pH 4.7, 2週間)では、Alなしの曝露(pH 4.7, 2週間)で観察されるrainbow troutの鰓上皮の過形成が起こらなかったと報告している。

WoodとMcDonaldらのグループはbrook troutを用いてAl共存下での酸性環境への適応について、共通の実験条件下でさまざまな角度からの検討を行っている。^{64–66)} Al(150 $\mu g/l$), Ca^{2+} (25又は400 $\mu eq/l$)を含むpH 5.2の水での10週間の馴致により、引き続き厳しい条件での曝露(pH 4.8, $Al = 333 \mu g/l$)で起こる致死はなくなる。この馴致により、(7)低pH, 高Al濃度で起こる Na^+ の流出に対する修復が速く起こるようになり、体中の Na^+ の損失が軽減される⁶⁴⁾ こと。(4)呼吸障害、酸-塩基バランス、及びストレスなどを表わす血中の各指標値、溶存 O_2 、溶存 CO_2 , $[HCO_3^-]$, pH, Na^+ , Cl^- , グルコース、乳酸及びコルチゾールなどの変動が小さくなる⁶⁶⁾ ことなどが明らかになっている。またこの馴致により Na^+ の鰓膜を通しての輸送能力(外液の Na^+ 濃度に対する Na^+ 取り込み量の比)が増強されることか

ら、低濃度 Al による補償メカニズムの誘導が示唆されている。⁶⁶⁾

3.3 重金属の影響 水銀、亜鉛、カドミウム、銅などの重金属により、鰓は様々な形態的及び生理的变化を起こす。

水銀化合物への曝露 (塩化水銀, メチル水銀, それぞれ $0.25 \mu\text{g/l}$, 6—8 週間又は $50 \mu\text{g/l}$ で 1 週間) により rainbow trout では鰓の上皮絨毛の消失, 細胞の空胞化, 塩類細胞の退化などが起こる。⁶⁷⁾

高濃度の亜鉛 (Zn^{2+}) への曝露 (40 mg/l , 3 時間) により rainbow trout の二次鰓弁の巻き込みと浮腫が起こり, 塩類細胞には部分的な剥離と腫れが起こる。⁶⁸⁾ Zn^{2+} による影響は共存する Ca^{2+} によって緩和される。stickle back (トゲウオ) は蒸留水で調製した曝露水 ($0.5-1 \text{ mg Zn}^{2+}/\text{l}$) では 1—3 日で死亡したが, 硬水で調製した場合 ($2-6 \text{ mg Zn}^{2+}/\text{l}$) には 29 日間でも致死は起こらなかった。また蒸留水中では Zn^{2+} による鰓上皮細胞の剥離, 二次鰓弁の癒着などが起きたが, 硬水中では塩類細胞の増殖が起きた。⁶⁹⁾ 蒸留水で調製した Zn^{2+} 溶液 (1 mg/l) に 16 時間曝露した後 Zn^{2+} を含まない硬水中で 9 日間回復を図ると二次鰓弁上に塩類細胞の増加が見られたことから, Matthieson ら⁶⁹⁾ はこの硬水での生存は塩類細胞から不必要な陽イオンが排泄されるためと考えている。

カドミウム (Cd) への曝露 (3.9 及び 12.7 mg Cd/l , 163 日間) により bluegill sunfish では鰓上皮細胞の過形成及び肥大を起こす。⁷⁰⁾ また前述したように zebrafish²⁹⁾ や *Puntius conchonius*³⁰⁾ の鰓に棍棒化を起こす。

銅 (Cu^{2+}) では海水魚の winter flounder (ひらめの 1 種) の鰓に腫れと融合を起こす ($560-3200 \mu\text{g Cu}^{2+}/\text{l}$)。⁷¹⁾ 一般に海水魚での鰓の腫れが起こる頻度が淡水魚に比べて少ないのは, 淡水魚では透過性の調節の失調で水の流入が起こりやすいため, 海水魚では逆に水が浸出してしまったためと考えられている。²²⁾ このことを考え合わせると, 銅の鰓に対する影響は単に透過性に対するものだけでないことがわかる。

塩化水銀 ($1-2 \text{ mg/l}$, 4 時間又は 0.1 mg/l , 1 週間) やメチル水銀 (0.1 mg/l , 4 時間又は $5 \mu\text{g/l}$, 1 週間) の rainbow trout への曝露では, いずれの化合物によっても血中の Na^+ , Cl^- 濃度は減少した。⁷²⁾ しかし鰓の Na^+/K^+ ATPase 活性は曝露条件の 2 倍濃度にならないと減少せず, また鰓での水の取り込み量が増加していることから, この水銀によ

る血中 Na^+ と Cl^- の減少はイオン取り込みの阻害よりも水の流入の増加によると考えられている。⁷²⁾

Spry ら⁷³⁾ によると亜鉛への曝露 ($1.5 \text{ mg Zn}^{2+}/\text{l}$, 12 時間) では, rainbow trout にアシドーシス, Na^+ と Cl^- の流出及び低酸素症が起きる。より低濃度の曝露 ($0.8 \text{ mg Zn}^{2+}/\text{l}$, 3 日間) ではアシドーシスと Na^+ と Cl^- の流出が起こるが, 低酸素症は起きない。⁷⁴⁾ この低濃度, 3 日間の曝露によりおよそ 50% の致死が生じているが, 血中の Na^+ と Cl^- 濃度の変化は起きなかった。これは, イオン流出の増加だけでなく, 取り込みの増加も起きていることによる。そしてこの取り込みの増加による $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ と Na^+/H^+ の交換システムの不均衡 (Cl^- の取り込みが Na^+ の取り込みを上まわることがあるために H^+ に比べて HCO_3^- の減少が大きくなる) によってアシドーシスが生じると示唆されている。これらのことから, Zn^{2+} による致死の主要原因は酸素の輸送や利用に対する細胞レベルでの障害ではないかと推定されている。また Zn^{2+} は酵素阻害を起こし, Watson ら⁷⁵⁾ によって rainbow trout の鰓ホモジネート中の Na^+/NH_4 ATPase や Na^+/K^+ ATPase が著しく阻害される ($1-100 \text{ mg Zn}^{2+}/\text{l}$) こと, また Christensen ら⁷⁶⁾ によって channel catfish の炭酸脱水酵素への阻害 ($10^{-5}-10^{-3} \text{ mM Zn}^{2+}$) があることなどが明らかにしている。

カドミウム (Cd^{2+}) は鰓の Ca^{2+} ATPase を阻害し,⁷⁷⁾ Ca^{2+} の取り込みを低下させる⁷⁸⁾ が Ca^{2+} の流出にはほとんど影響を与えないことなどが明らかになっている。⁷⁸⁾

銅 (Cu^{2+}) への曝露により rainbow trout では血中の Na^+ と Cl^- 濃度が減少する。⁷⁹⁾ これは低濃度 ($12-50 \mu\text{g Cu}^{2+}/\text{l}$) では Na^+ と Cl^- の取り込みが阻害され, 高濃度 ($50-200 \mu\text{g Cu}^{2+}/\text{l}$) になると流出も増加するためである。⁷⁹⁾ また曝露により血中アンモニウム濃度が増加するが, これは Na^+ の取り込み阻害が $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 交換の減少と関連しているためと考えられる。⁷⁹⁾ また Cu^{2+} は Zn^{2+} と同様に鰓の Na^+/K^+ ATPase^{80,81)} や炭酸脱水酵素⁷⁶⁾ を阻害する。

従来, 鰓のイオン透過性の増大は“pH の影響”の項で述べたように Ca^{2+} の鰓上皮からの流出によると考えられてきた。^{47,48)} そして上記の Cu^{2+} による Na^+ の流出の著しい増大も Cu^{2+} が鰓上皮上の Ca^{2+} と置換するためと考えられてきた。⁷⁹⁾ Reid ら⁷⁸⁾ は Cd^{2+} , Cu^{2+} 及び H^+ が鰓での Na^+ と Ca^{2+} の取り込みと流出に与える影響を比較することによって, この問題について更に検討を行っている。その結果,

Cd^{2+} は Ca^{2+} に対する結合及び置換作用が Cu^{2+} より強いにもかかわらず、 Cd^{2+} による Na^{+} の流出の増加は Cu^{2+} による増加の3分の1程度であること。次に Cu^{2+} による Na^{+} の流出の増加は水中の Ca^{2+} 濃度やpHにほとんど影響を受けないこと。また Cu^{2+} による Na^{+} の流出の増加は H^{+} による増加よりも大きいにもかかわらず Ca^{2+} の流出への影響は H^{+} による影響よりも小さいことなどから、従来の Cu^{2+} による透過性の増大に対する考えに疑問を投じている。

海水魚 (marine flounder) でも銅への曝露 (170 $\mu\text{gCu}^{2+}/\text{l}$, 6週間) により、血中 Na^{+} と Cl^{-} 濃度の減少が起こる。⁸²⁾ Staggら⁸³⁾は、摘出灌流鰓を用いて、この鰓上皮の電位が、 Cu^{2+} 濃度によって減少することを示し、鰓でのイオン輸送を銅が阻止することを明らかにした。また鰓から分離したウワバイン感受性をもつ画分の酸素消費が Cu^{2+} によって減少することから、 Cu^{2+} は $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ そのものに作用するとしている。Crespoら⁸⁴⁾は海水馴致したkillifish (海メダカ) の口腔内の塩類細胞に富む膜組織を用いて Cu^{2+} と Zn^{2+} による膜短絡電流、電位及び抵抗の変化を調べ、電流と電位の減少は Cu^{2+} と Zn^{2+} を漿膜側に加えた時に起こることを明らかにした。そして $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ が漿膜側に存在することからも、これら金属による影響は $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ との関連が大きいことを示唆している。

3.4 有機化学物質による影響 Table Iからも明らかなように、鰓に影響を及ぼす化学物質は先に述べたpHや金属の他にも多数環境中に存在している。

DDT、ディルドリン、エンドリンなどの有機塩素系農薬、マラチオンやメチルパラチオンなどの有機リン系農薬、及びカルバメート系農薬のカルバリルなどにより、鰓上皮細胞の浮腫及び過形成などが見られる。²¹⁾ 原油の水溶性成分により粘液分泌の亢進や上皮細胞の落剥などが起き、^{27,28,85)} 界面活性剤のラウリル硫酸ナトリウム(SLS)により、鰓上皮での白血球の浸出をとともう腫れ及び上皮細胞の落剥などが起きている。⁸⁶⁾ また防黴剤の臭化メチルによる鰓上皮での白血球の浸出や細胞の壊死などが報告されている。⁸⁷⁾

有機塩素系農薬による魚への影響は淡水魚と海水魚では異なった症状を呈する。淡水魚では、rainbow troutでDDT, dicofol及びendosulfanにより急性毒性レベルよりは高濃度ではあるが、鰓の $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ 活性が低下する。⁸⁸⁾ またアルドリリンによりコイの摘出灌流鰓での Na^{+} の取り込みが低下す

る。⁸⁹⁾ 一方海水魚では northern puffer (フグの一種) でのエンドリンによる高ナトリウム血症、⁹⁰⁾ 海水馴致したウナギとkillifishではそれぞれAroclor 1221によって血中 Na^{+} の増加が起きている。⁹¹⁾ またこの海水ウナギ⁹¹⁾と海水馴致したrainbow trout⁹²⁾では、DDTにより鰓の $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ 活性が低下することが報告されている。これら有機塩素系化合物の作用部位である $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}\text{ATPase}$ は浸透圧調節のために、淡水魚では不足しがちな Na^{+} の取り込みを行い、海水魚では飲み水と一緒に摂取した過剰な Na^{+} の排出を行っているので、その阻害は淡水魚では Na^{+} 取り込みの低下、海水魚では血中 Na^{+} 濃度の増加を呈すると考えられる。

界面活性剤は鰓血管系に作用を及ぼす。直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸(LAS)は鰓上皮への強い吸着を示し、呼吸困難にともなう血球増加を引き起こす。⁹³⁾ またLASによりrainbow troutの摘出灌流鰓での水の透過性が高まる。⁹⁴⁾ Bolisら⁹⁵⁾は数種のサケの摘出灌流鰓ではLASにより血管拡張が起こり、またこの作用がプロプラノールによって阻害されるので、 β -アドレノレセプターとの関連を示唆している。Staggら⁹⁶⁾はウナギの摘出灌流鰓でSLSによりノルアドレナリン誘導の血管拡張が阻害されること、また灌流液中にノルアドレナリンが存在しない時は血管収縮を起こすことを報告している。SLSは鰓上皮細胞中の種々の酵素(acid-phosphatase, glucose-6-phosphatase, $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$, glucose-6-phosphata dehydrogenaseなど)へ影響を及ぼしている。⁹⁷⁾

4. ペンタクロルフェノール(PCP)の蓄積と排泄に及ぼす環境水中の塩濃度の影響

著者らは広塩魚を使った有機塩素化合物の取り込みと排泄に及ぼす環境水中の塩濃度の影響を調べてきたが、著者らの研究においても魚の環境水中の塩濃度の変動に対する鋭敏さを示す実験例があるので、これを紹介するとともに、鰓での環境汚染化学物質の吸収と排泄について述べる。

著者らの前総説³⁾で述べたように環境水の相違(淡水、海水)は広塩魚のテラピアやボラでのクロルデンやペンタクロルフェノール(PCP)の体内分布や毒性に異なった影響を及ぼす^{1,2)}こと。またヒメダカ(*Oryzias latipes*)を用いた実験では淡水と海水でのPCPの蓄積の相違(淡水>海水)や、排泄する抱合体(硫酸抱合体とグルクロン酸抱合体)の割合が異なることなどが明らかになっている。

海水ヒメダカでのPCPの低い蓄積はその速い排

泄に一因があり、排泄速度から求めた半減期は淡水の約 76 時間に対し海水では約 28 時間であった。この速い排泄は主としてグルクロン酸抱合体の排泄が多いことによる (Fig. 3)。海水を希釈して得た種々の塩濃度の水で調製した PCP 溶液中に淡水ヒメダカを移して 24 時間曝露した時、魚体中の PCP 濃度は Fig. 4 に示すように、塩濃度として 0.12% あたりから減少が起こり、塩濃度 0.47% では淡水曝露の 60% 近くまで減少している。また Fig. 5 に示すように、海水濃度による PCP 蓄積への影響は曝露開始後 8—24 時間あたりで現われてくる。淡水又は海水に馴致したヒメダカを 0.23—0.93% の塩濃度の海水で調製した PCP 溶液に曝露し、この曝露期間 (24 時間) 中に排泄された抱合体量を Fig. 6 に示す。塩濃度が高くなると淡水、海水のいずれに馴致した魚でも環境水中の塩濃度の増加に応じて排泄される抱合体特にグルクロナイド量が増加する。これらのことからヒメダカは曝露水中の塩濃度に対して鋭敏で迅速に反応していることがわかる。

小林ら¹⁰⁰⁾によると金魚での実験で体中に取り込んだ PCP の水中への排泄は清水移行後 24 時間で

尿から $1.2 \mu\text{mol}$ 、鰓から $3.1 \mu\text{mol}$ と鰓からの方が 2.5 倍近く多く、PCP の排泄には鰓が大きな役割を果していることがうかがえる。そして鰓はイオン調節の主要器官であるので、当然環境水中の塩濃度の変化へ対応してその働きを調整していると考えられる。したがってヒメダカでも海水の塩濃度による鰓の機能の変化が PCP の蓄積や排泄に大きな影響を及ぼしていると考えられる。

海水化による鰓の機能の変化には鰓上皮のイオン透過性の増加¹⁰¹⁾や細胞間隙での透過性の増加 (leaky "tight junction")¹⁰⁾及び塩類細胞の増加²⁰⁾などがある。しかしこれらの変化がいわゆる化学物質の吸収と排泄にどのような影響を与えているかはほとんどわかっていない。我々の実験でも環境水中の塩濃度の増加で抱合体の排泄が増加しているが、その増加の割合はグルクロン酸抱合体と硫酸抱合体では異なり (Fig. 3 及び Fig. 6) 単なる透過性の増加だけでは説明しきれないことが明らかになっている。

今後鰓での化学物質の吸収や排泄のメカニズムを更に明らかにし、この方面の研究が進むことが環境

Fig. 3. Time Course of the Excretion of PCP Metabolites to the Water by Fresh- and Seawater Killifish

After the preexposure to PCP, the fresh- and seawater fishes were transferred into the PCP-free fresh- and seawater, respectively, a) PCP accumulated in fresh- or seawater fish by preexposure. The boxes marked "S", "G" and "F" represent sulfate, glucuronide and free from of PCP, respectively.⁹⁸⁾

Fig. 4. Effect of the Salinity of Exposure Medium on the PCP Accumulation by Freshwater Killifish

The vertical bars represent S.D. from a group of fish (3 or 4) exposed to ca. 100 μg/l of PCP in each medium for 24 h.

Fig. 5. Time Course of PCP Accumulation by Freshwater Killifish Exposed to PCP (ca. 100 μg/l) Under Various Salinities

The vertical lines represent S.D. from 3 fish.

Fig. 6. The changes of PCP Conjugates Excreted to the Exposure Mediums of Various Salinities by Freshwater Killifish and Killifish Acclimated to Seawater^{a)}

The fishes were exposed to the PCP medium (ca. 90 μg/l of PCP) of different salinity for 24 h. F.W., fresh water.

汚染化学物質の魚類への影響を評価するためにも必要であるとする。

引用文献

- 1) 立川真理子, 長谷川明, 澤村良二, 武田厚司, 岡田昌二, 奈良正人, 衛生化学, **33**, 98 (1987).
- 2) 立川真理子, 澤村良二, 武田厚司, 岡田昌二, 奈良正人, 衛生化学, **33**, 405 (1987).
- 3) 立川真理子, 澤村良二, 水質汚濁研究, **11**, 681 (1988).
- 4) K. Schmidt-Nielsen, "Animal Physiology," 3rd ed., Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1983, pp.327-330.
- 5) D.G. McDonald, *Can. J. Zool.*, **61**, 691 (1983).
- 6) D.H. Evance, *Environ. Health Perspect.*, **71**, 47 (1987).
- 7) K.J. Karnaky Jr., L.B. Kinter, W.B. Kinter, C.E. Stirling, *J. Cell Biol.*, **70**, 157 (1976).
- 8) P. Claude, D.A. Goodnough, *J. Cell Biol.*, **58**, 390 (1973).
- 9) P. Laurent, S. Dunel, *Am. J. Physiol.*, **238**, R147 (1980).
- 10) C. Sardet, M. Pisam, J. Maetz, *J. Cell Biol.*, **80**, 96 (1979).
- 11) K.J. Karnaky Jr., *Amer. Zool.*, **26**, 209 (1986).
- 12) J.P. Girard, P. Payan, *Am. J. Physiol.*, **238**, R260 (1980).
- 13) D.H. Evans, *Am. J. Physiol.*, **238**, R224 (1980).

- 14) P. Payan, *J. Comp. Physiol.*, **124**, 181 (1978).
- 15) T.H. Kerstetter, L.B. Kirschner, *Comp. Biochem. Physiol.*, **48B**, 581 (1974).
- 16) A. Masoni, P. Payan, *Comp. Biochem. Physiol.*, **47A**, 1241 (1974).
- 17) P. Payan, N. Mayer-Gostan, P.K.T. Pang, *J. Exp. Zool.*, **216**, 345 (1981).
- 18) J.K. Foskett, C. Scheffey, *Science*, **215**, 164 (1982).
- 19) A. Masoni, F. Garcia-Romeu, *Z. Zellforsch.* **133**, 389 (1972).
- 20) M. Kamiya, S. Utida, *Comp. Biochem. Physiol.*, **31**, 671 (1969).
- 21) T.R. Meyers, J.D. Hendricks, *Mar. Fish. Rev.*, **44**, 1 (1982).
- 22) J. Mallatt, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **42**, 630 (1985).
- 23) 福田芳生, 千葉衛研報告, **11**, 1 (1987).
- 24) R.V. Thurston, R.C. Russo, R.J. Luedtke, C.E. Smith, E.L. Meyn, C. Chakoumakos, K.C. Wang, C.J.D. Brown, *Trans. Am. Fish. Soc.*, **113**, 56 (1984).
- 25) S.J. Mitchell, J.J. Cech Jr., *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**, 242 (1983).
- 26) A.E. Lemke, D.I. Mount, *Trans. Am. Fish. Soc.*, **92**, 372 (1963).
- 27) M.A. Solangi, R.M. Overstreet, *J. Fish Dis.*, **5**, 13 (1982).
- 28) W.E. Haensly, J.M. Neff, J.R. Sharp, A.C. Morris, M.F. Bedgood, P.D. Boem, *J. Fish Dis.*, **5**, 365 (1982).
- 29) L. Karlsson-Norrgren, P. Runn, C. Haux, L. Forlin, *J. Fish Biol.*, **27**, 81 (1985).
- 30) T.S. Gill, J.C. Pant, H. Tewari, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **15**, 153 (1988).
- 31) L.L. Eller, *Am. J. Pathol.*, **64**, 321 (1971).
- 32) G. Wobeser, *J. Fish. Res. Board Can.*, **32**, 2015 (1975).
- 33) A.K. Kumaraguru, F.W.H. Beamish, H.W. Ferguson, *J. Fish Biol.*, **20**, 87 (1982).
- 34) P.E. Benville, C.E. Smith, W.E. Shanks, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **12**, 156 (1968).
- 35) J. Saarikoski, M. Viluksela, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **10**, 747 (1981).
- 36) K.G. Doe, W.R. Ernst, W.R. Parker, G.R.J. Julien, P.A. Henniger, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 287 (1988).
- 37) M.R. Speyer, P. Raymond, *Environ. Toxicol. Chem.*, **7**, 565 (1988).
- 38) K. Kobayashi, T. Kishino, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 167 (1980).
- 39) J.B. Hunn, J.L. Allen, *Ann. Rev. Pharmacol.*, **14**, 47 (1974).
- 40) T.A. Haines, *Trans. Am. Fish. Soc.*, **110**, 669 (1981).
- 41) P.G. Daye, E.T. Garside, *Can. J. Zool.*, **54**, 2140 (1976).
- 42) C.H. Jagoe, T.A. Haines, *Trans. Am. Fish. Soc.*, **112**, 689 (1983).
- 43) R.L. Leino, J.H. McCormick, *Cell Tissue Res.*, **236**, 121 (1984).
- 44) R.K. Packer, W.A. Dunson, *J. Exp. Zool.*, **174**, 65 (1970).
- 45) P.G. McWilliams, *J. Exp. Biol.*, **88**, 259 (1980).
- 46) H. Høbe, C.M. Wood, B.R. McMahon, *J. Comp. Physiol.*, **B154**, 35 (1984).
- 47) D.G. McDonald, *J. Exp. Biol.*, **102**, 123 (1983).
- 48) D.G. McDonald, R.L. Walker, P.R.H. Wilkes, *J. Exp. Biol.*, **102**, 141 (1983).
- 49) P.G. McWilliams, W.T.W. Potts, *J. Comp. Physiol.*, **126**, 277 (1978).
- 50) P.G. McWilliams, *Comp. Biochem. Physiol.*, **74A**, 107 (1983).
- 51) J. Freda, D.G. McDonald, *J. Exp. Biol.*, **136**, 243 (1988).
- 52) P.G. McWilliams, *J. Exp. Biol.*, **88**, 269 (1980).
- 53) R.L. Saunders, E.B. Henderson, P.R. Harmon, C.E. Jhonston, J.G. Eales, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40**, 1203 (1983).
- 54) M. Staurnes, T. Sigholt, O.B. Reite, *Experientia*, **40**, 226 (1984).
- 55) C.E. Booth, D.G. McDonald, B.P. Simons, C.M. Wood, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1563 (1988).
- 56) C.M. Wood, R.C. Playle, B.P. Simons, G.G. Goss, D.G. McDonald, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1575 (1988).
- 57) J.E. Tietge, R.D. Jhonson, H.L. Bergman, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1643 (1988).
- 58) J.C. Battram, *J. Fish Biol.*, **32**, 937 (1988).
- 59) R.L. Walker, C.M. Wood, H.L. Bergman, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1614 (1988).

- 60) J.H. Youson, C.M. Neville, *Can. J. Zool.*, **65**, 647 (1987).
- 61) S. Ramamoorthy, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 634 (1988).
- 62) R.E. Palmer, R.J. Klauda, T.E. Lewis, *Environ. Toxicol. Chem.*, **7**, 505 (1988).
- 63) R.E. Evans, S.B. Brown, T.J. Hara, *Environ. Biol. Fishes*, **22**, 299 (1988).
- 64) C.M. Wood, D.G. McDonald, C.E. Booth, B.P. Simons, C.G. Ingersoll, H.L. Bergman, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1587 (1988).
- 65) C.M. Wood, B.P. Simons, D.R. Mount, H.L. Bergman, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1597 (1988).
- 66) D.G. McDonald, C.L. Milligan, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1606 (1988).
- 67) K.R. Olson, P.O. Fromm, W.L. Frantz, *Fed. Proc.* **32**, 261 (1973).
- 68) J.F. Skidmore, P.W.A. Tovell, *Water Res.*, **6**, 217 (1972).
- 69) P. Matthiessen, A.E. Brafield, *J. Fish Biol.*, **5**, 607 (1973).
- 70) D.J. Versteeg, J.P. Giesy, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **11**, 31 (1986).
- 71) J.T.P. Baker, *J. Fish. Res. Board. Can.*, **26**, 2785 (1969).
- 72) R.A.C. Lock, P.M.J.M. Cruijsen, A.P. van Overbeeke, *Comp. Biochem. Physiol.*, **68C**, 151 (1981).
- 73) D.J. Spry, C.M. Wood, *J. Comp. Physiol.*, **B154**, 149 (1984).
- 74) D.J. Spry, C.M. Wood, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **42**, 1332 (1985).
- 75) T.A. Watson, F.W.H. Beamish, *Comp. Biochem. Physiol.*, **68C**, 167 (1981).
- 76) G.M. Christensen, J.H. Tucker, *Chem.-Biol. Interact.*, **13**, 181 (1976).
- 77) S.K. Bansal, R.C. Murphy, S.V. Chandra, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **9**, 373 (1985).
- 78) S.D. Reid, D.G. McDonald, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 244 (1988).
- 79) D.J. Lauren, D.G. McDonald, *J. Comp. Physiol.*, **B155**, 635 (1985).
- 80) D.J. Lauren, D.G. McDonald, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **44**, 105 (1987).
- 81) B.R. Beckman, W.S. Zuagg, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **45**, 1430 (1988).
- 82) R.M. Stagg, T.J. Shuttleworth, *J. Fish Biol.*, **20**, 491 (1982).
- 83) R.M. Stagg, T.J. Shuttleworth, *J. Comp. Physiol.*, **149**, 83 (1982).
- 84) S. Crespo, K.J. Karnaky Jr., *J. Exp. Biol.*, **102**, 337 (1983).
- 85) M.S. Prasad, *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, **15**, 535 (1987).
- 86) P.D. Abel, J.F. Skidmore, *Water Res.*, **9**, 759 (1975).
- 87) J.H.L. Segers, J.H.M. Temmink, J.H.J. van den Berg, R.C.C. Wegman, *Water Res.*, **18**, 1437 (1984).
- 88) P.W. Davis, G.A. Wedemeyer, *Comp. Biochem. Physiol.*, **40B**, 823 (1971).
- 89) R.K. McBride, B.D. Richards, *Comp. Biochem. Physiol.*, **51C**, 105 (1975).
- 90) R. Eisler, P.H. Edmunds, *Trans. Am. Fish. Soc.*, **95**, 153 (1966).
- 91) W.B. Kinter, L.S. Merckens, R.H. Janicki, A.M. Guarino, *Environ. Health Perspect.*, **1**, 169 (1972).
- 92) T.P. Leadem, R.D. Campbell, D.W. Jhonson, *Comp. Biochem. Physiol.*, **49A**, 197 (1974).
- 93) 富山新一, 日本水産学会誌, **40**, 1291 (1974).
- 94) W.F. Jackson, P.O. Fromm, *Comp. Biochem. Physiol.*, **58C**, 167 (1977).
- 95) L. Bolis, J.C. Rankin, *J. Fish Biol.*, **13**, 543 (1978).
- 96) R.M. Stagg, J.C. Rankin, L. Bolis, *Environ. Poll. (Series A)*, **24**, 31 (1981).
- 97) D. Roy, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **17**, 67 (1989).
- 98) M. Tachikawa, A. Hasegawa, R. Sawamura, A. Takeda, S. Okada, Y. Kawazoe, M. Nara, The Japanese-United States Congress of Pharmaceutical Sciences, Honolulu, Hawaii, 1987.
- 99) 立川真理子, 澤村良二, 武田厚司, 岡田昌二, 奈良正人, 日本薬学会 第109年会, 名古屋, 1989年.
- 100) K. Kobayashi, N. Nakamura, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **45**, 1185 (1979).
- 101) W.T.H. Potts, D.H. Evans, *Biol. Bull.*, **133**, 411 (1967).