[Jpn. J. Toxicol. Environ. Health]
衛生化学 (1993)
39 (3) 219-225

妊娠ラットに投与したジブチルスズジアセテートの 胎児移行の有無について

仲村智子, 野田 勉, 斉藤 穰, 森田 茂
大阪市立環境科学研究所

Determination of Di- and Mono-*n*-Butyltin Compounds in Fetuses and Some Organs from Pregnant Rats Treated with Di-*n*-Butyltin Diacetate

TOMOKO NAKAMURA, TSUTOMU NODA, MINORU SAITOH and SHIGERU MORITA
*Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences,
8-34, Tojo-cho, Tennoji-ku,
Osaka 543, Japan*

(Received October 9, 1992)

By the use of capillary gas chromatograph with flame photometric detection, di-*n*-butyltin (DBT) and mono-*n*-butyltin (MBT) compounds in the fetus, placenta, maternal liver, kidney, spleen, and thymus from pregnant Wistar rats were determined on day 18 of gestation after oral treatment with di-*n*-butyltin diacetate at doses of 0, 1.7, 5.0 or 15.0 mg/kg/day on days 7 to 17 of gestation. Treatment with DBT caused malformations such as cleft mandible, cleft lower lip, ankyloglossia, schistoglossia. Concentrations of DBT and its metabolite MBT increased in the fetus and placenta and the maternal organs in a dose-dependent manner. DBT and MBT concentrations in the fetus and placenta were less than those in the maternal tissues. DBT was high in the liver and kidney and MBT was high in the kidney and thymus.

It is clear that DBT given to pregnant rats can be transferred to fetuses *via* placenta.

Keywords — di-*n*-butyltin; fetus; distribution; mono-*n*-butyltin; teratogenicity; GC-FPD

緒 言

ジブチルスズ化合物は、1930年代に塩化ビニル樹脂の安定剤として開発されて以来、ウレタンフォームの製造触媒やエポキシ樹脂の硬化剤などとしてその用途を広げ、未だに大量に使用されている。その結果、最近では都市の下水処理場の汚泥や処理場に流入する下水原水、¹⁾放流水²⁾からジブチルスズ化合物が検出される事態となっている。一方、トリブチルスズ化合物は、微生物や水生生物に対して強い毒性を有することから、船底塗料や魚の養殖用イケス網の防汚剤等に大量に使用され、そのために環境水を汚染し、カキ等の養殖事業に大きな打撃を与え社会的な注目を浴びた。^{3,4)} その結果、これらのトリ

ブチルスズ化合物は世界的に使用制限の措置が取られるようになったものの、最近の環境水や底質のモニタリングでは、水中の濃度は確かに減少しているが、底質中の濃度に著明な減少は認められていない。^{5,6)} また、同時にトリブチルスズ化合物の分解物でもあるジブチルスズ、モノブチルスズ化合物についても水質、底質及び魚介類から検出されている。

有機スズ化合物の毒性については種々の方向から検討されている。その中で胎児に及ぼす影響に関してはビストリブチルスズオキサイド、⁷⁾トリブチルスズ^{8,9)}及びトリフェニルスズ^{10,11)}等について行われているが、これらは胎児に対する強い致死毒性を有するものの催奇形性は認められていない。我々はラットを用いてジブチルスズジアセテートの全妊娠

期間¹²⁾及び器官形成期投与¹³⁾による催奇形作用を検討し、下顎裂、下唇裂、舌癒着又は舌裂、及び下顎骨固定不全、肋骨癒合等の外表及び骨格奇形が発生することを報告した。また、ジブチルスズジクロライド¹⁴⁾についても同様の奇形発生が報告されている。有機スズを妊娠動物に投与したときの胎児への移行に関しては、ビストリブチルスズオキサイド⁷⁾及びジメチルスズ¹⁵⁾について報告されているが、これらの報告ではいずれも無機スズとして測定されていることからスズの移行形態は不明である。そこで今回、ジブチルスズジアセテートの催奇形作用に関する研究の一環として、妊娠ラットを用いて器官形成期に経口投与したときの妊娠18日におけるブチルスズ化合物の胎児移行の有無及び母獣臓器中濃度を明らかにすることを試みた。

ブチルスズ化合物の測定法については、数多くの測定法¹⁶⁻¹⁸⁾が発表されているが、哺乳動物組織中のブチルスズ化合物の測定法に関する報告はわずかである。^{19,20)}我々は今回、ラット組織中の三種のブチルスズ化合物(モノ、ジ及びトリ体)の同時定量法について検討し、それを用いてジブチルスズジアセテートを投与したときの胎児及び妊娠動物臓器中のブチルスズ化合物の定量を行った。

実験方法

1. 試薬 モノブチルスズトリクロライド(MBT)は東京ファインケミカル製、ジブチルスズジアセテート(DBT)は東京化成製、トリブチルスズジアセテート(TBT)は和光純薬工業製、トロポロンはAldrich Chem. Co.製を用いた。*n*-プロピルマグネシウムブロミド(THF中2 mol/l含有)は東京化成製を用いた。メタノール、ベンゼン、ヘキサン等の溶剤と無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用を用いた。塩酸、硫酸は有害金属測定用を用いた。食塩は試薬特級品を用いた。

10%含水シリカゲルカラムは以下に従って調製した。カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(Davison Chem. Co. F. C.)を130°Cで3時間活性化した後、冷却後、シリカゲルに対し10%(V/W)になるよう蒸留水を加え、時々振り混ぜながら一昼夜放置した。この10%含水シリカゲル3gをヘキサン20 mlに懸濁させ、内径10 mmのテフロンコック付カラムに充填した。カラム上層に無水硫酸ナトリウム1gを積層し、ヘキサン20 mlを流した。

2. ガスクロマトグラフィー(GC)用標準液の調製 MBT、DBT及びTBTの100 µg/ml混合ベ

ンゼン溶液を調製し、希釈して種々の濃度(0.1 µg/ml—5 µg/ml)の標準液を調製した。これらの標準液各1 mlに*n*-プロピルマグネシウムブロミド3 mlを加え、30分間室温で反応させた。1N硫酸10 mlを加えて反応を停止させた後、ヘキサン5 mlで2回抽出し10%食塩水10 mlで2回洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。この溶液をロータリーエバポレーターで約3 mlまで濃縮し、ヘキサンを加えて10.0 mlとしたものをGC用標準液とした。

3. 胎児及び母獣臓器の採取 妊娠18日のラットの胎児及び胎盤と母獣の肝臓、腎臓、脾臓及び胸腺を試料とした。これらの試料を得るために以下の実験を行った。

雌雄とも生後4週齢のJcl: Wistar系ラットを購入し、予備飼育の後、生後11週齢から実験に供した。膈垢中に精子の確認された雌動物を妊娠動物とし、その日を妊娠0日と起算した。1群の妊娠動物数は6匹として4群で行った。動物は温度23±2°C、湿度60±10%、点灯12時間の環境下で飼育し、予備飼育及び試験期間中はオリエンタル固形飼料NMFを与えた。飲料水は水道水を与えた。

ジブチルスズジアセテートの投与量は15.0 mg/kgを最大用量とし、さらに公比3で減少する2用量(5.0及び1.7 mg/kg)とした。投与に際しては投与液量を2.0 ml/kgとしてDBTを所定の投与量となるように局方オリブ油に溶解し、毎日体重を測定して投与液量を求め1日1回ゾンデを用いて強制経口投与した。投与期間は胎児の器官形成期とされている妊娠7日から17日までの11日間とした。また、対照群には同様の方法で局方オリブ油2.0 ml/kgを投与した。妊娠18日(最終投与後1日目)に動物をエーテル麻酔により致死させた後、胎児、胎盤、妊娠動物の肝臓、腎臓、脾臓及び胸腺を摘出して重量を測定後分析用試料として冷凍保存した。胎児については外表異常の有無及び性別を調べた。なお、添加回収実験のための組織には無処置の胎児及び肝臓を用いた。

4. 試料の処理法 生体試料はChart 1に示した方法によって処理した。すなわち、ラットの胎児及び組織約0.5—2 gを精秤し、メタノール10 mlを加えてホモジナイズしたものに更にメタノール20 ml及び濃塩酸9 mlを加えて15分間振とうした後、3000 rpmで5分間遠心分離した。上澄液を分取し、沈澱物について再度この操作を繰り返した後、先の上澄液と合わせて40 mlまで濃縮した。濃縮液に10%食塩水を100 ml加え、0.05%トロポロン含有ベ

Chart 1. Schematic Diagram for the Analysis of Mono-, Di- and Tri-*n*-butyltin Compounds in Rat Tissues

ンゼン 50 ml で 2 回抽出した。抽出液を 10% 食塩水 50 ml で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで脱水、濃縮し、*n*-プロピルマグネシウムブロミド 3 ml を加え、室温で 30 分間放置しプロピル化した。その後、1 N 硫酸 30 ml を加えて反応を停止し、ベンゼン 20 ml で抽出した後、洗浄、脱水し、アセトニトリルに転溶させた。アセトニトリル溶液に 10% 食塩水 50 ml を加え、ヘキサン 50 ml で 2 回抽出、脱水した後、5 ml まで濃縮した。この濃縮液を 10% 含水シリカゲ

ルカラムに導入した後、ヘキサン 20 ml で溶出させ、3 ml まで濃縮しヘキサンを加え 10.0 ml として GC 用試験溶液とした。

5. 装置及び測定条件 装置：HP-5890 A (ヒューレット パッカード)，カラム：DB-1 (0.53 mm×15 m，膜厚 1.5 μm)，カラム温度：80°C (1 min) から 250°C (7.5 min) まで 20°C/min で昇温分析，検出器温度：270°C，注入モード：オンカラム，注入量：2 μl，検出器：炎光光度検出器 (FPD)，スズフィルター (610 nm) 使用，キャリアーガス及び助燃ガス：He 10 ml/min，H₂ 75 ml/min，air 100 ml/min，make up gas (N₂) 40 ml/min。

結果と考察

1. 分析法の検討

有機スズ化合物の分析は、現在はキャピラリーGC-FPD を用いる方法が有機スズ化合物検出法の主流となっている。今回、生体試料中のモノ、ジ及びトリブチルスズ化合物の同時微量分析法を検討した。この方法は、トロポロン-ベンゼンで MBT，DBT 及び TBT を抽出し、グリニヤール試薬でプロピル化した後、10% 含水シリカゲルで精製するもので、生体成分とグリニヤール試薬由来の夾雑物を同時に除くことが可能である。

MBT，DBT 及び TBT の標準品についてグリニヤール試薬でプロピル化したもののガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。それぞれの保持時間は 7.10 分，7.64 分，8.15 分で分離良好なピークが得られた。検量線は、ブチルスズ化合物の量とクロマトグラムのピーク高の間に 0.01–0.5 μg/ml の範囲で原点を通る良好な直線性が認められた。SN 比 3 のレベルのピーク高が得られる検量線濃度より検出限界を求めると、いずれも酢酸塩として DBT 及び TBT は 9.2 pg，MBT は 11.5 pg (Sn として 3.1–3.9 pg) であった。

ラット胎児及び母獣の肝臓を用いたブチルスズ化合物の添加回収実験の結果を Table I に示した。試料をホモジナイズした直後に 3 種のブチルスズ化合物をそれぞれ 0.46 μg 添加し、その後の処理は Chart 1 に従って行った。得られたガスクロマトグラムは、Fig. 1 の標準品の場合と同様、分離良好なピークが得られ、妨害ピークも認められなかった。回収率は胎児で DBT 95.7%，MBT 94.8%，TBT 90.0% であり、肝臓で DBT 87.9%，MBT 73.6%，TBT 70.4% であった。回収率は胎児では良好な結果となり、肝臓のように胎児よりも脂

Fig. 1. Typical Gas Chromatogram of Propylated *n*-Butyltin Compounds (0.046 µg/ml) for Standard

肪が多く組成の複雑な組織では若干少ない結果となったが、生体試料からの回収率としてはほぼ満足のいく結果であった。胎児及び肝臓での検出限界は、いずれのブチルスズ化合物も酢酸塩として 10–12.5 ng/g (Sn として 3.4–4.2 ng/g) であり、これまで報告^{21–23)} されている魚介類中の添加回収実験と同程度の良好な回収率が得られた。

次に、DBT を投与した妊娠ラットの胎児及び母獣の肝臓を Chart 1 に従って処理し、MBT 及び DBT の濃度を測定した時のガスクロマトグラムを Fig. 2 に示した。Fig. 1 に示した標準品の場合と同様、分離の良好なピークが得られ、本法は実際の生体試料からの分析も可能であることが明らかとなった。

2. ブチルスズ化合物の胎児及び妊娠ラット臓器への分布

妊娠ラットに DBT を妊娠 7 日から妊娠 17 日まで連続経口投与し、妊娠 18 日に帝王切開し、胎児、胎盤、母獣の肝臓、腎臓、脾臓及び胸腺の重量を測

Fig. 2. Typical Gas Chromatogram of Propylated *n*-Butyltin Compounds in Fetus (A) and Maternal Liver (B) from a Pregnant Rat Treated Orally with DBT (15 mg/kg) during Days 7–17 of Gestation

定した。

生存胎児の外表観察の結果を Table II に示した。観察された奇形として、5.0 mg/kg 投与群で 1 例の

TABLE I. Recovery of *n*-Butyltin Compounds from Rat Fetus and Maternal Liver

Compound	Amount added (µg of butyltin compound)	Recovery (%) ^{a)}	
		Fetus	Maternal Liver
MBT ^{b)}	0.46	94.8±18.87	73.6± 11.40
DBT ^{c)}	0.46	95.7±19.55	87.9± 7.72
TBT ^{d)}	0.46	90.0±14.96	70.4± 4.14

a) mean±S.D., *n*=6(fetus), *n*=7(maternal liver), b) mono-*n*-butyltin compound,

c) di-*n*-butyltin compound, d) tri-*n*-butyltin compound.

TABLE II. External Observations of Fetuses from Dams Treated Orally with Di-*n*-butyltin Diacetate (DBT) During Days 7–17 of Gestation

	Olive oil 2.0ml/kg	DBT(mg/kg)		
		1.7	5.0	15.0
No. of fetuses examined	71	69	76	51
Incidence of fetuses with malformation (%)	0	0	5.6 (2)	17.9 (2)
No. of fetuses with malformation	0	0	4 (2)	2 (2)
Cleft mandible, cleft lower lip, ankyloglossia or schistoglossia	0	0	3 (1)	2 (2)
Anury	0	0	1 (1)	0

The litter was used as the statistical unit for calculation of fetal values. Thus, these values represent means of litter means within each group.

(): No. of dams with the corresponding abnormal fetuses.

TABLE III. Effects of Di-*n*-butyltin Diacetate (DBT) on Maternal Organ Weights on Day 18 of Gestation

	Olive oil 2.0ml/kg	DBT (mg/kg)		
		1.7	5.0	15.0
Body wt. (g)	288 ± 19.0	290 ± 19.9	281 ± 16.2	259 ± 17.5 ^{a)}
Liver wt. (g)	11.9 ± 0.50	12.3 ± 1.07	12.1 ± 1.21	10.9 ± 1.01
Kidney wt. (g)	1.69 ± 0.166	1.63 ± 0.266	1.71 ± 0.151	1.67 ± 0.169
Spleen wt. (mg)	691 ± 52.6	576 ± 64.0 ^{b)}	608 ± 57.6 ^{a)}	565 ± 48.1 ^{b)}
Thymus wt. (mg)	216 ± 29.7	140 ± 27.2 ^{b)}	76 ± 10.1 ^{b)}	55 ± 16.1 ^{b)}

Pregnant rats were treated orally with DBT in olive oil during days 7–17 of gestation, and were sacrificed on day 18 of gestation.

Values are means ± standard deviations of 6 animals per group.

a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

b) Significantly different from control, $p < 0.01$.

母獣から下唇裂及び舌癒着の合併奇形が3例、別の1例の母獣から無尾が1例認められ、また15.0 mg/kg 投与群では2例の母獣から下唇裂及び舌癒着の合併奇形が1例、下顎裂、舌裂及び舌癒着の合併奇形が1例認められた。下顎裂、下唇裂、舌裂あるいは舌癒着はDBTに特徴的な奇形^{12,13)}であり、今回の実験でもそれが確認された。

妊娠18日の母獣の体重と臓器重量をTable IIIに示した。15.0 mg/kg 投与群では体重の減少が見られたが、これは1腹あたりの生存胎児数の減少を反映していると考えられる。臓器重量で最も強い影響が見られたのは胸腺重量で、1.7 mg/kg 投与群でも著明な減少が見られ、さらに投与量の増加に伴って減少した。胸腺は非妊娠動物²⁴⁾及び妊娠動物¹³⁾のいずれにおいてもDBTの最も感受性の高い組織として知られている。今回得られた結果はこれらの結果とほぼ同様のものではあった。

妊娠18日の胎児、胎盤及び母獣臓器中のMBT及びDBTの濃度を測定した結果を、Table IVに示した。妊娠ラットにDBTを妊娠7日から妊娠17日

まで連続経口投与したとき、胎児及び胎盤中のDBTは投与量の増加に伴って増加し、その代謝物であるMBTも確認された。胎児中のDBT及びMBT濃度を胎盤中の濃度と比較するとDBTでは胎盤中の濃度の約60%、MBTは約25%であった。また、これらの組織中のDBTとMBT濃度の相関をみると、胎児では相関係数が0.179、胎盤では0.570であった。これらのことから極性の高いMBTはDBTよりも胎盤の通過が困難なものと推察されるが、胎児中のMBTがすべて親動物から胎盤を経由してきたのか、胎児中でDBTから代謝されてできたものかについては更に検討が必要である。有機スズ化合物を妊娠動物に投与したときのスズの胎児への移行に関してはヒストリブチルスズオキサイド⁷⁾及びジメチルスズ¹⁵⁾について報告されており、いずれも胎盤を経由して胎児へ移行するとされている。しかし、これらの報告では胎児中のスズが無機スズとして測定されていることから移行したスズの形態については不明であった。今回、妊娠動物に投与したDBTが胎児に移行すること、そし

TABLE IV. Mono-*n*-butyltin (MBT) and Di-*n*-butyltin (DBT) Concentrations ($\mu\text{g/g}$) in Fetuses and Pregnant Rat Organs

		Olive oil 2.0 ml/kg	DBT dose (mg/kg)		
			1.7	5.0	15.0
Fetus	MBT	0.01 $\pm$ 0.02	0.11 $\pm$ 0.08	0.10 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.05
	DBT	0.01 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.09
Placenta	MBT	0.06 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.07	0.38 $\pm$ 0.16	0.78 $\pm$ 0.44
	DBT	0.05 $\pm$ 0.07	0.20 $\pm$ 0.14	0.26 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.16
Liver	MBT	0.13 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.12	0.49 $\pm$ 0.14	0.91 $\pm$ 0.27
	DBT	0.03 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.25	1.78 $\pm$ 0.39	3.70 $\pm$ 1.75
Kidney	MBT	0.18 $\pm$ 0.13	1.17 $\pm$ 0.22	2.09 $\pm$ 0.45	2.46 $\pm$ 0.41
	DBT	ND	1.22 $\pm$ 0.26	2.43 $\pm$ 0.74	3.59 $\pm$ 1.28
Spleen	MBT	0.02 $\pm$ 0.05	0.32 $\pm$ 0.16	0.43 $\pm$ 0.07	0.77 $\pm$ 0.20
	DBT	ND	0.18 $\pm$ 0.13	0.31 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.29
Thymus	MBT	0.24 $\pm$ 0.07	0.58 $\pm$ 0.21	1.05 $\pm$ 0.17	2.30 $\pm$ 0.89
	DBT	ND	ND	ND	0.86 $\pm$ 0.74

Pregnant rats were treated orally with di-*n*-butyltin diacetate (DBT) during days 7–17 of gestation, and were sacrificed on day 18 of gestation.

Values are means $\pm$ standard deviations of 4–10 samples.

ND represents “not detected”, and detection limit is 0.01 $\mu\text{g/g}$ of organ as acetate.

てその代謝物である MBT も胎児中に存在することが確認できたことは、DBT の催奇形作用と合わせて考えたとき興味深い。なお、MBT については催奇形性が認められていない¹³⁾ ことから催奇形性との関連からは胎児中の DBT 濃度が問題となると思われる。しかし、今回の実験では DBT 15.0 mg/kg 投与群の外表面奇形胎児 2 例の DBT 濃度は 0.254 及び 0.229 $\mu\text{g/g}$ であり、同じ投与群で外表が正常な他の胎児の DBT 濃度 (平均 0.248 $\mu\text{g/g}$) と比べて大きな差はなかった。今回の実験では催奇形の作用日が判明していなかったため DBT を 11 日間連続投与したが、催奇形の誘発時期は一般的には 1–3 日間程度の場合が多く、器官形成期全体にわたって DBT を投与したことが明確な差の出なかった原因かもしれない。奇形発現と胎児中の DBT 濃度の関係を更に検討する必要がある。

妊娠動物の肝臓、腎臓、脾臓及び胸腺から DBT と MBT が検出された。また、いずれの組織においても DBT の投与量の増加に伴って、DBT 及び MBT の検出量が増加した。これらの臓器の DBT と MBT 濃度の相関をみると、相関係数は肝臓で 0.945、腎臓で 0.873、胸腺で 0.820、脾臓で 0.904 であり、胎児及び胎盤と比較すると非常に高い相関係数が得られた。これらの臓器の DBT 濃度は肝臓及び腎臓で高く、MBT 濃度は腎臓及び胸腺で高かった。Ishizaka *et al.*¹⁹⁾ は DBT の非妊娠ラットにおける代謝を検討し、DBT の腹腔内投与後、尿中に DBT 及びその

3 位の水酸化体の排泄に続いて MBT が高濃度に排泄されることを報告している。腎臓の MBT 濃度が高いことは MBT の極性の高さに関連しているものと推察される。胸腺については他の臓器と異なり、DBT 1.7 及び 5.0 mg/kg 投与群では DBT が検出されず、15.0 mg/kg 投与群では DBT が検出されたものの MBT より低濃度であった。胸腺は DBT の標的臓器の一つでこの化合物による胸腺萎縮が知られており、今回の実験でも著明な胸腺萎縮が認められた。しかし、MBT には胸腺萎縮作用は認められず、¹³⁾ 胸腺における MBT 及び DBT の挙動が何に起因するのかは更に検討する必要がある。

対照群 (局方オリブ油投与群) でもごく低濃度であるが MBT 及び DBT が検出された。ラットの飼料についてブチルスズ化合物の定量を試みたが、飼料中のブチルスズ化合物は検出限界以下であった。しかし実験動物用固形飼料には魚粉が使用されていることから、ごく微量のブチルスズ化合物が混入している可能性は否定できない。また、水道の塩化ビニル製パイプ由来のブチルスズ化合物の混入も否定できない。

ま と め

動物組織中からの MBT、DBT 及び TBT の同時微量分析法を検討し、その方法を用いて DBT を経口投与した妊娠ラットから胎児へのブチルスズ化合物の移行の有無と、胎盤及び妊娠動物の肝臓、腎臓、

脾臓及び胸腺中のブチルスズ化合物の濃度を測定した。その結果、胎児中に DBT 及び MBT が検出され、ブチルスズ化合物の胎児への移行が確認された。また、胎児を含む測定したすべての組織から DBT とその代謝産物である MBT が検出され、DBT の

投与量の増加に伴って DBT 及び MBT の検出量も増加した。しかし、今回の結果からは催奇形作用と胎児中の DBT 濃度の間に明確な関連は認められなかった。

引用文献

- 1) K. Fent, *Marine Environ. Res.*, **28**, 477 (1989).
- 2) L. Schebek, M.O. Andreae, H.J. Tobschall, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 871 (1991).
- 3) World Health Organization, "Environmental Health Criteria 116, Tributyltin Compounds" WHO, Geneva, 1990, p.83.
- 4) C. Alzieu, *Marine Environ. Res.*, **32**, 7 (1991).
- 5) J.J. Cleary, *Marine Environ. Res.*, **32**, 213 (1991).
- 6) M.E. Waite, M.J. Waldock, J.E. Thain, D.J. Smith, S.M. Milton, *Marine Environ. Res.*, **32**, 89 (1991).
- 7) A. Davis, R. Barale, G. Brun, R. Forster, T. Günther, H. Hautefeuille, C.A. van der Heijden, A.G. A.C. Knaap, R. Krowke, T. Kuroki, N. Loprieno, C. Malaveille, H.J. Merker, M. Monaco, P. Mosesso, D. Neubert, H. Norppa, M. Sorsa, E. Vogel, C.E. Voogd, M. Umeda, H. Bartsch, *Mutat. Res.*, **188**, 65 (1987).
- 8) T. Noda, S. Morita, T. Yamano, M. Shimizu, T. Nakamura, M. Saitoh, A. Yamada, *Toxicol. Lett.*, **55**, 109 (1991).
- 9) T. Itami, M. Ema, H. Amano, T. Murai, H. Kawasaki, *Drug Chem. Toxicol.*, **13**, 283 (1990).
- 10) E. Giavini, M. Prati, C. Vismara, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, 936 (1980).
- 11) T. Noda, S. Morita, T. Yamano, M. Shimizu, A. Yamada, *Toxicol. Lett.*, **56**, 207 (1991).
- 12) 野田 勉, 森田 茂, 清水 充, 山野哲夫, 山田明男, 大阪市環境科研報告, **50**, 66 (1988).
- 13) T. Noda, T. Yamano, M. Shimizu, M. Saitoh, T. Nakamura, A. Yamada, S. Morita, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **23**, 216 (1992).
- 14) M. Ema, T. Itami, H. Kawasaki, *Toxicol. Lett.*, **58**, 347 (1991).
- 15) E.A. Noland, P.T. McCauley, R.J. Bull, *J. Toxicol. Environ. Health.*, **12**, 89 (1983).
- 16) 中島晴信, 堀伸二郎, 岩上正蔵, 中澤裕之, 藤田昌彦, 分析化学, **36**, 867 (1987).
- 17) 斎藤 穰, 仲村智子, 大宮季宏, 山田明男, 生活衛生, **32**, 11 (1988).
- 18) R.J. Maguire, *Water Poll. Res. J. Canada.*, **26**, 243 (1991).
- 19) T. Ishizaka, T. Suzuki, Y. Saito, *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 1096 (1989).
- 20) 鈴木 隆, 松田りえ子, 斎藤行生, 第 63 回食品衛生学会講演要旨集, 東京, 1992, p.47.
- 21) 飯島正雄, 星野庸二, 能勢憲英, 衛生化学, **37**, 296 (1991).
- 22) S. Ohhira, H. Matsui, *J. Chromatogr.*, **566**, 207 (1991).
- 23) A.D. Uhler, G.S. Durell, A.M. Spellacy, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **47**, 217 (1991).
- 24) W. Seinen, J.G. Vos, I. van Spanje, M. Snoek, R. Brands, H. Hooykaas, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **42**, 197 (1977).