カドミウム経口投与の魚に対する影響—III

マダイとコイの比較^{*1}

板 沢 靖 男・小 山 次 朗

(1978 年 3 月 1 日受理)

Effects of Oral Administration of Cadmium on Fish—III
Comparison of the Effects on the Porgy and the CarpYasuo ITAZAWA^{*2} and Jiro KOYAMA^{*2}

Porgy *Pagrus major* of 73 ± 7 g were fed for 113 days on feed containing Cd of 0, 37.5, 150, or 375 ppm in the dry weight. Neither a decrease of the calcium contents of the serum and the vertebrae nor scoliosis, all of which were noticed in carp fed on feed containing $\text{Cd} \geq 140$ ppm for 30 days, was observed in the porgy. The total amount of Cd administered per 100 g of fish through the feeding period was 42.4 mg for porgy fed on 375 ppm Cd-feed, and 3.8–5.6 mg for carp fed on 140 ppm Cd-feed. The Cd contents of the hepatopancreas and the kidney were 146 ppm and 164 ppm in the porgy, and 14 ppm and 52 ppm in the carp. The fact that the porgy, a marine teleost, did not suffer from low calcium and vertebral abnormalities, even when they were administered 7–11 times as much Cd as the carp, is considered to be attributable, partly at least, to calcium derived from the environmental medium.

本研究はカドミウム（以下 Cd と略記）経口投与のコイに対する影響をしらべた一連の実験^{1,2)}に続いて、マダイを材料として同様な実験を行ない、コイとマダイに対する影響を、淡水魚と海水魚という観点から比較検討したものである。

マダイの飼育に協力頂いた九州大学農学部水産実験所の方々、および分析技法について指導を頂いた同学部水産化学第一講座の方々に厚く感謝する。

実 験 方 法

供試魚と飼育法 供試魚としてはマダイ *Pagrus major* の1年魚を用い、その体重は 73 ± 7 g であった。供試魚は容量 3 m³ の円型流水式水槽で5日間予備飼育をした後、容量 150 l の実験用角型流水式水槽（流量約 200 l/h）4 槽に 15 個体ずつ収容し、さらに2週間予備飼育して飼育条件ならびに基礎餌料に慣れさせた。その後餌料を実験餌料に切り換え、その他の条件は予備飼育の場合と等しくして、1976 年 7 月 9 日から同年 10 月 30 日までの 113 日間 Cd 投与を行なった。その間、飼育水温は 17.5–29.0°C の範囲で変化したが、4 実験区

の間には水温差はなかった。

基礎餌料としては、YONE *et al.*³⁾ による YR-4 を用い、その 1 g 当り 0, 25, 100, あるいは 250 μg の塩化カドミウム $\text{CdCl}_2 \cdot 2\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ を添加してペレット状にしたものを実験餌料とした。実験餌料の乾物中 Cd 含量は、それぞれ 0, 37.5, 150, あるいは 375 ppm となるので、以下各濃度区を対照区、37.5 区、150 区、あるいは 375 区と呼ぶ。投与量は餌の湿重量にして毎日体重の 3% とし、これを 2 回に分けて投与した。体重 100 g 当りの Cd 投与量は、各区それぞれ 0, 0.0375, 0.15, あるいは 0.375 mg/day であり、飼育期間中の Cd 投与総量はそれぞれ 0, 4.24, 16.95, あるいは 42.38 mg であった。

分析方法 飼育期間終了直後に動脈球より採血し、3500 rpm（約 1100×g）で5分間遠心分離して得た血清について、アルカリ性ホスファターゼ活性値、カルシウム濃度、および無機リン濃度を前報¹⁾の方法に従って測定し、さらにマグネシウム濃度をキシリジンブルー法で、また総タンパク濃度を屈折率法で測定した。脊椎骨については、灰分、カルシウム含量、およびリン含量を

^{*1} 本研究は昭和 51・52 年度科学研究費補助金・特定研究（課題番号 111318・210519、代表者入江春彦）の一部によつたものである。なお要旨は日本水産学会（1977 年 10 月）において講演発表した。

^{*2} 九州大学農学部水産学科（Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-04, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka, 812, Japan）.

前報¹⁾の方法に従って測定したほか、マグネシウム含量を血清の場合に準じて測定した。

諸器官の Cd 蓄積濃度は、筋肉、鰓、消化管、肝臓、および腎臓について測定した。測定は、各組織を切り出して純水で洗滌し、乾燥秤量後、菅野⁴⁾、大八木⁵⁾、および石尾⁶⁾に準じて、硝酸および硫酸で湿式灰化し、このようにして得た試料液から、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム溶液およびメチルイソブチルケトンを用いて Cd を抽出し、原子吸光分析によって Cd 濃度を求めた。各組織とも原則として個体別に測定を行なったが、腎臓のみは 1 個体当りの試料が少量だったため、各実験区内の 3~7 個体分の試料を合わせて測定した。

なお比較のため、 260 ± 40 g のコイを、乾物中 Cd 含量 0, 140, あるいは 1700 ppm の餌料で 30 日間飼育した後、その筋肉、脾臓、消化管、肝臓、および腎臓について同様な測定を行なった。この場合は、腎臓を含めていずれの器官も、個体別に測定を行なった。Cd の投与量と投与期間がマダイとコイの間で大きく異なるのは、前者については前報²⁾のコイにおける脊柱側彎発症最低濃度区に近い濃度で、投与総量をコイの場合に近い量からその約 10 倍の量に及ぶ範囲に設定し、後者については前報の幾例かと投与量や投与期間を一致させるように設定したためである。

結 果

外観的および解剖学的所見 飼育 53 日目に 37.5 区の 1 個体が回転遊泳を伴う狂奔状態を呈して死んだ。その状態は前報のコイで観察されたけいれんを伴う狂奔状態に類似していた。さらに飼育 100 日前後に 150 区の 2 個体が著しく衰弱し、その腹部が膨満していた。そのうちの 1 個体は、飼育終了時には腹部の膨満が著しくなり、解剖すると多量の腹水が貯留しており、腎臓は原形

を留めないほど壊死が甚しく、また心臓がやや肥大していた。しかしその肝臓は外観的には異常を認めなかった。

コイについて先に²⁾報じた脊柱側彎は、マダイにおいてはいずれの区にも全く認められず、そのほかの骨格異常も観察されなかった。

血清および脊椎骨の分析結果 血清のアルカリ性ホスファターゼ活性値、カルシウム濃度、無機リン濃度、マ

Fig. 1. Relationship between Ca concentration in serum and Cd content in feed.

Fig. 2. Relationship between Ca content in vertebrae and Cd content in feed.

Table 1. Results of analyses of the serum and the vertebrae of the porgy fed on Cd-containing or Cd-free feed

Cd in feed (ppm in dry weight)	Control	37.5	150	375
Alkaline phosphatase activity in serum (B-L unit)	0.460±0.209	0.360±0.218	0.396±0.320	0.670±0.710
Ca concentration in serum (mg/dl)	11.71±0.78	11.65±0.83	12.05±0.83	11.99±0.58
Inorganic-P concentration in serum (mg/dl)	8.80±0.58	9.08±0.93	9.21±0.82	9.10±0.14
Mg concentration in serum (mg/dl)	2.34±0.05	2.33±0.10	2.48±0.45	3.05±0.66
Protein concentration in serum (g/dl)	3.92±0.23	3.91±0.06	4.15±0.49	4.30±0.14
Ca content in vertebrae (mg/g)	197.7±10.6	198.5±5.7	199.4±9.7	201.7±12.1
P content in vertebrae (mg/g)	85.4±5.1	88.2±2.8	91.6±5.6	92.4±5.4
Mg content in vertebrae (mg/g)	4.79±0.45	4.77±0.53	5.68±0.85	5.46±0.27

マグネシウム濃度、および総タンパク濃度は、いずれも対照区と Cd 投与区の間に一定の傾向の差が認められず、また脊椎骨の灰分、カルシウム含量、リン含量、およびマグネシウム含量にも、Cd 投与量に応じた一定傾向の変化を認められなかつた (Fig. 1, Fig. 2, および Table 1)。

器官の Cd 蓄積濃度 マダイおよび比較のために検査したコイのどちらにおいても、消化管、肝臓、および

腎臓の Cd 含量が高く、筋肉、鰓、あるいは脾臓の Cd 含量は低かつた。消化管は管腔内を純水で洗滌してから測定したので糞中の Cd は含まれないが、吸収過程にある Cd は含まれるので、その値を蓄積濃度として肝臓や腎臓における値とそのまま比較するのは不適当と考えられる。

それで特に肝臓と腎臓に注目すると、マダイでは肝臓の値が腎臓のそれより高い (37.5 区および 150 区)

Fig. 3. Relationship between Cd content in hepatopancreas and Cd content in feed.

Fig. 4. Relationship between Cd content in kidney and Cd content in feed.

Table 2. Accumulation of Cd in organs of the porgy and the carp fed on Cd-containing feed

Porgy					
Cd in feed (ppm in dry weight)		Control	37.5	150	375
Muscle	(ppm)	0±0	0±0	0±0	0±0
Gills	(ppm)	0±0	0±0	0±0	0±0
Digestive tract	(ppm)	0±0	21.36±4.00	260.57	64.04±10.88
Hepatopancreas	(ppm)	0±0	13.55±5.12	30.03±16.64	146.22±59.67
Kidney	(ppm)	0	0	18.13	164.00
Carp					
Cd in feed (ppm in dry weight)		Control	140	1700	
Muscle	(ppm)	0±0	0±0	3.62±0.81	
Spleen	(ppm)	0±0	0.55±0.78	50.18	
Digestive tract	(ppm)	0±0	139.13±24.56	770.38±345.64	
Hepatopancreas	(ppm)	0±0	13.60±3.69	67.55±6.87	
Kidney	(ppm)	0±0	52.43±31.18	166.25±77.97	

か、あるいは近似していた (375 区) が、コイでは腎臓の値が肝臓のそれより高かった。毎日の Cd 投与量が比較的近似している 150 区 (0.150 mg/day) のマダイと 140 区 (0.125 mg/day) のコイの間で比較すると、肝臓ではマダイがコイの 2.2 倍高く、腎臓ではコイがマダイの 2.9 倍高かった。また飼育期間中の Cd 投与総量が近似している区の間で比較すると、投与総量 4.24 mg (37.5 区) のマダイは同 3.75 mg (140 区) のコイに比べて、肝臓の値ではほぼ等しく、腎臓の値ではマダイは検出不能なほど低いのにに対しコイはかなり高かった。投与総量 42.4 mg (375 区) のマダイは同 45.0 mg (1700 区) のコイと比べて、肝臓の値では 2.2 倍高く、腎臓の値ではほぼ等しかった (Fig. 3, Fig. 4, および Table 2)。

考 察

1. 先に報じたコイの場合、Cd 経口投与群に見られた最も著しい所見は、脊柱の顕著な側彎であった。本報のマダイの場合には、脊柱側彎もそのほかの骨格異常も全く見られず、またコイの場合に脊柱側彎の原因になったと推測された血清中カルシウム濃度の低下ならびに無機リン濃度の上昇、および脊椎骨カルシウム含量の低下、のいずれも認められなかった。

しかし体重 100 g 当りの Cd 投与量は、脊柱側彎の発症した最低濃度区である 140 区のコイの場合 0.125~0.188 mg/day、飼育期間中の投与総量にして 3.8~5.6 mg であったのに対し、最高濃度区である 375 区のマダイの場合 0.375 mg/day、飼育期間中の投与総量にして 42.4 mg であった。すなわちマダイに対する Cd 投与量はコイに対するそれに対し、毎日の投与量で 2~3

倍、飼育期間中の投与総量で 8~11 倍に達する。そして器官の Cd 蓄積濃度も、375 区のマダイでは 140 区のコイに対し、肝臓において 11 倍、腎臓において 3 倍、の高濃度になっている。

このように 375 区のマダイは 140 区のコイに比べて Cd の投与量も多く、重要臓器の Cd 蓄積濃度も高いにも拘らず、140 区のコイに見られた血清ならびに脊椎骨のカルシウム含量の低下、および脊柱側彎のいずれも認められなかったのは、マダイの環境媒質である海水がカルシウムを豊富に含むためではないかと推測される。すなわちマダイでは、腎尿細管が Cd に冒されてカルシウムの再吸収機構が障害を受けても、環境媒質からカルシウムを吸収して、血漿のカルシウム濃度低下を防ぎ、そのため脊椎骨のカルシウム含量も低下せず、また血漿のカルシウム・無機リン比が低下してけいれんを招くこともほとんどなく、その結果脊柱側彎に至らなかった、のではないかと推測される。また哺乳動物においては、カルシウムの存在が消化管からの Cd 摂り込みを抑制することが知られている (FRIBERG *et al.*¹⁷⁾。

以上のことから、本研究におけるマダイが前報のコイに見られたような低カルシウムも骨格異常も呈さなかった理由の、少なくとも一部は、環境媒質に由来するカルシウムにあると考察される。またこのことから、Cd 経口摂取の影響は、海水魚においては淡水魚におけるよりもやや軽減される可能性が考えられる。

2. 本研究で投与した程度の量の Cd でも、マダイに全く無影響というわけではなく、狂奔、腎臓壊死によると思われる腹水の貯留、衰弱などが、少数ながら Cd 投与区の個体に見られたことから、ある程度の影響は受けていると考えられる。Cd 投与を受けたマダイの肝臓

臓および腎臓の細胞に、Cd 投与区のコイに見られたと同様な電顕像の変化が認められた（詳細は別報の予定）ことにも、それが現れている。

3. マダイにおいてもコイにおいても、器官の Cd 蓄積濃度は消化管、肝臓、腎臓に高い値が見られた。従来 Cd を摂取させた魚の Cd 蓄積濃度を測定した例としては、次のような研究がある。

Cd を環境水に加えて魚に吸収させた例としては、MOUNT and STEPHAN⁹⁾ の bluegill, 堀・薩美⁹⁾ のコイ, KUMADA *et al.*¹⁰⁾ のニジマス, 喜田村¹¹⁾ のキンギョ, 小林¹²⁾ のコイ, EATON¹³⁾ の bluegill, CEARLEY and COLEMAN¹⁴⁾ の bluegill および largemouth bass, 田所・石尾^{*1)} のキンギョ, 藤曲^{*2)} のグッピー, 得丸^{*3)} のキンギョ, 得丸^{*4)} のコイ, についての研究がある。また Cd を餌に加えて魚に投与した例としては、薩美・国峰¹⁵⁾, 岡本¹⁶⁾, 薩美¹⁷⁾ のコイ, KUMADA *et al.*¹⁰⁾ のニジマス, についての研究がある。さらに Cd を体内に注入した例としては、得丸^{*3)} のキンギョ, についての研究がある。

器官別の Cd 蓄積濃度を示している例では、肝臓あるいは肝臓、腎臓、腸などに高い値が見られ、本研究におけるマダイおよびコイに見られた傾向と概ね一致する。肝臓あるいは肝臓と腎臓を比較すると、前者の値がより高かった例として、EATON¹³⁾ の bluegill, 田所・石尾^{*1)} のキンギョ, 得丸^{*3)} のキンギョ, および本研究における 37.5 区ならびに 150 区のマダイ, があり、後者の値がより高かった例としては、KUMADA *et al.*¹⁰⁾ のニジマス, および本研究における 375 区のマダイ, 140 区ならびに 1700 区のコイ, がある。

KUMADA *et al.*¹⁰⁾ によると、Cd 投与期間が 12 週間では肝臓と腎臓がほぼ等しく、20 週間になると腎臓が著しく高くなる。また Cd 添加餌料から Cd を含まない餌料に切り換えると、肝臓中の Cd 濃度は著しく減少するが腎臓中の Cd 濃度は顕著な減少を示さなかつた。これらの事実は KUMADA *et al.*¹⁰⁾ が指摘するように、Cd が腎臓を経て排泄されることを示すものと考えられる。なお腎臓で排泄される Cd は、メタロチオネンという

低分子量のタンパク質と結合していて、腎糸球体で濾過された後、尿管で再吸収されるという考えもある (FRIBERG *et al.*⁷⁾)。以上の諸事実から、Cd が蓄積しその影響を受ける器官として腎臓は特に注目され、前報²⁾ に述べたコイにおける脊柱側彎発症機序についての推定を部分的に裏書きするものとする。

文 献

- 1) 小山 次朗・板沢 靖男: 日水誌, **43**, 523-526 (1977).
- 2) 小山 次朗・板沢 靖男: 日水誌, **43**, 527-533 (1977).
- 3) Y. YONE, S. SAKAMOTO, and M. FURUICHI: *Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ.*, **2**, 13-24 (1974).
- 4) 菅野三郎: 分析化学, **19**, 877-879 (1970).
- 5) 大八木義彦: 分析化学, **19**, 879-881 (1970).
- 6) 石尾 真弥・大庭 信良・田中淑人・田所尚二郎: 日水誌, **39**, 705-712 (1973).
- 7) L. FRIBERG, M. PISCATOR, G.F. NORDBERG, and T. KJELLSTRÖM: 環境中のカドミウム—その汚染と生体影響 (木村正己訳), 医歯薬出版, 東京, 1975, p. 51-52, 161-166.
- 8) D.I. MOUNT and C.E. STEPHAN: *J. Wildlife Management*, **31**, 168-172 (1967).
- 9) 堀 賢平・薩美賢策: 群水試報, **21**, 5-9 (1972).
- 10) H. KUMADA, S. KIMURA, M. YOKOTE, and Y. MATIDA: *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **22**, 157-165 (1972).
- 11) 喜田村正次・早川清子・柴田孝子: 日衛誌, **27**, 42 (1972).
- 12) 小林 純・森井ふじ・村本茂樹・中島 進・原一恵・戸倉正人: 日衛誌, **27**, 223-224 (1972).
- 13) J.G. EATON: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **1974**, 729-735 (1974).
- 14) J.E. CEARLEY and R.L. COLEMAN: *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **11**, 146-151 (1974).
- 15) 薩美賢策・国峰一声: 群水試報, **18**, 3-7 (1969).
- 16) 岡本好司・薩美賢策・国峰一声: 群水試報, **19**, 3-6 (1970).
- 17) 薩美賢策・林不二雄・堀 賢平・国峰一声: 群水試報, **20**, 2-9 (1971).

*1 田所尚二郎・石尾真弥: 日本水産学会 1972 年秋季大会講演。

*2 藤曲正登・大田原純子・片山信二: 日本水産学会 1973 年秋季大会講演。

*3 得丸三岐子・江藤久美・日比谷京: 日本水産学会 1974 年春季大会講演。

*4 得丸三岐子・山森邦夫・ファンパンガン・日比谷京: 日本水産学会 1974 年春季大会講演。