

六価クロムの生体影響に関する研究 ヒメダカを対象とした慢性毒性試験

日野 隆信 藤曲 正登 福田 芳生

Biological Effects of Long-Term Exposure to Hexavalent Chromium in Killifish (*Oryzias Latipes*)

Takanobu HINO, Masato FUJIMAGARI and Yoshio FUKUDA

I 諸言

従来、六価クロム(以下Cr(VI)とする)が天然水中に含まれてあるという報告はなく、水中の微量クロムに関する研究は、工場廃水等の人為的な汚濁によるものとして捉えられており、基準値等もこの観点から設定されているにすぎない。

一方、自然現象として房総半島南部の嶺岡山系に分布する蛇紋岩地帯の湧水中にCr(VI)の溶出例が報告されている¹⁾²⁾³⁾。この湧水を生活用水として利用していた住民がいることが明らかになった現在、水中の微量の六価クロムが生体に及ぼす影響を知ることは重要である。そこで、本報ではCr(VI)を含んだ水中でヒメダカを飼育し、その間のクロム蓄積量の変化、体重の増減ならびに病理組織学的変化について検討したので、その結果について報告する。

II 実験方法

1. 飼育法

ヒメダカは千葉県下の印旛沼の養魚場より入手し、循環ろ過水槽で実験開始まで2ヶ月間馴致飼育した健康な成熟個体を用いた。

試験水のCr(VI)濃度は、ヒメダカのCr(VI)に対する48時間半数致死濃度や環境基準値に基づいて5mgCr/lと0.5mgCr/lとし、これに对照区を設けた。飼育は水量10l(縦29cm×横19cm×高さ24cm)のガラス水槽を用い、これにヒメダカを雌雄合せて50尾ずつ入れ、1濃度群につき2水槽を使い、合計100尾で飼育を始めた。飼育水は水道水を活性炭槽に通したものを、貯水槽およ

び飼育水槽中に送気して十分な溶存酸素を保持した。また送水パイプを恒温槽中に通して水温を18~21℃に保った。飼育水槽の水温は毎日、pH、残留塩素、DO、NH₄⁺、総硬度などは1~2週毎に測定し、飼育水の水質の悪化により試験が影響を受けることのないよう注意した。

飼料は市販の養鯉用粉末飼料No.2-Mを日量3gとして1日2回に分けて与え、底に残った餌や糞は毎日除去した。また、試験期間中4週目毎に飼育中の魚をすべて引き上げ、魚の平均体重を測定すると共に水槽を洗浄し、新しい試験水と交換した。

試験水のCr(VI)濃度を一定に保つために、高濃度の重クロム酸カリウム溶液を予め用意し、これと飼育水とを一定の割合で混合させ、所定のCr(VI)濃度となるように調整したマリOTTびんを用いた連続流下試験装置を作り、各水槽に日量40lを流し、換水率を1日4回とした。

2. 分析法

各濃度群のヒメダカを1~2週間隔で雌雄各2尾とりだし、曝気した蒸留水中で3時間放置したのちクロムの定量に供した。クロムの定量法はFig.1のフローシートに示した。

3. 病理組織学的観察法

各濃度群の中から4週間隔で任意に雌雄各3匹を採取し、10%フォルマリン固定とした。それらの魚はアルコール系列を経て脱水の後、パラフィン包埋とし、厚さ5μの連続切片を作製してH.E染色を施し検鏡と写真撮影に供した。

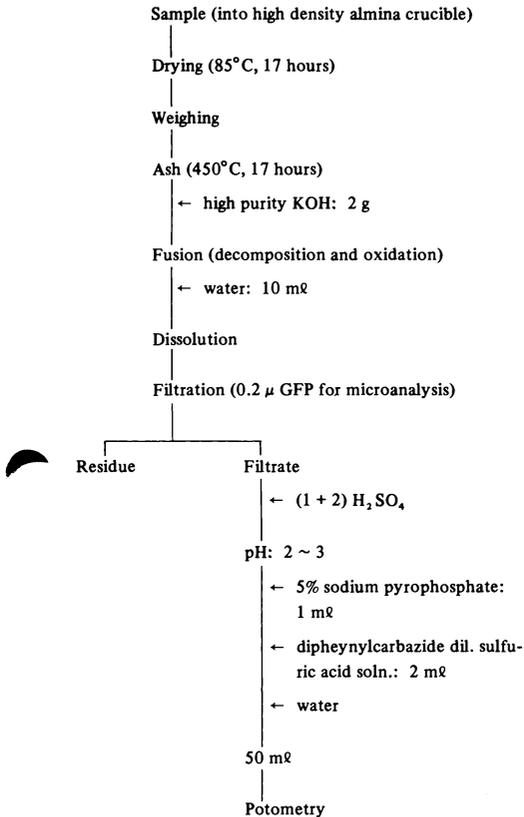


Fig. 1 Flow sheet for determination of chromium killifish

III 結果および考察

1. 体重などの変化

試験期間中の魚の体重の変化を Fig. 2 に示す。0.5mg/l 群の体重の増加は対照群と比べて変わることがなく、試験開始時に0.27g 程度あった平均体重は、15週間目には両群とも0.4g を越えるまで増加した。これに対し5mg/l 群では体重増加の強い抑制がみられ、開始時に0.25g 程度あった平均体重は試験期間中を通してほとんど変わることにはなかった。また5mg/l 群では試験を開始して4週目頃より体型、特に腹部が異常にやせ細り、「く」の字形に変形したまま遊泳して衰弱死する魚が目立ったが、骨折や出血症を示すものはなかった。試験期間中このような症状を示して死亡した魚が5mg/l 群では14個体(♀4, ♂10)あった。これに対して0.5mg/l 群では12週目に1個体が死亡した以外には自然死亡例はなく、対照群と同様に水槽中の魚体数の減少は蓄積量測定と病理検索に供するために除去したものであった。

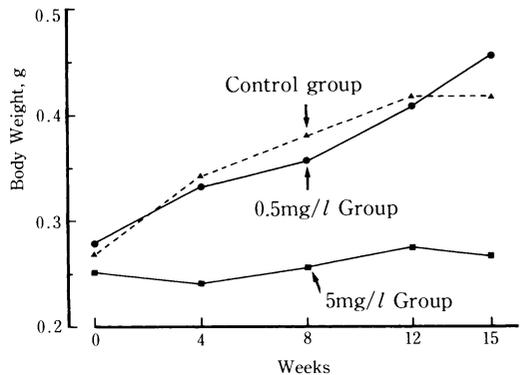


Fig. 2 Changes in mean body weight of Killifish

2. クロムの蓄積濃度の変化

試験期間中のクロムの蓄積濃度は Fig. 3 のような推移を示した。すなわち両濃度群ともクロムの蓄積は飼育の初期において急激な増加を示したが、ほぼ10週間頃から緩慢になった。15週間目におけるクロムの蓄積濃度(mg/kg) と水中濃度(mg/l) の比は、5mg/l 濃度群で12:1, 0.5mg/l 濃度群で31:1であった。この結果をカドミウムの場合⁹⁾と比較してみると、魚種や飼育条件は異なっていることを考慮しても、Fig. 4 に示した蓄積係数線の対比から、クロムの蓄積はカドミウムに較べて小さいものと思われる。

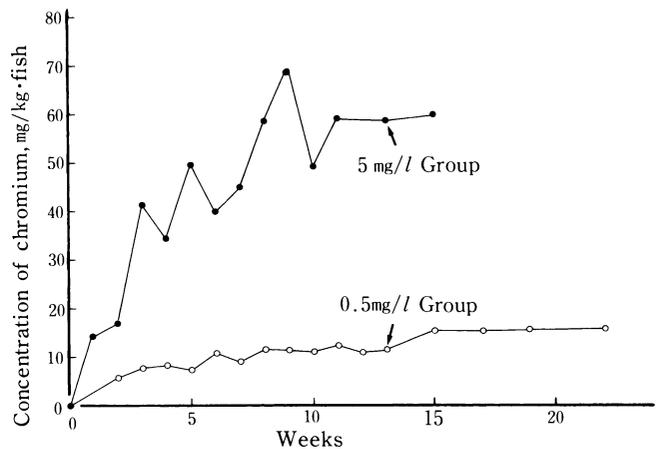


Fig. 3 Variations of chromium concentration in Killifish

3. 病理組織学的観察

今回は0.5mg/l 群および5mg/l 群の15週目のものを対象にして鰓、消化管、肝臓、生殖腺の障害像について述べることにする。

0.5mg/l 群、5mg/l 群ともに鰓薄板の部分に充血と呼吸上皮の軽度の浮腫が認められる。消化管の体前方の領域において、0.5mg/l 群では粘膜下織の浮腫が著明化し、

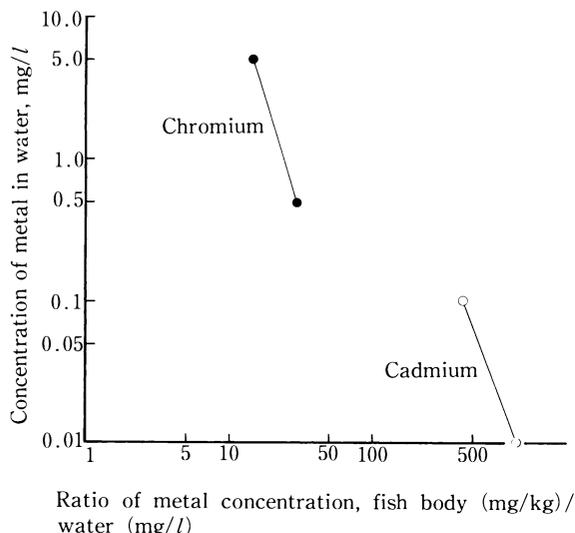


Fig. 4 Comparison with two metals (Chromium, Cadmium) for ratio of metal concentration in fish body and water

Conditions

- Chromium ; after 15 weeks (Killifish)
- Cadmium ; after 13 weeks (Guppy)

核上部に卵円型の空胞が高頻度で出現するようになる。5 mg/l 群では、この粘膜下織の浮腫の他に、粘膜襞先端部の上皮の部分的な壊死および剥離が観察される。5 mg/l 群では尿細管上皮の部分的な剥離、糸球体外葉の軽度の肥厚を伴う個体が増加する。生殖腺は0.5mg/l 群では、雌雄ともに対照群のものと全く変るところがない。5 mg/l の雄の個体において造精能の部分的な低下、雌では形成過程の卵細胞に軽度の崩壊が観察された。

今回の実験から水中に溶在する Cr (VI) が生体 (魚) に経口的に摂取された場合、内臓諸器官に対する障害の程度はカドミウム⁵⁾、銅中毒時⁶⁾のものよりも低い。Cr (VI) 中毒の際、問題となる消化管では 5 mg/l 群において、ようやく15週目のものに、粘膜襞先端の上皮に軽度の壊死および粘膜下織の浮腫が認められたにすぎない。5 mg/l 群において体重量の増加が抑制される事実を考慮すると、上述の消化管組織の障害が栄養の吸収を阻害したことが考えられる。0.5mg/l, 5 mg/l の両群において腎障害が比較的軽度で止まるのに反して、肝臓ではむしろ強い。0.5mg/l 群では15週目に肝細胞の核濃縮、空胞化が観察され、5 mg/l の同時期のものにおいては細胞の染色性が塩基好性に傾く。この事実は0.5mg/l 群において、15週目前後に肝細胞の障害が最盛期に達し、5 mg/l 群では破壊された肝細胞が再生したことを示している。Cr (VI) の生殖腺に対する影響は軽度である。

以上の結果から、生体内に取り込まれた Cr (VI) は一部肝臓に蓄積することはあっても、その多くが腎臓を經由して体外に排泄されることを示唆している。また、肝臓に与える障害は 5 mg/l 15週前後では、その再生を阻害するものではないことを示している。

IV 要約

魚の体重は0.5mg/l 群と対照群では飼育日数の経過に従って増加したが、5 mg/l 群では体重増加の強い抑制が見られた。体重増加の抑制は消化管上皮の障害に基づくことが推定された。

クロムの蓄積は飼育の初期において急激な増加を示し、ほぼ10週目頃から緩慢になった。

体内に取り込まれた Cr (VI) は一部肝臓に蓄積されるが、その大部分は腎臓を經由して排泄される。肝臓に与える障害は 5 mg/l 群においても、その再生を阻害するものではない。

文献

- 1) 千葉県嶺岡帯六価クロム調査班：嶺岡山系蛇紋岩帯における湧水中の Cr (VI) について、地質雑、84：721-727, 1978.
- 2) 海保新太郎, 日野隆信, 中西成子, 小室芳洵, 菊池幸子：嶺岡山系における湧水中の六価クロムに関する調査報告 第1報 湧水および蛇紋岩の化学的特徴, 千葉衛研報告, 2：39-45, 1978.
- 3) 海保新太郎, 日野隆信, 中西成子, 小室芳洵, 菊池幸子：嶺岡山系における湧水中の六価クロムに関する調査報告 第2報 湧水の定期観測について, 千葉衛研報告, 3：51-59, 1979.
- 4) 藤曲正登, 大田原純子, 片山信二：グッピーに及ぼすカドミウムの慢性毒性に関する研究 (第1報) カドミウムの蓄積, 脊椎骨の異常および遊泳能力の低下, 日本公衛誌, 21：587-591, 1979.
- 5) Weir, P. A., and Hine, C. H. (1980) : Effects of various metals on behavior of conditioned goldfish, Arch. Environ. Health, 20 : 45-51.
- 6) Wount, D. I. (1968) : Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque), Water Res., 2:215-223.
- 7) Mount, D. I. (1968) : Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water, J. Fish. Res. Board Can., 26 : 2449-2457.