

ポリ塩化ビフェニールのコイに対する慢性的影響

若林 明子 津久井 公昭 関 沢 純
露 崎 亀 吉 西井戸 敏夫 古井戸 良雄

1 序

ポリ塩化ビフェニール(PCB's)は、1954年に鐘ヶ淵化学で、1969年に三菱モンサントで生産が開始され、一昨年中止されるまで、約5万7千トンが生産され、約5万4千トンが国内で使用された¹⁾。現在ではその用途の大半はすでに禁止されているが、すでに回収不能のものは2~3万トンにのぼると推定され、PCB'sはその安定な性質の故に、これから長い間環境に留まることが予想される。

PCB'sによる環境汚染は1966年スウェーデンの Jensen によつてはじめて指摘されたが²⁾、1970年に入つて国内での環境分析が進むにつれて、日本沿岸の魚体中に異常に高い濃度の PCB's が蓄積していることが明らかになった。日本人にとって魚は重要な蛋白源であり、人体への PCB's 汚染も魚の摂取によるものが最も主要な経路であるため、魚体に及ぼす PCB's の影響を調べることは特に重要だと考えられる。しかし魚に関する PCB's の実験は、水からの生物学的濃縮や、ATP アーゼの阻害などいくつかあるが、比較的短期間の実験がほとんどで、また組織の変化を調べたものはほとんど見当たらない。

そこで今回、低濃度 PCB's を含む餌を長期間魚に与え、魚体に対する慢性的効果について調べる。

実験魚としてはコイ (*Cyprinus carpio*) の当才魚を用い、これに 20ppm、100ppm のカネクロール (以下 KC と略す。) 300、400および500を含む餌を1年間投与し、PCB's の蓄積量、異性体含有率の変化、内臓の組織病理学的変化等について検討を加えた。

2 実験条件

魚：コイ (*Cyprinus carpio*) の当才魚、全長6.5~9.0 cm (平均8.0cm)、体重 5.0~12.0g (平均8.5g) のものを15尾ずつ七つの水槽に入れた。水槽は、内径27cm×58cm×34cm で底に大磯の黒石を深さ5cm位敷き、水は

約34ℓ入れた。水温は24~30℃の範囲に保った。実験中ずっと通気と循環を行ない、水は10~14日毎に全部をチオ硫酸ナトリウムを少量加えてよく曝気した水と取りかえた。

PCB's：市販の魚の餌(スイミー、コイの餌)100gの粉末に KC 300、400および500のサラダオイル溶液 (1,000ppmまたは5,000ppm) を2ml加え、よくかき混ぜ、さらに水約100mlを加えてねる。この粘土状の餌をコイの食べやすい形に整形し、一昼夜風乾したのち、デンケータで保存した。スイミーおよびサラダオイルの PCB's 含量は0.05ppm 以下であった。

餌の投与：餌は大体1週間に6日の割りで1日1回午前中に投与し、約15分間で全量食べ終ることを確認した。魚体が大きくなってからは PCB's を含まない餌を適宜少量 PCB's 入りの餌に加えて与えた。

水槽番号	餌の種類	
I	KC 300	20ppm
II	〃	100ppm
III	KC 400	20ppm
IV	〃	100ppm
V	KC 500	20ppm
VI	〃	100ppm
VII	対照	

体重、体長測定：測定は実験開始時、3カ月目、6カ月目、10カ月目および12カ月目に行なった。

PCB's 蓄積量測定試料：約6カ月目および1年目に取り上げ、延髄に針をさし込んで殺したのち、直ちにフリーザーに入れ保存し、分析を行なう直前に解凍し、解剖を行ない各組織に分割した。

* どの組織を分析に供するかを調べるための予備実験の結果は、予想通り脂肪組織がとび抜けて高いほか、鰓、脳、肝臓、生殖巣、腹肉にやや多く蓄積し、その他心臓、腎臓、脾臓、胆のう、腸、背肉

にはあまり多く蓄積していなかった。そこで分析試料としては可食部（食物連鎖による人体への濃縮の可能性）、脂肪（高濃度に蓄積）、脳（神経中枢）、生殖巣（次代への影響）、肝臓（解毒組織）、鰓（水の濾過装置）を用いた。腸は付着した肝臓をきれいに除去できないことと、餌投与後24時間後に取り上げたので、PCB'sの物理的吸着を無視できないため今回は省いた。

PCB's蓄積量の分析：厚生省環境衛生局 PCB 分析研究班(昭和47年1月)の方法に準じて行なった。ガスクロマトグラフ装置は島津4 BM型を使用し、カラムは3mm×2mのガラスカラム（2%OV-1, Gas-chrom Q, 80~100メッシュ）、カラム温度は180℃、キャリアーガスはN₂（30ml/min or 60ml/min）で測定を行なった。

組織病理観察：飼育開始ほぼ1年後に組織の病理的観察を行なった。供試魚は、外観上の変化はあまり見られなかったので、大きさで見て小さいものから大きいものまで代表的なものを各水槽から4尾ずつ選び（KC-400 100ppm投与魚はすでに全部死んでいたため供試できず）

供試した。

供試コイを脊椎切断により殺した後開腹、内臓をよく露出させそのままホルマリン浸漬し真空ポンプで脱気後常圧に戻し4時間振盪機にかけ、その後1夜放置しホルマリン浸透を図った。固定後1日本洗したものを自動パラフィン包埋装置で常法によりパラフィン浸透を行なった。染色はヘマトキシリン-エオシン染色とPAS染色を行なった。標本の撮影はニコン自動露出顕微鏡写真装置AFMにより、フジカラー-N-100フィルムを用いて行なった。解剖所見としては顕著な変化は見られなかったが、各水槽とも体重の大きい方の魚（大体4尾中の2尾）は水槽の底にしいたジャリを腸管内に多数摂取していた。このためジャリ摂食による影響を省くため、ジャリ摂食をしていない魚についての組織を比較し、ジャリを摂取していた魚は参考にとどめた。

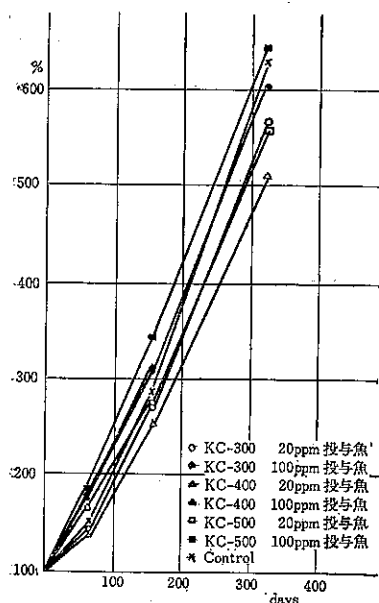
3 結果と考察

魚の外観変化と死亡魚：実験中の魚の状態変化を図1に示す。短期間餌の食いが悪くなったほかは、概して食

図1 飼育中外観の変化と死亡魚（上の数字は経過日数，下の数字は魚の数）

経過日数 条件		50		100		150		200		250		300	
I	KC300 20ppm 投与魚	29 ● 腰曲り1			141 ● 傷ついで赤1 ウロコ赤1 142 ● ビレ近赤1					235 ● 赤い悪い 240 ● 赤い悪い	254 ● 腰曲り死1	287 ● 死1	
	II	KC300 100ppm 投与魚			138 ● 尾ビレ赤2	142 ● 尾ビレ近赤1	165 ● ウロコ赤1						
III	KC400 20ppm 投与魚								223 ● 死1	235 ● 赤い悪い 236 ● 赤い悪い	270 ● 赤い悪い	292 ● 死1	
IV	KC400 100ppm 投与魚			115 ● 口先赤2	138 ● エラ赤1 140 ● 2、3、ビレ赤1 ウロコ赤1	144 ● ウロコ赤1 154 ● 死1 156 ● エラ赤死1	170 ● 死1	182 ● エラ下赤死1 188 ● 腹赤死1 196 ● 口赤死1 196 ● 腹赤死1 196 ● 腹赤死1	202 ● 腹赤死1	226 ● 死1 230 ● 背ビレ欠け1 235 ● 赤い悪い 239 ● 赤い悪い	260 ● 死1 278 ● 死1 281 ● エサ食わず	291 ● ウロコ赤1 292 ● 尾ビレ赤1	292 ● 死1
	V	KC500 20ppm 投与魚				144 ● ウロコ赤1							
VI	KC500 100ppm 投与魚		81 ● 腰曲り2	101 ● 赤い悪い 111 ● 赤い悪い							258 ● 腰曲り3		
VII	対照魚	29 ● 片目1		105 ● 腰曲り1					215 ● 口先赤 220 ● 死1		258 ● 腰曲り2		

図2 魚の体重変化



欲もあり、遊泳状態にも特に異常はなかった。しかし KC-400—100 ppm 投与群では5カ月目位から鰓蓋部、ヒレ、ウロコが赤くなって死亡する魚が出はじめ、7カ月に入ると腹膨もみられ、次々と死亡し、さらには餌を食べなくなり、10カ月以内に取り上げた2尾を除いてすべて死亡した。他の死亡魚は KC-300—20ppm 投与魚で1尾、KC-400—20ppm 投与魚で2尾、対照で1尾で、PCB'sの投与と相関はなく、KC-400—100ppm 投与群の死亡原因も、KC-400 だけが特に毒性が強いとは考えにくく、

他の原因、例えば細菌感染のような伝染病で死亡したものと考えられる。また、対照の水槽で2尾、KC-300—20ppm で1尾、KC-500—100ppm で3尾の腰曲り魚が出たが PCB's との関係はないようである。

魚の体重・体長変化：体重増加は 20ppm 投与群でやや小さく、100ppm 投与群でやや大きく、むしろ PCB's 投与量とは逆の傾向をみせているが、対照も PCB's 投与魚と同じような体重増加を示しており、魚の成長に PCB's は影響を及ぼしていないといえる。

PCB's の蓄積：表1に投与 PCB's と残留 PCB's の関係を示すが、魚体中に残留した PCB's を12カ月投与で比較してみると、KC-300投与群で2割強、KC-400投与群で4割弱、さらに KC-500 投与群では7～8割と塩素量の増加に伴い残留量が増加する。また、6カ月投与でも KC-300投与群と KC-400投与群の差は小さいが、KC-500 投与群の残留率は特に高い。このことは表2の魚体濃度の6カ月と12カ月の比較によっても示される。すなわち、

KC-300 投与群の魚体中濃度は（絶対量としては魚の体重増加に伴い増加しているが）、15.7ppm → 11.8ppm、72.4ppm → 62.0ppm とやや減少しているが、KC-400 投与群では14.7ppm → 18.9ppm とやや増加し、KC-500 投与群では19.6ppm → 44.5ppm、104ppm → 230ppm と濃度

表1 PCBの投与量および残留量

			投与 PCB 量 μg/尾	体重あたりの 投与量 mg/kg	1日あたりの 投与量 mg/kg	残留 PCB 量 μg/尾	残留率 ^{a)} %
KC-300 20ppm	I a	6カ月	973	29.1	0.168	377	38.7
	I b	12カ月	2,910	46.8	0.127	655	22.5
KC-300 100ppm	II a	6	4,870	136	0.784	2,010	41.3
	II b	12	13,400	245	0.664	2,920	21.8
KC-400 20ppm	III a	6	973	26.6	0.154	406	41.7
	III b	12 ^{b)}	2,810	44.8	0.121	1,040	37.0
KC-400 100ppm	IV a	6	5,320	322	1.864	1,150	21.6
	IV b	12	—	—	—	—	—
KC-500 20ppm	V a	6	1,020	25.5	0.147	633	62.1
	V b	12	2,690	49.6	0.134	2,180	81.0
KC-500 100ppm	VI a	6	4,830	98.9	0.572	4,230	87.6
	VI b	12	13,200	278	0.754	9,540	72.3

a) 残留率 = 残留 PCB 量 ÷ 投与 PCB 量 × 100

b) 5カ月目から餌の食いが悪くなり死亡する魚が出たが、餌の投与は続けた。

表2 PCBの魚体中分布

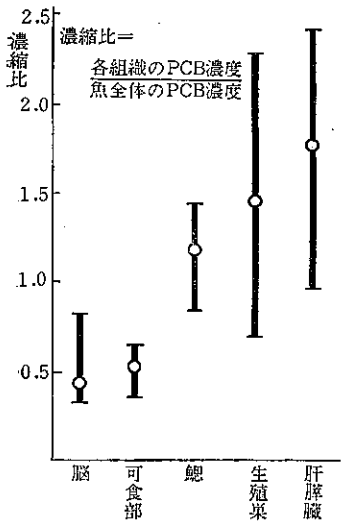
餌の種類	6 カ月 (173日)						12 カ月 (369日)												
	魚の 数	平均 体重	PCB含量 ppm			PCB パターン	魚の 数	平均 体重	PCB含量 ppm			PCB パターン							
			可食部	えら	脳				a) 生殖巣 脂肪	b) 全体	可食部		えら	脳	a) 生殖巣 脂肪	b) 全体			
KC-300 20 ppm	I a 3	33.4	7.56	12.9	5.28	176	—	15.7	KC 300 : 400 (1 : 1)	I b 4	61.9	6.03	11.0	4.40	142	22.8	27.9	11.8	KC 300 : 400 (1 : 1)
KC-300 100	II a 3	35.9	27.6	102	23.4	1,240	117	72.4	KC 300 : 400 (1 : 1)	II b 4	54.9	20.9	75.4	19.6	647	68.7	62.1	62.0	KC 300 : 400 (1 : 1)
KC-400 20	III a 3	36.6	7.61	20.7	5.31	218	9.73	14.7	KC 400	III b 4	62.5	8.78	18.4	5.96	169	15.7	45.6	18.9	KC 400
KC-400 100	c) IV a 5	16.5	63.4	134	76.1	1,350	—	99.0	KC 400	IV b —	—	—	—	—	—	—	—	—	KC 400
KC-500 20	V a 2	40.1	8.96	19.8	14.0	244	43.1	19.6	KC 500	V b 4	54.4	20.6	58.7	17.0	644	28.1	58.4	44.5	KC 500
KC-500 100	VI a 3	32.7	42.2	138	58.9	1,180	213	104	KC 500	VI b 4	47.4	117	314	95.1	2,560	483	354	230	KC 500
Control	VII a 3	35.0	0.10	0.23	0.29	1.45	0.19	0.20	KC 300 : 400 (1 : 1)	VII b 4	54.6	0.15	0.43	0.17	3.14	0.13	0.32	0.29	KC 400 : 500 (1 : 1)

a) 脂肪組織として脳および内臓のまわりから取り出したもので脂肪100%でなく、しかし部位によってばらつきがあると思われる;

b) 一部分

c) 死亡魚

図3 魚体中 PCB の濃度比



でも2倍以上に増加している。このようにKC-500, 400, 300の順で蓄積率が高い原因は、塩素量の多い方が排出がむずかしいためと思われるが、魚体内への吸収の難易、生体内分解の有無など不明の点が多いのではっきりしたことはわからない。次に各カネクロ

ール100ppm投与群の魚体中 PCB's 濃度は表2のように20ppm投与群の4.6~6.7倍(平均5.4倍)で、この濃度範囲ではエサ中の PCB's 投与量と蓄積量はほぼ比例している。

* 対照として用いた魚体中の残留 PCB's は主に市販の魚の餌に由来すると思われるが、6ヵ月投与群で0.20ppm、12ヵ月投与群で0.92ppmで、PCB's 投与魚の最低蓄積量の2.5%で、数値の検討の際は無視できる。

魚の各部分の PCB's 濃度もこの表から明らかであるが、予想通り脂肪組織がずば抜けて高く、可食部の20倍以上濃縮されている。全体の濃度を1とした場合のその他の部分の濃縮比を図3に示す。これによると脂肪(平均13.0)、肝臓(1.7)、えら(1.2)、可食部(0.5)、脳(0.4)の順で PCB's が濃縮されている。肝臓はバラつきが大きい(0.98~2.36)が全量が取りにくいこと、脂肪組織と分離しにくいことによると思われる。生殖巣はさらにバラつきが大きく、濃度比は0.66~2.4(平均1.5)に及んだ。生殖巣は発達の具合がまちまちで、重量のバラつきも大きかった。以上の PCB's の体内分布は、アロクロール1254(K-C500に相当)を含む海水中での魚(スポット)を用いた実験結果と類似している³⁾。このことは、PCB's が食物に由来する場合も水に由来する場合も組織間の分布にはあまり差がないだろうことを示唆するが、この実験でも水からの濃縮も無視できないだろ

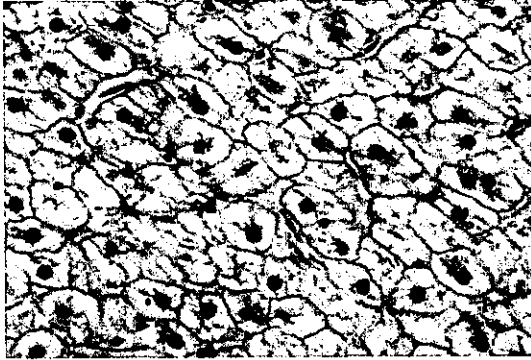
う。実験中の水槽水の最大濃度は0.2ppm程度であった。

異性体含有率の変化: 異性体含有率の変化はガスクロマトグラムのパターン変化として表われる。投与前のカネクロールと魚体中の PCB's および定量に用いたカネクロールのガスクロマトグラムを図4に示す。

KC-300の場合魚体内で保持時間の短い、塩素含量の少ないピークはかなり減少し、ほぼ KC-300:KC-400(1:1)に相当するパターンに近くなる。KC-400では、前の部分のピークがやや減少するが、ほぼ KC-400に近いパターンを示している。さらに、KC-500の場合は、投与カネクロールのパターンと重ね合わさるピークを与える。この結果は、前の残留率の相違と同じ傾向を示しているが、KC-400の場合は残留率は低い割に、パターン変化は少なすぎるように思われる。同じ水槽の魚の各臓器間のパターンは皆よく似ており餌の濃度の差、投与期間の違いによってもほとんど変化は表われず、魚中の異性体含有率は与える PCB's の種類によって一定であった。

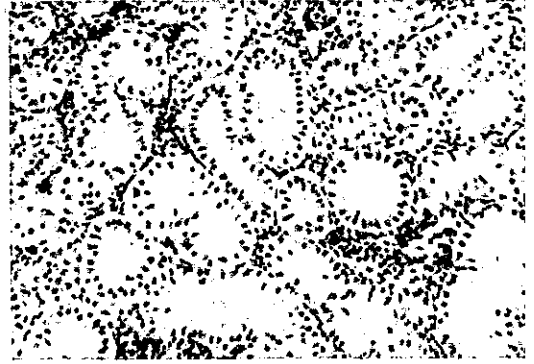
組織病理変化: 写真1~9に PCB 投与開始1年後のコイの肝臓、頭腎、腎臓、および生殖巣の組織を示した。写真1~2は対照魚の肝臓および腎臓の組織である。KC-300 100ppm 投与魚では、肝臓においては細胞壊死と思われる像がいくつか見られ、解毒機構の昇進によると思われる核の肥大や、また糖質などの蓄積により原形質が細胞内で局在させられているような像が観察された(写真3)。腎臓では細尿管の拡張や細胞の壊死が広範に見られ、また脂肪変性やリポフスチン顆粒の蓄積およびポーマン襄基底部の硬化も見られた(写真4~5)。頭腎においても細胞像の不明瞭になる現象が見られた(写真6)。精巣にも脂肪変性と思われる像が見られた(写真7)。一方、KC-500 100ppm 投与魚では、肝細胞の壊死像と思われるものが少数と若干の核肥大が見られたが、腎臓は比較的正常であった(写真8~9)。KC-300, KC-500の20ppm投与魚では100ppm投与魚より症状は軽く、両者とも肝細胞の壊死と思われる像が少し見られ、KC-300 20ppm投与魚の腎では脂肪変性とリポフスチン顆粒の蓄積が見られた。KC-400 20ppm投与魚では腎・肝細胞の壊死と思われる像と腎細尿管拡張がわずかと肝の核肥大が見られたが、生殖巣には大きな変化が見られなかった。

以上の結果を要約すると、第一に、今回の実験では魚



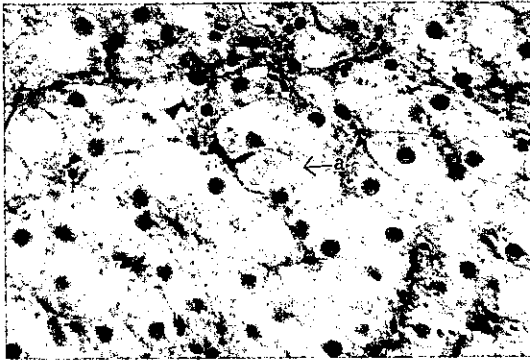
1 対照魚の肝臓

×750



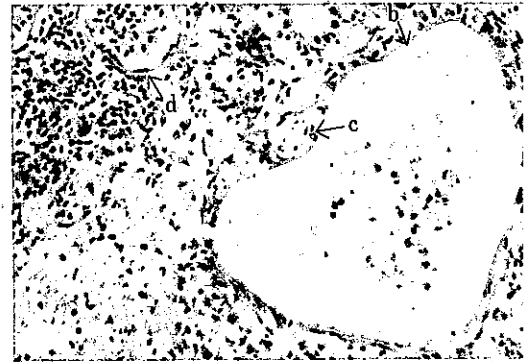
2 対照魚の腎臓

×375



3 KC-300 100 ppm 投与魚の肝臓。
真中に壊死細胞らしきもの(a)が見られる。

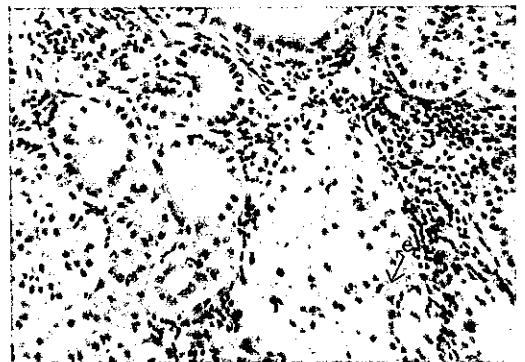
×750



4 KC-300 100 ppm 投与魚の腎臓。
細尿管の著しい拡張(b)と同上皮細胞の壊死(c)、ボーマン氏嚢上皮、同基底膜の肥厚(d)が見られる。

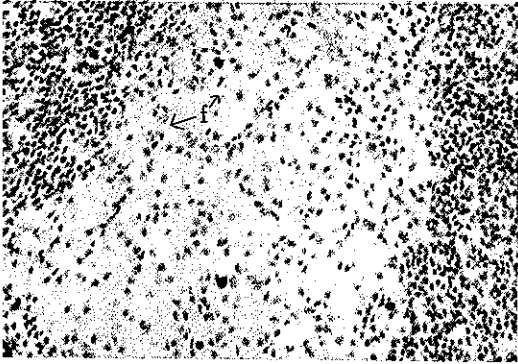
×375

(注) 染色はすべてヘマトキシリン-エオシン染色である。

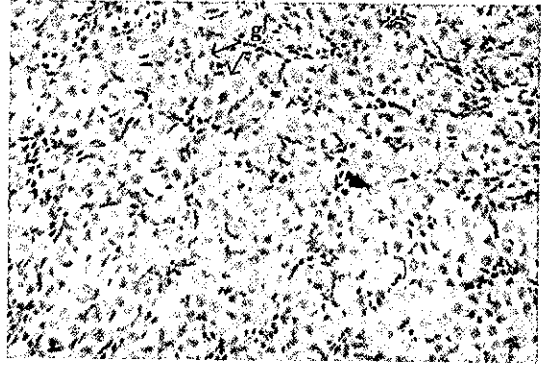


5 KC-300 100 ppm 投与魚の腎臓。
壊死細胞とリポスチン顆粒(e)の沈着が見られる。

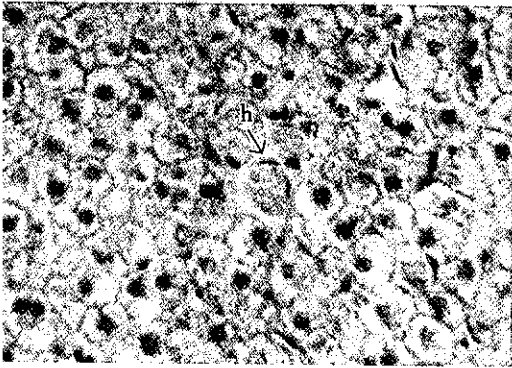
×375



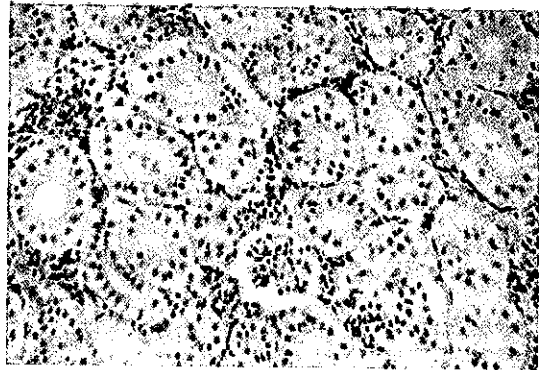
6 KC-300 100ppm投与魚の頭腎 ×375
 間腎細胞にリボフスチン顆粒の沈着 (f) が見られる。黒いのはメラニン色素。



7 KC-300 100ppm投与魚の精巣 ×375
 脂肪変性 (g) が見られる。



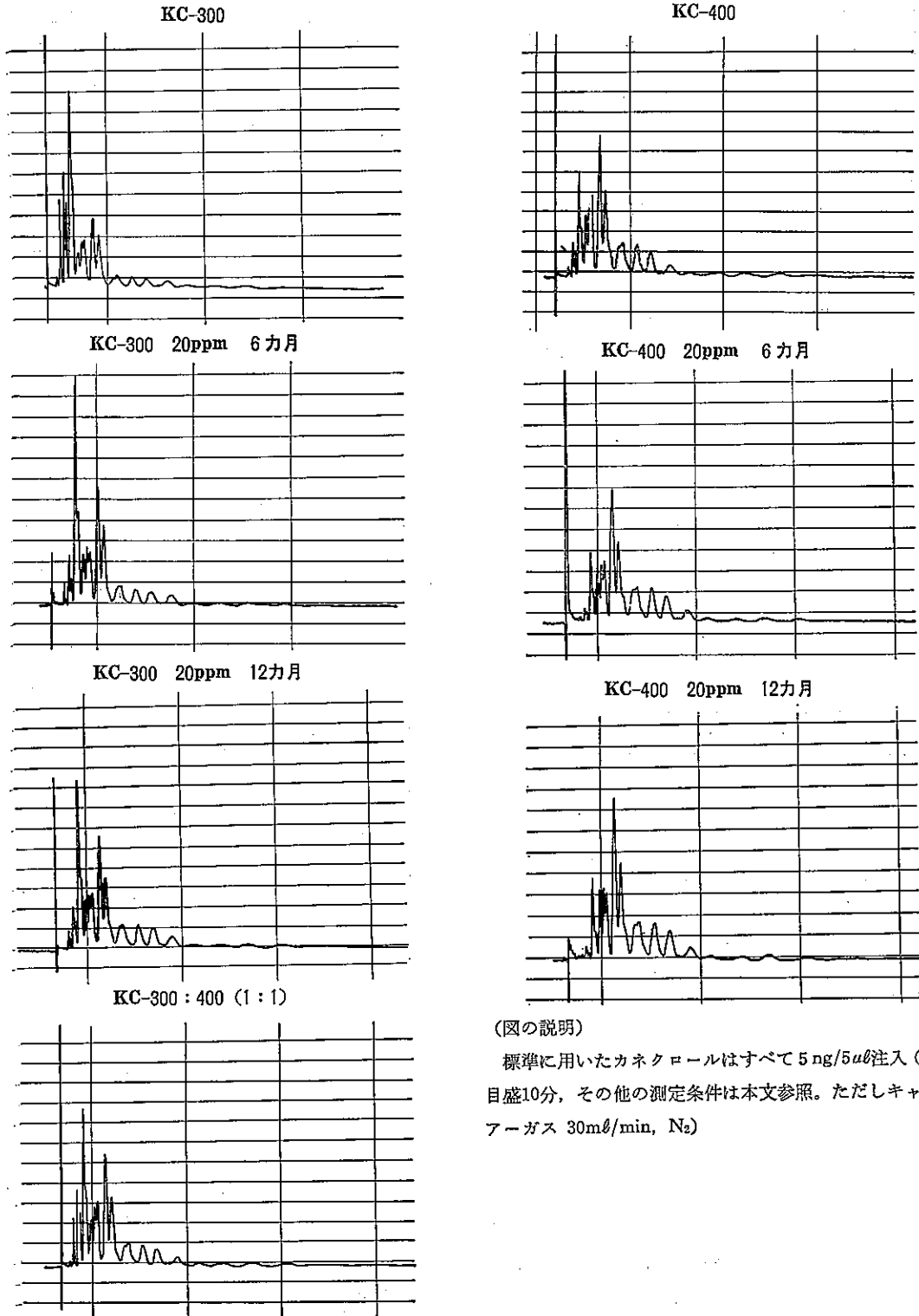
8 KC-500 100ppm投与魚の肝臓。 ×750
 壊死細胞らしきもの (h) が見られる。



9 KC-500 100ppm投与魚の腎臓。 ×375

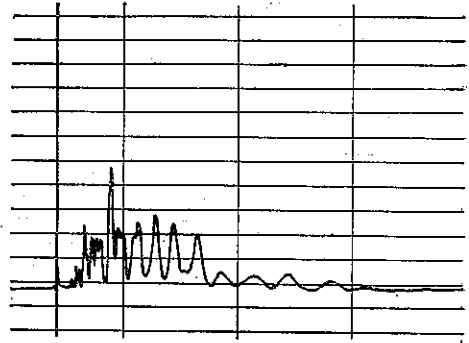
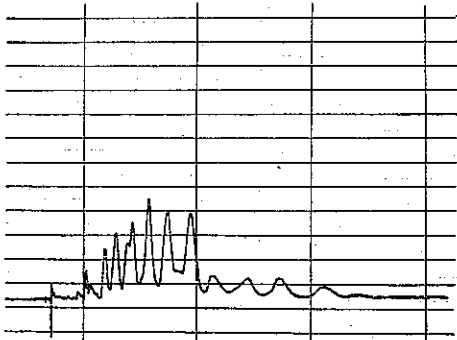
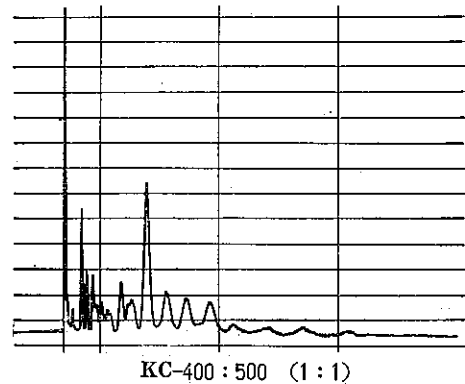
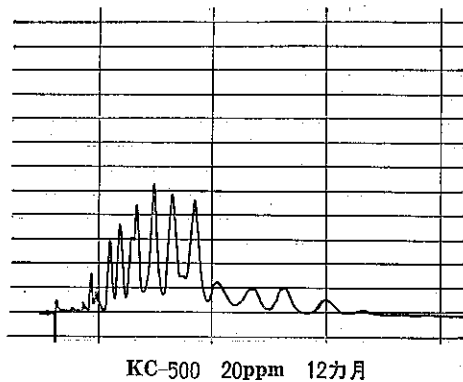
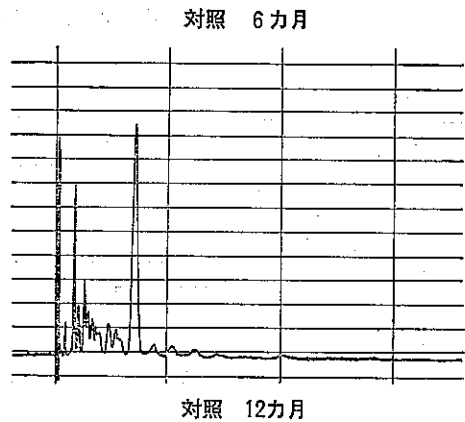
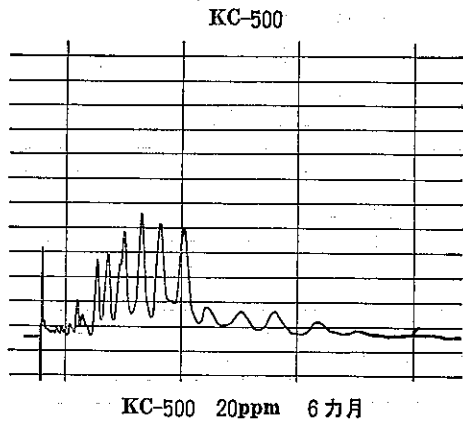
(注) 染色はすべてヘマトキシリン-エオシン染色である。

図4 PCB'sのガスクロマトグラムによるパターン変化



(図の説明)

標準に用いたカネクロールはすべて5 ng/5 μ l注入(1目盛10分, その他の測定条件は本文参照。ただしキャリアガス 30ml/min, N₂)



が PCB's を体内に平均12~230ppm という量を蓄積しているにもかかわらず、外観上および解剖所見においてはほとんど大きな変化が見られなかった。第二に組織においては、肝、腎、生殖巣、頭腎に、細尿管拡張や、細胞壊死と思われる像が見られるなどの変化が若干みられた。第三に KC-300 投与魚の方が KC-500 投与魚より症状が比較的重く、とくに腎臓における変化は KC-300 投与魚に顕著であった。これらの結果は、肝臓や腎臓に PCB's の蓄積が比較的多かったというモルモット、ウサギ、ラット、ヒナなどの動物を使った病理組織観察の結果やコイを使

った PCB's の亜急性毒性実験の結果と一致している。

4 まとめ

今回の実験条件では致死効果はもちろん、外観、体重変化にも影響を及ぼさないが、組織においては腎臓、肝臓、生殖巣、頭腎の組織像に変化がみられ、KC-300 100ppm 投与魚において著しかった。

PCB's の塩素含量が多くなるに従って魚体中に残留する割合が大きくなり、最高230ppm (全魚体、湿重量) 蓄積した。残留 PCB's のパターンは投与 PCB's に比較して、KC-300 でかなり、KC-400 で多少変化が表われた

が、KC-500 ではほとんど変わらなかった。各組織の PCB's 含量は、脂肪組織でとくに高く、あとは特に大きな違いはなかったが、肝臓、生殖巣、鰓で比較的高く、可食部、脳で比較的低かった。

なお、本研究にあたり、適切な御助言を下された東京水産大学の隆島史夫氏、東京都立大学の磯野直秀氏、東京都水産試験場の高橋歌之介氏および実験に協力下さった東京水産大学の下松則子氏に深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 磯野直秀氏 (都立大理学部) 私信.
- 2) S. Jensen, *New Scientist* 32. 612 (1966).
- 3) D. J. Hansen, et al, *Bull. Environ. Contam. and Toxicol.* 6, 113 (1971); H. O. Sanders and J. H. Chandler, *ibid.*, 7, 257(1972); 関連するものとして, T. Yoshida, et al, *Ambio*, 2, 111(1973).
- 4) 例えば, Z. K. Cutkomp, et al, *Environ. Health Perspectives* 1, 165 (1972).
- 5) J. W. Miller : *US Publ. Health Rep.*, 59, 1085 (1944); J. G. Vos and J. H. Koeman, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 17, 656 (1970); 宗像純子 東京水産大学卒業論文.