

学 位 論 文 要 旨

氏 名	角 埜 彰
題 目	化学物質に対する海水魚の感受性とその種間差に関する研究 (The Study on the susceptibility for chemicals and their difference between marine test fishes)

本研究では、海水魚を用いた毒性試験によるわが国沿岸域の環境保全に資するために、酸化トリブチルスズ (TBTO)、塩化トリフェニルスズ (TPTC)、カドミウム (Cd) 及びナフタレン (Nap) の4種類の試験物質を選定し、日本産海水魚であるマダイ (*Pagrus major*)、及びアメリカ産海水魚であるマミチヨグ (*Fundulus heteroclitus*) を用いて毒性試験等を実施した。得られた毒性値を比較検討して日本産の海水魚の試験魚としての有用性を検討するとともに、試験魚の感受性差が何に基づくのかを調べた。

両魚種の急性毒性試験、マミチヨグの初期生活段階毒性試験による慢性毒性試験及びマダイ稚魚による長期暴露毒性試験の結果、マダイは非常に感度よく毒性影響を評価できることが明らかとなり、マダイ稚魚による長期暴露毒性試験が慢性毒性試験の代替法になりうることが示唆された。また、慢性毒性試験における影響評価項目については、主に成長を指標とすることにより感度よく影響を評価することができることが明らかとなった。また、初期生活段階での飼育が困難なため初期生活段階毒性試験が困難であるマダイにおいても、急性毒性試験を実施して急性毒性値を求め、この値をマミチヨグで求めた急性毒性値と慢性毒性値の比である急性慢性毒性比 (ACR) で除すことにより、慢性毒性値をおおよそ推定できることが明らかとなった。

マミチヨグ及びマダイを用い、上記4物質のについて調べて生物濃縮係数 (BCF)、吸収速度定数 (k_1)、排泄速度定数 (k_2) などを明らかにし、急性毒性値である 96hrLC50 に BCF を乗じて臨界体内残留量 (critical body residue, CBR) を算出するとともに、急性毒性試験死亡個体の試験物質体内濃度を測定した。その結果、Nap を除き急性毒性試験における死亡魚の体内濃度の方が、CBR よりも低くなっていた。また、死亡個体中の試験物質の濃度はマミチヨグの方が、いずれの物質でもマダイに比較して高くなっていた。さらに、急性毒性試験における死亡個体中の試験物質の蓄積量と 96hrLC との関連を検討した結果、非常によい相関が認められ、体内への蓄積量が少量でも死に至る魚種は感受性が高く、高濃度の蓄積量で死に至る魚種は感受性が低いことが明らかとなった。これらの結果から、試験物質の毒性評価に関連して算出される CBR について、例えば Nap のような数日で体内濃度が平衡に達する narcotic chemicals では CBR が致死魚の実測体内濃度と近似し、その値と各魚種に対する化学物質の影響濃度を関連づけることによって、魚種の感受性差を明らかにすることが可能と考えられた。しかし、有機金属である TBTO、TPTC あるいは重金属である Cd については、致死魚の実測体内濃度と影響濃度の関連づけから、化学物質に対する感受性の魚種間差を明らかにすることが可能と考えられた。

これらの研究成果は、今後広まっていくと考えられる海域、特に沿岸域の多種多様な生物相を有する環境評価に有益な情報となることが期待できる。

学 位 論 文 要 旨

氏 名

Akira KAKUNO

題 目

The Study on the susceptibility for chemicals and their difference between marine test fishes

(化学物質に対する海水魚の感受性とその種間差に関する研究)

Recently, studies on fish toxicity has shifted from acute to chronic tests since long-term effects of chemicals on fish appear to be more important than short-term effects. Yet the protocols for chronic toxicity tests using marine fish have developed slowly compared to their freshwater counterparts. In addition, the difficulty of handling fry has restricted the development of a chronic toxicity test using an early life stage of a Japanese marine fish. These situations have now interfered in the conduct of environmental risk assessments of chemicals in the coastal environments of Japan. Thus, acute and chronic toxicity tests were conducted using Japanese marine fish, red sea bream (*Pagrus major*), and American marine fish, mummichog (*Fundulus heteroclitus*) for 4 chemicals: bis-n-tributyltin oxide (TBTO), triphenyltin chloride (TPTC), cadmium (Cd), and naphthalene (Nap). Median lethal concentrations (LC50) were derived from acute toxicity tests. On the other hand, chronic tests were early life stage toxicity test (ELS) and long-term toxicity test (LT) for mummichog and red sea bream juvenile, respectively, with growth (body length and weight) as test endpoints. Results show that relationship between LC50s and chronic toxicity values for both red sea bream and mummichog were linear implying that chronic toxicity values can be estimated through their acute-to-chronic toxicity ratios. Moreover, red sea bream was adversely affected at lower concentrations of the chemicals than mummichog suggesting that LT can replace ELS as chronic toxicity test for red sea bream juvenile. Hematological parameters such as red blood cell count, hematocrit, or hemoglobin concentration were also efficient when used for evaluating non-lethal toxicity of the chemicals in red sea bream. Additionally, we determined the bioconcentration factors (BCF) of TBTO, TPTC, Cd and Nap in both mummichog and red sea bream to investigate the cause of the differences in their susceptibility to these 4 chemicals. The critical body residues (CBR), which were calculated from BCF and LC50 values, were also compared to the dead fish body residues (DFBR) collected during the acute toxicity tests. Results show that it took about six weeks for TBTO, TPTC and Cd to reach their steady state while Nap reached steady state within 1 week only and was quickly eliminated. Interestingly, the concentrations of the test chemicals in dead mummichog were higher than in dead red sea bream for all chemicals. In addition, CBRs were comparatively higher than DFBRs for all chemicals except for Nap. Hence, it seems toxicity was underestimated by CBR. It was, however, evident that DFBR of the test chemicals in the acute toxicity test and 96hr-LC50 were very strongly correlated. For instance, red sea bream, which has a lower 96hr-LC50, die at a lower body residue concentration than mummichog. This indicates that red sea bream is a more sensitive marine test fish compared to mummichog. Finally, body residue such as DFBR is a useful indicator of fish susceptibility to chemicals.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	角 埜 彰
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 小山 次朗
	副査 鹿児島大学 教授 板倉 隆夫
	副査 鹿児島大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島大学 准教授 安楽 和彦
	副査 佐賀大学 講師 上野 大介
審査協力者	
題 目	化学物質に対する海水魚の感受性とその種間差に関する研究 (The Study on the susceptibility for chemicals and their difference between marine test fishes)
<p>本研究では、海水魚を用いた毒性試験によるわが国沿岸域の環境保全に資するため、酸化トリブチルスズ (TBTO)、塩化トリフェニルスズ (TPTC)、カドミウム (Cd) 及びナフタレン (Nap) の4種類の試験物質を選定し、日本産の海水魚マダイ (Pagrus major)、及びアメリカ産の海水魚マミチヨグ (Fundulus heteroclitus) を用いて毒性試験等を実施した。得られた毒性値を比較検討して日本産の海水魚の試験魚としての有用性を検討するとともに、試験魚の感受性が何に基づくのかを調べた。</p> <p>急性毒性試験及び慢性毒性試験の結果、マダイは非常に感度よく毒性影響を評価できることが明らかとなった。また、慢性毒性試験における影響評価項目については、主に成長を指標とすることにより感度よく影響を評価することができることが明らかとなった。また、初期生活段階の飼育が困難なため初期生活段階毒性試験実施の困難な日本産の海水魚においても、急性毒性試験を実施して急性毒性値を求め、この値を他の魚種で求めた急性毒性値と慢性毒性値の比である急性</p>	

慢性毒性比 (ACR) で除すことにより慢性毒性値を概ね推定できることが明らかとなった。

生物濃縮係数 (BCF) をマミチョグ及びマダイについて調べて生物濃縮係数 (BCF) などを明らかにし、BCF を急性毒性値である 96hrLC50 に乗じて臨界体内残留量 (critical body residue, CBR) を算出するとともに、急性毒性試験での死亡個体について体内の試験物質濃度とを比較して試験物質の感受性の差異を検討した。その結果、Nap を除き急性毒性試験における死亡魚の体内濃度の方が CBR よりも低くなっていた。また、死亡個体中の試験物質の濃度はマミチョグの方がいずれの物質でもマダイに比較して高くなっていた。さらに、急性毒性試験における死亡個体中の試験物質の蓄積量と 96hrLC との関連を検討した結果、非常によい相関が認められ、体内への蓄積量が少量でも死に至る魚種は感受性が高く、高濃度の蓄積量で死に至る魚種は感受性が低いことが明らかとなった。これらの結果から、試験物質の毒性評価に関連して算出される CBR について、例えば Nap のような数日で体内濃度が平衡に達する narcotic chemicals では CBR が致死魚の実測体内濃度と近似し、その値と各魚種に対する化学物質の影響濃度を関連づけることによって、魚種の感受性差を明らかにすることが可能と考えられた。しかし、有機金属である TBTO, TPTC あるいは重金属である Cd については致死魚の実測体内濃度と影響濃度の関連づけから、化学物質に対する感受性の魚種間差を明らかにすることが可能と考えられた。

これらの研究成果は、今後広まってくると考えられる海域、特に沿岸域の多種多様な生物相を有する環境評価に大いに寄与できると期待できる。

学力確認結果の要旨	
学位申請者 氏名	角埜 彰
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 小山 次朗
	副査 鹿児島大学 教授 板倉 隆夫
	副査 鹿児島大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島大学 准教授 安楽 和彦
	副査 佐賀大学 講師 上野 大介
審査協力者	
実施年月日	平成22年1月19日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、平成22年1月19日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>また、口答により外国語（英語）の学力を確認した。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が大学院博士課程修了者と同等以上の学力ならびに識見を有するものと認め、博士（水産学）の学位を与えるに十分な資格を有するものと認めた。</p>	

学位申請者 氏 名	角 埜 彰
<p>[質問 1] 化学物質の魚類への長期影響に対して、血液性状の中ではヘマトクリット (Ht) 値が最も高い感受性を示したが、その理由は何か。また、Ht の測定法を説明してほしい。</p>	
<p>[回答 1] 海産魚は海水を飲むため、化学物質を含む海水が消化管に影響し、その内側を傷害するため、体内への水の侵入量が増え、血液が希釈された結果、Ht 値が低下したのではないかと考えている。Ht は、50μL 前後の血液を収容したマトクリット管を遠心分離するマイクロヘマトクリット法によって測定した。</p>	
<p>[質問 2] 死亡魚体の体内化学物質濃度が、推定死亡濃度 (CBR, Critical Body Residue) と異なる理由は何か。</p>	
<p>[回答 2] CBR は生物濃縮係数 (BCF) と水中濃度を乗じて求めた。ナフタレン (Nap) のように吸収速度の速い物質では、CBR と死亡魚体体内濃度が近似したが、吸収速度の遅い物質では比較的大きく異なっていた。CBR のレベルに達する前に、他の要因も影響して死亡したことも原因の一つと考えられるが、詳細は分からない。</p>	
<p>[質問 3] 死亡個体の化学物質体内濃度について、データベースはあるのか。質問者も生物を含めて環境中化学物質の濃度を分析しているが、それらと比較する事によって興味深い結果が得られるのではないか。</p>	
<p>[回答 3] 確かに興味深いことであるが、残念ながらそのようなデータベースはない。</p>	
<p>[質問 4] 本研究で得られた TBT 等の魚類に対する影響濃度と比較して、実際の環境水中濃度はどのようなレベルにあるのか。</p>	
<p>[回答 4] 環境水中濃度は得られた影響濃度と比較して低く、魚類への影響はあまりないと考える。</p>	
<p>[質問 5] 化学物質の吸収経路 (水-鰓、餌-消化管) によって毒性が異なってくるのか。</p>	
<p>[回答 5] 急性毒性では水暴露のため、鰓への影響が大きいと考えられる。本研究では短期 (急性)、長期暴露とも水暴露の実験であり、吸収経路による違いを詳細には検討していないので、吸収経路による毒性の差の詳細については不明である。しかし、淡水魚と違って海産魚類は水を飲むため、水暴露でも餌暴露と同様に消化管に対する影響も認められることは経験的に分かっている。</p>	
<p>[質問 6] 死亡個体の魚体内化学物質濃度と 96 時間半数致死濃度 (96h-LC50) が直線関係を示したが、カドミウム (Cd) はその直線関係から外れていることから、無機、有機物質で蓄積、毒性発現関係が異なるという結論は早計ではないか。</p>	
<p>[回答 6] ご指摘の通りかもしれない。しかし、少なくとも無機物質全体とは言えないまでも Cd については他の有機物質とその関係が大きく異なると言えるのではないか。</p>	