

鶏の組織における水銀の残留と水銀の卵への移行に関する研究

田辺 昭・平松一男・原 勝己・鳥海 徹

(家畜衛生学研究室)

Received July 1, 1974

Retention of Mercury in Tissues and its Transference to Eggs in Chickens

Akira TANABE, Kazuo HIRAMATSU, Katsumi HARA
and Tooru TORIUMI

(Laboratory of Animal Hygiene)

Three mercurials i. e. mercurous nitrate (MN), phenylmercuric acetate (PMA) and ethylmercuric chloride (EMC) were administered orally to chickens to obtain information about mercury retention in tissues and its transference to eggs.

1. With PMA retention was high in the liver and the kidney, while it was low in the superficial pectoral muscle and the brain. With EMC mercury not only was retained very highly in the liver and the kidney, but also retained rather highly in the superficial pectoral muscle and the brain. Both mercurials were retained predominantly in the erythrocyte, whereas they were retained at low levels in the plasma. This tendency was stronger with EMC than with PMA. With EMC administration retention was generally more protracted than with PMA.

2. As to mercury content in yolk, small differences were observed among three mercurials. In transference to albumen, however, marked differences were observed among the three. The greatest transference occurred with EMC, followed by PMA and MN. The percentage of transference of dose of mercury in albumen from EMC during the experimental periods can be assumed to be 30% or more.

3. A few days after PMA administration, the egg production dropped significantly. After that period, however, no effect was found. EMC and MN had no adverse effect on egg laying. Two birds showed slight paralysis of legs in the PMA group. Other than that no clinical signs were observed during the experimental periods except immediately after the administration.

水銀化合物が鶏の体内に入ったとき、それらが産卵、増体量、弊死亡率に及ぼす影響、鶏体内における残留、ならびに卵への移行に関しては近年相当数の報告がなされている^{1,2,3,5,6,9,10,11}。しかしながら、さまざまな条件下において、鶏体内に入った水銀化合物の動態に関する基礎的データ、特にそのうちで比較的長期にわたるものは、いまだ極めて不十分であると考えられる。本研究はアルキル水銀、フェニール水銀、無機水銀を用いて単発投与の場合の水銀の各組織における分布、残留および卵への移行に関する基礎的データを得るために行われた。

材料および方法

供試薬としては mercurous nitrate (MN), phenylmercuric acetate (PMA) および

ethylmercuric chloride (EMC) を用いた。供試鶏としては白色レグホン種の産卵鶏を用いた。

1) 組織への分布：供試鶏は投薬前 24 時間絶食させ、PMA の場合は 32 mg/kg, EMC の場合は 12.5 mg/kg をそれぞれ経口投与した。以後常法どおりケージ飼育し、投与後 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 日めに原則として 7 羽ずつを採血後ただちに放血屠殺して目的とする臓器を採取し、測定材料とした。

2) 卵への移行：供試鶏は投薬前 24 時間絶食させ、PMA の場合は 8 羽にそれぞれ 32 mg/kg, EMC の場合は 7 羽に 12.5 mg/kg, MN の場合は 8 羽に 13.2 mg/kg を経口投与した。以後常法どおりケージ飼育し、適当な間隔をおいて採卵し、卵中の水銀量を定量した。

3) 水銀定量法：水銀の定量は浮田ら¹²⁾の方法に準じて行った。試料 1~10 g を 500 ml 丸底フラスコに採取し、硫酸、硝酸混液 (1:1) 10 ml, 金属セレン 0.1 g を加え、長さ 40 cm 内径 15 mm の空気冷却管と FRIEDRICH 還流冷却器をつないで、弱火で 2 時間分解した。放冷後冷却管の内を希硫酸 10 ml と少量の蒸溜水で洗った。材料はガラス繊維を用いて第二の 500 ml 丸底フラスコ中に濾過し、もとのフラスコを希硫酸 (1:3) 約 10 ml で洗い、洗液をロート上加え、さらに約 10 ml の蒸溜水で洗って洗液をロート上加えた。これに 6% KMnO₄ 溶液を過剰に加え、弱火で 3 時間加熱した。放冷後冷却管内を前回と同様に洗い、50% 塩酸ヒドロキシルアミン 3~5 ml を加えて KMnO₄ を脱色し、さらに蒸溜水を加えて全量を 150 ml とした。

つぎに材料を第一の 300 ml 分液ロートに移し、dithizone chloroform 溶液 (6 mg/l) 10 ml を加えて 1 分間はげしく振盪抽出した。抽出が完了しない場合は chloroform 層を分取後、さらに dithizone 液 10 ml を加えて抽出、抽出が完了するまでこの操作をくりかえした。0.25 N 硫酸 50 ml を入れた第二の分液ロートに前記の dithizone 抽出液を移し、1 分間振盪して抽出液を洗った。さらに 0.25 N 硫酸 50 ml を入れた第三の分液ロートに抽出液を移し、40% KBr 溶液 10 ml を加えて 1 分間振盪、水銀を水層に移行させた。つぎに chloroform 層を捨て、さらに chloroform 10 ml を加えて振盪洗滌し、chloroform を除いた。

水層に約 15 ml の緩衝液 (Na₂HPO₄·12H₂O 150 g, Na₂CO₃ 38 g を溶解して 1 l としたもの) を加えて pH を 5 とし、dithizone 溶液 10 ml を加えて 1 分間振盪し、水銀を抽出した。抽出が完了しない場合は chloroform 層を完全に除き、さらに dithizone 溶液 10 ml を加えて振盪抽出し、抽出が完了するまでこの操作をくりかえす。各回の抽出液ごとに 490 mμ で吸光度を測定し、標準曲線より水銀量を算出した。

結 果

1) 組織への分布

第 1 図は水銀剤経口投与後の各組織中の Hg 濃度の経日的変化を示している。PMA の場合最も高濃度に分布したのは腎で、投与後 1~2 日には約 80 ppm となった。腎 1 箇中の量を投与量に対する割合で示すと約 1.7% となった。ついで分布濃度の高かったのは肝、血球であり、最高値は投与 1 日後で、それぞれ 40 ppm, 30 ppm であった。血漿、脳組織、浅胸筋は比較的低濃度で、最高値でそれぞれ 2.15, 0.67, 0.64 ppm であった。経時的濃度低下率が最大であったのは血球で、最小は脳組織であった。血球、血漿、浅胸筋は 32 日後、腎、肝、脳組織は 128 日後に、おおむね投与前の水準に復した。

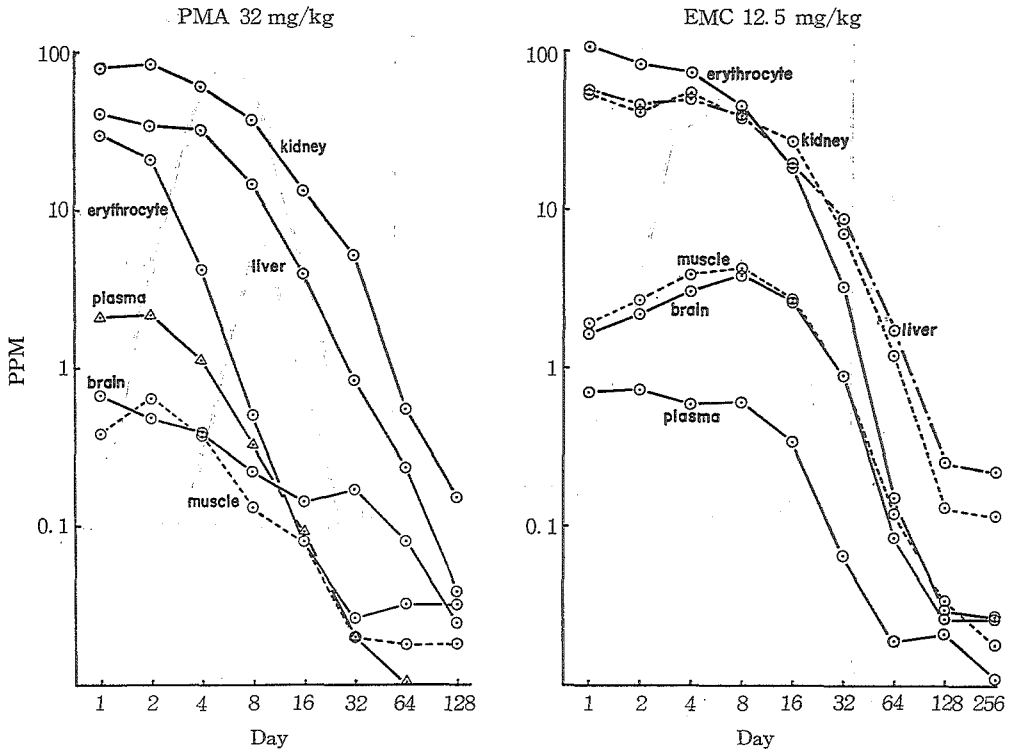


Fig. 1. Retention of mercury in tissues after oral administration of mercurials

EMC の場合は最初最も高濃度の分布がみられたのは血球で、最高値は1日後の約 110 ppm であった。ついで肝、腎が高く、最高値は1~4日後の約 50 ppm であった。浅胸筋、脳組織は PMA に比較してかなり高濃度の分布がみられた。PMA においては、どの臓器も投与後 1~2 日めが最高濃度となり、以後減少したが、EMC では脳組織と浅胸筋の濃度は投与後経日的に高まり、8 日めが約 4 ppm で最高値を示した。血漿への移行は比較的少く、最高値で 0.72 ppm であった。濃度低下の最も速かったのは、やはり血球であった。血漿は 64 日後、血球、浅胸筋、脳組織は 128 日後、腎は 256 日後に大体投与前の値に復したが、肝では 256 日後においてもなお投与前に復しなかった。EMC は PMA と比較して一般に長期貯留の傾向が認められた。

2) 卵への移行

第 2 図は水銀剤投与後の卵中の水銀濃度を示している。PMA の場合は 4 日めの卵黄から検出され始め、7 日めには投与量の 0.73% に達した。これを卵黄 1 箇中の実量で示すと 218 μg となる。以後漸減したが、20 日めになお 0.036% が検出され、40 日で大体投与前に復した。卵白への移行は低率であった。4 日めに 0.048% 検出されたのをピークに以後漸減し、12 日め以後は大体投与前の水準になった。

EMC の場合は水銀は卵白に多量移行した。投与後 2 日めの卵から水銀が検出され始め、4 日めには投与量の 7.3% に達した。これを卵 1 箇中の実量で示すと 1.17 mg となる。以後漸減したが、45 日めになお 0.042% が検出され、90 日で大体投与前に復した。卵黄では 2 日めから

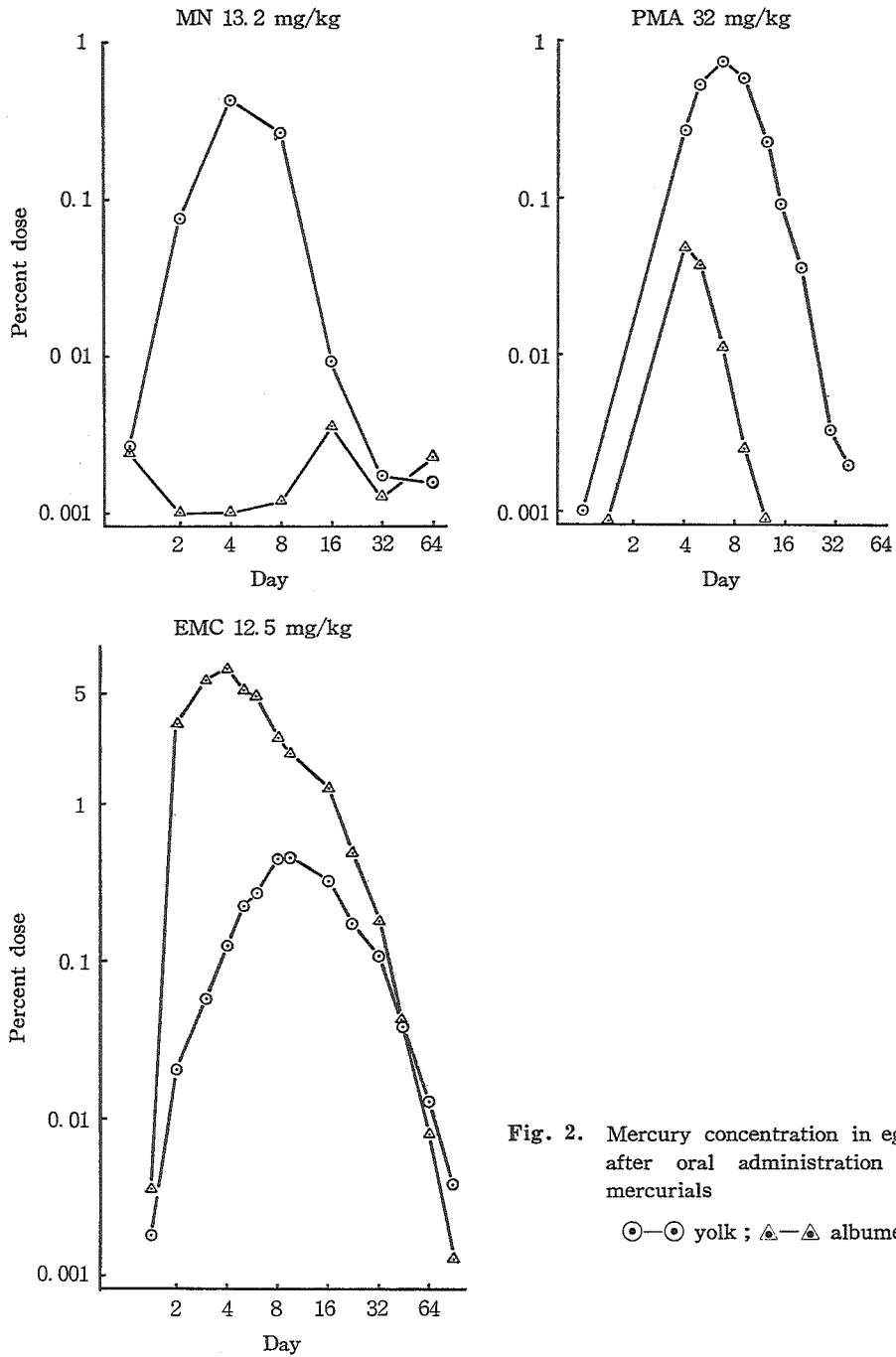


Fig. 2. Mercury concentration in eggs after oral administration of mercurials

○—○ yolk ; △—△ albumen

検出され始め、10日めの0.46%（卵黄1箇中の実量で71.9 μg ）をピークに以後漸減した。しかしながら45日め以後はむしろ卵白をうわまわる数値となり、90日めにおいても投与前に復しなかった。

MN の場合は水銀はほとんど卵黄のみに移行し、卵白では事実上検出されなかった。投与

後2日めの卵黄から検出され始め、4日めには0.43%（卵黄1箇中の実量で75.9 μg）に達した。32日めに大体投与前に復した。

3) 産卵率と症状

試験期間中の産卵率は第3図のごとくであった。PMA区で投与直後に投薬の影響と思われる産卵率低下が認められたが、数日間で回復し、以後は対照区との間に有意差は認められなかった。その他の薬物では影響はみられなかった。

試験期間中PMA区の2羽が軽度の脚部麻痺を示したが、それ以外の症状は認められなかった。

考 察

1) 組織への分布

MILLERら³⁾はPMAの鶏の腎への移行について、投与96時間後で投与量の5~20%におよぶ結果を示している。本実験で得られた結果は彼らの示した数値の2分の1から6分の1であった。彼らの実験では水銀剤を筋注しており、本実験の結果との差は投与方法の違いによるかも知れない。またMILLERら⁵⁾は投与量の違い、鶏の系統の違いによっても腎、肝への移行率に大きな差があることを示している。さらにMILLERら⁴⁾は投与後168時間までの追跡で、PMAは筋注の場合は肝よりも腎に高濃度に分布するが、経口投与の場合は両者大体等しいと述べている。本研究では腎の濃度は肝の濃度の約2倍であった。彼らはまたEMCにおいては経口投与で腎の濃度は肝の濃度の3倍以上の成績を得ているが、本実験では両者の濃度は大体一致した。上記のごとき結果の相違はいかなる理由によるものか不明である。彼らが実験動物として195~600gの♂ヒナを用いていることも理由のひとつ

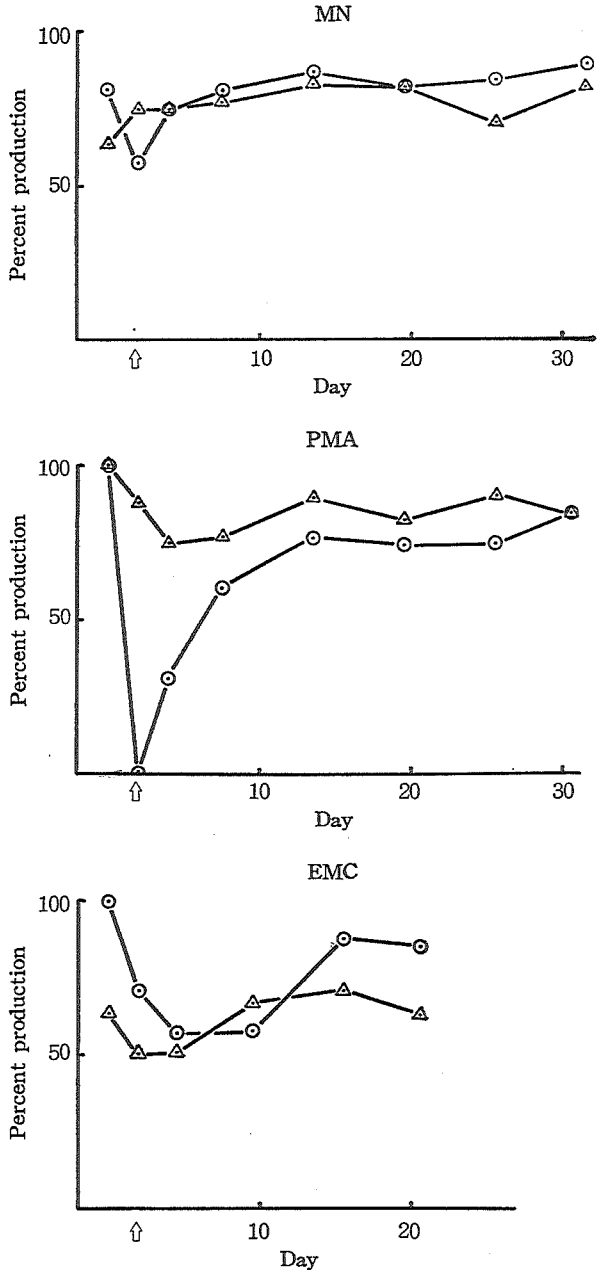


Fig. 3. Egg production after oral administration of mercurials
 ○—○ experimental ; △—△ control

とつかも知れない。TEJNING ら¹⁰⁾ はメチル水銀化合物を4箇月半投与した後の脳組織、胸筋の水銀濃度は、肝、腎の3分の1以上に達したという結果を得ているが、単発投与の本実験では、この値は約10分の1であった。

次に哺乳動物の場合と比較してみると、浮田¹³⁾ のラットを用いた実験では、EMC は肝よりも筋に高濃度に検出されているが、本実験では肝の濃度は浅胸筋の濃度の10~30倍となった。また浮田¹³⁾ はEMC投与後8日目のサルでは、脳における水銀濃度(1.27 $\mu\text{g/g}$)と肝のそれ(3.04 $\mu\text{g/g}$)との比が0.42であったが、ラットにおけるそれは0.094となり、サルにおける脳への水銀とりこみが極めて高率であることを示している。本実験の鶏においてはこの値は0.1となり、浮田によるラットの値に極めて近かった。同じ報告の中で浮田¹³⁾ はラットにおける8日目までの追跡で、血球と血漿の水銀濃度を比較している。それによると、アルキル水銀では終始血球濃度が血漿濃度をうまわ一方、フェニル水銀においては最初血球濃度が高いが、血漿濃度が4日目まで経日的に増加してくることを示している。本実験におけるPMAでは、血漿濃度が初日以後経日的に増加するという事はなかったが、血球濃度と血漿濃度が次第に接近し、16日目以後は逆転した。

2) 卵への移行

PMAの場合とEMC, MNの場合は投与量が同一でない(PMAはHgベースで他の二者の2倍)。そこで数値を直接比較することは適当でないと思われるが、傾向としてはTEJNING ら¹⁰⁾, KIWIMÄE ら²⁾ のメチル水銀における結果と同様に、EMCはPMA, MNと比較して卵白への移行が極めて顕著であった。MNはNISHIMURA ら⁷⁾ のウズラにおける結果と似て、卵白にはほとんど移行しなかった。これに反して卵黄へは3種の水銀化合物がほとんど同一水準で移行した。以上の事実は生体内における水銀の存在様式^{13,14)}、および卵への移送の機序⁸⁾に関連して興味深い。EMCにおいて試験期間中の卵白への水銀移行総量は、投与量の30%またはそれ以上に達すると推定されたが、この事実は食品衛生上重要なことと考えられる。

要 約

白色レグホン種の産卵鶏に3種類の水銀化合物を投与して、水銀の組織内分布と、卵への移行に関して以下の結果を得た。

1. PMAの場合水銀は腎、肝に高率に分布するが、浅胸筋と脳組織にはあまり分布しなかった。一方EMCでは腎、肝に高率に分布するのみならず、浅胸筋、脳組織にもかなりの程度分布した。どの水銀剤の場合も血球へ高率に分布し、血漿には低かった。EMCでは特にこの傾向が著しかった。EMCはPMAと比較して、一般に長期貯留される傾向があった。

2. 水銀の卵黄への移行については、MN, PMA, EMCの間に大差は認められなかったが、卵白への移行率には大差があり、EMCが最高で、PMA, MNの順となった。特にEMCでは試験期間中の卵白への水銀移行総量は投与量の30%あるいはそれ以上に達するものと思われる。

3. PMA投与後数日間は産卵率に影響がみられたが、その後は対照との間に有意差は認められなかった。MN, EMCでは試験期間中産卵への影響は認められなかった。PMA投与鶏のうち2羽が軽度の脚部麻痺を示したが、それ以外には、はっきりした臨床症状は認められなかった。

本研究の遂行にあたり、北里大学池田三義、岩手大学湯山章、東京大学浦川紀元、西村昌数の諸先生から有益な助言をいただいたことを深謝する。

文 献

- 1) HEUSER, G. F.: *Poultry Sci.* 35, 160—162 (1956)
- 2) KIWIMÄE, A., A. SWENSSON, U. ULFVARSON and G. WESTÖÖ: *J. Agr. Food Chem.* 17, 1014—1016 (1969)
- 3) MILLER, V. L., G. E. BEARSE and K. E. HAMMERMEISTER: *Poultry Sci.* 38, 1037—1039 (1959)
- 4) MILLER, V. L., G. E. BEARSE, Y. KIMURA and E. CSONKA: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 100, 301—303 (1959)
- 5) MILLER, V. L., D. L. LARKIN, G. E. BEARSE and C. M. HAMILTON: *Poultry Sci.* 46, 142—146 (1967)
- 6) MILLER, V. L., G. E. BEARSE and E. CSONKA: *Poultry Sci.* 49, 1101—1104 (1970)
- 7) NISHIMURA, M., N. URAKAWA and M. IKEDA: *Japan. J. Pharmacol.* 21, 651—659 (1971)
- 8) NISHIMURA, M. and N. URAKAWA: *Japan. J. Pharmacol. (Supplementum)* 22, 85 (1972)
- 9) PARKHURST, C. R. and P. THAXTON: *Poultry Sci.* 52, 273—276 (1973)
- 10) TEJNING, S. and R. VESTERBERG: *Poultry Sci.* 43, 6—11 (1964)
- 11) THAXTON, P. and C. R. PARKHURST: *Poultry Sci.* 52, 277—281 (1973)
- 12) 浮田忠之進, 星野乙松, 円沢珪子: *衛生化学* 9, 138—141 (1963)
- 13) 浮田忠之進: *科学* 41, 557—563 (1971)
- 14) 浮田忠之進, 井村伸正: *科学* 41, 586—592 (1971)