

イガイ組織内の遊離アミノ酸に及ぼす カドミウム及び重油成分の影響

Effects of Cadmium and Heavy Oil on the Intercellular
Pool of Free Amino Acids in *Mytilus coruscus* Gould

加藤 芳伸 井上 勝弘

Yoshinobu Kato and Katsuhiro Inoue

イガイ類 (*Mytilus* sp) は、古くから環境汚染物質による海水の汚染レベルを知るための指標生物として、高い評価を受け、各国の研究者によって広く利用されてきた。¹⁾⁻⁷⁾

しかしながら、様々な環境汚染物質をその体組織へ取り込んだ場合、これらの物質によって、貝自体がどのような影響を受けるかという点についての報告は比較的少い。⁸⁾⁻¹⁰⁾

最近、Briggs⁸⁾は、0.1 ~ 5.0ppm のカドミウムを含む海水でムラサキイガイ (*Mytilus edulis* L.) を飼育すると、この生物の組織内の遊離アミノ酸（以下FAAと略す）の濃度が著しく減少したと報告した。しかし、この報告では、個々のFAA の挙動については触れていない。

我々は、カドミウム或いは重油を含む海水中でイガイを飼育し、これらの環境汚染物質が、この生物の組織内FAAの動態に及ぼす影響を調べた。

本実験に用いた貝は、北海道稚内の沿岸海域に生息する正常なイガイ (*Mytilus coruscus* Gould) である。水深約3 mの岩礁に群生する貝を採取し、速やかに実験室へ運んだ。貝試料は、直ちに、5 °Cの人工海水（八州薬品KK製、アクアマリンを用いて調製）を含む25 ℥の水槽へ移し、数日間、通気しながら飼育した後、予め、調製した0、1.0及び5.0ppmのカドミウム或いは、5.0ppmの重油（A重油、硫黄含有量0.93%）を含む人工海水へ投入した。それぞれの水槽は、何れも25 ℥容量とし、この水槽中へ各10ヶの殻長4 - 6 cmの貝を入れ、通気しながら、144時間、飼育した。餌は特に与えなかった。

飼育終了後、それぞれの水槽から、5ヶの貝を取り出し（5.0ppmのカドミウムを含む海水中の貝は、72時間後、総て斃死した）、オイスターナイフで開口し、えら、外とう膜、閉括筋、中腸腺及び生殖巣（生殖腺）を摘出した。これらの組織は、各組織毎にプールし、組織重量の10倍量の5%トリクロール酢酸を加え、水冷下、ポリトロン磨碎器

で磨碎し、組織ホモジネートを作成した。各ホモジネートは、3,000r.p.m、15分間、遠心分離し、残渣及び上澄液を得た。残渣は一定量の蒸留水に懸濁し、Lowry法によって蛋白質量を測定した。上澄液は等量のエチルエーテルを加えて、分液汎斗中で振盪し、水層を分取した。FAAを含む水層は、40 °Cで減圧乾固した後、一定量の0.02N塩酸を加えて溶解し、溶解液中のアミノ酸を日立アミノ酸分析計835型を用いて分析した。なお、使用カラムは、プレカラム4.0mmID×50mm、主カラム、2.6mmID×150mm、充填剤は、日立カスタム交換樹脂#2619を用いた。溶離液は、MCI(R)-緩衝液、835-Hキットを用い、アミノ酸は、ニンヒドリン溶液により発色させた。

1. カドミウム及び重油含有海水で飼育した、イガイが示す生物学的反応

さきに、Martin ら⁹⁾ 及びBriggs⁸⁾は、カドミウムを含んだ海水中で飼育したイガイは、その足糸の産生が著しく減少すると報告した。また、Georg及びCoombs¹⁰⁾は、0.7 ppmのカドミウムを含む海水でイガイを飼育すると、貝が多量の粘液を分泌したため、飼育水槽の水面は、泡に覆われたと述べている。更に、Briggs⁸⁾は、カドミウムを含んだ海水中で飼育した貝は、黄色の色素を分泌したと報告している。彼等は、この様な現象は、カドミウムの毒性に対するイガイの生物学的応答の1つであると説明している。

本実験においても、1.0ppmのカドミウム、そして5.0ppmの重油を含んだ海水中でイガイを飼育すると数時間後には、飼育水槽の水面には、多量の泡が生じ、18時間後には、水槽中の海水は、黒褐色を呈することが観察された。

さきに、我々は、イガイを4 °Cから20 °Cへ、そして、20 °Cから4 °Cへと水温の異なる海水へ移行させる実験を行ったが、¹¹⁾ この様な現象は、観察されなかった。

即ち、イガイは、単なる物理的刺激では、粘液や色素を

分泌しない。また、粘液や色素の分泌は、カドミウムの毒性に対する特別な反応でもない。イガイは、その環境に有害な物質が存在した時、それに対する生物学的な応答として、粘液や色素を放出するものと考えられる。

2. 組織内FAA濃度に及ぼすカドミウムの影響

Briggs⁸⁾は、0.1ppmのカドミウムを含んだ海水中でイガイを376時間飼育すると貝の軟組織内FAA濃度が対照のそれに比べて50%以下に低下したと報告した。

本実験では、1.0ppm(5.0ppmでは斃死)のカドミウムを含む海水中で144時間飼育したイガイの組織内FAA濃度を測定し、対照のイガイのそれと比較するとTable 1のようであった。即ち、何れの組織のFAA濃度も対照のそれに比べて、約20%前後低下していた。

Table 1. Changes of FAA concentration in the tissues of *Mytilus coruscus*, exposed to the sea water containing cadmium

| Tissues | Concentration of FAA (mmole/g . protein) | |
|-----------------|---|-----------|
| | Control | 1.0ppm Cd |
| Gill | 0.44 | 0.32 |
| Mantle | 0.86 | 0.70 |
| Digestive Gland | 0.64 | 0.54 |
| Gonad | 0.73 | 0.54 |
| Adductor Muscle | 0.42 | 0.32 |

3. 組織内FAA濃度に及ぼす重油の影響

5.0ppmの重油を含んだ海水中で、144時間飼育したイガイの組織内FAA濃度を測定し、対照のイガイのそれと比較した。その結果はTable 2に示したように、重油処理したイガイの生殖腺組織のFAA濃度は、対照のそれと比べて約20%，そして、外とう膜のFAA濃度は約10%低下した。

Table 2. Changes of FAA concentration in the tissues of *Mytilus coruscus*, exposed to the sea water containing oil

| Tissues | Concentration of FAA (mmole/g . protein) | |
|---------|---|------------|
| | Control | 5.0ppm oil |
| Mantle | 1.36 | 1.25 |
| Gonad | 2.38 | 1.82 |

4. 組織内FAA組成に及ぼすカドミウムの影響

Briggs⁸⁾は、カドミウムを含む海水で飼育したイガイの組織内FAA濃度が著しく低下すると報告したが、個々のアミノ酸の組成比の変化については述べていない。

本実験では、1 ppmのカドミウムを含む海水で144時間飼育したイガイの組織内FAAの組成を調べ、対照のそれと比較した。その結果は、Table 3に示したように、カドミウム含有海水で飼育したイガイ組織内FAAの中、グリシン或いはアラニンの濃度が著しく低下し、タウリンの濃度が上昇した。

即ち、えら、中腸腺及び外とう膜組織内FAAの中、グリシン及びアラニンの濃度が顕著に低下し、タウリンの濃度がそれを補うように上昇した。また、生殖腺及び閉括筋組織内のグリシンの濃度が顕著に低下し、タウリンの濃度がそれを補うように上昇した。

さきに、Lange¹²⁾は、ムラサキイガイ (*Mytilus edulis* L.) の組織内の浸透圧は、組織細胞内のタウリン濃度の増減によって行われていると報告している。

海水中のカドミウムは、外とう膜、えら、そして中腸腺を通じて体組織へとり込まれると考えられるが、これらの組織内FAAの中、グリシンとアラニンの濃度が低下したのは、明らかにカドミウムの影響と考えられる。おそらく、組織内でのこれらのアミノ酸の合成酵素系がカドミウムによって阻害を受けたのであろう。そして、タウリンの濃度の上昇は、アラニン、グリシン濃度によって生じた組織細胞内の浸透圧低下を防ぐためであろう。因みに、海産無脊椎動物のアラニン、グリシンなどのアミノ酸の合成は、ビルピン酸キナーゼ及びグルタミン酸デヒドロゲナーゼによって調節されていると報告されているが、¹⁴⁾ タウリンの合成は、これらのアミノ酸の合成経路とは異っている。¹⁵⁾ イガイ組織内のタウリンの合成は、カドミウムによって阻害されないのかもしれない。

5. 組織内FAA組成に及ぼす重油成分の影響

5 ppmの重油を含む海水中で、144時間飼育したイガイの外とう膜及び生殖腺組織内のFAA組成を調べ、対照のそれと比較した。その結果は、Table 4に示すように、重油含有海水で飼育した貝の外とう膜組織のFAA組成に大きな変化は認められなかった。しかし、生殖腺組織では、アスパラギン酸、セリン、アスパラギン及びグルタミンなどの濃度が僅かに低下し、タウリン、グリシン及びアラニンの濃度が僅かに増加したが、何れにしても、カドミウムを含む海水で飼育したイガイの組織で見られたFAAの組成の著しい変化は認められなかった。

Table 3. Changes of FAA composition in the tissues of *Mytilus coruscus*, exposed to the sea water containing cadmium

| Amino Acids | Gill | | Mantle | | Digestive Gland | | Gonad | | Adductor Muscle | |
|---------------|---------|-----------|---------|-----------|-----------------|-----------|---------|-----------|-----------------|-----------|
| | Control | 1.0ppm Cd | Control | 1.0ppm Cd | Control | 1.0ppm Cd | Control | 1.0ppm Cd | Control | 1.0ppm Cd |
| Ammonia | 5.3 | 5.4 | 3.9 | 4.2 | 6.2 | 8.4 | 3.9 | 5.9 | 2.0 | 2.9 |
| Phosphoserine | 1.0 | 0.8 | 0.3 | 0.5 | 0.7 | 0.8 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.3 |
| Taurine | 45.5 | 60.3 | 24.7 | 48.6 | 25.9 | 47.1 | 14.3 | 21.4 | 30.3 | 43.4 |
| Aspartic Acid | 4.9 | 5.3 | 2.3 | 6.1 | 2.8 | 4.9 | 2.6 | 2.2 | 1.9 | 0.9 |
| Threonine | 1.2 | 1.3 | 3.1 | 2.4 | 2.7 | 3.0 | 4.2 | 4.5 | 1.4 | 2.0 |
| Serine | 1.2 | 2.2 | 3.8 | 2.4 | 3.1 | 3.0 | 4.9 | 5.9 | 1.7 | 2.8 |
| Asparagine | 0.6 | 1.1 | 1.5 | 1.0 | 1.1 | 1.3 | 1.7 | 2.2 | 0.6 | 1.3 |
| Glutamic Acid | 2.9 | 2.8 | 4.0 | 4.1 | 5.1 | 4.2 | 6.6 | 4.3 | 2.9 | 4.3 |
| Glutamine | 0.1 | 0.4 | 1.0 | 0.7 | 0.7 | 0.9 | 0.9 | 3.0 | 0.4 | 1.1 |
| Proline | 1.0 | 1.0 | 2.2 | 2.0 | 1.9 | 1.5 | 2.4 | 2.2 | 1.0 | 1.5 |
| Glycine | 19.8 | 5.4 | 15.8 | 12.2 | 18.8 | 7.9 | 17.5 | 7.0 | 29.7 | 14.5 |
| Alanine | 10.4 | 7.0 | 15.7 | 7.5 | 15.8 | 7.9 | 17.3 | 20.3 | 11.3 | 13.8 |
| Valine | 0.3 | 0.4 | 0.9 | 0.4 | 0.9 | 0.6 | 1.4 | 1.2 | 0.4 | 0.7 |
| Cystine | 0.1 | 0.5 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.5 | 1.0 | 0.2 | 0.5 |
| Methionine | 0.1 | 0.1 | 0.4 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.6 | 0.8 | 0.2 | 0.4 |
| Cystathionine | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 |
| Isoleucine | 0.2 | 0.3 | 0.7 | 0.3 | 0.7 | 0.5 | 1.0 | 0.8 | 0.3 | 0.6 |
| Leucine | 0.3 | 0.3 | 0.8 | 0.3 | 0.8 | 0.5 | 1.2 | 0.9 | 0.4 | 0.8 |
| Tyrosine | 0.5 | 0.7 | 1.8 | 0.6 | 1.4 | 0.9 | 2.4 | 2.5 | 0.8 | 1.3 |
| Phenylalanine | 0.2 | 0.2 | 0.5 | 0.2 | 0.4 | 0.3 | 0.7 | 0.8 | 0.2 | 0.4 |
| Ornithine | 0.2 | 0.1 | 0.4 | 0.2 | 0.3 | 0.2 | 0.6 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Tryptophan | 0.6 | 0.3 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.4 | 0.5 | 0.2 | 0.2 |
| Lysine | 0.9 | 1.0 | 4.0 | 1.5 | 3.0 | 1.9 | 4.8 | 3.5 | 2.0 | 1.2 |
| Histidine | 0.5 | 0.6 | 1.4 | 0.8 | 1.1 | 1.0 | 1.8 | 2.1 | 0.6 | 0.8 |
| Arginine | 2.4 | 2.6 | 10.1 | 3.6 | 6.0 | 2.9 | 7.8 | 6.3 | 10.8 | 4.2 |

The values expressed as mole Percentage ($\mu\text{mole of each amino acid}/\mu\text{mole of total amino acid} \times 100$)

Table 4. Changes of FAA composition in the tissues of *Mytilus corsicus*, exposed to the sea water containing oil

文 献

| Amino Acids | Mantle | | Gonad | |
|---------------|---------|------------|---------|------------|
| | Control | 5.0ppm Oil | Control | 5.0ppm Oil |
| Ammonia | 3.6 | 3.3 | 3.8 | 3.2 |
| Phosphoserine | 0.4 | 0.4 | 0.3 | 0.4 |
| Taurine | 28.7 | 30.3 | 38.1 | 44.6 |
| Aspartic Acid | 9.4 | 8.6 | 5.6 | 3.4 |
| Threonine | 1.3 | 1.4 | 1.8 | 1.7 |
| Serine | 1.9 | 1.5 | 2.4 | 1.8 |
| Asparagine | 3.0 | 1.7 | 4.2 | 2.0 |
| Glutamic Acid | 5.5 | 5.6 | 6.0 | 5.6 |
| Glutamine | 4.6 | 2.7 | 4.7 | 2.7 |
| Proline | 2.8 | 2.3 | 2.4 | 2.3 |
| Glycine | 18.4 | 21.4 | 11.1 | 13.0 |
| Alanine | 10.4 | 11.8 | 11.1 | 13.0 |
| Valine | 0.7 | 0.5 | 0.6 | 0.6 |
| Cystine | 0.7 | 0.5 | 0.1 | 0.2 |
| Methionine | 0.6 | 0.4 | 0.5 | 0.3 |
| Cystathione | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Isoleucine | 0.4 | 0.3 | 0.6 | 0.5 |
| Leucine | 0.6 | 0.5 | 0.8 | 0.6 |
| Tyrosine | 0.9 | 1.0 | 1.0 | 1.3 |
| Phenylalanine | 0.3 | 0.3 | 0.4 | 0.4 |
| Ornithine | 0.3 | 0.2 | 0.3 | 0.2 |
| Tryptophan | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Lysine | 1.5 | 1.1 | 1.7 | 1.4 |
| Histidine | 1.4 | 1.3 | 1.5 | 1.4 |
| Arginine | 3.1 | 2.7 | 2.7 | 1.9 |

The values expressed as mole Percentage(μmole of each amino acid/ μmole of total free amino acid $\times 100$)

- 1) Goldberg E.D. et al. : Mar. Pollut. Bull., **6** (7), 111-125(1975)
- 2) Schulz B.M. : Mar. Biol., **21**, 98-102(1973)
- 3) Schulz B.M. : Mar. Biol., **37**, 59-68(1976)
- 4) Georg S. G, B.J.S. Pirie and T.L. Coombs : Exp. Mar. Biol. Ecol., **23**, 71-84(1976)
- 5) Lee R.F, R. Sauerheber and A.A. Benson : Science, **177**, 344-346(1972)
- 6) Poulsen E, H.U. Rusgard and Mohlenberg : Mar. Biol., **68**, 25-29(1982)
- 7) Diwan A.D, H.G. Hingorni and N. Chandrasekham Naidu : Bull. Environm. Contam. Toxicol., **21**, 269-272(1979)
- 8) LeBaron R. Briggs : Bull. Environm. Contam. Toxicol., **21**, 838-845(1979)
- 9) Martin J.M, F.M. Pilz and D.J. Reish : The Veliger, **18**, 183-188(1976)
- 10) Georg S.C. and J.L. Coombs : Mar. Biol., **39**, 261 (1977)
- 11) 加藤芳伸, 井上勝弘 : (未発表)
- 12) Lange R. : Comp. Biochem. Physiol., **10**, 173-179(1963)
- 13) Kasschau M.R. : Comp. Biochem. Physiol., **51** (A), 301-308(1975)
- 14) Hochachka P.W. and S.G.N. Somero : Strategies of Biochemical Adaptation, W.B. Sader Co., p.51 (1973)
- 15) 岩田平太郎, 栗山欣弥 : 「タウリン」 医歯薬出版, p. 4-18(1975)