

水產動物與Xenobiotics

何偉璞

Part I : Xenobiotics 在魚類中的代謝

(一) 代謝方式

(二) 實 例

Part II : 環境中的 Xenobiotics 與魚介類體內酵素活性的關係



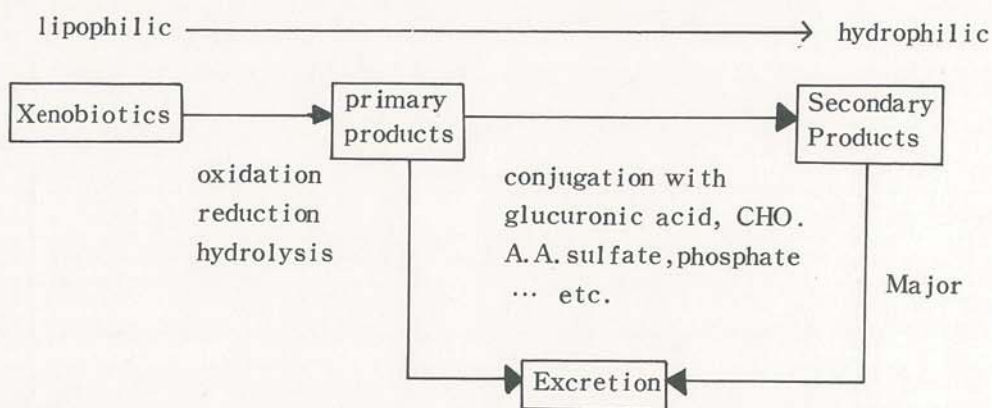
Part I .Xenobiotics在魚體中的代謝

在體內與身體無關的有機化合物稱 "Foreign compounds" 如治療用藥、農藥、化學藥品等等。與 "Foreign compounds" 同意的 "Xenobiotics" 目前已被廣泛的使用，不過有時候 Xenobiotics 也用於專指除農藥和治療用藥以外的化學物質。

對水產動物而言鰓相當於陸生動物的肺，鰓除了呼吸功能外還排除體中的廢物或有害物質。腎臟則是排除尿素、無機離子和鹽及調節滲透壓的重要器官。鰓可以廣範的吸收水中的各種成分如無機離子和有機化合物，故在水中有機藥物的吸收主要是經由鰓進入。在魚體內具極性的有機物可直接由鰓或腎臟排出體外，而無極性的化合物須在魚體中（大多是肝臟）經一連串的作用使極性增大毒性減弱後再經由鰓、膽汁及腎臟排出體外。

一、代謝方式

生物體內對 Xenobiotics 的代謝一般包括四類反應：氧化 (oxidation)、還原 (reduction)、加水分解 (hydrolysis) 和縮合 (conjugation)。前三者稱為 Primary phase (phase I)，縮合反應稱 Secondary phase (phase II)。如果 Xenobiotics 本身具有 hydroxyl group 或 carboxyl group 的親水基時通常就直接進入 Secondary phase。



(A) 氧化

氧化反應，在 primary phase 中是最重要的一類反應，如大多數的 Xenobiotics 在肝臟中經氫化 (hydroxylation)，支鏈的氧化，N-oxidation，sulfoxidation，N-，O-，S-dealkylation，deamination，desulfuration 的作用而氧化。例如表一、二。

表 1 各種淡水魚肝臟の aniline hydroxylase および aminopyrine N-demethylase 活性⁽¹⁾

種	酵素活性	
	Aniline hydroxylase (生成物 μ moles/g 肝臟/hr)	Aminopyrine N-demethylase
Pacific lamprey	0.005	0
White sturgeon	0.006	0.003
Northern pike	0.018	0
Smallmouth bass	0.018	0
Chinook salmon	0.019	0.006
Flathead catfish	0.022	0.004
Channel catfish	0.026	0.009
Bluegill	0.027	0.006
Rainbow trout	0.028	0.001
Steelhead trout	0.030	0.012
White crappie	0.033	0.003
Sockeye salmon	0.044	0
Silver salmon	0.045	0
American shad	0.069	0.082
Carp	0.084	0.029
Yellow perch	0.087	0.034
Coarsescale sucker	0.180	0.059
Rat	0.30	0.40

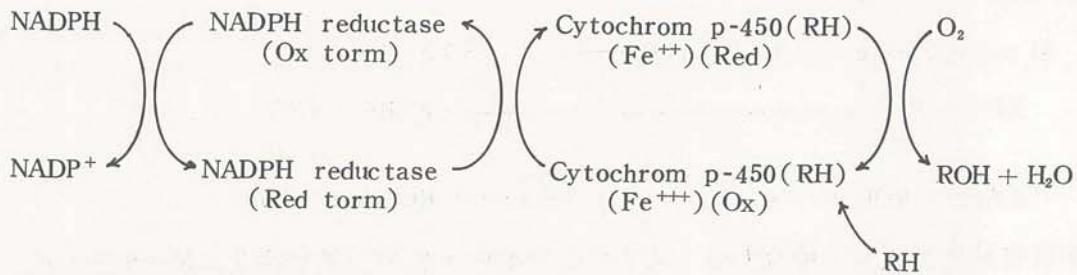
魚類では 25°C で，ラットでは 37°C で測定

表 2 各種魚類肝ミクロゾーム中の cytochrome P-450 含量⁽¹⁵⁾

種	Cytochrome P-450 (nmoles/mg microsomal protein)
Fish	
Carp	0.33
Rainbow trout	0.22
Gibel	0.15
Kissing gourami	1.03
Bluegill	0.81
Winter flounder	0.17
Little skate	0.22~0.32
Large skate	0.26, 0.41
Dogfish shark	0.23, 0.29
<i>Fundulus heteroclitus</i>	0.009
<i>Stenotomus versicolor</i>	0.35
Atlantic stingray	0.43
Bluntnose stingray	0.32
Sheepshead	0.29
Mangrove snapper	0.25
Black drum	0.14
Mammals	
Rat	0.72
Mouse	0.99
Rabbit	1.55

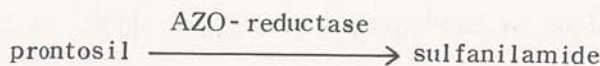
在表一中我們可以發現 aniline hydroxylase 和 aminopyrine N-demethylase 雖然都存於大多數的魚種和哺乳動物體中，但在魚類中的活性大多只有哺乳動物的 1/2 ~ 1/60 甚至有些還不具有此種酵素活性。

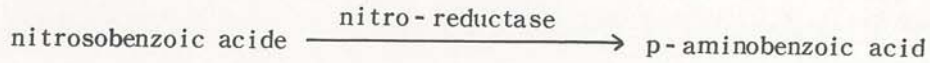
表二中的 Cytochrome p-450 在哺乳動物體中是最主要的氧化酵素，其需氧氣和 NADPH 的活化。而魚體中的含量也均較哺乳動物低許多。



(B) 還原 (Reduction)

動物依氧而生，其體中的代謝也多在有氧的狀態下進行（即氧化反應），故動物體要進行還原反應（無氧狀態下）的機會不多。例如





雖然魚體中也有上述的還原酵素，但活性均較哺乳動物的低。

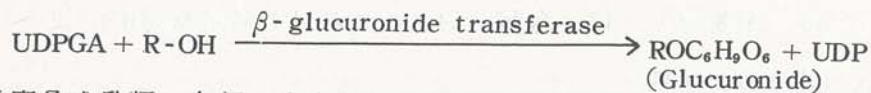
(C) 加水分解 (Hydrolysis)

Xenobiotics 在肝中被加水分解的情形因魚種的不同而不同，但比率都不高。例如 parathion 和 malathion 在 sunfish 中被分解的比率各為 32% 及 40%；在 bullhead 為 32% 及 24%，flounder 為 11% 及 20%。

(D) 縮合反應 (Conjugation)

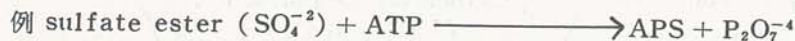
Xenobiotics 經 primary phase 的反應後雖然極性增加但毒性未必會下降（請看後 P 實例），有時反而會上升。但 primary products 或 parent compounds 經 secondary phase 作用 (conjugation) 後則必能降低其毒性和增加極性使易被排出體外。大多數的魚類具有下列數種縮合反應的活性

(1) Glucocuronic acid conjugation



此反應是哺乳類、鳥類、爬蟲類和兩棲類的主要解毒途徑。在魚體中 aminobenzoic acid 和 2-amino - 4 phenyl - thiazole 等藥物會進行此反應。

(2) sulfate conjugation



幾乎所有動物都具有此解毒機構，尤以貓體中最強，豬中則無此活性。是 secondary phase 中第二重要的解毒機構。過去一直認為魚類不具此活性，經小林邦男博士的研究發現魚類也具此類酵素活性但都很低，而且魚種間的差異也很大。

(3) 其他

還有 glycine conjugation, glutathione conjugation 和 acetylation 等反應，但反應活性均較哺乳類低。

魚是變溫動物，故酵素活性受水溫影響非常大。

二、實例

(A) Pentachlorophenol (PCP) 在魚體中的代謝

(1) PCP 和其他 chlorophenols 的毒性：

PCP 是種廣泛被使用的除草劑。其對魚的 LD_{50} 是 0.2 ppm，具有非常高的 concentration factor，如將金魚置於 0.2 ppm 的水中經 24 hr 後在體的含量可高達 $95 \mu\text{g/g}$ ，concentration factor 為 47.5。其他有機氯劑的毒性隨所接的氯原子的數目的增加而急遽增加。如 tetrachlorophenol 的 LD_{50} 為 0.75 ppm，trichlorophenol 為 1.7 ppm 而 Mono 則為 9.0 ppm，且 concentration factor 也由 93，62 降至 10.1。小林先生認為氯離子能增加魚體對有機氯劑的堆積（濃縮）情形，而使有機氯劑的毒性隨所接氯離子數目的增加而增加。

(2) PCP 的吸收：

金魚置於含 PCP 0.2 ppm 的水中，魚體便會將其吸收使體內達一非常高的濃縮係數。被吸收的 PCP 積存在魚體的各個器官內，尤其是胆膽中。小林先生發現在暴露的第一個小時胆膽中 PCP 的含量最低，但達 24 hr 後，胆囊中的濃縮係數竟高達 2700。把魚移置到無 PCP 的水中時，胆囊中的 PCP 的濃度仍呈直線上升，在清水中 24 hr 後濃縮係數達 5400，但其他器官中的 PCP 的量均下降。由此而推論胆囊中的 PCP 大多是由其他器官經由各種方式送到肝中，在肝中縮合後再儲於胆囊中。

(3) PCP-glucuronide 由膽汁排出：

在膽汁中縮合—PCP 都是 β -glucuronide PCP，故經 glucuronide conjugation 後隨膽汁排出在魚體中是種常見的解毒機構。

(4) PCP-sulfate 排入水中：

將金魚置於無 PCP 的水中，在第 10 hr 後，有大量的縮合 PCP 和少量的 free-PCP 被排入水中。這些縮合 PCP 經鑑定後知均為 PCP-sulfate。又在由尿液中排出的縮合 PCP 95% 是 PCP-sulfate，無 glucuronide-PCP 存在。（實在有趣金魚在膽汁中排出的全是 glucuronide PCP，在尿液中全為 PCP-sulfate。）

綜觀而言，PCP 在體內形成 PCP-sulfate 和 glucuronide-PCP 的比值約為 2.7。而將

近 60% 的 PCP-sulfate 是由腮擴散到水中，其餘的才由尿中排出。形成 glucuronide-PCP 可迅速降低體內 free-PCP 的量（使毒性下降），但因 glucuronide-PCP 會被腸子再吸收，故並非一有效排出 PCP 的途徑。

附：

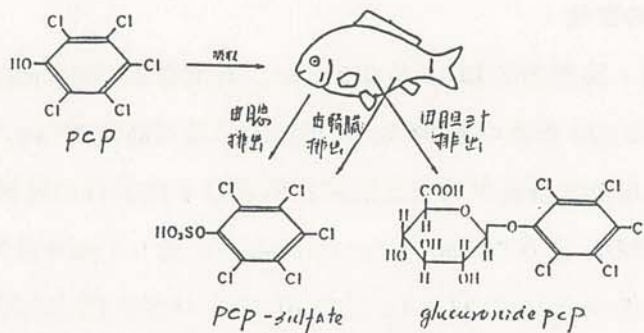


図 10-2 魚類における PCP の主要解毒経路¹¹⁾。

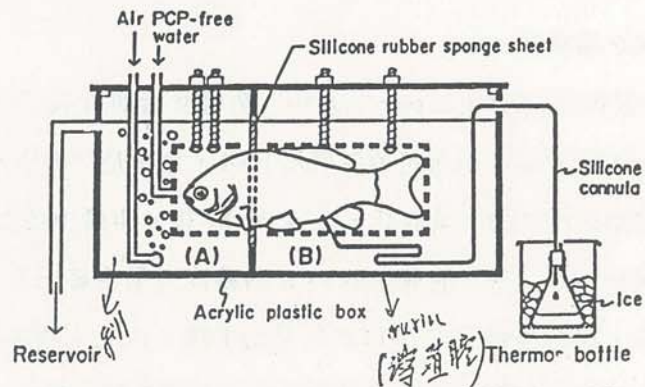


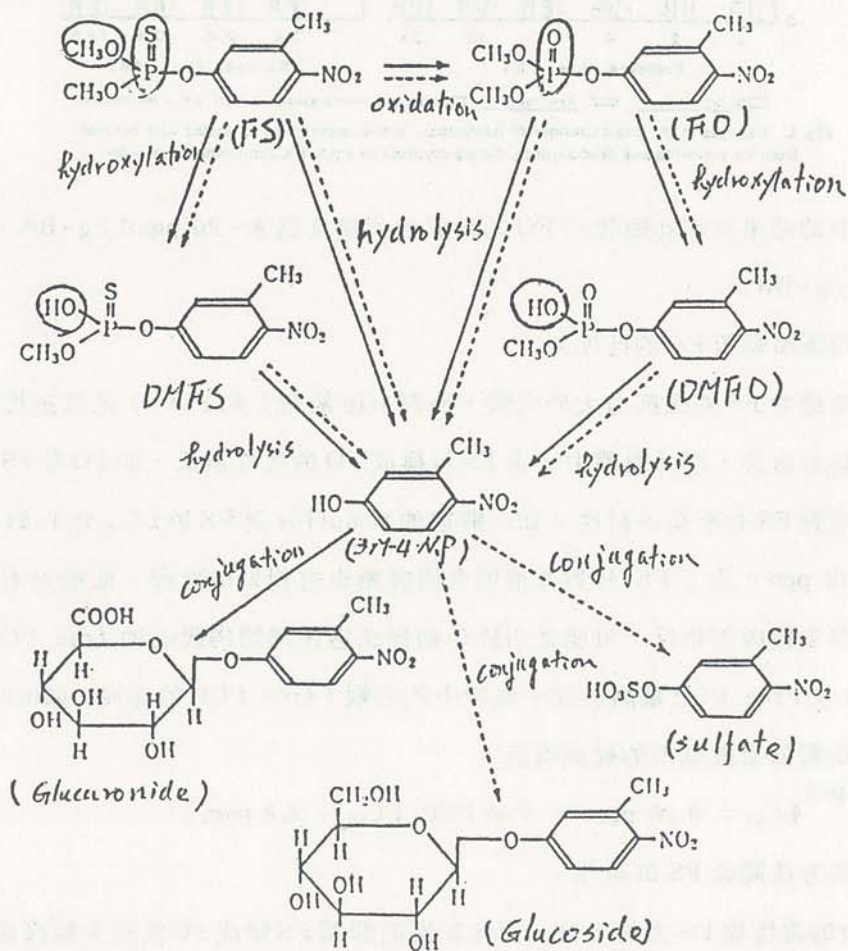
Figure 1. Apparatus for determination of excretion routes of PCP in fish

(B) Fenitrothion 在蝦中的代謝

(1) 代謝方式

Fenitrothion 是種有機磷劑的殺蟲劑。常用直昇機噴灑以抑制昆蟲保護林木，其對人體和其他動物的毒性很小，但對蝦類的毒性非常大。以 LD₅₀ 而言，貝類是 6 ppm，金魚是 6 ppm，而斑節蝦只有 1 ppb。故 Fenitrothion 對蝦類的毒性是其他水產動物的數千倍。如以苯抽出 C¹⁴ Fenitrothion 在蝦體中的代謝產物，得 Fenitrothion (FS)，Fenitrooxen (FO)，Desmethylfenitrothion (DMFS)，desmethylfenitrooxen (DMFO) 和 3 methyl-4 nitrophenol (3-M-4-NP) 等確知的代謝物。當暴露於含 FS 的水中時（

0.5 ppb)，蝦體中 FS 的量在第 4 hr 時便達一定值，而其他的衍生物都隨著暴露時間的增加而增加，尤以 3-M-4-NP 上升的最明顯（參看 R4 F.2）。將 FS 的縮合產物抽出，以 sulfatase，B-glucosidase 及 B-glucuronidase 分析。縮合物全為 glucoside 及 sulfate 無 glucuronide 存在，且 sulfate : glucoside = 2 : 1。而得知 phenol 在蝦體內的解毒方式是 sulfate 和 glucoside. conjugation（這和昆蟲相同，但昆蟲 sulfate : glucoside = 1 : 2）。



(2) FS 和 FO 在蝦體中的致死劑量

將蝦暴露於 2 ppb FS 的海水中 (LD₅₀ 1 ppb)，分析活存與死亡蝦體中 FS 及 FO 的蓄積量。發現 FO 的毒性是 FS 的數十倍，小林先生推測其在蝦體中的致死濃度約 14 pmol /g-BW。如下圖所示

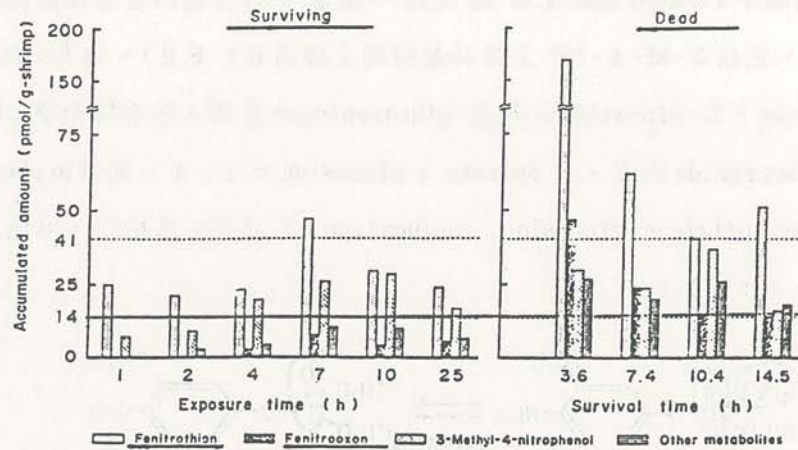


Fig. 1. Changes in the concentrations of fenitrothion and its metabolites extracted with benzene from the surviving and dead shrimps, during exposure to 2 ppb [^{14}C]fenitrothion-sea water.

在其他實驗中的結果推測在蝦體內 FO 的最低致死濃度為 8~20 pmol/g-BW，而 FS 則為 200 pmol/g-BW。

(3) 各時期的斑節蝦對 FS 的抵抗力

實驗發現幼蝦對 FS 的抵抗力大於成蝦，而對有機氯劑（如 PCP）的抵抗力却小於成蝦。這種現象是由於，在幼蝦體中，由 FS 轉換成 FO 的活性很低，而 FO 是 FS 毒性的數十倍，故幼蝦對 FS 有較高的耐性。如幼蝦期的 *Mauplius* 對 FS 的 LC_{50} 是 1.84 ppb，而成蝦只有 0.72 ppb。除了 FS 外對其他的有機磷劑也有相似的情形。而蝦對有機氯劑抵抗力的情形與有機磷劑相反，可能是由於幼蝦無法迅速將體內吸收的 free PCP 縮合成 glucuronide 使 Free PCP 量高於同一環境中的成蝦（free PCP 的毒性 > glucuronide PCP）。故幼蝦對有機氯劑的較成蝦低。

(*Mauplius* $\text{LC}_{50}^{\text{pcp}} = 0.28 \text{ ppm}$ ，*Pso* PCP $\text{LC}_{50} = 2.8 \text{ ppm}$)

(4) 以生化的方法降低 FS 的毒性

因已知 FO 的毒性較 FS 大數十倍，因此如果能抑制 FS 變成 FO 便能大幅降低 FS 對蝦所造成的毒害。小林先生將能與使 $\text{FS} \rightarrow \text{FO}$ 的酵素競爭受質的 piperamy Butaxide (PB) 添加 20 mgpg/g diet 到飼料中後，可延長蝦的活存時間 5~10 倍。

Part II. 水環境中的 Xenobiotics 與魚介類 體內酵素活性的關係

由前述已知魚體中各種解毒酵素的活性都不高，只有哺乳動物的 1/10~1/1000。

但是目前已知魚體內數種酵素的活性能被水環境中的 Xenobiotics 誘導而增強。例如：PCP 可誘導魚體中 Cychrome - p-450 的量增加：即將魚餵食含 PCP 的飼料，經 16 個禮拜後體內 Cychrome p-450 的量是未餵食魚的 2 倍。如果只餵食 4 個禮拜，則 Cychrome p-450 在第 16 個禮拜時仍維持第 4 個禮拜增高的量。PCP 對魚體中的 hydroxylase 及 demethylase 也有相似的誘發力。又例如水中存在的石油 (petrroleum) 能誘發 AHH (aryl hydrocarbon hydroxylase) 的活性，將魚置含石油 1 ppm 的水中，經 7 ~ 8 hr 則體內 AHH 量增加了 1 倍，15 hr 後變為 15 倍。由此可知我們也可以利用水產動物體內的酵素活性做為評估水質污染的方法之一。除此之外如果先將魚類暴露於低濃度下的 Xenobiotics 使其體內的解毒酵素活性提高，則對環境中的 Xenobiotics 的抵抗力就增加了。