アコヤガイ及びイケチョウガイの生化学的研究—Ⅲ.

イケチョウガイ各器官の Ca^{45} 集積及び排出*

堀 口 吉 重

(三重県立大学水産学部)

Biochemical Studies on *Pteria (Pinctada) martensi* (DUNKER) and
Hyriopsis schlegeli (MARTENS)—Ⅲ.Accumulation and Disappearance of Ca^{45} in Various Organs of
Hyriopsis schlegeli (MARTENS)

Yoshishige HORIGUCHI

To clarify the mechanism of the shell and pearl formations, the author investigated the metabolism of Ca in *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) by using Ca^{45} as a tracer.

The accumulation and the disappearance of Ca^{45} in various organs of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) are shown in Table 1, 2, 3, 4, 5 and 6.

From the results, it was found that the greater part of the absorbed Ca^{45} is concentrated in the gill and the gill predominates in the organs as to the disappearance of Ca^{45} .

Furthermore, it was presumed that the mantle, receiving Ca^{45} from other organs (perhaps, the gill), precipitates it to the shell.

Turn over rate of the mantle of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) was about same level as that of *Anodonta lauta* MARTENS and about one-fifth of *Crassostrea virginica*.

先に著者はイケチョウガイ各器官の Ca^{45} 集積及び排出量について報告したが、前回の実験に用いた Ca^{45} 培養液は粗製品のため比放射能が低く約 1,500 mg/1 の Ca を含んでいたためは実験中衰弱し7時間以上の培養は続けられなかつた。今回は比較的純粋な Ca^{45} を入手したので可成り自然に近い条件下で実験を行うことが出来た。培養液は Ca 含量 11 mg/1 の $\text{Ca}^{45} \text{Cl}_2$ 溶液を用い、120 時間培養しても外觀上特別の異状は認められなかつた。イケチョウガイの Ca^{45} 代謝量は実験条件を変えたため一部は前回と異なる結果が得られ、又長時間の場合の代謝結果が得られたので再びイケチョウガイの Ca 代謝について報告する。尚、 Ca^{45} を追跡子として用いた貝類の Ca 代謝に関する研究は数種の貝について報告されている^{2),3),4),5),6),7)}ので、それらの貝類とイケチョウガイの Ca 代謝結果について比較検討した。

材 料 と 方 法

試料貝…琵琶湖産イケチョウガイ (100~200 g) を用い、三重県立大学水産学部構内の溜池に入れて、10—20 日間の予備飼育を施した、実験は 1955 年 6 月 6 日より 8 月 1 日の間に行つた。

培養液…米国, Oak Ridge National Laboratory 製の $\text{Ca}^{45} \text{Cl}_2$ を池水にて約 10,000 倍に稀釈した。培養液は pH 7.1~7.2, 2,000 $\pm$ 50 cpm/ml, Ca 含量は 11 mg/1 で培養液 5 l に対しイケチョウガイ 2~4 個を入れ止水培養した。

吸収実験…水温 18~20°C 及び 24~25°C の Ca^{45} 培養液中で 1, 5, 8, 20, 40 及び 120 時間吸収させた

1957 年 1 月 5 日受理

* 本報告の一部は 1955 年 11 月 2 日、日本水産学会に於いて講演した。

後、とり上げ水洗*せず直ちに外套膜、鰓、内臓等に3分し、濾紙で附着水を拭き去り、秤量、乾燥し550~650°Cで灰化した。灰分の一部は柳沢法⁸⁾によりCaを比色定量した。

排出実験

A…水温 18~20°C で20時間Ca⁴⁵を吸収させた貝(吸収が略平衡に達する)をCa⁴⁵を含まない流水中に1, 5, 20, 44, 150及び750時間においてCa⁴⁵を排出せしめた後、吸収実験と同様に処理して灰化した。

B…水温 24~25°C で20時間Ca⁴⁵を吸収させた貝を外套膜、鰓、内臓等に3分し、切り離した各器官をCa⁴⁵を含まない流水中におき1, 5, 23及び30時間Ca⁴⁵を排出させた後、灰化して残存するCa⁴⁵量を測定した。

放射能測定方法…使用したGeiger Mueller counterは科学研究所製のB2 L1型で窓の厚さは2 mg/cm²である。乾燥した灰分5 mg前後を出来るだけ同様の幾何学的条件下におき、試料をマイカより1 cm離して2~5分間測定し、2~4回の平均値をとり、これを予め作製した自己吸収曲線に従って補正した。

結果と考察

測定結果は各測定点につき2個の貝より得られた平均値を示し、一連の実験において特に異状と思われる数値については更に2個の貝を用い追試した。

1. イケチョウガイ各器官のCa⁴⁵集積

イケチョウガイのCa⁴⁵集積結果はTable 1, 2に示した。Ca⁴⁵集積値が平衡に達するには鰓、内臓で約

Table 1. Rate of accumulation of Ca⁴⁵ in each organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) immersed in radioactive pond water

Organ	Mantle			Viscera			Gill		
	wt. of wet matter (g.)	amount of Ca ⁴⁵ accumulated		wt. of wet matter (g.)	amount of Ca ⁴⁵ accumulated		wt. of wet matter (g.)	amount of Ca ⁴⁵ accumulated	
		cpm	s. a. *		cpm	s. a. *		cpm	s. a. *
Time immersed (hr.)									
1	3.517	3,600	421	8.442	3,608	144	2.253	7,105	230
5	4.509	20,325	1,855	10.716	28,860	904	3.126	46,827	1,092
8	6.373	37,944	2,450	11.201	55,800	1,672	2.873	209,536	5,314
20	5.467	50,240	4,782	12.887	74,500	1,940	2.715	467,200	12,452
40	4.734	67,155	5,838	8.810	35,000	1,333	2.572	373,684	10,590
120	4.050	67,500	6,858	7.970	46,870	1,973	2.290	273,600	8,708

* s. a. was calculated by the following formula,

$$\text{s. a.} = c \times 1 / \text{Ca mg. in the sample} \quad c = \text{corrected cpm}$$

Table 2. Effect of water temperature on the accumulation of Ca⁴⁵ in each organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS)

Temp. of water (°C)	Mantle		Viscera		Gill	
	wt. of wet matter (g.)	s. a. *	wt. of wet matter (g.)	s. a. *	wt. of wet matter (g.)	s. a. *
18~20	5.467	4,782	12.887	1,940	2.715	12,542
24~25	3.646	7,537	7.727	4,086	2.122	11,628

* Specific activities of the organs after the culture for 20 hr.

20時間を要し、外套膜では約40時間を要した。各器官のCa⁴⁵集積量を新鮮物1 g当りで比較すると、鰓は170,000 cpm、外套膜は16,600 cpm、内臓等は6,000 cpmであつた。又、各器官全体のCa⁴⁵は鰓に約72%、外套膜に約16%、内臓等に約12%の割合で集積された。この結果より、イケチョウガイは環

* 水洗により組織表面の吸着Ca⁴⁵と共に、組織内に吸収されたCa⁴⁵も一部除去される可能性があるもので、単に組織表面に環境水と共に附着しているCa⁴⁵を濾紙で拭き去るにとどめた。

境水より Ca を吸収後、その大部分を鰓に集中することが明らかになった。又 Ca^{45} 集積量と水温の関係を見るに、18~25°C の範囲では鰓は水温による影響は少ないが、外套膜と内臓の Ca^{45} 量は高温になると増加する傾向が認められた。

2. イケチョウガイ各器官より Ca^{45} の排出

A. イケチョウガイの Ca^{45} 排出結果は Table 3 に示した。各器官の Ca^{45} の生物学的半減期は鰓にお

Table 3. Rate of disappearance of Ca^{45} from each organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) immersed in nonradioactive pond water

Time immersed (hr.)	Mantle			Viscera			Gill		
	wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}		wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}		wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}	
		cpm	s. a.		cmp	s. a.		cpm	s. a.
0	5.467	50,240	3,782	12.887	74,500	1,940	2.715	467,200	12,542
1	6.507	62,917	3,979	15.962	91,847	1,931	3.310	455,455	10,092
5	7.598	139,995	7,580	24.079	153,370	2,137	4.033	332,178	6,003
20	8.334	40,152	1,983	22.386	97,800	1,722	5.306	369,600	5,077
44	6.651	59,600	3,687	19.619	56,350	964	4.255	239,085	4,095
150	3.829	20,670	2,221	9.349	25,200	905	2.522	165,800	4,989
750	4.100	239	24	8.720	1,573	60	2.170	7,952	267

いて約 5 時間、外套膜約 40 時間、内臓等は約 43 時間であった。鰓と内臓等では排出時間に略比例して Ca^{45} 残存量は減少したが、外套膜の Ca^{45} は排出初期に若干増加し、その後増減を繰返し乍ら減少した。排出初期において外套膜の Ca^{45} が増加するのは、初期において外套膜より排出される Ca^{45} 量にくらべ他の器官より外套膜に補給される Ca^{45} 量が多い為である。又、この特異性は外套膜が吸収 20 時間で Ca^{45} の集積量が未だ平衡に達せず、集積余力を持つことに関連性がありそうに思える。

B 次にイケチョウガイに 20 時間 Ca^{45} を吸収させた後、外套膜、鰓、内臓等に切り離し、遊離した各器官を流水中に入れて Ca^{45} を排出させた結果を Table 4 に示した。先に外套膜は他の器官より Ca^{45} の補給

Table 4. Rate of disappearance of Ca^{45} from isolated organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS) immersed in nonradioactive pond water

Time immersed (hr.)	Isolated mantle			Isolated viscera			Isolated gill		
	wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}		wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}		wt. of wet matter (g.)	residual Ca^{45}	
		cpm	s. a.		cpm	s. a.		cpm	s. a.
0	2.646	66,777	7,537	7.727	93,950	4,080	2.122	388,584	11,628
1	3.740	54,165	5,960	12.750	119,780	3,153	2.830	301,000	7,552
5	4.020	33,280	3,407	12.190	99,960	2,752	2.450	231,350	6,882
23	5.290	18,600	1,447	17.510	123,113	2,359	2.820	120,090	3,104
30	5.130	16,000	1,283	17.140	116,100	2,273	2.330	83,200	2,603

を受けると推定したが、イケチョウガイに Ca^{45} を吸収させた後外套膜を切り離して Ca^{45} を排出させれば外套膜は他の器官より Ca^{45} の補給を受けないので Ca^{45} 量は直ちに減少する筈である。実験結果は予想の如く減少した。外套膜にくらべ遊離した鰓、内臓等は夫々の対照器官より排出速度は遅い。

3. イケチョウガイ各器官の Ca 代謝量の計算

動物組織中の Ca^{45} の集積量が平衡に達するに要する時間及び環境水と組織中の Ca^{45} 比放射能を測定すれば、その期間中に組織にとり入れられた Ca 量を計算することが出来る。更に Ca^{45} の生物学的半減期が分れば一定期間に組織より排出される Ca 量が求められる。

貝類の Ca 代謝量の計算については JODREY³⁾ はカキ *Crassostrea virginica* の外套膜、浅野等⁷⁾ はヌマ

Table 5. Renewal of Ca in each organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS)

Organ	s. a. *	Percentage of Ca renewed (%) **	Total calcium in 1 g. wet organ (mg.)	Ca weight to be renewed in 1 g. wet organ until the equilibrium (mg.)
Mantle	4,782	2.63	2.43	0.0639
Viscera	1,940	1.07	2.98	0.0319
Gill	12,540	6.90	13.72	0.9467

Remarks ; * Specific activity of the organ after the culture (20 hr.)

** Percentage of Ca renewed, obtained by dividing s. a. of the organs by s. a. (181,180) of the radioactive pond water.

Table 6. Turn over of Ca in each organ of *Hyriopsis schlegeli* (MARTENS)

Organ	Half time	Turn over time (half time/0.693)	Total calcium in 1 g. wet organ until the equilibrium (mg.)	Turn over rate (mg./hr./1 g. wet organ)
Mantle	40(4)	57.7(5.8)	0.0693	0.0012(0.01195)
Viscera	43(30>)	62.0	0.0319	0.00051
Gill	5(9)	7.2(13.0)	0.9467	0.13149(0.07282)

Remarks ; The figures in parentheses are obtained from the isolated organs.

ガイ *Anodonta lauta* MARTENS を用いて報告しているので、これらの計算方法に準じてイケチョウガイの代謝量を計算し Table 5, 6 を得た。組織中の Ca はその代謝速度より、比較的速かに置換される活性 Ca と、置換され難い不活性 Ca に分けられるが、外套膜より排出される Ca は大部分が貝殻に沈着すると考えられているので、貝殻形成力は外套膜の活性 Ca の量と代謝速度に密接な関係を有する。

JODREY によればカキの mantle-shell preparation の外套膜周縁は新鮮物 1g 当り 0.95 mg の Ca を含み、その中 2.4% が活性 Ca である。その生物学的半減期は 16.5 分であることより、1g 当り 1 時間に 0.06 mg の Ca が排出されると計算した。浅野等はヌマガイの外套膜周縁は 1g 当り 3.3 mg の Ca を含み、その中 1.12% が活性 Ca であるが、生物学的半減期 (32 時間) が長いので 0.0008 mg の Ca が排出されるに過ぎないと報告している。イケチョウガイの外套膜は 1g 当り 2.43 mg の Ca を含み、その中 2.63% が活性で生物学的半減期を 40 時間 (Ca⁴⁵ 含量の最も多い排出 5 時間を原点として計算した) とすれば、0.0012 mg の Ca が排出され、ヌマガイと略同水準にある。

更に JODREY は同実験中、カキの外套膜は 1 日 1.34 mg の Ca を排出するが、貝殻には 1.27 mg の Ca が沈着することより、外套膜より排出された Ca の大部分が貝殻形成に利用されると推定している。一方、浅野等はヌマガイ (肉質 11.7 g, 貝殻 12.9 g) の外套膜は 1 日に 0.036 mg の Ca を排出するが、貝殻 (排出実験と異なる比放射能の培養液に飼育したヌマガイで貝殻は 7.02 g) には 1 日 0.80 mg の Ca が沈着したと報告しており、両者の実験条件は異なるが外套膜より排出される Ca 量に比べ貝殻に沈着する Ca 量が多い。

著者はこれら 2 つの実験結果に差異を生じた一原因として次の如く推定した。生物学的半減期を測定中、カキでは鰓、内臓を除去した mantle-shell preparation を用いるために他の器官より外套膜に Ca⁴⁵ が補給されない。一方、ヌマガイでは軟体部全体を用いるので他の器官より外套膜に Ca⁴⁵ が補給され排出をはじめる前に含まれていた Ca⁴⁵ 量の 1/2 が排出されても外套膜の残存 Ca⁴⁵ 量は半減しない。従つて、ヌマガイの外套膜の Ca⁴⁵ 排出量は前記の計算量より更に多量の Ca⁴⁵ が排出される筈であり、外套膜より排出する Ca⁴⁵ 量と殻に沈着する Ca⁴⁵ 量の差はもつと小さくなることが期待される。例えば、イケチョウガイの外套膜の半減期は軟体部全体を使用した場合は約 40 時間であるが、切り離れた外套膜 (他の器官より Ca⁴⁵ は補給されない) では約 4 時間である。又切り離れたイケチョウガイの外套膜は 1g 当り 1 時間に 0.01195 mg の Ca を排出するが、この量は軟体部そのまゝを用いた場合の外套膜にくらべ約 10 倍であり、カキの mantle-shell preparation の外套膜周縁の約 1/5 に達する。

イケチョウガイの鰓 1g は 1 時間に 0.1315 mg の Ca を排出し切り離れた外套膜にくらべ約 11 倍の活

性を示した。鰓より排出される Ca の中貝殻形成に利用される Ca の比率は不明であるが、環境水に排出される Ca の他に一部は外套膜に送られ貝殻形成に利用されると考えられる。

摘 要

1) Ca^{45} を追跡子として用い、イケチョウガイ各器官の Ca 代謝量を測定した。培養液は pH 7.1~7.2 Ca 含量 11.0 mg/l, $2,000 \pm 50$ cpm/ml の Ca^{45} 溶液を用い水温 18~25°C で止水培養し次の結果を得た。

2) 20 時間吸収では吸収された Ca^{45} の分布は鰓に約 72 %, 外套膜に 16 %, 内臓等に 12 %, であつた。又新鮮物 1 g 当り鰓では 0.95 mg, 外套膜では 0.06 mg, 内臓等では 0.03 mg の Ca が集積された。又 Ca^{45} の排出は鰓で最も活発に行われた。これらの結果より鰓は Ca の集積及び排出上最も重要な器官であると推定した。

3) Ca^{45} の生物学的半減期は鰓約 5 時間、外套膜約 40 時間、内臓等は約 43 時間であるが、切り離された各器官では夫々約 9 時間、約 4 時間、30 時間以上であつた。切り離された外套膜の半減期が著しく短くなることより、他の器官から外套膜に Ca^{45} が補給されると推定した。

4) イケチョウガイの外套膜は 1 g 当り 1 時間に 0.0012 mg の Ca を排出した。これはヌマガイの外套膜と略同等の代謝量である。又イケチョウガイの切り離された外套膜は 0.01195 mg の Ca を排出した。これは切り離したカキの外套膜周縁の約 1/5 量に相当する。

終りに臨み本研究に対し終始懇篤な御指導を賜つた三宅正人教授に謹んで感謝の意を表する。

文 献

- 1) 堀口吉重, 三宅正人, 吉井義一, 岡田弥一郎: 本誌 **20**, 101—106 (1954).
- 2) G. BEVELANDER: *Biol. Bull.*, **104**, 389—407 (1953).
- 3) K. M. WILBUR and L. H. JODREY: *Biol. Bull.*, **103**, 269—276 (1952).
- 4) L. H. JODREY: *Biol. Bull.*, **104**, 398—407 (1953).
- 5) 田中正三, 波多野博行, 喜安林三, 高木豊: 日化, **76**, 602—605 (1955).
- 6) Y. OKADA, T. TSUJII, N. WATABE and G. YOSHII: *Rep. Fish. Univ. Mie*, **2**, 199—204 (1956).
- 7) M. ASANO, M. ITO and T. KUMAGAI: *Tohoku J. Agr. Research*, **6**, 341—360 (1956).
- 8) 柳沢文正: “カルシウム及びマグネシウム新定量法と代謝”, 文光堂 東京 (1955), pp. 4—8.