魚類血液の生化学的研究—X. 血清蛋白質組成の時期的変化について

齋 藤 要
(鹿児島大学水産部学)

Biochemical Studies on the Fish Blood—X.
On the Seasonal Variation of Serum Protein Components of Cultured Fish
Kaname SAITŌ

(1) By examining the seasonal variation in the serum protein composition of the cultured mackerel, *Scomber tapeinocephalus*, and carp, *Cyprinus carpio*, it was ascertained that the concentration of total protein and albumin fraction in serum showed the lower values in winter time (Feb.) than in the warm time (May or Jun., which the feeding behaviour approached its climax).

(2) Using the blood samples of the cultured and the natural mackerel (caught in Apr. and Jun., respectively), hemoglobin content, hematocrit value and concentration of albumin fraction in serum were estimated, and the natural one generally showed the higher values than the other.

魚類の血清蛋白質を電気泳動的に検討したところ、その組成に系統的特性のあることを認めたが¹⁾、更にその特性の生化学的意義を知るためには、該成分の生理的機能に関する研究も重要と考えられる。

元来内部環境としての血清は、生活現象と密接な関係があるため、その成分組成の変化は生体内に起きた諸現象を指示する要素となり得る場合が多い。最近、人間の血清蛋白質組成が、種々の生理的因子によつて変化することが明らかにされつつあるが、^{2,3,4)} 魚類の生活現象には人間の如き哺乳動物とは同様に取扱い得ない種々の要素と制約があるために、この種の研究は一般に多くの困難を伴う。

しかし、魚類の場合でも比較的簡単に検討し得る、該蛋白質組成の時期的変化を、その間における魚体の生理、生態の変化と関連づけて観察することも、間接的には該成分の生理的機能の一端を知るための手段と考えられる。又魚類の血液学的諸性質は、一般に人間に比べて時期的に多く変化することも知られているが、^{5,6)} 血清蛋白質を対象としたこの種の報告はみあたらないようである。

このような見地に基き、著者は所定の条件で飼育した魚類を用い、血清蛋白質組成の時期的変化を棲息水温、運動性、食性及び成長度と関連づけて検討し、更に飼育魚とは生活条件の異なる天然魚についても、他の血液学的性質（Hemoglobin 量と血球容積）と共に、その変化の様相を観察したところ、若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

実験材料：実験に供した魚種はコイ *Cyprinus carpio* 及びゴマサバ *Scomber tapeinocephalus* の2種である。コイは本学部の養魚池で飼育（給餌量、体重の約7%量の碎麦とサナギの4:1混合物を一日一回投与）したものを用い、ゴマサバは鹿児島湾内の生簀で1955年11月（当時の平均体重178g）より、飼育（給餌量、体重の約5%量のキビナゴ或はカタクチイワシの細切した精肉を一日一回投与）したものと鹿児島県佐多岬の南方海域において釣獲したものとを用いた。

各供試魚の採血期日、当時の平均体重と水温は Table 1 に示す如くである。即ち魚種と採血期日によつて供試魚を5群に分けた。又時期と水温の関係は、勿論地理的条件によつて異なるが実験地では両飼育魚共

Table 1. Experimental material

Species	No. of serum samples used	Date of sampling	Water temperature (C°)	Average body weight (g.)
コイ <i>Cyprinus carpio</i> Cultured*	5	Feb. 15 (1)***	9	397
	6	May 16 (2)	17	425
ゴマサバ <i>Scomber tapeinocephalus</i> Cultured**	4	Feb. 16 (1)	14	227
	4	Apr. 16 (2)	17	268
	4	Jun. 16 (3)	22	402
Natural	6	Apr. 20 (4)	19	1125
	7	Jun. 11 (5)	23	1086

Period of rearing: * from Nov. to May, ** from Nov. to Sept, *** (): Group No.

に2月頃には運動は極めて不活発で静止状態を維持しているが、5月頃になると活発な運動性を示す。更に当時の水温と体重の増加量とを考慮して本実験では一応2月を寒期又は静止期、5～6月を暖期又は成長期とすることにした。

実験方法: 血清蛋白質の分析法としては TISELIUS 法と濾紙泳動法を併用したが、それらの泳動条件並びに血球容積及び Hemoglobin の定量法等については各々第I報⁷⁾、第VIII報¹⁾及び第IX報³⁾を参照されたい。

実験結果及び考察

所定条件下で泳動して得られた、両供試魚の血清泳動図を時期別に Fig. 1 (濾紙泳動法) 及び Fig. 2 (TISELIUS 法) に示した。

Fig. 1. Variation with season of the paper electrophoretic behavior of serum proteins. (of carp and mackerel.)

Veronal buffer solution pH 8.9, μ 0.1, intensity of current 0.32 mA/cm., duration of electrophoresis 20 hrs. The paper was stained with 1% Bromophenol blue solution containing HgCl_2 .

Fig. 1 の結果によれば、コイ及びゴマサバ共に 第一群は他の群より血清蛋白質の分離能が良く、各成分間の境界が明らかとなつている。しかし Fig. 2 の TISELIUS 法の泳動図には、このような傾向は特に認め

Fig. 2. Variation with season of the electrophoretic behavior of serum proteins. (of carp and mackerel.)

Phosphate buffer pH 7.8, μ 0.14, dE/dx 5.5~6.0 volts/cm., duration of electrophoresis 3000 sec. (ascending limb), temp. 10°C., protein concentration 1.6~1.8 g./dl.

られないことより、この現象は両群間の血清にみられる本質的な相違とは思われない。むしろ濾紙泳動法の泳動条件、特にこの場合は、第一群の泳動時の気温(2~5°C)が著者の常用する所定泳動温度(7~10°C)よりかなり低いために、濾紙上における蛋白質成分の滲透又は拡散の影響が少なかったのではないかと考えられる。何れにしても第Ⅱ報³⁾で述べた如く、濾紙泳動法の定量的応用には検討すべき問題もあると思われるので、分析値はすべて TISELIUS 法によつて求めた。

個体差: 一般に生体成分の生理的変動を検討するに当つては、常に個体差の影響を考慮しなければならな

Table 2. Variation with season of the electrophoretic behavior of serum proteins (of carp and mackerel)

Species	Date of sampling	Component						Total protein (g./dl.)
		f	I	II	III	IV	IV'	
コ イ <i>Cyprinus carpio</i> Cultured	Feb. 15		50.3	14.1	28.0	7.6		4.8
	May 16		96.3	75.9	55.3	35.6		5.3
ゴマサバ <i>Scomber tapeinocephalus</i> Cultured	Feb. 16		37.4	15.1	36.4	8.4	2.7	5.6
			120.4	102.3	77.3	54.5	19.5	
	Apr. 16		39.6	16.4	31.3	9.6	3.1	5.9
			119.9	104.0	76.5	54.3	18.5	
	Jun. 16		43.3	17.6	26.3	10.1	2.7	6.3
			120.4	102.1	77.6	55.2	18.8	
Natural	Apr. 20		46.6	18.5	22.0	10.4	2.5	6.7
			119.1	100.7	74.4	56.7	17.0	
	Jun. 11		48.1	19.2	21.8	8.7	2.2	6.9
			118.4	102.5	76.1	54.6	17.4	

For each component, the values for the first reading are given in per cent of total protein, for the second reading in relative mobility.

Phosphate buffer pH 7.8, μ 0.14, dE/dx 5.5~6.0 volts/cm., duration of electrophoresis 3000 sec., temp. 10°C., protein concentration 1.6~1.8 g./dl.

い。Fig. 1 には各群毎に各々 2~3 例の泳動図を示したが、同一群に属する供試魚では何れも類似した泳動図を示すことは明らかである。又 TISELIUS 法でも体重及び採集時期の略々等しい同種の個体間では、分析値は比較的一定で、その泳動曲線にもかなりの再現性が認められた。

相対易動度：供試魚の血清蛋白質の相対易動度を TISELIUS 法によつて、時期別に求めた結果を Table 2 に示した。

この結果によれば、コイとゴマサバとでは高易動度成分に質的な相違が認められる（第Ⅷ報参照）。しかし、同種の個体間では、実験期間を通して易動度の近似値的な成分が存在し、所定時期による血清蛋白質組成の質的な変化はみられなかった。

濃度比：供試魚の血清総蛋白質量と TISELIUS 法によつて求めた各成分の濃度比を時期別に Table 2 に示した。

この結果によれば、コイ及びゴマサバ共に血清中の総蛋白質量は第一群が最も少く、これが第二、第三群となるに従い次第に増加する傾向がある。一方この現象に伴つて血清蛋白質組成の量的関係にも変化の起ることが認められた。即ちコイでは第一群（殆んど絶食状態のコイ）が第二群に比べて区分Ⅰ（易動度からは人間の血清 Albumin に相当する）の濃度比が低く、一方区分Ⅲが比較的高い値を示す。次にゴマサバの飼育魚でも第一群は第二群に比べて区分Ⅱが比較的高い濃度比を示し、更に第三群では区分Ⅱよりも区分Ⅲがかなり高い値に変化している。

ところで本実験におけるゴマサバの第一群は 2 月に採集したものであるが、当時の環境水温（12~14°C）は棲息適温（約 22°C）よりもかなり低く、餌料もあまり摂取せず、運動も極めて不活発で、生簀の底部に殆んど静止状態を保っているものである。その後、第二群更に第三群となるに従い、環境水温も上昇し、摂餌運動は盛んとなり、その結果として 5 月から 6 月にかけて体重は著しく増加している（Table 1 参照）。即ち飼育魚では、その成長、運動及び食性等の生態的变化に伴つて、血清中の総蛋白質量のみならず、その組成の量的関係にも変化の起ることが認められるのである。

ゴマサバの飼育魚と天然魚：海産魚の場合には、特に生簀中の飼育魚と外海に棲息するものとは生活条件がかなり異なるために、飼育実験で得られた結果は必ずしも天然魚にも適用し得るとは限らない。従つて両者の体内外に起きた諸現象の相違を明確にすることは各種の飼育実験の結果を正しく理解するためにも必要と考えられる。このような見地より、著者はゴマサバの飼育魚と天然魚を材料として、生化学的に両者間の異同を検討しつつあるが、次に同時期に採集した両者について求めた血球容積及び Hemoglobin 量を Table 3 に示した。

Table 3. Hematocrit value and hemoglobin content in blood of cultured and natural mackerel

Sample	Date of sampling	Hematocrit value (%)	Hemoglobin (g./dl.)
Cultured	Apr. 16	44.1	11.7
Natural	Apr. 20	49.2	13.6

この結果によれば、血液中の重要な呼吸要素である Hemoglobin 量と血球容積は、何れも飼育魚よりも天然魚は高い値を示している。一般に天然魚は運動が活発で呼吸代謝も盛んであることより、これは当然の結果とも思われる。これに対し飼育魚の両値が低いのは、代謝が衰えているための、異常現象と考えるべきであろう。一方飼育魚（コイ）でも、その環境を人為的に一過性の酸素欠乏状態にすると、これらの値は増加の傾向を示すことが認められている。^{9,10)}

又天然魚の血清総蛋白質量と各成分の濃度比は Table 2 に示す如く、第四群と第五群間では時期的変化は殆んどみられなかったが、同時期の飼育魚に比べて総蛋白質量と区分Ⅲの濃度比は高い値を示した。なお、本実験では成長度の異なつた飼育魚と天然魚を用いたことを考慮しなければならないが、これらの結果より両者の生活条件の相違が、血液の理化学的性質にも或る程度の影響を及ぼしているとみて良いと思われる。

考 察

本実験の結果によれば、飼育魚における血清蛋白質組成の時期的変化は、主として Albumin 区分（コイでは区分 I，ゴマサバでは区分 f）にみられた。ところで人間の血清蛋白質に関する研究によると、Albumin（易動度からは区分 I に相当する）は人体の栄養物質と代謝産物の輸送に関与する生理的機能を有し、人間の栄養失調時には、常に減少することが明らかにされている。^{2,11,12} 勿論人間と魚類とは同一に論ずることは出来ないにしても、前述の如くコイ及びゴマサバ共に Albumin 区分の濃度比は摂餌量の少い寒期に低く、摂餌運動の活発な成長期に増加すること並にその間における血清総蛋白質量の増減には Albumin 区分の増減が Globulin 区分よりも、支配的に関係する傾向のあること等より、供試魚の場合にも該区分は、魚体の栄養或は物質代謝の機能に関与し、しかも血清蛋白質中では、生理的に変動し易い成分であるように思われる。

要 約

1) 所定条件で飼育したコイ及びゴマサバを材料とし、血清蛋白質組成の時期的変化を電気泳動法により検討したところ、その組成には質的な変化はみられなかつたが、量的な変化は明らかに認められた。即ち血清総蛋白質量及び Albumin 区分（コイでは区分 I，ゴマサバでは区分 f 及び I）の濃度比は運動が不活発で摂餌量の少い寒期（棲息水温 9°~14°C）には、摂餌運動の活発な成長期（棲息水温 17°~23°C）より低い値を示し、しかもこの場合血清総蛋白質量の増減には Albumin 区分の増減が Globulin 区分より支配的に関係する傾向が認められた。この結果に基づき、供試魚の血清 Albumin 区分の生理的機能について若干の考察を試みた。

2) 同時期（棲息水温 17°~23°C）に採集したゴマサバの天然魚と飼育魚を用い、両者の血液学的諸性質について若干の検討を加えたところ、血液の Hemoglobin 量、血球容積、血清総蛋白質量及び血清 Albumin 区分の濃度比は、何れも前者が明らかに高い値を示した。又飼育魚では静止状態を保っている寒期より、運動活発で体重増加の著しい暖期に移るに従い、血清蛋白質組成の濃度比は天然魚の値に比較的類似してくる傾向が認められた。

本研究は対馬暖流開発調査の一部として行つたもので、実験材料につき特別の御便宜を賜つた本学部金森政治教授、盛田友武助教授及び田上豊隆助教授に深謝する。

文 献

- 1) 斎藤 要：日水会誌，**22**，752 (1957).
- 2) F. WUHRMANN und C. WUNDERLY："Die Bluteiweisskörper des Menschen" Benno Schwabe & Co., Basal, (1952) pp. 141.
- 3) A. B. GUTMAN："Advanc. in Protein Chem." **4**，161 (1948).
- 4) H. POLLACK and S. L. HALPERN：*ibid.*，**6**，383 (1951).
- 5) A. A. SCHAEFER：J. Gen. Physi.，**7**，3 (1925).
- 6) N. KAWAMOTO：Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.，**4**，Biol.，645 (1929).
- 7) 斎藤 要：日水会誌，**19**，1134 (1954).
- 8) 同 上：同 上，**22**，760 (1957).
- 9) 狩谷貞二：同 上，**15**，728 (1950).
- 10) 斎藤 要：日本生化学会九州支部大会（鹿児島）で発表 (1954).
- 11) G. S. ADAIR and M. E. ADAIR：Proc. Roy. Soc. (London)，**A190**，341 (1947).
- 12) M. A. LAUFFER：Chem. Revs.，**31**，561 (1942).