カサゴの血液学的研究—II
潰瘍による血液水分量・比重・血清蛋白量・
ヘマトクリット値および血清中
尿素窒素量の変化*

山下秀夫

(1967年2月15日受理)

Haematological Study of a Species of Rockfish—II.
Changes of the Moisture Content of Blood, Specific Gravity, Serum
Protein, Haematocrit Value and Urea Nitrogen Level of Serum
in the Specimens Affected by Ulcers.

Hideo YAMASHITA**

During an experiment which has been carried out to analyse the influence of chlorinity on the blood elements of a species of rockfish, *Sebastes marmoratus*, some specimens kept in the experimental tanks have incidentally developed ulcers. Examinations of the blood elements were therefore carried out in order to compare the amount of each constituent under normal and diseased conditions.

Four male fish were used as the materials in the present study. The sampling dates of the fish and the experimental conditions are shown in Table 1. The sequential changes of water temperature and chlorinity in the experimental tanks are also indicated in Figs. 1~3. Determinations of the amount of moisture content of the blood, specific gravity of the blood, serum protein, erythrocyte, chlorinity and hydrogen ion concentration were all made using the same techniques employed in the previous study⁷⁾. Blood was also drawn from the specimens in the same procedure as in the previous investigation, and the same foods were also given. To determine the haematocrit value, a small amount of blood was filled in a capillary (1.25~1.50 × 75 mm) heparinized previously with heparin to prevent blood coagulation. A high speed centrifuge for haematocrit measurement was then applied for ten minutes at a speed of 10,000 rpm. A capillary itself was then put on a haematocrit counting desk for enumeration. In measuring the urea nitrogen level of serum, 0.2 ml of serum was dropped into a test tube (10 × 75 mm) in which a piece of urea nitrogen chromatography paper (Warner-Chilcott, Co.) was inserted. Reaction was then observed after thirty minutes of treatment.

The experimental results indicated that:

1. Symptoms of ulcers appeared first on the spines and fin rays of the dorsal fin, opercula, between the pectoral and ventral fins, between the dorsal fin rays and anal fin, and on the caudal peduncle as well as the caudal fin. In these parts, the color turned into a greyish white, probably owing to the aggregation of melanin granules in melanophores. The suffering individual was likely to isolate itself from the original group and separated singly in the experimental tank. Although activities of such fish were very low, their response to a slight stimulation, sound for example, was extremely sensitive. Later the condition of the illness

* 西海区水産研究所業績 第212号

Contribution from the Seikai Regional Fisheries Research Laboratory, No. 212.

** 西海区水産研究所 (Seikai Regional Fisheries Research Laboratory, Nagasaki, Japan)

took a serious turn; the neural spines, caudal vertebrae and urostyles could therefore be seen from the outside as a part of the epidermis was damaged at this stage of the disease (Plate I-a, b, c). The color of the gill and Cuvierian duct turned into a yellowish orange in spite of the original color being dark red in healthy specimens.

2. When the ulcer reached a serious stage, the specific gravity of blood decreased considerably. While, the moisture content of the blood increased from 89.9% to 91.5% (Fig. 4).

3. The amounts of serum protein in the ill specimens were also a little (0.3~4.0%) less than those of normal individuals (Figs. 6 and 7).

4. Similarly, the haematocrit values decreased remarkably (8~16%) when a fish had an ulcer. In a specimen whose haematocrit value was lowered from 19.3% to 3.0%, the leucocyte concentration went up to about 2.5% which seemed to be much higher than that of normal individuals (Figs. 5 and 7).

5. The test with urea nitrogen chromatography paper gave no positive reaction on the serum of normal fish. However, a value of 10 mg/100 ml was obtained when the ulcer began to develop and it reached up to 40 mg/100 ml when the fish was seriously affected by the ulcer (Plate I-d).

血液学的には魚の健康度を判定し疾病を早期に発見するのに、田村ら¹⁾はコイのヘマトクリット値を、橋本²⁾はニジマスの血沈値を用いて判別し、MARSH³⁾は赤血球数、血色素量などを指標とした。WATSON ら⁴⁾はベニザケの当才魚についてヘマトクリット値を測定し、バイラス性疾病および人工感染魚においてはその値に大きな変動があることを観察した。また、FLEMMING⁵⁾は腹水症のコイについて実験を行ない、疾病魚では血清蛋白量の減少が見られ、特に急性症の場合に著しいと報告し、保科⁶⁾は鰯赤病のウナギの血清蛋白量は分散が大きく、病状の進行に伴ってその量が減少する傾向を認めた。著者は環境水の塩素量変化がカサゴ *Sebastiscus marmoratus* (C. et V.) の血液諸要素に及ぼす影響について実験を行なっている過程で、たまたま一部の供試魚において、体表に炎症が起こり、その症状がしだいに進行して潰瘍状となる個体を見出した。そこでこれらの病魚につき潰瘍時の血液水分量・比重・血清蛋白量・ヘマトクリット値・血清中尿素窒素量および赤血球を観察し、健康時の値と比較を行なつたのでその結果を報告する。

この研究をまとめるにあたって、北海道大学水産学部小林新二郎教授ならびに黒木敏郎教授には有益な御教示と論文校閲の御好意を賜わつた。西海区水産研究所下村敏正博士および青山恒雄博士には、研究の途上において、適切な助言をうけ、各種の便宜を計つていただいた。さらに、論文をまとめる過程で西海区水産研究所安楽正照博士の好意ある協力を得、カサゴ飼育にあたっては同所鍛冶節子嬢、ほか所員各位の御世話になつた。以上のかたがたに対し、心から謝意を表する。

材料および方法

供試魚は Table 1 に示す 4 個体で、いずれも雄であつた。すなわち、標本 #1 の個体は 1963 年 9 月 19 日長崎市郊外茂木町の沖合において延縄で捕獲されたもので、前報⁷⁾の実験に用いた後、1964 年 8 月 25 日から翌年 4 月 27 日まで 246 日間コンクリート製の循環水槽 (75×71×130 cm³) で飼育した。標本 #2 の個体は 1965 年 7 月 26 日長崎市郊外深堀町の沖合で一本釣により捕獲された雄で、翌 27 日から 11 月 18 日までの 116 日間プラスチック製の循環水槽 (80×51×100 cm³) で飼育した。標本 #3 および #4 の 2 個体は、1966 年 1 月 10 日長崎市郊外東長崎町網場の沖合において刺し網で捕獲されたものを、同一のプラスチック水槽で飼育した。この時期はカサゴの仔魚放出盛期にあたり、雌はタモ網ですくい上げる程度のショックで仔魚を放出し、それらの仔魚は水槽の中で活発に遊泳した。飼育期間中の水温・塩素量および病状の変化を個体別に Figs. 1~3 に示す。

血液採取、全血液水分量・全血液比重・血清蛋白量・赤血球数等の測定、海水の塩素量および水素イオン濃度の測定等は前報⁷⁾と同じ方法によつた。また、与えた餌料も前報と全く同一である。ヘマトクリット値測定にあたっては、ヘパリンで処理した毛細管 (75×1.25~1.50 mm) に採取した血液を、超微量ヘマトク

Table 1. Comparison of blood elements of rockfish under normal and diseased conditions.

Specimen No.	# 1		# 2		# 3	# 4	
Date of experiment	Aug. 25, '64	Feb. 27, '65	Aug. 24, '65	Nov. 18, '66	Jan. 14, '66	Jan. 14, '66	Feb. 25, '66
Period of raising (day)	246		116		1	42	
Experimental tank	Concrete*		Plastic		Plastic	Plastic	
Condition of health	Normal	Affected	Normal	Affected	Affected	Normal	Affected
Total length (cm)	20.6	20.8	21.8		18.0	16.5	15.2
Body weight (gr)			183	190	140	100	105
Sex	Male		Male		Male	Male	
Moisture content of blood (%)	89.9	91.5					
Specific gravity of blood	1.036	1.027	1.038	1.019	1.026	1.031	1.026
Serum protein (%)	5.1	3.4	5.6	1.6	0.8	3.6	3.3
Haematocrit (%)	20.2	12.2	19.0	3.0	12.2	21.0	12.8
Erythrocyte ($\times 1000$)		88					
Urea nitrogen level in serum (mg/100 ml)					45	<10	25

* The pH values during the experiments ranged from 7.70 to 7.85.

リット用高速遠心器（国産式 H-25 型 B）にかけ、回転数 10,000 回で 10 分間遠心分離した後、ヘマトク
ット計測板を用いて計った。血清中尿素窒素量は、血清 0.2 ml を試験管（10×75 mm）に滴下し、U-Ni-
GRAPH (Urea Nitrogen Chromatography Paper; WARNER-CHILCOTT 社製) の指示薬層を上にし
て試験管内に入れ、30 分後の反応を調べた。

Fig. 1. Sequential changes of water temperature and chlorinity during the experiment with the specimen #1.

- A: Melanin granules of melanophores in the skin concentrated. Movement of the fish became slow.
- B: Spotted bleedings (ecchymosis?) in the dermis were observed through epidermis.
- C: The epidermis was damaged. The neural spines could be seen from the outside.

Fig. 2. Sequential changes of water temperature and chlorinity during the experiment with the specimen #2.

A: Pigment granules of melanophore in the skin concentrated.

B: A part of epidermis was damaged.

Fig. 3. Sequential changes of water temperature and chlorinity during the experiment with the specimens #3 and #4.

A: The caudal fin was broken from the tip.

結果および考察

カサゴの行動および疾病の肉眼観察 標本 #1: 1964 年 8 月 25 日に採血を行なったときは、活発に運動しかつ摂餌していた。ところが、12 月中旬ごろから背鰭の棘条、軟条、鰓蓋、胸鰭と腹鰭の中間部および背鰭の軟条と臀鰭の中間部のメラニン色素が凝集してやや灰白色をおび、運動は緩慢となり、水槽内では他のカサゴの群から離れて行動し、音またはその他のわずかな刺激に対して敏感に反応するようになった。灰白色化は背鰭の棘条基部において急激に進み、翌年 1 月中旬ごろには患部はしだいに広がり充血して出血斑らしいものを認めた。2 月上旬ごろには症状は著しく悪化して表皮組織が破れ、一部は欠損して神経棘がみえるほど深部に達した。その後、症状の進行にともない患部はさらに拡大し、4 月 26 日に死亡した (Plate I-a)。

標本 #2: 1965 年 7 月下旬から 8 月上旬にかけては岩かげに静止し、餌料 (エビ) を投入しても飛びついて捕食せず、餌を眼前にもつて行くと摂取する程度で、音あるいはその他のわずかな刺激に対して敏感な反応を示した。8 月中旬に飼育水槽の温度を 27.4°C から 24.4°C に下げ、また餌料のエビも鮮度のよいものにかえたところ、行動・摂餌ともに活発となった。ところが、11 月上旬ごろに、背鰭の棘条、軟条、鰓蓋、魚体中央部の側線および尾部に標本 #1 と全く同様な症状が現われた。このうち、尾部の患部は急速に悪化、11 月 10 日前後には表皮組織の一部が欠損して潰瘍は尾椎および尾部棒状骨が露出するほど深部におよんだ。さらに、鰓およびキュービエ氏管は健康時のように赤黒い血色ではなく、黄味を帯びた橙色を呈していた (Plate I-b)。

標本 #3 および #4: 標本 #3 は捕獲時に刺網によつて鱗がはげた部分に炎症が起こり、糜爛を示し、しばらくたつと組織の一部が欠損して潰瘍にまで悪化した。標本 #4 は捕獲後 (1 月 14 日) に第 1 回の採血を行なった後も元気に活動していたが、2 月上旬ごろから尾鰭の軟条先端がしだいに欠損し、2 月 25 日に (Plate I-c) 採血を行なったところ、翌 26 日に死亡した。

全血液比重と水分量、ヘマトクリット値および血清蛋白量との関係 前報⁷⁾で述べたように、生理条件・環境条件が異なると健康なカサゴの血液諸要素の量は個体により差を生ずる。しかし、各要素相互の関係は一定で、個体差はほとんど認められない。すなわち、全血液比重と血液水分量の間には負の、全血液比

Fig. 4. Relation between specific gravity and moisture content of rockfish blood. Open and solid circles indicate the value for normal and diseased fish respectively. An arrow indicates the change of the above relationship for a particular individual and is designated by specimen number. Open circles which have no relation to an arrow thus mean the values obtained from the healthy individuals living in the same tank.

Fig. 5. Relation between specific gravity and haematocrit value of rockfish blood. Symbols used are all identical with those in the legend of Fig. 4.

Fig. 6. Relation between specific gravity and amount of serum protein of rockfish blood. Symbols used are all identical with those in the legend of Fig. 4.

重と血清蛋白量の間には正の相関関係が存在することが実験的にたしかめられた。

本報の実験結果 (Table 1) では、疾病時には健康時に比べ全血液比重は低下し、いつぼう血液水分量は増加した (Figs. 4~6)。血液水分量の増加は保科⁶⁾が観察した淡水産ウナギの鰭赤病の末期症状と一致する。また、全血液比重とヘマトクリット値は著しく減少を示した (Fig. 5)。1965年11月18日標本 #2 のヘマトクリット値が 3.0% に低下した時には、前述のように、採取した血液は黄味をおびた橙色を呈していたが、遠心分離の結果、血清 94.5

%, 赤血球 3.0% のほかに赤血球と血清との中間に乳白色の物質 2.5% をみとめた。この大部分は白血球で、健康時には乳白色の部分が赤血球と血清の中間に非常に薄い膜状をなす程度 (1.0% 以下) にすぎないのに比べるとかなり多い。このときの症状は、炎症が糜爛、潰瘍と悪化して尾部棒状骨が露出するほど深部におよんでいた。このため白血球が増加して白血病のような症状を示したものであろう。つぎに、全血液比重と血清蛋白量について見ても疾病時には両方ともかなり減少する傾向が認められた (Fig. 6)。ヘマトクリット値と血清蛋白量との関係を示した Fig. 7 は、疾病時の血液性状が明らかな異状を呈していることを示している。また血液要素の個体差は健康時には小さいが、疾病にかかると大きくなることが推察される。すなわち、血液水分量は急激に増加し、いつぼう血液比重、ヘマトクリット値および血清蛋白量は逆に著しく低下

Plate I

(a)

(b)

(c)

(d)

(d)

- (a) Rockfish (#1) affected by ulcers. As the spines and fin rays of the dorsal fin are almost completely damaged, the neural spines can be seen from the outside.
- (b) Rockfish (#2) affected by ulcers. The caudal vertebrae and urostyles are exposed.
- (c) Rockfish (#4) affected by ulcers. Tips of the caudal fin ray are broken.
- (d) Urea nitrogen chromatographs showing the changes of the urea nitrogen levels in serum of rockfish.
A: Normal (#4) <10 mg/100 ml; B: Affected (#4) 25 mg/100 ml; C: Affected (#3) 45 mg/100 ml

Fig. 7. Relation between haematocrit value and amount of serum protein of rockfish blood. Symbols used are all identical with those in the legend of Fig. 4.

100 ml であった。また、#3では潰瘍時（血液比重 1.026, 血清蛋白量 0.8%, ヘマトクリット値 12.2%）の含有量はさらに高く 45 mg/100 ml を示した (Plate I-d)。

する。血液要素のこのような量的変化は、カサゴが潰瘍にかかったために生じた現象と思われる。しかし、この病状を引き起こす病原菌については本研究では追究できなかった。

病状と血清中尿素窒素量との関係 人間の腎疾患診断の一方法として Urea Nitrogen Chromatography Paper (U-Ni-GRAPH, WARNER-CHILCOTT 社製) を用いる血清・血漿中尿素窒素の定量が行なわれている^{8,9)}。この方法をそのまま魚類に応用することには問題があると思われるが、試験的に用いたところ、標本 #4 は健康時に血液比重 1.031, 血清蛋白量 3.6%, ヘマトクリット値 21.0% で血清中尿素窒素量は 10 mg/100 ml 以下を示し、U-Ni-GRAPH の指示薬層は反応を示さなかった。ところが、潰瘍時にそれぞれの値が低下して血液比重 1.026, 血清蛋白量 3.3%, ヘマトクリット値 12.8% になった場合の血清中尿素窒素含有量は 25 mg/

要 約

コンクリートおよびプラスチック製循環水槽に飼育していたカサゴのうち、雄 4 個体の背鰭の棘条、軟条、鰓蓋、胸鰭と腹鰭の間、背鰭の軟条部と臀鰭の間および尾部に炎症が起り、症状は急速に進んで潰瘍となりやがて死亡した。これらのカサゴについて健康時と疾病時の血液諸要素の比較を行なったところ、次のような差がみられた。

1. 全血液比重は潰瘍が進行すると大幅に (0.005~0.019) 低下し、いづれも血液水分量は 89.9% から 91.5% に増加した。
2. 血清蛋白量も疾病時には低下が著しく、健康時より 0.3~4.0% 減を示した。
3. ヘマトクリット値も同様で、8.0~16.0% の著しい減少を示した。19.0% から 3.0% に低下した個体では、白血球が健康時に比べ著しく増加し全血液の約 2.5% をしめた。
4. Urea Nitrogen Chromatography Paper による血清中尿素窒素含有量は、健康時には指示薬層の反応はみられないが、潰瘍の初期には 25 mg/100 ml, 重症魚で 45 mg/100 ml の値が得られた。

文 献

- 1) 田村 修・石橋 制・木下成人・日園日得・増元諒一: 水産増殖, **7**, 54~63 (1959).
- 2) 橋本 進: 水産増殖, **9**, 127~132 (1961).
- 3) M. C. MARSH: Science, **23**, 666~667 (1906).
- 4) M. E. WATSON, R. W. GUENTHER, and R. D. ROYCE: Zoologica, **41**, 27~37 (1956).
- 5) H. FLEMMING: Zeitschr. F. Fisch., **7**, 91~152 (1958).
- 6) 保科利一: 東水大特別研報, **6**, 1~105 (1962).
- 7) 山下秀夫: 本誌, **33**, 81~90 (1967).
- 8) 菱本恒温・出井勝重: 臨床検査, **7**, 225~228 (1963).
- 9) 佐々木楨一・小島 博・佐々木 茂: 臨床検査, **10**, 70~73 (1966).