

赤血球等の量的変動による 魚類生理状態の判定 — II

田村 修 · 保田 正人

METHOD FOR JUDGING THE PHYSIOLOGICAL CONDITION OF FISH BY THE QUANTITATIVE CHANGES OF THE BLOOD CHARACTERS — II

Osamu TAMURA , Masato YASUDA

As the method for judging the physiological and environmental abnormality of fish, in the same way as the former report, the differences of hematocrit (Ht) and erythrocyte sedimentation rate (E. S. R.) between the bloods sampled firstly and secondly from the treated carps were compared with those between the bloods sampled firstly and secondly from the intact as control.

1. By the first blood drawing of 1/200~1/1200 (cc./g.) of body weight, Ht decreased and E. S. R. increased in the second blood drawing after one day of no feeding.
2. Ht of the bloods drawn secondly from the normal carps decreased more than that of the bloods drawn firstly, E. S. R. of the former decreased more than that of the latter.
3. By the injection of heavy metal salts 0.1~0.2cc. of 0.5~1.0 ppm. solution into carp muscle immediately after the first blood drawing, Ht and E. S. R. of the second blood drawing (after one or two days of no feeding) varied significantly. Namely, by the injection of mercuric chloride (0.2cc. of 1ppm) Ht increased remarkably, but E. S. R. decreased (after one day) ; by that of 0.5ppm solution Ht increased or varied at all and E. S. R. varied but little (after one day) ; by that of cupric chloride (0.2cc. of 1.0ppm.) Ht. increased but E. S. R. decreased (after one day); by that of lead chloride (0.2cc. of 1.0ppm.) Ht increased significantly but E. S. R. decreased; by that of cupric sulphate (0.1cc. of 1.0ppm.) Ht and E. S. R. varied little (after two days).
4. When carps were reared in the solution of heavy metal salts of 0.1~0.5ppm. for two or four days of no feeding, in case of mercuric chloride (0.5ppm. for two days) Ht increased a little in average but E. S. R. varied at all; in case of cupric sulphate (0.5ppm. for two days) the former increased a little but the latter decreased a little in average ; in case of lead chloride (0.1ppm. for four days) the former increased a little but the latter varied little in average.
5. It was presumed from these results that by the injection or treatment of the solution of heavy metal salts, the loss of blood water, the decrease of erythrocytes count caused by check of blood production and the decrease of oxygen consumption were brought about.

緒 言

魚類血液の諸形質の量的変化から魚体の生理的・環境的異常を判定するには、魚の生理・環境的諸条件によって変化の著しいものが多いため、1回の採血による諸形質の値だけでは困難の場合が多い。従って筆者等は此の個体の相違を少くするため、前報¹⁾と全様に数回の採血時の値の差を比較する方法によって、重金属塩類の影響を球量値(Ht)と赤血球沈降速度(E.S.R.)の関係に限定して、普通魚(生理的又は環境的に異常が認められない魚)と比較した。又若干の基礎的の吟味実験を行った。本研究は科学試験研究「魚類血液学の水産への応用に関する研究」の一部を以て行ったものである。

実験方法及び材料

採血器、ヘパリン量、採血部処、採血量及び採血間隔等は前報²⁾と全様であるが、採血法としては鰓蓋後縁を切除せずに、第4鰓弓下に脱脂綿を適量差込むことによって、動脈球直前の腹大動脈(Ventral aorta)から全く無傷のまま、Fig. 1の様にして採血する事が出来る。球量値(Ht)の測定は高速ヘマトクリット用電気遠心機(久保田F T型)により、毛細管に採血したものを11,000R.P.Mで5分間行った。

重金属塩類の実験は第1採血直後に行い、1~2日間放養後第2採血を行った。重金属塩類の溶液の筋肉

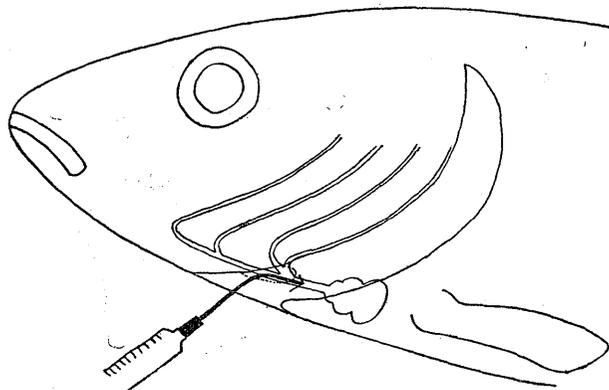


Fig 1 The position of blood-drawing.

注射の実験では、0.5~1.0ppm. 溶液を0.2cc.づつ背鰭末端下の体側上方部の筋肉内に徐々に注射し、魚の呼吸数10を数えた後、注射針を引抜いて液が溢出しないのを確認した。筋肉注射実験の対照としては、蒸留水を0.2cc.全様に注射した。注射処理後の放養及び重金属塩溶液内実験及び対照実験では、10ℓの丸シャーレ内に2尾づつ無通気下に無投餌で放養した。但し採血後丸シャーレに魚を入れる前に、一度他の水道水中で数分間放置し、脱脂綿や粘液等を排除した。

供試魚は約130g以上の満1才魚のコイで、長崎市内草野養魚場飼育のものである。

Table 1. Ht(1)—Ht(2) (%) : Drawn blood volume : Interval between the two drawings.

drawn blood vol./B W	Interval			
	2 h	4 h	8 h	24 h
1/1200 (cc./g.)				0.5 (1)
1/1100				5 (1)
1/1000	7.3 (2)	2 (1)	-3.3 (2)	2 (1)
1/ 750				4.5 (1)
1/ 500				5.7 (1)
1/ 350				6.3 (3)
1/ 300				12.3 (11)
1/ 250		3.5 (1)		3.5 (2)
1/ 200	3.5 (2)	2.5 (1)		9.8 (12)

Remark……()……number of individuals.

実 験 結 果

実験1. 採血量と採血間隔

Table1に示す様に、採血量は体重の $1/200$ から $1/1200$ (cc/g)の範囲で、実験回数は少いが24時間ではHtは第2採血時にはみな減少している。従って第1採血によってコイのHtは採血後1日経過すれば減少すると推定出来るが、その減少度は判然としない。Aramaki等¹⁾(1961)は雄ニワトリで採血回数とHtの減少度との関係を実験し、全血液量は採血によって失われた細胞又は血漿量が補充されて一定量に保持されると仮定した関係式

$$Ht_n = Ht_0 \left(1 - \frac{S}{BV}\right)^{n-1}$$

$\left(\begin{array}{l} Ht_n \dots\dots \text{第 } n \text{ 回の採血時の球量値} \\ S \dots\dots \text{採血量 (毎回一定)} \\ BV \dots\dots \text{全血量} \end{array} \right)$

は、2%又はそれ以下の誤差で実験値と一致するが、絶食中のニワトリでは不一致であったと報じている。

魚類にもこれが妥当であるなら、採血量が大きくなる程Htの減少度も大きくなる筈であるから、Table 1.の実験結果中にこの傾向が判然としないのは、無投餌のためであるのかも知れない。此の点に就ては追試する必要がある。

実 験 2. 普通魚のHtとE.S.R.の関係

Table 2. Ht. and E.S.R. of bloods drawn from normal carps of Nagasaki
(mean drawn blood vol. $1/300$ of body weight cc./g.)

Fish No.	(g)		Ht. (%)		Ht.diff.	E.S.R. (mm,3hrs)		E.S.R.diff.	
	BW	Yr.	(1)	(2)		(1)	(2)	E.S.R.diff.	Ht.diff.
1	160	1	27.0	18.5	8.5	9.3	10.7	1.4	0.17
2	220	1	24.0	16.0	8.0	9.8	10.8	1.0	0.12
3	170	1	32.0	24.0	8.0	8.9	10.9	1.0	0.12
4	250	1	28.0	20.0	8.0	8.9	11.4	2.5	0.31
5	150	1	31.0	20.0	11.0	11.1	14.7	3.6	0.33
6	130	1	24.0	9.0	15.0	9.7	11.6	1.9	0.13
7	160	1	26.0	16.0	10.0	8.7	10.8	2.1	0.21
8	140	1	34.5	22.0	12.5	9.4	11.7	2.3	0.20
9	130	1	39.0	27.5	11.5	8.3	11.1	2.8	0.24
10	140	1	32.5	22.0	10.5	9.0	11.9	2.9	0.28
11	150	1	39.0	26.5	12.5	8.0	12.4	4.4	0.35
12	150	1	34.5	21.0	13.5	9.3	12.2	2.9	0.22
13	160	1	37.5	24.0	13.5	8.6	11.7	3.1	0.23
14	160	1	33.5	20.0	13.5	9.6	14.1	4.5	0.33
15	170	1	30.0	21.5	8.5	8.5	11.9	3.4	0.40
16	150	1	32.5	21.0	11.5	8.3	11.7	3.4	0.30
17	200	1	33.5	25.0	8.5	10.0	13.6	3.6	0.42
mean			31.7	20.8	10.9	9.1	12.0	2.9	0.26

Remarks.....air temp. 9.9°, water temp. 9.6°C.

第1・第2採血時のHt, E.S.R.の測定値はかなりの個体変化を示すが (Table 2 参照) 然しその採血回数による変化方向はほぼ一定で, 即ちHtは減少しE.S.R.は増加し, 第1採血時から第2採血時えの変化方向は方向係数で $-0.12 \sim -0.42$ の範囲内である. (Fig. 2 参照) 換言すれば, 採血回によるHtとE.S.R.の差は, Fig. 3の様に全て第2象限のある位置にある.

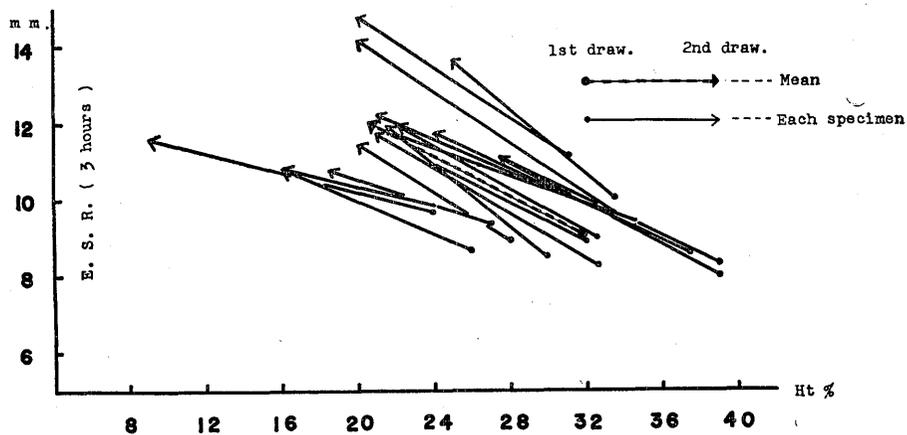


Fig 2 The change of the relation between Ht and E. S. R. in first and second blood-drawing in normal carps.

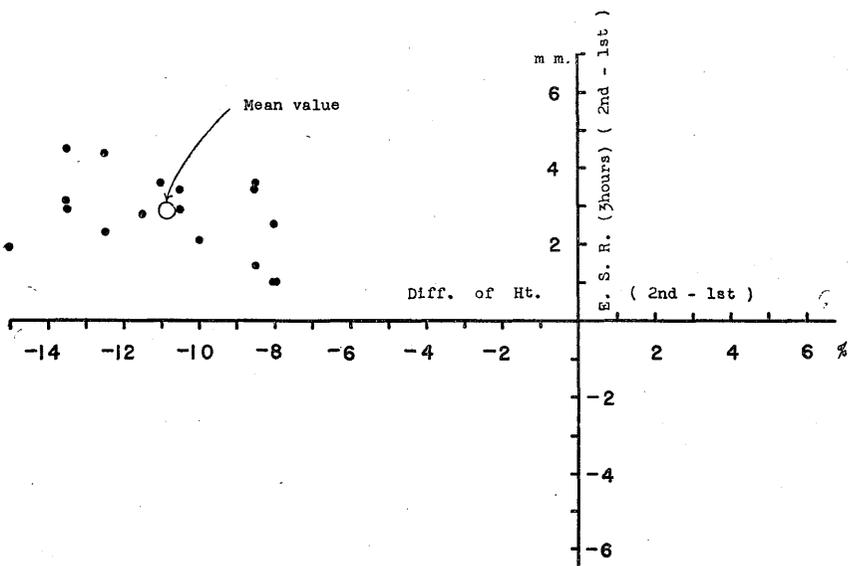


Fig 3 Differences between the first and second blood-drawing in Ht and E. S. R. in normal carps.

実験 3. 重金属塩溶液の筋肉注射

第1採血後重金属塩類の0.5~1.0ppm. 溶液を0.1~0.2cc 筋肉に注射し、1~2日放養した結果は次の通りである。(Fig. 4, 5 参照) 但し塩化第二水銀注射の5尾中2尾は 0.5ppm.の溶液であり、塩化第一鉛注射の3尾中1尾は2日間放養、硫酸銅注射の1尾は0.1cc注射で、他は全て1.0ppm.溶液を0.2cc注射し1日間無投餌で放養したものである。

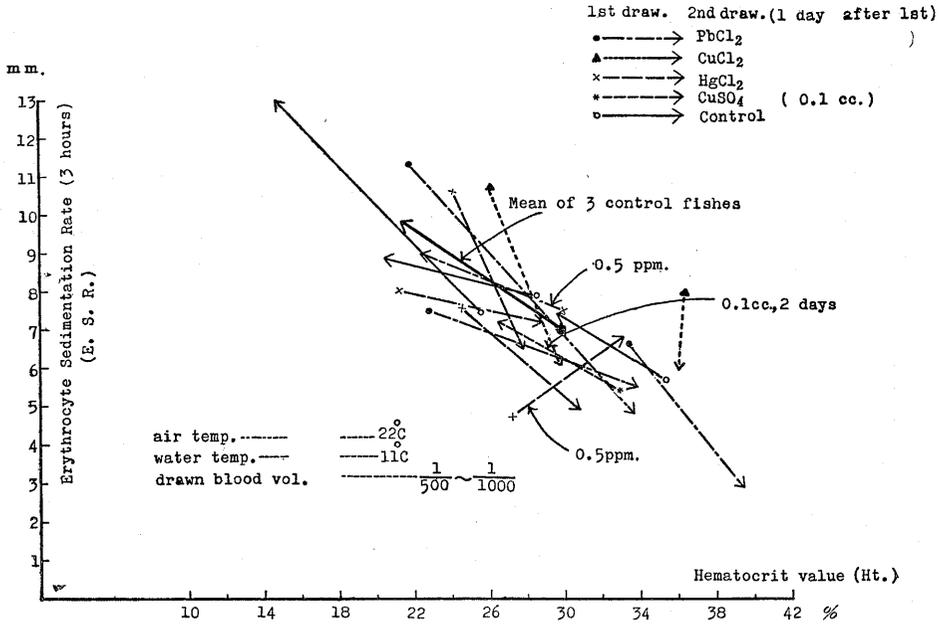


Fig 4 The change of the relation between Ht and E. S. R. in carps injected with heavy metal salts solution (0.2cc of 1ppm).

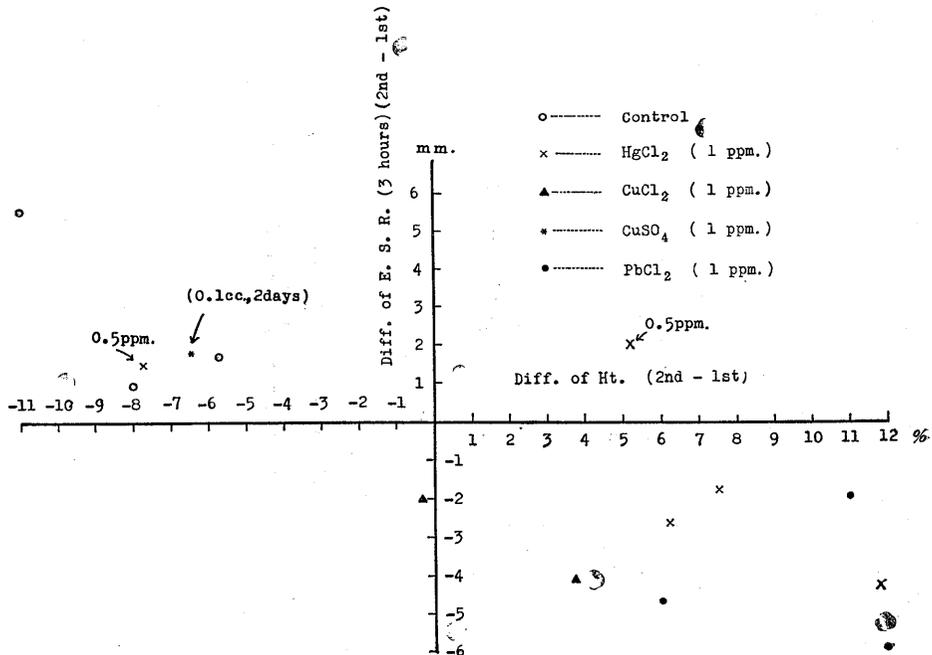


Fig 5 Differences between the 1st and 2nd blood-drawing in Ht and E. S. R. in carps injected with heavy metal salts solution (0.2cc of 1ppm).

Fig. 4 に示す様に、対照魚では第1採血時から第2採血時えの方向は同じであるが、1.0ppm. 溶液を0.2cc注射した塩化物は皆方向が対照魚と異っている。然し塩化第二水銀の0.5ppm. 溶液注射の1尾、硫酸銅の1.0ppm.溶液を0.1cc注射した1尾は、対照魚と同方向であった。

Fig. 5は採血回によるHtとE.S.R. 各々の差を示すが、前述の普通魚と同様に対照魚は第2象限にあり、0.5ppm.又は0.1cc注射のもの以外は、2尾を除きみな第4象限にある。即ち水銀・鉛・銅の塩化物・硫化物の1.0ppm.溶液の0.2cc注射により、著しく対照魚と異なる血液性状を示した。

実験 4. 重金属塩類の飼育水添加

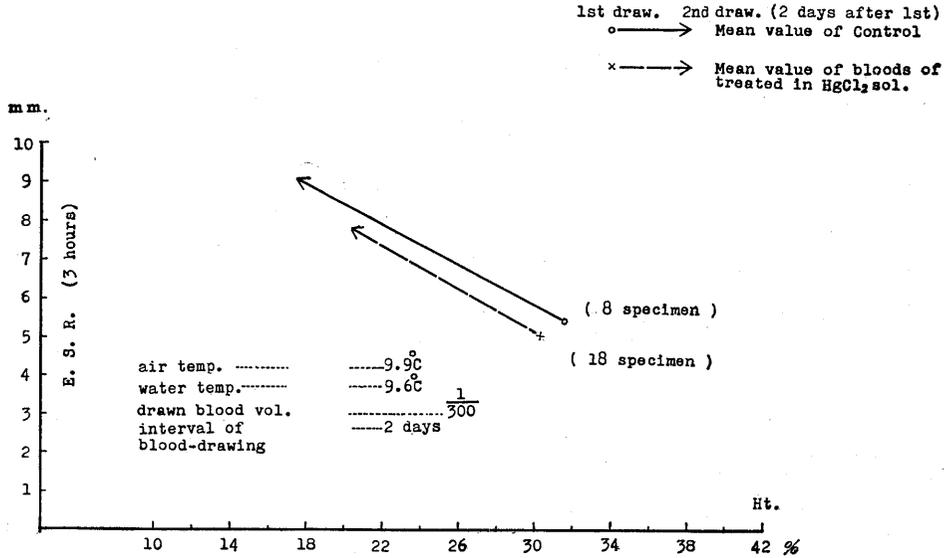


Fig 6 The change of the relation between Ht and E. S. R. in carps treated in Hg Cl₂ solution (0.1ppm).

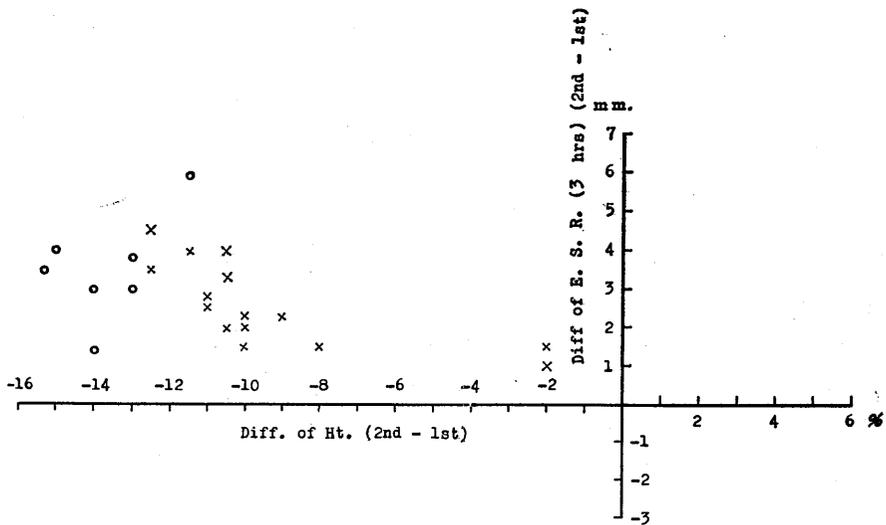


Fig 7 Differences between the 1st and 2nd blood-drawing in Ht and E. S. R. in carps treated in HgCl₂ solution (0.5ppm).

(1) 塩化第二水銀 この0.5ppm. 溶液内に2日間コイを放置すると、第1採血から第2採血の Ht : E.S.R. の変化方向は、18尾とも対照魚(8尾)と同じであり、HtとE.S.R.各々の差の分布は対照魚と同じ第2象限内にある。然しこの分布位置は少し異っている傾向が見られる。(Fig. 6, 7 参照)

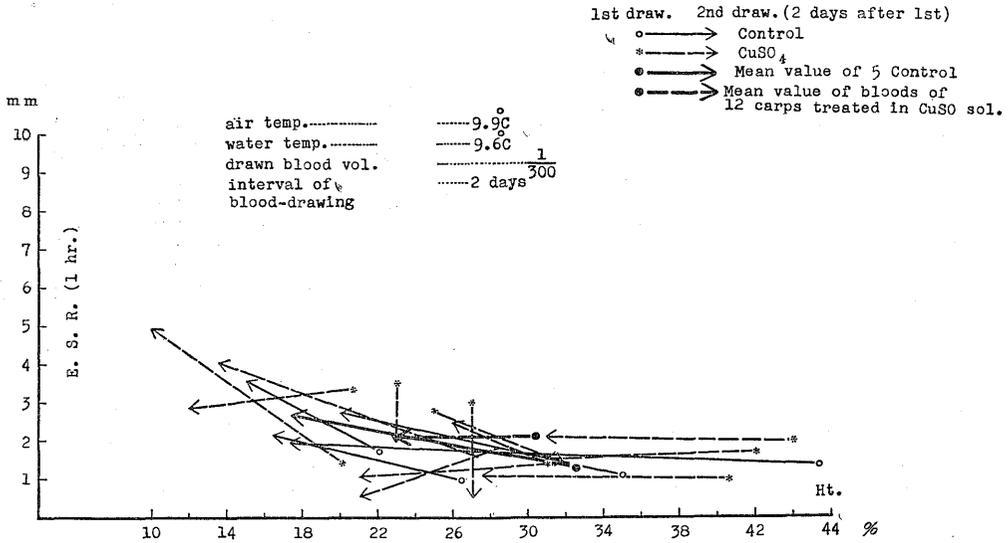


Fig. 8 The change of the relation between Ht and E. S. R. in carps treated in CuSO₄ solution (0.5ppm).

(2) 硫酸銅 この0.5ppm.溶液内に2日間コイを放置すると、採血回によるHt : E.S.R.の変化方向は対照魚と同一象限のもの4尾、第3象限のもの4尾、第3, 4象限のもの3尾であった。(Fig. 8, 9 参照) 即ち硫酸銅溶液内で血液に異常を来すものが多い。

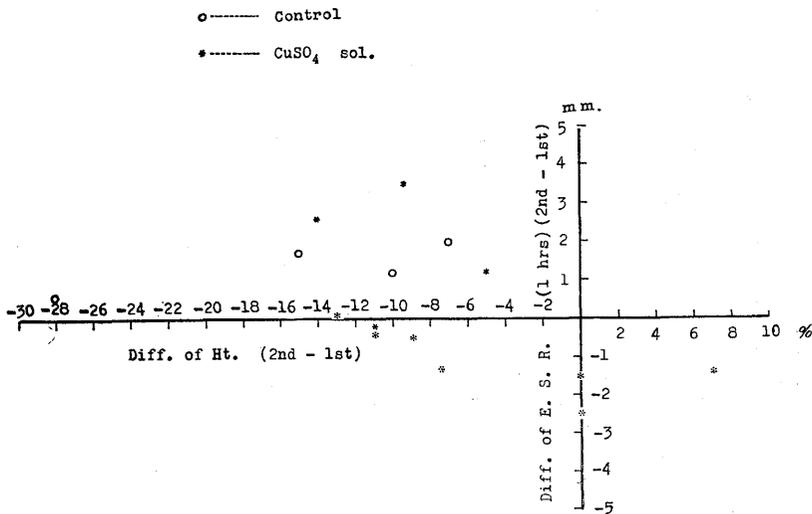


Fig. 9. Differences between the 1st and 2nd blood-drawing in Ht and E. S. R. in carps treated in CuSO₄ solution (0.5ppm).

(3) 塩化第一鉛 この0.1ppm.溶液内に4日間コイを放置すると、採血回によるHt : E.S.R.の変化方

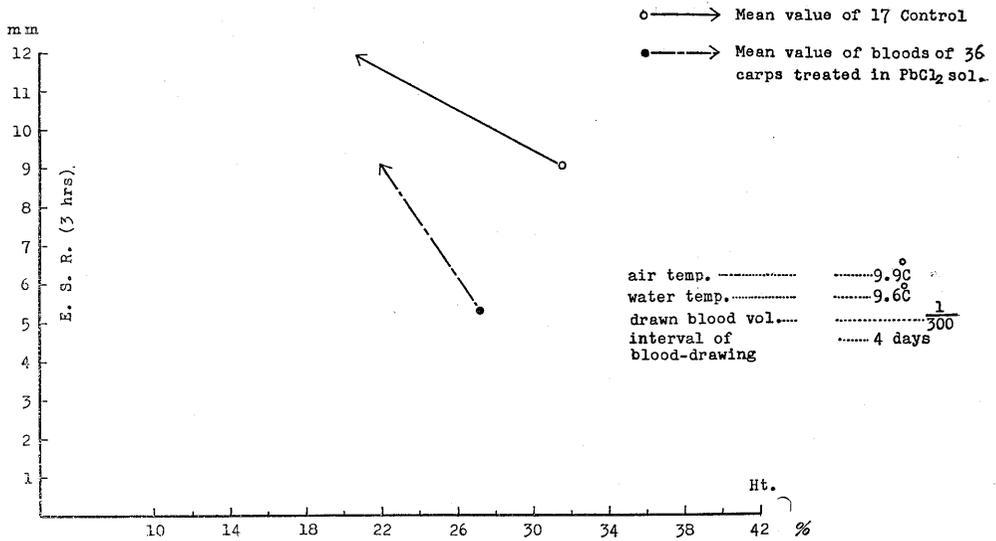


Fig 10. The change of the relation between Ht and E. S. R. in carps treated in PbCl₂ solution (0.1ppm).

向は対照魚と同一象限のものが大部分で、第3象限に2尾、第1象限に1尾であった。但し第2象限内の分布位置は少し対照魚より右側にあり、Htの減少度が小さい傾向が見られる。(Fig.10, 11参照)

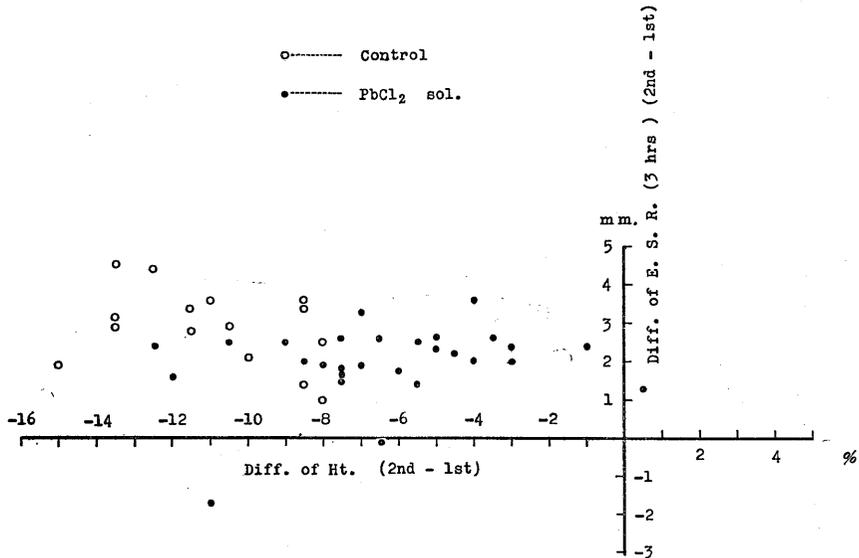


Fig 11. Differences between the 1st and 2nd blood-drawing in Ht and E. S. R. in carps treated in PbCl₂ solution (0.1ppm).

吟 味

実 験 1. 採血量及びヘパリン添加量

佐野 (1960⁹⁾) は採血量がニジマスの体重の $\frac{1}{300}$ (cc/g) 以下の場合、その回復は早いとしたが、田村等 (1962¹⁰⁾) の実験の様に短時間の採血間隔でなく、24時間以上の採血間隔なら採血毎にHtは必ず減少しE.S.R. は逆比的に増大する事が、実験1の結果から無投餌の場合にも起ると推定される。但しこのHt, E.S.R. の減少と増大の現象、及び減少度、増大度と採血間隔との関係は、魚種・投餌の有無・季節・成熟度・性別等⁶⁾⁷⁾⁸⁾により相違するかも知れないから、これを確定する必要がある。

ヘパリン添加量の差によるHtの値の差については、未だ充分な試験を行っていないが、筆者等の数例の試験では、2mg/cc 溶液の10%添加と20%添加及びヘパリン結晶の場合のHt値の比は、100:89:104であった。又2mg/cc溶液の10%添加と5mg/cc溶液の10%添加及び5mg/cc溶液による注射器内面結晶の場合のHtの比は、100:103:108となった。Ht対E.S.R.の比較実験には、ヘパリン溶液の濃度及びその添加量、溶液と結晶等の中何れが最も適切かを決定することが望ましい。筆者等の既往実験では、結晶を注射器内面に付着させる時は、採血中に無振盪では注射器内で一部凝血が起り易く(振盪すれば溶血の怖れがある)、溶液添加の方が安全であった。

実 験 2.

養魚池の普通のコイ(目立った栄養障害も病気もなく、水質も悪くないと見られる池のコイで、大体正常と云えるもの)のHt:E.S.R.の採血回による変化を試験したものであるが、各養魚池の普通魚の間にどの程度の一致があるかを確認しなければ、真に比較されるべき標準値とはならない。従って今後各養魚池の普通魚に就て此の関係を測定比較したいと考えている。然しE.S.R.は温度によって著しくその値を異に²⁾¹¹⁾し、田村等(1959¹¹⁾)の結果では12°Cと21°Cの気温下では22%、即ち1°Cの上昇につき約2.5%大きい値を得た(3時間後の時)。従って10°C近くの気温差があるときの測定値の比較には、一定気温時の値に補正しなければならない。

筆者等の未発表の他養魚池のHt:E.S.R.の採血回による変化は、此の長崎産のそれと見掛上かなり相違するが、これも正確な温度補正をしなければ、果して池の水質・栄養・温度等の条件でどれ程異なるか否かは判断出来ない。

実 験 3.

田村等(1962¹²⁾)の結果では塩化第一水銀(0.2~0.4ppm., 0.2cc)の筋肉注射によって(採血間隔平均1.6日)、酸素消費量の著しい減少及びHtの採血回による著しい増大を見た。又普通魚ではHtは赤血球数及び酸素消費量とはほぼ比例したから¹²⁾、酸素消費量の減少は赤血球数の減少が原因と思われる。然るに今回の塩化第二水銀の実験でも、Fig. 4に見られる様に、0.5ppm.溶液の場合の1尾以外はみな対照と異なるHtの著しい増大を来し、塩化第二銅の注射に於けるHtは、1尾では第1採血時と変化殆んどなく1尾では第1採血時より著しく増大し、塩化第一鉛の注射に於ては3尾共第1採血時より著増している。換言すれば、第1採血がなければ塩化第二水銀・塩化第二銅・塩化第一鉛の注射によって、何れもHtが増加している訳である。

人間の赤血球增多症の原因には、水銀・燐等の薬品の中毒(小宮⁵⁾)、甲状腺・性腺・脳下垂体の赤血球造血促進⁶⁾、赤血球破壊作用の阻害³⁾、及び体液喪失(朝比奈³⁾)等が挙げられる。若し塩化第二水銀等のために体液又は血液水分が喪失されたなら、相対的にHtは増加する。又赤血球数と酸素消費量が減少しても、尚Htが少ししか減少しない事は起り得る。従って前報¹²⁾の塩化第一水銀の実験結果と今回の実験結果とは矛盾しない事となる。水銀等の毒作用が少く血液成分の減少が少なければ、今回の塩化第二水銀の場合の1尾(0.5ppm.)の様に対照と余り変らない場合も、又塩化第二銅の場合の1尾の様に第1採血時と殆んど変らない場合(対照とは異なる)も起り得る筈である。

実 験 4.

前報¹²⁾の塩化第一水銀(0.2ppm., 採血間隔平均9.7日)中では、第2採血時には第1採血時よりHtが減少したが、対照と有意の差が認められず、酸素消費量が著減した。今回の塩化第二水銀・硫酸銅溶液

(0.5ppm., 採血間隔 2 日) 中では, Ht の減少度は対照より小さく (Fig. 6~9 参照), 塩化第一鉛溶液 (0.1ppm., 採血間隔 4 日) 中でも Ht 減少度は対照より小さい (Fig. 11, 12). 換言すれば塩化第二水銀・硫酸銅・塩化第一鉛の飼水添加によってコイの Ht は若干増加した訳である.

日比谷 (1961⁴⁾) は塩化第二水銀の 0.1~1.0ppm. 飼水, 及び醋酸鉛の 1.0~5.0ppm. 飼水中に金魚を 20~50 日間投餌飼育し, これら塩類は鰓から少しづつ体内に吸収され, 又消化管壁からも吸収されて, 腎臓に特に多くこの塩類が集積されるから, 血球形成が阻害され赤血球数は著減したと報じた. 前述の様に筆者等の実験に於ても若し塩類のために血液水分が失われ, 相対的に Ht が増加し, 飼育日数が少いために造血作用の阻害効果よりも逆に貯蔵血球の一時的補充がなされたとすれば, 赤血球数の少しの増加と見た前報¹²⁾の結果と今回の結果とは, 日比谷 (1960⁴⁾) の結果と矛盾しない. 但し今回は赤血球数は測定しなかった.

摘 要

魚類血液の量的変化から魚体の生理的・環境的異常を判定する方法として, 前報¹²⁾と全様に, 第 1 回採血時と第 2 回採血時の Ht : E.S.R. の変化を対照と比較して, 重金属塩類の魚類血液への影響を比較した. 材料は全て 130g 以上 200g 位までの満 1 年の養殖ゴイである.

1. 体重の $\frac{1}{200}$ から $\frac{1}{1200}$ (cc/g) までの第 1 回目採血量では, 24 時間無投餌放養後の第 2 回目採血に於て, 全て Ht は第 1 回目より減少し E.S.R. は増加する.
2. 普通魚の Ht は, 第 2 採血時には第 1 採血時より減少し E.S.R. は増加する.
3. 重金属塩類の 0.5~1.0ppm., 0.2cc の筋肉注射実験では (無投餌で 1~2 日後), HgCl₂ の注射 (1.0ppm., 1 日後) で Ht は著増し E.S.R. は減少し, HgCl₂ の注射 (0.5ppm., 1 日後) では Ht の増加する時も変化しない時もあり, E.S.R. には余り変化がなく, CuCl₂ (1.0ppm., 1 日後) では Ht は増加し E.S.R. は減少し, PbCl₂ (1.0ppm., 1 日後) では Ht は著増し E.S.R. は減少し, CuSO₄ (1.0ppm., 0.1cc., 2 日後) では, Ht にも E.S.R. にも殆んど影響がなかった.
4. 重金属塩類の 0.1~0.5ppm. 飼水内に 2~4 日間無投餌で放養すると, HgCl₂ (0.5ppm. 中 2 日間) では Ht は平均して少し増加し, E.S.R. は変化がなく, CuSO₄ (0.5ppm. 中 2 日間) では Ht は平均して少し増加し E.S.R. は少し減少し, PbCl₂ (0.1ppm. 中 4 日間) では Ht は平均して少し増加し, E.S.R. も平均して殆んど変化がなかった.
5. 重金属塩類の筋肉注射 (0.5~1.0ppm., 0.2cc) も飼水添加 (0.1~0.5ppm.) も 1~4 日後には, 血液水分の喪失, 造血機能阻害による赤血球数の減少, 従って酸素消費量の減少を招来するものと推定される.

文 献

- 1) Aramaki, T. and Harold S. Weiss : *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.*, 108 (1), 241—244 (1961).
- 2) Buchanan, M. : *Jour. New Zealand Assoc. Bact.* 13(1), 7—12 (1958).
- 3) 朝比奈 一男 : 病態生理学, 医歯薬出版, 東京 (1961).
- 4) 日比谷 京 : 科学試験研究補助実績報告書 (1—2), 13—15 (1961).
- 5) 小宮 悦造 : 臨床血液学, 南山堂, 東京 (1954).
- 6) Martin, A.M. : *Studies Honoring Trevor Kincaid, ed. by Merville H., Univ. Washington Press Seattle* (1950).
- 7) Murachi, S. : *Jour. Fac. Fish and Animal Husbandry, Hiroshima Univ.*, 2 (2), 241—248 (1959).
- 8) Preston, A. : *Jour. Mar. Biol. Assoc. Un. Kingdom*, 39 (3), 681—687 (1960).
- 9) Sano, T. : *Jour. Tokyo Univ. Fish.*, 46 (1—2), 89—90 (1960).
- 10) 田村 修・石橋・木下・日圃・増元 : 水増, 7 (1), 54—63 (1959).
- 11) 田村 修・藤木・恵藤 : 長大水研報, 12, 72—77 (1962).
- 12) 田村 修・保田・藤木 : 日水会誌, 28 (5), 504—509 (1962).