

公害研資料

№ 18

魚類の健康評価に関する研究(1)

昭和 5 3 年 度

魚類指標排水規制基礎研究会
横浜市公害研究所

は し が き

横浜市は昭和50年度より、工場排水の安全性を確認する方法の一つとして、魚類を指標とした方式の研究を推進している。

これは排水に暴露された魚の健康状態をみて、排水の安全性を評価していくとするものである。これを具体化するために、本会は横浜市から委託を受け研究を続けているが、その一部は、既に昭和52年度に魚の異常の認識について、「生物指標論<中>」としてまとめている。

昭和53年度からは、さらに具体的に魚類の形態異常に関して、それらを原因別に分類し、記述していく予定である。

本年度は、取りあえず遺伝病に原因するものをまとめ、あわせて健康魚の肉眼観察に関して述べた。

また正常な血液性状の把握の一環として、各種の血球の分類に関して研究を行った。

以上について、「魚類の健康評価に関する研究(その1)」として報告する次第である。

魚類指標排水規制基礎研究会

代表 四 竈 安 正

目 次

はじめに

生物指標論<下の1>

4-3-1-2-3 形態の異常	中巻
(1) 遺伝病に基づく形態の異常	1
付。健康なコイの肉眼観察	7
外観と内観		

コイの血球の分類について

1. はじめに	10
2. 材料及び方法	10
3. 結果及び考察	11
4. 要 約	17

生物指標論〈下の1〉

観音崎水産生物研究所長

四 竈 安 正

前報(1976、6 生物指標論<中>魚類指標排水規制基礎研究会)4-3-1-2-3 形態の異常
においては、まずその概説を試みた。

これからは形態の異常に関して、ちょうど行動の異常にならって、(1)遺伝病に基く形態の異常、(2)奇形に
基く形態の異常、(3)炎症に基く形態の異常、(4)腫瘍に基く形態の異常に大別して記述を進めたいと思う。

(1) 遺伝病に基く形態の異常

まずここで記述に先だつてお断りしておかなければならないことがある。それは遺伝病と云う言葉の意
味である。かえつて、初めから遺伝病などという言葉を使わないで、単に遺伝に基く形態の異常と呼んで
おいた方が無難なのかもしれない。何故ならば、ニシキゴイその他の優雅な色鯉を指して、本来黒かるべ
き真鯉の病変産物(部分的褪色)だなどに見做すことは、愛好家にとつては、どう考えても許さるべきこ
とではないであろうからである。それでも生理的異常は存在するだろう。

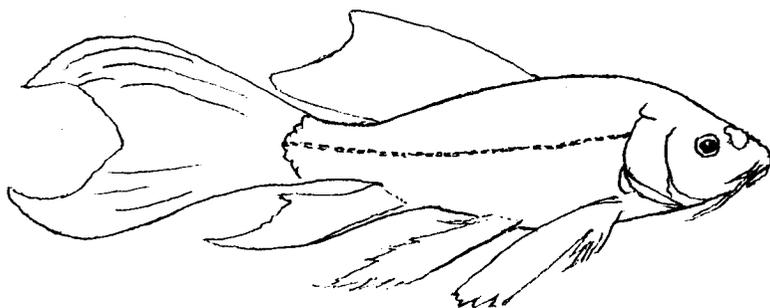
体が真白で、眼の赤いコイがある。これは、白子(しろこ、Albino)である。あなたは、まちが
いなく、白子に生まれなかつたことを感謝するにちがいない。白子はウサギやネズミでは見なれたものであ
り、魚でも鑑賞用に人為的にふやしているが、周知の如く遺伝病である。これは原種に比べて黒い色素
(メラニン)をつくる機能の一部に欠陥があることから起るものであることが知られているが、体色の異
常以外の生理的異常の有無、その他については、今の所まだあまりよく知られていないようである。しか
し、これはあくまで、まだ、という条件つきの話である。

前報の4-3-1-2-2 行動の異常の(1)遺伝病に基く行動の異常のところ、金魚とフナの間
に認められる摂餌行動(ほんとうは個体保存にかかわる防衛-警戒行動というべきかもしれない)の差を指摘した
が、この場合は白子ではないが、体色の異常に伴う形態・機能の異常が認められる。それは金魚でもフナ
でも、手術によつて眼球の水晶体を剔出すると(四竈、未発表)、やがて虹彩の傷が治癒するに従つて、
たいていは数日後に、瞳孔が適当に収縮して、物理学でいう pin hole 現象を利用して、再度視力を恢
復するらしいことがその行動から推察されるが、この際、瞳孔収縮の過程を注意してみると、金魚とフナ
ではちよつと様子がちがひ、金魚では水晶体剔出後、少時、一旦瞳孔が少し拡大し、その後、pin ho
le 的縮小を起すのに対し、フナは拡大期なしで直接縮小過程に入るのが見られた。ただし、フナでは、
真の白子は未だ発見されていない。白い金魚は、体は白でも、眼が赤くない。他の金魚同様の黒眼である。

また、コイには真の白子が知られてはいるが、その行動、生理などについては、どの程度解明されてい
るのか、詳しいことを知らない。

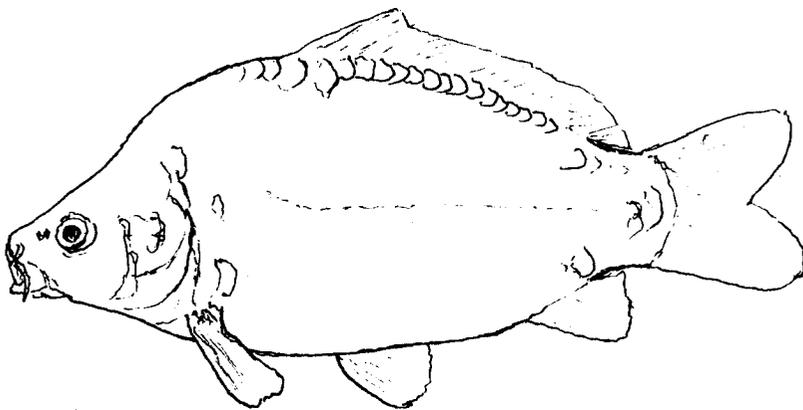
鰭が異常に延長した個体は、散発的にも多発的にも見られる。海魚にも見られる。この現象は、時には
奇形、炎症、腫瘍にも関係をもつ。金魚では琉金はじめ、多くの品種に現れることは説明を要しない。
コイでも程度の差はあるが、鰭の延長という異常は見かける。コイの鰭長個体は十分に立派だが、飼主
にとつては取扱いが不便なため、金魚の場合に比べれば流行しにくい。それでも中国南部から東インド諸島

方面にかけて koempai と呼ばれて、かなり養殖されているようである。金魚についても言えることであるが、コイについても、このような鱗が異常に延長した個体についての異常の状態、その起り方などについては、形態・生理とも、あまりよく研究されていない。一番興味をそそられるのは、人の先端巨大症（末端肥大症とも呼ばれる、Akromegaly）との関係であろう。



Cyprinus carpio var. *Flavipinis* C. a. V. $\frac{1}{3}$ "Koempai"

Max Weber & Beaufort: Fish Inds Australian Archipelago, III,
p. 101, 1916



革鯉 3才

Schäperclaus .W. 1954 S. 458

コイの遺伝的な形態異常として世界的に知られているのは、鱗に関するものである。東洋の風流に対するヨーロッパの合理的な見事な例証をここに見る思いがするが、ドイツでは肉が多く骨や鱗が少いコイ、従つて体長の割に著しく体高が大きい（背が高い）コイが好まれた。料理に手間がかからないからである。色なんか問題ではないのである。1 kg いくらの動物性蛋白であり、またその化学組成が問題であった。それはそれでよい。しかし、ドイツで何故コイの鱗に著しい減少が起つたかは、もう少し根本から考え直してみる必要があるのではないだろうか？この事に関する研究がどのくらいなされているのか私は知らない。ドイツにも普通の鱗数・鱗形をそなえた鯉がいる。それは鱗鯉（Schuppenkarpfen）と呼ばれている。鱗が大きく、その数の少いものを鏡鯉（Spiegelkarpfen）、さらに鱗が小さくなつて、僅かに背鰭基部、側線上、腹面などに散在し、またはほとんど全く鱗を失つてしまつたものは革鯉（Lederkarpfen）と呼ばれている。もちろんこれら三者は移行的である。そして大変あいまいな表現ではあるが、天然に放置すると、何代かの後には、ほとんどみな鱗鯉になつてしまうのが普通であるといわれている。しかしまた、ドイツでは鱗の少いコイは天然にも時々出現するという。また鱗の著減はドイツではフナや金魚でも発見されている。

さて、上にもちよつとふれたが、ドイツで何故このようなコイの鱗に著しい減少が起つたかである。減少の原因についてはもとより、さらにそのような減少の機構については、まだほとんど何もわからないようである。ただ Berndt, W. (1925: Vererbungsstudien an Goldfischrasen. Bade, E.: Süsswasserfischeによる)が、金魚の無鱗^の個体で、鱗囊（Schuppentasche）と鱗芽（Schuppenansätze）が常在することを認めている。この所見が無鱗コイにも普遍的なものだとすると、次のようなことが必然的に考えられると思う。すなわち、もし、鱗芽が存在するにも拘らず、鱗が形成されないならば、この場合の鱗の形成されない原因は、皮膚における鱗形成の生理の側から探究されることが甚だ望ましいということである。

鱗は、皮膚骨格と呼ばれる通り、その形成過程は骨と同一範疇に属すると見て大過ないのであろうが、骨形成の理論さえ、まだ充分には究明されていない。X線研究の結果では、種々の形の複雑な磷酸塩である $\text{CaF}_2[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$, $\text{CaCl}_2[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$, $\text{Ca}(\text{OH})_2[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$, $\text{CaCO}_3[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$, $\text{CaFCaCO}_3[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ などそして、これら複雑な塩と血液乃至組織液中に溶存する塩類との間の移行関係が骨や鱗の形成機転を教えるはずである。すなわち、液中では主として水溶性の第1磷酸塩 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_4)_2$ の形をとつており、沈着した骨や鱗などでは、第3磷酸塩 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ の形をとつており、そしてその界面では、適当な平衡を保つているものと考えられるが、この間の詳細は不明である。また、骨の Acidose 性変化（馬場為義 1931: 人類に於ける「アチドージス」性骨変化 付. 所謂脳膜炎骨変化、日新医学第20年、第8号 pp. 1258—1296. 2 pls.）、石灰転移における化学変化などもよき示唆を与えるものと思われるが、これに関する知見も不十分である。しかし、すでに、Askanazyや Hofmeister（緒方知三郎、緒方富雄 1929: 現代医学大辞典 Vol. 2、病理学総論

p. 226 石灰転移の項による)は、石灰転移に際して胃・腎・肺の諸臓器に殊に著しい転移を見る理由は、胃粘膜からは塩酸が分泌され、腎臓からは酸性の尿が排泄され、また肺臓からは炭酸ガスが排泄されるというように、これらの部位からは血中から酸が出て行くから、その部位の血液ひいては組織は他の組織よりも余計にアルカリ性になり、そのため石灰塩の溶解度が減るから、石灰の沈着が起りやすいのであると説明している。ここで、魚類の排泄生理特に皮膚よりする排泄に際しての石灰その他の無機塩の沈着機転を考えると、上述の石灰転移における石灰沈着と相通じるものがあるように思われる。魚類では、腸・鰓・腎臓による排泄の外に遊走細胞による排泄法が発達していて、特に硬骨魚類に著しい。これはPurin核($C_5H_4N_4$)から生じた含窒素物guaninを皮膚や腹膜に沈着させたり、炭酸塩や磷酸塩の如き無機物を皮膚に運んで沈着させたりして鱗や歯を形成すると見られているが、この沈着も石灰転移と同様に皮膚面よりする酸の脱出と関係するものかもしれない。かくの如く鱗形成が石灰沈着その他の点で排泄生理の一端に関係する事を知れば、これと腎臓の排泄機能との関係は自ら追求されねばならぬものとなろう。硬骨魚類においては、発生過程において、中腎が生ずる前に鱗が形成されて、さらに二次的に血液循環が始まってから、普通に見る大形の鱗が更生するものであるという。また、鱗の発達すなわち皮膚排泄機能の発達と比較してみると、腎臓の発達しているマグロ、サバ、ケツギヨなどにあつては鱗の発達は貧弱である。この点は特に鱗の減少を論じようとする今、注意を惹かれる。われわれは著しい鱗数減少を示す魚を前にして、その魚の腎臓の排泄機能が異常な亢進を示しているのではないかと疑問を一応はもつてよかろうかと思う。では、ドイツのコイにおいて何か腎臓の排泄機能を亢進させるような原因がありはしないか？まず食物について考えてみる。利尿効果のある食物—皮膚排泄機能は亢進せず—をドイツにおけるコイの人工餌料中に求めてみる。するとドイツで養鯉の最適餌料とされているLupineなる豆科植物がある。Lupinus ハウチワマメ属(豆科)は種類多く、日本にもLupinus perennis L. (ハウチワマメ、ノボリフジ、ルーピンなどと呼ばれる)以下数種知られている。これは蛋白が多いので高く評価されてきたものであるが、Dragendorff, G. (1898: Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten. Ihre Auswendung, wesentliche Bestandtheile und Geschichte. Stuttgart S. 310-311)によれば、Lupinus 属の植物の種子は駆虫剤、利尿剤、墮胎剤などに用いられており、Lupinotoxin 以下多数の成分が記されている。従つて一応はコイの養殖に際して利尿剤の効果をしらべてみることは興味があると思われる。さらに、家畜衛生学の教える所によれば(高木栄次1937: 家畜栄養と石灰 東京、南山堂 p. 69, p. 76)、Lupine は石灰質の豊富な土壌を最も嫌う植物の1つと算えられ、その繁殖にも酸性土壌を適当とする植物である。このような性質とLupineの薬理作用との間には、何か微妙な関係がありそうな気がするが、もちろん今にわかには知るべくもない。しかし、Lupineを豊産する土地であるという事が、たとえ酸性土壌ならずとも、あまりアルカリ性の強い土地ではあるまいという事だけは想像させる。さらにドイツにおいて、

Wunder, W. (1936: Physiologie der Süßwasserfische Mitteleuropas. Stuttgart, S. 257) は養魚場におけるコイに骨軟化症が一時に大量に発生し、Ca 剤の投与によつて急速に快癒した例をも報じている。この2つの事実はともに石灰の不足勝な事を暗示していると見られようかと思う。これも鱗形成を阻害する因子の1つと考えてよいのではあるまいか。

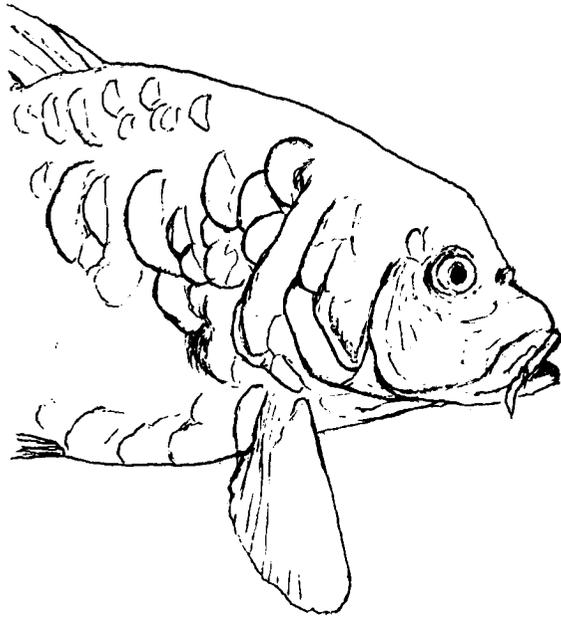
鱗形成の生理と関連しはせぬかと思われるもう1つの性質は、皮膚表皮の構造である。革鯉や鏡鯉は鱗が著しく少いから、ちよつと考えると、傷きやすく、そのために病気に罹りやすいのではないかと思われるかもしれないが、事実はむしろ反対で、冷水に対する抵抗力などはかえつて有鱗種より強いと云われる。これがもし革鯉や鏡鯉における皮膚表皮の強靱性に因るものとすれば、表皮の厚さが大なのか或いは質的に堅牢なのかではなからうか。この事が事実とすれば、皮膚からする排泄機転は薄弱な表皮の持主よりもかえつて弱にちがいない。皮膚の排泄機転が貧弱ならば、それに応じて、石灰の沈着を基とする鱗の形成も貧弱になるであろう。広く魚類をながめても、表皮の厚いものに鱗の発達が貧弱で、表皮の薄いものに発達がよいということはあつていそうである。

前にも記したように、ドイツでは、鱗数著減の個体が天然にも出現するという。ともあれ、鱗の著しく少いコイが長年にわたつて養殖され、それが遺伝するものである事は確かである。将来ドイツにおける鯉の遺伝質についての詳しいしらべがなされて欲しい。地理的環境や食餌その他の影響の下に著しい表型 (Phenotyp) が現れることはまちがいないけれど、そもその根元は遺伝質にも求められねばなるまい。そして鱗数減少を1つの特徴として伴う1機能系が関連する因子について追究して行けば、恐らくこの現象は最も正しく解明されることとなるであろう。

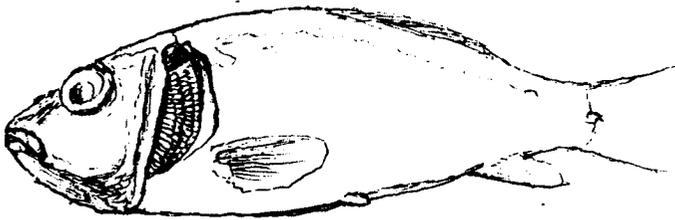
これらの他にも明らかに遺伝性が認められると考えられている形態の異常がいくつか挙げられる。例えば、頭骨の形が犬の狎 (ちん) によく似て狎頭 (Mopfskopf) と呼ばれているものがあり、これでは下顎はほぼ普通だが、上顎が短縮している。また、狎頭にやや似ているが、上下両顎がともに短縮しているのがあり、円頭 (Rundkopf) と呼ばれている。両者は時には多発し、実験的にも遺伝性が認められるという報告もある。しかし、環境との関係にまだ解明を要する点が多々残されている。

鰓蓋骨の後部が変形してまくれ上つたり、短くて内部にある鰓葉が外から見えるようなものもしばしば見られ、その中には遺伝性を思わせるものがあるが、これもまだ充分解明されたとは言えない。

上述した遺伝病に基く形態の異常はおおむね養魚家にとつては好ましくないものであるから、遅かれ早かれ、はねられてしまい、余程のことがない限り研究されることにはならない。しかし、これらは、実は大変貴重な真理の宝庫なのであつて、その解明によつてのみ、正常、健康なものを正しく理解できるようにするのである。



种 頭 体重 270 g 全体長 26 cm (Schäperclaus, W. 1954)



尙儂病性 腹鰭萎縮と鰓蓋短縮 (Schäperclaus, W. 1954)

付・健康なコイの肉眼観察

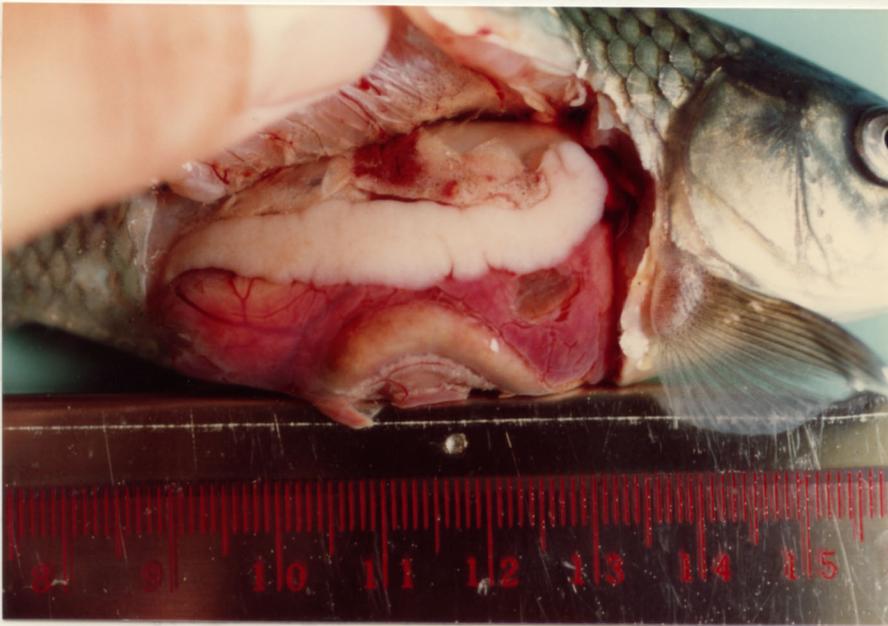
さて、生物指標論を書き始めて、中巻の4-3-1-2に始まつたコイに現れる異常の認識、その中で、まず最初に4-3-1-2-1斃死に、ついで4-3-1-2-2行動の異常にふれ、次に4-3-1-2-3形態の異常に進み、その手初めに(1) 遺伝病に基く形態の異常を、まだ十分に究明されていないことを認めながら、一応認識の対象としてとりあげて来た。形態の異常だけに限っても、まだ(2) 奇形に基く形態の異常、(3) 炎症に基く形態の異常、(4) 腫瘍に基く形態の幾常等の問題を展開しなければならない。しかし、ここまで来ると、どうしても異常を云うからにはその基盤としての正常をどのように認識しているのかということが改めて厳しく問われるようになろう。

この場合、正常と異常は元気あるいは健康と病気というふうに呼びかえてもよい。健康状態は？ときかれた時、答える「至つて元気で」とか、「ちよつと病気で」という、あれ。四竈(1965:養魚学 恒星社厚生閣、水産学全集22、p.188)は、このことについて「それでは病気と健康とはどう違うか。異常と正常といつてもそれは説明にはなるまい。むしろ健康というものは恰かも羅針盤の針のように振れながら、動的平衡を保っているもので、われわれが病気と呼んでいる状態のたいていの場合はこの振れの部分を取り立てているにすぎない。腫瘍は別である。」と記している。

いま、ここに、1枚の写真を示そう。われわれには見なれた日本の真鯉である。色も形もコイとしては一応健康なコイである。正常な形態を示しているコイといってもよい。しかし、それはあくまで一応ということである。それは非のうちどころのない美人だという美人コンテストの場合に似ている。異常がないという判断、異常が見出せないという事態は全く審査する人の知識-感情による偏りは一応除外しても一の質や量によって決まる。ふとり具合だけとってみても、見たところこのコイはやせてはいない。しかし、よくしまっているか、むくんでいないかの判断は写真を一見しただけではむずかしい。それでも、眼の突出の度合や、体色の調子を見たり、さらに指で触診することによって、ある程度わかる。外部から見える限りにおいて、寄生物、充・出・貧血等も認められない。特別な後遺症状も認められない。触診で皮膚は乾燥感(ざらざらした感じ)や粘液分泌亢進(ふれた指先が魚体から離れたとき、指と魚体との間にねばっこい糸をひく)も認められない。

要するに、肉眼で観察した限りにおいて、このコイには、遺伝病・奇形・炎症・腫瘍に基くと思われるはつきりした形態上の異常は認められないということぐらい、言えそうである。このようなものを形態的には、一応正常、ひいてはその生活が健康なものと見做すのが無理ないであろう。

しかし、上述したのは外観だけである。事情が許すならば、内部をもしらべる。内部を見ればそれだけのはつきりと実状を把握し得るのは説明を要しない。実例として、もう1枚の写真を掲げる。外観は正常でも一応注意して開腹する。まず触診して腹水の多寡を診(み)、多ければ腹水症を疑う。健と修れば、肛門のすぐ右側の体壁にメスで長さ1cmの縦割を入れる。内臓をきづつけぬよう細心の注意を払う。このメスで作つた割れ目に鉗を入れ、体壁を写真のように開く。開腹を前方へ延ばして臍腔に及ぼし、



健康なコイ (*Cyprinus carpio*)

1年魚、被鱗体長 17.8 cm、体重 57.3 g、延髄刺殺後撮影

(上) 外観

(下) 内観

鰓蓋を切除して鰓を露出するようにすれば、必然的に鎖骨下動脈・同静脈およびCuvier氏管(Common Cardinal Vein)など切断して、放置すれば大量に出血するので烙針で止血する。もし腹腔前端で肩帯を遺し、腹腔と鰓腔を連続開放することをしないで、鰓は鰓蓋切除だけ止めれば、当然出血は少量ですむ。現在腹水が目立たなくても、腹腔内に多量の繊維素が析出して、腹腔壁(腹膜)と内臓表面(漿膜)との間をつないでいること(癒着)もある。もちろん病的現象である。健康魚の内観で注意すべきものは、脂肪の量、各内臓の色・硬軟・表面の滑粗など、そして生殖巣の発達具合などである。また血管の状態は特に炎症と関連して重視すべきである。ここに掲げられた内観の写真はまずこれというほどの病変を認めがたい・正常・健康な様相を示している。

コイの血球分類について

東京水産大学

尾崎久雄・竹中工

はじめに

魚類の健康状態を評価するための診断技法には、生理生化学的側面、病理組織学的側面等からの種々の検査項目がある。その中で血液学的検査は、広く魚の健康評価法として用いられているが、人間のそれと比較してまだ体系化されておらず、一層の研究が必要である。一般に血液学的検査には、血球形態、相対血球容積、ヘモグロビン量等の項目が用いられており、貧血等の診断に有効なものとなっている。本研究は、魚病診断学の血液学的側面の基礎的な知見を得ることを目的として行なった。

血液塗抹標本は、顕微鏡的検査法として血球組成の比率等によって生理的状态を把握するのに役立つ。しかし、魚類においては、白血球の分類がいまだ明確になっていないため、分類方法、測定値に統一を欠いているのが現状である。そこで今回は、魚病診断の基礎づくりの一助として、健康なマゴイを用いて白血球の分類を試みた。解析方法は、標本にみられる全ての血球を形態や染色性などの観点から分類を行った。また、各種の血球の定型的なものは分類が容易であるが、多形性を示す血球の種類では、他の血球との間に中間型が見られるので、その中間部分を含めた移行図を作成して分類した。

材料及び方法

供試魚としてはマゴイ (*Cyprinus carpio*) を250尾使用した。各実験の目的に応じて、孵化直後のものから体重約400gまでのものを用いた。飼育方法は養殖地より搬入したものを当講座飼育室にて脱塩素水道水による流水飼育とした。飼料は市販の配合飼料を用いた。研究の目的上、健康とみられるものを用いたが、比較のために病魚も観察した。期間中の水温は、11.0℃～26.5℃であった。

血液塗抹標本は尾柄部切断あるいは注射器により心臓や鰓動脈等より、血液凝固防止剤を用いず採血し、常法により作製した。その標本は1,500倍油浸系で検鏡した。染色方法は、主としてメイ・ギムザ法を用いたが、一部の実験ではギムザ法も利用した。

採取前は、魚にストレスをできるだけ与えないようにし、採取から標本の乾燥までの時間をなるべく短くするようにした。

メイ・ギムザ染色の方法は、メイ・グリユンワルド液で3分間染色し、蒸留水を同量加え、5分間放置する。次いでギムザ液にて塗抹面を洗い、更に本液を滴下して15分間染色する。ギムザ液のPHはSorensen-Gomoriの緩衝液を用いて、PH=6.78とした。なお、使用にあたり緩衝液を20倍にうすめて用いた(結城 1963)。

ギムザ染色の方法は、メチルアルコールで固定を行ない、ギムザ液で15分間染色した。水洗は長すぎないように注意し、その後乾燥した。

白血球数の算定は、赤血球2000個に対して求め、それを赤血球1000個に対する値に換算して求めた。

各種血球の分類にあたって、血球のもつ生理的性質や機能に基づいて行なうと形態的な分類より明か

にすることができる。そのため本実験においてもいくつかの実験的手法を通じて分類を試みたが、今回はその詳細については報告しなかつた。

結果及び考察

本研究では、コイ250尾から得られた全標本をヒトの血球に関する知見(服部1963、小宮1974、三沢等1962、妹尾等1967、鈴江等1966)及び魚類に関する知見(Catton 1951 中院1919、Duthie 1939、榎本1969、入江1932、川本1931、Lanine 1912、小野田1934、Weinereb1963、結城1958、1960、1963)を参考にして、形態的に分類し、特に形態の移行型や中間型のものに留意して、第1図に示すように配列し、代表的なものを中心にしてグループに分けて番号を付した。

赤血球系を芽球、幼若赤血球、成熟赤血球に区分した。幼若赤血球は健康な成魚でも少数血中に存在するもので、ヒトでの網状赤血球の段階に相当するものである。赤芽球は幼若赤血球よりも未熟なものを指す。成熟赤血球は単に赤血球と呼ぶ。白血球系を好中性白血球、赤紫色顆粒白血球、リンパ球、単核球に区分した。白血球の芽球胞については、まだ十分に追求していない。以下、各血球の形態的特性について述べる。

3-1 赤血球

(1) 芽球 (第1図28型)

芽球は、円形の細胞で直径6~12 μ 、細胞質は少なく、濃青色に染まり顆粒や空胞は認められなかつた。核は中央にあり、核網は密で、濃赤紫色に染つた。まれに有糸分裂像がみられた。これらの芽球が赤血球に分化するのか、白血球に分化するのか、あるいは両者に分化するのかは明確ではないが、大部分は赤血球に分化すると思われる。

(2) 幼若赤血球 (第1図29型)

幼若赤血球は生理的に血中に出現するもので細胞体も核も円形で細胞体の直径は約10 μ である。細胞質の特に周辺がやや濃く青染する特徴から、その代表的なものは判別は容易である。成熟するにつれて有核のまま赤血球になるので、その間には例えば形態は成熟赤血球のように楕円形になっているが、細胞質はなお青染する性質を残しているような移行型が存在しているので、場合によっては幼若赤血球と成熟赤血球とをはつきり区別できないものもある。

魚類の幼若赤血球に相当する段階のものはヒトでは網状赤血球と呼ばれる。これは正染色赤血球と成熟赤血球の中間に立つて細胞で、ギムザ染色標本ではやや紫色を呈する無核赤血球—多染色赤血球として見られる。ギムザ染色では網状構造は見えないが、ブリリアント・クレーシル青で超生体染色を施すと胞体内に青い網状物質が見られるのでこの名がある。この網状物質は糸粒体、小胞体及び顆粒の凝集によつて生ずるとされている(服部1963)。

魚類の赤血球の網状構造については、Duthie (1939)が大部分の赤血球は初めはクレシ

ールで網状構造を示すが、細胞が成熟して卵形となり、核が濃染するようになると網状構造は消失すると述べている。Dawson (1933)はブリリアント・クレジール・ブルーの超生体染色及びライト染色の二重染色を用いて細胞質の色調と網状構造の関係を求め5型に分類しているが、成熟赤血球でも顆粒状物又は絮状片が存在すると述べている。尾崎・鎌田(1958)はギムザ染色において、細胞及び核がほぼ円形で血色素がなく、うす青く染まるものをReticulocyteとしているが、病的な血液では、成熟型との間に中間型が多く両者の区別は容易でないことを述べている。榎本(1969)は、小型円形で細胞質は少なく、血色素に乏しく好塩基性を呈するものを幼若赤血球とした。

本研究では、細胞及び核が円形で、メイ・ギムザ染色において細胞質が好塩基性ないし多染性を示すものを幼若赤血球としている。

(3) 成熟赤血球 (第1図30型)

成熟した赤血球は、楕円形で核も同じ形をもち、細胞体の長径は12~13 μ 、短径は8~9 μ が普通であるが、極端に大きいものや小さいもの、細胞体の一部が突出しているもの(第1図32型)、或は無糸分裂像(31型)などが末梢血液で見られることがある。一般に赤血球の判断は容易である。

3-2 白血球

(1) 好中性白血球 (第1図26型)

好中性白血球は、類円形で直径10~12 μ 、細胞質は無色でわずかに網状の構造が認められた。大きさが不同の2~3個の空胞を認めることはよくあつたが、顆粒は認められなかつた。核はやや偏在し、核網は網状構造が認められ、濃赤紫色に染つた。分葉度は全血球中でも最も高く、一般に馬蹄形核であるが、特に分葉し最高4分葉核まで見られた。感染魚では時に細菌を貪食している場合も認められた。

中院(1919)は、ギムザはメイ・ギムザ染色により、17種の海産硬骨魚のうち12種に、エオジン嗜好性顆粒白血球及び両色嗜好性顆粒白血球を認めており、後者は従来の中性嗜好性顆粒白血球とみなすべきもので、従来の研究者がこの血球に顆粒を見なかつたのは、固定技術に問題があると主張している。中院の染色体は本研究よりはるかに濃いようである。

なお、本研究における赤紫顆粒白血球は主に核の形状により中院のエオジン嗜好性顆粒白血球にあたることは疑いない。入江(1932)は、メイ・ギムザ染色によりフナで中院と同様の両色嗜好性顆粒白血球をみている。小野田(1934)はコイの顆粒白血球をメイ・ギムザ染色により3種に分け両嗜好球、塩基嗜好球、エオジン嗜好球としている。両色嗜好球については、弱嗜酸性ないし弱嗜塩基性の微細顆粒を蔵すと述べている。

一方、Yuki(1958)は18種の魚類を用いてライト・ギムザ染色により白血球の顆粒の

有無を調べた結果、サケ科だけでは顆粒白血球にあたる血球に顆粒が見られないと述べている。

本研究では先に述べた方法で乾燥及びストレスには十分な注意を払ったが、好中性白血球に顆粒はみられなかった。

(2) 青紫色顆粒白血球 (第1図27型)

赤紫色顆粒白血球は、類円形で直径10~14 μ 、細胞質は好中性白血球よりも多く赤紫色の顆粒が充満しているが、採血等に手間どると顆粒が青紫色の帯状物となつて流出する姿が見られ、顆粒を失っている場合もあつた。核は、強く偏在しており、顆粒を失つた場合でもこの点において好中性白血球と区別することができた。核網工は、濃赤紫色で網状構造が認められた。分葉は多くの場合認められなかった。

Lanine (1912)は、コイにおいて本研究と同様の血球をエオジノフィルとして記述しているが、この他にやや色が淡く更に大きな顆粒の散在するエオジノフィルも稀に存在すると言っている。本研究では後者は認められなかった。入江(1932)メイ・ギムザ染色によりフナで、エオジン嗜好性白血球を認めた。その記述は細胞の大きさ、核の大きさ・形・位置、顆粒の様子などの点で本研究の結果と一致するが、細胞質の色調については一致しない。入江は濃い青色に染まると述べているが、本研究では無色に近かつた。小野田(1934)は、メイ・ギムザ染色により、コイでエオジン嗜好性白血球を認めた。小野田の結果は細胞の形、核の位置、核網工については、本結果と一致するが、細胞質が淡緑青色に染まり顆粒は不染性であると述べている点が一致しない。小野田(1934)の方法では顆粒の固定が不十分と思われる。中院(1919)はギムザ又はメイ・ギムザ染色により17種の海産硬骨魚を調べ、14種にエオジン嗜好性顆粒白血球をみとめている。

本研究における赤紫色顆粒白血球は以上の報告の中でエオジン嗜好性白血球と呼ばれているものと同種であることは疑いないが、顆粒の染色性がヒトのエオジン嗜好性白血球に見られるような鮮やかな赤色ではないので、赤紫色顆粒白血球と呼ぶことにした。

(3) リンパ球 (第1図10~15型及び17~24型)

リンパ球は、白血球のうち大部分を占めていた。これに含まれるものには様々な形態がみられたが、小リンパ球と大リンパ球とに分けられた。

① 小リンパ球 第1図10~15に示したように様々な形のものが見られた。10型に属するものはほとんど真円形であり、直径4~7 μ 、細胞質は無色ないし青色で均一に核を囲む。擬足はほとんど出さず他の血球にも接着しにくく、かつ顆粒や空胞は認められなかった。核が細胞の大部分を占めており、核網工の構造が認められた。核の一侧が凹んでいる(ハート型)か、分葉を示していた。

11型に属するものは円形で直径6~8 μ 、細胞質は青色で、辺縁は不整、擬足を出している

認められるものが多かつた。顆粒や空胞は認められなかつた。核は細胞の大部分を占めており、核網工は緻密で構造が認められず、濃紫色を示した。

12型に属するものはほとんど真円形であり直径4~7 μ 、細胞質は無色ないし青色で核が偏在しているため三日月形をなしており、かつ顆粒や空胞は認められなかつた。擬足はほとんど出さず、他の血球との接着はみられなかつた。核は細胞の大部分を占めており、核網工は緻密で構造が認められず、濃紫色を呈した。核が腎形或はハート形に分葉する傾向を示すことがあつた。

13型に属するものは形態については12型と同様であるが、核網工がやや疎で網状構造が認められる点で相違がみられた。

14と15型に属するものは類円形ないし不整形で直径5~8 μ 、細胞質は少なく無色ないし青色で、擬足を出すことが多く、顆粒及び空胞はほとんど認められなかつた。核は大きく、偏在し、核網工は網状構造が見られ赤紫色を呈した。なお、核が腎形或はハート形を示すこともあつた。

② 大リンパ 第1図17~24型に示すような様々な形のものが見られた。17~20型に属するものは類円形或は不整形で、直径8~12 μ 、多くは10 μ 程度であつた。細胞質は少なく無色ないし青色を呈していた。無色に近いものを17・18型、青色に近いものを19・20型とした。また空胞を持つているもの(18・20型)、持たぬもの(17・19型)も見られた。17~20型に属するものは核は偏在し、核網工は小リンパ球に比べてやや疎であり、明るい赤紫色を呈した。核は腎形或はハート形を示すこともあり、稀には二分葉も見られた。後述する幼若な単核球(25型)によく似ている場合もあつた。

21~24型に属するものは他の血球に接着したもので、細胞形はいろいろな歪形をしていた。大きさは8~14、細胞質は17~20型に比べて多量であり、無色に近いもの(23・24型)と青色に近いもの(21・22型)とがあつた。稀に円形又は棒状の赤紫色の顆粒をもつのがあつた。棒状顆粒は核の一角からふき出したように方向性をもつて並んでいた。この顆粒が消失したと思われる棒状の空胞をもつのもあつた。核の色調、核網工の様子は17~20型と同様であるが、細胞が他の血球に接着しているため、核も他の血球に接する位置に存在していた。計測の際、顆粒をもつた大リンパ球は21~24型に入れず、その都度特記した。しかし、総リンパ球数には算入した。

中院(1919)は、ギムザ又はメイ・ギムザ染色により17種の海産硬骨魚の血液をしらべた中院の結果は大小リンパ球の区別、細胞の形、核の大きさと形、原形質の量と色調、空胞、核周囲のhalo等の点で本結果と一致した。彼は青色の微細顆粒が原形質内にあらわれると述べたが、本研究では認められず、この点が不一致であつた。彼のギムザ染色の時間は2時間ないし12時間となつているが、本研究では15分間であり、この違いによると思われる。入江(1932)はメイ・ギムザ染色により、フナの血液を調べた。入江のリンパ球に関する結果と本結果とは、大小リンパ

球の区別、細胞の形、核の大きさ・形、原形質の量と色調、空胞、核周囲の halo 等の点で一致した。しかし、本研究では入江の記述していない棒状顆粒を稀に認めた点で異つている。小野田 (1934) はメイ・ギムザ染色により、コイの血液を調べた。彼の結果は、細胞の大きさ、核の大きさにおいては本結果と一致しているが、核や原形質の色調は全体的に本結果より濃いようである。Yuki (1958) がペルオキシダーゼ、ライト・ギムザ 2 重染色でニジマスの血液を調べて示した図は本結果とはほぼ一致する。しかし、細胞質の比較的多いリンパ球 (第 1 図 21~24 型) にあたるものが記されていない点相違している。川本 (1931) はギムザ又はメイ・ギムザ染色によりウナギの血液を調べた。川本の結果は大小リンパ球の区別、細胞の大きさ、核の形・大きさ・色調・原形質の量、擬足、顆粒の大きさなどの点では、本結果と一致するが、川本は細胞質の色調を述べていない。川本の示した図は本結果とよく一致する。

以上の魚類リンパ球に関する知見は本研究の小リンパ球 (第 1 図 10~15 型) と大リンパ球 (第 1 図 17~24 型) とに関する結果とはほぼ一致している。リンパ球の分類においては栓球との境界が不明解であり、この点については実験的に調べる必要があり、リンパ球の生理学的性質を検討する必要がある。

(4) 単核球 (第 1 図 25 型)

単核球は類円形多くは不整形で、 $12\sim 18\mu$ であり、白血球中最大であつた。細胞質は多量にあり、大きな舌状の擬足を出す。染色すると青色を呈し、顆粒は認められなかつた。多くの場合大小不同の数個の空胞をもち、多い時には 10 数個に達する場合もあつた。核はやや偏在し、核網工は繊細で、赤紫色を呈した。核は、一般に多少不規則な腎形だが、稀に分葉核をみることもあつた。

中院 (1919) はギムザ又はメイ・ギムザ染色により 17 種の海産硬骨魚を調べた。中院はヒトの巨大単核球及びその移行型に形態の類似した血球が魚類にも存在することを述べ、この血球にアズール顆粒、又はこれに類似の顆粒があること、超生体染色及びオキシダーゼ反応陽性顆粒を持つことから、高等動物にあるのと同様の巨大単核球及びその移行型であると述べている。本結果の単核球はヒトのものに類似しているが、顆粒はみられなかつた

入江 (1932) はメイ・ギムザ染色によりフナの単核球を調べた。入江の結果は細胞の大きさ、核の大きさ・形・位置・色調・核網工及び細胞質の量・色調・空胞などの点ではよく一致しているが、本研究では顆粒を認めなかつた点が相違している。小野田 (1934) はメイ・ギムザ染色によりコイの単核球を調べた。小野田の結果は細胞の大きさ・形、核の形、原形質の色調、空胞などの点ではよく一致しているが、本研究では顆粒を認めなかつた点が相違点である。Yuki (1958) はペルオキシダーゼ・ライトギムザ二重染色によりニジマスの単核球を調べ、ペルオキシダーゼ陽性核は陥凹をもつが不完全な分葉を示し、細胞質は比較的濃い青色であると述べており、Yuki の示した図は本結果とよく一致する。川本 (1931) はメイ・グリユンワルド及びメイ・ギムザ

染色によりウナギの単核球を調べた。川本の結果は細胞の大きさ、核形、網工、原形質の色などの点で本結果と一致した。大リンパ球の中に単核球と似ているものがあるという点でも一致した。

上記のように、本結果は、これまでの知見とほぼ一致していると思われる。単核球とリンパ球の区別は細胞の大きさ、核網工の様子などから区分はむずかしくない。好中球との区別は容易である。

3-3 栓球 (第1図1~7型)

栓球はリンパ球と同様に多形性を示した。形態の上から次の4つの型に分けた。

(1)第1型(赤血球型のもの)(第1図1型)赤血球に似た楕円形であるが、細胞質に比し核がより大きい。中院(1919)は紡錘細胞に2種を認め、第2種細胞として、赤血球と類似したものをあることを述べている。

(2)第2型(レモン形のもの)(第1図2型)レモン形栓球は長径9~11 μ であり、細胞質は、長軸の一端または両端に存在し、うすいピンク色を呈していた。破損により細胞辺縁が不整となつたものは辺縁部が青味を呈した。細胞質の一端が長くのびているものも見られた。顆粒及び空胞は認められなかつた。核はレモン形で細胞の大部分を占める。核網工はやや疎で赤紫色に染まることが、後で述べる紡錘形栓球とのちがいである。核はねじれたように分葉することがあつた。またレモン形栓球は崩壊しはじめると細胞体が丸味を帯び、細胞辺縁が不整となるので、小リンパ球(14・15型)とよく似ている。

(3)第3型(棒状のもの)(第1図3型)3型は棒状であり、長径10~13 μ で2型より細長い点以外はすべて2型と同じである。2型及び3型は中院(1919)のいう第2種紡錘細胞、即ち赤血球類似型にあたることは疑いないが、我々は3型の崩壊型で小リンパ球(14・15型)とよく似たものを認めておりこの点が中院との相違点である。栓球の1型・2型・3型の間には互いに中間型がみられる。

(4)第4型(紡錘形のもの)(第1図4型)一般に一端又は両端が尖つた紡錘形であり長径は8~11 μ で栓球中最も小さい。細胞質は少なく長軸の一端又は両端に存在し、尖つた形をしている。核網工が緻密で構造が認められないことが1~3型と大きく異なる点である。5~7型は4型の崩壊型で細胞はほとんど核のみとなり、核網工は緻密で無構造濃紫色を呈していた。核の分葉は認められなかつた。崩壊により細胞が丸味を帯び、細胞質が不整形となるため小リンパ球(12型)によく似ていた。

入江(1932)はメイ・ギムザ染色によつてフナを用いて紡錘細胞を観察し、第1種、第2種に分けた。入江の結果は本結果と一致する点も多いが相違点もある。入江の第1種紡錘細胞は本結果の4・5・6・7型を含むことは疑いないが、原形質が割に多いと述べている点、細かい空胞が数個あると述べている点で、本研究の小リンパ球(10~15型)の一部をも含めているようである。入江の第2種紡錘細胞が本結果の1~3型にあたることは疑いない。入江は細胞周囲が平滑であることは少ないと述べているが、本研究では多くが平滑であり、平滑でないものは採血に手間どつたりした時

に出原した。又、入江は核が濃紫色に染つて構造は認め難いと述べているが、本研究における1～3型の核は小リンパ球(13～15型)によく似た色調と網様構造が認められた。入江は原形質が淡紫ないし淡紫紅色に染まると述べているが、これは本研究より染色が濃いためであろう。入江は第1種第2種細胞ともに顆粒をみているが、本研究では顆粒は認められなかつた。

栓球のあるものはリンパ球との境界が不鮮明であり、これについては実験的にその区別を明らかにする必要がある。

3-4 核影

崩壊して血球種の判別困難なものを核影とした。ほとんどが赤紫色不定形の像である。結城(1960)はこれを赤血球崩壊物として凝固機構に関連して述べている。本研究においても大部分は赤血球由来と思われたが、少数ながら青色及び無色の部分をもつた白血球由来と思われる核影も存在した。

3-5 各種血球数(第1表)

最後に、如上の研究に基いて、健康マゴイにおける赤血球1,000個に対する各種血球の値を示せば次のようである。幼若赤血球数及び大リンパ球数は冬期に向って低下した。榎本(1969)は水温低下でウナギのリンパ球数が減少するのを見ている。水温低下とそれに伴う摂餌不良が影響していると思われる。他の血球数には目立った変動は見られなかつた。

要 約

魚病診断または生理学的、病理学的観察のための基礎的資料を得ることを目的として、血液塗抹標本を用いて血球の分類を行つた。

- (1) 芽球(28型)は、幼若赤血球(29型)とリンパ球(14、15、17～20型)との間に中間型を示した。
- (2) 幼若赤血球(29型)、芽球と成熟赤血球(30型)の間には様々な中間型がみられるが、細胞及び核が円形で細胞質が好塩基性ないし多染性を示すものを幼若赤血球とした。
- (3) 好中性白血球(26型)はヒトのそれと同様な形態を示した。
- (4) 赤紫色顆粒白血球(27型)は他の魚類の血液に関する報告でエオジン嗜好性白血球または好酸性白血球と呼ばれているものと形態的にほとんど一致した。
- (5) リンパ球(10～15、17～24型)は多形性を示し、全白血球の80%以上を占めたが、血球分布図(第1図)により分類し、小リンパ球(10～15型)と大リンパ(17～24型)に分類できた。
- (6) 単核球(25型)は全白血球中最大の細胞であり、ヒトのそれに類似した形態により、他の血球から区別した。
- (7) 栓球は、第1種(4～7型)と第2種(1～3型)とに分類した。
- (8) コイの健康と見られる成魚の各種血球数は、季節を通じてはほぼ一定であるが、幼若赤血球とリン

バ球の数は冬に向かって減少した。

第1表 各種血球数の季節変動 (M±S.D.)

(赤血球数1,000個に対する比)

	芽球数	幼若赤血球数	無糸分裂赤血球数	好中性白血球数	赤紫色顆粒白血球数	小リンパ球数	大リンパ球数	総リンパ球数	単核球数	総白血球数	栓球リンパ球中間型数	栓球数	核影数	不明球数
測定尾数 10 (8.28) 体長 17.5cm 体重 235g	0.4 ±0.16	8.5 ±1.74	0.1 ±0.06	0.6 ±0.02	0.4 ±0.09	4.7 ±0.92	61.3 ±0.63	66.0 ±6.30	0.8 ±0.13	68.1 ±6.39	—	16.4 ±1.68	11.8 ±2.91	0.6 ±0.32
測定尾数 10 (10.9) 体長 21.2cm 体重 273g	0.1 ±0.06	7.6 ±1.99	0.5 ±0.13	0.8 ±0.25	0.5 ±0.25	3.7 ±0.85	44.5 ±7.63	51.1 ±8.54	0.3 ±0.09	52.6 ±8.80	—	17.4 ±5.47	22.1 ±7.82	0.3 ±0.10
測定尾数 42 (12.31) 体長 14.3cm 体重 80g	0.2 ±0.17	3.0 ±0.94	0.3 ±0.11	1.5 ±0.23	0.4 ±0.22	4.2 ±0.52	21.1 ±1.74	25.3 ±1.88	0.6 ±0.08	28.9 ±1.91	1.0 ±0.19	10.0 ±0.96	3.7 ±0.43	0.1 ±0.06

文

献

- | | | | |
|-------------|-------|----------------------------------|---------------|
| Catton, | 1951, | Blood, | 6, 39-60 |
| 中院孝圖, | 1919, | 京都医学雑誌, | 17, 115-154 |
| 中院孝圖, | 1919, | 京都医学雑誌, | 17, 280-294 |
| Duthie, | 1939, | J, Anat., | 73, 396 |
| 榎本義正, | 1969, | 東海水研報, | 57, 137-177 |
| 榎本義正, | 1969, | 東海水研報, | 58, 173-189 |
| 三沢敬義等, | 1962, | 臨床検査の実際, | 医学書院, 東京 |
| 服部絢一, | 1963, | 血液疾患, | 朝倉書店, 東京 |
| 入江 亮, | 1932, | 十全会雑誌, | 37, 1605-1623 |
| 小宮正文, | 1974, | 図説血球の見方, | 南山堂, 東京 |
| 川本信之, | 1931, | 水講研究報 | 26, (1), 1~4 |
| Lanine, P., | 1912, | Arch, de Biol, Paris, | 27, 525-584 |
| 尾崎久雄・鎌田淡紅郎, | 1958, | 滋賀県醒井試験報告, | 1, 43-54 |
| 鈴江 懐・小林忠義, | 1966, | 病理学各論工, | 医学書院, 東京 |
| Yuki, R., | 1957, | Bull, Fac, Fish, Hokkaido Univ., | 8, 36-44 |
| Yuki, R., | 1960, | 日水会誌, | 26, 490-494 |
| 結城了伍, | 1963, | 日水会誌, | 29, 1098-1103 |

魚類の健康評価に関する研究 (1)

(昭和53年度)

昭和56年2月 発行

編集 魚類指標排水規制基礎研究会

発行 横浜市公害研究所

〒235 横浜市磯子区滝頭1-2-15

TEL 045-752-2605

印刷 小松紙製品株式会社

〒232 横浜市南区前里町1-10

TEL 045-241-0037
