

## スイホウガンの水疱内液の成分

岩田靖宏・松村貴晴

### Chemical Composition of Eye Sac Fluid of The Bubble-Eye Goldfish (*Carassius auratus*)

IWATA Yasuhiro <sup>\*1</sup> and MATSUMURA Takaharu <sup>\*2</sup>

**Abstract :** In the present study, in order to utilize as an additive to the fish cell culture media, components of the fluid from the eye sacs of the bubble-eye goldfish were analyzed.

The fluid composition from the eye sacs closely resembled that of plasma; however, fluid from the eye sacs had considerably lesser enzymes, such as glutamic-oxaloacetic transaminase, glutamic-pyruvic transaminase, and lactate dehydrogenase, than plasma.

With regard to the recovery time after collection of fluid from the eye sacs, the fluid volume was restored to the original volume 14 days after collection, and up to 70% recovery of the components was observed in 42 days.

A sudden increase in testosterone was observed in the fluid of the eye sacs of fish when the water temperature was elevated.

キーワード; キンギョ, スイホウガン, 水疱内液, 成分

キンギョ (*Carassius auratus*) はコイ科フナ属に分類され, その中の中国の鯽 (ji) と呼ばれるフナを起源とされると言われている。日本には分龜 2 年 (1502) に中国から渡来したとされ, これが後にワキンと呼ばれる品種の原型であったと考えられている。<sup>1-3)</sup> 現在のキンギョの主要品種は 25 種類があり, 奈良県, 愛知県, 埼玉県などで養殖が行われている。スイホウガンはその 25 種のうちの 1 種で, 中国で長らく門外不出とされていた品種であり, 昭和 33 年 (1958) に初めて日本に輸入された。<sup>4)</sup> その作出過程はデメキンの突然変異によりチョウテンガンと同時期に作出された説があるが定かではない。スイホウガン (図 1) には, 上向きの眼球と, その名の由来のとおり, 眼の左右に付く眼球の角膜が肥大した風船のような水疱状の袋があり, 中には液体が満たされている。愛知県水産試験場 (愛知水試) と名古屋大学との共同研究で, キンギョの未受精卵を, 長時間受精能力を保つ培養液を探索する過程で, このスイホウガンの

水疱中に蓄積した液体 (以下水疱内液) が, キンギョやアユの未受精卵を受精能力を保ったまま長時間保存できることや, 魚類の細胞培養の添加剤として有効なことを発見し, <sup>5-7)</sup> 特許を出願した (特開 2009-183151)。しかし, これらの作用が何故もたらされるかを理解するために必要な水疱内液の成分に関する知見はこれまで全く無く, また水疱内液採取後の水疱に水疱内液が再蓄積することは報告されているが, その再蓄積した水疱内液の成分が最初に採取した水疱内液の成分と同じかどうかなどの詳細は分かっていない。そこで今回, 水疱内液の成分組成や, 再蓄積後の水疱内液の成分の変化について明らかにしたので報告する。

#### 材料及び方法

##### 水疱内液成分

分析に用いたスイホウガンは, 弥富市内の養殖業者より 2007 年 12 月に入手後, 愛知水試屋内の空調のない部屋

\*1 愛知県水産試験場 (Aichi Fisheries Research Institute, Miya, Gamagori, Aichi 443-0021, Japan)

\*2 西三河農林水産事務所水産課 (Fishery Division, Nishimikawa Agriculture, Forestry and Fisheries Office, Aichi Prefectural Government, Okazaki, Aichi 444-0860, Japan)



図1 スイホウガン

の150 Lガラス水槽で温度調節せずに飼育し、分析する14日前の2008年1月17日から20°Cに加温した30 L水槽に移し飼育した。期間中、キンギョ用配合飼料を適宜与えた。スイホウガンは個体毎に識別するため、背中に番号を記したリボンタグで標識した。水疱内液の採取は2008年2月1日に23G×1<sup>1/4</sup>の注射針(テルモ, NN-2332R)と2.5mLシリンジ(テルモ, SS-02SZ)を用いて行い、ほぼ全量を採取した。採取した水疱内液は3000 gで10分間の遠心分離の後、上澄みを生化学用スピッツ管に入れ冷蔵保存し、当日中に分析に供した。比較対照とした血漿は、ヘパリンを塗布した同じく23Gの注射針と2.5mLのシリンジを用いて尾柄部から血液を採取後、直ちに、水疱内液と同じく3000 gで10分間の遠心分離後、血漿を分析用スピッツ管に回収した後冷蔵保存し、当日中に分析に供した。血漿については、1歳の小型個体(No. 4, 5, 6)各1尾では、血漿の分析下限量の0.5mLを採取できなかったため、3尾分を等量混合して0.5mLとし、分析に供した。この3尾については水疱内液も同様に等量混合してから0.5mLをスピッツ管に採取し分析に供した。水疱内液は5検体、血漿は2検体を分析した。成分の分析は、臨床検査センター(名古屋市)に依頼した。各成分の分析手法は表1のとおりである。なお、IgMについては、ヒトIgM測定系でキンギョのIgMは測定不可能であったため、今回スイホウガンのIgMは測定していない。また、2010年10月12日及び10月18日に、弥富市内の養殖業者が屋外のコンクリート池で飼育していた3歳のスイホウガン各4尾を入手し、水疱内液の採取量を測定した。

#### 水疱内液回復実験

水疱内液を反復採取することを目的に、採取後どれだけ経過すれば再蓄積した水疱内液中の成分が回復するかを調べるため、1回目採取後から2回目採取するまでの時

表1 各成分の分析手法

区分	成分名	分析手法
電解質	ナトリウム	イオン選択電極法
電解質	塩素	イオン選択電極法
電解質	カリウム	イオン選択電極法
電解質	血清鉄	パソフェナントロリン直接法
電解質	カルシウム	OCP法
電解質	無機燐	モリブデン酸直接法
電解質	マグネシウム	Xylydyl Blue法
電解質	浸透圧	氷点降下法
含窒素成分	尿素窒素	ウレアーゼGLDH法
含窒素成分	尿酸	酵素法
含窒素成分	クレアチニン	酵素法
血清タンパク質	総タンパク質	ビウレット法
血清タンパク質	アルブミン	BCG法
血清タンパク質	A/G	ビウレット法
脂質	総コレステロール	酵素法
脂質	HDLコレステロール	選択阻害直接法
脂質	LDLコレステロール	酵素的測定法
脂質	中性脂肪	酵素法
脂質	アミラーゼ	B5GP基質法
糖質	グルコース	ヘキソキナーゼG-6-PDH法
生体色素	総ビリルビン	バナジウム酸化法
酵素	γ-GTP	JSCC標準化対応法
酵素	GOT	JSCC標準化対応法
酵素	GPT	JSCC標準化対応法
酵素	アルカリフォスファターゼ	JSCC標準化対応法
酵素	LDH	JSCC標準化対応法
酵素	CK	JSCC標準化対応法
酵素	LAP	L-ロイシン-Pニトロアニリド基質法
感染症	CRP	LTIA
ホルモン	テストステロン	CLIA
ホルモン	エストラジオール	CLIA

間を変えて成分分析を行った。分析を行った3個体は、前項の成分分析のため採取を行った後14日毎3回(No. 1), 28日後(No. 2), 42日後(No. 3)に水疱内液を全量採取し、初回採取時との成分の比較を行った。また、3個体とは別に、初回採取時に水疱内液を採取しなかった1個体(No. 7)について42日後に水疱内液を採取し対照とした(表2)。また、採取量も併せて測定し、採取量の変化を求めた。

表2 水疱内液成分回復実験の実施日程

魚体No.	初回	14日後	28日後	42日後
1	○	○	○	○
2	○		○	
3	○			○
7				○

○印はその個体から水疱内液を全量回収した日を表す  
空欄の日は水疱内液の回収を行っていない

#### 水疱内液内のホルモン濃度の変化

分析に用いたスイホウガンは、前述の成分分析に用いたスイホウガンとは別に、弥富市内の養殖業者が屋外の土池で飼育していた3尾(No. 11, 12, 13)を2008年2月12日に入手し(屋外池水温: 約3.5°C)、水試内の30 Lガラス水槽に移し、2月15日から15°Cで飼育した。その後3月1日には水温を20°Cとした。15°Cに加温する直前と、15°Cで2週間飼育した後で20°Cに昇温する直前、20°Cに昇温して3日後の3月4日の計3回、3尾全てから水疱内液を0.5mL

採取し、テストステロン及びエストラジオールの濃度を測定した。なお、今回のテストステロンの測定手法では、11-ケトテストステロンとの交叉率が測定されていないため、結果についてはテストステロンと11-ケトテストステロンとの合計値である可能性がある。

## 結果

### 水疱内液の成分

試験に用いたスイホウガンの年齢、体長、体重、水疱内液及び血液の採取量を表3に示した。1歳魚6尾（No. 1から6）の採取率は体重の5～9%で平均6%、3歳魚10尾（No. 8, 9, No. 21から28）は体重の14～32%で平均20%と3歳魚のほうが体サイズに対する水疱内液の割合が高く、水疱が発達していた。水疱内液及び血漿の成分分析結果を表4に示した。分析した29項目の内、 $\gamma$ -GTPは検出限界

値（1U/L）以下であった。水疱内液については5検体間の偏差（SD）は比較的少なかった。また、同一個体から得た血漿と水疱内液を比較した2検体（No. 4, 5, 6混合及びNo. 8）では、血漿成分と比較し0.5～1.5倍の値を示した項目がほとんどであったが、酵素であるGOT, GPT, アルカリフォスファターゼ, LDH, CKについては、血漿成分比0.1から0.3とかなり少なかった。

水疱内液と細胞培養の添加培地として一般的に使用されている牛胎児血清との成分の比較を表5に示す。ほぼ同じ濃度なのは、ナトリウム、浸透圧、総ビリルビンで、水疱内液のほうが濃度の低い成分として、カリウム、血清鉄、カルシウム、無機磷、クレアチニン、総タンパク質、アルブミン、グルコース、GPT, LDHであり、高い成分は、総コレステロール、中性脂肪、GOTであった。

表3 試験に供したスイホウガンの年齢、体長、体重と採取した水疱内液量及び血液量

魚体 No.	年齢	体長 mm	体重 g(A)	採れた水疱内液 (B) mL(B)	採れた血液 (C) mL(C)	測定年	測定月日	雌雄
				$\times 100$	$\times 100$			
1	1+	63.2	31.4	1.6	5	2008年	2月1日	
2	1+	65.9	37.8	2.2	6	2008年	2月1日	
3	1+	56.6	28.3	2.1	7	2008年	2月1日	
4	1+	58.0	25.9	2.3	9	2008年	2月1日	
5	1+	62.3	35.5	1.9	5	2008年	2月1日	
6	1+	58.1	24.4	1.3	5	2008年	2月1日	
7	1+	58.0	27.4	3.4	12	2008年	2月1日	
8	3+	74.4	56.0	14.1	25	2008年	2月1日	
9	3+	68.8	46.7	7.0	15	2008年	2月1日	
11	3+	81.0	63.6	-	-	2008年	2月15日	♀
12	3+	63.2	26.3	-	-	2008年	2月15日	♀
13	3+	68.2	33.6	-	-	2008年	2月15日	♂
21	3+	84.5	101.8	15.4	15	2010年	10月12日	
22	3+	85.7	101.7	19.9	20	2010年	10月12日	
23	3+	85.3	95.1	18.2	19	2010年	10月12日	
24	3+	71.0	53.2	8.8	17	2010年	10月12日	
25	3+	96.6	113.7	42.0	37	2010年	10月18日	
26	3+	76.5	63.6	16.0	25	2010年	10月18日	
27	3+	104.4	94.0	13.0	14	2010年	10月18日	
28	3+	93.0	108.1	17.0	16	2010年	10月18日	

注) NO. 1～8 水疱内液の成分分析

No. 9, NO. 21～28 水疱内液の採取量測定

No. 11～13 ホルモンの変化測定

- は水疱内液, 血液を全量採取しなかった個体

雌雄はホルモンの分析を行った個体のみ判別した

### 水疱内液回復実験

図2に3個体（No. 1, 2, 3）の採取後の経過日数毎の採取量の推移を示した。14日毎に採取したNo. 1でも、14日目で当初の採取量を上回っており、その後も、当初の採取量を下回ることは無かった。また、28日後に採取した

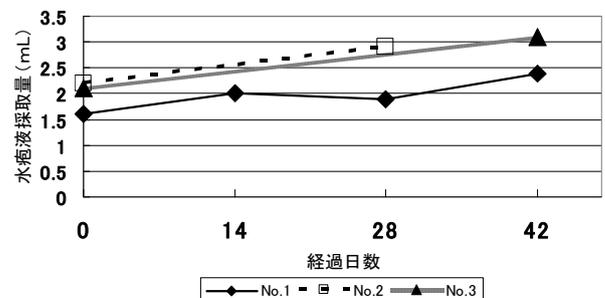


図2 水疱内液採取量の推移  
経過日数は2月1日からの日数

表4 スイホウガンの水疱内液と血漿の成分濃度

成分	水疱内液						血漿			
	単位	魚体No.1	2	3	4.5.6(a)* 8(c)	mean±S.D.	4.5.6(b)* 8(d)	mean±S.D.	(a)/(b)	(c)/(d)
ナトリウム	mmol/L	136	135	135	135	136.0 ± 1.7	133	135.0 ± 2.8	1.0	1.0
塩素	mmol/L	115	117	118	117	118.0 ± 3.0	110	111.5 ± 2.1	1.1	1.1
カリウム	mmol/L	2.3	2.3	2.4	2.3	2.3 ± 0.2	1.3	2.6 ± 1.8	1.8	0.5
血清鉄	μg/dL	111	107	112	117	107.2 ± 10.8	75	156.5 ± 115.3	1.6	0.4
カルシウム	mg/dL	10	10.5	12	11.2	10.6 ± 1.1	10.7	14.8 ± 5.8	1.0	0.5
無機リン	mg/dL	4.6	4.4	4.1	4.8	4.7 ± 0.6	7.7	9.7 ± 2.8	0.6	0.5
マグネシウム	mg/dL	2	2	2.2	2.1	2.1 ± 0.1	3.2	3.3 ± 0.1	0.7	0.7
浸透圧	mOsm/L	255.6	254.3	253.7	253.7	255.5 ± 2.7	253.2	255.9 ± 3.7	1.0	1.0
尿素窒素	mg/dL	1.7	1.3	1.9	1.3	1.5 ± 0.3	1.2	1.0 ± 0.3	1.1	1.5
尿酸	mg/dL	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3 ± 0.1	0.4	0.3 ± 0.2	1.0	1.0
クレアチニン	mg/dL	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1 ± 0.0	0.1	0.2 ± 0.1	1.0	1.0
総タンパク質	g/dL	2.2	2	2.5	2.4	2.2 ± 0.3	3.5	3.6 ± 0.1	0.7	0.5
アルブミン	g/dL	0.7	0.7	0.9	0.9	0.8 ± 0.1	1.2	1.3 ± 0.1	0.8	0.4
A/G		0.47	0.54	0.56	0.6	0.5 ± 0.0	0.52	0.6 ± 0.1	1.2	0.9
総コレステロール	U/L	131	135	137	150	133.4 ± 13.0	195	184.5 ± 14.8	0.8	0.7
HDLコレステロール	U/L	47.6	47	49.3	48.9	47.1 ± 2.6	55.2	56.5 ± 1.8	0.9	0.7
LDLコレステロール	U/L	54.5	61.5	49.2	60.8	55.8 ± 5.3	60.4	64.2 ± 5.4	1.0	0.8
中性脂肪	mg/dL	201	133	272	246	185.6 ± 80.8	253	214.0 ± 55.2	1.0	0.4
アミラーゼ	U/L	227	285	231	304	227.6 ± 83.4	159	212.5 ± 75.7	1.9	0.3
グルコース	mg/dL	37	49	35	39	36.4 ± 9.7	97	79.0 ± 25.5	0.4	0.4
総ビリルビン	mg/dL	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1 ± 0.1	0.1	0.1 ± 0.0	2.0	-**
γ-GTP	U/L	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-**	-**
GOT	U/L	154	234	152	185	155.2 ± 67.0	1134	947.0 ± 264.5	0.2	0.1
GPT	U/L	2	2	3	3	2.4 ± 0.5	40	35.5 ± 6.4	0.1	0.1
アルカリフォスファターゼ	U/L	126	96	89	101	109.6 ± 20.3	312	363.0 ± 72.1	0.3	0.3
LDH	U/L	22	13	36	34	23.8 ± 10.8	1740	1839.0 ± 140.0	0.0	0.0
CK	U/L	4602	27252	35397	18063	17218.0 ± 14674.6	90018	79137.0 ± 15388.1	0.2	0.0
LAP	IU/L	58	69	53	62	59.6 ± 6.2	94	93.0 ± 1.4	0.7	0.6
CRP	mg/dL	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1 ± 0.0	0.1	0.1 ± 0.0	1.0	-**

ND, 検出限界以下

\*) No. 4, 5, 6 は混合して測定

\*\*) b 又は d が ND

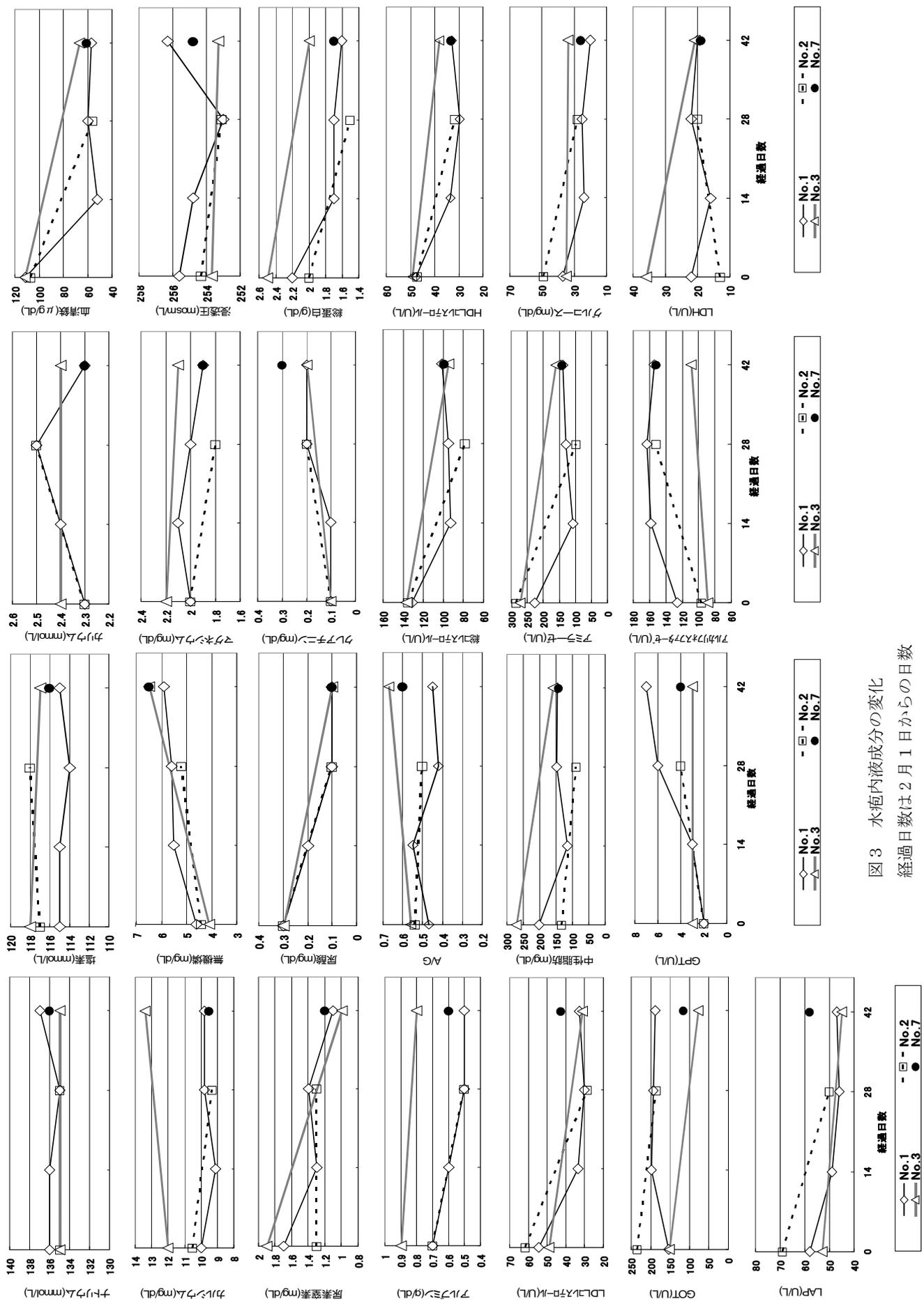


図3 水疱内液成分の変化  
経過日数は2月1日からの日数  
No.1は14日毎, No.2は初日と28日目, No.3は初日と42日目, No.7は42日目のみ測定

表5 水疱内液と牛胎児血清との成分比較

成分	単位	水疱内液(a)	牛胎児血清(b)	(a)/(b)
ナトリウム	mmol/L	136.0	139.0	0.98
カリウム	mmol/L	2.3	10.0	0.23
血清鉄	$\mu$ g/dL	107.2	162.0	0.66
カルシウム	mg/dL	10.6	15.7	0.68
無機燐	mg/dL	4.7	9.6	0.49
浸透圧	mOsm/L	255.5	313.0	0.82
クレアチニン	mg/dL	0.1	3.2	0.03
総タンパク質	g/dL	2.2	3.8	0.58
アルブミン	g/dL	0.8	2.1	0.39
総コレステロール	U/L	133.4	34.0	3.92
中性脂肪	mg/dL	185.6	63.0	2.95
グルコース	mg/dL	36.4	95.0	0.38
総ビリルビン	mg/dL	0.1	0.1	1.00
GOT	U/L	155.2	49.0	3.17
GPT	U/L	2.4	9.0	0.27
LDH	U/L	23.8	1279.0	0.02

No. 2及び42日後に採取したNo. 3でも当初の採取量を上回っており、水疱内液は採取後2週間で採取前の量まで回復していた。

図3に4尾の回復実験における成分変化を示す。ナトリウム、塩素、カリウム、無機燐、マグネシウムの電解質については14日間で当初の値に回復していた。血清鉄は14日後に大きく減少し、その後も回復しなかった。また、42日目まで当初の50%以下であった成分は、尿酸のみであった。

今回の調査で一番長い42日（6週間）後の増減を見ると、電解質が6成分平均103%、含窒素成分が3成分平均95%、血清タンパク質が3成分平均で96%、脂質が5成分平均で66%、酵素が6成分平均で70%と42日間でほとんどの成分が70%以上に回復をしていた。

#### 水疱内液内のホルモン濃度の変化

血漿については、採血可能量が少なく、定期的な採血が困難なため、今回は行わず、水疱内液中のホルモン濃度のみを分析した。何れの調査日及び試験魚でもエストラジオールは検出限界（10pg/mL）以下であった。テストステロンについての調査日毎の推移を図4に示す。3.5℃及び15℃では平均0.6ng/mLであったが、20℃に加温して4日後には平均6.5ng/mLと10倍以上に急激に増加していた。

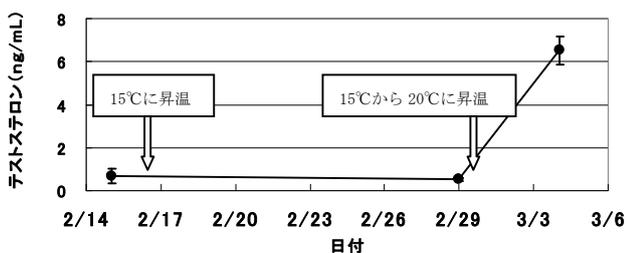


図4 昇温による水疱内液中のテストステロン濃度の変化  
2月15日から15℃で2週間飼育後3月1日に20℃に昇温した  
●は3尾の平均値、縦線は標準偏差

#### 考察

水疱内液の成分については、これまで報告されていないが、酵素である成分を除き血漿成分と組成は比較的良く似ていた。今回成分分析を行ったのは、水疱内液5検体、血漿2検体と検体数は少ないが、血漿中の電解質濃度について、過去に調べられたキンギョの電解質濃度<sup>8)</sup>と比較すると、ナトリウムが110%、カリウムが108%、カルシウム330%、マグネシウム96%、塩素108%、浸透圧96%とカルシウムを除き大きく変わらなかった。同一個体で血漿と水疱内液を比較した結果でも、水疱内液が血漿中の濃度を上回る成分は少なく、血漿中の成分が移行したのではないかと思われる。しかし、酵素についてはほとんどの成分で水疱内液中成分が血漿中の濃度を大きく下回っており、どのようなメカニズムで血漿中から水疱内液へ移行するかは不明であるが、何らかの選択が働いていると考えられる。コイ (*Cyprinus carpio*) での調査結果では、血漿アルブミンは寒冷期に少なく、代謝が活発となる暖期に増加すると言われている。<sup>9)</sup> 今回の試験では2月のみの結果となっており、年間通じてどのように変動するかは、今後調査する必要がある。

現在、動物細胞の培養技術はバイオ医薬品の生産や再生医療等多方面で産業応用されている重要な技術だが、その培養液の添加剤として牛胎児血清の添加が不可欠である。しかし、牛胎児血清はプリオンなどの病原体に汚染されている可能性もあり、この代替品として、無血清培地とともに、ほ乳類との間に共通するろ過性病原体が報告されていない魚類の血清を利用した動物細胞培養用安全培地の検討が行われている。<sup>10)</sup> 水疱内液は、魚類の培養細胞の増殖を促進する結果が出ており、また組成も血漿とよく似ている。今回水疱内液の成分を分析したことで、牛胎児血清と成分の違いを明らかに出来、何が足りないか、どのような成分が細胞培養に効いているかを検討することで、牛胎児血清の機能を代替できる培養添加剤の原料となりうる可能性があり、今後の検討課題である。

水疱内液を反復回収する場合の水疱内液の再蓄積について、蓄積量としては2週間で回復することが解った。また、成分はどれくらいで回復するか検討したところ、今回の調査で一番長い42日（6週間）後の増減では、電解質、含窒素成分、血清タンパク質はほぼ当初の値に回復していたが、脂質、酵素では平均70%の回復であった。しかし、減少している脂質、酵素についても、実験開始時に採取せず、対照としていたNo. 7の値が、初回のNo. 1, 2, 3より低い値を示しており、むしろ42日後のNo. 1とNo. 3の平均値に近いことから、季節変動等の飼育環境の変化に

より脂質、酵素濃度が低くなったために、No. 1~3が見かけ上、回復していなかったように見える可能性もある。今後、成分の季節変動など飼育環境との関係を明らかにすることにより、これが成分の回復が不十分であったためか、飼育環境によるものかを明らかに出来ると考えられる。

自然水温、自然日長で飼育したキンギョの血漿中のテストステロンの季節変動及び年変動については、これまでに調べられており、<sup>11-13)</sup>テストステロンは水温の上昇する4月に急速な増加を示している。今回、血漿の分析は行わなかったが、3尾のスイホウガンの水疱内液中のテストステロンも、水温の上昇によって急激な増加が見られ、テストステロン濃度も3尾平均で6.5ng/mLと、これまで調べられている自然条件下での血漿中のテストステロン濃度とほぼ同程度であり、水疱内液中にも血漿中とほぼ同様に増加していた。今回エストラジオールは検出限界値以下であったが、通常この時期の雌キンギョの血漿中にはある程度のエストラジオールが存在するとされており、<sup>11-13)</sup>今回の雌のスイホウガンの水疱内液では検出されなかったのは、水疱内液中にホルモンが存在しなかったか、この分析手法では検出出来なかったのかは不明である。水疱内液を細胞培養添加剤として利用する場合には、ロット間の均一性が重要な要素であるが、このように、水温上昇によりホルモン濃度が変動すると言うことは、粗放的飼育条件下で飼育したキンギョから得られる水疱内液は、成分が不均一である可能性がある。しかし、テストステロンに関しては、温度変化を与えず、水温を一定にして飼育管理をすることで、ある程度増減は防ぐことが出来ると考えられる。

今回試験に用いた3歳のスイホウガン10尾から、体重の20%、平均すると17mLの水疱内液が採取できた。これらの個体から、仮に1ヶ月に1回採取すると、1年間で1尾あたり204mLの水疱内液が採取できる。愛知水試の飼育実績では、2m<sup>2</sup> (1×2m) 水深0.5mの屋内のコンクリート水槽1面で、体重約50から100gのスイホウガンを30尾程度健全に飼育できている。仮に今回の3歳のスイホウガンを飼育すると、水槽10面では300尾、年間では61Lの水疱内液が採取できる。水疱内液利用の利点は、キンギョを生かしたまま反復利用出来ることであり、今回の試験でも14日毎に4回連続採取したNo. 1を始め、他の試験魚全てへい死もなく正常に飼育できている。今回分析した成分の濃度は、水疱内液が血漿を下回る項目が多かったが、1回の採取量が血液に比べ4から14倍と多いことから、濃度の低さを補って余りある量の成分を回収することが出来る。また、スイホウガンは、麻酔をすることなく水疱内液を採取出来るなど採取が容易であること、長期間反復利用

できることなど成分回収を行う際の効率性は血漿を上回ると思われる。

本県の海部地区の金魚養殖は、通常養殖に使う1面200m<sup>2</sup>程度の土池（底は土）又は、ランチュウ等の高級金魚を扱うビニールハウスの中にある、1面2~4m<sup>2</sup>のコンクリート水槽で行われている。水疱内液を産業的に採取するには、3歳までは土池で成長させ、その後の水疱内液の採取は、温度管理の出来るコンクリート水槽で行う手法が最も合理的と考えられ、養殖業者の現有施設でも相当量の水疱内液の採取が見込める。金魚の寿命は10年以上と言われているが、年齢による成分の変動や、何歳まで採取できるかは今後の検討課題である。

現在までに、スイホウガンの水疱内液が、魚類細胞の培養液の添加剤として有効な事は分かっているが、<sup>5-7)</sup>キンギョの血漿中には年間を通じてIgMが存在していること、<sup>13)</sup>また、キンギョヘルペスウイルスに感染させたスイホウガンの水疱内液にキンギョヘルペスウイルスに対する中和作用が認められたことや、<sup>14)</sup>間接蛍光抗体法によるIgM様の分子の存在が示唆されており、<sup>15)</sup>スイホウガンをういたキンギョヘルペスウイルス症などの治療のための免疫物質産生をはじめ、IgMの産生と利用の可能性が示唆されている。今後、免疫物質の産生や動物細胞の培養が可能となると、より利用の範囲が広がると思われる。また、育種面においては、水疱内液の蓄積量の多い系統を作出することが、より有効にスイホウガンを利用することにつながると考えられる。

近年の金魚養殖は、養殖業者の高齢化による生産量の低下や、趣味の多様化による需要の低迷により経営は非常に厳しい状況である。スイホウガンをういて観賞用途以外の需要が創出できれば、金魚生産量全国第2位の愛知県キンギョ養殖経営の安定化に寄与すると思われ、実用化が望まれる。

## 要約

スイホウガンの水疱内液の、細胞培養液としての適性を把握するため、その成分を明らかにした。水疱内液の組成は血漿成分とよく似ていたが、GOT、GPT、LDH等の酵素については血漿成分よりかなり少なかった。水疱内液を採取した後の回復にかかる期間については、14日後で採取前と同じ量になり、成分は42日間で70%程度の回復が見られた。

スイホウガンに温度変化を与えることで水疱内液中に急激なテストステロン濃度の上昇が見られた。

## 文献

- 1) 松井佳一 (1968) 金魚と錦鯉. 金園社, 東京, pp. 105-

- 114.
- 2) 小島吉雄 (1983) 魚類細胞遺伝学. 緑書房, 東京, pp. 14-20.
  - 3) 木島隆・二見邦彦・方波見弥穂・山根允文・王志雄・黄金田・尾崎照遵・坂本崇・岡本信明 (2008) ミトコンドリア DNA D-loop 領域からみたキンギョの起源. 水産育種, 38, 97-103.
  - 4) 桜井良平 (1975) 金魚入門. 西東社, 東京, pp. 256-267.
  - 5) Sawatari E, Adachi T, Hashimoto H, Matsumura T, Iwata Y, Yamamoto N, Wakamatsu Y (2008) Utilization of fluid from eye sacs of bubble-eye goldfish (*Carassius auratus*). 第41回日本発生物学会講演要旨集, p141.
  - 6) Sawatari E, Hashimoto H, Matsumura T, Iwata Y, Yamamoto N, Yokoyama Y, Wakamatsu Y (2009) Cell growth promoting activity of fluid from eye sacs of the bubble-eye goldfish (*Carassius auratus*). Zoological Science, 26, 254-258.
  - 7) 愛知県 (2010) 「きんぎょの新たな利用法の開発について」水産業の動き, 名古屋, 37p.
  - 8) Morisawa M, Suzuki K, Shimizu H, Morisawa S, Yasuda K (1983) Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. J. exp. Biol., 107, 95-103.
  - 9) 中川平介・鹿山光・生田薫 (1977) コイ血漿アルブミンの季節的変動. 広島大学水畜産学部紀要, 16, 99-106.
  - 10) Fujiwara M, Aizu Y, Shiroya I, Takagi M (2010) Fetal calf serum-free suspension culture of Chinese hamster ovary cells employing fish serum. J. Biosci. Bioeng., 109, 307-309.
  - 11) Kagawa H, Young G, and Nagahama Y (1983) Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish *carassius auratus*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 49, 1783-1787.
  - 12) Kobayashi M, Aida K, Hanyu I (1986) Annual changes in plasma levels of gonadotropin and steroid hormones in goldfish, Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52, 1153-1158.
  - 13) Suzuki Y, Orito M, Iigo M, Kezuka H, Kobayashi M, Aida K (1996) Seasonal changes in blood IgM levels in goldfish, with special reference to water temperature and gonadal maturation. Fisheries Sci., 62, 754-759.
  - 14) 松村貴晴・能嶋光子・田中健二 (2010) 観賞魚新用途技術開発試験. 平成21年度愛知県水産試験場業務報告, 44-46.
  - 15) 松村貴晴・能嶋光子・田中健二 (2011) IgM 関与の可能性の検討と2+魚のGFHNV中和活性. 平成22年度愛知県水産試験場業務報告, 47-48.