

魚類血液の生化学的研究—XII.

Hemochromogen 及び Chlorohemin 結晶形の 種属的差異について

齋 藤 要

Biochemical Studies on the Fish-Blood—XII.

On the Difference in the Crystalline Type of Hemochromogen and Chlorohemin by Species

Kaname SAITŌ

緒 言

著者は先に魚類を主体とした脊椎動物が、その分類学上の位置によつて血液の理化学的性質にかなりの相違が認められる場合のある事を報告した。^{1),2)}

最近松浦等³⁾は魚種により Hemoglobin の結晶形が異なる事を認め、これが種特異性を反映するものか否かについては後日検討すると予告している。一般に Hemoglobin の性質が動物の種類によつて異なるのは、それを構成する Globin の相違に基くもので接合分子である Heme には種による特性はないものと考えられている。然るに Heme の誘導体である Hemochromogen と Chlorochemin の結晶形には種特異性があるとの見解も発表^{8),9),11)}されているので、著者は魚類を主体とした各種動物の血液より一定条件で両結晶を調製し、その結晶形について比較生化学的見地より検討した結果、若干の知見を得たので報告する。

なお、かかる物質の結晶形は析出条件の如何で変化するとも報告⁴⁾されている事より顕微鏡下で観察した、その形状のみで各結晶間の本質的差異は論じ得ないものと思われる。従つて次に述べる結晶形の異同は所定の条件下に於ける見掛け上の性質と解すべきである。

実 験 材 料

本実験に使用した材料は人、家兎、ニワトリ及び魚類の血液である。魚類は Fig. 1 と 2 に示した魚種、即ち淡水魚 3 種、海産硬骨魚 16 種、海産軟骨魚 6 種で、海産魚は主として 1955 年 10 月から翌年 3 月にわたり鹿児島湾及びその南方海上で捕獲した生魚の心臓より採血した血液を用い、一部は鹿児島市中央市場に水揚げされた死魚（図中○印で示した魚種）を使用した。

1. Hemochromogen (Hemochrome) の結晶

窒素を含む塩基性物質と Heme との結合物を一般に Hemochromogen 又は Hemochrome と称している。本結晶は HOPPE-SEYLER と荒木⁵⁾等が Hemoglobin に NaOH を加え 100°C に加熱して得たのであるが、その生成条件については KALMUS⁶⁾、FONTES⁷⁾、高山⁹⁾等により詳細に研究されている。

元来 Hemochromogen の結晶はその生成の有無によつて Hemoglobin 及びその誘導体の存否を簡単に証明し得る事、並びに後述する Hemin の結晶を生成し得ない程度に時日を経過した古い血液からも容易に結晶が得られる事等より、主として法医学の分野で血痕証明の手段

として重要視されている。

ところで動物の血液より得られる本結晶の形態に種属的な差異の認められる事を DILLING⁸⁾ 及び岸上⁹⁾ 等が報告しているが、著者は更に数種の陸上動物と各種硬骨及び軟骨魚類の血液より同一条件で結晶を調製し、その結晶形が供試動物の分類学上の位置によつて異なるか否かについて検討した。

実験方法

試薬： 本結晶の調製には DILLING⁸⁾, STOCKES⁵⁾, 高山及び星野¹⁰⁾ 等の考案した各試薬が用いられているが、何れも血球溶解剤と還元剤を含有するものである。各試薬について比較検討した結果、結晶の生成能力とか標本の鮮明度等より高山氏の試薬、殊に同氏の第二試薬 (30% 葡萄糖溶液 100 cc, 10% NaOH 溶液 3 cc, Pyridine 3 cc の混合液) が最も適当と思われたので、本実験では専ら同試薬を用い次記の操作により結晶を調製した。

結晶析出操作： 供試血液の 1~2 滴を“オブジェクトグラス”上に取り、これを塗抹して乾燥後、前記試薬の一滴を加え“デッキグラス”で蓋い、電熱器上で初め赤褐色の血液が漸次紅色を帯び小気泡を生ずる迄徐々に加熱 (初温度約 50°C, 終温度約 90°C) した後“デッキグラス”を軽く圧して過剰の試薬を除去し、その周縁を KRÖNIG の封剤で封鎖し約 20°C に放置した。かような結晶析出条件で供試動物 1 個体につき 2~5 枚の標本を作成し、1 時間及び 24 時間後に顕微鏡にて結晶形を観察した。

実験結果及び考察

供試動物の血液から得られた Hemochromogen の結晶は多く赤色で他に緑色のものも混在する。その代表的な顕微鏡写真 (15×10 倍) は Fig. 1 に示した如くである。

各標本に認められた形態を個々に記載する事は繁雑であるから次に一括して述べる。従来本結晶は一般に顕微鏡下で観察される形を形容して針状、菊花状、房状、燕尾状の如く表現されているが、全標本につき個々の結晶形を綿密に検鏡した結果、基本形とその変形及び集合形の 3 つに分類し得る事を知つた。

各試料共に基本形と考えられるものは針状と板状で之等は供試動物の種類或は生体及び死体の別なく何れの血液でも共通であつた。変形又は集合形としては十字状、房状、菊花状、草根状を呈するものが多くの標本で認められた。岸上⁹⁾ は草根状の結晶には種属的特性があると述べているが、本実験の結果では図示せる如く魚類の各種属は勿論、陸上動物の血液にもかなり普遍的にみられた。

稀有形としての円形は人間及びイタチザメの血液に各 1 例、又集合形の稀有形としては雪花状が人間及びウサギに 1 例、彗星状がブリに 2 例、マカジキに 1 例観察された。しかしこれらの稀有形は動物の同種間には勿論、同一個体の血液より作成した標本中でもその発現は甚だ稀であつた。従つてかように頻度の極めて低い稀有形により種属の差異を論ずる事は疑問である。即ち供試魚の各種間には勿論人間と魚の如く分類学上の位置の可成り異なる動物間でも、顕微鏡下で観察される本結晶形には見掛け上の差異は殆んど認められず、その結晶形により種族を鑑別する事は不可能と思われる。

2. Chlorohemin (Hemin) の結晶

Hematin の塩化物を Chlorohemin 或は単に Hemin と称している。これは Hemoglobin を NaCl の存在下で氷酢酸にて処理すれば比較的容易に褐色菱面体の結晶として得られる。本

結晶は TEICHMANN (1853 年) により発表されたので TEICHMANN の結晶¹⁰⁾とも称し、動物の種類により特定の形状を有し、その結晶形より種族の鑑別を行い得るとも述べられている¹¹⁾。本結晶については従来陸上動物、主として哺乳類の血液を材料として研究されており、著者の調べ得たかぎりでは魚類を主体とした報告はないようである。そこで著者は数種の陸上動物と各種硬骨及び軟骨魚類の血液より同一条件下で結晶を調製し、その結晶形が供試動物の種属並びに系統的な位置によつて異なるか否かについて検討した。

実験方法

試薬： 本結晶の調製法は WILLSTÄTTER¹²⁾ 及び HOPPE-SEYLER¹³⁾ 等により報告されているが、何れも比較的多量の血液又は Hemoglobin を用い、NaCl と氷酢酸の存在下に加熱して作成する方法である。魚類では小型の種類も多く、各種について多量の血液を得る事は困難であるので、本実験では微量の血液でも実施可能な STRASMAN 法¹⁰⁾ (試薬：5% NaCl 溶液 10cc, 氷酢酸 50 cc の混合液) により調製した。

結晶析出操作： 供試血液の 1~2 滴を“オブジェクトグラス”上に取り、これを塗抹して乾燥後前記試薬の一滴を加え“デッキグラス”で蓋い、電熱器上で赤褐色の血液が漸次暗褐色を帯び小気泡を生ずるまで徐々に加熱(初温度約 50°, 終温度約 90°C)し、以下前述の Hemochromogen の標本作成と同様に処理し、顕微鏡にて結晶形を観察した。

実験結果及び考察

本結晶は何れも褐色で前述の Hemochromogen の結晶より、その形成は幾分困難で標本の鮮明度も劣る。特に鮮度の低下した魚体から得た血液よりは、同一操作でも結晶が得られない場合のある事をしばしば経験した。

各供試動物の血液より得られた Chlorohemin の代表的な顕微鏡写真(15×40 倍)は Fig. 2 に示した如くである。

各標本に認められた形態を個々に記載する事は繁雑であるから次に一括して述べる。本結晶は前述の Hemochromogen の結晶形よりかなり単純化されており、複雑な変形及び集合形は殆んど認められなかつた。

一般に基本型と考えられるものは菱形の板状と桿状(柱状)であるが、魚類では更に釣垂形のものかなりの頻度で認められた。これらの集合形の稀有形としては星形がウツボ、シロザメに各 1 例、十字形がニワトリ、フナ、タチウオ、マガイ、マグロ、ツノザメに各 1~2 例、ウナギ、フナ、コイに各 2 例以上観察された。市場に水揚げされた死魚の血液より作成した標本では特に結晶幅の大きい釣垂形のもが基本形より多くみられた。しかも軟骨魚及び硬骨魚を含めた各供試魚種間の結晶形には特異的な差異は殆んど認められなかつたが、人間その他の供試陸上動物と魚類間では図の結果よりも諒解される如く、一般に魚類の方が釣垂形の結晶の出現がはるかに多い傾向が認められた。従つて本実験条件下に於ては Chlorohemin の結晶形より両者を鑑別する事が或る程度までは可能と思われる。

要 約

人間、家兎、ニワトリ及び各種魚類の血液より一定条件下で Hemochromogen と Chlorohemin の結晶を調製し、顕微鏡下で観察される形が動物の分類学上の位置によつて異なるか否かにつ

いて検討した結果、赤血球の形態及び特数並びに血清蛋白質組成等に見られた如き明確な動物の種属並びに系統的な位置による特異性は認められなかつた。

1) 顕微鏡下で観察される Hemochromogen の結晶形には供試魚種間は勿論、人間と魚類の如く分類学上の位置がかなり異なる動物間でも見掛け上の相違は認められず、その結晶形により動物の種属を鑑別する事は不可能であつた。

2) Chlorohemin の結晶形にも供試魚種間の明確な相違は認められなかつたが、供試哺乳動物と魚類のものを比較すると一般に魚類の方が鈎垂形を成す結晶の出現率かはるかに高く、その傾向より両者を鑑別する事が或る程度までは可能と思われる。

終りに本研究を行うに当り御教示を賜つた本学部高田幸二教授に謝意を表する。

R é s u m é

After preparing, under a fixed condition, some crystals of Hemochromogen and Chlorohemin from human, domesticated rabbits, hens and fishes blood, the author examined whether the types of those crystals showed any difference in accordance with the varying status in the Zoological classification of those organisms.

And the following results were obtained.

1) As to the types of crystals of Hemochromogen observed under microscope, no intrinsic difference was to be observed, even in cases of those animals with a considerable remote relationship in the Zoological classification; e. g. between fishes and humanbeings, to say nothing of the cases within the various kinds of fishes. Then, it is not possible to infer the kind of the animals by only relying upon the types of the crystals.

2) As to the crystal types of Chlorohemin; in cases of fishes no definite difference was to be discerned between any two kinds, but in cases of the comparative research on the difference between human and fishes, generally, the crystals prepared from the fishes were observed to show the far more advanced emerging frequency of the spindle-shaped types than those prepared from the human blood.

Accordingly, this feature in the types of crystals may be regarded as an index for the discrimination of these two different kinds of organisms.

文 献

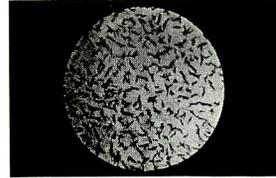
- 1) 齊藤 要：日水誌., 19, 1134, 1139 (1954), 20, 196, 881 (1955).
- 2) 齊藤 要：日水会, 1955年4月年次大会にて発表(於東京).
- 3) 松浦文雄, 橋本周久：日水誌., 21, 1158 (1956).

- 4) R. A. LAWRIE: *Nature*, **167**, 802 (1951).
- 5) 古畑種基: “法医学” 南山堂, 東京, (1953), pp. 122.
- 6) E. KALMUS: *Z. Physiol. Chem.*, **70**, 217 (1910).
- 7) G. FONTES: *Arch. mal. Reins etc.*, **1**, 211 (1922).
- 8) DILLING: “Atlas der Kristallformen u. d. Absorptionsränder der Hämochromogen” (1910), (文献9より引用).
- 9) 岸上繁次郎: 社会医学雑誌, No. 472, 259 (1925).
- 10) 中田篤郎: “中田新法医学” 南山堂, 東京, (1949), pp. 63.
- 11) 岩波: “理化学辞典” 岩波書店, 東京, (1953), pp. 1236.
- 12) R. WILLSTÄTTER: *Ann. Chem.*, **373**, 232 (1910), **385**, 197 (1911).
- 13) F. HOPPE-SEYLER, THIERFELDER: “Physiologisch- und Pathologischchemische Analyse,” (Julius Springer, 1924), pp. 403.

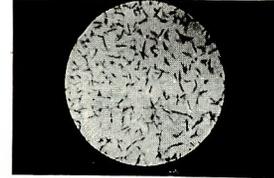
Fig. 1. Hemochromogen crystals prepared from the blood of various animals. (15×10) ... 1.



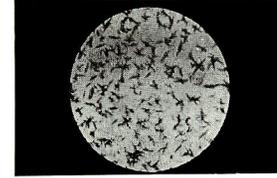
人 間
Human



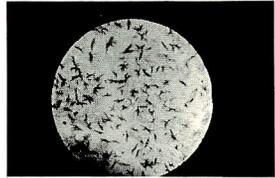
家 兎
Oryctolagus cuniculus
var. *domesticus*



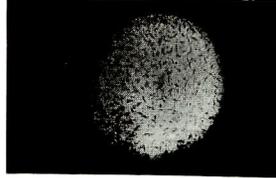
ニワトリ
Gallus gallus domesticus



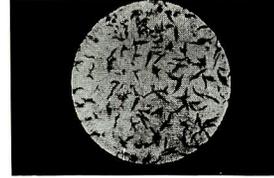
コ イ
Cyprinus carpio



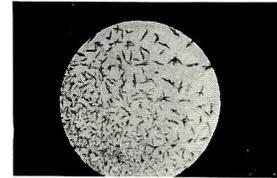
フ ナ
Carassius auratus



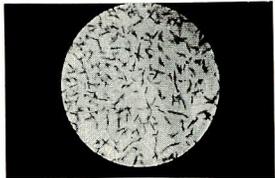
ウ ナ ギ
Anguilla japonica



サバフグ
Lagocephalus lunaris



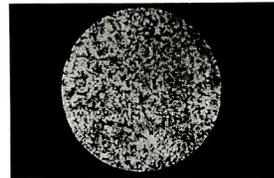
ボ ラ
Mugil cephalus



マアナゴ
Astroconger myriaster



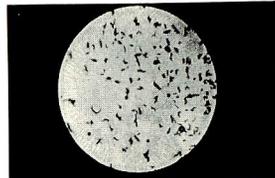
キ ス
Sillago sihama



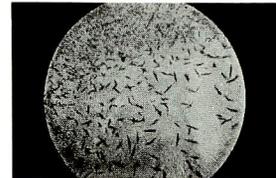
マダイ
Chrysophrys major



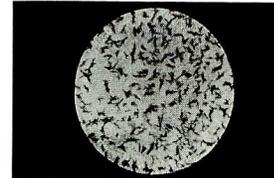
ヒメダイ
Pristipomoides filamentosus



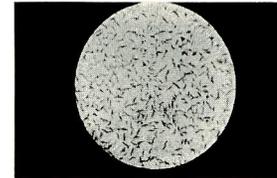
ア ラ
Niphon spinosus



マイワシ
Sardinops melanosticta

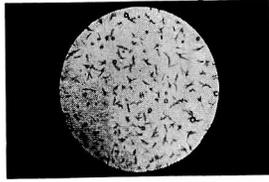


サワラ
Scomberomorus niphonius

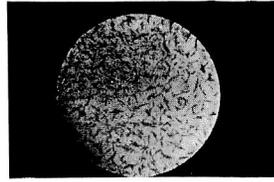


シイラ
Coryphaena hippurus

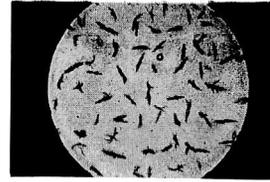
Fig. 1... 2.



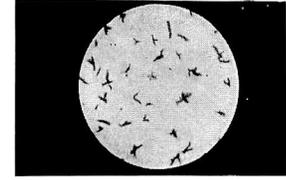
タチウオ
Trichiurus lepturus



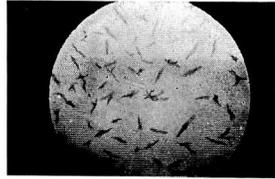
マカジキ
Makaira mitsukurii



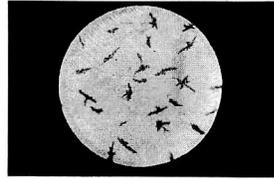
マグロ
Thunnus thynnus



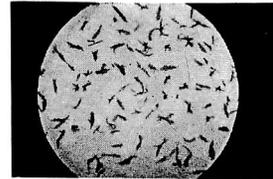
○ マグロ
Thunnus thynnus



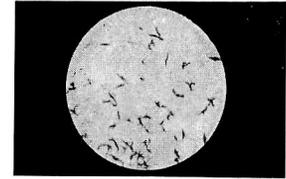
キハダマグロ
Neohunnus albacora



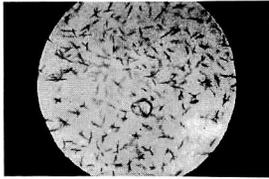
○ キハダマグロ
Neohunnus albacora



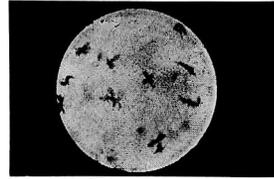
ゴマサバ
Scomber tapeinocephalus



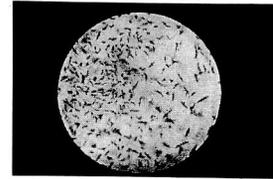
○ ゴマサバ
Scomber tapeinocephalus



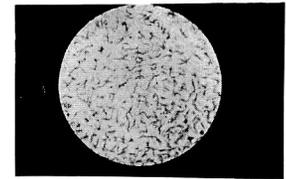
カツオ
Katsuwonus pelamis



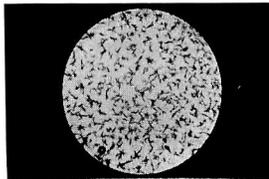
○ カツオ
Katsuwonus pelamis



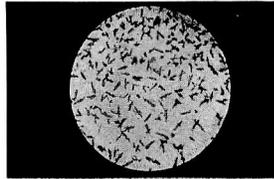
アカエイ
Dasyatis akajei



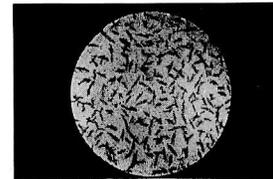
イタチザメ
Galeocerdo arcticus



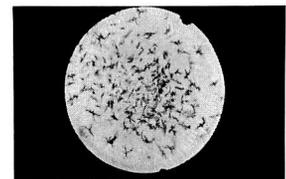
ツノザメ
Squalus mitsukurii



シロザメ
Mustelus griseus



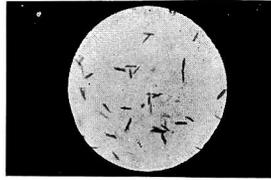
シュモクザメ
Sphyrna zygaena



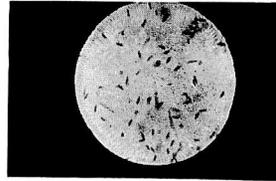
ツマジロ
Carcharhinus albimarginatus

○ : Crystals prepared from the blood of fish hoisted afresh on the market from the sea.

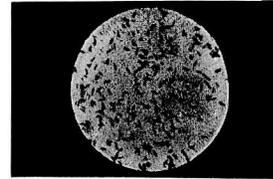
Fig. 2. Chlorochemin crystals prepared from the blood of various animals. (15×40) ... 1.



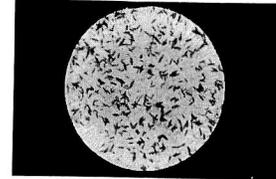
人間
Human



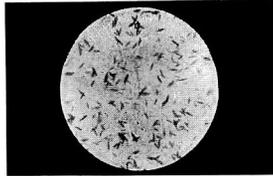
家兎
Oryctolagus cuniculus
var. *domesticus*



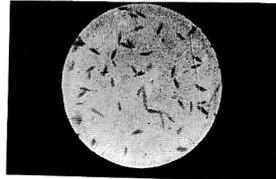
ニワトリ
Gallus gallus domesticus



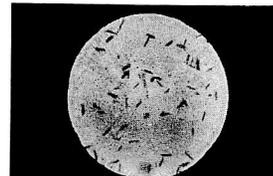
コイ
Cyprinus carpio



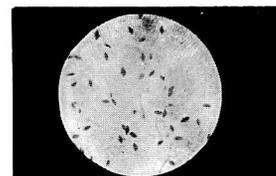
フナ
Carassius auratus



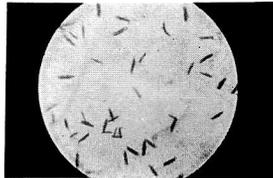
ウナギ
Arguilla japonica



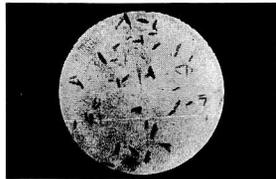
サバフグ
Lagocephalus lunaris



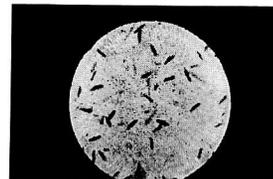
ボラ
Mugil cephalus



ヒメダイ
Pristipomoides filamentosus



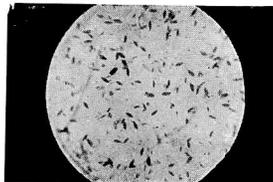
マダイ
Chrysofry major



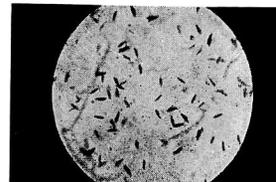
アヲ
Nippon spinosus



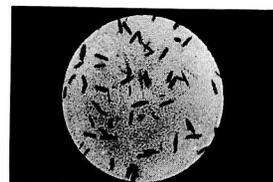
マイワシ
Sardinops melanosticta



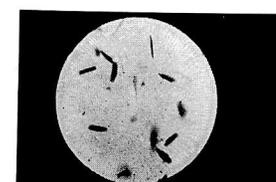
ブリ
Seriola quinqueradiata



マアジ
Trachurus japonicus

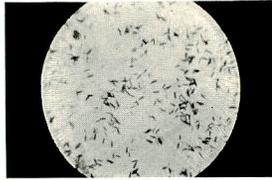


タチウオ
Trichiurus lepturus

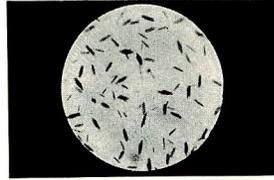


シイラ
Coryphaena hippurus

Fig. 2... 2.



マカジキ
Makaira mitsukurii



クロカジキ
Makaira mazara



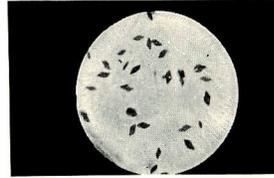
マグロ
Thunnus thynnus



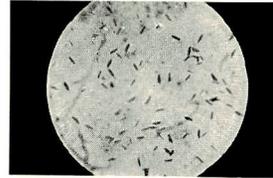
○マグロ
Thunnus thynnus



キハダマグロ
Neothunnus albacora



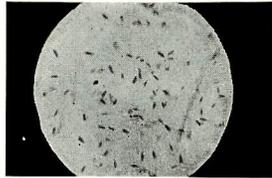
○キハダマグロ
Neothunnus albacora



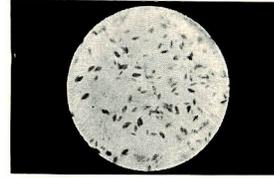
ゴマサバ
Scomber tapeinocephalus



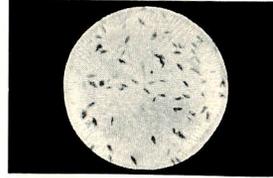
○ゴマサバ
Scomber tapeinocephalus



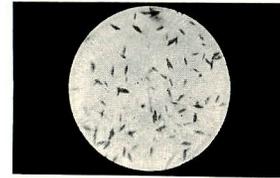
カツオ
Katsuwonus pelamis



○カツオ
Katsuwonus pelamis



アカエイ
Dasyatis akajei



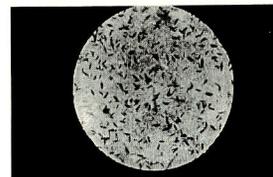
イタチザメ
Galeocerdo arcticus



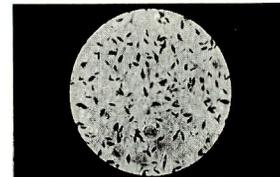
ツノザメ
Squalus mitsukurii



シロザメ
Mustelus griseus



シュモクザメ
Sphyrna zygaena



ツマジロ
Carcharhinus albimarginatus

○ : Crystals prepared from the blood of fish hoisted afresh on the market from the sea.