

サイアミナーゼに関する研究

—ビタミン B₁ 無添加飼料投与による魚のビタミン B₁ 欠乏症と組織のビタミン B₁ 量について—

佐 藤 雅 子

(1982 年 10 月 18 日 受理)

Studies on Thiaminase.

—Thiamine Deficiency Symptoms and Thiamine Concentration in the Tissues of Some Fishes Fed on Thiamine-free Halver's Diet. —

Masako SATO

Abstract

Carp and crucian carp, which are known to possess thiaminase, and tilapia, blue-gill and rainbow trout, which do not possess it, were fed on thiamine-free Halver's diet for 28 weeks. The relation between the thiamine deficiency symptoms and the thiamine concentration in the eye, muscle and hepatopancreas or liver of these fishes was examined.

(1) In carp, very good growth was observed and its body weight at 28th week was about 6 times that at the start, while it was slightly increased in crucian carp, tilapia, blue-gill and rainbow trout.

(2) Thiamine deficiency symptoms were not recognized in carp and crucian carp. But deficiency symptoms such as loss of equilibrium, fading of liver color and mortality were demonstrated in tilapia, blue-gill and rainbow trout.

(3) Carp and crucian carp showed the far lower levels of thiamine in the tissues than those of tilapia, blue-gill and rainbow trout, which apparently demonstrated the deficiency symptoms.

(4) Carp and crucian carp could tolerate the thiamine-free diet for a considerable long time.

青江¹⁾²⁾³⁾らは B₁ 無添加の Halver のビタミン試験飼料でコイを飼育したが, 16 週間 B₁ 欠乏がみられなかったこと, また, アサリを磨砕した後自己消化させ, アサリ中の B₁ をサイアミナーゼで分解し, ゼラチンで固めた B₁ 欠乏飼料を作り, コイとニジマスを飼育した結果, ニジマスは 4 週目から食欲不振, 体色黒変, 平衡感覚の喪失などの欠乏症を示したが, コイでは 8 週間欠乏症がみられなかったと報告している。またコイに, 抗サイアミンである amprolium, oxythiamine, pyriithiamine などを投与すると, 抗サイアミンの種類により欠乏症は異なるが, 成長停滞, 皮膚の褪色, ヒレのうっ血, 突発的な行動の異常, きりきり舞い, 平衡感覚の喪失など, 他の動物で出現すると同じような B₁ 欠乏症が出現したと報告している。

他方, サイアミナーゼは *in vivo* で微量ながら B₁ を合成すること⁴⁾が報告されているが, コイ

が B_1 欠乏を示さないのは、サイアミナーゼが *in vivo* で B_1 を合成するためであるか興味もたれている。

サイアミナーゼの生理機能について⁵⁾は、まだ不明な点が多く残されているが、本実験では、サイアミナーゼを含むコイ、フナ、サイアミナーゼを含まないブルーギル、テラピニア、ニジマスに B_1 無添加の Halver 食を長期間投与し、 B_1 欠乏の出現と体内の B_1 量の変化の関係を比較検討した。

実験方法

(1) 飼料の調整

Table 1 に示したが、Halver⁶⁾らのビタミン試験飼料を一部変更したものである。タラ肝油のかわりに β カロチン、カルシフェロールを使用し、 B_1 無添加の飼料を調整した。

給餌量は魚の体重の 6% に相当する量を一日 2 回、午前 10 時と午後 4 時に投与した。給餌したものは完全に摂食するよう時間をかけて投与し、残渣がみられた時は、給餌量を調整した。

Table 1. The composition of the test diet.

Casein (Vitamin free)	38 g	Riboflavin	20 mg	Sodium chrolide	173 mg
Gelatin	12 g	Pyridoxin Hydrochloride	5 mg	Magnesium sulfate	545 mg
Dextrin	28 g	Cholin chloride	500 mg	Sodium biphosphate	347 mg
α -Cellulose	9 g	Nicotinic acid	75 mg	Potassium phosphate	954 mg
Corn oil	7 g	Calcium pantothenate	50 mg	Calcium biphosphate	540 mg
Water	130 g	Inositol	200 mg	Ferric citrate	118 mg
		Biotin	0.5 mg	Calcium lactate	1300 mg
		Folic acid	1.5 mg	Aluminium chrolide	0.6 mg
		Cyanocobalamin	0.01 mg	Zinc sulfate	11.9 mg
		Ascorbic acid	100 mg	Coprous chloride	0.4 mg
		β -Carotene	2.4 mg	Manganous sulfate	3.2 mg
		Calciferol	0.12 mg	Potassium iodine	0.6 mg
		Menadione	4 mg	Cobaltous chloride	4.0 mg
		α -Tocopherol	40 mg		

(2) 実験魚

サイアミナーゼを含むものとして、コイ、フナ、サイアミナーゼを含まないものとして、ブルーギル、テラピニア、ニジマスを使用した。いずれの魚も一年魚のものを求めたが、大きさを同じように揃えることは出来なかった。試験場から入取後、ネグホンで薬浴させた後、 B_1 無添加の Halver 食で、2~4 週間予備飼育した。

100 l 容量のプラスチック容器 (43×64×38 cm) に 30~40 匹の実験魚を入れ、循環口過式、水温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ で飼育した。餌を投与し、2~3 時間後に、水槽内の掃除および水かえを行なった。飼育 27~28 週目頃、ブルーギル、テラピニアで斃死がみられたので、飼育期間は 28 週とした。ニジマスは、体重測定時に死亡したので、飼育期間は 20 週とした。

(3) 組織の B_1 定量

実験魚の組織の中で、 B_1 含量の高い眼球、筋肉、肝臓又は肝臓の3組織の B_1 を測定した。組織の B_1 浸出は、硫酸浸出法⁷⁾で行ない、 B_1 の定量⁸⁾は、チオクローム法で行なった。

実験結果

(1) 成長曲線

飼育中の平均体重の変化を図に示したが、サイアミナーゼを含むコイの成長は著しく、28週間の飼育で、飼育ははじめのおよそ6倍の体重に成長したが、同様にサイアミナーゼを含むフナおよびサイアミナーゼを含まないブルーギル、テラピアの成長曲線は緩慢であり、28週目の体重は、はじめのおよそ2倍にすぎなかった。魚の成長について、魚の種類により成長能力が異なり、また食性も異なっており、今回使用した Halver らの試験飼料はサケ・マスのために作られ、コイにも広く利用されている。この飼料が本実験に使用した5種類の魚に同じような飼料効果があるのか不明であるが、サイアミナーゼを含むコイの体重増加は他の魚に比べ、きわめて大きかった。

Table 2. Body weight of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding periods weeks	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
	Body weight g				
0	11.8±0.5	27.0±2.3	37.5±3.0	16.9±0.6	54.1±2.5
5	22.4±0.8	27.7±2.9	40.7±3.3	19.1±0.8	71.3±3.9
8	31.6±1.3	30.4±3.4	48.4±5.5	21.8±1.3	—
12	38.7±1.5	35.6±4.7	53.1±7.6	29.9±2.4	—
20	57.8±2.6	39.5±5.7	57.0±9.5	31.6±3.5	124.1±8.4
28	69.2±2.8	44.3±9.6	64.2±17.9	37.1±4.9	—

平均体長についても同様の傾向がみられ、コイの体長は増加したが、フナ、ブルーギル、テラピアの体長の増加は認められなかった。ニジマスは、体長測定後死亡するものがみられたため、体長は測定しなかった (Table 3)。

(2) 飼料転換効率

飼料転換効率は、飼育期間中の体重増加量に対する投餌量を百分比で表わしたものである。Table 4, Fig. 2 のように、コイの飼料転換効率はきわめて高く、飼育はじめは50%であり、飼育20~28週では低下

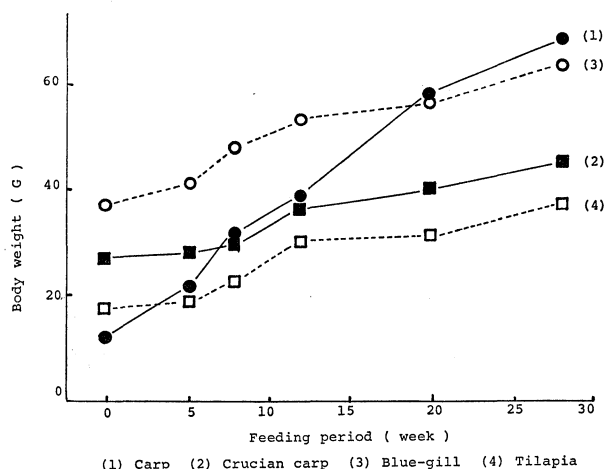


Fig. 1. Average body weight of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet.

Table 3. Body length of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding Periods	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
weeks	Body length cm				
0	9.5±0.6	12.6±0.3	13.2±0.3	10.2±0.1	—
5	11.9±0.8	12.6±0.4	13.3±0.4	10.6±0.1	—
8	13.1±0.9	12.8±0.5	13.8±0.4	10.9±0.2	—
12	14.1±0.9	13.4±0.5	14.2±0.5	11.7±0.3	—
20	15.8±0.2	13.7±0.7	14.8±0.7	12.1±0.4	—
28	17.1±0.3	14.0±1.0	15.4±0.9	12.7±0.7	—

Table 4. Feed conversion of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding Period	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian Carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
weeks	Feed conversion %				
0~5	44.2	0.2	6.3	8.9	25.7
5~8	28.5	5.3	14.5	11.1	—
8~12	12.4	9.5	5.7	16.7	—
12~20	30.0	3.8	4.0	-2.3	8.0
20~28	2.1	4.4	1.1	10.5	—

したが、他の魚に比較し高い値を示した。

フナ、ブルーギル、テラピニアは、全期間を通じ、飼料転換効率は低く、20%以下にとどまり、テラピニアでは、飼育12~20週には、摂餌したにもかかわらず、体重は減少し、飼料転換効率はマイナスとなった。

ニジマスは、飼育はじめの飼料転換効率は約30%であったが、その後は約10%となった。

(3) B₁ 欠乏症

コイは食欲は旺盛で動きも活発であり、泳ぎは正常で、平衡感覚の喪失、突発的な行動の異常、皮下出血などのB₁欠乏症は認められず、肝臓の色も正常であった。

フナは、動きが少なく不活発であったが、平衡感覚の異常は認められず、肝臓も正常であった。テラピニアは、12週目頃から、平衡感覚の喪失と思われる動きの異常が認められ、肝臓の褪色が観察された。26週目頃から斃死するものもみられた。

ブルーギルは、食欲がなく、6週目頃から動きに異常が認められ、この頃から肝臓の褪色が顕著

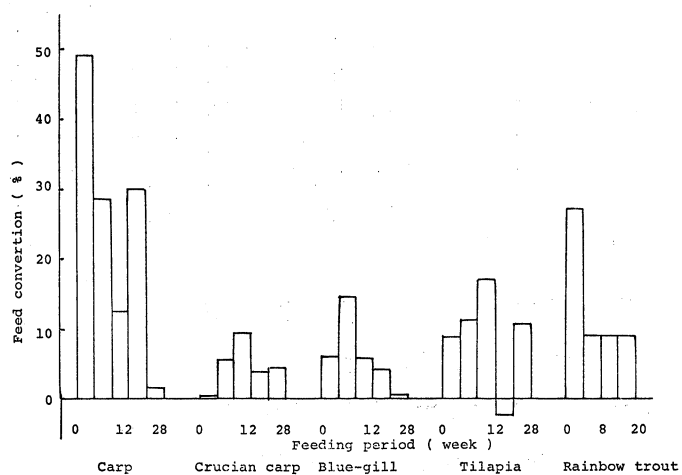


Fig. 2. Feed conversion of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet.

になった。27週目頃から斃死するものもみられた。

ニジマスは、動きの異常はみられなかったが、肝臓の褪色がブルーギルと同様に顕著であった。

(4) 組織の B_1 の変化

Table 5. Thiamine concentration in the eye of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding periods	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
weeks	thiamine mg/wet tissue 100 g				
0	2.49	4.07	2.83	4.71	2.58
5	1.24	2.13	2.61	2.57	1.52
8	1.11	1.19	2.15	1.63	1.35
12	0.75	0.86	1.83	1.34	1.22
20	0.23	0.61	0.88	1.12	0.81
28	0.10	0.29	0.65	0.37	—

実験魚は、試験場から入取後、 B_1 無添加の Halver 食で2~4週間予備飼育をしたが、魚の種類により、出発時の B_1 はかなり異なっていた。

眼球、筋肉、肝脾臓又は肝臓の B_1 の変化を Table 5, 6, 7, Fig. 3, 4, 5 に示した。眼球の B_1 は組織の中では最も高く、2~5mg% であったが、 B_1 無添加食の投与により、顕著な減少を示し、28週間の飼育で1mg% 以下に低下した。

サイアミナーゼを含むコイやフナの方が、サイアミナーゼを含まないブルーギル、テラピニア、ニジマスよりも、 B_1 量

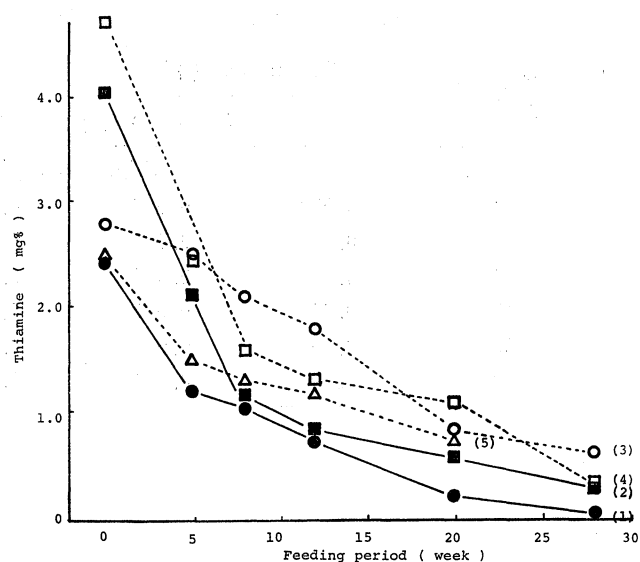


Fig. 3. Thiamine concentration in the eye of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet.

Table 6. Thiamine concentration in the muscle of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding periods	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
weeks	thiamine mg/wet tissue 100 g				
0	0.004	0.083	0.040	0.017	0.073
5	0.002	0.055	0.041	0.006	0.076
8	0.001	0.003	0.003	0.001	0.031
12	0.001	0.002	0.004	0.001	0.012
20	0.001	0.005	0.006	0.002	0.008
28	0.001	0.002	0.004	0.003	—

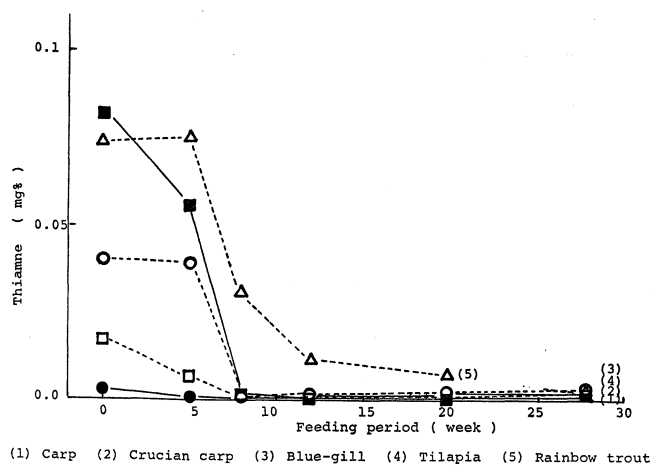


Fig. 4. Thiamine concentration in the muscle of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet.

Table 7. Thiamine concentration in the hepato-pancreas or liver of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet

Feeding periods weeks	Thiaminase (+)		Thiaminase (-)		
	Carp	Crucian carp	Blue-gill	Tilapia	Rainbow trout
	thiamine mg/wet tissue 100 g				
0	0.059	0.065	0.161	0.128	0.697
5	0.002	0.069	0.081	0.082	0.418
8	0.002	0.076	0.116	0.062	0.376
12	0.002	0.077	0.109	0.101	0.306
20	0.001	0.023	0.082	0.060	0.108
28	0.001	0.041	0.087	0.099	—

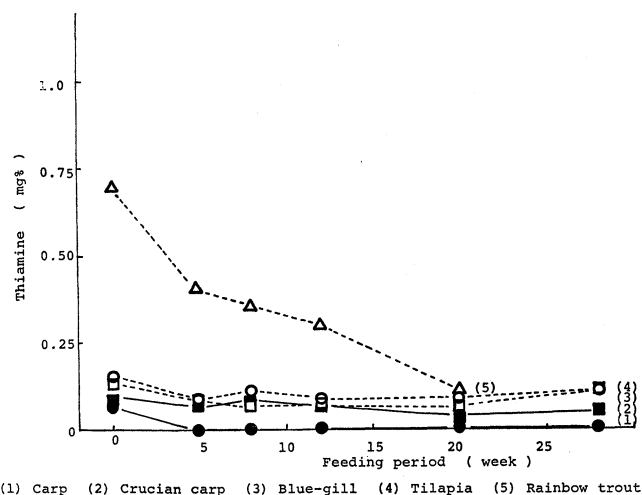


Fig. 5. Thiamine concentration in the hepato-pancreas or liver of the fishes fed on thiamine-free Halver's diet.

の減少の程度はやや大きかった。

筋肉の B_1 は、 B_1 無添加食で 2~4 週間予備飼育したため、飼育はじめの B_1 は、いずれの実験魚もかなり低い値 (0.1 mg% 以下) であり、特に、コイの B_1 量は低い値であった。

B_1 無添加食の投与により、筋肉の B_1 量は更に低下し、コイのほかフナ、ブルーギル、ティラピアの B_1 も、飼育 5~8 週目には、0.01 mg% 以下に低下した。ニジマスの B_1 は、徐々に減少した。

肝臓又は肝臓の B_1 をみると、ニジマスの肝臓の B_1 は、約 0.7 mg% であり、高い値を示したが、 B_1 無添加食投与により、徐々に減少し、飼育 20 週で 0.1 mg% になった。ティラピア、ブルーギル、フナの肝臓又は肝臓の B_1 は、 B_1 無添加食投与後も、0.1 mg% 前後であり、あまり変動はみられなかった。

コイでは、飼育はじめは 0.06 mg% であったが、5 週目には、0.002 mg% になり、きわめて低い値を示した。

考 察

サイアミナーゼを含むコイ、フナ、サイアミナーゼを含まないブルーギル、テラピニア、ニジマスに、 B_1 無添加の Halver 食を与え、組織の B_1 量の変化および B_1 欠乏症の発現を比較検討した。

サイアミナーゼを含むコイでは、他の4種に比べ、体重増加が著しかったが、同様にサイアミナーゼを含むフナの体重増加は、サイアミナーゼを含まないブルーギル、テラピニア、ニジマスと大体同じであった。飼育はじめの組織の B_1 量は、いずれの魚についても B_1 無添加食で2~4週間予備飼育したこともあり、全体的に低い値であった。フナ、ブルーギル、テラピニアの肝臓の B_1 は、 B_1 無添加食を投与しても、ほとんど減少はみられなかったが、その他の魚の肝臓又は肝臓の B_1 および眼球、筋肉の B_1 は、 B_1 無添加食の投与により著明に減少した。組織の B_1 量と魚の B_1 欠乏症の発現の関係をみると、 B_1 欠乏症を示さなかったコイやフナの B_1 の減少は、 B_1 欠乏症を示したテラピニア、ニジマス、ブルーギルの B_1 の減少よりも幾分大きく、また食欲減退、平衡感覚の喪失と思われる行動の異常、肝臓の褪色など、 B_1 欠乏症と思われる症状が比較的早くから出現したブルーギルの眼球、筋肉、肝臓の B_1 は、他の5種の魚に比べ、やや高いかほぼ中間の B_1 量を示した。ニジマスでも、肝臓の褪色が明らかに認められたが、肝臓の B_1 量は、5種の魚の中では最も高い値であった。

青江ら¹⁾が、アサリを磨砕後、自己消化させ、アサリの中の B_1 をサイアミナーゼで分解した後、ゼラチンで固めた飼料を、コイとニジマスに投与した結果をみると、 B_1 欠乏症の発現しなかったコイの筋肉の B_1 は、 B_1 欠乏症が発現したニジマスの筋肉の B_1 量と大体同じであり、また、コイの肝臓の B_1 は、ニジマスの肝臓の B_1 よりもむしろ低い値である。

また抗サイアミン剤である amprolium を添加した Halver 食または B_1 無添加食で飼育したコイは、成長の停滞、体色の褪色、ヒレの充血などの B_1 欠乏症を示したが、この時の筋肉、肝臓の B_1 は²⁾、本実験で B_1 欠乏症を示さなかったコイの筋肉、肝臓の B_1 量よりも高い値である。抗サイアミンである pyriethamine を添加すると、コイは、突発的な行動の異常、きりきり舞い、平衡感覚の喪失などの B_1 欠乏症をおこし、oxythiamine の添加では、成長停滞の B_1 欠乏症を示したが、この時の肝臓の B_1 も本実験で B_1 欠乏症を示さなかったコイの肝臓の B_1 よりも高い値である。

サイアミナーゼを含むウナギ³⁾を、 B_1 無添加のアサリ食で飼育すると、8週目に B_1 欠乏症がみられ、その時の体内の B_1 量は $0.046\text{mg}\%$ であったと報告されているが、この値も比較的高い値である。

このように B_1 欠乏症の発現は、魚の種類によって異なり、コイやフナのように体内の B_1 量はきわめて微量でも B_1 欠乏症を示さないものもあり、またブルーギル、テラピニア、ニジマスのように、体内の B_1 量は比較的高くても、 B_1 欠乏症を示すものもあるなど、 B_1 欠乏症の発現は体内の B_1 量だけが関係しているものではないことがわかった。

コイやフナは、組織の B_1 量はきわめて低い値でも B_1 欠乏症を示さないことから、これらの魚は、 B_1 欠乏に対して抵抗性が強いものと思われる。

コイの B_1 欠乏症の出現について、青江ら²⁾は B_1 無添加の高炭水化物飼料でコイを飼育すると、食欲不振、成長低下、褪色などの欠乏症があらわれること、また抗サイアミン剤を添加すると、より短期間に明確な欠乏症が出現し、 B_1 欠乏症の出現は抗サイアミン剤の種類によって異なることなどを報告している。

本実験で、体重 9 g 以下で小さいため B_1 無添加食の投与実験に使用出来なかったコイを別の水槽で B_1 無添加食を投与し飼育した。飼育 7 カ月目頃、コイは突発的な行動の異常、きりきり舞いなど平衡感覚の異常を示したが、多量の B_1 を経口投与すると、これらの症状は治癒した。 B_1 欠乏症の治癒したコイに、 B_1 無添加食を引き続き投与したが、コイは B_1 欠乏症は示さず、順調に成長し、およそ 1 年後には体重約 300 g になった。しかし内臓を観察すると、腎臓は正常のコイのおよそ 4~5 倍に肥大し、黄白色に変化しており、明らかに異常が認められた。肝脾臓は幾分萎縮し、脂肪の蓄積がみられた。

また体重が大きく B_1 無添加食の投与実験に使用しなかったブルーギルを別の水槽で B_1 無添加食を投与した。平均体重 37 g で小さいブルーギルは、食欲不振、平衡感覚の喪失、肝臓の褪色など B_1 欠乏症が比較的早く出現したが、平均体重 65 g で大きいブルーギルは、動きの異常は観察されず、肝臓の褪色が幾分認められる程度であった。

サイアミナーゼの有無と B_1 欠乏症の関係をみると、サイアミナーゼを含まないテラピニア、ブルーギル、ニジマスなどでは、食欲減退、行動の異常、平衡感覚の喪失、斃死などの B_1 欠乏症を示すが、サイアミナーゼを含むコイやフナでは、組織の B_1 量の低下は、サイアミナーゼを含まないものよりも幾分大きいにもかかわらず、 B_1 欠乏症を示さなかった。このことは、サイアミナーゼが B_1 代謝に関係しているように考えられるが、サイアミナーゼを含むコイでも、 B_1 無添加の高炭水化物食の投与により B_1 欠乏症がみられること、抗サイアミン剤の種類により、 B_1 欠乏症の発現が異なること、また体重の小さいコイは、 B_1 無添加食投与で B_1 欠乏症を起こすが、体重の大きいコイでは、 B_1 無添加食投与でも B_1 欠乏は示さず順調に成長するなどの点を考慮すると、 B_1 欠乏症の発現には、かなり複雑な問題が関係していると思われる。

要 約

サイアミナーゼを含むコイ、フナ、サイアミナーゼを含まないテラピニア、ブルーギル、ニジマスに B_1 無添加の Halver 食を投与し、28 週間飼育し、 B_1 欠乏症の出現と眼球、筋肉、肝脾臓又は肝臓の B_1 量を測定した。

(1) コイの体重増加は著明であり、28 週間で飼育はじめの 6 倍になったが、フナ、ブルーギル、ニジマス、テラピニアの体重の増加は 1.5~2 倍であった。

(2) コイやフナは B_1 欠乏症はみられなかったが、テラピニア、ブルーギル、ニジマスは平衡覚

感の喪失と思われる動きの異常や肝臓の褪色、斃死など B₁ 欠乏症が発現した。

(3) B₁ 欠乏症のみられなかったコイやフナの組織の B₁ 量の減少は、B₁ 欠乏症が発現したテラピア、ブルーギル、ニジマス組織の B₁ 量の減少よりも幾分大きかった。

(4) サイアミナーゼを保有するコイやフナは長期間 B₁ 無添加食に耐えた。

本研究にあたり、御指導いただいた鹿児島大学医学部生化学 大保不二夫教授に深く感謝します。

参 考 文 献

- 1) H. Aoe, I. Masuda, T. Saito & A. Komo; Bull. J. Soc. Scie. Fish.; **33**, 970 (1967)
- 2) H. Aoe, I. Masuda, T. Mimura, T. Sato & A. Komo; *ibid*; **35**, 459 (1969)
- 3) 青江 弘, 魚病研究, **2**, 159 (1968)
- 4) A. Fujita & Y. Nose., J. Biol. Chem., **196**, 313 (1952)
- 5) W. Charles Evans; Vitamins and Hormones; **33**, 467 (1975)
- 6) J.E. Halver & J.A. Coates; Prog. Fish-Cult., **19**, 112 (1957)
- 7) 佐藤雅子, 鹿大教育紀要, **25**, 48 (1974)
- 8) 藤原元典, ビタミン, **9**, 148 (1955)
- 9) Y. Hashimoto, S. Arai & T. Nose; Bull. J. Soc. Scie. Fish; **36**, 791 (1970)