

河川の汚染により死亡した淡水魚の病理学的検索

山口県衛生公害研究センター (所長: 田中一成)

板垣国昭・河村 章・數田行雄・遠藤隆二
田中一成

Pathological Studies on Fish Killed by Acute Poisoning with Water Pollution

Kuniaki ITAGAKI, Akira KAWAMURA, Ikuo KAZUTA
Ryuji ENDO, Kazushige TANAKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

はじめに

1989年6月、県内高速道路上の交通事故により積荷の化学物質が河川へ流失し、淡水魚が死亡した。管轄保健所から、当所に魚の死因調査の依頼があった。事故例による魚の病理学的報告はあまりみられないので、その検査結果を報告する。

材料および方法

検査に供した材料は化学薬品の河川流入により死亡したと思われる淡水魚(カワムツ3個体, アブラハヤ3個体, 写真1)で、魚の体表面は肉眼および実体顕微鏡で観察し、鰓組織と上皮組織の細部を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡(日立 X 560型)にて検索した。

また、心臓、筋肉、腸、肝臓の内臓および上皮組織、鰓組織について病理的組織標本を作成した。

検査結果

肉眼および実体顕微鏡像では眼球の点状出血、体表粘液の減少を認めた。走査電顕像では鰓組織の著しい損傷が認められ、鰓薄板上皮の脱落、癒合、腫脹が観察された(写真2)。

HE染色標本では、心臓、筋肉、腸および肝臓の各臓器に著変は見られなかったが、上皮組織では表皮細胞の壊死、変色および軽度の鬱血(写真

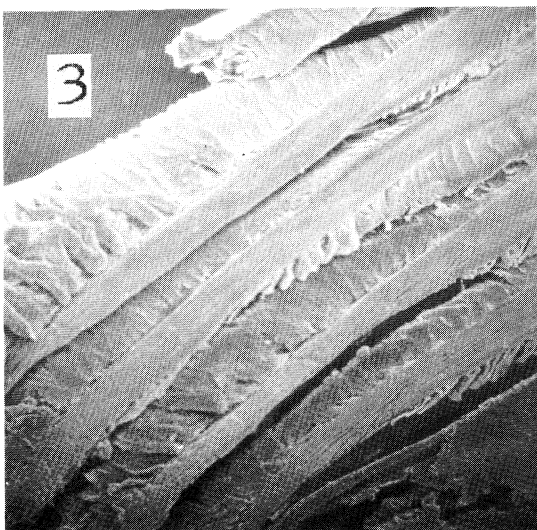
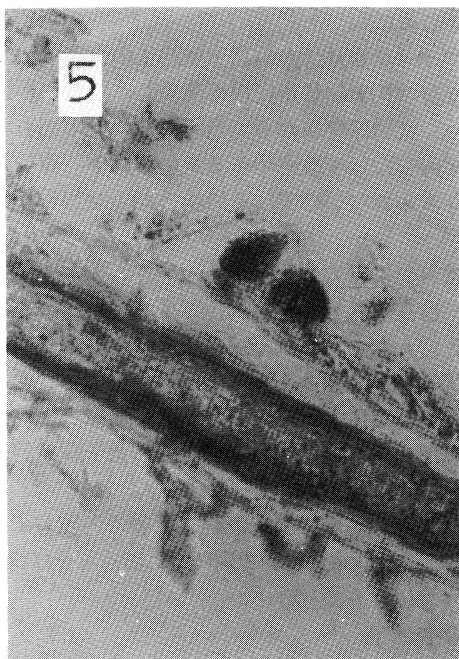
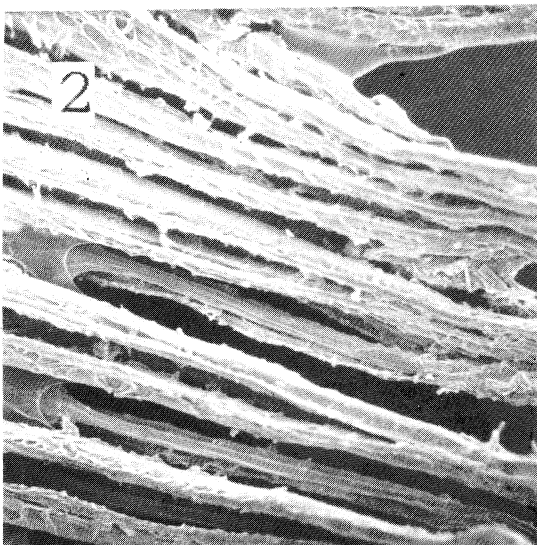
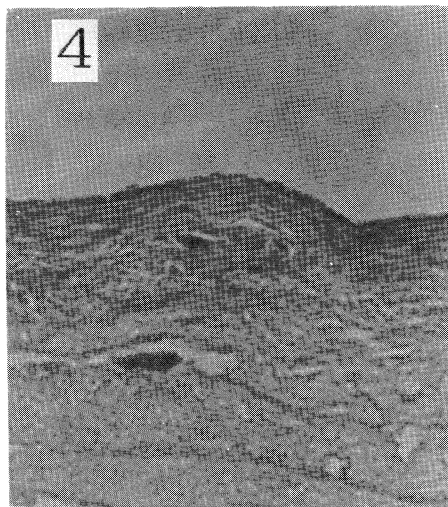
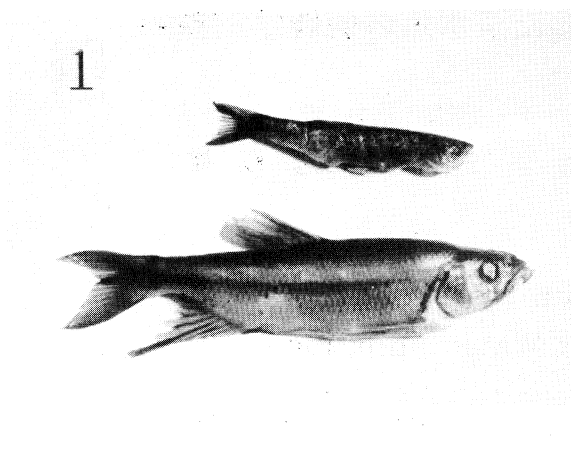
4)、鰓組織では走査電顕像同様の薄板上皮脱落、癒合のほか血管拡張による浮腫と円形細胞浸潤(写真5)が観察された。

考 察

薬品流入事故の発生した河川は山間部の小川で流量も少なく、流入した物質はアセトン、シンナー及びペイント等積荷の一部と他に消火剤もあった。検査結果に示した病変像がいずれの薬品に基づくかは不明であるが、鰓及び上皮組織等呼吸作用に最も重要な器官の急激な損傷による血液中の急性酸素欠乏と判断した。

写真説明

1. カワムツ(上)、アブラハヤ(下)
2. 走査電顕像×50
鰓薄板の消失、脱落、癒合
3. 同上×50
正常なる鰓組織
4. 光学像×100, HE染色
表皮組織の変色、壊死
5. 同上×400, HE染色
鰓薄板細胞の消失、癒合、細胞浸潤



電気泳動法によるフグの種類鑑別

山口県衛生公害研究センター (所長: 田中一成)

数 田 行 雄・板 垣 国 昭・河 村 章・遠 藤 隆 二
田 中 一 成

Electrophoretic Identification of Pufferfish

Ikuo KAZUTA, Kuniaki ITAGAKI, Akira KAWAMURA

Ryuji ENDO, Kazushige TANAKA

Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)

はじめに

フグの種類鑑別は通常、外観、色彩及び棘の有無等で行われるが、皮を除去した身欠きや刺身等では鑑別は困難である。現在、魚種特異性が高いとされている筋肉のミオゲン (水溶性タンパク質) 画分を電気泳動法によって行う鑑別方法が報告されている^{1,2)}。

今回、著者らは、本法を応用して17種のフグの種類鑑別を検討した。更に、フグ加工品について、加工に伴うミオゲン画分の変化を検討したので報告する。

材料及び試料溶液の調整

検査材料は、 -20°C で冷凍保存していた種の明らかな17種のフグ (図1参照) を用いた。半融解した魚体から体側筋1gを切り出し、乳鉢中で0.05Mバルビタール緩衝液 (pH8.6) - グリセリン等容混液とともに十分に摩砕した後全量を小試験管に移し3000rpmで10分間遠心分離した上清を試料溶液とした。

試料溶液のタンパク質濃度は、牛血清アルブミンを標準としてビュウレット法で測定した。電気泳動の方法及び条件は下記のとおりである。

1 ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE法) Ornstein, Davis^{3,4)} の方法に準じて行った。

縦型スラブ電気泳動装置を用い、ゲル厚さ 0.7 mm、分離ゲル長は約11cm で、濃縮ゲル及び分離ゲルのアクリルアミド濃度は、それぞれ2.5%及

び7.5%とした。泳動はブロムフェノールブルー (BPB) をマーカー色素として、室温で150 V の定電圧下3時間行った。泳動終了後0.025% クーマシーブリリアントブルー R-250 (CBBR-250) でタンパク質染色を行った。

2 等電点電気泳動 (IEF) 法

LKB社製の既製のゲル (5%アクリルアミド、2.4%アンフォライン、厚さ1mm、pH 3.5 ~ 9.5) を用い、水平型泳動装置で行った。電解液として、陰極に1M水酸化ナトリウム、陽極に1Mリン酸を用いた。泳動は 10°C で30Wの定電力

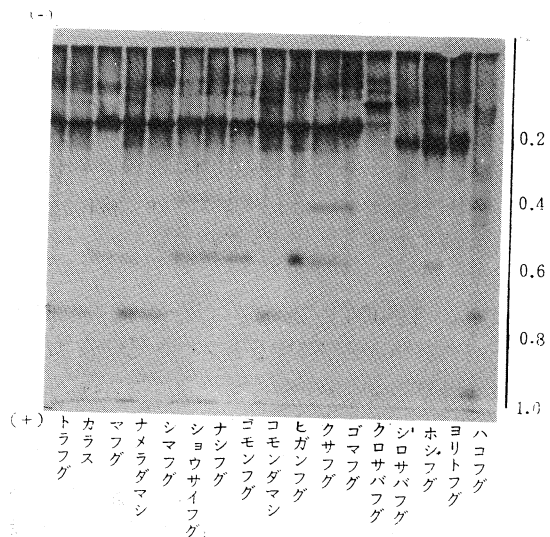


図1 PAGE法による各種フグの泳動パターン

下90分間行った。泳動終了後、11.5%トリクロロ酢酸-3.5%スルホサリチル酸水溶液でタンパク質の固定及びアンフォラインの洗い出しを行った後、CBBR-250でタンパク質染色を行った。また、等電点既知のタンパク質をマーカーとして同時に泳動し、そのバンドの位置からpHを決定した。

なお、両電気泳動とも1検体あたり100 μ gのタンパク質を用いた。泳動像はコダック社のEDPペーパーを用いて複写した⁵⁾。

結果及び考察

PAGE法による17種のフグの泳動パターンを図1に示す。ハコフグを除く16種のフグは、Rm(BPBの移動度を1.0としたときの各タンパク質バンドの移動度)0.2か0.25付近に濃いバンドが見られたが、その中でクロサバフグは、Rm0.15付近に最も濃いバンドが見られ、他と区別できた。シロサバフグ、ホシフグ及びヨリトフグは、Rm0.25付近に最も濃いバンドが見られ、Rm0.2付近に最も濃いバンドをもつ他12種と区別可能であり、更に、この3種のうちホシフグはRm0.1~0.2及びRm0.6のバンドの比較で他2種と区別可能であった。また、Rm0.2に濃いバンドが見られた12種については、Rm0.15付近及びRm0.4~0.75の範囲のバンドの比較により、マフグ、シマフグ、コモダマシ及びヒガンフグはそれぞれ他8種と区別可能であった。しかし、トラフグ、カラス及びナメラダマシの3種間、ショウサイフグ、ナシフグ及びコモンフグの3種間、クサフグとゴマフグの2種間、シロサバフグとヨリトフグの2種間では、それぞれほぼ同一のパターンを示し区別は困難であった。ハコフグは、特に濃いバンドは見られず、他16種とは異なったパターンであった。

なお、今回のPAGE法ではRmの低い位置にタンパク質バンドが集中しタンパク質の分離が不十分と思われるので、分離ゲル濃度及び緩衝液系について検討したい。

次に、IEF法による泳動パターンを図2に示す。PAGE法と比べてシャープに分離されたバンドが認められ、PAGE法と比べて種の鑑別はより容易であった。種の鑑別にはpH4.5付近及

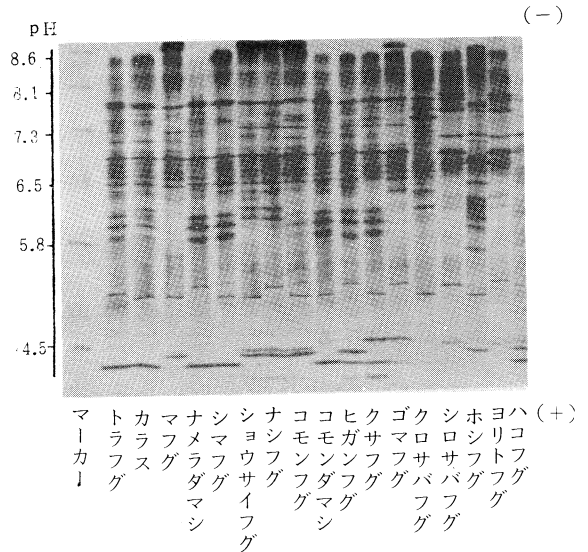


図2 IEF法による各種フグの泳動パターン

びpH5.8~8.6の範囲のバンドの比較が有用で、PAGE法で鑑別可能な種はIEF法でも鑑別可能であった。更に、PAGE法で鑑別が困難であった種についても鑑別が可能であった。すなわち、トラフグ、カラス及びナメラダマシは、pH6.0付近及びpH7.0~8.6の範囲のバンドの比較により、ショウサイフグ、ナシフグ及びコモンフグはpH6.0、pH7.3及びpH8.6付近のバンドの比較により、更に、クサフグとゴマフグはpH5.8~pH6.5及びpH8.6のバンドの比較によりそれぞれ鑑別が可能であった。しかし、シロサバフグとヨリトフグは、ほとんど同一のパターンを示し鑑別は困難と思われた。

次に、図3にナシフグ加工品のIEF法による泳動パターンを示す。試料溶液のタンパク質濃度は鮮魚と比較して一日干して約1/2、干物で約1/20に低下しており、加工工程におけるタンパク質の変性によるものと思われた。泳動パターンでは、一日干しでは鮮魚で見られた濃いバンドは認められるが、細かなバンドの確認はできなかった。また、干物では中央から陰極側のバンドはほとんど見られず、加工工程によりミオゲン画分はかなりの変化をうけるものと思われた。

以上、フグの種類鑑別に電気泳動法を適用し、今回供試した17種のフグのうちシロサバフグとヨ

