

海産魚用新型ソフトドライペレットの α -トコフェロールレベルが、ブリの生体内脂質過酸化とその防御機構におよぼす影響

近年、環境保全の意識高揚やマイワシ資源の減少、さらには労働力不足により海産魚養殖においてEP飼料(エクストルーダーで造粒される多孔質ペレット)が注目を浴びている。そのなかでも水分を8~10%含み軟質固形飼料のソフトドライペレット(SDP)は、ブリ養殖において、生餌やモイストペレット(MP)にくらべ成長・増肉係数が優れているだけでなく、病気の発生を軽減し、生産された魚の品質に対しても優れた評価が得られている。¹⁾しかしながら、このSDPはその製造過程において多量の魚油を使用するために、出来上がった製品には酸化を受けやすい高度不飽和脂肪酸が多量に含まれている。したがって、SDPを給餌された魚は他の飼料で飼育された魚に比べ、多くの高度不飽和脂肪酸を体内に取り込むことになり、その結果より酸素ストレスを受けると考えられる。この酸素ストレス、すなわち生体内で生じる活性酸素やフリーラジカルは、その連鎖的酸化反応により、大量の過酸化脂質とその分解産物を生じ、生体高分子構造を破壊し、ガン、老化および炎症等の疾病や免疫等の生体防御能の低下などを引き起こすことが知られている。²⁾魚類においても、生体内脂質過酸化に起因すると考えられる疾病、例えばブリ黄疸、³⁾が発症している。

この生体内脂質過酸化の進行を抑制するために、好気生物は多くの非酵素的・酵素的防御機構を持っている。非酵素的な防御機構として重要なものの一つに、 α -トコフェロールがあり、酵素的な防御機構として重要なものの一つに、グルタチオンペルオキシダーゼがある。そこで本研究では、SDPに添加する α -トコフェロール⁴⁾量を変化させた時、給餌ブリの生体内脂質過酸化とその防御機構(とくに α -トコフェロール含量およびグルタチオンペルオキシダーゼ活性)の変動について調べた。

第一章 ブリの生体内脂質過酸化およびその防御機構に及ぼす飼料 α -トコフェロールの影響

SDP飼料中の α -トコフェロール含量を変化させてブリを飼育した時の、ブリの血液性状、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量、グルタチオンペルオキシダーゼ活性および生体内脂質過酸化に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

餌料の調製 餌料は魚粉としてブラウンフィッシュミールを用い、表1に示すように調製した後、エクストルーダー処理したSDPに α -トコフェロールが乾物飼料100g当たり12,50および88mgとなるように添加した3給与飼料を作成し、それぞれI区、II区およびIII区とした。

表1. 試験飼料組成

成分	飼料 (%)		
	I	II	III
ブラウンフィッシュミール	75.5	75.5	75.5
ミネラルミックス	2.5	2.5	2.5
ビタミンミックス	3.0	3.0	3.0
澱粉	10.0	10.0	10.0
魚油	9.0	9.0	9.0
α -トコフェロール (mg/100g diet)	12	50	88
アスコルビン酸 (mg/100g diet)	98	98	98

飼育試験 平成5年4月、日向灘で採捕された平均体重 104.6 g のブリ稚魚を、青島漁港内に設置した海面小割生簀 (2.2 x 2.2 x 2.2 m) において、平成5年7月20日 ~平成5年9月4日までの46日間飼育試験を行った。それらの結果を表2に示した。また、そのときの水温は、25.2 ~27.2 °C(平均26.1 °C)であり、給餌は1日2回行い、給餌率を魚の摂餌状態により、乾物重量で魚体重の 4 ~5 % の範囲で変化させた。

血液性状の測定法 血液中のヘマトクリット値は、国産 H-25F2 遠心機を用いた毛細管によるマイクロヘマトクリット法⁵⁾ (11,000 rpm, 5分間遠心分離)により測定した。また、血漿中のアスパテートアミノトランスフェラーゼおよびアラニンアミノトランスフェラーゼ活性は、モノカードケミストリーシステムにより測定し、結果を Karmen Unit で表示した。

2-チオバルビツール酸反応物質(TBARS)値の測定法 肝臓および筋肉の TBARS値は Yamauchi et al .の水蒸気蒸留法で測定し、 μg マロンアルデヒド/g ($\mu\text{g MA/g}$) 試料で示した。⁶⁾血漿TBARS値は島崎の比色法で分析し、nmolマロンアルデヒド/ml (nmol MA/ml) で示した。⁷⁾

α -トコフェロール含量の測定法 α -トコフェロールは、Bieriの方法⁸⁾に従ってけん化後、不けん化物をn-ヘキサンで抽出し、n-ヘキサン:イソプロピルアルコール(200:1, v/v)を移動相とする Yamauchi et al .⁹⁾の高速液体クロマトグラフィーによって定量した。カラムには Zorbax BP-NH₂, 検出器には蛍光光度計(励起波長:295 nm, 蛍光波長:325 nm)をそれぞれ用いた。また、内部標準物質として 2,2,5,7,8-ペンタメチル-6-ヒドロキシクロマンを用いた。

アスコルビン酸含量の測定法 アスコルビン酸は、村田らの方法^{*}に従ってメタリン酸で抽出した試料を、移動相として5mM シュウ酸を、反応液として50mM水素化ホウ素ナトリウム含有100mM水酸化ナトリウムを用いた高速液体クロマトグラフィーによって定量した。カラムには Shim-Pack SCR-101H (7.9 x 300 mm), 検出器には UV 検出器(検出波長:300 nm)をそれぞれ用いた。

グルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Px)活性の測定法 血漿および肝臓中のグルタチオンペルオキシダーゼ活性は、渡部と平塚の酵素分析法¹⁰⁾に従って、基質にt-butyl hydroperoxideを使用し、glutathione reductaseとNADPHを共存させ NADPH の酸加速度より定量した。また、1分間に1nmolのNADPHを減少させる酵素量を1U(ユニット)とし、U/mlおよびU/mg proteinで表示した。なお、蛋白質量はBio Rad社のProtein assay kitにより測定した。

統計処理 分析値(測定値)は、可能なもの限りダンカンのマルチプルレンジテスト(新多重範囲検定法)¹¹⁾により統計処理した。

結果および考察

飼育試験結果 表2に示すように、成長率、飼料効率ともに試験区による顕著な差は認められなかった。

血液性状 表3に示すようにヘマトクリット値は、試験区による差は認められなかった。一方、アスパテートアミノトランスフェラーゼ活性およびアラニンアミノトランスフェラーゼ活性は、飼料中の α -トコフェロール添加量の増加に従って減少しており、肝機能の向上がみられた。

表 2. 46日間の飼育試験結果

・村田 寿, 伊東尚史, 山内 清, 境 正, 福留巳樹夫, 安井嘉秀: 平成5年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1993, p. 56.

1993年7月20日-9月4日

飼料

I

II

III

個体数	150	150	150
体重 (g)			
開始	105.3	104.7	103.7
終了	380.0	373.6	376.1
成長率 (%)	260.9	256.8	262.7
飼料効率 (%)	101.3	98.5	96.9

血漿、肝臓および筋肉における TBARS 値、 α -トコフェロール含量、

アスコルビン酸含量およびグルタチオンペルオキシダーゼ活性 各試験区の血漿、肝臓および筋肉の脂質過酸化の進行度を示す TBARS 値と非酵素的ラジカル消去に関わる α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量および酵素的ラジカル消去に関わるグルタチオンペルオキシダーゼ活性を表 4 に示した。TBARS 値は、血漿、肝臓および筋肉において I 区、II 区、III 区と順に減少し、生体内脂質過酸化が抑えられていた。血漿、肝臓および筋肉における α -トコフェロール含量は、飼料中の添加量を反映しており、添加量に比例して蓄積した(図 1)。このことは、TBARS 値の減少に大きく関与しているものと考えられる。また、アスコルビン酸含量については、試験区による差は認められなかった。血漿および肝臓におけるグルタチオンペルオキシダーゼ活性は、I 区で一番高く、II 区、III 区と順に減少していった。このことは、TBARS 値と正の相関があり(図 2)、脂質過酸化が進行するとグルタチオンペルオキシダーゼ活性が誘導されることを示している。

表 3. 異なった α -トコフェロール含量の飼料を給餌したブリの血液性状

飼料

I

II

III

ヘマトクリット (%)	49.5 \pm 6.6 ^a	50.1 \pm 0.7 ^a	50.0 \pm 0.8 ^a
アスパテートアミノトランスフェラーゼ *	52.3 \pm 23.5 ^a	25.0 \pm 5.5 ^b	13.8 \pm 1.9 ^b
アラニンアミノトランスフェラーゼ *	25.3 \pm 13.3 ^a	14.5 \pm 1.8 ^a	12.9 \pm 1.8 ^a

*; Karmen unit

値は 4 尾の平均値 \pm 標準偏差

同一行の異なった上付き文字が付いている値は、 $p < 0.05$ で有意に異なっている。

表 4. 異なった α -トコフェロール含量の飼料を給餌したブリの血漿、肝臓および筋

肉における TBA 値、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量、グルタチ

オ

ンペルオキシダーゼ活性

飼料

I

II

III

血漿			
TBA (nmol MA/ml)	9.02	7.92	6.99
α -トコフェロール (μ g/ml)	39.4	67.8	88.8
アスコルビン酸 (μ g/ml)	0.3	0.2	0.2

グルタチオンペルオキシダーゼ (U/ml)	790.0	648.2	425.4
肝臓			
TBA (μg MA/g)	0.23	0.15	0.14
α-トコフェロール(μg/g)	265.0	979.3	2078
アスコルビン酸(μg/g)	10.1	13.9	9.5
グルタチオンペルオキシダーゼ (U/mg protein)	71.1	67.7	65.4
筋肉			
TBA (μg MA/g)	1.30	0.45	0.35
α-トコフェロール(μg/g)	17.2	30.0	41.3
アスコルビン酸(μg/g)	1.7	1.7	2.6

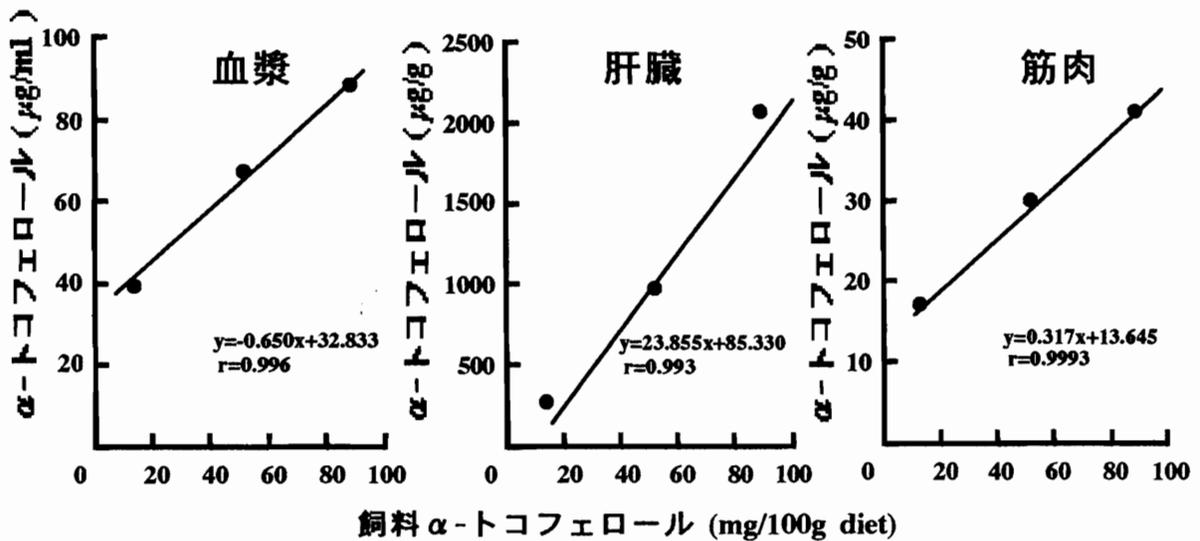


図1. 飼料中の α -トコフェロール含量と血漿、肝臓および筋肉における α -トコフェロール含量との関係

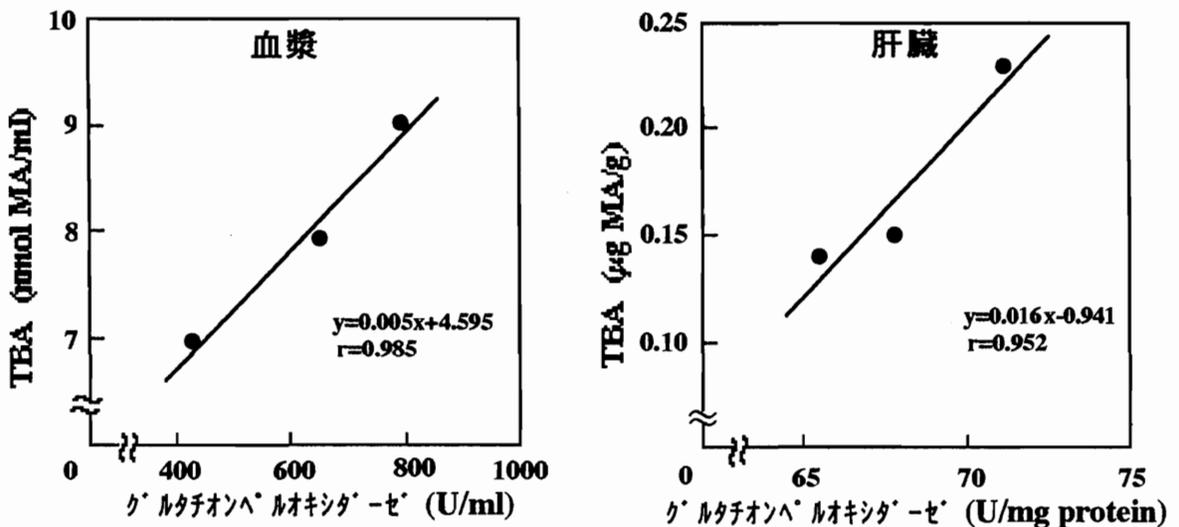


図2. プリの血漿および肝臓におけるグルタチオンペルオキシダーゼ活性とTBA値との関係

二章 異なった α -トコフェロール含量の飼料を給餌したブリの生体内脂質過酸化およびその防御機構に及ぼす黄疸原因菌接種の影響

目的

飼育試験終了後のブリに、黄疸の原因といわれる細菌を人為的に感染させた時、感染による血液性状、ビリルビン、 α -トコフェロール、アスコルビン酸含量および生体内脂質過酸化の変動を調べた。さらに、その変動と餌料中の α -トコフェロール含量との関連性を考察した。

材料と方法

人為感染試験法 飼育試験終了後、陸上FRP水槽(1.5 x 2.5 x 1.0 m)に収容し、対照区と感染区を設けた。感染区には、平成4年8月に宮崎県北浦養殖場で採取された黄疸ブリ血液より分離した黄疸原因菌を10%牛胎児血清(FCS)含有 L-15培地で25 °C、2週間振盪培養した菌数 1×10^6 /mlの培地を、飼育試験終了後のブリに対し、1尾当たり4ml 腹腔内接種した。また対照区には培地のみを接種し、その後無給餌にて7日間飼育後、実験に供した。¹²⁾

血液性状の測定法 血液中のヘモグロビン含量をAO式ヘモグロビンメータによる比色法、ヘマトクリット値は、国産 H-25F2 遠心機を用いた毛細管によるマイクロヘマトクリット法⁹⁾ (11,000 rpm, 5分間遠心分離)により測定した。

ビリルビン含量の測定法 ビリルビンに特異的なモノクローナル抗体を用い、酵素抗体法にて測定した。¹³⁾

2-チオバルビツール酸反応物質(TBARS)値の測定法 第一章の記載に同じ。

α -トコフェロール含量の測定法 第一章の記載に同じ。

アスコルビン酸含量の測定法 第一章の記載に同じ。

統計処理 分析値(測定値)は、ダンカンのマルチプルレンジテスト(新多重範囲検定法)¹⁴⁾により統計処理した。

結果および考察

人為感染試験 今回の試験では、感染区の全ての個体において溶血が観察されたが、赤血球中には全く黄疸原因菌は認めることができなかった。

肝臓収率、脾臓収率および血液性状 表5に肝臓収率、脾臓収率、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値を示した。この表から明らかなように、対照区にくらべ感染区のほうが、肝臓および脾臓が肥大化していた。また、脾臓収率において感染区のII区およびIII区でI区より若干低かった。脾臓中のTBARS値および α -トコフェロール含量を測定していないのではっきりしたことは言えないが、このことは、飼料中の α -トコフェロール含量を高めることにより、その生体内脂質過酸化が抑制され、感染による生じた溶血により生じる脾臓への負荷が軽減したものと考えられる。血液性状は、感染区において、感染・溶血によるものと思われるヘモグロビン量およびヘマトクリット値の著しい低下が認められ、III区で他のI区、II区と比べ若干低い値となった。

血液中の赤血球数および血漿中のビリルビン含量、TBARS値、および α -トコフェロールおよびアスコルビン酸含量 表6に血液中の赤血球数および血漿中におけるビリルビン含量、TBARS値、 α -トコフェロール含量およびアスコルビン酸含量を示した。アスコルビン酸含量を除くこれらの値全てにおいて感染区と対照区で有意な差が認められた。赤血球数は、感染区において対照区に比べ急激に低下しており、表5に示したヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低下が、溶血により発症したことを示している。また、溶血にともないビリルビンが生成しており、飼料中の α -トコフェロールの添加量の増加にともないその量は増加した。TBARS値は、飼料区間の差がなく、その他の値との関連性は認められなかった。 α -トコフェロール含量については、飼料中の α -トコフェロール添加量を反映しており、感染区における減少は、生体内脂質過酸化抑制のために使用されたものと考えられる。アスコルビン酸含量は、その値が、検出限界付近であったため、区間による有意な差は認められ

なかった。

表5. 異なった α -トコフェロール含量の飼料を給餌したブリの肝臓および脾臓収率、ヘモグロビン含量およびヘマトクリット値 に及ぼす黄疸原因菌接種の影響

飼料	ヘモグロビン(g/dl)	ヘマトクリット(%)	個体数	体重(g)	肝臓収率	脾臓収率
I	対照	5	5	383.5±24.8	0.73±0.05 ^a	
	0.08±0.01 ^a	11.9±1.0 ^a	53.5± 4.9 ^a			
	感染	5	5	377.5± 9.8	1.64±0.11 ^b	
	0.88±0.13 ^b	5.1±2.1 ^b	17.6± 7.6 ^b			
II	対照	5	5	361.2±20.8	0.73±0.11 ^a	
	0.09±0.01 ^a	11.8±1.3 ^a	49.4± 1.0 ^a			
	感染	5	5	378.8±17.0	1.64±0.32 ^b	
	0.69±0.25 ^b	5.3±2.4 ^b	18.5±10.7 ^b			
III	対照	5	5	374.7±22.3	0.83±0.03 ^a	
	0.10±0.01 ^a	13.2±1.0 ^a	51.2± 7.5 ^a			
	感染	3	3	373.9±17.0	1.66±0.17 ^b	
	0.71±0.21 ^b	3.7±1.6 ^b	14.3± 6.9 ^b			

同一列の異なった上付き文字が付いている値は、 $p < 0.05$ で有意に異なっている。

赤血球数とビリルビン含量との一次相関 図3に示したように、赤血球の増加にともなうビリルビンの減少が認められた。

TBARS値とビリルビン含量との一次相関 TBARS値とビリルビン含量との一次相関を検討した結果を 図4に示した。TBARS値の増加にともなうビリルビンの増加が認められた。この結果と図3に示した結果を比較すると、ビリルビン含量は、赤血球数よりTBARS値と高い相関性を示した。

最近、Stockerら^{14,15)}は*in vitro*においてビリルビンが活性酸素を消去するための有効な抗酸化剤となり、ビリルビン自身は酸化され、ビリベルジンおよびその他の酸化生成物に変化することを報告している。今回の結果は、*in vivo*においてもビリルビンが、活性酸素の除去および生体内脂質過酸化を抑制のために、抗酸化機能を発揮することを示している。すなわち、ビリルビンは、単なる赤血球の代謝産物として排泄される物質ではなく、生体が極度に酸化状態に置かれた際に血漿中に現れるものと考えられる。従って、ブリ黄疸は、細菌が引き起こす溶血が主因ではなく、溶血により生体内脂質過酸化が進行し、その進行を抑制するために導入されたビリルビンにより発症したと思われる。

第三章 異なった α -トコフェロール含量の飼料を給餌したブリの生体内脂質過酸化およびその防御機構に及ぼすフェニルヒドラジン投与の影響

飼育試験終了後のブリに強力なラジカル発生剤であるフェニルヒドラジンを投与し、その血液性状、ビリルビン含量、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量、グルタチオンペルオキシダーゼ活性、スーパーオキシドジスムターゼ活性および生体内脂質過酸化の変動を経時的に調べ、さらに飼料中の α -トコフェロール含量とそれらの変動の関連性を考察した。

材料と方法

フェニルヒドラジン投与試験法 飼育試験終了後、陸上FRP水槽(1.5 x 2.5 x 1.0 m)に収容し、フェニルヒドラジンを体重Kg当たり0 (対照区)および17 mg (投与区)投与し1日後、2日および3日後に各区5尾ずつ取り上げ実験に供した。なお試験期間中は無給餌とした。

血液性状の測定法 血液中のヘモグロビン含量をシアンメトヘモグロビン法¹⁶⁾により、ヘマトクリット値は、国産 H-25F2 遠心機を用いた毛細管によるマイクロヘマトクリット法⁵⁾ (11,000 rpm, 5 分間遠心分離)により測定した。また、アスパテートアミノトランスフェラーゼおよびアラニンアミノトランスフェラーゼ活性は、モノカードケミストリーシステムにより測定し、結果を Karmen Unit で示した。

ビリルビン含量の測定法 第二章の記載に同じ

2-チオバルビツール酸(TBARS)値の測定法 第一章の記載に同じ。

α -トコフェロール含量の測定法 第一章の記載に同じ。

アスコルビン酸含量の測定法 第一章の記載に同じ。

グルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Px) 活性の測定法 第一章の記載に同じ。

スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性の測定法 大柳の亜硝酸法により測定した。¹⁷⁾なお、Cu·Zn SOD活性とMn SOD活性は、そのKCNに対する感受性の差より求めた。結果は、NU/mg proteinで表示した。

結果および考察

フェニルヒドラジン投与試験 外観的には背部の黒化、腹部の黄色化が観察され、血漿は溶血により赤色を呈しており第二章の感染試験とよく似た所見であった。

肝臓収率、脾臓収率および血液性状 表7に各試験区の肝臓収率、脾臓収率、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の経時変化を示した。肝臓収率は、フェニルヒドラジン投与後1日目で上昇し、2日目、3日目でさらに上昇した。ヘマトクリット値およびヘモグロビン含量は、1日目から溶血による劇的な減少が観察され、2日目、3日目でさらに減少していった。これらの結果は、フェニルヒドラジンの影響が投与3日後まで及んでいること示している。しかしながら、脾臓収率は、1日目で上昇したものの、2日目から減少し、回復に向かった。なお、以上の得られた結果には、試験飼料区間における有意な差は認められなかった。

血漿中のアスパテートアミノトランスフェラーゼ活性およびアラニンアミノトランスフェラーゼ' 活性 表8に各試験区の血漿アスパテートアミノトランスフェラーゼ活性およびアラニンアミノトランスフェラーゼ' 活性の経時変化を示した。両酵素活性はフェニルヒドラジン投与後1日目で急激に上昇し、2日目でさらに上昇、3日目で減少した。また、試験飼料区間に有意差は認められなかった。この結果は、3日目から肝機能が回復に向かったことを示していると思われる。

血漿中のビリルビン含量、TBARS値、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量およびグルタチオンペルオキシダーゼ活性 表9に各試験区の血漿中におけるビリルビン含量、TBARS値、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量およびグルタチオンペルオキシダーゼ活性の経時変化を示した。フェニルヒドラジン投与区において、ビリルビン含量およびTBARS値は、1日目で上昇し、2日目でさらに上昇、3日目で減少した。また、TBARS値は、フェニルヒドラジン投与区で、1日目のIII区がII区より若干高い値となっているものの、4日間とも α -トコフェロール添加量が多い区ほど低い値となり脂質過酸化が抑えられていた。しかしながら、ビリルビ

ンは、飼料中の α -トコフェロール含量が高い区ほど高い値となった。この現象は第二章の感染試験においても観察され、 α -トコフェロール過剰摂取による毒性の1つと思われる。 α -トコフェロール含量は、フェニルヒドラジン投与区で脂質過酸化の抑制のため減少し、対照区とともに4日間、飼料中の α -トコフェロール含量を反映した値であった。アスコルビン酸含量は、第二章と同様に、検出限界付近であったので、各試験区および試験期間中の差は認められなかった。グルタチオンペルオキシダーゼ活性は、3日間とも対照区に比べフェニルヒドラジン投与区で、誘導される傾向が認められた。これも、生体内脂質過酸化抑制のために誘導されるものと思われる。

肝臓のTBARS 値、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量、グルタチオンペルオキシダーゼ 活性およびスーパーオキシドジスムターゼ 活性 表 10に各試験区の肝臓におけるTBARS値、 α -トコフェロール含量、アスコルビン酸含量、グルタチオンペルオキシダーゼ活性およびスーパーオキシドジスムターゼ 活性の経時変化を示した。TBARS値は、フェニルヒドラジン投与後、1日目で対照区より若干上昇したものの、2日後、3日後で対照区とほとんど変わらなくなり、試験飼料区間による差もなかった。 α -トコフェロール含量も、飼料中の α -トコフェロール含量を反映して試験飼料区間に差はあるものの、フェニルヒドラジン投与区と対照区に差はなく、経時的な変化もなかった。また、フェニルヒドラジン投与による肝臓におけるTBARS値や α -トコフェロール含量の変動は、先に述べた血漿におけるそれらの値より変動が少なく、肝臓は血漿に比べ生体内脂質過酸化が進行しにくいことを示している。アスコルビン酸含量は、フェニルヒドラジン投与後、経時的に増加していった。フェニルヒドラジン投与により、肝臓中のアスコルビン酸が増加した理由は、今のところ全く不明であるが、ブリにはアスコルビン酸合成能が無いと思われるので、¹⁸⁾非常に興味ある事実である。グルタチオンペルオキシダーゼ活性は、フェニルヒドラジン投与区において、2日目から誘導され、3日目ですらに上昇した。しかしながら、同じ抗酸化酵素のひとつであるスーパーオキシドジスムターゼ活性は、全く誘導されなかった。以上の結果から、フェニルヒドラジン投与によって引き起こされる生体内脂質過酸化は、それを抑制するため、まず、 α -トコフェロールなどの非酵素的抗酸化剤が、発生した種々の活性酸素の除去および脂質過酸化の連続反応を阻止し、次に、抗酸化酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼが、生成した過酸化物を分解するために誘導されるものと思われる。また、同じく抗酸化酵素であるスーパーオキシドジスムターゼが誘導されなかったのは、この酵素が、 O_2^- を特異的に基質とするため、フェニルヒドラジン投与により生成した O_2^- は、 α -トコフェロールなどの非酵素的抗酸化剤により効果的に除去されたために誘導化されなかったものと考えられる。

ヘモグロビン含量と血漿ビリルビン含量との一次相関 ヘモグロビン量と血漿ビリルビン含量との一次相関を検討した結果を、図5に示した。その結果、ヘモグロビン含量とビリルビン含量との相関係数は低かった。

血漿TBARS値と血漿ビリルビン含量との一次相関 血漿TBARS値と血漿ビリルビン含量との一次相関を検討した結果を図6に示した。その結果、第二章の感染試験の結果と同様、ビリルビン含量は、ヘモグロビン含量よりTBARS値と高い相関性を示した。第二章で述べた様に、ビリルビンが*in vitro*において抗酸化機能を示すこと^{14,15)}や*in vivo*においてもその可能性が示されたことから、フェニルヒドラジン投与による溶血の結果としてビリルビンが生成したのではなく、ビリルビンが抗酸化機能を示し、フェニルヒドラジン投与による溶血や生体内脂質過酸化の進行を抑制するために血漿中に出現ものと考えられる。

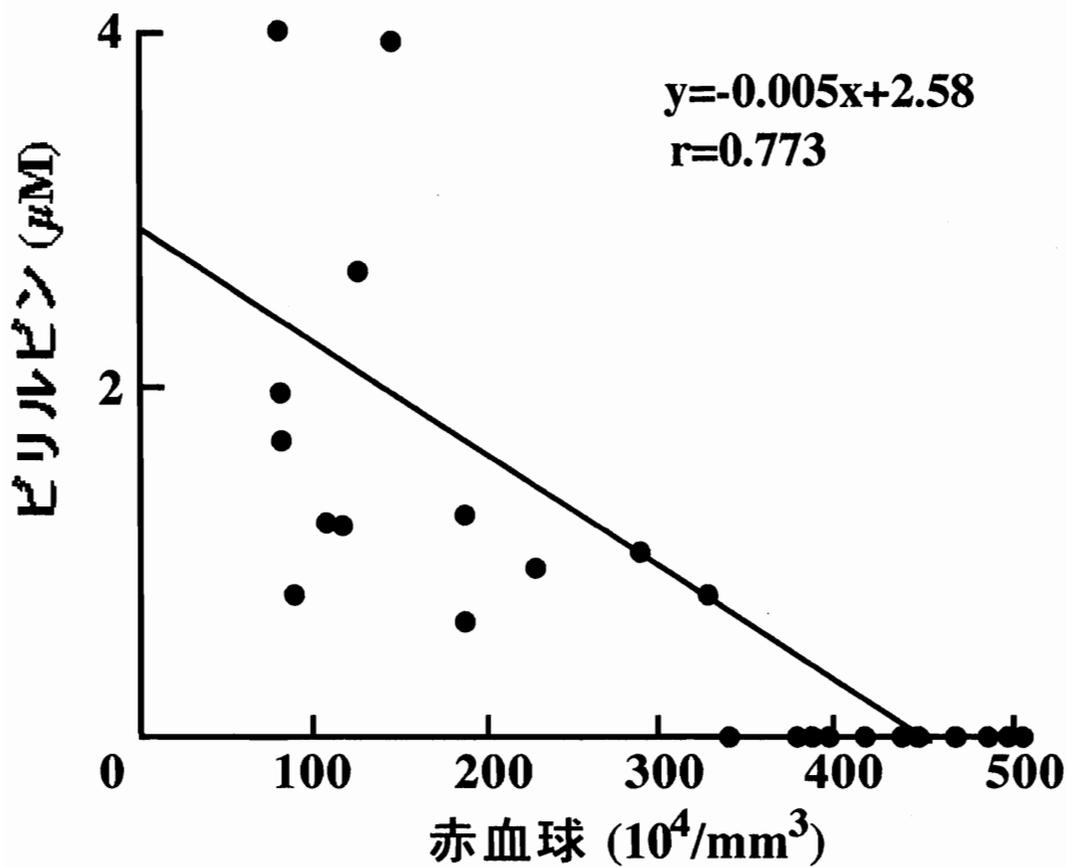


図3. 黄疸原因菌を接種したブリの赤血球数、血漿ビリルビン含量との関係

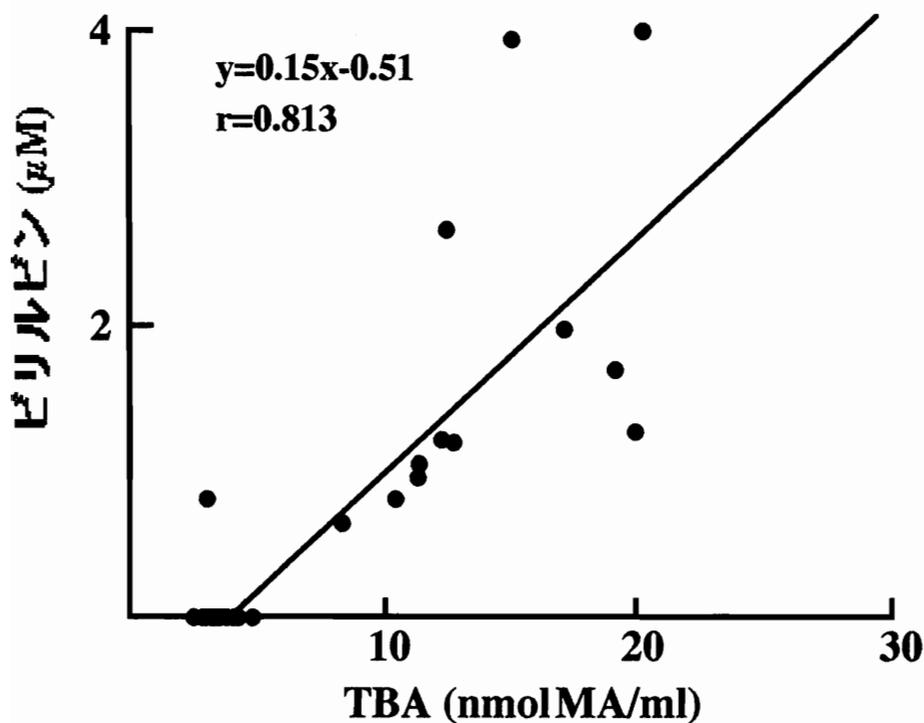


図4. 黄疸原因菌を接種したブリの血漿TBA値と血漿ビリルビン含量との関係

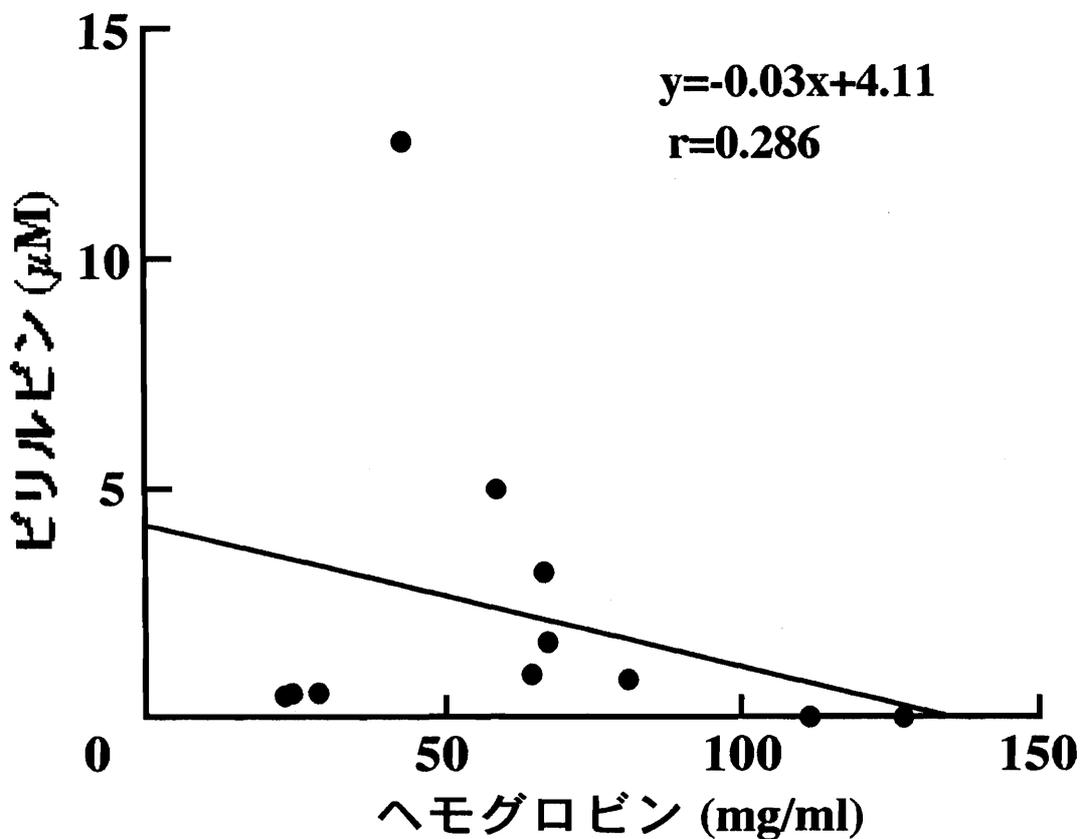


図5. フェニルヒドラジンを投与したブリのヘモグロビン含量と血漿ビリルビン含量との関係

文献

- 1) 渡辺 武: 養殖, 8, 68-79 (1992)
- 2) H. Sies: 活性酸素と疾患(井上正康監訳), 学会出版センター, 東京, 1987, pp. 1-8.
- 3) T. Sakai, H. Murata, M. Endo, K. Yamauchi, N. Tabata, and M. Fukudome: *Agric. Biol. Chem.*, 53, 1739-1740 (1989).
- 4) 関屋朝祐, 村田 寿, 境 正, 山内 清, 山下清海, 宇川正治, 金井 学, 嶋田元且: 日水誌, 57, 287-292 (1991).
- 5) 寺田秀夫, 藤巻道男, 新倉春男, 岡田美智子, 佐野欣一: 血液検査マニュアル, 講談社, 1985, pp.26-27.
- 6) K. Yamauchi, Y. Nagai, and T. Ohashi: *Agric. Biol. Chem.*, 44 1061-1067 (1982).
- 7) 島崎弘幸: 過酸化脂質研究法, 金田尚志編, 医歯薬出版株式会社, 1984, 東京, pp. 82-83.
- 8) J.G. Bieri: in "Liquid Chromatographic Analysis", Marinetti ed., Vol. 2, Marcel Dekker Inc, 1969, New York, pp. 459-479.
- 9) K. Yamauchi, H. Murata, T. Ohashi, H. Katayama, A.M. Pearson, T. Okada, and T. Yamakura: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 38, 545-552 (1991).
- 10) 渡部 烈, 平塚 明,:蛋白質・核酸・酵素, 33, 2949-2956 (1988)
- 11) 新城秋久: 生物統計学入門 第3版, 朝倉書店, 東京, 1989, pp. 55-56.
- 12) 反町 稔・前野幸男・中島員洋・乾 靖夫(1993): 魚病研究, 28, 119-124.
- 13) Y. Izumi, M. Yamazaki, S. Shimizu, K. Shimizu, T. Yamaguchi and H. Nakajima: *Biochim. Biophys. Acta.*, 967 261-266

- (1988).
- 14) R. Stocker, Y. Yamamoto, A.F. McDonagh, A.N. Glazer, and B.N. Ames: *Science*, **235**, 1043-1046 (1987).
 - 15) R. Stocker, A.N. Glazer, and B.N. Ames: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 5918-5922 (1987).
 - 16) H. Kawatsu : *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **19** 161-167 (1969).
 - 17) 大柳善彦:蛋白質・核酸・酵素, **33**, 2906-2913 (1988).
 - 18) Y. Yamamoto, M. Sato, and S. Ikeda : *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44** 775-779 (1969).