

コイ心房からの連続採血法*

山元 憲一

A Technique for Successive Sampling of Blood from the Atrium of the Carp *Cyprinus carpio*

by

Ken-ichi YAMAMOTO

It was tried to set a polyethylene tube without any needle into the atrium of the carp from the lateral and ventral sides. This method is expected to be useful for the study of the gas exchange in gills for the following reasons:

(1) The tube was set easily into the atrium because the atrium was a larger organ, compared with the ventral aorta, bulbus arteriosus, caudal vein, etc. from which the blood had been taken.

(2) The oxygen saturation of the mixed venous blood in the resting condition was $40.3 \pm 2.4\%$, which was approximately the same value as the one obtained from the bulbus arteriosus.

(3) The behaviors of the fish were the same as those of other fish for more than 2 months in the fishpond.

1. まえがき

魚類の鰓におけるガス交換機能を調べるにあたっては、動脈血および静脈血を連続採取する必要がある。動脈からの連続採血は、背大動脈へ細管を装着する方法が SMITH and BELL¹⁾によって考案され、その後 GAREY²⁾, HOUSTON³⁾ および SOVIO *et al.*⁴⁾などによって改良されて比較的容易になっている。一方、静脈からの連続採血は、腹大動脈⁵⁾、動脈球^{6,7)}あるいは尾静脈⁸⁾に細管を装着して行われている。しかし、これらの静脈系への細管の装着は、血管の位置を定め難いことや血管が細いことなどからかなりの困難を伴っている。

筆者は静脈からの簡単な連続採血法を確立する目的で、コイ *Cyprinus carpio* の心房へ注射針を用いずに細管を装着する方法を考案した。さらに本技法を検討する目的で、細管の装着魚を長期間観察すると同時に本法によって採取した静脈血のガス含量およびヘマトクリット値を測定し、良好な結果を得たので報告する。

2. 心房の位置

心房の位置を体外から推測する目的で、10%中性ホルマリン溶液で一昼夜固定したコイ(全長206~248 mm, 体重150~238 g) 12個体について、Fig. 1 に示した各部位を

* 水産大学校研究業績 第1089号, 1986年7月8日受理。

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1089. Received July 8, 1986.

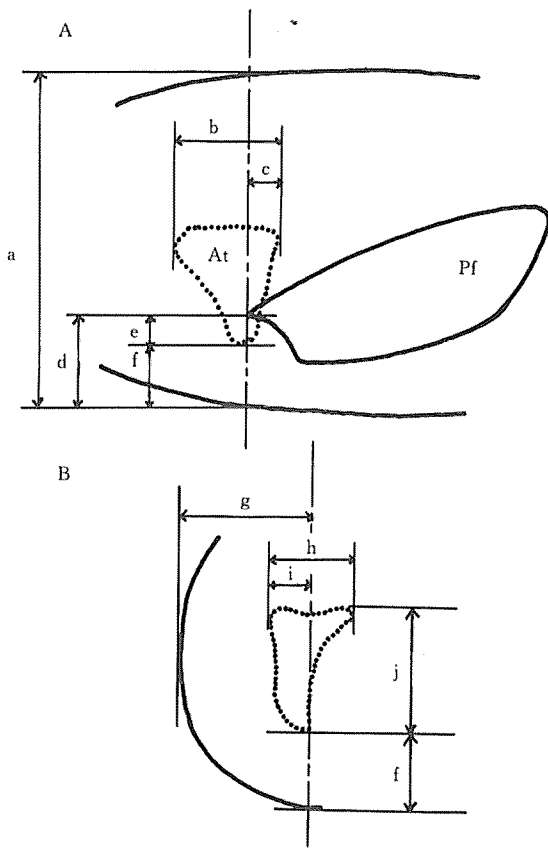


Fig. 1. Body parts measured for locating the atrium of the carp.
A, longitudinal section; B, transverse section (view from tail); a-j, parts measured; At, atrium; Pf, pectoral fin.

計測し、その結果を Table 1 に示した。

心房は Fig. 1 に示したように、魚体の側面よりみると胸鰭前端の前後に位置し、胸鰭前端より下には心房の高さ (j) の約2/5が位置しており、魚体の横断面よりみると一般に左体側に片寄っている。しかし、右体側にまで及んでいる個体や、心房の右側の部分 (c) の著しく小さい個体も一部には認められた。これらは心房に滞留している血液量に起因すると考えられる。

Table 1 Measurements of the body parts for locating the atrium in the carp. The total length was 206 to 248 mm (mean 230 mm) and the body weight 150 to 238 g (mean 173 g). Marks (a to j) are shown in Fig. 1.

Body parts	Means (mm)	Ranges (mm)
a	49.0	47.2 - 58.6
b	11.4	10.0 - 14.7
c	6.0	3.5 - 8.5
d	11.7	10.0 - 13.0
e	4.5	2.5 - 6.5
f	6.6	4.0 - 8.5
g	17.4	15.5 - 19.0
h	4.7	3.2 - 6.0
i	3.3	2.5 - 5.0
j	12.3	9.5 - 15.5

3. 手術技法

供試魚には全長207~246mm、体重150~236gのコイ11個体を用いた。魚は水槽(62×48cm、水深45cm)に1個体ずつ収容し、水温9~10℃、溶存酸素量7.0~7.5ml/lのもとで7日間飼育した後、下記の手術をほどこした。手術後の魚は同水槽に戻して24時間回復させた (Fig. 2)。

手術に先だち、先報⁹⁾に準じて長さ約50cm、外径1mmのポリエチレン細管(以降、細管と略記する)へ鋼線(直径0.018インチ、GIBSON製エレキギター第3弦)を挿入し、その先端を約1mm出したものを準備した。魚を100ppmのキナルジン溶液で麻酔した後、次の2つの方法で細管を装着した。

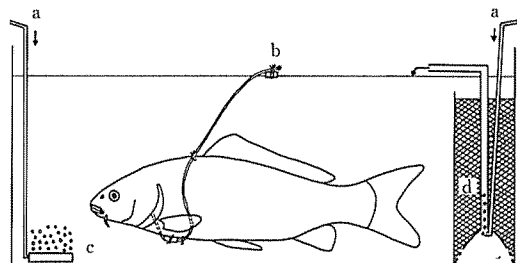


Fig. 2. An aquarium for recovery of the carp from the operation.
a, air; b, buoy; c, air-stone; d, gravel filter.

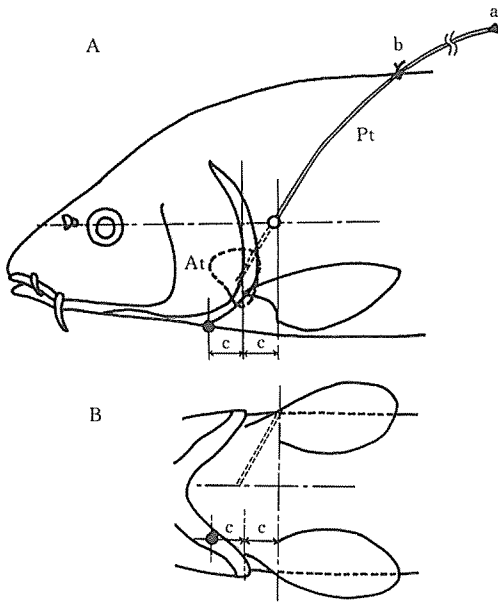


Fig. 3. The method of setting the polyethylene tube into the atrium from the lateral side of the carp (Experiment 1). A, left-side view; B, ventral view; ○, penetrating point; ●, aimed point; ←c→, same distance; At, atrium; Pt, polyethylene tube; a, tip of the tube sealed by burning; b, fixed point.

3-1. 体側からの装着

魚を腹位にして手術台上に固定し、眼を通る縦の線と左胸鰭の基部を通る横の線との交わる部分 (Fig.3Aの○印) の鱗にキリで直径約1 mmの孔を開けた。この孔より細管を数mm刺し、右胸鰭の前方 (Fig.3Aの●印) へ角度を定めて約25 mm挿入し、細管から鋼線を抜いた。心房へ細管が正しく挿入された場合には、鋼線を抜くと同時に細管内に血液が出てくる。この際に、血液は細管の先端から吹き出さないので、その先端を魚体より下げると流出してくる。次に、生理的塩類溶液を満した注射筒を細管に取り付けて血液をゆっくりと吸引して細管内の気泡を除き、再び血液を体内に戻すと同時に細管内を生理的塩類溶液で満し、細管の一部を鉗子で押えて注射筒をはずし、細管の先端を焼いて封じた。最後に、細管を魚体の背部に縫合糸で固定

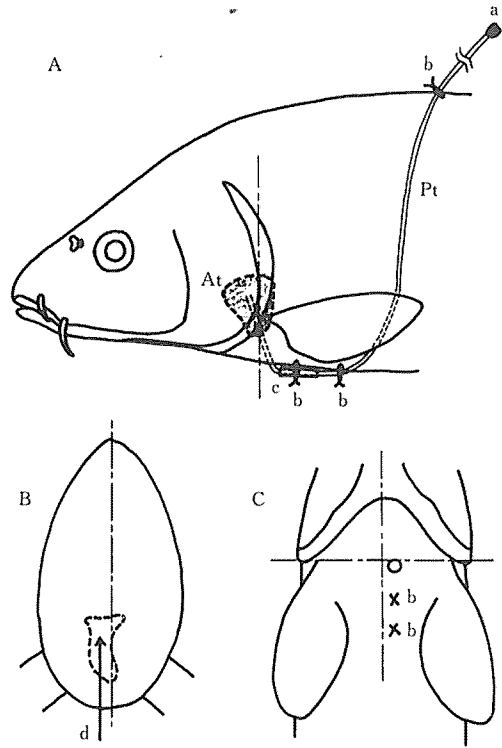


Fig. 4. The method of setting the polyethylene tube into the atrium from the ventral side of the carp (Experiment 2). A, left-side view; B, transverse section at the base of pectoral fin (view from tail); C, ventral view; ○, penetrating point; At, atrium; Pt, polyethylene tube; a, tip of the tube sealed by burning; b, fixed point; c, syringe tube (about 2cm); d, direction of the insertion.

した。この方法では、細管が体壁に長く挿入されるので、細管はしっかりと固定できる。

3-2. 腹側からの装着

この方法では、鋼線を挿入した細管に約2 cmに切ったシリコンチューブ (内径×外径; 1×2 mm) を通したものをを用いた。

魚を背位にして手術台上に固定し、腹部の皮膚の2か所 (Fig.4Cの×印) に細管を固定するために糸を通した。

左右の胸膈前端を結んだ線上で、体の中心より左体側へ約 2 mm 離れた場所 (Fig. 4 C の○印) の鱗へキリで直径約 1 mm の孔を開け、この孔より細管を数 mm 刺し、魚体の横断面からは垂直に (Fig. 4 B)、体側面からは少し頭部に向けて (Fig. 4 A) 約 15 mm 挿入した。細管内の鋼線を抜き、前項と同様に細管が心房に正しく挿入されたことを確かめた後、細管内の気泡を抜き、生理的塩類溶液で満して細管を針子で止めた。前もって準備しておいた糸でシリコンチューブと細管の上からそれぞれ一か所結んで細管を腹部に固定し (Fig. 4 A の b)、細管を焼いて封じた。この方法による心房への細管の装着は、前記の体側からの装着に比べて技術的には容易であった。しかし、体壁に入っている細管の部分が短かく、細管が大きな角度に曲がるため、細管を腹部に糸で固定する必要がある。

4. 測定および観察

手術から回復させた後、細管を介して静脈血を 0.7 ml/l 採取した (以降、この血液を静脈血と略記する)。ヘマトクリット値は毛細管法によって、全炭酸含量および酸素含量 (C_{v,O_2} , vol.%) は VAN SLYKE の検圧計で測定した。酸素飽和度 (S_{a,O_2} , %) は $S_{a,O_2} = 100 \cdot C_{v,O_2} / O_2 \text{ cap.}$ [$O_2 \text{ cap.}$; 酸素容量 (vol.%)] より求めた。

酸素容量は次のように求めた。まず、心房へ装着した細管を介して任意の量を採血した後、無給餌で 3~6 日間飼育し、種々のヘマトクリット値をもつ魚を準備した。これらの魚より約 1 ml ずつ採血し、それぞれの血液を空気で 30 分間曝気して酸素飽和させた後、ヘマトクリット値および酸素含量を前記と同様に測定し、ヘマトクリット値 (Ht, %) と酸素容量の関係式 $O_2 \text{ cap.} = 0.432 \text{ Ht} + 0.910$ ($N=25$, $r=0.985$) (Fig. 5) を求めた。この式に静脈血のヘマトクリット値を代入して静脈血の酸素容量を求めた。

測定結果は Table 2 に示した。心房へ体側から細管を装着した個体と腹側から細管を装着した個体とでは、酸素飽和度およびその他の測定項目にはほとんど差異が認められなかった。

以上の諸項目についての測定後、魚を養魚池で対照魚と一緒に 2 か月間飼育し、観察した。その結果、細管の装着魚は、対照魚と比較して遊泳、捕食などの行動に差異が全く認められなかった。

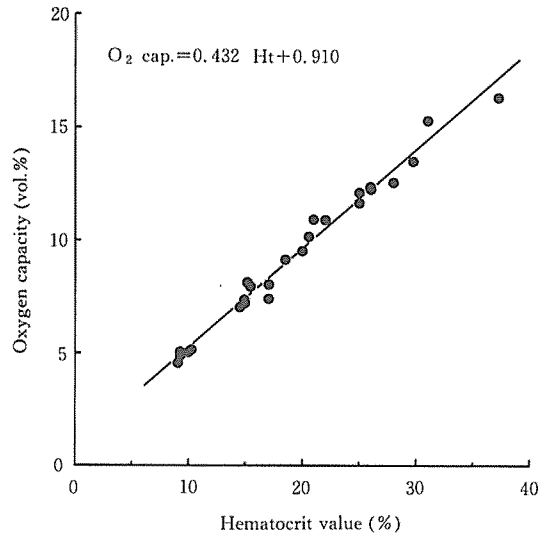


Fig. 5. Relationship between hematocrit value (Ht) and blood oxygen capacity ($O_2 \text{ cap.}$).

5. 論議

魚類から連続して静脈血を採取するには、静脈系へ細管を装着する必要がある。尾静脈への装着の場合には、尾静脈が尾動脈と隣接しているために細管の挿入は非常に困難であり、正確に挿入するためには尾柄部を切開する必要がある。腹大動脈への装着の場合には、血管が細く、開口の角度でその位置が異なるために血管の位置を定め難い。動脈球への装着の場合には、挿入する部分の太さは心室の収縮および弛緩に応じて変化する。以上のようにこれらの静脈系への細管の装着はいずれもかなりの困難を伴っている。

一方、心房は比較的大きな袋状であり、体外から位置を定め易い。したがって、心房への細管の装着は他の静脈系よりも比較的容易であると考えられる。

コイの自動中枢は洞房境界の近くおよび房室漏斗に存在する¹⁰⁾。本技法では心房のはほぼ中央に細管を挿入するので自動中枢に直接損傷を与えることはないと考えられる。

静脈血の酸素飽和度は運動および水温の上昇によって代謝量が増加した場合には低下することが報告されている^{6,8,11)}。ITAZAW and TAKEDA⁷⁾は動脈球から採血したコイ

Table 2. Hematocrit value, total carbon dioxide content, oxygen content and oxygen saturation of mixed venous blood taken from the atrium in a resting carp. Oxygen saturation was calculated by the formula shown in Fig. 5. The experiment number is indicated in Fig. 3 and Fig. 4.

No.	Hematocrit value (%)	Total carbon dioxide content (vol. %)	Oxygen content (vol. %)	Oxygen saturation (%)	Experiment No.
1	30.1	32.29	6.40	46.0	1
2	29.1	28.82	5.89	43.7	1
3	30.5	29.42	5.40	38.4	1
4	30.1	30.43	5.66	40.7	1
5	33.3	32.84	5.87	38.4	1
6	30.6	33.14	5.89	38.4	1
7	28.6	28.75	5.13	38.7	1
8	29.9	32.80	5.16	38.2	2
9	28.9	31.39	5.30	39.6	2
10	32.7	32.51	5.77	38.4	2
11	33.0	33.82	6.47	42.8	2
Mean	30.6	31.47	5.72	40.3	
SD	1.6	1.62	0.47	2.4	

の酸素飽和度は $33.9 \pm 8.5\%$ であったと報告している。本実験の値 ($40.3 \pm 2.4\%$) の方がこの値よりもわずかに大きいことから、心房への細管の装着による心臓機能へ及ぼす影響は静脈血の酸素飽和度を低下させるほど大きなものではないことが明らかである。

細管の装着魚を養魚池で2か月間観察したところ、装着魚は対照魚と行動に差が全く認められなかった。このことから、心房への細管の装着は長期間心臓機能へ悪影響を及ぼさないと考えられる。

心房への細管の装着は従来の方法に比べて技術的にも容易であり、かつコイの呼吸および循環に長期間ほとんど悪影響を及ぼさないと考える。したがって、本技術は鰓におけるガス交換機能を研究する上で十分活用できると判断した。

6. 要約

静脈からの簡単な連続採血法を確立する目的で、コイの心房へ左体側あるいは腹側より、注射針を用いずに鋼線を利用してポリエチレン細管を装着する方法を考案した。本技法は次の点で鰓におけるガス交換機能を研究する上で十

分活用できると判断した。

(1) 腹大動脈、動脈球、尾静脈などの静脈系に比べて心房が比較的大きな袋状であることから、心房への細管の装着は容易である。

(2) 本技法によって採血した静脈血の酸素飽和度は $40.3 \pm 2.4\%$ を示した。この値は既に報告されている動脈球からの値とほぼ一致した。

(3) 細管を装着した魚を2か月間養魚池で観察した結果、装着魚は対照魚と遊泳、捕食などの行動に差異が全く認められなかった。

文 献

- 1) L. S. SMITH and G. R. BELL: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **21**, 711-717 (1964).
- 2) W. F. GAREY: *J. appl. Physiol.*, **27**, 756-757 (1969).
- 3) A. H. HOUSTON: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **28**, 781-783 (1971).
- 4) A. SOIVIO, K. NYNOLM and K. WESTMAN: *J. exp. Biol.*, **62**, 207-217 (1975).

- 5) G. F. HOLETON and D. J. RANDALL: *J. exp. Biol.*, **40**, 297-305 (1967).
6) H. KOBAYASHI and K. YAMAMOTO: *J. Shimonoseki Univ. Fish.*, **25**, 197-212 (1977).
7) Y. ITAZAWA and T. TAKEDA: *Resp. Physiol.*, **35**, 263-269 (1978).
8) K. W. WATTER and L. S. SMITH: *Marine Biology*, **19**, 133-148 (1973).
9) 山元憲一: 水産増殖, **32**, 217-219 (1985).
10) 尾崎久雄: 魚類生理学講座, 第1巻血液・循環, 緑書房, 東京, 1968, pp.237-250.
11) E. D. STEVENS and D. J. RANDAL: *J. exp. Biol.*, **46**, 329-337 (1967).