

産卵溯上期サケ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド色素 に関する生化学的研究— I.

西野 一彦 委嘱 斎藤 要 委嘱 北原 直
(北海道さけ・ますふ化場) (小樽商科大学) (小樽商科大学)

Biochemical Studies of Carotenoid in the Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*)
during upstream Migration for Spawning-I.

Kazuhiko NISHINO, Kaname SAITO and Tadashi KITAHARA

The investigation of astaxanthin of chum salmon's carotenoids was carried out as to the adult chum salmon during up-stream spawning migration.

1) The quantity of astaxanthin of muscle decreased along with the growth of adult, and this tendency was especially noticeable in the female.

2) In the female, with the process of adult, the muscles' astaxanthin moved notably through the blood serum to the ovary.

3) There was just a trace of astaxanthin in the male testis, but cholesterollike components notably increased.

4) The carotenoids' quantity of skin increased in the adult salmon, and it contained more than 60 percent of lutein system pigments during complete maturation of the salmon.

5) As known, there usually occurs transformation from lutein to astaxanthin, but in the adult salmon during spawning a reverse transformation mechanism of carotenoids-producing metabolism from astaxanthin to lutein took place.

緒 言

サケ (*Oncorhynchus keta*) は我が国の重要な水産資源であるが、産卵のため河川に溯上する時期は、サケにとっては海から川に入る棲息環境の転換期であり、産卵・放精後死亡するという、その生活史における終末期でもある。この激動期には種々の生理・生態的变化が認められるが、外観的特徴の一つとして顕著な婚姻色を呈することはよく知られている。この現象は、溯上期前に筋肉に蓄積されたカロチノイド色素の代謝生産を中心として進行するものと思はれる。

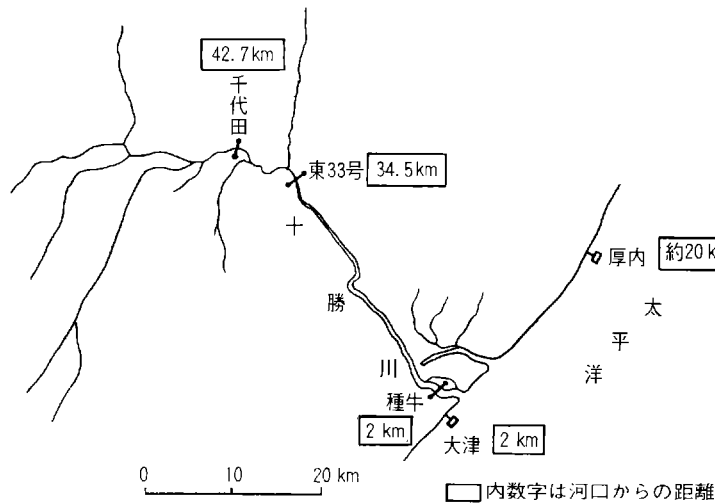
サケの筋肉色素がカロチノイド系色素のアスタキサンチン (Astaxanthin) であることは SÖRENSEN 氏等によって報告されており¹⁾²⁾³⁾、また養殖マスについては体色と餌料の関係などについて検討されているが、産卵溯上サケの成熟に伴う体色の挙動に関する生化学的研究は未だなされていないようである。

著者らは、十勝川水系に溯上するサケを実験材料として、カロチノイド系色素の挙動について追及し、同色素が成熟の進行に伴って質的にも量的にも大きな生化学的变化を示すことが明らかになったのでその結果を報告する。

実 験 の 部

実 験 材 料

実験に供したサケ (*Oncorhynchus keta*) は、1966年と1967年に各々溯上初期の9月上旬から10月下旬にわたって時期別に、北海道十勝川水系の河口帯（大津・種牛）および中流域（東35号、千代田、札内の捕獲場および蓄養池）で採集した雄雌の4年魚（平均体重約4.3kg）である（第1図参照）。同じ時期および場所における試料魚群からの実験材料の採集にあたっては、4年魚でしかも生態的諸条件（体長、体重、体色等）の類似したものを選択するよう特に留意した。



第1図 試料採集場所略図

実 験 方 法

実験材料より採集した表皮、筋肉、卵巣および精巣をドライアイスで凍結して実験室に持ち帰り細切後脱水芒硝処理をし、エタノール・アセトン混液（1：1）を用いて振盪抽出を行ない、各抽出液をロータリエバポレーターで濃縮後カロチノイド色素を少量のベンゼンに転溶し、更に水洗または鹼化によって油脂を除き、脱水後各種の標準溶媒に転溶し、日立 EPU-2 A型分光光度計で吸収スペクトルを測定した。また、色素成分の分離はアルミナおよび活性化シリカゲル（mesh 100）を吸着剤とし、0.5% エタノール・ベンゼン混液を展開剤とするカラムクロマト法によって行なった。また、アスタキサンチンの定量値はアセトン溶液の478m μ における分子吸光係数を $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2200^{(9)}$ として算出した。

実 験 結 果

I 成熟過程における筋肉アスタキサンチンの量的変化

海産のサケの筋肉は赤色を呈しているがその赤色色素の本体はカロチノイドに属するアスタキサンチンであることは SÖRENSEN 氏等⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾によって報告されている。著者らも本実験で使用したサケの筋肉よりエタノール・ベンゼン混液で分離した赤色色素成分を分析した結果、吸光曲線の形状、カラムクロマトパターン、最大吸収の位置（470m μ 石油エーテル）、結晶の融点（214°C）などからみてアスタキサンチンであることを確認した。

サケは河川を溯上する過程において肉色が褪色する事実は広く知られているが⁽⁵⁾⁽¹²⁾ 著者らはこの現象を筋肉アスタ

第1表 溯上による筋肉アスタキサン量の変化 (mg%)

	溯上初期 ※	完熟期 ※※
♂	0.547	0.036
♀	0.485	0.020

※ 種牛（9月27日）

※※ 千代田蓄養場（10月26日）

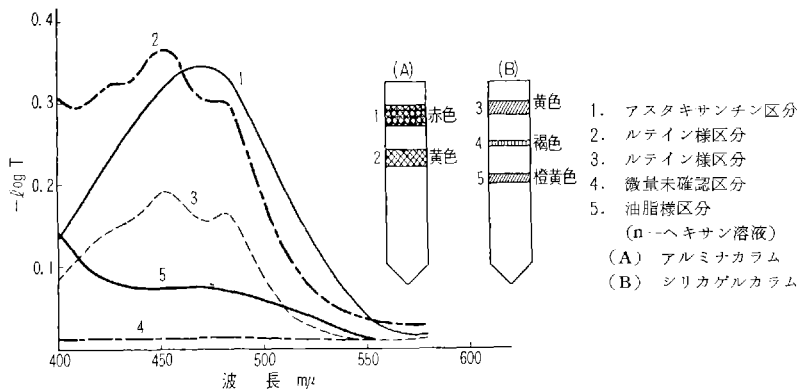
キサントンの消長と関連づけて定量的に検討した。第1表は河口帯の種牛捕獲場(1966年9月27日：溯上初期)と千代田蓄養池(1966年10月26日：完熟期)にて採集した雌雄各々5個体について測定したアスタキサンチン量の平均値を示したものである。

この結果によれば、雌雄共に成熟過程において筋肉中のアスタキサンチン量が著しく減少し、完熟期には溯上初期に比べて雄では約 $1/16$ 量に、雌では約 $1/20$ 量になっている。このように筋肉アスタキサンチンが激変する事実は、成熟の進行に伴って同成分が筋肉から他の組織へ転移する場合とか、筋肉中でアスタキサンチンが生化学的変化を受けて異種分子に転化する可能性のあることを示唆しているが、摂餌をしないこの時期における血清アスタキサンチンの増減現象⁵⁾から考えて著者らは、後者よりも前者の転移メカニズムが進行するためと推定している。

II 成熟過程における生殖腺アスタキサンチンの量的変化

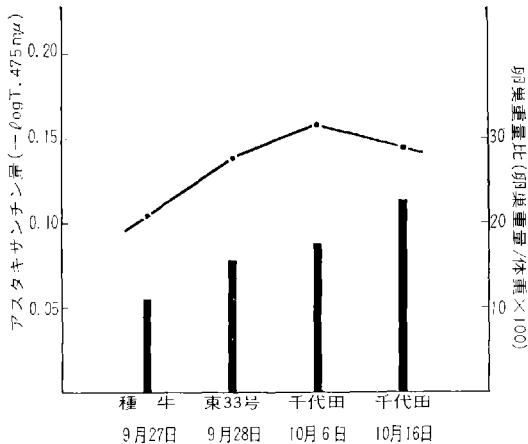
溯上サケにおける筋肉中のアスタキサンチンの転移組織としてまず考えられるものは生殖腺である。特に雌では卵巣が美しい赤色を呈しその赤色々素の本体は、吸収極大(471m μ 石油エーテル)結晶の融点(214°C)などからみてアスタキサンチンである。第2図のカラムクロマト図において(A)はアルミナカラムを吸着剤とし、0.5%エタノール・ベンゼンで展開した場合の図で、赤色(1)と黄色(2)の区分に分離している。その黄色

第2図 卵巣カロチノイドのカラムクロマトグラフィーによる分離図と吸光曲線



区分(2)を更に活性化シリカゲルカラムで再クロマトした図が(B)でこれでは3つの区分に分離した。各々のn-ヘキサン溶液における吸光曲線を第2図に併記したが、この結果からも区分5は非カロチノイドの油脂区分であると推定できるが、区分4は微量のため確認できなかった。なお、カラムクロマト法によって卵巣のカロチノイド組成を分析した結果によると、成熟過程によっ

第3図 成熟過程における卵巣のアスタキサンチン量と重量比の変化



て若干変化するがアスタキサンチンが95%以上を占めていた。次に、この卵巣アスタキサンチンは筋肉に由来すると言う考えの妥当性を知るため、成熟過程における卵巣アスタキサンチン量の変化について検討した。即ち、第3図は成熟度合の異なる試料魚(雌5個体)について測定して得た卵巣の体重に対する重量比(卵巣重量/体重×100)と、アスタキサンチン量の相対値(エタノール10倍量抽出液の475 m μ における吸光値)の時期的変化を示したものである。この結果によれば体重に対する卵巣の重量比が、完熟期には溯上初期の約2倍に増大している。一方卵巣の単位重量当りのアスタキサンチン量は、溯上過程において増加し蓄養完熟期に近づくると減少の傾向を示している。

しかし、卵巣の重量比は、完熟期に近づいてもな

お増加することより卵巣組織全体のアスタキサンチン絶対量は、成熟過程の進行に伴って増加するものといえる。即ち、溯上期には餌料からのカロチノイドの補給はないのであるから、このような卵巣アスタキサンチン量の増加は筋肉アスタキサンチンが血清を介して卵巣への転移蓄積に由来する現象⁵⁾と推定し得る。雌の卵巣に対し雄の精巣は白色であり、従って雄の場合は外観的にも多量のアスタキサンチンが含有されていることは考えられない。しかし成熟期にある精巣を注意深く観察すれば、精巣膜付近に僅かではあるが紅色を呈していることが多いのである。そこで精巣のエタノール抽出物について各種溶媒における吸光曲線の形状、吸収極大の位置などを検討した結果、精巣にも微量のアスタキサンチンの含有されることが判明した。

第2表は完熟期（1967年、10月27日）の雌雄各々5個体について測定した性腺のアスタキサンチン量と重量比の平均値を示したものである。

この結果によると、精巣中のアスタキサンチン量は卵巣にくらべて極めて微量で、両者の性腺重量比を考慮すれば卵巣は精巣の約350倍となる。即ち、溯上過程においては雌雄共に筋肉中および血清中のアスタキサンチンは類似した量的変化を示す⁵⁾にもかかわらず性腺アスタキサンチン量には大差が認められるのである。この事実から、雌雄間では筋肉アスタキサンチンの血清から性腺への転移機構は異なるものと推定され、雄では筋肉のアスタキサンチンが性腺よりも他の組織へ多く転移する可能性、或いはアスタキサンチン分子が性腺膜で生化学的変化を受け異種分子に転化する可能性を示唆している。もし後者の反応が進行するとすれば、精巣中には卵巣と異なるアスタキサンチンの転化生成物の存在することも考えられるので、精巣および卵巣のエタノール抽出液について可視部と紫外部の吸光曲線を求めてみたがその結果を第4図に示した。

これによると精巣と卵巣のエタノール抽出物の紫外部吸光曲線には特異性のあること、特に精巣には顕著なコレステリン様の吸収を示す成分が多量存在することは明らかである。この事実は誠に興味ある現象で、本成分の同定とアスタキサンチン消長との関係、並びにその生化学的意義については目下検討中である。

III 成熟過程における表皮カロチノイドの量的および質的变化

溯上期のサケにみられる外観的特徴の一つは体色の变化である。一般に海洋および河口帯でとれるサケは「ギン」と称し、外洋産のものと同様グアニン系の色相をしているが、これが溯上成熟するに従い黒色の度合いが強くなり部分的に赤色、黄色、緑色のみられる所謂婚姻色を呈するのである¹²⁾。このような体色の变化も成熟に伴う体内カロチノイド色素の組織間転移に基づく現象と考え、次に表皮について分析を試みた。

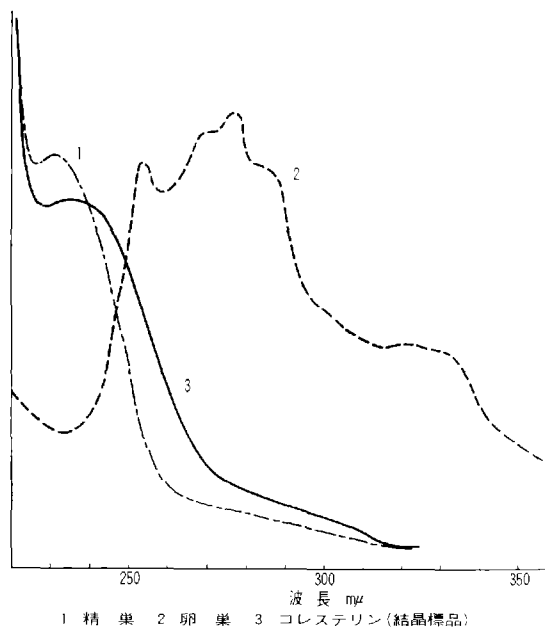
1) 表皮カロチノイドの吸光曲線

溯上過程（1967年9月25日：採集地、千代田）にあるサケの表皮から得たアセトン・エタノール混液抽出物を、ベンゼンに転溶して得た吸収曲線を第5図に示した。この結果から表皮は前述の筋肉、血清、卵巣および精巣などとは著しく異なる曲線を示すことが理解される。即ち、後者の場合はアスタキサンチンの吸収極大ベンゼン溶

第2表 完熟期における性腺のアスタキサンチン量と重量比

	アスタキサンチン量 (mg%)	重量比
♂	0.008	7
♀	0.675	28

第4図 精巣および卵巣エタノール抽出液の紫外部吸光曲線



産卵溯上期さけ (*Oncorhynchus keta*) の体カロチノイド色素に関する生化学的研究—II

液で 474m μ 付近)を示すのに対し、表皮では 485m μ と 455m μ 付近にピークが認められるのである。この事実より表皮には、アスタキサンチン以外のカロチノイドの存在することが推定できる。

2) 表皮カロチノイド量の変化

体色の婚姻色化は表皮カロチノイド量の増減に関係のある現象と考え、次に成熟程度の異なる試料魚について同色素量の消長を検討した。なお成熟期にあるサケでは体色が一樣でなく、斑紋状を呈することが多い。魚体より全表皮を剥離することが困難なサケのような大型魚では、同一個体でも採集部位によってカロチノイド量に差異のあることも考えられる。そこで著者らは表皮カロチノイドの定量に先立って部位的差異を種々検討したが、その結果の一部を第3表に示した。これよりも雌雄共に背部と腹部とではかなり含量の異なることが理解される。

第3表 完熟期における表皮カロチノイドの部位による差位

測定波長	455 m μ	485 m μ
♂ 背部	0.69 [※]	0.67 [※]
♂ 腹部	0.42	0.41
♀ 背部	0.33	0.32
♀ 腹部	0.17	0.16

※ 試料の4倍量抽出液の吸光値

第4表 成熟過程における表皮カロチノイド量の変化 (mg%)

	海産 [※]	溯上期 ^{※※}	完熟期 ^{※※※}
♂	0.04	0.23	0.94
♀	0.03	0.18	0.65

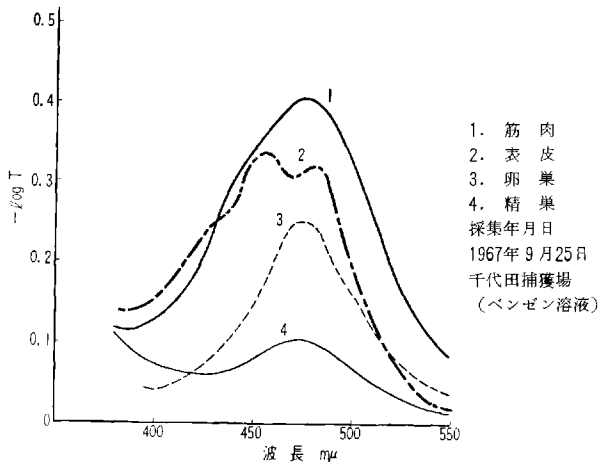
※ 1967年 北洋産

※※ 1967年 9月25日 千代田捕獲場

※※※ 1967年 10月27日千代田蕃養池

このような結果に基づき、本実験では採集部作を側線中央部位近の背部と定め、それを個体および個体群間の比較試料とした。第4表は千代田捕獲場(9月25日)と千代田蕃養池(10月27日)にて採集した雌雄5個体と、溯上前(海産)の2個体について測定した表皮カロチノイド量の平均値を示したものである。この結果によれば、成熟過程において表皮カロチノイド量に著しい変化のあることは明らかで、完熟期には雌雄共に溯上初期の約20倍となっており、しかも雄の表皮が雌よりカロチノイド含量が多いのである。溯上過程においてサケは殆んど餌料を取らないことを考えれば、これらの事実は既存の体内カロチノイドが成熟の進行に伴って表皮に移行したことを示している。また、雌雄間にみられる完熟期の表皮カロチノイド転移量の差は、性腺のアスタキサンチンの転移量にみられる雌雄間の差異と関連あるものと推定される。しかし、実際の魚体について婚姻色を見ると、外観的には雌雄の色相に分析値にみられるような差があるとは思えないのであるが、これは婚姻色の呈色物質としてカロチノイド以外にメラニン色素が共存するためであろう。

第5図 表皮、筋肉、卵巣および精巣カロチノイド区分の吸光曲線



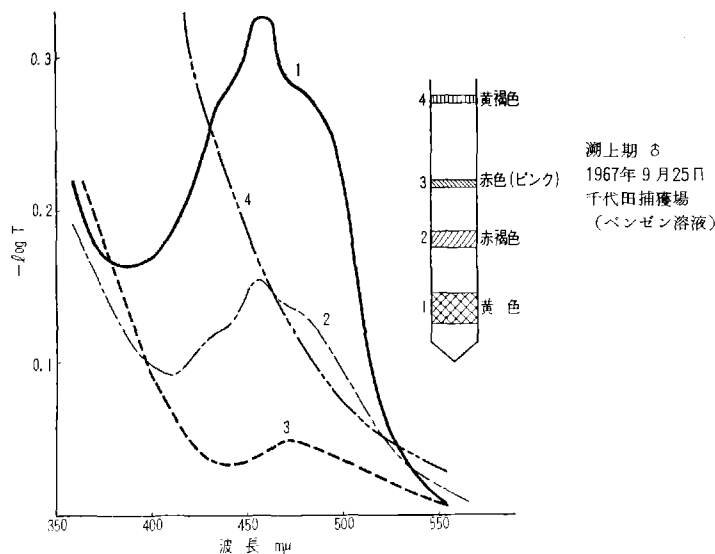
3) 表皮カロチノイドの質的变化

第5図より成熟過程にあるサケの表皮には、筋肉などと異なりアスタキサンチン以外の色素が存在すると推定されるのであるが、次にカラムクロマトグラフィーによって表皮カロチノイドの質的变化について検討した。第6図は溯上期のサケ(9月25日、千代田捕獲場)の表皮より分離したカロチノイドのクロマト図と吸光曲線である。クロマト図にみられる4種の色素帯を溶離し各々についてベンゼン溶液における吸光値を測定した結果、これらの区分のうち黄色の区分1は、434—439m μ にふくらみを、458m μ に最大吸収を、また478—482m μ にショルダーを有しており、またピンクの区分3は、486m μ に単一の吸収極大を有しており、これらの吸光曲線の型、吸

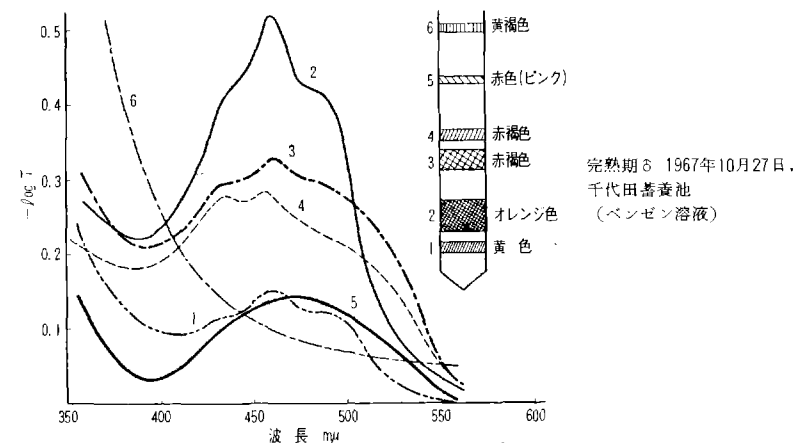
収極大の位置，カラムクロマトグラフィーの吸着部位および色調などから区分1はルテイン，区分3は，アスタキサンチンと同定した。

次に完熟期のサケ（10月27日，千代田養魚池採集）の表皮では，第7図に示したような結果が得られた。このクロマト図によると6種の色素帯が認められることは，成熟の進行に伴って表皮の色素組成が複雑化することを示している。これらの区分について前述のような諸性質を検討したところ，区分1と2はルテインであり，また区分5はアスタキサンチンと同定した。第6図の区分2と第7図の区分3および区分4は何れも類似した吸光曲線を示す色素であるが，魚皮中に発見されているカラゴキサンチン（Carango-xanthin）ツナキサンチン（Tuna-xanthin）アンチョビキサンチン（Anchovy-xanthin）などより吸収

第6図 表皮カロチノイド区分のカラムクロマトグラフィーによる分離図と吸光曲線



第7図 表皮カロチノイド区分のカラムクロマトグラフィーによる分離図と吸光曲線



極大は短波長側にかたよっており，著者らはルテインの epoxy-type のフラボキサンチン（Flavoxanthin）様色素ではないかと推定しているが，平尾氏⁹⁾によれば魚類カロチノイドには epoxy-type は検出されないとのことである。その同定については目下検討中である。なおクロマト展開中の当初には，区分4の上に赤褐色の区分が認められたのであるが，展開中に区分4に収斂するので区分4は2成分の混合区分とも推定されるが，多くのカロチノイド分子には Cis, Trans の異性体もあって複雑であるからクロマト図の色素帯数と色素の種類との関係については尚慎重な検討を要する。また両クロマト図の最上部，即ち区分4と区分6からは，カロチノイド色素は検出されなかったことからこれは油脂区分と推定される。

以上の結果よりサケ表皮のカロチノイド組成は，筋肉，血清，卵巣の場合と異なり成熟の進行に伴って質的に複雑化することは明らかであるが，完熟期に検出されるカロチノイドの多くはベンゼン溶液では約460nmに吸収極大が認められることよりその吸光値から分子吸光係数を2200として各区分の相対濃度比を求めたところ，同期には表皮全カロチノイドの60%以上がルテイン系の黄色々素であるという結果が得られた。

これらの事実を考えると、佃氏等⁷⁾が18種の魚皮カロチノイドの吸光曲線を検討して得た結果から、吸光曲線を三つの型に分類しそれと魚種とを関連づけて考察している点に疑問を感ずる。即ち表皮のカロチノイドの吸光曲線は、魚種によって一定のものではなく成熟過程などによって変化する場合のあることは本実験の結果からも明らかで、表皮カロチノイド組成の種特異性についてはこれらの点についての考慮または検討が必要と思はれる。

考 察

カロチノイドは動物体の普遍的成分の一つであるが、動物にはそれを合成する能力がないことから体カロチノイドの組成は摂取した餌料カロチノイドの代謝特異性によって決定するものと考えられる。河川に入ったサケは索餌をせずに溯上することから、この時期には体外からのカロチノイドの補給はなく、索餌中止以前に蓄積された体内カロチノイドを中心として、転移とか代謝生産が行なわれると推定できる。この場合蓄積カロチノイドの独占的成分はアスタキサンチンであり、また蓄積組織の主体は筋肉で、成熟の進行に伴って筋肉アスタキサンチンが血清を介して性腺と表皮に転移することは著者らの実験結果から明らかである。しかし性腺への転移は雌では顕著に認められるのに対して、雄では痕跡程度である。従って雄の場合は精巣よりも他の組織へ多く転移する可能性も考えられるが、事実完熟期における表皮のカロチノイド量は雄の方が多いためである。しかし雌雄間における筋肉、性腺、表皮のカロチノイド含量比を総合的に検討すると、雄ではなお未知の転移あるいは転化機構の存在することも推察されその可能性を示唆する事実として著者らは、精巣の成熟過程におけるコレステリン様成分の特異的な増大を認めた。即ち精巣ではアスタキサンチン分子が生化学的変化を受けて異種分子になる可能性を考えているが、この点については日下検討中である。

表皮中のカロチノイド量は成熟の進行に伴って増加すると共にその組成は筋肉、血清の場合と異なり複雑化し、溯上初期にはアスタキサンチンが独占的成分であったが、完熟期の表皮では60%以上がルテイン系色素に転化している。即ち成熟度合の進行によってアスタキサンチン系色素がルテイン系色素に変化するのであるが、この間においてサケは餌料を取らないことからこのルテイン系色素は生化学的にアスタキサンチンが還元されると同時に、 γ -carotinering から β -carotene-ring に変化して生成したものと推定される。

Astaxanthin \longrightarrow Lutein



このような転化反応が行なわれる組織として著者らは、一応肝臓や腎臓を予想してこれらの組織におけるカロチノイド色素の挙動について酵素的あるいは自発的反應機構の有無を検討しているが、現在のところ否定的な結果しか得られていない。

魚類における体色と餌料との関係についての従来の研究結果をみると、表皮のアスタキサンチン系色素の由来を餌料中のルテイン⁸⁾あるいはアスタキサンチンの転化または転移機構⁹⁾を主体として論ぜられている。また動物は摂取したカロチノイドをただ酸化によってエポキシイド、カルボニルカロチノイド、ヒドロキシカロチノイドに転換することができるのみであるとの報告¹⁰⁾もあるが、本実験の結果によれば逆にアスタキサンチンからルテインへの転化機構が成立していると推定され、このことは表皮が代謝最終生産物の蓄積組織でもあるという機能と関連づけて考えると、溯上期のサケにみられる注目すべき現象とも考えられる。

サケ・マス類におけるカロチノイドの生理作用については卵の受精、発生を主体とした研究がなされているが、その必須性については未だ定説はないようである。即ち SÖRENSEN 氏¹¹⁾はニジマス卵巣中のアスタキサンチンが、受精の際精子の運動を活性化作用のあることを認めているに対し、STEVEN 氏¹²⁾はブラウンマスでは卵巣のカロチノイドの90%を除去しても発生した幼魚はやや小型で、クロモフォアがごく少いという点を除けば他の点では異常はなかったと報告しており、またニジマスの卵巣においても色素の種類、濃度と発眼率、浮上率などとは直接関係はないらしいとの見解もあってなお不明な点が多いようであるが、成熟過程において筋肉のアスタキサンチンが精巣よりも卵巣に特異的に多量転移するという本実験の結果から考えて、アスタキサンチンは卵の機能上において、何らかの生理的意義を有するものと推察される。一方魚類の表皮に含む固有のカロチノイドの吸光スペクトルが、その棲息環境における自然光のスペクトルとほぼ一致することや、カロチノイドは背部に多く腹部に少ないことなどから、一般にカロチノイドは魚類の生活時における光感能に関与しているものと考えられる。溯上過程にあるサケでは体内カロチノイドの質的变化の伴う表皮への転移作用と、メラニン系色素の

表皮における挙動によって婚姻色を呈し、これが溯上および産卵環境に対する体色の保護色的効果をもたらしていることは確かであろう。前述の如く、本実験に供したサケは棲息環境の激変期（海→河）を経て産卵・放精後死亡するという生活史の終末期にあることから、その体内では種族保存の本能に伴う複雑な生理・生態的变化が短期間に進行していると考えられるが、このことは体内のカロチノイドの挙動という生体の一側面を検討した本実験からも理解できるであろう。

総 括

十勝川水系に溯上するサケを試料として、成熟過程における体内カロチノイドの転移と代謝生産について検討し次の結果を得た。

- 1) 筋肉のアスタキサンチン量は雌雄共成熟の進行に伴って減少し、完熟期には溯上初期の $1/10 \sim 1/20$ 量となるが、雌が雄よりも大なる減少率を示す傾向がある。
- 2) 成熟の進行に伴って、雌では筋肉アスタキサンチンが血清を介して性腺への転移が顕著である。一方精巢のアスタキサンチン量は痕跡程度であるが、その成熟過程において特異的なコレステリン様成分の増大することを認めた。
- 3) 表皮中のカロチノイドは成熟の進行に伴って増加すると共に質的に複雑化し、完熟期の表皮カロチノイドは60%以上がルテイン系色素よりなる。
- 4) 成熟過程のサケでは従来知られている動物体におけるカロチノイドの代謝生産とは逆の機構、即ちアスタキサンチンからルテインへの転化機構が成立している。

本研究を行なうに当り御協力をいただいた日本水産資源保護協会、日本サケ・マス資源保護協会、北海道サケ・マス増殖事業協会、十勝支場および海産の試料を提供していただいた小樽水産高等学校長、飯田毅氏に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) N. A. SØRENSEN: Z. Physiol. Chem., **235**, 8 (1935)
- 2) D. M. STEVEN: J. Exptl. Biol., **25**, 369 (1948)
- 3) 金光庸俊・青江弘: 日水誌, **24**, 209 (1958)
- 4) ————: 同上, **24**, 555 (1958)
- 5) 西野一彦・斎藤要: 本誌, **23**, 9 (1968)
- 6) 平尾秀一: 日水誌, **33**, 866 (1967)
- 7) 佃信夫・天野慶之: 同上, **32**, 334 (1966)
- 8) 平尾秀一・菊地嶺・田口脩子: 同上, **29**, 371 (1963)
- 9) 金子徳五郎・石井清之助・西出一彦: 日水会年会講演 (1967)
- 10) 原島圭二・油化学, **16**, 491 (1967)
- 11) D.M. STEVEN: J. Exptl. Biol., **26**, 295 (1956)
- 12) 西野一彦: 本誌, **21**, 35 (1967)