

論文審査の結果の要旨

氏名：石川孝典

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：高濃度アスコルビン酸投与によるサケ科魚類の疾病予防法の開発

審査委員：(主査) 教授 小島隆人 (副査) 教授 中西照幸
(副査) 教授 塚本勝巳 (副査) 准教授 高井則之

本論文は、ニジマスを主とするサケ化魚類の疾病予防法として、高濃度アスコルビン酸（AsA）投与法の副作用の確認、最適投与条件の決定、ストレス耐性向上効果、抗病性向上効果、および抗病性向上効果機構の解明、に取り組んだものである。

副作用の確認では、100～5,000mg/kg diet の濃度で AsA を展着させた市販飼料(100～5,000AsA 試験飼料)をニジマスに 100 日間にわたり給餌を行った。結果として、成長に異常はなく、5,000mg/kg を与えた区でも非特異的な免疫活性は有意な増加活性を示し、高水温ストレスに対しても高い耐性が認められるなど、高濃度の AsA 投与による副作用は無いものと判断された。

最適投与条件の決定では、5,000AsA 試験飼料をサケ科魚類 3 魚種に給餌し、AsA の組織蓄積量を指標に最適投与条件を決定した。投与開始後、いずれの魚種でも肝臓組織では AsA の蓄積増加が確認された。そして AsA を展着していない市販飼料（対照飼料）に切り替えたところ、対照飼料のみの区と比べ 1 週間は有意に高い値が認められた。ニジマスでは、5,000AsA 試験飼料を与えて 1 週間で肝臓蓄積量は最大値を示し、以後減少する傾向が認められたことから、7 日間投与した後 7 日間投与休止期間を挟む間欠投与方法が、最も効率的な投与設定であるものと判断された。

そこで、最適投与条件で決定した 5,000AsA 試験飼料を 7 日間投与した魚体を用いて、各種ストレス要因に対する耐性試験を行った。結果として、高水温および低酸素に対する耐性向上効果が認められた。両ストレスは、サケ科魚類養殖生産において特に夏季に問題となる要因であり、特に同時期における魚体のストレス減退の手法として有効であるものと考えられた。

更に、同投与方法による抗病性向上効果について、サケ科魚類養殖で問題となっている伝染性造血器壊死症（IHN genogroup U(低病原性), genogroup JRt(高病原性))、サケ科魚類ヘルペスウイルス病（OMVD）、 β 溶血性レンサ球菌症（レンサ）、および水腫症に対する有効性について、人為感染実験による生残性から解析した。結果として、IHN（高病原性）およびレンサにおいて有意な効果が確認された。また、水腫症も高濃度 AsA を投与し、更に注水量を多くした区において有意な生残効果が認められた。この中で、IHN（高病原性）は東日本地域で最もサケ科魚類養殖において大きい被害をもたらしているウイルス病であり、本申請研究で確認された 5,000AsA の投与による

として期待される。一方、IHN 低病原性株および OMVD においては有意な効果は確認されず、高濃度 AsA 投与法は感染症の種類や病原体の系統によって有効性が異なることも明らかとなった。これは、AsA をはじめとした魚類の免疫賦活剤の効果が、生産現場において安定性に欠ける理由を見出した成果ともいえる。

最後に、5,000AsA 試験飼料の投与機序について解析を進めた。特に IHN などのウイルス病に対して効果が認められたため、抗ウイルス因子として報告されている IFN γ が高濃度の AsA 投与に伴い産生量が増加するか検討を行った。すなわち、IFN γ の測定系を構築した後、これまでと同一手順で 5,000AsA 試験飼料をニジマスに与え、経時的に血液や臓器を採取して IFN γ の血中濃度や産生細胞の動態を解析した。結果として、AsA の投与開始 1 日後には有意な IFN γ の血中濃度の増加が確認された。また、特に脾臓や鰓組織において発現細胞の増加が確認され、高濃度の AsA 投与により抗ウイルス因子の一種である IFN γ の発現・産生が亢進し、抗ウイルス活性が増強されているものと考えられた。

本研究では、上記成果をとりまとめ、養殖生産現場に普及させるために採算性の面を含む提言まで行っており、実用研究として価値ある報告となっている。また、副作用の確認および抗病性向上効果については、査読付きの原著論文として 3 編 が既に掲載されており、学術的意義もあると判断される。よって本論文は、博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 26 年 6 月 9 日