

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Indri Afriani Yasin
審査委員	主査 三浦 猛
	副査 橘 哲也
	副査 松本 由樹
	副査 深田 陽久
	副査 三浦 智恵美

論文名 Effects of functional polysaccharides derived from insects on cultured prawns  
(昆虫由来機能性多糖の養殖エビに対する効果に関する研究)

### 審査結果の要旨

甲殻類の養殖は、アジア圏を中心に盛んに行われており、特にバナメイエビ (*Litopenaeus vannamei*) をはじめとするエビ類養殖の生産は、近年拡大を続けている。閉鎖水域で行われる養殖は感染症の発生が大きな問題となるが、特に無脊椎動物であるエビ類は獲得免疫を持たないため、感染症対策としてワクチンを使用することができず、魚類養殖以上に疾病対策が困難となっている。エビ類の疾病のうちビブリオ症は、大量斃死を招くことがあり、養殖生産への影響は深刻である。エビ類養殖の疾病対策は、ワクチンによる対策が不可能なため、抗生物質等の薬剤投与が主流となっているが、多剤耐性菌の発生等、環境へ与える影響は深刻である。このことから環境負荷の少ない疾病対策の確立が急務となっている。

昆虫には、各種動物に対する様々な機能を示す物質が含まれることが知られている。申請者らの研究グループは、これまでウリミバエ (*Bactrocera cucurbitae*) およびヤママユ (*Antheraea yamamai*) に、強い免疫賦活化能を有する酸性多糖が含まれていることを発見した。しかしこれらの昆虫種は、人為的に生産はされているものの、生産量は少なく、養殖に利用するのに必要な量を確保することは困難である。そこで、世界的に生産量の多いカイコ (*Bombyx mori*) のサナギに、免疫賦活化能を有する機能性多糖が含まれているか否かを調べた。その結果、カイコサナギにもウリミバエおよびヤママユと同様、免疫賦活化能を有する物質が存在することが明らかとなった。この免疫賦活化能を有する物質の単離・精製を試みた結果、同物質は9種類の単糖から構成される分子量1,150,000の高分子酸性多糖であることが明らかとなった。この多糖を「シルクロースBM」と命名した。シルクロースBMの作用機序を、マウス好中球由来のRAW264細胞を用いて調べたところ、自然免疫系を向上させることが明らかとなった。この機能性多糖は、その作用機序から、様々な感染性の疾病に対して効果があるものと推察された。

シルクローズBMのエビ類 vibrio 症に対する効果を、クルマエビを用い、高病原性の *Vibrio penaeicida* による強制感染試験により調べた。強制感染試験に先立ち、*V. penaeicida* の感染条件の検討を行ったところ、菌液への浸漬により7日間で斃死する条件を決定することができた。シルクローズBMを0.0125, 0.25, 5 $\mu$ g/gの各濃度で含む飼料を給餌したバナメイエビ、およびシルクローズBMを含有するカイコサナギ粉末を0.001%, 0.01%および0.1%の各濃度で含む飼料を給餌したクルマエビに対し、先に検討した条件で*V. penaeicida*の強制感染を行い、その生残率の経時変化を観察した。その結果、シルクローズBMを含まない対照区のエビでは、*V. penaeicida*の強制感染後、クルマエビでは17日、バナメイエビでは12日で、全ての個体が死亡したのに対し、シルクローズBMを経口投与したバナメイエビの実験区では、0.0125 $\mu$ g/g 投与区では90.1%、0.25 $\mu$ g/g投与区では89.5%、5 $\mu$ g/g投与区では100%の個体が生残し、カイコサナギ粉末を経口投与したクルマエビでは、0.001%の投与で73.1%、0.01%の投与で76.9%および0.1%の投与で76%の個体がそれぞれ生残した。これらの結果は、シルクローズBMがエビ類の自然免疫系を活性化し、vibrio 症に対して耐性を付与したことを示しているものと考えられた。

シルクローズBMのエビ類への経口投与は、耐病性の付与以外にも様々な影響を与えることが認められた。

シルクローズBMの経口投与は、エビの成長を促進した。シルクローズBMを1ヶ月間経口投与したバナメイエビの体重を測定したところ、シルクローズBMの濃度依存的に成長が促進され、0.25 $\mu$ g/g投与区で有意に成長率が向上した。

シルクローズBMの経口投与は、エビの筋肉の硬さに影響を与えた。シルクローズBMを経口投与したバナメイエビの筋肉を弾性測定装置により弾性強度を測定したところ、シルクローズBM0.25 $\mu$ g/gを経口投与したエビの筋肉では、弾性強度が増加した。弾性強度は、「歯ごたえ」を示す指標であり、弾性強度の増加は、食味の向上に関係するものと考えられた。

シルクローズBMの経口投与は、肝臓の組織にも影響を与えた。シルクローズBMを経口投与したバナメイエビの肝臓の組織を形態学的に観察したところ、シルクローズBM0.25 $\mu$ g/gの経口投与により肝臓中のB細胞とR細胞の数が有意に増加した。B細胞は脂質の消化・吸収に、R細胞は栄養の吸収、代謝および貯蔵に関与することが知られている。シルクローズBM投与によるこれらの肝臓の組織学的変化は、バナメイエビの消化吸収能が向上したことを示しており、これらの変化が、シルクローズBMによる成長促進および肉質の向上につながっているものと考えられた。

以上本論文では、カイコが含有する免疫賦活物質の単離・同定を行うとともに、同物質の免疫賦活機構の一部を解明した。また、同物質が、養殖エビ類の免疫系を活性化し耐病性を付与することを明らかにした。さらに、同物質は、免疫系に限らず、その他の生理活性にも作用し、成長促進および肉質の向上にも影響を与えることが示された。この様に本論文は、豊富な実験データから、養蚕の副産物であるカイコサナギに対し付加価値の高いエビ養殖用の飼料原料としての新しい利用方法を提言することができた。このことは、本研究が、世界的規模で行われているエビ養殖業の発展に対し貢献度の高い極めて価値のある業績であることを示している。

本論文に関する公開審査会は、令和2年7月31日にリモートシステムを利用して開催され、申請者の論文発表と適切な質疑応答が行われた。引き続いて行われた学位論文審査会で、本論文の内容を慎重に審議した結果、審査委員全員一致して、Indri Afriani Yasinに対し、博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定した。