

ネオヘテロボツリウム寄生による貧血症状ヒラメの 生体防御機能の測定

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-06-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 森田, 哲男, 山田, 達哉, 塩澤, 聡 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014717

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



ネオヘテロボツリウム寄生による貧血症状ヒラメの生体防御機能の測定

森田哲男・山田達哉・塩澤 聡
(小浜栽培漁業センター)

ネオヘテロボツリウム *Neoheterobothrium hirame* は、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の鰓または咽頭に特異的に寄生する吸血性単生虫である¹⁾。寄生されたヒラメは、本虫の吸血により顕著な貧血症状を示し、鰓や肝臓の褪色および血液性状の異常を呈することが知られている²⁾。貧血状態のヒラメは血液中の溶存酸素量が減少しやすいため人為的ストレスに弱いと考えられ、活魚での流通に適していないだけでなく、食感が悪くなるため市場価値は低下する。また、天然海域においても免疫能力が落ちていることが考えられ、感染症などを発症しやすくなっていると推察される。しかし、天然海域におけるこれらヒラメの免疫能力、つまり、生体防御能力を計測した事例は見当たらない。

そこで、本試験ではネオヘテロボツリウムの寄生したヒラメの貧血状態をヘマトクリット値等で計測し、これらの違いによる生体防御能力を調査した。

材 料 と 方 法

供試魚および試料の作成 供試魚は、2002年12月16日に、福井県小浜市の小浜湾内で底曳網漁業により漁獲された天然または放流1歳魚24尾を用いた。年齢の推定は全長により行い、漁獲されたヒラメの内、150～250mmの個体を1歳魚とした。小浜栽培漁業センター搬入後、無眼側色素異常の有無により天然魚、人工魚を区分し、さらに全長、体長、体重、鰓または咽頭に寄生しているネオヘテロボツリウム数を計数した。翌日17日にヘパリンを含んだ1ml注射器により尾静脈から血液を採取し、採取した血液の一部はヘマトクリット管に入れ、遠心分離機により処理(5M×12,000G)した後、ヘマトクリット値(以下、Ht値)を計測した。ヒラメには麻酔をせず迅速に処理し、採血量は0.8mlを目安にした。Ht値の測定は2回行い平均値を求めた。残りの血液は、生体防御能力の指標としてリゾチーム活性およびレクチン活性の測定に供するため、遠心分離機で血漿を分離(15M×3,000G)後、-80℃で冷凍保存した。

リゾチーム培地の調整 既報³⁾に従い、pH6.5に調整した32mM KH₂PO₄と32mM K₂HPO₄の混合液に1%アガロース(DIFCO)と0.1g/100mlの *Micrococcus luteus* (Sigmaの乾燥粉末)を懸濁させ、オートクレーブで滅菌処理後、10mlずつシャーレに分注してリゾチー

ム活性測定平板培地(以下、リゾチーム培地)とした。

活性の測定 リゾチーム活性の測定は、ストローで直径4mmの正円穴を開けたリゾチーム平板培地に自然解凍した血漿10μlを注入し、37℃で72時間インキュベート後の溶菌円の面積を計測する方法で行った。レクチン活性は、既報³⁾に従い、希釈体液の2倍希釈系列(25μl)をマイクロプレート上で作製し、燐酸緩衝液(PBS)で洗浄した5%ウサギ赤血球25μlを加えてプレートミキサーで10秒間攪拌後、25℃で24時間静置して凝集反応の有無を観察し、凝集反応が生じる最大希釈値とした。それぞれの活性の測定は2回行い、平均値を求めた。

結 果

測定に供したヒラメは平均全長185.0mm(160.0～223.0mm)、平均体重51.6g(32.8～82.0g)であった。また、24尾のうち放流魚は5尾であった。天然魚は、平均全長185.0mm(133.0～223.0mm)、平均体重50.0g(19.9～82.0g)であり、19尾中17尾でネオヘテロボツリウムの寄生が確認され、平均寄生虫数は7.0個体(0～25個体)、平均Ht値は8.3(2～15)であった。一方、放流魚は、平均全長183.6mm(170.0～200.0mm)、平均体重57.5g(42.0～65.5g)であり、全ての個体でネオヘテロボツリウムの寄生が確認され、平均寄生虫数は10.0個体(1～19個体)、平均Ht値は2.9(1～5)であった。天然魚と放流魚の違いによる寄生虫数およびHt値に有意な差は認められなかったため、以下の結果では両者をまとめて示した。

全個体におけるネオヘテロボツリウム寄生数(y)とHt値(x)には、 $y = -1.01x + 14.83$ ($R^2 = 0.30$)の関係式が得られ、Ht値は必ずしもネオヘテロボツリウム寄生数に影響されなかった。

リゾチーム活性は、 462.7mm^2 (284.1～639.4mm²)であった。ネオヘテロボツリウム寄生数とリゾチーム活性の関係を図1に、またHt値とリゾチーム活性の関係を図2に示した。両者の関係式は、それぞれ以下のようになった。

$$y_1 = -8.37x_1 + 526.58 \quad (R^2 = 0.34)$$

$$y_1 = 23.01x_2 + 298.30 \quad (R^2 = 0.76)$$

y_1 : リゾチーム活性, x_1 : ネオヘテロボツリウム寄生数, x_2 : Ht値

ネオヘテロボツリウム寄生数とリゾチーム活性の相関は高くなかったが、Ht 値とリゾチーム活性には高い相関が得られ、Ht 値が高いほどリゾチーム活性は

高くなった。

また、ネオヘテロボツリウム寄生数とレクチン活性の関係を図 3 に、Ht 値とレクチン活性の関係を図 4

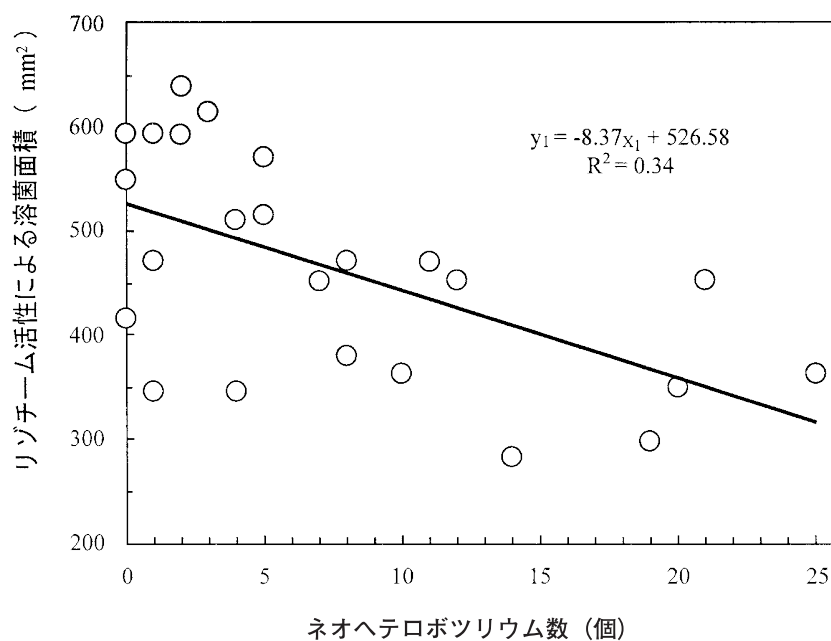


図 1 ネオヘテロボツリウム寄生数とリゾチーム活性の関係

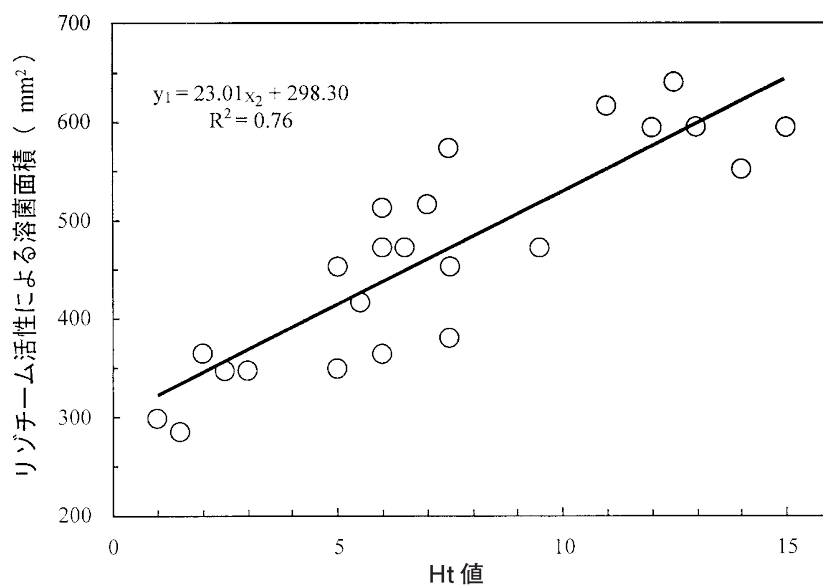


図 2 Ht 値とリゾチーム活性の関係

に示した。両者の関係式は、

$$y_2 = -9.14x_1 + 178.45 \quad (R^2 = 0.16)$$

$$y_2 = 32.25x_2 - 121.72 \quad (R^2 = 0.57)$$

y_2 : レクチン活性

となり、レクチン活性とネオヘテロボツリウム寄生数、

Ht 値には相関関係がなかった。

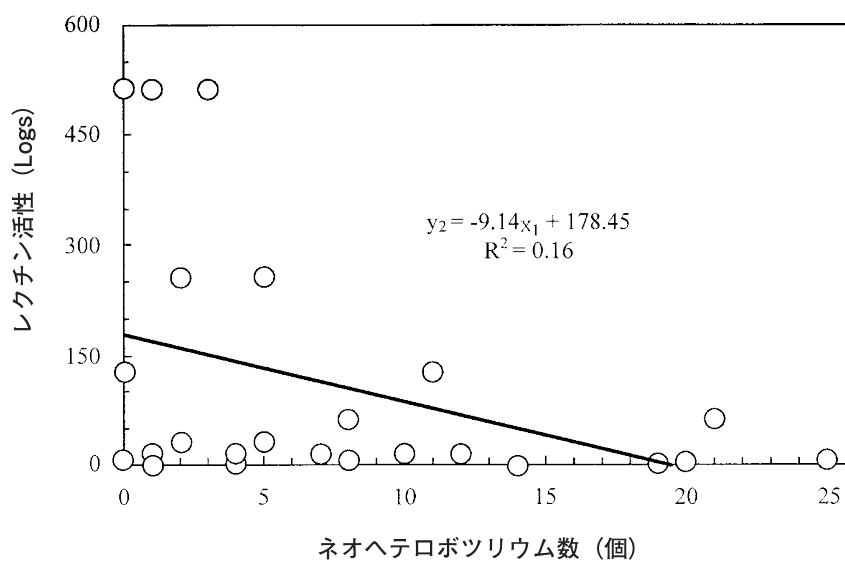


図3 ネオヘテロボツリウム寄生数とレクチン活性の関係

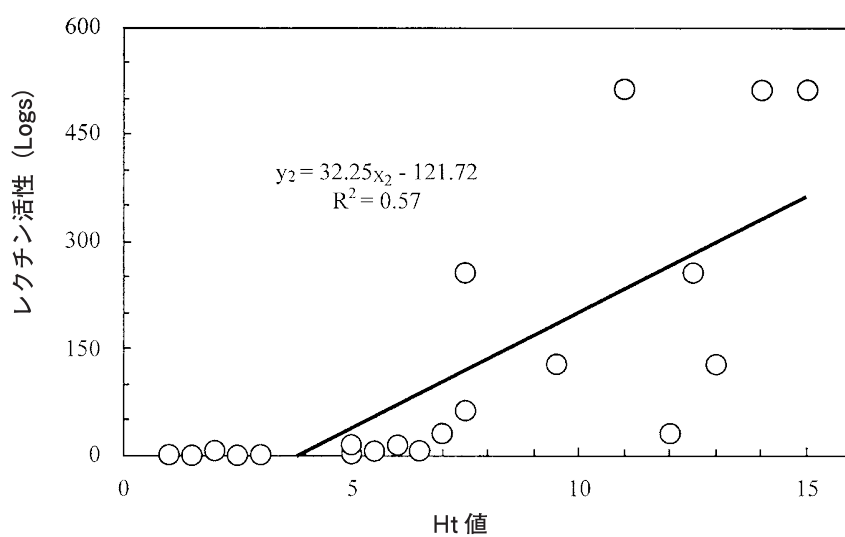


図4 Ht 値とレクチン活性の関係

考 察

魚類のリゾチーム活性は、コイ⁴⁾、サケ⁵⁾、キンメダイ⁶⁾、アユ⁶⁾など多彩な魚類で認められており、魚類の生体防御の一翼を担っていると推測されている。一方、レクチン活性については、ウイルスから哺乳類まで生物界に広く存在し、魚類ではウナギ、ナマズ、ネズミゴチ、クサフグなどで高い凝集反応があることが知られて、異物認識や細菌凝集、食細胞の機能の活性化など生体防御に関与していると推測されている。

本試験では、Ht 値とリゾチーム活性との間に高い相関関係が見られたことから、Ht 値の低いヒラメではリゾチーム活性に変化が生じている可能性が窺われた。これは、貧血症により生体防御能の変化が生じた可能性と生体防御関連物質を含めた血液成分が薄められた可能性の2通りが想定されるが、本試験では断定できなかった。一方、Ht 値とレクチン活性はリゾチーム活性のように相関は高くなく、Ht 値の低いヒラメでも必ずレクチン活性は低くなるとは言えないと考えられた。

Ht 値とネオヘテロボツリウム寄生数との相関は低いことがわかった。これは、Ht 値はネオヘテロボツリウム寄生数に影響されない、もしくは、ネオヘテロボツリウムに寄生してからの日数が個体毎に異なっているためと考えられる。このため、リゾチームおよびレクチン活性とネオヘテロボツリウム寄生数についても相関は小さく、ネオヘテロボツリウム寄生数から生体防御能を推測することは困難である結果となった。

これらのことから、Ht 値の低いヒラメは免疫能力、特にリゾチーム活性が低下していることが推察され、天然海域で Ht 値が低下した場合、貧血状態による直接的な死亡だけでなく、感染症等による二次的な死亡が生じている可能性が窺われた。

文 献

- 1) Ogawa, K (1999) *Neoheterobothrium hirame* sp. (nov. Monogenea: Diclidophoridae) from the Buccal cavity wall of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathol.*, **34**, 195-201.
- 2) 三輪 理・井上 潔 (1999) 日本沿海で発生している貧血を特徴とするヒラメの疾病の病理組織学的研究, 魚病研究, **34**, 113-119.
- 3) 森田哲男 (2004) リゾチーム活性等によるヒラメ仔稚魚の生体防御機能測定を試み, 裁セ技報, **2**, 22-26.
- 4) 高橋幸則・伊丹利明・古根川紀潮 (1986) コイの体表粘液から分離したリゾチーム様酵素の性状, 日水誌, **52**, 1209-1214.
- 5) 望月 篤・松宮正弘 (1981) 海産魚のリゾチーム分布, 日水誌, **47**, 1065-1068.
- 6) 伊丹利明・高橋幸則・川原逸郎 (1986) アユにおける溶菌性物質の分布ならびに性状, 日水誌, **52**, 1443-1447.