

# 海産魚類数種の初期発生過程における 活性酸素種産生に関する生化学的研究

長崎大学大学院生産科学研究科

門村 和志

オニオコゼおよびカサゴは長崎県沿岸域における水産上有用種であり、定着性が高く単価も高いことなどから栽培漁業の対象種として有望視され、近年、漁業者から種苗放流の要望が高い魚種である。放流用種苗を確保するため西日本を中心に多くの府県、機関で種苗生産の技術開発が現在行われている。しかし、いずれの魚種も10日令頃までの飼育初期に発生する大量へい死のために生産は必ずしも安定していない。へい死原因として卵質、感染症などが疑われているものの、明らかにはされておらず、各地の栽培漁業センターなど生産ノルマを持つ機関においては深刻な課題であり、その解決が望まれている。一方で、このようなカサゴの大量へい死が飼育水へのアスコルビン酸添加により抑制できるとの興味深い報告がある。筆者はこの事例におけるアスコルビン酸の作用機序を考える中で、アスコルビン酸の持つ高い抗酸化作用に着目した。すなわち、飼育水に添加したアスコルビン酸のラジカルスカベンジャーとしての作用がカサゴ仔魚の過剰な活性酸素による生体へのダメージを抑えた結果、へい死を抑制していると推論した。しかし仔魚の活性酸素産生に関する情報は極めて少なく、また仔魚の生残率に対する活性酸素の関与について論じた報告も皆無である。以上の背景から本研究では海産魚類仔魚の活性酸素産生と初期生残率に関する基礎的知見の集積を試みた。

1. ラジカルスカベンジャー（抗酸化物質）としてL-アスコルビン酸りん酸エステルマグネシウム（APM）または市販の緑茶抽出物「テアフラン 30A」および「テアフラン 90S」を用いて、カサゴおよびオニオコゼ仔魚の初期生残率に及ぼすこれら抗酸化物質の添加効果について飼育実験を行った。飼育水 1kl あたり APM は 10g, 30A は 0.5g, 90S は 0.1g を添加することにより成長に悪影響を及ぼすことなくオニオコゼ、カサゴ仔魚の大量へい死を顕著に抑制できた。

2. オニオコゼ、カサゴほか6種の海産魚（メバル、マハタ、トラフグ、マダイ）について化学発光法により仔魚の活性酸素産生について調べた。いずれの仔魚も特別な刺激のない通常の飼育条件下で活性酸素を産生しており、これら魚種において活性酸素産生は一般的な生物学的特性であると考えられた。

3. SOD 添加により化学発光が顕著に抑制されることから、いずれの魚種においても活性酸素の種

類は主として・0<sup>2</sup>であった。

4. 上記6魚種の活性酸素産生レベルは魚種により大きく異なっており、魚種による活性酸素産生システムの生物学的特徴を反映しているものと推察された。6魚種の中ではカサゴ、メバル、オニオコゼが特に高いレベルを示したが、これらの魚種はいずれも種苗生産中に原因不明とされる大量へい死を起こすことで知られており、大量へい死に活性酸素が関与している可能性が考えられる。

5. ふ化前のオニオコゼ胚による活性酸素産生について詳細に調べた。オニオコゼは胚期に非常に高いレベルの活性酸素を産生しており、発生中の卵から NADPHoxidase の構成要素である gp91phox が検出された。このことは、オニオコゼ胚にはすでに活性化された NADPHoxidase が存在し、活性酸素を産生している可能性が考えられた。

6. オニオコゼ種苗量産試験を行った6飼育例について仔魚の活性酸素産生レベルのモニタリングを行った。全滅にはいたらなかったものの比較的大量のへい死が発生した2飼育例においては、実際にへい死が発生する直前から活性酸素レベルが急激に上昇しており、へい死発生の兆候を活性酸素産生量のモニタリングにより捉えることができたと考えられた。

7. 卵発生に伴う gp91phox の発現量の変化を調べた結果、受精30時間後付近に発現量のピークがあり、この間の活性酸素産生量の変化は gp91phox 発現量の変化と一致した。

8. 大量へい死を起こすことで知られる魚種で活性酸素産生レベルが高いこと、およびオニオコゼの飼育事例におけるへい死発生時期と活性酸素産生亢進時期の一致から、環境中の因子、たとえば細菌感染などをきっかけとした活性酸素の過剰産生が大量へい死の一因となっている可能性が考えられる。

9. この点を確認するため、今後同一水槽でのへい死尾数と活性酸素レベルのモニタリングを行い、直接的な関係についての研究が必要である。