

マダイの白点虫感染に対する ラクトフェリンの防御効果

角田 出^{*1}・黒倉 寿^{*2}

(^{*1}石巻専修大学理工学部生物生産工学科,

^{*2}東京大学農学部付属水産実験所)

(1995年7月26日受付)

Defensive Effect of Orally Administered Bovine Lactoferrin against *Cryptocaryon irritans* Infection of Red Sea Bream

Izuru Kakuta^{*1} and Hisashi Kurokura^{*2}

^{*1}Department of Biotechnology, Senshu University of Ishinomaki, Ishinomaki, Miyagi 986, Japan

^{*2}Fisheries Laboratory, Faculty of Agriculture,

The University of Tokyo, Maisaka,
Shizuoka 431-02, Japan

(Received July 26, 1995)

The defensive effect of bovine lactoferrin on *Cryptocaryon irritans* infection of red sea bream, *Pagrus major*, was studied. Neither mortality nor clinical sign of white spot disease was observed in the fish orally administered with lactoferrin (40 mg/kg body weight/day) for 28 days, whereas most untreated controls died within 28 days. These facts suggest that the lactoferrin has a defensive effect on *C. irritans* infection of red sea bream.

Key words: red sea bream, *Pagrus major*, parasite, *Cryptocaryon irritans*, lactoferrin, defensive effect

ラクトフェリン (LF) は、分子量約 80,000、非ヘム性の鉄結合性糖タンパク質である¹⁾。LF は、ほ乳類の乳汁、唾液、鼻汁、尿、精液等の体液・分泌液や好中球に存在する生理活性物質であり、ほ乳類においてはリゾチームや分泌型 IgA のように局所における感染防御に関与していることが示唆されている^{1,2)}。魚類では LF の存在はまだ確認されてはいないが、ほ乳類由来 LF の経口投与がニジマスの細菌感染において免疫賦活作用を有することが報告されている³⁾。

しかし、飼育魚への LF の投与が寄生虫やウイルスの感染に対する予防効果を示すか否かについてはこれまで検討されていない。今回、LF の経口投与がマダイの白点虫感染に対して防御効果を示唆する結果が得られたので、その概要を報告する。

材料および方法

業者より購入したマダイ *Pagrus major* 1 才魚（体重約 60g）を、東京大学農学部付属水産実験所において、浜名湖の自然海水（水温 22~27°C, 換水率 10~15 回/日）で約 2 カ月間予備飼育することにより、マダイに白点虫の自然感染を惹起した。その後、新たな病原体の汚染を避けるとともに一定水温下で飼育実験を行う目的で、前述のマダイを 58 尾ずつ 2 群に分け、それぞれ同実験所内の地下海水流水式の 1,500 l 水槽（水量約 600 l, 換水率 0.7~1.5/日）に収容し、対照区および試験区（LF 投与区）とした。本実験で用いた地下海水は、実験所の地下 50 m より取水されているもの（水温 19.5 ± 0.5°C）である。

対照区にウナギ用の配合飼料を、試験区には LF（森永乳業、牛乳由来の鉄飽和度 40% のもの）を 1% になるように添加した同配合飼料を、乾燥重量で 1 日当たり、それぞれ収容した魚の総体重の 0.4% になるように投与し（40 mg/kg 体重/日）、1993 年 7 月 29 日から 8 月 25 日までの 28 日間飼育実験を行った。原則として、死亡魚はその都度取り除き、生残率を算出した。なお、試験区について、飼育試験終了後も無給餌で 7 日間飼育を行った。

飼育 14 日目と 28 日目および試験終了後 7 日目に、試験区から無作為に 9 尾ずつ魚を取り上げ、肉眼的観察および触診により体表粘液の分泌状況を調べた後、鰓および体表を実体顕微鏡観察することにより白点虫感染の有無を判断した。

結果および考察

飼育期間中の対照および LF 投与区の魚の生残率の変化を Fig. 1 に示す。対照区では飼育開始後 14 日目頃から、鰓および体表に肉眼的に白点虫の寄生が認められるようになり、それに伴い魚は摂餌不良となって行動は鈍化した。その後 21 日から 25 日目にかけて約半数の個体が死亡し、28 日目では生残率は僅かに 13% となった。LF 投与区では、その間の死亡魚はなく、摂餌や遊泳行動にも変化はみられず、顕微鏡観察によても寄生虫の感染は認められなかった。また、試験終了後、7 日間飼育したが、その間にも白点虫の感染はみられなかった。なお、同区の魚では、飼育開始後 14 日目および 28 日目に体表粘液の分泌量の増加が認められた。

東大水産実験所では、夏季になると飼育魚に頻繁に白点虫感染が観察され、そのため大量斃死が発生してい

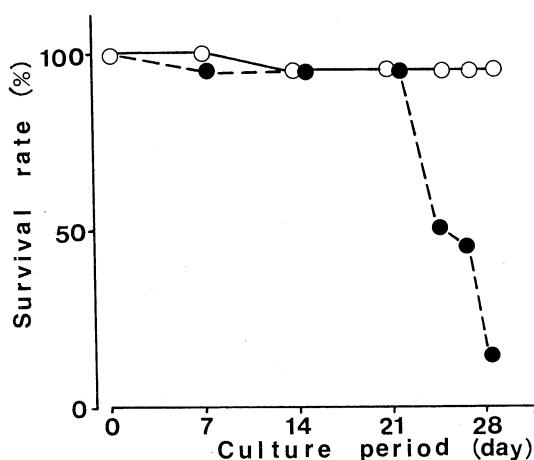


Fig. 1. Changes in survival rate in experimental and control sea bream.
 ●, Control group; ○, Experimental (Lactoferrin-treated) group.

る。当年も、対照区では白点虫の感染によって実験期間中に大半の飼育魚が死亡した。すなわち、自然海水での予備飼育中に一部の魚に白点虫が感染し、実験期間中は換水率が低かったこともあって、水温が低いにもかかわらず、二次あるいは三次感染が生じ、全体に感染が蔓延したと推測された。一方、同一条件下で飼育したLF投与区においては、白点虫の感染は認められず、魚の摂餌や遊泳行動にも異常はみられなかった。従って、マダイへのLF投与が、自然条件下での白点虫感染の防御に有効であることが示唆された。

LFの生体内での機能については、鉄吸収調節作用⁴⁾、

静菌および抗菌作用^{5,6)}、免疫賦活作用⁷⁾、抗炎症作用⁸⁾など多彩な働きが示唆されている。なお、LFの細菌感染防御作用は、微生物への直接的な抗菌作用のみならず、ほ乳類では免疫系をはじめとした生体の持つ様々な防御機構を介して発揮されると考えられている^{7,9,10)}。今回の実験から、LFの投与は魚の体表粘液分泌量を増加させることと、粘液分泌量の増加が白点虫感染の防御に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。白点虫の感染に対するLFの防御機序は未解明であるが、LFは免疫賦活作用を有するのみならず、体表面からの白点虫の侵入を阻止する何らかの作用を生体に惹起させる働きを持つものと考えられる。今後、LFの有効投与量や寄生虫感染防御機構に関する詳細な検討が必要である。

文 献

- 1) Németh, K. and I. Simonovits (1985): *Haematologia*, **18**, 3–12.
- 2) 島崎敬一・清沢 功 (1993): バイオサイエンスとインダストリー, **51**, 25–27.
- 3) Sakai, M., T. Otubo, S. Atsuta and M. Kobayashi (1993): *J. Fish Dis.*, **16**, 239–247.
- 4) de Laey, P., P. L. Masson and J. F. Heremans (1968): *Protides Biol. Fluids*, **16**, 627–632.
- 5) Arnold, R. R., M. Brewer and J. J. Gauthier (1980): *Infect. Immun.*, **28**, 893–898.
- 6) Teraguchi, S., K. Ozawa, S. Yasuda, Y. Fukuwatari and S. Shimamura (1993): *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 360–361.
- 7) Lima, M. F. and F. Kierszenbaum (1985): *J. Immunol.*, **134**, 4176–4183.
- 8) Theobald, K., W. Groß-Wege, J. Keymling and W. König (1987): *Agents Actions*, **20**, 10–16.
- 9) Suzuki, T., K. Yamauchi, K. Kawase, M. Tomita, I. Kiyosawa and S. Okonogi (1989): *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 1705–1706.
- 10) Miyazawa, K., C. Mantel, L. Lu, D. C. Morrison and H. E. Broxmeyer (1991): *J. Immunol.*, **146**, 723–729.