HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on diets for Japanese medaka fish to reduce cadmium toxicity [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Ujeh, Henry Okechukwu
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14599号
Issue Date	2021-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82333
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	HENRY_OKECHUKWUUJEH_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏　名　Henry Okechukwu Ujeh

審査委員　主査　教 授　沖 野 龍 文
副査　教 授　野 呂 真一郎
副査　准教授　豊 田 和 弘
副査　名誉教授　齋 藤　健

学 位 論 文 題 名

Study on diets for Japanese medaka fish to reduce cadmium toxicity
（カドミウム毒性を低減するためのメダカの食餌に関する研究）

魚介類の消費は全世界的に年々増加しているが、その増加分はほとんどが養殖の増加によるものである。近年、発展途上国において環境汚染化学物質による養殖場水質の汚染が大きな問題となっている。特に重金属、例えばカドミウムなどによる汚染は近隣に居住する住民や養殖魚の消費者にとって深刻な懸念である。カドミウムは、その生体への長期間の蓄積および毒性により危険な汚染物質として認識されており、魚類は、カドミウムに対する感受性が高くカドミウム汚染に対する防御対策が重要である。従来カドミウムによる水質汚染にはさまざまな修復法が試みられているが、これらの手法は水中のカドミウム濃度を低減させることに主眼がおかれ、生き残った魚へのカドミウムの影響にはほとんど注意が払われていないのが実情である。魚体中に残留したカドミウムによって誘発される負の効果は長期化する可能性があり、養殖業における生産性の低下と個体数の減少、あるいは汚染養殖魚の消費者に対するカドミウム曝露リスクの増加につながる可能性もある。これらのことを改善するには、カドミウム曝露から生き残った魚のカドミウム濃度を低減させる有効な方法を探索する必要がある。生体から環境汚染物質の毒性を低減させる研究はさまざまな植物および植物由来の化合物を用いて行われており、ポリフェノール類、ビタミン類およびアミノ酸などにその効果があることが報告されている。本研究ではそれらの単一の化合物を使うのではなく、発展途上国で実践が可能なように、効果がある物質を多く含んでいるニンニク、プロポリスおよびワカメが通常の餌料への添加物として選択された。また、実験魚種にはモデル生物としてよく用いられるメダカ（*Oryzias latipes*）が選択された。

本研究では、カドミウムに曝露された魚において、カドミウムの生体への蓄積と毒性を減少させることを目指した。この論文において第1章で研究の背景が述べられたあと、第2章はカドミウム曝露後の魚体中のカドミウム量とニンニク、プロポリスおよびワカメを含んだ食餌によるカドミウム蓄積量の変化、第3章では、ニンニク、プロポリスおよびワカメを含んだ食餌による死亡率およびカドミウム毒性の主原因である生体内酸化状態の変化が調べられた。つまり、本研究は、ニンニク、プロポリスおよびワカメを添加した食餌が、カドミウムに曝露されたメダカのカドミウム蓄積量に及ぼす影響とカドミウム誘発毒性に及ぼす影響を評価することを目的とした。

第2章では、まず実験の条件設定のための研究が行われた。ニンニク、プロポリスおよびワカメの添加量について詳細な文献調査を行い、4～5%程度が妥当であると判断した。さらに通常のメダカの食餌に定められた量の添加物を含む餌料を35日間与え、メダカの成長等に負の影響を与えないことを確かめた。また、カドミウムの投与量に関して、現実的に汚染された陸水中のカドミウム濃度と魚の筋肉中のカドミウム量の基準値から考慮して、0.3 mg/Lと0.6 mg/Lのカドミウムを通常のメダカ食餌下で1～6週間曝露して検討した。メダカの致死率と魚体のカドミウム濃度の変化から、曝露量を0.3 mg/Lに決定した。本実験として、メダカ通常食餌（MD）の下で21日間 0.3 mg Cd / Lに曝露し、生き残った魚をさらに21日間カドミウムを含まない水槽中で、ニンニク（GD 4%）、プロポリス（PD 4%）、ワカメ（WD 5%）添加飼料、および対照飼料（MD）を与え飼育した。その結果、MDを与えるより、添加物のある食餌を与えたほうが有意に鰓、肝臓および筋肉中のカドミウム蓄積量が減少し、ことにGD投与群でカドミウム量の減少が顕著であった。また、その減少に重金属結合低分子量タンパク質メタロチオネインが関連していることがメタロチオネインの免疫抗体法による測定で明らかにされた。

第3章では、カドミウム曝露による致死率が、GD、PD、およびWD の投与により改善されることが明らかにされ、その効果は抗酸化作用の増大にあることが実験的に示された。つまり、鰓、肝臓および筋肉組織中の、活性酸素除去酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）活性と還元型グルタチオン（GSH）量が、カドミウム曝露により有意に減少したが、その後の回復期では通常食に比べ添加物ありの食餌を与えた群で有意にSOD活性とGSH量が増加し、抗酸化能が上昇したことが明らかになった。一方、過酸化脂質の指標であるマロンジアルデヒドはカドミウム曝露で劇的に増加したが、添加物ありの食餌を与えた群では回復期に有意に減少した。また、その効果の強さは、GD> WD≧PD> MD の順であった。

第4章では本学位論文の結論が述べられた。ポリフェノール類、ビタミン類あるいはアミノ酸を多く含む植物由来の食品を通常の食餌に加えることで、カドミウム蓄積量を減少し、カドミウムに由来する酸化促進状態を改善することが明らかにされた。特に、ポリフェノール類を多く含むガーリックを添加することでより効果が高められることが示された。この研究の成果は、特に水産養殖業において、カドミウム等の重金属汚染があった際の飼育魚のカドミウム量低減と健康状態の改善に寄与することが期待される。また、本研究で用いられた食品添加物は比較的安価で、発展途上国においても養殖業者等がすぐに入手し利用することが可能なため容易に応用できる利点もある。

審査委員一同は、これらの成果を評価し、また、大学院博士課程における申請者の研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。