

The effects of 5 aminolevulinic acid supplementation in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*

学位名	博士（海洋科学）
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2019
学位授与番号	12614博甲第528号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001798/

「課程博士」 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：GERASMIO IVANE PEDROSA

博士論文題目：The effects of 5-aminolevulinic acid supplementation in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*

(バナメイエビ *Litopenaeus vannamei* における 5-アミノレブリン酸の経口投与がもたらす効果)

博士論文審査：

申請者から提出された論文については審査委員と申請者の間で質疑応答が行われ、一部修正が行われた。公开发表会は 2019 年 8 月 19 日に実施され、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。

2013~2014 年にクルマエビ類養殖産業は一部の国において危機的な状況に直面していた。それは、Early Mortality Syndrome (EMS、早期死亡症候群)と呼ばれ、原因細菌が同定されてからは Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND、急性肝すい臓壊死病)と呼ばれている。EMS/AHPND は 2009 年に中国で最初に報告され、次いでベトナム、タイ、マレーシア等の東南アジアにも広がって来た。2013 年にはメキシコでの発生が報告された。タイのエビ生産量は、最盛期は年間約 63 万トンであったが 2015 年は約 20 万トンと 3 分 1 に減少している。EMS/AHPND が発生した国での生産量の減少から、国際的なマーケットで、バナメイエビの値段が 2012 年に比べると 2013 年後半はほぼ 2 倍になった。たった一つの疾病が国際市場に影響を与えることになり、養殖において感染症というものが如何に重要なファクターになっているかがよくわかる。このような微生物感染症を防除するために抗菌剤が使用されることもあるが、消費者の安心安全に関する意識の高まりや、多剤耐性菌の世界レベルでの問題から、抗菌剤を使用しない養殖が望まれている。微生物感染症を防除する手段の一つとして免疫賦活剤が挙げられる。免疫賦活剤を動物に投与することにより動物の免疫系が活性化され、微生物感染症に感染しにくくなる。本研究では非タンパク質構成のアミノ酸である 5-アミノレブリン酸をバナメイエビに投与した際の効果について明らかにすることを目的とした。

5-アミノレブリン酸をバナメイエビに投与し、2 週間後と 4 週間後に *Vibrio parahaemolyticus* AHPND 株を用いて感染試験を実施したところ、5-アミノレブリン酸を投与したエビは対象区に比べて高い生残性を示した。5-アミノレブリン酸を当初したエビでの網羅的な遺伝子発現プロファイリングを行ったところ、生体防御に関連する遺伝子が複数発現上昇していることが明らかとなった。このことから、5-アミノレブリン酸は免疫賦活剤として有効であると判断し、異なる濃度(15ppm、30ppm、60ppm)で経口投与した際の効果について調べた。抗病性はいずれの濃度でも見られたが 60ppm がもっと高いものであった。しかし、60ppm を投与したエビの成長は他の試験区より低いものであった。成長は 15ppm 投与でも無添加区より良いものであった。次に 5-アミノレブリン酸を投与した際の胃と腸における細菌叢の変化について調べたところ、5-アミノレブリン酸を投与したエビと無投与のエビで細菌叢の違いが見られた。5-アミノレブリン酸合成酵素について生体内での働きを調べるために RNA 干渉でノックダウンしたところ、エビの脱皮が起こらないことが明らかとなった。このことから、5-アミノレブリン酸は脱皮に重要な因子であることが明らかになった。これらの研究により、5-アミノレブリン酸は生体防御機構を活性化する免疫賦活作用や成長促進作用を有することがわかるとともに、当初する濃度によって、成長あるいは免疫のバランスが崩れることも示唆された。本研究により、クルマエビ感染症防除に新たな情報を提示することが出来たことから、本論文は新規性の高い優れた論文であると思われる。

以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

最終試験の結果要旨：

最終試験は 8 月 19 日に行われた。まず、学術論文は 2 編が第 1 著者(Pedrosa-Gerasmio IR, Tanaka T, Sumi A, Kondo H, Hirono I. (2018) Effects of 5-aminolevulinic acid on gene expression, immunity and ATP levels in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Marine Biotechnol. 20: 829-843 doi: 10.1007/s10126-018-9852-2., Pedrosa-Gerasmio IR, Kondo H, Hirono I. (2019) Dietary 5-aminolevulinic acid enhances ATP production, ecdysis and immune response in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). Aquaculture Research, 50: 1131-1141, doi.org/10.1111/are.13987)として公表済みであるとともに、国際学会での発表が 3 回あることと合同セミナーは企業型セミナーを履修していること確認した。フィリピンで 2019 年 4 月に開催されたアジア水産学会では学生最優秀口頭発表賞を受賞した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。

学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議で、英語で発表しており、英語の学力については問題ないと判断した。また、申請者に対して、論文内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公开发表会(8 月 19 日)当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。