

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 農 学 )	氏名	中田 公人
学位授与の要件	学位規則第4条第1・②項該当		
論 文 題 目			
アユ生体防御機構解明を目的としたアユ白血球の分類とその変化			
論文審査担当者			
主 査	教 授	古 澤 修 一	
審査委員	教 授	飯 島 憲 章	
審査委員	教 授	堀 内 浩 幸	
審査委員	教 授	河 合 幸 一 郎	
審査委員	准教授	海 野 徹 也	
〔論文審査の要旨〕			
<p>近年のアユの種苗生産、養殖は冷水病の養殖場と天然河川における蔓延により甚大な被害を被ってきた。アユ冷水病の発生を受けて防疫対策やワクチンの開発研究などが進められてきた。しかしながら、ワクチンを取ってみてもその効き方が不明であるなどアユの防御能力の実態は明らかでない。アユ免疫学的研究に欠かせない白血球の基礎的な研究も進んでなく、血球についても詳細な報告乏しい。このことからアユ血球の同定に着手し、それら血球の免疫応答を把握するため、疾病初期に起こる初期感染防御を担う非特異的防御機構についての検討を行った。</p> <p>アユ血球の同定は形態学的、細胞化学的方法によって行なわれた。その結果、末梢血中から栓球、リンパ球、好中球、好塩基球、単球/マクロファージを検出した。血球の主組成は赤血球を除くと栓球、リンパ球、好中球であり、好塩基球、単球/マクロファージは非常に少なかった。また、末梢血でみられた単球/マクロファージと形態的に類似した細胞が脾臓でみられた。同定された血球の細胞化学的染色性については、リンパ球がACP、PAS、好中球がDAB、NAP、ACP、PAS、脾臓単球/マクロファージがACP、EST <math>\alpha</math>-NB、栓球がACPで陽性であった。なお、アユ栓球はPAS染色で陰性を示した。</p> <p>アユ血球が養殖期間中どのような動態を示すか、末梢血の血球組成変化を定期的に調べた。この間に出現した病魚の血球組成は、栓球が増加、リンパ球が小型化、好中球が減少しており、成熟好中球の割合が減少してした。病魚の血球組成によく似た組成を示すサンプルもみられ、初期の病魚である可能性も考えられた。さらに潜在的に異常と考えられるサンプルには正常魚と比べリンパ球が低い状態がみられた。性成熟魚の血球組成は正常魚のデータに近いことから性成熟による血球組成変化は小さいことが考えられた。</p> <p>養殖魚でみられた病魚の血球組成の変化を検証するため、実験的炎症による再現</p>			

実験を行った。その結果、血球組成変化は一時的な栓球、リンパ球の低下と好中球の増加が起こり、単球/マクロファージが遅れて徐々に増加しており、さらに分葉核を持つ好中球の割合が低下することが捉えられた。そして、アユ末梢血の血球変化は炎症部位である腹腔内の変化を反映していた。

炎症実験結果と養殖の病魚と比較してみると、栓球と好中球の組成が両者で反対となっている。病魚では栓球が増加していることから病魚がストレス状態にあった可能性が考えられた。さらに炎症実験でみられた単球/マクロファージの末梢血中での増加は病魚でみられていないことから、病魚の病態は軽微な状態であった可能性もある。

起炎後に炎症部位への好中球の浸潤は早期に起こり、一時増加した好中球は減少してゆき、炎症部位では起炎前より低い値になっており、造血器からの好中球の末梢血、炎症部位への浸潤が緩慢であることが窺われた。そして、起炎後徐々に PO 活性の低下した細胞が増加がみられた。墨粒子、蛍光ラテックス粒子による貪食試験から、単球/マクロファージ、リンパ球はよく取込むが、好中球による貪食作用は極めて低い結果を得た。好中球の貪食作用が弱いことから、好中球の脱顆粒のメカニズムに疑問が生じる。好中球の貪食、殺菌以外の単球/マクロファージとの関わりなども考えられた。

本研究において、詳細に同定されていなかったアユ血球が同定された。そして、実験的炎症からこれら血球の動態は既存の文献と同様な変化を起こすことが分かり、新たに好中球が形態学的、細胞化学的に変化することが見い出された。養殖場現場で血球の動態をモニタリングすることで疾病に至る初期の異変を捉えることにより健康魚飼育管理ができることが期待できる。

本研究は、免疫応答機能が解明されていない魚種に関しても、ほ乳類と同様の免疫機能を有すると仮定してワクチンなどを投与している現状の魚病対策に、基礎的な知見を与える物であり、今までに効果の機序が不明であった魚種へのワクチン投与における基礎的な知見を与えた事で、重要かつ新規的な研究であり、審査の結果、本研究を主導的に行った著者が博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められた。