

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (学 術)	氏名	Ebenezer Koranteng Appiah
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
<p>Studies on the antimicrobial effect of <i>Mallotus japonicus</i> on growth of <i>Aeromonas hydrophila</i>, <i>A. salmonicida</i>, <i>Edwardsiella tarda</i> and <i>Vibrio anguillarum</i> (アカメガシワ <i>Mallotus japonicus</i> の <i>Aeromonas hydrophila</i>, <i>A. salmonicida</i>, <i>Edwardsiella tarda</i> および <i>Vibrio anguillarum</i> に対する抗菌効果について)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	河合 幸一郎	
審査委員	教 授	小池 一彦	
審査委員	教 授	坂井 陽一	
審査委員	准教授	斎藤 英俊	
〔論文審査の要旨〕			
<p>近年、魚類養殖においては、抗生剤の乱用による多剤耐性菌の出現や疾病対策費の増大、さらに養殖生産物の安全性が大きな課題となっている。本研究は、抗生剤に代わるものとして、古来より使われている医用ハーブの1つ、アカメガシワに着目し、樹皮粗抽出物の魚類病原菌に対する抗菌効果を調べ、LC-MS法によってその有効成分を推定し、投与実験により魚類への免疫賦活能や魚類腸内細菌叢への影響を調べたものである。</p> <p>本論文は6章から構成され、第1章では、養殖業におけるさまざまな疾病や大量へい死の発生、抗生剤使用による薬剤耐性菌株の出現、<i>Aeromonas</i>, <i>Edwardsiella</i>, <i>Vibrio</i> 等の魚類病原菌としての重要性、薬剤耐性へのRプラスミドの関与、医用ハーブの有用性などの問題点を概観し、養殖魚類における<i>A. hydrophila</i>感染症の記載、医用ハーブの成分分析やその抗菌メカニズムの解明の必要性を説明し、本論文の目的を明らかにした。</p> <p>第2章では、世界の内水面養殖業における生産量第2位であるティラピア類の1種、<i>Heterotilapia buttikoferi</i> について、<i>A. hydrophila</i> 感染により引き起こされる鰭腐れ・腹水貯留等の症状を記載するとともに、LD₅₀値を算出した。</p> <p>第3章では、アカメガシワ樹皮からの抽出方法を検討し、水抽出物を乾燥粉末とした後、メタノール・エタノール・ジエチルエーテルの3種有機溶媒で抽出したところ、エーテル抽出物が最も高い抗菌効果を有することを示した。さらに粗抽出物の主要構成成分であるベルゲニンが全く抗菌活性を示さない一方で、グラブリジン・コリラギン・シトリニン・酢酸フルフリル・フラクセチンがそれぞれ異なる範囲の菌種に対して強い抗菌効果を有することを示している。さらにこれらの成分の組み合わせによっては相乗あるいは拮抗作用が見られることを明らかにしている。</p> <p>第4章ではエーテル粗抽出物を異なる割合で配合した餌料を投与した実験により、投与量依存的に生残率が増加し、投与群ではマクロファージ貪食能・血清抗菌活性・グロブリン量等の非特異的免疫能が対照群に比べ有意に亢進していることを示した。</p> <p>第5章では、エーテル抽出物投与による腸内細菌叢への影響を、血液寒天培地を用いた</p>			

培養→大きさ・形状・盛り上がり・粗滑・色合い等による分類→純培養→PCR→BLAST 解析によって調べ、抽出物投与群では *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* 等の病原性菌を含む細菌群の割合が減少する一方、*Bacillus* 等の医学上有用な種を含む細菌群が優占度を増すことを明らかにした。

第6章では、本研究の問題点と課題を整理し、有効成分を併用する場合、その量比によって相乗・拮抗作用が著しく変わる可能性があることを考慮する必要がある点やエーテル粗抽出物配合餌料の投与による生残率向上のメカニズムとして、*Bacillus* 等の相対的な増加によって消化管内の生分解・発酵作用などが促進され、栄養物の再利用効率が上がる可能性などが議論されている。

本研究によって、アカメガシワ抽出物が高い抗菌活性と免疫応答誘導能によって、抗生剤に代わる安価でしかも耐性を招きにくい薬剤として魚類養殖の場に応用可能であること、また、酢酸フルフリルが4種病原菌のすべてに対して高い抗菌活性を有し、*E. tarda* にはグラブリジンが有効であることが明らかになったことは、今後の養殖現場における疾病予防・対策の改善に大きく寄与するものと期待される。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（学術）の学位を授与される十分な資格を有するものと認められる。