

学 位 論 文 要 旨

氏 名	高 堅
題 目	海産魚におけるビタミンC及びビタミンEの酸化ストレス軽減効果 (Effects of vitamin C and E on reduction of oxidative stress in marine fish)
<p>魚油はエネルギーや細胞膜構成成分の供給源として養魚用配合飼料の重要な原料だが、高度不飽和脂肪酸を多く含むために酸化しやすい特性を持つ。酸化魚油 (OF) を含む配合飼料は魚類の摂餌量減少や成長率の低下、また肉質の低下を引き起こす酸化ストレス要因となる。一方、魚類の必須栄養素であるビタミンC (VC) とビタミンE (VE) はそれぞれ水溶性および脂溶性の抗酸化物質として生体内で機能し、脂質ラジカルより組織を保護するとされているが、これらの抗酸化物質による海産有用魚の酸化ストレス軽減効果や適切な飼料中添加量についての知見は少ない。そこで、本研究は海産魚における VC および VE の酸化ストレス軽減効果を以下に述べる4つの試験により明らかにした。</p> <p>試験1. マダイ稚魚 (3.4g) に2段階の酸化度 (POV) を持つ酸化魚油に3段階の VC (0, 500 及び 1000ppm) を組み合わせた飼料および新鮮魚油 (FF) に 100ppm の VC を組み合わせた飼料 (対照区) を 50 日間与え、成長と酸化ストレス度合いを観察した。VC500 と 1000ppm 添加区は対照区と同等の成長を示したが、VC 0ppm 添加区は対照区よりも有意に低い増重率を示した。VC 添加量の増加に従い肝臓および筋肉のチオバルビツール酸反応物 (TBARS) レベルは低下した。</p> <p>試験2. 2段階の POV を持つ酸化魚油に3段階の VE (0, 100 及び 200ppm) を組み合わせた飼料および新鮮魚油 (FF) に 100ppm の VE を組み合わせた飼料 (対照区) をマダイ稚魚 (1.8g) に 56 日間与え、成長と酸化ストレス度合いを観察した結果、飼料への VE 添加量の増加に伴い成長が改善され、TBARS レベルが低下した。</p> <p>試験3. マダイ稚魚 (28.9g) およびヒラメ稚魚 (1.1g) に FF または OF を脂質源として VC (500 および 1000ppm) と VE (100 および 200ppm) をそれぞれ組み合わせて添加した飼料を給餌し、成長、血液化学成分および酸化ストレス状態を評価した。OF 区は FF 区より血漿 VE 含量が有意に低く、高い血漿総コレステロールと酸化ストレス状態を示した。また、高 VC (1000ppm) と高 VE (200ppm) 添加では高い血漿抗酸化力を示した。一方、ヒラメ稚魚に OF と高濃度の VC および VE を組み合わせた飼料を与え他場合、TBARS レベルや血漿中フリーラジカルレベルの上昇が見られたことから、ヒラメにおいては過度の VC と VE 添加が体内酸化ストレスを促進することが示唆された。</p> <p>試験4. マダイの肉質に VC 及び VE 添加が及ぼす影響をテクスチャー解析によって調べた。その結果、飼料中 VC は添加レベルに関わらず肉質へは影響しないが、200ppm 程度の VE 添加は肉質を改善すると示唆された。</p> <p>上記の試験により、外因性の酸化ストレス要因が存在しても、飼料中に 500ppm 以上の VC と 200ppm 程度の VE が添加されていれば海産魚の酸化ストレスを軽減できると考えられたが、ヒラメでは VE および VC の過剰症の存在も示唆された。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名

Jian Gao

題 目

Effects of vitamin C and E on reduction of oxidative stress in marine fish
(海産魚におけるビタミンC及びビタミンEの酸化ストレス軽減効果)

Vitamin C (VC or AsA) and E (VE or α -Toc) are essential nutrients for marine finfish and these are thought to protect organisms independently and/or cooperatively against dietary stressors caused by oxidized ingredients such as oxidized fish oil (OF). Importance of dietary VC or VE has been discussed independently on freshwater finfish and marine crustaceans from a viewpoint of growth performances but not of oxidative stress status for marine finfish. In addition, no information on proper dietary supplementation levels of these nutrients. Present study clarified the effects of VC and VE on the growth performance and reduction of oxidative stress in marine finfish with different trials below-mentioned.

1. Growth and oxidative stress status were compared with red sea bream juvenile (3.4g) fed different test diets containing 2 peroxide values (POV) of OF combined with 3 levels VC (0, 500 and 1000 ppm), and fresh fish oil (FF) with 500 ppm VC (control) for 50 days. No significant difference was found on growth performance among fish fed OF with 500 or 1000 mg VC and the control group. Liver and muscle thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels were reduced with increasing VC intake of fish.

2. Eight weeks feeding trial was conducted for red sea bream juvenile with test diets containing 2 different POV of OF with 3 levels VE (0, 100 and 200 ppm), and FF with 100 ppm VE (control). In the OF group, increasing dietary VE level led to decrease in the level of TBARS and growth improvement.

3. Interactive effects between VC and VE in red sea bream and Japanese flounder were investigated using test diets contained OF with varying levels of VC (500 and 1000 ppm) and VE (100 and 200 ppm). For red sea bream, 1000 mg /kg of VC is needed to maintain health condition of red sea bream. For Japanese flounder, supplementation of dietary VC regenerated and/or spared liver α -Toc contents. However, fish fed OF with higher dose of VC and VE supplemented diets (1000 and 200 ppm) showed negative effect on growth performance.

4. The last part of present study determined the effect of dietary VC and VE on fillet quality of red sea bream fed test diets contained OF with varying levels of VE and VC (mg VE/mg VC: 100/500, 200/500, 200/1000 and 100/500(as control)). It is likely that there was negative relationship between lipid peroxidation and α -Toc content in fillet. VC supplementation did not affect fillets texture. Supplementation of VE (200ppm) and VC (1000 ppm) diets improved fillets quality of red sea bream.

The overall finding of present research clarified supplementation of VC and VE reduce oxidative stress and improve growth performances of marine finfish.

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	高 堅
審査委員	主査 鹿児島 大学 教授 越塩 俊介
	副査 鹿児島 大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島 大学 教授 侯 徳興
	副査 鹿児島 大学 教授 杉元 康志
	副査 鹿児島 大学 准教授 石川 学
審査協力者	印
題 目	Effects of vitamin C and E on reduction of oxidative stress in marine fish (海産魚におけるビタミン C 及びビタミン E の酸化ストレス軽減効果)
<p>魚油は、魚のエネルギー源や高度不飽和脂肪酸 (HUFA) の供給源として養魚用配合飼料の重要な素材であるが、HUFA は熱や光により酸化しやすい。酸化した魚油を摂取した魚では、成長や摂餌量の低下が報告されている。また、ビタミン C (VC) とビタミン E (VE) は魚類の必須栄養素であるとともに水溶性及び脂溶性の抗酸化物質として生体内で機能し、脂質ラジカルから組織を保護することが知られているが、魚類における酸化ストレス軽減効果や飼料中の至適添加量に関する知見は少ない。本研究では、海産魚における VC 及び VE の酸化ストレス軽減効果を明らかにするために 4 つの飼育実験を行っている。</p> <p>過氧化物価 (POV) の異なる 2 種類の酸化魚油と 3 段階の VC(0,500 及び 1000ppm) を組み合わせた 6 種類の飼料を作製し、マダイ稚魚 (平均体重 3.4g) に給餌し 50 日間の飼育試験を行ない、対照飼料 (新鮮魚油, VC100ppm 添加) と成長を比較している。その結果、VC0ppm 区は有意に低い増重率を示したが、VC500 ppm 及び 1000 ppm 添加区は対照区と同等の成長を示すことを確認している。また、VC 添加量の増加に伴い、肝臓及び筋肉中のチオバルビツール酸反応物 (TBARS) レベルは低下することを明らかにした。</p>	

次に、2段階のPOVの酸化魚油と3段階のVE(0,100及び200ppm)を組み合わせた6種類の試験飼料を作製し、マダイ稚魚(平均体重1.8g)に対する酸化魚油とVEの影響を調べている。対照飼料には、新鮮魚油を用いVE100ppm添加した。56日間の飼育実験の結果、飼料VE添加量の増加に従って成長は増加し、TBARS値は減少することを明らかにしている。また、2種類の脂質源(酸化魚油,新鮮魚油),2段階のVC(500及び1000ppm)と2段階のVE(100及び200ppm)を組み合わせた試験飼料をマダイ稚魚(平均体重28.9g)及びヒラメ稚魚(1.1g)に給餌し、成長、血液化学成分及び酸化ストレス状態に対する影響を調べている。酸化魚油区は新鮮魚油区に比べ、血漿VE含量は有意に低く、血漿総コレステロール値と酸化ストレス状態が高いことを明らかにしている。また、高VC(1000ppm)及び高VE(200ppm)添加では、高い血漿抗酸化力を示すことを確認している。ヒラメ稚魚では、酸化魚油、高VC及びVE添加飼料を与えた場合、TBARSレベルと血漿フリーラジカルレベルが上昇し、ヒラメではVCとVEの過剰投与が体内酸化ストレスを促進することを示している。

最後に、マダイの肉質に対するVC及びVEの影響を調べ、VC添加は肉質への影響は低い、VE200ppm添加により肉質を改善できることを明らかにしている。

本研究は、酸化ストレスの原因となるものを経口摂取しても、マダイでは飼料中にVCを500ppm以上、VEを200ppm程度添加していれば酸化ストレスを軽減できることを示している。また、ヒラメではVC及びVEの過剰症の可能性も示唆しており、VCとVEの酸化ストレス軽減効果は魚種によって異なることを示している。この結果は、飼料脂質の酸化度とVC及びVE添加に関する重要な知見であり、配合飼料の設計に応用可能で、海産魚用配合飼料の開発に大いに寄与するものである。

以上の理由から、本論文は博士(水産学)の学位論文として価値を十分満たしていると考えられる。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	高 堅
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 越塩 俊介
	副査 鹿児島大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島大学 教授 侯 徳興
	副査 鹿児島大学 教授 杉元 康志
	副査 鹿児島大学 准教授 石川 学
審査協力者	印
実施年月日	平成24年 1月 24日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <input checked="" type="radio"/> 口答・筆答	
<p>主査及び副査は、平成24年1月24日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者 高 堅 が博士(水産学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者
氏名

高 堅

[質問1] この研究ではクローン魚は使用したか。また、栄養学の分野ではクローンを使用することがあるのか。

[回答1] 本研究では使用していない。目的によってはクローン魚を使用することがある。

[質問2] 今回の研究ではマダイ稚魚を用いているがその理由は。

[回答2] 酸化魚油の成長に及ぼす栄養を調べるために、成長に差が出やすい平均体重1~3gのマダイを使用した。

[質問3] 使用した酸化魚油は魚が摂取できるレベルのものか。

[回答3] マダイ及びヒラメでは摂餌量に試験区間で差がみられなかったため、魚が忌避するレベルではなかったと考えられます。別の魚種を用いた試験では摂餌量が低下することが観察されていますので、魚種によっては酸化魚油の臭いなどを嫌う可能性がある。

[質問4] 酸化油摂取がマダイ血中総コレステロール及びトリグリセリドに影響し、ビタミンC及びビタミンE添加によって改善されると考えていいのか。

[回答4] マダイの血中総コレステロール及びトリグリセリドの正常値については、知見が少ないので何とも言えないが、酸化魚油摂取により対照区より両者の値が上昇し、ビタミンE添加により有意に低下したことから、酸化魚油が体内の脂質代謝に影響し、ビタミンEがこれを改善すると考えられる。

[質問5] 肝臓中のビタミンC及びE含量、チオバルビツール酸反応物を測定した理由は何か。ビタミンC及びE添加により肝機能の改善は可能か。

[回答5] 肝臓は、栄養素の分解や合成に関連する重要な臓器であり、ビタミンCやEを蓄積することが知られているので、酸化魚油摂取がビタミンCとEの蓄積に及ぼす影響を調べた。また、TBARS値は生体内の酸化の指標となるので測定した。比肝重量は酸化魚油の摂取により増加する傾向がみられたが、ビタミンC及びEの添加によって減少したため、ビタミン添加は肝機能改善につながると考えられる。

[質問6] 酸化魚油添加飼料と通常の魚油を使用した飼料では保存性に違いがあるのか。

[回答6] 一度酸化が始まると加速度的に酸化が進むので、酸化魚油添加飼料では通常の飼料に比べて酸化しやすく、ビタミンCやEが保存中に減耗する可能性がある。

[質問7] マダイやヒラメ以外の魚種では、酸化魚油とビタミンの影響はどうか。特にブリは筋肉中に脂質が多いが、知見はないか。

[回答7] マダイでは、ビタミンE添加により、魚肉の鮮度が低下しにくいことが明らかになった。ブリは脂質が多いので同じような効果が期待できると考えられる。

学位申請者
氏名

高 堅

[質問8] 酸化魚油の影響は、飼料作製時にビタミン等が消費され栄養価が低下したことによるのか、飼料中の過酸化物の摂取によるものかどちらだと考えるか。

[回答8] 両方の可能性があると考えられる。飼料作製後のビタミンの実測値から酸化脂質添加量増加に伴い、飼料中ビタミンC及びビタミンEが消費されているため、酸化魚油添加により飼料の栄養価が下がっていると考えられる。また、酸化油摂取により肝臓中TBARS値や血中BAP及びd-ROMの上昇していることから、おそらく酸化脂質の一部は飼料から吸収され体内の代謝に影響していると考えられる。

[質問9] ビタミンC及びビタミンEの抗酸化作用は、飼料作製時点で働いているのか、生体で作用しているのかどちらか。

[回答9] 飼料作製時に酸化魚油添加区ではビタミンC及びE含量が減少していること、肝臓ビタミンC及びE含量やTBARS値がC及びEの添加の影響を受けていることから、両方で作用していると考えられる。

[質問10] ヒラメ養殖では、病気による被害が出ている。飼料中にビタミンC及びビタミンEを添加することにより病気を防ぐ効果があれば教えてほしい。

[回答10] ビタミンCとEを添加することにより、疾病を防ぐ効果があることは報告されている。ただ、今回の結果で両者を過剰に投与すると体内の酸化ストレスが増加し、成長に影響することが確認できた。魚種により効果に違いがみられるので、多くの魚種で効果を検討する必要がある。