

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名      木村 武志

題 目

トラフグのヘテロボツリウム (*Heterobothrium okamotoi*) 症に対するフェバンテルの  
 駆虫効果に関する研究  
 (Efficacy of Febantel against Monogenean *Heterobothrium okamotoi* in Cultured  
 Tiger Puffer *Takifugu rubripes*)

トラフグ養殖に発生するヘテロボツリウム (*Heterobothrium okamotoi*) 症に対する効果的な経口投与薬剤を開発する目的で、動物用経口駆虫剤としてすでに広く使用されているフェンベンダゾールのプロドラッグであるフェバンテルに着目し、トラフグ体内での薬剤動向、トラフグに寄生したヘテロボツリウムに対する駆虫効果、トラフグ体内の残留性及び養殖場での臨床試験を行った。フェバンテルは、トラフグ体内においても経口投与後に速やかに活性型のフェンベンダゾールへ移行し、血中や主要臓器及び皮膚に分布することが明らかにされ。また、魚体重 1kg 当たり 12.5mg ~50mg を 3~5 日間連続で投与したところ、投薬日数が長くなるに従いヘテロボツリウムに対し顕著な駆虫効果を示すことが明らかになり、これまで駆虫が困難とされていたヘテロボツリウム成虫に対して高い駆虫効果が示された。経口投与したフェバンテルの血中濃度変化と駆虫の関係及び残留期間について、ヘテロボツリウムに自然感染したトラフグに対し、25 mg/kg 魚体重を 5 日間経口投与したところ、活性型であるフェンベンダゾールの血漿中濃度は、投薬 2 日目から 4~5  $\mu$ g/g を示し、以降投薬終了時までこの濃度を維持した。これとともに、ヘテロボツリウムの寄生数は投薬 4 日目から有意に減少した。また、有効投薬濃度の 2 倍量 (50 mg/kg 魚体重) を 5 日間経口投与し、筋肉及び皮膚中からフェバンテル及びその活性型の総和であるフェンベンダゾールスルホン濃度を検出した結果、フェバンテルは筋肉及び皮膚からは検出されず、フェンベンダゾールスルホンが投薬終了 1 週間後に 5 尾中 1 尾の皮膚から検出された。このことから、25 mg/kg の 5 日間連続投与を行った場合の休薬期間は 3 週間に設定できると考えられた。

海面のトラフグ養殖場でヘテロボツリウムに感染したトラフグに、フェバンテルを魚体重 1kg 当たり 12.5 mg または 25 mg を 5 日間連続で経口投与する治療試験を 6 回行った。投与による摂餌低下や異常死等の副作用は観察されなかった。駆虫率は最大で 80.9% を示したが、駆虫率にはバラツキが見られた。この要因として、養殖場ではヘテロボツリウムの再寄生が頻繁に行われていることが示唆され、虫卵が絡まった生簀網の交換や、同一養殖場内で一斉投薬を併用することでさらに投薬効果を高められると考えられた。

## 学 位 論 文 要 旨

氏 名 Takeshi Kimura

題 目 Efficacy of Febantel against Monogenean *Heterobothrium okamotoi* in Cultured Tiger Puffer *Takifugu rubripes*  
(トラフグのヘテロボツリウム (*Heterobothrium okamotoi*) 症に対するフェバンテルの駆虫効果に関する研究)

*Heterobothrium okamotoi* is a blood-sucking parasite that inhabits on the gills and branchial cavity wall of cultured tiger puffer *Takifugu rubripes*. The disease caused by the parasite in cultured tiger puffers, referred to as the gill fluke disease, is potentially serious, as the parasites present in large numbers could cause severe anemia and eventually death of the fish.

This study is the development of oral administration drg against *H. okamotoi*.

Febantel is the prodrug of fenbendazole, a benzimidazole drug, which is widely used in the field of veterinary.

Febantel was metabolized to fenbendazole in tiger puffer just like veterinally animals for oral administration. The concentration of fenbandazole in plasma and liver were higher than skin and muscle.

The efficacy was at the doses of 12.5 mg/kg and 25 mg/kg for 5 days, and 50 mg/kg for 3 days, 97%, 95% and 97% respectively of immature worms were eradicated. These results suggest that febantel may have potentially significant anti-*H. okamotoi* activity. In addition, febantel had a efficacy against mature worm of *H. okamoti* at the doses of 12.5 mg/kg and 25 mg/kg for 5 days, and 50 mg/kg for 3 days, 88%, 96% and 94% respectively. It is very important result, because mature worm sucking quantity of blood is larger than immature worm, and we don't have a drug against mature worm.

The relationship between the concentration-time profile of fenbendazole in the plasma and efficacy against *H. okamotoi* in tiger puffer following oral administration of febantel at the dose of 25 mg/kg 5 days. The concentration of fenbendazole was 4~5  $\mu$ g/g 2-4 days after first administration, and the number of parasites started to decrease from 3 days after the first administration. In addition, we measured the connentration of the remainig febantel and metabolites of fenbendazole in the muscle and skin in tiger puffer following oral administration at the dose of 50mg/kg for 5 days. They were not detected 2 weeks after the last administration.

We conducted six field trials on the efficacy of febantel at four sites in Kumamoto and Ehime, Japan. From 2500 to 4500 tiger puffers per experiment group were used in these trials, in which tiger puffer were orally administrated febantel at 12.5 mg/kg or 25mg/kg fish body weight for 5 days. The maximum rate of worm eradication was 80.9 %. However, a large difference was observed in the eradication rate between the experiment groups. We observed no adverse effect of febantel such as decreased feeding quantity or increased mortality, on the experimental fish.

## 学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	木村 武志
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 小山次朗
	副査 鹿児島大学 教授 杉元康志
	副査 鹿児島大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島大学 准教授 安楽和彦
審査協力者	
題 目	トラフグのヘテロボツリウム ( <i>Heterobothrium okamotoi</i> ) 症に対するフェバンテルの駆虫効果に関する研究 (Efficacy of Febantel against Monogenean <i>Heterobothrium okamotoi</i> in Cultured Tiger Puffer <i>Takifugu rubripes</i> )
<p>トラフグ養殖に発生するヘテロボツリウム (<i>Heterobothrium okamotoi</i>) 症に対する効果的な経口投与薬剤を開発する目的で、動物用経口駆虫剤としてすでに広く使用されているフェンベンダゾールのプロドラッグであるフェバンテルに着目し、トラフグ体内での薬剤動向、トラフグに寄生したヘテロボツリウムに対する駆虫効果、トラフグ体内の残留性及び養殖場での臨床試験を行った。フェバンテルは、トラフグ体内においても経口投与後に速やかに活性型のフェンベンダゾールへ移行し、血中や主要臓器及び皮膚に分布することが明らかにされ。また、魚体重1kg当たり12.5mg~50mgを3~5日間連続で投与したところ、投薬日数が長くなるに従いヘテロボツリウムに対し顕著な駆虫効果を示すことが明らかになり、これまで駆虫が困難とされていたヘテロボツリウム成虫に対して高い駆虫効果が示された。経口投与したフェバンテルの血中濃度変化と駆虫の関係及び残留期間について、ヘテロボツリウムに自然感染したトラフグに対し、25 mg/kg魚体重を5日間経口投与したところ、活性型であるフェンベンダゾールの血漿中濃度は、投薬2日目から4~5 <math>\mu</math>g/gを示し、以降投薬終了時までこの濃度を維持した。これとともに、ヘテロボツリウムの寄生数は投薬4日目から有意に</p>	

減少した。また、有効投薬濃度の2倍量(50 mg/kg 魚体重)を5日間経口投与し、筋肉及び皮膚中からフェバンテル及びその活性型の総和であるフェンベンダゾールスルフォン濃度を検出した結果、フェバンテルは筋肉及び皮膚からは検出されず、フェンベンダゾールスルフォンが投薬終了1週間後に5尾中1尾の皮膚から検出された。このことから、25 mg/kgの5日間連続投与を行った場合の休薬期間は3週間に設定できると考えられた。

海面のトラフグ養殖場でヘテロボツリウムに感染したトラフグに、フェバンテルを魚体重1 kg当たり12.5 mgまたは25 mgを5日間連続で経口投与する治療試験を6回行った。投与による摂餌低下や異常死等の副作用は観察されなかった。駆虫率は最大で80.9%を示したが、駆虫率にはバラツキが見られた。この要因として、養殖場ではヘテロボツリウムの再寄生が頻繁に行われていることが示唆され、虫卵が絡まった生簀網の交換や、同一養殖場内で一斉投薬を併用することでさらに投薬効果を高められると考えられた。

以上の結果、トラフグのヘテロボツリウム症に対してフェバンテルの経口投与が有効であることを明らかにした知見は、学術への貢献に留まらず我が国のトラフグ養殖生産の発展に大きく寄与するものであると考えられる。審査委員会では本研究論文が学位論文として十分な内容であると判断した。

学力確認結果の要旨	
学位申請者 氏 名	木村武志
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 小山次朗
	副査 鹿児島大学 教授 杉元康志
	副査 鹿児島大学 教授 山本 淳
	副査 鹿児島大学 准教授 安楽和彦
審査協力者	
実施年月日	平成 22 年 1 月 19 日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) <span style="float: right;">(口答) (筆答)</span>	
<p>主査及び副査は、平成 22 年 1 月 19 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>また、筆答により外国語（英語）の学力を確認した。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が大学院博士課程修了者と同等以上の学力ならびに識見を有するものと認め、博士（水産）の学位を与えるに十分な資格を有するものと認めた。</p>	

学位申請者  
氏名

木村武志

[質問 1] フェバンテルを養殖漁場で一斉投薬した場合、他の生物への影響はどうか？

[回答 1] 環境と生息生物に影響がないことを確認している。

[質問 2] 糞に残るフェバンテルは調べたのか？

[回答 2] 糞を分析していないが、海底の泥中には糞から供給される薬剤も含まれるとして分析したが、問題はなかった。

[質問 3] トラフグはフェバンテルをどのような経路で取り込むのか？

[回答 3] フェバンテルは脂溶性の物質で腸管からの取り込みを想定している。

[質問 4] 吸収されたフェバンテルは肝臓で変異されるのか？

[回答 4] 肝臓で高い濃度が観測されたことから、そのように考えている。

[質問 5] 投薬はいつから始めるのが適切か？

[回答 5] 6月に海面の生簀に収容した直後から、翌年水温が上昇するまでの期間が適切である。

[質問 6] 肝臓や腎臓の機能への影響は？

[回答 6] 高濃度の場合摂餌が悪くなる程度がある程度で、肝臓などへの影響はないと思われる。

[質問 7] 日間死亡率の算出方法と死亡の原因は何か？

[回答 7] 実験期間中の累積死亡率を実験日数で割った数値である。死亡の原因は主としてトラフグ同士の噛合いによるものであった。

[質問 8] 経口投与した場合、どの個体も同量の餌が与えられたのか？

[回答 8] 陸上の水槽ではある程度調整が可能であるが、海面の生簀では均等に投与することは困難であった。

[質問 9] 家畜用薬剤の魚類のエネルギー代謝に及ぼす影響はどうか？

[回答 9] 鰓などの病理組織の観察を行ったが、影響について言及できるほどのデータは取れていない。

[質問 10] フェバンテルを投与されたトラフグの免疫活性の低下はありうるのか？

[回答 10] 通常量が投与された場合の免疫活性については特に調査していないが、血液性状には異常は認められなかった。

[質問 11] 飼料に MP を用いていたが、DP にした場合給餌量などを変更する必要があるのか？

[回答 11] 消化管内での吸収を考えると新たな給餌スケジュールを作成する必要がある。

[質問 12] 脱落した寄生虫は死ぬのか？

[回答 12] 陸上水槽では底面の掃除を行うと死んだ寄生虫を良く見かけるので、脱落した寄生虫は死ぬと思われる。

[質問 13] 理想的な投与方法は？

[回答 13] 養殖期間が 18 ヶ月と比較的長く再感染も確認されているため、12.5~25 mg/kg/day で 5 日間の処理を毎月行うことを指導している。

[質問 14] ハダムシに対しても有効か？

[回答 14] ハダムシは吸血しないので効果はない。

[質問 15] フェバンテルの市販価格は？

[回答 15] 500g 入り が 7,000 円 と 高価 である。