

自作大型養殖水槽による産業の創造

～温泉街の魅力創造プロジェクト～

実施担当者 会津若松ザベリオ学園中学高等学校
教頭 遠藤 直哉

1 はじめに

震災をきっかけに、前任校の福島県立福島高等学校の生徒とともに始めたのが魚の養殖事業である。生徒が自分の足と目と耳で地域の課題を探し、新しい観光資源を創り出そうと始めた。その研究は、平成26年度の中谷財団研究助成も得ながら大きな成果を上げた。その研究に関わった生徒たちは現在、日本を支えたいと研究者、医師、官僚となっている。その研究資源を引き継ぐのが本プロジェクトである。

福島高校での先行研究のおかげで、設置などの技術的な導入には苦労しなかった。福島高校との共同研究で進めたため、本校の生徒は福島高校でのノウハウや失敗事例をあらかじめ知ることができた。しかし、福島高校でも困難を極めた魚の感染症が発生した。症状からは、エドワジエラ・カナムナリスが疑われた。小さな水槽で飼っている魚はあっという間に感染し死に至る。ウナギ用ワクチンが開発されていない現状では致命的でもあった。「ピンチはチャンス」と言われるが、このピンチのおかげで新たな研究テーマが決まり、そしてこの難題を解決できる糸口をついに見つけたのである。この研究は、日本魚類学会高校生ポスター発表部門で優秀研究賞を獲得している。

2 研究活動 魚類における新発想のワクチン開発について

2-1 要旨

海面漁業が減り養殖漁業が増える中、養殖魚の感染症が問題となっている。抗生物質の大量使用も問題となる中、ワクチンの開発はあまり進んでいない。本研究では、抗生物質を治療ではなくワクチン療法に応用できないかを確認した。その結果、2週間程度の抗生物質少量使用でワクチンに相当する効果が得られることを確認した。また、抗生物質も使用しないワクチン開発として高濃度高圧酸素を用いた研究も行った。思うような結果は得られなかったが、今後につながる結果を得ることができた。

2-2 研究のはじめに

本校では「会津の地域活性化を高校生の手で」を目標に、一昨年ウナギの養殖研究に取り組んだ。2トン水槽2台、1トン水槽2台を設置し、ウナギの稚魚1000匹の養殖実験を開始した。こども園から高校まである本校では稚魚の到着で大賑わいとなった。ところが、ウナギは二週目くらいから次々と死に始め、その一週間後にはほぼ全滅してしまった。大型水槽を譲り受けたところで発生した細菌性の病気と同じであった。次亜塩素酸ナトリウムを使って念入りに殺菌したつもりだったが、不十分であった。再度殺菌してチャレンジしたが、またも病気が発生してしまった。ただ、この経験の中で発見もあった。生き抜いた個体は今も生きている。獲得免疫を得たのだ。コロナ感染症の蔓延も研究を難しくした。課外活動の禁止、学校の休校、多くがマイナス要因であったがプラスとなったこともあった。コロナウイルスと細菌の違いはあるものの、ワクチンという予防が何よりも有効であることを実体験として学べたこと、学校では特に免疫の授業を興味深く受けられたことだ。重症化する前に治療を開始した方がいい。一度感染した人は、次は感染しにくい。免疫の授業では、二次応答や酸素の酸化力による殺菌作用など多くを学んだ。これらの知識が基となって、感染後発症前に抗生物質で治療を開始したら、樹状細胞からT細胞への抗原提示はなされるのだからワクチンとして働くのではないかという考えに至った。さらに、養殖実験用に地元のガス会社が

ら酸素ポンベの無償提供を受けていたことから、高濃度高圧酸素で殺菌出来たら、抗生物質さえ使わずにワクチンの効果を得られるのではないかとということになった。これがきっかけとなり、私たちの研究はスタートした。なお、令和4年1月の段階でウナギ用ワクチンは商品化されていない。

2-3 実験方法

(1) 機材・実験個体・使用薬品等

実験水槽

FRP 2 トン水槽に1 トンのろ過装置を接続したものを用いた。ろ材として、サンゴ砂・セラミックろ材を使用した。昨年度の実験で感染症が発生したため、水槽内には感染症を引き起こす細菌(症状からカラムナリス・エドワジェラが疑われる)が存在すると思われる。紫外灯などの殺菌装置は接続していない。

実験個体

ウナギの幼魚 600 匹 (30g/匹程度) を準備、150 匹ずつ 4 群に分けた。

使用抗生物質・高濃度高圧酸素条件

- 1 群：合成抗生物質^(※) (グリーンFゴールド[®] 顆粒) 細菌の脱水素酵素・タンパク質合成・DNA 複製を阻害
- 2 群：抗生物質 (アジスロマイシン) 細菌のタンパク質合成を阻害
- 3 群：5 気圧 100% 酸素 圧力容器内の空気を追い出し酸素を注入 溶存酸素 189~225ppm (予測値)

(2) 実験手順

1 群と 2 群のウナギは、薬浴時、厚手の 45L ビニール袋に入れ、5L の水と 1 群ではグリーンFゴールドを 0.15g (0.003%) 2 群ではアジスロマイシンを 0.25g (0.005%) 入れ、酸素を加えて輪ゴムで栓をした。薬浴は 8 時間 (8:30~16:30) 行った。終了後は薬浴液を取り除いたのち 50L の水で 2 回リンスし水槽に戻した。薬浴液・リンス後の水は紫外線処理して廃棄した。高濃度高圧酸素処理の 3 群は 4 時間 (12:30~16:30) 行った。圧をかける際は、10 分で 5 気圧まで加圧、減圧は 30 分で 1 気圧まで落とした (人間の治療時よりも圧力の変化を緩やかにした)。4 群は対照群とした。1 群から 3 群で、図 1 のように途中 9 日目と 17 日目に分群した。獲得免疫を得るのに最低でも 1~2 週間かかると言われていたことから、必要な薬浴・高圧酸素処理期間を調べるために分群した。抗生物質は体力を奪うことから、休薬期間を薬浴期間 5 日間後に 3 日間おいた。

高濃度高圧酸素の実験群は、溶存酸素を最低でも 160ppm となるように圧力を設定した¹⁾。加圧・減圧の時間に関しては魚類の先行研究がないため、人間に行われている高気圧酸素療法^{2) 3)} のプロトコルを参考に、さらに圧力変化を緩和した条件で実施した。

以上合計 10 の実験群を作り、死亡個体数を記録した。なお、1 群から 3 群は分群により 50 匹ずつ実験を行ったことになるが、実験結果のデータは死亡率から計算して 150 匹になるようにした。

(※) 1 群で用いた合成抗生物質に含まれる Nitrofurantoin は発癌性があり観賞魚専用であるが、抗生剤の可能性を探るために用いた。実験用ウナギは食用には供しない。

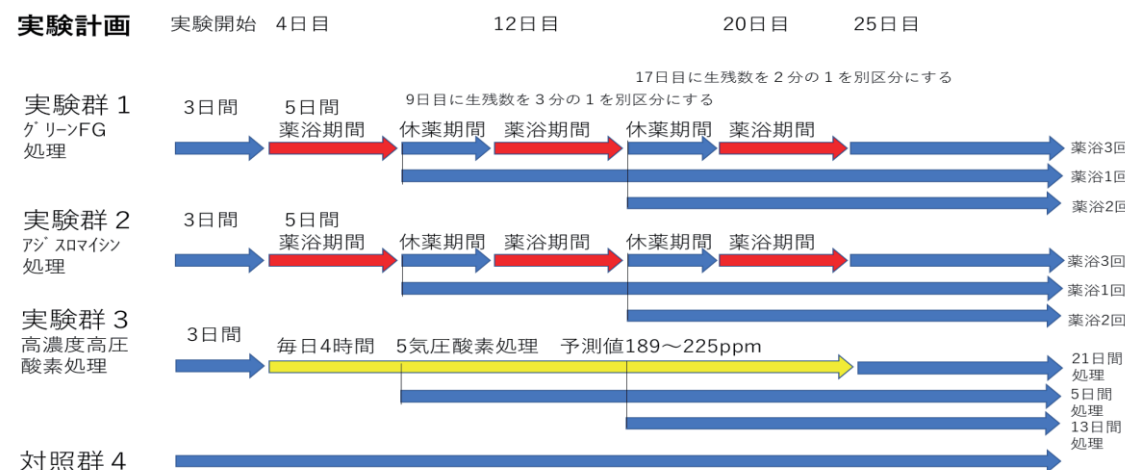


図1 実験の流れ

2-4 実験結果

(1) 抗生物質処理の結果

対照群では実験開始から9日目で死亡個体が発生し始め11日目で85%が、12日目で96%の幼魚が死亡した。13日目からの死亡数は0であった。死亡個体には、鰭の発赤・腹部の黄斑、皮膚の球状の白斑、背や尾に傷のあるものが見られた。これに対して、実験群1、2では同時期の死亡個体は見られなかった。薬浴1回の実験群では、薬浴終了後からわずかではあるが死亡個体が見られた。薬浴2回・薬浴3回の実験群では、0ではないが実験開始1か月後まで死亡個体がほとんど見られなくなった。実験結果のグラフを図2に示す。

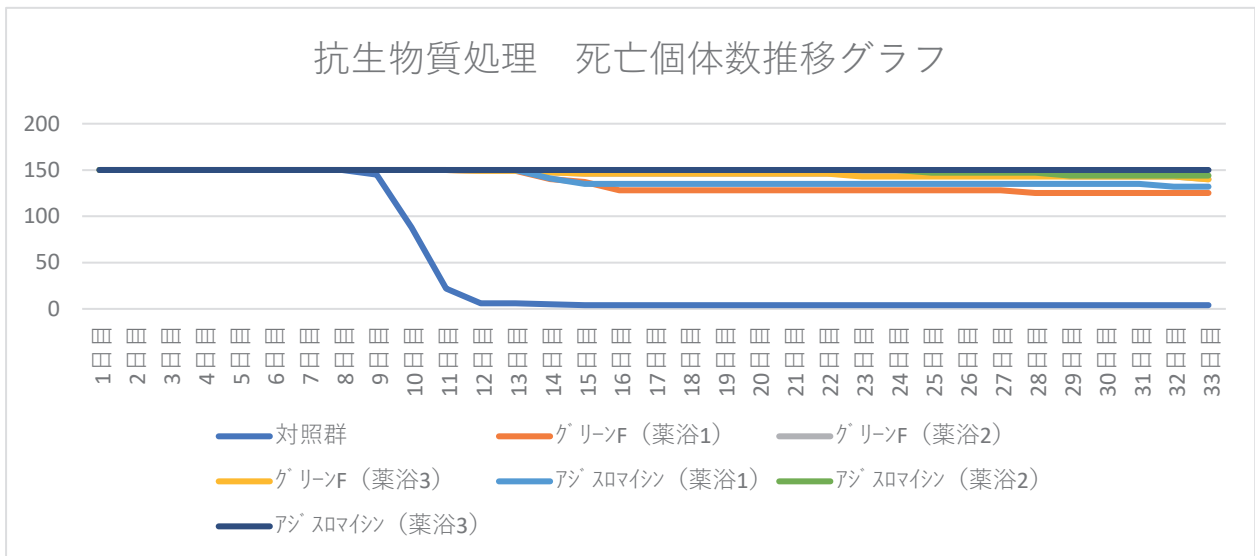


図2 抗生物質処理における死亡個体数の推移グラフ

(2) 高濃度高圧酸素処理の結果

高濃度高圧酸素実験群では、13日目までは明らかに死亡の抑制効果が見られたが、その後急激に死亡個体が増加した。処理を先に終えた実験群の方が死に始める時期が早かったが、2日後からは処理を続けている実験群でも急激に死亡個体が増加した。実験結果のグラフを図3に示す。

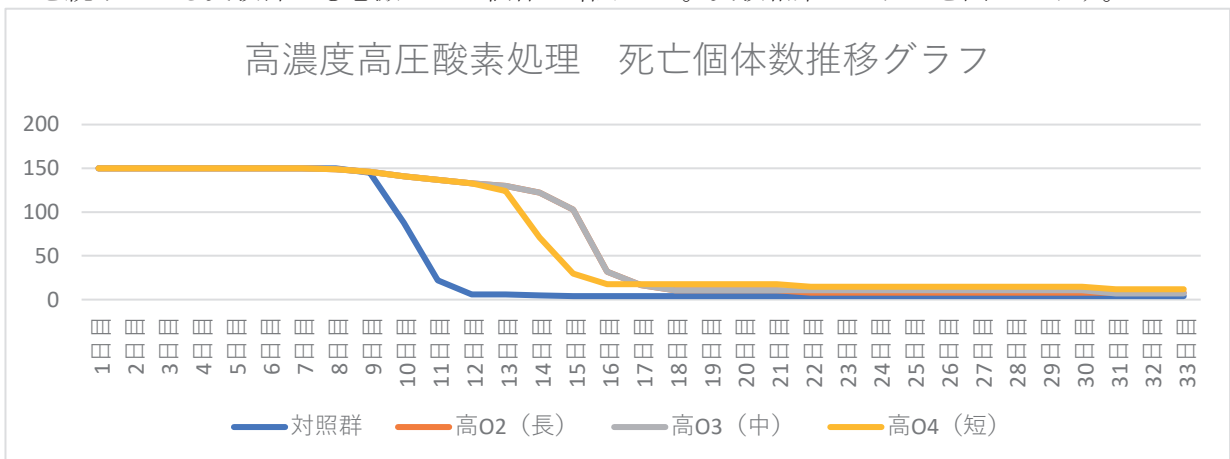


図3 高濃度酸素処理における死亡個体数の推移グラフ

2-5 考察

以上の実験結果から、発症前の感染初期に抗生物質処理をすることは、死亡個体数を減らすだけでなく、その後の死亡率も大幅に減少させていることがわかる。また、5日間の薬浴（実験開始8日目に終了）では、獲得免疫を完全に得ているとは言えず、休薬期間を含む2週間程度は必要であ

ると考えられる。獲得免疫を得るまでに1~2週間必要という情報とも一致した。対照群に関しても13日目以降、死亡個体がないことから、同様に獲得免疫を得たものと考えられる。高濃度高圧酸素の実験結果から、発症を遅らせる効果はありそうだが死亡個体を減少させるまでの効果は認められなかった。しかし、160ppm以上の溶存酸素では一般雑菌の繁殖が認められないという研究報告¹⁾と、私たちも追試を行って5気圧の高濃度高圧酸素下では水槽内の細菌繁殖が認められなかったことから、実験方法を見直し再度チャレンジしたい。今回は、実験における変数を減らす目的で餌を与えていない。高濃度酸素で代謝は促進されるのに栄養が不足し、体力が低下した可能性がある。あるいは、高濃度の酸素ではヘモグロビンの酸素解離が減少し、ストレスを与えた可能性もある(人間での過呼吸症候群)。その他にも、ウナギに多いと言われるビタミンEなど抗酸化物質が高濃度酸素の効果を減少させている可能性もある。そのため、①餌を与える、②CO₂をわずかに加える、③圧力変化のストレスを減らすために酸素処理の時間を大幅に伸ばす、などの追加実験を行いたい。高濃度高圧酸素処理におけるさらなる実験により、抗生物質さえ使わないワクチンの開発につなげていきたい。

2-6 結論

病原菌が養殖池にいることが前提となるが、本研究により養殖魚種のワクチンが開発されていなくても、抗生物質を活用してワクチンの代用とする可能性を示すことができた。また、抗生物質を餌に混ぜるのではなく小さな密閉空間での薬浴で病気の予防ができることから、抗生物質の自然界への流出・大量使用による耐性菌の出現、病気による薬剤コスト増といったリスクを大幅に低減できる可能性がある。

2-7 引用・参考文献

- 1)高濃度溶存酸素によるバイオリアクターの雑菌汚染防止
日本農芸化学会誌 Vol.65 pp.193~196, 1991
- 2) 高気圧酸素治療について 東京医科歯科大学病院 高気圧治療部 HP
<https://www.tmd.ac.jp/med/hbo7/abouthbo.html>
- 3) 高気圧酸素治療のガイドライン 有限責任中間法人日本臨床高気圧酸素・潜水医学会
http://square.umin.ac.jp/jachod/pdf/guideline_pdf/guideline_vr1.pdf
- 4) 水産用医薬品について 第35報 2022 農林水産省 消費・安全局 畜水産安全管理課

3 まとめ

2で示した実験の後、水産用医薬品として認められているオキシリン酸を用いた実験も行った。その結果、上記の抗生物質と同様の効果を確認した。魚病発生による温泉街での養殖事業中断を経て、ついに魚病を抑え込む新しい方法を開発するに至った。この研究は養鰻業者間での勉強会でも紹介されたが、ウナギに限らず多くの魚種に関しても同様の効果を示す可能性が高い。指導に当たった私も、これほどまでに死亡率を激減できる方法を開発できるとは思わなかった。芦ノ牧温泉での再開はこれからになるが、閉鎖系での循環養殖にとって大きな一歩になるだろう。

謝 辞

高校生がこのような大掛かりな活動を支援なしで行うことは不可能に近い。それを叶えてくれたのが中谷医工計測技術振興財団の研究助成である。感謝しかない。関わった生徒たちは自信をつけ、難関大学へ進学していった。メンバーの一人はさらに研究を進めたいと、水産学部に進学した。この活動が生徒の人生を変えたことは間違いない。この研究成果をもとに、産業の発展と生徒の自己実現をさらに進めていきたい。

以上