

## 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—III.

### トラフグの栄養性ミオパチー症に対するビタミン E の予防効果

窪田三朗\*・延東 真\*\*・宮崎照雄\*・大林萬鋪\*\*\*\*

(昭和 55 年 10 月 11 日受理)

## Studies on the Nutritional Myopathy Syndrome in Cultured Fishes—III.

### A Prophylaxis Effect of Vitamin E on Nutritional Myopathy in Cultured Puffers

Saburoh S. KUBOTA\*, Makoto ENDO\*\*, Teruo MIYAZAKI\*  
and Takaharu OHBAYASHI\*\*\*\*

\*Dep. Fish., Fac. Fish., Mie Univ., Edobashi, Tsu, Mie, Japan

\*\*Dep. Fish., Fac. Agr., Miyazaki Univ., Funatsuka, Miyazaki, Japan

\*\*\*Kagawa Pref. Exp. Sta., Yashima-higashi, Takamatsu, Kagawa, Japan

(Received October 11, 1980)

The authors demonstrated that nutritional myopathy in cultured young puffers (*Fugu rubripes*) was characterized by the alterations of the striated musculature and ceroid deposition in visceral organs. The causes of this disease were assumed to be the poisoning of the rancid fish-oil and vitamin E deficiency (ENDO *et al.* 1979).

In this study a prophylactic effect of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol acetate) on the myopathy was tested by administrations at following levels per the 100 g of sandeel mince; 500 mg in the first group, 250 mg in the second group, 200 mg with vitamin mixture in the third group, 100 mg with vitamin mixture in the fourth group and 0 mg in the control group. 5000 puffers (0.3 g mean body weight, 24.6 mm mean body length) were maintained in the each group for 50 days (water temp. 22.2–30.9°C). Growth ratios on the 50th day increased significantly with increasing the amount of vitamin E. Fish underwent the myopathy were encountered in the third and fourth groups and control. However, no fish manifested the myopathy in the first and second groups. From the results of present examination, it was determined that the high levels of vitamin E prevented from the occurrence of the myopathy and it may be thought that the myopathy was due to vitamin E deficiency.

筆者らはブリ (*Seriola quinqueradiata*) とトラフグ (*Fugu rubripes*) の栄養性ミオパチー症を病理組織学的に検討し、本症が体側筋組織や鰭動筋組織に退行性病変を起し、全身性にはセロイド沈着で特徴づけられることを明らかにした (延東ら, 1979; 窪田ら, 1980)。これらの病変の発現は変敗脂質による中毒症やビタミン E

欠乏症の際に起こり、そのいずれもがビタミン E の投与で予防できることが、魚類 (橋本ら, 1966; AOE *et al.* 1972; SMITH, 1979) だけでなく、鳥類 (JENSEN *et al.*, 1960) および哺乳動物 (BONETTI *et al.* 1963, MICHEL *et al.* 1971) についても研究されている。本報告は上述の知見に基づいて、ビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール・アセテート) をトラフグの種苗生産過程で与えると稚魚の栄養性ミオパチー症を予防できることがわかったので、その詳細を述べる。

\* 三重大学水産学部

\*\* 宮崎大学農学部

\*\*\* 香川県水産試験場

Table 1. Results of feeding experiment for 50 days

Vitamin E mg per 100 g diet	First group 500		Second group 250		Third group 200**		Forth group 100***		control group 0	
	BL (mm)	BW (g)	BL (mm)	BW (g)	BL (mm)	BW (g)	BL (mm)	BW (g)	BL (mm)	BW (g)
Mean body length (BL) and body weight (BW)*										
Date										
initial	24.6	0.3	24.6	0.3	24.6	0.3	24.6	0.3	24.6	0.3
7th day	42.7	1.4	37.7	1.0	39.4	1.1	38.3	1.1	40.3	1.3
14th day	50.3	2.3	47.9	2.1	47.1	1.8	48.9	2.1	44.6	1.7
21th day	60.7	4.6	55.0	3.1	56.7	3.8	57.9	3.6	59.9	4.1
28th day	79.0	9.7	70.1	7.3	68.2	6.8	70.9	6.9	67.5	6.1
35th day	91.8	17.1	81.9	12.4	86.3	15.2	87.4	14.1	82.7	12.0
50th day	105.0	28.1	103.3	26.0	100.0	23.5	95.5	20.8	96.4	19.6
Growth ratios		92.7		85.7		77.3		68.3		64.3

\* Averages of 20 fish.

\*\* With vitamin mixture: Ascorbic acid 150 mg, Riboflavin 15 mg, Pyridoxine 7 mg, Ca-pantthenate 30 mg, Choline chrolide 300 mg, Inositol 50 mg in 100 g diet.

\*\*\* With vitamin mixture: half levels of the third group.

## 材料および方法

香川県水産試験場で人工的に採苗したトラフグの稚魚(平均体長 24.6 mm, 平均体重 0.3 g)を用い, 4 濃度段階のビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール・アセテート) 投与区と対照区(無添加)を設定した。餌料 100 g 当りのビタミン E 添加量は表 1 に示す通りである。なお, 第 3・第 4 区のビタミン E は表 1 に示す組成をもつビタミン混合剤\*を投与した。各区 5,000 尾のトラフグ稚魚を海中に設定した 3 m 立方の小割に收容し, イカナゴのミンチに所定量のビタミン剤を添加して, 飽食量を与えた。なお, 本実験におけるビタミン剤の投与量は餌料中への混入量であり, そのうちのどれだけが魚に摂取されたかは不明である。実験期間は 1976 年 7 月 12 日から 8 月 30 日までの 50 日間で, その間の水温は 22.2~30.9°C の範囲であった。実験開始後, 1 週間間隔で各区より 20 尾づつを任意にとりあげ, 体重と体長を測定し, 10%ホルマリン水で固定して組織学的観察に供した。固定標本は常法に従ってパラフィン切片にし, マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色, PAS 反応, アザン染色, チール・ニルセン染色, ズダン III 染色, PTAH 染色を目的に応じて施した。

\* ビタミン E およびビタミン混合剤はエーザイ株式会社から供与されたものである。

## 結 果

### 1. 成 長

実験期間中におけるビタミン E 投与区と対照区の供試魚の体重と体長の推移は表 1 に示す通りである。実験終了時の各区の増重率は第 1 区 92.7, 第 2 区 85.7, 第 3 区 77.3, 第 4 区 68.3, 対照区 64.3 であり, 明らかにビタミン E 投与量の大きい区ほど良好な成長が認められた(図 1)。実験終了時の各区の平均体重, 体長および増重率は 95% 信頼限界で, 第 1・第 2 区と対照区間に有意差があるが, 第 3・第 4 区と対照区間には有意差はみられなかった。

また, 第 4 区と対照区では実験開始後 35 日目にとりあげた供試魚のなかには軽度の背こけ症状が認められ, 50 日目には中等度から高度の背こけ症状が観察された。

体色は魚の増重率に準じて, 高い値を示す区がすぐれており, 成長不良な区では黒色を帯びていた。

### 2. 組織学的所見

ビタミン E 投与区と対照区から 7 日間隔でとりあげた供試魚の組織学的観察の結果は次の通りであった。ビタミン E を 500 mg と 250 mg 投与した第 1・第 2 区では, 実験期間を通じて体側筋組織や鰭動筋組織の退行性病変およびセロイド沈着はほとんど観察されなかった(図 2)。対照区では, 実験開始後 28 日目で鰭動筋と体側筋の両組織に筋線維の萎縮や断裂が現われ, 実験終了時点の 50

日目には、それらの病変は顕著になり、侵された筋組織には結合織の補空性増殖も起っていた(図3)。また35日と50日目には内臓諸器官にセロイド沈着もみられた(図4)。なお、ビタミンE投与量の少い第3・第4区のうち、第3区では実験開始後35日と50日目にとりあげた供試魚に軽度ではあるが、筋組織の退行性病変が、また第4区では上述の対照区とほぼ同程度の病変が観察された。

### 考 察

ビタミンE( $\alpha$ -トコフェロール・アセテート)の添加は多くの実験で変敗あるいは酸化した魚油による中毒症の予防に効果的であることが明らかになっている。しかし、飼料100g当りの添加量はそれらの実験の際の添加方法、投与方法など種々の条件により異っている。即ち、コイの背こけ病の予防には、1) 北洋ミール基礎飼料にPoV 120~150のサンマ油を添加した場合には25mg(橋本ら, 1966), 2) カゼイン基礎飼料に大豆油のメチルエステルを添加した場合には10mg(WATANABE *et al.*, 1970), 3) カゼイン基礎飼料にPoV 320のサバ油を添加した場合には25mg(AOE, *et al.*, 1972)のビタミンEが有効とされている。またニジマスでは、1) カゼイン基礎飼料にタラ肝油のメチルエステルを添加した場合には5mg(渡辺ら, 1978), 2) 変敗したニンシール基礎飼料に変敗したニンシ油を添加した場合には2310国際単位(SMITH, 1979)のビタミンEが中毒症の予防に有効とされている。上記のコイとニジマスのビタミンE要求量に比べて、トラフグの栄養性ミオパチー症の予防のためのビタミンE要求量は250mgであり、極めて大きい。トラフグの場合には、1) 餌料が練餌ではなく、チョッパーにより細断されたミンチであるために添加したビタミン剤が投餌の際に水中に分散流失する、2) 餌のイカナゴの採捕条件、採捕後の冷凍、保蔵の状況により魚体内の油の含有量とその変敗度も大きく変動することが考えられる。これらの要因によりビタミンEの流失量や要求量にも変動があると考えられる。トラフグの養殖のための飼料とビタミンE要求量は今後さらに検討されなければならないが、魚のミンチを用いて養殖する際には、栄養性ミオパチー症を予防するために、餌料100g当りビタミンEを250mg添加することが、一つの目安と言えよう。

### 謝 辞

本研究をすすめるにあたり、供試魚の飼育・管理に御助力を賜った香川県水産試験場とビタミン剤の供与をい

ただいたエーザイ株式会社に篤くお礼を申し述べます。

### 要 約

- 1) トラフグの種苗生産過程に発生する稚魚の栄養性ミオパチー症をビタミンEの投与で予防する実験を行った。
- 2) 実験の結果、餌料100g当りビタミンEを250mg, 500mgをそれぞれ投与したものでは本症の発生が予防できた。

### 文 献

- AOE H., I. ABE, T. SAITO, H. FUKAWA and H. KOYAMA (1972): Preventive effects of tocopherols on muscular dystrophy of young carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38** (8), 845-851.
- BONETTI E. and F. STIRPE (1963): Effect of selenium on muscular dystrophy in vitamin E deficient rats and Guineapigs. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.*, **114**, 109-115.
- 延東 真・宮崎照雄・窪田三朗・大林萬鋪・長野泰三・松本紀男(1979): 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—II. 種苗生産中に発生したトラフグの栄養性ミオパチー症について. 本誌, **13**(4), 183-187.
- 橋本芳郎・岡市友利・渡辺 武・古川 厚・梅津武司(1966): 酸化脂肪によるコイのセコケ病発生とビタミンEの予防効果. 日本水誌, **32**(1), 64-69.
- JENSEN L. S. and J. MCGINNIS (1960): Influence of selenium, anti-oxidants and type of yeast on Vitamin E deficiency in the adult chicken. *J. Nutri.*, **72**, 23-28.
- 窪田三朗・舟橋紀男・延 東真・宮崎照雄(1980): 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—I. ブリの栄養性ミオパチー症. 本誌, **15**(2), 75-80.
- MICHEL R. L., D. D. MAKDANI, J. T. HUBER and A. E. SCULTHORPE (1971): Nutritional myopathy due to vitamin E deficiency in calves fed fish protein concentrate as the sole source of protein. *J. Dairy Sci.*, **55** (4), 498-506.
- SMITH C. E. (1979): The prevention of liver lipid degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* RICHARDSON fed rancid diets: a preliminary report. *J. Fish Disease*, **2**, 429-437.
- WATANABE T., F. TAKASHIMA, C. OGINO and T. HIBIYA (1970): Requirement of young carp for  $\alpha$ -tocopherol. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **36** (9), 972-976.
- 渡辺 武・和田雅宏・上原良吾・荻野珍吉(1978): 餌料の高度不飽和酸含有とニジマスおよびコイのビタミンE要求量. 日本水産学会講演要旨, 86 p.

**Explanation of Figures**

- Fig. 1.** Representative fish in the feeding examination for 50 days. Fish increases in the size with increasing the amount of vitamine E. The fish manifestes the myopathy in the control group. 1, first group; 2, second group; 3, third group; 4, fourth group; 5, control group.
- Fig. 2.** The lateral musculature of the fish in the first group. No degeneration is caused. H-E stain,  $\times 200$ .
- Fig. 3.** The lateral musculature of the fish in the control group. Sever degeneration is caused. H-E stain,  $\times 200$ .
- Fig. 4.** The liver of the fish in the control group. Marked ceroid deposition is observed in the hepatocytes. Sudan III stain,  $\times 200$ .

**図 の 説 明**

- 図 1,** 50日間飼育したトラフグの各区の代表例。1, ビタミンE 500 mg 投与区; 2, ビタミンE 250 mg 投与区; 3, ビタミンE 200 mg とビタミン混合剤投与区; 4, ビタミンE 100 mg とビタミン混合剤投与区; 5, 対照区。
- 図 2,** ビタミンE 500 mg 投与区の魚の体側筋組織。異常はみられない。H-E 染色,  $\times 200$ 。
- 図 3,** 対照区の魚の体側筋組織。筋線維の退行性病変が激しい。H-E 染色,  $\times 200$ 。
- 図 4,** 対照区の魚の肝臓。実質細胞内にセロイドの沈着が著しい。ズダン III 染色,  $\times 200$ 。

