

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03863

研究課題名(和文) 魚類病原細菌由来の多糖類認識メカニズムを利用した魚病細菌感染防除技術の開発

研究課題名(英文) Development of the fish pathogenic bacterial infection prevention technique utilizing the polysaccharide recognition mechanism derived from pathogenic bacteria

研究代表者

引間 順一 (Hikima, Jun-ichi)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：70708130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、魚類のリポ多糖(LPS)認識機構を利用した細胞内寄生細菌への感染防御法の開発に挑戦した。魚類におけるLPS認識機構は哺乳類とは異なっており、今回着目した魚類のインフラマソーム関連分子の働きについては大きな違いがあった。興味深いことに、本研究において作製したインフラマソーム関連分子のノックアウトメダカを用いた解析から、Casp1やASCが炎症応答やパイロトーシス(炎症性細胞死)の誘導に重要であり、細胞内寄生細菌*Edwardsiella piscicida*を含む魚病細菌に対するこれらの分子の防御能の重要性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

魚類のエドワジエラ症は細胞内寄生細菌による感染症のため、効果的な疾病対策が困難とされてきた。その中でリポ多糖(LPS)の免疫賦活効果に着目し、インフラマソーム関連分子の機能について解析してきた。今回解析したメダカにおいて、インフラマソーム関連分子がエドワジエラ症に対して重要な生体防御能を示したことは、今後の本感染症対策法の開発に重要な発見である。また、哺乳類同様、魚類においてASCやCasp1によりパイロトーシスが誘導されることを解明した事実は、分子進化的検知から見ても今後の細胞死研究にとって非常に重要である。

研究成果の概要(英文)：In this research project, the development of the prevention method to intracellular bacteria infection was conducted using the lipopolysaccharide (LPS) recognition mechanism of fish. However, the LPS recognition mechanism in fish was greatly different from the mammals, especially for the function of the fish inflammasome-related molecules, which we focused on this research project. Interestingly, the analyses using knockout Japanese medaka of inflammasome-related genes (i.e., Casp1 and ASC), which we established in this project, elucidated the importance to induce inflammatory responses and proptosis (inflammatory cell death) as defense mechanism for the infection of not only *Edwardsiella piscicida* (intracellular bacteria) but also *Aeromonas hydrophila*.

研究分野：魚類免疫

キーワード：魚病細菌 インフラマソーム ゲノム編集 メダカ ヒラメ

1. 研究開始当初の背景

養殖現場では毎年多くの魚病が発生し、甚大な被害を受けている。主要養殖魚種における被害は、細菌性疾患によるものが多く、特に細胞内寄生細菌であるエドワジエラ症やノカルジア症などによる損失被害額の割合が非常に大きい。細菌性疾患への対策には、抗菌剤やワクチンを用いるのが一般的であるが、薬剤耐性菌出現への懸念からワクチン開発への期待が高い。しかし、効果的なワクチンの開発は容易ではなく、特に、細胞内寄生細菌は、特異抗体が作用しにくいいためワクチン開発が難しい。細胞内寄生細菌へのワクチンには、広く使用されている不活化ワクチンよりも毒性・病原性のみを排除した生ワクチンの方が有効であるが(日獣会誌, 69: 27, 2016)、病原性復帰や微生物増殖・伝播の可能性などの理由から使用が懸念されており、生ワクチン以外を使用することが望ましい。生ワクチンの効果は、マクロファージなどの貪食能の活性化や細胞傷害性 T リンパ球(CTL)の分化が重要な鍵となっているが、未だ分子メカニズムには不明な点が多い。一方、魚類では多糖類の投与によりマクロファージや好中球の貪食活性や殺菌作用を高めることで、細胞内寄生細菌感染に対して防御効果があることが知られている。この効果は自然免疫機構の活性化に依存しているため、細胞内寄生細菌に限らず細胞外寄生細菌に対しても効果が期待できることから汎用性が高く、ワクチン効果を増強するアジュバント開発への応用が期待できる。しかしながら、魚類では細菌由来のリポ多糖(LPS)などの多糖類を認識する分子メカニズムは不明であり、これらを詳細に理解することが細菌性疾患に対するアジュバント開発にとって非常に重要である。

申請者はこれまでに、魚類の LPS 認識機構を明らかにするために関連する遺伝子基盤の解明を行い、魚類同様に LPS 刺激により NF- κ B の活性化が起こることを示したが、多くの点で哺乳類と異なることも分かってきた(*Dev. Comp. Immunol.* 55: 21, 2016; *Dev. Comp. Immunol.* 46: 222, 2014)。まず、哺乳類には 2 つの LPS 認識機構が存在する。1 つは Toll 様受容体(TLR)4, MD-2 および CD14 の複合的な LPS 認識を介した NF- κ B 活性化経路(細胞外)で、2 つ目は細胞内のインフラマソーム(NLR-PYD, ASC および Pro-CASP1 の複合体)とカスパーゼ 4/11(CASP4/11)による LPS 認識後にインターロイキン(IL)-1 β を成熟する経路(細胞内)である。これらの経路によって貪食活性などが促進される。しかし、魚類では TLR4 経路が LPS 刺激によって NF- κ B の活性化が起こらない(*J. Immunol.*, 182: 1836, 2009)。また、魚類のインフラマソームの機能についても全く不明で、CASP4/11 遺伝子の同定もされていない。さらに、LPS 刺激後に活性化されたインフラマソームが HMGB1 の分泌を促して TLR2 認識により NF- κ B の活性化が起こる免疫賦活化経路が哺乳類では知られているが、これも魚類では不明である。以上のことから、魚類の LPS 認識および免疫賦活化機構は分子生物学的に殆ど理解されておらず、細菌感染時に重要な役割を果たす分子群の機能を詳細に解明し、理解することが急務である。

本研究課題において申請者は、上述した LPS 認識機構に関連する遺伝子基盤を既に複数の魚種において解析しており、これらの分子機能を解明するためには、遺伝子が機能しないノックアウト(KO)魚を解析し、野生個体と比較することが最も分かりやすいと考えた。本研究では、将来的な実用性を考え、ゼブラフィッシュよりもメダカが海産養殖魚種と生物学的・進化的に近縁であるため、まずはメダカを使用することとした。これらによって細菌由来の多糖類によって効果的に免疫を活性化する遺伝子を特定し、遺伝子アジュバントとして養殖魚(ヒラメ)へ還元することを最終目標とした。

2. 研究の目的

養殖場重要魚種において魚病細菌による疾病発生状況は毎年甚大であり、その対策が急務である。これまで、魚病細菌感染症に対してリポ多糖(LPS)の免疫賦活効果が高いにもかかわらず、魚類における分子メカニズムは殆ど理解されてこなかった。そこで申請者は、LPS を認識する機構を明らかにすることで、細菌感染を防御する重要な遺伝子を特定することができると考えた。また、ノックアウト(KO)メダカを使用することで LPS 認識メカニズムをより分かりやすく解明し、効果的に病原細菌防御能を高める遺伝子を特定する。さらに、当該遺伝子を遺伝子アジュバントとして利用して、これまでにないワクチン効果を発揮させる新規アジュバントの構築を目指した研究に着手する。

3. 研究の方法

インフラマソーム関連遺伝子の役割を明らかにするために、まず、KO メダカの変異確認: ゲノム編集技術により ASC および Casp1 遺伝子を破壊した KO メダカを作成し、遺伝子の変異箇所の配列を明らかにした。次に、作製した KO メダカにおける魚病細菌への感染防御能を明らかにするために、ヒラメ・エドワジエラ原因菌である *Edwardsiella piscicida* (旧名: *E. tarda*) および *Aeromonas hydrophila* を用いて感染試験を行った。ASC KO メダカにおけるトランスクリプトーム解析を行い、ASC 遺伝子の機能・役割に関連した遺伝子について検討した。また、ASC お

よび Casp1 KO メダカにおける防御効果などについて解析を行った。さらに、メダカ培養細胞を用いて ASC および Casp1 タンパク質の細胞内局在性について明らかにした。最後に、これらの KO メダカを用いて細胞死の測定を行い、細菌感染に対する ASC および Casp1 の役割について検討した。

4. 研究成果

(1) メダカ ASC 遺伝子の重複、発現解析および Casp1 との細胞内局在

最初に、Ensembl ゲノムデータベースよりメダカ *asc* の探索を行い、全塩基配列を決定後、アライメント解析、立体構造予測解析などを行った。その結果、メダカ *asc* は、16 番染色体上に並列に 3 つ (*asc1*、*asc2* および *asc3*) 存在した。3 つのメダカ *asc* の ORF 領域は、*asc1* は 555-bp (184 aa)、*asc2* は 660-bp (219 aa)、*asc3* は 618-bp (205 aa) であった。3 つのメダカ *asc* から演繹されたアミノ酸配列には、インフラマソーム形成に重要である PYD および CARD ドメインが保存されていた。

次に、また、メダカの各組織における *asc* の発現解析を定量リアルタイム PCR (qPCR) により行った。*asc1* の発現は、表皮、鰓、腸管、腎臓および肝臓において、他の *asc* よりも顕著に高かった。さらに、先行研究で作製した ASC-1 変異 (ASC-KO) メダカを用いて、魚病細菌 *Aeromonas hydrophila* 浸漬感染後の組織における *asc* 遺伝子の発現動態を qPCR により解析した。*A. hydrophila* に感染した ASC-KO メダカにおいて、*asc2* および *asc3* の発現が野生型メダカに比べて有意に上昇した。以上から、メダカの *asc* の中でも、*asc1* 遺伝子が主要な役割を担っているが、細菌感染時の表皮では、*asc2* および *asc3* 遺伝子が *asc1* 遺伝子の代替分子として、発現誘導されると考えられた (Morimoto et al., *Dev Comp Immunol.*, 2020 に報告)。

また、メダカ ASC タンパク質の細胞内局在を明らかにするために、蛍光色素タンパク質を融合したメダカ ASC をメダカ鱗由来培養細胞株 (OLHNI-2) で発現させ、その蛍光を観察したところ、メダカ ASC1~3 はそれぞれが、細胞質内で Casp1 と同じ場所に凝集して局在しており、ASC スペックを形成することが示唆された。

(2) ASC および Casp1 KO メダカの作製

まず、メダカ *asc1* 遺伝子の Exon 3 にコードされている PYD ドメイン領域を標的にして、CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子破壊を試みた。その結果、PYD ドメイン領域の後半部に 7 塩基欠損した変異メダカを得た。変異領域には、この 7 塩基欠損によりフレームシフトが起こり、7 塩基欠損領域の後から ASC-1 とは異なるアミノ酸残基がコードされたのちに終止コドンの挿入があることが確認された。本 ASC1 KO メダカは、ASC-1 の機能を欠損したメダカであると考えられた。

一方、CRISPR/Cas9 を用いて、メダカ *casp1* 遺伝子の Exon 2 から Exon 8 に及ぶ領域約 2.1 kbp を欠失させ、この領域にクリスタリン・プロモーターに蛍光タンパク質遺伝子 (*gfp* または *mCherry*) を連結した DNA 断片を、*casp1* 遺伝子の欠損領域にノックイン (KI) することで Casp1 KO メダカを作製した。作製した Casp1-(KI: *gfp/mCherry*) KO メダカは、目の蛍光を確認するだけで、ジェノタイプリング無しにヘテロおよびホモ個体を識別できた。また、本 KO メダカは、Casp1 の CAS 領域を完全に欠損しており、Casp1 としての酵素活性を機能的に有しないメダカとなった。

(3) KO メダカを用いた魚病細菌感染に対する ASC の役割

まず、野生型 (WT) および ASC-1 KO メダカを *A. hydrophila* に感染させ、累積死亡率の測定を行った。感染試験を行った結果、ASC-1 KO メダカは野生型メダカに比べて累積死亡率が高かった。一方、WT および ASC-1 KO メダカを *E. piscicida* に感染させ累積死亡率の測定を行った結果、ASC-1 変異メダカは野生型メダカに比べて累積死亡率が低く、*A. hydrophila* 感染試験とは反対の結果になった。

次に、細菌感染時の好中球やマクロファージの組織内の動態を明らかにするために、*E. piscicida* および *A. hydrophila* による浸漬処理を行った ASC-1 KO および WT メダカの頭腎および腸管における好中球またはマクロファージ特異的に発現する遺伝子である *mpx* および *mpegl* の発現量を qPCR により解析した。その結果、*E. piscicida* 感染後の *mpx* および *mpegl* 遺伝子の発現量は ASC-KO と WT メダカ間で有意な差は見られなかったが、*A. hydrophila* 感染後には WT よりも ASC-KO メダカで有意に上昇した。さらに、細菌を貪食し、殺菌するために重要である活性酸素種 (ROS) の産生量を比較するために、細菌感染後の腎臓細胞を用いてニトロブルーテトラゾリウム法により ROS の産生量の測定を行なった。その結果、*E. piscicida* および *A. hydrophila* 感染時において ASC-KO メダカは WT メダカよりも ROS の産生量が有意に低くなった。次に、実際の組織内で生存している細菌数について検討するために、*A. hydrophila* 感染時の ASC-1 変異メダカの腎臓における細菌数の測定を行なった。*A. hydrophila* 感染後 24 時間における ASC-1 変異メダカの腎臓における細菌数は、野生型メダカに比べて有意に高かった。一方、*E. piscicida* 細菌感染後のメダカ腎臓組織内の細菌数について検討したところ、*E. piscicida* 感染 24 時間の腎臓、腸管および肝臓において ASC-1 変異メダカと野生型メダカで有意な差は見られなかったが、感染 72 時間では、全ての組織において、ASC-1 変異メダカの組織内の菌数は野生型メダカと比

較して有意に高かった。

次に、細菌感染時における ASC-1 を介した細胞死誘導機構を解明するために、*A. hydrophila* による浸漬処理を行った ASC-1 KO および WT メダカの頭腎および腸管におけるアポトーシス関連遺伝子および NF- κ B 活性化経路に関連する遺伝子の発現を、qPCR により解析した。*A. hydrophila* 浸漬後の ASC-1 KO メダカの腎臓および腸管における *tnfa* および *ripk2* の発現は WT に比べて有意に減少した。一方で、*casp3* の発現は有意に上昇した。

最後に、ASC-1 KO および WT メダカの腎臓細胞を単離し、*A. hydrophila* で刺激した際の細胞内から放出される乳酸脱水素酵素(LDH)を測定し、細胞死の指標とした。*A. hydrophila* で刺激した ASC-1 KO メダカの腎臓細胞における LDH 放出は、WT メダカに比べて有意に低下した。以上のことから、メダカ ASC は *A. hydrophila* 感染時の腎臓や腸管において *ripk2* の発現を介した NF- κ B の活性化を誘導し、*tnfa* および *mmp9* の発現誘導に関与することが示唆された。また、*A. hydrophila* 感染時の腎臓において、ASC-1 は *casp3* および *casp8* を介さない他の経路によって細胞死を誘導し、病原細菌の排除に関与していることが示唆された (Morimoto et al., *Fish Shellfish Immunol.*, 2020 に一部報告)。

(4) KO メダカを用いた魚病細菌感染に対する Casp1 の役割

WT および Casp1 KO メダカを用いた *E. piscicida* および *A. hydrophila* の感染試験における Casp1 KO メダカの累積死亡率は、いずれも WT メダカに比べ有意に高かった。次に、Casp1 KO および WT メダカから採取した腎臓細胞を用いて、*E. piscicida* および *A. hydrophila* の感染後に誘導される細胞死(細胞傷害)の割合を LDH 放出に基づく測定法により算出した。LDH 放出測定の結果、*E. piscicida* および *A. hydrophila* の感染後の Casp1 KO メダカの腎臓細胞における細胞死の割合は、WT メダカに比べて有意に低く、上述した ASC-1 KO メダカの結果と類似していた。さらに、免疫関連遺伝子の発現解析では、Casp1 KO メダカ腸管および肝臓における *il1b*、*il6*、*il8* および *il18* の発現が、WT メダカと比べて有意に減少していた。以上の結果から、魚類 Casp1 は、哺乳類などと同様にパイロトーシスを誘導し、細菌感染を防除するために重要であることが示唆された。また、誘導されたパイロトーシス後の免疫活性化が、炎症性サイトカイン遺伝子の発現を促進すると推察された。

(5) 今後の課題

本研究課題では、魚類においてインフラマソームや ASC スペックを形成する構成分子である ASC および Casp1 が *E. piscicida* および *A. hydrophila* の感染に対する防御に重要な役割を果たしていることを示し、炎症性の制御制裁病死であるパイロトーシスを誘導することで、細菌感染を防御していることが示唆された。しかしながら、ASC-1 KO メダカにおける *E. piscicida* 感染試験の結果については、未だ不明なままである。そこで現在、この点を解明するために、ASC-1 変異タンパク質の機能や *E. piscicida* の病原因子との関係についてより詳細に解析を続けている。また、将来的には、これらの成果をヒラメやマダイに還元することを目指している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Murakami Shiori, Morimoto Natsuki, Kono Tomoya, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 99
2. 論文標題 Molecular characterization and expression of the teleost cytosolic DNA sensor genes cGAS, LSm14A, DHX9, and DHX36 in Japanese medaka, <i>Oryzias latipes</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Developmental & Comparative Immunology	6. 最初と最後の頁 103402 ~ 103402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dci.2019.103402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Morimoto Natsuki, Kondo Masakazu, Kono Tomoya, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 87
2. 論文標題 Nonconservation of TLR5 activation site in <i>Edwardsiella tarda</i> flagellin decreases expression of interleukin-1 and NF- κ B genes in Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Fish & Shellfish Immunology	6. 最初と最後の頁 765 ~ 771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fsi.2019.02.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Aoki T, Teru Y, Kono T, Sakai M, Takano T, Hawke JP, Fukuda Y, Takeyama H, Hikima J	4. 巻 5
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> Strain OT-51443 Isolated from Yellowtail (<i>Seriola quinqueradiata</i>) in Japan.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e00404-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00404-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Morimoto Natsuki, Okamura Yo, Maekawa Shun, Wang Han-Ching, Aoki Takashi, Kono Tomoya, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 105
2. 論文標題 ASC-deficiency impairs host defense against <i>Aeromonas hydrophila</i> infection in Japanese medaka, <i>Oryzias latipes</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fish & Shellfish Immunology	6. 最初と最後の頁 427 ~ 437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fsi.2020.07.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mojzesz Miriam, Rakus Krzysztof, Chadzinska Magdalena, Nakagami Kentaro, Biswas Gouranga, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 21
2. 論文標題 Cytosolic Sensors for Pathogenic Viral and Bacterial Nucleic Acids in Fish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7289 ~ 7289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21197289	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Morimoto Natsuki, Okamura Yo, Kono Tomoya, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 115
2. 論文標題 Characterization and expression analysis of tandemly-replicated asc genes in the Japanese medaka, <i>Oryzias latipes</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental & Comparative Immunology	6. 最初と最後の頁 103894 ~ 103894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dci.2020.103894	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morimoto Natsuki, Kono Tomoya, Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi	4. 巻 22
2. 論文標題 Inflammasomes in Teleosts: Structures and Mechanisms That Induce Pyroptosis during Bacterial Infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4389 ~ 4389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22094389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Masahiro, Hikima Jun-ichi, Kono Tomoya	4. 巻 87
2. 論文標題 Fish cytokines: current research and applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12562-020-01476-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 8件）

1. 発表者名 森本和月、岡村 洋、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 ASC変異メダカにおける <i>Aeromonas hydrophila</i> 感染時の細胞死誘導機構
3. 学会等名 令和2年度日本魚病学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 J. Hikima, N. Morimoto, Y. Okamura, T. Kono, M. Sakai
2. 発表標題 ASC-mutated Japanese medaka <i>Oryzias latipes</i> byCRISPR-Cas9 system obtains resistance to infection of <i>Edwardsiella piscicida</i>
3. 学会等名 7th Annual Meeting of the International Cytokine & Interferon Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 N. Morimoto, Y. Okamura, S. Maekawa, H.C. Wang, T. Aoki, T. Kono, M. Sakai, J. Hikima
2. 発表標題 Immune responses to bacterial infection in an ASC-mutated Japanese medaka (<i>Oryzias latipes</i>) established by CRISPR-Cas9 system
3. 学会等名 Marine Biotechnology Conference 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Sakai, N. Morimoto, T. Kono, J. Hikima
2. 発表標題 Interaction between the soluble- and membrane-forms of TLR5 induces expression of IL-1 gene in Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>
3. 学会等名 International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (19th EAFF Porto 2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森本和月、中崎 司、竹山春子、河野智哉、酒井正博、引間順一、青木 宙
2. 発表標題 炎症応答関連分子ASC遺伝子変異メダカの作出
3. 学会等名 平成30年度マリンバイオテクノロジー学会宮崎大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本和月、近藤昌和、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 ヒラメ分泌型TLR5および膜型TLR5の相互作用による免疫関連遺伝子の発現誘導機構
3. 学会等名 平成30年度マリンバイオテクノロジー学会宮崎大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上菜理、森本和月、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 メダカcGASおよびLSm14A遺伝子の発現動態の解明
3. 学会等名 平成30年度マリンバイオテクノロジー学会宮崎大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shiori Murakami, Natsuki Morimoto, Gouranga Biswas, Tomoya Kono, Masahiro Sakai, Jun-ichi Hikima
2. 発表標題 Characterization and expression analysis of cytosolic DNA sensor genes in Japanese medaka, <i>Oryzias latipes</i>
3. 学会等名 14th International Society of Developmental and Comparative Immunology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Natsuki Morimoto, Masakazu Kondo, Tomoya Kono, Masahiro Sakai, Jun-ichi Hikima
2. 発表標題 Interaction of soluble- and membrane-forms of toll-like receptor 5 induce expression of interleukin-1 gene in Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>
3. 学会等名 8th International Symposium of Aquatic Animal Health (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本和月、青木 宙、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 <i>Edwardsiella tarda</i> 感染メダカにおけるASCの役割
3. 学会等名 平成30年日本魚病学会秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本和月、近藤昌和、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 ヒラメ分泌型TLR5によるIL-1 遺伝子の発現誘導機構の解明
3. 学会等名 平成30年日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jun-ichi Hikima, Natsuki Morimoto, Masakazu Kondo, Tomoya Kono, Masahiro Sakai
2. 発表標題 The Soluble-Form Of Toll-Like Receptor 5 Interacts With The Membrane-Form and Induces Expression Of Interleukin-1 Gene In Japanese Flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>
3. 学会等名 World Brackishwater Aquaculture Conference BRAQCON2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森本和月、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 ASC 変異メダカにおける細菌感染時の炎症性サイトカイン遺伝子の発現動態
3. 学会等名 平成30年日本魚病学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡村 洋、河野智哉、酒井正博、引間順一、木下政人
2. 発表標題 インターロイキン17 受容体 A 遺伝子変異メダカの作製
3. 学会等名 平成30年日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hikima, J, Ikeda, D, Izumi, M, Nagaoka, M, Morimoto, N, Kono, T, Sakai, M, Takeyama, H, Aoki, T
2. 発表標題 Transcriptomic analysis in the intestine of IL-17A/F1-knockout medaka, <i>Oryzias latipes</i> .
3. 学会等名 11th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference (Honolulu, Hawaii, USA) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 引間順一、池田大介、和泉幹久、森本和月、河野智哉、酒井正博、竹山春子、青木 宙、水澤奈々美、渡部終五、木下政人
2. 発表標題 メダカ腸管におけるIL-17A/F1の役割について
3. 学会等名 マリンバイオテクノロジー学会大会(東北大学、宮城・仙台)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 輝 祐希、引間順一、河野智哉、酒井正博、高野倫一、John P. Hawke、竹山春子、青木 宙
2. 発表標題 Photobacterium damsela subsp. piscicida 日本分離株および米国分離株のゲノム比較解析
3. 学会等名 平成29年度日本魚病学会秋季大会（ホテルメリージュ宮崎、宮崎）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森本和月、河野智哉、近藤昌和、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 ヒラメ分泌型TLR5およびフラジェリンによるインターロイキン1 遺伝子の発現誘導
3. 学会等名 平成29年度日本魚病学会秋季大会（ホテルメリージュ宮崎、宮崎）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村上菜理、森本 和月、和泉幹久、河野 智哉、酒井 正博、引間 順一
2. 発表標題 メダカcGASおよびLSm14A遺伝子の構造解析および発現解析
3. 学会等名 平成29年度日本魚病学会秋季大会（ホテルメリージュ宮崎、宮崎）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 和泉幹久、河野智哉、酒井正博、引間順一
2. 発表標題 メダカCaspase-1遺伝子の同定および遺伝子発現
3. 学会等名 平成29年度日本魚病学会秋季大会（ホテルメリージュ宮崎、宮崎）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuki Teru, Tomoya Kono, Masahiro Sakai, Tomokazu Takano, John P. Hawke, Yutaka Fukuda, Haruko Takeyama, Takashi Aoki, Jun-ichi Hikima
2. 発表標題 Whole genome sequences of <i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>piscicida</i> isolated in Japan and the USA
3. 学会等名 The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium (Tokyo University of Marine Science and Technology, Shinagawa, Tokyo) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nastuki Morimoto, Tomoya Kono, Masakazu Kondo, Masahiro Sakai, Jun-ichi Hikima
2. 発表標題 Two bacterial flagellin genes induce expression of inflammatory cytokine genes in the Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i>
3. 学会等名 The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium (Tokyo University of Marine Science and Technology, Shinagawa, Tokyo) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mikihisa Izumi, Gouranga Biswas, Tomoya Kono, Masahiro Sakai, Jun-ichi Hikima
2. 発表標題 Characterization and expression of inflammasome-associated genes in medaka, <i>Oryzias latipes</i>
3. 学会等名 The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium (Tokyo University of Marine Science and Technology, Shinagawa, Tokyo) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 引間順一、中崎 司、森本和月、前川 峻、王 涵青、青木 宙、河野智哉、酒井正博
2. 発表標題 炎症応答関連分子ASC遺伝子の特徴および変異メダカの作製
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会 (東京海洋大学、品川、東京)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Teruyuki Nakanishi, Jun-ichi Hikima, Takashi Yada	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer International Publishing	5. 総ページ数 1107
3. 書名 Immune system in teleosts. Edwin L. Cooper (Ed.) Advances in Comparative Immunology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	木下 政人 (Kinoshita Masato) (60263125)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------