

令和 2 年 9 月 9 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07950

研究課題名(和文) サケ科魚類におけるホルモンの拮抗作用による成長・海水適応と耐病性のトレードオフ

研究課題名(英文) Trade-off relationships among growth, seawater-adaptation, and disease resistance through antagonistic effects of endocrine factors in salmonid

研究代表者

矢田 崇 (Yada, Takashi)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・中央水産研究所・グループ長

研究者番号：80372043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：降海期のサケ科魚類でみられる内分泌系と免疫系の変化について、成長・海水適応・耐病性の拮抗関係という観点から調べた。海水適応能力の発達は、陸封された個体群でも観察された。降海型系統群の海水馴致の結果は、成長・海水適応・耐病性に関連したホルモン受容体遺伝子の協調的な発現調節を印象づける。一方ストレスによる免疫抑制では、ホルモン受容体の抑制的制御との関連が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サケ科魚類における成長と海水適応の内分泌調節が免疫系に及ぼす影響について、ホルモン受容体遺伝子の制御による協調的な関係としての理解を進めることができた。またストレスによる免疫機能の抑制現象について、細胞内での分子機構の解析が進んだ。これらの成果により、サケ科魚類の人工孵化・稚魚放流後の生残率を高める技術の開発とともに、海面等での養殖技術のさらなる高度化・効率化に資する知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Changes in endocrine and immune systems during downstream migration in salmonids were investigated in aspects of antagonistic effects of endocrine factors with reference to growth, seawater-adaptation, and disease resistance. Development of seawater-adaptability has been observed even in land-locked forms. Results in seawater-acclimation of sea-run form imply harmonization of gene expression among hormone-receptors relating to growth, seawater-adaptation, and disease resistance. On the other hand, the immune system was influenced by sustained stress through the cortisol receptor-mediated pathway.

研究分野：農学

キーワード：生理

1. 研究開始当初の背景

淡水域で孵化したサケ科魚類の稚魚が、一定期間を河川ですごした後に海へと降りる降海型の回遊は、大きく育って帰ってくるサケのイメージのように、餌が豊富な海での高い成長というメリットを持っている。一方、淡水から海水に移動するには、体液の浸透圧を維持するため、塩分を外界から取り込む方向から、逆に排出する方向に切り替える必要があり、多大なエネルギーを要することになる。また、川と海では病原体や寄生虫の種類が異なることや、一時的に免疫機能が低下することなどから、海洋生活の初期には疾病のリスクも高まることが報告されている。この成長のメリットと耐病性のデメリットは、どの様に釣り合いが取られている(トレードオフされている)のであろうか。

降海期のサケ科魚類では、体側の斑紋が消えて銀白色に変化するスモルト化(銀毛化)という形態変化が起こるが、この時期にみられる複数のホルモンの血中濃度の特徴的な変化は、まだ川にいるうちに前もって起こる、海に入るための準備を促すものと考えられている。最初に見られる甲状腺ホルモンの上昇は、体色の銀白色化やなわばり解消・群れ形成など、形態や行動の変化に関係し、スモルト化を先導するものと考えられている。これに続く成長ホルモンと、魚類の主な副腎皮質ホルモンであるコルチゾルの上昇時期は、自然条件下では河口域に達して海水に接触する時期とも重なる。成長ホルモンとコルチゾルは、淡水中では体液の浸透圧を維持するため塩分をできるだけ保持するよう調節していたものを、海水中では逆にどんどん体内へ入ってくる塩分を排出する調節へと切り替える、海水適応を促すホルモンとして知られている。降海期に見られるこれら2つのホルモンの血中濃度の上昇は、海に入る生理的な準備をするために、大変理にかなっていると言ったことができる。また甲状腺ホルモンと合わせた3つのホルモンには、エネルギー代謝を調節するという共通の作用があり、多大なエネルギーを必要とする海水中での塩分の排出との関係も窺わせる。そして甲状腺ホルモンには成長・分化を促進する作用があり、名前の通り成長を促す成長ホルモンとは、相乗または少なくとも相加的な効果が予想され、海洋生活期のサケの高成長にも都合の良いものとなっている。

海水適応と成長について、3つのホルモンは協調する関係にあると見ることが出来る。しかし海という新しい環境で生きていくために必要なもう一つの制御機構、免疫系に対しては、成長ホルモンは機能を高めるプラスの作用があるが、コルチゾルは反対に強い免疫抑制作用があり、この2つは拮抗する関係にあると言わざるを得ない。一方甲状腺ホルモンについては、哺乳類では免疫にプラスとなる重要なホルモンの1つとされているが、魚類の免疫ではなぜか明確な作用の報告がない。申請者も白血球の培養系を用いて解析を試みたが、甲状腺ホルモンによる直接の作用は認められなかった。免疫について3つのホルモンは矛盾した関係に見えるが、サケのスモルト化と海水適応が、個体としてうまく行っているのはなぜか。免疫系の個別の器官や機能に対しては拮抗または無効であっても、個体のレベルでは、特に生理的にダイナミックな変化が起きている降海期のサケ科魚類では、効果が現れる準備段階での間接作用や、ホルモンだけでなくサイトカインなど免疫系の因子との相互作用、あるいは海水に適応した後も含めた長期的な作用として、これら3つのホルモンの間に、実は隠された協調関係があるのではないか。

これまでの研究により、海水に馴致したサケ科魚類では免疫機能、特に病原体を問わず非特異的に防御する自然免疫の機能が高まることを明らかにしている。つまり最終的には海水適応と生体防御のトレードオフは成立しうるのであるが、そのメカニズムは前述のようにパラドキシカルであり、未だ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、個体全体を通しての生体防御の最前線であると言える3つの部位、外界と直に接する体表と、呼吸のための広い表面積を持つ鰓、食物という異物と接する消化管を主な対象に、スモルト化と海水適応の過程での、前述の3つのホルモンと、免疫機能の関係を明らかにすることを目的とする。これら外界に接する部位の知見を踏まえた上で、循環系や体組織中での免疫についても解析を進め、魚の全身で見える免疫-内分泌相互作用を、賦活と抑制のバランスとして捉え、最終的には“成長・海水適応と耐病性のトレードオフ”として理解することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 陸封個体群における海水適応能力と関連遺伝子の発現動態

“ホンマス”は日光中禅寺湖に約100年前に移植された、サクラマスの地域個体群である。形態的には体色の銀白色化のようなスモルト化の特徴を示すが、海水への適応能力は調べられていなかった。本研究はホンマスの海水適応能力を、他の陸封または非降海性のサケ科魚類と比較しながら明らかにすることを目指した。



図1．ホンマスのスモルト化個体

(2) スチールヘッドトラウトの海水馴致による各種組織でのホルモン受容体遺伝子の発現動態

ホルモンの受容体遺伝子と免疫に関係する遺伝子について、長期的な海水への適応実験による発現動態の変化を、白血球・鰓・表皮ならびに腸管において解析し、内分泌系と免疫系の相互関係について解析を試みた。

(3) ストレス負荷ニジマスの白血球における副腎皮質ホルモン受容体の抑制的制御

ストレスと免疫抑制の関係について、コルチゾル受容体の発現と副腎皮質ホルモンまたはリポ多糖投与への反応性を参照としながら、ニジマスの末梢血白血球を用いて調べた。

4. 研究成果

(1) 陸封個体群における海水適応能力と関連遺伝子の発現動態

スモルト化の特徴として血中濃度が上昇することが知られている甲状腺ホルモンについて調べると、春に体色が銀白色化したホンマスのスモルトでは、体色が変わらずに斑紋が残っているパーよりも、有意に高い血中甲状腺ホルモン濃度を示した。過去のサケ銀毛化の研究に従い、ホンマスの海水適応能力を淡水から海水への移動実験と、血漿浸透圧とナトリウム濃度の測定によって調べた。移動3日後、海水に移したパーの血漿浸透圧とナトリウム濃度は、淡水中のものよりも有意に高かった。一方海水に移したスモルトでは、淡水中のものよりも血漿浸透圧は有意に高かったが、ナトリウム濃度には有意な差は見られなかった。鰓のナトリウム-カリウム ATPase (NKA) 活性は、スモルトでは海水移行後に上昇したが、パーでは変化は見られなかった。さらに海水に移したスモルトでは、淡水タイプの NKA 遺伝子の mRNA 量は減少していた一方、海水タイプの NKA が上昇していた。本研究の結果は、海から切り離されて世代を経ているにもかかわらず、ホンマスのスモルトが海水適応能力を発達させることを示していた。

(2) スチールヘッドトラウトの海水馴致による各種組織でのホルモン受容体遺伝子の発現動態

長期海水馴致した個体では、血漿中のアドレナリンならびにコルチゾル濃度には、淡水との差がみられなかった一方、血中甲状腺ホルモン濃度と血漿リゾチーム活性が高くなっていった。下垂体の成長ホルモン・プロラクチン mRNA 量には、有意な変化がみられた。また鰓では淡水型のナトリウムポンプ NKA-1 alpha A mRNA 量が低く、海水型の alpha 1B は高くなっていった。海水馴致個体の鰓・表皮・白血球の各種ホルモン受容体と免疫関連遺伝子の mRNA 量には、全般に低くなる傾向が見られた。一方腸管では、各種ホルモン受容体の mRNA 量が大きく上昇していた。これが一種の平衡状態に達した姿と仮定すると、海水に適応する過程での制御機構の劇的变化は既に修了し、全体が抑制的基調に入っているものと思われる一方、海水適応と腸管内分泌との関連性が示唆された。

(3) ストレス負荷ニジマスの白血球における副腎皮質ホルモン受容体の抑制的制御

水位低下による拘束ストレスは、血中副腎皮質ホルモン濃度の継続した上昇と、リゾチームと免疫グロブリンの低下をもたらした。ストレス負荷した魚から単離した白血球では、細胞死の実行酵素であるカスパーゼ-6 と、細胞増殖を促すインスリン様成長因子-1 の mRNA レベルが有意に上昇した。拘束ストレスは PBL において、炎症性サイトカインであるインターロイキン (IL)-1 ベータの発現も抑えた。ストレス負荷した魚の白血球では、コルチゾル受容体 mRNA の減少傾向が見られた。対照の白血球では、培養下での副腎皮質ホルモン処理に反応して、コルチゾル受容体 mRNA が有意に上昇した。しかしストレス負荷した魚では、コルチゾル受容体 mRNA は副腎皮質ホルモンに対する反応性が見られなかった。対照の白血球では、リポ多糖処理によって IL-1 ベータとコルチゾル受容体 mRNA が上昇していた。一方ストレス負荷した魚の白血球でのリポ多糖処理は、IL-1 ベータは上昇させたが、コルチゾル受容体 mRNA には影響が見られなかった。プロモデオキシウリジンの培養下での取り込みによって評価した細胞増殖活性は、対照ならびにストレス負荷した魚の両方の白血球で、副腎皮質ホルモンで減少、リポ多糖で増加していた(図2)。フローサイトメーターで定量した細胞死した白血球の割合は、副腎皮質ホルモンにより両グループで増加していたが、リポ多糖に刺激された細胞死の上昇は、スト

レス負荷した魚でしか認められなかった。これらの結果はコルチゾルが、副腎皮質ホルモン受容体の抑制的制御と脱感作に関わらず、ストレス下の魚に免疫抑制効果を持つことを示している。免疫 - 内分泌相互作用の複雑さは、ストレスに誘導されたりリポ多糖に対する反応性の減衰からも窺われる。

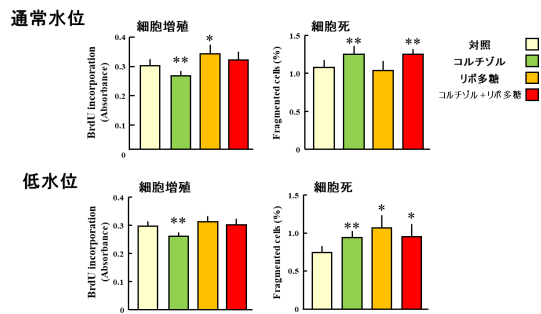


図2 . ニジマス白血球へのコルチゾルとリポ多糖投与による細胞増殖と細胞死への影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ineno Toshinao, Tamaki Koichi, Yamada Kazuya, Kodama Ryusuke, Tsuchida Shuji, Tan Engkong, Kinoshita Shigeharu, Muto Koji, Yada Takashi, Kitamura Shoji, Asakawa Shuichi, Watabe Shugo	4. 巻 84
2. 論文標題 Thermal tolerance of a thermally selected strain of rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> and the pedigrees of its F1 and F2 generations indicated by their critical thermal maxima	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 671 ~ 679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1007/s12562-018-1217-2	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 Ineno Toshinao, Tamaki Koichi, Yamada Kazuya, Kodama Ryusuke, Tan Engkong, Kinoshita Shigeharu, Muto Koji, Yada Takashi, Kitamura Shoji, Asakawa Shuichi, Watabe Shugo	4. 巻 85
2. 論文標題 Evaluation of the thermal tolerances of different strains of rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> by measuring the effective time required for loss of equilibrium at an approximate upper lethal temperature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 839 ~ 845
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1007/s12562-019-01340-0	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 Yada Takashi, Abe Michihisa, Miyamoto Kouta	4. 巻 280
2. 論文標題 Down-regulation of corticosteroid receptor in leucocytes of stressed rainbow trout	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 54 ~ 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.04.011	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 矢田 崇
2. 発表標題 アユ・サケ・ウナギの移動 / 定着とストレス応答
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yada, T., Miyamoto, K., Abe, M.
2. 発表標題 Down-regulation of corticosteroid receptors in leucocytes of stressed rainbow trout with reference to proliferative and apoptotic conditions
3. 学会等名 The 8th Intercongress meeting of Asia Oceania Society for Comparative Endocrinology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 矢田 崇
2. 発表標題 サケ科魚類の降海性との関係から見たホンマスの海水適応能力
3. 学会等名 サラマオマス発見100周年記念国際シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 矢田 崇, 阿部倫久
2. 発表標題 海水馴致スチールヘッドトラウトの鰓・表皮・腸管・白血球におけるホルモン受容体と免疫関連遺伝子の発現動態
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢田 崇, 阿部倫久, 宮本幸太
2. 発表標題 ストレス負荷ニジマスの白血球における副腎皮質ホルモン受容体の抑制的制御
3. 学会等名 日本動物学会大会第90回大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Nakanishi, T., Hikima, J., Yada, T.	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 1048
3. 書名 Immune system of teleosts (Actinopterygii), in “Advances in Comparative Immunology”	

1. 著者名 Yada, T., Abe, M.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 National Taiwan Museum,	5. 総ページ数 143
3. 書名 Seawater Adaptability of Hon-masu, a Landlocked form of <i>Oncorhynchus masou</i> in Lake Chuzenji, Japan, in “Toward the 100th anniversary discovery of Formosa landlocked salmon (<i>Oncorhynchus formosanus</i>)” Burrige, C.P. ed., International symposium on the discovery of Formosa landlocked salmon 's 100th anniversary.	

〔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
研究協力者	シュレック カール (SYUREKKU KAARU)	オレゴン州立大学・オレゴン魚類・野生動物研究連携ユニット・教授	
連携研究者	棟方 有宗 (MUNAKATA ARIMUNE) (10361213)	宮城教育大学・教育学部・准教授 (11302)	