

平成22年6月8日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19580227

研究課題名（和文） 魚類の外傷治癒過程における免疫-内分泌相互作用に関する研究

研究課題名（英文） Immune-endocrine interaction during inflammation in fish

研究代表者

矢田 崇 (TAKASHI YADA)

独立行政法人水産総合研究センター・中央水産研究所・室長

研究者番号：80372043

研究成果の概要（和文）：

免疫系と内分泌系の相互作用は、魚類の健康、特に外傷や炎症後に重要な役割を持つことが考えられる。魚類において浸透圧調節作用ならびに免疫賦活作用を持つことが知られる成長ホルモン(GH)とインスリン様成長因子(IGF)-Iについて、バクテリアのリポ多糖(LPS)投与により誘発された炎症と免疫関連遺伝子の発現に及ぼす影響について研究した。ニジマスに対するLPSの腹腔内投与は、炎症誘発サイトカインである腫瘍壊死因子(TNF)- α とインターロイキン(IL)-1の、末梢血白血球(PBL)といくつかの組織における発現を増加させ、実験的な炎症の惹起が示唆された。LPSの投与によるサイトカイン遺伝子の発現のピークを追って、PBLにおけるIGF-I mRNA量の有意な上昇が観察された。ニジマスへの相同なIGF-Iの投与は、鰓におけるTNF- α とIL-1 mRNA量の増加を引き起こしたが、その他の免疫関連の組織、頭腎または脾臓においては、サイトカイン遺伝子の発現量に有意な変化は見出されなかった。GHならびにIGF-Iの投与は、鰓におけるナトリウム-カリウム-ATPアーゼ・ベータアクチン・サイクリン・カスパーゼ・リゾチーム mRNA量を増加させた。GHとIGF-Iは、物理的、浸透圧的、ならびに病気によるストレスに対する適応過程における、免疫系、内分泌系ならびに浸透圧調節システムを橋渡しする重要な因子の候補であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

Immune-endocrine interaction is thought to be important for fish health, especially following injury and inflammation. We investigated influences of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF)-I, which are known not only as osmoregulatory but also immunomodulatory hormones, on the process of inflammation and expression of immune genes induced by administration of bacterial lipopolysaccharide (LPS). An intraperitoneal injection of LPS into rainbow trout increased expression of pro-inflammatory cytokine genes, tumor-necrosing factor (TNF)- α and interleukin (IL)-1, in peripheral blood leucocytes (PBL) and several tissues examined, suggesting provocation of inflammation. Following the peaks of expression of cytokine genes, IGF-I mRNA levels in PBL showed a significant increase by LPS injection. Administration of homologous IGF-I to rainbow trout increased TNF- α and IL-1 mRNA levels in gills, whereas those cytokine genes did not show significant change in other lymphoid tissues, head kidney or spleen. Administration of GH or IGF-I increased mRNA levels of Na⁺, K⁺-ATPase, beta-actin, cyclin, caspase, and lysozyme in gills. GH and IGF-I look the candidate of key-factor bridging among immune, endocrine, and osmoregulatory systems during adaptation to physical, osmotic, and disease stresses.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：生理

1. 研究開始当初の背景

(1) 内分泌系の情報伝達物質であるホルモンが免疫機能を調節し、逆に免疫系の情報伝達物質であるサイトカインが内分泌機能に影響を及ぼす現象は、哺乳類・鳥類で広く認められ、魚類においてもこの免疫-内分泌相互作用が、有用水産魚種の耐病性研究における新しい分野として注目されていた。

(2) 成長ホルモン(GH)を始めとするホルモンの遺伝子が魚類の白血球でも発現しており、白血球同士の局所的な情報交換にホルモンが関与する可能性が提示されていた。

2. 研究の目的

(1) 組織損傷部位への白血球の流入をもたらす反応である炎症と、その治癒過程において、GH・インスリン様成長因子(IGF)などのホルモンと、免疫機能の活性化に深く関わるホルモン腫瘍壊死因子(TNF)など炎症性サイトカインの、魚類白血球における発現動態を解析することにより、魚類における免疫-内分泌相互作用のしくみを明らかにする。

(2) さらに病態が進んだ多臓器不全(サイトカインストーム)や白血球破壊に際して、急性タンパクならびにコルチゾル受容体や、カスパーゼなどアポトーシスに関わるタンパクとその遺伝子を指標としながら、内分泌系の制御によるへい死回避・治癒促進の可能性を探る。

3. 研究の方法

(1) 組織損傷部位における免疫-内分泌相互作用の分子生物学的解析を進めるために必要な技術を確認するため、精度・再現性の高い炎症反応誘起の実験条件について検討する。これまでに測定可能となっているニジ

マスGH・IGF遺伝子などに加え、急性タンパクとその関連遺伝子の発現を新たに定量するためのリアルタイムPCR法による測定系を立ち上げる。さらに外傷時の魚類免疫系におけるGH-IGF系の役割を明らかにするため、組織試料および血液中の白血球を採取し、免疫系・内分泌系双方の関連遺伝子について解析を進める。また次年度以降計画している炎症性サイトカインの動態と、外傷からの回復過程の解析についての基礎となるデータを蓄積する。

(2) 外傷の回復過程に着目し、時間軸を追った総合的解析を実施すると共に、TNF等の炎症性サイトカインの発現についても、GH-IGF系と比較しながら解析することで、治癒過程における免疫-内分泌相互作用の動態について明らかにする。

(3) 本研究の成果を水産技術開発に結実させるため、GH-IGF系をはじめとするホルモンの投与実験により、魚類における組織損傷と治癒過程がどのような影響を受けるかについて解析する。

4. 研究成果

(1) 炎症反応のマーカーとして有望な、TNF遺伝子の発現を定量するリアルタイムPCRを立ち上げ、また人為的な炎症の誘起方法として、リポ多糖(LPS)の腹腔内投与を検討したところ、LPS投与は血中コルチゾル濃度を上昇させるものの、通常のスレスでは低下を示すリゾチームや免疫グロブリンには影響がみられない一方、各種組織でのTNF発現を大きく上昇させた。

(2) 細菌由来のリポ多糖を腹腔内投与すると、白血球におけるTNF遺伝子の発現が上昇

したが、6～10日後には定常値に戻り、治癒過程に入っていることが示唆された。この時のインスリン様成長因子(IGF)の発現量には、サイトカイン遺伝子の変化を追うかたちで有意な上昇が見られた。

(3) IGF の投与による TNF ならびにインターロイキン(IL)-I 遺伝子の発現量に対する影響は、脾臓や頭腎ではみられなかったが、鰓では顕著な増加がみられた。損傷を受けた鰓において、IGF の投与が様々な遺伝子の発現におよぼす影響を調べたところ、細胞骨格であるベータアクチン、細胞増殖を調節するサイクリン、アポトーシスを起こすカスパーゼならびに非特異的免疫機能であるリゾチームの上昇がみられた。外界に広く接し損傷しやすい組織である鰓において、ホルモンが炎症性サイトカインの反応性を変化させる可能性がある一方、免疫機能を促進しつつアポトーシスと細胞増殖の昂進により組織の修復を促す効果を持つことが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① 矢田 崇、Effects of seawater acclimation on mRNA levels of corticosteroid receptor genes in osmoregulatory and immune systems in trout, *General and Comparative Endocrinology*、査読有、56 巻、2008、622-627
- ② Misumi I、矢田 崇、Leong J-AC、Schreck CB、The effect of in vitro exposure to tributyltin on the cellular immune competence of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) leukocytes, *Archives of Environmental Contamination and Toxicity*、査読有、56 巻、229-237
- ③ 矢田 崇、Effects of insulin-like growth factor-I on non-specific immune functions in rainbow trout, *Zoological Science*、査読有、26 巻、2009、338-343

[学会発表] (計6件)

- ① 矢田 崇、Effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I, and environmental salinity on the expression of osmoregulatory and immune genes in gills of Atlantic salmon after biopsy, 6th International Symposium on Fish Endocrinology、2008、カナダ
- ② 矢田 崇、Differential expression of corticosteroid receptor genes in osmoregulatory and immune tissues in

fish, Workshop on “Hormones and Environment”、2008、アメリカ

- ③ 矢田 崇、Differential expression of glucocorticoid receptor gene in the immune system of stressed fish, 24th Conference of European Comparative Endocrinologists、2008、イタリア
- ④ 矢田 崇、Immune-endocrine interaction in stressed fish, 16th International Congress of Comparative Endocrinology、2009、香港
- ⑤ 矢田 崇、Effects of IGF-I on the immune gene expression in the gills of salmonid fishes, 8th International Workshop on Smoltification、2009、アメリカ
- ⑥ Lerner D、Sheridan M、矢田 崇、McCormick SD、Estrogenic compounds decrease growth hormone receptor abundance and osmoregulatory capacity in Atlantic salmon, 8th International Workshop on Smoltification、2009、アメリカ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢田 崇 (TAKASHI YADA)

独立行政法人水産総合研究センター・
中央水産研究所・室長

研究者番号：80372043