

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22580215

研究課題名（和文） 免疫－内分泌相互作用はサケ科魚類の生活史を左右するか

研究課題名（英文） Possible influence of immune-endocrine interaction on life history of salmonid fish

研究代表者

矢田 崇 (YADA TAKASHI)

独立行政法人水産総合研究センター・増養殖研究所内水面研究部・研究グループ長

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が魚類の生活史にどのような影響をもたらすのか、スマルト化するサケ科魚類を材料として調べた。生体下で受けたストレスが培養下の白血球に及ぼす影響を調べたところ、ストレスを負荷したニジマスから得た白血球では、コルチゾル投与に対するその受容体遺伝子の反応が見られなくなっていた。血中コルチゾル濃度を長期にわたり高い状態で継続させると、スマルト期のスチールヘッドトラウトに見られる甲状腺ホルモンの上昇が阻害された。

研究成果の概要（英文）：This study examined possible influence of immune-endocrine interaction on life history of salmonid fish, with reference to smoltification. In the stressed fish, cortisol-receptor mRNA levels in leucocytes were not responsive to the *in vitro* treatment with cortisol. Sustained cortisol stimulation inhibited an increase in thyroid hormone during smoltification.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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、免疫－内分泌相互作用は、哺乳類・鳥類では広く認められ、魚類においても、ホルモンによる免疫機能の調節という方向については、最近特に研究が進んできている。申請者はこれまでの研究で、成長と栄

養代謝を制御するホルモンが、種々な免疫機能を促進的に調節していることを、またストレス反応を伝達するホルモンであるコルチゾルとその受容体が、正または負のフィードバックを伝達する複雑な発現動態を示しながら、免疫機能の抑制を調節していることを、主にサケ科魚類を用いて明らかにしてきた。

（2）魚類の免疫機能に及ぼすホルモンの促

進的な効果については、その水産資源管理と増養殖における利点から、各国の研究グループがさまざまな魚種において研究を進めており、申請者もその方向性に沿った研究を進めてきた。しかし、免疫系から内分泌系に向けての制御機構の解明については、それが最終的にはホルモンで制御される様々な生理機構に影響を及ぼすものであるにも関わらず、未だ限定された条件下で、かつ特定の因子の変動を個別に記録するに留まり、技術開発に向けた総合的な解析は国内外を問わずほとんど進んでいない。

## 2. 研究の目的

(1) 疾病や組織損傷・ストレスがホルモンの遺伝子発現・分泌・受容体の動態にどのような影響を与え、さらには魚類の生活史にどのような影響をもたらすのか、降海に伴う一連の形態・生理的变化であるスモルト化という生活史のターニングポイントを持つサケ科魚類を材料として、*in vitro*・*in vivo*の両面から明らかにすることを目的とする。

(2) 本研究により魚類における免疫系ならびに内分泌系の新しい機能が立証されることで、ホルモンとサイトカインを仲立ちとしてサケ・アユなど有用水産魚種の恒常性と環境適応能力を制御する養殖技術の開発、ならびに生理機能と行動特性への配慮を含めた、より高度な増養殖漁場管理手法の開発に繋げることも可能となる。

## 3. 研究の方法

(1) 培養下での免疫系から内分泌系への影響を解析するために必要な技術を確認するため、刺激効果の精度・再現性が高いと予想されるリポ多糖を用い、投与量・投与期間など実験条件について検討する。ニジマスの末梢血から分離した白血球に、培養下でリポ多糖ならびにコルチゾルを投与した際に、白血球そのものの増殖能にどのように影響を与えるかについて解析する。

(2) 生体での水位低下によるストレス負荷のモデル実験を行い、その個体から分離した白血球における免疫系・内分泌系に関係する遺伝子の発現動態を捉える。遺伝子の発現量については、逆転写により cDNA を作成した後、ニジマスの塩基配列に基づいた特異的プローブとプライマーを用いたリアルタイム PCR により mRNA を定量する。

(3) 飼育下のサケ科魚類におけるスモルト化の兆候を、ホルモンと遺伝子の状態から捉えるため、増養殖研究所日光庁舎で継代飼育している、ニジマスと同種ながらスモルト化するとされる系統、スチールヘッドトラウト

を用いて経時的なサンプリングを行い、血中ホルモンと関連遺伝子の定量解析を実施する。

(4) 長期的な影響として、免疫系への刺激がホルモンを介して、スモルト化にどのような影響を与えるかについて検討するため、生体下での投与実験を実施する。

## 4. 研究成果

(1) リポ多糖 (LPS) とコルチゾル (F) が培養下のニジマス白血球の細胞増殖に及ぼす影響を解析したところ、リポ多糖による促進、コルチゾルによる抑制それぞれの作用には時間差があり、同時投与では互いに打ち消しあう拮抗作用が見られた。

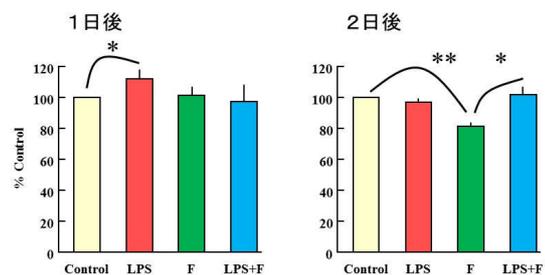


図1. 培養下のニジマス白血球の増殖に及ぼすリポ多糖とコルチゾル投与の影響

(2) 生体下で受けたストレスが培養下の白血球に及ぼす影響を調べたところ、ストレスを負荷したニジマスから得た白血球では、コルチゾル投与に対するその受容体遺伝子の反応が見られなくなっていた。

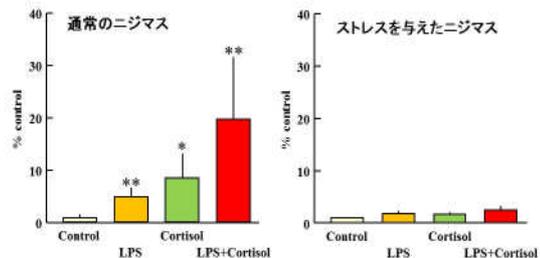


図2. 通常のニジマスとストレスを与えたニジマスから分離した白血球のコルチゾル受容体遺伝子発現量に対する培養下でのリポ多糖とコルチゾル投与の影響

(3) ニジマスの1系統であるスチールヘッドについて、血中甲状腺ホルモン濃度の季節的な変動を調べたところ、典型的なスモルト化の特徴である顕著な上昇が、5月中旬に見られた。

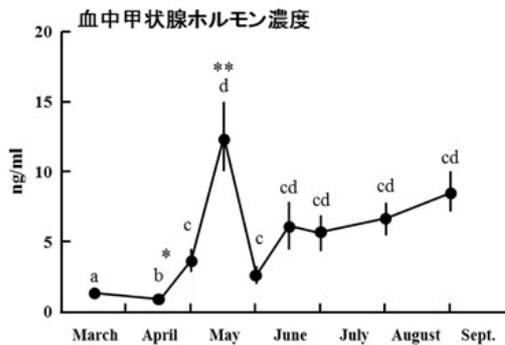


図3. スチールヘッドトラウトにおける血中甲状腺ホルモン濃度の季節変動

また血中コルチゾル濃度について調べたところ、甲状腺ホルモン濃度のピークと前後して、暫時的な上昇が見られた。

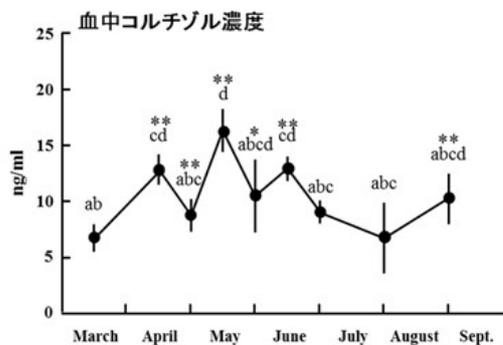


図4. スチールヘッドトラウトにおける血中コルチゾル濃度の季節変動

白血球におけるコルチゾル受容体遺伝子の発現量を調べると、甲状腺ホルモン濃度のピークが起きた時期以降に、大きな変動が見られた。

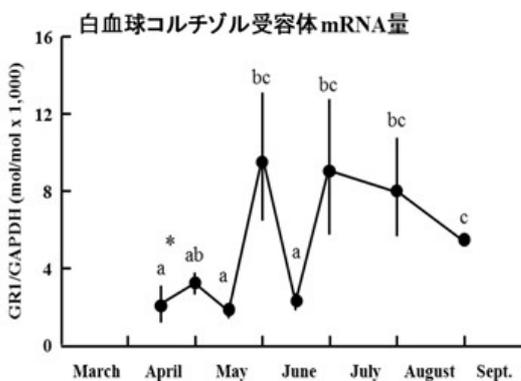
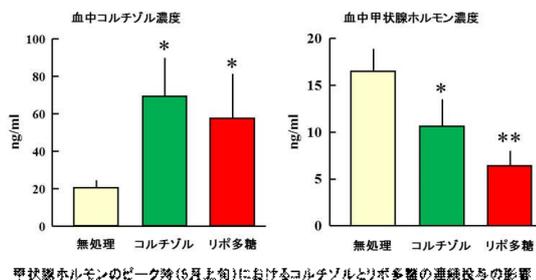


図5. スチールヘッドトラウトにおける白血球コルチゾル受容体 mRNA 量の季節変動

(4) スチールヘッドトラウトの腹腔内へのミニポンプの埋め込みによる、連続投与実験を実施した。リポ多糖・コルチゾルの投与は、5月中旬の血中甲状腺ホルモン濃度の一過性の上昇を阻害する結果となった。どちらの投与も、血中コルチゾル濃度を長期にわたり高い状態で継続させることから、疾病等によりストレスに関する内分泌系が昂進することにより、正常なスモルト化の進行が妨げられたことが示唆される。



甲状腺ホルモンのピーク時(5月上旬)におけるコルチゾルとリポ多糖の連続投与の影響

図6. 甲状腺ホルモン濃度のピーク時(5月上旬)におけるコルチゾルとリポ多糖の連続投与が血中コルチゾルならびに甲状腺ホルモン濃度におよぼす影響

#### 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1件)

Yada T., McCormick S. D., Hyodo S., Effects of environmental salinity, biopsy, and GH and IGF-I administration on the expression of immune and osmoregulatory genes in the gills of Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, 査読有, 362-363 巻, 2012, 177-183

[学会発表] (計2件)

① 矢田 崇, 三浦 剛, 棟方有宗, ニジマスとスチールヘッドトラウトにおけるコルチゾル受容体遺伝子発現動態の比較, 平成25年度日本水産学会春季大会, 2013年3月28日, 東京

② Yada T., Miyamoto K., Miura G., Munakata A., Difference in stress responses between immune and endocrine systems in rainbow trout, 7th International Symposium on Fish Endocrinology, 2012年9月6日, Buenos Aires

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

矢田 崇 (YADA TAKASHI)

独立行政法人水産総合研究センター・増養  
殖研究所内水面研究部・研究グループ長

研究者番号： 80372043