

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292129

研究課題名(和文) 魚類インターフェロンの機能解明による魚類疾病予防法の開発

研究課題名(英文) Development of techniques for prevention of fish disease by the analysis of IFN $\gamma$  function in fish immune response

研究代表者

中西 照幸 (NAKANISHI, Teruyuki)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：00322496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：2種類のIFN  $\gamma$  relは標的細胞内の核内への移行やシグナル伝達において異なることを明らかにするとともに新規の受容体を同定した。細胞内寄生性細菌に対する感染防御においてIFN  $\gamma$  が重要な役割を果たし、それぞれのIFN  $\gamma$  アイソフォームが異なった機能を有することを示した。組換えIFN  $\gamma$  の投与により、細胞内寄生細菌の感染後の死亡率が低下し、好中球やマクロファージが増加することが判明した。また、同種移植鱗の拒絶が促進され、ワクチンの有効性が高まった。

研究成果の概要(英文)：In this project, we showed a) binding of fish specific recombinant IFN  $\gamma$ , rgIFN  $\gamma$  rel 1 to class II cytokine receptor family member, Crfb5 and Crfb17 and activation of STAT6, b) important roles of fish IFN  $\gamma$  and IFN  $\gamma$  rel in the protection against infection caused by virus and cell-associated bacteria, c) increase in the number of neutrophils/macrophages and the decrease in mortality after *E. tarda* challenge after rgIFN  $\gamma$  2 administration, d) enhanced allograft rejection and the increase in the number of T cells and sIgM+ cells in scale allografts by rgIFN  $\gamma$  rel 1 administration, e) enhanced potency of vaccines after rgIFN  $\gamma$  administration.

研究分野：魚類免疫学

キーワード：魚類 インターフェロン 細胞性免疫 細胞内寄生細菌 クロージンブナ

## 1. 研究開始当初の背景

水産増養殖現場においては、ノカルディア症、ミコバクテリウム症、エドワジェラ症など細胞内寄生細菌による疾病の発生が大きな問題となっている。細胞内寄生細菌に対する感染防御には IFN による細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) やマクロファージを活性化させることが重要であり、IFN の機能や特性解明は産業的にも重要な意義を有する。IFN は、IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$  等と同様に抗ウイルス作用や抗腫瘍作用を有し、特に Th1 細胞からも分泌され、CTL の分化や細胞傷害活性を増強させるなど細胞性免疫機能を亢進させる主要なサイトカインの一つである。また、マクロファージを刺激して活性を高める役割を果たす。このような作用から、ウイルス性疾病や細胞内寄生細菌による疾病に対する感染防御において、IFN が重要な役割を果たす。

一方、研究代表者らは、クローンギンブナ及びそれに由来する細胞株を用いた魚類の細胞性免疫の研究において、in vivo 及び in vitro におけるアロ抗原あるいはウイルス抗原特異的細胞障害試験法を確立し、ウイルスに対する感染防御に細胞性免疫が主要な役割を果たすことを証明するなど世界に先駆けた研究を進めている。また、CD4 及び CD8 に対するモノクローナル抗体 (mAb) の作製に成功し、魚類において初めて CD8 陽性細胞障害性 T リンパ球 (CTL) の抗原特異的細胞傷害活性を明らかにするとともに、CD4 陽性 T 細胞のヘルパー活性を証明した。

魚類においては 2 種類の IFN が存在することが知られており、我々はギンブナにおいて哺乳類型 IFN と魚類特有の IFN $\beta$  のそれぞれに 2 種類のアイソフォームが存在 (合計 4 種類) することを明らかにした。しかし、ギンブナの 4 種類の IFN はそれぞれ構造が異なり、シグナル伝達の様式も異なることが予想されるが、IFN $\beta$  については結合する受容体やシグナル伝達機構は不明である。

我々は、上述した基礎的研究に加え、IFN が実際に魚類の感染防御に関与しているか検討している。その結果、エドワジェラ症の原因菌 *Edwardsiella tarda* をギンブナに感染させた場合には、抗体価は感染防御に関与せず、CD8 陽性 T 細胞が主要な役割を果たすこと、IFN $\beta$  や Perforin 遺伝子の発現並びにマクロファージの NO 産生が高まることを明らかにし、*E. tarda* の感染防御には細胞性免疫が関与することを示した。

## 2. 研究の目的

ギンブナにおいては、T 細胞サブセットの分化、成熟及び活性化機構の細胞レベルでの解析が可能となっており、IL-12 及び IFN の組換え体及び抗体 (IFN については 4 種類) が得られていることから、サイトカインを用いた Th1 応答 (細胞性免疫) の誘導が可能である。本研究では、ギンブナにおいて

IFN の機能を解明するとともに、抗体や組換え体を用いてウイルスや細胞内寄生細菌に対する防御に重要な細胞性免疫の誘導を試みる。次に、感染防御における IFN の役割解明や組換え IFN を用いた疾病の予防法を開発する。さらに、これらのギンブナで開発した手法及び知見が産業上有用な魚種に応用できる展望を示すとともに、IFN などのサイトカインをアジュバントとして用いたワクチンの開発を目指す。

## 3. 研究の方法

(1) 抗体を用いて分取した CD4<sup>+</sup>T 細胞に IL-12 を作用させ Th1 応答 (細胞性免疫) を誘導し、IFN を用いて細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) の活性化を試みる。(2) 魚類特有の IFN $\beta$  の受容体を同定し、これを哺乳類及びギンブナ株化細胞に発現させシグナル伝達機構を解析する。(3) 魚類ウイルス及び細胞内寄生性細菌の感染に伴う IFN の動態を解析し、魚類疾病の予防のための組換え IFN の最適投与方法を確立する。(4) IFN の血中濃度を指標として免疫増強剤の評価及び新規増強剤の探索を行う。(5) IFN をワクチンアジュバントとして用いることにより、これまで高い有効性が得られなかったワクチンを実用化する展望を切り拓く。以上のギンブナにおいて開発・確立した手法をニジマス、ヒラメ、ブリなどの産業上有用な魚種に応用できるかどうか検討し、広範囲な疾病や魚種に拡大・発展させる展望を探る。

3 年間の研究期間全体を通して以下の課題について検討した。

組換え IFN を用いた Th1 応答 (細胞性免疫) の誘導及び CTL の活性化  
IFN $\beta$  の受容体及びシグナル伝達機構の解明による魚類特有の IFN 機能の解明  
魚類ウイルス及び細胞内寄生性細菌に対する感染防御における IFN の役割解明  
組換え IFN を用いたウイルス及び細胞内寄生細菌による疾病の予防法の開発  
IFN の活性化を指標とした免疫増強剤の開発及び IFN をワクチンアジュバントとした有効なワクチンの開発

## 4. 研究成果

(1) 組換え IFN $\beta$  ・ IFN $\beta$  を用いた細胞性免疫機能の活性化について、鱗移植をモデルとして検討した。その結果、組換え IFN $\beta$  1 の投与により拒絶が促進された。また、移植部位における IFN $\beta$  1 ・ IFN $\beta$  2 及び細胞傷害因子の発現が増加するとともに、CD4 及び CD8 陽性 T 細胞並びに sIgM 陽性細胞の増加が認められた。また、4 種類の IFN アイソフォームは、夫々鱗移植後の発現時期や発現量が異なるとともに、移植片拒絶に及ぼす投与効果についても異なっていた。以上のこ

とから、アロ移植片拒絶において 4 種類の IFN が異なったメカニズムで関与していることが示唆された。

(2) ギンブナにおける 2 種類の IFN rel (IFN rel 1、IFN rel 2) は標的細胞内の核内への移行やシグナル伝達に用いる STAT の種類が異なること、いずれも単量体で抗ウイルス活性を示すことを明らかにした。哺乳類の IFN は STAT1 を介して活性を示しホモ二量体として機能することから、ギンブナの 2 種類の IFN rel は、既知の IFN や他のインターフェロンと異なり、脊椎動物における新規のインターフェロンであると考えられる。

インターフェロン受容体として知られる II 型サイトカイン受容体ファミリーである CRFB 遺伝子を 14 種類をゼブラフィッシュより単離し発現ベクターを作製し、IFN rel 受容体を発現していないヒト培養細胞株 HEK293T 細胞に発現させ、組換え IFN rel 1 との結合性をフローサイトメトリーにて解析した。その結果、IFN rel 1 は CRFB5 と CRFB17 と結合し STAT6 を介してシグナル伝達を行うが、IFN rel 2 は STAT3 をリン酸化することが明らかとなった。

poly(I:C)による刺激では、IFN rel 2 は IFN や IFN rel 1 よりも早期に mRNA の発現量が上昇し、IFN サブタイプ間においても機能の違いが示唆された。IFN は CD4 や CD8 陽性 T 細胞より分泌されるが、IFN rel 1 および IFN rel 2 は T 細胞以外の細胞より分泌されることが判明した。

(3) IFN あるいは転写因子の T-bet や GATA3 の発現を指標として、細胞性免疫 (Th1 細胞) の活性が最も高い時期の CD4 陽性細胞を養子免疫移入した個体においてのみ、細胞内寄生細菌 *Edwardsiella tarda* に対するより高い感染防御が認められた。このことから、Th1 様 CD4 陽性細胞が細胞障害性 T 細胞 (CTL) と同様に *E. tarda* 感染防御において重要な役割を果たしていることが判明した。

抗酸菌に対する感染防御における IFN の役割を明らかにするために、*Mycobacterium bovis* BCG をギンブナに接種し、3 種類の IFN- アイソフォーム (IFN- 1、IFN- 2 および IFN- rel2) 遺伝子の発現解析を行った。その結果、BCG 接種区では、IFN- 1 および IFN- 2 の遺伝子発現レベルが上昇し、*M. bovis* BCG 由来の抗原タンパク質 (PPD) の接種により、さらに発現が増強された。一方、IFN- rel2 は PPD 接種後でのみ発現上昇が認められ、IFN- アイソフォームにより BCG に対する反応が異なることが明らかとなった。

(4) 組み換え IFN 2 を接種したギンブナは対照群に比べ、*E. tarda* 攻撃後の死亡率が有意に低下した。また、IFN 2 接種魚の肝臓に

おいて好中球/マクロファージが有意に増加し、感染 48 時間後の肝臓、脾臓、腎臓の臓器内菌数は対照魚に比べ有意に低かった。このことから、IFN 2 投与により感染初期に貪食細胞が誘導され、*E. tarda* の増殖が抑制されたものと推察された。また、*in vitro* において gclFN 1、gclFN 2、gclFN rel 1 刺激により貪食率が有意に上昇した。一方、gclFN rel 2 では貪食率に変化がみられず、IFN のアイソフォームの違いにより好中球の貪食能に及ぼす影響が異なることが明らかとなった。さらに、gclFN 2 が好中球の遊走能を高めることが示唆された。

(5) 細胞内寄生性細菌のカルディア菌に対するワクチン開発を目的とし、クローンギンブナを用いて、生菌及び死菌のワクチンの有効性について検討した。その結果、生菌及び死菌いずれにおいてもワクチンの有効性が認められるとともに、組み換え IFN 投与により感染防御能が向上することが判明した。

ヒラメを用い、細胞内寄生細菌 (*E. tarda*) 及びウイルス (VHS) に対するワクチンにおける組み換え IFN の効果について検討した。その結果、*E. tarda* 及び VHS いずれの不活化ワクチンについても、同時に Type I IFN あるいは IFN を接種した場合には、攻撃試験においては、不活化ワクチンのみに比べて IFN を同時に投与した場合に有意に死亡率が低下した。

腎臓白血球にナノ型乳酸菌を加えて 12 時間培養すると、IFN 1、IFN 2、IL-12 p35、IL-12 p40 の発現が濃度依存的に増加するが、IL-4/13 の発現の変化は認められなかった。このことから、ナノ型乳酸菌による *in vitro* における IL-12 産生及び Th1 誘導が示された。また、ミコバクテリウムホルマリン不活化菌体に油性アジュバントを添加すると、不活化菌体単独投与群に比べアジュバント添加群において IFN の有意な発現上昇が認められた。さらに、ノカルディア症不活化ワクチンに組み換え IL-12 を添加すると、頭腎及び脾臓白血球における IFN の有意な発現上昇が認められ、細胞性免疫の誘導における IL-12 のアジュバント効果が示された。

## 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 22 件)

Shibasaki Y, C. Hatanaka, Y. Matsuura, R. Miyazawa, T. Yabu, T. Moritomo, T. Nakanishi (2016) Effects of IFN administration on allograft rejection in ginbuna crucian carp. Dev Comp Immunol. 査読有 DOI: 10.1016/j.dci.2016.04.021 In press

Nanjo A, T. Shibata, T. Nakanishi (6 番目) 他 7 名 (2016) Susceptibility of

- Isogeneic ginbuna *Carassius auratus langsdorfii*. Temminck et Schlegel to cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2) as a model species. J. Fish Dis. 査読有 In press
- Matsuura Y, T. Yabu, H. Shiba, T. Moritomo, T. Nakanishi (2016) Purification and characterization of a fish granzymeA involved in cell-mediated immunity. Dev Comp Immunol. 査読有 60, 33-40. DOI: 10.1016/j.dci.2016.02.011.
- Yamaguchi, T. Nakanishi T. (7 番目) 他 6 名 (2016) Recombinant carp IL-4/13B stimulates in vitro proliferation of carp IgM+ B cells. Fish & Shellfish Immunol. 査読有 49, 225-9. DOI:10.1016/j.fsi.2015.12.043.
- Katakura, F., Yabu, T., Yamaguchi, T., Moritomo T., Nakanishi, T. (2015) Exploring erythropoiesis of common carp (*Cyprinus carpio*) using an in vitro colony assay in the presence of recombinant carp kit ligand A and erythropoietin. Dev Comp Immunol. 査読有 53(1), 13-22. DOI: 10.1016/j.dci.2015.06.006.
- Nakanishi T., Shibasaki Y., Y. Matsuura (2015) T cells in fish. Biology 査読有 4, 640-663; DOI:10.3390/biology4040640
- Somamoto T., Y. Miura, T. Nakanishi, M. Nakao (2015) Local and systemic adaptive immune responses toward viral infection via gills in ginbuna crucian carp. Dev Comp Immunol. 査読有 52 (1), 81-87. DOI: 10.1016/j.dci.2015.04.016.
- Shibasaki Y., T. Nakanishi (10 番目) 他 8 名、(2015) Kinetics of lymphocyte subpopulations in allogeneic grafted scales of ginbuna crucian carp. Dev Comp Immunol. 査読有 52, 75-80. DOI: 10.1016/j.dci.2015.04.013.
- Shibata, T., T. Nakanishi (6 番目) 他 6 名、(2015) In vitro characteristics of cyprinid herpesvirus 2: effect of kidney extract supplementation on growth. Dis Aquat Organ. 査読有 115(3), 223-232. DOI: 10.3354/dao02885.
- Yamasaki, M., K. Araki, T. Nakanishi, C. Nakayasu, G. Matsuzaki, A. Yamamoto. (2015) Comparative analysis of adaptive immune response after vaccine trials using live attenuated and formalin-killed cells of *Edwardsiella tarda* in ginbuna crucian carp (*Carassius auratus langsdorfii*). Fish & Shellfish Immunol. 査読有 45, 437-442. DOI: 10.1016/j.fsi.2015.04.038.
- Matsuura Y., T. Yabu, H. Shiba T. Moritomo T. Nakanishi (2014) Identification of a novel fish granzyme involved in cell-mediated immunity. Dev Comp Immunol. 査読有 46(2), 499-507. DOI: 10.1016/j.dci.2014.06.006.
- Nayak S K, Y. Shibasaki and Nakanishi T. (2014) Immune responses to live and inactivated *Nocardia seriolae* and protective effect of recombinant interferon gamma (rIFN ) against nocardiosis in ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. Fish Shellfish Immunol. 査読有 39(2), 354-364. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.05.015.
- Tartor, H. M., Matsuura Y., El-Nobi G., Nakanishi, T. (2014) Lack of a contact requirement for direct antibacterial activity of lymphocyte subpopulations in ginbuna crucian carp. Fish Shellfish Immunol. 査読有 39(2), 178-184. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.05.006.
- Somamoto T., Kondo M, Nakanishi T., Nakao M. (2014) Helper function of CD4+ lymphocytes in antiviral immunity in ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. Dev Comp Immunol. 査読有 44 (1), 111-115. DOI: 10.1016/j.dci.2013.12.008.
- Segawa T, Nakanishi T (7 番目) 他 6 名 (2014) Easy-to-use rapid gene amplification method for direct detection of RNA and DNA viruses in sera and feces from various animals. J. Virological Methods 査読有 201, 31-37. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.01.019.
- Shibasaki, Y., Yabu, T. Araki K, Mano N. Shiba H, Moritomo, T. and Nakanishi T. (2014) Peculiar monomeric interferon gammas, IFN rel 1 and IFN rel 2, in ginbuna crucian carp. FEBS J. 査読有 281, 1046-1056. DOI:10.1111/febs.12666
- Yamasaki M, Araki K, Nakanishi T, Nakayasu C, Yamamoto A. (2014) Role of CD4+ and CD8 + T cells in protective immunity against *Edwardsiella tarda* infection of ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. Fish Shellfish Immunol. 査読有 36 (1), 299-304. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.11.016
- Takizawa F, Araki K (2 番目), Nakanishi T (10 番目), 他 8 名 (2014) Transcription analysis of two Eomesodermin genes in lymphocyte subsets of two teleost species. Fish Shellfish Immunol. 査読有 36 (1), 215-222. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.11.004
- Ishikawa T., N. Mano, K. Minakami, A. Namba, T. Kojima, H. Hirose and T. Nakanishi (2013) Efficacy of high-concentration ascorbic acid supplementation against Infectious hematopoietic necrosis in salmonid fish

influenced by viral strain and fish size. Fish Pathology 査読有 48 (4), 113-118. DOI: 10.3147/jfsfp.48.113.

Yamasaki M., K. Araki, T. Nakanishi, C. Nakayasu, Y. Yoshiura, T. Iida, and A. Yamamoto (2013) Adaptive immune response to *Edwardsiella tarda* infection in ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. Vet Immunol Immunopathol. 査読有 153, 83-90.

DOI: 10.1016/j.vetimm.2013.02.004.

- ① Somamoto T, Nakanishi T, Nakao M (2013) Identification of anti-viral cytotoxic effector cells in the ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. Dev Comp Immunol. 査読有 39(4), 370-377. DOI: 10.1016/j.dci.2012.11.001.

- ② Araki K. (1 番目), T. Nakanishi (8 番目) 他 6 名 (2013) Expression profiles of interferon gamma genes in response to immunostimulants and alloantigen in ginbuna crucian carp *Carassius auratus langsdorfii*. Fisheries Science 査読有 79(2), 213-220. DOI:10.1007/s12562-012-0590-5

[学会発表](計 28 件)

松本 萌、荒木亨介、他 6 名、7 番目 カンパチの Interleukin-10 による細胞性免疫の抑制平成 28 年度日本水産学会春季大会、2016 年 3 月 26 日～30 日、東京海洋大学 (東京都港区)

早志和真、松本 萌、中西照幸、荒木亨介、山本 淳 魚類ミコバクテリア症原因細菌が産生する ESAT-6 および CFP-10 の細胞性免疫誘導能の解析 平成 28 年度日本水産学会春季大会、2016 年 3 月 26 日～30 日、東京海洋大学 (東京都港区)

嘉数泰稚・中西照幸・佐野元彦・加藤豪司 ギンブナのツベルクリン様反応における IFN- 相同遺伝子の発現解析 平成 27 年度日本魚病学会春季大会 2016 年 3 月 12 日～13 日、日本獣医生命科学大学(東京都武蔵野市)

松浦雄太 藪健史 柴崎康宏 司馬肇 中西照幸 魚類細胞性免疫に關与する細胞傷害關連プロテアーゼの同定 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会 2015 年 12 月 3 日、神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

柴崎康宏 松浦雄太 藪健史 中西照幸 魚類新規インターフェロン、IFN rel 1 の作用機序の解明 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会 2015 年 12 月 3 日、神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

松本 萌、荒木亨介、他 6 名、2 番目 プリ類の Interferon- 遺伝子の単離および機能解析 平成 27 年度日本水産学会九州支部大会、2015 年 11 月 7 日～8 日、宮

崎大学農学部(宮崎県宮崎市)

荒木亨介、他 8 名、1 番目 プリ類の抗酸菌症不活化ワクチン接種後の免疫応答 平成 27 年度日本魚病学会秋季大会、2015 年 9 月 25 日～26 日、東京大学(東京都文京区) 松本 萌、荒木亨介、他 6 名、2 番目 カンパチのノカルジア症不活化ワクチンにおける Interleukin-12 のアジュバント効果 平成 27 年度日本魚病学会秋季大会、2015 年 9 月 25 日～26 日、東京大学(東京都文京区)

中嶋城治、柴崎康宏、松浦雄太、難波亜紀、間野伸宏、中西照幸 IFN 投与によるギンブナ好中球の活性化について 平成 27 年度日本比較免疫学会、第 27 回学術集会、2015 年 8 月 21 日～23 日、小浜市働く婦人の家 (福井県小浜市)

Miyazawa R., Y. Matsuura, Y. Shibasaki, T. Yabu, T. Nakanishi Monoclonal antibodies against CD4+ and CD8 + of ginbuna crucian carp cross-react with zebrafish lymphocytes ISDCI 2015 June 26-July 3, Murcia, Spain

Tajimi S, T. Somamoto, T. Nakanishi, M. Nakao Induction of T cell immunity by intestinal immunization with inactivated virus in ginbuna crucian carp ISDCI 2015 June 29-July 3, Murcia, Spain

Matsuura Y. T. Yabu, H. Shiba, T. Moritomo, T. Nakanishi Exploring the serine protease involved in cell-mediated immunity in fish ASBMB annual meeting 2015 年 3 月 26 日～30 日、アメリカ合衆国 ポストン

山崎雅俊、荒木亨介、中西照幸、中易千早、松崎吾朗、山本淳 魚類のホルマリン不活化ワクチンによる液性免疫誘導と細胞性免疫抑制 日本比較免疫学会、2014 年 8 月 21 日～23 日東北大学 (宮城県仙台市) Matsuura Y, T. Yabu, Y. Shibasaki, , H. Shiba, T. Moritomo, T. Nakanishi.

Identification and characterization of novel Granzyme granzyme in fish ASBMB annual meeting, 2014 年 4 月 4 日～6 日、アメリカ合衆国 サンディエゴ

山崎雅俊・荒木亨介・増田鷹佑・中西照幸・中易千早・山本淳 ギンブナの

*Edwardsiella tarda* ホルマリン不活化ワクチンおよび弱毒生ワクチンにより誘導される二次免疫応答の比較 平成 26 年度日本魚病学会春季大会 2014 年 3 月 30 日、函館国際ホテル(北海道函館市)

柴崎康宏、藪健史、松浦雄太、難波亜紀、間野伸宏、森友忠昭、中西照幸 ギンブナ IFN rel のシグナル伝達機構 平成 26 年度日本水産学会春季大会 2014 年 3 月 28 日 北海道大学水産学部(北海道函館市) 畑中ちひろ、柴崎康宏、松浦雄太、藪健史、森友忠昭、中西照幸 ギンブナの同種移植

- 片拒絶における4種類のIFN アイソフォームの役割 平成26年度日本水産学会春季大会2014年3月28日、北海道大学水産学部(北海道函館市)  
難波亜紀・柴崎康宏・松浦雄太・藪 健史・間野伸宏・中西照幸 ギンブナの *E. tarda* 感染に対するIFN の投与効果 平成26年度日本水産学会春季大会2014年3月28日 北海道大学水産学部(北海道函館市)  
松浦雄太 藪健史 柴崎康宏 司馬肇 森友忠昭 中西照幸 魚類新規グランザイムの同定 平成26年度日本水産学会春季大会2014年3月28日、北海道大学水産学部(北海道函館市)  
山崎雅俊、荒木亨介、中西照幸、中易千早、山本淳 ギンブナのヘルパーT細胞および細胞障害性T細胞は *Edwardsiella tarda* 感染に対する防御免疫において重要な役割を果たす 平成25年度日本水産増殖学会2013年10月15日鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)
- ⑲ 治見誠亮・杉本智軌・中西照幸・中尾実樹 不活化ウイルスの経腸管感作によって誘導されるギンブナT細胞の免疫応答及び感染防御効果 平成25年度日本水産学会秋季大会2013年9月21日三重大学(三重県津市)
- ⑳ 山崎雅俊、荒木亨介、中西照幸、中易千早、山本淳 ギンブナ Th1 様細胞の *Edwardsiella tarda* に対する感染防御における役割 平成25年度日本魚病学会秋季大会2013年9月17日 三重大学(三重県津市)
- ㉑ 柴崎康宏、中西照幸 他7名、9番目、魚類特有のインターフェロン、IFN rel の機能解析 日本生化学会 2013年9月11日、横浜国際会議場(神奈川県横浜市)
- ㉒ 松浦雄太 藪健史 柴崎康宏 司馬肇 森友忠昭 中西照幸 同種移植鱗拒絶応答におけるギンブナグランザイムの発現動態解析 第86回日本生化学会大会2013年9月11日、横浜国際会議場(神奈川県横浜市)
- ㉓ Yamasaki, M., K. Araki, T. Nakanishi, C. Nakayasu, Y. Yoshiura, and A. Yamamoto. Comparative analysis of the adaptive immunity response to live and inactivated *Edwardsiella tarda* in gibel carp. 16th International Conference on Disease of Fish and Shellfish 2013年9月3日 Tampere, Finland
- ㉔ Namba A., K. Kanai, Y. Shibasaki, T. Yabu, N. Mano and T. Nakanishi Immunostimulation with recombinant interferon gamma enhances resistance of gibel carp *Carassius auratus langsdorffii* to the intracellular parasitic bacterium *Edwardsiella tarda*. 16th International Conference on Disease of Fish and Shellfish 2013年9月3日 Tampere, Finland
- ㉕ K. Kanai, A. Namba, Y. Shibasaki, T. Yabu, H. Anzai, T. Ishikawa, T. Yokozuka, N. Mano and T. Nakanishi Serum interferon gamma (IFN ) levels are affected by high-concentration ascorbic acid (ASA) supplementation in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. 16th International Conference on Disease of Fish and Shellfish 2013年9月3日 Tampere, Finland
- ㉖ 有田希、柴崎康宏、松浦雄太、藪 健史、森友忠昭、中西照幸 魚類におけるインターフェロン 産生細胞の同定 日本比較免疫学会 第25回学術集会2013年8月27日 岡山理科大学(岡山県岡山市) [図書](計2件)  
Nayak S. K. and Nakanishi T. (2016) Development of vaccines against *Nocardia* in fishes. Vaccine Design: Methods and Protocols. Ed. by Sunil Thomas, pp.193-201, Springer, New York p.854  
中西照幸(2013) 魚類の獲得免疫、pp.341-358, 魚介類の微生物感染症の治療と予防(青木編) 恒星社厚生閣, P.481

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中西 照幸 (NAKANISHI, Teruyuki)  
日本大学・生物資源科学部・教授  
研究者番号：00322496

### (2) 研究分担者

間野 伸宏 (MANO, Nobuhiro)  
日本大学・生物資源科学部・准教授  
研究者番号：10339286

杉本 智軌 (SOMAMOTO, Tomonori)  
九州大学・農学研究科・准教授  
研究者番号：40403993

荒木 亨介 (ARAKI, Kyousuke)  
鹿児島大学・水産学部・助教  
研究者番号：30409073

高野 倫一 (TAKANO, Tomokazu)  
国立研究開発法人水産総合研究センター・その他部局等・研究員  
研究者番号：40533998

中易 千早 (NAKAYASU, Chihaya)  
独立行政法人水産総合研究センター・その他部局等・研究員  
研究者番号：00311225  
(平成25年度のみ)