

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：82708

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25850131

研究課題名(和文)多機能生理活性物質タウリンが水産生物の有害化学物質解毒・排泄に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文)Elucidation of ameliorative effects of taurine against adverse effects of harmful chemical substances in marine teleost fish

研究代表者

羽野 健志 (Hano, Takeshi)

独立行政法人水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・研究員

研究者番号：30621057

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、海産魚類に対し滋養効果を有するタウリンが、有害化学物質の解毒・排泄に与える効果及びその作用機構を明らかにすることを目的とした。適切な濃度のタウリン投与により有害化学物質による死亡率が1/13-1/10にまで減少するとともに、排泄の亢進により蓄積が抑制される現象を観察した。これは、タウリンを投与しないと肝臓中のアミノ酸、糖アルコール等の代謝物群にアンバランスが生じたことが一因であると考えられた。本研究は、タウリンの餌料添加の重要性を改めて示唆するものであり、海面養殖業において沿岸域の有害化学物質による汚染を軽減し安全な水産物供給に資する重要な知見を提供するものである。

研究成果の概要(英文)： In this study, we carried out to examine the ameliorative effects of taurine administration against two harmful chemical substances (e.g. cadmium, a toxic metal, and phenanthrene, one of polycyclic aromatic hydrocarbons) and to elucidate underlying possible mechanisms in marine teleost aquaculture fish, *Pagrus major*. First, we found that appropriate levels of taurine administration could reduce the chemical-induced mortality by 1/13-1/10 and inhibit bioaccumulation of cadmium in the liver. These phenomena are partly explained by imbalanced metabolite profile in the liver by taurine deficiency such as amino acids and sugar alcohols. In summary, the present findings demonstrates that taurine is an essential nutrient for marine teleost fish in terms of alleviation of adverse effect caused by harmful chemical substances and plays a promising role in human consumption and welfare.

研究分野：環境毒性学

キーワード：タウリン メタボローム解析 肝機能 解毒排泄 有害化学物質 養殖 食の安全

1. 研究開始当初の背景

沿岸域は、人間活動が輻輳する場であるとともに、海面養殖の場としても積極的に利用されている。一方、陸域由来の有害化学物質は河川を介し恒常的に沿岸域へ流入する。さらに、東日本大震災に代表される不測の災害・有事によりそれらが大量に流出し沿岸域が高濃度に汚染される懸念はもはや想定外の話ではない。また、沿岸域の汚染に受動的に曝されると養殖生簀の魚はそれらを高濃度に取り込み商品価値を失う(場合によっては死滅する)。そのため、有害化学物質による汚染を最小限にとどめ、安全性を確保した水産物を供給するための技術開発が強く望まれる。またその前提には、容易に普及し現場で適用できる技術であることが求められる。

そこで申請者が着目したのがタウリンである。タウリンは、含硫アミノ酸様化合物で、海産魚類において成長促進・肝機能増進効果や抗酸化作用を有し、また過度に不足すると肝臓に病変を呈することが報告されている。さらに、タウリンは2009年に養殖用飼料の添加物として指定されているため、本課題において上記技術の端緒となる知見が得られればその後の現場普及に大きな支障はない。しかし、これまでに解毒・代謝器官である肝臓とタウリンとの関連性について魚類を対象とした集約的な研究は全く行われてこなかった。

2. 研究の目的

魚類にも滋養効果があるとされる多機能生理活性物質「タウリン」が有害化学物質のデトックス(解毒・排泄)促進に与える効果及びその作用機構を明らかにすることで、数多ある有害化学物質へのデトックス促進効果の端緒となる知見を得、養殖業の健全な発展に資することを目的とする。

3. 研究の方法

先行研究でマダイ稚魚の成長に最適なタウリン含有量は0.5%とされている。本研究では、有害化学物質の解毒・排泄への効果を調べるため、0.5%を含む3濃度区(0、0.5、5.0%)のタウリン含有飼料を調製し、マダイ稚魚(体重約2g)に投与した。一定期間給餌後、図-1に示す実験を行った。

(1) タウリン投与が肝臓中代謝物の変動に及ぼす影響

マダイの肝臓を摘出し、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)を用いた代謝物総体解析(メタボローム解析)によりタウリンの有無により肝臓中の代謝物がどのように変動するかを調べた。

(2) 重金属カドミウム曝露試験

急性毒性試験：タウリン調製飼料を55日間投与したマダイを用いた96時間曝露試験を行い、生残の差異を観察した。試験開

始24時間及び試験終了時に肝臓を摘出した。

蓄積・排泄試験：タウリン調製飼料を40日間投与したマダイを用いた取込(28日間)・排泄(21日間)試験を行い、タウリン投与による肝臓中カドミウム濃度の変化を調べた。試験期間中も継続してタウリン調製飼料を与えた。試験期間中、定期的なサンプリングにより肝臓を摘出した。

(3) 石油毒性成分フェナントレン曝露試験
急性毒性試験：(2)と同様の96時間曝露試験を行った。

蓄積・排泄試験：(2)と同じ条件のマダイを用いた取込(13日間)・排泄(3日間)試験を行った。

(2)(3)の試験で摘出した肝臓は、液体窒素で保存後、肝臓中濃度分析((2)の及び(3)の)、メタボローム解析(全試験)、解毒タンパク質(メタロチオネイン：MT)((2)のみ)、薬物代謝酵素(チトクロムP450)活性の測定((3)のみ)に供しこれらを統合的に解析することでタウリンによる質的・量的差異の検出を試みた。

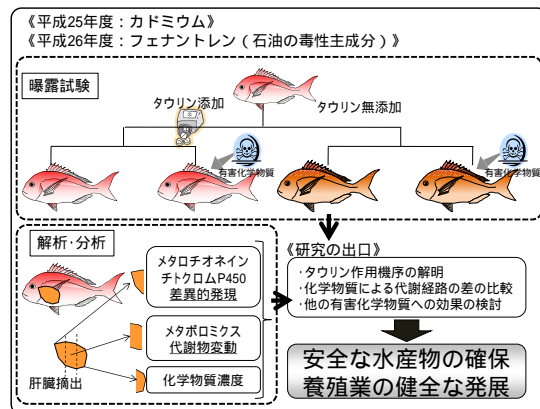


図-1 実験計画

4. 研究成果

(1) タウリン投与が肝臓中代謝物の変動に及ぼす影響

本試験では、マダイ肝臓中から55種(異性体を含まない)の代謝物が検出された。これらのうち、0%区では、0.5%区及び5%区に比べ、アスパラギン酸、β-アラニン、イノシトール、尿素が一貫して増加した一方、トレオニンが減少傾向にあった(図-2)。さらに、これらの変動の傾向は有害化学物質の曝露によっても変わらなかった(図-2)。アスパラギン酸、β-アラニン、イノシトールは、タウリン同様に神経伝達作用や抗脂肪肝作用の役割を有することが報告されており、タウリン不足を補充するため増加したものと推察された。また尿素の増加とトレオニンの減少は、尿素の排泄に異常が生じたためと考えられ、肝機能に障害が起きていることが推察された。

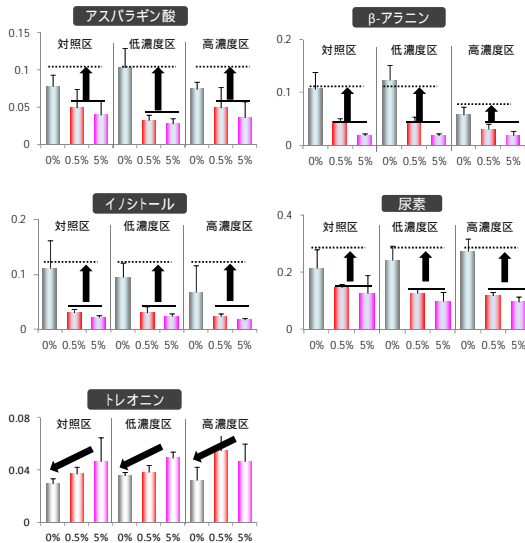


図-2 タウリン投与の有無で変動を示した代謝物（例：(2) - 曝露終了時の変動）
Y 軸：内部標準に対する強度比

(2) カドミウム試験（平成 25 年度）

急性毒性試験

カドミウム濃度（0 - 5.6 ppm）に 96 時間曝露されたマダイの生残をタウリン処理別にオッズ比により計算した（図-3）。その結果、カドミウムによる死亡率は 0%区に比べ 0.5%区で約 1/10 倍、5%区で約 1/3 倍に減少すると試算された。

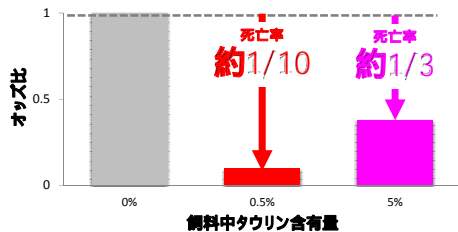


図-3 タウリン投与によるカドミウム致死毒性軽減効果

また、メタボローム解析では、24、96 時間目に 0.5%区及び 5.0%区でグルタチオンが対照区に比べそれぞれ増加が認められ（図-4）、タウリン自身の抗酸化作用とともにカドミウムの解毒を担っている可能性が示唆された。

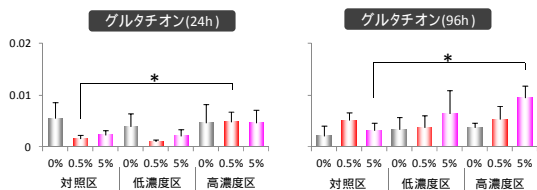


図-4 カドミウム毒性試験におけるグルタチオンの変動

*: $p < 0.05$

Y 軸：内部標準に対する強度比。

蓄積・排泄試験

肝臓中カドミウム濃度は、取込 7 日目に 0.5%区及び 5.0%区で 0%区に比べ低かった。曝露終了時にはタウリン区間でカドミウム濃度に差は見られなくなったものの、排泄 7 日目の肝臓中濃度はタウリン処理区で低くなり、タウリンによる排泄促進の可能性が示唆された（図-5）。MT は、取込 1 週目の 5%区で対照区に比べ増加しており、カドミウム排泄への関与が示唆された。また、メタボローム解析では、7 日目の 5%区でのみセリン、メチオニンなど MT の構成アミノ酸の減少が見られ、これらが MT の産生に関与していることが推察された。

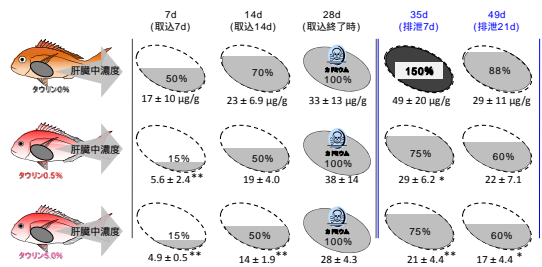


図-5 肝臓中カドミウム濃度の変動
%表示：各タウリン区の 28 日（曝露終了時）に対する比

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ ：同一サンプリング日において 0.5%区、5%区の肝臓濃度を 0%区と比較した統計処理の結果

(3) フェナントレン試験（平成 26 年度）

急性毒性試験

フェナントレン濃度（0 - 0.89 ppm）の試験海水に 96 時間曝露されたマダイの生残をタウリン処理別にオッズ比により計算した（図-6）。その結果、フェナントレンによる死亡率は 0%区に比べ 0.5%区で約 1/13 倍、5%区で約 1/3 倍に減少すると試算された。

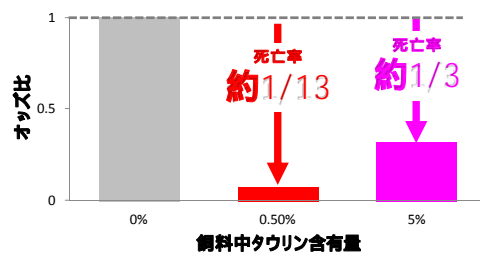


図-6 タウリン投与によるフェナントレン致死毒性軽減効果

また、メタボローム解析では、カドミウム同様 0.5%区のグルタチオンが対照区に比べ増加が認められ、タウリン自身の抗酸化作用とともにフェナントレンの解毒を担っている可能性が示唆された（図-7）。

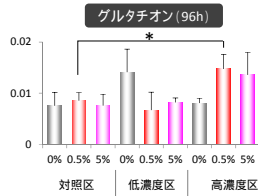


図-7 フェナントレン毒性試験におけるグルタチオンの変動

*: $p < 0.05$

Y 軸：内部標準に対する強度比

蓄積・排泄試験

取込期間中、肝臓中フェナントレン濃度は 0%区及び 0.5%区に比べ 5%区で高い傾向にあり、過剰なタウリン投与は逆にフェナントレンの蓄積を亢進させることが示唆された(図-8)。一方、排泄試験では、ごく初期の排泄速度係数が 0%区に比べ 0.5%区及び 5%区で 2-3 倍大きかった。チトクロム P450 は、取込 13 日目の 0.5%区で高い傾向にあり、また同時に測定した 0.5%区の筋肉中濃度は 0%区、5%区に比べ約 20%減少していたことから、0.5%のタウリン投与は、チトクロム P450 を介したフェナントレンの排泄に関与していることが考察された。しかしながら、その詳細な解明には今後さらなる研究の進展が必要である。

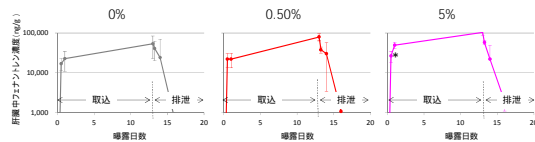


図-8 肝臓中フェナントレン濃度のタウリン処理別経時的変化

*: $p < 0.05$ 、同一サンプリング時において 0.5%区及び 5%区の肝臓中濃度を 0%区と比較した統計処理の結果

(4) まとめ

マダイへの適切な濃度のタウリン投与は、有害化学物質の解毒を促進し死亡率を著しく減少させるとともに、排泄を促進させる可能性が高いことが明らかとなった。本研究は、タウリン投与による海産魚の解毒・排泄の促進とその作用機構の端緒を明らかにした初めての事例である。また、海面養殖業においてタウリンの餌料添加の重要性を改めて示唆するものであり、沿岸域の有害化学物質による汚染を軽減し安全な水産物供給に資する重要な知見を提供するものである。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

魚類肝臓メタボローム解析によるタウリンの力

ドミウム毒性軽減作用の解明

羽野健志、河野久美子、伊藤克敏、伊藤真奈、持田和彦、大久保信幸 第 66 回生物工学会、札幌市、9/11/2014

マダイへのタウリン投与がカドミウムの蓄積・排泄に及ぼす効果

羽野健志・河野久美子・伊藤克敏・伊藤真奈・大久保信幸・田中博之 平成 26 年度水産学会秋季大会、福岡市、9/20/2014

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

羽野 健志 (HANO, Takeshi)

国立研究開発法人・水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：30621057

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

伊藤 克敏 (ITO, Katsutoshi)

国立研究開発法人・水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：80450782

河野 久美子 (KONO, Kumiko)

国立研究開発法人・水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：10371973

伊藤 真奈 (ITO, Mana)

国立研究開発法人・水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・任期付研究員
研究者番号：60735900

大久保 信幸 (OHKUBO, Nobuyuki)

国立研究開発法人・水産総合研究センター・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員
研究者番号：50371787

(4) 連携研究者

持田 和彦 (MOCHIDA, Kazuhiko)