

研究テーマ	トラフグ寄生虫に対する免疫賦活剤としてキチンを利用する	
研究期間	平成23 ~ 24年度	
主たる研究者	【学部・学科】 海洋生物資源学部・ 海洋生物資源学科	【職・氏名】 准教授 末武 弘章

## ○研究目的

若狭地方は全国でも有数のトラフグ養殖地として知られている。トラフグ養殖業者はハダムシやエラムシなどのトラフグ体表寄生虫に頭を悩ませている。現在、寄生虫駆除のために寄生虫駆除薬の使用や労力の大きい淡水浴が行われている。本研究では、より容易で、持続性があり、安心・安全な寄生虫駆除法として、体表寄生虫に対する免疫賦活剤としてキチンを用いる方法の開発を目指す。これにより、越前ガニの殻からできるキチンの有効利用と若狭地域のトラフグ養殖の発展に寄与する。

## ○研究成果

昨年度はトラフグのキチン分解酵素の遺伝子発現を調べたところ、トラフグにも消化管タイプと全身タイプのキチン分解酵素が存在することがわかったが、そのうち、寄生虫感染に関与すると予想された全身タイプのキチン分解酵素の遺伝子からは、正常のキチン分解酵素を作ることができないことが明らかになった。そこで、その代わりにキチンを分解して投与すれば、その作用を補うことができると考え、本年度は、サイズ分画したキチンを使った免疫応答誘導試験とその作用を調べた。さらに、寄生虫感染時に現れる好塩基球という細胞の役割についても調べた。

## 1) キチンによる白血球の誘導

昨年度キチンのサイズを70-100 $\mu\text{m}$ の大キチン、40-70 $\mu\text{m}$ の中キチン、さらに<40 $\mu\text{m}$ の小キチンにサイズ分画した。本年度はこれらキチンをトラフグの体重100gあたり1mgを腹腔内に投与し、その後3日目に腹腔内の白血球を回収し、その細胞数と細胞組成を調べた。すると、キチンに投与により、腹腔内の白血球が増加することが明らかになった(図1)。

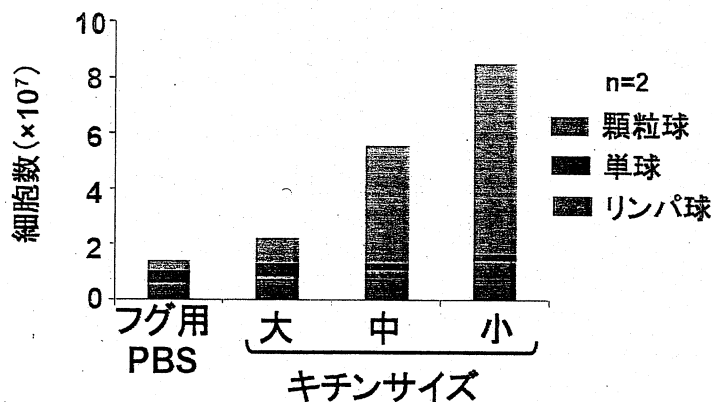


図1 キチン投与により腹腔内に集まる白血球数

このことは、トラフグはキチン分解酵素を全身には持たないが、キチンを認識することはできるということを示しており、キチン投与が免疫系を活性化できることを意味する。腹腔内にはマクロファージ、好中球を中心とした顆粒球、リンパ球がもともと存在していたが、キチンの投与によって顆粒球が著しく増加することが明らかになった。さらに、興味深いことに、キチン投与部位である腹腔へ動員される白血球の数はキチンのサイズが小さくなるにつれて増えることがわかった(図1)。これらを考え合わせると、トラフグでは機能的な全身性のキチン分解酵素を持たないため、寄生虫を分解できず、寄生虫に対する免疫応答の誘導が弱いことが推測された。一方で、予測通り、キチン分解能が欠損していても、キチン認識能は持ってしており、より小さく分解したキチンを投与することで、免疫系をより強く活性化できることが明らかになった。

## 2) 顆粒球に対するキチンの作用

トラフグが他の魚類と比較して白血球中に好塩基球を多量に持つことを見出した。最近になって、この好塩基球が哺乳類の寄生虫感染防除において重要な役割を果たすことが明らかになってきた。そこで、トラフグにおいても好塩基球が寄生虫感染と関わると考えて以下の実験を行った。

好塩基球はトルイジンブルー染色により独特の染色性を示すことが知られている。そこで、寄生虫であるエラムシに感染したトラフグと感染していないものを比較すると、感染部位の周辺に好塩基球が集まっていることが明らかになった。このことは、哺乳類同様、好塩基球が寄生虫感染に関わることを示唆している。

次に、好塩基球をキチンで刺激すると好塩基球のもつ顆粒の著しい放出が確認された。この顆粒中にはヒスタミンが大量に含まれていることも明らかになった。ヒスタミンは感染部位に白血球がやってくるのを促す作用を持つことから、寄生虫の持つキチンの刺激により、好塩基球が活性化し、ヒスタミンを含む顆粒を放出することで、寄生虫感染部位周辺に白血球が集まりやすくなるはたらきをもつことが推測された。さらに、その顆粒の役割を明らかにするために、刺激後の培養液で白血球を刺激したところ、主にリンパ球が培養液に引き寄せられることがわかった。これらの特徴は哺乳類の好塩基球の抗寄生虫能と同様であり、キチンの刺激は好塩基球を活性化することによりトラフグの抗寄生虫能を高めることが予測される。

これらの結果から、寄生虫のキチンは体内に入ると本来キチン分解酵素で分解され、認識されるのだが、この機能がトラフグではうまくいかないために、寄生虫に対して弱い可能性が考えられた。しかし、一方でキチン認識能は保持されているため、キチンを投与することで免疫系が活性化されることが明らかになった。しかも、高分子であるキチンは分解されサイズが小さくなるほど免疫系の活性化能が高いことが示された。また、哺乳類で寄生虫感染時に免疫系を制御すると考えられている好塩基球という白血球が、トラフグにおいてキチンの投与により活性化し、哺乳類の好塩基球と同様に抗寄生虫の免疫応答を活性化させることが示された。これは世界的にも魚類初の発見であり、日本水産学会で発表予定である。今回、十分な寄生虫を用意することができず、キチンの直接的な抗寄生虫作用を検証することはできなかったが、小型化したキチンにより、抗寄生虫免疫系が強く活性化したことから、その効果が期待できる。

※ホームページ掲載用として使用するため、A4 2枚程度で簡潔にまとめてください。

参考資料(図、写真等)があれば添付してください。