

受賞者総説

魚類の生体防御機構^{*1}

(平成 11 年度日本水産学会賞進歩賞受賞)

鈴木 譲^{*2}

東京大学大学院農学生命科学研究科

生物が病原生物などの侵襲を受けたときに、それに対抗して生命を維持して行く機構が生体防御機構である。一度かかった病気にはもう一度かからない、つまり抗原特異性と記憶を特徴とするいわゆる免疫応答がその代表格であるが、最も下等な脊椎動物である魚類では、無脊椎動物とも通ずるような記憶を伴わない非特異的な防御も極めて重要である。生体防御機構は極めて大きなテーマであり、さまざまな側面からのアプローチが可能であるが、ここでは筆者が関わってきた研究を中心にその一端を紹介する。

1. 魚類の炎症

炎症は侵襲に対する宿主の最初の反応としてとらえることができる。炎症にはさまざまな形態があるが、基本的には古代ギリシャの時代から知られるように、発赤、膨張、熱感、疼痛、それに機能喪失という主徴から成り立っている。筆者はこの魚類の炎症機構の解明にまず取り組んだが、その成果の概要は総説としてまとめて報告した。¹⁾

炎症の初期過程はまず血管の変化としてとらえられる。コイの鰭にホルマリンを注射して人工的に炎症を起こさせると、血管が大きく拡張する。同時に内皮細胞間隙が拡大し、血管の透過性が亢進することにより浮腫が起こる。血漿の血管外漏出は起炎後数 10 分～数時間後に最大となり、哺乳類のようなヒスタミンによる起炎直後数分間の一過性の透過現象は起こらない。魚類のヒスタミン含量が極めて低いことと合わせて興味深い。

血管の反応に引き続いて白血球の遊走が起こる。コイの眼窩内にアラビアゴムを注射して起炎させ、白血球の遊走を定量的に解析したところ、哺乳類と同様、起炎後 1 日までの急速な好中球浸潤と、数日後にピークとなるマクロファージの遊走が顕著に認められた。血中好中球の増加、造血器である頭腎中での減少はさらに急激であ

り、炎症刺激が速やかに全身的な反応を引き起こすことがうかがわれた。白血球の炎症巣への動員機構は十分解明されていないが、白血球は病原体そのものではなく、病原体に反応した生体因子に走化性を示すものと考えられている。ウナギでの解析により、哺乳類同様、補体成分も白血球遊走因子であることを見いだした。²⁾ 魚類の補体分子やその役割については矢野の昨年度進歩賞受賞者総説にまとめられている。³⁾

現実の炎症過程は、病原のもつさまざまな機能とそれに対抗する生体側の防御因子とにより多様な修飾を受けており、その全体像の把握はまだ今後の課題である。

2. 皮膚の生体防御機構

炎症がしばしば皮膚で見られることから分かるように、皮膚は感染経路として、また生体防御の場として重要である。魚類の皮膚は、皮下に鱗があるものの表皮自体は脆弱である。粘液で覆われているのが特徴であるが、粘液中にはレクチンなど、生体防御に関わる多くの液性因子が存在する。⁴⁾ こうした液性因子には血漿由来のものもあるが、表皮には、通常の上皮細胞、粘液細胞以外に魚種により棍棒状細胞や囊状細胞といった細胞があり、生体防御因子に関わっている可能性が高い。実際、ウサギ赤血球に対する凝集、溶血活性をさまざまな魚種について検索したところ、多くの魚類の体表に活性が認められたが、その活性とそうした細胞の数との間に正の相関が認められた。⁵⁾

この中で、筆者が特に注目したのはウナギの体表に見られる極めて強力な凝集素（レクチン）である。部分精製レクチンをウサギ赤血球と凝集反応を起こさせてウサギに注射することにより、ウサギ赤血球と反応するレクチンに対する抗体を得た。この抗体を用いて表皮内におけるレクチンの局在を免疫組織化学的に調べたところ、

^{*1} Biodefense Mechanisms of Fish.^{*2} Yuzuru Suzuki (Department of Aquatic Bioscience, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Bunkyo, Tokyo 113-8657, Japan).

表皮に多数存在する極めて大型の棍棒状細胞の分泌細胞にレクチンが貯留され、分泌されることがわかった。⁶⁾ これは魚類レクチンの産生細胞を明らかにした最初の例である。最近になって、このレクチンのラクトース特異的結合性を利用することにより完全な精製に成功し、少なくとも2種類のレクチンがあることを見いだした(未発表)。現在それらの分子の詳しい構造を解析中である。

ウナギ体表粘液は寄生虫(セルカリア)に対する強力な殺虫作用を持つが、⁵⁾ レクチンがそうした直接的な作用を持つかどうかは現在検討中である。一方、レクチンはウナギ自身の白血球の活性を高め、異物の食食を助ける働き、すなわちオプソニン作用を持つことが明かとなった(未発表)。体表からの病原生物の侵入に対し、体表の因子と体内の細胞性因子とが相互に密接に関連しながら防御に当たっているものと考えられる。また、ナマズにおいて、病原細菌 *Aeromonas hydrophila* の接種が、粘液中レクチン活性の上昇を引き起こしたのに対し、抗体を持つ魚に菌を接種した場合にはレクチン活性が低く、抗体との相互作用も示唆されており、体表の因子は体内の液性因子とも密接な関係にあることが示唆された。⁵⁾

体表粘液中には免疫グロブリンも検出される。浸漬免疫では、血中抗体価より粘液中の抗体価の上昇が顕著であるといわれるし、⁷⁾ 逆に血中抗体価の上昇が粘液抗体価の上昇に結びつかず、⁸⁾ 哺乳類のように体表特有の免疫システムが存在していることをうかがわせる。もっとも魚は、哺乳類のIgAのような特別な分泌型免疫グロブリンをもってはいない。

3. 消化管の防御機構

消化管も感染経路であり防御の場でもある。哺乳類では、皮膚と共に消化管にも腸管関連リンパ組織(GALT)のような特有の免疫システムを持つが、魚ではどのようなだろうか。

コイ科魚は胃を持たないが、キンギョにサケ脳下垂体を経口投与してみたところ、下垂体中のサケ生殖腺刺激ホルモン(GTH)が血中に移行していることが分かった。⁹⁾ タンパクの血中移行自体は McLean and Ash¹⁰⁾ によっても見いだされていたが、筆者らは血中移行した生殖腺刺激ホルモン(GTH)がキンギョの排精、排卵を誘発することを観察した。^{9,11)} 経口投与されたタンパク質が全く消化されずに活性を保ったまま吸収されことになる。胃をもつ魚でも腸管に直接投与するとタンパクの血中移行が認められることから、無胃魚では消化が不十分のまま腸管に輸送され、そのまま取り込まれるものと考えられる。

コイを用いて経口投与を繰り返したところ、血中に抗

体が誘導された。¹²⁾ 哺乳類であればアレルギー反応を起こす状況であるが、コイの場合全く正常であった。しかし投与を繰り返すと抗体価の低下が起こった。その時点で抗原の腹腔内注射すると、抗体価は再び上昇した。抗原に対する抗体産成能は失われておらず、いわゆる経口免疫寛容が成立した訳ではない。血中レベルと、血中からの消失過程を詳細に解析した結果、抗体の低下は、抗原の血中移行量の低下に伴って起こることが分かった。¹³⁾ 消化管での抗原特異的な吸収阻害能を獲得したこととなる。魚にも腸管特有の免疫システムがあるものと考えられているが、¹⁴⁾ 哺乳類とは異なる魚類特有の機構を備えているものと考えられる。

4. 免疫の内分泌制御

近年、免疫系と神経系、内分泌系を合わせて相互のネットワークとして生体制御システムを理解しようとする試みが注目されている。¹⁵⁾ 副腎皮質ホルモンによる免疫抑制がよく知られるが、それ以外のホルモン、神経ペプチド、サイトカインなどもこれらの系を仲介する因子として知られている。

① 免疫系に対する生殖内分泌の作用

産卵期の異なる3系統のニジマスについて、水温一定で飼育して血中IgM量の周年変化を調べたところ、産卵期に顕著な低下を示し、カビなどの疾病に罹患しやすくなることと一致した。¹⁶⁾ 血中IgM量、抗体産生細胞数など免疫機能に対する性成熟に関わる各種ステロイドホルモンの影響をin vivo, in vitroの実験で調べたところ、副腎皮質ホルモンのコルチゾルのみならず、性ステロイドのテストステロン、エストラジオール17 β , 11ケトテストステロンも顕著な抑制作用を持つことが明かとなった。¹⁷⁻¹⁹⁾ また、ステロイドによる抑制作用は体表粘液中IgMに対して特に強く現れることから、皮膚感染症との関係で注目される。一方、キンギョのIgM量は夏に高く冬に低い水温に同調した変化が見られたが、興味深いことに、産卵期の春に最高となり、盛夏にはむしろ低下しており、ニジマスとは逆の関係にあった。²⁰⁾ コイ科魚でステロイドがどのように作用するか、現在検討中である。

② 白血球の産成するGnRH

近年、白血球がさまざまなホルモン、神経ペプチドを産生することが明らかとなり注目されている。生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)もその一つである。これまでに10種類あまりのGnRH分子種が知られているが、コイ科魚、サケ科魚の白血球において、その内いくつかの分子種のmRNA発現が認められた。脳内で処理された環境情報は、GnRHの形で性成熟システムに伝えられるものと考えられている。成熟の調節には性ス

テロイドによるフィードバック機構も関与している。白血球で発現している GnRH についても性ステロイドのフィードバックが想定される。GnRH は性成熟と免疫との相互連関になんらかの役割を演じているのではないだろうか。生体防御研究の新しい方向性として注目している。

5. 卵・仔魚の生体防御機構

卵や仔魚は最も下等な脊椎動物と位置付けることができる。どのような生体防御機構を持っているのだろうか。親魚由来の抗体、つまり母子免疫が有効に働いているのではないだろうか。

卵や仔魚における抗体の存在はいくつかの種で報告されている。その中でも卵が小さく、孵化までの期間の短い、つまり極めて未熟な形で外海に泳ぎ出す海産浮性卵を産む魚種では特に強く親魚由来の抗体に依存しているのではないかと想定し、マダイを用いて卵中抗体を調べた。ウエスタンブロッティングの結果、卵や孵化仔魚には確かに IgM が認められた。²¹⁾ 産卵期前の親魚にあらかじめビブリオワクチンで免疫しておくとも、孵化仔魚中にも抗ビブリオ抗体が認められた。²²⁾ しかし、仔魚から稚魚まで飼育し経時的に IgM 量、抗体価を調べたところ、孵化後 2, 3 日で急速に消失してしまうことが分かった。²³⁾ IgM 量が再び増加し始めるのはリンパ系器官の完成する孵化 20 日後あたりであり、その時点でも抗ビブリオ抗体価の上昇は見られない。この結果は、孵化までの日数が長く、孵化時には抗体産成能力を持つサケ科魚において、親魚に対する免疫が孵化仔魚の防御に有効だったと報告されているのとは際立った対比を示している。²⁴⁾ 孵化から稚魚になるまでの 20~30 日間、マダイがどのような生体防御機構を持つのかは明らかでない。

ウナギは、仔魚期すなわちレプトケファルス期が半年前後と、マダイよりさらに長い。レプトケファルスには胸腺が見られるものの、腎臓での造血や脾臓が認められないなど、免疫系は極めて未発達である。²⁵⁾ また、皮膚に粘液細胞がないのも成魚とは異なる際立った特徴である。一方、非特異的防御機構として、体表粘液には強力なレクチンを持っている。棍棒状細胞中のレクチンは、孵化後数日のプレレプトケファルスですでに体表に出現し、レプトケファルス期には多数存在する。

このような非特異的防御因子こそ、最も根源的な生体防御機構なのではないだろうか。

6. 終わりに

魚類の生体防御機構という大きなテーマの中でみれば、筆者の研究などその一端に触れたに過ぎない。水産

の現場においては病気がなお重大な問題として残されているが、こうした基礎的研究の積み重ねが、増養殖の改善などに寄与することを願っている。

謝 辞

興味の向くままにあれこれ手を出してまともにならなくなるところをよく叱咤激励し修正して下さいた恩師や先輩諸氏に、さまざまな形で研究に関わって下さった共同研究者の方々に、よく協力してくれた後輩諸氏に心からの謝意を表したい。そして、良き理解者・批判者として心の支えとなった急逝した松宮義晴氏（東大海洋研）を初めとする同期の仲間にも感謝の言葉を送りたい。

文 献

- 1) Y. Suzuki and T. Iida: Fish granulocytes in the process of inflammation. *Ann. Rev. Fish Dis.*, **2**, 149-160 (1992).
- 2) Y. Suzuki: Neutrophil chemotactic factor in eel blood plasma. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 811-816 (1986).
- 3) 矢野友紀: コイ補体の構造と機能に関する研究. 日本誌, **65**, 386-390 (1999).
- 4) J. B. Alexander and G. A. Ingram: Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Ann. Rev. Fish Dis.*, **2**, 249-279 (1992).
- 5) 鈴木 譲: 魚類の体表における防御反応, 「水産動物の生体防禦」(森勝義・神谷久男編), 恒星社厚生閣, 東京, 1995, pp. 9-17.
- 6) Y. Suzuki and K. Kaneko: Demonstration of the mucous hemagglutinin in the club cells of eel skin. *Dev. Comp. Immunol.*, **10**, 509-518 (1986).
- 7) C. J. Lobb: Secretory immunity induced in catfish, *Ictalurus punctatus*, following bath immunization. *Dev. Comp. Immunol.*, **11**, 727-738 (1988).
- 8) J. H. W. M. Rombout, L. J. Block, H. J. Lamers, and E. Egberts: Immunization of carp (*Cyprinus carpio*) with a *Vibrio anguillarum* bacterin: indications for a common mucosal immune system. *Dev. Comp. Immunol.*, **10**, 341-351 (1986).
- 9) Y. Suzuki, M. Kobayashi, K. Aida, and I. Hanyu: Transport of physiologically active salmon gonadotropin into the circulation in goldfish, following oral administration of salmon pituitary extract. *J. Comp. Physiol.*, **157B**, 753-758 (1988).
- 10) E. McLean and R. Ash: The time-course of appearance and net accumulation of horseradish peroxidase (HRP) presented orally to juvenile carp *Cyprinus carpio* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **84A**, 687-690 (1986).
- 11) Y. Suzuki, M. Kobayashi, O. Nakamura, K. Aida, and I. Hanyu: Induced ovulation of the goldfish by oral administration of salmon pituitary extract. *Aquaculture*, **74**, 379-384 (1988).
- 12) O. Nakamura, Y. Suzuki, and K. Aida: Humoral immune response against orally administered human γ globulin in carp. *Fisheries Sci.*, **64**, 558-562 (1998).
- 13) O. Nakamura, Y. Suzuki, and K. Aida: Oral immunization specifically inhibits the intestinal protein uptake in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fisheries Sci.*, **66**, (in press).
- 14) S. Hart, A. Wrathmell, J. E. Harris, and T. H. Grayson: Gut immunology in fish: A review. *Dev. Comp. Immunol.*, **12**, 453-480 (1988).
- 15) C. B. Schreck: Immunomodulation: Endogenous factors,

- in "The Fish Immune System: Organism Pathogen and Environment" (ed. by G. Iwama and T. Nakanishi), Academic Press, 1996, pp. 311-337.
- 16) Y. Suzuki, T. Otaka, S. Sato, Y. Y. Hou, and K. Aida: Reproduction related immunoglobulin changes in rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.*, **17**, 415-421 (1997).
 - 17) Y. Y. Hou, Y. Suzuki, and K. Aida: Effects of steroid hormones on immunoglobulin M (IgM) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiol. Biochem.*, **20**, 155-162 (1999).
 - 18) Y. Y. Hou, Y. Suzuki, and K. Aida: Changes in immunoglobulin producing cells in response to gonadal maturation in rainbow trout. *Fisheries Sci.*, **65**, 844-849 (1999).
 - 19) Y. Y. Hou, Y. Suzuki, and K. Aida: Effect of steroids on the antibody producing activity of lymphocytes in rainbow trout. *Fisheries Sci.*, **65**, 850-855 (1999).
 - 20) Y. Suzuki, M. Orito, M. Iigo, H. Kezuka, M. Kobayashi, and K. Aida: Seasonal changes in blood IgM levels in goldfish, with special reference to water temperature and gonadal maturation. *Fisheries Sci.*, **62**, 754-759 (1996).
 - 21) G. Kanlis, Y. Suzuki, M. Tauchi, T. Numata, Y. Shirojo, and F. Takashima: Immunoglobulin in oocytes, fertilized eggs and yolk sac larvae in red sea bream. *Fisheries Sci.*, **61**, 787-790 (1995).
 - 22) G. Kanlis, Y. Suzuki, M. Tauchi, T. Numata, Y. Shirojo, and F. Takashima: Immunoglobulin concentration and specific antibody activity in oocytes and eggs of immunized red sea bream. *Fisheries Sci.*, **61**, 791-795 (1995).
 - 23) T. Tanaka, K. Furukawa, Y. Suzuki, and K. Aida: Transfer of maternal antibody from mother to egg may have no protective meaning for larvae of red seabream, *Pagrus major*, a marine teleost. *Fisheries Sci.*, **65**, 240-243 (1999).
 - 24) S. Oshima, J. Hata, C. Segawa, and S. Yamashita: Mother to fry, successful transfer of immunity against infectious haematopoietic necrosis virus infection in rainbow trout. *J. Gen. Virol.*, **77**, 2441-2445 (1996).
 - 25) Y. Suzuki and T. Otake: Skin lectin and the lymphoid tissues in the leptocephalous larvae of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Sci.*, (in press).