HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ニジマスのウイルス感染時およびpolyriboinosinic-polyribocytidylic acid (PIC) 投与時における血中タンパク質の発現変動に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	西川, 翔太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13536号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74270
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shotaro_Nishikawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：西川　翔太郎

審査委員　主査　教授　澤辺智雄
副査　教授　尾島孝男
副査　准教授　笠井久会

学位論文題目

ニジマスのウイルス感染時および polyriboinosinic-polyribocytidylic acid (PIC)
投与時における血中タンパク質の発現変動に関する研究

ニジマス *Oncorhynchus mykiss* は，1877 年に日本に移植されて以来，海面および内水面の養殖技術が確立され，内水面養殖においては主要な対象魚種となっている。ニジマスに大量死を引き起こすウイルス性の感染症として，伝染性造血器壊死症（IHN）およびサケ科魚ヘルペスウイルス病が知られ，その防疫は重要視されている。両病原ウイルスともに，標的器官の病理組織学的研究は知見が集積されている一方で，それら疾病の発生機序ならびに宿主の病態生理学的知見は未だ乏しい。近年，質量分析技術とバイオインフォマティクスなどの周辺技術の発達により対象に存在するタンパク質を網羅的に解析することが可能となった。血液は身体の生理状態をリアルタイムに反映するため，罹病魚の病態把握に有用であり，疾病特有に増加もしくは減少するタンパク質を探索することができれば，疾病バイオマーカーになり得る。ウイルス感染症の対策には，治療ではなく予防に重点が置かれ，自然免疫賦活剤の利活用についても研究が進められている。Polyinosinic-polycytidylic acid（PIC）はポリイノシン(poly-I）とポリシチジン（poly-C）の二本のヌクレオチド鎖から構成される合成二本鎖 RNA であり，魚類に接種した場合，病原ウイルスに対し抵抗性を付与する作用がある。魚類においては PIC の自然免疫賦活作用と水温に相関があること，投与量によっては毒性を示すことが報告されていることから，水温がそれによる宿主の免疫応答に及ぼす影響や PIC 投与後の宿主の生理応答を明らかにする必要がある。

本論文では，IHN および OMVD の病態の基礎的知見を得ることを目的として，ウイルス感染症の発症にともなうニジマス血漿中のタンパク質発現プロファイルならびに生化学成分への影響を，二次元電気泳動ならびに生化学検査により明らかにした。加えて，飼育水温ならびに PIC の塩基長が PIC の自然免疫賦活作用に与える影響を明らかにするとともに，PIC 投与により生じる薬理作用について，体内

で生じている現象の原因を明らかにした。特に評価される成果は以下の通りである。

1. IHNV あるいは OMV に人為感染させたニジマスにおける血中タンパク質の変動について調べた。その結果，①IHNV では 324 スポットで強度の増加，276 スポットで強度の減少，OMV では 368 スポットで強度の増加，246 スポットで強度の減少を認め，②両疾病に共通して免疫に関与するタンパク質である補体因子 C3，プレセレベリン様タンパク質，インテレクチン，アポリポタンパク質 A-I-1，物質の移動を担う輸送タンパク質，エネルギー代謝に関与するタンパク質，クロマチンを構成する主要タンパク質のひとつであるヒストン H2B，High mobility protein B，シグナルトランスインデューサーおよびアクチベーター，卵黄タンパク質の前駆体であるビテロジェニンならびにケラチンが増加する，ことを明らかにした。さらに肝臓の障害発生を示す血液生化学成分値の変動を認め，ウイルス感染によって肝臓への障害が生じていることを示した。
2. PIC を投与したニジマスを高水温ならびに低水温で飼育したときの脾臓における Mx 遺伝子の発現量を経時的に解析するとともに, 塩基長の異なる 6 種類の PIC を投与した場合のニジマス脾臓における Mx 遺伝子発現量を解析した結果，PIC 投与による Mx 遺伝子の発現すなわち抗ウイルス状態の維持は飼育水温の影響を受けることが示され，低水温下での PIC 投与が有効であることを示した。さらにニジマスにおいて Mx 遺伝子発現量は PIC の塩基鎖長に非依存的であることも示し, 哺乳類とは異なる動態を示すことを明らかにした。さらに，魚体サイズによって PIC の許容量が変化し，低水温下では 16.7 mg/kg fish で致死毒性を示すことを明らかにした。
3. PIC 投与前後のニジマス血液中におけるタンパク質発現プロファイルおよび血液生化学成分値の比較により，ヘモペキシン様タンパク質，フィブリノーゲンγA，アポリポタンパク質 A-I-1，補体因子 B/C2, ケラチン, クレアチンキナーゼ, ビテロジェニン, ハプトグロビン, high mobility group protein の発現量が変動していることを示し，さらに肝臓の障害発生を示す血液生化学成分値の変動を認め，PIC 投与による肝臓への負荷が致死毒性の原因であることを示した。

以上, 本研究は魚類感染症の防疫に寄与するウイルス感染時および PIC 投与時のニジマス血漿中のタンパク質発現プロファイルならびに生化学成分への影響と PIC による自然免疫賦活について飼育水温および PIC 塩基鎖長の影響を明らかにしたことから, 本成果の水産科学への寄与は大きいものと判断された。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。