



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	The insulin-like growth factor (IGF)-IGF-binding protein system in rainbow trout, a model species in aquaculture
Author(s)	井筒, 彩歌
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第16709号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16709
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99554
Type	doctoral thesis
File Information	Ayaka_Izutsu_summary.pdf, 全文の要約



主論文の要約

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：井 筒 彩 歌

学 位 論 文 題 目

The insulin-like growth factor (IGF)–IGF-binding protein system in rainbow trout,
a model species in aquaculture

（養殖魚モデルとしてのニジマスの
インスリン様成長因子 (IGF)–IGF 結合タンパク質系）

第 1 章 序論

魚類の養殖生産は世界的に拡大している。しかし、餌やエネルギーのコストの課題に加え、魚粉使用や環境汚染が問題となっている。コストの削減と持続性の担保は、飼育環境の改善と育種などを通じた遺伝的改良による魚の成長効率の最大化により実現し得る。

魚類を含む脊椎動物の成長にはインスリン様成長因子 (IGF) -1 が重要な役割を果たしている。IGF-1 は成長ホルモン (GH) の刺激により主に肝臓で合成され、血流を介して標的器官に運ばれ、GH の成長促進作用を仲介する。一方、IGF-1 の活性は IGF 結合タンパク質 (IGFBP) により調節される。サケ科魚類の血中では 3 種の IGFBP (IGFBP-1a、-1b および-2b) が同定されている。IGFBP-1a と-1b は IGF 活性を阻害、IGFBP-2b は促進することで成長を調節すると考えられている。加えて、IGF-1 とこれら 3 種の IGFBP の血中量はそれぞれ成長率と正または負の相関を持つことから、養殖魚の成長を評価する指標として有用であると考えられる。さらに、サケ科魚類の血中には IGF-1 のパラログである IGF-2 や新規に検出された推定 IGFBP-2a も存在し、これらの成長調節に果たす役割と指標としての有用性が注目される。魚類養殖において IGF や IGFBP を成長や育種のマーカーとして用いることで、飼育環境の評価による最適化や育種の効率化に繋がることが期待される。

ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) は重要な養殖対象魚で、世界中で育種されて多様な系統が作出されている。このような育種魚は、高成長に向けて選抜されていること、野外とは異なる餌量・環境下で飼育されていることから、野生魚と成長調節機構が異なることが予想される。実際、これまでの研究から養殖用のニジマス系統においてストレスで誘導される成長抑制型の IGFBP-1a と-1b の機能が低下していることを示唆した。つまりニジマスにおいてはこれらを除く IGF-1、-2、IGFBP-2a および-2b が成長を調節し、成長指標の候補となると考えられる。

本研究はニジマスを養殖魚のモデルとして捉え、まず、測定系が稼働していない又は無い血中 IGF-2 と IGFBP-2a の測定系確立を目指した。そして、IGF-2 と IGFBP-2a の生理的役割と成長指標としての有用性を IGF-1 や IGFBP-2b と共に調べた。加えて、本種の育種型と野生型系統の IGF と IGFBP の血中量と絶食への反応性を比較し、育種魚特有の成長調節機構の有無を調べることを二つ目の目的とした。

第 2 章 サケ科魚類の IGF-2 の測定系の確立

哺乳類において IGF-1 は個体の成長を促進するが、IGF-2 は発生時に働き出生後の成長には関与しないとされている。一方、魚類では IGF-2 でも個体の成長への関与が示唆され

ている。しかし、魚類の IGF-2 の定量系は以前に二度確立されたにも関わらず現在稼働していない。推察される理由として、測定前の IGF-2 の IGFBP からの分離・抽出の難易度が IGF-1 と比較し高いことが挙げられる。本章では、抽出法の検討に重点を置き、IGF-2 の測定系を確立した。

組換えサクラマス IGF-2 をウサギに免疫し抗血清を得た。さらに市販の組換え IGF-2 質を蛍光物質であるユーロピウム (Eu) で標識することでトレーサーを作製・調製した。これらを用いた時間分解蛍光免疫測定系 (TR-FIA) においてスタンダード (市販組換え IGF-2) とニジマスの血清の段階希釈曲線の平行性を調べることで抽出方法を評価した。まず、魚類の IGF-1 で一般的に用いられている酸エタノール (AE) 抽出法により IGF-2 の抽出を試みた。しかし、スタンダードと血清サンプルの希釈系列は平行にならなかった。抗原抗体反応を阻害するエタノールの残存が要因であると推察し、AE 抽出後のエタノール除去方法 (透析、遠心乾燥濃縮およびスピнкаラム) を検討した。結果、AE 法にスピнкаラムによる限外濾過を組み合わせた手法が有効であることが明らかとなり、IGF-2 の TR-FIA が確立された。

北方生物圏フィールド科学センター七飯淡水実験所にてニジマスを個体標識し、絶食・再給餌実験を行い、血清試料を得た。そして確立した TR-FIA により血中 IGF-2 を測定し、IGF-1 の反応と比較した。加えて、米国冷水養殖研究所で実施された絶食・再給餌実験の血清試料も同様に解析した。両実験において血中 IGF-1 量は先行研究と同様に絶食で減少したが、IGF-2 は反応しなかった。また、七飯淡水実験所のニジマスの瞬間成長率 (SGR) と血中 IGF-1 量には正の相関があった。一方、血中 IGF-2 量と SGR の間には相関は見られなかった。以上より、新規測定系の確立によって血中 IGF-2 は IGF-1 とは異なり成長への関与は無いまたは弱く、成長指標としての有用性も低いことが示唆された。

第3章 サケ科魚類の IGFBP-2a の測定系の確立

これまでの養殖用ニジマスを用いた研究から、血中では IGFBP-1a および IGFBP-1b がほとんど検出されず、成長抑制機能が弱まっている可能性を報告した。そのため本種では安定的に検出される IGFBP-2b と IGFBP-2a が成長調節において重要であると考えられる。サケ科魚類において IGFBP-2b は血中量が高く、血中 IGF-1 量と正の相関を示すことから、IGF-1 の主要な運搬役であると考えられている。また、IGFBP-2b の血中量は SGR とともに正の相関を持つことから、IGF-1 と同様に正の成長指標としての有用性が示されている。同様に推定 IGFBP-2a も IGF-1 の運搬役であり、成長指標の候補となり得ることを示唆してきた。本章では IGFBP-2a の TR-FIA の確立を目指し、本タイプの生理的役割と成長指標としての有用性を調べた。

融合パートナー付き組換えニジマス IGFBP-2a をウサギに免疫し抗血清を得た。また、本組換えタンパク質を Eu で標識することでトレーサーを調製した。これらを用いた TR-FIA においてスタンダード (組換え IGFBP-2a) とサンプルの段階希釈曲線の平行性を調べた。検証の過程で抗血清の組換え融合パートナーとの免疫交差性が測定系を阻害していることが明らかになった。そこで、組換えタグ付き IGFBP-2b で抗血清を吸収して特異性を高めた。結果、スタンダードとサンプルの平行な希釈系列が得られた。

TR-FIA を用いて、上述の七飯淡水実験所にて実施した絶食・再給餌実験試料の血中 IGFBP-2a 量を測定し、IGFBP-2b 量と比較した。血中 IGFBP-2a 量は、IGFBP-2b と同様に絶食で低かった。さらにどちらも血中 IGF-1 量および SGR と正の相関を示した。以上より、IGFBP-2a も IGF-1 の主要な運搬役として働き、IGF-1 を介した成長促進に関与していると考えられた。また、血中 IGFBP-2a の成長指標としての有用性が示された。

第4章 選抜・非選抜ニジマスの成長調節内分泌系の比較

ニジマスは世界中の多様な環境下で選抜育種されている。通常、養殖魚は飢餓を経験しない比較的安定した条件下で、養殖環境特有のストレス（餌、密度、水温、病気等）を受け成長する。これらの環境下での高成長形質の選抜は、直接もしくは間接的に成長やストレスに関わる遺伝子座に変異を生じさせ得る。そこで、育種型ニジマスでは IGF-IGFBP 系構成要素のうち成長促進型のものは血中量が増加し、成長抑制型ものは減少しているという仮説を立てた。本仮説を検証するため、米国アイダホ大学との共同研究により、野生型と高成長の育種型ニジマスを用いた共通環境実験（1ヶ月間の絶食）を実施した。得られた血清中の IGF-1、-2、IGFBP-2a および-2b を TR-FIA により定量し、二系統間の血中量を比較した。また、IGF 結合能を持つ IGFBP をバンドとして検出するリガンドブロッティングにより IGFBP-1a および-1b を検出・半定量した。

結果、実験開始時の体サイズを揃えたにもかかわらず、育種型ニジマスは野生型と比較して良く成長した。さらに、育種型ニジマスでは血中 IGF-1、-2 および IGFBP-2a 量が野生型と比較して高かった。また、予想に反して IGFBP-1a と-1b も検出されものの、IGFBP-1a は絶食で誘導されず、他のサケ科魚類の先行研究とは異なる反応を示した。育種型ニジマスの IGFBP-1b は給餌群では1個体も検出されず、絶食群でも低値であった。よって、育種系統では高い血中 IGF-1、-2 および IGFBP-2a 量が高成長に寄与していると考えられた。一方、育種系統の低い IGFBP-1b の血中量と反応性は、高成長個体の選抜による間接的な効果であると考えられた。

第5章 総合考察

以上、本研究は、TR-FIA による血中 IGF-2 と IGFBP-2a 量の測定を可能にした。定量的結果、血中 IGF-2 の成長への関与は弱いと考えられた。一方、血中 IGFBP-2a は IGF-1 の運搬役として成長促進に働くことが示唆された。本研究はサケ科魚類で検出される6種類の血中タンパク質（IGF-1、-2、IGFBP-1a、-1b、-2a および-2b）のうちニジマスでは成長阻害型の2種類は育種により低下したことを示唆した上で、その他の4種類全て（IGF-1、-2、IGFBP-2a および-2b）の成長指標としての有用性を初めて評価した。結果、ニジマスでは血中 IGF-1、IGFBP-2a および-2b の有用性が示された。また、養殖魚モデルとしてのニジマスの特性を明らかにし、IGF-1、-2、IGFBP-2a および IGFBP-1b が選抜育種におけるマーカーになり得ることを提唱した。