

研究テーマ	エラムシに強いトラフグ養殖のための分子基盤の解明
研究期間	平成25 ～ 26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
<p>○研究目的</p> <p>寄生虫であるエラムシの感染により、若狭フグ養殖は大きな被害を受けており、その対策として駆虫薬が利用されているが、高価であり漁業者にとって大きな負担である。また、安心・安全な若狭フグという点においても駆虫薬を使わないフグ養殖が理想である。そこで、トラフグ自身の免疫力を高め、安心・安全な若狭フグ養殖を行うためには、エラムシに対するフグ類の感染と排除の仕組みを明らかにすることが不可欠である。これまでに我々はエラムシがトラフグを認識する仕組みを明らかにした。さらに、エラムシの感染・排除に関わるゲノム領域を特定した。本研究では、さらに、エラムシの感染・排除に関わる遺伝子とその役割を決定し、エラムシに強いトラフグ養殖のための分子基盤を確立する。</p> <p>○研究成果</p> <p>トラフグとクサフグではエラムシに対する感染性が異なり、クサフグにはエラムシは感染しない。我々はフグの体表粘液中のパフレクチンという物質が、フグへのエラムシの寄生を促すことを明らかにした（平成25年度日本魚病学会春季大会発表、投稿準備中）。しかし、パフレクチンはトラフグにもクサフグにもあることがわかった。つまり、パフレクチンはクサフグがエラムシを排除する直接的な理由ではない。</p> <p>一方で、トラフグとクサフグを掛けあわせたハイブリッドとその子を作り、エラムシへの感染性を調べたところ、エラムシへの感染の成立のしやすさは遺伝的であり、クサフグのある特定のゲノム領域を持つものが感染しにくいことがわかった。しかし、その領域には200個を超える遺伝子があり、どの遺伝子がトラフグのエラムシへの感染のしやすさに関わるのかは不明である（Hosoya et al., 2013）。この遺伝子が特定できれば、エラムシ感染と排除の仕組みが明らかになり、今後トラフグ自身の免疫力を活かした寄生虫排除による安心・安全なトラフグ養殖が可能になることが期待される。また、トラフグだけではなく、寄生虫感染はヒラメやブリなど日本国内の養殖魚に加え、サケ科魚類など世界の養殖においても深刻な問題であり、本研究の成果は、福井県のみならず、日本、世界の水産養殖に資するものであると考えている。さらに、魚類寄生虫の宿主特異性に関する分子レベルでの研究はほとんどなく、この点においても大きな貢献が期待できる。</p> <p>クサフグとトラフグではエラムシに対する感受性が異なり、その違いに関わるゲノム領域を明らかにした。この中には約200個の遺伝子が含まれているが、この中に、この違いを生む遺伝子があるはずである。この中からその遺伝子を特定し、その役割を明らかにするのが本研究の目標である。そのためには大きく2つの戦略を採る。</p>	

## 1) 網羅的戦略

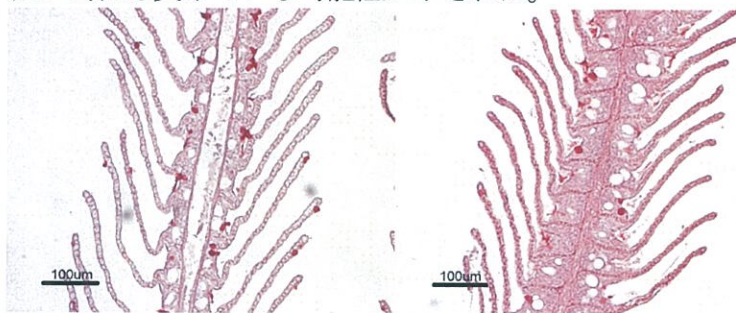
現在、トラフグとクサフグにおいて寄生虫感染などの強い淘汰を受けた遺伝子を分子進化学的手法により解析している。この方法により、宿主特異性関連ゲノム領域において宿主特異性に関わる遺伝子は進化スピードが速いことが予測される。そこで、そうした遺伝子を見出し、標的遺伝子を絞り込む。現在、クサフグのゲノム情報を持つ東京大学大学院農学部附属水産実験所の菊池准教授、細谷助教と共同研究を進めている。

## 2) 候補遺伝子戦略

宿主特異性に関わるゲノム領域の遺伝子のうち、多くのものについてはその遺伝子が何の遺伝子なのか特定されている。そこで、このうち、フグや他の動物で粘液に関わるもの、免疫に関わるものを候補とする。

クサフグにおいては鰓にエラムシの幼生が付着したのち、比較的速やかに排除されることがわかっている。このことから、214個の候補遺伝子の中から、鰓で発現しており、最初に幼生と接触し、哺乳類において寄生虫排除に関与していることがわかっている遺伝子という3つの観点から候補を絞り込み、3つの条件に合致する遺伝子として粘液の主成分である糖タンパク質ムチンの遺伝子である *Muc2* と *Muc5ac* に着目した。

まず、トラフグとクサフグの粘液産生について明らかにするために、粘液産生細胞である杯細胞をPAS染色法により検出した。しかし、トラフグとクサフグの間では、その数や大きさに大きな違いは認められなかった(図)。そこで、次に粘液の質の違いに着目した。まず、候補遺伝子である *Muc2* と *Muc5ac* の鰓における遺伝子発現を調べたところ、トラフグ、クサフグともに *Muc2* と *Muc5ac* が発現しているが、個体差が認められたため、今後詳細な解析が必要であると考えている。また、粘液の質に関わる要素としてムチンの構造についても解析した。両種の *Muc2* と *Muc5ac* において、哺乳類において寄生虫感受性に関わることが知られているC末端領域についてcDNAクローニングを行い、一次構造を比較解析した。その結果、ムチンの構造の違いの指標となる両種間でのアミノ酸置換率は *Muc2* で0.7%、*Muc5ac* で3.3%であった。また、多くの寄生虫が分泌するタンパク質分解酵素に対する推定切断配列を調べたところ、*Muc2*、*Muc5ac* ともにトラフグでのみ分解される配列がクサフグでのみ分解される配列より多く存在した。さらに、簡易的な分子進化学的解析を行ったところ、*Muc2* 遺伝子ではなく、*Muc5ac* 遺伝子がよい強い淘汰を受けている可能性が示された。



鰓の杯細胞。

左がトラフグ、右がクサフグ。濃い赤が杯細胞。

※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。