

平成26年度県立大学地域貢献研究の研究成果について（完了報告・中間報告）

|  |   |
|--|---|
| 研究テーマ  | 網羅的遺伝子解析技術を用いた魚類ウイルス感染防御機構の解析             |
| 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<br>【職・氏名】教授・宮台俊明 |
| <p>○研究目的</p> <p>ウイルス感染を防御するシステムが魚の体内でどのように働いているのかを明らかにすることを目的とした。</p> <p>そのひとつとして、トラフグの口白症を対象に、ウイルスが脳内のどの細胞で増殖しているのかを明らかにし、脳を対象にしたウイルス感染免疫のモデルを作ることを目指した。</p> <p>もうひとつは、病原体に感染した際に、リンパ球がどのようにして感染部位に到達するのかを腹腔への感染をモデルとして検証を行った。</p> <p>○研究成果</p> <p><u>口白症ウイルスのゲノム解読</u></p> <p>口白症に感染した脳から口白症ウイルスゲノムと予測されているRNAを抽出し、次世代シーケンサーによって網羅的に塩基配列を決定した。</p> <p>本法は、100塩基ほどの短い核酸を数百万個ほど読み取る能力を持つ機器を用いる。本研究では、結果として、機知の配列のほか、ゲノムデータベースに登録されていない500以上の未知配列を読み取ることができた。これらの配列は既知のウイルスゲノムとの類似性も示されなかった。</p> <p>現在、これらの配列が口白症感染脳に発現しているかをスクリーニングする作業を予定している。</p> <p><u>口白症ウイルスゲノムの発現細胞</u></p> <p>研究開始時まで読み取ることのできた口白症ゲノム断片と同じ配列が脳のどこに存在するのかを組織学的に明らかにした。</p> <p>これまでは、組織学的に明らかに変性しているのは、大型神経細胞の核であると言われていた。</p> <p>本研究では、口白症ゲノム断片と同じ配列が存在する部位を可視的に明らかにするため、特殊な染色技術（in situ hybridization）を用いて、感染脳の組織切片を用いて検討した。その結果、驚いたことに脳内の全ての神経細胞の核にウイルスゲノムが存在していることが観察された。この結果から、口白症に感染したトラフグが、なぜ感染10日程度という極めて短期間に、大型神経細胞以外に目立った組織学的変性もなく死亡するのかの理由を解明する手がかりを得たことになった。</p> <p><u>トラフグの腹腔B細胞の走化性</u></p> <p>免疫細胞の動態を研究するモデル組織として、腹腔が注目される。腹腔は内臓を収めている広い空間であり、血液とも隔離しているため、腹腔内に免疫細胞が浸潤する際には、免疫細胞が</p> |   |

※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。

腹腔内に移行するためのメカニズムが働かなければならない。一般に、免疫細胞が組織中に浸潤する際には、その組織内を通る血管の内皮細胞で走化性因子（多くはタンパク質）が合成される。免疫細胞はその因子に対する受容体を細胞表面に発現している。受容体が因子をキャッチすると、免疫細胞はその部位にとどまり、ついで組織内に入っていく。

トラフグの腹腔内にはB細胞が全白血球の約60%存在していることが先行研究でわかっている。B細胞は抗体を産生する細胞であり、病原体との接触によってB細胞の増殖が活性化される。そこで、B細胞が腹腔内で病原体と出会うと活性化し、いち早く抗体を産生するためにあらかじめ腹腔内に呼び寄せられてとどまっているのではないかと考えられる。

B細胞の走化性因子候補（CXCL13）とその受容体候補（CXCR5）はトラフグが保持していることはすでに明らかにしている。CXCL13はマクロファージという貪食能を持つ白血球が分泌していると考えられているため、トラフグの腹腔からマクロファージを取り出して培養し、その培養液を回収して、細胞の走化性を調べるためのチャンバーに入れ、B細胞を加えて、チャンバーの方に移動するかを検証したところ、その移動を確認することができた。また、CXCL13の機能を抑制する物質を加えたところ、移動しなかったことから、B細胞はCXCL13に向かって移動することが明らかとなった。B細胞がCXCR5を発現していることも明らかにした。

以上の結果から、腹腔内にB細胞が浸潤するメカニズムを明らかにすることができた。マクロファージを病原体の構成要素で刺激すると、CXCL13の発現量が増強したことからあわせて考えると、B細胞は普段から腹腔内に待機していて、病原体が進入すると、さらに浸潤を促進させて待機中のB細胞とともに即座に病原体の排除にあたると考えられる。

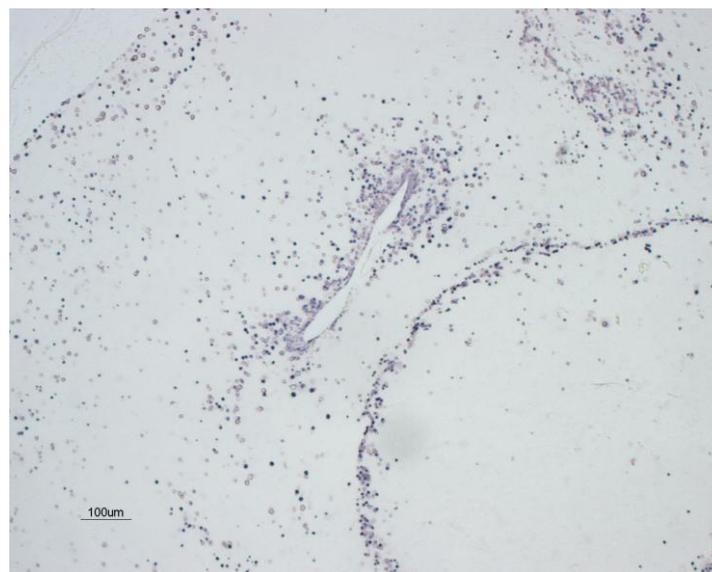


図 トラフグの脳における口白症ウイルスゲノムの発現  
青く染色されているのが、発現部位であり、神経細胞の位置と一致した。