

## は し が き

魚類はその他の脊椎動物と異なり免疫系の中でも非特異的免疫機構の占める割合が大きいと考えられている。そのために非特異的免疫機構を増強させ、病気を予防するために免疫賦活剤が開発され実用化されてきている。現在多くの免疫賦活剤が水産養殖の現場で使用されている。近年、新しい免疫賦活作用を持つ物質としてDNAが注目を集めている。中でも、DNAのCpGモチーフは、従来の免疫賦活剤では、十分に活性化出来なかったナチュラルキラー細胞を活性化し、ウイルス感染や細胞内寄生細菌に有効であるとの報告がなされている。しかし、魚類では全く検討されていない。本研究は、このDNAのCpGモチーフが魚類の免疫系を活性化する可能性について平成14と15年度の2年間にわたり研究を実施した。本報告書はその成果をとりまとめたものである。

## 研 究 組 織

研究代表者 酒井 正博 (宮崎大学農学部・助教授)

## 研 究 経 費

平成14年度	2, 100	千円
平成15年度	1, 400	千円

## 研 究 発 表

### (1) 学会誌等

- 1) Tassakka, A.C.M.A.R. and Sakai, M.: CpG oligodeoxynucleotides enhance the non-specific immune responses on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 209, 1-10, 2002
- 2) Tassakka, A.C.M.A.R. and Sakai, M.: The in vitro effect of CpG oligodeoxynucleotides on the innate immune responses of common carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 220, 27-36, 2003.
- 3) Tassakka, A.C.M.A.R. and Sakai, M.: Expression of immune-related genes in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) after stimulation by CpG oligodeoxynucleotides. *Aquaculture* (accepted).

### (2) 口頭発表

- 1) Tassakka, A.C.M.A.R., 酒井正博: DNAのCpGモチーフは、コイの非特異免疫応答を活性化させるか 平成14年度日本水産学会大会
- 2) Tassakka, A.C.M.A.R. and Sakai, M.: The effect of CpG oligodeoxynucleotides on the innate immune responses of common carp, *Cyprinus carpio*. 4<sup>th</sup> international symposium on Aquatic Animal Health (ニューオーリンズ、アメリカ、9月1-5日、2002年)
- 3) Tassakka, A.C.M.A.R. and Sakai, M.: Immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides on the innate immune responses of common carp, *Cyprinus carpio* L. 5<sup>th</sup> Symposium on diseases

in Asian Aquaculture (ゴールドコースト、オーストラリア、11月  
24-28日、2002年)

- 4) Sakai, M.: Cytokine and lysozyme gene expression in carp,  
*Cyprinus carpio*, leucocytes treated with immunostimulants.  
The JSPS-NRCT International Symposium (ラヨーン、タイ、12  
月15-16日、2003年)

### (3) 印刷物

- 1) Sakai, M.: Cytokine and lysozyme gene expression in carp,  
*Cyprinus carpio*, leucocytes treated with immunostimulants.  
Proceedings of The JSPS-NRCT International Symposium.

## 目 的

魚類の免疫賦活剤の研究は、ワクチンのアジュバントとして古くから研究されてきた。しかし、一般に注目されるようになったのは、Olivier ら(1985)が、フロイント完全アジュバントの単独接種で、せつそう病やピブリオ病に対して高い防御能を示した論文を発表してからである。その後、多くの研究者によって、ほ乳類で使われている免疫賦活作用のある多くの物質が魚類やエビで試験され、その有効性が確認された。現在では、レバミゾール等の合成化合物、イーストグルカン等の菌体成分、チキン等の多糖体、動植物由来の成分、ビタミン等の栄養素、ラクトフェリンやリゾチウム等の生体防御因子およびホルモン等で免疫賦活作用が報告されている。このように一口に免疫賦活剤と言っても様々な物質が研究されており、その作用、有効性、持続性等が個々に異なる。

免疫賦活剤で、活性化する免疫因子として食細胞（好中球やマクロファージ）、補体系、ナチュラルキラー細胞、リゾチウム等が知られている。しかし、免疫賦活剤が免疫機能を活性化するメカニズムについてはまだ十分にわかっていない。本研究において、免疫賦活剤投与魚の腎臓から cDNA ライブラリーを作製し、発現している遺伝子を解析することによって、免疫系が活性化するメカニズムを検討した。