

特 別 寄 稿

魚 類 の 免 疫 機 構

北 尾 忠 利 (宮崎大学農学部)

Special Contribution : Immunological Mechanism of Fishes

Tadatoshi KITAO

(Department of Animal, Glassland and Fisheries Sciences, Faculty of Agriculture, Miyazaki University)

はじめに

魚類が外来性物質である非自己を識別する機構、すなわち免疫反応と考えられる能力を有することは、古くはメチニコフや彼と同時代の研究者により既に知られていた。しかしながら、魚類の免疫機構に関する詳細な本格的研究が始められたのは過去10数年程度を経ているに過ぎない。つまり、医学及び獣医学領域における免疫学の研究と比較すれば実に歴史的には浅い学問領域に属するといえよう。

1. 魚類の系統発生

魚類の系統発生は円口類、軟骨魚類、硬鱗魚類、硬骨魚類を経て肺魚へと進化したものと考えられている<sup>8)</sup> (図 1)。

2. 魚類の免疫系

魚類のリンパ系組織は硬骨魚類で腎臓及び脾臓において観察されており、魚の免疫担当組織と考えられているのは、腎臓特に前腎部、脾臓、胸腺及び腸管・肝門脈周囲に付随したリンパ様組織が

表 1 脊椎動物のリンパ系組織の進化 (Roit ら, 1985<sup>18)</sup>より改編)

動物種	リンパ器官	胸腺	脾臓	骨髄	リンパ節	腸管随伴リンパ組織	腎臓/肝臓
哺乳類		+	+	+	+	+	+
鳥類		+	+	+	+	+	?
は虫類		+	+	+	+	-/+	+
無尾両性類 (カエル, ヒキガエル)		+	+	+	+	-/+	+
有尾両性類 (イモリ, サンショウウオ)		+	+	-	-	-	+
肺魚		+	+	-	-	-	+
硬骨魚類		+	+	-	-	-	+
軟骨魚類		+	+	-	-	-	+
無顎類		-	?	-	-	-	+

+\*: ファブリキウス嚢

考えられる<sup>18)</sup> (表 1)。また、主要魚種におけるリンパ器官の組織発生を表 2 に示した<sup>18)</sup>。

\* 本稿は平成 3 年 4 月 1 日に開催された本会の第18回シンポジウムにおける特別講演の要旨である。

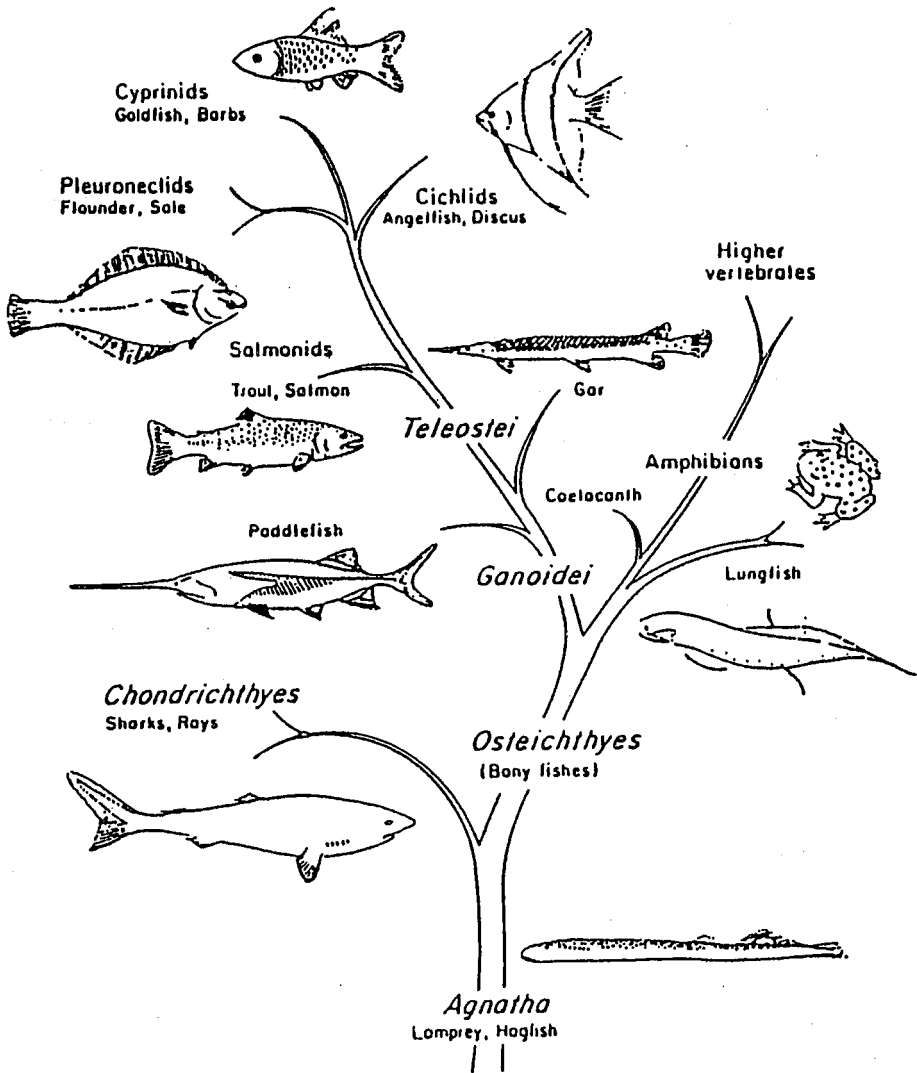


図 1 魚類の系統発生的関係 (Anderson, 1974<sup>8)</sup>)

表 2 主要魚種におけるリンパ器官の組織発生 (M.J. Manning ら, 1982<sup>10)</sup>より改編)

魚 種	水 温	リンパ系細胞の初発時期		
		胸 腺	腎 臓	脾 臓
ニジマス ( <i>Salmo gairdneri</i> )	14	ふ化後3日目	ふ化後5日目	ふ化後5日目 28日目でも赤血球系細胞が残存
コイ ( <i>Cyprinus carpio</i> )	22	ふ化後3日目	ふ化後6日目	ふ化後8日目 28日目でも赤血球系細胞が残存
大西洋サケ ( <i>Salmo salar</i> )	4~7	ふ化前22日目	ふ化前14日目	ふ化後42日目

### 3. 魚類におけるリンパ球の特徴

魚類においても機能の異なるリンパ球の存在が報告されている。その特徴として、マイトジェンに対する幼若化反応の異なるリンパ球が存在しており<sup>10)</sup>、ハプテンによるキャリア効果が認められる<sup>17)</sup>。さらに、細胞表面免疫グロブリンの存在が認められる<sup>9)</sup>。

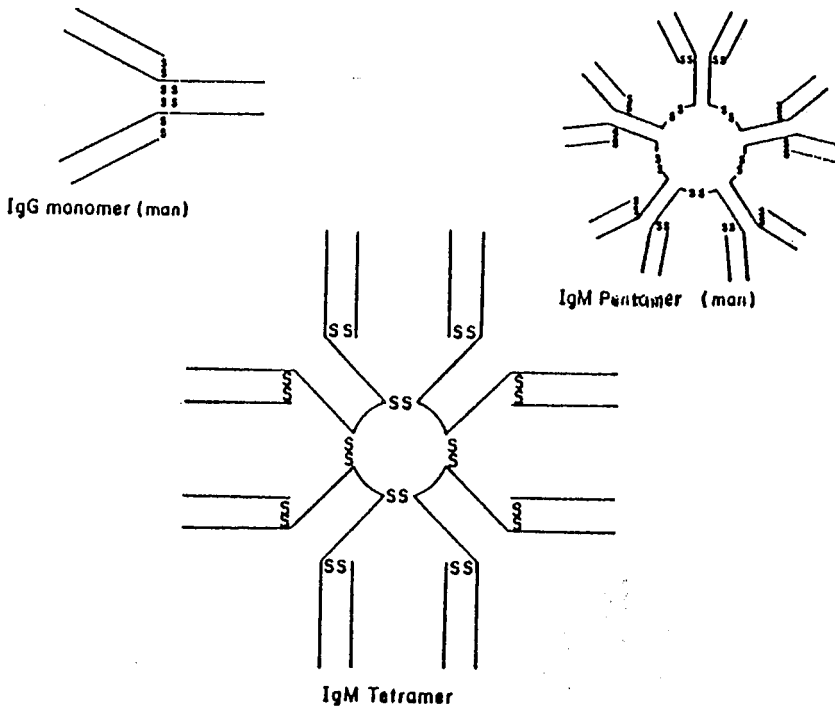
### 4. 魚類の免疫グロブリン

魚類でも抗原刺激に应答して、免疫グロブリン(Ig)を産生する。魚類のIgの特徴は、哺乳類のIgMと類似している一つのクラスのみが存在し<sup>14)</sup>(表3)、凝集抗体は容易に検出されるが、沈降抗体活性は一般的に検出されにくいといわれて

表3 脊椎動物各綱に見出される免疫グロブリンのクラス(片桐・藤井, 1984<sup>14)</sup>より改編)

動物綱	出現時期 (億年前)	C <sub>II</sub>						
		μ	ν	γ	α	δ	ε	
円口類	(4.5)	■	■					
魚類	(4.0)	■	■	■				
両生類	(3.5)			■				
爬虫類	(2.8)			■				
鳥類	(1.5)				■			
哺乳類	(1.0)					■	■	■
免疫グロブリンのクラス		IgM	IgN	IgY	IgA	IgG	IgD	IgE

いる。また、魚類のIgMの構造を図2に示した<sup>8)</sup>。



Hypothesized molecular structure of salmonid antibody

図2 魚類の免疫グロブリン(IgM)の構造(Anderson 1974<sup>8)</sup>)

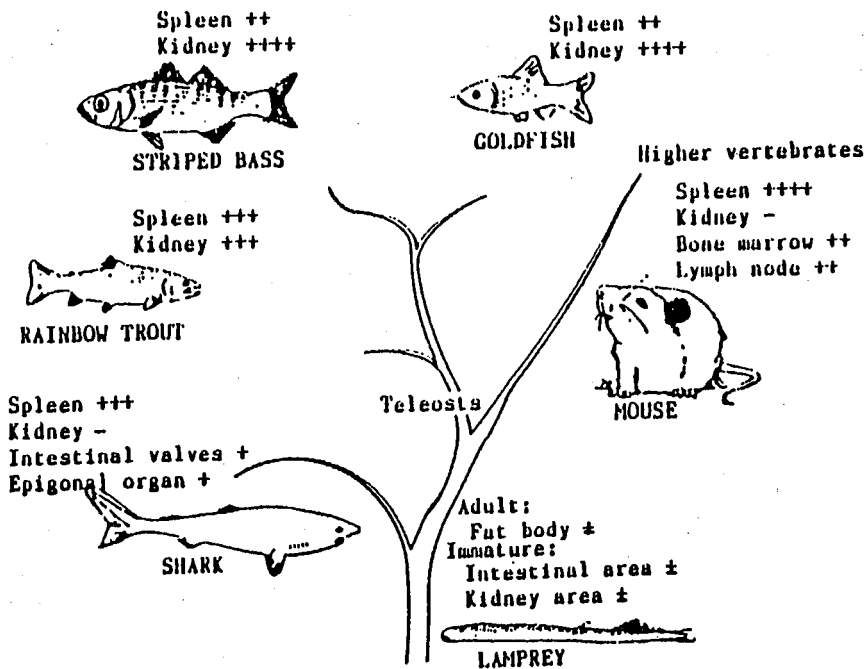


図 3 各魚種とマウスの造血器中に見られる抗体産生細胞数の比較 (Anderson ら, 1987<sup>4)</sup>)

## 5. 魚類の抗体産生

魚類による抗体産生器官の相違。

一般的に魚類では、腎臓及び脾臓において抗体産生が行なわれているが、軟骨魚類においては、哺乳動物 (マウス) と同様に腎臓は抗体産生に関与していない<sup>4)</sup> (図 3)。

## 6. 魚類の免疫応答に影響を及ぼす諸因子

### 1. 水温

魚類の液性及び細胞性免疫応答に影響するものとして、最も重要な因子には飼育環境の水温があり、抗体産生の免疫応答のある時期に温度依存性であり、その後の抗体産生は温度非依存性を示すことが知られている<sup>6)</sup> (図 4)。

### 2. 抗原の投与量と接種方法

魚類の一次及び二次応答の強さは、抗原量とその投与ルートに依存することが知られている。少

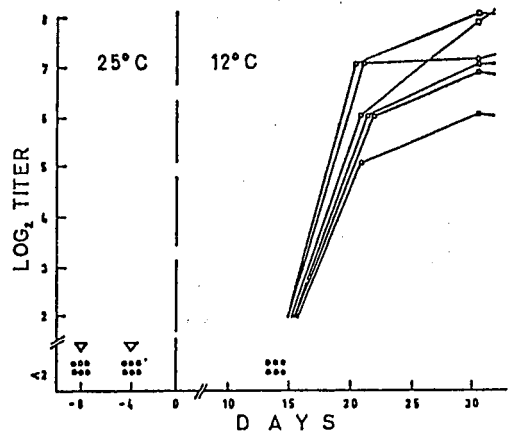


図 4 抗体産生に及ぼす水温の影響 (Avtalion ら, 1973<sup>6)</sup>)

量の抗原の筋肉内接種による高い二次応答は、低濃度の抗原による T 様細胞のヘルパー機能の刺激だと考えられており、免疫ルートによっては、免疫寛容が知られている<sup>19)</sup>。

性顆粒細胞が応答細胞であるといわれている<sup>7)</sup>。

## 7. 魚類の補体

一般に魚類の補体は、哺乳類のそれよりも易熱性である。魚の血清中の補体を20分間で不活化する温度は魚種によって若干異なっている。魚類において、抗原・抗体複合体は哺乳類の補体（モルモット血清）では活性化されない。補体を活性化するためには、近縁の魚種に由来するものでなければならないことを示唆する成績が報告されている。補体活性に及ぼす Ca イオンや Mg イオンの影響など哺乳類の補体と共通している部分もある。さらに、マスの血清は LPS、ザイモサンやイヌリンで補体の溶血活性が阻止される。Mg イオンの要求性などからマスの補体活性に別経路の存在することが示唆されている<sup>11)</sup>。

## 8. 魚類における遅延型過敏反応

即時型過敏症性皮膚反応は、数種のヒラメ科の魚類について C-ポリサッカライド物質により誘発されることが報告されている。しかし、この反応のメカニズムは判っていない。鯉科及びその近縁魚類で、PAS・陽性顆粒リンパ球が哺乳類の肥満細胞と類似性のものであることを示唆する成績がある。ヒラメ類やサケ科魚では、エオジン嗜好

## 9. 魚病予防と魚類ワクチン

魚類ワクチンの試みは、1942年に Duff が、せつそう病の病原菌 *Aeromonas salmonicida* で作成したクロロフォルム死菌ワクチンを魚類に経口的に投与することによって予防効果を確認めたのが最初である<sup>8)</sup>。

その後アメリカで、サケ科魚類の海面飼育が盛んになるにつれて、ビブリオ病が多発し、ワクチンによる予防法の研究が盛んに行われるようになった。

### 1. 抗原物質の取り込み

魚類では抗原物質の取り込み経路として、経口（腸管）、鰓、体表のマクロファージやリンパ球、側線などが知られている。

特に鰓からの抗原の取り込みは魚類にとっては最も重要な取り込み経路の一つと考えられており、鰓の監視細胞表面の特異レセプターによりキャッチされた抗原は、マクロファージにより処理され、血液により前腎に運ばれると報告されている（図5）<sup>5)</sup>。

### 2. ワクチンの投与方法

#### (1) 注射法 (Injection method)

1尾ずつ注射によってワクチンを接種する方法

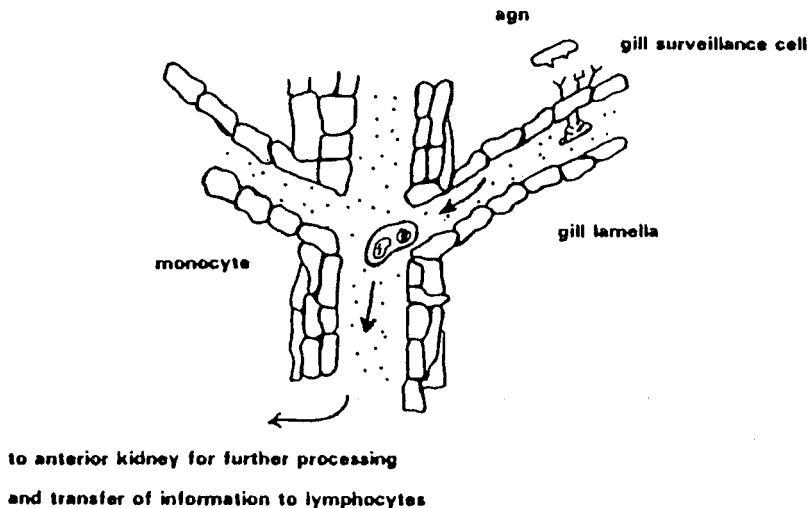


図5 抗原の取り込みの理論 (Anderson ら, 1984<sup>5)</sup>)

は、魚体に確実な免疫能を賦与する方法であるが、一度に大量の魚体を処理することが困難であるために実用化には難点がある<sup>15)</sup>。

(2) 経口投与方法 (Oral administration)

飼料にワクチンを混合したのち投与方法である。ビブリオ病、せっそう病ワクチンの投与方法として用いられている<sup>8)</sup>。

(3) 浸漬法 (Immersion or dipping administration)

Amend (1976) により開発された方法で、あらかじめ高張液に魚体を浸漬したのち、ワクチン

液に浸漬する方法である。その後、高張液で前処理しない方法でもワクチン効果が認められ、現在ではもっぱら後者の方が用いられている<sup>1)</sup>。

短時間内に大量の魚体を処理することができるので、稚魚のワクチン投与方法としては良い方法である。

(4) 噴霧法 (Spray or flush administration)

Gould ら (1977) によって開発された方法で、ワクチン液を圧力を加えて魚体表面に噴霧する方法である<sup>12)</sup>。

(5) 肛門挿入法 (Anal intubation admini-

表 4 浸漬法でビブリオ・ワクチン投与後の免疫発現に及ぼす水温の影響 (Amend ら, 1981<sup>2)</sup> より)

ワクチン投与後の攻撃日数	10°C			18°C			対 照		
	供試尾数	ビブリオによるへい死数	へい死率 (%)	供試尾数	ビブリオによるへい死数	へい死率 (%)	供試尾数	ビブリオによるへい死数	へい死率 (%)
5	30	13	43	30	1	3	60	34	57
10	28	2	7	30	0	0	61	31	51
15	30	0	0	30	0	0	58	30	52
20	30	1	3	30	0	0	60	36	60
120	19	2	11	40	0	0	40	30	75

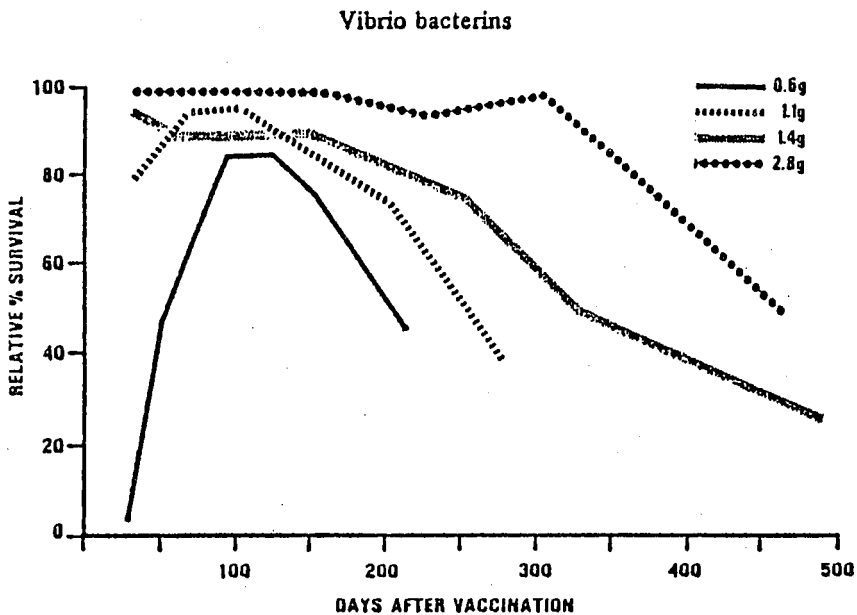


図 6 ギンザケにビブリオ・ワクチンを投与した時の魚体重と免疫の発現と持続期間 (Amend and Jhonson, 1981<sup>2)</sup>)

stration)

Johnson と Amend (1983) により開発された方法である。肛門からワクチンを注入する方法である<sup>18)</sup>。

### 3. ワクチン効果に及ぼす影響

#### (1) 水温の影響

魚体を抗原物質で刺激した場合の免疫能の発現は、環境水温に強く影響されることが知られている。すなわち、一般的に魚類は低水温においては、免疫応答が抑制されることが立証されている。免疫応答は冷水魚で遅く、温水魚では早いことが報告されている。

ベニザケに浸漬法でヒブリオ・バクテリンを投与したのち、10°C と 18°C の二つの異なる水温で飼育し、ワクチン投与後5日目、10日目、15日目、20日目及び120日目にそれぞれ攻撃を行い、防御効果をしらべたところ、両群とも10日前後で防御効果は発現してきたが、18°C より 10°C の方が遅れて防御免疫が発現した。また、4°C ではワクチン投与後40日目までは防御免疫能が出現しなかったと報告している。つまり、変温水棲動物である魚類はワクチン投与時の水温が、ワクチン効果発現に大きく影響するといえよう(表4)<sup>2)</sup>。

#### (2) 魚体のサイズと免疫応答

浸漬法は短時間の処理でワクチン効果を発現することが知られており、特に大量の稚魚に対するワクチン投与方法としては最も便利な方法である。しかしながら、1グラムサイズの稚魚では免疫発現能が良好でない成績が見られる。このことは、伝染性すい臓壊死症や伝染性造血器壊死症など稚魚に流行するウイルス症の予防の目的にワクチンを応用する場合に考慮しなければならぬ問題点といえよう(図6)。

## おわりに

取り扱いの容易な稚魚期にできるだけ長期間にわたって免疫能を賦与することのできるような有効なワクチンを開発し、さらに状況に応じて、簡便でかつ魚体にストレスをあたえることの少ない方法でワクチンを投与することが大切である。

不良な環境条件下では免疫抑制が起こることが

報告されており、また過度の取り扱いなどによるストレスは病気に感染し易くなる原因を作ることとも報告されている。ワクチン効果を十分に発揮させるためには、ワクチン投与後の魚群を適切な飼育環境条件下で維持管理することを忘れてはならない。

## 文献

- 1) Amend, D. F., and Fender, D. C. 1976. *Science*, 192. 793-794.
- 2) Amend, D. F., and Johnson, K. A. 1981. *Develop. Biol. Standard.*, 49. 403-417.
- 3) Anderson, D. P. 1974. In "Fish immunology" S. F. Snieszko and H. R. Axelrod (eds.) T. F. H. Publications, Inc. Ltd., pp. 106.
- 4) Anderson, D. P., Kitao, T., Yoshida, T., and Dixon, O. W., 1987. In "Invertebrate and fish tissue culture" Y. Kuroda, E. Kurstak and K. Maramorosch (eds.), Japan Sci. Soc. Press. Tokyo, pp. 232.
- 5) Anderson, D. P., Van Muiswinkel, W. B., and Roberson, B. S. 1984. In "Chemical regulation of immunity in veterinary medicine" M. Keude, J. H. Gainer and M. Chirigos (eds.) Alan R. Liss., New York, pp. 187.
- 6) Avtalion, R. R., Wojdani, A., Malik, Z., Shahrabani, R., and Duczyminer, M. 1973. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 61. 1-35.
- 7) Baldo, B. A and Fletcher, T. C. 1975. In "Immunologic phylogeny" W. H. Hildeman and A. A. Benedict (eds.), Plenum Press London, pp. 365.
- 8) Duff, D. C. B. 1942. *J. Immunol.* 44. 87-94.
- 9) Emmrich, R., Richter, R. F., and Ambrosius, H. 1975. *Eur. J. Immunol.* 5. 76-78.
- 10) Etilinge, H. M., Hodgins, H. O., and Chiller, J. M. 1976. *J. Immunol.* 116. 1547-1553.
- 11) Gigli, I. and Austen, K. F. 1971. *Ann. Rev. Microbiol.* 25. 309-330.
- 12) Gould, R. W., O'Leary, R. L., Garrison, J. S., Rohovec, J. S., and Fryer, J. L. 1978. *Fish Pathol.*, 13. 62-68.
- 13) Johnson, K. A., and Amend, D. F. 1983. *J. Fish Dis.*, 6. 473-476.

- 14) 片桐千明・藤井 保. 1984, 科学, No. 4. 205.
- 15) Krantz, G. E., Reddecliff and Heist, C. E. 1963, J. Immunol. 91. 757-760.
- 16) Manning, M. J., Grace, M. F., and Secombes C. J. 1982. In "Microbial disease of fish" R. J. Roberts (ed.), Academic Press Inc. Ltd. London pp. 31.
- 17) Miller, N. W., and Clem, L. W. 1984. J. Immunol. 133. 2356-2359.
- 18) Roit, I. M., Brostoff, J., and Male, D. 1985. In "Immunology" Gower Medical Publishing Ltd. pp. 15.5.
- 19) Ruben, L. M., Warr, G. W., Decker, J. M., and Marchalonis, J. J. 1977, Cell. Immunol. 31. 266-283.