

研究成果報告書

研究課題名：網羅的成分解析を起点とした噴火湾ホタテガイ斃死の原因の究明

北海道大学大学院水産科学研究院 教授 酒井隆一

目的と方法

噴火湾の垂下式ホタテ貝養殖において問題となっている原因不明の大量斃死の原因を探るため、環境ストレスや管理ストレスを引き金に、貝類の病原菌として知られるグラム陰性菌*Francisella halioticida* (以下フランシセラ菌) の感染による感染ストレスに起因する生理学的な指標を見出すことを目的とし研究を行った。2021年および2022年の9月と10月に本分散を行い、3月まで生育した貝の9月群と10月群間の代謝物をLC-MSを用いて網羅的解析するとともに、蛍光顕微鏡観察を行った。

結果

変動因子の特定：まず、正常・生育不良グループ間の脂質成分に着目し網羅的解析を行った。病変や斃死する個体が少なかった2022年に本分散を行った稚貝を外観から貝殻の形や色に異常のある8個体と正常3個体に分け筋部位の脂溶性抽出物の網羅的脂質解析を行ったところ、正常個体では3個体とも同様の脂質パターンを示したが、異常群では正常群と大きく代謝が異なったものと、正常個体に近かったものがみられた(図1A)。この結果は外見の異常が代謝の異常と直接関係するものではないことを示唆している。また、フランシセラ菌の存在を、特異的プライマーを用いて検出したところ、ホタテガイ試料においては正常・異常によらずすべての個体で菌が検出された。さらに、市販のホタテガイ成貝についても同様にフランシセラ菌が検出された。この結果からホタテガイには常在的にフランシセラ菌が存在しているが、何らかのストレスにより病変、ひいては斃死につながるものと推察された。次に、脂質パターンが正常貝と類似するグループと異常貝のグループに分けて、その組成を調べたところ、異常グループでは奇数脂肪酸を持つエーテルPCが有意に含まれていることが分かった(図1B)。また、フランシセラ菌に感染した個体における膿瘍部位ではリゾエーテルLPC (LPC-O) が特異的に見出された。しかし感染試料の腫瘍のない部分では、特に奇数脂肪酸エーテルPC (PC-O) 含量が多いことが分かった。正常貝ではこれらの成分が有意に少なかったことから膿瘍を持った個体、すなわち感染個体では脂質代謝に何らかの異常が生じていることが示された。さらに、蛍光顕微鏡を用いた観察でも膿瘍部位に蛍光を示すことが観察されたことから膿瘍部位では特異な物質代謝が進行していることが窺われた(図1C)。膿瘍部位に特徴的であったLPC-Oは脊椎動物の炎症シグナリング等の重要なメディエーターであるPAFと構造が類似しているが、その脱アセチル体であるLPC-Oが

エーテルPC (PC-O) 含量が多いことが分かった。正常貝ではこれらの成分が有意に少なかったことから膿瘍を持った個体、すなわち感染個体では脂質代謝に何らかの異常が生じていることが示された。さらに、蛍光顕微鏡を用いた観察でも膿瘍部位に蛍光を示すことが観察されたことから膿瘍部位では特異な物質代謝が進行していることが窺われた(図1C)。膿瘍部位に特徴的であったLPC-Oは脊椎動物の炎症シグナリング等の重要なメディエーターであるPAFと構造が類似しているが、その脱アセチル体であるLPC-Oが

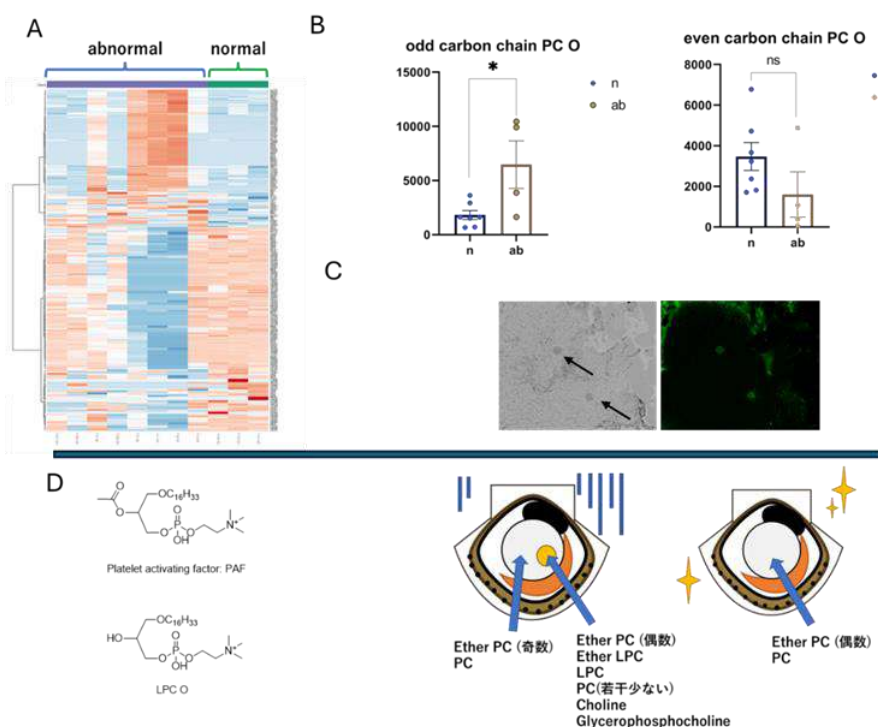


図1

ホタテガイにおいて生体防御に関与している可能性もある（図1D）。

図1 外見で分類した正常および異常個体の脂質プロファイル (A)、正常個体と異常個体のエーテルPCの偶数および奇数脂肪酸の比較 (B)、膿瘍を持つ個体の位相差および蛍光顕微鏡写真(矢印は膿瘍部位) (C), 病変個体に特徴的な脂質成分のまとめ. 特徴的成分であるエーテルLPC とそれに類似する PAF の構造. 病変個体(左図)および正常個体(右図)の脂質プロファイルのまとめ (D) .

総括

本研究ではホタテガイの大量斃死につながるフランシスセラ菌の感染に起因するとみられる代謝の変化を網羅的解析により明らかにした。この結果は感染の診断やホタテガイの生体防御機構の解明へとつながるものである。今後は病変個体に増加するエーテル脂質の機能を調べるとともに、感染により自然免疫関連の遺伝子がどのように変化するかを調べ、フランシスセラ菌に対しホタテガイがどのように生体防御を行っているのかを明らかにする予定である。