

2021 年度日仏海洋学会賞

魚類における環境ストレスの解明と健康な養殖魚の育成への応用*

中野 俊 樹**

Elucidation of environmental stress in fish and its application for farming healthy fish*

Toshiki NAKANO**

1. はじめに

世界的な漁業資源と漁獲量の減少のため養殖に対する需要は年々増加しており、FAOによると現在では全漁業生産量の約半分が養殖によると報告されている。世界の養殖生産量は8,200万トン強であるが、そのうち約6割を魚類が占めている (FAO, 2020)。そして2050年までに養殖水産物が水産物の主要タンパク質源になると推定され、適正なモニタリングと評価による養殖環境と養殖魚の健康と品質の管理は今後ますます重要になると思われる (COSTELLO *et al.*, 2020; STENTIFORD *et al.*, 2020)。気候変動、赤潮、医薬品、過密、化学物質などローカルとグローバルな要因が複合した環境ストレスは、漁獲量や養殖生産性、そして漁獲物の品質に影響を与える。我々は国内外の共同研究者や学生らとともに、養殖対象魚種を用いて

遺伝子、細胞、個体のレベルで環境ストレスに対する反応（応答）と防御の解明に取り組み、その結果を養殖魚の健康に応用する研究を行ってきた。本稿ではその概要について紹介する。

2. ストレスとは

Everybody knows what stress is and nobody knows what it is.

この言葉は、ストレスの概念を初めて生物に適用したハンス・セリエによるものである (SELYE, 1973)。彼は、外的刺激要因に反応する生体内の状態をストレス、そしてそれを引き起こす刺激をストレッサーと定義した。しかし、現在では、生体に様々な反応を起こす外的ならびに内的な刺激、すなわち本来はストレッサーと呼ぶべきものを我々はストレスと捉えており、それに対する生体変化をストレス反応と呼んでいる。図1に示すように、ストレスとはゴムボールを指で押し圧力をかけてへこんだ状態に似ていて、圧力のようにストレスを誘導する外的（または内的）要因がストレッサーである。ストレスを受けると体内では「中枢神経系」、ホルモン分泌の「内分泌系」、生体防御の「免疫系」の三つの系がクロストークしてストレス反応をする。そしてこの反応は、個体、組織、細胞のレベルで起こる (IWAMA *et al.*, 2006; NAKANO, 2020; 中野, 2021)。

* 受賞題目「魚類における環境ストレスの解明と健康育成への応用に関する研究」。2021年6月19日日仏海洋学会学術研究発表会・総会（オンライン）にて講演。

** 東北大学大学院農学研究科水産資源化学研究室
〒980-8572 仙台市青葉区荒巻字青葉468-1
Marine Biochemistry Laboratory, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, 468-1 Aramaki Aza Aoba, Aobaku, Sendai 980-8572, Japan

指による圧力(外的要因)がストレッサー



へこんだゴムボールの状態がストレス状態

図1 ストレスの定義

ストレスはゴムボールを指で押した状態に似ている。左写真は大きな鷲に押さえ付けられる人間を表したトーテムポール。ストレスに押し潰されそうな我々現代人の日常に似ている。(カナダ・ブリティッシュコロンビア大学人類学博物館所蔵)

3. 環境ストレスに対する反応

3.1 ストレス反応—ストレスタンパク質への影響

個体レベルにおける生理学的ストレス反応は、一次反応、二次反応、三次反応に分類される。一次反応は、視床下部—下垂体—副腎皮質系（コルチゾル系, HPA 系）と視床下部—交感神経—副腎髄質系（アドレナリン系, SAM 系）の二つの神経内分泌系を介して、ストレスホルモンであるコルチゾルやカテコールアミン（ドーパミン, ノルアドレナリン, アドレナリンなど）が分泌される。なお、アドレナリンはエピネフリンとも呼ばれる。二次反応は、ストレスホルモンによる生理・生化学的な変化で、代謝が活性化され血中のグルコースレベルが上昇する。従って、血中のグルコース濃度はストレスの指標となる。三次反応は、ストレスによりエネルギーが消費されることで生殖や成長の抑制などの形で一般的に現れる (IWAMA *et al.*, 2006; NAKANO, 2020; 中野, 2021)。

細胞における特徴的なストレス反応は、一群のストレスタンパク質の発現である。代表的なストレスタンパク質はヒートショックタンパク質 (HSP) で、熱により誘導されることから HSP と命名された。しかしその後、熱以外の様々なスト

レスでも発現することが分かり、近年ではストレスタンパク質と呼ばれ、分子量 70kDa の HSP70 の研究が最も進んでいる (IWAMA *et al.*, 2006; NAKANO, 2020; 中野, 2021)。ストレスホルモンの一種コルチゾルを冷水性のニジマスに投与し熱ストレス後の反応を調べたところ、HSP の発現が抑制されることを見出だした。この挙動は熱帯性のティラピアでは異なっており、魚種や棲息環境による反応の違いに興味を持たれる (BASU *et al.*, 2001)。また、養殖現場で汎用される代表的な抗生物質の一つオキシテトラサイクリンの過剰投与による化学的ストレスでも、ギンザケにおける HSP の発現が抑制されることが分かった (ZOUNKOVA *et al.*, 2011; NAKANO *et al.*, 2018)。さらに、養殖ヒラメに甚大な被害を及ぼす *Edwardsiella* 属細菌によるエドワジエラ症では、感染魚の組織で HSP や活性酸素消去系の第一ステップに働く重要な酵素スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) の発現が増大することを明らかにした (IDA *et al.*, 2016; NAKANO *et al.*, 2020)。以上のようにストレス反応とは、生体が様々な機能を動員して恒常性を維持しようとする防御と適応のための反応である。つまり多くの生命現象は、

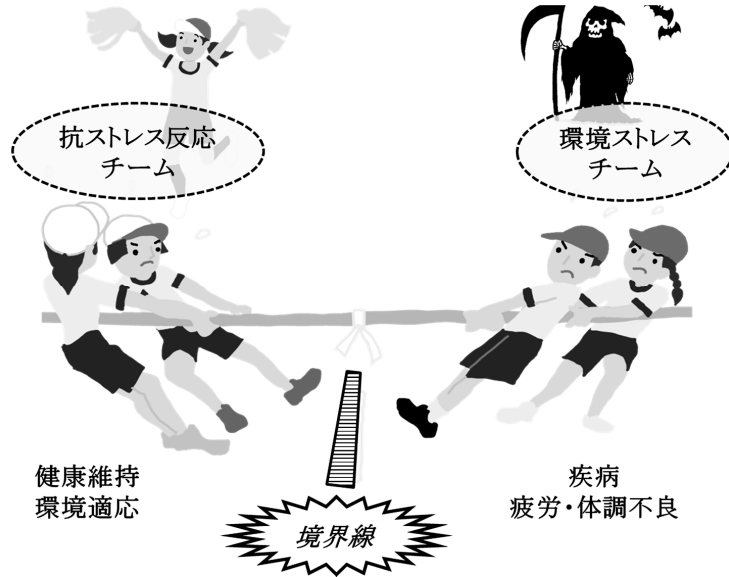


図2 体内におけるストレスのバランス

抗ストレス反応チームと環境ストレスチームの綱引きが拮抗しているが、健康な時は抗ストレス反応の方が勝っている。

図2に示すような抗ストレス反応チームと環境ストレスチームによる綱引きのバランスの上に成り立っており、健康であれば抗ストレス反応の力が勝っていると考えられる。

3.2 成長関連因子への影響

魚類など脊椎動物の成長は成長ホルモン (GH) とインシュリン様成長因子 (IGF-I) による GH/IGF-I 系で制御されている。水槽内の追い回しや空中暴露などのハンドリングによる生理学的ストレスが、組織の IGF-I や GH 受容体など成長関連遺伝子の発現に影響を与えることを認めた (NAKANO *et al.*, 2013)。このことは、比較的マイルドでコントロールされたストレスであれば良いストレス (ユーストレス Eustress) として、魚類の成長関連因子の発現を調節できる可能性を示唆している (OKEBE *et al.*, 2012; ASCHBACHER *et al.*, 2013; KUPRIYANOV and ZHDANOV, 2014; NAKANO, 2016)。

3.3 体内で誘導されるストレスの質の評価

組織中の HSP, SOD, 生体における重要な水溶性抗酸化物質グルタチオン (GSH), 過酸化脂質などの挙動に及ぼすストレスの影響の総合的な解析の結果、前述のような種々のストレスにより生体内の酸化還元バランスが酸化側に傾き酸化が促進されていることが分かった。すなわち、体内で誘導されるストレスの多くが活性酸素の関与する酸化ストレスであると推察される (NAKANO, 2020; NAKANO and WIEGERTJES, 2020; 中野, 2021)。このことは、環境ストレスに対する抗ストレス性物質としては抗酸化物質が有効である可能性を示唆しており、その効能と作用機序に科学的根拠を与えるものである。そして、ストレスの関与が疑われる疾患の治療には限界があるが、その予防は数知れないことを期待させる (図3)。さらにストレスのバイオマーカー (生化学的パラメータ) としては HSP, SOD, GSH, 過酸化脂質などが優れており、それらマーカーを組合せることにより体内で誘導されるストレスの質と量 (程度) が評価できると思われる。

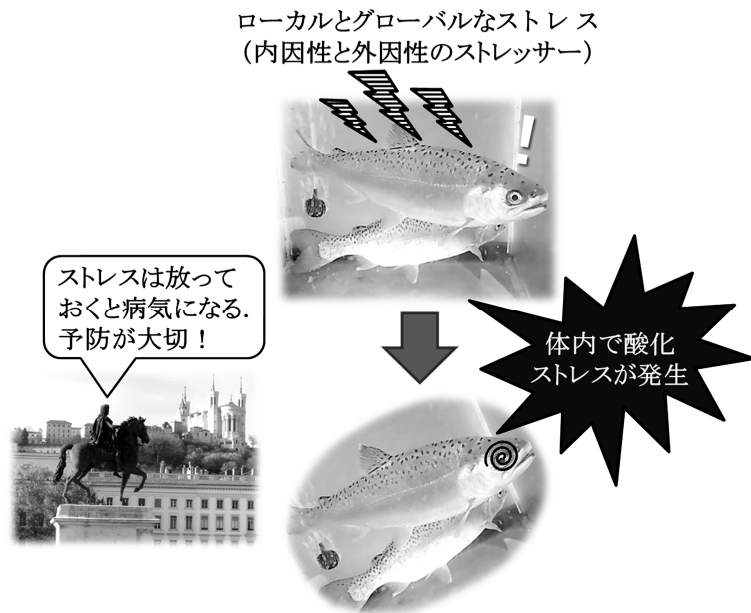


図3 ストレッサーにより体内では酸化ストレスが誘導される

写真の魚は著者が飼育するギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*)。試験魚たちにも感謝したい。左写真は le Roi Soleil (太陽王) と呼ばれたルイ 14 世の騎馬像。(フランス・リヨンの旧市街中心部にあるベルクール広場)

4. 健康な養殖魚の育成への応用 (NAKANO *et al.*, 1995, 1999a, 1999b, 2004, 2012; NAKANO, 2007, 2020; 中野, 2018, 2021; NAKANO and WIEGERTJES, 2020; 佐藤, 2018)

脂溶性色素のカロテノイドや植物性ポリフェノールでブドウ種子に多く含まれるプロシアニジンなどが、魚類におけるストレスによる組織傷害に効果のあることを明らかにした。例えば、サケ科魚類の筋肉に特徴的な色調を与えるアスタキサンチンやそれを豊富に含む赤色酵母 *Xanthophyllomyces dendrorhous* (旧学名: *Phaffia rhodozyma*, ファフィア酵母) が、ストレスによる肝臓の機能不全を改善し、組織における過酸化脂質の蓄積やトコフェロール (ビタミン E) の消費を抑えることを発見した。このことはアスタキサンチンが有する高い抗酸化活性を中心に酵母に含まれる複数の成分が相乗的に働いて酸化ストレスを効果的に抑制したものと推察される。これらの成果の一部は、養魚用飼料に応用され、体色 (肉色) の

改善に加え抗ストレスおよび肝機能向上のためのサプリメントとして商品化されている。

5. おわりに

「海は生命のゆりかご」(フランスの海洋生物学者 M.フォンテーヌの言葉)。この素晴らしい海に関わる秘密を少しでも解き明かしたいと、我々は魚類を対象に環境ストレスに関するユニークな環境生化学的研究を推進してきた。最近では従来の研究に加え、北米で市販が開始され同い歳の野生型に比べ数十倍に成長する GH 遺伝子組換えスーパーサーモンのリスク評価のための生理生化学的特徴に関する分析とメタボローム解析を行っている (DEVLIN *et al.*, 2001, 2009, 2015; NAKANO *et al.*, 2011, 2019)。さらに、採血を伴わず非侵襲的かつリアルタイムにストレスを測定して見える化するグルコースバイオセンサデバイスの考案 (WU *et al.*, 2015, 2019)、ストレスと腸内細菌叢との相関、放射光(シンクロトロンビーム光)X線CTイメー

ジングによる魚類の組織や品質の非破壊分析 (中野 2019) などについて研究を展開している。今後も SDGs の達成に向けた持続可能な海洋の利用を目指し、様々な分野の知識と研究者との交流を通して、科学的根拠に基づいた魚類のストレスマネジメントによる健康な魚類の育成とその品質の向上について総合的にアプローチしていきたい。

謝辞

この度は、思いもかけず栄えある日仏海洋学会賞を頂くことになり身に余る光栄です。大学院修了後に教育研究者として大学に勤める機会を得て以来、多くの共同研究者と学生に恵まれ基礎と応用の狭間で地道に行ってきた研究がこのような形で認められたことは望外の喜びであり、それらの共同研究を代表してこの賞を頂いたものと思っております。改めて、本賞に推薦して頂きました先生、そして会長をはじめ選考委員の方々に感謝申し上げます。

本研究の一部は、文部科学省や日本学術振興会による科学研究費補助金ならびに研究拠点形成事業 (A: 先端拠点形成型) 「食の安全性の飛躍的向上を目指した農免疫国際研究拠点形成」、農林水産省 農林水産技術会議 農林水産分野の先端技術展開事業のうち現地実証研究「多様な漁業種類に対応した操業情報収集・配信システムの構築」、農林水産省 農林水産政策研究所「国産農水産物の国内外の需要動向を踏まえた供給体制に関する研究」、仙台市既存放射光施設活用事例創出事業「放射光トライアルユース事業」などの支援により行いました。

研究を遂行する上で所属研究室の先生や学生、共同研究者など多くの方々にお世話になりお名前を挙げきれませんが、特に、東北大学農学部野村 正先生 (フランス教育功労章パルムアカデミック・オフィシエ受章)、東京水産大学 (現 東京海洋大学) の永山文男先生、世界保健機関 WHO 国際がん研究機関内因性発がんリスク因子研究部門 (IARC, フランス・リヨン) (静岡県立大学名誉教授) の大島寛史先生夫妻、同機関分子病理学部門の大垣宏子先生、フランス・エクスマルセイユ大

学の H.-J. セカルディ先生、モナコ海洋博物館の F. ドゥマンジュ先生夫妻にはフランスとのご縁を作って頂き、それが今日に至っております。また、本学会には、フランスの研究者との交流と研究を発展させる貴重な機会をたくさん与えて貰い、著者を育てて頂きました (中野, 2015)。ここに記して御礼申し上げます。最後に、これまで心の支えとなってくれた家族と両親そして妹に心より感謝して筆を擱きたいと思えます。

引用文献

- ASCHBACHER, K., A. O'DONOVAN, O.M. WOLKOWITZ, F.S. DHABHAR, Y. SU and E. EPEL (2013): Good stress, bad stress and oxidative stress: Insights from anticipatory cortisol reactivity. *Psychoneuroendocrinology*, 38, 1698-1708.
- BASU, N., T. NAKANO, E. G. GRAU and G. K. IWAMA (2001): The effects of cortisol on heat shock protein 70 levels in two fish species. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 124, 97-105.
- COSTELLO, C., L. CAO, S. GELCICH, M.A. CISNEROS-MATA, C. M. FREE, H. E. FROELICH, C. D. GOLDEN, G. ISHIMURA, J. MAIER, I. MACADAM-SOMER, T. MANGIN, M.C. MELNYCHUK, M. MIYAHARA, C.L. DE MOOR, R. NAYLOR, L. NOSTBAKKEN, E. OJEA, E. O'REILLY, A.M. PARMA, A. J. PLANTINGA, S. H. THILSTED and J. LUBCHENCO (2020): The future of food from the sea. *Nature*, 588, 95-100.
- DEVLIN, R.H., C. BIAGI, T.Y. YESAKI, D.E. SMILUS and J. C. BYATT (2001): Growth of domesticated transgenic fish. *Nature*, 409, 781-782.
- DEVLIN, R.H., D. SAKHRANI, W.E. TYMCHUK, M.L. RISE and B. GOH (2009): Domestication and growth hormone transgenesis cause similar changes in gene expression in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 106, 3047-3052.
- DEVLIN, R.H., L.F. SUNDSTROM and A.L. ROSALIND (2015): Assessing ecological and evolutionary consequences of growth-accelerated genetically engineered fishes. *Bioscience*, 65, 685-700.
- FAO (2020): The state of world fishery and aquaculture 2020 (SOFIA 2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations (ed), Rome.

- Italy, doi:10.4060/ca9229en.
- 飯田貴次, 坂井貴光, 高野倫一 (2016): エドワジエラ症, 魚病研究, 51, 87-91.
- IWAMA, G.K., L.O.B. AFONSO and M.M. VIJAYAN (2006): Stress in fishes. *In: The Physiology of Fishes* (3rd Ed.). EVANS, D. H., and J. B. CLAIBORNE (eds), CRC Press, Boca Raton, FL, p. 319-342.
- KUPRIYANOV, R. and R. ZHDANOV (2014): The eustress concept: Problems and outlooks. *World J. Med. Sci.*, 11, 179-185.
- NAKANO, T. (2007): Microorganisms. *In: Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. NAKAGAWA, H., M. SATO, D. M. GATLIN III (eds), Oxfordshire, UK, CAB International (CABI), p. 86-108.
- 中野俊樹 (2015): プーローニュシユルメール, マルセイユ, そしてリヨン-日仏海洋学シンポジウムでフランスへ。 *日水誌*, 81, 501-506.
- NAKANO, T. (2016): Can we use a good stress for cultured fish? Book of Abstracts of Lorentz Center International Work Shop on Innate Immunity of Crops, Livestock and Fish, The University of Leiden, Leiden, The Netherlands.
- 中野俊樹 (2018): カロテノイドの種類と生物活. *養殖ビジネス*, 55, 36-40.
- 中野俊樹 (2019): 水産分野における放射光利用の可能性と期待. 放射光利用の手引き (東北放射光施設推進会議推進室), アグネ技術センター, 東京, p. 42-48.
- NAKANO, T. (2020): Stress in fish and application of carotenoid for aquafeed as an anti-stress supplement. *In: Encyclopedia of Marine Biotechnology*. KIM, S.-K. (ed), Hoboken, USA, John Wiley & Sons Publications, p. 2999-3019.
- 中野俊樹 (2021): 魚類のストレスとサプリメントによる予防. *養殖ビジネス*, 58, 20-24.
- NAKANO, T., L.O. AFONSO, B.R. BECKMAN, G.K. IWAMA and R. H. DEVLIN (2013): Acute physiological stress down-regulates mRNA expressions of growth-related genes in coho salmon. *PLoS ONE*, 8, e71421. doi:71410.71371/journal.pone.0071421.
- NAKANO, T., S. HAYASHI and N. NAGAMINE (2018): Effect of excessive doses of oxytetracycline on stress-related biomarker expression in coho salmon. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 25, 7121-7128.
- NAKANO, T., T. KANMURI, M. SATO and M. TAKEUCHI (1999a): Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. *Biochim. Biophys. Acta*, 1426, 119-125.
- NAKANO, T., M. MASUDA, T. SUZUKI and H. OHSHIMA (2012): Inhibition by polyphenolic phytochemicals and sulfurous compounds of the formation of 8-chloroguanosine mediated by hypochlorous acid, human myeloperoxidase, and activated human neutrophils. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 76, 2208-2213.
- NAKANO, T., Y. MIURA, M. WAZAWA, M. SATO and M. TAKEUCHI (1999b): Red yeast *Phaffia rhodozyma* reduces susceptibility of liver homogenate to lipid peroxidation in rainbow trout. *Fish. Sci.*, 65, 961-962.
- NAKANO, T., K. OSATOMI, N. MIURA, Y. AIKAWA-FUKUDA, K. KANAI, A. YOSHIDA, H. SHIRAKAWA, A. YAMAUCHI, T. YAMAGUCHI and Y. OCHIAI (2020): Effect of bacterial infection on the expression of stress proteins and antioxidative enzymes in Japanese flounder. *In: Evolution of Marine Coastal Ecosystems Under the Pressure of Global Changes*. CECCALDI, H.-J., Y. HÉNOCQUE, T. KOMATSU, P. PROUZET, B. SAUTOUR, J. YOSHIDA (eds), Cham, Switzerland, Springer-Nature Switzerland AG, p. 111-127.
- NAKANO, T., H. SHIRAKAWA, G. YEO, R.H. DEVLIN and T. SOGA (2019): Metabolome profiling of growth hormone transgenic coho salmon by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *In: Oceanography challenges to future earth*. KOMATSU, T., H.-J. CECCALDI, J. YOSHIDA, P. PROUZET, Y. HÉNOCQUE (eds), Cham, Switzerland, Springer-Nature Switzerland AG, p. 223-234.
- NAKANO, T., Y. SHOJI, H. SHIRAKAWA, Y. SUDA, T. YAMAGUCHI, M. SATO and R. H. DEVLIN (2011): Daily expression patterns of growth-related genes in growth hormone transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *La mer*, 49, 111-117.
- NAKANO, T., M. TOSA and M. TAKEUCHI (1995): Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin. *J. Agric.*

Food Chem., 43, 1570-1573.

NAKANO, T., M. WAZAWA, T. YAMAGUCHI, M. SATO and G.K. IWAMA (2004): Positive biological actions of astaxanthin in rainbow trout. *Mar. Biotechnol.*, 6, S100-S105.

NAKANO, T. and G. WIEGERTJES (2020): Properties of carotenoids in fish fitness: A review. *Mar. Drugs*, 18, 10.3390/md18110568.

OKEBE, C., H. SAKHTAH, M. D. SEKEDAT, A. PRICE-WHELAN and L.E.P. DIETRICH (2012): Redox eustress: roles for redox-active metabolites in bacterial signaling and behavior. *Antioxid. Redox Signal.*, 16, 658-667.

佐藤充克 (2018): ブドウとワインに含まれるポリフェノール類の健康効果, *農業および園芸*, 93, 296-308.

SELYE, H. (1973): The evolution of the stress concept. *Am. Sci.*, 61, 692-699.

STENTIFORD, G.D., I.J. BATEMAN, S.J. HINCHLIFFE, D. BASS, R. HARTNELL, E. M. SANTOS, M. J. DEVLIN, S. W. FEIST, N. G. H. TAYLOR, D. W. VERNER -JEFFREYS, R. VAN AERLE, E.J. PEELER, W.A. HIGMAN, L. SMITH, R. BAINES, D. C. BEHRINGER, I. KATSIADAKI, H. E. FROELICH and C. R. TYLER (2020): Sustainable aquaculture through the One Health lens. *Nature Food*, 1, 468-474.

WU, H., A. AOKI, T. ARIMOTO, T. NAKANO, H. OHNUKI, M. MURATA, H. REN and H. ENDO (2015): Fish stress become visible: A new attempt to use biosensor for real-time monitoring fish stress. *Biosens. Bioelectron.*, 67, 503-510.

WU, H., Y. FUJII, T. NAKANO, T. ARIMOTO, M. MURATA, H. MATSUMOTO, Y. YOSHIURA, H. OHNUKI and H. ENDO (2019): Development of a novel enhanced biosensor system for real-time monitoring of fish stress using a self-assembled monolayer. *Biosensors*, 19, 1518.

ZOUNKOVA, R., Z. KLIMESOVA, L. NEPEJHALOVE, K. HILSCEROVA and L. BLAHA (2011): Complex evaluation of ecotoxicity and genotoxicity of antimicrobials oxytetracycline and flumequine used in aquaculture. *Environ. Toxicol. Chem.*, 30, 1184-1189.

受理：2021年9月24日

