

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

ヒラメのシステアミン経路およびシステイン酸経路
によるタウリン合成に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中村, 康平 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2109

学位論文要約

応用生命科学専攻 中村康平

ヒラメのシステアミン経路およびシステイン酸経路によるタウリン合成に関する基礎的研究

タウリンは含硫アミノ酸関連物であり、生体内で重要な働きを示すことが知られている。養魚飼料の主要なタンパク質源である魚粉にはタウリンが豊富に含まれている。近年、魚粉は価格の高騰が進んでいる。また、原料となる多獲性魚類の漁獲量はエルニーニョ現象など環境変動の影響を受けるため輸入が不安定である。そのため、現在はトウモロコシや大豆など植物性原料への代替が進められている。しかし、植物性原料はタウリンを全く含んでいないため、タウリン含量という点では植物原料主体飼料は魚粉主体飼料に大きく劣る。このような、低タウリン飼料を与えられた魚種のうち体内でタウリンを合成する能力が低いヒラメやブリなどの肉食性海産魚ではタウリン欠乏症が発生するようになった。タウリン欠乏症を発症した個体では初期成長の低下、異常遊泳および緑肝症の発症がみられる。そして、症状が深刻な場合は肝臓の機能不全などにより死に至る。生物におけるタウリン合成経路の主なものとして、システインスルフィン酸経路、システアミン経路およびシステイン酸経路の3種が知られている。システインスルフィン酸経路においてシステインジオキシゲナーゼ (CDO) およびシステインスルフィン酸デカルボキラーゼ (CSD) という2つの酵素が主に働いている。システアミン経路ではシステアミンジオキシゲナーゼ (ADO) という酵素が主に働いている。そして、システイン酸経路でシステエートデカルボキラーゼ (CAD) またはシステインスルフィン経路と同じく CSD が働いていると考えられている。ヒラメにおいてシステインスルフィン酸経路に関わる CSD の活性が低いいため、システインスルフィン酸経路はタウリン合成において主要な経路ではないと考えられる。そこで、修士における研究ではシステインスルフィン酸経路以外の経路であるシステアミン経路がヒラメにおいて存在するかを検討した。ヒラメ稚魚にシステアミンを添加した飼料を与えたところ、システアミン無添加飼料を与えた試験魚と比較して体内のタウリン含量の増加がみられた。そのため、ヒラメにおいてシステアミン経路が存在することが示唆された。しかし、ヒラメにおけるシステアミン経路の研究は少なく、その調節機構など詳細は不明である。ヒラメにおいてシステインスルフィン酸経路ではタウリンの投与により CSD 遺伝子の発現量の減少や中間代謝産物であるシスタチオンン含量の魚体における蓄積の減少がみられる。システアミン経路においても同様のフィードバック機構が存在する可能性があるが、これまで研究は行われてこなかった。また、システアミンには成長ホルモン (GH) の作用を介して動物の成長促進効果があることが知られている。修士における研究において、システアミンを添加した飼料を与えたヒラメ稚魚ではシステアミン無添加飼料を与えられた試験魚よりも高い成長成績がみられた。しかし、システアミンによるヒラメの成長促進が GH や GH に関連するホルモンの作用によるものかは不明である。そこで、第1章では、ヒラメ稚魚を実験対象魚にし、システアミン経路に体内のタウリン含量によるフィードバック機構が存在するかを検討した。また、システアミンとタウリンを併用添加した際の成長促進効果を検討した。第2章ではこれまで魚類においてほとんど検討されていなかったシステイン酸経路の存在の有無を検討した。さらに、第3章ではヒラメにおいてシステアミン経路とシステイン酸経路のどちらの経路がタウリンを効率良く生成できるかを検討した。

第1章ではエタノールで脱タウリンした魚粉を主タンパク質源とした基本飼料を作製した。基本飼料を Control とし、基本飼料にシステアミンを 0.25% 添加した C0.25、基本飼料にタウリンを 1.5% 添加した T1.5、基本飼料にシステアミンを 0.25%、タウリンを 1.5% 併用添加した C+T の4種の試験飼料を作成した。試験魚はヒラメ稚魚 (0.8g) を用いた。1試験区につき3水槽を設け、各水槽に30尾収容した。飼育期間は30日間で、1日3回給餌を行った。飼育試験後、成長成績、魚体の含硫アミノ酸含量、タウリン合成酵素遺伝子群、GH およびインスリン様成長因子1 (IGF-1) 遺伝子の発現を調査した。T1.5 と C+T で Control よりも有意に高い成長成績がみられた ($P<0.05$)。C0.25 は Control よりも日間成長率が高い傾向がみられた。全魚体のタウリン含量は T1.5 と C+T で有意に高くなった ($P<0.05$)。また、C+T は T1.5 より有意に高いタウリン含量がみられた ($P<0.05$)。シスタチオンン含量は C0.25、T1.5 および C+T で Control より有意に高くなった ($P<0.05$)。CDO、ADO、GH および IGF-1 遺伝子の

発現に試験区間で有意差は見られなかった ($P>0.05$)。一方、CSD 遺伝子の発現は C+T で T1.5 より有意に低くなった ($P<0.05$)。以上の結果から、システアミンとタウリンのそれぞれの成長促進効果は確認できた。しかしながら、システアミンとタウリンの併用添加にタウリンの単独添加以上の成長促進効果がないことが明らかとなった。C+T において、ADO 遺伝子の発現に変化がなく、CSD 遺伝子の発現が減少したことから魚体のシスタチオン含量が減少するとともに、タウリン含量が増加したことから、C+T ではシステインスルフィン酸経路は抑制されたが、システアミン経路は抑制されないと推測された。よって、ヒラメ稚魚においてシステアミン経路はタウリンによるフィードバック制御を受けないことが示唆された。システアミンは生物に対して毒性を示すことが知られている。そのため、体内でのシステアミンの蓄積を避けるためにタウリンが十分与えられた状況下でも積極的にシステアミンからタウリンへの代謝が行われた可能性がある。

第 1 章によりシステアミン経路によるタウリン合成と本経路にフィードバック機構がないことが示唆されたが、本種のシステイン酸経路は検討できなかった。そこで、第 2 章ではヒラメ稚魚におけるシステイン酸経路の存在の有無を検討した。脱タウリン魚粉を主タンパク質源とした基本飼料を作製した。基本飼料を Control とし、基本飼料にシステイン酸を 0.25% 添加した C0.25、0.5% 添加した C0.5、1.0% 添加した C1.0 の 4 種の試験飼料を作成した。試験魚はヒラメ稚魚 (0.9g) を用いた。1 試験区につき 3 水槽を設け、各水槽に 32 尾収容した。飼育期間は 30 日間で、1 日 3 回給餌を行った。飼育試験後、成長成績、魚体および肝臓の含硫アミノ酸含量、タウリン合成酵素遺伝子群、GH および IGF-1 遺伝子の発現を調査した。C0.25 と C0.5 で Control より有意に高い成長成績がみられた ($P<0.05$)。一方、C1.0 は Control より有意に低い成長成績がみられた ($P<0.05$)。魚体および肝臓のタウリン含量は C0.25、C0.5 および C1.0 で有意に Control より高くなった ($P<0.05$)。また、飼料中のシステイン酸の添加量の増加に伴い、魚体および肝臓中のタウリン含量も増加した。CSD、ADO 遺伝子の発現に試験区間で有意差は見られなかった ($P>0.05$)。CDO 遺伝子の発現は試験区間で有意差は見られなかったが、飼料中へのシステイン酸添加量の増加に伴い、上昇する傾向がみられた。GH 遺伝子の発現に試験区間で有意差は見られなかった ($P>0.05$) が IGF-1 遺伝子の発現は C1.0 で有意に Control より高くなった ($P<0.05$)。システイン酸の添加にともない、魚体中および肝臓中のタウリン含量が増加したことから、ヒラメの体内でシステイン酸がタウリンに代謝されることが明らかとなった。そのため、ヒラメにおいてシステイン酸経路が存在することが明らかとなった。成長成績の結果から、システイン酸はヒラメ稚魚に対し成長促進効果があることが明らかとなった。C1.0 で成長成績が下がったことからシステイン酸の成長に適した濃度は 0.25% 程度であると考えられる。システイン酸の添加に伴い、IGF-1 遺伝子の発現が増加したため、システイン酸は IGF-1 を介して成長を促進している可能性がある。また、システイン酸の成長促進効果はシステイン酸から代謝されたタウリンに由来する可能性が考えられる。

第 1 章および 2 章により、システアミン経路およびシステイン酸経路が存在することが明らかとなった。しかし、システアミン経路およびシステイン酸経路のどちらの経路の方が効率よくタウリンを代謝できるかは不明であった。そこで、第 3 章ではヒラメ稚魚において、システアミンとシステイン酸を同量添加することによりシステアミン経路とシステイン酸経路のどちらが効率よくタウリンを代謝できるかを検討した。脱タウリンした魚粉を主タンパク質源とした基本飼料を Control とし、基本飼料にシステアミンを 0.25% 添加した CyA、基本飼料にシステイン酸を 0.25% 添加した CA、基本飼料にタウリンを 0.25% 添加した Tau の 4 種の試験飼料を作成した。試験魚はヒラメ稚魚 (0.7g) を用いた。1 試験区につき 3 水槽を設け、各水槽に 32 尾収容した。飼育期間は 30 日間で、1 日 3 回給餌を行った。飼育試験 15 日目にタウリン合成酵素遺伝子群、GH および IGF-1 遺伝子の発現を調査した。飼育試験後、成長成績、魚体および肝臓の含硫アミノ酸含量、タウリン合成酵素遺伝子群、GH および IGF-1 遺伝子の発現を調査した。

CyA で Control よりも有意に高い成長成績が得られた。魚体中のタウリン含量は CA および TA で Control より有意に高くなった ($P<0.05$)。そして、魚体中のタウリン含量は Tau で最も高く、CA で次いで高くなった ($P<0.05$)。CDO 遺伝子の発現が CyA で有意に低くなった ($P<0.05$)。IGF-1 遺伝子の発現は試験区間で有意差は見られなかったものの、CA で他の試験区より高い傾向がみられた。以上の結果から、ヒラメにおいてシステイン酸経路がシステアミン経路より効率よくタウリンを合成できることが明らかとなった。マダイにおいても主要なタウリン合成経路のうちシステイン酸経路のタウリン代謝効率が最も高いという報告がある。そのため、タウリン代謝効率が低い肉食性海産魚ではシステイン酸経路が主要なタウリン合成経路となっている可能性がある。CA で IGF-1 遺伝子の発現が高くなったことから、第 2 章でみられたシステイン酸による IGF-1 の発現の促進が示唆された。また、

飼料中のシステアミンが CDO 遺伝子の発現を減少させることが明らかとなった。成長成績の結果から、ヒラメ稚魚に対するシステアミンの成長促進効果が再確認された。CyA では体内のタウリン含量の増加は見られなかったことから、システアミンの成長促進効果はシステアミンから代謝されたタウリンに由来するものではない可能性がある。

本研究によりヒラメ稚魚のシステアミン経路において体内のタウリンによるフィードバック制御を受けないことが示唆された。そして、ヒラメ稚魚においてシステイン酸経路が存在することが明らかとなった。システイン酸はヒラメ稚魚に対し、成長促進作用を示し IGF-1 遺伝子の発現を増加させることが明らかとなった。そして、ヒラメ稚魚では生物における主要な 3 種のタウリン合成経路のうちシステイン酸経路において最も効率よくタウリンを合成できることが明らかとなった。