

臨海実験施設

研究概要・年次報告 第10号

2011.4 ~ 2012.3



九十九湾で採集されたカノコキセワタ
(*Philinopsis giglioli*)

Annual Report of Noto Marine Laboratory

Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University

活 動 報 告

* 研究概要	2
* 研究業績	4
* 研究発表及び研究活動	5
* 研究交流	7
* 研究費	8
* 利用状況	9

【研究概要】

脊椎動物の生理・生化学的研究

マリンバイオ共同推進機構（JAMBIO）の助成を受けて、ヌタウナギのカルシトニン様物質の構造決定を試みている。これまで最古の脊椎動物として知られるヌタウナギ（*Eptatretus burgeri*）において鰓後腺は存在しないと言われているが、その血液中にカルシトニン様分子の存在が報告されている。そこで、ヌタウナギのカルシトニン様分子がどこで産生されているのかを調べた。ヌタウナギの消化管を、サケカルシトニンに対するポリクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に精査した。その結果、消化管全体にカルシトニンの抗体に反応する細胞が見つかり、カルシトニン様分子を産生する細胞が消化管全体に広く分布することが明らかになった。これまで、脊椎動物のキンギョにおいて鰓後腺に加えて、消化管前方部の上皮にカルシトニン産生細胞が混在することが報告されている。また、系統発生的に鰓後腺をもたない原索動物のナメクジウオの消化管の特定の部位においても、カルシトニンの抗体に反応する細胞の存在が知られている。これらのことを考え併せると、消化管が鰓後腺の起源である可能性が高い。今後、ヌタウナギの腸からmRNAを抽出して、高速シーケンスにより、カルシトニンの構造決定を行う予定である。

軟骨魚類のアカエイのカルシトニン受容体のクローニングも笹山雄一教授と鈴木信雄准教授が中心に進めている。この研究は（財）サントリー生物有機科学研究所の佐竹 炎博士、同研究員 関口俊男博士との共同研究により行った。カルシトニン受容体の構造は、リガンドのカルシトニンと同様にして、硬骨魚類と哺乳類のカルシトニン受容体の中間的な配列だった。さらにカルシトニン受容体の発現解析を岡山大学附属牛窓臨海実験施設の坂本竜哉教授との共同研究により行った結果、希釈海水に移行した時の鰓や腎臓におけるカルシトニン受容体の発現が低下した。したがって、アカエイにおいてカルシトニンは浸透圧調節に関与している可能性が高い。これらの成果は、*Gene*誌に発表した。今後は、様々な浸透圧で鰓後腺を培養して、*in vitro*でカルシトニンの発現の変化を解析していく予定である。

様々な物理的刺激に対する骨組織の応答に関する研究：魚類のウロコを用いた解析

魚のウロコを骨のモデルとして、物理的刺激やホルモン等の生理活性物質の骨に対する作用を調べ、その応答の多様性を鈴木准教授が中心となり研究を進めている。

2008年3月に国際宇宙ステーション「きぼう」船内実験室第2期利用に向けた候補テーマとして採択され、2010年5月にスペースシャトル（アトランティス号）でキンギョのウロコが打ちあがり、野口聡一宇宙飛行士により、宇宙実験が実施された。僅か2年の準備期間で宇宙実験が行われたのは、ウロコという非常に優れた材料を用いたおかげである。ウロコは低温（4℃）でも約2週間保管可能であり、低温保管後も重力刺激に保管前と同様に応答する。現在、宇宙実験のサンプルの解析を行っている。宇宙実験の成果は、本年度、骨計測学会、骨代謝学会、歯科基礎医学会等で発表した。さらに2011年7月2日に、JAXAとの共催で金沢市民向けのシンポジウムを実施した。このシンポジウムは、金沢大学の工学系の研究グループと金沢大学の生命科学系の研究グループの講演とJAXAから國中均教授と野口聡一宇宙飛行士の講演があり、金沢市文化ホールの大集会場が満員になった。スーパーサイエンスハイスクールで臨海実験施設を利用した七尾高等学校の生徒17名も参加し、高校生が宇宙に関する研究に興味を持ち質問をした記事が毎日新聞に掲載された。本年（2012年7月）も関東支部の公開講演会でJAXAとの共催でシンポジウムを開催する予定である。

宇宙実験では、新規メラトニン誘導体の作用についても解析している。この研究は、東京医科歯科大学の服部淳彦教授と金沢大学の染井正徳名誉教授との共同研究であり、2004年から継続して研究しているテーマである。既に、国内特許（タイトル：インドール誘導体及びその用途、JP Patent 4014052号）及び米国特許（title: Indole derivative and application thereof, 8,053,462）を取得済である。本年度、JSTのa-stepの助成を受けて、メラトニン誘導体の低Ca食ラットにおける影響を評価した。その結果、正常食に対して低カルシウム食では骨量（BV）、吸収面（ES）、静止面（QS）、骨量幅（Tb.Th）の減少を認めた。また、プロモメラトニン投与により骨量の減少が抑制され、正常食に対して変化はなかった。即ち、破骨細胞面（Oc.S/ES及びOc.S/BS）および破骨細胞数（Oc.N/BS）は低

カルシウム食で増加したが、ブロモメラトニン投与群では正常食群と同等な値であり、破骨細胞による骨吸収を抑制していた。非脱灰標本では、脱灰標本とおなじ傾向を示した。以上のことから、低カルシウム食により骨代謝回転は亢進し、破骨細胞の増加、骨量の減少を認めたが、ブロモメラトニン投与により、破骨細胞数は正常食群と同等な値に抑制され、効果が認められるということが判明した。

超音波の音圧による機械的刺激に対する応答について解析を行った。ヒトの骨折の治療に使用されている超音波治療機器（SAFHS: Sonic Accelerated Fracture Healing System）の骨に対する作用をゼブラフィッシュのウロコを材料として用いて解析した。その結果、破骨細胞の活性が低下し、骨芽細胞の活性が上昇した。さらに本年度は、JAXAの矢野幸子主任研究員、本学保健学類の北村敬一郎准教授、岡山大学池亀美華准教授、富山大学近藤 隆教授、同大学田渕圭章准教授、同大学高崎一朗助教との共同研究により、破骨細胞に対する作用を詳細に解析した。キンギョの筋肉内にキンギョのウロコを自家移植して、ウロコの表面に破骨細胞を誘導し、その破骨細胞に対する影響を解析した。その結果、超音波の刺激により、ウロコの破骨細胞がアポトーシスを起こしていることが判明した（超音波骨折研究会で発表）。超音波は骨の内部には浸透せず、骨の表面に作用する。骨折した骨の表面に超音波が作用するため、骨折にはその治療効果が認められる。ウロコの骨芽細胞と破骨細胞は表面に存在することから、ウロコは超音波に対する骨の影響を解析する非常によいモデルである（骨関連のジャーナルに投稿予定）。

海洋汚染に関する研究

金沢大学医薬保健研究域薬学系の早川和一教授と鈴木准教授との共同研究により、多環芳香族炭化水素類（PAH）の内分泌攪乱作用を調べている。多環芳香族炭化水素（PAH）類は化石燃料の燃焼に伴って生成して大気中に放出される非意図的生成化学物質の一つであり、その中にはベンゾ[a]ピレンのように発癌性/変異原性を有するものが多い。また、PAH類は原油にも含まれており、1997年1月に日本海で発生したロシア船籍タンカーナホトカ号の重油流出事故では、流出した大量の重油による海洋生態系への影響が危惧された。しかし、重油残留海域で採集した魚類に癌が見出された報告はこれまでなく、重油汚染海水で孵化した稚魚に脊柱彎曲が観察されている。したがって、魚類に及ぼす重油の影響は発癌ではなく、骨代謝異常であることを強く示唆しているが、その発症機序は不明のままである。そこで、ウロコを用いてPAH類の骨に対する作用を解析した。ウロコの*in vitro*の培養系で解析した結果、水酸化PAH（P450により代謝されたPAHの代謝産物）の内分泌攪乱作用が、PAH自体よりも強いことが示唆された（Suzuki et al., Life Sci., 2009）。現在、富山大学遺伝子実験施設の田渕圭章准教授と高崎一朗助教との共同研究により、GeneChip解析を行い、詳細な機構を解析中である。これらの成果はThe 52nd Meeting of Korean Society for Atmospheric Environment (2011)、第45回日本水環境学会、日本薬学会北陸支部第123 回例会、フォーラム2011環境トキシコロジー、平成23年度日本動物学会中部支部例会で発表した。

放射線の骨に対する影響評価

本年度は、放射線医学総合研究所の松本謙一郎主任研究員との共同研究により、重粒子線がん治療装置を用いて、重粒子線の骨に対する影響を評価した。これまで、骨に対する重粒子放射線の影響を解析した報告は少なく、骨転移したがんを治療するためには、重粒子放射線の骨に対する影響を解析する必要がある。ウロコのシステムは、重油中に含まれる環境汚染物質も検出した実績（Suzuki et al., Life Sci., 2009）やカドミウムを 10^{-13} Mのカドミウムを検出した実績（Suzuki et al., J. Bone Miner. Metab., 2004）があり、放射能に対する影響をモニターできる可能性が高い。そこで、ウロコに対する重粒子線の影響を評価した。生細胞数をCell Counting Kit-8（同仁化学研究所）を用いて測定した結果、重粒子放射線を照射した実験群と照射していない対照群の生細胞の割合（%）を8Gy, 16Gy, 32Gy, 64Gyの順で示すと、LET15では、93.8, 89.5, 91.8, 85.8%、LET30では、94.5, 90.9, 86.6, 74.7%、LET60では、90.5, 99.7, 85.0, 84.3%の割合で低下していた。今後、富山大学近藤 隆教授、同大学田渕圭章准教授、同大学和田重人講師との共同研究により、X線を用いて詳細な機構を調べていく予定である。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Suzuki, N., Danks, J.A., Maruyama, Y., Sasayama, Y., Hattori, A., Ikegame, M., Nakamura, M., Tabata, M.J., Yamamoto, T., Furuya, R., Saijoh, K., Mishima, H., Srivastav, A.K., Furusawa, Y., Kondo, T., Tabuchi, Y., Takasaki, I., Chowdhury, V.S., Hayakawa, K. and Martin T.J.: Parathyroid hormone 1 (1-34) acts on the scales and involves calcium metabolism in goldfish. *Bone*, 48: 1186-1193 (2011)
- (2) Suzuki, N., Yachiguchi, K., Hayakawa, K., Omori, K., Takada, K., Tabata, J.M., Kitamura, K., Endo, M., Wada, S., Srivastav, A.K., Chowdhury, V.S., Oshima, Y., and Hattori, A.: Effects of inorganic mercury on osteoclasts and osteoblasts of the goldfish scales *in vitro*. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 56: 47-51 (2011)
- (3) 北村敬一郎, 中野 淳, 川部季美, 早川和一, 根本 鉄, 大嶋雄治, 島崎洋平, 服部淳彦, 鈴木信雄: 自動面積測定法によるキンギョのウロコを骨のモデルとしたアッセイ法の改良. *日本海域研究*, 42: 27-34 (2011)
- (4) 鈴木信雄, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 笹山雄一, 染井正徳, 池亀美華, 田畑 純, 中村正久, 近藤 隆, 古澤之裕, 松田恒平, 田淵圭章, 高崎一朗, 和田重人, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 土屋美和, 谷川直樹, 吉馴重徳, 大嶋一成, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 小萱康徳, 前田斉嘉, 内田秀明, 田谷敏貴, 林 明生, 中村貞夫, 杉立久仁代, 芹野 武, 嶋津 徹, 矢野幸子, 奈良雅之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: ウロコ及び頭蓋骨に対する重力応答. *Space Utilization Res.*, 27: 209-212 (2011)
- (5) Ngamniyom, A. and Sasayama, Y.: Expression levels of sex hormone receptors in brains of Japanese medaka, *Oryzias latipes* (Actinopterygii: Beloniformes: Adrianichthyidae). *Acta. Ichthyol. Piscat.*, 41: 29-35 (2011)
- (6) Satone, H., Lee, J.M., Oba, Y., Kusakabe, T., Akahoshi, E., Miki, S., Suzuki, N., Sasayama, Y., Nassef, M., Shimasaki, Y., Kawabata, S., Honjo, T. and Oshima, Y.: Tributyltin-binding protein type 1, a lipocalin, prevents inhibition of osteoblastic activity by tributyltin in fish scales. *Aquatic Toxicol.*, 103: 79-84 (2011)
- (7) Kobayashi, Y., Chiba, H., Mizusawa, K., Suzuki, N., Cerdá-Reverter, J.M. and Takahashi, A.: Pigment-dispersing activities and cortisol-releasing activities of melanocortins and their receptors in xanthophores and head kidneys of the goldfish *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 173: 438-446 (2011)
- (8) Suzuki, N., Sekiguchi, T., Satake, H., Kato, K., Nishiyama, Y., Takahashi, H., Danks, J.A., Martin, T.J., Hattori, A., Nakano, M., Kakikawa, M., Yamada, S., Ogoshi, M., Hyodo, S., Yamaguchi, Y., Chowdhury, V.S., Hayakawa, K., Funahashi, H., Sakamoto, T., and Sasayama, Y.: Cloning of two members of the calcitonin receptor family from stingray, *Dasyatis akajei*: Possible physiological roles of the calcitonin family in osmoregulation. *Gene*, 499: 90-95 (2012)
- (9) Thamamongood, T.A., Furuya, R., Fukuba, S., Nakamura, M., Suzuki, N. and Hattori, A.: Expression of osteoblast-specific genes during spontaneous goldfish scale regeneration and role of cell-to-cell contact in controlling the onset of resorption/regeneration process found in intra-scalepocket autotransplantation of modified scales. *Bone*, 50: 1240-1249 (2012)
- (10) Omori, K., Wada, S., Maruyama, Y., Hattori, A., Kitamura, K., Sato, Y., Nara, M., Funahashi, H., Yachiguchi, K., Hayakawa, K., Endo, M., Kusakari, R., Yano, S., Srivastav, A.K., Kusui, T., Ejiri, S., Chen, W., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Kondo, T., Sasayama, Y., Nishiuchi, T., Nakano, M., Sakamoto, T. and Suzuki, N.: Prostaglandin E2 increases both osteoblastic and osteoclastic activities in the scales of goldfish and participates in the calcium metabolism in goldfish. *Zool. Sci.*, 29: 499-504 (2012)
- (11) Yano, S., Masuda, D., Kasahara, H., Omori, K., Higashibata, A., Asashima, M., Ohnishi, T., Yatagai, F., Kamisaka, S., Furusawa, T., Higasitani, A., Majima, H., Nikawa, T., Wakabayashi, K., Takahashi, H., Suzuki, H., Shimazu, T., Hattori, A., Tanigaki, F., Shirakawa, M., Takaoki, M., Nakamura, T., Yoshimura, Y., Suzuki, N. and Ishioka, N.: Excellent thermal control ability of cell biology experiment facility (CBEF) on ground basis experiments and board experiments in kibo of the international space station. *Biol. Sci. Space*, in press
- (12) 鈴木信雄, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 笹山雄一, 西内 巧, 染井正徳, 池亀美華, 田畑 純, 中村正久, 近藤 隆, 古澤之裕, 松田恒平, 田淵圭章, 高崎一朗, 和田重人, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 土屋美和, 谷川直樹, 吉馴重徳, 大嶋一成, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 小萱康徳, 佐藤和彦, 渡邊竜太, 森部絢嗣, 三島弘幸, 前田斉嘉, 内田秀明, 田谷敏貴, 林 明生, 中村貞夫, 杉立久仁代,

芹野 武, 嶋津 徹, 矢野幸子, 関 あずさ, 舟橋久幸, 奈良雅之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: 新規メラトニン誘導体のウロコ及び骨疾患ラットの骨代謝に対する作用. *Space Utilization Res.*, 印刷中

2) 総説・解説等

- (1) 早川和一, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 鈴木信雄: 多環芳香族炭化水素から見た海洋油汚染, *安全工学*, 50: 85-92 (2011)
- (2) 鈴木信雄, 北村敬一郎, 清水宣明, 染井正徳, 笹山雄一, 大森克徳, 矢野幸子, 重藤祐子, 谷垣文章, 鈴木ひろみ, 嶋津 徹, 池亀美華, 田淵圭章, 高崎一朗, 和田重人, 近藤 隆, 遠藤雅人, 中村正久, 井尻憲一, 田畑 純, 奈良雅之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究, 平成22年度JAROS宇宙環境利用の展望, 第2章: 1-13 (2011)
- (3) 鈴木信雄, 関 あずさ, 染井正徳, 中村正久, 矢野幸子, 大森克徳, 池亀美華, 三島弘幸, 早川和一, 服部淳彦: メラトニンの新規作用: 骨に対する作用とその誘導体を用いた骨疾患治療薬の開発. *比較内分泌学*, 37: 194-203(2011)
- (4) 鈴木信雄, 舟橋久幸, 耿 啓達, 柿川真紀子, 山田外史, 廣田憲之, 北村敬一郎, 清水宣明, 早川和一, 三島弘幸, 岩坂正和, 上野照剛, 大森克徳, 矢野幸子, 池亀美華, 田淵圭章, 和田重人, 近藤 隆, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた評価系の開発と骨代謝研究への応用. *まぐね/Magnetics Jpn*, 印刷中

3) 著書

- (1) Suzuki, N. and Sakamoto, T.: Comparative and general aspects of calcium homeostasis and its hormonal regulations. In "Evolution of calcium homeostasis and its hormonal regulation in vertebrates". Suzuki, N. and Sakamoto, T., eds. *Virtual special issues in Zoological Science*, in press
- (2) 服部淳彦, 田畑 純, 鈴木信雄: 第3章 親子判別. 『身近な動物を使った実験4』, 鈴木範男編, 三共出版, 東京, 印刷中

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表及び講演会

- (1) Kawabe, K., Suzuki, N., Hayakawa, K.: *in vivo* study of the effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on the regenerating scales in goldfish. The 52nd Meeting of Korean Society for Atmospheric Environment (2011) (Seoul, Korea), May 12-14, 2011
- (2) 池亀美華, 服部淳彦, 矢野幸子, 山本敏男, 鈴木信雄: 微小重力に対する破骨細胞の応答: 魚のウロコを用いた形態学的解析. 第31回日本骨形態計測学会, 朝日大学, 岐阜県 (2011, 5/21-22)
- (3) 関あずさ, 鈴木信雄, 池亀美華, 染井正徳, 服部淳彦: 新規プロモメラトニン誘導体の骨折治療モデルラットの骨代謝に及ぼす影響. 第31回日本骨形態計測学会, 朝日大学, 岐阜県 (2011, 5/21-22)
- (4) 鈴木信雄: キンギョのウロコを使って宇宙実験. 金沢大学・JAXA連携シンポジウム, 金沢市文化ホール, 石川県 (2011, 7/2) (招待講演)
- (5) 中野 淳, 川部季美, 鈴木信雄, 北村敬一郎, 笹山雄一, 服部淳彦, 鳥羽 陽, 早川和一: 多環芳香族炭化水素類の内分泌かく乱作用: 魚類のウロコを用いたバイオアッセイによる解析. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)
- (6) 鈴木信雄, 池亀美華, 田畑 純, 北村敬一郎, 矢野幸子, 山本敏男, 服部淳彦: 宇宙におけるウロコの破骨細胞の形態及び細胞活性の変化. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)
- (7) 福島綾香, 古澤之裕, 田淵圭章, 高崎一朗, 近藤 隆, 和田重人, 服部淳彦, 早川和一, 北村敬一郎, 笹山雄一, 鈴木信雄: キンギョの鰓後腺におけるカルシトニンI及びII mRNAの検出. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)
- (8) 谷内口孝治, 鈴木信雄, 服部淳彦, 早川和一: キンギョのウロコにおける無機水銀の作用: *in vitro* のアッセイによる解析. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)
- (9) 松本典子, 川部季美, 中野 淳, 早川和一, 鳥羽 陽, 北村敬一郎, 服部淳彦, 笹山雄一, 鈴木信雄: エストロゲン及び多環芳香族炭化水素類のキンギョの骨代謝に及ぼす影響評価. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)
- (10) 川部季美, Mohamed Nassef, 大嶋雄治, 鈴木信雄, 笹山雄一, 服部淳彦, 鳥羽 陽, 早川和一: メダカの胚発生における多環芳香族炭化水素の影響: ナノインジェクション法による解析. 平成23年度日本動物学会中部支部例会, 福井大学, 福井県 (2011, 7/30-31)

- (11)関あずさ, 鈴木信雄, 染井正徳, 矢野幸子, 服部淳彦: 新規プロモメラトニン誘導体の骨折治癒モデルラットの骨代謝に及ぼす影響. 第 29 回日本骨代謝学会, 大阪国際会議場, 大阪府 (2011, 7/28-30)
- (12)池亀美華, 服部淳彦, 北村敬一郎, 田畑 純, 矢野幸子, 山本敏男, 鈴木信雄: キンギョのウロコに存在する破骨細胞は微小重力下で活性化する. 第 29 回日本骨代謝学会, 大阪国際会議場, 大阪府 (2011, 7/28-30)
- (13)服部淳彦, 池亀美華, 矢野幸子, 鈴木信雄: 骨とメラトニン. 第 3 回抗加齢内分泌研究会学術集会, 鶴見大学会館, 神奈川県 (2011, 9/4) (招待講演)
- (14)矢野幸子, 大森克徳, 佐藤雄亮, 北村敬一郎, 丸山雄介, 中野真樹, 服部淳彦, 池亀美華, 鈴木信雄: 物理的刺激に対するメダカのウロコの骨芽及び破骨細胞の応答. 第 25 回日本宇宙生物科学会, 横浜国立大学教育文化ホール, 神奈川県 (2011, 9/30-10/1)
- (15)佐藤雄亮, 根本 鉄, 鈴木信雄, 矢野幸子, 服部淳彦, 北村敬一郎: 魚類の再生ウロコの骨代謝に及ぼす機械的刺激の影響: *in vivo* および *in vitro* のアッセイによる解析. 第 25 回日本宇宙生物科学会, 横浜国立大学教育文化ホール, 神奈川県 (2011, 9/30-10/1)
- (16)池亀美華, 服部淳彦, 北村敬一郎, 田畑 純, 井関八郎, 矢野幸子, 田淵圭章, 山本敏男, 鈴木信雄: 微小重力に対するウロコの破骨細胞の応答: 国際宇宙ステーションにおける宇宙実験. 日本歯科基礎医学会, 長良川国際会議場, 岐阜県 (2011, 9/30-10/2) (招待講演)
- (17)鈴木信雄: 魚類のウロコにおけるホルモン及び物理的刺激(磁場刺激)の応答. 日本歯科基礎医学会, 長良川国際会議場, 岐阜県 (2011, 9/30-10/2) (招待講演)
- (18)川部季美, Mohamed Nassef, 大嶋雄治, 鈴木信雄, 笹山雄一, 服部淳彦, 中野 淳, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一: 多環芳香族炭化水素類のメダカの胚発生に及ぼす影響. フォーラム 2011 環境トキシコロジー, 金沢大学, 石川県 (2011, 10/28)
- (19)奈良雅之, 服部淳彦, 大西晃宏, 赤塚陽子, 鈴木信雄, 松田准一: 赤外・ラマン分光によるキンギョのウロコの状態分析. 医用分光学会, 島根大学, 島根県 (2011, 11/13) (招待講演)
- (20)関口俊男, 高橋弘樹, 小笠原道生, 鈴木信雄, 笹山雄一, 佐竹炎: 脊索動物における Calcitonin/CGRP family の起源及び多様化機構の解析. 第 36 回比較内分泌学会, 都道府県会館, 東京都 (2011, 11/22-25)
- (21)川部季美, Mohamed Nassef, 大嶋雄治, 鈴木信雄, 笹山雄一, 服部淳彦, 中野淳, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一: 水酸化多環芳香族炭化水素のメダカとウニの胚発生に及ぼす影響. 日本薬学会北陸支部第 123 回例会, 金沢東急ホテル, 石川県 (2011, 11/27)
- (22)佐藤雄亮, 根本 鉄, 鈴木信雄, 矢野幸子, 服部淳彦, 北村敬一郎: キンギョの再生ウロコの *in vivo* および *in vitro* 系による機械的刺激の骨代謝への影響. 平成 23 年度生体医工学会北陸支部大会, 金沢大学サテライトプラザ, 石川県 (2011, 12/10)
- (23)鈴木信雄, 矢野幸子, 古澤之裕, 池亀美華, 田淵圭章, 北村敬一郎, 和田重人, 高崎一朗, 清水宣明, 近藤 隆, 服部淳彦: LIPUS の骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用: 魚の培養ウロコを骨のモデルとした解析. 第 15 回超音波骨折治療研究会, 東京ステーションコンファレンス, 東京都 (2012, 1/21)
- (24)鈴木信雄, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 笹山雄一, 西内 巧, 染井正徳, 池亀美華, 田畑 純, 中村正久, 近藤 隆, 古澤之裕, 松田恒平, 田淵圭章, 高崎一朗, 和田重人, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 土屋美和, 谷川直樹, 吉馴重徳, 大嶋一成, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 小萱康徳, 佐藤和彦, 渡邊竜太, 森部絢嗣, 三島弘幸, 前田斉嘉, 内田秀明, 田谷敏貴, 林 明生, 中村貞夫, 杉立久仁代, 芹野 武, 嶋津 徹, 矢野幸子, 関 あずさ, 舟橋久幸, 奈良雅之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: 新規メラトニン誘導体のウロコ及び骨疾患ラットの骨代謝に対する作用. 第 28 回宇宙利用シンポジウム, 日本学術会議, 東京都 (2012, 1/23-24)
- (25)谷内口孝治, 松本典子, 鈴木信雄, 羽賀雄紀, 鈴木元治, 松村千里, 鶴川正寛, 中野 武, 川部季美, 鳥羽 陽, 早川和一, 服部淳彦: 魚類の骨代謝に対するポリ塩化ビフェニルの作用. 第 45 回日本水環境学会, 東洋大学, 東京都 (2012, 3/14-16)
- (26)鈴木信雄, 松本典子, 川部季美, 中野 淳, 鳥羽 陽, 早川和一, 北村敬一郎, 田淵圭章, 高崎一朗, 古澤之裕, 近藤 隆, 服部淳彦: 魚類の骨代謝に及ぼす多環芳香族炭化水素類の作用. 第 45 回日本水環境学会, 東洋大学, 東京都 (2012, 3/14-16)
- (27)田畑 純, 井関八郎, 池亀美華, 宮下桂子, 丸山雄介, 大森克徳, 遠藤雅人, 服部淳彦, 馬場麻人, 鈴木信雄: キンギョ・ウロコを使った宇宙実験: 微小重力下における破骨細胞の超微細構造解析, 第 117 回日本解剖学会総会, 山梨大学甲府キャンパス, 山梨県 (2012, 3/26-28)
- (28)Maruyama, Y., Suzuki, N., Hattori, A.: Activation of osteoclasts in female goldfish during the reproductive stage. 7th Congress of the Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology. Sunway Resort Hotel, Malaysia, 3-7 March, 2012

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 笹山雄一：タイ・バンコク郊外におけるメダカの雌雄性を指標にした環境汚染の研究，国立スリナカリンウイロット大学（タイ）Dr. Wichian Magtoon
- (2) 笹山雄一：メダカの鰭の形成に及ぼす性ホルモンの研究，愛媛大学社会連携推進機構教授 長濱義孝氏
- (3) 笹山雄一：マシコヒゲムシ栄養体のバクテリオサイト微細構造の研究，島根大学生物資源科学部教授 松野あきら氏
- (4) 笹山雄一：マシコヒゲムシ栄養体の脂肪酸組成の研究，東京学芸大学教授 三田雅敏氏
- (5) 鈴木信雄：魚類の副甲状腺ホルモンに関する研究，メルボルン大学（オーストラリア）Prof. T. John Martin、RMIT 大学（オーストラリア）Dr. Janine A. Danks
- (6) 鈴木信雄：魚類のカルセミックホルモン（カルシトニン、ビタミン D、スタニオカルシン）に関する研究，ゴラクプール大学（インド）Prof. Ajai K. Srivastav
- (7) 鈴木信雄：メラトニンの骨代謝に関する研究，東京医科歯科大学教授 服部淳彦氏，九州大学大学院農学研究院准教授 安東宏徳氏
- (8) 鈴木信雄：重金属の骨芽・破骨細胞に及ぼす影響：ウロコのアッセイ系による解析，国立水俣病研究センター主任研究員 山元 恵氏，東京慈恵会医科大学医学部准教授 高田耕司氏
- (9) 鈴木信雄：ニワトリのカルシトニンレセプターのクローニングとその発現に関する研究，新潟大学農学部准教授 杉山稔恵氏
- (10) 鈴木信雄：ウロコの破骨細胞に関する研究，岡山大学大学院医歯薬学総合研究科教授 山本敏男氏，同准教授 池亀美華氏
- (11) 鈴木信雄：プロラクチンの骨組織に対する作用，岡山大学理学部付属臨海実験所教授 坂本竜哉氏，北里大学水産学部教授 高橋明義氏，同教授 森山俊介氏
- (12) 鈴木信雄：再生ウロコに関する研究，北海道大学大学院水産科学研究院教授 都木靖章氏，東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科准教授 田畑 純氏
- (13) 鈴木信雄：円口類と軟骨魚類のカルシトニンの構造決定，東京大学海洋研究所教授 竹井祥郎氏，同准教授 兵藤 晋氏
- (14) 鈴木信雄：交流磁場の骨代謝に及ぼす影響，九州大学大学院工学研究院特任教授 上野照剛氏，千葉大学 工学部准教授 岩坂正和氏
- (15) 鈴木信雄：魚類の鰹後腺に存在するエストロゲンレセプターに関する研究，早稲田大学教育学部名誉教授 菊山 榮氏，早稲田大学人間総合研究センター研究員 山本和俊氏
- (16) 鈴木信雄：ヒラメの初期発生におけるカルシトニンの作用，東北大学農学研究科教授 鈴木 徹氏，独立行政法人水産総合研究センター 東北区水産研究所 資源生産部 増養殖管理グループ長 黒川忠英氏
- (17) 鈴木信雄：脂肪酸の石灰化に対する作用，富山大学 和漢薬研究所教授 浜崎智仁氏
- (18) 鈴木信雄：超音波の骨代謝に及ぼす影響，富山大学大学院医学薬学研究部教授 近藤 隆氏，同大学准教授 田淵圭章氏，同大学助教 高崎一朗氏，同大学 講師 和田重人氏，JAXA 主任研究員 矢野幸子氏
- (19) 鈴木信雄：ウロコの破骨細胞で発現している遺伝子の解析，早稲田大学教育学部教授 中村正久氏
- (20) 鈴木信雄：重力及び微小重力の骨組織に対する作用，東京大学 アイソトープ総合センター教授 井尻憲一氏
- (21) 鈴木信雄：歯の石灰化に関する研究，高知学園短期大学教授 三島弘幸氏
- (22) 鈴木信雄：静磁場の骨代謝に及ぼす影響，独立行政法人 物質・材料研究機構 強磁場研究センター 主任研究員 廣田憲之氏，同研究センター 特別研究員 木村史子氏
- (23) 鈴木信雄：インドール化合物の抗菌活性及び植物の根の成長促進作用に関する研究，富山大学大学院理工学研究部客員教授 神坂盛一郎氏，同准教授 唐原一郎氏
- (24) 鈴木信雄：魚のウロコを用いた宇宙生物学的研究，宇宙航空研究開発機構主任研究員 大森克徳氏，同主任研究員 矢野幸子氏，富山大学大学院理工学研究部教授 松田恒平氏
- (25) 鈴木信雄：トリブチルスズの海域汚染に関する研究，九州大学大学院農学研究院教授 大嶋雄治氏，同助教 島崎洋平氏
- (26) 鈴木信雄：インドール化合物のラットの骨代謝に及ぼす影響，ハムリー（株）国際事業部部長 関あずさ氏，神奈川歯科大学教授 高垣裕子氏，朝日大学歯学部教授 江尻貞一氏，同准教授 小萱 康徳氏，同講師 佐藤和彦氏，同助教 渡邊竜太，同技術職員 森部絢嗣氏
- (27) 鈴木信雄：魚類の骨代謝におけるビタミンKの作用，神戸薬科大学教授 岡野登志夫氏，同講師 中川公恵氏

- (28) 鈴木信雄：魚のウロコで発現している遺伝子のメカニカルストレスに対する応答，富山大学生命科学先端研究センター 遺伝子実験施設 准教授 田淵圭章氏、同助教 高碕一朗氏
- (29) 鈴木信雄：耳石の石灰化に対するメラトニンの作用，茨城県立医療大学教授 大西 健氏
- (30) 鈴木信雄：海産魚類及び海産無脊椎動物のカルシトニンの構造進化及び作用進化に関する研究，(財)サントリー生物有機科学研究所・第二研究部部長・主幹研究員 佐竹 炎氏，同研究員 川田剛士氏，同研究員 関口俊男氏
- (31) 鈴木信雄：海洋細菌に関する研究，富山大学生物圏地球科学科教授 中村省吾氏，同准教授 田中大祐氏
- (32) 鈴木信雄：放射線の骨に対する影響評価，放射線医学総合研究所主任研究員 松本謙一郎氏，富山大学大学院医学薬学研究部教授 近藤 隆氏，同大学准教授 田淵圭章氏，同大学 講師 和田重人氏

2) 各種活動

社会活動

- (1) 笹山雄一：石川県原子力発電温排水検討委員会委員，2000-現在
- (2) 笹山雄一：のと海洋ふれあいセンター研究報告編集委員会委員，1994-現在
- (3) 笹山雄一：石川県公共事業評価監視委員会委員，2005-現在
- (4) 鈴木信雄：石川県環境影響評価委員会委員，2010-現在

学会活動

- (1) 鈴木信雄：日本動物学会中部支部地区委員，2012-現在

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），基盤研究（C），磁場と骨代謝調節ホルモンとの相乗効果を利用した新規骨疾患治療システムの開発，1,100,000 円。
- (2) 鈴木信雄（分担），基盤研究（B），多環芳香族炭化水素類が環境・生体で新たに獲得する毒性に関する戦略研究（代表：早川和一，金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）
分担金 2011 年 500,000 円（2011 年の直接経費 total 2,900,000 円）
- (3) 鈴木信雄（分担），二国間交流事業，東アジアにおける多環芳香族炭化水素類の挙動と毒性（代表：鳥羽 陽，金沢大学医薬保健研究域薬学系・准教授）（2011 年, 200,000 円）
- (4) 鈴木信雄（分担），厚生労働省科学研究費，化学物質リスク研究事業，ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の構造活性相関に基づく毒性評価システム。
分担金 2011 年 2,700,000 円（代表：早川和一、金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）
（2011 年の直接経費 total 25,135,000 円）

2) 受託研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），独立行政法人 科学技術振興機構 研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム A-step. 骨形成を促す新規骨疾患治療薬の研究開発. 1,700,000 円
- (2) 鈴木信雄（分担），環境省 地球環境推進費 H21 地球環境問題対応型研究課題，日本海域における有機汚染物質の潜在的脅威の把握（代表：早川和一、金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）2011 年 47,224,000 円

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構，宇宙空間における骨代謝制御：キンギョの培養ウロコを骨のモデルとした解析，2,310,000 円
- (2) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構 宇宙環境利用科学委員会研究班ワーキンググループ活動支援，魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究，2,584,000 円

【受賞】

- (1) 佐藤雄亮，根本 鉄，鈴木信雄，矢野幸子，服部淳彦，北村敬一郎：魚類の再生ウロコの骨代謝に及ぼす機械的刺激の影響：*in vivo* および *in vitro* のアッセイによる解析. 第 25 回日本宇宙生物科学会，日本宇宙生物学会優秀賞

【新聞発表】

- (1) 鈴木信雄，平成23年5月27日（北國新聞）：全国臨海・臨湖実験所所長会議始まる。
- (2) 鈴木信雄，平成23年7月3日（北國新聞，毎日新聞，北陸中日新聞），金沢大学-JAXAシンポジウム in 金沢。

【利用状況】

1) 来訪者及び研究目的

- 4/14 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」
- 5/17 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 5/19 金沢大学理工学域 自然システム学類4年
福島 綾香 他1名
「魚の骨代謝に関する実験及び打合せ」
- 5/23 富山県立砺波高校
松原 禎弘 教諭 他1名
「実習の打合せ」
- 5/26～5/28 岡山大学理学部附属臨海実験所
午堂 和一郎 技術専門職員 他1名
「天然記念物アコモドキの産卵環境の調査と採集調査」
- 6/7 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程1年
小林 和貴
「採集のため」
- 6/14 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」
- 6/20 富山大学大学院理工学研究部
田中 大祐 准教授 他1名
「演習のため」
- 6/30 東京慈恵会医科大学大学生化学講座
高田 耕司 准教授
「タンパク質分析に用いるムラサキガイの採取と試料調製」

- 7/13 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 7/22 金沢大学理工研究域
中村 浩二 教授 他6名
「視察のため」
- 8/16 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」
- 8/22 富山大学大学院理工学研究部
田中 大祐 准教授 他1名
「演習のため」
- 8/22～8/23 財団法人日本宇宙フォーラム
鈴木 ひろみ 研究員 他4名
「魚類のウロコを用いた宇宙実験の打合せ」
- 8/23 富山県立大学
楠井 隆史 教授 他1名
「演習のため」
- 8/24～8/26 金沢大学人間社会学域経済学類
柳 在圭 教授 他12名
「ゼミ合宿と現地調査」
- 9/7～9/9 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程2年
アスリ プヅ レスタリ
「修士論文の研究のための野外調査」
- 9/14 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 9/27 金沢大学理工研究域
加藤 道雄 教授 他2名
「試料の観察」

- 9/27～9/30 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程2年
アスリ プヅ レスタリ
「修士論文の研究のための野外調査」
- 10/5～10/7 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程2年
アスリ プヅ レスタリ
「修士論文の研究のための野外調査」
- 10/11～10/14 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程2年
アスリ プヅ レスタリ
「修士論文の研究のための野外調査」
- 10/14 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」
- 10/22 金沢大学環日本海域環境研究センター
中村 浩二 教授 他6名
「視察のため」
- 10/24 富山大学大学院理工学研究部
田中 大祐 准教授 他1名
「演習のため」
- 10/24～10/27 金沢大学自然科学研究科 博士前期課程2年
アスリ プヅ レスタリ
「修士論文の研究のための野外調査」
- 11/7～11/8 金沢大学理工研究域自然システム学系
神谷 隆宏 教授 他5名
「試料の観察」
- 11/15 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 12/14 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」

- 12/19 富山大学大学院理工学研究部
中村 省吾 教授 他1名
「演習のため」
- 12/20 国立富山高等専門学校
水本 巖 教授 他1名
「視察のため」
- 1/14 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 2/15 のと海洋ふれあいセンター
濱野 琢哉 主事
「海洋生物の調査」
- 2/29 富山県立大学
楠井 隆史 教授 他2名
「環境汚染物質に対する海洋生物の影響評価に関する演習」
- 3/15～3/17 甲南高等学校
阪口 正樹 講師 他1名
「ワレカラの採集」
- 3/16 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員
「海洋生物の採集」
- 3/19～3/20 国立富山高等専門学校
水本 巖 教授 他2名
「寄り回り波観測に関する演習」
- 3/19～3/20 石川県立大学
海老原 充 准教授 他4名
「海藻に含まれる生理活性物質の実習」
- 3/19～3/20 東京医科歯科大学
服部 淳彦 教授 他2名
「魚の骨代謝に関する研究打ち合わせ」

2) 臨海実習

- 6/17～6/19 七尾高校
平野 敏 教諭 他44名
スーパーサイエンスハイスクール
「海洋生物の観察」
- 7/6～7/7 富山県立砺波高校
松原 禎弘 教諭 他44名
「臨海実習」
- 8/17～8/18 金沢大学理工研究域
中村 浩二 教授 他21名
「臨海実習」
- 9/1 金沢工業大学バイオ化学部
藤永 薫 教授 他30名
「臨海実習」
- 9/4～9/9 金沢大学環日本海域環境研究センター
笹山 雄一 教授 他12名
「公開臨海実習」
- 9/25～9/26 富山大学理工学研究部
竹内 章 教授 他21名
「野外実習Ⅱ」
- 9/26～9/28 金沢大学理工研究域
田岡 東 助教 他29名
「生物学実習2」

3) 利用者数及び船舶の使用状況

平成23年度臨海実験施設利用者数（延べ人数1,076人の内訳）

(月)	研究者		学生	
	学内	学外	学内	学外
4	0	2	17	0
5	5	7	17	39
6	5	35	26	118
7	8	26	25	135
8	13	14	141	2
9	20	9	111	134
10	2	9	26	1
11	2	2	25	0
12	0	5	15	1
1	0	2	15	0
2	0	2	15	0
3	4	16	15	10
合計	59	129	448	440

平成23年度臨海実験施設船舶使用回数

(月)	あおさぎ	くろさぎ
4	2	4
5	2	2
6	3	6
7	4	5
8	7	6
9	5	4
10	3	4
11	4	5
12	3	5
1	8	9
2	6	6
3	2	4
合計	49	60

研究報告

- * キンギョの骨芽細胞及び破骨細胞に対するポリ塩化ビフェニルの作用
谷内口孝治 他(p16-17)

- * 水生動物における多環芳香族炭化水素類の毒性に関する研究
川部季美, 鈴木信雄, 早川和一 (p18-19)

- * キンギョのウロコにおけるカルシトニンⅡの発現部位の特定
福島綾香, 鈴木信雄, 笹山雄一 (p20)

- * 魚類のウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する多環芳香族炭化水素類の作用
松本典子, 鈴木信雄, 笹山雄一, 早川和一 (p21)

- * 物理的刺激に対するメダカのウロコの骨芽及び破骨細胞の応答
矢野幸子, 北村敬一郎, 服部淳彦, 鈴木信雄 (p22-23)

キンギョの骨芽細胞及び破骨細胞に対するポリ塩化ビフェニルの作用

谷内口孝治¹, 松本典子¹, 羽賀雄紀², 鈴木元治², 松村千里², 鶴川正寛², 奥野俊博², 中野 武²,
川部季美³, 鳥羽 陽³, 早川和一³, 服部淳彦⁴, 鈴木信雄¹

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設, ²〒654-0037 神戸市須磨区行平野3-1-27, 兵庫県環境研究センター, ³〒920-1192 金沢市角間町, 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 環境衛生化学, ⁴〒272-0827 千葉縣市川市国府台, 東京医科歯科大学 教養部 生物学教室

Koji YACHIGUCHI, Noriko MATSUMOTO, Yuki HAGA, Motoharu SUZUKI, Chisato MATSUMURA, Masahiro TSURUKAWA, Toshihiro OKUNO, Takeshi NAKANO, Kimi KAWABE, Akira TORIBA, Kazuichi HAYAKAWA, Atsuhiko HATTORI and Nobuo SUZUKI: Effect of polychlorinated biphenyl on osteoblasts and osteoclasts in goldfish

【はじめに】

ポリ塩化ビフェニル (PCB) は生体に対する毒性が高く、一部のPCBは内分泌かく乱作用を有することが報告されている。しかし骨代謝に対するPCBの作用は*in vivo*の報告が多く、破骨細胞及び骨芽細胞に対する直接的な作用は報告されていない現状である。そこで骨代謝に及ぼす PCB の影響を評価する方法として、魚類のウロコに注目した。

魚類のウロコは、骨基質タンパク上に骨形成を行う骨芽細胞と骨吸収を行う破骨細胞が共存しており、シンプルな骨のモデルである^{1, 2)}。さらにホルモンに対する応答性もよく、カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制する³⁾。さらに副甲状腺ホルモンは、まず骨芽細胞に存在する受容体に結合して、骨芽細胞を活性化して、

Receptor Activator of NF- κ B Ligandと破骨細胞で発現しているReceptor Activator of NF- κ Bの遺伝子発現を上昇させ、単核の破骨細胞から多核の破骨細胞へと分化させ、ウロコの骨吸収を促進する⁴⁾。したがって、ウロコを用いれば、PCB が魚類の骨代謝に与える影響を評価できる可能性が高い。

本研究では、PCBの骨代謝に対する作用を調べるため、*in vivo*及び*in vitro*の実験を行った。

【実験方法】

実験材料として、淡水魚のキンギョ (*Carassius auratus*)を用いて*in vivo*及び*in vitro*の実験を行った。PCB-118 (Figure 1) をDMSOに溶解して10 ppmのPCB-118溶液を作成した。キンギョを麻酔して、イニシャルの採血をした。その後、PCB溶液をキンギョの腹腔内に10 μ l/body weight (g)の割合で投与し、DMSOのみ投与したキンギョと比較した。1及び2日後にキンギョを麻酔して、ウロコを採取した。2

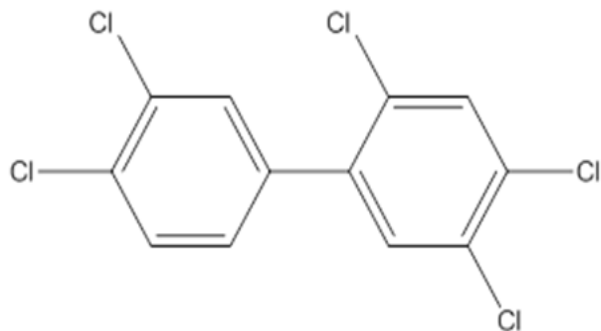


Figure 1 Chemical structure of 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB-118)

日後には、ファイナルの採血をした。2日というタイムコースは、副甲状腺ホルモン⁴⁾やエストロゲン⁵⁾に対する応答を解析した時に変化が最も現れるタイムコースなので、2日後にキンギョを解剖した。採取したウロコの破骨細胞活性 (TRAP活性) 及び骨芽細胞活性 (ALP活性) を Suzuki et al (2009)の方法⁶⁾に従い測定した。採取した血液は、遠心後、和光のキットで血漿中のCa濃度を測定した。

キンギョを麻酔下でウロコを採取して、PCB-118を0.025、0.25及び2.5 ppmのPCB-118を添加した培地 (L-15培地、ギブコ) で6及び18時間培養して *in vitro* の培養実験を行った。培養後、*in vivo* の実験と同様にして、Suzuki et al (2009)の方法⁶⁾に従いTRAP及びALP活性を測定した。

【実験結果及び考察】

in vivo の実験の結果、PCB-118を投与したキンギョの血液中のCa濃度は、DMSOのみ投与したコントロールと比較して有意に上昇することが判明した。さらにウロコのTRAP活性も有意に上昇した。したがって、PCB-118はウロコを含む硬組織に作用して破骨細胞の活性を上げ、骨吸収を引き起こした可能性が高い。

次に *in vitro* の実験において、PCB-118を0.025、0.25及び2.5 ppmのPCB-118を添加した培地で6及び18時間培養した結果、TRAP活性は、全ての濃度で上昇して、6時間培養では0.25ppm、18時間培養では、全ての濃度で有意差が認められた。ALP活性は6及び18時間培養において、最も濃い濃度である2.5 ppmのみで有意に上昇した。

以上のことから、*in vivo* においても *in vitro* においても、PCB-118は破骨細胞の活性を上昇することが判明し、さらに血液中のCa濃度を上昇させた。したがって、PCB-118は魚の骨代謝を攪乱している可能性が高く、今後遺伝子レベルで詳細に解析する予定である。

【引用文献】

- 1) Suzuki, N. et al., Adv. Space Res., 40:1711-1721 (2007)
- 2) Suzuki, N. et al., J. Pineal Res., 45: 229-234 (2008)
- 3) Suzuki, N. et al., Peptides, 21:115-124 (2000)
- 4) Suzuki, N. et al., Bone, 48: 1186-1193 (2011)
- 5) Suzuki, N. and Hattori, A., Life Sci., 73: 2237-2247 (2003)
- 6) Suzuki, N. et al., Biol. Sci. Space, 23: 211-217 (2009)

【謝辞】

本研究の一部は、科学研究費補助金、厚生労働省科学研究費、(財)クリタ水・環境科学振興財団助成金、環境省 地球環境推進費及び宇宙航空研究開発機構の研究助成の援助により行われた。本研究の内容は、フランスのボルドー第一大学で開催されたPCB workshop 2012で谷内口孝治氏が発表した。

水生動物における多環芳香族炭化水素類の毒性に関する研究

川部季美¹, 鈴木信雄², 早川和一¹

¹〒920-1192 金沢市角間町, 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 環境衛生化学; ²〒927-0553

鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Kimi KAWABE¹, Nobuo SUZUKI², Kazuichi HAYAKAWA¹: Study on toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic animals

【背景・目的】

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbon : PAH) 類はタンカー油流出事故等を通じて海洋を広域に汚染する。実際に原油汚染海水で孵化した稚魚に脊柱彎曲が観察されているが、その発症機序は不明である。これまでに早川らは、酵母 two-hybrid 法を用いて、PAH 類はヒトのエストロゲン受容体 (Estrogen receptor : ER) に結合しないが、モノヒドロキシ多環芳香族炭化水素 (Hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbon : OHPAH) 類は結合活性を示すことを明らかにした。骨代謝を調節する因子の一つとしてエストロゲンがあることから、PAH 類が代謝されて生じた OHPAH 類が ER を介して、魚類の骨代謝に影響を与える可能性が考えられる。そこで、本研究では重油汚染海水中に含まれる PAH 類の代謝物が上述の魚の脊柱湾曲を発症させる本体の可能性があると考え、水生動物に対する PAH 類とその代謝産物である OHPAH 類の作用を解析する為に、以下の研究を行った。

【実験1 : PAH類とOHPAH類の魚類の骨代謝に対する作用】

1-1) キンギョのウロコの再生に対するPAH類の影響 (*in vivo*解析)

試験物質として、Benz[*a*]anthracene (BaA) と Benzo[*c*]phenanthrene (BcP) を用いた。まず化合物を投与する前にウロコを抜き、再生前のウロコとした。その後、3日おきに腹腔内にBaA又はBcPをそれぞれ0.1 ng/g投与し、対照群にはエタノールを投与した。その後、12日目の再生ウロコを採取し、骨芽及び破骨細胞の活性を測定し、PAH類の影響を比較した。その結果、再生ウロコの骨芽細胞活性には影響がみられなかったが、12日目の再生ウロコの破骨細胞活性が、BaA及びBcPの両投与群ともに対照群と比較して上昇し、ウロコの再生率が低下していた。このウロコ再生の抑制傾向は、BcP投与群の方が顕著であった。また、BaA投与キンギョの18日目の胆汁を採取し、代謝物を測定した結果、4-Hydroxybenz[*a*]anthracene (4-OHBaA)、さらにBcP投与キンギョの胆汁中から3-Hydroxybenzo[*c*]phenanthrene (3-OHBcP)、4-Hydroxybenzo[*c*]phenanthrene、及び5-Hydroxybenzo[*c*]phenanthreneが検出された。これらの結果から、Cytochrome P450によってPAH類から代謝されたOHPAH類が破骨細胞を活性化して、ウロコの再生をかく乱する可能性が示された。

1-2) キンギョのウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対するOHPAH類の影響 (*in vitro*解析)

次に、*in vitro*のアッセイ系により、2~6環の合計48種類のOHPAH類について、ウロコの骨芽細胞と破骨細胞の活性に及ぼす影響を評価した。その結果、48物質の中でエストロゲン様作用あるいは抗エストロゲン作用を示すものがあることが判明した。その中でも4-OHBaAは当研究室のこれまでの研究結果と同様に、エストロゲン様作用を示した。さらに4-OHBaAの作用を詳細に解析した結果、骨芽細胞のマーカーではI型コラーゲン、破骨細胞のマーカーでは酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ mRNAの発現が有意に上昇し、細胞活性の結果とも一致した。以上より、4-OHBaAはエストロゲン様作用を示すことがわかった。

1-3) ゼブラフィッシュのウロコに対するPAH類のGeneChip解析 (*in vitro*解析)

次に、ウロコに存在する細胞の遺伝子に及ぼすBaA及び4-OHBaAの作用を網羅的に解析する為に、全ゲノム解析が終了しているゼブラフィッシュのウロコを用いて、GeneChip解析を行った。その結果、4-OHBaAで処理することにより、細胞周期に関連する遺伝子が増加することがわかった。しかもその親化合物であるBaA処理の場合は、それとは異なった遺伝子が増加していることも明らかになった。即ち、4-OHBaAは、BaAとは異なった経路で魚のウロコに作用している可能性が示された。

【実験2：PAH類とOHPAH類の水生動物の胚発生に対する作用】

実験1において、4-OHBaAが細胞周期に関連する遺伝子発現に影響を及ぼすことがわかった。そこで、水生動物の発生の初期段階に及ぼす作用に注目し、PAH類及びOHPAH類のメダカ及びウニの胚発生に対する影響を評価した。なお、試験物質は実験1と同じくBaA、BcP及びそれらの代謝産物の4-OHBaAと3-OHBcPとした。

2-1) PAH類とOHPAH類のメダカの受精卵に対する影響 (*in vivo*解析)

PAH類及びOHPAH類のいずれも致死率は高く、孵化率は低下した。特に4-OHBaA投与群の方が影響が大きかった。さらに、PAH類及びOHPAH類両投与群ともに、孵化遅延、眼の発達異常、及び卵黄の委縮などの奇形が見られた。

2-2) PAH類とOHPAH類のウニの受精卵に対する影響 (*in vivo*解析)

ウニの胚発生における骨片形成が観察し易いことに着目し、PAH類及びOHPAH類がウニの胚発生に及ぼす影響を調べた。その結果、PAH類及びOHPAH類両群ともに同程度の骨片形成遅延を引き起こし、骨片形成に影響を及ぼすことがわかった。

【結論】

本研究の結果より、水生動物に対する毒性発症の機構として、水生動物の体内に入った原油や重油中のPAH類が代謝されてOHPAH類となり、次いで、ERに結合してエストロゲン様若しくは抗エストロゲン作用を引き起こす経路と、OHPAH類がERを介さず直接的に魚の骨組織若しくは水生動物の細胞に作用する経路の2つある可能性が示された。

(本研究は、金沢大学大学院 自然科学研究科 薬学系の川部季美氏の修士論文の一環として行われた)

キンギョのウロコにおけるカルシトニンⅡの発現部位の特定

福島綾香, 鈴木信雄, 笹山雄一

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Ayaka FUKUSHIMA, Nobuo SUZUKI, Yuichi SASAYAMA: Detection of calcitonin II-producing cells in the scales of goldfish

カルシトニンとは、血中カルシウム濃度の低下作用を示すペプチドホルモンで、哺乳類では甲状腺から、それ以外の脊椎動物では鰹後腺と呼ばれる内分泌器官から分泌される。また、カルシトニンには、アミノ酸配列の異なる2種類の分子が知られている。それぞれⅠ型、Ⅱ型と称し、第3位、22位、24位、26位の4カ所のアミノ酸の違いがある。これまで、ヒトの骨芽細胞でカルシトニンが産生されていることが報告されており、ウロコにも骨芽細胞が存在していることから、ウロコにおいてもカルシトニンが発現していると考えられた。そこで鈴木は、リアルタイムPCR法によって、まず鰹後腺におけるカルシトニンの発現を調べた。その結果、鰹後腺では主としてⅠ型が発現していることが明らかになった（平成23年度中部支部例会発表）。次に、ウロコにおいてカルシトニンの増幅を試みた結果、ウロコではⅡ型のみが発現していることが分かった（平成23年度中部支部例会発表）。本研究では、これらの結果を背景として、キンギョのウロコにおけるカルシトニンの発現部位の特定を行った。

まず、キンギョの成体のウロコを用いて、ホルマウントによる免疫染色を行った。その結果、成体のウロコでは表皮側及び真皮側に分布する細胞そのものの数が少なく、陽性反応が認められなかった。次に、再生されつつあるウロコは細胞の活性が高いことに注目し、再生8日目のウロコでカルシトニンの検出を試みた。その結果、再生ウロコではウロコ全体が染色され、特に中央部に強い発色が認められた。反応する細胞は大きな核を持ち、その周囲にカルシトニン陽性顆粒が分布していた。ウロコには表皮側と真皮側の両方に骨芽細胞が分布している為、どちら側の細胞がカルシトニン陽性細胞なのかを詳細に調べるために、クリオスタットで厚さ20 μmのウロコの切片を作成し、発現部位を調べた。その結果、表皮側にある細胞も、真皮側にある細胞もカルシトニン陽性反応を示したが、特に真皮側の立方状の細胞が強く反応しており、また、その細胞はウロコの再生が進むにつれて立方状から扁平状へと、形状が変わっていくことが分かった。これは通常の骨の骨芽細胞が活性状態から休止期に入る特徴と類似していた。一方、骨の骨芽細胞はアルカリ性ホスファターゼ（ALP）活性を有し、ALPは骨芽細胞のマーカーであることが分かっている。そこで、次に、切片化したウロコをALP染色したところ、どちらの側の細胞も染色された。

以上の結果を併せて考えると、キンギョのウロコにおいてカルシトニンⅡを産生しているのは、骨芽細胞であると特定できた。カルシトニンⅡは、ウロコに存在する破骨細胞の活性を抑制して、ウロコの再生を促進していると推察される。

（本研究は、金沢大学自然システム学類生物学科 福島綾香氏の卒業論文の一環として行われた）

魚類のウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する多環芳香族炭化水素類の作用

松本典子¹, 鈴木信雄¹, 笹山雄一¹, 早川和一²

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設; ²〒920-1192 金沢市角間町, 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 環境衛生化学

Noriko MATSUMOTO¹, Nobuo SUZUKI¹, Yuichi SASAYAMA¹, Kazuichi HAYAKAWA²: Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on osteoblasts and osteoclasts in fish

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon : PAH) 類は、石炭や石油など化石燃料の燃焼に伴って生成される非意図的生成化学物質である。また、大気中のPAH 類は、降雨により河川や湖にも混入し、魚類に対する影響も危惧されている。それはPAH 類は内分泌かく乱作用をもち、その代謝産物であるOHPAH 類は女性ホルモン様作用があるからである。女性ホルモンは骨形成に重要な役割を持っており、ヒトの場合、骨芽細胞の働きを促進し、破骨細胞の働きを抑制する。一方、魚類のウロコにもヒトの骨と同様に、骨芽細胞と破骨細胞が存在しており、女性ホルモン受容体も発現している。実際に女性ホルモンをキンギョのウロコに曝露させると、ヒトの骨と同様に、骨芽細胞の活性は上昇するが、破骨細胞ではヒトの骨とは異なり活性の抑制は認められないことから、ヒトと魚類では女性ホルモンのCa 代謝への作用は異なると考えられている。また、魚類は脊椎骨ではなくウロコでCa 代謝を行うことがわかっている。したがって、ウロコは魚のCa 代謝のモデルとして用いることができる。そこで本研究では、ヒトの女性ホルモン受容体と結合能をもつOHPAH 類に注目して、魚類のウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用を調べた。

本研究では、以下の実験を行った。まず、キンギョを用いて女性ホルモンに対して、すでに形成されているウロコと形成途中のウロコ(再生ウロコ)の応答性を比較したところ、再生ウロコのほうが女性ホルモンに対する応答性が良かったので、本研究ではこれ以降の実験に再生ウロコを用いることにした。次に、OHPAH 類である4- hydroxybenz[a]anthracene (4-OHBaA) の骨芽細胞及び破骨細胞への作用を調べた。再生ウロコに4-OHBaA を曝露させ、3, 6, 12, 24 時間培養して骨芽細胞及び破骨細胞の活性を測定した。その結果、両活性とも6 時間後に最も上昇し、魚における女性ホルモンと同じ作用をもたらした。次に、それぞれの細胞特有のマーカー遺伝子の発現におよぼす4-OHBaA の作用を調べた。6 時間の培養で、骨芽細胞のマーカーではI 型コラーゲンmRNA、破骨細胞のマーカーでは酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ mRNA の発現が有意に上昇した。さらに、ゼブラフィッシュのウロコでGeneChip を用いた遺伝子の発現の網羅的解析を行った。ウロコを4-OHBaA で処理することにより細胞周期に関連する遺伝子の発現が変化することが分かった。また、4-OHBaA の親化合物であるbenz[a]anthracene (BaA) で処理すると別の遺伝子の発現レベルが変化した。すなわち、4-OHBaA は、BaA とは異なった経路で魚のウロコに発現する遺伝子に作用している可能性が示された。

本実験により、PAH 類が内分泌かく乱作用を起こす経路として、女性ホルモン受容体を経由する場合と、PAH 類及びその代謝物が直接、骨芽細胞及び破骨細胞の遺伝子の発現レベルに作用する経路の2 つがある可能性が示された。

(本研究は、金沢大学自然システム学類生物学科 松本典子氏の卒業論文の一環として行われた)

物理的刺激に対するメダカのウロコの骨芽及び破骨細胞の応答

矢野幸子¹, 北村敬一郎², 服部淳彦³, 鈴木信雄¹

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設; ²〒920-1192 金沢市角間町 金沢大学医薬保健研究域薬学系; ³〒272-0827 千葉県市川市国府台, 東京医科歯科大学 教養部 生物学教室

Sachiko YANO¹, Kei-ichiro KITAMURA², Atsuhiko HATTORI³, Nobuo SUZUKI¹: Response of osteoblasts and osteoclasts to physical stimuli in Medaka

【はじめに】

硬骨魚のウロコは骨芽細胞と破骨細胞を含む石灰化した組織である。したがって、ウロコは骨のモデルとして使用可能であり、これまでの研究では実際にキンギョのウロコは過重力にも感度よく応答した^{1, 2)}。一方、メダカのウロコに関する研究は、これまで少なく、ウロコの重力応答に関する研究は報告されていない。メダカは宇宙実験も実施されており³⁾、宇宙実験を計画する上で非常によい実験材料である。そこで本研究では、メダカのウロコを用いて過重力の応答を解析した。

【実験方法】

実験1：メダカのウロコのアッセイ系の開発

メダカのウロコは小さいので、メダカ個体の片面から採取した全てのウロコを 1.5 ml チューブに入れ、蒸留水を添加して超音波破砕した。その上清中の破骨細胞活性（酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ活性：TRAP 活性）及び骨芽細胞活性（アルカリフォスファターゼ活性：ALP 活性）をタンパク質当たりの比活性で算出することで、メダカのウロコのアッセイシステムを開発した。

実験2：遠心機および加速度負荷装置による過重力への応答解析

実験1で開発した系を用いて、遠心機による静的及び加速度負荷装置（バイブレーション負荷装置）による動的な過重力への応答を解析した。2-、3-、4-G を遠心機またはバイブレーション装置によって10分間負荷後、6または24時間培養し、その後破骨及び骨芽細胞活性を測定した。

実験3：遺伝子発現解析

静的な遠心機の過重力と動的なバイブレーションによる加速度重力の応答の違いを調べるため、最も差が顕著な条件下において、骨芽細胞で発現し、破骨細胞を活性化する Receptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL) の遺伝子発現を解析した。プライマーは、RANKL の配列⁴⁾に基づき (sense: AGGCAAACGGCAAAGAAAT; anti-sense: CCCAGCTTTATGGCTCCAA) 作成した。

一方、Osteoprotegerin (OPG) 様の配列をメダカの Genome to Protein Structure and Function database から見つけ出し、その配列を用いてプライマー (sense: GGATCCGTCCACTGGTAAAA; antisense: GAGCACTCGATTTCCACCTC) を作成した。

過重力処理後、メダカのウロコからキアゲンのキット (total RNA isolation kit for fibrous tissue) を用いて total RNA を抽出し、タカラバイオのキット (PrimeScript™ RT reagent kit) を用いて cDNA を合成して、これらのプライマーを使用してリアルタイム PCR を行った。RANKL 及び OPG 様の遺伝子発現は、 β -actin の発現により補正した⁵⁾。

【実験結果及び考察】

実験 1：メダカのウロコのアッセイ系の開発

実験に使用したメダカの右側すべてのウロコと左側すべてのウロコを超音波破碎してタンパク質当たりの細胞活性を測定すると左右の間に有意差はなく、アッセイ系として有効であることが示された。

実験 2：遠心機および加速度負荷装置による過重力への応答解析

メダカのウロコは、キンギョのウロコと同様にして遠心機の過重力にもバイブレーションの加速度重力にも非常によく応答することが判明した。即ち、骨芽細胞の活性は、2~4-G において遠心とバイブレーションの両方で有意に上昇した。一方、破骨細胞の活性は 2-、3-G では遠心とバイブレーションの両方で有意に減少したが、バイブレーションによる 4-G 負荷では上昇した。これは、骨芽細胞の活性が 4-G において顕著に上昇したことに起因する可能性がある。

実験 3：遺伝子発現解析

遺伝子発現解析の結果、RANKL の発現はバイブレーションによる動的な加重力負荷 (4 G) では上昇したが、遠心機の静的な負荷 (4 G) では変化しなかった。なお、OPG-様の発現は、バイブレーション及び遠心機でも変化せず、RANKL/OPG 様の比は、バイブレーションにより有意に上昇していた。この結果は、実験 2 の結果と一致していた。したがって、本研究で開発したメダカの系は、動的な過重力と静的な加重力を区別して応答していることが判明した。

メダカは全ゲノム配列が解読されている。したがってメダカを用いて様々な生理現象を分子レベルで解析することが可能である。本研究で開発されたウロコの系は、骨代謝の研究に貢献できる可能性が高い。

【引用文献】

- 1) Suzuki, N. et al., Adv. Space Res., 40:1711-1721 (2007)
- 2) Suzuki, N. et al., Biol. Sci. Space, 22: 3-7 (2008)
- 3) Ijiri, K. Biol. Sci. Space, 9: 3-16 (1995)
- 4) To, T.T., Development 139: 141-150 (2012)
- 5) Suzuki, N. et al., Bone, 48: 1186-1193 (2011)

本研究の内容は、矢野幸子氏の学位論文の一環として行われ、平成23年9月30日に横浜国立大学において実施された日本宇宙生物科学会第25回大会で発表した。

【構成員】

1) 職員

教授	笹山雄一 (sasayama@staff.kanazawa-u.ac.jp) 理学博士 専攻 生物多様性学、比較生理学 (有鬚動物門マシコヒゲムシの形態学・生理学・生態学を研究している)
准教授	鈴木信雄 (nobuos@staff.kanazawa-u.ac.jp) 博士(理学) 専攻 環境生物学、比較生理学、骨学 (生理活性物質、環境汚染物質及び物理的刺激の骨に対する作用と海産無脊椎動物・海産魚類の生理活性物質の分子進化を研究している)
技術専門職員	又多政博 (matada@ca2.luckynet.jp) 専門 海産無脊椎動物一般
事務補佐員	曾良美智子(msora@ca2.luckynet.jp)

2) 学生

4年生

福島綾香
松本典子

博士課程1年

矢野幸子
谷内口孝治

3) 連携研究員

染井正徳 (somei.home@topaz.plala.or.jp)
(金沢大学名誉教授)



金沢大学
環日本海域環境研究センター

環日本海域環境研究センター 臨海実験施設
〒927-0553 石川県鳳珠郡能登町小木ム 4-1
TEL (0768) 74 - 1151 FAX (0768) 74 - 1644

Noto Marine Laboratory, Kanazawa University, Ogi, Noto-cho, Ishikawa 927-0553, JAPAN