

ISSN 1348-4656

金沢大学環日本海域環境研究センター

臨海実験施設
研究概要・年次報告 第13号
2014.4 ~ 2015.3



九十九湾で観察されたマシコヒゲムシ
Oligobrachia mashikoi

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	5
* 研究発表及び研究活動	6
* 研究交流	9
* 研究費	10
* 利用状況	12

【研究概要】

無脊椎動物及び脊椎動物の生理・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を確認し、さらにラットを用いたバイオアッセイにより、ラットの血中カルシウム濃度を低下させる活性があることを報告している（Suzuki, 1995）。本年度は、ヌタウナギ・カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）の全長配列を決定した。またヌタウナギのカルシトニン受容体の断片をクローニングし、組織発現分布を検討した結果、脳、心臓、筋肉に発現が認められた。脊椎動物の CGRP 遺伝子は、隣接するエキソンにカルシトニンをコードしており、オルタナティブスプライシングにより、カルシトニン mRNA を発現するので、ヌタウナギCGRP遺伝子中にもカルシトニンをコードするエキソンが存在すると予想される。現在、ヌタウナギCGRP遺伝子構造を解読中である。

またマリンバイオ共同推進機構（JAMBIO）の助成を受け、原索動物ホヤCCK/ガストリンの研究を行っている。哺乳類において、CCK/ガストリンは、それぞれ胆嚢の収縮、胃酸の放出を刺激する消化ホルモンである。脊椎動物の祖先的動物であるホヤにおいて祖先遺伝子Cionin が同定されている。Cionin mRNAの組織発現分布をリアルタイムPCRで解析した結果、中枢神経に強い発現が認められた。この神経の走行を解析するために、Cionin 上流配列の制御下で蛍光タンパクを発現させる実験系の確立を着想したが、上流配列には未解読の領域が多かったので、Tail PCR法を用い1.8Kbp の上流配列を決定し、発現解析を試みている。この成果については、本年度、日本動物学会中部支部大会で発表し、優秀発表賞を受賞した。なお Cionin の研究は、谷口詩穂君の卒業研究の一環で行った。

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が中心となり研究を進めている。

本年度は、山本 樹君の修士論文研究の一環として、再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞の機能に重要な遺伝子、それぞれの細胞の分化を正または負に調節している遺伝子群に着目し、過重力及び疑似微小重力に対する遺伝子変動を詳細に解析した。その結果、再生ウロコは非常に感度よく疑似微小重力に反応して、骨芽細胞の機能や分化に関わる遺伝子の発現が低下し、破骨細胞の活性や分化に関する遺伝子群については発現が上昇した。日本宇宙生物科学会第28回大会で本研究を発表して、優秀発表賞を受賞した。

宇宙実験（微小重力下での応答解析）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、新規メラトニン物質の受容体を探索し、メラトニンの膜受容体と反応するが、その作用はメラトニンよりも弱いことを明らかにし、日本動物学会中部支部会で発表した。なお、メラトニン誘導体に関する研究は、松岡理沙君の卒業論文研究の一環として行った。

さらに、超音波の骨への影響をウロコの系を用い解析した。超音波は骨を活性化する作用があるこ

とが経験的に知られており骨折の治療に用いられているが、その作用機序は不明である。骨のモデルであるウロコに超音波を照射し、骨芽細胞と破骨細胞の活性を測定した結果、照射後3時間で骨芽細胞活性が上昇し、破骨細胞活性が低下した。ゼブラフィッシュのウロコを用いたGeneChip解析とキンギョのウロコを用いた解析の結果、超音波照射により、破骨細胞にアポトーシスが起きることを明らかにした（日本動物学会中部支部会で発表し、優秀発表賞を受賞）。本研究は、半本泰三君の卒業研究の一環である。

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の共同研究により、多環芳香族炭化水素（PAH）類の内分泌攪乱作用を調べている。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。

本年度は、佐藤将之君の卒業論文研究の一環としてウロコを用いて、地中海及び紅海の重油汚染海域の海水に対する魚類の骨代謝への影響を解析した。これらの海水はPAH濃度が高く、さらにウロコの*in vitro*の培養系で解析した結果、骨芽細胞活性を有意に抑制するということが明らかにした（日本動物学会中部支部大会で発表し、優秀発表賞を受賞）。

放射線の骨に対する影響評価

放射線を生物に照射するとラジカルが発生し、ラジカルがDNAにダメージを与え、アポトーシスを誘引する。この放射線の作用を応用して癌治療が行われている。骨に転移した癌に対する放射線治療も行われており、骨に対する副作用が示唆されるが、骨は放射線の感受性が低いことから他の組織と比較して研究が少ない。骨に対する放射線の影響については、臨床や*in vivo*の研究が多く、骨芽および破骨細胞の単独培養の研究はあるが、骨基質を含み破骨細胞と骨芽細胞が共存する状態で*in vitro*で解析した研究はない。さらに本研究では、メラトニンという物質にも着目した。メラトニンは松果体から分泌される分子量232.28のアミンで、ラジカルをスカベンジする作用がある。この作用により、放射線照射によって生じたラジカルを除去して間接的に細胞を放射線からレスキューすることが報告されている。このレスキュー作用についても表皮細胞や神経細胞などでは調べられているが、骨の細胞では報告されていない。上記の背景のもと、富山大学近藤 隆教授、同大学田淵圭章准教授、同大学和田重人講師との共同研究により、X線を用いて、放射線のウロコ（骨のモデル）に対する作用を解析した結果、X線によるウロコの生細胞活性の低下は、メラトニンによりレスキューされることを示している。

今年度は、この分子メカニズムを詳細に解析するために、マイクロアレイ解析を実施した結果、X線照射時にメラトニンを添加した場合に抗酸化体の機能維持を行う遺伝子の発現が、照射後に添加した場合には細胞周期制御に関与する遺伝子、DNA修復関連遺伝子の発現が上昇しており、メラトニンが様々な経路で放射線の影響から細胞をレスキューしていることが示唆された。これらの研究の成果は、上西篤志君の修士論文の一環として日本動物学会中部支部会で発表し、優秀発表賞を受賞した。

七尾湾におけるアマモの生態系機能

沿岸域で生物の産卵・稚仔育成や栄養塩吸収等を担うアマモ場は、七尾西湾での知見は乏しいが、農業等が活発な集水域を擁することから富栄養化が懸念される。今年度より夏季に枯死するアマモの分解及び栄養塩放出速度を検討している。鎌内宏光特任助教、石川県立大学の柳井清治教授他との共同研究、環日本海域環境研究センター重点戦略経費（鎌内、柳井）のサポート。

土地利用の長期変化に対応した陸水および沿岸海洋生態系の応答

「森は海の恋人」など陸域と水域の相互作用の重要性が指摘されているが、科学的な知見は少ない。母材や微気象等に起因する降雨応答／植生の地理的変異、森林成立までに数十年を要するので比較可能なデータが少ない等が理由である。今年度から北海道開拓に伴う河川・沿岸域の反応を数理モデルや地球化学等から複合的に研究している。鎌内宏光特任助教、金沢大学の長尾誠也教授他との共同研究、科研費（萌芽、代表＝鎌内）によるサポート。

通し回遊の進化パターン化における全球モデルの構築

陸水と海洋を往来する通し回遊生物は水生生物の多様性形成機構の一つだが、その進化に関する統合的モデルは少ない。生物生産の時空間変動に着目し全球に適用可能な理論モデルを構築している。鎌内宏光特任助教と神戸大学の佐藤拓哉准教授との共同研究、生態学会にて成果をポスター発表。

海霧による陸上生態系への影響

陸域水域相互作用の研究では陸域からの影響を検討した事例が多い。海由来の移流霧が陸上生態系に対する影響を北海道東部で検証している。今年度は海霧のリモートセンシング検知および現場観測の可能性を検討した。鎌内宏光特任助教、東京農工大学の赤坂宗光講師他との共同研究。

熱帯湖沼の生態系構造と土地利用の長期改変の効果

湖底堆積物は過去の環境変動と湖生態系応答を記録しうる。今年度はインドネシア・カリマンタン島において、底層が無酸素状態で無生物の永久成層湖について集水域と生態系構造を検討した。鎌内宏光特任助教とThe University of Palangka Raya（インドネシア）のSulmin Gumiri教授との共同研究。

沿岸域における海洋深層水放出の生態系影響

能登町には海洋深層水採水施設があり、未利用の深層水が前浜に放出される。富山湾は季節的鉛直混合が起らないので、低温・高栄養な深層水の放出は周辺の生態系に影響すると予想される。今年度は文献調査等の予備的研究を鎌内宏光特任助教と神戸大学の中田聡史特任助教で共同研究した。

森林土壌における落葉分解能の世界的比較

落葉分解は全球の炭素循環の一部を占める重要な経路の一つである。ILTERを通じて、Universiteit Utrecht（オランダ）のJoost Keuskamp助教らが開発したTBI法を用いた全球比較実験が来年度から行われる事になり、調査地の選定やプロトコルの検討等を行った。鎌内宏光特任助教、東京大学の鈴木智之助教他との共同研究。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Suzuki, N., Ogiso, S., Yachiguchi, K., Kawabe, K., Makino, F., Toriba, A., Kiyomoto, M., Sekiguchi, T., Tabuchi, Y., Kondo, T., Kitamura, K., Hong, C.-S., Srivastav, A.K., Oshima, Y., Hattori, A., Hayakawa, K.: Monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons influence spicule formation in the early development of sea urchins (*Hemicentrotus pulcherrimus*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 171: 55-60 (2015)
- (2) Suzuki, N., Somei, M., Seki, A., Sekiguchi, T., Tabuchi, Y., Mishima, H., Kase, Y., Kaminishi, A., Yachiguchi, K., Kitamura, K., Oshima, Y., Hayakawa, K., Yano, S. and Hattori, A.: Novel tryptophan derivatives as potentially effective therapeutic drugs to treat bone diseases. *Am. J. Life Sci.*, 3: 31-38 (2015)
- (3) Prasad, M., Kumar, A., Suzuki, N., Srivastav, A.K.: Botanical Pesticide *Nerium indicum* Alters Prolactin Cells of Stinging Catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Int. J. Zool. Inv.*, 1:77-84 (2015)
- (4) 鈴木信雄, 矢野幸子, 大森克徳, 北村敬一郎, 清水宣明, 西内 巧, 染井正徳, 関口俊男, 渡辺良成, 池亀美華, 近藤 隆, 田淵圭章, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 三島 弘幸, 嶋津 徹, 関 あずさ, 舟橋久幸, 高垣裕子, 笠原春夫, 永瀬 睦, 田谷敏貴, 長野慎太郎, 宮下知之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: キンギョのウロコ及び骨疾患モデルラットの骨代謝に対するプロモメラトニンの新規作用. *Space Utilization Res.*, 29: 87-90 (2015)
- (5) 小木曾正造, 又多政博, 幸塚久典, 広瀬雅人: 石川県における腕足動物スゲガサチョウチンの初記録. *のと海洋ふれあいセンター研究報告*, 20: 1-16 (2105)
- (6) Srivastav, A.K., Rai, R., Mishra, D., Srivastav, S.K. and Suzuki, N.: Histo-cytological responses of the prolactin cells of the catfish *Heteropneustes fossilis* to cadmium exposure. *Acta Toxicol. Argent.*, 22 : 116-121 (2014)
- (7) Kumar, A., Prasad, M.R., Suzuki, N., Srivastav, S.K. and Srivastav, A.K.: Influence of a botanical pesticide, azadirachtin, on ultimobranchial gland of the freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Toxicol. Env. Chem.*, <http://dx.doi.org/10.1080/02772248.2014.895365> (on line)(2014)
- (8) Tabuchi, Y., Yunoki, T., Hoshi, N., Suzuki, N. and Takashi, T.: Genes and gene networks involved in sodium fluoride-elicited apoptosis accompanying endoplasmic reticulum stress in oral epithelial cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 15: 8959-8978 (2014)
- (9) Yachiguchi, K., Sekiguchi, T., Nakano, M., Hattori, A., Yamamoto, M., Kitamura, K., Maeda, M., Tabuchi, Y., Kondo, T., Kamauchi, H., Nakabayashi, H., Srivastav, A.K., Hayakawa, K., Sakamoto, T. and Suzuki, N.: Effect of inorganic mercury and methylmercury on osteoclasts and osteoblasts in the scales of the marine teleost as a model system of bone. *Zool. Sci.*, 31: 330-337 (2014)
- (10) Suzuki, N., Maruyama, Y., Nakano, M., Hattori, A., Honda, M., Shimazaki, Y., Sekiguchi, T., Kamauchi, H., Mishima, H., Wada, S., Srivastav, A.K., Hayakawa, K. and Oshima, Y.: Increased PGE2 has a positive correlation with plasma calcium during goldfish reproduction. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 59: 97-101 (2014)
- (11) Tabuchi, Y., Wada, S., Ikegame, M., Kariya, A., Furusawa, Y., Hoshi, N., Yunoki, T., Suzuki, N., Takasaki, I., Kondo, T. and Suzuki, Y.: Development of oral epithelial cell line ROE2 with differentiation potential from transgenic rats harboring temperature-sensitive simian virus 40 large T-antigen. *Exp. Anim.*, 63: 31-44 (2014)
- (12) Yachiguchi, K., Matsumoto, N., Haga, Y., Suzuki, M., Matsumura, C., Tsurukawa, M., Okuno, T., Nakano, T., Kawabe, K., Kitamura, K., Toriba, A., Hayakawa, K., Chowdhury, V.S., Endo, M., Chiba, A., Sekiguchi, T., Nakano, M., Tabuchi, Y., Kondo, T., Wada, S., Mishima, H., Hattori, A. and Suzuki, N.: Polychlorinated biphenyl (118) activates osteoclasts and induces bone resorption in goldfish. *Env. Sci. Poll. Res.*, 21: 6365-6372 (2014)
- (13) 三島弘幸, 門田理佳, 尾崎真帆, 服部淳彦, 鈴木信雄, 笈 光夫, 松本 敬, 池亀美華, 見明康雄: メラトニン投与による象牙質の組成や組織構造の変化に関する分析的及び組織学的研究. *日本再生歯科医学会誌*, 12: 11-22 (2014)

2) 総説・解説等

- (1) 鈴木信雄, 関 あずさ, 服部淳彦: メラトニンの骨代謝に対する作用と骨疾患の治療への応用. *抗加齢医学会誌*, 10, pp.697-702 (2014)

3) 著書

- (1) Suzuki, N.: Calcitonin family. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (2) Suzuki, N.: Calcitonin. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (3) Suzuki, N.: Staniocalcin. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (4) Suzuki, N.: Parathyroid hormone family. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (5) Suzuki, N.: Parathyroid hormone. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (6) Suzuki, N.: Parathyroid hormone-related protein. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (7) Sekiguchi, T.: Gastrin family. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (8) Sekiguchi, T.: Gastrin. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (9) Sekiguchi, T.: Cholecystokinin. family In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press
- (10) Sekiguchi, T.: Caerulein. In “Handbook of Hormones”. Y. Takei, H. Ando, and K. Tsutsui. Eds. ELSEVIER, Oxford, United Kingdom, in press

【研究発表及び研究活動】

研究発表及び講演会

- (1) Mishima, H., Kadota, R., Hattori, A., Suzuki, N., Kakei, M., Matsumoto, T. and Miake, Y.: Histological and analytical studies in the role of melatonin in the formation and composition of incremental lines in dentin. European Calcified Tissue Society Congress 2014, Prague, Czech Republic (2014, May 17-20)
- (2) Ikegame, M., Hattori, A., Tabuchi, Y., Kitamura, K., Yamamoto, T., Nakano, M., Yano, S., Yamamoto, T. And Suzuki, N.: Response of osteoclasts and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand expression in the regenerating scales of goldfish under microgravity. 2nd International Symposium on Mechanobiology, Okayama, Japan (2014, May 20-23) (招待講演)
- (3) 鈴木信雄, 北村敬一郎, 古澤之裕, 田渕圭章, 近藤 隆, 池亀美華, 清水宣明, 和田重人, 服部淳彦: 超音波による機械的刺激の骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用: 魚のウロコを用いた解析. シンポジウム: 分子基盤に立った超音波の治療応用, 日本超音波医学会第87回学術集会, 横浜国際会議場, 神奈川県 (2014, 5/9-11) (招待講演)
- (4) 田渕圭章, 菅原有希, 池亀美華, 鈴木信雄, 北村敬一郎, 近藤 隆: 低出力パルス超音波に応答する遺伝子の同定. シンポジウム: 分子基盤に立った超音波の治療応用, 日本超音波医学会第87回学術集会, 横浜国際会議場, 神奈川県 (2014, 5/9-11) (招待講演)
- (5) 関口俊男: 脊椎動物カルシトニンの起源と多様化の研究. 全国国立大学臨海臨湖実験所所長会議シンポジウム「海産動物の生体制御学的研究とその拡がり」, 岡山大学, 岡山県 (2014, 6/5) (招待講演)
- (6) 鈴木信雄, 関口俊男, 山本 樹, 上西篤志, 関あずさ, 高垣裕子, 池亀美華, 田渕圭章, 近藤 隆, 北村敬一郎, 矢野幸子, 染井正徳, 服部淳彦: 魚類及び哺乳類における新規メラトニン誘導体の骨代謝に対する作用. 日本動物学会第85回仙台大会, 東北大学, 宮城県 (2014, 9/11-13)

- (7) 関口俊男：カタユウレイボヤを用いた内分泌系進化の研究．日本動物学会第85回仙台大会 関連集会ホヤの談話会，東北大学，宮城県（2014, 9/11-13）（招待講演）
- (8) 吉武修平，堤 裕紀，森 崇人，鶴田幸成，島崎洋平，大嶋雄治，鈴木信雄，早川和一：メダカ胚インジェクション法を用いたBenzo[c]phenanthrene水酸化体の毒性評価と遺伝子の発現変動．第20回日本環境毒性学会研究発表会，富山国際会議場，富山県（2014, 9/10-11）
- (9) 谷内口孝治，関口俊男，中野真樹，服部淳彦，山元 恵，田淵圭章，近藤 隆，北村敬一郎，早川和一，鈴木信雄：メジナのウロコを用いた評価系の開発と水銀の破骨・骨芽細胞に対する作用．平成26年度日本水産学会秋季大会，九州大学，福岡県（2014, 9/19-22）
- (10) 上西篤志，丸山雄介，中野真樹，松本謙一郎，大森克徳，田淵圭章，和田重人，近藤 隆，遠藤雅人，北村敬一郎，早川和一，関口俊男，服部淳彦，鈴木信雄：骨モデル（魚のウロコ）に対する重粒子線及びX線の影響．日本宇宙生物科学会第28回大会．大阪府立大学，大阪府（2014, 9/22-23）
- (11) 山本 樹，池亀美華，田淵圭章，矢野幸子，遠藤雅人，近藤 隆，北村敬一郎，関口俊男，服部淳彦，鈴木信雄：過重力及び擬似微小重力に対する破骨細胞及び骨芽細胞の応答解析：骨モデル（ウロコ）を用いた解析．日本宇宙生物科学会第28回大会，大阪府立大学，大阪府（2014, 9/22-23）（優秀発表賞）
- (12) 鈴木信雄，関あずさ，高垣裕子，田淵圭章，矢野幸子，北村敬一郎，関口俊男，池亀美華，近藤 隆，染井正徳，服部淳彦：宇宙実験を基盤にした骨疾患治療薬の開発．日本宇宙生物科学会第28回大会，大阪府立大学，大阪府（2014, 9/22-23）
- (13) 舟橋久幸，鬼木弘明，赤塚涼佑，耿啓達，鈴木信雄，服部淳彦：走査型及び透過型電子顕微鏡によるキンギョウロコの収納ポケットの形態観察．第46回日本臨床分子形態学会，日本大学，東京都（2014, 10/17-18）
- (14) 田淵圭章，住吉洗城，工藤信樹，鈴木信雄，近藤 隆：低出力パルス超音波に対する細胞の遺伝子応答．第13回超音波治療研究会，仙台情報・産業プラザ，宮城県（2014, 11/15）
- (15) 佐藤雅之，表 俊樹，早川和一，Nassar H，関口俊男，田淵圭章，服部淳彦，鈴木信雄．重油汚染海水の魚の骨芽細胞及び破骨細胞に対する影響評価．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）（優秀発表賞）
- (16) 松岡里沙，関 あずさ，高垣裕子，関口俊男，矢野幸子，染井正徳，服部淳彦，鈴木信雄：新規メラトニン誘導体の卵巣摘出老齢ラットの骨強度に対する作用．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）
- (17) 谷口詩穂，小笠原道生，佐竹 炎，鈴木信雄，関口俊男：カタユウレイボヤにおけるcioninおよび受容体の発現解析．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）（優秀発表賞）
- (18) 山本 樹，池亀美華，田淵圭章，矢野幸子，遠藤雅人，近藤 隆，北村敬一郎，関口俊男，服部淳彦，鈴木信雄：破骨細胞及び骨芽細胞の重力応答：骨モデル（ウロコ）を用いた解析．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）
- (19) 上西篤志，丸山雄介，中野真樹，松本謙一郎，大森克徳，田淵圭章，和田重人，近藤 隆，遠藤雅人，北村敬一郎，早川和一，関口俊男，服部淳彦，鈴木信雄：骨モデル（魚のウロコ）に対する放射線の影響解析．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）（優秀発表賞）
- (20) 谷内口孝治，関口俊男，中野真樹，服部淳彦，山元 恵，田淵圭章，近藤 隆，北村敬一郎，早川和一，鈴木信雄：無機水銀及びメチル水銀の骨芽・破骨細胞に対する作用：メジナのウロコを用いた解析．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）
- (21) 半本泰三，古澤之裕，矢野幸子，田淵圭章，近藤 隆，池亀美華，北村敬一郎，関口俊男，和田重人，高垣裕子，服部淳彦，鈴木信雄：骨モデル（魚のウロコ）を用いた超音波の骨芽細胞及び破骨細胞に対する応答．平成26年度日本動物学会中部支部大会，のと勤労者プラザ，石川県（2014, 11/24）（優秀発表賞）

- (22)加瀬陽一, 鈴木信雄: メダカのプロックマン小体に存在するカルシトニン様物質. 平成26年度日本動物学会中部支部大会, のと勤労者プラザ, 石川県 (2014, 11/24)
- (23)桶作若菜, 安藤 忠, 南 敬生, 鈴木信雄, 服部淳彦, 北村敬一郎: アロキサン誘発糖尿病状態キンギョにおける糖化ウロコラーゲンの架橋解析: *in vivo*および*in vitro*解析. 平成26年度日本動物学会中部支部大会, のと勤労者プラザ, 石川県 (2014, 11/24)
- (24)小木曾 正造, 又多 政博, 関口 俊男, 鎌内 宏光, 鈴木信雄: 能登半島九十九湾におけるマシコヒゲムシ個体群の生息域と生息密度. 平成26年度日本動物学会中部支部大会, のと勤労者プラザ, 石川県 (2014, 11/24)
- (25)関口俊男: カルシウム調節ホルモンの分子進化. シンポジウム「海産無脊椎動物研究の最前線」, 平成26年度日本動物学会中部支部大会, のと勤労者プラザ, 石川県 (2014, 11/24) (招待講演)
- (26)鈴木信雄: 骨モデル (魚のウロコ) を用いて宇宙実験: 骨を壊す細胞の変化. 公開講演会「宇宙ではなぜ骨が弱くなるのか?」, 平成26年度日本動物学会中部支部大会, コンセール能登, 石川県 (2014, 11/25) (招待講演)
- (27)関口俊男: 臨海実験施設で行う円口類の研究. 第5回ペプチド・ホルモン研究会, 旭川医科大学, 北海道 (2014, 12/13) (招待講演)
- (28)三島弘幸, 尾碓真帆, 服部淳彦, 鈴木信雄, 笈 光男, 松本敬, 池亀美華, 見明康雄: 生体リズム同調因子メラトニンが象牙質の組織構造や成長線周期に及ぼす影響. 第9回バイオミネラルイノベーションワークショップ, 東京大学柏キャンパス, 千葉県 (2014, 12/12-13)
- (29)鈴木信雄, 矢野幸子, 大森克徳, 北村敬一郎, 清水宣明, 西内 巧, 染井正徳, 関口俊男, 渡辺良成, 池亀美華, 近藤 隆, 田淵圭章, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 三島弘幸, 嶋津 徹, 関 あずさ, 舟橋久幸, 高垣裕子, 笠原春夫, 永瀬 睦, 田谷敏貴, 長野慎太郎, 宮下知之, 服部淳彦: 宇宙実験を基盤にした骨疾患治療薬の開発. 第15回宇宙科学シンポジウム, 宇宙航空研究開発機構 宇宙科学研究所 相模原キャンパス, 神奈川県 (2015, 1/6-7)
- (30)鈴木信雄, 矢野幸子, 大森克徳, 北村敬一郎, 清水宣明, 西内 巧, 染井正徳, 関口俊男, 渡辺良成, 池亀美華, 近藤 隆, 田淵圭章, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 江尻貞一, 三島弘幸, 嶋津 徹, 関 あずさ, 舟橋久幸, 高垣裕子, 笠原春夫, 永瀬 睦, 田谷敏貴, 長野慎太郎, 宮下知之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: キンギョのウロコ及び骨疾患モデルラットの骨代謝に対するプロモメラトニンの新規作用. 第29回宇宙環境利用シンポジウム, 宇宙航空研究開発機構 宇宙科学研究所 相模原キャンパス, 神奈川県 (2015, 1/24-25)
- (31)鈴木信雄, 中田晴夫, 小木曾正造, 谷内口孝治, 中口憲治, 三井松夫: 石川県能登町における海洋教育-金沢大学と能登町教育委員会の連携と小木小学校における取り組み-. 東京大学, 東京都 (2015, 1/31-2/1) (招待講演)
- (32)鈴木信雄: 能登町の初等教育における金沢大学の海洋教育の取り組み, のと海洋ふれあいセンター, 石川県 (2015, 3/7) (基調講演)
- (33)Kamauchi, H., Sato, T.: A conceptual model of global pattern in migration of diadromous animal across terrestrial-stream-coastal productivity gradients. 日本生態学会第 62 回全国大会, 鹿児島 (2015, 3/18-22)
- (34)池亀美華, 田畑 純, 服部淳彦, 鈴木信雄: 宇宙空間における微小重力への金魚再生ウロコ破骨細胞の応答. 宇宙航空環境医学・生物学の最前線, 第120回 日本解剖学会総会・全国学術集会, 神戸国際会議場, 兵庫県 (2015, 3/21-23) (招待講演)
- (35)Mishima, H., Osaki, M., Hattori, A., Suzuki, N., Kakei, M., Matumoto, T., Miake, Y. and Ikegame, M.: Histological and analytical studies in the role of melatonin in the structure and composition of teeth dentin. The Joint Meeting of the 120th Annual Meeting of the Japanese Association of Anatomists and the 92nd Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, Kobe Convention Center, Japan (2015, March 21-23).

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 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）Prof. Janine A. Danks
- (2) 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
- (3) 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，新潟大学理学部附属臨海実験所教授 安東宏徳氏
- (4) 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教授 高田耕司氏
- (5) 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
- (6) 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
- (7) 鈴木信雄：プロラクチンの骨組織に対する作用，岡山大学理学部附属臨海実験所教授 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
- (8) 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
- (9) 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
- (10) 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助教 山本和俊氏
- (11) 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
- (12) 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
- (13) 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，昭和大学 舟橋久幸氏，JAXA 主任研究員 矢野幸子氏
- (14) 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
- (15) 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
- (16) 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
- (17) 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，同教授 唐原一郎氏
- (18) 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
- (19) 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、同准教授 島崎洋平氏
- (20) 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
- (21) 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，同准教授 中川公恵氏
- (22) 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
- (23) 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

- (24) 鈴木信雄：カルシトニンの構造進化及び作用進化に関する研究，公益財団法人・サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所・統合生体分子機能研究部部長・主幹研究員 佐竹 炎氏，同主席研究員 川田剛士氏
- (25) 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，同教授 田中大祐氏
- (26) 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
- (27) 関口俊男：ナメクジウオカルシトニン機能の研究，基礎生物学研究所形態形成部門助教 高橋弘樹氏
- (28) 関口俊男：原索動物神経ペプチドの研究，千葉大学大学院融合科学准教授 小笠原道生氏
- (29) 関口俊男：ナメクジウオ受容体活性調節蛋白の機能についての研究，宮崎大学フロンティア科学実験統合センター 生命科学研究部門准教授 桑迫健二氏
- (30) 関口俊男：ヌタウナギカルシトニンの機能解析研究，理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター・ゲノム資源解析ユニット ユニットリーダー 工樂樹洋氏
- (31) 鎌内宏光：七尾湾におけるアマモの生態系機能，石川県立大学環境科学科教授 柳井清治氏，石川県水産総合センター海洋資源部 専門研究員 仙北屋 圭氏，京都大学大学院農学研究科助教 小林志保氏、同大学院研究員 安佛かおり氏，石川県のと海洋ふれあいセンター専門員 東出幸真氏
- (32) 鎌内宏光：土地利用の長期変化に対応した陸水および沿岸海洋生態系の応答，金沢大学環日本海域環境研究センター教授 長尾誠也氏，神戸大学大学院海事科学研究科特任助教 中田聡史氏，北海道大学低温科学研究所准教授 関 幸氏，滋賀県立琵琶湖博物館研究部学芸技師 林 竜馬氏，京都府立大学生命環境科学研究科研究員(移行) 佐々木尚子氏，滋賀県立大学環境科学部助教 田辺祥子氏，北海道大学総合博物館教授 大原昌宏氏
- (33) 鎌内宏光：通し回遊の進化パターン化における全球モデルの構築，神戸大学理学部准教授 佐藤拓哉氏
- (34) 鎌内宏光：海霧による陸上生態系への影響，東京農工大学大学院農学研究院講師 赤坂宗光氏，京都大学フィールド科学教育研究センター助教 寄元道德氏

2) 各種活動

社会活動

- (1) 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
- (2) 鈴木信雄：日本宇宙生物科学会 評議員，2012-現在
- (3) 鎌内宏光：日本長期生態学研究ネットワーク情報管理委員，2006-現在
- (4) 関口俊男：ペプチド・ホルモン研究会，世話人 2014-現在
- (5) 関口俊男：Guest Editor, Special Issue, Biology and Medicine of Peptide and Steroid Hormones, American Journal of Life Science, Science publishing Group. 2014

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），基盤研究（C），新規硬組織モデルを用いた微小重力・過重力下での骨吸収及び骨形成の機構解析，1,500,000 円。

- (2) 関口俊男（代表），若手研究（B），消化管ペプチドの機能進化の研究：ホヤの受容体トランスジェニック個体を用いた解析，1,700,000 円
- (3) 鈴木信雄（分担），挑戦的萌芽研究，重油汚染海水で生まれた魚の脊柱彎曲の機構解明と新規解毒タンパク質によるレスキュー（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 400,000 円（直接経費 total 1,600,000 円）
- (4) 鈴木信雄（分担），基盤研究（C），新規糖尿病モデルを用いた骨代謝機構の解析と運動による改善に関する研究（代表：北村敬一郎，金沢大学医薬保健研究域保健学系・准教授）
分担金 2013 年 100,000 円（2013 年の直接経費 total 1,600,000 万円）
- (5) 鎌内宏光（代表），萌芽，森は海の恋人か？土地利用変化と河川流量及び海域変化の統合研究スキームの開発，1,300,000 円

2) 受託研究費

- (1) 企業側代表：関あずさ（ハムリー株式会社），研究者代表：鈴木信雄，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. フィージビリティスタディステージ シーズ頭在化タイプ，新規メラトニン誘導体の骨折治癒モデル動物に対する作用及び骨形成機構の解析. 10,000,000 円（2014 年の直接経費 total 6,000,000 円）

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），公益財団法人三谷研究開発支援財団，新規骨疾患治療薬の骨疾患動物モデルに対する作用及び骨形成機構の解析，1,000,000 円
- (2) 鈴木信雄（代表），ハムリー（株），宇宙実験を利用した新規骨疾患治療薬の開発，200,000 円
- (3) 鎌内宏光（代表），環日本海域環境研究センター重点戦略経費（大学間連携），能登物質循環研究グループ，80,000 円

4) その他

- (1) 関口俊男（代表），マリンバイオ共同推進機構公募利用研究助成，原索動物における CCK/ガストリン ファミリーペプチドの機能進化についての研究，150,000 円

【新聞発表】

- (1) 鈴木信雄・関口俊男・鎌内宏光，平成26年5月8日（北陸中日新聞）：いしかわシティカレッジ海洋生化学演習に関する記事
- (2) 鈴木信雄・関口俊男・鎌内宏光，平成26年9月5日（北陸中日新聞）：全国公開臨海実習に関する記事
- (3) 鈴木信雄・関口俊男，平成26年11月23日（北陸中日新聞）、平成26年11月23日（北国新聞）：日本動物学会中部支部大会に関する記事

【利用状況】

1) 来訪者及び研究目的

4/13	のと海洋ふれあいセンター 達 克幸 専門員 他1名 「生物調査」
4/14～4/15	金沢大学環日本環境研究センター 鈴木 信雄 准教授 他4名 「ゼミ」
4/24～4/25	金沢大学環日本海域環境研究センター 松木 篤 准教授 他3名 「大気観測装置の保守及び校正」
5/16～5/17	金沢大学理工研究域 山口 正晃 教授 他1名 「ノコギリウニとヨツアナカシパンを材料とした実験の研究打ち合せ」
5/16～5/17	石川県立大学 修士2年 北原 隆志 他12名 「ポケットゼミ」
5/23～5/24	金沢大学環日本海域環境研究センター 西川 潮 准教授 他1名 「水田調査」
5/29～5/30	金沢大学環日本海域環境研究センター 松木 篤 准教授 他5名 「大気観測装置の保守及び校正」
6/1～6/2	金沢大学自然科学研究科 修士2年 山本 樹 他1名 「ゼミ」
6/4～6/6	広島大学生物圏科学研究科 修士1年 自見 直人 「ミズヒキゴカイの採集」

- 6/5～6/12 東北大学理学研究科 修士1年
大畑 雅彦 他1名
「能登半島の地形学的調査」
- 6/11 金沢大学自然科学研究科 修士1年
森谷 和浩
「鯨骨群集形成実験の下見」
- 6/16 金沢大学理工研究域
ロバート・ジェンキンス 助教 他1名
「鯨骨群集形成実験の下見」
- 6/18～6/21 東邦大学理学部
西川 輝昭 教授
「ホヤ類の採集」
- 6/23～6/24 岡山大学大学院医歯薬学研究科
池亀 美華 准教授
「魚類の骨代謝に関する共同研究」
- 6/23～6/24 金沢大学自然科学研究科 修士2年
山本 樹 他1名
「ゼミ研修」
- 6/25～6/26 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他4名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 7/5～7/6 金沢大学自然科学研究科 修士2年
山本 樹 他1名
「研究打ち合せ」
- 7/7～7/12 新潟大学理学部附属臨海実験所
下谷 豊和 技術専門職員
「ムラサキウニの採集及び発生実験」
- 7/9 金沢大学理工研究域
ロバート・ジェンキンス 助教 他1名
「微生物マットの形成実験」

- 7/15～7/17 金沢大学理工研究域
ロバート・ジェンキンス 助教 他2名
「微生物マットの形成実験」
- 7/18～7/21 金沢大学自然科学研究科 修士2年
上西 篤志
「石川シティカレッジの補助」
- 7/22～7/23 石川県立大学 修士2年
荒川 裕亮 他3名
「生態調査」
- 8/5～8/7 国立科学博物館動物研究部
並河 洋 研究主幹
「ヒドロ虫類の生活史比較に基づく系統分類学的研究の材料採集」
- 8/8～8/11 金沢大学自然科学研究科 修士2年
山本 樹 他1名
「生物実習4の補助」
- 8/18～8/21 東北大学理学研究科 修士1年
大畑 雅彦
「能登半島の沿岸域における地形学的調査」
- 8/21～8/22 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他2名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 8/30～9/6 金沢大学自然科学研究科 修士2年
山本 樹 他1名
「公開臨海実習の補助」
- 9/23～9/26 金沢大学自然科学研究科 修士2年
山本 樹 他1名
「生物実習2の補助」
- 9/29～9/30 金沢大学自然科学研究科 修士1年
山田 怜奈 他4名
「大気観測装置の保守及び校正」

- 10/1～10/2 金沢大学環日本海域環境研究センター
鈴木 信雄 准教授 他5名
「骨疾患の治療薬の研究開発に関する打ち合わせ」
- 10/1～10/2 富山大学遺伝子実験施設
田渕 圭章 准教授
「3次元クリノスタットによる疑似微小重力に対する骨芽細胞の応答に関する研究打ち合せ」
- 10/1～10/2 神奈川歯科大学
高垣 裕子 特任教授 他1名
「骨疾患の治療薬の研究開発に関する打ち合わせ」
- 10/1～10/2 (独) 科学技術振興機構
志田 康 主任調査員
「骨疾患の治療薬の研究開発に関する打ち合わせ」
- 10/8～10/9 東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所
幸塚 久典 技術専門職員 他20名
「全国技術職員研修会議」
- 10/16～10/17 石川県立大学 修士2年
北原 隆志 他2名
「研究・調査(海洋プランクトンのサンプリング)」
- 10/23～10/24 広島大学生物圏科学研究科
浦田 慎 特任助教
「ギボシムシ類の採集調査」
- 10/28～10/30 金沢大学自然科学研究科 修士1年
鬼塚 大史 他1名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 10/29～10/30 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他1名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 10/31～11/8 東北大学理学研究科 修士1年
大畑 雅彦
「能登半島の地学的調査」

- 1 1/1 ~ 1 1/2 金沢大学環日本海域環境研究センター
井上 睦夫 助教
「公開臨海実習」
- 1 1/1 ~ 1 1/3 お茶の水女子大学
清本 正人 准教授
「公開臨海実習」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 3 鈴鹿高校
西飯 信一郎 教諭 他3名
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 3 金沢大学理工研究域
大矢 剛智 特任助教 他4名
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 3 JAXA宇宙航空研究開発機構
矢野 幸子 主任開発員
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 4 金沢大学環日本海域環境研究センター
関口 俊男 助教 他3名
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 4 静岡大学大学院
柴田 侑毅 他1名
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 4 名古屋大学大学院
吉田 秀紀
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 4 沖縄科学技術大学院大学
濱田 麻友子 研究員 他1名
「日本動物学会 中部支部大会」
- 1 1/2 2 ~ 1 1/2 4 金沢大学自然科学研究科 修士1年
新美 伊代
「日本動物学会 中部支部大会」

- 11/25～11/26 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他4名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 12/5～12/7 岡山理科大学
北岡 豪一 非常勤講師 他25名
「陸水物理研究会第36回全国大会のため」
- 12/10～12/11 金沢大学環日本海域環境研究センター
早川 和一 教授 他10名
「センター会議及び施設視察」
- 12/16～12/17 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他4名
「大気観測装置の保守及び校正」
- 12/16～12/17 金沢大学環日本海域環境研究センター
鈴木 信雄 准教授 他5名
「ゼミ」
- 1/13 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 専門員 他1名
「生物採集」
- 2/5 日本水産株式会社中央研究所
川中子 誠 研究員
「骨モデル（ウロコ）についての研究打合せ」
- 2/14 のと海洋ふれあいセンター
中村 啓治 主事 他1名
「生物調査」
- 2/24～2/25 金沢大学理工研究域
ロバート・ジェンキンス 助教 他1名
「鯨骨群集形成実験のサンプリング」
- 3/4～3/5 金沢大学地域連携推進センター
水口 亜紀 他14名
「金沢大学留学生対象・能登里山里海体験」

3/26～3/27 金沢大学環日本海域環境研究センター
松木 篤 准教授 他2名
「大気観測装置の保守及び校正」

3/17 のと海洋ふれあいセンター
坂井 恵一 普及課長
「研究打ち合せ」

2) 大学の実習及び演習

4/18～4/19 金沢大学環日本海域環境研究センター
早川 和一 教授 他12名
「海水中の多環芳香族炭化水素類の分析に関する演習」

5/24～5/25 金沢大学地域連携推進センター
中村 浩二 特任教授 他31名
「里山体験実習 in 能登半島」

8/6～8/7 金沢大学理工学域
西川 潮 准教授 他21名
「生物学実習 I」

8/8～8/11 金沢大学理工学域
鈴木 信雄 准教授 他25名
「生物実習 4」

8/19～8/21 東京慈恵会医科大学
高田 耕司 教授 他4名
「海産生物の臨海実習」

8/22～8/24 石川県立大学 修士2年
中山 貴将 他1名
「森林と海洋の生態的關係に関する演習」

8/29 金沢工業大学バイオ化学部
藤永 薫 教授 他24名
「海洋生物観察」

- 9 / 1 ~ 9 / 6 「第1回公開臨海実習」
筑波大学3年 谷 春菜 他20名
- 9 / 8 ~ 9 / 10 長浜バイオ大学
和田 修一 准教授 他15名
「野外調査実習」
- 9 / 8 ~ 9 / 12 首都大学東京
山田 昌久 教授 他9名
「考古学実習Ⅱ」
- 9 / 13 ~ 9 / 15 金沢大学地域連携推進センター
宇野 文夫 特任教授 他12名
「いしかわ新情報書府学in能登」
- 9 / 17 ~ 9 / 22 金沢大学地域連携推進センター
中村 浩二 特任教授 他17名
「イフガオ里山マイスター養成・能登研修」
- 9 / 24 ~ 9 / 26 金沢大学理工学域
田岡 東 助教 他19名
「生物学実習2」
- 9 / 30 ~ 10 / 2 東海大学
野原 健司 講師 他4名
「潜水・釣りによる沿岸性魚類の採集実習」
- 11 / 1 ~ 11 / 3 「第2回公開臨海実習」
立教大学1年
佐藤 明音 他4名
- 12 / 10 ~ 12 / 11 モンゴル国立大学地理学部 4年
T u m u r S U G A R J A R G A L
「能登の海岸地形観察」
- 1 / 15 富山大学大学院理工学研究部
中村 省吾 教授 他2名
「ウニを用いた発生生物学実験」

3) 高等学校の実習及び演習

- 7 / 3 ~ 7 / 5 富山県立砺波高校
大代 敏彦 教諭 他 3 9 名
「臨海実習」
- 7 / 1 0 ~ 7 / 1 2 石川県立七尾高校
福岡 辰彦 教諭 他 4 2 名
「臨海実習」
- 7 / 2 4 ~ 7 / 2 6 福井県立高志高校
山崎 秀樹 教諭 他 2 9 名
「臨海実習」
- 7 / 2 8 ~ 7 / 2 9 富山県立富山中部高校
盛合 浩司 教諭 他 4 4 名
「臨海実習」

4) 利用者数及び船舶の使用状況

平成26年度臨海実験施設利用者数（延べ人数2,439人の内訳）

(月)	研究者		学生	
	学内	学外	学内	学外
4	22	4	100	6
5	10	6	126	8
6	3	13	86	11
7	7	61	103	439
8	6	11	214	41
9	37	16	118	293
10	8	48	73	21
11	12	17	96	36
12	30	52	76	2
1	0	3	65	2
2	2	3	58	0
3	4	6	84	0
合計	141	240	1,199	859

平成26年度臨海実験施設船舶使用回数

(月)	あおさぎ	くろさぎ
4	4	4
5	4	5
6	6	7
7	4	6
8	4	4
9	3	4
10	5	6
11	3	4
12	3	3
1	3	5
2	4	5
3	4	5
合計	47	58

研 究 報 告

* 臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度（平成26年度）

小木曾正造，又多政博（p23-24）

* 重力に対する骨芽細胞及び破骨細胞の応答解析

山本 樹，関口俊男，鈴木信雄（p25-26）

* カタユウレイボヤにおけるcionin の局在解析

谷口詩穂，関口俊男，鈴木信雄（p27-28）

* 魚の骨芽細胞及び破骨細胞に対する重油汚染海水の影響評価

佐藤将之，関口俊男，鈴木信雄（p29-30）

* 新規骨疾患治療薬（新規メラトニン誘導体）のメラトニン受容体に対する作用

松岡理沙，関口俊男，鈴木信雄（p31-32）

臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度（平成26年度）

小木曾正造，又多政博

〒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

Shouzo OGISO, Masahiro MATADA : The observation of seawater temperature, salinity, atmospheric temperature, and humidity around the Noto Marine Laboratory

【はじめに】

臨海実験施設では、2013年10月より海水温と塩分、2013年12月より気温と湿度の観測を開始した。2014年4月1日0時から2015年3月31日23時まで1時間おきに、海水温と塩分は実験棟前の栈橋下にて、気温と湿度は実験棟北側にて測定した。JFEアドバンテック株式会社製「ワイパー式メモリー水温塩分計INFINITY-CTW ACTW-USB」を用いて水深0.5 mで水温（精度±0.01℃、分解能0.001℃）と電気伝導度（精度±0.01 mS/cm、分解能0.001 mS/cm）を測定し、電気伝導度を実用塩分に換算した。日油技研工業株式会社製「水温計アレイ（H）」を用いて水深5.0 m及び7.5 mの水温（精度±0.1℃）を測定した。fourtec社製「温湿度データロガーMicroLite LITE5032P-RH」を用い気温（精度±0.3℃、分解能0.1℃）と湿度（精度±2%、分解能0.5%）を測定した。

【結果と考察】

機器の不具合により各測定に欠測が生じた。欠測した期間と項目は、2014年5月8日3時から5月13日11時までの全水深の海水温と塩分、9月29日10時から12月25日15時までの水深0.5mの海水温と塩分、12月4日12時から12月12日13時までの気温と湿度だった。測定値の月別平均をFig. 1から6に示す。ただし欠測を含む月は空欄とした。

水深5.0mと7.5mの月別平均水温は、8月が最も高くそれぞれ26.0℃、26.1℃で、3月が最も低く10.3℃、10.6℃だった（Fig. 2, 3）。10月と11月では前年よりも低かったが、2月と3月では高く、それぞれ月間最低水温が前年の平均水温より高かった。全期間での最高水温は水深0.5mで8月2日20時の29.95℃、5.0mで8月2日23時の28.2℃、7.5mで8月2日4時と5時の27.9℃だった。最低水温は水深0.5 mで3月13日9時の8.61℃、5.0mで4月1日の4時から10時と4月8日の6時から8時及び11、12、14時の9.9℃で、7.5mでは4月1日6時の10.0℃だった。海水温は台風11号の影響を大きく受け、8月11日の0時から13時の間に、水深5.0mでは水温が26.5℃から22.5℃、7.5mでは26.5℃から21.2℃まで急激に低下した。水温10.0℃未満が記録された日数は、水深0.5mでは2月が1日、3月が8日、水深5.0mでは4月が2日、水深7.5mでは1日もなかった。

月別平均塩分は1月から3月で前年よりやや高かった（Fig. 4）。塩分の最高値は6月20日2時と9時で34.25、最低値は7月19日16時の25.30だった。

月別平均気温の最高は8月の25.4℃で、最低は1月の3.1℃だった。前年に比べ、1月から3月では平均気温が高く、2月で1.3℃高かった。全期間での最高は8月5日13時の34.5℃、最低は2月9日6時の-2.9℃だった（Fig. 5）。30.0℃以上を記録した日数は7月が9日、8月が10日だった。氷点下を記

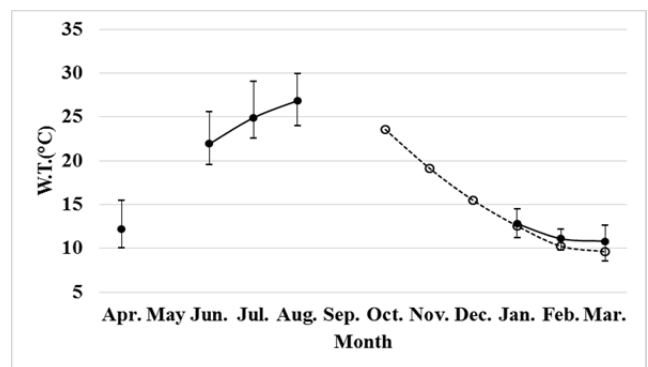


Fig. 1. The monthly average water temperature at a depth of 0.5 m. Closed circles (●) depict the average water temperature from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average water temperature from October 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures.

録した日数は1月が8日、2月が9日、3月が2日だった。

月別平均湿度は最高が11月と1月の91%で、最低は5月の76%だった。全期間での最低湿度は4月15日16時の25%だった。前年に比べ1月から3月で平均湿度がそれぞれ5%、5%、2%高かった (Fig. 6)。

1日間で温度の最高値と最低値の差の各月平均値をFigure 7に示す。温度差は水深5.0mと7.5mでは6月に大きく、9月以降は0.4°C以下だった。気温は4月、5月で温度差が大きく、7.9°Cと8.1°Cだった。

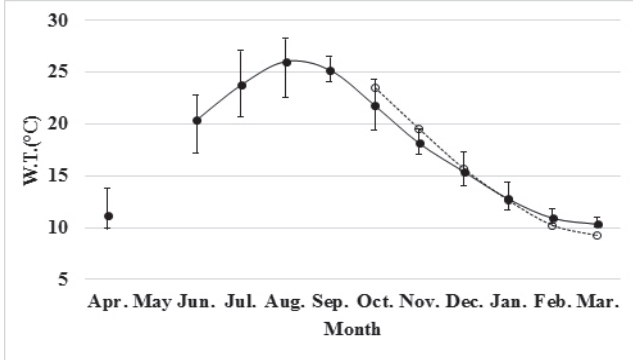


Fig. 2. The monthly average water temperature at a depth of 5.0 m. Closed circles (●) depict the average water temperature from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average water temperature from October 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures.

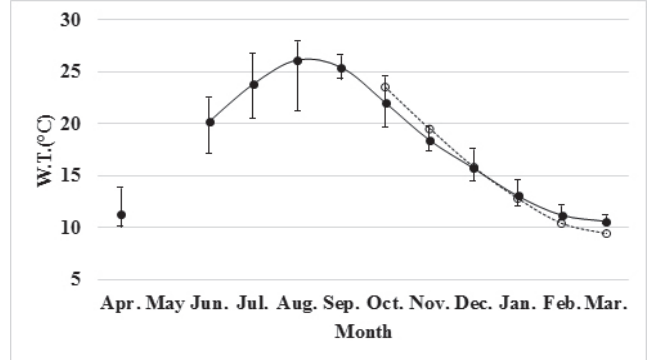


Fig. 3. Monthly average water temperature at a depth of 7.5 m. Closed circles (●) depict the average water temperature from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average water temperature from October 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperature.

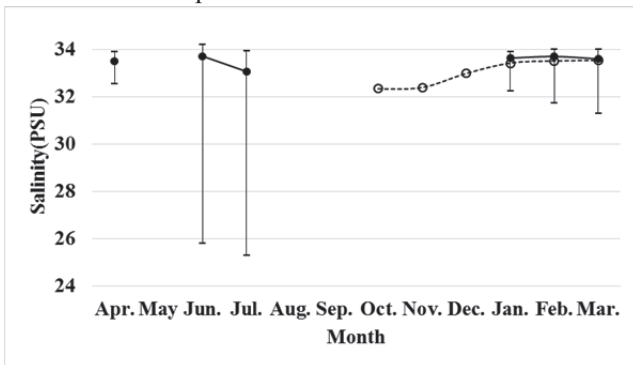


Fig. 4. Monthly average salinity at a depth of 0.5 m. Closed circles (●) depict the average salinity from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average salinity from October 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest salinity.

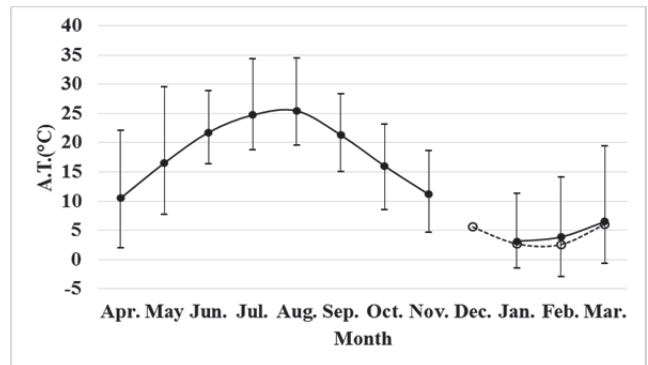


Fig. 5. Monthly average atmospheric temperature. Closed circle (●) depict the average atmospheric temperature from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average atmospheric temperature from December 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperature.

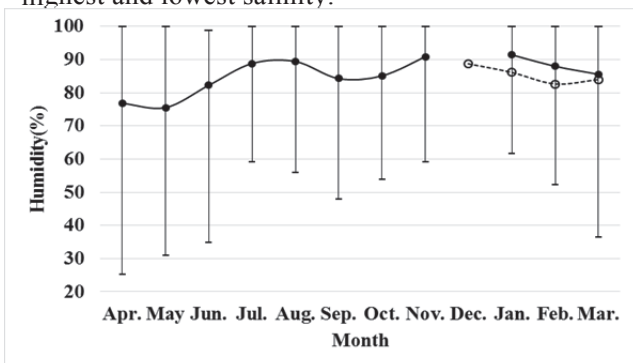


Fig. 6. Monthly average humidity. Closed circle (●) depict the average humidity from April 2014 to March 2015. Open circles (○) depict the average humidity from December 2013 to March 2014. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest humidity.

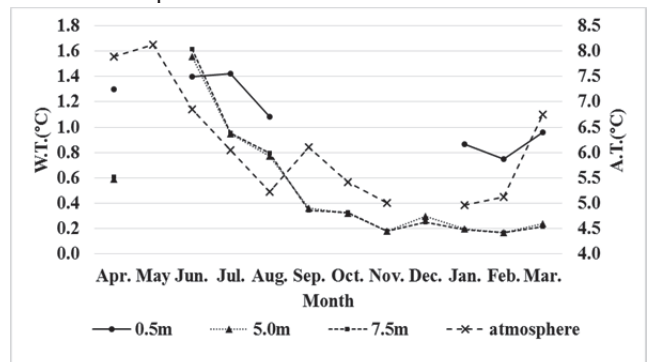


Fig. 7. Monthly average of difference between highest temperature and lowest temperature for one-day.

重力に対する骨芽細胞及び破骨細胞の応答解析

山本 樹, 関口俊男, 鈴木信雄

〒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

Tatsuki YAMAMOTO, Toshio SEKIGUCHI, Nobuo SUZUKI : Analysis of gravity response in osteoblasts and osteoclasts

【はじめに】

骨は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成によって常に作り変えられており、骨強度の維持や血中Ca濃度の調節が行われている。しかしながら、これら細胞活性のバランスが崩れると、骨粗鬆症や大理石骨病などの骨疾患につながる。従って、破骨細胞と骨芽細胞の相互作用による恒常性の維持が重要である。近年、破骨細胞の分化誘導に関連する因子としてRANKLとOPGが同定された。

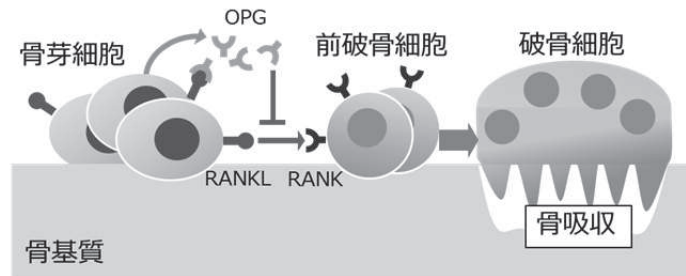


Fig 1. Differentiation of osteoclasts by the RANKL-RANK-OPG pathway

RANKLは骨芽細胞膜上にあるリガンドであり、受容体(RANK)は破骨細胞膜に存在する。さらに、骨芽細胞はデコイ受容体としてOPGを分泌しており、RANKLとの比をとったRANKL/OPG比が破骨細胞の活性化の指標となる (Fig 1)。以上のように、骨の細胞間の相互作用を調べるのが骨を研究する上で必須であるが、解析に適したモデル系が欠如しているのが現状である。さらに、長期の宇宙飛行によって骨量が減少し、一方で運動等の物理的ストレスにより骨が強くなるように、重力が骨代謝に与える影響を解析する上でも、モデル系が必要とされる。そこで本研究では、骨基質上に破骨細胞と骨芽細胞が共存し、ヒトの骨とも共通点が多いキンギョの再生ウロコ (Suzuki N *et al.*, 2005 Kitamura, K. *et al.* 2010) を用いて、過重力及び擬似微小重力に対する応答を遺伝学的及び形態学的解析を行った。

【方法】

実験1：リアルタイムPCRを用いた過重力または微小重力における、骨芽細胞および破骨細胞マーカー遺伝子の発現量解析

通常のウロコに比べ活性が3倍から5倍高い再生ウロコを用い、96穴プレート中で培養した。過重力条件実験のサンプルは、遠心機により3Gで培養することで、微小重力実験サンプルは、3Dクリノスタットを用い培養することで調達した。再生ウロコサンプルを回収し、Total RNAを抽出、cDNAを合成した。Real time PCRにより、骨芽細胞及び破骨細胞における以下の遺伝子発現変動を解析した。

骨芽細胞活性の指標として、骨形成マーカーであるI型コラーゲン(Type I collagen; Colla)とオステオカルシン (Osteocalcin; OCN) について検討した。さらに骨芽細胞の分化及び増殖を制御するWingless (Wnt) / β -カテニン経路に関連する因子の発現変動を解析した。一方、破骨細胞活性の指標となるマーカー遺伝子として、骨吸収酵素マーカーである酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (Tartrate-resistant acid phosphatase; TRAP) 及びカテプシンK (Cathepsin K; CathK) のmRNA発現を調べた。さらに転写因子NFATc1によって誘導される破骨細胞の分化及び活性化に対する正負の制御因子のmRNA発現変動を検討した。

実験2：過重力または微小重力における、ウロコの形態学的解析

過重力または、微小重力環境下で培養したウロコの破骨細胞に与える影響を検討するために、ウロコを固定し、1% Alexa Fluor® 488 ファロイジンを含むPBSにおいて4日間、4°C及び暗条件下で静置し、細胞アクチンを染色した。さらに、PBSによる洗浄の後、4,6-ジァミジノ-2-フェニルインドール(DAPI)を用いて核の染色を行い、標本を蛍光顕微鏡(BX51, Olympus)で観察した。TRAP染色により破骨細胞を同定したうえで、破骨細胞におけるアクチンリングサイズと、破骨細胞と核の数を測定した。

【結果及び考察】

実験1：リアルタイムPCRを用いた過重力または微小重力における、骨芽細胞および破骨細胞マーカー遺伝子の発現量解析

骨芽細胞のマーカーであるI型コラーゲン及びオステオカルシンのmRNA発現は過重力刺激により上昇したが、擬似微小重力下では低下した。一方、破骨細胞のマーカーであるカテプシンKやTRAPの発現は過重力刺激により低下し、擬似微小重力下では上昇した。さらに過重力・擬似微小重力刺激の影響を詳細に解析するために、骨芽細胞では細胞の分化と増殖に重要であるWnt/ β -カテニン経路を、破骨細胞では分化及び抑制に関する制御機構の遺伝子発現変動を検討した結果、骨芽細胞において、Wnt経路を阻害する遺伝子の発現が刺激に応答した。そして、骨吸収の亢進に関連する遺伝子群や、抑制経路に関連する遺伝子の発現が刺激に反応して反応した。これら遺伝子発現解析によって、過重力刺激において骨形成が亢進され、擬似微小重力刺激によって骨吸収が亢進されることが明らかになった。

実験2：過重力または微小重力における、ウロコの形態学的解析

破骨細胞の変化はウロコ表面において骨基質との接着に関与するアクチンリング及び破骨細胞の核数の変化が見られた。このようなことから形態学的な観点からも破骨細胞の活性化が認められた。

【まとめ】

重力・擬似微小重力刺激を受けた骨組織において、骨芽細胞はWnt/ β -カテニン経路をWntアンタゴニストにより調節し、破骨細胞はNFATc1に誘導される制御機構を調節することにより、応答していると考えられる。また、これら細胞間の連絡にはOPG及びRANKLが重要である。従って、キンギョの再生ウロコは、骨代謝に与える重力の影響を解析する上で非常に有用であり、その機構解明に貢献できる可能性が高い。

【参考文献】

- Suzuki, N., *et al.*: Osteoblastic activity and estrogenic response in the regenerating scale of goldfish, a good model of osteogenesis. *Life Sci.*, **22**, 2699-709 (2005)
- Kitamura, K. *et al.* Osteoblast activity in the goldfish scale responds sensitively to mechanical stress. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* **156**, 357-363 (2010).

本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科生命科学専攻 山本 樹氏の学位論文の一環として行われた。本研究の内容は、平成26年9月22-23日、大阪府立大学において開催された日本宇宙生物科学会第28回大会で発表され、優秀賞を受賞した。

カタユウレイボヤにおける cionin の局在解析

谷口詩穂, 関口俊男, 鈴木信雄

〒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

Shiho TANIGUCHI, Toshio SEKIGUCHI, Nobuo SUZUKI: Expression analysis of cionin in ascidian, *Ciona intestinalis*.

【背景】

cioninは1990年、Johnsenらによってカタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) の脳神経節から単離された神経ペプチドであり (Johnsen *et al.*, 1990)、そのペプチドC末端部の構造的特徴から、脊椎動物の消化ホルモンであるコレシストキニン (CCK) とガストリンの相同ペプチドであると考えられている (図1)。また、脊椎動物においてCCK/ガストリンは共通する2つの受容体CCK1RとCCK2Rを持つが、カタユウレイボヤにおいてcionin受容体 CioR1、CioR2 (CioRs) が見つかり、それらはCCKR1、2と高いホモロジーを持ち、またcioninをリガンドとすることが明らかとなっている (Sekiguchi *et al.*, 2012)。哺乳類において、CCKは胆嚢の収縮や膵臓の酵素分泌の誘起、また神経系では睡眠・摂食・記憶等の神経機能に関与している。一方、ガストリンは胃酸の分泌を誘起する。cioninをニジマスやラットに投与した先行研究では、ニジマスの胆嚢収縮 (Schjoldager *et al.*, 1995) やラットの胃酸分泌刺激 (Marvik *et al.*, 1994) というCCK/ガストリン様の作用が認められているが、カタユウレイボヤにおけるcioninの作用はまだ明らかになっていない。またcioninのカタユウレイボヤでの組織発現の定量的な解析や局在解析も十分には行われていなかったため、cioninの作用を推測することも困難であった。

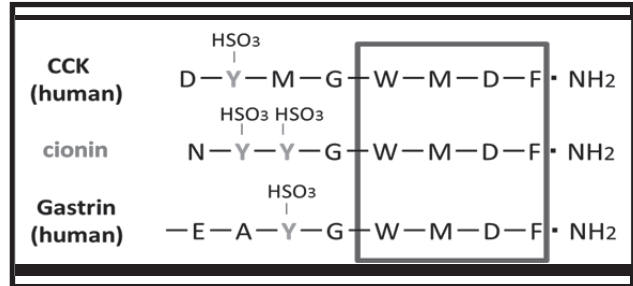


Fig 1. Amino acid comparison among cionin, human CCK, and human gastrin

【目的】

本研究では、cioninのカタユウレイボヤにおける作用を解明するため、まずはその局在を明らかにすることを目的とした。

【方法】

実験1: リアルタイムPCRを用いたカタユウレイボヤ各組織でのcionin発現量の解析

カタユウレイボヤ成体から、①神経複合体、②内柱、③胃、④腸前方、⑤腸中間、⑥腸後方、⑦卵巣を摘出し、それぞれの組織からTotal RNAを抽出した。抽出した各Total RNA 800ng からPrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa) を用い、oligo (dT) primerによりcDNAを合成し、リアルタイムPCRにより各組織におけるcionin mRNA発現量を調べた。

実験2: 脳神経節の cionin 抗体を用いた免疫組織化学による局在解析

実験1より、cionin mRNAは神経複合体で特に発現していることを確認した。そこで脳神経節におけるcioninの局在を免疫組織化学により検討した。まずカタユウレイボヤ成体神経複合体の8 μmのパラフィン連続切片を作製した。パラフィン切片にウサギ抗cionin抗体 (1 : 1000) を一次抗体として反応させた後にビオチン結合ヤギ抗体IgG (1 : 300) を二次抗体として反応させ、ABC Kit (Vector) を使用し、3,3-diaminobenzidine-tetrachlorideで発色させ、観察を行った。

実験3：cionin 5'上流配列決定および上流配列を組み込んだ蛍光タンパク発現ベクターの構築

cionin 陽性神経の走行や成長段階における変化を効果的に解析するために、cioninのプロモーター下で蛍光タンパクを発現するトランスジェニック個体の作製を着想した。まず、cionin遺伝子の5'上流配列をカタユレイボヤ・ゲノムブラウザー (Ghost database) から探索したが、cionin遺伝子の5'上流配列は決定されていなかったため、TAIL-PCRを行いcionin遺伝子上流の未知配列を決定した。さらに決定したcionin 5'上流配列をpSp mCherryのBamH I サイトに組み込んだベクター cionin promoter / pSp mCherryを構築した。

【結果】

実験1：リアルタイムPCRを用いたカタユレイボヤ各組織でのcionin発現量の解析

カタユレイボヤ成体各組織のcDNAを用いたリアルタイムPCRの結果、cionin mRNAは神経複合体において他の組織に比べ顕著に発現が確認された。この結果より、カタユレイボヤにおいて、cioninは哺乳類CCKと同様に中枢神経系で産生されていることが明らかとなった。

実験2：脳神経節の cionin 抗体を用いた免疫組織化学による局在解析

神経複合体の連続切片を用いたcionin抗体による免疫組織化学解析の結果、cioninペプチドは神経節外周に位置する細胞体および内部に存在する神経線維で発現が確認された。また、cionin陽性神経細胞体は、脳神経節前方部分に局在していることを確認できた。今後はcioninプロモーター下で蛍光タンパク質を発現するコンストラクトを用いて、cionin陽性神経の走行を検討する (実験3)。

実験3：cionin 5'上流配列決定および上流配列を組み込んだ蛍光タンパク発現ベクターの構築

TAIL-PCRを用いた解析の結果、データベースでは未知であったcioninの5'上流域1,843 bpを新たに解読することができた。その後、決定した上流配列1.6 kbを組み込んだpSp mCherryベクターが構築できた。今回構築した蛍光タンパク発現ベクターを、エレクトロポレーションを用いてカタユレイボヤ受精卵へ導入する。カタユレイボヤ幼生および幼若体での蛍光局在を解析し、cionin陽性神経の投射パターンを明らかにすることで標的神経もしくは標的器官を特定し、今後の機能解析の対象を決定する。

【まとめ】

- ・ Cionin の神経複合体における局在を明らかにした。
- ・ Cionin の上流配列を明らかにした。

【引用文献】

- Johnsen AH & Rehfeld JF 1990 Cionin: a disulfotyrosyl hybrid of cholecystokinin and gastrin from the neural ganglion of the protochordate *Ciona intestinalis*. *J. Biol. Chem.* 265, 3054-3058.
- Sekiguchi T, Ogasawara M & Satake H. 2012 Molecular and functional characterization of cionin receptors in the ascidian, *Ciona intestinalis*: the evolutionary origin of the vertebrate cholecystokinin/gastrin family. *J. Endocrinol.* 213, 99-106.
- Schjoldager B, Jorgensen JC & Johnsen AH 1995 Stimulation of rainbow trout gallbladder contraction by cionin, an ancestral member of the CCK/gastrin family. *Gen. Comp. Endocrinol.* 98, 269-278.
- Marvik R, Johnsen AH, Rehfeld JF, Sandvik A & Waldum HL 1994 Effect of cionin on histamine and acid secretion by the perfused rat stomach. *Scand. J. Gastroenterol.* 29, 591-594.

(本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 谷口詩穂氏の卒業論文の一環として行われた)

魚の骨芽細胞及び破骨細胞に対する重油汚染海水の影響評価

佐藤将之, 関口俊男, 鈴木信雄

〒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

Masayuki SATO, Toshio SEKIGUCHI, Nobuo SUZUKI: Effect of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) on bone metabolism in teleosts.

【背景】

多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbon: PAH) 類は原油に含まれる環境汚染物質の一つであり、重油流出事故等を通じて海洋汚染を引き起こす。実際に原油汚染海水中で孵化

した稚魚には脊柱彎曲が観察されているが (Incarbona et al., 2005)、その発症機序は不明である。また、近年エジプトの地中海・紅海沿岸において工業港が発達し、往来する船舶から流出する重油による海洋汚染 (総PAH濃度: アレクサンドリア港、1,364 ng/l; スエズ運河、992 ng/l) が深刻化している。そこで骨のモデルとして骨芽細胞と破骨細胞が共存するウロコ (Suzuki et al., 2007) を用いて、重油汚染海水が魚類の骨代謝にどのような影響を与えるのか解析した。

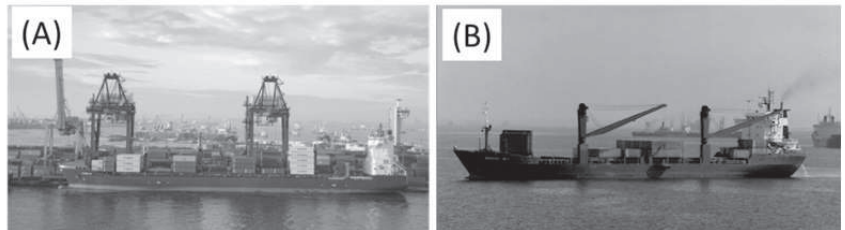


Fig 1. Samples were obtained from Alexandria port (A) and the Suez canal (B).

【目的】

本研究では、重油汚染が深刻化しているエジプトの地中海・紅海沿岸でサンプリングした海水を培地に添加して、キンギョの培養ウロコの骨芽及び破骨細胞に及ぼす影響を評価した。ウロコはすべて、骨芽細胞と破骨細胞のいずれの活性も高い再生ウロコ (Suzuki et al., 2009) を用いた。

【方法】

実験 1 : キンギョの再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する重油汚染海水の影響

麻酔下でオスのキンギョ (*Carassius auratus*) からウロコを抜き、12日後に、再度麻酔下で再生ウロコを採取した。また、エジプトの地中海・紅海沿岸で採取した海水を50、100、500倍希釈で培地 (L-15培地) に添加した。対照群には人工海水 (Allen海水) を同様に添加して、実験群と比較した。即ち、キンギョの右と左側の同じ位置のウロコは骨代謝がほぼ同じであることから、左側に汚染海水を、右側にAllen海水をコントロールとして入れ、左右同じ位置のウロコで比較した。ウロコを6時間培養後、 -80°C で急速冷凍し、保存した。その後、常温で解凍し、破骨細胞活性マーカーとして酒石酸耐性酸ホフターゼの活性を、*p*-ニトロフェニルリン酸ニナトリウムを基質としてpH5.3の酸性酒石酸緩衝液中で生成する*p*-ニトロフェノールを405 nmで吸光度を測定することによって求めた。骨芽細胞活性マーカーとしてアルカリホフターゼ (ALP) の活性を、*p*-ニトロフェニルリン酸ニナトリウムを基質として、pH 9.5の100 mMトリス・塩酸緩衝液中で生成する*p*-ニトロフェノールを同様に測定することによって求めた。ウロコの面積は、メチレンブルー染色を施してイメージスキャナーにより自動測定した。本研究では、8匹のキンギョを用いた。1個体からそれぞれ8枚のウロコをとり、

その8枚の平均値を実験群と対照群との間で比較して、paired-*t*検定により有意差検定を行った。

実験2：キンギョのウロコの骨芽及び破骨細胞マーカー遺伝子に対する重油汚染海水の影響

オスのキンギョ (*Carassius auratus*) を用いて実験1と同様にして再生ウロコを調整した。そのウロコに地中海・紅海沿岸で採取した海水を50倍希釈で培地 (L-15培地) に添加した。対照群にはAllen海水を同様に添加して比較した。その後、キットを用いてmRNAを抽出し、cDNAを合成して、リアルタイムPCRにより、各マーカー遺伝子の発現量を解析した。ハウスキーピング遺伝子としてEL1- α 、骨芽マーカー遺伝子として、ALP、オステオカルシン、RANKL (the receptor activator of the NF- κ B ligand)、破骨マーカー遺伝子としてカテプシン K、液胞型-ATPase、MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) を用い、paired-*t*検定により有意差検定を行った。

【結果】

実験1：キンギョの再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する重油汚染海水の影響

地中海及び紅海の汚染海水を50、100及び500倍に希釈して培地に添加しても、対照群の人工海水で培養したウロコと比較して、骨芽細胞の活性は有意に低下した。

一方、破骨細胞活性は、汚染海水を添加すると減少傾向はみられたが、少なくとも今回の条件では、有意な変化はみられなかった。

実験2：キンギョのウロコの骨芽及び破骨細胞マーカー遺伝子に対する重油汚染海水の影響

骨芽細胞のマーカー遺伝子であるALP、オステオカルシン及びRANKL mRNAの発現は、細胞活性と同様に、地中海及び紅海の汚染海水を添加することにより有意に発現量が低下した。

一方、破骨マーカー遺伝子 (カテプシン K、液胞型-ATPase、MMP-9) の発現量は、破骨細胞の活性と同様に低下する傾向はあったが、少なくとも今回の条件では有意な変化はみられなかった。

【まとめ】

重油汚染海水が魚類の骨芽細胞に悪影響を与えることが、細胞活性・遺伝子発現の両面から示された。さらに少なくとも今回の条件では、重油汚染海水は破骨細胞に対する影響は、骨芽細胞よりも少ないこともわかった。このことから、重油汚染海水は魚類の骨代謝バランスを崩し、その結果として奇形を生じさせるのではないかと考えられる。

現在、ゼブラフィッシュのウロコを用いたリアルタイムPCR解析を行い、詳細なメカニズムを解析中である。

【引用文献】

Incarbona, J. P., et al., Aryl hydrocarbon receptor-independent toxicity of weathered crude oil during fish development. *Environ. Health Perspect.*, **113**, 1755-1762 (2005).

Suzuki, N., et al., Effect of vibration with a frequency on osteoblastic and osteoclastic activities: Analysis of bone metabolism using goldfish scale as a model for bone. *Adv. Space Res.*, **40**, 1711-1721 (2007)

Suzuki, N., et al., Response of osteoblasts and osteoclasts in regenerating scales to gravity loading. *Biol. Sci. Space*, **23**, 211-217 (2009)

(本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 佐藤将之氏の卒業論文の一環として行われた)

新規骨疾患治療薬(新規メラトニン誘導体)のメラトニン受容体に対する作用

松岡里沙, 関口俊男, 鈴木信雄

〒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
Risa MATSUOKA, Toshio SEKIGUCHI, Nobuo SUZUKI: Effect of a novel melatonin derivate on melatonin receptors.

【背景】

メラトニンとは、概日リズムを調節するホルモンであるが、骨代謝への関与を示唆する報告がある。そこでメラトニンの骨に対する作用を、ウロコという骨モデルを用いて*in vitro*で解析した結果、メラトニンは骨芽細胞と破骨細胞の両方の活性を抑制することがわかった (Suzuki and Hattori, 2002)。

さらに、メラトニンの新規誘導体

(BTBM) (Fig 1)を合成し、ウロコに対する作用を調べた結果、BTBMは、骨芽細胞の活性を上昇さ

せるが、破骨細胞の活性を抑制することをウロコの*in vitro*の培養系で見出した (Suzuki et al., 2008)。

したがって、BTBMは、特に骨芽細胞における作用機序がメラトニンと異なる可能性がある。次に、卵巣摘出手術を施したラット脛骨の組織標本を作製して形態観察を行った結果、卵巣摘出手術によって海綿骨の骨量が減少し、BTBMによって骨量の減少を抑制することがわかった。このように哺乳類を用いた実験系でもBTBMの効果が出ており、新薬としての有効性が示されている。そこで本研究では、BTBMの詳細な作用機序を解明するために、哺乳類の培養株を用いて実験を行った。

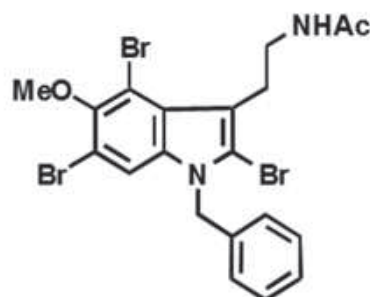


Fig 1. Structure of a novel melatonin derivate
(1-benzyl-2,4,6-tribromo-melatonin)

【目的】

本研究では、BTBMの骨芽細胞に対する作用機序を解析するため、メラトニン受容体に注目した。まず実験1では、マウスの前骨芽細胞様細胞株 (MC3T3-E1)における、メラトニンの核受容体及び膜受容体の発現解析、実験2ではMC3T3-E1細胞の分化に対するBTBMの影響を解析した。さらに実験3では、BTBMの核受容体に対する直接的な作用を検討した。

【方法】

実験1：MC3T3-E1細胞における受容体mRNAの発現解析

6 wellプレートに 5.3×10^4 cells/ml のMC3T3-E1細胞を撒き、培地を2日毎に交換し、12日間培養 (37°C、5%CO₂)した。その後Takaraのキット (NucleoSpin®RNA)により、Total RNAを抽出し、cDNA合成を行った。次に、マウスの核受容体 (ROR α)及び膜受容体 (MT1a、MT1b)の配列に基づきプライマーを作成して、MC3T3-E1細胞における受容体の発現をPCR法により調べた。さらに得られたPCR産物の配列をダイレクトシーケンスにより解析して、受容体の配列を確認した。

実験2：MC3T3-E1細胞の分化に対するBTBMの影響の解析

24 wellプレートに 5.3×10^4 cells/ml のMC3T3-E1細胞を撒いた。50 μ g/mlのアスコルビン酸 (AA)、10 mMの β グリセロリン酸 (GP)を含む培地を2日毎に交換した。7日目に0.001%のDMSO溶液に、BTBM (10^{-8} M)を添加し、3時間後にTotal RNAを実験1と同様な方法により抽出して、cDNA合成を行った。その後、RT-PCR法により骨芽細胞の石灰化に関与するアルカリフォスファターゼ (ALP)の

発現量をリアルタイムPCRにより調べた。

実験3：メラトニン核受容体に対する作用の検討

メラトニン核受容体 (ROR α) による転写調節へのBTBMの影響を検討するために、ルシフェラーゼレポーター解析を計画した。解析には、ROR α の発現ベクター、ROR α により転写活性を示すホタルルシフェラーゼベクター、内部標準としてのウミシイタケルシフェラーゼベクターを準備する必要がある。ROR α の発現ベクターと、ウミシイタケルシフェラーゼベクターについては、それぞれROR α /pCMV6をOrigeneより、pRL-CMV6をPromegaより購入した。

ホタルルシフェラーゼベクターについては自ら構築した。まずROR α 結合配列 (RORE) を3回連結したオリゴヌクレオチドを受託合成した。さらにホタルルシフェラーゼベクター-pGL4.24をKpnI/HindIIIで処理した。合成オリゴをligation 反応によりベクターのKpn/HindIIIサイトに組み込み、大腸菌DH5 α に形質転換したうえで、クローン化した。さらにアルカリ-SDS法により、RORE/pGL4.24プラスミドクローンを抽出し、シークエンス解析により、配列の挿入を確認した。

【結果及び考察】

実験1：MC3T3-E1細胞における受容体mRNAの発現解析

MC3T3-E1細胞におけるメラトニン受容体の発現をPCR解析した結果、ROR α の発現が認められた。しかし、メラトニンの主要な受容体である膜受容体 (MT1a、MT1b) は、発現していないことがわかった。したがって、BTBMは核受容体と結合している可能性があり、この細胞を用いることで、BTBMの核受容体に対する作用を解析できる可能性が高いと推測された。

実験2：MC3T3-E1細胞の分化に対するBTBMの影響の解析

そこで次に、MC3T3-E1細胞の分化の指標であるALP mRNAの発現量を解析した。その結果、7日間の培養後に、BTBM (10⁻⁸M) を添加することで、溶媒のみ添加したコントロールと比較して約1.7倍のALP mRNAの発現量が確認された。一方、メラトニン添加(10⁻⁸ M)により、ALP mRNAの発現量は変化しなかった。したがって、BTBMは、核受容体に作用して、MC3T3-E1細胞の分化を促している可能性が高いことがわかった。

実験3：メラトニン核受容体に対する作用の検討

ROR α へのBTBMの結合をルシフェラーゼ解析により検討するため、RORE/pGL4.24の構築を行った。ホタルルシフェラーゼベクターが構築できたか否かを調べる為に、シークエンス解析を行った。その結果、目的の配列が挿入されていることを確認できた。さらにROR α /pCMV6、pRL-CMV6、RORE/pGL4.24をNucleoBond Xtra Midi kit (Takara) で大量調整することができた。現在COS7細胞に対して、これらのベクターをトランスフェクトし、BTBM添加により、ROR α の転写活性を上昇させるかどうかを解析中である。

【引用文献】

Roth, J.A., et al.: Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. J. Biol. Chem., 274: 22041-22047 (1999)

Suzuki, N. and Hattori, A.: Melatonin suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. J. Pineal Res., 33: 253-258 (2002)

Suzuki, N., et al.: Novel bromomelatonin derivatives suppress osteoclastic activity and increase osteoblastic activity: Implications for the treatment of bone diseases. J. Pineal Res., 44:326-334 (2008)

(本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 松岡理沙氏の卒業論文の一環として行われた)

【構成員】

1) 職員

准教授（施設長） （H27年5月付け、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）
助教	関口俊男（t-sekiguchi@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（医学） 専攻 比較内分泌学 （海産無脊椎動物の神経・内分泌系について、分子進 化及び生理機能進化の観点で研究している）
特任助教	鎌内宏光（kamauchi@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（地球環境科学） 専攻 陸域水域相互作用 （陸域と陸水・海との相互作用について幅広く研究を 進めている。キーワード：土地利用変化、長期環境 変動、サブシディー、生物多様性、日本長期生態学 研究ネットワーク（JaLTER））
技術専門員 （H27年4月付け、技術補佐員）	又多政博（matada@ca2.luckynet.jp） 専門 海産無脊椎動物一般
技術補佐員 （H27年4月付け、技術職員）	小木曾正造（shozoogiso@se.kanazawa-u.ac.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	佐藤将之 谷口詩穂 半本泰三 松岡理沙
修士課程2年	上西篤志 山本 樹
博士課程1年	加瀬陽一

3) 連携研究員

染井正徳
三宅裕志
笹山雄一
谷内口孝治
清水宣明
布村 昇
坂井恵一



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