

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16号
2017.4 ~ 2018.3



臨海実験施設全景(ドローンによる空撮)

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-----	7
* 研究交流-----	11
* 研究費-----	14
* 利用状況-----	15

【研究概要】

1. 無脊椎動物及び脊椎動物の比較生理・内分泌学的研究（関口助教）

関口助教は、原始的な脊椎動物や脊椎動物に近縁な無脊椎動物を用い、脊椎動物の生理や内分泌系の進化を研究している。

1) 円口類に属する原始的な脊椎動物であるヤツメウナギの血中カルシウム調節ホルモンの研究
本研究の目標は、カワヤツメ (*Lethenteron japonicum*) を用いて脊椎動物のカルシウム代謝機構の起源を探ることである。本年度は、カルシウム代謝に関わるホルモンの一つとして、カルシトニン (CT) について解析した。はじめに、カワヤツメ CT 受容体候補とカワヤツメ CT ペプチドの応答性を COS-7 細胞の発現系で検討したが、CT 受容体候補が COS-7 細胞で発現せず応答性が確認できなかった。次に、カワヤツメ CT ペプチドによるヒト CT 受容体への作用を同発現系で検討した結果、カワヤツメ CT が活性の強いサケ CT と同様の効力を持つことを明らかにした。

2) 原索動物を用いた CCK/ガストリンの進化機構の研究

CCK/ガストリンは、哺乳類において、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。これまで脊椎動物の祖先的動物であるカタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) において CCK/ガストリンの祖先的な遺伝子 *cionin* が同定されている。しかしながら、カタユウレイボヤにおける *cionin* の機能は不明である。このような背景のもと、カタユウレイボヤにおける *cionin* や *cionin* 受容体の詳細な発現解析を行っており、本年度は、*cionin*、*cionin* 受容体および、コリン作動性神経のマーカーである小胞性アセチルコリントランスポーター (VACHAT) mRNA の中枢神経系における発現共局在を二重 *in situ* hybridization で検討した結果、*cionin* と VACHAT mRNA の局在はほとんど一致せず、*cionin* 受容体と VACHAT mRNA は、多くの細胞で共局在した。これらの結果から、*cionin* 作動性神経は、コリン作動性神経に神経伝達物質もしくは神経修飾物質として作用することが示唆された。

2. 魚類の自然免疫系に関する研究：体表における抗微生物因子について（木谷助教）

魚類は水中に生息するため、その体表は常に病原性微生物等の攻撃にさらされている。木谷助教は、主として魚類の体表粘液に存在する抗微生物因子についての研究を行っている。過去に魚類体表粘液が魚病細菌に効果的に作用することが観察されたことを端緒として、この現象の解明と原因物質の同定を試みたところ、この物質は各種クロマトグラフィーの組み合わせにより単離され、アミノ酸配列から L-アミノ酸オキシダーゼ (LAO) ファミリータンパク質と同定した。本成果は、魚類体表から抗菌物質として LAO を見出した初の例となった。このほかにも、大西洋タラ *Gadus morhua* および大西洋サケ *Salmo salar* に着目し、体表における抗微生物ペプチドの機能解析に関する研究が進行している。

本年度は能登沿岸に生息する種々の魚類体表粘液および血清の LAO 活性スクリーニングを行った。その結果キジハタ *Epinephelus akaara* 血清から LAO 活性が見いだされ、これは疎水性アミノ酸を中心とした広い基質スペクトルを示す新しいタイプの LAO であることが示唆された。当該 LAO の単離および構造解析を行ったところ、これは新規魚類 LAO と同定された。この成果は小坂優斗君の卒業論文の一環として平成 29 年度日本水産学会春季大会、3rd International Symposium “International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol” および International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership”で発表した。

3. 水産未利用資源の有効利用に関する研究（木谷助教）

木谷助教は、本年度より新規研究題目として水産未利用資源問題の解決に取り組む。漁業活動において漁獲対象以外の水産物が共に漁獲されてしまう混獲を避けることは困難である。特に市場価値の低い生物の混獲は漁業者の労力や漁船の輸送能力を圧迫し多大なコストとなり、また生命倫理的問題にもつながる。また水産加工に伴い漁獲物の不可食部が廃棄物として排出されこれも環境負荷となりうる。本研究では、混獲生物や水産未利用資源から有用な物質を探索もし混獲生物の付加価値を高めることが可能となれば廃棄物減量による環境負荷低減のみならず、漁業者の収入増加とそれに伴う地域活性化にも繋がる。

本研究では各種水産副産物を対象として、抗菌物質、抗炎症物質等医薬品候補としての価値が高く、本研究室において検出法が確立しているものを中心に探索する。

4. カルシウム代謝に関与するホルモンの応答解析（鈴木教授）

鈴木教授を中心とするグループは、ウロコの培養系を用い骨代謝の研究を実施している。石津偉統君は、卒業論文実験の一環として、カルシウム代謝に関与するホルモン（黒色素胞刺激ホルモン: MSH）の応答について解析を行った。

MSH は黒色素胞内のメラニン顆粒拡散による体色黒化やメラニン合成促進を促進する他に、食欲調節機能や免疫系にも働き、多様な機能を持つホルモンである。MSH の受容体が欠損したヒトは骨量が増加することが報告された。さらに MSH はラットの破骨細胞を活性化して骨吸収を促進することもわかった。これらの結果は、MSH は哺乳類の骨代謝にも関与していることを示している。しかしながら、魚類の骨代謝に対する MSH の作用を調べた研究はない。魚類の骨に対するバイオアッセイ系が欠如しており、魚類において MSH の骨代謝との関連を調べた報告がないという現状である。我々のグループは、キンギョのウロコを用いて骨芽細胞及び破骨細胞に対するホルモンの影響を評価するアッセイ系を開発した。そこで、MSH の骨代謝に対する作用を調べるために、キンギョのウロコを用いて解析した。左側のウロコを取り、キンギョに MSH (Low dose: 0.1 µg/g BW; High dose: 1 µg/g BW) を投与した。MSH の投与はウロコを抜いた直後、3 日、5 日、7 日、9 日後に投与した。投与後 10 日目に左側の再生ウロコの骨芽・破骨細胞の活性を測定した。さらに血液中のカルシウム濃度を調べた。次に、再生 10 日目のウロコを用いて、*in vitro* の培養実験を行い、細胞活性及び遺伝子レベルの解析を行った。MSH をキンギョに投与した結果、再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞が活性化して、血液中のカルシウム濃度も上昇していた。したがって、魚類においても、MSH は骨吸収に作用していることがわかった。次に、*in vitro* の実験により、再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞の両方の活性が上昇して、さらに骨芽細胞で発現して破骨細胞を活性化する因子 (RANKL) の発現が上昇していた。以上のことから、MSH は骨芽細胞に作用して RANKL の発現を上昇させ、破骨細胞を活性化して、骨吸収を促していることが判明した。本研究の成果を *General and Comparative Endocrinology* に発表した。

4. 海洋汚染に関する研究（鈴木教授）

鈴木教授を中心とするグループは、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。PAH 類の水酸化体に毒性を見出しており、その毒性機構を解析中である。この成果を早川特任教授がエジターの著書 “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Behavior and Toxicity in East Asia” に “Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and marine invertebrates” というタイトルでまとめた。

6. 魚類に対する海洋深層水の影響評価（鈴木教授）

海洋深層水とは、水深 200 m 以深に存在する深海の海水のことを示し、低温状態で、豊富なミネラルや無機栄養分を含み、細菌数が少ないという特徴を持つ。また海洋深層水は、水産増養殖分野において、海産動物の生育を改善する飼育水等に利用されているが、その根拠は明らかになっていない。鈴木教授を中心としたグループは、海洋深層水の魚類生理に及ぼす影響について生理学的な側面から研究を行っている。

本年度は、海産魚類のメジナを海洋深層水と表層海水で飼育し、経時的に血液を採取、ELISA でストレスホルモンであるコルチゾル濃度を測定した。その結果、表層水で飼育するとコルチゾル濃度が上昇したのに対して、海洋深層水で飼育するとコルチゾル濃度が上昇しないことを明らかにした。このことから、海洋深層水はストレスを低減し、良好な生育を促すと考えられる。本研究の成果は、五十里雄大君の修士論文の一環として、日本動物学会第 88 回大会、3rd International Symposium “International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol” 及び International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership” で発表した。

7. 魚類の発生・成長の遅滞とその後の成長補償に関する研究（亀井助教）

動物の発生・成長はしばしば（栄養や酸素の不足などの）後天的要因の悪化により『遅滞』するが、多くの場合、遅滞要因が除かれると短期間のうちに正常な発育度へ復帰する。この現象は『追いつき成長』として幅広く動物界で知られるが、ヒトでは胎児期の成長遅滞に端を発する追いつき成長と後の成人病罹患率の増大とに因果関係が示唆されている。多くの場合において胎生動物の胚や出生直後の個体を用いた実験は容易ではなく、追いつき成長が誘導される仕組みや、付随して疾病がもたらされる理由は十分に明らかにされてはいない。亀井助教はこの問題を解決する一助として、小型の実験魚として汎用されているゼブラフィッシュを用いた成長遅滞と追いつき成長を制御する分子機構に関する研究を行っている。

本年度は、成長遅滞を引き起こす低酸素時や、追いつき成長を引き起こす低酸素後の常酸素環境への移行時に顕著に発現が変化する遺伝子の探索を行った。その結果、エピジェネティクス関連分子や骨格形成関連分子などの複数の遺伝子の発現が酸素分圧の変化で顕著に増減することが明らかとなった。また、体成長を促す内分泌因子であるインスリン様成長因子（insulin-like growth factor: IGF）の細胞内シグナル伝達の起点となるインスリン受容体基質（insulin receptor substrate: IRS）の機能変化に関する解析を進めたところ、i) 成長遅滞時には IRS1 により神経堤細胞という多能性幹細胞の生存が保証されることで成長再開時に成長の急加速が誘導されること、ii) 追いつき成長時には IRS2 により加速成長に必要なシグナル経路が活性化されていることを見出した。

今後は、神経堤細胞の運命決定や IRS2 の分子機能にどのような修飾がなされることで成長速度やその後の体づくりが変化するのか、より詳細に明らかにしていく予定である。

本研究の成果の一部は、*Endocrinology* 誌に “Catch-up growth in zebrafish embryo requires neural crest cells sustained by Irs1-signaling.” と題して掲載された。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Ikari, T., Sekiguchi, T., Urata, M., Furusawa, Y., Ikegame, M., Kinoshita, Y., Kitamura, K., Nakabayashi, I., Horita, M., Tabuchi, Y., Hattori, A., Srivastav, A.K. and Suzuki, N., 2018, Sequencing and expression analysis of calcitonin receptor in the scales of goldfish (*Carassius auratus*). *International Journal of Zoological Investigations*, **4**, 1-10.
- (2) Ishizu, H., Sekiguchi, T., Ikari, T., Kitamura, K., Kitani, Y., Endo, M., Urata, M., Kinoshita, Y., Hattori, A., Srivastav, A.K., Mishima, H., Mizusawa, K., Takahashi, A. and Suzuki, N., 2018, α -melanocyte-stimulating hormone promotes the bone resorption resulting from increased osteoblastic and osteoclastic activities in goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, **262**, 99-105.
- (3) Kamei, H., Yoneyama, Y., Hakuno, F., Sawada, R., Shimizu, T., Duan, C. and Takahashi, S., 2018, Catch-up growth in zebrafish embryo requires neural crest cells sustained by Irs1-signaling. *Endocrinology*, **159**, 1547-1560.
- (4) Kawai, M., Suzuki, N., Sekiguchi, T., Yamamoto, T. and Ohura, K., 2018, Cloning of the parathyroid hormone receptor in Japanese quails. *Journal of Hard Tissue Biology*, **27**, 17-22.
- (5) Nishi, H., Yamanaka, D., Kamei, H., Goda, Y., Kumano, M., Toyoshima, Y., Takenaka, A., Masuda, M., Nakabayashi, Y., Shioya, R., Kataoka, N., Hakuno, F. and Takahashi, S-I., 2018, Importance of serum amino acid profile for induction of hepatic steatosis under protein malnutrition. *Scientific Reports*, **8**, 5461.
- (6) Imamichi, Y., Sekiguchi, T., Kitano, T., Kajitani, T., Okada, R., Inaoka, Y., Miyamoto, K., Uwada, J., Islam Khan, M.R., Islam, M.T., Yuhki, K., Kashiwagi, H., Ushikubi, F., Suzuki, N., Taniguchi, T. and Yazawa, T., 2017, Diethylstilbestrol administration inhibits theca cell androgen and granulosa cell estrogen production in immature rat ovary. *Scientific Reports*, **7**, 8374.
- (7) Kamei, H., 2017, Insulin-like signaling and multipotent stem cells cooperatively contribute to the catch-up growth in zebrafish embryos. *Proceedings of KU-PSU-CTU Joint Symposium in conjunction with 5th Kanazawa University-Prince of Songkla University Joint Workshop*, **F06**, 1-2.
- (8) Kase, Y., Ikari, T., Sekiguchi, T., Sato, M., Ogiso, S., Kawada, T., Matsubara, S., Satake, H., Sasayama, Y., Endo, M., Kitamura, K., Hattori, A., Watanabe, T.X., Maruyama, Y., Watanabe, Y., Funahashi, H., Kambegawa, A. and Suzuki, N., 2017, Sardine procalcitonin amino-terminal cleavage peptide has a different action from calcitonin and promotes osteoblastic activity in the scales of goldfish. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A*, **211**, 77-83.
- (9) Kase, Y., Ogiso, S., Ikari, T., Sekiguchi, T., Sasayama, Y., Kitani, Y., Shimasaki, Y., Oshima, Y., Kambegawa, A., Tabuchi, Y., Hattori, A. and Suzuki, N., 2017, Immunoreactive calcitonin cells in the nervous system of polychaete *Perinereis aibuhitensis*. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, **62**, 381-385.
- (10) Mori, T., Yanagisawa, Y., Kitani, Y., Yamamoto, G., Goto-Inoue, N., Kimura, T., Kashiwagi, K. and Kashiwagi, A., 2017, The constant threat from a non-native predator increases tail muscle and fast-start swimming performance in *Xenopus* tadpoles. *Biology Open*, **6**, 1726-1733.
- (11) Rajan, B., Patel, D.M., Kitani, Y., Viswanath, K. and Brinckmann, M.F., 2017, Novel mannose binding natterin-like protein in the skin mucus of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish and Shellfish Immunology*, **68**, 452-457.

- (12) Sato, M., Yachiguchi, K., Motohashi, K., Yaguchi, Y., Tabuchi, Y., Kitani, Y., Ikaria, T., Ogiso, S., Sekiguchi, T., Hai, T.N., Huong, D.T.T., Hoang, N.V., Urata, M., Mishima, H., Hattori, A. and Suzuki, N., 2017, Sodium fluoride influences calcium metabolism resulting from the suppression of osteoclasts in the scales of nibbler fish *Girella punctate*. *Fisheries Science*, **83**, 543–550.
- (13) Srivastav, A.K., Srivastava, S., Srivastav, S.K. and Suzuki, N., 2017, Acute toxicity of organophosphate insecticide chlorpyrifos to an anuran, *Rana cyanophlyctis*. *Iranian Journal of Toxicology*, in press
- (14) Suzuki, N., Nakano, J., Kawabe, K., Toriba, A., Hayakawa, K., Tang, N., Sekiguchi, T., Tabuchi, Y., Ikegame, M., Shimizu, N., Mishima, H., Hattori, A., Srivastav, A.K. and Kitani, Y., 2017, Benz[a]anthracene decreases plasma calcium levels resulting from influence of scale osteoclastic and osteoblastic activities in goldfish. *International Journal of Zoological Investigations*, **3**, 72-81.
- (15) Takagi, H., Nishibori, Y., Katayama, K., Katada, T., Takahashi, S., Kiuchi, Z., Takahashi, S.I., Kamei, H., Kawakami, H., Akimoto, Y., Kudo, A., Asanuma, K., Takematsu, H. and Yan, K., 2017, USP40 gene knockdown disrupts glomerular permeability in zebrafish. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, **312**, 702-715.
- (16) Yin, X., Kiriake, A., Ohta, A., Kitani, Y., Ishizaki, S. and Nagashima, Y., 2017, A novel function of vitellogenin subdomain, vWF type D, as a toxin-binding protein in the pufferfish *Takifugu pardalis* ovary. *Toxicon*, **136**, 56-66.
- (17) Yokokura, T., Kamei, H., Shibano, T., Yamanaka, D., Sawada-Yamaguchi, R., Hakuno, F., Takahashi, S. and Shimizu, T., 2017, The short-stature homeobox-containing gene (*shox/SHOX*) is required for the regulation of cell proliferation and bone differentiation in zebrafish embryo and human mesenchymal stem cells. *Frontiers in Endocrinology*, **8**, 125.
- (18) 池亀美華・村埜淑恵・國定勇希・服部淳彦・鈴木信雄・山本敏男, 2017, キンギョ鱗における多核破骨細胞形成に関する形態学的研究：筋肉内自家移植鱗を用いた解析. 岡山歯学会雑誌, **35**, 37-42.
- (19) 木下靖子・浦田 慎・小木曾正造・谷内口孝二・又多政博・鈴木信雄, 2017, スルメイカの食文化と地域教材化. のと海洋ふれあいセンター研究報告, **23**, 25-30.
- (20) 近藤薫平・小木曾正造・谷内口孝治・又多政博・関口俊男・村上隆也・柳井清治・浦田 慎・木下靖子・鈴木信雄, 2017, ビオトープを利用したアカテガニの生態学的研究. のと海洋ふれあいセンター研究報告, **23**, 17-24.
- (21) 松本京子・岳野公人・浦田慎・松原道男・加藤隆弘・鈴木信雄・早川和一, 2017, 地域に根ざした学校教育活動が子どもの定住志向に与える影響に関する研究－石川県能登町における海洋教育の事例から－. 環境教育, **27**, 16-22.
- (22) 浦田 慎・松本京子・清本正人・松原道男・鈴木信雄, 2017, 能登町の小学校授業におけるウニの発生実験の活用. 日本海域研究, **48**, 1-8.

2) 総説・解説等

なし

3) 著書

- (1) Kamei, H. and Duan, C., 2018, Hypoxic treatment of zebrafish embryos and larvae. In “Hypoxia: Methods and Protocols (*Methods in Molecular Biology 1742*)” Ed. by L. Eric Huang, Springer Nature, 195-203.

- (2) Suzuki, N., Ikari, T., Sato, M., Toriba, A., Sekiguchi, T., Kitani, Y., Ogiso, S., Yachiguchi, K., Hattori, A., Oshima, Y. and Hayakawa, K., 2018, Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and marine invertebrates. In “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Environmental Behavior and Toxicity in East Asia” Ed. By K. Hayakawa, Springer, Heidelberg, Germany, 245-259.

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表及び講演会

- (1) Ikari, T., Kitani, Y., Ogiso, S., Sekiguchi, T., Toyohara, C., Nakayama, Y., Maruyama, Y., Hattori, A., Tabuchi, Y., Kambegawa, A., Asahina, K., Fukushi, K. and Suzuki, N., Plasma cortisol levels decreases in marine fishes kept in deep ocean water. International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership”. Shiinoki Cultural Complex, Kanazawa, Ishikawa, Japan (2018.3.3-4).
- (2) Ishizu, H., Sekiguchi, T., Ikari, T., Kitamura, K., Kitani, Y., Endo, M., Urata, M., Hattori, A., Mizusawa, K., Takahashi, A. and Suzuki, N., α -melanocyte-stimulating hormone functions to calcium metabolism in goldfish. International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership”. Shiinoki Cultural Complex, Kanazawa, Ishikawa, Japan (2018.3.3-4).
- (3) Kozaka, Y., Horikawa, H. and Suzuki, N., Substitution of Ca in hydroxyapatite (fish teeth/bone) by rare earth elements in seawater. 平成 29 年度共同利用採択研究の成果報告「環日センターが育む共同利用の輪」, 石川県政記念しいのき迎賓館, 石川県 (2018.3.2-3).
- (4) Matsunaka, T., Nagao, S., Inoue, M., Ochiai, S., Hayakawa, K., Tang, N., Suzuki, N., Ogiso, S., Ando, H., Shimotani, T., Hirohashi, N., Nishizaki, M., Morita, T., Miki, S., Aramaki, T., Kudo, I., Honda, N., Takikawa, T., Sasa, K., Honda, M. and Sueki, K., Anthropogenic iodine-129 and PAHs in seawater from the Japan Sea and the southern Okhotsk Sea. International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership”. Shiinoki Cultural Complex, Kanazawa, Ishikawa, Japan (2018.3.3-4).
- (5) Osaka, Y. and Kitani, Y., Antibacterial l-amino acid oxidase in the red-spotted grouper serum. International Symposium “Environmental researches in northern Japan Sea and related regions: Renewed horizon of Japan-Russia scientific partnership”. Shiinoki Cultural Complex, Kanazawa, Ishikawa, Japan (2018.3.3-4).
- (6) Sekiguchi, T., Evolution of calcitonin gene-related peptide family from invertebrate to vertebrates. Biological Sciences Seminars, University of Auckland, Auckland, New Zealand (2018.2.26). 招待講演
- (7) 三島弘幸・服部淳彦・鈴木信雄・松本 敬・池亀美華・見明康雄・松本由樹, 象牙質や象牙質結晶に対するメラトニンの影響. 第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会, 日本獣医生命科学大学・日本医科大学武蔵野キャンパス, 東京都 (2018.3.28-30).
- (8) 小木曾正造・又多政博・鈴木信雄, 能登半島九十九湾に生息するマシコヒゲムシ. 第 2 回富山湾研究会, 石川県文教会館, 石川県 (2018.3.5-6).
- (9) 小坂優斗・木谷洋一郎, キジハタ *Epinephelus akaara* 血清に含まれる L-アミノ酸オキシダーゼについて. 平成 30 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京都 (2018.3.26-30).
- (10) 鈴木信雄, 地域に根ざした海洋教育. 第 2 回富山湾研究会, 石川県文教会館, 石川県 (2018.3.5-6).

- (11) 鈴木信雄・石津偉統・木谷洋一郎・五十里雄大・関口俊男・北村敬一郎・遠藤雅人・服部淳彦・水澤寛太・高橋明義, 魚類の骨代謝に対する黒色素胞刺激ホルモンの影響: *in vivo* 及び *in vitro* による解析. 平成 30 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京都 (2018.3.26-30).
- (12) 鈴木信雄・半本泰三・田渕圭章・近藤 隆・池亀美華・北村敬一郎・関口俊男・小林 功・関あずさ・服部淳彦, LIPUS に対する骨芽細胞及び破骨細胞の応答: キンギョのウロコを用いた *in vitro* 及び *in vivo* の解析. 第 21 回超音波骨折治療研究会, 品川インターシティホール, 東京都 (2018.1.20).
- (13) 鈴木信雄・佐藤将之・谷内口孝治・木谷洋一郎・関口俊男・五十里雄大・小木曾正造・田渕圭章・三島弘幸・見明康雄・本橋慶一・矢口行雄・服部淳彦, フッ素の硬骨魚類の骨代謝に与える影響. 第 2 回富山湾研究会, 石川県文教会館, 石川県 (2018.3.5-6).
- (14) 田渕圭章・佐藤将之・木谷洋一郎・関口俊男・鈴木信雄, 硬骨魚類のカルシウム代謝に対するフッ素の影響評価. 平成 29 年度共同利用採択研究の成果報告「環日センターが育む共同利用の輪」, 石川県政記念しいのき迎賓館, 石川県 (2018.3.2-3).
- (15) 上田 宏・沖野龍文・安東宏徳・庄司隆行・酒徳昭宏・鈴木信雄, 七尾湾におけるトラフグの産卵回遊メカニズムに関するプロジェクト研究. 平成 29 年度共同利用採択研究の成果報告「環日センターが育む共同利用の輪」, 石川県政記念しいのき迎賓館, 石川県 (2018.3.2-3).
- (16) 浦田 慎・木下靖子・鈴木信雄・谷内口孝治・屋敷 恵・加賀 浩, 能登町(石川県)の海洋教育と「能登モデル」~海に親しみふるさとにほこりと愛着を持つ児童の育成~. 第 5 回全国海洋教育サミット, 東京大学, 東京都 (2018.2.3-4).
- (17) 横塚峻介・木谷洋一郎・鈴木信雄・林 華絹・石崎松一郎・長島裕二, ヒライソガニ体液に含まれる麻痺性貝毒変換物質の性状解明. 平成 30 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京都 (2018.3.26-30).
- (18) Akitaya, H., Sekiguchi, T., Suzuki, N. and Wada, S., Morphological abnormalities in *Ciona intestinalis* embryos exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. 9th tunicate international meeting, New York University, USA (2017.7.17-21).
- (19) Ikari, T., Kitani, Y., Ogiso, S., Sekiguchi, T., Toyohara, C., Nakayama, Y., Maruyama, Y., Hattori, A., Tabuchi, Y., Kambegawa, A., Asahina, K., Fukushi, K. and Suzuki, N., Stress response of Noto deep ocean water in marine fishes. 3rd International Symposium “International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol”, Hotel Noto Kinpura, Ishikawa, Japan (2017.10.9-10).
- (20) Ishizu, H., Sekiguchi, T., Ikari, T., Kitamura, K., Kitani, Y., Endo, M., Urata, M., Hattori, A., Mizusawa, K., Takahashi, A. and Suzuki, N., Effects of α -melanocyte-stimulating hormone on osteoblasts and osteoclasts in the regenerating scales of goldfish. 3rd International Symposium “International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol”, Hotel Noto Kinpura, Ishikawa, Japan (2017.10.9-10).
- (21) Kamei, H., Roles of insulin receptor substrates in controlling embryonic growth in response to changing environmental oxygen tension. 18th International Congress of Comparative Endocrinology, Lake Louise, Alberta, Canada (2017.6.4-9). 招待講演
- (22) Kamei, H., Insulin-like signaling and multipotent stem cells cooperatively contribute to the catch-up growth in zebrafish embryos. KU-PSU-CTU Joint Symposium in conjunction with 5th Kanazawa University-Prince of Songkla University Joint Workshop, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2017.10.13). 招待講演

- (23) Matsumoto, K., Takeno, K., Urata, M., Matsubara, M., Kato, T., Suzuki, N. and Hayakawa, K., Research on influence on children's consciousness changes through community - based education: A case study of marine education in elementary and junior high schools. 4th International Conference on Applied Electrical and Mechanical Engineering 2017, Royal Nakhara Hotel and Convention Centre, Nongkhai, Thailand (2017.8.31-9.2).
- (24) Mishima, H., Tanabe, S., Hattori, A., Suzuki, N., Kakei, M., Matumoto, T., Ikegame, M., Miake, Y. and Matsumoto, Y., Effect of circadian rhythm synchronous factor melatonin on structure, composition, and calcification of dentin and odontoblasts. The 14th International Symposium on Biomineralization, Tsukuba International Congress Center, Ibaraki, Japan (2017.10.9-13).
- (25) Osaka, Y. and Kitani, Y., Purification and characterization of the antibacterial l-amino acid oxidase in the red-spotted grouper serum. 3rd International Symposium "International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol", Hotel Noto Kinpura, Ishikawa, Japan (2017.10.9-10).
- (26) Sekiguchi, T., Taniguchi, S., Nakayama, S., Ogasawara, M., Wada, S., Satake, H. and Suzuki, N., Localization analysis of cionin, cholecystokinin/gastrin ortholog, and its receptor in ascidian, *Ciona intestinalis*. 9th tunicate international meeting, New York University, USA (2017.7.17-21).
- (27) Sekiguchi, T., Ecotoxicological analysis of the influence of marine pollutants on marine animals. 3rd International Symposium "International Collaboration Research Base for Reaction of Atmosphere-Marine-Ecosystem Caused by Aerosol", Hotel Noto Kinpura, Ishikawa, Japan (2017.10.9-10). 招待講演
- (28) Suzuki, N., Biological effect of the polycyclic aromatic hydrocarbons: Toxic analysis for the aquatic animals. Symposium on Collaboration Research between POI of FEBRAS and INET of Kanazawa University: Behavior of Organic Pollutants and Radionuclides in the Japan Sea. Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2017.5.15). 招待講演
- (29) Suzuki, N., Fish research at Kanazawa University. KU-PSU-CTU Joint Symposium in conjunction with 5th Kanazawa University-Prince of Songkla University Joint Workshop, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2017.10.13). 招待講演
- (30) Suzuki, N., Influence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish bone metabolism. The Fourth International Conference on Advanced Sciences, Sunny Days Hotel, Hurghada, Egypt (2017.11.7-10). 招待講演
- (31) Yokozuka, S., Kitani, Y., Suzuki, N., Ishizaki, S. and Nagashima, Y., Bio-transformation of paralytic shellfish toxin by the hemolymph of shore crab *Gaeticte depressus*. The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium "Fisheries Science for Future Generations" (2017.9.22-24).
- (32) 五十里雄大・佐藤将之・小木曾正造・関口俊男・豊原知足・服部淳彦・神戸川 明・朝比奈 潔・鈴木信雄, 能登海洋深層水に対する海産硬骨魚類のストレス応答. 日本動物学会第 88 回富山大会, 富山県民会館, 富山県 (2017.9.21-23).
- (33) 石津偉統・五十里雄大・木谷洋一郎・小木曾正造・関口俊男・服部淳彦・高橋明義・鈴木信雄, 黒色素胞刺激ホルモンはキンギョの骨芽細胞及び破骨細胞を活性化する. 日本動物学会第 88 回富山大会, 富山県民会館, 富山県 (2017.9.21-23).
- (34) 石津偉統・関口俊男・五十里雄大・木谷洋一郎・北村敬一郎・浦田 慎・遠藤雅人・服部淳彦・水澤寛太・高橋明義・鈴木信雄, 黒色素胞刺激ホルモンはキンギョの再生ウロコの骨芽細胞と破骨細胞を活性化する. 第 42 回日本比較内分泌学会およびシンポジウム, 奈良女子大学, 奈良県 (2017.11.17-19).

- (35) 亀井宏泰, 正常と異常のはざままで起こる特異な成長 『追いつき成長』のしくみを探る. テニ
ュアトラックランチセミナー. 金沢大学, 石川県 (2017.02.21).
- (36) 亀井宏泰, 成長・代謝制御の新しい視点: サカナをモデルにした成長制御機構の解明, 第 35
回内分泌代謝サマーセミナー (生殖と成長、若さの内分泌学)・シンポジウム 成長の比較内
分泌学. 水上, 群馬 (2017.7.13-15). 招待講演
- (37) 亀井宏泰, 魚を使って解き明かす成長の仕組み. 2017 年度 金沢大学プログラム, 日本海イ
ノベーション会議, 金沢大学が拓くアクアバイオのフロンティア～能登新拠点を中核とした
水棲生物の研究～, 北國新聞本社ビル, 石川県 (2017.9.30). 招待講演
- (38) 亀井宏泰, 小型魚類を用いた『追いつき成長』の研究. テニユアトラック成果発表会. 金沢
大学, 石川県 (2017.11.27).
- (39) 木谷洋一郎, 魚が病気とたたかう仕組み. 2017 年度 金沢大学プログラム, 日本海イノベ
ーション会議, 金沢大学が拓くアクアバイオのフロンティア～能登新拠点を中核とした水棲生
物の研究～, 北國新聞本社ビル, 石川県 (2017.9.30). 招待講演
- (40) 木谷洋一郎, 魚類の生体防御: 抗微生物因子としての L-アミノ酸オキシダーゼ. テニユアト
ラックランチセミナー. 金沢大学, 石川県 (2017.11.21).
- (41) 木谷洋一郎, 魚類の抗微生物因子について-抗菌物質としての L-アミノ酸オキシダーゼ-. テ
ニユアトラック成果発表会. 金沢大学, 石川県 (2017.11.27).
- (42) 北村敬一郎・池亀美華・鈴木信雄, キンギョ高血糖モデルにおける骨代謝および糖化ウロコ
コラーゲンの架橋解析. 平成 29 年度日本動物学会中部支部大会, 岐阜大学, 岐阜県 (2017.12.9-
10).
- (43) 木下靖子・浦田 慎・鈴木信雄・谷内口孝治・早川和一, 能登里海研究所「里海科」の取り
組み. 平成 29 年度日本動物学会中部支部大会, 岐阜大学, 岐阜県 (2017.12.9-10).
- (44) 三島弘幸・田辺咲貴・服部淳彦・鈴木信雄・寛 光男・松本 敬・池亀美華・見明康雄・松
本由樹, 概日リズム同調因子メラトニンによる象牙質や象牙芽細胞の組織構造への影響. 化
石研究会第 35 回総会・学術大会, 福井県立恐竜博物館, 福井県 (2017.6.3-4).
- (45) 関口俊男・半本泰三・谷口詩穂・谷内口孝治・鈴木信雄, 円口類カワヤツメ (*Lethenteron
japonicum*) におけるカルシトニンの分子構造解析. 日本動物学会第 88 回富山大会, 富山県
民会館, 富山県 (2017.9.21-23).
- (46) 鈴木 碧・ロバートジェンキンス・小木曾正造・又多政博・鈴木信雄, ウミガメ遺骸の腐敗
過程と, 遺骸に成立する生態系の解明. JpGU-AGU Joint Meeting 2017, 幕張メッセ, 千葉県
(2017.5.20-25).
- (47) 鈴木信雄, 目指セイカ博士. (公開講演会), 小木漁業協同組合, 石川県 (2017.6.4).
- (48) 鈴木信雄, サメを解剖してみよう! (公開講演会), 海みらい図書館, 石川県 (2017.6.7).
- (49) 鈴木信雄, 骨代謝—メラトニンの骨代謝に対する作用: ウロコを骨モデルとして用いた解析.
シンポジウム (メラトニンと多彩な機能), 日本動物学会第 88 回富山大会, 富山県民会館,
富山県 (2017.9.21-23). 招待講演
- (50) 鈴木信雄, 金沢大学が目指すアクアバイオの研究. 2017 年度 金沢大学プログラム, 日本海
イノベーション会議, 金沢大学が拓くアクアバイオのフロンティア～能登新拠点を中核とし
た水棲生物の研究～, 北國新聞本社ビル, 石川県 (2017.9.30). 招待講演
- (51) 鈴木信雄, 越境汚染物質の魚類への影響評価. 環日本海域統合研究の国際的展開, 金沢大学,
石川県 (2017.11.28).
- (52) 田淵圭章・長谷川英之・藤森沙月・鈴木信雄・竹内真一・近藤 隆・望月 剛, マウス ST2
骨髄間質細胞の細胞増殖と骨芽細胞分化に対する低出力パルス超音波の効果. 第 90 回超音
波医学会学術集会, 栃木県総合文化センター, 栃木県 (2017.5.26-28).

- (53) 浦田 慎・木下靖子・鈴木信雄・谷内口孝治, 学校現場における海洋教育の新たな展開～能登モデルと水生生物の教材化～. 平成 29 年度東京大学大気海洋研究所共同利用研究集会-水族館の展示と研究. その相互作用を探る, 東京大学大気海洋研究所, 千葉県 (2017.12.11-12).

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 亀井宏泰：インスリンシグナル関連分子の初期発生における役割に関する研究, 東京大学大学院農学生命科学研究科准教授 高橋伸一郎, 同助教 伯野史彦
- (2) 亀井宏泰：クルマエビの成熟に関する効果的なスーパーホルモンの創生に関する研究, 神奈川大学理学部教授 大平剛
- (3) 亀井宏泰：造血幹細胞の発生に関する研究, 金沢大学理工研究域生命理工学系助教 小林功
- (4) 亀井宏泰：追いつき成長における HOX 関連分子の機能解析, 金沢大学理工研究域生命理工学系教授 山口正晃
- (5) 亀井宏泰：追いつき成長におけるエネルギーセンサー分子の役割に関する研究, 東京薬科大学生命科学部教授 伊藤昭博, 金沢大学理工研究域生命理工学系助教 小林功
- (6) 亀井宏泰：初期胚の成長遅滞と追いつき成長における代謝変化に関する研究, 東京大学大学院農学生命科学研究科助教 山中大介
- (7) 亀井宏泰：初期胚の成長遅滞と追いつき成長における ROS の役割に関する研究, パリ第 7 大学 (フランス) Prof. Sophie Vrız
- (8) 木谷洋一郎：カニ体液中の貝毒解毒機構について, 東京海洋大学食品生産学部門教授 長島裕二
- (9) 木谷洋一郎：ベラ類血液中の生理活性物質について, 日本大学生物資源科学部教授 朝比奈潔
- (10) 木谷洋一郎：サケ科魚類体表における抗微生物ペプチドの役割, NORD University (ノルウェー王国) Prof. Kiron Viswanath
- (11) 関口俊男：原索動物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
- (12) 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
- (13) 関口俊男：魚類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
- (14) 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 ライフサイエンス技術基盤研究センター 分子配列比較解析ユニット ユニットリーダー 工樂樹洋
- (15) 関口俊男：インドール化合物の放射線防御機構解明, 福井大学 分子生体情報学分野准教授 水谷哲也
- (16) 関口俊男：インドール化合物の放射線防御機構解明, 富山大学大学院医学薬学研究部助教 趙 慶利
- (17) 関口俊男：ホルモンペプチドの薬理学的研究, オークランド大学 (ニュージーランド) Prof. Debbie L. Hay
- (18) 関口俊男：イカの腸内細菌についての研究, オークランド工科大学 (ニュージーランド) Prof. Steve B. Pointing
- (19) 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
- (20) 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

- (21) 鈴木信雄：魚類の骨代謝に対するフッ素の影響に関する研究，カントー大学（ベトナム）
Dr. Tran Ngoc Hai, 富山大学研究推進機構研究推進総合支援センター教授 田淵圭章
- (22) 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，新潟大学
理学部附属臨海実験所教授 安東宏徳
- (23) 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
俣病研究センター生理影響研究室長 山元 恵，東京慈恵会医科大学教授 高田耕司
- (24) 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
- (25) 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准教授
池亀美華
- (26) 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，
広島大学 ナノデバイス・バイオ融合科学研究所教授 岩坂正和
- (27) 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，独立行政法人水産総合研究センター 東北区水産研究所 海区水産業研究部 資
源培養研究室長 黒川忠英
- (28) 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，富
山大学研究推進機構研究推進総合支援センター教授 田淵圭章，昭和大学准教授 舟橋久幸，
JAXA 主任研究員 矢野幸子
- (29) 鈴木信雄：歯の石灰化に関する研究，鶴見歯科大学講師 三島弘幸
- (30) 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，同研究センター 特別研究員 木村史子
- (31) 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，同教授 唐原一郎
- (32) 鈴木信雄：魚のウロコを用いた宇宙生物学的研究，亜細亜大学経済学部教授 大森克徳，
JAXA 主任研究員 矢野幸子，富山大学大学院理工学研究部教授 松田恒平
- (33) 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，同准教授 島崎洋平
- (34) 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，神奈川歯科大学特任教授 高垣裕子，朝日大学歯学部教授 江尻貞一
- (35) 鈴木信雄：魚類の骨代謝におけるビタミンKの作用，神戸薬科大学准教授 中川公恵
- (36) 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
研究推進機構研究推進総合支援センター教授 田淵圭章
- (37) 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
- (38) 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・主幹研究員 佐竹 炎，同主席
研究員 川田剛士
- (39) 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，同教授
田中大祐，同助教 酒徳昭宏
- (40) 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，
富山大学大学院医学薬学研究部教授 近藤 隆，同大学教授 田淵圭章
- (41) 鈴木信雄：脊椎動物の破骨細胞に対するカルシトニンの作用に関する研究，松本歯科大学大
学院歯学独立研究科教授 高橋直之，同大学准教授 山下照仁
- (42) 鈴木信雄：黒色素胞刺激ホルモンの魚類の骨代謝に対する作用に関する研究，北里大学海洋
生命科学部教授 高橋明義，京都大学フィールド科学教育研究センター里域生態系部門准教
授 田川正朋，東北大学農学研究科教授 鈴木 徹

2) 共同利用・共同研究（文科省）

- (1) 木谷洋一郎：海産魚類のカルシウム代謝に対するフッ素の影響評価（一般研究），富山大学研究推進機構研究推進総合支援センター教授 田淵圭章
- (2) 木谷洋一郎：日本海固有水が養殖魚のストレス応答に与える影響について（一般研究），日本大学生物資源科学部教授 森 司
- (3) 木谷洋一郎：日本海沿岸域に生息するカニのフグ毒抵抗性について（一般研究），東京海洋大学食品生産学部門教授 長島裕二
- (4) 関口俊男：海洋表面マイクロ層とエアロゾルの微生物動態解析（一般研究），東京大学大気海洋研所准教授 濱崎恒二
- (5) 関口俊男：環境ホルモンによる一酸化窒素合成酵素の誘導と生殖系への影響の解析（一般研究），旭川医科大学生化学講座講師 矢澤隆志
- (6) 関口俊男：PAH類が海産無脊椎動物カタユレイボヤの発生に与える影響の解明（一般研究），長浜バイオ大学バイオサイエンス学部准教授 和田修一
- (7) 鈴木信雄：七尾湾におけるトラフグの産卵回遊メカニズムに関するプロジェクト研究（重点研究），北海道大学北方生物圏フィールド科学センター特任教授・名誉教授 上田 宏
- (8) 鈴木信雄：概日リズムを調節するホルモンの魚類の骨代謝に対する影響（一般研究），岡山大学大学院医歯薬学総合研究科准教授 池亀美華
- (9) 鈴木信雄：日本海の深海生物の性と生殖に関する研究（一般研究），島根大学生物資源科学部附属センター隠岐臨海実験所教授 広橋教貴
- (10) 鈴木信雄：能登半島におけるミズクラゲの生活史に関する研究（一般研究），北里大学海洋生命科学部准教授 三宅裕志
- (11) 鈴木信雄：ノックアウトメダカを用いた異物結合排泄タンパク質 TBT-bp2 の耐病性機能（一般研究），九州大学大学院農学研究科 島崎洋平
- (12) 鈴木信雄：北陸地方住人における有害金属蓄積と発達障害・神経変性症などに関する調査（一般研究），ら・べるびい予防医学研究所学術顧問 安田 寛
- (13) 鈴木信雄：日本海における環境光によるクサフグ産卵制御システムへの影響（一般研究），新潟大学理学部附属臨海実験所特任助教 北橋隆史
- (14) 鈴木信雄：電磁波による蜆気楼発生時の大気条件に関する観測研究（一般研究），近畿大学理工学部准教授 森本健志

3) 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
- (2) 鈴木信雄：石川県温排水影響検討委員会，2014-現在
- (3) 鈴木信雄：日本海海洋調査技術連絡会，2014-現在
- (4) 鈴木信雄：石川県能登町小木港マリンタウン推進協議会，2010-現在

学会活動

- (1) 関口俊男：ペプチド・ホルモン研究会 世話人，2014-現在
- (2) 鈴木信雄：日本動物学会中部支部代表委員，2016-現在
- (3) 鈴木信雄：日本宇宙生物科学会 代議員，2012-現在

- (4) 鈴木信雄：Journal of Experimental Zoology part A (Editorial board), 2014-現在
- (5) 鈴木信雄：International Journal of Zoological Investigations (Editorial board), 2017-現在

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 関口俊男，基盤研究 (C)，硬骨を持たない原始的脊椎動物ヤツメウナギにおける新規カルシウム代謝機構の解明，代表者，平成 29 年度，1,300,000 円。
- (2) 鈴木信雄，基盤研究 (C)，黒色素胞刺激ホルモンの骨への新規作用：再生能力が高い硬組織（ウロコ）を用いた解析，代表者，平成 29 年度，1,100,000 円。
- (3) 鈴木信雄，基盤研究 (C)，新規 2 型糖尿病骨代謝モデルによる糖尿病骨代謝機構解析と運動による改善法の提案（代表：北村敬一郎，金沢大学医薬保健研究域保健学系・教授），分担者，平成 29 年度 100,000 円（平成 28 年度の直接経費 total 800,000 円）。
- (4) 鈴木信雄，基盤研究 (C)，時刻情報伝達物質であるメラトニンによる象牙質の組織構造と象牙芽細胞の制御機構（代表：三島弘幸，高知学園短期大学・教授），分担者，平成 29 年度，50,000 円（平成 29 年の直接経費 total 500,000 円）。
- (5) 鈴木信雄，基盤研究 (C)，硬骨を持たない原始的脊椎動物ヤツメウナギにおける新規カルシウム代謝機構の解明（代表：関口俊男，金沢大学），分担者，平成 29 年度，100,000 円（平成 29 年度の直接経費 total 1,300,000 円）。
- (6) 木谷洋一郎，若手 (B)，魚類の血液中に存在する新規生体防御因子の活性制御機構について，代表者，平成 29 年度，1,200,000 円

2) 受託研究費

なし

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄，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，代表者，190,500 円

4) 研究助成金等

- (1) 鈴木信雄，ソルトサイエンス研究財団，魚類のストレスを低減する能登海洋深層水に関する研究，代表者，1,000,000 円
- (2) 木谷洋一郎，東和食品研究振興会，魚類ウロコを用いた抗炎症成分の探索，代表者，2,000,000

【新聞発表】

- (1) 鈴木信雄・関口俊男・木谷洋一郎・亀井宏泰，平成29年4月30日（北國新聞）：いしかわシェイクレヅ海洋生化学演習に関する記事
- (2) 鈴木信雄，平成29年6月27日（北陸中日新聞）：海みらい図書館での公開講演会の記事
- (3) 鈴木信雄・関口俊男・木谷洋一郎・亀井宏泰，平成29年8月30日（北陸中日新聞）：全国公開臨海実習に関する記事
- (4) 鈴木信雄・木谷洋一郎・亀井宏泰，平成29年10月25日（北國新聞）：日本海イノベーション会議に関する記事

【利用状況】

1) 利用者数及び船舶の使用状況

平成29年度臨海実験施設利用者数（延べ人数 3,693人の内訳）

(月)	研究者		学生	
	学内利用	学外利用	学内利用	学外利用
4	40	36	98	39
5	40	98	88	33
6	60	45	111	20
7	100	83	78	359
8	48	87	163	313
9	56	27	224	180
10	137	71	225	80
11	53	56	136	16
12	40	17	88	15
1	31	18	66	2
2	32	46	41	1
3	31	63	0	2
合計	668	647	1,318	1,060

平成29年度臨海実験施設船舶使用回数及び人数（延べ回数 123回、人数 858人の内訳）

(月)	くろさぎ				あおさぎ			
	学内利用		学外利用		学内利用		学外利用	
	回数	人数	回数	人数	回数	人数	回数	人数
4	3	6	0	0	2	16	2	10
5	4	11	0	0	6	17	3	45
6	5	10	0	0	1	1	0	0
7	2	3	1	6	6	36	4	140
8	12	42	7	109	7	57	5	81
9	2	4	1	17	4	44	2	34
10	1	3	0	0	7	79	1	12
11	4	17	3	6	3	5	0	0
12	3	8	0	0	4	8	0	0
1	3	5	0	0	8	15	0	0
2	2	4	0	0	3	4	0	0
3	1	2	0	0	1	1	0	0
合計	42	115	12	138	52	283	17	322

研 究 報 告

* 海洋深層水の魚類生理に及ぼす影響

五十里雄大 (p17-18)

* キンギョにおいて黒色素胞刺激ホルモンは骨吸収を促進する

石津偉統 (p19-20)

* キジハタ (*Epinephelus akaara*) 血清中の抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼ： 精製と性状

小坂優斗, 木谷洋一郎 (p21-22)

* ゼブラフィッシュ胚の追いつき成長におけるインスリン受容体基質 2 の役割

座主彩香, 亀井宏泰 (p23-25)

* 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 29 年度)

小木曾正造, 又多政博 (p26-27)

海洋深層水の魚類生理に及ぼす影響

五十里雄大

〒920-0553 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

Ikari TAKAHIRO: Influence of deep ocean water on fish physiology

【Introduction】

Deep ocean water (DOW) is cold, salty water found 200 m below the surface of Earth's oceans. Three major characteristics of DOW—low temperature, rich nutrients, and cleanliness—make DOW suitable for various applications. In Japan, DOW has been utilized as an industrial refrigerant or in health goods. In aquaculture, experience has also shown that seaweed, shrimp, and fish bred in DOW grow faster than those bred in surface seawater. Therefore, DOW is now recognized as a high resources-related seawater in Japan. As described above, the growth of fish bred in DOW is promoted. However, until now, there has been little scientific evidence regarding the mechanism of effectiveness for aquaculture. Also, the benefits of DOW for fish have not been understood scientifically. Experience has shown that stress is reduced for fish bred in DOW. Therefore, in this study, I noted the stress response of fish and measured plasma cortisol (known as stress hormone) levels in both nibbler fish and flounder bred in surface seawater or DOW. In vertebrates, cortisol, one glucocorticoid secreted from the adrenal gland (internal gland in teleost), is known as a stress hormone. In mammals, including humans, it is known that cortisol regulates carbohydrates, lipids, and protein metabolism and is an essential hormone for the living body. However, excess cortisol suppresses osteoblastic activity and aggravates muscle resolution. Chronic stress is harmful to our health and might inhibit our growth. I strongly believe that the growth-promoting effect of DOW in fish is explained by decreased stress hormones. To examine the influence of DOW on stress reaction, therefore, I measured plasma cortisol levels in fish bred in surface seawater or DOW.

【Materials and Methods】

Nibbler fish (*Girella punctata*) were caught by fishing in Tsukumo Bay of the Noto Peninsula (Ishikawa Prefecture). In addition, flounder (*Paralichthys olivaceus*) were purchased from a commercial source (Marinetech Co. Ltd., Aichi, Japan). The fish were used in the present experiments after acclimation for approximately two weeks. Nibbler fish and flounder were anesthetized with a 0.04% 2-phenoxyethanol (Wako Co. Ltd., Osaka, Japan) solution. To determine initial cortisol levels, blood sampling was performed. A heparinized syringe was used to collect blood samples from the caudal vessels of individual anesthetized nibbler fish and flounder. The collected blood was put into 1.5 ml tubes. The tubes were then centrifuged at 15,000 rpm for 3 min. The separated plasma was immediately frozen and kept at -80°C until use. After both types of fish were bred in surface seawater and DOW, blood samples were taken again, and the plasma was separated by centrifugation as described above. Thereafter, the plasma cortisol level was determined using an ELISA kit (Cosmo Bio Co. Ltd., Tokyo, Japan). In addition, the biochemicals of the collected plasma were analyzed.

【Results】

Experiment 1: Ten individual nibbler fish were divided into two groups: a surface seawater group (n = 5) and a DOW group (n = 5). These fish bred for 5 days. After breeding, blood sampling was done. Plasma cortisol levels were measured by ELISA. Results showed that the plasma cortisol levels in the DOW group were significantly lower than those in the surface seawater group.

Experiment 2: Fourteen individual nibbler fish were divided into two groups—a surface seawater group (n = 7) and a DOW group (n = 7)—after blood sampling. These fish bred for 10 days. At 5 and 10 days after breeding, blood sampling was done. Plasma cortisol levels were measured by ELISA. The plasma cortisol levels had increased in nibbler fish kept in surface seawater, but the plasma cortisol levels in nibbler fish kept in DOW did not change from the initial level.

Experiment 3: Sixteen individual flounder were divided into two groups—a surface seawater group (n = 8) and a DOW group (n = 8)—after blood sampling. These fish bred for 10 days. Five and 10 days after breeding, blood sampling was done. Plasma cortisol levels were measured by ELISA. The plasma cortisol levels increased in flounder kept in surface seawater, but the cortisol levels in flounder kept in DOW did not change from the initial level, as in nibbler fish.

Experiment 4: Sixteen individual flounder were divided into two groups—a surface water group (n = 8) and a DOW group (n = 8)—after blood sampling. These fish bred for 10 days. Ten days after breeding, blood sampling was done. Biochemical analyses were done. Total protein, albumen, and blood urea nitrogen levels did not change in the two groups. There were no differences in the plasma sodium, potassium, and chloride concentration between the surface seawater group and the DOW group.

【Discussion】

DOW is cold, salty water found 200 m below the surface of Earth's oceans. Three major characteristics of DOW—low temperature, rich nutrients, and cleanliness—make it suitable for various applications. For aquaculture, the growth of seaweed and shrimp was promoted by breeding in DOW. However, until now, there has been little scientific evidence regarding the mechanism of effectiveness for aquaculture. Therefore, in the present study, I noted the stress response of fish and measured plasma cortisol levels in fish (nibbler fish and flounder) bred in surface seawater or DOW. In addition, biochemical analyses of the plasma of flounder were completed 10 days after breeding. In both nibbler fish and flounder, I demonstrated that the plasma cortisol level of fish kept in DOW did not change from the initial level, although the plasma cortisol levels of both fish kept in surface seawater increased remarkably. There were no differences in the plasma sodium, potassium, and chloride concentrations between the surface seawater group and the DOW group. Experience has caused us to believe that long-term breeding without stressing fish is possible when we breed them in DOW.

本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科生命科学専攻 五十里雄大氏の学位論文の一環として行われた。

キンギョにおいて黒色素胞刺激ホルモンは骨吸収を促進する

石津偉統

〒920-0553 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

Hidenori ISHIZU: α -melanocyte-stimulating hormone promotes bone resorption in goldfish

α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) is a peptide hormone whose amino acid sequence is well conserved among vertebrates and functions in several tissues *via* melanocortin receptors. Recently, a new function of α -MSH has been determined. Namely, it has been reported that humans deficient in melanocortin receptor 4 have markedly increased bone mass (Farooqi et al., 2000).

In fish, the effect of MSH on bone metabolism has not been investigated because there is no system for evaluating fish osteoblasts and osteoclasts. Therefore, we developed an evaluation system using the regenerating scales of goldfish (Suzuki et al., 2016). Using this system, I examined the effects of α -MSH on the regeneration of goldfish scales that have osteoblasts and osteoclasts in an *in vivo* experiment. An *in vitro* experiment was then performed to confirm the result of the *in vivo* experiment. In addition, the detailed mechanism of α -MSH on bone metabolism was analyzed by real-time PCR.

Experiment 1: Effects of α -MSH on osteoblastic and osteoclastic activities in regenerating scales and plasma calcium levels in goldfish (*in vivo* experiment)

To investigate the effect of α -MSH on the regeneration process of goldfish scales, I removed scales on the left side and injected α -MSH (low dose, 0.1 μ g/g of body weight or high dose, 1 μ g/g of body weight) to goldfish.

Injection of α -MSH was performed immediately after removing the scales. Then, the goldfish with removed scales was injected with α -MSH at 3, 5, 7, and 9 days. On the 10th day after injection, the activity of osteoblasts and osteoclasts on the regenerating scales was measured. Osteoblastic and osteoclastic activities were measured as respective marker enzyme (alkaline phosphatase for osteoblasts, tartrate-resistant acid phosphatase for osteoclasts) activity. The calcium concentration in the blood was also measured.

At both doses, osteoblastic and osteoclastic activities in the regenerating scales increased significantly. Plasma calcium concentrations in the α -MSH-treated group (high doses) were significantly higher than those in the control group (Fig.1).

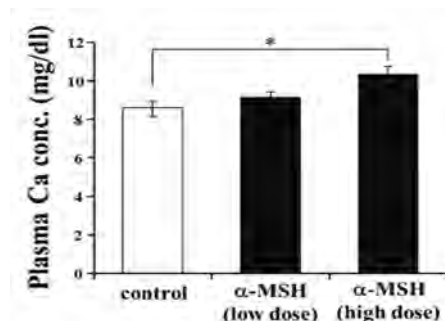


Fig. 1. Effects of α -MSH on plasma calcium levels in goldfish. α -MSH was injected at a low dose (0.1 μ g/g body weight) or a high dose (1 μ g/g body weight) into goldfish every other day. Ten days later, we analyzed plasma calcium levels in goldfish. * indicates a statistically significant difference, at $p < 0.05$, from the values in the control scales. $n = 8$ samples; one sample from one fish.

Experiment 2: Effects of α -MSH on osteoblastic and osteoclastic activities in the scales of goldfish (*in vitro* experiment)

To confirm the results of *in vivo* experiments, *in vitro* experiments were performed. In the cultured regenerating scales, osteoblastic and osteoclastic activities significantly increased with α -MSH (10^{-7} and 10^{-6} M) treatment. In addition, real-time PCR analysis indicated that osteoclastogenesis in α -MSH-treated scales was induced *via* the receptor activator of NF κ B (RANK)/receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) pathway (Fig.2). Furthermore, we found that the mRNA expression of cathepsin K (osteoclastic functional gene) in the scales increased significantly with α -MSH treatment after 6 hours of incubation, and receptors of α -MSH were detected in the regenerating scales.

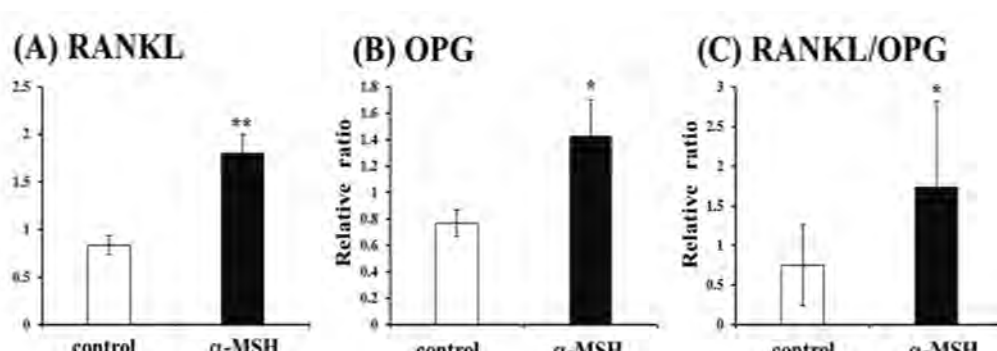


Fig. 2. Effects of α -MSH on RANKL (A) and OPG (B) mRNA expression in the regenerating scales of goldfish. The regenerating scales were incubated for 3 hours in medium supplemented with α -MSH (10^{-6} M). The expressions of RANKL and OPG mRNA were analyzed. In addition, RANKL/OPG (C) was calculated as an indicator of osteoclastogenesis. * and ** indicate statistically significant differences, at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively, from the values in the control scales. $n = 12$ samples; one sample from one fish. Elongation factor-1 α was used for normalization to each mRNA expression level (Sato et al., 2016).

【Conclusion】

In teleosts, I demonstrate that α -MSH functions in bone metabolism and promotes bone resorption. This activation was induced by the RANK/RANKL/OPG pathway.

【References】

- Farooqi, I.S., Yeo, G.S.H., Keogh, J.M., et al., 2000 Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 deficiency. *J. Clin. Invest.* 106, 271–279.
- Sato, M., Hanmoto, T., Yachiguchi, K., Tabuchi, Y., Kondo, T., Endo, M., Kitani, Y., Sekiguchi, T., Urata, M., Hai, T.N., Srivastav, A.K., Mishima, H., Hattori, A., Suzuki, N., 2016. Sodium fluoride induces hypercalcemia resulting from the upregulation of both osteoblastic and osteoclastic activities in goldfish, *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.*, 189, 54-60.
- Suzuki, N., Sato, M., Nassar, F. H., et al., 2016. Seawater polluted with highly concentrated polycyclic aromatic hydrocarbons suppresses osteoblastic activity in the scales of goldfish, *Carassius auratus*. *Zool. Sci.* 33, 407-413.

本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 石津偉統氏の学位論文の一環として行われた。

キジハタ (*Epinephelus akaara*) 血清中の抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼ： 精製と性状

小坂優斗, 木谷洋一郎

〒920-0553 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

Yuto OSAKA and Yoichiro KITANI: Purification and characterization of the antibacterial L-amino acid oxidase in the Red-spotted grouper *Epinephelus akaara* serum

【Background】

Fish body surface has a barrier which protects their body from attacks of pathogens. Recently, we discovered the L-amino acid oxidase (LAO) as a host-defense molecule in fish skin and blood (Kitani et al., 2007, 2010). This molecule elaborates the hydrogen peroxide by oxidization of the L-amino acid substrate. (Fig. 1) The fish defense mechanism that mediates LAO and hydrogen peroxide would be an efficient host-defense system; nevertheless, it is still unclear. In this study, to understand the physiological and biochemical functions of LAO, we try to search the diversities of fish LAO and clarify its structure.

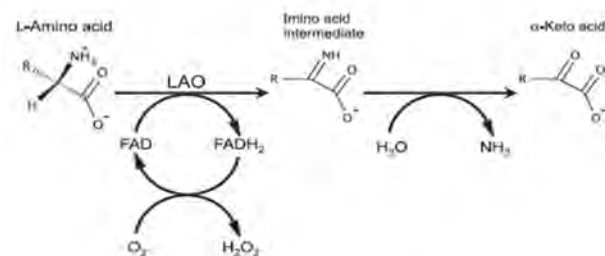


Fig.1. Reaction model of LAO

【Purpose】

The aim of this study is to search fish species which is not yet known to have LAO in their body and to elucidate substrate specificity and structure of the LAO of that fish species.

【Method】

First, inter-fish species screening of serum LAO activity was carried out. The specimens were collected from Tsukumo bay, Noto Peninsula, Ishikawa Japan, and serum samples were prepared. In this study, proteinogenic 20 kinds of L-amino acids were used as LAO substrate. This LAO activity assay was carried out following Figure 2. LAO catalyzes the L-amino acids and subsequently generate hydrogen peroxide. To detect the hydrogen peroxide, peroxidase (POD) and *o*-phenylenediamine (OPD) were added. OPD is oxidized and colored with the hydrogen peroxide by POD. This is the principle of LAO activity assay. Second, antibacterial activity of serum of those fishes was performed by agar diffusion and micro dilution assay methods. Third, isolation of serum LAO was tried by a combination of HighQ anion exchange chromatography, CHT hydroxyapatite HPLC and Superdex S-200 gel filtration HPLC. Elution of LAO was monitored by absorbance at 280 nm and LAO activity. The purity of serum LAO was judged by SDS-PAGE. Final, protein sequences of the purified serum LAO were determined. For N-terminal sequencing, the protein was transferred onto PVDF membrane and cut the target protein. For internal amino acid sequencing, purified LAO was digested by the lysyl endopeptidase. The digests were subjected to reversed phase HPLC to

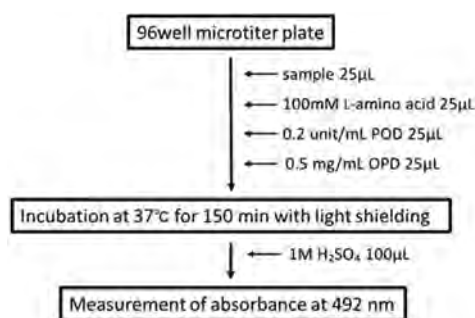


Fig. 2. flowchart of LAO activity assay

collect peptide fragments. Then, amino acid sequencing was analyzed by Edman degradation based protein sequencer.

【Result】

As a result of inter-fish species screening of serum LAO activity, the serum of Red-spotted grouper *Epinephelus akaara* (Kijihata) showed the activity (Fig. 3). *E. akaara* is one of the marine fish species which captured in Coast of Japan Sea as precious fish. *E. akaara* serum catalyzed a broad range of L-amino acid substrates such as L-histidine, L-methionine, L-phenylalanine, and L-tryptophan. *E. akaara* serum showed antibacterial activity against

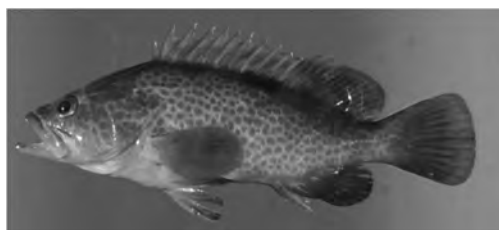


Fig. 3. *Epinephelus akaara*

Aeromonas salmonicida and *Vibrio anguillarum* which are well known marine pathogenic bacteria. This activity was disappeared by the adding of catalase. Those results suggested that the antibacterial activity of *E. akaara* serum is caused by hydrogen peroxide. Purification of the *E. akaara* serum LAO was succeeded by the three-step chromatography described above. As a result of purification, *E. akaara* serum LAO is an acidic protein with molecular mass of 440 kDa and 70 kDa that estimated by gel filtration HPLC and SDS-PAGE, respectively. This suggests that *E. akaara* serum LAO is a multimeric enzyme *in vivo*. The N-terminal amino acid sequence of *E. akaara* serum LAO determined to DDITEVPDD and two of internal peptide sequences determined to NEEEGWYVELGAM and YDVWPSEK, respectively. Those sequences were highly similar to LAO of other fishes. In conclusion, *E. akaara* serum contains antibacterial LAO. This molecule may play a role as a host-defense molecule against invasion and infection of bacteria from the wound.

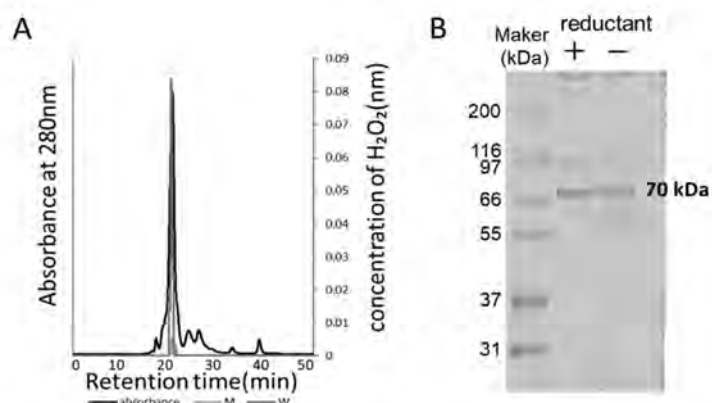


Fig. 4. Purified *E. akaara* serum LAO

A; chromatogram of gel filtration HPLC, B; SDS-PAGE of LAO.

【References】

Kitani Y, Tsukamoto C, Zhang G, Nagai H, Ishida M, Ishizaki S, Shimakura K, Shiomi K, Nagashima Y. Identification of an antibacterial protein as L-amino acid oxidase in the skin mucus of rockfish *Sebastes schlegeli*. FEBS J. 2007 Jan;274(1):125-36.

Kitani Y, Ishida M, Ishizaki S, Nagashima Y. Discovery of serum L-amino acid oxidase in the rockfish *Sebastes schlegeli*: isolation and biochemical characterization. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2010 Dec;157(4):351-6.

本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 小坂優斗氏の学位論文の一環として行われた。

ゼブラフィッシュ胚の追いつき成長におけるインスリン受容体基質2の役割

座主彩香, 亀井宏泰

〒920-0553 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 ZASU and Hiroyasu KAMEI: Role of *insulin receptor substrate 2 (irs2)* in catch-up growth in zebrafish embryos.

【Background】

When growing animals encounter adverse conditions, they often reduced growth rate by diverting the limited energy from anabolic events to survival. Intriguingly, once the adverse condition is eliminated, the stunted animals restart growth with accelerated progression rate to reach to the original growth level rapidly, which is so-called “catch-up growth” (1, 2). In human, this phenomenon is often found in newborns who experienced intrauterine growth restriction (IUGR) (3). Since the catch-up growth is known to be associated with adult onset diseases (such as type-II diabetes, obese, and cardiovascular diseases) in later life of IUGR infants (3), we do need to increase our understandings of the molecular and cellular basis of the catch-up phenomenon.

Studies using rodent models have technical complexities for observing and handling of intrauterine specimens. On the other hand, previous study developed a unique and competent experimental model of hypoxia-induced growth retardation and the following reoxygenation-induced catch-up growth in zebrafish embryo (Fig.1) (2). In that work, it was found that hypoxia reduced growth promoting signal such as insulin/insulin-like growth factor (IGF/Igf) signaling (IIS) but reoxygenation restored it to induce the catch-up growth. It has been known that the IIS activates two major downstream intracellular signaling pathways such as Pi3k-pathway and Mapk-pathway in the context-dependent manner (4), and we know that catch-up growth depends more on IIS-Mapk pathway than normal growth in the zebrafish model (2).

Insulin receptor substrate (IRS/Irs) is an intracellular IIS mediator that transduces insulin and IGF receptor activation to both Pi3k- and Mapk-pathways (4). IRS1 and IRS2 are known to be the major IRS underpinning normal animal growth and metabolism in mammals. The role of *irs1* in this phenomenon has been studied recently (5), and here, we aimed to clarify the role of *irs2* in the zebrafish models of catch-up growth.

【Results】

Characterization and developmental expression of zebrafish *irs2* genes.

First of all, for the structural characterization of the *Irs2* in zebrafish, we searched zebrafish genome database (Ensemble Genome assembly: GRCz10) to find the human *IRS2* ortholog in zebrafish. As a result, two *irs2* genes named as *irs2a* and *irs2b* were found. The deduced amino acid sequences of these two *Irs2s* had relatively higher amino acid identities with human *IRS2* (*Irs2a*: 48%; *Irs2b* 52%) and with each other (61% identity), yet they have

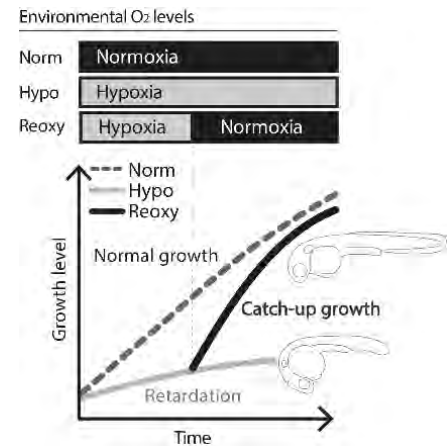


Fig.1. Schematic illustration of representative growth curves of zebrafish embryos in normoxia, hypoxia, and reoxygenation.

distinct structures. Data of both phylogenetic and synteny analyses further assured that the *irs2a* and *irs2b* were genuine *IRS2* counterparts in zebrafish. Then, the basal gene expression profiles of these *irs2* genes during the embryogenesis and early larval periods were investigated by RT-PCR analysis. We found that both of the *irs2a/b* transcripts were stably expressed in pharyngula to larval periods where the hypoxia-induced growth retardation and the reoxygenation-induced catch-up growth are examined in the zebrafish model.

Fine-tuning of hypoxia/reoxygenation-induced catch-up growth experiment using zebrafish embryos.

To optimize the experimental system, we tried to fine-tune the previously established catch-up growth protocol where the normally grown 24 hours post fertilization (hpf) embryos under normoxia (8.09 ± 0.25 mgO₂/L) were transferred to and kept under hypoxia (0.72 ± 0.13 mgO₂/L) for 12 hours, and then transferred back to normoxia to induce catch-up growth. We tested varieties of hypoxic period (4, 8, 12, and 24 hours) and the 8 hours hypoxia system was found to be the most convenient protocol in this study.

Loss-of-expression of zebrafish *irs2* genes using antisense Morpholino-Oligo (MO).

To test the significance of *irs2a* and *irs2b* in catch-up growth, Morpholino-Oligo (MO)-mediated knock down experiment was conducted. Translation-block MO (*irs2a* MO or *irs2b* MO) was injected into zebrafish embryos at 1-2 cell stages and they were subjected to the hypoxia/reoxygenation-induced catch-up growth. The growth rate of the embryos under “Normoxia (*Norm*)”, “Hypoxia (*Hypo*)”, and “Reoxygenation (*Reoxy*)” conditions were examined. As a result, while the both *irs2a* MO- and *irs2b* MO-injected embryos failed to show any significant changes under *Norm* and *Hypo* conditions compared to those in control MO (*ctr* MO)-injected embryos, the *irs2b* MO-injected embryos displayed clear slowdown of its growth rate under *Reoxy* condition (Fig.2). Thus, for further analysis, we focused on the role of *irs2b* in this study.

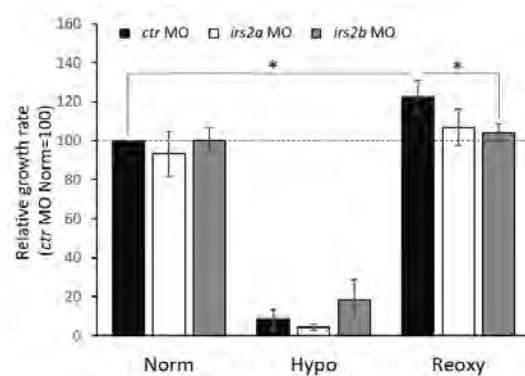


Fig.2. Analysis of relative growth rate during indicated developmental periods. Data are means \pm S.D., 4 independent experiments. *, $P < 0.05$

Change of IIS by loss-of-*irs2b* expression.

To monitor the changes of IIS pathways (Mapk- and Pi3k-pathways) in *irs2b* MO-injected embryos, total cell lysates were prepared and subjected to immunoblot analysis using antibodies against phospho- and total-Erk1/2 (for monitoring Mapk-pathway) and phospho- and total-Akt (for monitoring Pi3k-pathway). The immunoblotting results showed that *irs2b* knockdown significantly decreased the phosphorylation (activation) levels of Erk1/2 in the *Reoxy* period but not in the *Norm* period. These results suggest that *irs2b* is responsible for Mapk-pathway activation only when embryos are catching-up.

Rescue experiments using MO-resistant synthetic RNAs.

To ask if the *irs2b* MO-induced blunted catch-up growth is due to the reduced IIS, we performed rescue experiment using *in vitro* synthesized RNAs. When the MO-resistant RNA encoding either the *Irs2b* or the active-Ras (HRasV12)

was co-injected with *irs2b* MO, the *irs2b* MO-mediated failure of the catch-up growth was completely rescued to the same level of that in the *ctr* MO-injected embryos (Fig.3), suggesting that the *irs2b* plays crucial role for activating IIS-Mapk pathway to accelerate growth when the stunted embryos are allowed to restart growth.

【Conclusion and Remarks】

In this study, we characterized the *irs2* genes in zebrafish (*irs2a* and *irs2b*). Reduced *irs2b* expression significantly blunted the catch-up growth but it did not affect normal growth. In *irs2b* knocked down embryos, the activation level of Mapk-pathway was also decreased in catch-up period; the forced activation of Mapk-pathway by *active-Ras* RNA expression clearly restored the catch-up growth of *irs2b* knocked down embryos. These data suggest that *irs2b* plays a crucial role in activation of IIS-Mapk-pathway only at the time of growth restoration, and it is prerequisite for the unique growth acceleration.

Since *IRS2*-null mouse never exhibits the growth failure phenotype under normal/unstressed condition, it has been thought for a long time that the *IRS2* functions as a metabolic regulator but not as a growth regulator in rodent model. The current study, however, would indicate a hidden function of *IRS2/Irs2* in animal growth and development, which could be an indispensable piece of the mechanism(s) underlying the catch-up growth.

【References】

1. Wit JM, Boersma B. Catch-up growth: definition, mechanisms, and models. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002;15 Suppl 5:1229-1241.
2. Kamei H, Ding Y, Kajimura S, Wells M, Chiang P, Duan C. Role of IGF signaling in catch-up growth and accelerated temporal development in zebrafish embryos in response to oxygen availability. *Development.* 2011;138(4):777-786.
3. Saenger P, Czernichow P, Hughes I, Reiter EO. Small for gestational age: short stature and beyond. *Endocr Rev.* 2007;28(2):219-251.
4. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001;414(6865):799-806.
5. Kamei H, Yoneyama Y, Hakuno F, Sawada R, Shimizu T, Duan C, Takahashi S. Catch-up growth in zebrafish embryo requires neural crest cells sustained by *Irs1*-signaling. *Endocrinology.* 2018

本研究は、金沢大学自然システム学類生物コース 座主彩香氏の学位論文の一環として行われた。

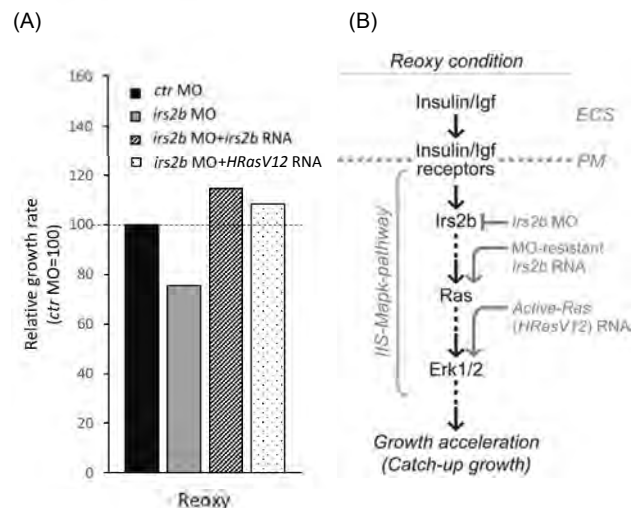


Fig.3. (A) Analysis of relative growth rate of MO and RNA injected embryos during indicated periods. Data are means of each group. n=6-13. (B) Working hypothesis of current study. ECM: extracellular space; PM: plasma membrane.

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 29 年度）

小木曾正造¹，又多政博²

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学総合技術部 環境安全部門（環日），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

Shouzo OGISO, Masahiro MATADA: The observation of seawater temperature, salinity, atmospheric temperature and humidity around the Noto Marine Laboratory (2017-2018)

【はじめに】

金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設では、2013 年 10 月から気象観測を行っている。2017 年 4 月 1 日 0 時から 2018 年 3 月 31 日 23 時まで 1 時間おきに、海水温と塩分を研究棟前の栈橋下にて、気温と湿度を宿泊棟前にて測定した。JFE アドバンテック株式会社製「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。Vaisala 社製「HMP-155D」を用いて気温 {精度-80～+20℃：±(0.226-0.0028×温度)℃、+20～+60℃：±(0.055+0.0057×温度)℃} と湿度 {+15～+25℃：±1%RH (0～90%RH)、±1.7%RH (90～100%RH)、-20～+40℃：±(1.0+0.008 x 読み値)} を測定した。観測データは臨海実験施設の Web サイトにて公開している。

【結果と考察】

海水温の測定は水深 5.0m と 7.5m では 2015 年度、2016 年度に引き続き各水深とも 1 年を通して欠測なく 8760 時点で測定したが、水深 0.5m では 8 月 28 日 9 時と 10 月 30 日 10 時に異常に低い値を記録したため、この 2 時点を欠測とした。塩分測定では 8 月 28 日 9 時、9 月 24 日 7 時、8 時、25 日 6 時、26 日 6 時、10 月 30 日 10 時に異常に低い値を記録したため、この 6 時点を欠測とした。気温と湿度では、機器の設定ミス、動作異常により 41 時点で欠測した。欠測したのは 5、7、8、10、12、1 月に各 1 時点、2 月に 12 時点、3 月に 23 時点だった。欠測時点を含めた測定値の月別平均を Fig. 1 から 6 に示す。

月別平均水温は 0.5 m、5.0 m、7.5 m とも 8 月が最も高くそれぞれ 27.91℃、26.9℃、27.2℃だった。最も低かったのは 3 月の 10.17℃、9.5℃、9.9℃で、いずれも 2014 年 3 月に次いで低い値となった。(Figs. 1, 2, 3)。いずれの水深でも 6 月の平均水温が過去に比べて低かったが、7 月では逆に高くなった。期間中の最高水温は水深 0.5 m で 8 月 6 日 17 時の 30.75℃、5.0 m で 8 月 5 日 20 時の 28.7℃、7.5 m で 8 月 5 日 22 時の 28.8℃だった。最低水温は水深 0.5 m で 3 月 21 日 6 時の 7.82℃、5.0 m は 3 月 22 日 6 時と 7 時の 8.9℃、7.5 m は 3 月 22 日の 7 時から 15 時と 17 時の 9.5℃だった。30.0℃以上の水温が測定されたのは、水深 0.5 m の 8 月 5 日から 7 日の 10 時点だった。年間平均水温は 0.5 m で 18.00℃（2 時点欠測あり）、5.0 m で 17.3℃、7.5 m で 17.7℃だった。

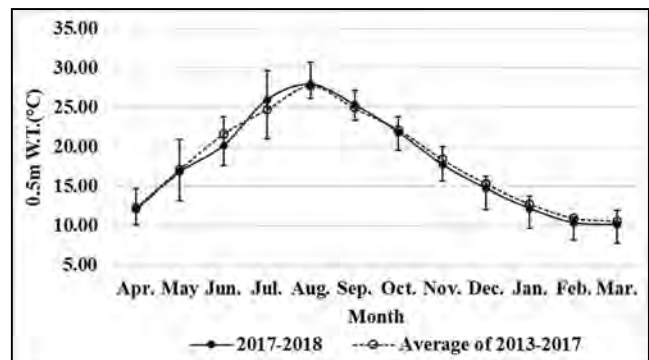


Fig.1. Monthly average water temperature at a depth of 0.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2017-2018.

月別平均塩分は6月までは34前後だったが、7月に32.68まで下がり、その後徐々に上がり2月に34前後まで戻った (Fig. 4)。7月3日3時の塩分は33.46で、4時に25.88まで急激に下がり、5時24.06、6時29.10、7時32.24、8時33.26と推移したが、雨の影響と判断し、欠測としなかった。年間の平均塩分は33.55だった (6時点欠測あり)。

月別平均気温と湿度は全体的に過去の記録より低い値であった (Fig. 5, 6)。測定機器と測定場所の変更による影響かもしれない。期間中の気温の最高値は7月21日14時の34.3°Cで、最低値は1月24日23時の-7.9°Cだった。湿度の最低値は5月7日の13時と14時の18%だった。

1日24時点内での温度の最高値と最低値の差の各月平均値を Figure 7 に示す。2015年度、2016年度と比べ、水深5.0 mと7.5 mでは6月、8月で値が小さかったが、水深0.5 mでは8月に1.8°Cとこれまでで最も値が大きくなった。



Fig. 2. Monthly average water temperature at a depth of 5.0 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2017-2018.

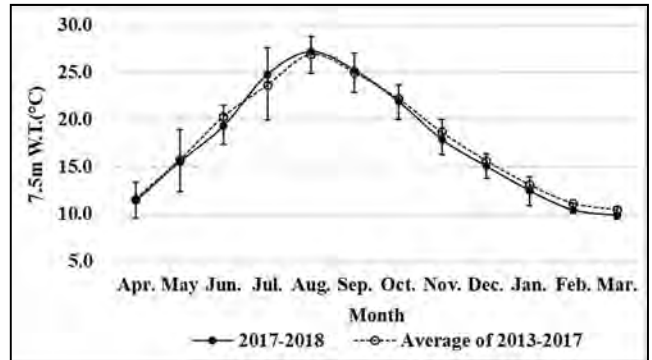


Fig. 3. Monthly average water temperature at a depth of 7.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2017-2018.

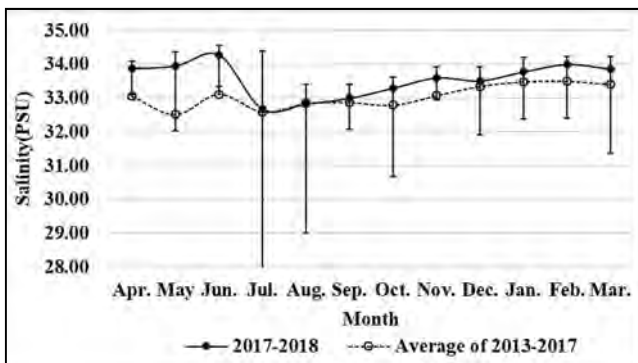


Fig. 4. Monthly average salinity at a depth of 0.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest salinity for 2017-2018.

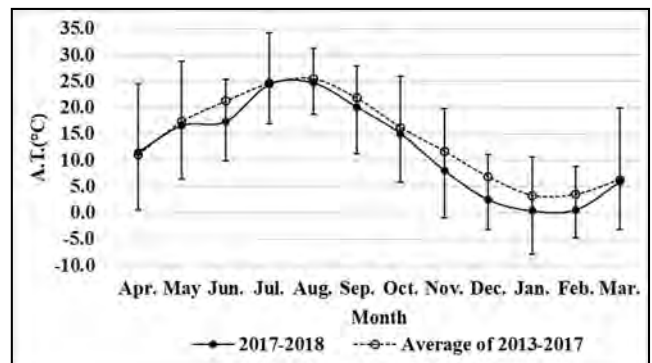


Fig. 5. Monthly average atmospheric temperature. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2017-2018.

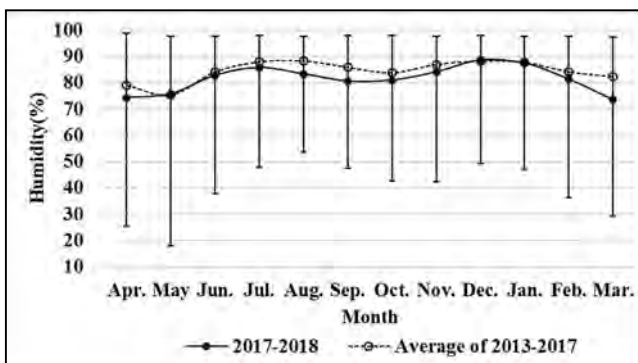


Fig. 6. Monthly average humidity. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest humidity for 2017-2018.

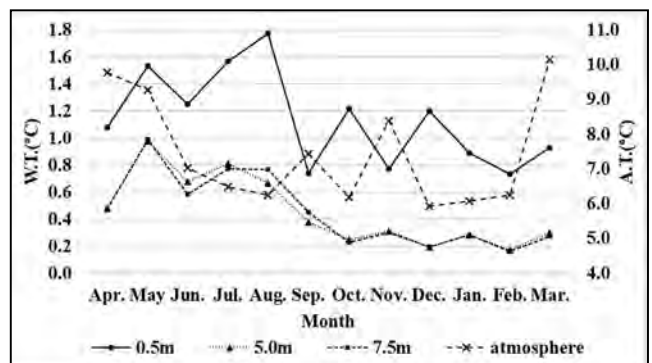


Fig. 7. Monthly average of difference between highest temperature and lowest temperature for one-day.

【構成員】

1) 教員

教授（施設長）	鈴木信雄（nubuos@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、環境生理学 （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）
助教	木谷洋一郎（yki@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（水産学） 専攻 魚類免疫学、生化学、環境生理学 （魚類の粘膜組織における生体防御機構、とくに自然免疫機構について研究している）
助教（自然システム学類専任）	亀井宏泰（hkamei@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（農学） 専攻 統合動物科学、発生生物学、分子生物学 （小型魚類をモデルに初期胚の発生・成長を制御する遺伝的要因と環境要因について分子・細胞・発生生物学的観点から研究している）

2) 職員

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
技術補佐員	又多政博（m-matada@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@se.kanazawa-u.ac.jp）

3) 学生

4 年生

石津偉統

小坂優斗

座主彩香

修士課程 2 年

五十里雄大

4) 連携研究員

浦田 眞

木下靖子

坂井恵一

笹山雄一

清水宣明

染井正徳

中林逸子

布村 昇

堀田素志

南谷 保

三宅裕志

谷内口孝治

山田外史



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