

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18号
2019.4 ~ 2020.3



九十九湾で観察されたカラスキセワタ
Philineopsis speciosa Pease, 1860

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-----	8
* 研究交流-----	12
* 研究費-----	16
* 利用状況-----	17

【研究概要】

1. 魚類の自然免疫系に関する研究：抗微生物因子 L-アミノ酸オキシダーゼについて（木谷助教）

魚類の免疫系は哺乳類と比較して原始的であることから、標的特異的な獲得免疫系ではなく幅広い病原性微生物に対して非特異的に作用する自然免疫系が重要である。木谷助教は、魚類の体表粘液や血液中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、この原因物質の同定を試みたところ、この物質は L-アミノ酸オキシダーゼ (LAO) ファミリータンパク質であることがわかった。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。

令和元年度においては最近の研究で存在が明らかとなったキジハタ *Epinephelus akaara* 血清 LAO を対象として、病原微生物の侵入や外傷時の産生機序について検討している。病原菌等に対する反応性を調べるため、菌体外膜成分であるリポポリサッカライド、病原菌 *Vibrio anguillarum*、*Vibrio harveyi* および *Aeromonas salmonicida* の死菌、*Vibrio harveyi* の生菌をキジハタ幼魚の腹腔内に投与した。その後、免疫組織におけるキジハタ血清 LAO 遺伝子の変動についてキジハタ LAO 部分塩基配列をもとに設計されたキジハタ LAO 遺伝子特異的プライマーを用いて定量 PCR で調べた。興味深いことに、これらの投与は LAO 遺伝子の発現量に変化を与えなかった。一方、外傷を再現するために、皮膚への穿孔および虚血を行い同様に定量 PCR で LAO 遺伝子発現量の変化を調べたところ、皮膚への穿孔による LAO 遺伝子発現量の変化は見られなかったが、虚血により肝臓における LAO 遺伝子発現量が健康な状態と比較して大幅に増加することが明らかとなった。これらの結果から、キジハタ LAO は常に細菌の侵入に備えてある程度の濃度を保っているが、LAO 分子を多量に失った場合においてのみ発現が誘導されると予想された。

以上の成果は小坂優斗君の修士論文研究「魚類血清に含まれる抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼの性状と機能」として取りまとめられ、その一部は令和 2 年度日本水産学会春季大会（2020 年 3 月）で公表された。

2. 水産未利用資源の有効利用に関する研究（木谷助教）

木谷助教は水産未利用資源問題の解決にも取り組む。漁業活動において混獲、すなわち対象以外の生物を漁獲してしまうことは避けられない。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することで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、混獲生物や水産加工廃棄物等の未利用資源から有用な物質を探索し、これら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。

過去の研究で水産加工廃棄物である魚骨が骨代謝に与える影響を調べたところ、魚骨の人工胃液消化物は骨形成および骨破壊両者に関連する遺伝子の発現量を増加させた。これを端緒として、魚類におけるカルシウム経口投与による血中カルシウム動態を調べたところ、海水魚（メジナ *Girella punctata*）は淡水魚（キンギョ *Carassius auratus*）と比較してカルシウム体内取り込みが極めて少ないことが明らかとなった。この結果は *International Journal of Zoological Investigation* で報告された。

3. 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）

関口助教を中心とするグループは、血中カルシウム濃度調節などの恒常性維持に着目し、脊椎動物の神経・内分泌系の起源や進化を研究している。本年度は、軟骨魚類の血中カルシウム濃度調節ホルモンの研究を実施した。本研究の目的は、脊椎動物において原始的形質を持つと考えられている軟骨魚類を用いて脊椎動物のカルシウム代謝機構の多様化機構を探ることである。はじめに、岡山大学の坂本竜哉教授との共同研究により、アカエイ (*Dasyatis akajei*) を用い、血中カルシウム濃度調節機構の解析系の構築を試みた。アカエイに 2.5M 塩化カルシウムを含むコンソメ溶液を経口投与し、経時的に血漿を採取、そのカルシウム濃度を測定した結果、3時間にピークを示す血漿カルシウム濃度の上昇とその後の緩やかな低下を確認した。このようにアカエイの血中カルシウム濃度調整機構に対する解析系を確立した。続いて、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) に着目し、血中 CT 濃度を測定するための競合 ELISA 系の確立を試みた。はじめにアカエイ CT の抗血清を作製した。そして検量線作成可能な競合ペプチドの濃度を 0~12ng/ml に決定した。この ELISA の系を用いることで、鰓後腺 (CT 産生器官) の抽出物から CT を検出できた。加えて血漿中の CT 濃度も測定可能であることを確認した。今後は、上記の高カルシウムコンソメ溶液の経口投与実験における血漿 CT 濃度の経時変化を測定する予定である。また現在、東京大学大気海洋研究所の兵藤 晋教授、高木 互助教との共同研究で、カルシウムの取り込みや排出に関与する遺伝子と CT の関係についても研究を進めている。上記の研究は東野将也君の卒業論文の一環として実施された。

4. 海産無脊椎動物における環境汚染物質応答機構（関口助教）

関口助教を中心とするグループは、海洋汚染物質、特に多環芳香族炭化水素 (PAH) 類の海産無脊椎動物への影響を研究している。PAH 類は、化石燃料や木材の不完全燃焼により生じ大気中に放出される環境汚染物質である。また PAH 類は重油に含まれており、重油流出事故などによる海洋汚染の際に、海産動物にも影響を及ぼす。PAH 類は、脊椎動物に対し発癌性物質、変異原性物質、内分泌かく乱物質として作用することが知られている。一方、海産無脊椎動物に対しては、様々な影響が指摘されているものの、PAH 受容体は不明であり、その作用機序は解明されていない。そこで、海産無脊椎動物のモデルとして、カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) を用い、PAH 受容体の探索を目的とした研究を行なっている。カタユウレイボヤは、ゲノム配列が解読されており、トランスジェニックやゲノム編集といった発生工学的技術が利用可能である。本年度は、長浜バイオ大学の和田修一准教授、旭川医科大学の矢澤隆志講師、当センターの早川和一名誉教授、鈴木信雄教授、千葉大学の小笠原道生准教授と共同で、カタユウレイボヤの初期発生と変態に対する PAH 類の影響を検討するとともに、PAH 受容体候補であるホヤ AhR の発現パターンを解析した。その結果、PAH 類である dibenzothiophene, fluorene, phenanthrene がホヤの初期発生及び変態の異常を引き起こすことを突き止めた。さらに AhR は、上記の PAH 類で異常が起きる発生ステージで発現していることを明らかにした。これらのことから PAH 類は、ホヤ AhR を介して作用することが示唆された。今後は、PAH 類に対するホヤ AhR の応答性や AhR の下流の遺伝子の同定などの解析を進める予定である。上記の結果は、当センターの早川和一名誉教授と鈴木信雄教授がゲストエディターとして企画した International Journal of Environmental Research and Public Health (IF: 2.468) の特集号 "Recent Advances in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Research: Occurrence, Fate, Analysis, and Risk Assessment" に受理・出版された。

5. 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研究グループは、ウロコを骨モデルとして用いて骨代謝の研究を行ってきた。今年度は、概日リズムを調整するホルモンであるメラトニンと骨吸収抑制ホルモンであるカルシトニンとのクロストークについて解析を行った。まず、メラトニンの受容体は骨組織に存在しており、ニワトリでは骨細胞に、キンギョのウロコでは骨芽細胞に2型のメラトニン受容体が発現していることを証明した（ニワトリ：Journal of Endocrinology, IF: 4.381；キンギョ：Journal of Pineal Research, IF: 15.221）。次に、骨芽細胞あるいは骨細胞に作用したメラトニンは、骨芽細胞あるいは骨細胞で発現しているカルシトニンの分泌を促すことにより、破骨細胞の活性を抑制していることを初めて証明した。さらにメラトニンの破骨細胞の抑制作用は、地上のみならず、宇宙においても確認できた（J. Pineal Res., 2019）。したがって、メラトニンは、宇宙空間で進行する骨密度低下の治療薬の可能性がある。一方、金沢大学の小林 功助教授との共同研究により、骨芽細胞と破骨細胞を蛍光標識したゼブラフィッシュを作製して、ウロコの破骨細胞と骨芽細胞の *in vivo* でのライブイメージングやセルソーターで分離したウロコの破骨細胞と骨芽細胞の遺伝子発現解析を可能にした（Communications Biology, in press）。このゲノム編集したゼブラフィッシュを用いた宇宙実験を、公立小松大学の平山 順教授及び東京医科歯科大学の服部淳彦教授と共に計画中である。

6. 海洋汚染に関する研究（鈴木教授）

鈴木教授を中心とする研究グループは、早川和一名誉教授との共同研究により、多環芳香族炭化水素（PAH）類の魚類の骨代謝に対する毒性を調べている。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 Benz [a] pyrene 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。そこで今年度は、海産魚のメジナに Benz[a]anthracene を投与して毒性を解析した。その結果、破骨細胞の活性が低下することにより、血液中のカルシウム濃度が低下していることがわかった。さらに骨芽細胞の活性も低下しており、腎臓や肝臓のマーカーも低下していることも判明した。これらの結果を早川和一名誉教授と鈴木信雄教授がゲストエディターとして企画した International Journal of Environmental Research and Public Health (IF: 2.468) の特集号 "Recent Advances in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Research: Occurrence, Fate, Analysis, and Risk Assessment" に受理・出版された。一方、紅海の海洋汚染に関する研究も実施した。紅海の海水をキンギョのウロコで解析した結果、破骨細胞の活性が抑制され、重金属の破骨細胞に対する応答と同じような応答が見られた。紅海にはカドミウムや水銀の汚染が報告されているので、これらの重金属が応答した可能性が高い。この研究は、エジプトのベニスエフ大学や九州大学などとの共同研究で実施しており、Fac. Agr., Kyushu Univ.に発表した。なお、この内容の一部を、ベニスエフ大学主催（フルガダ、エジプト）で開催された国際シンポジウムにおいて、鈴木教授が基調講演を行った。これらのベニスエフ大学との共同研究の成果は、現在申請中のエジプトとの二国間交流事業にも貢献できると思われる。

7. 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い、海洋深層水にメジナ及びヒラメのストレス低減作用を見出した。その結果を基にして特許を申請して（能登海洋深層水のストレス低減作用、特願 2018-022738）、平成 30 年金沢大学新技術説明会で発表した。この新技術説明会で興味をもっていたいただいた三井物産ケミカル（株）と金沢大学とは秘密保持契約を締結した。さらに三井物産ケミカル（株）と共に申請した科学技術振興機構の A-STEP が採択され、海洋深層水を魚の養殖事業に生かすことを計画中である。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Amornsakun, T., Srithongthum, S., Promkaew, P., Hassan, A.B., Matsubara, H., Takeuchi, Y., Mukai, K., Shimasaki, Y., Oshima, Y. and **Suzuki, N.**, 2019, Effects of water salinity on the egg hatching, growth, and survival of larvae and fingerlings of climbing perch, *Anabas testudineus*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, **64**, 281-286.
- (2) Furusawa, Y., Yamamoto, T., Hattori, A., **Suzuki, N.**, **Sekiguchi, T.**, Hirayama, J. and Tabuchi, Y., *De novo* transcriptome analysis and gene expression profiling in fish scales isolated from *Carassius auratus* during space flight: A impact of melatonin on the expression of genes responsive to space radiation. *Molecular Medicine Reports*, in press
- (3) Ikegame, M., Hattori, A., Tabata, M.J., Kitamura, K., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Maruyama, Y., Yamamoto, T., **Sekiguchi, T.**, Matsuoka, R., Hanmoto, T., Ikari, T., Endo, M., Omori, K., Nakano, M., Yashima, S., Ejiri, S., Taya, T., Nakashima, H., Shimizu, N., Nakamura, M., Kondo, T., Hayakawa, K., Takasaki, I., Kaminishi, A., Akatsuka, R., Sasayama, Y., Nishiguchi, T., Nara, M., Iseki, H., Chowdhury, V.S., Wada, S., Ijiri, K., Takeuchi, T., Suzuki, T., Ando, H., Matsuda, K., Somei, M., Mishima, H., Mikuni-Takagaki, Y., Funahashi, H., Takahashi, A., Watanabe, Y., Maeda, M., Uchida, H., Hayashi, A., Kambegawa, A., Seki, A., Yano, S., Shimazu, T., Suzuki, H., Hirayama, J. and **Suzuki, N.**, 2019, Melatonin is a potential drug for the prevention of bone loss during space flight. *Journal of Pineal Research*, **67**, e12594.
- (4) Imamichi, Y., Uwada, J., **Sekiguchi, T.**, Mikami, D., Kitano, T., Ida, T., Sato, T., Nemoto, T., Nagata, S., Khan, R., Takahashi, S., Ushikubi, F., Taniguchi, A., **Suzuki, N.**, Umezawa, A. and Yazawa, T., 2020, Evaluation of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity using androgen receptor-mediated transactivation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **196**, 105493.
- (5) **Kitani, Y.**, Hieu, D.Q. and Kiron, V., 2019, Cloning of selected body surface antimicrobial peptide/protein genes of Atlantic salmon and their responses to *Aeromonas salmonicida*. *Fisheries Science*, **85**, 847-858.

- (6) **Kitani, Y.**, Srivastav, A.K. and **Suzuki, N.**, 2020, Influence of oral administration of a high-calcium solution into a marine teleost (nibbler fish) and a freshwater teleost (goldfish) on their plasma calcium levels. *International Journal of Zoological Investigations*, **6**, 65-70.
- (7) Kobayashi-Sun, J., Kondo, M., Yamamori, S., Kuroda, J., Ikegame, M., **Suzuki, N.**, Kitamura, K., Hattori, A., Yamaguchi, M. and Kobayashi, I., Uptake of osteoblast-derived extracellular vesicles promotes the differentiation of osteoclasts in the zebrafish scale. *Communications Biology*, in press
- (8) Matsunaka, T., Nagao, S., Inoue, N., Mundo, R., Tang, N., **Suzuki, N.**, **Ogiso, S.** and Hayakawa, K., 2020, Temporal variations of polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater in Tsukumo Bay, Noto Peninsula, Japan, during 2014–2018. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 873.
- (9) Mori, T., **Kitani, Y.**, Hatakeyama, D., Machdia, K., Goto-Inoue, N., Hayakawa, S., Yamamoto, N., Kashiwagi, K. and Kashiwagi, A., Predation threats for a 24-hour period activated the extension of axons in the brains of *Xenopus* tadpoles. *Scientific Reports*, in press
- (10) Mundo, R., Matsunaka, T., Iwai, H., **Ogiso, S.**, **Suzuki, N.**, Ning, T., Hayakawa, K. and Nagao, S., 2020, Interannual survey on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater of Nanao North Bay, 2015 to 2018. Sources, pathways and ecological risk assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 904.
- (11) Nakano, M., Ikegame, M., Igarashi-Migitaka, J., Maruyama, Y., **Suzuki, N.** and Hattori, A., 2019, Suppressive effect of melatonin on osteoclast function via osteocyte calcitonin. *Journal of Endocrinology*, **242**, 13-23.
- (12) Patel, D. M., **Kitani, Y.**, Korsnes, K., Iversen, M. H. and Brinchmann, M. F., 2020, A truncated galectin-3 isolated from skin mucus of Atlantic salmon *Salmo salar* binds to and modulates the proteome of the gram-negative bacteria *Moritella viscosa*. *Marine Drugs*, **18**, 102.
- (13) **Sekiguchi, T.**, Akitaya, H., Nakayama, S., Yazawa, T., Ogasawara, M., **Suzuki, N.**, Hayakawa, K. and Wada, S., 2020, Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on development of the ascidian *Ciona intestinalis* type A. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 1340.
- (14) Sookchoo, P., Idowu, A.T., Benjakul, S., Sinthusamran, S., Sae-leaw, T., **Suzuki, N.** and **Kitani, Y.**, 2019, Amino acid composition, volatile compounds and bioavailability of biocalcium powders from salmon frame as affected by pretreatment. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **28**, 772-780.
- (15) Srivastav, S., Mishra, D., Srivastav, S.K., **Suzuki, N.** and Srivastav, A.K., 2019, Prolactin induced alterations in plasma minerals (calcium and phosphate) and ultimobranchial gland of stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* maintained in different calcium media. *International Journal of Zoological Investigations*, **5**, 97-107.
- (16) Srivastav, A.K., Srivastava, S., Srivastav, S.K., Faggio, C., **Sekiguchi, T.** and **Suzuki, N.**, 2019, Response of ultimobranchial gland and parathyroid gland of the indian skipper frog, *Euphlyctis cyanophlyctis* to cadmium toxicity. *Iranian Journal of Toxicology*, **19**, 33-44.

- (17) Srivastav, S., Mishra, D., Srivastav, S.K., **Suzuki, N.** and Srivastav, A.K., Estradiol affects ultimobranchial gland of a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* kept in different calcium environments. *Jordan Journal of Biological Sciences*, in press
- (18) **Suzuki, N.**, **Sekiguchi, T.**, Yachiguchi, K., Urata, M., Kinoshita, Y., Matsubara, H., Asahina, K., Kambegawa, A. and Srivastav, A.K., 2019, Physiological role of a calcitonin-like substance in the life cycle of lamprey, *Lampetra japonica* (Cyclostomata). *International Journal of Zoological Investigations*, **5**, 23-30.
- (19) **Suzuki, N.**, Watanabe, K., Sekimoto, A., Urata, M., Zanaty, M.I., **Sekiguchi, T.**, **Kitani, Y.**, Matsubara, H., Srivastav, A.K. and Hattori, A., 2019, Gadolinium at low concentration suppresses both osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. *American Journal of Environmental Sciences*, **15**, 137-144.
- (20) Takagi, T., **Sekiguchi, T.**, Sasayama, Y., Hattori, A., Watanabe, T.X., **Kitani, Y.**, Tabuchi, Y., Matsubara, H., Srivastav, A.K., Hai, T.N., Amornsakun, T. and **Suzuki, N.**, 2019, Development of a system for measuring calcitonin in the stingray *Dasyatis akajei* (a cartilaginous fish): the possible involvement of stingray calcitonin in reproductive physiology. *International Aquatic Research*, **11**, 267-276.
- (21) Yazawa, T., Imamichi, Y., Yuhki, K., Uwada, J., Mikami, D., Shimada, M., Miyamoto, K., Kitano, T., Takahashi, S., **Sekiguchi, T.**, **Suzuki, N.**, Khan, R., Ushikubi, F., Umezawa, A., and Taniguchi, A., 2019, Cyclooxygenase-2 is acutely induced by CCAAT/enhancer-binding β protein to produce prostaglandin E₂ and F_{2 α} following gonadotropin stimulation in Leydig cells. *Molecular Reproduction and Development*, **86**, 786-797.
- (22) Yazawa, T., Imamichi, Y., **Sekiguchi, T.**, Miyamoto, K., Uwada, J., Khan, R., **Suzuki, N.**, Umezawa, A. and Taniguchi, T., 2019, Transcriptional regulation of ovarian steroidogenic genes: Recent findings obtained from stem cell-derived steroidogenic cells. *BioMed Research International*, e8973076.
- (23) Zanaty, M.I., Nassar, H.F., Mahmoud, H.M., Fagr, Kh. Abdel-Gawad, F.K., Sato, M., Yachiguchi, K., Shimizu, N., Hayakawa, K., Hattori, A., Mukai, K., Shimasaki, Y., Oshima, Y. and **Suzuki, N.**, 2019, Influence of polluted sea water in the Red Sea on the osteoclasts and osteoblasts of goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, **64**, 287-291.
- (24) Zanaty, M.I., Sawada, N., **Kitani, Y.**, Nassar, H.F., Mahmoud, H.M., Hayakawa, K., **Sekiguchi, T.**, **Ogiso, S.**, Tabuchi, Y., Urata, M., Matsubara, H., Takeuchi, Y., Hattori, A., Srivastav, A.K., Amornsakun, T. and **Suzuki, N.**, 2020, Influence of Benz[a]anthracene on bone metabolism and on liver metabolism in nibbler fish, *Girella punctata*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 1391.
- (25) 安田 寛・榊原千秋・城戸照彦・北村敬一郎・**鈴木信雄**, 2019, 北陸三県住民における有害金属体内蓄積に関する調査研究. 北陸公衆衛生学会誌, **46**, 1-9.
- (26) **小木曾正造**・広瀬雅人・東出幸真・又多政博, 2019, 能登半島沿岸に生息するスズメガイダマン属 (腕足動物門, スズメガイダマン科) の 2 種 について. のと海洋ふれあいセンター研究報告, **25**, 1-8.

- (27) 村山寛記・小木曾正造・岡村隆行・柳井清治・関本愛香・丸山雄介・服部淳彦・鈴木信雄, 2019, 能登半島九十九湾に生息する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, **25**, 19-28.

2) 総説・解説等

- (1) Honda, M. and Suzuki, N., 2020, Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 1363.
- (2) Katayama, Y., Kitahashi, T., Suzuki, N. and Sakamoto, T., Chapter 4.3 Endocrinology, In “Japanese Marine Life - A Practical Training Guide in Marine Biology”, Inaba, K. ed., Springer Nature Singapore Pte Ltd., Singapore, in press
- (3) Okamoto-Uchida, Y., Izawa, J., Nishimura, A., Hattori, A., Suzuki, N. and Hirayama, J., 2019, Post-translational modifications are required for circadian clock regulation in vertebrates. *Current Genomics*, **20**, 332-339.
- (4) Okamoto-Uchida, Y., Nishimura, A., Izawa, J., Hattori, A., Suzuki, N. and Hirayama, J., The use of chemical compounds to identify the regulatory mechanisms of vertebrate circadian clocks. *Current Drug Targets*, in press

3) 著書

- (1) Mishima, H., Tanabe, S., Hattori, A., Suzuki, N., Kakei, M., Matsumoto, T., Ikegame, M., Miake, Y., Ishikawa, N. and Matsumoto, Y., 2018, The relationship between the structure and calcification of dentin and the role of melatonin. In “Biom mineralization From Molecular and Nano-structural Analyses to Environmental Science”, Eds. Endo K, Kogure T, Nagasawa H, Springer, Singapore, 199-209.
- (2) 佐藤貴弘・井田隆徳・関口俊男・中町智哉・児島将康, 2019, 消化管関連ペプチドが拓く恒常性フロンティア.“実験医学増刊, 臓器連環による生体恒常性の破綻と疾患”春日雅人編集, 羊土社, 東京, **37**, 129-135.
- (3) 関口俊男, 2019, 棘皮動物・原索動物. “動物の事典”, 末光隆志他編, 朝倉書店, 東京, 印刷中
- (4) 鈴木信雄, 2019, カルシウム代謝とホルモン. “動物の事典”, 末光隆志他編, 朝倉書店, 東京, 印刷中

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表及び講演会

- (1) Amornsakun, T., Srithongthum, S., Chesoh, S., Jantararat, S., Seng, L.L., Suzuki, N. and Hassan, A., Study on sultan fish, *Leptobarbus hoevenii* (Bleeker, 1851) breeding. 9th International Fisheries Symposium 2019, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia (2019.11.18-21).

- (2) Migitaka, J., Seki, A., Hattori, A. and **Suzuki, N.**, Influence of melatonin on bone metabolism in aged mice. “Joint International Symposium on Sustainable Development and Environmental issues”, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2019.12.17-19).
- (3) Seki, T., Mekuchi, M., **Suzuki, N.**, Suzuki, M. and Ohira, T., Isolation of an exoskeletal protein involved in fluoride deposition from the Antarctic krill *Euphausia superba*. The 10th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, Canada’s Capital, Ottawa, Canada (2019.8.5-9).
- (4) **Sekiguchi, T.**, Ecotoxicological study of the influence of marine pollutants on marine animals. The Signing Ceremony for MoU on the Establishment of the Consortium for Academic Exchange between Russia and Ishikawa and the Commemorative Symposium Takes Place, Kanazawa (2019.7.16). (招待講演)
- (5) **Sekiguchi, T.**, Investigation of the effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on marine invertebrates. “Joint International Symposium on Sustainable Development and Environmental issues”, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2019.12.17-19). (招待講演)
- (6) Sekimoto, A., Ohira, T. and **Suzuki, N.**, Functional analysis of a matrix peptide associated with calcification in the exoskeleton of the Kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. “Joint International Symposium on Sustainable Development and Environmental issues”, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2019.12.17-19).
- (7) Srithongthum, S., Amornsakun, T., Chesoh, S., Jantararat, S., Seng, L.L., **Suzuki, N.** and Hassan, A., Reproductive characteristics of matured female sultan fish, *Leptobarbus hoevenii* (Bleeker, 1851) spawner. 9th International Fisheries Symposium 2019, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia (2019.11.18-21).
- (8) **Suzuki, N.**, Biological effect of the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Toxic analysis for the aquatic animals. “Joint International Symposium on Sustainable Development and Environmental issues”, Kanazawa University, Ishikawa, Japan (2019.12.17-19). (招待講演)
- (9) **Suzuki, N.**, The effects of heavy metals and endocrine disruptors on osteoblasts and osteoclasts in the fish scales. The 5th International Conference on Advanced Sciences, Sea Gull Hotel, Hurghada, Egypt (2019.11.9-12). (基調講演)
- (10) Zaihurin, D.S.R., Kian, A.Y.S., Amornsakun, T., Chesoh, S. and **Suzuki, N.**, Fish meal replacement by using alternative ingredient in climbing perch, *Anabas testudineus* diet. 9th International Fisheries Symposium 2019, Seri Pacific Hotel, Kuala Lumpur, Malaysia (2019.11.18-21).
- (11) 花木祥太朗・井上睦夫・諸角季生・城谷勇陸・伊藤 雅・本多直人・小藤久毅・藤田充司・**鈴木信雄**・**小木曾正造**・広橋教貴・安東宏徳・佐藤勇介・森脇和也・長尾誠也, $^{228}\text{Ra}/^{226}\text{Ra}$ 放射能比からみた対馬暖流三分枝の循環. 日本放射化学会第 63 回討論会 (2019), いわき産業創造館, 福島 (2019.9.24-26).
- (12) 川村龍矢・村山寛記・**小木曾正造**・**岡村隆行**・**鈴木信雄**, 九十九湾に生息するアカテガニの食性に関する研究. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019. 12.7-8).

- (13) 木谷洋一郎, 魚類の生体防御機構を利用した魚病感染制御. 2019 年度新技術説明会, JST 東京本部別館, 東京 (2019.8.22).
- (14) 木谷洋一郎, キジハタ血中 L-アミノ酸オキシダーゼ: 酵素化学的性状について. 日本水産学会令和 2 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京 (2020.3.26-30).
- (15) 北橋隆史・上村佳正・鈴木信雄・小木曾正造・安東宏徳, 日本海産クサフグの脳および眼における光受容体オプシン遺伝子の日周発現変動. 第 44 回日本比較内分泌学会, 埼玉大学, 埼玉 (2019.11.8-10).
- (16) 小林蒼・松川裕大・濱田麻友子・筒井直昭・吉田真明・関口俊男・Hay, D.L.・Gingell, J.J.・坂本竜哉・坂本浩隆, 原始神経葉ホルモン「プラチトシン」の同定と機能解析. 平成 30 年度中国四国地区生物系三学会, 広島大学, 広島 (2019.5.12).
- (17) 小林 蒼・松川祐大・濱田麻友子・筒井直昭・吉田真明・関口俊男・Hay, D.L.・Gingell, J.J.・坂本竜哉・坂本浩隆, 原始神経葉ホルモン「プラチトシン」の末梢と中枢での機能. 公益社団法人日本動物学会第 90 回大会, 大阪市立大学, 大阪 (2019.9.12-14).
- (18) 小林 寛・高橋優太・大倉俊介・重松惇志・永見 新・中尾勝哉・川崎琢真・山口浩志・横田高士・中野美和・春見達朗・鈴木信雄・松原 創, シシヤモの初期発生を制御する環境要因. 令和元年度公益社団法人日本水産学会秋季大会, 福井県立大学, 福井 (2019.9.8-10).
- (19) 小林静静・山森汐莉・近藤真央・黒田純平・池亀美華・鈴木信雄・服部淳彦・北村敬一郎・山口正晃・小林 功, ゼブラフィッシュ鱗における骨芽細胞由来の細胞外小胞の取り込みは破骨細胞の分化を促進する. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).
- (20) 松原 創・小林 寛・重松惇志・永見 新・近藤昌和・鈴木信雄, 魚類における炭酸ガスの麻酔作用. 令和元年度公益社団法人日本水産学会秋季大会, 福井県立大学, 福井 (2019.9.8-10).
- (21) 村山寛記・小木曾正造・岡村隆行・柳井清治・関本愛香・丸山雄介・服部淳彦・鈴木信雄, アカテガニの生態学的研究. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).
- (22) 中山 理・関口 俊男・笹倉 靖徳・小笠原 道生, カタユウレイボヤ腩臓転写因子 Ptf1a による消化酵素遺伝子の発現制御. 公益社団法人日本動物学会第 90 回大会, 大阪市立大学, 大阪 (2019.9.12-14).
- (23) 小坂優斗・町 敬介・木谷洋一郎, キジハタ血中 L-アミノ酸オキシダーゼ: 産生部位および産生条件について. 日本水産学会令和 2 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京 (2020.3.26-30).
- (24) 関 友信・馬久地みゆき・村瀬弘人・鈴木信雄・鈴木道生・大平 剛, ナンキョクオキアミのフッ素沈着に關与するタンパク質の同定と組み換え体の作製. 公益社団法人日本動物学会第 90 回大会, 大阪市立大学, 大阪 (2019.9.12-14).
- (25) 関口俊男・中山理・矢澤隆士・小笠原道生・鈴木信雄・早川和一・和田修一, カタユウレイボヤにおける多環芳香族炭化水素受容体の探索. 公益社団法人日本動物学会第 90 回大会, 大阪市立大学, 大阪 (2019.9.12-14).

- (26) **関口俊男**, ニュージーランド固有の動物とその保護活動. 金沢大学公開講座「海外学術調査旅ノート～さまざまな国のさまざまな暮らし, そして研究～」, 金沢大学サテライトプラザ, 石川 (2019.5.11).
- (27) **関口俊男**, カタユウレイボヤ CCK/gastrin ホモログの研究. 第 10 回ペプチドホルモン研究会, 富山大学, 富山 (2019.8.22).
- (28) **関口俊男**・高木貴志・笹山雄一・服部淳彦・渡邊卓司・**木谷洋一郎**・田渕圭章・松原 創・**鈴木信雄**, アカエイ (*Dasyatis akajei*) カルシトニンにおける生殖腺調節機能の解析. 第 44 回日本比較内分泌学会, 埼玉大学, 埼玉 (2019.11.8-10).
- (29) 関本愛香・大平 剛・**鈴木信雄**, クルマエビの石灰化に關与する基質ペプチドの機能解析. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).
- (30) **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 (2019.5.26).
- (31) **鈴木信雄**, 海のおたからどっちがホンモノ. 金沢海みらい図書館, 石川 (2019.6.23).
- (32) **鈴木信雄**・池亀美華・田渕圭章・古澤之裕・北村敬一郎・**関口俊男**・山本 樹・矢野幸子・平山 順・服部淳彦, メラトニンは宇宙空間で引きこされる骨吸収を抑制する治療薬になる可能性がある. 日本宇宙生物科学会第 33 回大会, 千葉市文化センター, 千葉 (2019.9.20-22).
- (33) **鈴木信雄**, 魚類のストレスを低減する海洋深層水. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 公開シンポジウム, 能登における海洋生物学の新展開～魚類の発生工学から養殖まで～, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8) (招待講演).
- (34) **鈴木信雄**・池亀美華・田渕圭章・古澤之裕・北村敬一郎・**関口俊男**・山本 樹・矢野幸子・平山 順・服部淳彦, 宇宙空間で引き起こされる骨吸収を抑制する治療薬 (メラトニン) の作用. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).
- (35) **鈴木信雄**・五十里雄大・松原 創・**木谷洋一郎**・**小木曾正造**・**関口俊男**・古澤之裕・田渕圭章・神戸川 明・朝比奈潔・服部淳彦, 能登海洋深層水の魚類生理に対する影響. 令和 2 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学, 東京 (2019.3.26-30).
- (36) 鈴木晶子・**関口俊男**・服部淳彦・Srivastav, A.K.・**鈴木信雄**, キンギョの骨芽細胞及び破骨細胞に対するスタニウス小体抽出物の作用. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).
- (37) 田渕圭章・**鈴木信雄**, 低出力パルス超音波の細胞応答. シンポジウム基礎 1. 生体組織に対する超音波照射の影響とその応用. 日本超音波医学会第 92 回学術集会, 東京 (2019.5.24-26) (招待講演).
- (38) 田渕圭章・長谷川英之・**鈴木信雄**・平野哲史・長岡 亮・竹内真一・椎葉倫久・望月 剛, マウス ST2 骨髄間質細胞の最初期遺伝子発現に対する低出力パルス超音波の効果. 日本超音波医学会第 92 回学術集会, グランドプリンスホテル新高輪, 東京 (2019.5.24-26).
- (39) 田渕圭章・長谷川英之・**鈴木信雄**・平野哲史・長岡 亮・望月 剛, 低出力パルス超音波に対する初期応答遺伝子群の同定. オーガナイズドセッション「LIPUS の現状と最前線」. 第 18 回日本超音波治療研究会, 東京農工大学, 東京 (2019.12.7) (招待講演).

- (40) 浦田 慎・木下靖子・松原道男・**鈴木信雄**, 科学実験を活用した環境教育：海洋プラスチックごみ問題への取り組みと課題. 令和元年度 日本理科教育学会北陸支部大会, 新潟大学, 新潟 (2019.11.9).
- (41) 浦田 慎・木下靖子・能丸恵理子・谷内口孝治・松原道男・**鈴木信雄**, 石川県における海洋教育「能登モデル」の新展開～地域に広がる持続的活動を目指して～. 令和元年度日本動物学会中部支部大会, 金沢市文化ホール, 石川 (2019.12.7-8).

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 木谷洋一郎：カニ体液中の貝毒解毒機構について, 新潟食糧農業大学教授 長島裕二
- (2) 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
- (3) 木谷洋一郎：特徴的な微細構造による生物付着抑制技術について, NECTEC-TMEC (タイ王国) Dr. Nithi Atthi
- (4) 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
- (5) 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
- (6) 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
- (7) 関口俊男：インドール化合物の放射線防御機構解明, 福井県立大学看護福祉学部 教授 水谷哲也
- (8) 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
- (9) 関口俊男：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
- (10) 関口俊男：バソプレッシンファミリー受容体の機能解析, オークランド大学 (ニュージーランド) Dr. Joseph J. Gingell
- (11) 関口俊男：イカの腸内細菌についての研究, イェール NUS カレッジ (シンガポール) Prof. Steve B. Pointing
- (12) 関口俊男：アカエイカルシトニンの生理作用についての研究, 岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所教授 坂本竜哉
- (13) 関口俊男：ヒラムシ GPCR の認識機構に関する研究, 岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所准教授 坂本浩隆
- (14) 関口俊男：軟骨魚類における血中カルシウム濃度調節機構の研究, 東京大学大気海洋研究所教授 兵藤 晋, 同助教 高木 互
- (15) 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

- (16) 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
- (17) 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）Prof. 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 田渕圭章
- (18) 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
- (19) 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
- (20) 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，新潟大学農学部教授 杉山稔恵
- (21) 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
- (22) 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
- (23) 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
- (24) 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特任教授 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 田渕圭章，昭和大学准教授 舟橋久幸，JAXA 主任研究員 矢野幸子
- (25) 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
- (26) 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
- (27) 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
- (28) 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，公立小松大学保健医療学部 平山 順 教授
- (29) 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
- (30) 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
- (31) 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
- (32) 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 田渕圭章
- (33) 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

- (34) 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
- (35) 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
- (36) 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 田渕圭章
- (37) 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
- (38) 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
- (39) 鈴木信雄：メラトニンの骨代謝に対する作用に関する研究，東京医科歯科大学教養部教授 服部淳彦，公立小松大学保健医療学部教授 平山 順，金沢大学生命理工学類助教 小林 功

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 田渕圭章
- (2) 関口俊男：安定海水泡沫「波の花」の成因に関する研究（一般研究），東京大学大気海洋研所教授 瀧崎恒二
- (3) 関口俊男：環境ホルモンが生殖腺ステロイドホルモン産生に与える影響に対する評価系の確立と分子メカニズム解析（一般研究），旭川医科大学生化学講座講師 矢澤隆志
- (4) 関口俊男：海洋酸性化が炭酸カルシウムの殻・骨格を持たない動物ホヤに与える影響の解析（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
- (5) 関口俊男：海産無脊椎動物における PAH 認識機構の研究（若手研究），千葉大学大学院融合理工学府博士後期課程3年 中山 理
- (6) 鈴木信雄：大気汚染物質、多環芳香族炭化水素類が体内時計に与える影響の解明（一般研究），公立小松大学保健医療学部教授，平山 順
- (7) 鈴木信雄：カキの貝殻チョーク層の形成が海洋環境 から受ける影響の解析（一般研究），東京大学大学院農学生命科学研究科准教授，鈴木道生
- (8) 鈴木信雄：能登半島七尾湾における底質の溶存遊離アミノ酸及び微生物群集構造に関する研究（一般研究），北海道大学地球環境科学研究院教授，沖野龍文
- (9) 鈴木信雄：金沢市及び能登半島の周辺河口域底質の生物影響リスク評価（一般研究），鹿児島大学水産学部教授，宇野誠一
- (10) 鈴木信雄：富山湾沿岸の流れの経年変化とその環境に及ぼす影響について（一般研究），富山高等専門学校准教授，福留研一

- (11) 鈴木信雄：多環芳香族炭化水素類のタイ産淡水魚への毒性評価（一般国際研究），プリンスオブソンクラ大学（タイ），Dr. Thumronk Amornsaku N.

3) 海外渡航

- (1) 鈴木信雄：モスクワ大学（ロシア），学生交流・研究交流，令和元年10月19-24日
(2) 鈴木信雄：ベニスエフ大学（エジプト），国際シンポジウム参加，令和元年11月7-14日

4) 訪問外国人研究者

- (1) 鈴木信雄：Dr. Thumronk Amornsaku N.，プリンスオブソンクラ大学，令和元年7月15-19日
(2) 木谷洋一郎：Dr. Nithi Atthi, Witsaroot Sripunkhai, Pattaraluck Pattamang, タイ国立電子コンピューター技術研究センター（NECTEC），令和元年5月13-17日
(3) 木谷洋一郎：Witsaroot Sripunkhai, Pattaraluck Pattamang, タイ国立電子コンピューター技術研究センター（NECTEC），令和元年12月20-21日

5) 非常勤講師

関口俊男：長浜バイオ大学バイオサイエンス学部非常勤講師，2015-現在

6) 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) 関口俊男：日本動物学会男女共同参画委員，2017-現在
(3) 鈴木信雄：日本動物学会 中部支部代表委員，2016-現在
(4) 鈴木信雄：日本宇宙生物科学会 代議員，2012-現在
(5) 鈴木信雄：Journal of Experimental Zoology part A (Editorial board), 2014-現在
(6) 鈴木信雄：International Journal of Zoological Investigations (Editorial board), 2017-現在
(7) 鈴木信雄：International Journal of Environmental Research and Public Health (Gest Editor), 2019-2020
(8) 鈴木信雄：American Journal of Agricultural and Biological Sciences (Gest Editor), 2019-2020

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 木谷洋一郎, 基盤研究 (C), フグ毒結合タンパク質の構造と機能に関する研究—フグ毒に対する生体防御機構— (代表: 長島裕二, 新潟食料農業大学), 分担者, 平成 31-令和元年度, 250,000 円 (平成 31 年-令和元年度の直接経費計 1,100,000 円).
- (2) 関口俊男, 基盤研究 (C), 血中 Ca 濃度調節機能の進化的変遷: 円口類と軟骨魚類に注目したカルシトニンの研究, 代表者, 平成 31-令和元年度, 900,000 円.
- (3) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 血中 Ca 濃度調節機能の進化的変遷: 円口類と軟骨魚類に注目したカルシトニンの研究 (代表: 関口俊男, 金沢大学), 分担者, 平成 31-令和元年度, 100,000 円 (平成 31-令和元年度の直接経費計 900,000 円).

2) 受託研究費

- (1) 鈴木信雄, 独立行政法人 科学技術振興機構 A-STEP 機能検証フェーズ, 能登海洋深層水のストレス低減作用の水産増養殖への応用, 代表者, 3,000,000 円
- (2) 鈴木信雄, 石川県漁業協同組合, 水産生物の教材開発, 代表者, 95,300 円

3) 研究助成金等

- (1) 関口俊男, クリタ水・環境科学財団, 海産無脊椎動物における多環芳香族炭化水素のバイオモニタリングシステムの確立, 代表者, 1,000,000 円
- (2) 鈴木信雄, 公益財団法人 住友財団研究助成, マイクロプラスチック由来の有害化学物質による魚類の骨吸収促進作用の解析, 代表者, 1,500,000 円

【新聞発表等】

- (1) 鈴木信雄, 令和元年6月15日11:45~11:50 石川テレビ 海と日本プロジェクト (イカす会での公開講座)
- (2) 鈴木信雄, 令和元年6月24日 (読売新聞): 海洋プラごみ実験で考える (金沢海未来図書館の公開講義)
- (3) 鈴木信雄, 令和元年7月19日 (北國新聞): 宇宙空間の骨吸収 メラトニンで抑制 (J. Pineal Res. の論文出版に関する記事)
- (4) 鈴木信雄・関口俊男・木谷洋一郎, 令和元年9月17日 (北國新聞): 九十九湾の生物 全国の学生観察 (公開臨海実習に関する記事)
- (5) 鈴木信雄・関口俊男・木谷洋一郎, 令和元年10月17日 (北國新聞): 能登町の金大臨海実験施設 60年の歩みや成果講演 (臨海記念行事に関する記事)
- (6) 鈴木信雄・関口俊男・木谷洋一郎, 令和元年10月17日 (北陸中日新聞): 能登町で60年 歩み振り返る (臨海記念行事に関する記事)

【利用状況】

1) 利用者数及び船舶の使用状況

令和1年度臨海実験施設利用者数(延べ人数 4,930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	130	71	101	28
5	95	58	67	14
6	190	52	70	7
7	132	84	96	395
8	102	48	260	156
9	108	24	216	148
10	153	40	237	104
11	94	80	190	16
12	109	74	230	0
1	98	61	180	15
2	87	45	145	2
3	97	57	157	7
合計	1395	694	1,949	892

令和1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 867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	7	53	0	0	3	6	0	0
5	8	9	4	6	5	8	4	18
6	8	26	0	0	3	18	1	3
7	5	18	1	2	7	21	5	170
8	7	59	3	52	5	41	3	56
9	4	42	1	15	3	45	2	28
10	4	11	0	0	4	29	1	52
11	3	6	0	0	3	7	2	20
12	1	2	0	0	4	15	1	2
1	4	9	0	0	1	2	0	0
2	1	2	0	0	2	5	0	0
3	2	4	0	0	1	5	0	0
合計	54	241	9	75	41	202	19	349

研 究 報 告

*** 魚類血清に含まれる抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼの性状と機能**

小坂優斗, 木谷洋一郎 (p19-20)

*** ガドリニウムはキンギョのウロコの破骨細胞と骨芽細胞の活性を抑制する**

鈴木信雄 (p21-22)

*** アカエイにおけるカルシトニンの生理作用に関する研究**

東野将也, 関口俊男 (p23-24)

*** カタユウレイボヤ発生における多環芳香族炭化水素の作用**

関口俊男, 秋田谷 鴻, 中山 理, 矢澤隆志, 小笠原道生, 鈴木信雄, 早川和一, 和田修一 (p25-26)

*** 臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度 (2019 年度)**

小木曾正造, 岡村隆行, 中町 健 (p27-28)

魚類血清に含まれる抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼの性状と機能

小坂優斗, 木谷洋一郎

〒927-0553 石川県鳳珠郡能登町小木 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, Yoichiro KITANI: Characterization of the antibacterial L-amino acid oxidase in fish serum

Background

L-amino acid oxidase (LAO) is one of the potent oxygen radical species generator. LAO oxidizes L-amino acid to α -keto acid and generates hydrogen peroxide as a by-product. This enzyme shows a variety of bioactivities such as apoptosis, antiprotozoal and antibacterial activity. Those activities are because of the resulted-hydrogen peroxide. In fish species, antibacterial LAO was firstly found from fish body surface mucus and it may protect bacterial invasion at fish skin (Kitani et al., 2007). After this, fish LAO was isolated from the serum and it was the first report that the LAO found from animal blood (Kitani et al., 2010).

The LAO related host defense mechanisms of animals —including fishes are still unclear, even blood LAO. Previously, I surveyed that the species-specificity of LAO in fish blood and found the red-spotted grouper *Epinephelus akaara* (Fig. 1) serum containing the enzyme (EaLAO) and hydrogen peroxide mediated antibacterial activity against *Aeromonas salmonicida* and *Listonella anguillarum*. Isolated enzyme was 440 kDa acidic protein that consisted of 70 kDa subunits with L-tryptophan, L-methionine and L-phenylalanine oxidation activity. Also, the N-terminal and internal peptide amino acid sequences of the isolated enzyme were similar to known LAOs. This result was the first finding of LAO from *E. akaara*.

Purpose

However, the host defense mechanism of fish blood LAO is not fully examined. The new knowledge of blood LAO may become an important key to understand the first-line host defense system of animals. In this study, to gain more insight into the biological meaning of fish blood LAO, I try to reveal primary structure, tissue distribution and physiological responses of EaLAO.

Methods

First, cDNA cloning and sequence analysis of the EaLAO gene (*ealao*) was carried out. The partial nucleotide sequence was amplified by degenerate PCR. The degenerate primers were designed based on the N-terminal and internal peptide amino acid sequences of EaLAO. The full-length nucleotide sequence of *ealao* was attempted by both 3' RACE and 5' RACE method. Second, the expression level of *ealao* in *E. akaara* tissues -- dorsal skin, abdominal skin, gill, stomach, intestine, liver, spleen head kidney, trunk kidney, brain, pyloric caeca, and whole blood were measured. LAO activity of tissue extracts from those tissues was also measured. Finally, *ealao* alteration by the lipopolysaccharide (LPS) injection, pathogen exposure and traumatic damages were examined. In the LPS injection work, 1 mg of LPS was administrated to each fish by intraperitoneal (IP) injection. The pathogen exposure experiment, formalin killed vaccine of *A. salmonicida*, *L. anguillarum* and *Vibrio harveyi* were individually prepared and 100 μ L of vaccines were IP injected to each fish. The 10^6 CFU of live *V. harveyi* injection was also examined. The LPS and bacterial exposure experiment, *ealao* alterations in spleen were monitored. In traumatic damages experiments, two different types of experiments were performed; a) the test fish skin was trepanned 30 times/fish using lancets, b) the blood was collected as much as possible. After both treatments, blood LAO activity and *ealao* alteration in skin, spleen and head

kidney were monitored. The quantitative PCR of all gene expression profiling was amplified with *ealao*, interleukin 1 β (*illb*) and reference gene (component of oligomeric Golgi complex 5, *cog5*) specific primer set using SYBR green I chemistry. LAO activity of serum or plasma from all experiment was also evaluated by the generation of hydrogen peroxide with L-tryptophan using *o*-phenylenediamine / peroxidase method and measured the absorbance at 492 nm.

Results and Discussions

Partial nucleic acid sequence and amino acid sequence of EaLAO was clarified (555 bp, 185 AA). That sequence showed the high similarity of known fish LAO. The partial predicted amino acid sequence includes signal peptide (Met¹ - Ala²⁰), flavin adeninedinucleotide binding site (Arg¹¹⁵ - Thr¹²²) and N-glycosylation site (at least three sites, Asn⁴⁵ - Ser⁴⁸, Asn⁶² - Asp⁶⁵, Asn⁸⁰ - Gln⁸³). During the cloning work, I found two of the other types of LAO genes (*ealao2* and *ealao3*). These results suggested that the *E. akaara* has some of the *ealao* paralogues. The functional differences of the *ealao*s have to be clarified.

The tissue distribution of *ealao* was dominantly detected in dorsal skin, abdominal skin, gill and liver. The LAO activity of each tissue extract was detected in dorsal skin, abdominal skin, gill and serum. Interestingly, the LAO gene was not detected in hematopoietic tissues (spleen and kidney) and whole blood cells.

The LPS injection, *illb* was increased eight times at six hours rather than the initial group. However, *ealao* was not significantly altered. Similarly, LAO activity in serum was not changed by the LPS injection. Bacterial vaccine and live bacteria injection also showed less alteration of *ealao*. Both injections induced the *illb*; this result meant that the bacterial response of test fish was formed. Those results suggested that bacteria related substances and bacteria cell bodies are not contributing LAO response.

The *ealao* in the skin was not induced by skin trepanation; in contrast, loss of blood showed interesting responses. The *ealao* expression level was increased than the control group at one day after bled. This alteration was calmed three days after treatment. LAO activity of plasma was increased at three days after treatment. Those results suggested that *ealao* is induced by the the blood loss and synthesizes the LAO protein to recover the normal concentration in three days.

Conclusions

Taken together, the EaLAO may be generated in the liver during the healthy condition to maintain blood LAO concentration and stands by the intruding bacterial pathogens. In case of severe wounds that cause the blood loss, the *ealao* production switches to the head kidney for the recovery. In addition, EaLAO similar gene was detected in the skin and gills of the naïve grouper. Those LAO productions could protect bacterial infection from body surface tissues. In conclusion, LAO may constantly fight against bacterial infection in the entire body of the red-spotted grouper.

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、金沢大学大学院自然科学研究科生命科学専攻 小坂優斗氏の学位論文の一環として行われた。

ガドリニウムはキンギョのウロコの破骨細胞と骨芽細胞の活性を抑制する

鈴木信雄

〒927-0553 石川県鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設
Nobuo SUZUKI: Gadolinium suppresses both osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish

Background

Gadolinium (Gd) is a ductile rare-earth metal. Gd^{3+} is currently used in magnetic resonance imaging for clinical diagnoses because Gd^{3+} has paramagnetic properties (Möller *et al.*, 2002). To avoid the toxicity of Gd^{3+} , chelated forms, known as Gd-based contrast agents (Gd-CAs), have been used (Möller *et al.*, 2002; Telgmann *et al.*, 2013). In general, Gd-CAs are stable complexes. The agents are rapidly eliminated from a patient's body. After excretion, they enter the public sewer and, subsequently, the wastewater treatment plant. Because of their polar or anionic nature, however, the Gd complexes most likely are neither adsorbed onto surfaces nor by particulate organic matter (Knappe *et al.*, 2005) but are released into environmental water without a specific recycling process (Telgmann *et al.*, 2013). Therefore, a significant amount of anthropogenic Gd-concentration in surface waters has been reported worldwide (Möller *et al.*, 2002; Telgmann *et al.*, 2013). It is possible that the anthropogenic Gd impacts aquatic animals. Gd appears toxic in animals because Gd functions as a blocker of Ca channels, causing its ionic radius to be nearly equal to that of Ca (Sherry *et al.*, 2009). Therefore, we examined the effects of Gd in fish bone metabolism.

Methods

Female goldfish (*Carassius auratus*) were purchased from a commercial source (Higashikawa Fish Farm, Yamatokoriyama, Japan) and used in the scale *in vitro* bioassay. In addition, all experimental procedures were conducted in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of Kanazawa University.

The culture medium was prepared. First, we added 1% penicillin-streptomycin mixture (ICN Biomedicals Inc., Aurora, OH, USA) and HEPES (Research Organics, Inc., Cleveland, OH, USA) (20 mM) to Earle's Minimum Essential Medium (MEM; ICN Biomedicals Inc.). After filtration, the MEM was used in this experiment.

After preparation of the culture medium, goldfish were anesthetized with ethyl 3-aminobenzoate, methanesulfonic acid salt (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA) and the scales on both sides of the body were then removed. The collected scales were incubated in MEM supplemented with gadolinium acetate ($Gd(OCH_3CO)_3 \cdot 4H_2O$) (Wako Pure Chemicals, Osaka, Japan) (10^{-15} to 10^{-6} M) and compared with Gd-free medium as a control. The incubation time and temperature were 6 hours and $15^\circ C$, respectively. We have reported the toxicity of Cd at $15^\circ C$ at 6 hours of incubation (Suzuki *et al.*, 2004). Therefore, these culture conditions were adopted in the present study. After incubation, scales were fixed in 10% formalin in a 0.05 M cacodylate buffer (pH 7.4) and then rinsed in distilled water. These scales were kept in a 0.05 M cacodylate buffer at $4^\circ C$ until analysis. Then, tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) for osteoclasts and alkaline phosphatase (ALP) for osteoblasts were measured by the methods of Suzuki *et al.* (2004).

Results

Gd inhibited TRAP activity at 6 hours of incubation. Gd significantly suppressed TRAP activity. In 3 goldfish used in the present study, the detection limit of Gd was 10^{-13} , 10^{-11} , and 10^{-11} M, respectively.

ALP activity was significantly suppressed by Gd, although the Gd sensitivity was lower than in TRAP. In the 2 goldfish used in the present study, the detection limit of Gd was 10^{-9} and 10^{-10} M.

Discussion

This is the first report to indicate the toxicity of Gd on fish bone metabolism using TRAP and ALP enzyme activities. The scales of some teleosts are a better potential internal calcium reservoir than vertebral bone during periods of increased calcium demand (Bereiter-Hahn and Zylberberg, 1993). Therefore, we believe that fish scales are a suitable bone model for the analysis of environmental pollutants. Furthermore, we demonstrated that Gd quite sensitively inhibited TRAP activity. Even Gd of 10^{-13} M suppressed TRAP activity at 6 hours of incubation. Therefore, our assay system is quite effective as a biosensor for Gd.

At 6 hours of incubation, very low concentrations of Gd (10^{-10} and 10^{-9} M) influenced osteoblasts and suppressed osteoblastic activity. Therefore, the toxicity of Gd to osteoblasts appears to be higher than that of Cd, MeHg and InHg (Suzuki et al., 2004; Suzuki et al., 2011). Heavy metals such as Cd, MeHg and InHg were resistant to each metal as a result of the production of metallothionein (MT), which is a metal-binding protein that protects an organism from heavy metals (Suzuki et al., 2004; Suzuki et al., 2011). Because the mRNA expression of MT in Cd-, MeHg- and InHg-treated goldfish scales was increased, osteoblastic activity did not change at 6 hours of incubation (Suzuki et al., 2004; Suzuki et al., 2011). Thereafter, osteoblastic activity was inhibited by Cd (10^{-7} M), MeHg (10^{-7} M) and InHg (10^{-6} to 10^{-4} M) at 36 or 64 hours of incubation (Suzuki et al., 2004; Suzuki et al., 2011). Therefore, the toxicity of Gd to osteoblasts may be related to MT expression.

Gd was present in recycled water in which the stable organic Gd complexes pass through several sewage treatment plants without being significantly decomposed (Knappe et al., 2005). Therefore, anomalously high concentrations of Gd in surface waters are of anthropogenic origin (Rogowska et al., 2018). Specifically, anthropogenic Gd was detected in surface waters (up to 1,100 ng/L) and sediments (up to 90.5 $\mu\text{g/g}$) (Rogowska et al., 2018). Therefore, aquatic plants, fungi, small planktonic crustaceans, and freshwater fish (*Cyprinus carpio*) were able to take up anthropogenic Gd from the polluted water and it accumulated in their bodies (Rogowska et al., 2018). Furthermore, in the present study, we demonstrated that low levels of Gd (10^{-13} to 10^{-11} M) have toxicity for bone metabolism in goldfish. Thus, we strongly believe that anthropogenic Gd has toxicity for aquatic animals and we must consider a Gd risk assessment to protect the polluted aquatic environment.

References

- Bereiter-Hahn, J., Zylberberg, L. Regeneration of teleost fish scale. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 1993; 105: 625-641.
- Knappe, A., Möller, P., Dulski, P., Pekdeger, A. Positive gadolinium anomaly in surface water and ground water of the urban area Berlin, Germany. *Chemie der Erde – Geochemistry*, 2005; 65: 167-189.
- Möller, P., Paces, T., Dulski, P., Morteani, G. Anthropogenic Gd in surface water, drainage system and the water supply of the city of Prague, Czech Republic. *Environ. Sci. Technol.*, 2002; 36: 2387-2394.
- Rogowska, J., Olkowska, E., Ratajczyk, W., Wolska, L. Gadolinium as a new emerging contaminant of aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2018; 37: 1523-1534.
- Sherry, A.D., Caravan, P., Lenkinski, R.E. Primer on gadolinium chemistry. *J. Mag. Reson. Imaging*, 2009; 30: 1240-1248.
- Suzuki, N., Yachiguchi, K., Hayakawa, K., Omori K., Takada K., Tabata, J.M., Kitamura, K., Endo, M., Wada, S., Srivastav, A.K., Chowdhury, V.S., Oshima, Y., Hattori, A. 2011. Effects of inorganic mercury on osteoclasts and osteoblasts of the goldfish scales *in vitro*. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, 2011; 56: 47-51.
- Suzuki, N., Yamamoto, M., Watanabe, K., Kambegawa, A., Hattori, A. Both mercury and cadmium directly influence calcium homeostasis resulting from the suppression of scale bone cells: The scale is a good model for the evaluation of heavy metals on bone metabolism. *J. Bone Miner. Metab.*, 2004; 22: 439-446.
- Telgmann, L., Sperling, M., Karst, U. Determination of gadolinium-based MRI contrast agents in biological and environmental samples: A review. *Anal. Chim. Acta*, 2013; 764: 1-16.

アカエイにおけるカルシトニンの生理作用に関する研究

東野将也, 関口俊男

〒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

Masaya HIGASHINO, Toshio SEKIGUCHI: Study on the physiological role of calcitonin in stingray, *Dasyatis akajei*

Purpose

In non-mammalian vertebrates, calcitonin (CT) is a hypocalcemic hormone that is secreted from the ultimobranchial gland in response to the upregulation of blood calcium (Ca) levels. CT reduces the blood Ca^{2+} levels through the suppression of osteoclastic activity in the bones and scales, both of which are Ca^{2+} reservoirs. Although CT is synthesized in the ultimobranchial gland of cartilaginous fish, bones and scales, the principal target organs of CT, are absent. Therefore, the role of CT has not yet been clarified in cartilaginous fish. The present study aimed to evaluate the physiological role of CT through the establishment of assay systems for the plasma Ca^{2+} and CT concentrations in stingray, *Dasyatis akajei*. Moreover, to gain insight into Ca^{2+} homeostasis in Chondrichthyes, transient receptor potential cation channel subfamily V member 5 (TRPV5) mRNA was investigated, and its tissue distribution was evaluated.

Methods

Experiment 1: Establishment of an assay system for evaluation of Ca homeostasis in stingray

Oral administration of 2.5 M calcium-consomme solution, described as a high Ca^{2+} solution, was performed. Plasma was obtained at 0, 0.5, 1, 3, 6, 9, and 18 hours after administration. Consomme solution without Ca^{2+} was used as a control. Plasma was obtained 0, 1, 3, and 6 hours after control solution treatment. Total Ca^{2+} concentrations were measured using Aqua AutoKainos Ca reagent.

Experiment 2: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) using anti-stingray CT antiserum

ELISA using a rabbit anti-stingray CT antiserum was developed, based on the competition ELISA method reported in Suzuki N. (2001). First, the optimum antiserum concentration was determined. The dilution factor of antiserum was estimated to be between 1:10000 and 1:3200000. Next, the standard serial concentration of stingray CT peptide was evaluated. CT peptide concentrations, ranging from 0 to 12 ng/mL, were used for standard curve fitting. Furthermore, it was evaluated whether the CT levels of ultimobranchial gland extracts and plasma samples are detectable through ELISA.

Experiment 3: Tissue distribution analysis of TRPV5 mRNA by using RT-PCR

The gill, heart, stomach, intestine, kidney, rectal gland, and brain were removed from the stingray. Total RNA was extracted using the NucleoSpin RNA isolation kit, followed by cDNA synthesis using Revertra Ace kit with oligo dT (20) primers. Primers for PCR were designed based on the cDNA sequence of TRPV5. β -actin

was used as an internal control. The PCR fragment was electrophoresed with 1.5% agarose gel and confirmed by sequence analysis.

Results and Discussion

Experiment 1

Administration of high Ca^{2+} solution induced increase in plasma Ca^{2+} levels. The peak of plasma Ca^{2+} concentration was detected at 3 hours after treatment. Thereafter, plasma Ca^{2+} concentration slowly declined. Treatment with the control solution did not increase the plasma Ca^{2+} levels. These results confirmed that consomme alone did not induce the increase in plasma Ca^{2+} levels but did in combination with Ca^{2+} . In the present study, an assay system to investigate Ca^{2+} homeostasis was established.

Experiment 2

The antiserum titration curve was calculated. The maximum absorption of 492 nm was 2.1 at 1:10000-diluted antiserum. A dilution factor of 1:600000 was determined as an optimal antiserum concentration since approximately 40% of maximal color development is regarded as the optimum. Therefore, an antibody dilution factor of 1:600000 was used in the following experiment. Next, the range of serial standard peptide concentration was evaluated. The standard curve fitted from the result of the stingray CT peptide competition, ranging from 0 to 12 ng/mL, showed high reliability ($R^2 = 0.9792$). Thus, the concentration of competitor CT peptides was determined. Further, CT levels of the ultimobranchial gland were detected using this assay system, suggesting that ELISA can be used for the measurement of CT levels. Plasma CT levels were also detectable.

Experiment 3

To gain insight into the mechanism of the regulation of blood Ca^{2+} level in stingrays, TRPV5 has been investigated. In vertebrates, TRPV5 functions as a Ca^{2+} channel on the apical region of kidney epithelial cells and is involved in Ca^{2+} reabsorption. RT-PCR analysis indicated that stingray TRPV5 mRNA was expressed in the gill, stomach, and kidney, suggesting that stingray TRPV5 is associated with Ca^{2+} homeostasis in stingrays. TRPV5 mRNA was also detected in the brain, implying that TRPV5 might possess a neural function.

Conclusion

In this study, we established the *in vivo* experimental model to evaluate Ca homeostasis of the stingray. Moreover, we confirmed that plasma CT concentration can be measured by competitive ELISA using the anti-stingray CT rabbit antiserum. The further investigation of CT function is currently in progress.

Reference

Suzuki N. Calcitonin-like substance in the plasma of Cyclostomata and its putative role. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2001, 129:319-326.

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

カタユウレイボヤ発生における多環芳香族炭化水素の作用

関口俊男¹, 秋田谷 鴻², 中山 理³, 矢澤隆志⁴, 小笠原道生⁵, 鈴木信雄¹, 早川和一⁶, 和田修一²

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設, ²〒526-0829 滋賀県長浜市田村町 長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部 アニマルバイオサイエンス学科, ³〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 千葉大学 大学院融合理工学府 生物学コース, ⁴〒078-8510 旭川市緑が丘東 旭川医科大学 生化学講座 細胞制御科学分野, ⁵〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 千葉大学 大学院理学研究院 生物学研究部門, ⁶〒923-1224 石川県能美市和気町 金沢大学 環日本海域環境研究センター 低レベル放射能実験施設

Toshio SEKIGUCHI, Hiroshi AKITAYA, Satoshi NAKAYAMA, Takashi YAZAWA, Michio OGASAWARA, Nobuo SUZUKI, Kazuichi HAYAKAWA, Shuichi WADA: Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on development of the ascidian *Ciona intestinalis* type A

【背景】

多環芳香族炭化水素 (PAH) 類は、化石燃料や木材の不完全燃焼により生じ大気中に放出される環境汚染物質である。また PAH 類は重油に含まれており、重油流出事故などによる海洋汚染の際に、海産動物にも影響を及ぼす。PAH 類は、脊椎動物に対し発癌性物質、変異原性物質、内分泌かく乱物質として作用することが知られている。一方、海産無脊椎動物に対しては、様々な影響が指摘されているものの、PAH 受容体は不明であり、その作用機序は解明されていない。そこで、我々は海産無脊椎動物のモデルとして、カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis* type A) を用い、PAH 受容体の探索を目標とした研究を行なっている。今回、カタユウレイボヤの初期発生と変態への PAH 類の影響を検討するとともに、PAH 受容体の候補の一つである Aryl hydrocarbon receptor (AhR) に着目し、その発現を解析した。

【方法】

実験 1. 初期発生における PAH 類の影響についての検討

ホヤ受精卵に、dibenzothiophene, fluorene, phenanthrene をそれぞれ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μM 添加し、18°C で発生させた。添加 22 時間後の幼生を固定し、その形態を光学顕微鏡で観察、異常な幼生の発生率を計算した。

実験 2. 変態における PAH 類の影響についての検討

受精後 20 時間のホヤ幼生に dibenzothiophene, fluorene, phenanthrene をそれぞれ 100 μM 添加し、18°C で培養し添加 70 時間後の初期幼若体を固定した。ホヤの幼生はオタマジック型をしており、尾を振って遊泳する。尾部は変態中に退縮し細胞塊となり、最終的に体内に吸収される。初期幼若体を光学顕微鏡で観察し、初期幼若体の体長と細胞塊の長さの比を求めた。

実験 3. ホヤ AhR の発現解析

受精 20, 62, 86 時間後の幼生期、中期体軸回転期、初期幼若体期の個体を TRIZOL 試薬に溶解させ、Total RNA を抽出した。Oligo dT(20) プライマーを用い cDNA を合成した後、ホヤ AhR のプライマーセットにより PCR を行なった。内在性コントロールとして、EF1 α 遺伝子を選択した。また幼若

体におけるホヤ AhR の発現局在解析には、Whole mount *in situ* hybridization (WISH) を行なった。幼若体を固定し、ホヤ AhR (53-3220 bp)の配列から合成された DIG ラベル RNA アンチセンスプローブをハイブリダイズさせ、アルカリフォスファターゼ結合抗 DIG 抗体と反応させた後、基質である NBT と BCIP を加え発色させた。シグナルは光学顕微鏡で観察した。

【結果と考察】

実験 1.

PAH 類に対するカタユレイボヤの初期発生への影響を検討した。ホヤ受精卵に、PAH 類 (dibenzothiophene, fluorene, phenanthrene) のいずれかを添加した結果、dibenzothiophene と fluorene では、50, 100 μM で有意な発生異常が認められた。さらに phenanthrene では、25, 50, 100 μM で有意な発生異常が認められた。このように PAH 類が胚発生に影響を与えることを示した。

実験 2.

遊泳性の幼生が固着性の幼若体になるまでの変態過程における PAH 類の影響を解析した。遊泳幼生に dibenzothiophene, fluorene, もしくは phenanthrene を添加し、変態後の形態への影響を検討した結果、大きな異常は認められなかったが、尾部吸収後の細胞塊のサイズが増大していることが判明した。そこで、初期幼若体の体長に対する尾部吸収細胞塊の比を計算した結果、試験した全ての PAH 類において有意に比率の上昇が認められた。このことは、PAH 類が尾部吸収を阻害することを示唆する。

実験 3.

脊椎動物における PAH 受容体である AhR のホモログに着目し、その発現解析を行った。脊椎動物において、AhR は PAH 類と結合し、シトクロム P450 (CYP) 1A を誘導する。CYP1A は、PAH 類を代謝し無毒化する。ホヤ初期胚においては、AhR が、母性因子として未受精卵から尾芽胚まで発現していることが既に報告されている。今回、幼生から変態直後までの変態期と幼若体に着目し発現解析を行った。まず RT-PCR 法により変態期における AhR 遺伝子の発現解析を行った結果、幼生から初期幼若体までのステージで AhR mRNA が発現していることが明らかになった。さらに、幼若体を用いた WISH 解析の結果、AhR mRNA は、消化管、鰓の乳頭状突起、神経複合体で局在が認められた。ホヤ AhR は、消化管や鰓といった外界と接する器官において天然の毒物や環境汚染物質を認識しその無毒化に関わると予想されるとともに、神経機能を持つと考えられる。

【まとめ】

PAH 類がカタユレイボヤの初期発生や変態に影響を及ぼすこと、ホヤ AhR の発現パターンを明らかにした。ホヤ AhR は、PAH 類の影響を受ける全ての発生ステージで発現しており、PAH 受容体としてその作用を仲介する可能性が高い。今後は、ホヤ AhR の PAH 認識活性を確認する予定である。このように、本研究は、海産無脊椎動物の PAH 類の影響を分子レベルで研究する上での基盤となるだろう。

本研究は、クリタ水・環境科学財団の助成のもとに行われた。研究成果は、Sekiguchi, T., Akitaya, H., Nakayama, S., Yazawa, T., Ogasawara, M., Suzuki, N., Hayakawa, K. and Wada, S., 2020, Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on development of the ascidian *Ciona intestinalis* type A. *Int J Environ Res Public Health*, 17, 1340. に発表した。

臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度（2019年度）

小木曾正造¹, 岡村隆行², 中町 健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,

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, Takayuki OKAMUR, Takeru NAKAMACHI: The observation of seawater temperature, salinity, atmospheric temperature and humidity around the Noto Marine Laboratory (2019-2020)

【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月から気象観測を継続している。2019年度は2019年4月1日0時から2020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浮き桟橋下にて、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0.5m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5.0m及び7.5m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】

測定回数: 海水温は各水深とも欠測なく8784時点で測定した。塩分は付着生物の影響により10月に異常値が見られ、186時点を欠測とした。気温と湿度では、機器の動作異常により測定されない時点が多く、6月から12月に計475時点をそれぞれ欠測した。各測定値の月別平均をFig. 1から6に示す。

海水温: 年間平均水温は水深0.5m、5.0m、7.5mでそれぞれ18.59℃、17.8℃、18.2℃だった。月別平均水温は水深0.5m、5.0m、7.5mとも8月に最も高く、それぞれ28.34℃、27.0℃、27.4℃だった(Figs. 1, 2, 3)。月別平均水温の最低値は、それぞれ3月の11.64℃、11.0℃、11.5℃で、0.5mと7.5mでは観測以降最も高かった。月別平均水温は、いずれの水深でも7月に過去の値より低かったが、8月と9月では過去の値より高くなった。10月から12月は過去の平均値並で、1月から3月は高く推移した。

年間の最高水温は水深0.5mで8月15日15時の31.39℃、5.0mで8月15日の0-2時の29.4℃、7.5mで8月15日1時の29.9℃を観測し、0.5mと7.5mで過去最高水温だった。最低水温は水深0.5mで4月3日2時の10.21℃、5.0mは4月4日4時、3月16日9-10時の10.6℃、7.5mは4月4日4時の10.9℃だった。30.0℃以上の水温が測定された時点は、水深0.5mで8月に134時点あった。

実用塩分: 月別平均値は9月と10月以外は33.5から34.0の前後で、過去の平均値よりも高く推移した。最低塩分は6月30日14時に観測された26.74で、当日午前降った強い雨の影響と思われる。

気温: 上記のとおり欠測が多かったが、月別平均気温は8月に最も高く、25.7℃だった(Fig. 5)。4月から7月

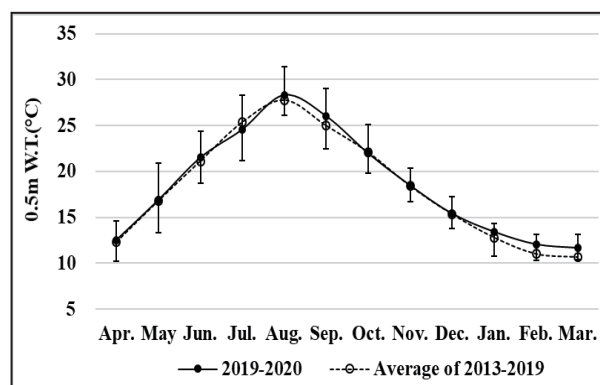


Fig. 1. Monthly average water temperature at a depth of 0.5 m.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2019-2020.

は過去の平均気温より低かったが、8月から10月は高くなった。8月15日15時に観測開始以降最も高い36.3℃を記録し、年間最低値は2月7日2時の-5.8℃だった。

湿度: 欠測が多かったが、月別平均湿度は過去の平均よりも低く推移し、7月が85%で最も高く、5月が71%で最も低かった (Fig. 6)。

1日間における温度変化: 1日24時点内における海水温と気温それぞれの最高値と最低値の差の各月平均値を Fig. 7 に示す。水深0.5mの水温と気温は例年とほぼ同様に推移したが、水深5.0mと7.5mの水温差は9月に例年より大きい値を示した。1日間での温度差が最大だったのは、0.5mで5月3日と7月12日の3.13℃、5.0mで9月23日の7.4℃、7.5mで9月23日の8.0℃、気温は3月19日の18.1℃だった。

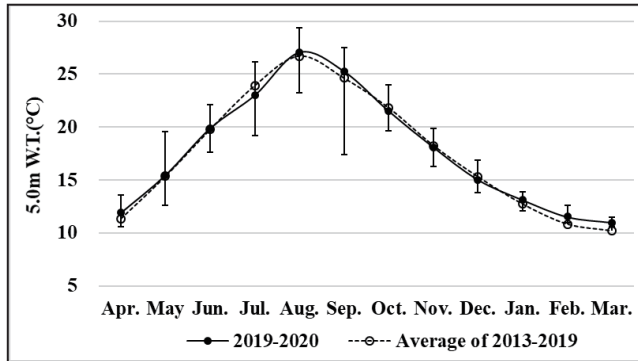


Fig. 2. Monthly average water temperature at a depth of 5.0 m.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2019-2020.

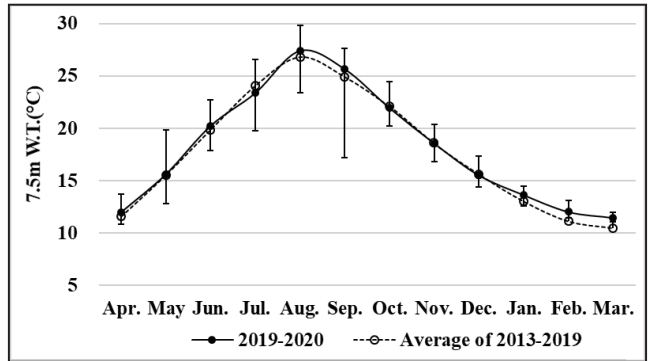


Fig. 3. Monthly average water temperature at a depth of 7.5 m.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2019-2020.

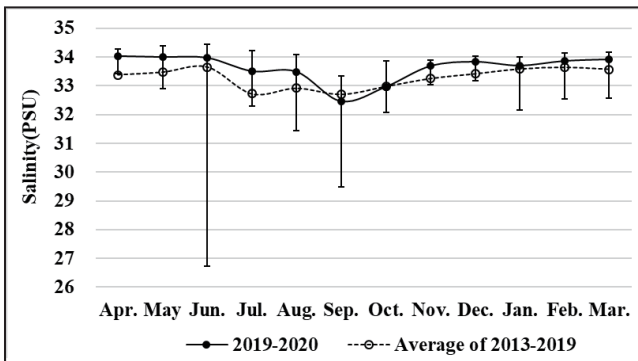


Fig. 4. Monthly average salinity at a depth of 0.5 m.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest salinity for 2019-2020.

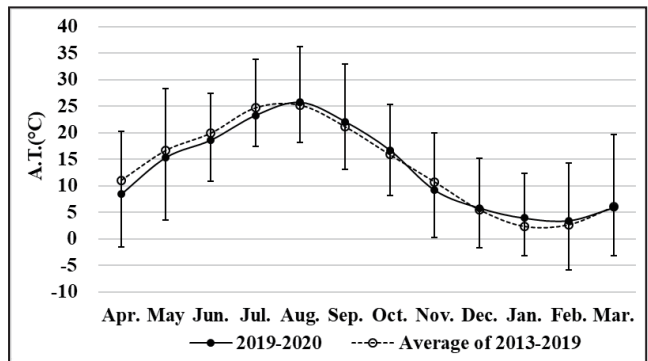


Fig. 5. Monthly average atmospheric temperature.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for 2019-2020.

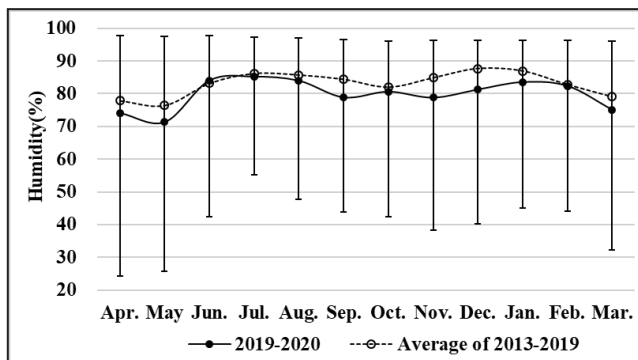


Fig. 6. Monthly average humidity.

Vertical bars indicate the range of the highest and lowest humidity for 2019-2020.

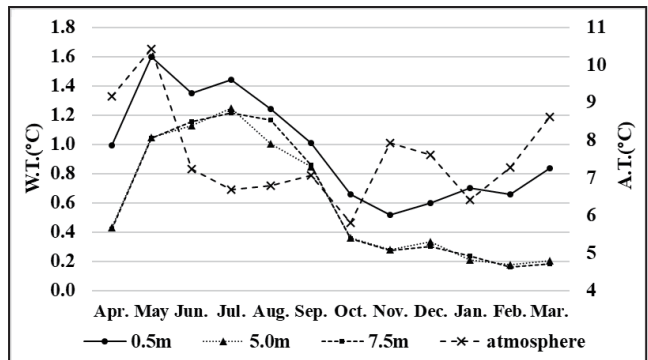


Fig. 7. Monthly average of difference between highest temperature and lowest temperature for one-day.

【構成員】

1) 教員

教授（施設長）

鈴木信雄（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、環境生理学

（海産動物の神経・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）

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

岡村隆行

令和2年3月31日退職

事務補佐員

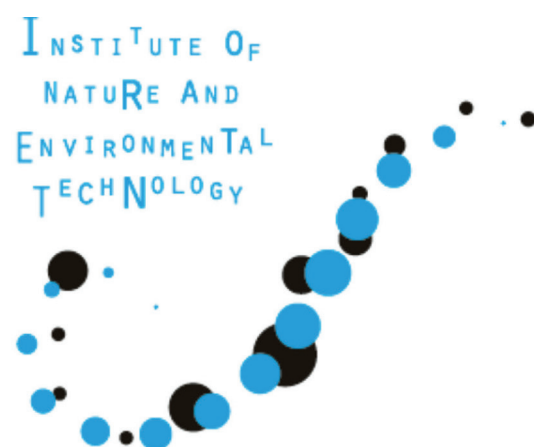
曾良美智子（msora@se.kanazawa-u.ac.jp）

3) 学生

4 年生	東野将也 村山寛記
修士課程 1 年	関本愛香
修士課程 2 年	小坂優斗
博士課程 1 年	山本 樹
博士課程 2 年	右高潤子

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
平山 順
堀田素志
三宅裕志
安田 寛
谷内口孝治
山田外史
Mohamed I. Zanaty



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