

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7号
2008.4 ~ 2009.3



能登半島に生息するスミゾメミノウミウシ
(*Protaeolidiella atra*)

Annual Report of Noto Marine Laboratory
Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University

活 動 報 告

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

【研究概要】

脊椎動物および無脊椎動物の生理・生化学的研究

博士後期過程に属するArin Ngamniyom君は、今年の9月に課程を修了する。現在、学位論文を執筆中であるが、審査制のある国際誌に1報以上の論文を發表しなければならない。彼は、『Expression levels of hormone receptors and bone morphogenic protein in fins of medaka』というタイトルでZoological Science 誌にまず、第1報が受理されており、現在、第2報を執筆中である。その受理された論文の内容は、ニホンメダカとタイメダカのヒレ（背ヒレ、胸ヒレ、腹ヒレ、尻ヒレ、尾ヒレ）において、男性ホルモンと女性ホルモンの受容体および、骨形成蛋白の発現を比較したものである。ヒレの形態が第二次性徴を現しているからである。さらに、タイメダカの中には、そのヒレの形態からオスともメスとも区別できない外形的中間型が存在する。彼の研究の結果、初めて、ヒレの性的二型が生じる分子生物学的証拠が得られた。また、タイメダカの中間型においては、それらの性ホルモン受容体の発現は、正常な雌雄の中間型であることも明らかになった。

修士2年修了の浅田光子君は、『脊椎動物の肝臓における伊東細胞様細胞の存在と機能』について研究を行った。伊東細胞は、哺乳類の肝臓において、血管上皮下に存在し、別名、星細胞と呼ばれるように、周囲に細胞突起を出し、コラーゲンを産生し肝臓の形を保持する細胞でビタミンAを貯蔵する、と規定されている。浅田君は、この細胞が真骨魚や両生類にも存在するかを、ヘマトキシリン・エオシンの2重染色法および渡銀染色法を用いて調べた。その結果、メダカ、コモンフグ、ササノハベラなど6種の真骨魚とニホンアマガエルの幼生において、肝血管上皮直下にあり、周囲に細胞質突起を出している典型的な伊東細胞様細胞を見出すことができた。しかしながら、哺乳類の伊東細胞では、最近、この細胞が神経と起源や働きが似ていると指摘する論文が多く出版されており、本研究でも、コラーゲンの成分の一部でもあり、さらに神経軸索の一部を構成する要素である β -チューブリンに対する抗体を用いて免疫染色を施すと、2種の真骨魚類とヤマアカガエルにおいて伊東細胞様細胞が陽性の反応を示した。したがって、この細胞は下等脊椎動物においても神経要素をもち、未知の働きを持っている可能性が示唆された。

4年次卒業生の田村 知君は、『キンギョの組織における異所性カルシトニンの検出』というタイトルで研究を行った。キンギョは飼育が容易で手術にも強く、性周期に伴う種々の生理現象が完全に解明されており、実験動物として有利な点を多く持っている。一方、カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制し、血中カルシウム濃度を低下させるペプチドであり、32個のアミノ酸で構成されている。これまで魚類以上の脊椎動物において29種の動物から35種類のカルシトニンが知られているが、キンギョにおいては、カルシトニンの生産に働く内分泌腺である鰓後腺からRT-PCRによって増幅され、実際にホルモンとして機能するカルシトニンの他に、肝臓のDNAからgenomic PCRによって増幅されるカルシトニンの2種類が報告されている。これらをそれぞれカルシトニンIとカルシトニンIIと呼んでいる。本研究では、種々の組織からカルシトニンIとIIを見分けて増幅させるプライマーを用いて、RT-PCRを行った結果、ほとんどの組織においてそれらが同時に発現していることを見出した。

笹山は、環形動物門マシコヒゲムシにおいて栄養体内腔の形態に関する一考察を行い、その栄養体からX線分析顕微鏡によってイオウを検出し、どちらも論文として発表した。

様々な物理的刺激に対する骨組織の応答に関する研究：魚類のウロコを用いた解析

鈴木は魚のウロコを骨のモデルとして用い、物理的刺激やホルモン等の生理活性物質の骨に対する作用を調べ、その応答の多様性を研究している。

本年度は国際宇宙ステーション「きぼう」船内実験室第2期利用に向けた候補テーマとして採択され、その準備に関する実験を行ってきた。その成果は、宇宙生物学会及び宇宙利用シンポジウムで発表した。宇宙実験では再生ウロコを用いる予定であり、再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞の活性をウロコの重量ではなく、面積当たりで算出する方法を開発した（Biol. Sci. Space に投稿予定）。さらに宇宙環境利用科学委員会研究班ワーキンググループの研究助成を受け、ウロコの滅菌方法及び培養方法の検討も行った。その結果、26℃で1週間培養可能であり、4℃で1週間保管しても過重力に対する応答性を保持していた。宇宙実験では骨芽細胞の培養株を用いた実験はあるが、破骨細胞は多核の活性型に誘導する必要があり、培養した破骨細胞を用いた宇宙実験は実現していない。また宇宙飛行士及びラットによる宇宙実験（*in vivo*）や、後肢懸垂ラット等を用いた地上実験（*in vivo*）では、骨芽細胞の活性低下はいつも起こるが、破骨細胞については結果に一致を欠いており、変化しなかったという報告とその活性が上昇したという報告がある。*in vivo*では、ホルモン等の様々な生理活性物質の影響を受けるため、宇宙空間における微小重力の直接的な影響を解析するには、*in vitro*で実験を行う必要がある。哺乳類の骨芽細胞と破骨細胞の共存培養は、地上では可能な技術であるが、宇宙空間では不可能に近いのが現状である。一方魚類のウロコには骨芽細胞と破骨細胞が共存しており、長期培養及び低温保存も可能であることから、ウロコは宇宙実験に適した材料である。現在、国際宇宙ステーション「きぼう」を用いた宇宙実験を目指して準備中である。

また、科学研究費の助成を受け、超音波の音圧による機械的刺激に対する応答を解析した。本年度は、富山大学生命科学先端研究センター遺伝子実験施設の田淵圭章准教授と高碓一朗助教との共同研究によりGeneChip解析を行った。骨芽細胞と破骨細胞の共存培養下で超音波刺激により応答する遺伝子を網羅的に解析して、オーストラリアのシドニーで開催された国際骨代謝学会で発表した。

魚類の骨代謝に関する研究：内分泌学的側面からの解析

オーストラリアのメルボルン大学のProf. T. John MartinとRMIT大学Dr. Janine A. Danks、東京医科歯科大学の服部淳彦教授、同大学の田畑 純准教授、岡山大学の山本敏男教授、同大学池亀美華准教授との共同研究により、副甲状腺ホルモンのウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用を解析した。その結果、副甲状腺ホルモンはヒトと同様にまず骨芽細胞を活性化して、次いで破骨細胞を活性化して骨吸収を行うことを*in vitro*及び*in vivo*でも証明した。さらに骨芽細胞で発現しているリガンドであるReceptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL)と破骨細胞にあるレセプターであるReceptor Activator of NF- κ B (RANK)のmRNA発現も副甲状腺ホルモンにより上昇することが判明した。これらの成果は、オーストラリアで開催された国際骨代謝学会のサテライトシンポジウム(Comparative Endocrinology of Calcium Regulation)で発表(招待講演)した。

メラトニンの魚類の骨代謝に対する作用についても解析した。この研究は、東京医科歯科大学の服部淳彦教授との共同研究であり、早稲田大学の中村正久教授にはRANKとRANKL、九州大学の安東宏徳准教授にはメラトニン受容体のクローニング(Comp. Biol. Physiol., 2009)を手伝っていただいた。これらの共同研究の結果、生殖時期にウロコでメラトニンが骨芽細胞で合成され、破骨細胞の活性を抑制するというメラトニンの新規作用を発見することができた。さらに、メラトニン誘導體(J. Pineal Res., 2008a)の卵巣除去ラットにおける影響を評価した。その結果、卵巣除去ラットにおいても骨強度が有意に上昇した(米国、中国、欧州特許出願中)。また、ハムリー(株)の関あずさ博士と共に、低Ca食ラットを用いて実験を行った結果、骨密度を有意に上昇させることが判明した(J. Pineal Res., 2008b)。なおこれらの成果は、第26回日本骨代謝学会で発表した。宇宙実験でもメラトニン誘導體の効果を調べる予定である。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Suzuki, N., Kitamura, K., Somei, M., Reiter, R.J. and Hattori, A.: Novel bromomelatonin derivatives suppress osteoclastic activity and increase osteoblastic activity: Implications for the treatment of bone diseases. *J. Pineal Res.*, 44: 326-334 (2008)
- (2) Suzuki, N., Omori, K., Nakamura, M., Tabata, M.J., Ikegame, M., Ijiri, K., Kitamura, K., Nemoto, T., Shimizu, N., Kondo, T., Matsuda, K., Ando, H., Kasahara, H., Nagase, M., Nara, M. and Hattori, A.: Scale osteoblasts and osteoclasts sensitively respond to low-gravity loading by centrifuge. *Biol. Sci. Space*, 22: 3-7 (2008)
- (3) Aida, M., Kanemori, M., Kubota, N., Matada, M., Sasayama, Y. and Fukumori, Y.: Distribution and population of free-living cells related to endosymbiont harbored in *Oligobranchia mashikoi* (a siboglinid polychaete) inhabiting Tsukumo Bay. *Microbes Environ.*, 23: 81-88 (2008)
- (4) Koizumi, T. and Sasayama, Y.: On the alpha-glucosidase-like activity detected in a siboglinid polychaeta, *Oligobranchia mashikoi*. *Zool. Sci.*, 25: 364-271 (2008)
- (5) Numoto, N., Nakagawa, T., Sasayama, Y., Fukumori, Y. and Miki, K.: Structure of the partially unliganded met state of 400 kDa hemoglobin: Insights into ligand-induced structural changes of giant hemoglobins. *Proteins*, 73: 111-125 (2008)
- (6) Numoto, N., Nakagawa, T., Kita, A., Sasayama, Y., Fukumori, Y. and Miki, K.: Structural basis for the heterotropic and homotropic interactions of invertebrate giant hemoglobin. *Biochemistry*, 47: 11231-11238 (2008)
- (7) Nakahama, S., Nakagawa, T., Kanemori, M., Fukumori, Y. and Sasayama, Y.: Direct evidence that extracellular giant hemoglobin is produced in chloragogen tissues in a beard worm, *Oligobranchia mashikoi* (Frenulata, Siboglinidae, Annelida). *Zool. Sci.*, 25: 1247-1252 (2008)
- (8) Takahashi, H., Suzuki, N., Takagi, C., Ikegame, M., Yamamoto, T., Takahashi, A., Moriyama, S., Hattori, A. and Sakamoto, T.: Prolactin inhibits osteoclastic activity in the goldfish scale: A novel direct action of prolactin in teleosts. *Zool. Sci.*, 25: 739-745 (2008)
- (9) Mishra, D., Srivastav, S.K., Suzuki, N. and Srivastav, A.K.: Prolactin cells of a teleost, *Heteropneustes fossilis* intoxicated with Metacid-50. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 3: 339-345 (2008)
- (10) 鈴木信雄, 小林史尚, 又多政博, 服部淳彦, 伊藤 靖, 大嶋雄治: 能登半島沿岸の海水中のトリブチルスズ濃度測定と海洋細菌によるトリブチルスズの浄化の試み. *日本海域研究*, 39: 49-53 (2008)
- (11) 鈴木信雄, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 清水宣明, 田畑 純, 池亀美華, 中村正久, 近藤 隆, 松田恒平, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 奈良雅之, 服部淳彦: 擬似微小重力及び過重力下における骨代謝制御: 培養ウロコを用いた解析. *Space Utiliz. Res.*, 24: 230-233 (2008)
- (12) Suzuki, N., Hayakawa, K., Kameda, K., Triba, A., Tang, N., Tabata, M.J., Takada, K., Wada, S., Omori, K., Srivastav, A.K., Mishima, H. and Hattori, A.: Monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit both osteoclastic and osteoblastic activities in teleost scales. *Life Sci.*, 84: 482-488 (2009)
- (13) Ngamniyom, A., Magtoon, W., Nagahama, Y. and Sasayama, Y.: Expression levels of hormone receptors and bone morphogenic protein in fins of medaka. *Zool. Sci.*, 26: 74-79 (2009)
- (14) Hamazaki, T., Suzuki, N., Widyowati, R., Miyahara, T., Kadota, S., Ochiai, H. and Hamazaki, K.: The depressive effects of 5,8,11-eicosatrienoic acid (20:3n-9) on osteoblasts. *Lipids*, 44: 97-102 (2009)
- (15) Ikegami, T., Azuma, K., Nakamura, M., Suzuki, N., Hattori, A. and Ando, H.: Diurnal expressions of four subtypes of melatonin receptor genes in the optictectum and retina of goldfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, part A 152: 219-224 (2009)
- (16) Matsuno, A. and Sasayama, Y.: A discussion of the morphology of the central lumen in the trophosome of a Frenulata (beard worm), *Oligobranchia mashikoi*, Siboglinidae, Annelida. *Rep. Noto Mar. Cent.*, in press

- (17) Sasayama, Y., Fukumori, Y., Nakabayashi, H. and Shimizu, N.: Detection of sulfur using an X-ray analytical microscope from the trophosome of a beard worm, *Oligobranchia mashikoi*, Frenulata, Siboglinidae. Nihonkai Kenkyu, in press
- (18) Srivastav, A.K., Srivastava, S.K., Mishra, D., Srivastav, S.K. and Suzuki, N.: Effects of deltamethrin on serum calcium and corpuscles of Stannius of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. Toxicol. Environ. Chem., in press
- (19) Srivastava, B., Mishra, D., Srivastav, S.K., Suzuki, N. and Srivastav, A.K.: 1, 25(OH)₂D₃ induced alterations in plasma calcium, inorganic phosphate, ultimobranchial gland and parathyroid gland of the garden lizard, *Calotes versicolor*. Zool. Poloniae, in press
- (20) Sekiguchi, T., Suzuki, N., Fujiwara, N., Aoyama, M., Kawada, T., Sugase, K., Murata, Y., Sasayama, Y., Ogasawara, M. and Satake, H.: Calcitonin in a protochordate, *Ciona intestinalis*: The prototype of the vertebrate Calcitonin/Calcitonin gene related peptide superfamily. FEBS J., in press
- (21) 鈴木信雄, 田畑 純, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 染井正徳, 池亀美華, 中村正久, 近藤 隆, 古澤之裕, 松田恒平, 田渕圭章, 高崎一朗, 和田重人, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 奈良雅之, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究: 宇宙実験に適したウロコの培養法の検討. Space Utiliz. Res., 印刷中

2) 総説

- (1) Suzuki, N., Somei, M., Seki, A., Reiter, R.J. and Hattori, A.: Novel bromomelatonin derivatives as potentially effective drugs to treat bone diseases. J. Pineal Res., 45: 229-234 (2008)
- (2) 鈴木信雄, 清水宣明, 北村敬一郎, 根本 鉄, 染井正徳, 池亀美華, 和田重人, 近藤 隆, 大森克徳, 中村正久, 井尻憲一, 田畑 純, 服部淳彦: 物理的刺激に対する骨芽細胞・破骨細胞の応答: 魚類のウロコを骨のモデルとした骨代謝の解析. 日本生体電気・物理的刺激研究会誌, 21: 31-37 (2008)

3) 著書

- (1) Srivastav, A.K., Yadav, S., Srivastav, S.K. and Suzuki, N.: The ultimobranchial gland in poikilotherms: Morphological and functional aspect. In "Experimental Endocrinology and Reproductive Biology", Haldar et al. eds, Science Publishers, Enfield, NH, USA, 269-296 (2008)
- (2) 鈴木信雄, 田畑 純, 服部淳彦: 第3章 キンギョ. 『身近な動物を使った実験1』, 鈴木範男編, 三共出版, 東京, 印刷中
- (3) 服部淳彦, 田畑 純, 鈴木信雄: 第3章 親子判別. 『身近な動物を使った実験4』, 鈴木範男編, 三共出版, 東京, 印刷中

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表

- (1) 鈴木信雄: 海洋汚染物質トリブチルスズの骨代謝に及ぼす影響: 骨のモデルである魚類のウロコのアッセイ系による解析. 第22回海洋生物活性談話会. 石川 (2008, 5)
- (2) 笹山雄一: 無脊椎動物の分類に関する最近の2,3の話題. 第22回海洋生物活性談話会. 石川 (2008, 5)
- (3) Hamazaki, T., Suzuki, N., Widjowati, R., Miyahara, T., Kadota, S., Ochiai, H., and Hamazaki, K.: The effect of n-9 eicosatrienoic acid (mead acid) on osteoblasts. The 8th meeting of International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids, USA (2008, 5) (招待講演)
- (4) Ikegami, T., Azuma, K., Nakamura, M., Suzuki, N., Hattori, A. and Ando, H.: Synchronous and diurnal expressions of genes encoding four different subtypes of melatonin receptors in the goldfish brain. 6th International Symposium on Fish Endocrinology, Canada (2008, 6)

- (5) 鈴木信雄：環境攪乱因子及び様々な物理的刺激に対する魚類の骨芽細胞及び破骨細胞の応答：培養ウロコを用いた解析。平成 20 年日本動物学会中部支部例会シンポジウム，環境要因と生物応答システム，富山（2008, 7）
- (6) 田村 知, Ngamniyom A., 鈴木信雄, 笹山雄一：キンギョにおける異所性カルシトニンの検出。平成 20 年日本動物学会中部支部例会，富山（2008, 7）
- (7) 鈴木信雄, Danks, J.A., 田畑 純, 池亀美華, 中村正久, 服部淳彦：副甲状腺ホルモンのウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用。第 79 回日本動物学会，福岡（2008, 9）
- (8) 鈴木信雄, 北村敬一郎, 大森克徳, 田畑 純, 池亀美華, 井尻憲一, 近藤 隆, 山田依里, 西島史恵, 根本 鉄, 清水宣明, 服部淳彦：再生鱗を用いた評価系の開発と加速度重力の解析。宇宙生物科学会第 22 回大会，奈良（2008, 9）
- (9) 服部淳彦, 鈴木信雄：破骨細胞の分化・機能を抑制する松果体ホルモン・メラトニン。第 26 回日本骨代謝学会，大阪（2008, 10）
- (10) 鈴木信雄, 染井正徳, 関あずさ, 池亀美華, 服部淳彦：新規プロモメラトニンは破骨細胞の活性を抑制し、骨芽細胞の活性を上げる：培養ウロコを用いた解析。第 26 回日本骨代謝学会，大阪（2008, 10）
- (11) 関あずさ, 鈴木信雄, 染井正徳, 池亀美華, 服部淳彦：新規プロモメラトニン誘導体の卵巣摘出ラットおよび低カルシウム食ラットに及ぼす影響。第 26 回日本骨代謝学会，大阪（2008, 10）
- (12) 鈴木信雄, 早川和一, 服部淳彦：多環芳香族炭化水素類の破骨・骨芽細胞に対する影響評価：魚類のウロコを用いたアッセイ系による解析。第 33 回日本比較内分泌学会，広島（2008, 12）
- (13) 丸山雄介, 鈴木信雄, 服部淳彦：繁殖期の雌キンギョに対してメラトニンは血漿カルシウム濃度を有意に抑制する。第 33 回日本比較内分泌学会，広島（2008, 12）
- (14) 田中大輔, 井上和仁, 鈴木信雄, 服部淳彦：繁殖期の雌キンギョのウロコにおけるメラトニン合成酵素の遺伝子発現。第 33 回日本比較内分泌学会，広島（2008, 12）
- (15) 宇都理佳, 古谷 遼, 中村正久, 鈴木信雄, 服部淳彦：キンギョ再生ウロコにおける隆起線形成と骨形成関連遺伝子発現の日内変動。第 33 回日本比較内分泌学会，広島（2008, 12）
- (16) Thiparpa, T., 中村正久, 鈴木信雄, 服部淳彦：キンギョのウロコにおける破壊と再生の開始シグナル。第 33 回日本比較内分泌学会，広島（2008, 12）
- (17) 鈴木信雄, 早川和一：重油にも含まれる多環芳香族炭化水素類の魚の骨代謝に及ぼす影響評価。平成 22 年度日本水環境学会中部支部学術集会，富山（2008, 12）
- (18) 鈴木信雄, 田畑 純, 大森克徳, 井尻憲一, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 染井正徳, 池亀美華, 中村正久, 近藤 隆, 古澤之裕, 松田恒平, 田淵圭章, 高崎一朗, 和田重人, 安東宏徳, 笠原春夫, 永瀬 睦, 久保田幸治, 鈴木 徹, 遠藤雅人, 竹内俊郎, 奈良雅之, 服部淳彦：魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究：宇宙実験に適したウロコの培養法の検討。第 25 回宇宙利用シンポジウム，神奈川（2009, 1）
- (19) 石岡憲昭, 浅島 誠, 石原昭彦, 泉 龍太郎, 宇佐美真一, 大石浩隆, 大森克徳, 鎌田源司, 黒谷明美, 鈴木ひろみ, 鈴木信雄, 曾我部正博, 高橋昭久, 二川 健, 東谷篤志, 東端 晃, 馬嶋秀行, 宮崎安将, 向井千秋, 保田浩志, 山崎 丘, Chattopadhyay, K., Orlov, O.I., Sharma, S.C., Shivaji, S., 庄逢源：平成 20 年度宇宙ストレス生物学研究班WG活動報告。第 25 回宇宙利用シンポジウム，神奈川（2009, 1）
- (20) 早川和一, 鈴木信雄：酵母 Two-hybrid 法及び魚ウロコを用いた多環芳香族炭化水素類の毒性評価。第 129 回日本薬学会年大会，京都（2009, 3）
- (21) Suzuki, N.: Physiological significance of the scale in the teleost calcium metabolism. The 7th International Satellite Symposium on the Comparative Endocrinology of Calcium Regulation (17th Scientific Meeting Second Joint Meeting of International Bone and Mineral Society), Australia (2009, 3) (招待講演)

- (22) Suzuki, N., Furusawa, Y., Takasaki, I., Tabuchi, Y., Kitamura, K., Wada, S., Hori, T., Kondo, T., Nemoto, T., Shimizu, N. and Hattori, A.: Effect of low-intensity pulsed ultrasound on osteoblasts and osteoclasts of zebrafish scales. 2nd Joint Meeting of the International Bone and Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society. Australia (2009, 3)
- (23) 天野永一朗, 佐藤達也, 野口侑真, 丸山雄介, 鈴木信雄, 服部淳彦: 他家移植ウロコに誘導された破骨細胞に対するコルチゾールの効果: キンギョのウロコを用いた解析. 第61回日本動物学会関東支部大会, 東京 (2009, 3)

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 笹山雄一: タイ・バンコク郊外におけるメダカの雌雄性を指標にした環境汚染の研究, 国立スリナカリンウイロット大学 (タイ) Dr. Wichian Magtoon
- (2) 笹山雄一: メダカの鱗の形成に及ぼす性ホルモンの研究, 基礎生物学研究所教授 長濱義孝氏
- (3) 笹山雄一: マシコヒゲムシ栄養体のバクテリオサイト微細構造の研究, 島根大学生物資源科学部教授 松野あきら氏
- (4) 笹山雄一: マシコヒゲムシ栄養体の脂肪酸組成の研究, 東京学芸大学教授 三田雅敏氏
- (5) 鈴木信雄: 魚類の副甲状腺ホルモンに関する研究, メルボルン大学 (オーストラリア) Prof. T. John Martin, RMIT 大学 (オーストラリア) Dr. Janine A. Danks
- (6) 鈴木信雄: 魚類のカルセミックホルモン (カルシトニン、ビタミン D、スタニオカルシン) に関する研究, ゴラクプール大学 (インド) Prof. Ajai K. Srivastav
- (7) 鈴木信雄: メラトニンの骨代謝に関する研究, 東京医科歯科大学教授 服部淳彦氏, 九州大学大学院農学研究院准教授 安東宏徳氏
- (8) 鈴木信雄: 重金属の骨芽・破骨細胞に及ぼす影響: ウロコのアッセイ系による解析, 国立水俣病研究センター主任研究員 山元 恵氏, 東京慈恵会医科大学医学部准教授 高田耕司氏
- (9) 鈴木信雄: ニワトリのカルシトニンレセプターのクローニングとその発現に関する研究, 新潟大学農学部助教 杉山稔恵氏
- (10) 鈴木信雄: ウロコの破骨細胞に関する研究, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科教授 山本敏男氏, 同准教授 池亀美華氏
- (11) 鈴木信雄: プロラクチンの骨組織に対する作用, 岡山大学理学部附属臨海実験所教授 坂本竜哉氏, 北里大学水産学部教授 高橋明義氏, 同准教授 森山俊介氏
- (12) 鈴木信雄: 再生ウロコに関する研究, 北海道大学大学院水産科学研究院教授 都木靖章氏, 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科准教授 田畑 純氏
- (13) 鈴木信雄: 円口類と軟骨魚類のカルシトニンの構造決定, 東京大学海洋研究所教授 竹井祥郎氏, 同准教授 兵藤 晋氏
- (14) 鈴木信雄: 交流磁場の骨代謝に及ぼす影響, 九州大学大学院工学研究院特任教授 上野照剛氏, 千葉大学 工学部准教授 岩坂正和氏
- (15) 鈴木信雄: 魚類の鰓後腺に存在するエストロゲンレセプターに関する研究, 早稲田大学教育学部名誉教授 菊山 榮氏, 早稲田大学人間総合研究センター研究員 山本和俊氏
- (16) 鈴木信雄: ヒラメの初期発生におけるカルシトニンの作用, 東北大学農学研究科教授 鈴木徹氏, 独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所発育制御チーム長 黒川忠英氏
- (17) 鈴木信雄: 脂肪酸の石灰化に対する作用, 富山大学 和漢薬研究所教授 浜崎智仁氏
- (18) 鈴木信雄: 超音波の骨代謝に及ぼす影響, 富山大学大学院医学薬学研究部教授 近藤 隆氏, 同大学 医学部講師 和田重人氏
- (19) 鈴木信雄: ウロコの破骨細胞で発現している遺伝子の解析, 早稲田大学教育学部教授 中村正久氏
- (20) 鈴木信雄: 重力及び微小重力の骨組織に対する作用, 東京大学 アイソトープ総合センター教授 井尻憲一氏
- (21) 鈴木信雄: 歯の石灰化に関する研究, 高知学園短期大学教授 三島弘幸氏
- (22) 鈴木信雄: 静磁場の骨代謝に及ぼす影響, 独立行政法人 物質・材料研究機構 強磁場研究センター 研究員 廣田憲之氏, 同研究センター 特別研究員 木村史子氏

- (23) 鈴木信雄：インドール化合物の抗菌活性及び植物の根の成長促進作用に関する研究，富山大学大学院理工学研究部客員教授 神坂盛一郎氏，同准教授 唐原一郎氏
- (24) 鈴木信雄：魚のウロコを用いた宇宙生物学的研究，宇宙航空研究開発機構主任研究員 大森克徳氏，富山大学大学院理工学研究部教授 松田恒平氏
- (25) 鈴木信雄：トリブチルスズの海域汚染に関する研究，九州大学大学院農学研究院准教授 大嶋雄治氏
- (26) 鈴木信雄：インドール化合物のラットの骨代謝に及ぼす影響，ハムリー（株）国際事業部 部長 関あずさ氏
- (27) 鈴木信雄：魚類の骨代謝におけるビタミンKの作用，神戸薬科大学教授 岡野登志夫氏，同講師 中川公恵氏
- (28) 鈴木信雄：魚のウロコで発現している遺伝子のメカニカルストレスに対する応答，富山大学生命科学先端研究センター 遺伝子実験施設 准教授 田淵圭章氏、同助教 高崎一朗氏
- (29) 鈴木信雄：耳石の石灰化に対するメラトニンの作用，奈良県立医科大学准教授 大西 健氏

2) 各種活動

社会活動

- (1) 笹山雄一：石川県環境影響評価委員会委員，2003-現在
- (2) 笹山雄一：石川県原子力発電温排水検討委員会委員，2000-現在
- (3) 笹山雄一：のと海洋ふれあいセンター研究報告編集委員会委員，1994-現在
- (4) 笹山雄一：石川県立七尾高等学校スーパーサイエンススクール運営委員会委員，2004-現在
- (5) 笹山雄一：石川県公共事業評価監視委員会委員，2005-現在

学会活動

- (1) 笹山雄一：日本動物学会中部支部長，2005-2008
- (2) 鈴木信雄：日本動物学会中部支部代議員，2008-現在

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 笹山雄一（代表），基盤研究（C），ヒゲムシと化学合成細菌の共生：宿主細胞による細菌の支配の解明に向けて，600,000 円。
- (2) 鈴木信雄（代表），基盤研究（C），新規硬組織モデルによる骨・歯の疾患に対する超音波治療方法の開発，700,000 円。
- (3) 鈴木信雄（分担），基盤研究（C），ナノ粒子を利用した特異的温度制御による口腔癌治療（代表：和田重人，富山大学）分担金 2008 年 200,000 円（2008 年の直接経費 total 2,200,000 円）
- (4) 鈴木信雄（分担），基盤研究（C），象牙質における成長線の周期性と生物時計との関連：メラトニンによる調節（代表：三島弘幸，高知学園短期大学）分担金 2008 年 180,000（2008 年の直接経費 total 2,300,000 円）

2) 受託研究費

- (1) 鈴木信雄（分担），環境省 ExTEND2005 フィージビリティースタディー，多環芳香族炭化水素類の内分泌かく乱作用の構造活性相関に基づく魚鱗の化学物質スクリーニング法に関する研究。（代表：早川和一、金沢大学）2008 年 4,000,000 円

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構 国際宇宙ステーション「きぼう」船内実験室第 2 期利用に向けた候補テーマ，宇宙空間における骨代謝制御：キンギョの培養ウロコを骨のモデルとした解析，3,000,000 円（間接経費：150,000 円）
- (2) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構 宇宙環境利用科学委員会研究班ワーキンググループ活動支援，魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究，1,650,000 円

【受賞】

- (1) 鈴木信雄，平成22年度 日本水環境学会中部支部学術集会 優秀ポスター賞
「重油にも含まれる多環芳香族炭化水素類の魚の骨代謝に及ぼす影響評価」

【利用状況】

1) 利用者及び研究目的

4 / 3 ~ 4 / 5	三重大学教育学部 後藤 太郎 教授 他3名 「イソヤムシの採集」
4 / 12 ~ 4 / 13	金沢大学理工研究域自然システム学系 福森 義宏 教授 他16名 「研究資料に関する報告会」
4 / 22 ~ 4 / 23	金沢大学理工研究域自然システム学系 神谷 隆宏 教授 他5名 「能登半島周辺の潮間帯・浅海貝形虫の採集と観察」
4 / 30 ~ 5 / 2	京都大学舞鶴水産実験所 甲斐 嘉晃 助教 他2名 「メバル属魚類の採集」
5 / 16 ~ 5 / 17	金沢大学理工研究域自然システム学系 福森 義宏 教授 「マシコヒゲムシ巨大ヘモグロビンに関する研究打ち合わせ」
5 / 21	金沢大学理工研究域自然システム学系 加藤 道雄 教授 他2名 「九十九湾周辺の試料採取」
5 / 23 ~ 5 / 25	金沢大学理工研究域自然システム学系 福森 義宏 教授 他14名 「第22回海洋生物活性談話会に出席し、発表及び情報収集」
6 / 20 ~ 6 / 22	スーパーサイエンスハイスクール 「海洋生物の観察」七尾高校

- 6 / 2 4 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他2名
「九十九湾周辺の試料採取」
- 7 / 1 ~ 7 / 3 名古屋港水族館 海洋生物第二係
栗田 正徳 係長 他2名
「棘皮動物の採集」
- 7 / 2 5 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他1名
「九十九湾周辺の試料採取」
- 8 / 2 5 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他2名
「九十九湾周辺の試料採取」
- 9 / 2 6 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他2名
「九十九湾周辺の試料採取」
- 10 / 2 1 ~ 10 / 2 2 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他7名
「九十九湾周辺の試料採取」
- 3 / 3 名古屋港水族館 海洋生物第二係
栗田 正徳 係長
「棘皮動物の採集」
- 3 / 1 6 Chiang Mai University
Chetianukornkul Thaneeya Assistant Professor 他19名
「施設視察」

3 / 2 5 ~ 3 / 2 6

慶應義塾大学理工学部

小林 一也 助教

「扁形動物の採取」

2) 臨海実習等

7 / 8 ~ 7 / 1 0

富山県立砺波高校

松原 禎弘 教諭 他 4 4 名

「ウニの初期発生の研究及び磯の生物調査」

8 / 8 ~ 8 / 9

金沢大学理工研究域自然システム学系

中村 浩二 教授 他 1 8 名

「臨海実習」

8 / 1 7 ~ 8 / 2 2

公開臨海実習

首都大学東京 秋元 優希 他 5 名

9 / 2 4 ~ 9 / 2 6

金沢大学理工研究域自然システム学系

福森 義宏 教授 他 2 4 名

「臨海実習」

3) 利用者数及び船舶の使用状況

平成20年度臨海実験施設利用者数（延べ人数648人の内訳）

(月)	研究者		学生	
	学内	学外	学内	学外
4	13	4	42	11
5	5	44	2	4
6	1	12	2	114
7	1	21	1	120
8	8	0	90	36
9	4	0	74	0
10	4	0	12	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	23	0	0
合計	36	104	223	285

平成20年度臨海実験施設船舶使用回数

(月)	あおさぎ	くろさぎ
4	6	3
5	2	2
6	3	4
7	4	3
8	2	4
9	3	2
10	2	3
11	3	3
12	3	3
1	4	4
2	3	2
3	3	2
合計	38	35

研究報告

* 水酸化多環芳香族炭化水素類の魚類の骨芽細胞及び破骨細胞に対する影響
鈴木信雄, 服部淳彦, 早川和一 (p 14-15)

* 脊椎動物の肝臓における伊東細胞様細胞の存在と機能
浅田光子 (p 16)

* 環形動物門マシコヒゲムシの栄養体各部におけるグリコーゲン貯蔵量
板津秀彰 (p 17)

* 環形動物門マシコヒゲムシの心臓小体の形態学的観察
水野文敬 (p 18)

* キンギョの様々な組織におけるカルシトニンmRNAの検出
田村 知 (p 19)

水酸化多環芳香族炭化水素類の魚類の骨芽細胞及び破骨細胞に対する影響

鈴木信雄¹, 服部淳彦², 早川和一³

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〒272-0827 千葉県市川市国府台, 東京医科歯科大学 教養部 生物学教室; ³〒920-1192 金沢市角間町, 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 環境衛生化学

Nobuo SUZUKI¹, Atsuhiko HATTORI², Kazuichi HAYAKAWA³: Effect of monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons on osteoblasts and osteoclasts in teleosts

多環芳香族炭化水素類 (PAH) は、石炭燃料やディーゼル車からの排ガス粉塵に起因する大気汚染物質である。PAHは動物体内に入ると、P450により水酸化される。そのPAHの代謝産物である水酸化PAHに内分泌攪乱作用 (エストロゲン受容体と結合する作用) があることが、酵母two-hybrid assayによりわかってきた (Hayakawa et al., 2007)。しかしPAH自体にはエストロゲン受容体との結合がみられないことから、水酸化PAHが内分泌攪乱作用の活性物質であると推測される (Hayakawa et al., 2007)。またPAHは重油にも含まれており、重油汚染海域では魚の脊柱彎曲が観察されている。水酸化PAHが魚の骨代謝に影響を与えている可能性が非常に高い。しかし、これまで水酸化PAHの生物に対する作用はほとんど注目されておらず、骨代謝に及ぼす影響はこれまで全く調べられていない現状にある。

そこで我々は、「魚類のウロコ」に注目した。ウロコには骨芽細胞と破骨細胞が共存し、エストロゲン受容体も存在している (Suzuki et al., 2006)。さらに、ウロコを用いたアッセイを開発して、ビスフェノールA (Suzuki and Hattori, 2003) 及びトリブチルスズ (Suzuki et al., 2006) の影響を評価してきた。

本研究では、水酸化PAHの骨代謝に及ぼす作用をキンギョのウロコのアッセイシステムで評価し、さらにRT-PCRにより骨組織に特異的に発現している遺伝子の変化も解析した。

【方法】

1) キンギョおよびベラのウロコのアッセイ系を用いた水酸化PAH類の骨代謝に対する影響評価

材料としてキンギョ (*Carassius auratus*) とベラ (*Pseudolabrus sieboldi*) を用いた。魚をMS-222で麻酔し、ウロコを取った。そのウロコを半分に切り、実験群と対照群とに分けた (N=8)。なお、1個体の魚からウロコを約100枚とり、一連の実験は同一個体のウロコを用いて行った。統計はstudent's t-testで解析した。HEPES (20 mM) (pH 7.0) 及び抗生物質 (1%) を含む培地 (MEM, ICN Biomedicals Inc.) に4-hydroxybenz[a]anthracene (4-OHBaA) と3-hydroxybenz[a]anthracene (3-OHBaA) を添加し、水酸化PAHの破骨細胞及び骨芽細胞に対する作用を評価した。培養時間は6及び18時間で、濃度は 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} Mでその作用を解析した。また、ネガティブコントロールとして酵母のtwo-hybrid assayでエストロゲン及び抗エストロゲン活性がみられなかった1-hydroxypyrene (1-OHPy) を用い、ポジティブコントロールとして 17β -estradiolを用いて実験を行った。

本研究では、破骨細胞の活性の指標として酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) を用い、骨芽細胞の活性の指標としてアルカリフォスファターゼ (ALP) を使用し、水酸化PAH類の骨組織に対する作用を調べた。骨芽及び破骨細胞の活性の測定方法はSuzuki and Hattori (2002) により行った。

2) 水酸化PAHのカテプシンK及びIGF-I mRNAの発現に対する影響

8匹のキンギョのウロコを取り、前述と同様の方法により、ウロコを半分に切り、実験群と対照群とに分けた。なお、今回は1匹のキンギョにおいて、実験群と対照群との差をpaired t-testで解析した。HEPES (20 mM) (pH 7.0) 及び抗生物質 (1%) を含む培地 (MEM, ICN Biomedicals Inc.) に4-OHBaA (10^{-5} M) を添加し、水酸化PAHのmRNAの発現に対する影響を解析した。哺乳類と同様にしてキンギョにおいても、カテプシンKは破骨細胞 (Azuma et al., 2007)、IGF-Iは骨芽細胞 (Suzuki

and Hattori, 2003)のマーカーとして有用であることは既に検証済なので、本研究では、これらのマーカーの発現を解析した。培養時間は6及び18時間で、 17β -estradiolとの作用を比較した。培養後、ウロコからキアゲンのキットによりmRNAを抽出し、キアゲンのキットを用いてcDNAを合成した。その後、mRNAの発現に対する影響をSuzuki et al. (2004)の方法に従い、解析した。

【実験結果】

1) キンギョおよびベラの破骨細胞に対する水酸化PAHの作用

6時間の培養において、4-OHBaA (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M)・3-OHBaA (10^{-5} M)は、キンギョの破骨細胞の活性を有意に抑制した。ベラにおいても4-OHBaA (10^{-6} , 10^{-5} M)と3-OHBaA (10^{-5} M)は破骨細胞の活性を抑制した。一方、 E_2 (10^{-6} , 10^{-5} M)はキンギョの破骨細胞の活性を有意に上昇した。なお、1-OHPyは有意な変化は示さなかった。18時間の培養においても、4-OHBaA (10^{-5} M)はキンギョおよびベラの破骨細胞の活性を抑制した。一方 E_2 は、キンギョでは 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} Mにおいて、ベラでは 10^{-5} Mにおいて破骨細胞の活性を上昇させ、1-OHPyは破骨細胞の活性を変化させなかった。

2) キンギョおよびベラの骨芽細胞に対する水酸化PAHの作用

キンギョおよびベラの骨芽細胞においても、4-OHBaAおよび3-OHBaAは活性抑制作用を示した(キンギョ：6時間, 4-OHBaA (10^{-5} M), 3-OHBaA (10^{-5} M)、ベラ：6時間, 4-OHBaA (10^{-5} M), 3-OHBaA (10^{-5} M))。一方、 E_2 (キンギョ： 10^{-6} , 10^{-5} M、ベラ： 10^{-5} M)は骨芽細胞の活性を上昇した。なお、1-OHPyは有意な変化は示さなかった。18時間の培養においては、4-OHBaAはキンギョの骨芽細胞の活性を抑制する傾向がみられ、ベラでは有意に活性を低下させた(4-OHBaA (10^{-5} M), 3-OHBaA (10^{-5} M))。一方、 E_2 (キンギョ： 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M、ベラ： 10^{-6} , 10^{-5} M)は骨芽細胞の活性を上昇させ、1-OHPyは破骨細胞の活性を変化させなかった。

3) カテプシンK及びIGF-I mRNAの発現に対する水酸化PAHの影響

4-OHBaA (10^{-5} M)は破骨細胞のマーカーであるカテプシンK及び骨芽細胞のマーカーであるIGF-I mRNAの発現を抑制した。一方、 E_2 (10^{-6} M)はこれらの発現を上昇させた。

【まとめ】

1. 酵母 two-hybrid 法で強いエストロゲン様活性を示した 4-OHBaA 及び 3-OHBaA は共に、魚類のウロコの破骨細胞及び骨芽細胞の活性抑制作用があり、魚類においてこれらの水酸化 PAH はエストロゲンとは異なる作用が認められた。
2. 酵母 two-hybrid 法でエストロゲン様活性を示さなかった 1-OHPy は、魚類のウロコの破骨細胞及び骨芽細胞のいずれにも影響を示さなかった。
3. 4-OHBaA は、破骨細胞及び骨芽細胞のマーカー遺伝子の発現も抑制し、細胞の活性と同様の変化を確認できた。

謝辞 本研究の一部は、科学研究費補助金(基盤研究(C) No. 18500375、代表：鈴木信雄)及び環境省 ExtTEND 2005基盤的研究(代表：早川和一)の援助により行われた。

引用文献

- 1) Azuma, K., et. al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 362: 594-600 (2007).
- 2) Hayakawa, K. et al., J. Health Sci., 53: 562-570 (2007).
- 3) Suzuki, N. and Hattori, A., J. Pineal Res., 33: 253-258 (2002).
- 4) Suzuki, N. and Hattori, A., Life Sci., 73: 2237-2247 (2003).
- 5) Suzuki, N., et. al., J. Bone Miner. Metab., 22: 439-446 (2004).
- 6) Suzuki, N., et al., Life Sci., 78: 2533-2541 (2006).

脊椎動物の肝臓における伊東細胞様細胞の存在と機能

浅田光子

〒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

Mitsuko ASADA: Presence and function of Ito-cell-like cells in the liver of vertebrates

哺乳類において、消化管に入った食物は、消化管ホルモンの刺激によってタイミングよく消化液や膵液の分泌を受け、消化・吸収される。近年、消化管ホルモンは、この働きの他に、血流に乗り肝臓に達し、肝門脈内皮細胞直下に分布する求心性神経の末端にある神経小体様構造物によって情報分子として捉えられ、直接、血液の栄養状況を中枢神経に伝える機能をも有する可能性が出てきた。本研究においては、このような情報システムが真骨魚類や両生類の肝臓にも存在するか否かを調べた。その結果、現在、同様な構造物の発見には至っていない。しかしながら、研究の過程で、肝臓実質組織に存在し、興味深い分布と形態をなす細胞を見出したので報告する。

ヘマトキシリン・エオシンの二重染色において、メダカの肝細胞の間に伸長した細胞質のように見える構造が認められた。これが真の細胞であるか否かを確かめるために、メダカ、コモンフグ、ササノハベラなど6種の真骨魚とニホンアマガエルの幼生の肝臓に、神経軸索や膠原線維等の微細な構造を染め出すことのできる渡銀染色を施した。その結果、その構造は楕円形あるいは三角形の核を持つ細胞で、肝臓の組織に広く分布し、細胞質をいくつかの方向に伸ばし、動物種によっては、その細胞末端どうしが重なり合い、結合しているように見える場合もあった。したがって、その細胞どうしは肝臓において立体的なネットワークを形成していることが明らかになった。これらの細胞の形態や分布の特徴は、哺乳類の肝臓におけるいわゆる“伊東細胞”に酷似していたので、本研究では、この細胞を“伊東細胞様細胞”と呼ぶことにした。

哺乳類において伊東細胞は、ビタミンAを貯蓄する働きを有する他に、コラーゲン繊維を産生し、肝臓全体の形態を維持するように機能していると考えられてきた。しかしながら、最近の研究によると、伊東細胞が、主に神経細胞が発現させている数種のタンパク質を発現させていること、また電子顕微鏡によってシナプス小胞のような構造が観察されていることなどから、起源が神経冠由来であることが示唆され、これまで知られていない機能を有する可能性が報告されている。本研究では、微小管の構成要素である β -tubulinに注目した。神経軸索では微小管により軸索輸送が行われ、神経細胞ならば必ず β -tubulinを発現させている。このタンパク質のアミノ酸構造の一部は、極めて保存性が高く、原生動物から哺乳類まで共通である。その部分から作成した抗体を用いて、2種の真骨魚とヤマアカガエル、およびラットの肝臓を免疫染色した。その結果、観察したすべての種の伊東細胞様細胞が陽性の反応を示した。さらに、神経特異的に発現するclass III β -tubulinのみを認識する抗体を用いて免疫染色を行った結果、上記の細胞と思われる陽性細胞を確認できた。

以上より得られた事実を併せて考えると、伊東細胞様細胞は真の伊東細胞である可能性があり、将来、哺乳類の伊東細胞で見つかるであろう機能を有することが証明されるか否か興味深い。

(本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻 浅田光子君の修士論文の一環として行われた)

環形動物門マシコヒゲムシの栄養体各部におけるグリコーゲン貯蔵量

板津秀彰

〒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

Hideaki ITATSU: Glycogen contents of several portions of the trophosome in the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Annelida)

環形動物門マシコヒゲムシ (*Oligobrachia mashikoi*) は石川県能登半島、九十九湾水深約25mの海底に生息する。本種を含むヒゲムシ類は口や消化管を持たない代わりに栄養体という組織を発達させ、組織内に共生させた化学合成細菌が作り出す炭水化物物により生きている。栄養体は化学合成細菌を共生させているバクテリオサイトと、それに隣接する栄養貯蔵細胞からなる。これまでの研究で、栄養貯蔵細胞には大量の中性脂肪やグリコーゲン顆粒が確認されている。ヒゲムシ類では *Siboglinum atlanticum* 前体部及び後体部におけるグリコーゲンの分布が調べられている。しかし、後体部における位置とグリコーゲン分布の関係は調べられたことがなく、さらに、本種における栄養体は一般的なヒゲムシと形態的な特徴が大きく異なっている。そこで、本研究では、グリコーゲンの分布及び量を調べるため組織化学的なPAS染色の手法を用い、栄養体各部におけるグリコーゲンを可視化、貯蔵量の比較を試みた。

一般的なヒゲムシにおいて、オスの個体では後体部の前部をほぼ精巢が占め、栄養体は後体部の後部でしか見られないが、本種では栄養体と精巢が同時に観察された。PAS染色の結果、*S. atlanticum*と同様に表皮や栄養体にてグリコーゲンの反応が見られた。さらに、本種における栄養体は二本の血管の間、広い範囲に存在するが、中央までバクテリオサイト及び栄養貯蔵細胞で構成されるわけではなく、内側は栄養体内腔や大きく膨らんだ細胞で満たされており、その領域で非常に強い陽性反応が見られた。前体部及び後体部は環帯付近で区別されるが、環帯からヒゲムシ後方への距離と栄養貯蔵細胞内グリコーゲン占有率の間には相関は見られなかったが、環帯からの距離が遠くなるほど栄養体の内側の領域でのグリコーゲン占有率は減少する傾向があった。また、断面積が大きな個体ほど、栄養体の内側の領域でグリコーゲン占有率が高まる傾向があった。加えて栄養体の内側の領域でのグリコーゲン面積と栄養貯蔵細胞を比較したところ、約5.5倍と栄養体の内側の領域でのグリコーゲン面積が大幅に上回っていた。これらの結果は、本種におけるグリコーゲンの貯蔵は主に栄養貯蔵細胞内ではなく、栄養体の内側の領域で行っているということを示唆している。本種では、栄養貯蔵細胞において大量の中性脂肪が貯蔵されていることが確認されており、グリコーゲンは一時的な貯蔵物質であると考えられる。よって、貯蔵したグリコーゲンを栄養体にて吸収していることが示唆されるが、これは消化管としての機能と類似しており、本種がヒゲムシ類の中で、原始的な種であるということと考え合わせると興味深い。

(本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻 板津秀彰君の修士論文の一環として行われた)

環形動物門マシコヒゲムシの心臓小体の形態学的研究

水野文敬

〒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
Hisataka MIZUNO: Morphological study of the heart body in the beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Annelida)

マシコヒゲムシ (*Oligobrachia mashikoi*) は、環形動物門Siboglinidae科に属する動物である。環形動物は心臓の周囲に心臓小体という組織を有する。心臓小体とは体腔を裏打ちする体腔膜のうち、血管を取り囲む体腔膜が分化したものである。マシコヒゲムシにおいては、栄養体を覆う体腔膜と頭部の背血管と腹血管の間に存在する組織が心臓小体とされ、その構造は一般的な環形動物における心臓小体のものと異なり、背血管と腹血管の間に位置し、どちらにも接する特異な構造であると報告されていた。本研究では、マシコヒゲムシにおける心臓小体と血管との位置関係やその構造を詳細に検討した。

心臓小体の構造を解明するため、ヒゲムシ体腔内へ直接墨汁を注入する方法で体腔の可視化を試みた。その後、ヒゲムシのパラフィン組織切片を作製した。組織切片はヘマトキシリンとエオシンによって細胞核や繊維組織を染色し、組織と体腔の構造を観察した。ヒゲムシ体腔内へ墨汁を注入したことにより、組織切片の観察の際には、体腔と組織との境界を明確に判別できた。

組織切片の観察の結果、本種の心臓に相当する前体部背血管付近で心臓小体と考えられる構造を発見した。その構造は、血管内皮細胞と体腔膜が密接した血管壁が血管内方向へ落ち込み、落ち込んだ部分によって血管の表面を背側から腹側へと続く細長い窪みが形成されていた。この細長い窪みを形成する体腔膜と窪んでいる部分の体腔を併せた構造が本種における心臓小体であると思われる。また、背血管の表面にある細長い窪みは幾筋も存在した。その細長い窪みの筋は互いに平行で、筋同士が交差する箇所は少なかった。仲濱ら (2008) は、背血管に入り込む細い窪みにグロブリンmRNAを *in situ* ハイブリダイゼーションにより検出している。グロブリンの発現と本研究で明らかにされた心臓小体の位置はほとんど一致していた。この結果も含めて、心臓小体の機能について調べていく予定である。

参考文献

Nakahama, S., Nakagawa, T., Kanemori, M., Fukumori, Y. and Sasayama, Y.: Direct evidence that extracellular giant hemoglobin is produced in chloragogen tissues in a beard worm, *Oligobrachia mashikoi* (Frenulata, Siboglinidae, Annelida). Zool. Sci., 25: 1247-1252 (2008)

(本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻 水野文敬君の修士論文の一環として行われた)

キンギョの様々な組織におけるカルシトニンmRNAの検出

田村 知

〒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
Chika TAMURA: Detection of calcitonin mRNA in various tissues of the goldfish

キンギョは、飼育が容易で手術にも強く、生殖周期に伴う種々の生理現象が完全に解明されており、実験動物として有利な点を多くもっている。一方、カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制し、血中カルシウム濃度を低下させるペプチドホルモンであり、32個のアミノ酸で構成されている。このホルモンは骨粗鬆症の治療薬として知られている。また、カルシトニンは骨吸収作用だけでなく、腸管への作用、肝臓への作用、腎臓への作用、さらに神経系における鎮痛作用など、それぞれの組織においてさまざまに機能することも報告されている。これまで魚類以上の脊椎動物において29種の動物から、アミノ酸配列が異なる35種類のカルシトニンが知られている。キンギョにおいては、カルシトニンの生産に働く内分泌腺である“鰓後腺”からRT-PCRによって増幅され、実際にホルモンとして機能するカルシトニンの他に、肝臓のDNAからgenomic PCRによって増幅されたカルシトニンの2種類が報告されている。これらをそれぞれカルシトニンI、カルシトニンIIと呼んでいる。但し、これまでカルシトニンIIが実際に発現しているか否かは調べられたことはない。

本研究においては、まずカルシトニンの生産を受け持っている内分泌器官である鰓後腺において、カルシトニンIIが産生されているか否かを調べた。また、その他に脳（前脳、中脳、後脳）、腎臓、肝臓、筋肉、鱗、脾臓、硬骨、生殖巣（卵巣あるいは精巣）の各組織においてカルシトニンIとIIが発現しているか否かをアクチンの発現を内部標準にした半定量的PCR法により調べた。実験に先立ち、カルシトニンIとIIを区別して増幅させることができるプライマーを設計した。それらは、それぞれのカルシトニンの5'末端と3'末端の塩基配列を基本とした20merあるいは21merの相補的ヌクレオチド配列である。cDNA作成後のPCR条件は、アクチンとカルシトニンIおよびIIともにPCRサイクル数を変えたときの反応生成物量から最適サイクル数を求め、その時の生成物量で比較した。

その結果、実際にカルシトニンIIは鰓後腺において発現していることが明らかになった。但し、その発現量はIと比較すると少ない傾向にあった。また、調べた全ての組織において程度の差はあるが、どちらのカルシトニンも発現していることがわかった。なかでも脳は調べた組織の中で常に両カルシトニンを発現させていた。したがって、本研究では脳を詳しく調べた。その結果、脳はその部位によってカルシトニンの発現量に違いがあるように見えた。また魚のカルシトニンに対する抗体を用いて、RT-PCRの手法だけではなく免疫組織学的手法も用いても、カルシトニンが脳において発現していることが明らかになった。今後、成熟した雌雄を用いて、カルシトニンIおよびIIの発現を比較していく予定である。

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

【構成員】

1) 職員

教授	笹山雄一 (sasayama@kenroku.kanazawa-u.ac.jp) 理学博士 専攻 生物多様性学、比較生理学 (有鬚動物門マシコヒゲムシの形態学・生理学・生態学を研究している)
助教	鈴木信雄 (nobuo@kenroku.kanazawa-u.ac.jp) 博士 (理学) 専攻 骨学、比較生理学、環境生物学 (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の生理活性物質の分子進化を研究している)
技術専門職員	又多政博 (matada@sweet.ocn.ne.jp) 専門 海産無脊椎動物一般
事務補佐員	曾良美智子(msora@sweet.ocn.ne.jp)

2) 学生

博士後期課程4年 (社会人特別選抜)	東出幸真
博士後期課程3年	Arin Ngamniyom
博士前期課程2年	浅田光子 板津秀彰 水野文敬
4年生	田村 知



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