

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8号
2009.4 ~ 2010.3



九十九湾に生息するケヤリムシ
(*Sabellastarte japonica*)

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	6
* 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

博士後期課程に属するArin Ngamniyom君は、2009年の8月に課程を修了した。彼は、メダカのホルモンの研究をしている。メダカの場合、ヒレの形態が第二次性徴を現しているため、ニホンメダカとタイメダカのヒレ（背ビレ、胸ビレ、腹ビレ、尻ビレ、尾ビレ）において、男性ホルモンと女性ホルモンの受容体および、Bone morphogenetic protein 2b (Bmp2b)の発現を比較した。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。一方、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。そこでニホンメダカと同様にして解析した。その結果、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り、Bmp2bの発現は正常な雌雄よりも低いことが判明した（研究報告参照）。

(財)サントリー生物有機科学研究所・第二研究部部長・主幹研究員 佐竹 炎博士、同研究員 川田剛士博士、同研究員 関口俊男博士との共同研究により、カタユレイボヤのカルシトニンの構造を決定した (FEBS J., 2009)。無脊椎動物のカルシトニンの構造はこれまで報告がなく、最初の報告になる。脊椎動物のカルシトニンは、32個のアミノ酸から構成されているが、ホヤのカルシトニンは30個のアミノ酸から構成されている。2個アミノ酸が少ないにもかかわらず、キンギョのウロコの破骨細胞の活性を抑制することが判明した。詳細は、研究報告に示してある。

軟骨魚類のアカエイのカルシトニン受容体のクローニングも行っている。この研究は(財)サントリー生物有機科学研究所の佐竹 炎博士、同研究員 関口俊男博士との共同研究により進めている。さらにカルシトニン受容体の発現解析は岡山大学附属牛窓臨海実験施設の坂本竜哉教授との共同研究により行っている。現在、希釈海水に移行した時の鰓や腎臓におけるカルシトニン受容体の発現を解析中である。本年、東京大学で開催予定の日本動物学会で発表する予定である。

様々な物理的刺激に対する骨組織の応答に関する研究：魚類のウロコを用いた解析

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

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。宇宙実験では再生ウロコを用い、再生ウロコの骨芽細胞及び破骨細胞の活性を面積当たりで算出する方法を新たに開発した (Biol. Sci. Space, 2009)。さらに宇宙実験では、新規メラトニン誘導体の作用についても解析する。この研究は、東京医科歯科大学の服部淳彦教授と金沢大学の染井正徳名誉教授との共同研究であり、2004年から継続して研究しているテーマである (J. Pineal Res., 2008a)。既に、国内特許は取得済 (JP Patent 4014052号) であり、現在米国特許を出願中である。また、ハムリー (株) の関あずさ博士と共にメラトニン誘導体の卵巣除去ラット及び低Ca食ラットにおける影響を評価した。その結果、卵巣除去ラットおよび低Ca食ラットにおいて、メラトニン誘導体を経口投与することにより骨強度が上昇することが判明した (J. Pineal Res., 2008b)。したがって、この化合物は骨疾患の治療薬として有望である。これらの成果は、Korea-Japan Joint Research Project Symposiumで発表 (招待講演) した。

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、ホルモンに対するウロコの骨芽細胞と破骨細胞に対する応答を解析した。本年度は、特に、副甲状腺ホルモンに対する応答について解析した。この研究は、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、早稲田大学の中村正久教授との共同研究により進めている。その研究

の成果から、以下のことがわかった。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、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、日本宇宙生物科学会及び宇宙利用シンポジウムで発表した。

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。ヒトの骨折の治療に使用されている超音波治療機器 (SAFHS: Sonic Accelerated Fracture Healing System) の骨に対する作用をゼブラフィッシュのウロコを材料として用いて解析した。その結果、破骨細胞の活性が低下し、骨芽細胞の活性が上昇した。さらに本年度は、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碕一朗助教との共同研究によりリアルタイムPCRを用いた解析を行った。その結果、破骨細胞のマーカーであるカテプシンKの発現が低下して、骨芽細胞のマーカーであるオステオカルシンの発現が上昇することが判明した。超音波は骨の内部には浸透せず、骨の表面に作用する。骨折した骨の表面に超音波が作用するため、骨折にはその治癒効果が認められる。ウロコの骨芽細胞と破骨細胞は表面に存在することから、ウロコは超音波に対する骨の影響を解析する非常によいモデルである。ウロコという骨のモデルを用いて、超音波の骨形成作用の詳細な機構をGeneChipにより解析する予定である。

海洋汚染に関する研究

金沢大学医薬保健研究域薬学系の早川和一教授との共同研究により、多環芳香族炭化水素類 (PAH) の内分泌攪乱作用を調べている。多環芳香族炭化水素 (PAH) 類は化石燃料の燃焼に伴って生成して大気中に放出される非意図的生成化学物質の一つであり、その中にはベンゾ[a]ピレンのように発癌性/変異原性を有するものが多い。また、PAH類は原油にも含まれており、1997年1月に日本海で発生したロシア船籍タンカーナホトカ号の重油流出事故では、流出した大量の重油による海洋生態系への影響が危惧された。しかし、重油残留海域で採集した魚類に癌が見出された報告はこれまでなく、重油汚染海水で孵化した稚魚に脊柱彎曲が観察されている。したがって、魚類に及ぼす重油の影響は発癌ではなく、骨代謝異常であることを強く示唆しているが、その発症機序は不明のままである。そこで、ウロコを用いてPAH類の骨に対する作用を解析した。ウロコの*in vitro*の培養系で解析した結果、水酸化PAH (P450により代謝されたPAHの代謝産物) の内分泌攪乱作用が、PAH自体よりも強いことが示唆された (Life Sci., 2009)。現在、富山大学遺伝子実験施設の田淵圭章准教授と高碕一朗助教との共同研究により、GeneChip解析を行い、詳細な機構を解析中である。これらの成果は、Busan Symposium in Pukyong National University及びJENESYS-POMRAC-Kanazawa University Joint Symposium 2009で発表 (招待講演) した。

トリブチルスズ (TBT) は、船・漁網に対する貝類や海藻類の付着を防ぐために日本でも大量に使用されてきた物質であり、主に防汚剤として船底塗料に入れて使われてきた。多量に使用していたときに海底に堆積したTBTが徐々に溶出しているという例が日本でも報告されており、日本近海においてもTBTにより確実に汚染されている。最近、九州大学大学院農学研究院大嶋雄治准教授らは、TBT結合タンパク質が魚類の体内に存在することを明らかにした。*in vitro*の系 (例えば、ウロコの培養系) では、TBTは骨芽細胞の活性を抑制し、骨代謝異常を引き起こす。しかし、*in vivo*で実験するとTBTの作用は弱まる。おそらく、*in vivo*ではTBT結合タンパク質がTBTと結合して、TBTの解毒に関与している可能性が高い。そこで、TBTとTBT結合タンパク質を共に培地に入れて、TBTの骨芽細胞の活性抑制作用がレスキューされるかを調べた。その結果、TBT結合タンパク質を培地に入れると、TBTの作用が軽減され、骨芽細胞の抑制作用が見られなかった。これらの成果は、日本水産学会秋季大会や日本環境毒性学会で発表した。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Suzuki, N., Hayakawa, K., Kameda, K., Toriba, 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)
- (2) 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)
- (3) 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)
- (4) 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)
- (5) 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, *Oligobrachia mashikoi*, Frenulata, Siboglinidae. *Nihonkai Kenkyu*, 40: 13-18 (2009)
- (6) 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.*, 91: 761-772 (2009)
- (7) 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.*, 276: 4437-4447 (2009)
- (8) Srivastav, A.K., Srivastava, B, Mishra, D., Srivastav, S.K. and Suzuki, N.: Alterations in the ultimobranchial and parathyroid gland of garden lizard, *Calotes versicolor* after prolactin administration. *J. Biol. Res.*, 12: 187-192 (2009)
- (9) 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. *Space Utiliz. Res.*, 25: 166-169 (2009)
- (10) 鈴木信雄, 矢澤一良, 渡部和郎, 繁森英幸, 山田昭浩, 梶 伸彦, 田中雅子, 前 成美, 矢野純博, 稲葉信策, 中間俊彦, 笹山雄一: イカの皮に存在する生理活性物質及び色素. *日本海域研究*, 41: 1-5 (2010)
- (11) 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, 笹山雄一, 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, 江尻貞一, 小萱康徳, 前田斉嘉, 内田秀明, 田谷敏貴, 林 明生, 中村貞夫, 杉立久仁代, 芹野 武, 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: 魚類のウロコにおけるホルモン応答. *Space Utiliz. Res.*, 26: 210-213 (2010)
- (12) Mishra, D., Srivastav, S.K., Suzuki, N. and Srivastav, AK: Corpuscles of stannius of a freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis* in response to metacid-50 treatment. *J. Appl. Environ. Sci. Manag.*, in press.
- (13) Suzuki, N., Kitamura, K., Omori, K., Nemoto, T., Satoh, Y., Tabata, M.J., Ikegame, M., Yamamoto, T., Ijiri, K., Furusawa, Y., Kondo, T., Takasaki, I., Tabuchi, Y., Wada, S., Shimizu, N., Sasayama, Y., Endo, M., Takeuchi, T., Nara, M., Somei, M., Maruyama, Y., Hayakawa, K., Shimazu, T., Shigeto, Y., Yano, S. and Hattori, A.: Response of osteoblasts and osteoclasts in regenerating scales to gravity loading. *Biol. Sci. Space*, in press

- (14) Srivastav, A.K., Srivastav, B., Mishra, D., Srivastav, S.K. and Suzuki, N.: Calcitonin induced alterations in the ultimobranchial and parathyroid gland of garden lizard, *Calotes versicolor*. Turk. J. Zool., in press
- (15) Prasad, M., Kumar, A., Mishra, D., Srivastav, S.K., Suzuki, N. and Srivastav, A.K.: Acute Toxicities of Diethyl Ether and Ethanol Extracted *Nerium indicum* Leaf to the Fish, *Heteropneustes fossilis*. Niger. J. Nat. Prod. Med., in press

2) 総説

- (1) 鈴木信雄：魚類のウロコを用いた骨代謝評価系の開発と磁場研究への応用。財団法人磁気健康科学研究振興財団 会報22：19-22 (2009)

3) 著書

- (1) 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，東京，31-77 (2009)
- (2) 服部淳彦，田畑 純，鈴木信雄：第3章 親子判別。『身近な動物を使った実験4』，鈴木範男編，三共出版，東京，印刷中

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表

- (1) 鈴木信雄，笹山雄一：軟骨魚類と円口類のカルシトニンの生理的役割。第23回海洋生物活性談話会。東京大学附属臨海実験所，神奈川県 (2009, 5/24)
- (2) Suzuki, N.: Fish scale is a good model for the evaluation of the bone metabolism in fish: The effects of heavy metals and endocrine disruptors on osteoblasts and osteoclasts in the scales. Busan Symposium in Pukyong National University (JSPS's Asia and Africa Science Platform Program), Pukyong National University (Busan, Korea), June 19, 2009 (招待講演)
- (3) 鈴木信雄：魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究。平成21年度日本動物学会中部支部大会，椚山女学園大学，愛知県 (2009, 8/2)
- (4) Suzuki, N.: The toxicity of bisphenol A and polycyclic aromatic compound in osteoblasts and osteoclasts of teleosts. JENESYS-POMRAC-Kanazawa University Joint Symposium 2009, Kanazawa University (Ishikawa, Japan), September 10, 2009 (招待講演)
- (5) 鈴木信雄，早川和一，服部淳彦：ウロコのアッセイ系を用いた水酸化多環芳香族炭化水素類の魚類の骨代謝に及ぼす影響評価。第80回日本動物学会，静岡コンベンションアーツセンターグランシップ，静岡県 (2009, 9/19)
- (6) 大場由美，鈴木信雄，島崎洋平，佐藤根妃奈，笹山雄一，大嶋雄治：ヒラメトリブチルスズ結合タンパク質タイプ1 (TBT-bp1) は TBT と結合しその毒性を抑制する。平成21年度日本水産学会秋季大会，いわて県民情報交流センター・アイーナ，岩手県 (2009, 10/2)
- (7) 鈴木信雄：魚類のカルシウム代謝におけるウロコの生理学的役割：副甲状腺ホルモンに対する作用。宇宙生物科学会第23回大会，筑波宇宙センター，茨城県 (2009, 10/2)
- (8) 佐藤根妃奈，李 在萬，日下部宣宏，川畑俊一，大場由美，島崎洋平，大嶋雄治，鈴木信雄，笹山雄一：トリブチルスズ結合タンパク質 (TBT-bp1) は TBT の骨芽細胞 ALP 活性阻害を回復させる。第15回日本環境毒性学会・バイオアッセイ研究会，東京海洋大学，東京都 (2009, 10/3)
- (9) Suzuki, N.: Development and application of a fish scale in vitro assay system: Fish scale is a suitable model for analysis of bone metabolism. 2009 Korea-Japan Joint Research Project Symposium. "Aging, Radiation and Environment", Pusan National University (Busan, Korea), October 16, 2009 (招待講演)

- (10)鈴木信雄, 柿川真紀子, 山田外史, 田淵圭章, 高崎一朗, 古澤之裕, 近藤 隆, 和田重人, 廣田憲之, 北村敬一郎, 岩坂正和, 服部淳彦, 上野照剛: 交流磁場の骨代謝に対する作用: 魚鱗を用いたモデル系による解析. 第 34 回日本比較内分泌学会大会, 千里ライフサイエンスセンター, 大阪府 (2009, 10/23)
- (11)丸山雄介, 鈴木信雄, 服部淳彦: 繁殖期の雌キンギョにおける破骨細胞の活性化と血漿カルシウム濃度. 第 34 回日本比較内分泌学会大会, 千里ライフサイエンスセンター, 大阪府 (2009, 10/23)
- (12)鈴木信雄: 魚のウロコをモデル系とした磁場の骨代謝に対する作用. 日本磁気科学会年会 サテライトシンポジウム, 信州大学, 長野県 (2009, 11/12) (招待講演)
- (13)三島弘幸, 北原正大, 服部淳彦, 鈴木信雄, 田畑 純, 寛 光男, 見明康夫: 象牙質の成長線の形成リズムとメラトニンの分泌リズムとの関連. 第 4 回バイオミネラルリゼーションワークショップ, 東京大学農学部, 東京都 (2009, 12/13)
- (14)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, 笹山雄一, 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, 江尻貞一, 小萱康徳, 前田齊嘉, 内田秀明, 田谷敏貴, 林明生, 中村貞夫, 杉立久仁代, 芹野 武, 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: 魚類のウロコにおけるホルモン応答. 第 26 回宇宙利用シンポジウム, 宇宙航空研究開発機構・相模原キャンパス, 神奈川県 (2010, 1/26)
- (15)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 21 年度宇宙ストレス生物学研究班WG活動報告. 第 26 回宇宙利用シンポジウム, 宇宙航空研究開発機構・相模原キャンパス, 神奈川県 (2010, 1/26)
- (16)Suzuki, N.: Fish Scales: Investigation of the osteoclastic and osteoblastic responses to microgravity using goldfish scales. Prelim Increment 23-24 Science symposium, JAXA (Ibaraki, Japan), February 4, 2010 (招待講演)
- (17)鈴木信雄: 磁場による骨形成作用: ウロコを用いた解析. バイオサイエンスシンポジウム, 金沢大学, 石川県 (2010, 2/24)
- (18)鈴木信雄, 早川和一: 水酸化多環芳香族炭化水素は魚の骨芽細胞及び破骨細胞の活性を抑制し、魚の骨代謝を攪乱する. 第 44 回日本水環境学会, 福岡大学, 福岡県 (2010, 3/15)
- (19)中野 淳, 鈴木信雄, 鳥羽 陽, 早川和一: 多環芳香族炭化水素類を魚に投与後の血中 Ca 濃度、胆汁組成と骨芽・破骨細胞活性の変化. 第 130 回日本薬学会年大会, 岡山コンベンションセンター, 岡山県 (2010, 3/30)
- (20)田畑 純, 中野崇文, 池亀美華, 鈴木信雄, 服部淳彦, 井関八郎, 馬場麻人, 高野吉郎: 宇宙実験のためのキンギョ再生鱗の培養法の開発と保冷・培養下での細胞動態の観察. 日本解剖学会, 岩手県民会館, 岩手県 (2010, 3/28)

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 笹山雄一: タイ・バンコク郊外におけるメダカの雌雄性を指標にした環境汚染の研究, 国立スリナカリンウイロット大学 (タイ) Dr. Wichian Magtoon
- (2) 笹山雄一: メダカの鰭の形成に及ぼす性ホルモンの研究, 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，岡山大学理学部付属臨海実験所教授 坂本竜哉氏，北里大学水産学部教授 高橋明義氏，同准教授 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 高碕一朗氏
- (29) 鈴木信雄：耳石の石灰化に対するメラトニンの作用，奈良県立医科大学准教授 大西 健氏
- (30) 鈴木信雄：海産魚類及び海産無脊椎動物のカルシトニンの構造進化及び作用進化に関する研究，(財)サントリー生物有機科学研究所・第二研究部部長・主幹研究員 佐竹 炎氏，同研究員 川田剛士氏，同研究員 関口俊男氏

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：石川県公共事業評価監視委員会委員，2005-現在

学会活動

- (1) 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) 鈴木信雄（代表），基盤研究（C），磁場と骨代謝調節ホルモンとの相乗効果を利用した新規骨疾患治療システムの開発，1,200,000 円。
- (2) 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 2009 年 100,000 円（2009 年の直接経費 total 1,000,000 円）
- (3) 鈴木信雄（分担），基盤研究（B），多環芳香族炭化水素類が環境・生体で新たに獲得する毒性に関する戦略研究（代表：早川和一，金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）分担金 2009 年 200,000 円（2009 年の直接経費 total 2,600,000 円）
- (4) 鈴木信雄（分担），挑戦的萌芽研究，重油汚染海水で孵化した魚の脊柱彎曲は多環芳香族炭化水素が原因か？ 分担（代表：早川和一，金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）分担金 2009 年 750,000 円（2009 年の直接経費 total 1,600,000 円）
- (5) 鈴木信雄（分担），二国間交流事業，東アジアにおける多環芳香族炭化水素類の挙動と毒性（代表：鳥羽 陽，金沢大学医薬保健研究域薬学系・准教授）（2009 年，1,000,000 円）

2) 受託研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），独立行政法人 科学技術振興機構 平成 21 年度「シーズ発掘試験」，新規インドール化合物を用いた骨粗鬆症の治療薬の研究開発，2,000,000 円
- (2) 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、金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授），2009 年 2,000,000 円
- (3) 鈴木信雄（分担），環境省 地球環境推進費 H21 地球環境問題対応型研究課題，日本海域における有機汚染物質の潜在的脅威の把握，（代表：早川和一、金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授）2009 年 47,701,000 円

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構，宇宙空間における骨代謝制御：キンギョの培養ウロコを骨のモデルとした解析，4,000,000 円
- (2) 鈴木信雄（代表），宇宙航空研究開発機構 宇宙環境利用科学委員会研究班ワーキンググループ活動支援，魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究，2,800,000 円

4) 奨学寄附金

- (1) 鈴木信雄（代表），（財）クリタ水・環境科学振興財団助成金，骨代謝異常を評価する迅速・高感度なシステムの開発：重油汚染海域における魚の脊柱彎曲の発症機構の解明。2009 年 10 月～2010 年 9 月 750,000 円

【新聞発表】

- (1) 鈴木信雄，平成 21 年 12 月 12 日：「きぼう」の国際宇宙ステーションを用いた宇宙実験を平成 22 年 5 月中旬に決定した事に関する記事（朝刊：北國新聞、夕刊：北陸中日新聞、朝日新聞、富山新聞、北日本新聞、京都新聞、日経産業新聞）

【利用状況】

1) 来訪者及び研究目的

- 4 / 1 5 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 主任技師 他2名
「海洋生物の採集」
- 5 / 1 金沢大学環日本海域環境研究センター
清水 宣明 教授 他1名
「バイオエタノールに関する打ち合わせ」
- 5 / 1 3 金沢大学自然科学研究科生物科学専攻
小谷 武
「試料採集」
- 5 / 1 5 富山県立砺波高校
松原 禎弘 教諭 他1名
「実習の打ち合わせ」
- 5 / 1 5 のと海洋ふれあいセンター
横井 将人 主事 他1名
「海洋生物の調査」
- 5 / 2 7 (財) 日本宇宙フォーラム
嶋津 徹 研究員 他2名
「宇宙実験に関する打ち合わせ」

5 / 28 ~ 5 / 29

金沢大学理工研究域自然システム学系

神谷 隆宏 教授 他4名

「能登小木周辺の貝形虫の分布調査」

6 / 18

のと海洋ふれあいセンター

東出 幸真 主任技師 他1名

「海洋生物の採集」

7 / 14

のと海洋ふれあいセンター

横井 将人 主事 他1名

「海洋生物の調査」

7 / 29 ~ 7 / 31

神戸大学バイオシグナル研究センター

吉野 健一 助教

「棘皮動物の細胞内情報伝達に関する研究」

8 / 14

のと海洋ふれあいセンター

東出 幸真 主任技師 他1名

「海洋生物の採集」

9 / 15

のと海洋ふれあいセンター

横井 将人 主事 他1名

「海洋生物の調査」

- 9 / 17 ~ 9 / 18 金沢大学環日本海域環境研究センター
山田 外史 教授 他26名
「ゼミ研修」
- 10 / 11 ~ 10 / 12 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
- 10 / 14 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 主任技師 他1名
「海洋生物の採集」
- 11 / 4 ~ 11 / 5 富山大学大学院理工学研究部
小松 美英子 教授 他1名
「無足ナマコのドレッジによる採集」
- 11 / 4 ~ 11 / 6 京都大学フィールド科学教育研究センター
甲斐 嘉晃 助教 他2名
「魚類の採集」
- 11 / 13 のと海洋ふれあいセンター
横井 将人 主事 他1名
「海洋生物の調査」

- 12/11～12/12 金沢大学理工研究域自然システム学系
加藤 道雄 教授 他5名
「九十九湾周辺試料採取」
- 12/16 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 主任技師 他1名
「海洋生物の採集」
- 1/15 のと海洋ふれあいセンター
横井 将人 主事 他1名
「海洋生物の調査」
- 2/17 のと海洋ふれあいセンター
東出 幸真 主任技師 他1名
「海洋生物の採集」
- 2/17～2/19 神戸大学バイオシグナル研究センター
吉野 健一 助教
「棘皮動物の細胞内情報伝達に関する研究」
- 3/17 のと海洋ふれあいセンター
横井 将人 主事 他1名
「海洋生物の調査」

2) 臨海実習

6 / 5 ~ 6 / 7

金沢大学理工研究域自然システム学系

都野 展子 准教授 他 24名

「生物学実習3」

7 / 7 ~ 7 / 9

富山県立砺波高校

松原 禎弘 教諭 他 45名

「ウニの初期発生の研究及び磯の生物調査」

8 / 7 ~ 8 / 8

金沢大学理工研究域自然システム学系

中村 浩二 教授 他 21名

「臨海実習」

8 / 16 ~ 8 / 21

公開臨海実習

静岡大学理学部 2年生 阿部 尚弘 他 2名

8 / 26 ~ 8 / 28

金沢大学医薬保健学域保健学類

2年生 寺崎 桃子 他 4名

共通教育「海洋生化学実習」

9 / 3

金沢工業大学バイオ化学部

藤永 薫 教授 他 25名

「臨海実習」

9 / 25 ~ 9 / 27

金沢大学理工研究域自然システム学系

福森 義宏 教授 他 37名

「生物学実習2」

3) 利用者数及び船舶の使用状況

平成21年度臨海実験施設利用者数 (延べ人数795人の内訳)

(月)	研究者		学生	
	学内	学外	学内	学外
4	11	3	10	0
5	6	7	9	0
6	28	7	66	0
7	4	23	2	120
8	25	2	104	18
9	21	5	159	23
10	4	8	2	80
11	2	7	0	8
12	6	2	8	0
1	2	2	0	0
2	2	5	0	0
3	2	2	0	0
合計	113	73	360	249

平成21年度臨海実験施設船舶使用回数

(月)	あおさぎ	くろさぎ
4	2	4
5	2	4
6	2	4
7	2	3
8	2	3
9	1	3
10	2	2
11	3	6
12	1	4
1	3	9
2	3	4
3	3	5
合計	26	51

研究報告

* カタユウレイボヤのカルシトニンは、キングヨのウロコに存在する破骨細胞の活性を抑制する。

鈴木信雄, 関口俊男, 佐竹 炎, 笹山雄一 (p16-17)

* Comparison of the mRNA expression rates of the androgen receptor, estrogen receptor β , and bone morphogenic protein 2b in dorsal, anal, pectoral, and caudal fins between normal males and females in Japanese and Thai medaka (Teleostei) and in sex-undeterminable individuals in Thai medaka

Arin Ngamniyom (p18)

* 富山湾の深海底で採集されたホシムシに関する2, 3の知見

笹山雄一, 北田 貢, 竹内 章, 三輪哲也 (p19)

* 本邦初報告となる海水棲マクロストナム2種について

小林一也 (p20-23)

カタユレイボヤのカルシトニン、キンギョのウロコに存在する 破骨細胞の活性を抑制する

鈴木信雄¹, 関口俊男², 佐竹 炎², 笹山雄一¹

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木, 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設; ²〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台, 財団法人 サントリー生物有機科学研究所
Nobuo SUZUKI¹, Toshio SEKIGUCHI², Honoo SAKAKE², Yuichi SASAYAMA¹: Calcitonin in *Ciona intestinalis* suppresses osteoclastic activity in the scales of goldfish.

カルシトニンは32個のアミノ酸から構成され、哺乳類では甲状腺のC細胞から分泌され、鳥類以下の脊椎動物では、鰹後腺という内分泌器官から分泌されるホルモンである。カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制する作用があることは、一部の脊椎動物(哺乳類及び魚類)では明らかになっている(鈴木, 2005)。一方、無脊椎動物においてカルシトニン陽性細胞が検出されているが(Sasayama et al., 1991)、無脊椎動物のカルシトニンの構造は、これまで報告されていなかった。

カタユレイボヤのゲノムプロジェクトが終了して、カタユレイボヤの全ゲノム情報が明らかになった。この情報を基にして、最近、(財)サントリー生物有機科学研究所の佐竹らのグループは、カタユレイボヤのカルシトニンの配列を決定した。このペプチドは1位と7位がシステインであり、C末端のアミノ酸がプロリンでアミド化していた。しかし、脊椎動物のカルシトニンとは異なり、30個のアミノ酸から構成されていた。ヒトのカルシトニン受容体が発現しているCOS-7細胞に、このペプチドを作用させた結果、高濃度(10⁻⁵ M)でないとヒトのカルシトニン受容体とは結合しない。10⁻⁵ Mでしか効果がみられないので、カタユレイボヤのカルシトニンが生理活性を有するかは不明である。カタユレイボヤのカルシトニン受容体の配列も佐竹らのグループにより決定されているが、COS-7細胞等での発現に失敗しており、カタユレイボヤのカルシトニンが生理活性を有するか否かは不明である。ヒトのカルシトニン(identity 25%)よりもサケのカルシトニン(identity 34.4%)の方がカタユレイボヤのカルシトニンに似ているので、魚のアッセイシステムを用いた方が、カタユレイボヤのカルシトニンの生理活性を正しく評価できる可能性がある。そこで、カタユレイボヤのカルシトニンの破骨細胞に対する作用をウロコのアッセイ系で評価した。

【方法】

実験1:カタユレイボヤのカルシトニンの破骨細胞に対する作用

材料としてキンギョ(*Carassius auratus*) (メス、体重50-80 g)を用いた。これらのキンギョをMS222で麻酔し、キンギョからウロコを取った。そのウロコを半分に切り、実験群と対照群とに分けた。そのウロコをHEPES (20 mM) (pH 7.0) 及び抗生物質(1%)を含む培地(MEM、ICN Biomedicals Inc.)に加え、カタユレイボヤカルシトニンの破骨細胞に対する作用をサケカルシトニンと比較した。培養温度は15°Cで、それぞれのカルシトニンの濃度は10⁻¹¹ Mから10⁻⁶ Mにして6 及び18時間培養して、カタユレイボヤとサケカルシトニンの作用を解析した。

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)を用いて、Suzuki et al. (2009)の方法に従い、カルシトニンの破骨細胞に対する作用を調べた。

実験2:カタユレイボヤのカルシトニンの骨芽細胞に対する作用

材料としてキンギョ(メス、体重50-80 g)を用いて、実験1と同様にしてウロコを培養して、カタユレイボヤとサケカルシトニンの骨芽細胞に対する作用を解析した。

本研究では、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)を用いて、カルシトニンの骨芽細胞に対する作用を調べた。

【実験結果】

1) カタユウレイボヤ及びサケカルシトニンの破骨細胞に対する作用

6時間の培養において、カタユウレイボヤカルシトニン¹は、 10^{-7} 及び 10^{-6} MでTRAP活性が低下した。一方、サケカルシトニンは、6時間の培養において、 10^{-9} MでもTRAP活性が低下した。

18時間の培養では、6時間の培養よりもTRAP活性の低下の割合が大きく、カタユウレイボヤでは 10^{-8} Mで抑制作用が認められ、サケカルシトニンでは 10^{-11} Mでも効果が認められた (Figure 1)。

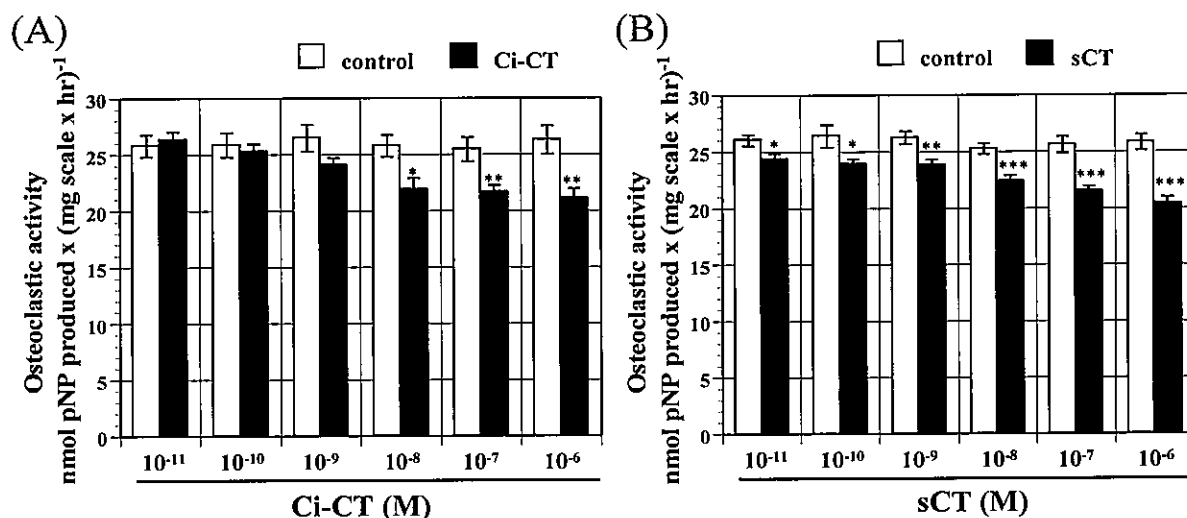


Figure 1: Effects of *Ciona intestinalis* calcitonin (Ci-CT) (A) and salmon calcitonin (sCT) (B) on osteoclastic activity in the scales of goldfish.

*, ** and *** indicate statistically significant differences at $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively, from the values in the halved control scale. The results are expressed as the means \pm SEM ($n = 8$).

実験 2 : カタユウレイボヤ及びサケカルシトニンの骨芽細胞に対する作用

実験 1 と同様にして、骨芽細胞に対する作用を解析した。その結果、6時間の培養において、骨芽細胞のマーカーであるALPの活性は、カタユウレイボヤ及びサケカルシトニンを添加しても変化しなかった。18時間の培養においても、ALP活性は変化しなかった。

以上のことから、カタユウレイボヤカルシトニンは、骨芽細胞の活性を変化させることなく、キンギョのウロコに存在する破骨細胞の活性を抑制することが判明した。したがって、他の脊椎動物と同様に生理活性を持っているので、ホヤ自体に何らかの生理機能を有している可能性が高い。今後、ホヤ自体におけるカルシトニンの作用を調べていく予定である。

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）の援助により行われた。

引用文献

- 鈴木信雄, *Clinical Calcium*, **15**: 459-466 (2005)
 Sasayama, Y., et al., *Gen. Comp. Endocrinol.*, **83**: 406-414 (1991)
 Suzuki, N., et al., *Life Sci.*, **84**: 482-488 (2009)

Comparison of the mRNA expression rates of the androgen receptor, estrogen receptor β , and bone morphogenic protein 2b in dorsal, anal, pectoral, and caudal fins between normal males and females in Japanese and Thai medaka (Teleostei) and in sex-undeterminable individuals in Thai medaka

Arin Ngamniyom

Noto Marine Laboratory, Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University, Noto-cho, Ishikawa 927-0553, Japan

The Japanese medaka (*Oryzias latipes*, Teleostei) is a model organism frequently utilized for experiments in various fields such as reproductive biology and the study of sex determination. The medaka was recently used as a sensitive bio-indicator of exogenous active endocrine chemicals. In the genus *Oryzias*, males can be distinguished from females by the secondary sex characters of fins. The dorsal and anal fins of males are usually longer than those of females. In contrast, the pectoral fins of females are longer than those of males. Papillar processes are present on the anal and pectoral fins only in males. In addition, leucophores are well developed on the caudal fin in males. In males, the numbers of papillar processes on the anal and pectoral fins and of leucophores on the caudal fin increase during the breeding season. The Thai medaka (*Oryzias minutillus*) is widely distributed in Thailand. This species inhabits shallow ponds, ditches, and paddy fields. The secondary sex characters of fins in male Thai medaka are similar to those in male Japanese medaka, and the dorsal and anal fins are likewise longer in males than in females.

In this study, we sought to clarify the molecular-biological background of the secondary sex characters of fins between normal males and females by examining mRNA expression levels of the androgen receptor (AR), estrogen receptor (ER) β , and Bone morphogenic protein 2b (Bmp2b) in the dorsal, anal, pectoral, and caudal fins in Japanese and Thai medaka. In addition, we examined how these genes are expressed in the fins of sex-undeterminable individuals of Thai medaka by comparing the expression levels to those of normal males and females.

In males of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) and Thai medaka (*Oryzias minutillus*), the AR expression rates of the dorsal, anal, and pectoral fins were higher than those in females. On the other hand, in females of both species, the ER β expression rates of the dorsal and anal fins were higher than those in males. In sex-undeterminable individuals of Thai medaka, however, the AR and ER β expression rates in the dorsal and anal fins were intermediate between normal males and females of Thai medaka. In the Bmp 2b expression rates, there was no difference between males and females of Japanese medaka. In contrast, in Thai medaka, the Bmp2b expression rates in the dorsal fin of sex-undeterminable individuals were lower than those of normal males and females.

Therefore, it is clear that, in both *Oryzias* species, androgen and estrogen regulate the sex-dependent characters of fin morphology. In sex-undeterminable individuals of Thai medaka, the low expression rates of Bmp2b in the dorsal fin are evidence that those hormones are necessary for the adequate expression of Bmp2b for normal development of at least the dorsal fin.

(本研究は、金沢大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻 Arin Ngamniyom君の博士論文の一環として行われた)

富山湾の深海底で採集されたホシムシに関する2, 3の知見

笹山雄一¹, 北田 貢², 竹内 章³, 三輪哲也⁴

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〒251-0035 神奈川県藤沢市片瀬海岸, 新江ノ島水族館;
³〒930-8555 富山市五福3190, 富山大学 大学院 理工学研究部;
⁴〒237-0061 神奈川県横須賀市夏島町, 独立法人 海洋研究開発機構
Yuichi SASAYAMA¹, Mitsugu KITADA², Akira TAKEUCHI³, Tetsuya MIWA⁴: A few findings regarding a peanut worm collected from the bottom of the deep sea of Toyama Bay.

星口(ほしくち)動物といわれるナガムシ状の動物に学名を与えたのは、Linneで小さな水管を意味する(Sipunculus)とした。その後、この動物は幾多の変遷を経て、現在は、遺伝子等の知見から環形動物に属することがわかっている。但し、環形動物のような体節性はまったく示さない。普段は、人間社会とは無縁の動物で、わずかに、魚釣りの餌や南方の一地域で食用にされる程度である。日本語のホシムシの意味は、口の周囲にある触手状突起が星の輝きに似ているという、ドイツ語のSterunwurmerの直訳である。ホシムシは種によっては、南京豆に細い柄がついたようにも見えることか英名はpeanut wormという。

今回、平成21年度深海調査研究調査「ハイパードルフィン」調査潜航(NT09-16)において9月11日と12日の37°17.0'N 137°40.0'E及び37°02.6'N 137°08.7'Eの二回の潜航においてそれぞれ1400 mおよび1500mの海底より、合計3個体のホシムシが採集された(Figure 1)。それらは長さで12 cm、5 cm、3cm程度である。文献を調べるとpopulationの中心は潮干帯に多い動物であるが、ホシムシは世界中の海の浅海から深海、並びに北極海・南極海に分布する。深海は約5000 mから複数の記録があり、極洋の種は北極と南極で共通種がある。

今回の発見は、オオグチボヤを岩盤から引き剥がす時に、岩盤側に1個体が穿孔した状態で見つかったのがきっかけである。岩盤の割れ目の色からして明らかに還元的な環境で酸素は非常に少ないと判断された。採集された直後には外皮を通して消化管が観察され、その色は、岩盤の色と同じであったので、周りの泥を食べていると判断された。ホシムシは、還元環境下や硫化水素が多い土中では酸素を必要としない嫌気呼吸をしてATPを得ていることがわかっている。したがって、この個体は浅海から何らかの理由により偶然にそこに落ちてきたものではなく、そこで生活していた個体であると判断される。もう2個体はクモヒトデ等と一緒に最後の仕分けの段階で泥の中から発見された。その3個体が同一種であるか否かは、現在、不明である。さらに、その3個体すべてに長さ0.5 mm以下の白色の所属不明の動物が多数付着しているのが見つかった。内肛動物の可能性が高い。一方、最近では、ホシムシが環境の泥を食べ、中の成分を結果として濃縮してしまう為、PCBやカドミウム等の環境汚染の指標動物として注目されており、より積極的な利用が望まれている。



Figure 1. Photograph of a peanut worm discovered on the bottom of the deep sea of Toyama Bay.

本邦初報告となる海水棲マクロストムム2種について

小林一也

〒160-8582 東京都新宿区信濃町, 慶應義塾大学 医学部 総合医科学研究センター

Kazuya KOBAYASHI: Macrostromidae (Platyhelminthes, Macrostromida) from Japan: Description of two species of *Macrostromum* and *Bradburia* living in seawater.

扁形動物門渦虫綱に属する多食目 (Macrostromida) はマクロストムム科 (Macrostromidae)、ドリコマクロストムム科 (Dolichomacrostromidae) そして、ミクロストムム科 (Microstromidae) の3科からなる。一般的にいわれるマクロストムム類というのはマクロストムム科の種を指している。マクロストムムは淡水、汽水、海水に棲息し、世界的には100種以上の種が同定されている。ヨーロッパ産海水棲マクロストムム *Macrostromum lignano* は、プラナリアのもつ再生能力に加えて、圧倒的に少ない細胞数 (約2万5千個)、圧倒的に短いライフサイクル (約20日間) という特徴を持っている (Ladurner et al., 2005)。これらの特徴は、プラナリアでは困難であった生体顕微操作や遺伝学の確立を許し、*M. lignano* は新たなモデル動物として期待されている。一方、日本では、淡水棲マクロストムムの記載が6種ほど報告あるのみで、海水棲マクロストムムの種記載は未だ為されていない。本研究では、ナチュラルヒストリー的な観点からも、日本からモデル動物となり得る海水棲マクロストムムを記載することを目的とした。

海水棲マクロストムムは、間隙動物 (Interstitial organisms) であり、海砂や泥の粒子の隙間に生息している。間隙動物の調査には、彼らを海砂や泥からどのように取り出すかが重要であり、動物種に応じて方法が異なる (Ax, 1966; Anderson & Black, 1980; 伊藤立則, 1985)。甲殻類や線虫のように体表がキチン質で覆われている場合は、メッシュで直接、海砂や泥を濾すなどして採集できるが、扁形動物のように体が柔らかく傷つきやすい場合は工夫が必要である。そこで、本研究では、峯岸が改良した海水氷法を採用した (峯岸, 1988)。日本各地からサンプリングした海砂や泥を海水氷法で処理し、得られた間隙動物の中にマクロストムムが含まれているかどうかを調査した。

【方法】

1) 海砂・泥の採取

海砂・泥の採取は、Table.1の4カ所12地点で行なった。一般に、海水棲マクロストムムは汽水や泥地を好むものが多いことが知られていたため、採取地としてなるべく河口付近や干潮時の泥地を選

んだ。各地点の表面約1 cmの海砂・泥を手で掻き取った。採取した海砂・泥はビニール袋に入れ、保冷しながら運搬し、下述の海水氷法に用いた。

2) 海水氷法

径160 μm のナイロンメッシュを貼った直径9.5 cm、高さ16.0 cmのプラスチック製の円筒を用意した。直径約10 cmのシャーレやビーカーに比重1.023に調整した人工海水（ロートマリン、

Table. 1 Sampling data

Date	Localities	Sites	
10 May, 2008	Turugisaki, Miura Peninsula, Kanagawa	Kataya-1	35°08'31.24"N 139°40'14.50"E
		Kataya-2	35°08'31.24"N 139°40'14.50"E
25-26 May, 2008	Noto, Ishikawa	Tsukumo Bay-1	37°18'14.76"N 137°14'28.38"E
		Tsukumo Bay-2	37°18'23.87"N 137°14'21.34"E
		Koiji	37°27'58.86"N 137°14'36.12"E
		Hanami	37°17'19.09"N 137°07'00.76"E
		Hane	37°18'02.37"N 137°10'30.84"E
		Oura	37°18'01.90"N 137°11'21.85"E
		Hime	37°17'46.30"N 137°13'01.31"E
28 Sep, 2008	Toba, Mie	Sugashima-1	34°29'04.48"N 136°52'36.27"E
		Sugashima-2	34°29'04.38"N 136°52'31.68"E
7 Nov, 2008	Ajigasawa, Aomori	Akaishi	40°45'38.11"N 140°09'32.07"E

REI-SEA) を満たし、その上に金網をのせ、金網の上に、円筒のナイロンメッシュ側を底にして置いた。円筒部にスプーンを用いて採取した海砂や泥を約500 mL入れた。海砂や泥の上に、脱脂綿を挿んで、一般家庭で用いられる製氷皿で作製した人工海水の氷一皿分をのせた。海水氷が完全に溶けたのちに、海砂や泥からシャーレやビーカーに逃げ出てきた動物を実体顕微鏡下

で観察した。

3) 飼育方法

飼育方法は、海砂・泥の採取地の環境を考慮し、ヨーロッパ種 *M. lignano* の条件を基本として決定した (Ladurner et al., 2005; Egger et al., 2007)。海水は人工海水を用い、飼育温度は20 °Cとした。餌には珪藻を与えた。1週間に一度、人工海水の交換および珪藻の添加を行なった。珪藻培養液は以下の手順で作製した。600 mL人工海水、1 mL溶液A (100 mLに20 g Sodium nitrate, 1 g Sodium β -glycerophosphate, 1 g EDTA-Fe, 6 g Clewat 32, 10 g Tris, 20 mg Vitamin B₁₂を溶解し塩酸でpH 7.0に調整した。)、2.5 mL溶液B (500 mLに7 g Sodium silicateを溶解した。)を混合したあと、純水で1000 mLまでメスアップした。珪藻培養液に珪藻を入れて蛍光灯下、エアレーションを施し室温に置いた。約1ヶ月で珪藻が増えてくるので、遠心回収したものを4 °Cに保存した。

【結果】

Table.1で示した海砂・泥からマクロストマムと思われる動物が、三浦半島片谷-1と能都町波並で確認できた。便宜的に前者をMiura-2、後者をNoto-4と呼び、同地点での調査を継続した。

1) Miura-2について

2008年5月10日の採集では、約500 mLの泥からMiura-2は30匹確認できた。生殖巣は卵巣が確認できたが、精巣はわからず性的には未成熟であると判断した。2008年7月19日の採集では、約2000 mLの泥からMiura-2が39匹確認できた。2008年5月10日に採集した個体と比べて、明らかに大きく精巣も確認できた。採集翌日には、シャーレ底に産みつけられた卵が確認できた。この卵は *M. lignano* のものと類似していた (Egger et al., 2007)。産卵後約1週間でふ化したが、3日後には溶けて死んでしまった。成体も同様で、水温や塩濃度などの条件が生息地と極端に違いがないにも関わらず、1週間も維持できなかった。2008年7月19日の採集個体は、性的に成熟しておりマクロストマムの種判定となる copulatory stylets (ペニス) も確認できた。共同研究者の Dr. Schärer L. (スイス・バーゼル大) に判定してもらったところ、Miura-2は地中海や北海で確認されている *M. pusillum* に類似しているが (Faubel, 1977)、形態的に違いが多くみられるとのことだった。

2) Noto-4について

2008年5月27日の採集では、約1000 mLの海砂からNoto-4は71匹確認できた。Noto-4は*Macrostomum*属と同じくマクロストラム科に属する*Bradburia*属の新種であるとDr. Schärer L.により判定された。*Bradburia*属はこれまでに*B. australiensis*と*B. miraculicis*の2種が報告されているのみである (Faubel et al., 1994)。

その後、2008年7月29日の採集では、約2000 mLの海砂から52匹のNoto-4が確認できた。しかし、2009年1月20日 (約8000 mLの海砂)、2009年2月17日 (約4000 mLの海砂)、2009年3月25日 (約3000 mLの海砂)、そして、2009年6月15日 (約2000 mLの海砂) の調査では、全くNoto-4が確認できなかった。2009年7月末に採取した約2000 mLの海砂にNoto-4が4匹確認できた。

Noto-4は、Miura-2のように研究室で、数日で溶けて死ぬことはなく、採集後半年程は維持できる。しかし、餌の珪藻が適していないのか摂食している様子が観察されない。結果として、扁形動物特有の現象である逆成長により徐々に小さくなっていくため正常な飼育とはいえない段階である。

【まとめ】

本研究では本邦初となる海水棲マクロストラム2種を発見した。Miura-2は*Macrostomum* sp.、Noto-4は*Bradburia* sp.であると判定された。飼育法は確立できなかった。

謝辞 本研究は水産無脊椎動物研究所2008年度個別研究助成の援助により行なわれた。

引用文献

- 1) Anderson, F. and Black, L. F., *Mar. Biol.* **17**: 637-638 (1980)
- 2) Ax, P., 1966. *Okologie und Biologie. Veroff. Inst. Meeresforsch. Bremerh. Sonderbd.* **2**: 25-65 (1966)
- 3) Egger, B., et al., *Dev. Genes Evol.* **217**: 89-104 (2007)
- 4) Faubel, A., *Senckenb. Marit* **9**: 59-74 (1977)
- 5) Faubel, A., et al., *Invertebrate Taxonomy* **8**: 989-1007 (1994)
- 6) Ladurner, P., et al., *J. Zool. Syst. Evol. Res.* **43**: 114-126 (2005)
- 7) 伊藤立則, 砂のすきまの生きものたち. 海鳴社 (1985)
- 8) 峯岸秀雄, *Interstitial organisms (or Mesopsammon) — 間隙動物の分離について —* (1988)

【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

(准教授、平成22年4月1日付)

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・海産魚類の生理活性物質の分子進化を研究している)

技術専門職員

又多政博 (matada@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5年 (社会人特別選抜)

東出幸真

博士後期課程3年 (平成21年8月修了、その後9月から3月末まで博士研究員)

Arin Ngamniyom



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