

平成19年4月20日

平成18年度「魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究」活動報告書

代表者所属 氏名 金沢大学 自然計測応用研究センター 鈴木信雄

1. 構成メンバ

氏 名	所属
鈴木信雄	金沢大学 自然計測応用研究センター
大森克徳	宇宙科学研究本部 ISS 科学プロジェクト室
服部淳彦	東京医科歯科大学 教養部
井尻憲一	東京大学 アイソトープ総合センター
北村 敬一郎	金沢大学大学院 医学系研究科
清水宣明	金沢大学 自然計測応用研究センター
田畑 純	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科
池亀美華	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科
中村正久	早稲田大学 教育総合科学学術院
近藤 隆	富山大学大学院 医学薬学研究部
安東宏徳	九州大学大学院 農学研究科
松田恒平	富山大学大学院 理工学研究部
笠原春夫	有人宇宙システム (株)
永瀬 睦	千代田アドバンス・ソリューションズ (株)

2. 本年度 WG 会合開催実績

(1) 第1回：平成18年10月11日

(2) 第2回：平成18年12月11日

(3) 第3回：平成19年 3月 9日

3. 活動目的

魚類のウロコは、膜性骨に似た硬組織であり、I型コラーゲンからなる線維層とハイドロキシアパタイトから構成される石灰化層の上に、骨芽細胞と破骨細胞が共存し、骨代謝を行っている。さらにキンギョの場合、1個体からほぼ均一な細胞活性をもつウロコを約100枚もサンプリングでき、ホルモン、内分泌攪乱化学物質、重金属等の様々な物質に対する影響を容易に解析できる。したがってウロコを用いると、株細胞や初代培養細胞では再現できない骨芽細胞と破骨細胞の相互作用が、生体内に近い状態で再現でき、宇宙における骨量減少の機構解明やその治療にも貢献できると思われる。

そこで我々は、これらの利点を最大限に生かして重力及び微小重力に対する生理作用を地上実験で解析している。これらのデータを基にして、WGでは宇宙実験を計画する。

4. 活動内容

平成18年10月11日に筑波宇宙センターで、平成18年12月11日及び平成19年3月9日に日本宇宙フォーラムでWGの会合を行った。その後、E-mail等で連絡を取りながら、実験結果等について論議している。以下にWGの研究成果を示す。なお、この内容は本年1月に開催された宇宙利用シンポジウムで発表した。

①3次元クリノスタットに対する骨芽及び破骨細胞の反応

筑波宇宙センターの3次元クリノスタットを用いて微小重力下で6及び24時間処理し、骨芽及び破骨細胞の変化を解析した。その結果、キンギョの骨芽細胞の活性が低下し、破骨細胞の活性が上昇した。また24時間の方が、3次元クリノスタットの効果がより強く現れていた。したがって、ウロコは3次元クリノスタットによる微小重力に応答し、宇宙空間で進行する骨軟化症に近い状態になったと考えられる。

②超音波のメカニカルストレスに対する骨芽及び破骨細胞の反応

骨芽細胞の活性を指標として超音波の条件を設定し、骨芽及び破骨細胞の変化を調べた。その結果、骨芽細胞の活性は有意に上昇し、破骨細胞の活性は変化しないことがわかった。さらに骨芽細胞の特異的マーカーである insulin-like growth factor-I mRNA の発現は、estrogen receptor (ER) mRNA よりも早期に発現し、骨芽細胞を活性化していることが判明した。

通常のウロコでは、破骨細胞はあまり活性化していない可能性がある。そこで骨芽細胞と破骨細胞の活性を共に上昇させたウロコ（骨代謝亢進ウロコ）を用いて再度解析した。

魚はウロコにCaを蓄積し、必要な時にそのCaを用いる。したがって、魚の右側の全てのウロコを取ると、右側のウロコを作るため、左側のウロコの骨吸収・骨修復が進行し、骨芽及び破骨細胞の活性が上昇する。この左側のウロコ（骨代謝亢進ウロコ）を用いて、骨芽及び破骨細胞に対する超音波の影響を解析した。15℃で18時間培養後、骨代謝亢進ウロコの骨芽細胞の活性は4個体中3個体において有意に上がり、破骨細胞の活性は4個体全てにおいて有意に低下した。

超音波刺激により骨芽細胞活性は上昇

することが判明した。さらに骨代謝亢進ウロコにおいて、骨芽細胞活性は上昇し、破骨細胞活性は低下した。骨代謝亢進ウロコは、骨粗鬆症とよく似た状況を作り出しており、本研究の成果はその治療に貢献できると思われる。

③加速度の重力刺激に対する骨芽及び破骨細胞の反応

加速度発生装置を自作し、0.5, 1, 2, 4, 6Gで5及び10分間処理し、6及び24時間培養後、ウロコの骨芽及び破骨細胞の活性を測定した。その結果、ウロコの骨芽細胞は、1Gという低強度の重力刺激にも応答し、強度が上昇すると共に骨芽細胞の活性も上昇し、6Gで最も高くなった。一方破骨細胞も0.5及び1Gという低強度刺激でも反応し、24時間でその活性が低下した。また2Gで最も破骨細胞の活性抑制作用が強く、4及び6Gでは徐々に破骨細胞の活性抑制作用が低下した。さらに骨芽及び破骨細胞のマーカーである ER mRNA と tartrate-resistant acid phosphatase mRNA の変化ともほとんど一致した。

以上のことから、ウロコは物理的刺激に非常に感度良く応答したので、骨のモデルとして有効であることが判明した。

【実験成果のまとめ】

これまで宇宙飛行や、後肢懸垂ラット等を用いた実験では、破骨細胞に対する作用は結果の一致を欠いており、実験条件により異なった結果が報告されている。その理由の一つとして、良い *in vitro* のモデル系の欠如が上げられる。ウロコは平たい骨基質の上に骨芽細胞、破骨細胞が共存していて、ヒトの骨をスライスしたような構造をしている。さらに今回の実験では、3次元クリノスタットによる刺激、超音波のメカニカルストレス及び加速度の重力刺激に感度よく反応した。このモデルを用いれば、微小重力における骨代謝に対する作用を

正確に解析できる可能性が高い。

【今後の予定】

次年度は、宇宙実験に向けて実践的なデータを蓄積するため、以下の実験を計画している。

宇宙空間に達するまでの加重力とその後の微小重力の影響を調べるため、1) 遠心機による重力刺激の解析、2) 遠心機による加重力の直後に、3次元クリノスタットによる微小重力環境下に置き、その影響を解析する。これらの刺激に対する影響を1) 細胞活性、2) マーカー遺伝子の発現の両面から解析する。さらに3次元クリノスタットによる微小重力刺激により、アポトーシスが引き起こされる可能性を示すデータを得ている。そこで、3) アポトーシスに注目し、微小重力刺激に対する影響を評価する。

ウロコの培養は非常に簡単であり、温度も室温程度でもよく、炭酸ガスも不要である。またウロコは培地交換をしなくても、15℃で2週間は生存可能である。したがって、より簡便な装置で培養可能である。そこでサンプル数を増やし、微小重力による影響を経時的に解析できるような容器での培養も試験・検討し、宇宙実験に向けての準備をする予定である。

5. 成果

原著論文

- 1) Suzuki, N., Kitamura, K., Nemoto, T., Shimizu, N., Wada, S., Kondo, T., Tabata, M.J., Sodeyama, F., Ijiri, K. and Hattori, A.: Effect of vibration with a frequency on osteoblastic and osteoclastic activities: Analysis of bone metabolism using goldfish scale as a model for bone. Adv. Space Res., submitted

総説

- 1) 田畑 純, 鈴木信雄, 服部淳彦 : 魚鱗: 硬組織研究と再生研究のフロンティア, 細胞, 39, pp.55-57, 2007.

学会発表

- 1) Suzuki, N., Kitamura, K., Nemoto, T., Shimizu, N., Wada, S., Kondo, T., Tabata, M.J., Sodeyama, F., Ijiri, K. and Hattori, A.: Effect of acceleration on osteoblastic and osteoclastic activities: Analysis of bone metabolism using goldfish scale as a model for bone. Committee on Space Research 36th COSPAR Scientific Assembly (China, July, 2006)
- 2) 鈴木信雄, 北村敬一郎, 根本 鉄, 清水宣明, 和田重人, 近藤 隆, 井尻憲一, 田畑 純, 新実信夫, 服部淳彦 : 超音波刺激による骨形成促進作用: 魚のウロコのアッセイ系を用いた骨芽及び破骨細胞の解析. 第15回ソノケミストリー討論会, 金沢 (2006, 10) 第15回ソノケミストリー討論会講演論文集, pp.3-4, 2006.
- 3) 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, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究. 第23回宇宙利用シンポジウム, 東京 (2007, 1)