

令和5年5月30日

各報道機関文教担当記者 殿

海洋深層水が魚のストレスを低減するメカニズムを 世界で初めて解明

金沢大学環日本海域環境研究センターの鈴木信雄教授と理工研究域生命理工学系／能登海洋水産センターの松原創教授，富山県立大学の古澤之裕准教授，富山大学の田渕圭章教授，立教大学（前東京医科歯科大学）の服部淳彦特任教授と丸山雄介助教，公立小松大学の平山順教授を中心とした共同研究グループは，ヒラメ（*Paralichthys olivaceus*）（図1）を能登の海洋深層水（※1）あるいは表層水で10日間高密度飼育したところ，飼育前に比べて，ストレスホルモン（コルチゾル（※2））が前者では変化せず，後者では上昇することを見出しました（図2）。さらに，深層水からヒラメのコルチゾルを低減させる物質（キヌレニン（※3））を同定しました。本研究により，キヌレニンがヒラメのウロコ（※4）の骨芽細胞に働き，そこで分泌されたカルシトニン（※5）が血流を介して，脳におけるコルチゾル産生を促す遺伝子群の発現を抑制，それによりコルチゾル産生が低減することを世界で初めて証明しました。

海洋深層水で魚を飼育するとストレスが低減され，長期間飼育できると言われています。これまで不明であった海洋深層水による魚のストレス低減作用を，本研究により初めて科学的に証明したことになります。一方キヌレニンは，表層の海水には無く，能登の海洋深層水に含まれている物質です（表1）。このキヌレニンが，脳においてコルチゾル産生に間接的に関与する遺伝子群の発現を抑制，コルチゾル分泌が低減することを明らかにしました。

以上の結果は，海産魚類の飼育や養殖に能登の海洋深層水が有効であることを証明したことになります。さらにコルチゾル分泌を低減するキヌレニンは，餌などへの応用により，水産業に大きく貢献することが期待できます。

本研究成果は，2023年5月30日にイギリスの国際学術誌『*Scientific Reports*』のオンライン版に掲載されました。

【研究の背景】

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があります。また海洋深層水は、経験的に魚を含めた海産動物の生育を改善する効果があることから、飼育水等に利用されていますが、その科学的な根拠は明らかになっていません。

【研究成果の概要】

大きな水槽で馴化したヒラメ（図 1）を能登海洋深層水飼育群と表層水飼育群とに分けて、狭い水槽で飼育するという密度ストレスをかけ、エサを 1 日 1 回与えて 10 日間飼育しました。ヒラメを狭い水槽に移す直前、飼育 5 日目及び飼育 10 日目に採血を行ってストレスホルモンであるコルチゾルを測定しました。その結果、表層の海水で飼育すると、血液中のコルチゾル濃度は上昇しますが、能登海洋深層水で飼育すると、コルチゾル濃度は上昇しないことが明らかになりました（図 2）。また血液中のカルシウム濃度のみが低下して（図 3 及び 4A）、カルシウム濃度を低下させるホルモンであるカルシトニン濃度が上昇することも分かりました（図 4B）。一方、能登の海洋深層水と表層の海水の組成を調べた結果、能登の海洋深層水にキヌレニンが特異的に存在することが明らかとなりました（表 1）。そこでキヌレニンがカルシトニンの分泌を促しているのではないかと考えました。その理由は、インドール化合物であるメラトニンが、ウロコの骨芽細胞の活性を促進し、カルシトニンの分泌を促すことが証明されていることによります。そこで、同じインドール化合物であるキヌレニンが骨芽細胞に作用して、カルシトニンの分泌を促している可能性があると考えました。キヌレニンの作用を詳しく解析した結果、キヌレニンがウロコの骨芽細胞に作用して、カルシトニンの分泌を促していることが分かりました（図 5）。また、人工海水にキヌレニンを添加して、ヒラメを飼育すると、血液中のコルチゾル及びカルシウム濃度が低下して、カルシトニン濃度が上昇することが判明しました（図 6）。さらにヒラメの脳の網羅的解析により、カルシトニンが脳の視床下部の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (*corticotropin-releasing hormone: crh*) 及び脳下垂体のプロオピオメラノコルチン (*pro-opiomelanocortin: pomc*) の発現を抑制することも分かりました（図 7）。

以上のことから、能登の海洋深層水に含まれているキヌレニンがウロコの骨芽細胞に働き、カルシトニンをヒラメの血液中に分泌させ、そのカルシトニンがコルチゾルの分泌に関与する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン及びプロオピオメラノコルチホルモンの発現を抑制することを世界で初めて証明しました（図 8）。

【今後の展望】

ヒラメ以外の魚（トラフグなど）においても飼育実験を行い、海洋深層水の効果を確かめていくことを計画しています。能登深層水で飼育した魚を能登町の観光資源として活用していきたいと考えています。

本研究は、法人主導（トップダウン）型研究課題：環境・健康に配慮した持続可能な共創的養殖システムの開発（代表：鈴木信雄）、北陸未来共創フォーラム、国立研究開発法人科学技術振興機構 A-STEP (JPMJTM19AP)、公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団研究助成（2209）、科学研究費補助金（20K06718, 21K05725, 22J01508）、金沢大学環日本海域環境研究センターの共同研究費（22009, 22015, 22016, 22017, 22044）の支援を受けて実施されました。なお、本研究の内容で特許を取得済みです（特許第 7093961 号）。



図 1：ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) 頭部から見た写真

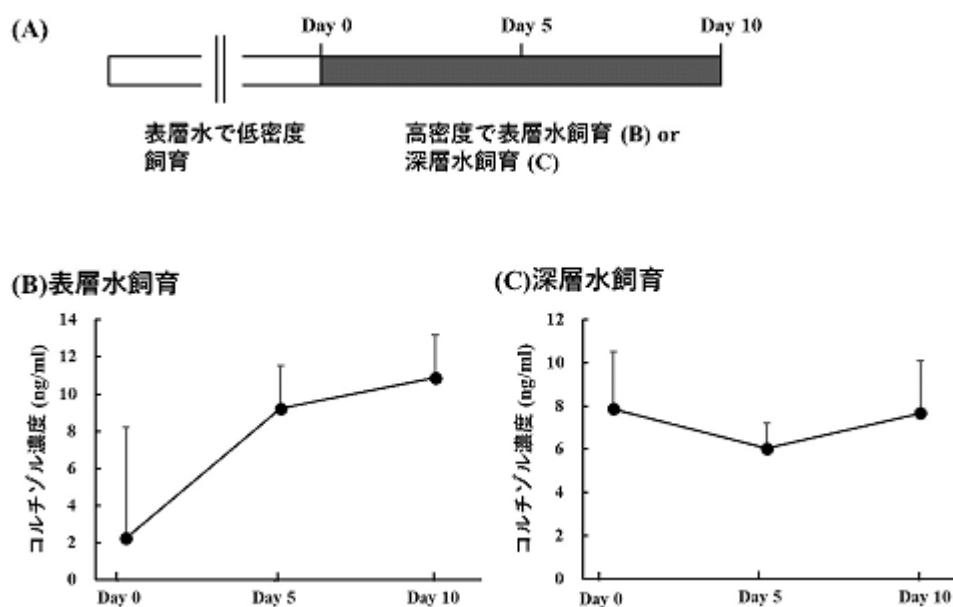


図 2：高密度飼育による血漿中のストレスホルモン（コルチゾル）の濃度の変化

(A)実験のスケジュール

(B)表層水で高密度飼育すると血漿中のコルチゾル濃度が上昇する。

(C)能登海洋深層水で高密飼育すると血漿中のコルチゾル濃度は変化しない。

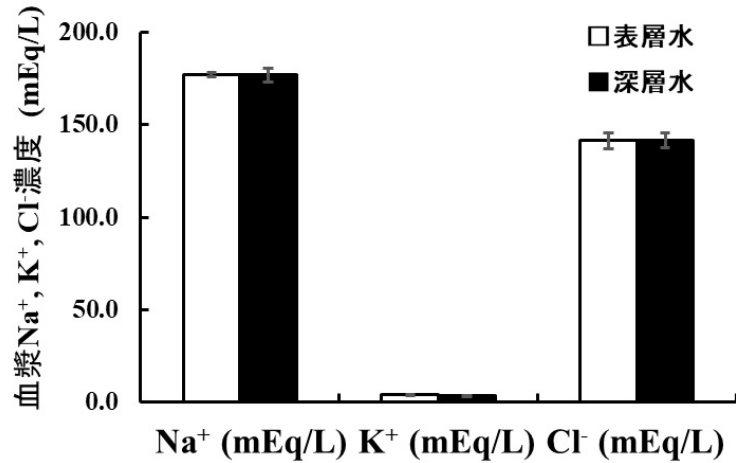


図3：ヒラメの血漿中のナトリウム、カリウム及び塩素イオン濃度の変化

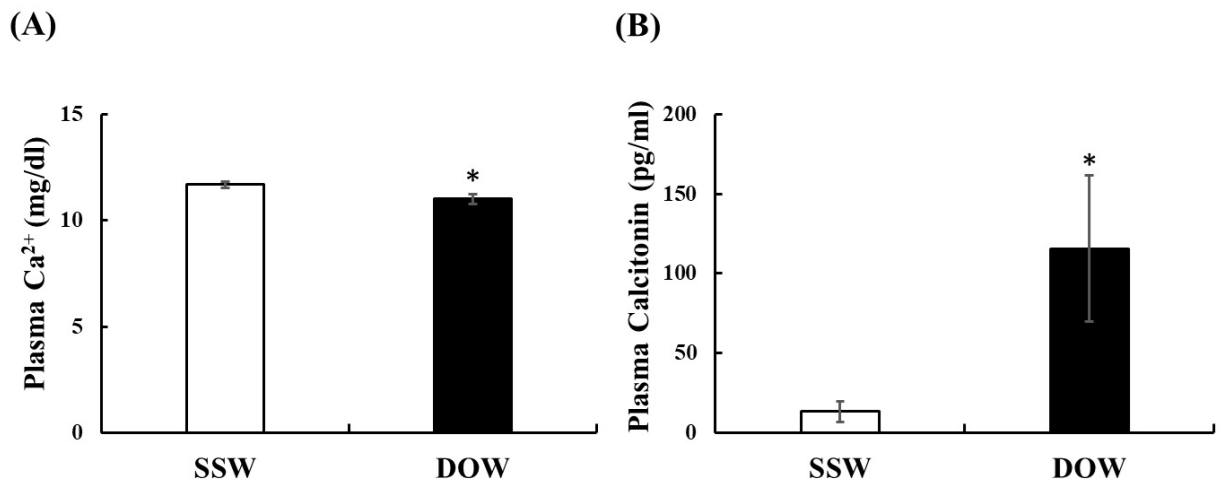


図4：ヒラメの血漿中のカルシウムイオン(A)及びカルシトニン濃度(B)の変化

*: P < 0.05

表1 表層水と深層水に含まれるインドール化合物(pg/L)

	表層水	深層水
MEL	-	-
AMK	-	-
AFMK	7.85	-
5HT	-	-
NAS	-	-
HaMT	-	-
Kynuramine	292.01	-
キヌレニン	-	62.14
5MTP	-	-
IAA	9.6	3.5

Mel: melatonin; AMK: N-acetyl-5-methoxykynuramine;
 AFMK: N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine;
 5HT: 5-hydroxytryptamine; NAS: N-acetyl serotonin;
 HaMT: 6-hydroxymelatonin; 5MTP: 5-methoxytryptophan;
 IAA: Indole-3-acetic acid

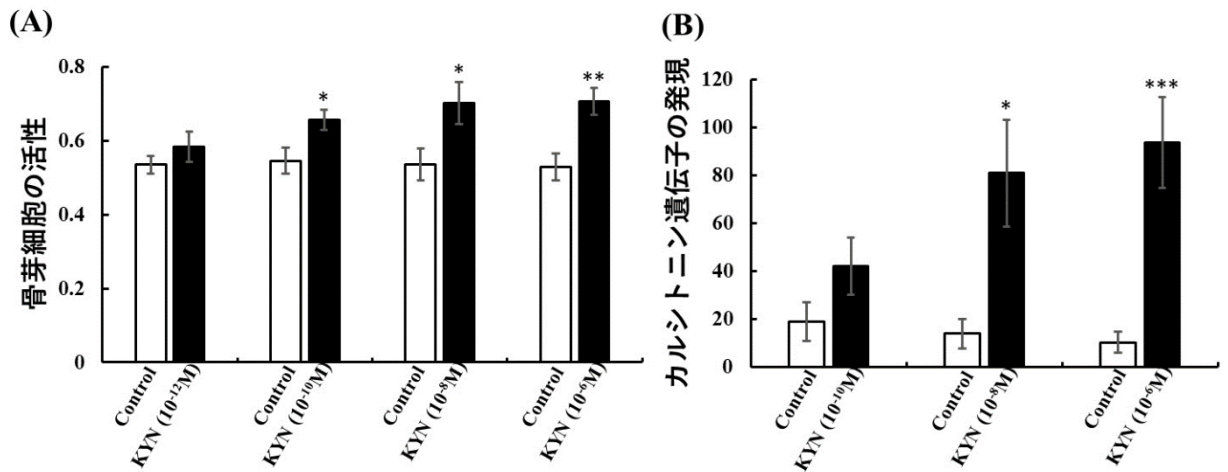


図 5 : キヌレニン(KYN)のウロコの骨芽細胞の活性(A)及びカルシトニン(B)の発現変化
 * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001

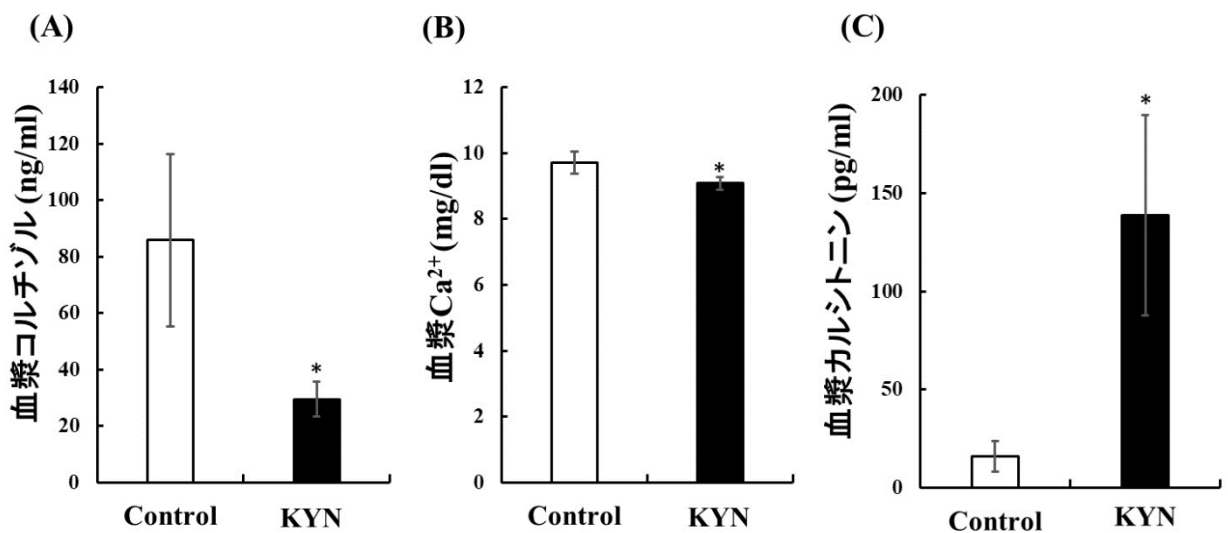


図 6 : ヒラメをキヌレニン入りの人工海水で飼育した時の血漿コルチゾル(A), カルシウムイオン(B), カルシトニン(C)濃度の変化 *: P < 0.05

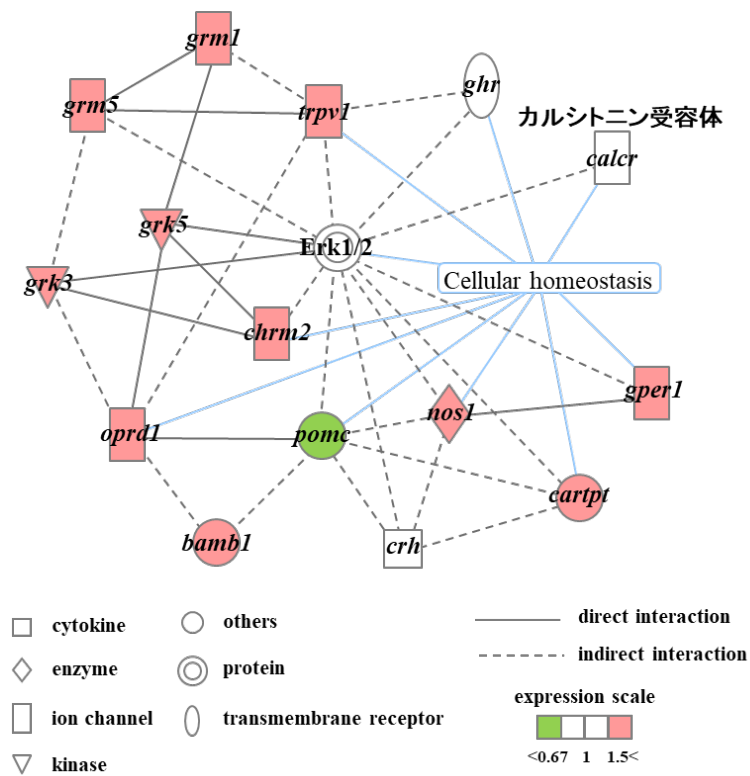


図 7：ヒラメの脳の網羅的解析

カルシトニンがカルシトニン受容体と結合して鎮痛作用に関与する遺伝子 (*oprd1*) の発現を上昇させて、*pomc* の発現を抑制している。その他の遺伝子のネットワークにより *crh* の発現にも影響を与えている。

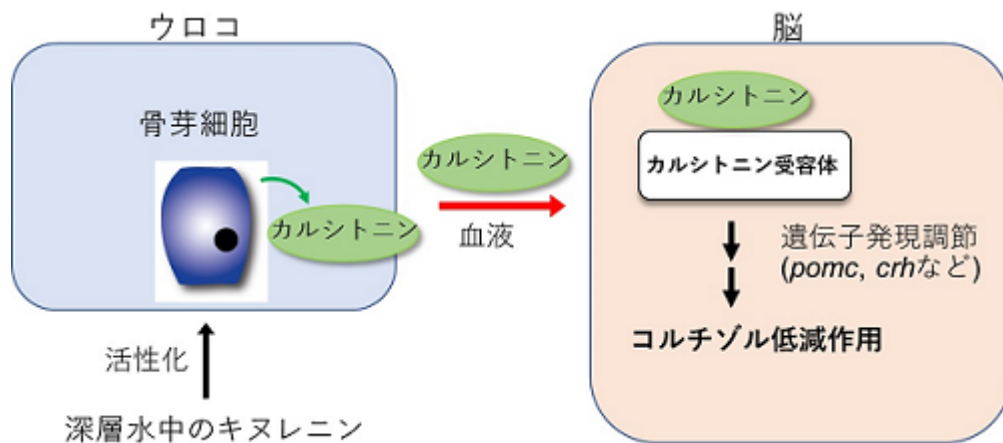


図 8：本研究の概略図

能登海洋深層水中のキヌレニンがヒラメのウロコの骨芽細胞に作用して、カルシトニンを分泌させ、カルシトニンが脳に作用、コルチゾル産生に関与する遺伝子発現を低下させることで、血漿コルチゾルの分泌が低減する。

【掲載論文】

雑誌名 : *Scientific Reports*

論文名 : Kynurenine promotes Calcitonin secretion and reduces cortisol in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*

(キヌレニンとはヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) においてカルシトニンの分泌を促進して、コルチゾルを低下させる)

著者名 : Takahiro Ikari, Yukihiro Furusawa, Yoshiaki Tabuchi, Yusuke Maruyama, Atsuhiko Hattori, Yoichiro Kitani, Kenji Toyota, Arata Nagami, Jun Hirayama, Kazuki Watanabe, Atsushi Shigematsu, Muhammad Ahya Rafiuddin, Shouzo Ogiso, Keisuke Fukushi, Kohei Kuroda, Kaito Hatano, Toshio Sekiguchi, Ryotaro Kawashima, Ajai K. Srivastav, Takumi Nishiuchi, Akihiro Sakatoku, Masa-Aki Yoshida, Hajime Matsubara, and Nobuo Suzuki

(五十里雄大, 古澤之裕, 田渕圭章, 丸山雄介, 服部淳彦, 木谷洋一郎, 豊田賢治, 永見新, 平山順, 渡辺数基, 重松惇志, ムハンマド・アヒヤ・ラフィウディン, 小木曾正造, 福士圭介, 黒田康平, 端野開都, 関口俊男, 河島遼太郎, アジャイ K. スリバスタブ, 西内巧, 酒徳昭宏, 吉田真明, 松原創, 鈴木信雄)

掲載日 : 2023 年 5 月 30 日にオンライン版に掲載

DOI : 10.1038/s41598-023-35222-4

【用語解説】

※1 : 海洋深層水

海洋深層水は、1) 河川水の影響を受けにくい、化学物質による汚染を受けにくい、2) 有害な雑菌が少ない、3) 無機塩（硝酸態窒素、リン酸、ケイ素等）が豊富である、という特徴がある。深層水に入れて魚を飼育すると、通常の上層水と比較して長期間、魚を健全に生かすことができる。しかしながら、深層水による作用の科学的な根拠に関する研究は少ない。その詳細な機構が本研究により、初めて解明された。

※2 : コルチゾル

脊椎動物のストレス応答に関与するホルモン。魚においてもヒトと似た合成機構により産生される。ヒトでは副腎皮質から、魚では主に間腎から産生される。上位の調節機構もヒトと同じであり、視床下部—脳下垂体—副腎皮質（魚では間腎）という経路で調節されている。以上のことから、魚におけるストレス低減作用は、ヒトでも効果がある可能性が高い。

※3：キヌレニン

インドール化合物の一種。インドール化合物には、植物の成長を制御するインドール酢酸などが含まれる。責任著者の研究グループは、インドール化合物の一種であるメラトニンが骨芽細胞で作られるカルシトニンの分泌を促進することを証明している。この結果を基にして、インドール化合物にターゲットを絞り込み、能登の表層海水と能登の海洋深層水の組成を調べた結果、キヌレニンが能登の海洋深層水に特異的に存在することを発見した。キヌレニンのストレス低減作用は、特許を取得済である（特許第 7093961 号）。

※4：ウロコ

魚のウロコには骨を作る細胞（骨芽細胞）と骨を壊す細胞（破骨細胞）が共存しており、魚は脊椎骨ではなく、ウロコからカルシウムを出し入れしている。例えば、メスのサケは、海から川に遡上するときにウロコからカルシウムを取り出して、卵にカルシウムを供給する。その時、ウロコの破骨細胞が活性化して、ウロコが溶けて小さくなることが証明されている。また、国際宇宙ステーションを構成する日本の宇宙実験棟「きぼう」においても、このウロコを用いた宇宙実験を実施した実績を、責任著者の研究グループは有する。その研究では、宇宙空間で、わずか3日間の培養で破骨細胞が活性化して、ウロコの骨吸収が引き起こされることを報告した。さらに本研究においてインドール化合物の一種であるキヌレニンがウロコの骨芽細胞でカルシトニンの分泌を促すことにより、ヒラメのストレス低減作用を示すことができた。

※5：カルシトニン

ヒトでは甲状腺の傍濾胞細胞、哺乳類以外の脊椎動物では鰓後腺から分泌される32個のアミノ酸から構成されるペプチドホルモン。ヒトのみならず、魚においても、カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制することにより、血液中のカルシウム濃度低下作用を持つ。このホルモンの魚に対する作用を初めて証明したのは、責任著者の研究グループである。このホルモンの受容体は、破骨細胞以外の組織にも存在しており、脳においてもカルシトニン受容体の発現が見られ、鎮痛作用を持つ。さらに責任著者のグループが初めて、キヌレニンがカルシトニンの分泌を促進させることを見出した。カルシトニンは、血液脳関門を通過できるホルモンとして知られており、ウロコから分泌されたカルシトニンがヒラメの脳に作用し、ストレス低減作用を示した。

【本件に関するお問い合わせ先】

■ 研究内容に関すること

金沢大学環日本海域環境研究センター教授

鈴木 信雄 (すずき のぶお)

TEL : 0768-74-1151

E-mail : nobuos@staff.kanazawa-u.ac.jp

■ 広報担当

金沢大学理工系事務部総務課総務係

小橋 直 (こばし なお)

TEL : 076-234-6826

E-mail : s-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp