

CMES

ニュース

No.30

愛媛大学 沿岸環境科学研究センター  
〒790-8577 松山市文京町2-5  
E-mail : kyoten1@stu.ehime-u.ac.jp

Center for Marine Environmental Studies(CMES)  
TEL : 089-927-8164 FAX : 089-927-8167  
CMES : http://www.ehime-u.ac.jp/~cmes/

目次	
新任教員紹介 -----1~2	学会参加報告 -----8
科研費新規採択課題紹介 -----2~6	編集後記 ----- 8
科研費課題中間報告 -----6~8	

### 新任教員紹介

#### 国末 達也（化学汚染・毒性解析部門 教授）

平成26年4月1日付で沿岸環境科学研究センター(CMES)の化学汚染・毒性解析部門に着任しました国末です。「はじめまして」というわけではなく、6年前までCMES(当時の生態環境計測分野)のCOE研究員として勤務しておりました。6年間、外部の研究機関および大学で研究教育に携わってきたわけですが、その経験を活かし教員としてCMESの発展に貢献していく所存です。簡単にCMES時代の研究内容を述べた後、6年間どこで何をしてきたかについて紹介したいと思います。

2004年4月からCOE研究員として勤務したわけですが、主な研究テーマは残留性有機汚染物質(Persistent Organic Pollutants : POPs)によるアジアの汚染でした。とくに着目したのは、化学物質の法的規制が整備されていない途上国の汚染であり、実際に環境中や生物相におけるPOPsの調査研究はきわめて少ないのが現状でありました。そこでインド、カンボジア、ベトナム、フィリピンなどの国で調査をおこなった結果、公衆衛生目的等による有機塩素系殺虫剤の使用、そして都市郊外に存在する大規模ゴミ集積場内で廃棄物の燃焼にともなうダイオキシン類の生成が示唆されました。さらに、周辺住民は汚染された家畜を介してこれら汚染物質に高濃度暴露していることが判明し、アジアの開放型都市ゴミ集積場は廃棄物問題の重要課題と位置づけ国際対応を進める必要性のあることを提起しました。野生動物における研究も展開

し、ヒトと比べ明らかに高濃度のダイオキシン類を蓄積しており、その蓄積特性の解析から土壌の汚染を反映していること、また肝臓への特異的な蓄積(肝集積)を発見し、ダイオキシン類により誘導されたチトクロームP450(CYP1A)が関与していることを突き止めました。さらに、PCBsの水酸化代謝物(OH-PCBs)における分析法の基礎を構築し、血中濃度の測定から数種の動物が特異な代謝能を有している可能性を提起しました。その後、CMESの化学汚染・毒性解析部門において代謝物に関する研究が進展していること、そしてアジアの途上国については、電子電気機器廃棄物に関連したPOPs候補物質の研究が展開されていることは、これまでのCMESニュースからご承知の通りです。



インドでのサンプリング風景

3年11ヵ月のCOE研究員生活を経て、2008年3月からニューヨーク州立保健局(New York State Department of Health)に研究員として異動しました。New York State Department of Healthでは、主にヒトの健康に影響を及ぼす可能性のある化学物質、そして内因性・外因性ホルモンについて、分

析法の開発およびリスク評価に関する研究を実施しました。具体的には、液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた甲状腺ホルモンの高精度測定法を確立しました。そして、甲状腺ホルモンホメオスタシスの攪乱化学物質と疑われている perchlorate を用いたラットの投与実験に、この分析法を応用した結果、甲状腺および血中の甲状腺ホルモン濃度は perchlorate の慢性曝露に



アメリカの研究所

(New York State Department of Health)にて

より明らかに低下し、ヨウ素欠乏状態でさらに悪化することを実証しました。さらに、開発した LC-MS/MS 法は既存の immunoassay 法と異なり、抗体に対する他の内因性ホルモンやタンパクとの交差反応による測定誤差の影響を受けないことから、多様な動物種に適用できるメリットがあることを、CMES の es-Bank に保存されていたバイカルアザラシの血清試料を用いて明らかにしました。これらの研究成果については、分析系および環境系のハイランク学術誌である *Analytical Chemistry* (2011, Vol. 83, pp. 417-424) と *Environmental Science & Technology* (2011, Vol. 45, pp. 10140-10147) に掲載されておりますので、そちらを参照していただければと思います。加えて、エストロゲン・抗エストロゲンの両活性を示す植物エストロゲンや生活関連物質である benzophenone 系 UV filter の分析法も開発し、とくに benzophenone 系 UV filter に関しては、アメリカ白人女性の尿から高濃度で検出されたこと、そして National Institute of Child Health and Human Development と共同でおこなった疫学調査の結果、benzophenone 系化合物の残留レベルと子宮内膜症の発生率に関連性があることを初めて突き止めました。この研究成果は、*Environmental Science & Technology* (2012, Vol. 46, pp. 4624-4632) に掲載された後、American Chemical Society の *Chemical & Engineer News* に Web 版

<http://cen.acs.org/articles/90/web/2012/03/Sunscreen-Compound-Linked-Endometriosis.html>) として取り上げられ、社会的関心を集めました。

アメリカでの研究生生活を経て、2012年4月から鳥取大学農学部生物資源環境学科の教授として研究教育に従事しました。教員として教育に携わることは初めてであり、とくに研究に関しては実験室に何もない状態からのスタートでしたので、初年度はかなり苦労しました。幸運にも1年目に申請した科学研究費助成事業の基盤研究B (研究課題名: 室内残留性化学物質の探索と影響評価—コンパニオンアニマルを指標動物として—) に採択され、本格的な実験室のセットアップに取り掛かることができたのですが、軌道に乗り始めたタイミングで CMES の採用が決定した次第です。今後、CMES で基盤研究Bの継続研究を深化させることに加え、本年度採択された科学研究費助成事業の挑戦的萌芽研究「多様な動物種に適応できる内因性ホルモンの高精度分析法の開発」についても研究を進めていきます。さらに、新たな化学物質の分析法開発や環境汚染、生物蓄積性、そして毒性影響に関する研究を展開し、積極的に外部資金の獲得に努め、研究室だけでなく CMES の運営に貢献するとともに、社会に還元できる質の高い成果を目指していきたいと考えております。

### 科研費新規採択課題紹介

#### 基盤研究 (B) 「黒潮本流域と黒潮内域における栄養塩の水平及び鉛直輸送量の解明」

郭 新宇 (環境動態解析部門 准教授)

研究期間: 平成26年度～28年度

黒潮が北西太平洋の低緯度から中緯度に大量の熱を運び、日本及び東アジアに温暖な気候をもたらしていることは周知の事実である。熱と同様に、溶存物質である栄養塩も黒潮によって低緯度から中緯度に運ばれている。たとえば、東シナ海のPN断面 (気象庁の定期観測線) における過去の20年余りの観測データから求めた平均的硝酸塩フラックス (=流速と硝酸塩濃度の積) は、水深400m付近に最大値を示し (図1)、その断面積分から東シナ海の黒潮が平均で  $170 \text{ kmol s}^{-1}$  の硝酸塩を下流域に輸送していることが分かった (Guo et al., JGR, 2012)。また、この硝酸塩輸送量は、琉球海流と黒潮再循環が加わることにより日本南岸黒潮本流域で  $1000 \text{ kmol s}^{-1}$  にも達することがわかってきた

(Guo et al., Biogeosciences, 2013)。

黒潮流軸方向での栄養塩の水平輸送以外に、黒潮本流域と黒潮内側域間や、黒潮本流域と黒潮外側域間の海水交換に伴う栄養塩の水平輸送も存在する。我々も含め、研究者の多くは黒潮流域から黒潮内側域への栄養塩供給を重視し、その定量化に努めてきた。たとえば、東シナ海では黒潮流域から大陸棚への栄養塩供給量は河川からのものより10倍も多いことが分かってきた(Chen and Wang, JGR, 1999; Zhang et al., PO, 2007; Zhao and Guo, OS, 2011)。

ところで、黒潮内側域には、黒潮起源の栄養塩に加えて、河川起源や大気起源や海底堆積物起源の栄養塩も存在する。栄養塩収支を考えると、栄養塩の供給だけでなく、栄養塩の消費も議論しなければならない。黒潮内側域での基礎生産だけでそこに供給される栄養塩を全部消費することは非現実的である。さらに、黒潮本流域より黒潮内側域の栄養塩濃度が高いという事実からも、黒潮本流域と黒潮内側域間に水平拡散や海水交換がある限り、栄養塩が黒潮内側域から黒潮本流域へ流出することが想定できる。しかしながら、この栄養塩の水平輸送は、どこでどのような形で行われるかが現在まったく未知である。

黒潮本流域での栄養塩の鉛直輸送については、黒潮前線渦に伴う湧昇(Isobe and Beardsley, JGR, 2006)や黒潮前線渦と海上風との結合作用(Nagai et al., JGR, 2012)や鉛直シアーによる乱流混合(Kaneko et al., GRL, 2012)などの素過程が提案されているが、どの素過程がどこ・いつ・どの程度の栄養塩を黒潮本流域の表層に運んでいるかについてまだ答えがない。

四国南岸の黒潮本流域では、表層海水の栄養塩濃度が黒潮流軸方向で増加している(Guo et al., Biogeosciences, 2013)。この事実はまだ黒潮全流路で確認されていない。また、その理由もまだ説明できていない。黒潮本流域における栄養塩収支を正確に見積もるためには、黒潮本流域と内側域間の水平輸送量と黒潮本流域での鉛直輸送量に加えて、黒潮本流域と外側域間の水平輸送量、及び黒潮本流域での生物活動の貢献を知る必要がある。黒潮外側域には、黒潮再循環と中規模渦が存在し、黒潮流量に大きなインパクトを与え(Yang et al., JO, 1999; Ichikawa, JO, 2001)、時々黒潮大蛇行につながることもある(Miyazawa et al., JPO, 2004; Usui, JO, 2013)。黒潮本流域と外側域間の栄養塩水平輸送量は、主に黒潮再循環と中規模渦による

黒潮本流域への海水加入に伴うものである。

黒潮源流域から黒潮下流域まで2500キロを超える長い流路においては、黒潮本流域と両側との栄養塩の水平輸送量、及び黒潮本流域での栄養塩の鉛直輸送量は、場所によって異なると思われる。したがって、ある断面観測から提案された栄養塩供給メカニズムについて、その普遍性を黒潮流路上で検証する必要がある。

本研究では、図1に示された通り、黒潮流路を

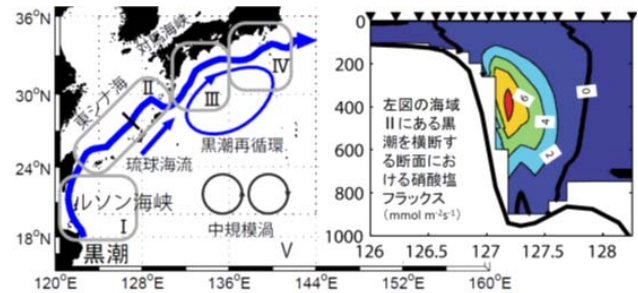


図1) 研究海域 (I~V) 及びPN断面における硝酸塩フラックスの分布 (Guo et al., JGR, 2012)

(I) ルソン海峡、(II) 東シナ海陸棚斜面、(III) 日本南岸黒潮安定流路海域、(IV) 日本南岸黒潮大蛇行海域に分け、各サブ海域の高解像度流動・低次生態系モデルにより以下の課題を解明する。

- (1) 黒潮本流域と黒潮内側域との海水と栄養塩の水平輸送量とその季節変化
- (2) 黒潮本流域における栄養塩の鉛直輸送量とその季節変化
- (3) 黒潮再循環と中規模渦による黒潮本流域への海水および栄養塩の水平輸送量
- (4) 生物化学過程を含んだ栄養塩収支とその季節変化

最終的に、栄養塩の水平輸送と鉛直輸送に係る素過程について、各サブ海域での類似点と相違点を比較し、素過程の普遍性について定量的評価を行う。

黒潮本流域では、栄養塩濃度が低い一方で、漁業資源はかなり豊富である。この矛盾を解く努力を海洋学者が長年続けてきたが、まだ多数の謎が残っている。本研究の目標である栄養塩の水平・鉛直輸送量及び収支の定量化は、黒潮流域の海洋生態系への理解を深め、長年の謎の解明に貢献する。その成果はさらに、地球温暖化による海面水温の上昇が最も顕著な西岸境界流域(Wu et al., Nature Climate Change, 2012)における基礎生産及び栄養塩循環の将来予測にも貢献する。

炭素循環において、大陸棚ポンプ(Tsunogai et al.,



Tellus, 1999) (冬に重くなる沿岸水が外洋へ流出することによる有機物の深海への輸送) や潮流ポンプ(Yanagi, JO, 1992) (上げ潮と下げ潮時の懸濁粒子の濃度差による、平均的にみた場合の懸濁粒子の外洋域への流出) といった概念が提案されている。本研究では、この二つの概念を検証し、炭素循環の大陸棚における役割をさらに明確にすることを目指している。

## 若手研究 (B) 「化学物質の慢性暴露が病原体感染時のコイの免疫応答に与える影響」

仲山 慶 (化学汚染・毒性解析部門 講師)  
研究期間: 平成26年度～27年度

近年、魚類から海棲哺乳類に至る水生生物の大量斃死が頻発している。その主な原因として、物理化学的な環境要因 (水温や酸素濃度など) の急激な変化や、毒物の流入、感染症の発生などの環境ストレスが挙げられる。これらの環境ストレスのうち大規模な貧酸素の発生や化学物質の流出事故のように、単独の要因で生物群集に対して劇的な影響を及ぼすケースもあるが、それらが単独では致死影響を及ぼさない場合であっても、複合的に作用することで個体数の減少など重篤な影響を引き起こす可能性が指摘されている。なかでも、化学物質への慢性的な暴露に起因する免疫系の機能不全が、感染症のまん延による大量斃死を発生させることが報告されている。具体的な例を挙げると、米国では農薬の暴露量が増えるに従って両生類の吸虫感染リスクが増大することが示されている (Rohrら、2008年)。また、スイスでは産業化に伴う化学汚染の発生がブラウントラウトの寄生虫感染症の拡大を引き起こしたことが示唆されている (Burkhardt-Holmら、2005年)。このように、化学物質が感染症の発症リスクを増大させ、その結果として個体数が減少するというシナリオは現実のものとなっている。

その一方で、化学物質と感染症との関連性を解析する上で免疫毒性の評価は必須であるにもかかわらず、水生生物において化学物質が免疫系に及ぼす影響を評価する確固たる手法は確立されていないのが現状である。従来、魚類においては、各種化学物質を暴露した条件下で、免疫系の各パラメータ (食食活性、呼吸バースト活性、抗体産生など) を測定する手法が取られてきたが、それらのパラメータの変化が感染症に対する感受性を変

化させるか否かについては評価されていない。すなわち、真の意味での感染症の発症リスクに対する化学物質の作用は評価されていないのが現状である。

これまでに、我々はヒラメを対象生物とし、重油暴露が免疫系に及ぼす影響を評価するための実験を行ってきた。高濃度の重油をヒラメに暴露した場合、免疫系関連遺伝子群の発現量が減少し、免疫系の抑制を反映していると考えられた。このとき、ヒラメの体表粘液中の細菌数が増加しており、重油暴露による免疫抑制が常在細菌の増殖を促したと考察された。その一方で、ヒラメの末梢血中の白血球が増加しており、増殖した細菌による日和見感染症を防ぐための応答が生じたと推察された。このように、高濃度の重油による免疫系への影響は、化学物質の暴露のみを行った条件下で各免疫パラメータを測定する従来法でも観察することができた。しかしながら、低濃度の重油を暴露した個体においては、上述のような免疫毒性は検出されなかった。このことは、低濃度の重油は免疫毒性を生じさせないことを示しているのだろうか。

そこで、我々は病原体の感染と重油暴露の共処理が、ヒラメの免疫系に与える影響の評価を試みた。ウイルス性出血性敗血症ウイルス (VHSV) を感染させたヒラメを低濃度の重油に暴露したところ、VHSV感染による致死率は重油暴露によって飛躍的に上昇した。その原因は、VHSV感染によって誘導される抗ウイルス活性が重油の存在下では十分に活性化せず、ウイルスの複製を抑制できなかったことにあると結論づけた。このように、低濃度の重油暴露のみを行った個体では免疫系への影響は検出されないが、ウイルス感染個体に重油を暴露することによって、正常な免疫応答が阻

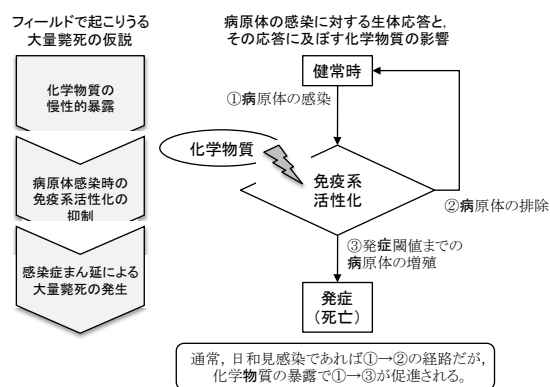


図1) 感染症のまん延に化学物質が関与するケースの

想定シナリオ

害されることが判明した。これらの一連の研究から、従来法では免疫毒性が生じないと判断されたケースでも、病原体の感染に対する応答には何らかの悪影響が及ぼされている可能性もあることが示された。

以上のことから、化学物質の暴露が病原体に対する感受性を変化させることは明らかであり、その評価法の構築が急務である。従来免疫毒性に関する研究では、被験生物に免疫刺激をすることなく、免疫系のベースラインに対する化学物質の作用を評価していたに過ぎない。免疫系は病原体等の侵入によって著しく活性化されるため、免疫刺激していない状態での免疫系の評価にはさほど意味が無く、病原体等の侵入に対して活性化される免疫系が化学物質によって抑制されるかどうかを評価しない限りは、化学物質が感染症の発症リスクを増大させるかを評価することはできない(図1)。

現在、我々は化学物質の暴露試験と病原体の感染実験を融合させ、病原体感染時の免疫応答および感染症の発症をエンドポイントとした、新たな免疫毒性評価法の構築を試みている。対象魚種には比較的免疫系の研究が進んでいるコイを選択し、コイに対してエロモナス菌などの細菌を人為的に感染させ、感染症を室内実験で誘発させる系を立ち上げた(図2)。

今後は、免疫毒性を有することが疑われている



図2) 室内実験で人為的にエロモナス症を発症させたコイ

数種の化学物質を対象に、細菌感染に対する応答への影響を評価し、対象化学物質が作用する閾値を求め、従来法で免疫毒性が生じるとされていた濃度との比較を行い、環境リスクを再評価したい。

我々が実施した重油の免疫毒性を評価した研究からも明らかな通り、従来法より決定される免疫系ベースラインに影響が生じる濃度範囲よりも、免疫系の活性化を抑制する濃度レベルの方が低く

なることが予想される。本研究より得られる結果が、実際にフィールドで生じ得る感染症の拡大やそれが原因となる大量斃死に対する化学物質の寄与の解明に繋がるであろう。また、免疫学の観点から言えば、コイは比較的精力的に研究が推し進められている種ではあるが、魚類の免疫系に関しては未解明な点が多い。環境毒性学研究から得られる知見が、魚類免疫学研究分野に対して貴重な情報を提供することも期待できる。

### 挑戦的萌芽研究「東日本大震災による環境汚染がもたらした海洋生物の汚染物質耐性メカニズムの解明」

阿草 哲郎(化学汚染・毒性解析部門 特任助教)  
研究期間:平成26年度~28年度

2011年3月11日に発生した東北地方太平洋沖地震・東日本大震災は、地震そのものに加え、巨大津波や地盤沈下、火災などによって、東北・関東地方の太平洋沿岸域に大規模な被害をもたらしました。その結果として、福島原発からの放射性核種をはじめ、津波によって流されたトランス・コンデンサによるポリ塩化ビフェニル(PCBs)、バッテリー由来の鉛、車両・船舶からの油などによる海洋汚染が懸念されています。

震災地域の中でも、宮城県気仙沼市では、津波によって22基の石油タンクが倒壊し、約11.5kLの燃油が海洋へ流出するとともに、大規模な火災も発生しました。燃油には発がん性のある多環芳香族炭化水素(PAHs)が含まれていたことから、気仙沼湾へのPAHsの環境汚染とその影響が危惧されます。実際に、これまでの気仙沼湾の環境モニタリング調査の結果、底質や牡蠣から高濃度のPAHsが検出されています。気仙沼は日本でも有数の水産都市であることから、食品安全性の観点からも、牡蠣以外にも様々な魚介類のPAHs汚染実態を把握することが必要不可欠であり、同時にPAHsによる海洋生物への毒性影響の調査も緊要な課題です。またその一方、長期的な視点で、化学汚染物質によって「生物群集」・「生態系」にどのような影響がもたらされているのか?ということについても強い関心もたれます。

以上の背景から、本研究では化学汚染物質が引き金になって生じた海洋生物への集団遺伝学的影響とそのメカニズムの解明に挑戦します。具体的には、東日本大震災時に重油漏れによってPAHs汚染が生じた気仙沼を対象に、PAHs汚染地域・非汚

染地域から採取した様々な生物から、PAHs毒性に関連する標的遺伝子の発現量や変異の有無を確認し、それらの地理的分布を明らかにします。また、汚染された生態系に生息するどの生物種がPAHs毒性に対する耐性を獲得しているのかについても検証します。さらに、特定した感受性遺伝子の変異体のタンパクをin vitroで作製し、その耐性メカニズムの機能を解析するとともに、汚染地域の生物が実際の耐性を持っているのかをin vivoの曝露試験で確認する予定です。

本研究の「挑戦的萌芽」な所以は以下の通りです。すなわち、これまでに化学物質汚染による生態系リスクの評価のために様々な研究が実施されてきましたが、その先駆たるものは環境・生物を用いた化学物質のモニタリングでした。従来では、これによって得られた化学物質濃度と、モデル生物（ミジンコやメダカなど）を用いた化学物質曝露試験から得られた毒性影響の閾値（死亡率や半数影響濃度（EC50）など）とを比較し、リスクを評価するというアプローチが主なものでした。しかし、この手法は間接的で、実際には野生生物がどれだけの化学物質による影響を受けているのかどうかはわかりません。そこで、化学物質の標的となる遺伝子やタンパクといったバイオマーカーの量を直接測定し、化学物質濃度との相関関係を見るというアプローチが実施されるようになってきました。しかしながら、曝露 - 応答に個体ごとのばらつきがあったり、タイムラグのため、ある一時的なスナップショットをみている点でしか評価できなかつたりなどの問題もあります。そこで本研究では、長期的な化学物質曝露による生物群集への集団遺伝学的な影響とその生態リスクを評価する新たな方法を考えました。遺伝子の変化が生物の形質に変化をもたらすことはすでに知られています。例えば、DDTsなどの殺虫剤に対して耐性を獲得した蚊は、薬物代謝酵素遺伝子に変異を持っていたことが報告されています。最近の知見では、より高次な魚においても、PCBs汚染地域に生息している集団がPCBs耐性の遺伝子型を持っていることが明らかとなりました。これらのことから、ある生物がある化学物質に対する耐性を獲得していることが分かれば、その生物集団が化学物質に長期間曝露されてきたこと、そして集団遺伝学的な影響を受けてきたことを示唆する根拠となりうる、という着想に至りました。本研究で考えている生物の化学物質耐性獲得の概念を図1に示します。

本研究によって、震災由来の化学物質による汚染が耐性獲得を持っていた海洋生物の淘汰を促したことを明らかにし、その原因となる遺伝子の機能を解明することができれば、学際的にも高いインパクトを与える成果となると考えています。さらに、本研究の集団遺伝学的モニタリング方法が確立されれば、化学物質による生態系リスクアセスメントの新たな科学的指針となることが期待されます。また、本アプローチを被災地に渡って広く実施することで、化学物質汚染とその生態リスクをより正確かつ包括的に把握することが可能となり、復旧の施策へ提言することが可能です。この他にも、水産に有用な種の選定にもつながり、被災地における海洋資源の運営・管理方法を提案することもできると考えています。以上のようなかたちで、本研究は震災地域の復興支援の一助にも役立ていきたい所存です。

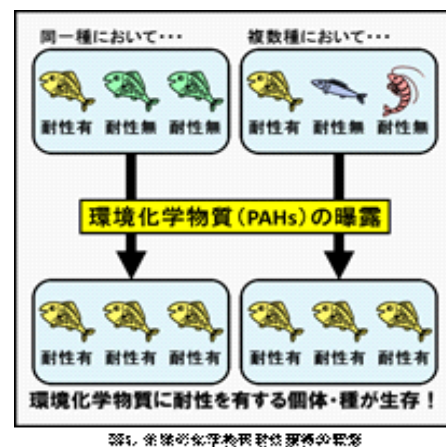


図1. 環境化学物質に耐性を有する個体・種が生存！

## 科研費課題中間報告

### 基盤研究 (B) 「マボヤ被囊軟化症の被囊軟化メカニズムの解明」

北村 真一 (生態系解析部門 准教授)  
研究期間：平成25年～27年

マボヤ (*Halocynthia roretzi*) は延喜式 (927年) にも記載されている我が国の伝統的な食材で、東北地方や韓国においては、養殖が盛んに行われている。韓国におけるマボヤ養殖は日本から技術移転されたもので、その養殖量は日本の10倍以上にも増加した。しかしながら韓国では、約20年前から被囊が軟化し斃死する病気が確認され、本病に



よってホヤ養殖に甚大な被害が生じている。このため、2002年以降、韓国は日本からホヤを輸入する事態に陥った。本症は、「被囊軟化症」と呼ばれ、日本でも2007年に東北地方で本病が確認されて以来、徐々に発症海域が拡大している。2011年の東日本大震災でマボヤ養殖は壊滅的な被害を受けたものの、翌年には養殖が再開され、本症の再発が危惧されている。

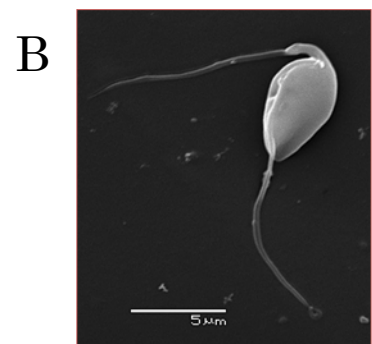
被囊軟化症の原因については、感染症の側面から、いくつかのグループが究明にあたったが、病原体の確定には時間を要した。原因病原体の研究史は以下の通りである。韓国で軟化症を発症したマボヤから日和見病原体であるアクアビルナウイルスが分離された。その後、健常マボヤと病マボヤにおける本ウイルスの検出率に差がないことから、本ウイルスの軟化症への関与は否定された。また、韓国でパラミキサと呼ばれる原虫が病原体であると報告されたが、我々の研究結果により、軟化症マボヤと健常マボヤの両方で、本原虫様の電子顕微鏡像が観察されたことから、これはマボヤの細胞を誤認したものと考えられた。その後、日韓の軟化症個体の被囊には微細構造に違いが認められないことから、両国のマボヤは同じ原因で大量死していることが明らかにされた。いずれのケースでも、軟化被囊中で特定のバクテリアなどの増殖が認められていないことから、病原体の解明に結びつく知見は得られなかった。しかしながら、近年、被囊軟化個体の組織を用いて、実験的に健常なマボヤに軟化症を発症できることや、軟化個体の被囊には健常個体に認められない鞭毛虫が存在していることが明らかにされた。我々は本鞭毛虫の単離培養に成功し、この培養鞭毛虫によって軟化症が生じることを実験的に明らかにした。その後、本虫を新属新種の *Azumibodo hoyamushi* として記載した。

上記のように、本症に関する組織学的研究や原因虫に関する研究は進展がみられている。しかしながら、本症の最大の特徴である被囊の軟化メカニズムについては、全く分かっていない。我々は、*A. hoyamushi* がセルラーゼを分泌し、マボヤの被囊セルロースを分解することで軟化症が起ると考え、本虫からセルラーゼの検出を行ったが陰性であった。また、病マボヤと健常マボヤのセルロース量を比較したところ、量的変化は認められなかった。これらのことから、現在は、*A. hoyamushi* が細胞外プロテアーゼを産生し、被囊セルロースを架橋しているタンパク質（未知タンパク質）を

分解することで、軟化症が誘発されるという発想に至っている。

そこで本課題では、原因虫の病原性因子を解明するアプローチと宿主側の生体応答を解明するアプローチを複合することで、被囊の軟化メカニズムを明らかにすることを目的とした。病原体側の研究として、まずは、人工基質を用いて原因虫の細胞外酵素のプロファイルを明らかにする。次に、軟化の主原因となる酵素を特定するために、遺伝子発現解析で本虫が産生する酵素の遺伝子を探査する。これらの組換えタンパク質を作製し、*in vitro* で被囊軟化を再現する。一方、宿主応答の研究として、分解される基質の同定を行う。実験としては被囊のプロテオーム解析を行い、被囊崩壊に伴い減少するタンパク質を明らかにする。次に、免疫組織染色法によって、前述の減少するタンパク質の中から、被囊セルロースを架橋しているタンパク質を特定する。以上の研究で、病原体のどの酵素が宿主のどのタンパク質を分解しているのが明らかとなり、軟化メカニズムを解明できる。

昨年度の成果として、本虫が細胞外プロテアーゼを産生することを明らかにした。すなわち、7種の人工基質（アミノペプチダーゼ型1種、トリプシン型2種、キモトリプシン型2種およびエラスターゼ型2種）を用いて、*A. hoyamushi* の細胞外プロテアーゼの検出を行ったところ、アミノペプチダーゼ型、トリプシン型およびキモトリプシン型のプ



被囊軟化症を発症したマボヤ (A)

および原因鞭毛虫 *Azumibodo hoyamushi* (B)

ロテアーゼが、それぞれ1種、2種および1種検出された。これらの中でも、トリプシン型プロテアーゼの活性が高いことが明らかにされた。一方、エラスターゼ型のプロテアーゼは検出されなかった。また、次世代シーケンサーを活用し、本虫の expressed sequence tags (ESTs)解析を行ったところ、カテプシンや細胞外プロテアーゼなど多数の酵素遺伝子の検出に成功した。本年度は、被嚢軟化に関わるプロテアーゼを明らかにするため、軟化症発生時に発現量が高くなるプロテアーゼを探索する予定である。

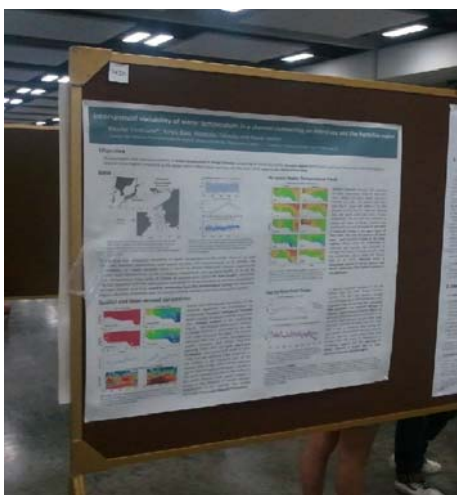
次に、軟化被嚢のプロテオーム解析を行った。その結果、発症個体特異的に減少するタンパク質として、筋原線維安定化タンパク質や2種のアクチンなどが検出された。今後は、これらのタンパク質を人工的に合成し、前述のプロテアーゼによる分解実験および被嚢中での局在を明らかにしていく予定である。以上のように、予定した計画は順調に進んでおり、最終年度までに軟化機構を解明することを目指している。

## 学会参加報告

### 「Ocean Sciences Meeting 2014」

堤 英輔（環境動態解析部門 研究員）

2014年2月23日から28日までハワイのホノルルにおいてOcean Sciences Meeting 2014が開催された。Ocean Science Meeting は隔年で開催される海洋学分野における世界最大規模の国際学会であり、今回参加者は5000人を超え、口頭・ポスター合わせて5000題を超える発表が行われた。CMES環境動態解析部門からは、郭新宇准教授(東シナ海における黒潮流量とPacific Decadal Oscillationおよび中規模渦との関係)、吉江直樹講師(黒潮フロント渦の発生に伴う植物プランクトン群集の変化)、博士後期課程学生王玉成(東シナ海における栄養塩の起源



と基礎生産)、同学生于晓杰(伊予灘における底部冷水と循環)、堤(豊後水道における水温の長期変化)が発表を行い、参加者と意見交換を行った。

筆者が発表を行ったセッション” East Asian Marginal Seas: sea surface temperature variability and ocean-atmosphere process” では黒潮流域に関する研究発表が数多く見られた。黒潮の大きな熱輸送に関連して大気海洋間の相互作用が活発であり、また世界的に海水温の高温化が著しい海域としての黒潮流域が、我々の生活に直結する東アジア域の気候に重要な役割を果たしているという理解を深め、自身の研究の位置付けと意義、そして課題がより良く認識できたように思う。また、多くのセッションで画像解析をはじめとした海洋観測の新たな手法に関する発表が見られたことが強く印象に残っている。沿岸海洋では、海洋観測データの数量的な制限や計測できる項目の制限が現象理解のボトルネックとなることが多く、自身も常にこの問題に悩む。確立された手法を用いるだけではなく、新たな手法を開発する態度が自身に必要であると感じた。

今回は初めての欧米圏開催の学会参加であり、また初めてのハワイ訪問となった。2月に大寒波に見舞われた日本と一転してハワイは温暖で澄んだ青空であり、地理的な気候の違いを肌で感じるとともに、分野の最先端を学ぶことができた有意義な滞在であった。

今回は初めての欧米圏開催の学会参加であり、また初めてのハワイ訪問となった。2月に大寒波に見舞われた日本と一転してハワイは温暖で澄んだ青空であり、地理的な気候の違いを肌で感じるとともに、分野の最先端を学ぶことができた有意義な滞在であった。

## 編集後記

平成26年4月から沿岸環境科学研究センターに新たなメンバーが加わりました。化学汚染・毒性解析部門の国末達也教授です。教授の自己紹介記事を掲載しています。また、平成26年度に新規採択された3課題の研究内容および平成25年度採択課題の中間報告を掲載しています。

CMESニュース No. 30

平成26年7月20日 発行

愛媛大学 沿岸環境科学研究センター

〒790-8577 愛媛県松山市文京町2-5

TEL : 089 - 927 - 8164 FAX : 089 - 927 - 8167

E-mail : kyoten1@stu.ehime-u.ac.jp

CMES : <http://www.ehime-u.ac.jp/~cmes/>

(CMES広報委員/生態系解析部門 講師 横川 太一)