

第2章 魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究

金沢大学 鈴木信雄、北村敬一郎、清水宣明、染井正徳、笹山雄一
JAXA 大森克徳、矢野幸子、重藤祐子、谷垣文章
JSF 鈴木ひろみ、嶋津 徹
岡山大学 池亀美華
富山大学 田淵圭章、高崎一郎、和田重人、近藤 隆
東京海洋大学 遠藤雅人
早稲田大学 中村正久
東京大学 井尻憲一
東京医科歯科大学 田畑 純、奈良雅之、服部淳彦

Fish Scale Study for Space Biology

Kanazawa University Nobuo Suzuki, Kei-Ichiro Kitamura, Nobuaki Shimizu,
Masanori Somei, Yuichi Sasayama
JAXA Katsunori Omori, Sachiko Yano, Yuko Shigeto, Fumiaki Tanigaki
JSF Hiromi Suzuki, Toru Shimazu
Okayama University Mika Ikegame
University of Toyama Yoshiaki Tabuchi, Ichiro Takasaki, Shigehito Wada, Takashi Kondo
Tokyo University of Marine Science and Technology Masato Endo
Waseda University Masahisa Nakamura
University of Tokyo Kenichi Ijiri
Tokyo Medical and Dental University Makoto J. Tabata, Masayuki Nara, Atsuhiko Hattori

ABSTRACT Fish scale is calcified tissue that contains osteoblasts, osteoclasts, and the bone matrix, all of which are similar to those found in mammalian membrane bone. We strongly believe that fish scales are a suitable material for the analysis of the bone metabolism in space biological experiments. In fact, in the second utilization plan using a Japanese Experiment Module-Pressurized Module, our proposal was selected as a candidate experiment in 2008. In 2010, our space experiment was performed. The space shuttle STS-132 (ULF4) carrying goldfish scales was launched to the International Space Station (ISS) on May 14, 2010. The control system of both the Measurement Experiment Unit and the Cell Biology Experiment Facility worked successfully as planned. Judging by the temperature data in the hardware under microgravity and in ground conditions, our experiment was successful. Here, we describe the history of our research team until realization of this space experiment using the KIBO in ISS, introduce the results obtained, such as the hyper-gravity response with centrifuge and vibration, and explain the outline and significance of our space experiment.

1. はじめに

宇宙実験を目指した研究チームを結成したのは2006年であり、2008年に「きぼう」の宇宙実験の候補テーマとして採択され、僅か2年の非常に短い準備期間で宇宙実験を2010年5月に実施できた。本稿では①宇宙実験に至るまでの研究チームの歴史、②魚類のウロコの特徴、③ウロコホルモン及び物理的刺激に対する応答、④「きぼう」の宇宙実験棟を用いた宇宙実験の意義と概要を記載する。ウロコは骨のモデルとして有用であり、宇宙実験に非常に優れた材料であることを理解していただけると幸いである。

2. 宇宙実験に至るまでの研究チームの歴史

研究チーム（魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究）の歴史を以下に示す。

- 1) 2005年8月 日本宇宙フォーラムの地上公募研究に採択
タイトル：微小重力に対する骨芽及び破骨細胞の影響：魚類のウロコを用いた解析
- 2) 2006年5月 宇宙環境利用科学委員会が公募した研究班ワーキンググループに申請して、宇宙実験を目指した研究チームの結成
研究チーム名：魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究
- 3) 2007年3月 日本宇宙フォーラムの地上公募研究終了
- 4) 2007年9月 「きぼう」船内実験室第2期利用に向けた候補テーマの申請
- 5) 2007年12月 「きぼう」船内実験室第2期利用に向けた候補テーマの一次審査通過
- 6) 2008年1月 宇宙基礎医学生物学研究に用いるべき最適なモデル生物に関するワークショップ（第3回筋骨格系の実験に向けたモデル生物）
タイトル：魚類（キンギョ）のウロコを骨のモデルとして用いた評価システムの開発と応用 - 微小重力環境下で進行する骨密度低下の治療・予防を目指して -
- 7) 2008年3月 「きぼう」船内実験室第2期利用に向けた候補テーマに採択
- 8) 2009年9月 外部評価委員会の審査により、フライト候補テーマからフライト準備段階テーマに移行
- 9) 2010年2月2日 キックオフミーティング（東京医科歯科大学「ウロコラボ」の開所式）。同腹のキンギョ 300匹が海洋大から運ばれてきて、飼育が始まる。
- 10) 2010年4月23日 宇宙実験用試料の再生ウロコ作成を開始。
- 11) 2010年5月8日 最初の試料を作成し、試料をフロリダへ輸送。
- 12) 2010年5月14日 スペースシャトル（アトランティス号）STS-132により打ち上げ
- 13) 2010年5月16日 野口聡一宇宙飛行士により実験開始、5月20日実験終了
- 14) 2010年5月26日 アトランティス号帰還により、サンプルが地上へ戻る。
- 15) 2010年5月31日 サンプルがJAXA 筑波センター着。解析開始

2005年に日本宇宙フォーラムの地上公募研究に採択され、我々の宇宙実験を目指した研究がスタートした。この期間に後述の過重力応答と3次元クリノスタットの実験も実施して、ウロコが宇宙実験に対して非常に優れた実験材料であることを証明した。その後、2006年に研究チームを発足し、宇宙実験の経験を有する研究者と技術者がチームのメンバーとして加わっていたので、非常に効率よく宇宙実験の計画を立てることができた。2008年3月に「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た。候補テーマのヒアリングが終了直後にJAXA宇宙医学生物学研究室長向井千秋博士が主催したワークショップ（2008年1月）でウロコの利点をJAXAの医学系の委員に紹介する機会を得て、タイミングよくウロコを骨のモデルとしてアピールできた。その後、国内の宇宙実験の拠点として2010年2月に東京医科歯科大学のMDタワー8階に「ウロコラボ」（図1）を立ち上げ、足かけ僅か2年の準備期間で2010年5月に野口聡一宇宙飛行士により宇宙実験が実施された。

研究チームのメンバーは、チーム発足時は14名だったが、宇宙実験を実施した2010年には30名のチームとなった。チームのメンバーが一丸となり、JAXA、JSF、千代田アドバンスト・ソリューションズ（株）及び有人宇宙システム（株）の支援により宇宙実験を実施して、宇宙実験を無事終了できた。宇宙実験を無事終了することができたのは、チームのメンバーと支援していただいた数多くの方々の協力のおかげである。



図1 国内の宇宙実験の拠点「ウロコラボ」

3. 魚類のウロコの特徴

魚類のウロコの特徴を①生理学的背景、②組織学的背景、③進化的背景から解説して、④宇宙実験でウロコを用いる利点を述べる。

3-1) 生理学的背景：ウロコは体内カルシウムの調節器官として椎骨よりも重要

硬骨魚類の骨の中には、骨髄に相当する構造がない。このため、造血は腎臓の一部で行っている。また、魚体にとっては骨とウロコがカルシウムの貯蔵庫であるが、放射性同位元素による研究で、椎骨ではなく、ウロコから主にカルシウムを出し入れしていることが知られている。このことは、魚類のカルシウム調節において、ウロコこそが、ヒトの骨と同様の役割を持つことを意味している。

3-2) 組織学的背景：ウロコは線維層と骨質層（石灰化層）から構成される硬組織であり、骨芽細胞と破骨細胞が共存

硬骨魚のウロコの基本構造は、I型コラーゲンからなる線維層とI型コラーゲンとヒドロキシアパタイトからなる骨質層（石灰化層）の二層からなる(図2)。そして、骨質層の表面に破骨細胞と骨芽細胞が共存しており、添加的石灰化・直接骨化・骨代謝を行っている。また、ウ

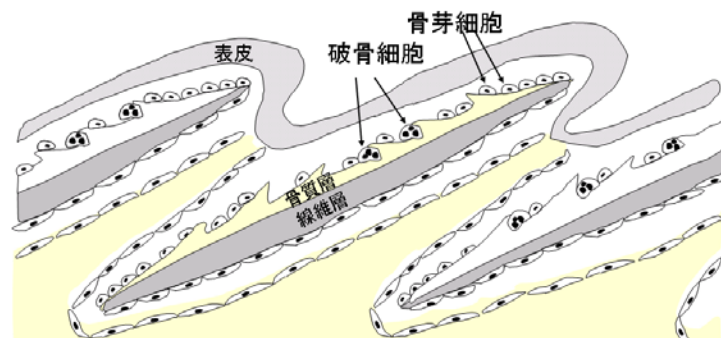


図2 魚のウロコの模式図
魚のウロコは、石灰化した骨基質の上に骨芽細胞と破骨細胞が共存し、ヒトの骨と同じように骨代謝を行っている。

ロコに存在する破骨細胞は、多核で波状縁も観察され¹⁾、ヒトの破骨細胞と同様の組織構造と生理活性を持つことが示されている。このようにウロコには、①シンプルな構造と石灰化様式を示す、②破骨細胞はヒトと同様の細胞構造と活性を持つ、といった利点がある。

3-3) 進化的背景：ウロコは甲冑魚由来の膜性骨

進化の上で、初めて骨の原型を備えた動物は、古生代の海に生息した甲冑魚（甲皮類）である。甲冑魚の体制は極めて原始的で、顎もなく、歯もなく、体内の骨もまだ軟骨で形成されていたが、外表を覆う装甲（甲皮）は、構造的には象牙質と骨の性格を併せ持つ硬組織で、その主成分はヒドロキシアパタイトであった。甲皮類はやがて棘魚類を経て硬骨魚（＝現生の魚類）へと進化するが、この過程で甲皮も形を変え、頭部では膜性骨として残り、体表部では運動性向上と軽量化のためにウロコとなったと考えられている。また、顎では歯が、体内部では硬骨（軟骨性化骨）もできるようになった。このように、ウロコは甲皮の直系の子孫器官である点で、進化的に興味深い硬組織である。

3-4) 宇宙実験でウロコを用いる利点：ウロコは低温保管でき、培養操作が容易

我々が開発したキンギョのウロコの培養システムは、①材料の調製が容易でかつ状態がよい、②培養の維持が非常に簡便、しかも、培地を交換しなくても長期（約 10 日）培養が可能であり、③ロケットの発射延期にも対応可能という利点がある。すなわち、ウロコは体表にあるため採取が容易であり、一つの培養断片がひとつのウロコであるために骨組織の損傷がほとんどなく、一頭体からとれるウロコの数も多い。また、培養の維持には、室温（20℃前後）で行うことも可能で、炭酸ガス不要の培地を使用できるので、宇宙ステーションでの設置や操作を簡便にできる。

4. ウロコのコルモン応答及び物理的剌激に対する応答

これまでの我々のウロコを用いた研究成果の一部を以下に示す。

4-1) 哺乳類で知られているカルセミックホルモンのウロコに対する応答

ウロコの培養システムは、破骨細胞の活性を抑制するホルモンであるカルシトニンの作用を解析するために世界で初めて開発され、カルシトニンが哺乳類と同様にウロコの破骨細胞の活性を抑制することを証明した²⁾。カルシトニン（100 ng/ml）のウロコの破骨細胞に対する作用は、淡水産のキンギョでも海産魚のメジナでもみられ、淡水産のキンギョの方がその効果が強かった。さらにキンギョでは、雌雄共にカルシトニンの効果が認められたが、メジナでは雌のみしか効果がなかった。そこで入手・飼育も容易なキンギョを用いることにした。

なお、副甲状腺ホルモン、エストロゲン、インスリン様成長因子 I 及び活性型ビタミン D₃ の骨芽細胞に対する作用も解析済みであり、カルシトニン、副甲状腺ホルモン、エストロゲン及び活性型ビタミン D₃ の受容体もウロコからクローニングしている^{2,3,4,5,6)}。また、ビタミン K₂ (MK4) はウロコの骨芽細胞の活性を上昇させ、破骨細胞の活性を低下させることもわかった。

さらにウロコのシステムの感度は良く、極めて低濃度（10⁻¹³ M）のカドミウムにも応答し⁷⁾、内分泌攪乱化学物質であるトリブチルスズが骨芽細胞の活性を抑制することも見出している⁸⁾。

4-2) 概日リズムを調節するホルモンであるメラトニンの骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用

概日リズムを調節するホルモンであるメラトニンが、骨代謝にも作用することを明らかにした。特にメラトニンは、破骨細胞の分化（多核の活性型への分化）を抑制するという作用を持つことを哺乳類に先駆けて証明した⁹⁾。一方骨芽細胞に対する作用は、単独培養ではその活性を上げるが、破骨細胞との共存培養によりその活性が低下するという現象をウロコのシステムで初めて明らかにした⁹⁾。この結果は、ラットの *in vivo* でも再現され、

ウロコのシステムは国内外のメラトニン関係の研究者から非常に高く評価され、メラトニンの骨に対する総説で何度も引用されている。

4-3) 新規インドール化合物のウロコの骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用

新規インドール化合物（ベンジルトリブロモメラトニン）（図 3）を合成し、その化合物の作用をウロコの系で解析した

結果、破骨細胞の活性を下げ、骨芽細胞の活性を上げる物質を見出した¹⁰⁾。（国内特許 4014052 及び国際特許出願中）。さらに骨疾患モデル（卵巣摘出ラット及び低カルシウム食で飼育したラット）に対する新規ブロモメラトニン誘導体の効果を解析した結果、骨強度及

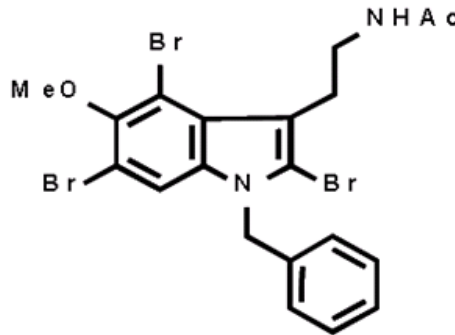


図3 1-benzyl-2,4,6-tribromomelatonin

び骨密度が対照群と比較して有意に上昇することも確認できた¹¹⁾。現在、骨折ラットを用いて解析中である。若田宇宙飛行士が服用したビスフォスフォネイトは破骨細胞の活性を抑制する薬剤であり、骨粗鬆症の治療に効果を上げている。しかし、ヒトの顎の細胞が壊死するという副作用がある。我々が開発した化合物は、急性毒性及び変異原性がないことを確認済みであり、新規骨疾患の治療薬として有望視されている。

2010 年 5 月に実施した宇宙実験にはこの化合物を添加した試料が含まれており、現在、その骨疾患の治療薬としての可能性を調べている。

4-4) 破骨細胞及び骨芽細胞で特異的に発現しているマーカー遺伝子のクローニング

最近哺乳類において、骨芽細胞と破骨細胞の相互作用に関する遺伝子が明らかにされた。この遺伝子は骨芽細胞で特異的に発現している Receptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL) と破骨細胞で発現している Receptor Activator of NF- κ B (RANK) である。特に破骨細胞は、多核の活性型に誘導するために、骨芽細胞からの連絡が必要であり、RANKL がリガンドとなり、破骨細胞のレセプターである RANK と結合しなければ多核の活性型に誘導されない。これらの遺伝子は、哺乳類でしかクローニングされていなかったが、最近キンギョのウロコから cDNA の全長のクローニングに成功した。この遺伝子の発現を解析することで、骨芽細胞と破骨細胞とのクロストークを解析できる。副甲状腺ホルモンの作用を解析した結果、骨芽細胞の活性は 6 時間培養で上昇し、培養 18 時間後に破骨細胞の活性が上昇するという結果が最近得られた⁶⁾。その活性の変化の理由として RANK 及び RANKL の関与を証明した。すなわち、RANK mRNA の発現が顕著に上昇し、破骨細胞の活性が上昇することを証明した⁶⁾。さらに申請者らは、魚類で初めて破骨細胞で発現しているカテプシン K、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ¹⁾及びカルシウム代謝に関与するホ

ルモンであるカルシトニンの受容体のクローニングにも成功している。また骨芽細胞で発現している I 型コラーゲン、オステオカルシン、アルカリフォスファターゼ、オステリックス、Runx2 (runt-related transcription factor 2)、オステオプロテゲリン及びホルモンの 1 種であるインスリン様成長因子 I も既にクローニング済みであり、これらについても解析可能である。したがって、本ウロコシステムは骨のモデルとして遺伝子レベルからアプローチすることができる。

4-5) 遠心機の過重力に対する応答

水棲生物用の麻酔薬 (MS-222) で麻酔したキンギョからウロコを取り、そのウロコを半分に切り、片方を実験群とし、他方をコントロール群 (1G) とした。2、4 及び 7G で遠心機 (LIX-130、トミーデジタルバイオロジー (株)) を用いて 5 及び 10 分間遠心した後、6 及び 24 時間培養し、ウロコの骨芽・破骨細胞の活性を測定した。なおそれぞれの実験は 3 回行い、ウロコは各群とも 12 枚使用した。ウロコの培養方法及び細胞の活性測定は、Suzuki and Hattori (2002) の方法⁹⁾ を用いた。

骨芽細胞の活性は、2G という低強度の重力負荷でも応答し、5 及び 10 分間処理により、その活性が上昇した。4G の効果は 2G とほぼ同様であった。7G では顕著に骨芽細胞の活性が上昇した¹²⁾。さらに破骨細胞の活性も 2G で 5 分間の処理により応答し、その活性が低下した。破骨細胞活性の低下率は強度に反比例し、7G では破骨細胞の活性が上昇する傾向にあった¹²⁾。

4-6) バイブレーションの加速度重力に対する応答

遠心機の実験と同様にして、キンギョを麻酔してウロコを抜去した。抜去ウロコは 1.5 ml 用のエッペンドルフチューブに入れ、HEPES (20 mM) (pH 7.0) 及び抗生物質 (1%) を含む培地 (MEM) を 500 µl 加えた後、ウロコが振動によって動かなくするために、綿球 (直径 1 cm) を入れてウロコを固定した。このチューブを加速度発生装置にセットし、0.5, 1, 2, 4 及び 6G で 5 及び 10 分間処理し、コントロール (無処理群) と比較した。その後 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。

さらに遺伝子レベルでの解析を行うため、キンギョのウロコを取り、前述の装置にチューブをセットし、0.5, 1, 2, 4 及び 6G で 5 及び 10 分間処理し、その後 6 及び 24 時間培養した。そのウロコからアイソゲン (ニッポンジーン社) により mRNA を抽出し、タカラバイオ社のキットを用いて cDNA を合成した。骨芽細胞のマーカーである ER 及び破骨細胞のマーカーである TRAP の発現を RT-PCR により解析した。

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て、6G で最も高くなった。なお、骨芽細胞の応答は主に 6 時間培養で有意に変化し、24 時間培養では 6G のみ有意に上昇した。一方破骨細胞も 0.5 及び 1G という低強度の重力刺激でも反応し、6 時間培養では変化せず、24 時間でその活性が低下し

た。2G で最も破骨細胞の活性抑制作用が強く、6 及び 24 時間でも反応した。4 及び 6G 群においても活性抑制作用が観察され、有意な効果が 6 時間培養で認められた。

これらの細胞活性の変化は、骨芽及び破骨細胞のマーカーである ER mRNA と TRAP mRNA の変化ともほとんど一致した。即ち、ER mRNA の発現は 6 時間培養において 2、4 及び 6G の負荷で有意に上昇し、TRAP mRNA の発現は、低強度 (0.5 及び 1G) では 24 時間培養後に低下し、2、4 及び 6G では 6 時間培養で低下することが判明した。

これらの結果の詳細は、Suzuki et al. (2007)¹³⁾に記載されている。また、骨芽細胞と破骨細胞の反応は、骨芽細胞と破骨細胞の相互作用により行われている可能性が高く、今後マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析によりその相互作用を明らかにしたいと考えている。

4-7) 再生ウロコホルモン応答及びバイブレーションの加速度重力に対する応答

ウロコは皮骨であり、添加的石灰化と直接骨化によって形成され、抜去されても同じ数だけ同じ大きさのウロコが再生される。そこで我々は、ウロコを抜去したキンギョを 25°C で飼育して、再生過程のウロコを観察し、特に再生 10 日目のウロコの骨芽細胞の活性が非常に高いこと⁴⁾、破骨細胞の活性も高いことを確認している。さらに女性ホルモンである 17 β -estradiol の応答も再生ウロコのほうが高いことを報告している⁴⁾。

そこで 10 日目の再生ウロコを用いた評価システムを開発し、そのシステムを用いて加速度重力に対する影響を解析した。

再生 10 日目のウロコは普通のウロコと比較してカルシウムの沈着量が低く、これまで 3、4 枚の再生ウロコを用いて重量当たりの細胞活性を算出していた⁴⁾。

再生ウロコ 1 枚で細胞活性の測定を可能にするため、水温 25°C で 10 日飼育したキンギョの再生ウロコの細胞活性を表面積当たりの活性として評価することを試みた。バイブレーションによる加速度重力の影響を解析した結果、再生ウロコ 1 枚でも正確に活性を評価できることが示された。さらに、骨芽細胞及び破骨細胞のウロコあたりの活性値の変動が非常に少ないことがわかった。また、再生ウロコを用いた系において、バイブレーションによる加速度重力は普通のウロコと同様の骨芽細胞の活性上昇を誘導し、破骨細胞に対しては再生ウロコの方がより高感度で応答することが判明した¹⁴⁾。

以上のことから、我々は、細胞活性が高く、重力に対する応答性がよい再生ウロコを用いて、宇宙実験をすることにした。

5. 「きぼう」の実験棟を用いた宇宙実験の意義と概要

5-1) 研究目的

本実験の目的は、骨のモデルとして魚類 (キンギョ) のウロコを使用し、①宇宙における骨量減少 (骨がもろくなる) のしくみを探ること、②骨形成を促す物質 (新規インドール化合物) の効果を調べること、である。

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）が共存していること（図 2）に注目して、ウロコの培養システムを開発した。骨量維持には、骨の形成系（骨芽細胞）と骨の吸収系（破骨細胞）のバランスが保たれていなければならない。骨芽細胞は、重力の刺激をうけると活性化する。さらに骨芽細胞は、重力の刺激により骨を壊す細胞の活性も抑制して骨を強くする。しかし宇宙空間では、重力の刺激がないため、骨量が減少する。そこで、①メカニズムを解明して、②骨量減少を抑制する薬剤の効果を調べる。

5-2) 本研究の重要性

I) 世界初の微小重力下での骨芽細胞と破骨細胞の共存培養

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る、活性化した破骨細胞を用いた宇宙実験は実現していない。我々の提案実験で使用するウロコは、骨基質の存在下で破骨細胞と骨芽細胞との相互作用を生体内に近い状態で解析できる実験系である。

II) *in vitro* 培養の必要性

宇宙飛行士及びラットによる宇宙 *in vivo* 実験や、後ろ足を上げて微小重力に近い状態にしたラット（後肢懸垂ラット）等を用いた地上 *in vivo* 実験では、骨芽細胞は常に活性低下を示すが、破骨細胞については結果の一致を欠いており、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。

これまでの宇宙実験は、*in vivo* の実験なので、他の全身性因子の変化が大きく影響している可能性があり、直接的な作用を解析できていない。したがって、微小重力の骨組織細胞に対する直接的な作用を調べるためには、*in vitro* 培養系を用いる必要がある。

III) 骨形成を促す新規薬剤の効果

新規インドール化合物（ベンジルトリプロモメラトニン）（図 3）を合成し、その化合物の作用をウロコの系で解析した結果、破骨細胞の活性を下げ、骨芽細胞の活性を上げる物質を見出した¹⁰⁾（国内特許 4014052 及び国際特許も出願中）。さらに骨疾患モデル（卵巣摘出ラット及び低カルシウム食で飼育したラット）に対する新規プロモメラトニン誘導体の効果を解析した結果、骨強度及び骨密度が対照群と比較して有意に上昇することも確認できた¹¹⁾。宇宙実験では、この化合物のウロコに対する作用を解析して、骨疾患の治療薬としての効果を調べる。

5-3) 科学・技術進歩への貢献/社会・市場への貢献

I) 宇宙空間で進行する骨密度低下の原因究明、さらに骨の重力応答の機構解明にも貢献できる可能性がある。

ウロコには骨芽細胞と破骨細胞が共存し、さらに遠心機やバイブレーションによる加重

力に哺乳類の細胞よりも高感度で応答した。これまで、重力応答に関する研究は、複雑なヒトの骨を用いているため、重力応答に関する機構解明が困難な状態にある。したがって、非常にシンプルなウロコを用いれば、宇宙空間で進行する骨密度低下の原因究明、さらに骨の重力応答にも貢献できる可能性がある。

II) 新規インドール化合物は、宇宙空間における骨密度低下の防止及び骨粗鬆症等の骨疾患の治療薬として有望である。

若田宇宙飛行士が服用したビスフォスフォネイトは破骨細胞の活性を抑制する薬剤であり、骨粗鬆症の治療に効果を上げている。しかし、ヒトの顎の細胞が壊死するという副作用がある。これまでに骨芽細胞の活性を上昇させる化合物は発見されていないので、我々が開発した化合物が有望視されている。実際、骨疾患モデルラットにおいて、本化合物の骨強度及び骨密度に対する有効性を確認できている¹¹⁾。

2009 年、JST のシーズ発掘試験の助成を受け、急性毒性試験や変異原性試験を行い、毒性がないことを証明している。さらに骨折ラット（骨再生モデル）を用いた実験も予定しており、骨粗鬆症による大腿骨骨折の治療のための基礎データを取得し、「寝たきり高齢者」の骨折の治療に貢献できる可能性を模索したい。

5-4) 軌道上実験概要

宇宙実験の概要を図 4 に示す。麻酔をかけたキンギョから採取したウロコ（再生ウロコ）を宇宙用の培養容器と 96 穴マルチプレートに培地とともに封入し、冷蔵状態で米国 NASA ケネディ宇宙センターに輸送した。試料は冷蔵を保ったままスペースシャトルアトランティス STS-132 によって国際宇宙ステーション（ISS）に向けて 2010 年 5 月 14 日に打ち上げられ、5 月 16 日に ISS に到着、同日のうちに「きぼう」内の細胞培養装置にセットされた。このとき打ち上げ対照群は MELFI（軌道上冷凍冷蔵庫）の冷凍（-95℃）区画で凍結された。培養試料は細胞培養装置のマイクロ G 区及び同じく細胞培養装置内の軌道上人工重力発生器が作り出す 1G 区において、22℃で 86 時間培養された。5 月 20 日、野口宇宙飛行士により細胞培養装置から取り出された培養試料は、細胞活性測定用 96 穴マイクロプレート群は MELFI の冷凍（-95℃）区画で凍結され、形態観察用の試料は宇宙用に開発された固定前処理器具（PFK）を用いてリン酸緩衝液で洗浄した後、宇宙用の化学固定器具（CFK）により 4%パラフォルムアルデヒドで化学的に固定され、MELFI の冷蔵（2℃）区画で保管された。また、遺伝子解析用の容器群は RNeasy によって処理され、MELFI の冷凍区画で冷凍保管された。

全ての試料は処理後の保存状態を保ったまま打ち上げと同じスペースシャトルによって 5 月 26 日にケネディ宇宙センターに帰還した。そこで後処理を行い、日本に返送された。試料は 5 月 31 日に筑波宇宙センターに到着して、研究者のもとへ分配された。

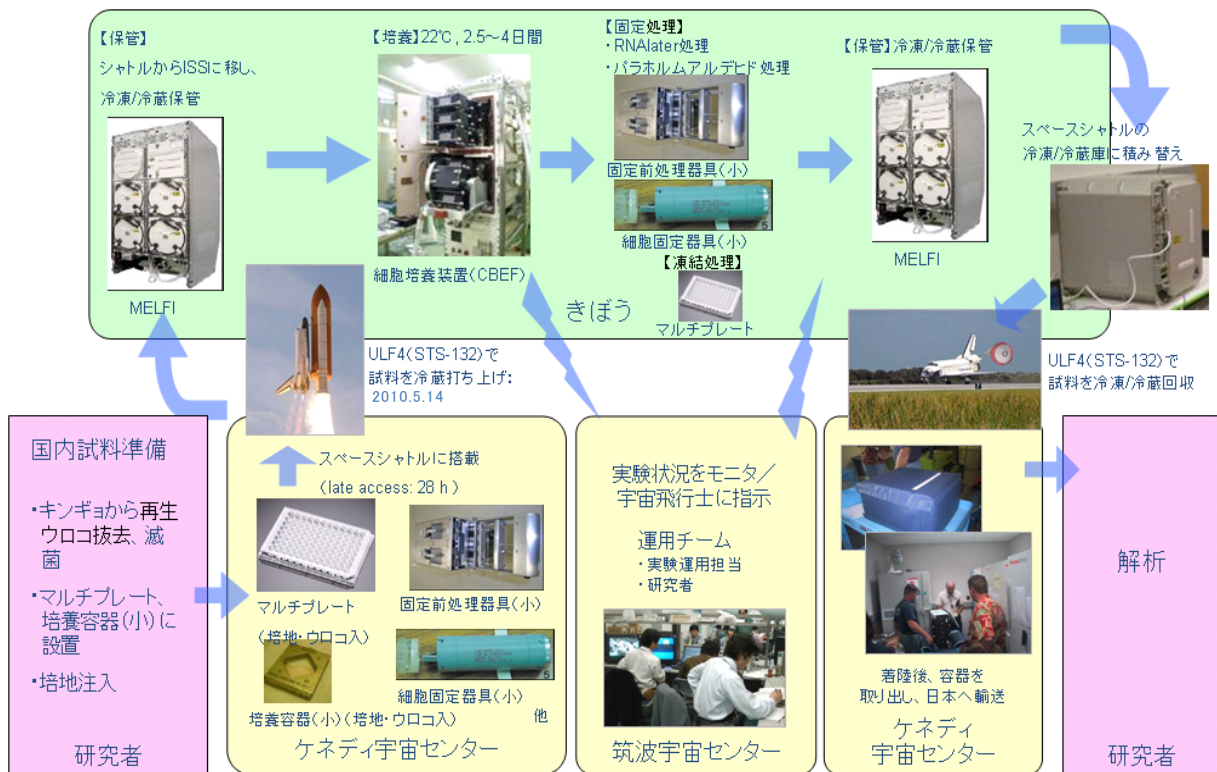


図4 宇宙実験の概要

6. あとがき

2010年5月に宇宙実験を実施することができ、かつ宇宙実験は全て予定通りに進行した。冷凍したウロコ、RNA later を入れて冷凍したウロコ、4%パラホルムアルデヒドで固定したウロコを用いて、現在解析中である。さらにウロコで発現している遺伝子を高速シーケンサーにより解析中であり、ウロコで発現している遺伝子を解析するオリジナルアレイを開発予定である。

一方、我々の研究チームでは、インドの回収衛星を用いた宇宙実験の準備も順調に進めている。詳細は、鈴木他 (2011)¹⁵⁾を参照していただきたい。今後、「きぼう」の国際宇宙ステーションで実施された宇宙実験のサンプルの解析をできるだけ早く行い、次回の宇宙実験の方針を立てていく予定である。

謝辞

宇宙実験を支援していただいた千代田アドバンスド・ソリューションズ(株)及び有人宇宙システム(株)の方々、魚類のウロコを用いた宇宙生物学的研究の研究チームの先生方、実験を手伝っていただいた金沢大学及び東京医科歯科大学の学生諸君にお礼申し上げます。

なお、本研究は(独)宇宙航空研究開発機構と共同し、(財)日本宇宙フォーラムの支援の元に実施したものである。

引用文献

1. Azuma, K., Kobayashi, M., Nakamura, M., Suzuki, N., Yashima, S., Iwamuro, S., Ikegame, M., Yamamoto, T. and Hattori, A.: Two osteoclastic markers expressed in multinucleate osteoclasts of goldfish scales. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 362: 594-600 (2007)
2. Suzuki, N., Suzuki, T. and Kurokawa, T.: Suppression of osteoclastic activities by calcitonin in the scales of goldfish (freshwater teleost) and nibbler (seawater teleost). *Peptides*, 21:115-124 (2000)
3. Suzuki, N. and Hattori, A.: Bisphenol A suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the cultured scales of goldfish. *Life Sci.*, 73: 2237-2247 (2003)
4. Yoshikubo, H., Suzuki, N., Takemura, K., Hosono, M., Yashima, S., Iwamuro, S., Takagi, Y., Tabata, M.J. and Hattori, A.: Osteoblastic activity and estrogenic response in the regenerating scale of goldfish, a good model of osteogenesis. *Life Sci.*, 76: 2699-2709 (2005)
5. 鈴木信雄 : 魚類のカルシトニンの特徴. *Clinical Calcium*, 15: 459-466 (2005)
6. Suzuki, N., Danks, J.A., Maruyama, Y., Ikegame, M., Sasayama, Y., Hattori, A., Nakamura, M., Tabata, M.J., Yamamoto, T., Furuya, R., Saijoh, K., Mishima, H., Srivastav, A.K., Furusawa, Y., Kondo, T., Tabuchi, Y., Takasaki, I., Chowdhury, V.S. Hayakawa, K. and Martin T.J.: Parathyroid hormone 1 (1-34) acts on the scales and involves calcium metabolism in goldfish. *Bone* (in press)
7. Suzuki, N., Yamamoto, M., Watanabe, K., Kambegawa, A. and Hattori, A.: Both mercury and cadmium directly influence calcium homeostasis resulting from the suppression of scale bone cells: the scale is a good model for the evaluation of heavy metals in bone metabolism. *J. Bone Miner. Metab.*, 22: 439-446 (2004)
8. Suzuki, N., Tabata, M.J., Kambegawa, A., Srivastav, A.K., Shimada, A., Takeda, H., Kobayashi, M., Wada, S., Katsumata, T. and Hattori, A.: Tributyltin inhibits osteoblastic activity and disrupts calcium metabolism through an increase in plasma calcium and calcitonin levels in teleosts. *Life Sci.*, 78: 2533-2541 (2006)
9. Suzuki, N. and Hattori, A.: Melatonin suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. *J. Pineal Res.*, 33: 253-258 (2002)
10. Suzuki, N., Somei, M., Kitamura, K., 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)
11. 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)
12. 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)
13. 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 on osteoblastic and osteoclastic activities: Analysis of bone metabolism using goldfish scale as a model for bone. *Adv. Space Res.*, 40:1711-1721 (2007)
14. 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*, 23: 211-217 (2009)
15. 鈴木信雄, 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, 田畑 純, 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, 土屋美和, 谷川直樹, 吉馴重徳, 大嶋一成, 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, 嶋津 徹, 矢野幸子, 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: ウロコ及び頭蓋骨に対する重力応答. *Space Utilization Res.* (印刷中)