

フグ生体内におけるフグ毒テトロドトキシンの動態に関する研究

長崎大学大学院生産科学研究科
池田 光 壺

フグ科の多くの海産フグは、強力な神経毒であるテトロドトキシン (tetrodotoxin; TTX) を保有する。この毒は元来、ある種の海洋細菌によって産生され、フグの他、ハゼ、タコ、巻貝、ヒトデ、ヒラムシ、ヒモムシ等多様な生物に分布する。さらに無毒の餌で人工飼育したフグは無毒となること、そのような無毒個体に TTX を経口投与すると毒化すること、などからフグは食物連鎖によって生物濃縮された TTX を有毒餌生物から摂取して毒化すると考えられる。しかしながら、フグ体内に取り込まれた後の TTX の吸収・代謝・蓄積・排出機構に関しては未だに不明の部分が多い。一方、天然フグの毒性には大きな雌雄差や季節変動があることから、毒の体内動態は生殖周期の影響を強く受けると考えられるが、これまでこのような観点からアプローチした研究例はほとんどない。そこで本研究では、無毒養殖トラフグの腹腔内または筋肉内に TTX を投与し、その後の短期的な毒の移行・蓄積様式を調べるとともに、有明海産天然コモンフグを対象として、皮、肝臓および生殖巣の毒性、ならびに血漿中の TTX 濃度と TTX の存在形態を周期的に調査し、TTX の体内動態に及ぼす生殖周期の影響について検討した。さらに無毒養殖トラフグを用いる雌性ホルモン投与実験を行い、雌特異的な生理作用の誘導が TTX の体内動態に及ぼす影響について若干の検討を加えた。

まず、養殖トラフグ 8 ヶ月齢魚を 2 区に分け、それぞれ精製 TTX (PTTX) およびナシフグ卵巣抽出液粗毒 (CTTX) を 300 MU/個体の用量で腹腔内投与した。その後、経時的に試験魚を取り上げ、マウス毒性試験により肝臓、筋肉、皮への毒の移行・蓄積状況を調べたところ、両区の間で顕著な相違がみられた。すなわち、PTTX 区では投与 1 時間後に既に 5.4 MU/g の毒が肝臓に移行していたが、CTTX 区では 4 時間後に初めて同組織への毒の移行 (8.2 MU/g) が確認された。さらに PTTX 区では、肝臓の毒量はその後漸減し、168 時間後 (試験終了時) には 2 MU/g 未満となったのに対し、CTTX 区では逆に増加して 15.4 MU/g に達した。皮については、PTTX 区で 24 時間後、CTTX 区では 72 時間後から低いレベル (2.2-2.6 MU/g) の毒の移行が認められた。一方、筋肉からは試験期間を通じて毒性は検出されなかった (第 I 章)。

次に、養殖トラフグ 4 ヶ月齢魚を 2 区に分け、それぞれ PTTX および CTTX を 50 MU/個体の用量で筋肉内投与後、ELISA により肝臓、筋肉、皮、血漿中の TTX 量を調べた。

その結果、両区ともに TTX は血液を介して速やかに筋肉から他の部位へ移行することがわかった。投与 4 時間後から 72 時間後にかけての毒の移行様式は、腹腔内投与試験同様 PTTX 区と CTTX 区で異なり、前者の場合、肝臓には TTX があまり保持されず、12 時間後以降は体内に残存した毒ほとんど (96%以上) が皮へ移行・蓄積したのに対し、後者の場合、24 時間後までは相当量の毒 (投与毒量の 15-23%) が一旦肝臓に移行・保持され、その後、体内に残存した毒の大部分 (89%) が皮に移行・蓄積した。各部位の毒量の総和は、両区ともに 1-4 時間後は投与した毒量の 60%前後で、8-12 時間後に一旦低下後、24-168 時間後には 60-80%程度となった (第 II 章)。

次いで、2006 年 10 月から 2007 年 12 月にかけて有明海産コモング雌 93 個体、雄 45 個体を採集し、マウス毒性試験で皮、肝臓、および生殖腺の毒性を、ELISA で血漿中の TTX 量を調べた。生殖腺体指数 (GSI) の変動から雌は 12 月から 3 月、雄は 11 月から 3 月を性成熟期、4 月を産卵直後、その他の月を通常期とみなし、毒性と生殖周期の関連について検討した。有明海産コモングの毒性は、産卵直後の 4 月に大きく低下したのを除き、一年を通して雌雄ともに非常に高く、精巣以外のいずれの部位も 1000 MU/g もしくは 10000 MU/個体を超えるものが多数みられた。部位別毒力の周年変化のパターンは、雌雄で大きく異なっていた。雌の場合、通常期は肝臓、性成熟期は卵巣の毒力が高く、皮の毒力も性成熟期に若干減少したのに対し、雄では、毒の体内分布に性成熟と関連した明瞭な変化は認められなかった。血漿中の総 TTX 量 (1.59-15.1 MU/ml) は雌雄同レベルで、周年的に大きく変動したが、3 部位の毒力の変動に呼応するものではなく、産卵直後の 4 月にも大きく低下しなかった。しかしながら、血漿 TTX 量に占める高分子物質に結合した TTX の割合 (結合率) をみると、通常期は比較的 low、かつ変動が大きいのにに対し、性成熟期には安定して高かった (第 III 章)。

最後に、無毒養殖トラフグに雌性ホルモン Estradiol-17 β (E2) を 0.35 mg/個体の用量で 2 日おきに 3 回投与し、雌特異的な生理作用の誘導を試みた。E2 投与後、試験魚の GSI および比肝重値 (HSI) を測定したところ、前者については対照区と差がなかったが、後者は E2 投与区の方が対照区よりも有意に高かった。次いで、これらの試験魚に PTTX を 35 MU/20 g (約 600 MU/個体) の用量で投与後、LC/MS 分析により毒の移行・蓄積様式を調べたところ、肝臓への移行毒量、ならびに血漿 TTX 濃度と結合率は E2 投与区と対照区で差がなかったが、卵巣への移行毒量については、E2 投与区のみ経時的に増加する傾向がみられた (第 IV 章)。

以上、本研究により、未成熟なフグでは生体内に導入された TTX は血液を介してまず肝臓に移行し、その後皮へ移行・蓄積すること、その際、純度の低い毒の方が肝臓に保持されやすいこと、成熟可能な雌の場合、性成熟期になると肝臓に蓄積した TTX の大部分が卵巣に移行・蓄積すること、などを示すことができた。