

健康危機管理のための抗毒素の開発・備蓄システムの開発に関する研究

分担研究報告書

抗毒素の効果と治療指針に関する研究

分担研究者 島崎修次 杏林大学 医学部 救急医学教室

研究要旨 わが国で、その開発・供給体制が未整備である毒蛇の咬傷等に対する抗毒素について、緊急時の健康危機管理の観点から、その開発および試験製造を行うとともに、高度救命救急センターにおける備蓄システムの開発を行うことを目的とした研究である。

今年度は、昨年度実施した抗毒素治療の対象となる咬傷等の症例数および抗毒素血清の使用に関する実態調査に引き続き、毒ヘビ咬傷等に関する診断・治療のためのパンフレットの作成、抗毒素血清の管理体制の整備計画を行った。

A. 毒ヘビ咬傷等に関する診断・治療のためのパンフレットの作成

マムシ抗毒素血清を例にとり、その使用率を見てみると各施設間で大きく異なっている。星野ら⁽¹⁾の集計によれば、血清の使用率は平均58%であるが、報告者により6%から86%と大きくばらついている。血清を使用しない理由としては、

1. 重症化する症例は極めてまれ（死亡率0.1%⁽²⁾）であるという認識があること。
2. 血清病（8%⁽¹⁾ - 20%⁽³⁾）をはじめ、副作用の出現率が高いこと。
3. 皮内反応が必要で、かつその陽性率が高い（41%⁽¹⁾）こと。
4. 高価であること。
5. 有効使用には時間的制約があり、時間内に入手することが困難であること。

が上位をしめる。

一方で、マムシ血清を使用せず、セファ

ランチンのみで十分とする立場をとる治療者もあるが、セファランチンは *in vivo*、*in vitro* いずれにおいてもマムシ毒素を中和しないことが証明されており、マムシ抗毒素血清が中和作用を有する唯一の薬剤である。牧野ら⁽⁴⁾は血清使用例が非使用例に比較し有意に全身症状の出現率が低く、治療日数も短いことを報告している。星野ら⁽¹⁾も血清の使用が死亡例をなくし、治療成績の向上に寄与していると結論している。都築ら⁽⁵⁾は軽症例にはセファランチン単独でよいが重症例に対しては血清を使用すべきとしている。

診断・治療のためのパンフレットによって、ある程度公的な性格をもった指針が提示されることにより、医療側のみならず患者側に抗毒素血清を使った治療の正当性を提示することが可能となり、治療の一般化が図れるものと期待される。パンフレットは以下の項目から構成される。

①ヘビの生息分布と同定

a. ヘビの特徴および写真

b. 咬痕の特徴

- ②ヘビ毒の生化学・薬理学
- ③臨床症状
- ④応急処置
- ⑤特異的治療法
- ⑥抗毒素血清の入手法

B. 抗毒素血清の管理体制の整備

緊急時の健康危機管理の観点から緊急に整備すべき抗毒素として、マムシ、ハブ、ヤマカガシ、タイコブラ、台湾ハブ、タンビマムシ、海ヘビ、ハブクラゲ、オコゼ、セアカゴケグモの11種を掲げた。以下、これらを承認済抗毒素と未承認抗毒素に分けて、その特徴を述べる。

1. 承認済抗毒素——マムシ、ハブ

運用：薬事法（日本薬局方）に準拠

製造：財団法人 化学及血清療法研究所

管理：現在既に1.2次医療圏の基幹病院ではほぼ常備されている。

問題点：・出血毒および溶血毒の中和作用に疑問がある。

- ・過敏症試験（皮内試験法・点眼試験法）の陽性率が高い。
（40%程度の報告）
- ・血清病の発生率は8~20%。

2. 未承認抗毒素——ヤマカガシ、タイコブラ、台湾ハブ、タンビマムシ、海ヘビ、ハブクラゲ、オコゼ、セアカゴケグモ

運用：薬事法に基づかない。あくまで使用医師の責任において使用する。

製造：ヤマカガシを除き、海外で製造されたもの。

管理：需要のある（拡大）3次医療圏単位で保管する。

問題点：・有用性が科学的に証明されていない。

- ・安全性が確認されていない。
- ・使用する医師を保護する法的措置がない。
- ・研究班終了後の継続的な供給体制がない。

C. 未承認抗毒素の配備計画

未承認の抗毒素の具体的配備に際しては、以下の項目を基本原則とする。

1. 症例のある（有毒生物の生息する）地域に配備する。

- ① ヤマカガシ : 東北、関東、東海、中部・北陸、関西、中国・四国、九州
- ② タイコブラ : 沖縄
- ③ 台湾ハブ : 沖縄
- ④ タンビマムシ : 沖縄
- ⑤ 海ヘビ : 九州、沖縄
- ⑥ ハブクラゲ : 九州、沖縄
- ⑦ オコゼ : 九州、沖縄
- ⑧ セアカゴケグモ : 関西、中国・四国

2. 救命救急センターに配備する。

救命救急センターは、もっぱら搬送される重症患者の要に供するために定める病床を有し、重症患者の医療を行うために必要な高度の診療機能を有するもので、かつ24時間診療

体制を確保するために必要な人員を配置するものと定義された施設である。本研究が対象とする毒素は全身に広がった場合重症

化し、急性腎不全のほか、呼吸不全、DIC、多臓器不全など全身的な重篤な合併症に発展することが少なくなく、上記のような機能をもつ救命救急センターと連携した集中治療管理が必要である。

3. 全国を8ブロックに分割して、その地域の救命救急センターおよび基幹病院等を統括するセンター（高度救命救急センター等）を中心とした組織化を図る。

特に高度救命救急センターは従来の救命救急センターの機能に加え、広範囲熱傷、指肢切断、急性中毒などの特殊疾患患者を専門的に治療するもので、地域の各医療施設、消防庁救急指令センターからの収容依頼に対応しているもので、ここに、ヘビ毒等に関する診断・治療の情報を集約し、これを広く医療施設に広報せしめ、特に重症化した症例に対してはその治療の拠点とするのは、適切かつ必要なことと思われる。

8ブロックと、それぞれの統括センターは以下のごとく設定する。

- 1) 東北 : 岩手医科大学
- 2) 関東 : 杏林大学
- 3) 東海 : 藤田保健衛生大学
- 4) 中部・北陸 : 長野赤十字病院
- 5) 関西 : 関西医科大学
- 6) 中国・四国 : 川崎医科大学
- 7) 九州 : 久留米大学
- 8) 沖縄 : 沖縄県立中部病院

D. 抗毒素の備蓄・配備・管理における問題点

①抗毒素血清の使用には時間的制約があるため、備蓄場所から使用場所への搬送システムを確立する必要がある。

②救命センターおよび高度救命救急センター間での情報交換ネットワークがなく、これを整備する必要がある。

③未承認抗毒素を保管し、これを他の医療機関に提供する上での法的整備がなされていない。

④未承認抗毒素を使用する医師を保護する法的整備がなされていない。

⑤本研究班終了後の継続的な供給体制がない。

特に③④については、有用性、安全性に関する確認が不十分なまま未承認の抗毒素の備蓄・配備を行い、その運用に伴う責任をすべて使用者となる現場の医療者に委ねることは、抗毒素使用の適正使用を妨げる可能性があり、抗毒素の安全性の確認作業と周辺法制の早期整備が望まれる。

E. 未承認抗毒素血清の使用要領

1. 使用同意書（インフォームド・コンセント）の作成

(付記) 抗毒素血清使用のための同意書とチェックリスト

以下、チェックリストに従い抗毒素血清使用についての説明文書を良く読み、その意義、注意点等について確認して下さい。

=チェック欄

抗毒素血清使用の意義

へび毒は人体に有害な作用を持つ複数のタンパクや酵素が混合したものであり、抗毒素血清はこれらの毒性因子を中和するはたらきを持っています。抗毒素血清を投与することによってへび毒が完全に無毒化されるわけではありませんが、抗毒素血清療法は毒へび咬傷に対する唯一の有効な治療法です。

一方、あなたが被害を受けた生物による咬傷はわが国では発生頻度が低いため、抗毒素血清が国内では製造されておらず、海外から輸入されたものしかありません。これらは厳しい安全基準の下で製造されたものですが、わが国の法律では治療薬として認められていません。また、免疫された人間以外の動物の血液成分を原料としているため、血清病などの副作用が10～15%程度発生する可能性があります。

以上の抗毒素血清を使用する利益と不利益を理解し、次に進んで下さい。

使用に当たっての注意点

抗毒素の効果をあげるためには、咬傷後できるだけ早い使用が推奨されています。1～2時間以内の投与が最も望ましいが、3時間以内に投与すれば全身症状の出現率が低く抑えらるとされています。咬傷後24時間以内が一応投与の限界です。また、抗血清療法のみならず、引き続き外科的処置・内科的対症療法に努めて下さい。

妊娠の可能性のある場合

妊娠初期の胎児に対する安全性は確立されておりません。妊婦の場合、担当医師と抗毒素血清の使用について相談して下さい。

使用される抗毒素血清の副作用

即時型：全身の蕁麻疹、呼吸困難、動悸、血圧低下、ショックなどが注射直後に起こることがありますが、頻度は極めて稀です。

遅延型：投与後3-7日後に発熱、関節痛、皮疹、リンパ節腫脹などが出現することがあります。(30%前後)

チェックリストに従い抗毒素血清についての説明文書を読みました。
抗毒素血清の必要性と同時に副作用を十分理解した上で、その使用を希望します。

：はい

：いいえ

平成 年 月 日

名前：

F. 参考文献

1. 星野和義他：マムシ咬傷 46 例の検討。日臨外会誌 59:1754-1759, 1998.
2. 館野功他：マムシ咬傷。日医新報 2095:12-21, 1964.
3. 真栄城優夫：毒蛇咬傷。救急医 3:1378-1383, 1979.
4. 牧野正人：マムシ咬傷 114 例の検討。日臨外会誌 49:1923-1928, 1988.
5. 都築靖他：マムシ咬傷の治療経験からの考察。外科 43:1024-1027, 1981.

19990043

p. 84～86は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
下記をご参照ください。

スポーツ現場における救急・応急処置のポイント

山口芳裕，島崎修次

臨床スポーツ医学. 第15巻，臨時増刊号，1998

厚生科学研究費補助金（厚生科学特別研究事業）
分担研究報告書
国内で抗毒素が製造されていない毒性生物への対応（2）
ー沖縄県の場合ー

分担研究者 沖縄県衛生環境研究所 金城喜榮、野崎真敏

研究要旨

本研究班が抗毒素の備蓄システムの開発のために外国から輸入した抗毒素を治療に使用する時の参考にするために、沖縄県や鹿児島県の奄美地方で患者の治療に使用されている抗はぶウマ抗毒素の副反応の発生状況を調査した。また輸入された抗毒素が沖縄県に分布する当該生物毒を良好に中和するかどうかを調べた。

(1)ヘテロ抗毒素の接種による副反応の発生状況を調査するために、過去8年間に抗はぶウマ抗毒素が使用された615人について調査したが、アナフィラキシーショックなどの重篤な副反応は認められなかった。

(2)本研究班が輸入したコブラ抗毒素（タイ赤十字研究所）とタイワンハブ抗毒素（台湾国立医学研究所）は、沖縄県で捕獲されたそれぞれの蛇毒を良好に中和した。またクラゲ抗毒素（オーストラリア CSL 社）も沖縄の海浜に出没するハブクラゲの毒を良好に中和した。

(3)本研究班が輸入し沖縄県に配分される5種類の抗毒素（コブラ・タイワンハブ・クラゲ・オコゼ・ウミヘビ）については沖縄県衛生環境研究所（金城喜榮所長：本研究班分担研究員）でまとめて保管し、医療機関からの要請に基づいて緊急輸送する予定である。

A. 研究目的

亜熱帯に位置する沖縄県には他県とは異なる陸棲・海棲の毒性生物が多種生息し、これらによる刺咬傷事故が毎年多数発生する。陸棲のハブの仲間については治療用の抗毒素が県内各地の病院や診療所に配備され万全の体制が取られているが、海棲のハブクラゲやオニダルマオコゼ、ウミヘビ、また外国から移入し沖縄県に定着した可能性があるコブラ、タイワンハブについては抗毒素が日本国内で製造されてなく、その対応に苦慮している。本研究班では、健康危機管理のための抗毒素の開発・備蓄システムの開発を目的に情報収集や疫学調査、外国から輸入された抗毒素の品質管理、入手が困難な抗毒素の試験製造などを行っているが、ここでは本研究班が外国から購入した抗毒素が、沖縄県に棲息する当

該生物刺咬傷患者の治療に効果を発揮するかどうかを調べた。また抗毒素の管理と使用する時の手続きの方法について関係機関と調整した。

B. 材料と方法

1. 蛇毒

- (1)ハブ毒：中和実験には沖縄本島で捕獲されたハブ (*Trimeresurus flavoviridis*) から採毒し凍結乾燥したものを使用した。
- (2)サキシマハブ毒：沖縄本島南部の糸満市で捕獲されたサキシマハブ (*Trimeresurus elegans*) から採毒し凍結乾燥したものを使用した。
- (3)ハブ・サキシマハブ中間種毒：沖縄本島北部の名護市で捕獲されたハブ・サキシマハブ中間種から採毒し凍結乾燥したものを

使用した。

- (4) タイワンハブ毒：沖縄本島北部の名護市で捕獲されたタイワンハブ (*Trimeresurus mucrosquamatus*) から採毒し凍結乾燥したものを使用した。
- (5) タイコブラ毒：マレーシアから輸入されたタイコブラ (*Naja kaouthia*) から沖縄県衛生環境研究所 (大里村) で採毒し凍結乾燥したものと、対照として日本蛇族学術研究所 (群馬県) から分与された乾燥タイコブラ毒を使用した。
- (6) 日本マムシ毒：日本蛇族学術研究所から分与された乾燥マムシ (*Agkistrodon blomhoffii*) 毒を使用した。

2. 海洋生物毒

- (1) ハブクラゲ毒：新鮮なうちにハブクラゲ (*Chiropsalmus quadrigatus*) の触手をハサミで切り取り、生食に浸して冷蔵庫の中で1日放置し自己消化させた。自己消化によって触手から外れた刺胞はメッシュフィルター (200 μ m) でフルイ分けし、擦り合わせのガラスホモジナイザーで磨り潰して毒液を生食に溶出した。
- (2) ウンパチイソギンチャク (*Phyllo-discus semoni*) 毒：体表面に付いている直径1~2mmの刺胞球をピンセットで拾い集め、擦り合わせのガラスホモジナイザーで磨り潰して毒液を生食に溶出した。
- (3) オニダルマオコゼ毒：オニダルマオコゼ (*Synanceia verrucosa*) は背鰭の毒棘の奥に毒入った袋を持っている。毒棘を破っている皮を丁寧に剥ぎ取り、毒液が入った袋を露出させて注射器で毒液を採集した。大型のオニダルマオコゼ1尾から乳白色の毒液が0.7~0.8ml採集された。
- (4) ウミヘビ毒：エラブウミヘビ (*Laticauda semifasciata*)、クロガシラウミヘビ (*Hydrophis melanocephalus*)、クロボシウミヘビ (*Hydrophis ornatus*) の頭部を切開して毒腺を摘出し、毒液を生食に溶出した。

3. 抗毒素

- (1) コブラ抗毒素：タイ赤十字研究所で製造された乾燥抗コブラウマ抗毒素 (10ml/vial) を使用した。
- (2) タイワンハブ抗毒素：台湾国立予防医学研究所で製造された乾燥抗タイワンハブウマ抗毒素 (20ml/vial) を使用した。
- (3) クラゲ抗毒素：ハブクラゲの近縁種であるキロネックスクラゲ (*Chironex fleckeri*) 毒でヒツジを免疫して製造された、オーストラリア CSL 社製の液状抗クラゲヒツジ抗毒素 (2ml/vial) を使用した。

4. 出血活性の測定

M/60, pH=7.0 磷酸緩衝液 (PBS) で3倍間隔に希釈した毒素液 0.2ml を脱毛したウサギ (体重約 3kg) の背皮皮内に注射、24時間後に屠殺して皮膚を剥離し、皮膚の裏側から出血斑の大きさを測定した。MHD 値は近藤の方法で計算した。

1MHD (Minimum Hemorrhagic Dose) 最小出血量とは、ウサギの皮内に直径 10mm の出血斑を作る毒素の量である。

5. 致死活性の測定

M/60, pH=7.0 PBS で1.5倍間隔に希釈した毒液 0.1ml をマウス (ICR, 4週令) の尾静脈に注射して、24時間後の生死を観察した。マウスは1群4匹を使用し、LD₅₀ は Reed & Muench 法で計算した。

6. 抗致死作用の測定

M/60, pH=7.0 PBS で1.5倍間隔に希釈した毒液と抗毒素液を混合、室温で1時間中和させた後、混合液 0.2ml をマウスの尾静脈に注射して24時間後の生死を観察した。LD₅₀ の計算は致死活性の測定と同様とした。

7. 毒素の精製

ウォーターズ全自動セミ分取システム (302システム構成) で高速液クロ (HPLC) を行った。分離用カラムはゲル濾過用の Protein pak

表1-1 ハブ抗毒素の使用状況(ハブ咬症)

抗毒素(ml)	0	10	20	30	40	50	60	80	100	120	不明	計	%
平成4年	33	1	42	0	7	0	2	0	0	0	1	86	60.5
5年	26	0	55	1	17	2	0	0	1	0	0	102	74.5
6年	37	2	43	1	7	0	5	2	1	0	0	98	62.2
7年	37	0	58	0	10	0	9	1	2	1	3	121	66.9
8年	33	0	52	0	10	0	5	0	4	0	0	104	68.3
9年	16	0	54	0	20	0	6	1	2	1	0	100	84.0
10年	28	2	41	1	11	0	3	1	3	0	4	94	66.0
11年	24	0	33	0	9	0	4	2	1	0	2	75	65.3
計	234	5	378	3	91	2	34	7	14	2	10	780	68.7
%	30.0	0.6	48.5	0.4	11.7	0.2	4.4	0.9	1.8	0.2	1.3		

表1-2 抗毒素の使用状況(サキシマハブ咬症)

抗毒素(ml)	サキシマハブ咬症							計	%
	0	10	20	40	80	不明			
平成4年	34	1	1	0	1	0	37	8.1	
5年	39	0	1	0	0	0	40	2.5	
6年	41	1	2	0	0	0	44	6.8	
7年	38	0	3	0	0	1	42	7.1	
8年	24	0	1	0	0	0	25	4.0	
9年	21	0	2	0	0	0	23	8.7	
10年	20	0	7	1	0	0	28	28.6	
11年	17	0	1	3	0	6	27	14.8	
計	234	2	18	4	1	7	266	9.4	
%	87.9	0.7	6.7	1.4	0.7	2.6			

表1-3 抗毒素の使用状況(ヒメハブ咬症)

抗毒素(ml)	ヒメハブ咬症						計	%
	0	20	40	60	80	不明		
平成4年	16	12	0	0	0	0	28	42.9
5年	12	4	1	0	0	0	17	29.4
6年	8	6	1	0	0	0	15	46.7
7年	8	6	0	1	0	0	15	46.7
8年	3	4	1	0	0	0	8	62.5
9年	2	6	0	3	1	0	12	83.3
10年	12	6	0	0	0	0	18	33.3
11年	4	2	0	0	0	2	8	25.0
計	65	46	3	4	1	2	121	44.6
%	53.7	38.0	2.5	3.3	0.8	1.7		

G-2000 SW 7.8 × 300mm × 2 (TSK gel) を使用した。

C. 結果と考察 (表 1-1, 1-2, 1-3)

1. 抗はぶウマ抗毒素の使用状況

外国から輸入されたコブラ・タイワンハブ・タンビマムシ・クラゲ・オコゼ・ウミヘビ抗毒素や危機管理のための備蓄用として製造中のヤマカガシ抗毒素など、我が国では医薬品として認可されていない抗毒素を使用する時の参考にするために、沖縄県における過去 8 年間 (平成 4~11 年) の抗はぶウマ抗毒素の使用状況と副反応の発生状況について調べた。

最も毒性が強いハブ咬症患者の治療では、780 人中 536 人 (68.7%) に抗毒素が使用されていた。抗毒素の使用量は 1 本 (20ml) が 48.5% と最も多く、続いて 2 本 (40ml) が 11.7%、3 本 (60ml) が 4.4% の順で、5 本 (100ml) 以上使用された例も 16 件 (2.1%) あった。

サキシマハブ咬症患者の治療では、266 人中 25 人 (9.4%) に抗毒素が使用されていた。平成 10,11 年に抗毒素使用の割合が増えたのは、離島の診療所に抗毒素が常時備蓄するようになり使用しやすくなったからである。サキシマハブ咬症患者の治療に抗毒素を使用するのは離島や僻地の診療所が主で、ハブに比べて小型で毒性も弱いサキシマハブ咬症には、治療経験が豊富な県立八重山病院では殆ど使用していない。

ヒメハブ咬症患者の治療では、121 人中 54

人 (44.6%) に抗毒素が投与されていた。ヒメハブは成蛇でも約 40cm とサキシマハブより更に小さく、毒性も弱いので抗毒素は使用しなくても良いと考えられているが、ハブと同じ地域に分布し、また受傷直後は咬まれた蛇の種類が特定できない場合も多いので抗毒素が使用されたものと思われる。沖縄県ではほぼすべての医療機関にはぶ抗毒素が配備されており、ハブ咬症患者の治療においては特に軽症な人を除き抗毒素が使用されている。

マムシ咬症の治療では、異種蛋白の接種による副反応の発生を懸念して抗毒素を使用しないケースが多いようであるが、厚生省の人口動態調査では毒蛇咬症によって毎年 10 人前後の死亡者が発生しているようであり、マムシ咬症の治療においても症状が中等度以上の患者には抗毒素を積極的に活用するよう広報を強化する必要がある。

抗はぶウマ抗毒素による副反応の調査は平成 4 年から 11 年までの 8 年間で抗毒素が使用された 615 人を対象に行ったが、アナフィラキシーショックなどの重篤な副反応の発生は見当たらなかった。しかし、発赤や蕁麻疹などの軽い血清病は約 10% に見られた。

2. 外来蛇毒の毒活性と輸入抗毒素の中和効果

(1) 外来蛇の毒活性 (表 2)

外来蛇毒の半数致死量 (LD₅₀) と最小出血量 (MHD) を表 2 に示す。致死活性は日本蛇族

表 2. 沖縄県で捕獲された蛇の毒素の LD₅₀

種 類	LD ₅₀ (μg)	比活性	1MHD (μg)	比活性
ハブ	35.0(31.8~38.5)	1.00	0.56(0.45~0.67)	1.00
サキシマハブ	48.0(45.9~50.2)	0.73	1.80(1.53~2.07)	0.32
中間種・1	19.0(17.6~20.5)	1.84	0.56(0.48~0.64)	1.00
中間種・2	21.0(19.1~23.1)	1.67	0.51(0.41~0.61)	1.10
タイワンハブ	30.0(36.8~33.6)	1.17	0.56(0.45~0.67)	1.00
タイコブラ(沖縄で採毒)	8.7(7.9~9.5)	4.02	nd	
タイコブラ(乾燥)	2.1(1.8~2.4)	16.67		
日本マムシ(乾燥)	29.7(27.0~32.4)	1.18		

(LD₅₀ : μg/20g マウス静注)

学術研究所から分与されたタイコブラ毒（乾燥）がハブの 16.67 倍と最も強く、続いて玉泉洞文化村（沖縄県玉城村）で採毒したタイコブラ毒の 4.02 倍、ハブ・サキシマハブの中間種の 1.84 倍と 1.67 倍、日本マムシの 1.18 倍、台湾ハブの 1.17 倍、サキシマハブの 0.73 倍の順だった。台湾ハブの致死活性はハブと同程度だったが、ハブ・サキシマハブの中間種はハブの 1.7~1.8 倍と交雑によって致死活性はハブよりかなり強くなっていった。

出血活性は台湾ハブとハブ・サキシマハブの中間種がハブと同程度で、サキシマハブはハブの 0.32 倍とかなり弱かった。

(2) 輸入抗毒素の中和効果（表 3）

中和実験には、本研究班がタイ赤十字研究所から購入した乾燥コブラ抗毒素と台湾国立予防医学研究所から購入した台湾ハブ抗毒素を使用した。

中和実験は毒素と抗毒素を試験管内で中和させた後マウスの尾静脈に注射する *in vitro* 法で行ったが、コブラ抗毒素 1 バイアル (10ml) はタイコブラ毒 12.5mg を中和し、沖縄で捕獲されたコブラの毒を良好に中和することが確認された。コブラが 1 回の咬症でどの程度の毒液を注入するかは明らかでないが、ハブと同程度の 15~20mg とすると治療では効率が悪い *in vitro* の中和になるので、少なくとも 2~3 本は使用した方が良いように思われる。ハブ研究室で研修を受けていたタイ赤十字研究所の研究者も「コブラに咬まれた場合タイでは患者 1 人当たり 3~5 バイアルを

使用する」とのことだった。

台湾ハブ抗毒素 1 バイアル (20ml) の中和量は同種の台湾ハブ毒が 26.6mg (887LD₅₀)、異種のハブ毒が 160.0mg (4,571LD₅₀) で、同種の台湾ハブ毒よりむしろ異種のハブ毒の方を約 6 倍も多く中和した。一方ハブ抗毒素 1 バイアルは異種の台湾ハブ毒を 60.0mg (2,000LD₅₀) 中和し、同種の台湾ハブ抗毒素より 2.5 倍も多く台湾ハブ毒を中和した。

ハブ属の場合致死活性は複数の毒性因子の総合作用で、致死活性の中和終末点は抗体量が少ない因子によって決定される。ハブ毒の主要な毒性因子を Toxin-1, Toxin-2 とすると、粗毒免疫では Toxin-1 に比べて Toxin-2 に対する抗体が産生され難く中和終末点は Toxin-2 によって決定されると考えられるが、台湾ハブ毒免疫ではハブ毒免疫では産生されにくい Toxin-2 に対応する抗体が良好に産生され、ハブ抗毒素では逆に台湾ハブ毒の組成に適合するような抗体の構成比になっているのかも知れない。ハブ抗毒素はハブ・サキシマハブの中間種の毒にも中和作用を示したが、中和量は同種の約 3 分の 1 だった。

ハブ、台湾ハブ、ハブ・サキシマハブの中間種などハブ属の毒蛇に咬まれた場合、受症部位の症状だけでどの蛇に咬まれたかを見分けることはできないが、ハブ抗毒素は台湾ハブやサキシマハブ、ハブとサキシマハブの中間種のいずれの毒に対しても中和作用を示すので、コブラ以外であればどの蛇に咬まれていてもハブ抗毒素で治療を行うよう指導している。

表3. 各抗毒素の中和効果

抗毒素の種類	1バイアルが中和する毒量					
	台湾ハブ毒		ハブ毒		コブラ毒	
	mg	LD 50	mg	LD 50	mg	LD 50
台湾ハブ抗毒素 (20ml)	26.6	887	160.0	4,571		
ハブ抗毒素 (20ml)	60.0	2,000	54.0	1,543	nd	
コブラ抗毒素 (10ml)					12.5	1,437

3. 海洋生物刺咬症の発生状況 (表4)

平成 10,11 年の海洋生物刺咬症事故の発生状況を表4に示す。

平成 11 年の発生件数は 374 件で前年より大幅に増えているが、市町村・警察・海水浴場など関係機関を網羅した事故防止対策のための組織ができ情報量が増えたからで、昨年より特に事故が多く発生したわけではない。昨年に続き平成 11 年もクラゲの仲間による刺傷事故が 251 件 (ハブクラゲ 166、カツオノエボシ 6、クラゲ類 79) と最も多く、続いてオコゼ 11 件、オニヒトデ 7 件、イソギンチャク類 6 件の順だった。症状は全体的に軽く、刺傷者の約 90 %は軽症で死亡例や重症例はなかった。

4. 海洋生物の毒

(1) 致死活性の比較 (表5)

マウス尾静脈注射法で海洋生物毒の致死活

性を測定した。マウス(約 20g)1 匹当りの LD₅₀ を表5に示す。

ハブ毒の LD₅₀(35 μg)を 1.00 とすると、ハブクラゲが約 7 倍、ウンパチイソギンチャクが約 9 倍、オニダルマオコゼが約 7 倍、エラブウミヘビが約 17.5 倍、ヒロオウミヘビが約 29 倍で、致死活性は循環系に作用するハブ毒よりも神経伝達系に作用する海洋生物毒の方が遥かに強かった。

(2) 抗毒素の中和効果 (表5)

本研究班では、オーストラリア CSL 社からクラゲ・オコゼ・ウミヘビの抗毒素を購入する手続きを進めているが、ここでは沖縄県が購入しすでに医療の現場に配布されているクラゲ抗毒素 (*Chironex fleckeri* 毒で免疫) が近縁種のハブクラゲ (*Chiropsalmus quadrigatus*) 毒にどの程度の中和効果があるかを調べた。

中和実験は *in vitro* で行ったが、CSL 社製

表4. 海洋生物刺咬症の発生状況

加害生物	平成10年		平成11年	
	発生数	%	発生数	%
腔腸動物	173	72.4	257	68.7
ハブクラゲ	126		166	
カツオノエボシ	7		6	
クラゲ類	33		79	
イソギンチャク類	4		6	
その他	3		0	
刺皮動物	8	3.3	17	4.5
オニヒトデ	2		7	
ガンガゼ	1		5	
ウニ	5		5	
魚類	17	7.1	15	4.0
オコゼ	10		11	
ゴンズイ	2		4	
その他	5		0	
その他	3	1.3	18	4.8
不明	38	15.9	67	17.9
	239	100.0	374	100.0

表5. 毒力の比較

	LD ₅₀	比活性	抗毒素1本が中和する毒量
ハブ	35.0	1.00	53.9mg(1,540LD ₅₀)/20ml
ハブクラゲ	5.1	6.86	52.4mg(10,275LD ₅₀)/2ml
ウンパチイソギンチャク	3.9	8.97	
オニダルマオコゼ	4.9	7.14	購入手続中
エラブウミヘビ	2.0	17.50	購入手続中
ヒロオウミヘビ	1.2	29.17	購入手続中

マウス(約20g:IRC)当たりのLD₅₀ (静注)

の抗毒素 1 バイアル(2ml)はハブクラゲ毒 52.4mg(10,275LD₅₀)を中和し、近縁種のハブクラゲ毒も良好に中和することが確認された。

オーストラリアの専門医によれば、重症の時には事故現場で救急隊員が抗毒素 3 本を筋注し、症状の好転が認められなければ病院に搬送された後に抗毒素 3 本が静注で追加されるとのことだった。しかし日本では医師の立会いなしで抗毒素を使用することは認められてなく事故の現場で抗毒素を使用するのは困難で、心筋のカルシウムチャンネルに直接作用して相手を死に至らしめるクラゲの毒に、病院に搬送された後の抗毒素の投与で対応できるかどうかを疑問視する医師も少なくない。クラゲ抗毒素はクラゲ毒の膜透過性亢進作用や細胞変性作用にも効果のあることが確認されており、刺された直後に起こる呼吸停止に対しては人口呼吸法で対応することとし、抗毒素は疼痛の緩和、刺傷部位周辺の皮膚や筋壊死の防止、後遺症の予防など局所症状の軽減を目的に使用した方がよいと思う。

オコゼとウミヘビの抗毒素については、手に入り次第沖縄近海に生息する近縁の生物毒に効果があるかどうかを調査するために試験用の毒素の採集を進めている。

(3) 1 尾が持つ毒量 (表 6)

抗毒素を使用する時の参考にするためにオニダルマオコゼとウミヘビの仲間 1 尾が持つ毒の強さを調べた。

オニダルマオコゼの毒液を生食で希釈してマウスの尾静脈に注射したところ強い致死作用を示し、2,000 倍希釈液 0.1ml の接種でマ

ウス(約 20g: ICR)が死亡した。これを 1 尾が持っている毒量(0.7~0.8ml)に換算するとオニダルマオコゼ 1 尾はマウス 15,000~16,000 匹を殺す計算になる。大型のハブ 1 匹が殺すマウスの匹数は 6,000~7,000 匹なので、オニダルマオコゼ 1 尾が持つ致死活性の量はハブの約 2.5 倍に当る。一方今回実験に使用したウミヘビの仲間では、エラブウミヘビは大型で毒腺も大きくマウス 10,000~12,000 匹を殺す量の毒液を持っていたが、クロガシラウミヘビとクロボシウミヘビは小型で毒腺が小さく、マウス 400~500 匹を殺す程度の毒液しか持っていなかった。

(4) 毒素のゲル濾過

ハブクラゲ、ウンバチイソギンチャク、オニダルマオコゼの毒素を分子量の差で分離するゲル濾過法で HPLC を行い、主要な毒性因子の分子量を比較した。

それぞれの fraction の溶血活性と致死活性を測定したところ、ハブクラゲの致死活性は分子量 43,000 の Ovalbumin より大き目の位置に、溶血活性は分子量 43,000 の Ovalbumin と 13,700 の Ribonuclease A の間の位置に溶出された。ウンバチイソギンチャクの主要な毒性因子はハブクラゲよりやや小さく、致死活性は 43,000 の Ovalbumin と 13,700 の Ribonuclease A の間の位置に、溶血活性は 13,700 の Ribonuclease A よりやや大き目の位置に溶出された。オニダルマオコゼは致死活性だけを測定したが、分子量 43,000 の Ovalbumin とほぼ同じ位置に強い致死作用を認めた。

表6. 1匹が持つ毒量

種 類	1匹が殺し得るマウスの匹数	体長	体重
ハブ	6,000~7,000	150cm	450g
オニダルマオコゼ	15,000~16,000	25cm	
エラブウミヘビ	10,000~12,000	115cm	800g
クロガシラウミヘビ	400~500	60cm	55g
クロボシウミヘビ	400~500	55cm	50g

マウス(約20g:IRC)に静注

(5) 毒の性質(表 7)

a. クラゲ毒

ハブクラゲの近縁種であるオーストラリアのキロネックスクラゲの刺胞毒はカルシウムチャンネルに作用する神経毒で、心筋とカルシウムの結合を促進し、二次的にナトリウムイオンを増加させるといわれている。キロネックスクラゲの刺胞毒からは筋肉の拘縮作用を示す分子量 600,000 と 150,000 の致死毒、分子量 70,000 の溶血毒が単離されている。

ゲル濾過用のカラムを使用した HPLC で、ハブクラゲの刺胞毒に分子量 50,000~60,000 の致死毒と 20,000~30,000 の溶血毒の存在することを認めたが、一般にクラゲ毒の分子量は大きく非常に不安定といわれているので、刺胞から毒を溶出する時や精製の過程で分解したかも知れない。

b. イソギンチャク毒

イソギンチャクの毒には分子量 15,000~21,000 の蛋白毒(溶血毒)と 3,000~5,000 のペプチド毒(神経毒)があり、溶血毒は細胞膜のリン脂質と結合して膜に小孔を形成し、ペプチド毒は神経毒のナトリウムチャンネルと結合してイオンチャンネルの開口時間を延長させ、ナトリウムイオンの流入を増大させるといわれている。

ゲル濾過用のカラムを使用した HPLC で、刺胞球から溶出したウンバチイソギンチャク毒に分子量 20,000~30,000 の致死毒と約 15,000 の溶血毒が存在することを確

認した。クラゲに比べてイソギンチャクの毒は比較的安定で取り扱いやすいといわれている。

c. オコゼ毒

主成分は蛋白毒またはペプチドで、分子量 90,000 の致死作用、溶血作用、毛細血管透過性亢進作用を示す蛋白毒が分離されている。ゲル濾過法で沖縄近海で採集されたオニダルマオコゼ毒に分子量 40,000~50,000 の致死毒が存在することを認めた。

d. ウミヘビ毒

毒作用の本体は 60~70 のアミノ酸からできている分子量 7,000~8,000 の蛋白またはペプチドで神経毒である。運動神経と筋肉の接合部でアセチルコリンに代わって強く結合し、筋肉を麻痺させる。致死作用はハブより十数倍強いが、沖縄近海に分布するウミヘビは全体的におとなしく人間に咬みつくことは殆どない。

5. クラゲ抗毒素の配備状況と各病院の考え方(表 8)

沖縄県では、平成 2 年から海洋生物による刺傷事故の疫学調査や事故防止のための広報教育を進めているが、ハブクラゲに刺されて幼児が死亡する事故が平成 9,10 年と 2 年続きで発生したこともあり、近縁種のキロネックスクラゲの抗毒素を製造しているオーストラリア CSL 社からクラゲ抗毒素 90 本を緊急に輸入し県内の 6 つの県立病院(北部病院・中部病院・那覇病院・南部病院・宮古病院・

表 7. 毒素の性質

種 類	性 状	分子 量	毒 作 用	
ハブクラゲ	神経毒(蛋白質)	不安定	600,000 150,000 70,000	筋肉の拘縮作用 致死作用 溶血作用
ウンバチイソギンチャク	神経毒(蛋白・ペプチド)	安定	15,000~21,000 3,000~5,000	溶血作用 致死作用
オニダルマオコゼ	神経毒(蛋白・ペプチド)	不安定	90,000	溶血作用・ 透過性亢進作用
ウミヘビ	神経毒(ペプチド)	安定	7,000~8,000	致死作用

表8. クラゲ抗毒素の配備状況と各病院の考え方

病院名	意見	配備状況	使用の有無	必要本数	
県立北部病院	余程の重症でなければ使用しないので、最低限度の配備でよい。	15本	無	本院 3 診療所 8 (2×4)	計 11 (救急室)
県立中部病院	医療現場で使用できる環境作りがなされていない状況では、患者や職員に勧めるのは非常に困難。衛環研で、10～15本ほど備蓄し、重症例が発生して使用する時に急送する方がよい。	15本	無	本院 5 診療所 0	計 5 (救命救急センター)
県立那覇病院	現場に近い病院・診療所では使用の可能性はあるが、時間が経過したあとの患者だけの当院では配備の必要はないと思う。	15本	無	本院 0 診療所 0	計 0 (救急室)
県立南部病院	使用頻度は少ないが、救命か疼痛緩和のため備蓄の必要がある。	15本	無	本院 6 診療所 0	計 6 (外科)
県立宮古病院	抗毒素が必要になる事例が生ずるかも知れないので、可能性は低くても配置する必要がある。	15本	無	本院 3 診療所 3	計 6 (外科)
県立八重山病院	必要性は少ないが、4～5本常備させてもらえれば心強く思う。今後重症例があれば、場合によっては使用を考えている。	15本	無	本院 5 診療所 12 (3×4)	計 17 (外科)

(病院管理局が調査)

八重山病院)に15本ずつ配布した。幸い抗毒素の配布後は重症事故はなく、輸入された抗毒素が使用されたことは未だない。

我が国では医薬品として認可されていないクラゲ抗毒素の輸入は、医師が自らの責任で使用する医師の個人輸入の形を取らざるを得ないので今回は各県立病院の院長名で輸入したが、抗毒素の使用によって重大な事故が発生した場合への責任体制を明確にせず、同抗毒素を配備したことに対して不満を訴える現場の意見も少なくないので、同種の抗毒素の今後の配備計画の参考にするために県立の各病院の考え方を聴いた。

平成9,10年と2年続きでハブクラゲに刺されて死亡する事故が発生したこともあり、海洋生物による事故直後の患者が搬送される機会が殆どない市街地の1病院以外は抗毒素の配備を希望したが、抗毒素の使用によって重大な事故が発生した場合の責任の所在に不安があるようで、同抗毒素を配布した県が全面的に責任を負うよう要望があった。

海洋生物による事故への対応を積極的に行っているオーストラリアでは被害防止用のクラゲネットが普及し、また子供の頃からの徹底した安全教育によって最近では抗毒素を使用する程の大きな事故は少なくなっているようであるが、2000年3月25日にグレイトバリアリーフに近いタウンズビル市で、クラゲネットの外で海に入ろうとした外国からの観光客がキロネックスクラゲに刺され抗毒素による治療が行われた。事故にあったのは38歳の女性と40歳の男性の2人で、女性は両方の脚から膝と上腕部を刺され、男性は片方の脚と上腕部を刺された。女性は特に重症で激痛でビーチに倒れたので、救急隊員によって現場で抗毒素が投与された。また患部に酢を注ぐ応急処置も並行して行われた。救急隊員によると「抗毒素を使用しなければ死亡する可能性が高かった」とのことである。(現地新聞 Townsville Bulletin 2000年3月27日

より)

オーストラリアでは日本人観光客に人気が高いケアンズでも2000年1月24日に魚釣りを終え、釣り用のボートを砂浜に引き上げるために海に入った6歳の少年がキロネックスクラゲに脚を刺され死亡している。(現地新聞 Townsville Bulletin 2000年1月25日より)

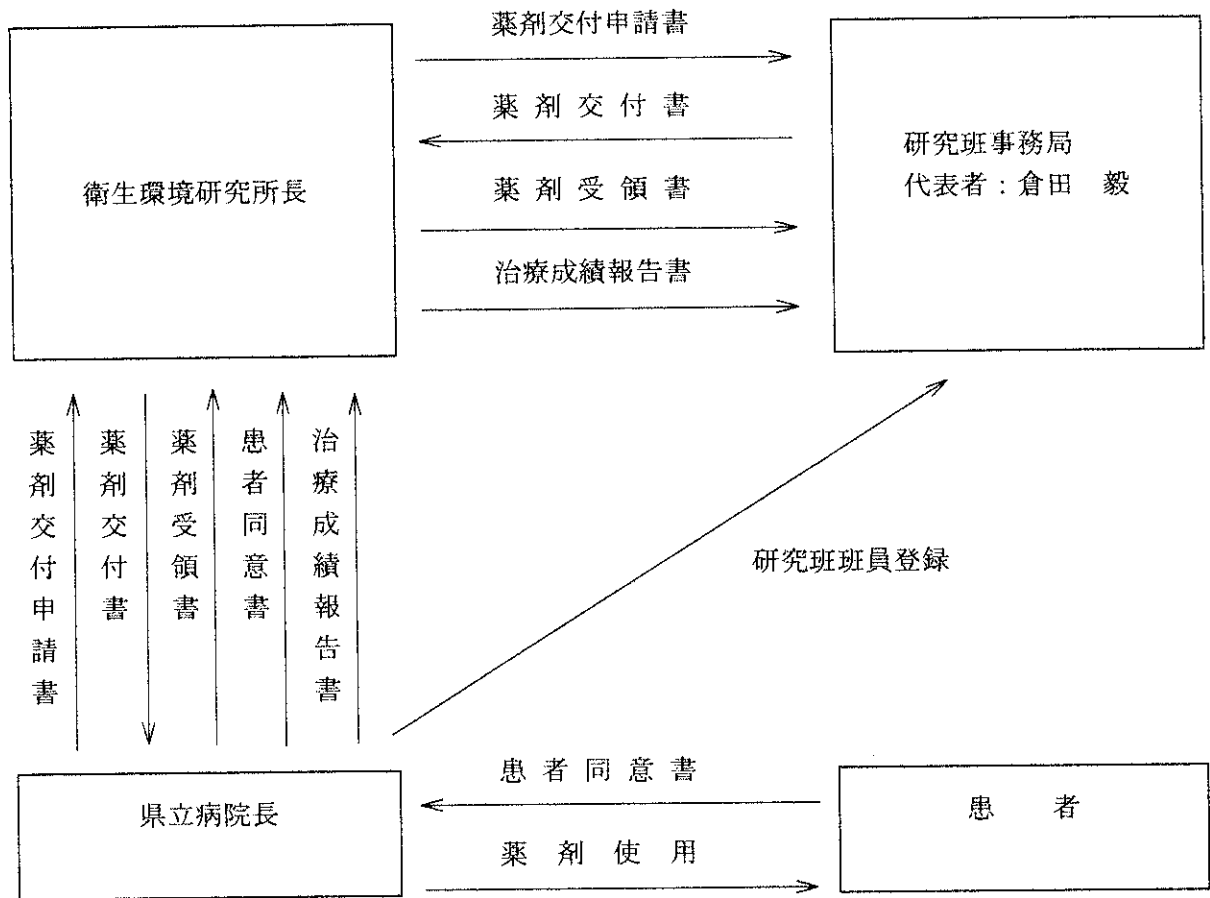
6. 外国から輸入された抗毒素への対応 (表9)

本研究班が外国から輸入した抗毒素のうち沖縄県に配分される予定の5種の抗毒素(コブラ抗毒素・台湾ンハブ抗毒素・クラゲ抗毒素・オコゼ抗毒素・ウミヘビ抗毒素)については、沖縄県衛生環境研究所(金城喜榮所長:本研究班分担研究員)がまとめて保管し、各医療機関からの要請に応じて表9の手続きに基づいて患者の治療に使用する予定である。

D. まとめ

- (1) 抗毒素製剤の副反応を調査するために、ハブ咬症者の過去8年間(平成4~11年)の抗毒素の使用状況について調べた。毒性が最も強いハブ咬症では780人中536人(68.7%)に抗毒素が使用され、サキシマハブでは266人中25人(9.4%)に、ヒメハブでは121人中54人(44.56%)に抗毒素が使用されていたが、抗毒素によって重篤な副反応が発生した形跡は見当たらなかった。
- (2) 本研究班が外国から輸入したコブラ抗毒素(タイ赤十字研究所)と台湾ンハブ抗毒素(台湾国立予防医学研究所)の中和実験を行い、それぞれの抗毒素が沖縄で捕獲されたタイコブラ、台湾ンハブの毒を良好に中和することを確認した。またクラゲ抗毒素(オーストラリア CSL社)が沖縄近海に分布するハブクラゲの毒を良好に中和することも確認した。

表9. 海外から購入した抗毒素を使用する時の手続き（沖縄県）



(3) 5 種類の抗毒素（コブラ抗毒素、タイフンハブ抗毒素、クラゲ抗毒素、オコゼ抗毒素、ウミヘビ抗毒素）については沖縄県衛生環境研究所（金城喜榮所長：本研究班分担研究者）がまとめて保管し、各医療機関からの要請に応じて緊急に輸送する。

E. 参考文献

(1) Kondo, H. Kondo, S. Ikezawa, H. Murata, R. and

Ohsaka, A.: Studies on the quantitative method for determination of hemorrhagic activity of Habu snake venom. Japan J. Med. Sci. Biol. 13, 43 ~ 51, 1960

(2) E. J. Reed and H. Muench, A simple method of estimating fifty percent endpoints, American J. Hyg. 493 ~ 497, 1938

(3) M. R. MUSTAFA, E. WHITE, K. HONGO, I. OTHMAN, AND C. H. ORCHARD:

The Mechanism Underlying the Cardiotoxic Effect of the Toxin from the Jellyfish *Chironex fleckeri*, Toxi. Appli. pharm. 133, 196-206 (1995)

分担研究報告書

ヤマカガシの採毒、毒蛇の判別および抗毒素の力価測定についての研究

分担研究者 鳥羽通久 (財)日本蛇族学術研究所 所長

協力研究者 堺 淳 同 上 主任研究員

研究要旨

ヤマカガシは、毒成分の研究に使ったものや、死亡したものを除き、296個体から採取した。ヘビをクロロホルムで麻酔後、毒腺を摘出し、冷凍保存した。これを20個体ないし70個体くらいにまとめて、細かくカットし蒸留水を加えてよく攪拌し、10000rpmで冷却遠心してその上清をとり、残渣に再度蒸留水をくわえて同様の操作を繰り返した。これらの上清を集めて凍結乾燥後、蒸留水に溶解し、不溶性の粘液成分を遠心によって取りのぞき、凍結乾燥して免疫や試験用の粗毒とした。使ったヤマカガシの体重は40gから500gにわたり、平均178gだった。毒腺の平均重量は171mgで、これから採取された粗毒の乾燥重量は平均で20.9mg。全体で6gを少し越える粗毒が得られた。体重と毒腺重との関係は、41個体で計算した結果は体重(x, g)、毒腺重(y, mg)で、 $y = 1.0189x - 67.47$ となった。乾燥重量は毒腺重の平均12.2%であった。馬を免疫する毒を集めるのは、ヤマカガシでは大変な作業となるが、主要な毒成分はプロトロンビン活性化酵素であると考えられるので、将来はcDNAを使って構造決定を行い、合成する方法をとるのが良いと思われる。近年、ヤマカガシの危険性が一般に認識されるにつれ、マムシ咬症とヤマカガシ咬症の区別が重要になってきた。出血がひどい症例で、以前は単純にマムシと正しく判断されたような場合でも、ヤマカガシではないか余計な心配をせざるを得ない状況も起きている。このため、これらの判別マニュアルを作成した。どうしても判断が難しい場合には、マムシとヤマカガシ両方の抗血清を使用することも考慮されるべきである。馬2頭を現行免疫法とリポソーム法により免疫し、採血して得られた粗血清の力価について、抗凝固活性を指標として血清の中和能を測定した。その結果、現行免疫法の3月14日採血血清およびリポソーム法の3月13日採血血清は、その1mlがそれぞれ463 μ gと270 μ gの毒を中和した。対照として測定した1987年試作の血清(Lot.3、ヤギ血清)は1050 μ gを中和した。

A. 研究目的

ヤマカガシの抗毒素を作成するためには、大量の毒が必要になる。現時点ではその主要な毒成分であるプロトロンビン活性化酵素の単離もできていないので、粗毒を使わざるを得ない。したがって採毒方法はこれ

までに日本蛇族学術研究所において確立された、毒腺を摘出する方法によった。採毒量は、これまでになく大量なので、大きい個体を使った方が有利であると考え、大型個体を集めることに重点を置き、毒量とヘビの大きさなどについても、基礎データを

集めることとした。

現在作られているニホンマムシ抗毒素にしても、今度試作するヤマカガシ抗毒素も単価血清であり、これらを正しく使用するためには咬症を引き起こした毒蛇の種類を正しく判別することが必要になる。その際、ヤマカガシとマムシを判別するだけでなく、これまでしばしばマムシと誤認されてきたアオダイショウの子ヘビを見分けることも必要である。また、近年はヤマカガシの危険性が一般にかなり浸透してきた反面、以前は単にマムシ咬症と同定することで済んでいたような症例でも、出血がひどく腫れがあまりないことなどからヤマカガシではないかと、誤認するような例が見られるようになってきた。このように見かけ上の症状では区別が難しくても、血液の検査結果などを詳しく調べると、十分判別が可能と思われるので、様々なレベルでの判別マニュアルが必要であると考え、実際に咬んだヘビを直接観察できる場合から、ヘビについての情報は全くなく、症状や検査結果だけから判断せざるを得ないものまで、判別規準を整理して、判別マニュアルを作成することにした。ただし、北海道から九州までの日本の本土とトカラ列島以南の南西諸島では、生息するヘビの種が全く変わってしまうし、南西諸島ではマムシとヤマカガシのような問題はないので、判別マニュアルも本土向けのものに限った。

B. 研究方法

1) ヤマカガシの採毒

ヤマカガシの採集は、研究職員による直接の採集のほかに、業者に依頼して大量の個体を採集した。その際、大型の個体の買

い入れ価格を高く設定し、これを重点的に集めるよう留意した。

ヤマカガシは体長（頭胴長）、体重を測定し、炭酸ガス麻酔を行って毒腺を摘出し、毒腺の長さ、重さも測定した。ただし、毒腺の測定は、一部のもののみである。また、今回最も多くの個体を採集した6月頃には、卵を持っている雌が多く、このような場合は、産卵後に測定・毒腺の摘出を行った。

摘出した毒腺は冷凍保存し、これを20個体ないし70個体くらいにまとめて、細かくカットし蒸留水をくわえてよく攪拌し、10000rpmで冷却遠心してその上清をとり、残渣に再度蒸留水をくわえて同様の操作を繰り返した。これらの上清を集めて凍結乾燥後、蒸留水に溶解し、不溶性の粘液成分を遠心によって取りのぞき、凍結乾燥して免疫や試験用の粗毒とした。

2) 毒蛇判別マニュアルの作成

外見等からの判別については、基本的にニホンマムシ、ヤマカガシ、アオダイショウの子ヘビ、それにタンビマムシを区別することが可能なものにして、それ以外のヘビについては全く言及しないことにした。必要なら図鑑はあるし、あまり大量の情報を入れると煩雑になり、かえって使用者がとまどうと考えた。

判別は咬んだヘビの実物をチェックできる場合、目撃情報だけはある場合、全く情報がない場合、の3つに分けて記述した。

最初の2つの場合、ヘビの外見が非常に重要であるので、カラー写真を入れるとともに、頭部や胴体の斑紋がよくわかる線図も掲載した。

また、マムシ咬症かヤマカガシ咬症か、判断に迷うようなときのために、重症例の