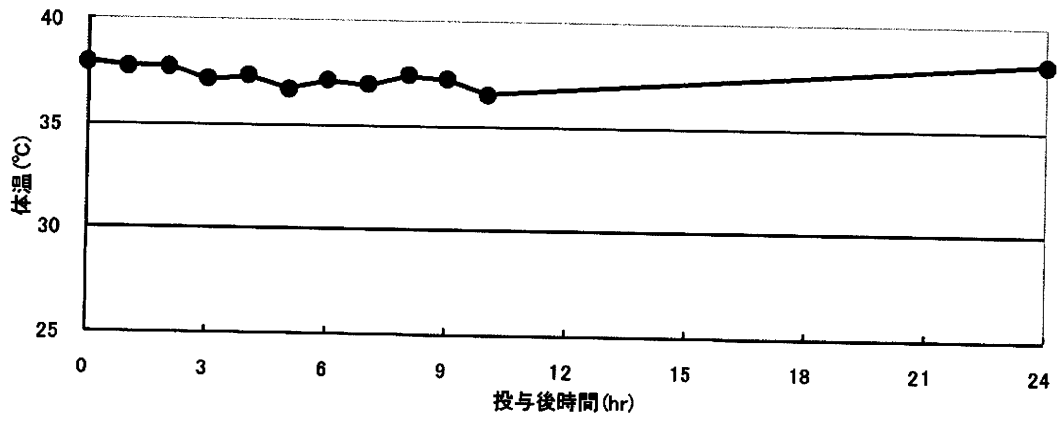


対照マウスNo.4



対照マウスNo.5

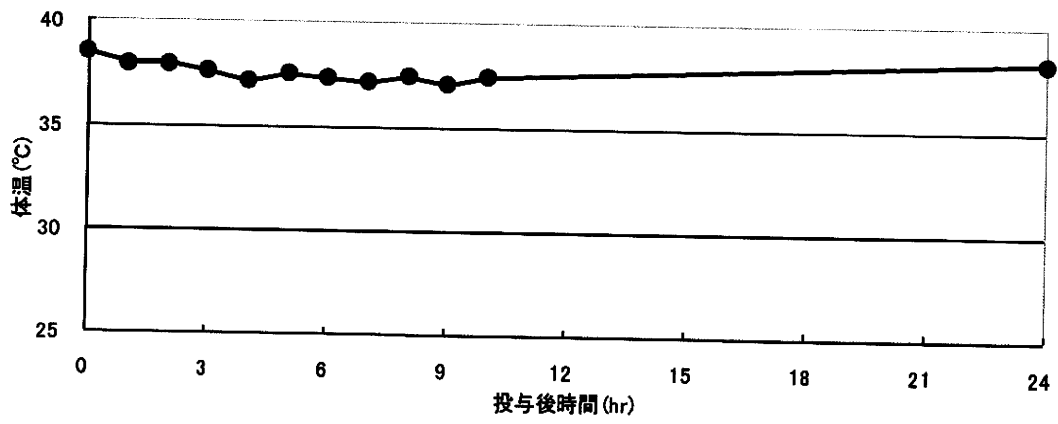
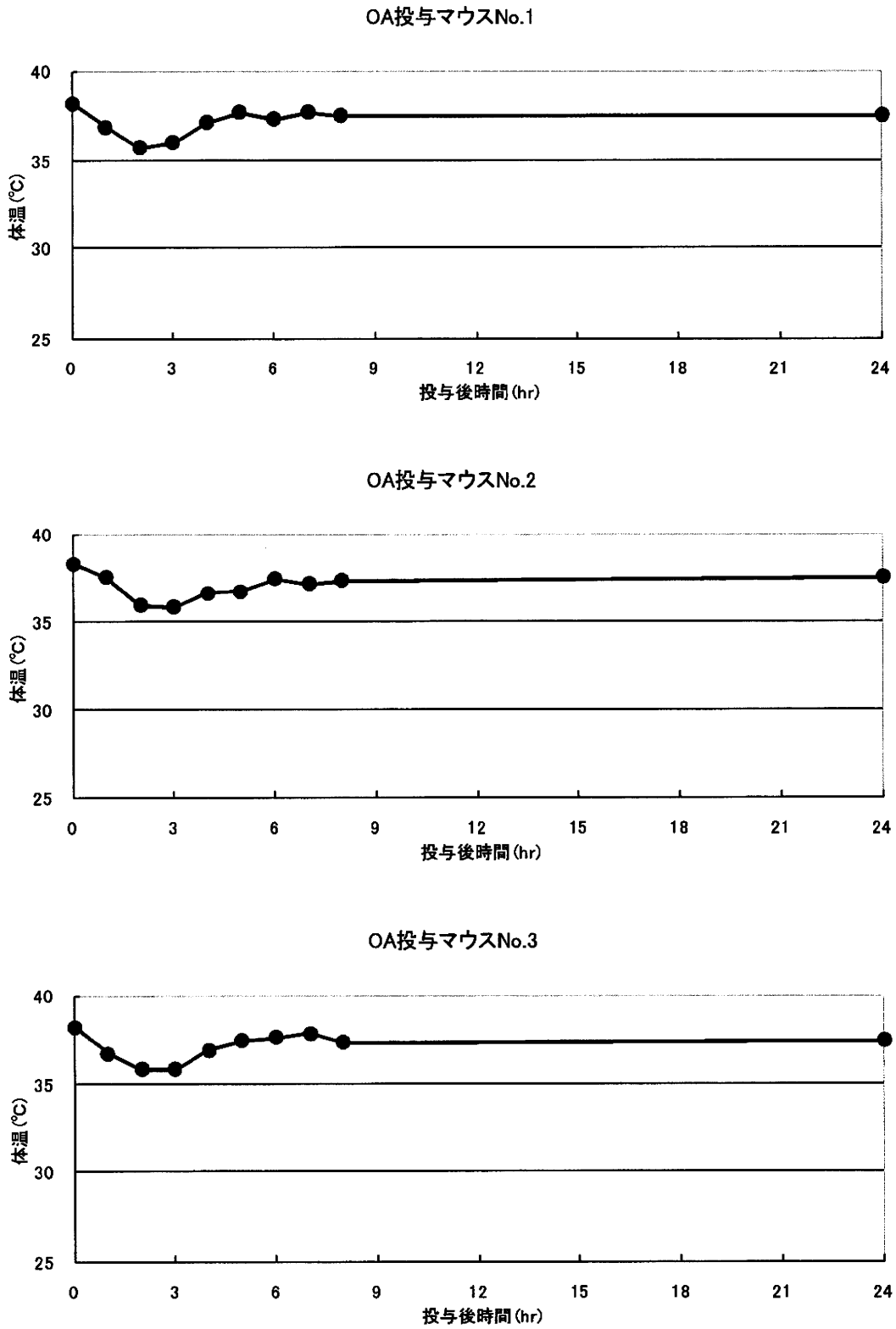
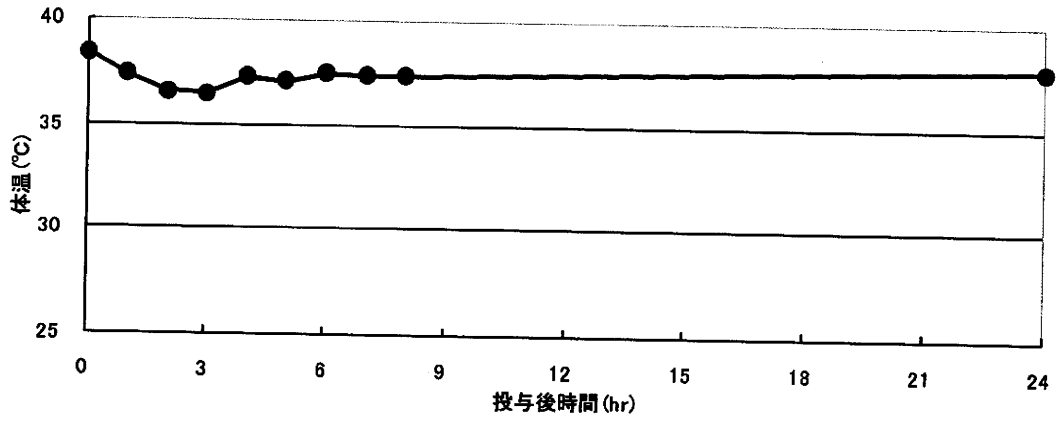


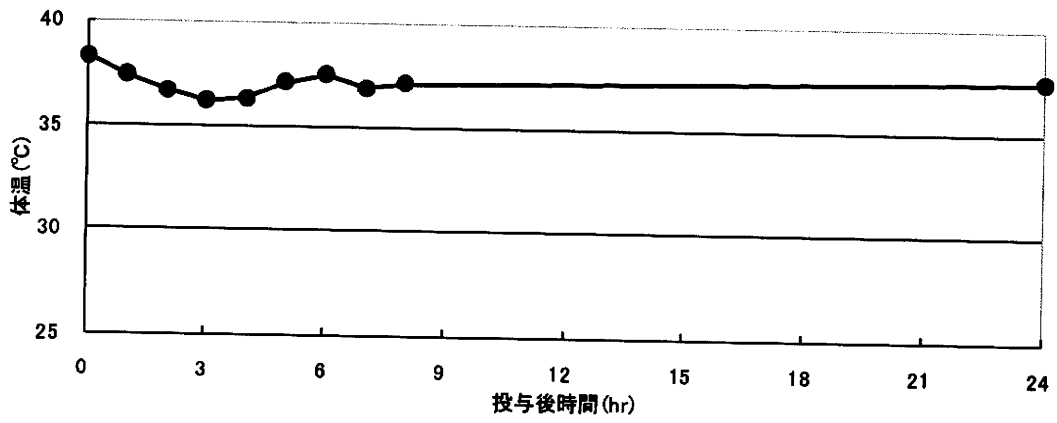
図2 オカダ酸投与後のマウスの体温変化(1  $\mu$ g/ml OA 投与)



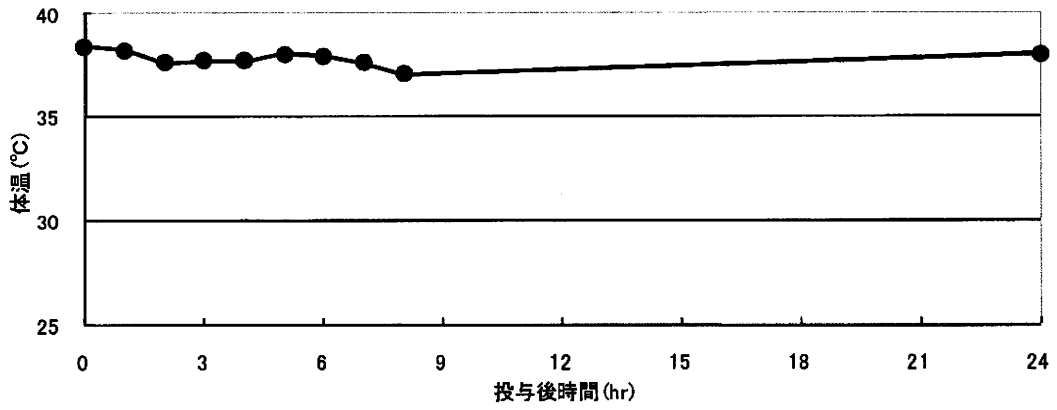
OA投与マウスNo.4



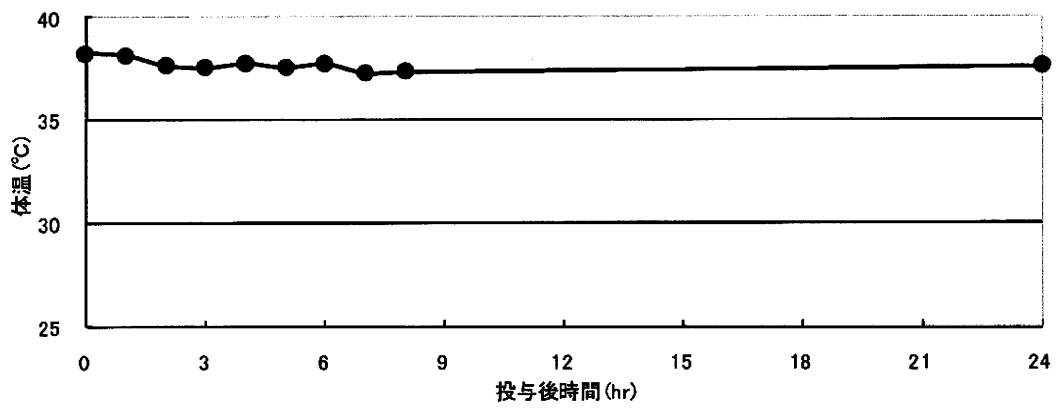
OA投与マウスNo.5



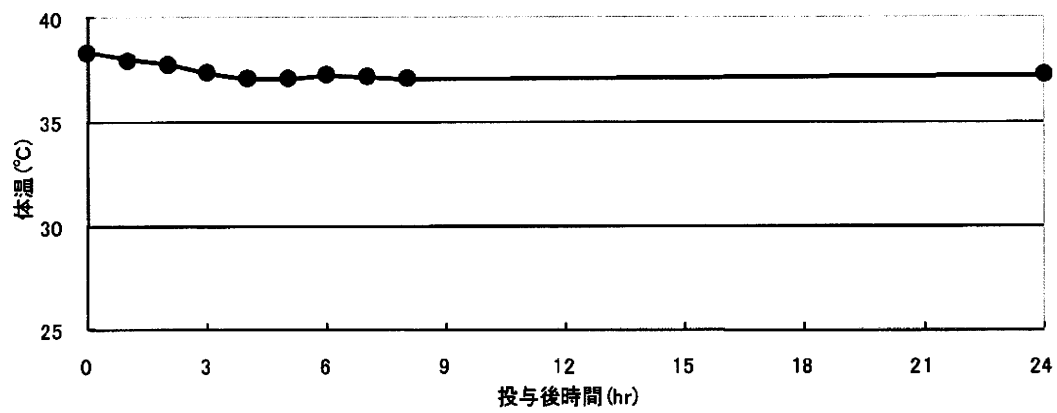
対照マウスNo.1



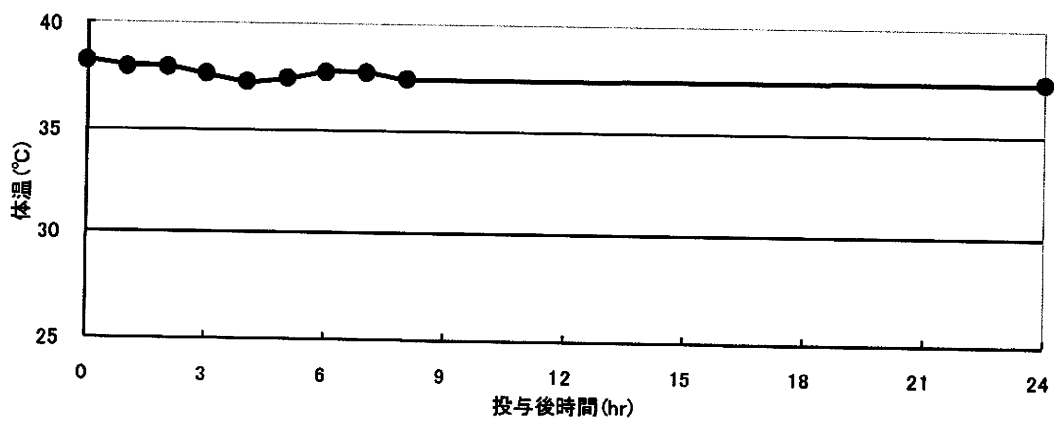
対照マウスNo.2



対照マウスNo.3



対照マウスNo.4



対照マウスNo.5

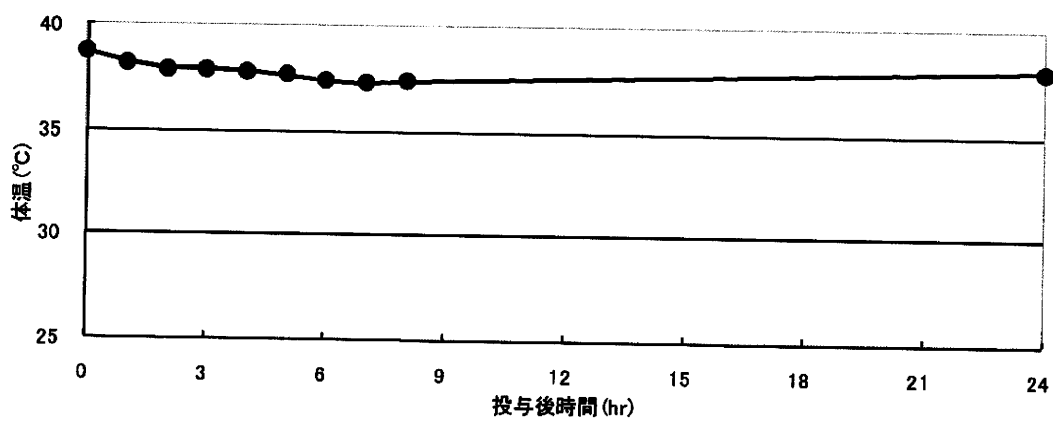
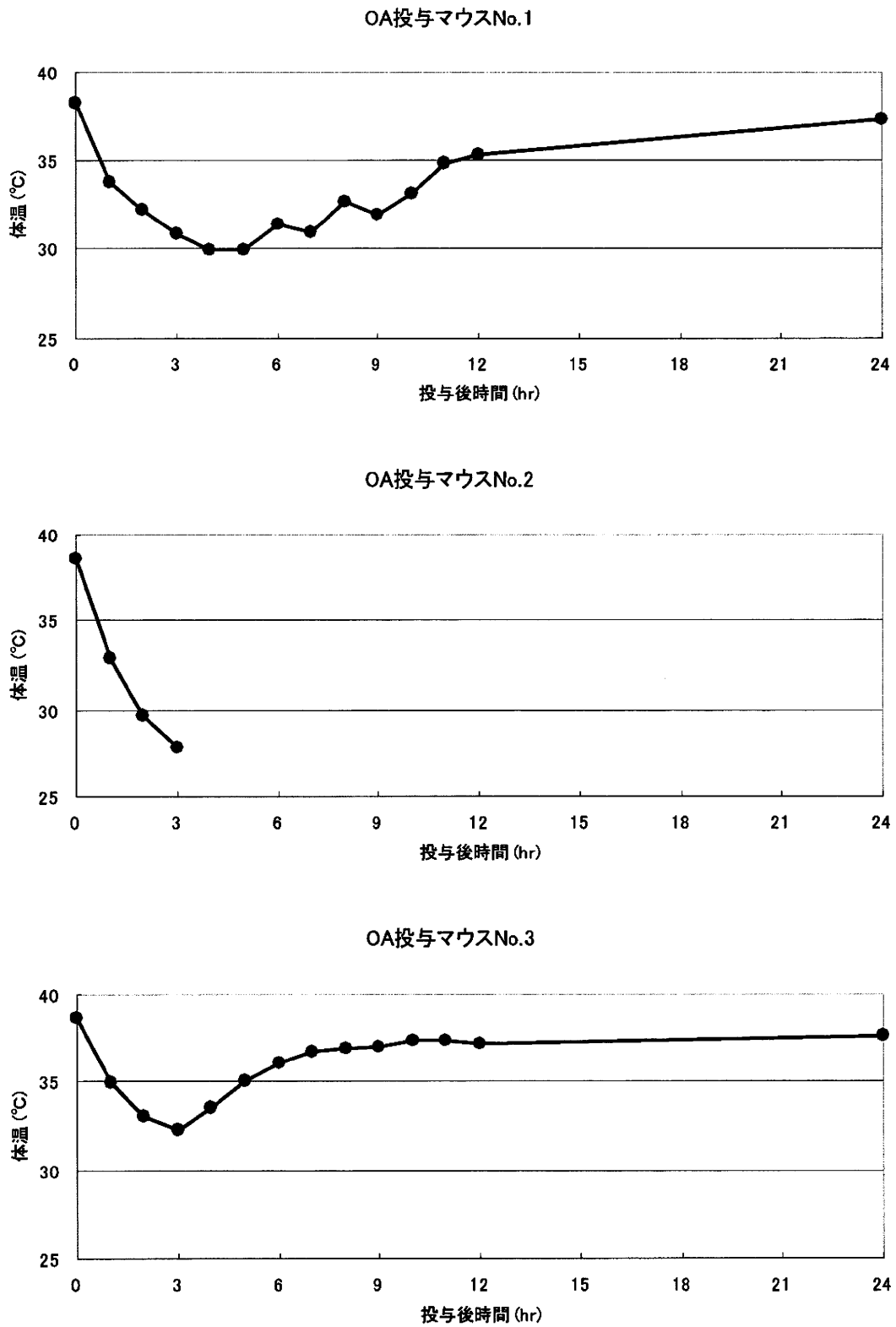
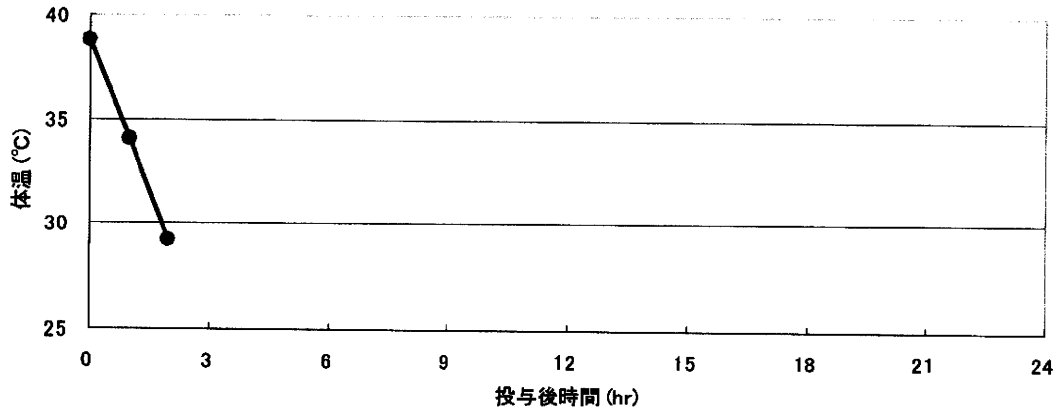


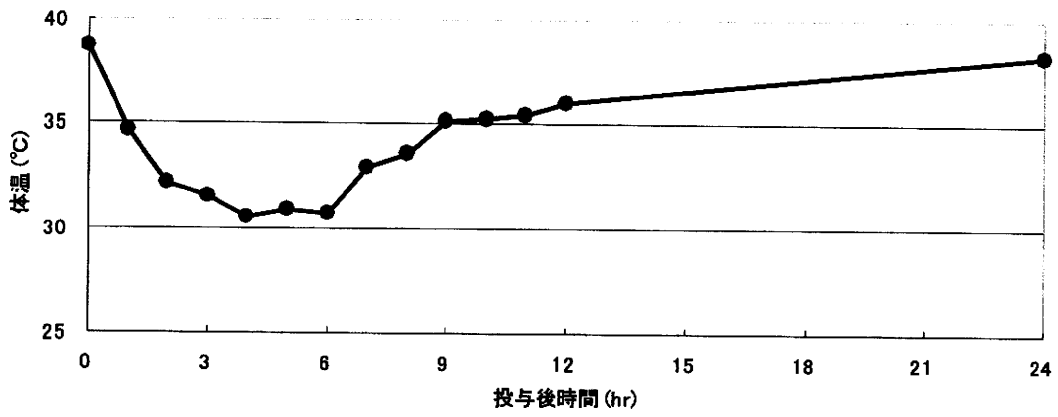
図 3(参考) オカダ酸投与後のマウスの体温変化(4  $\mu$ g/ml OA 投与・実験 1)



OA投与マウスNo.4

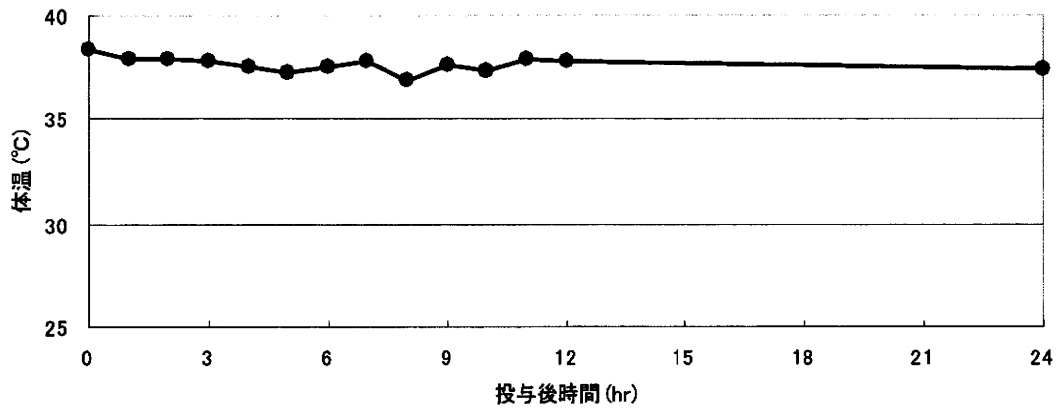


OA投与マウスNo.5

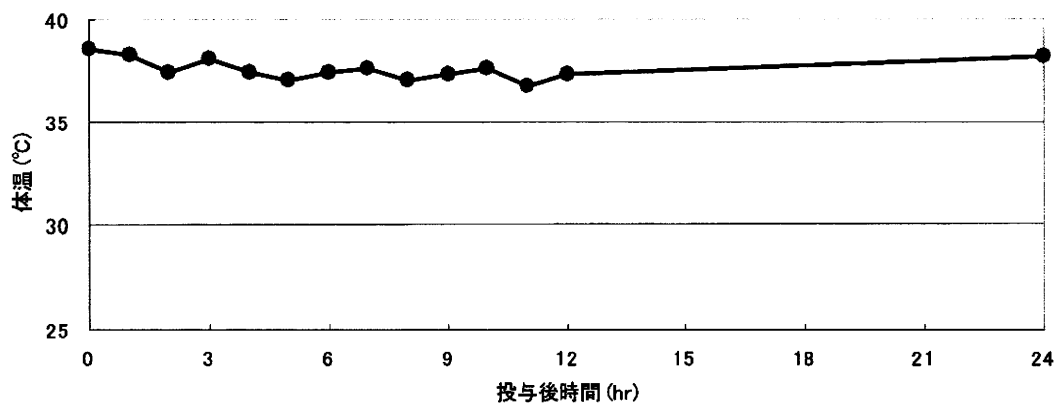


No.2、4は斃死した。No.1、3、5は生存していた。

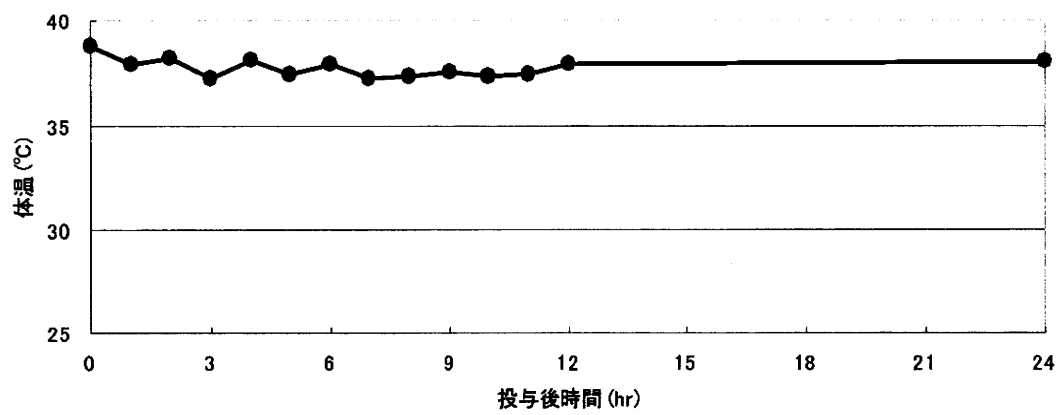
対照マウスNo.1



対照マウスNo.2

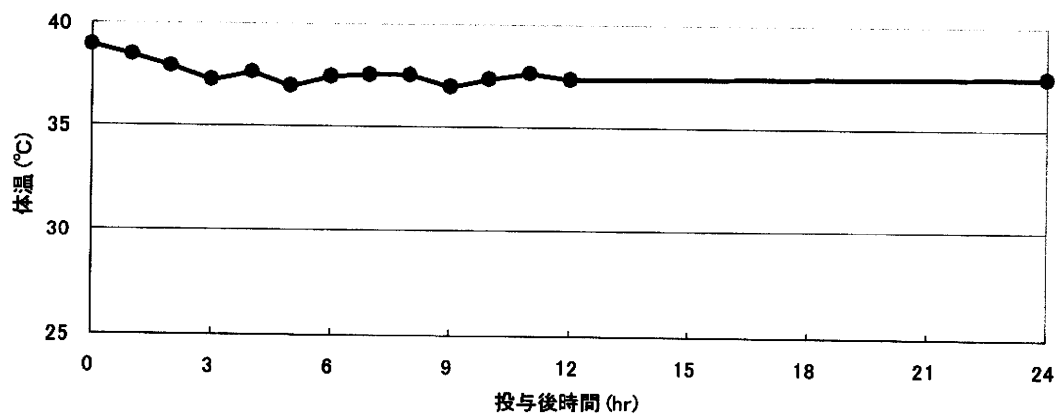


対照マウスNo.3

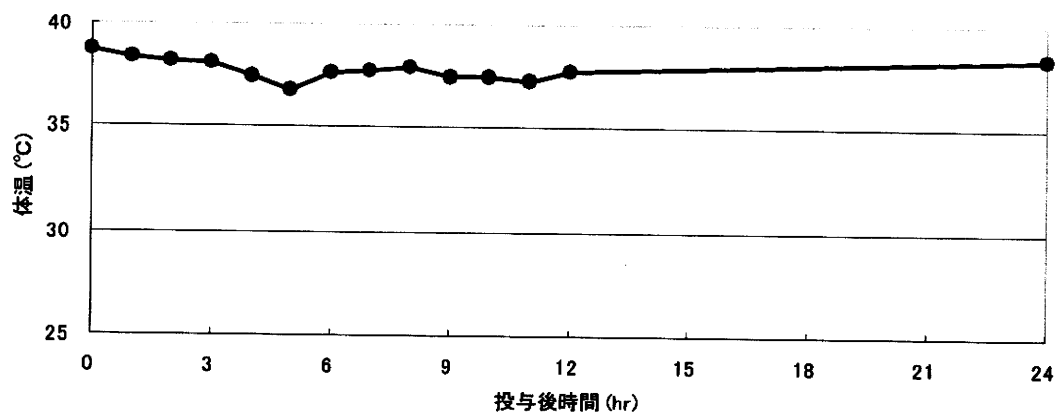




対照マウスNo.4



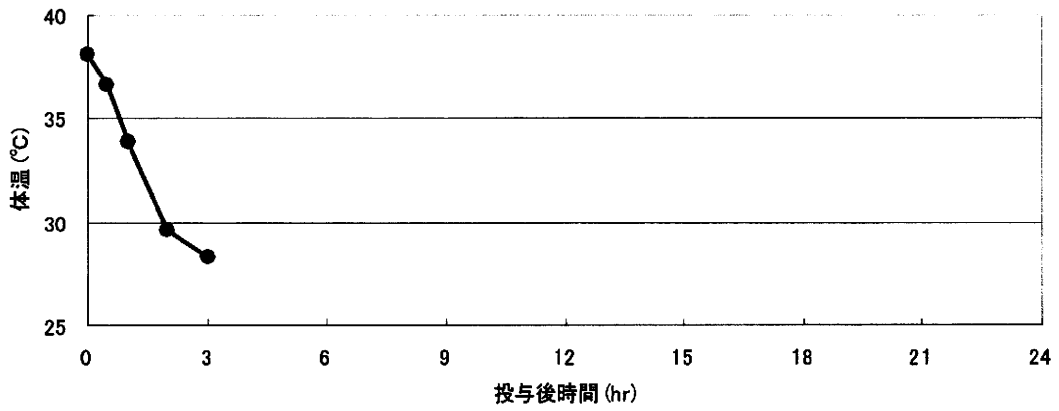
対照マウスNo.5



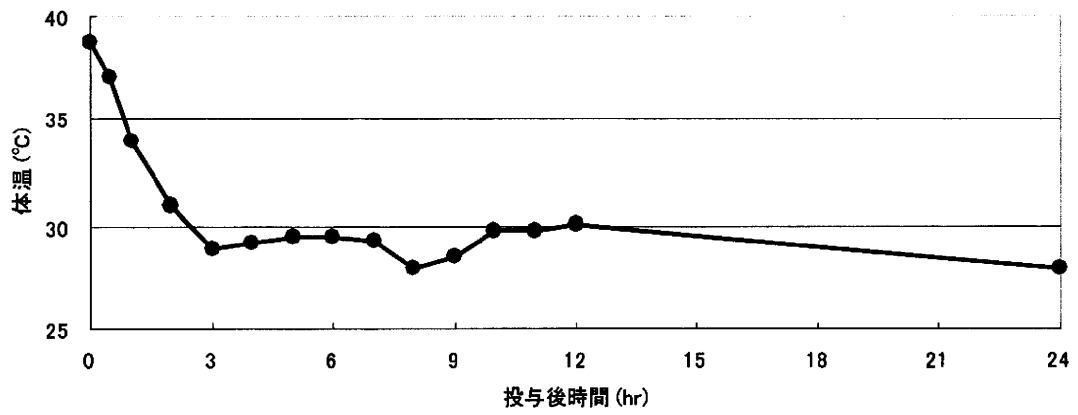
ほとんど体温の低下は認められなかった。

図 4(参考) オカダ酸投与後のマウスの体温変化(4  $\mu$ g/ml OA 投与・実験 2)

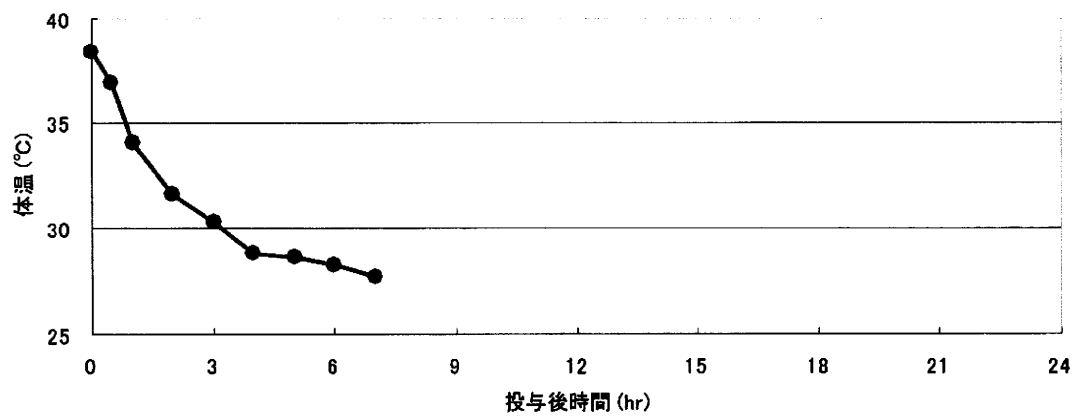
OA投与マウスNo.1



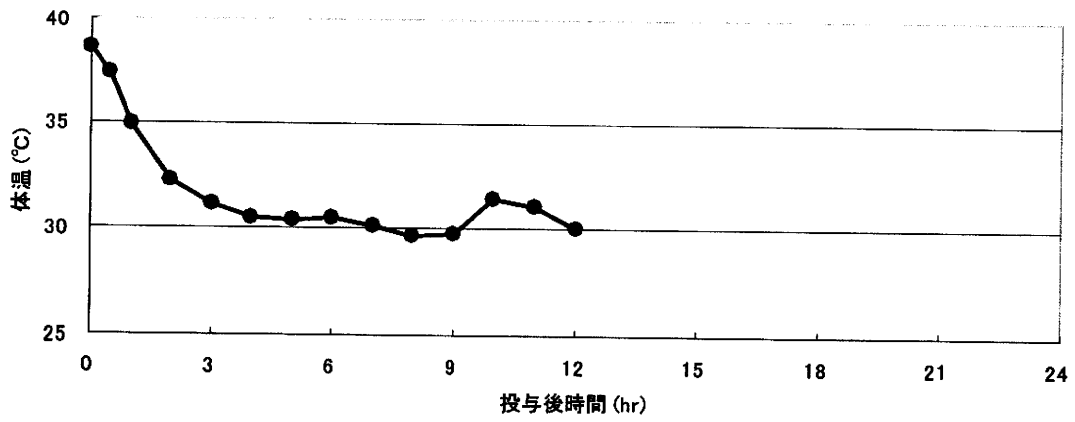
OA投与マウスNo.2



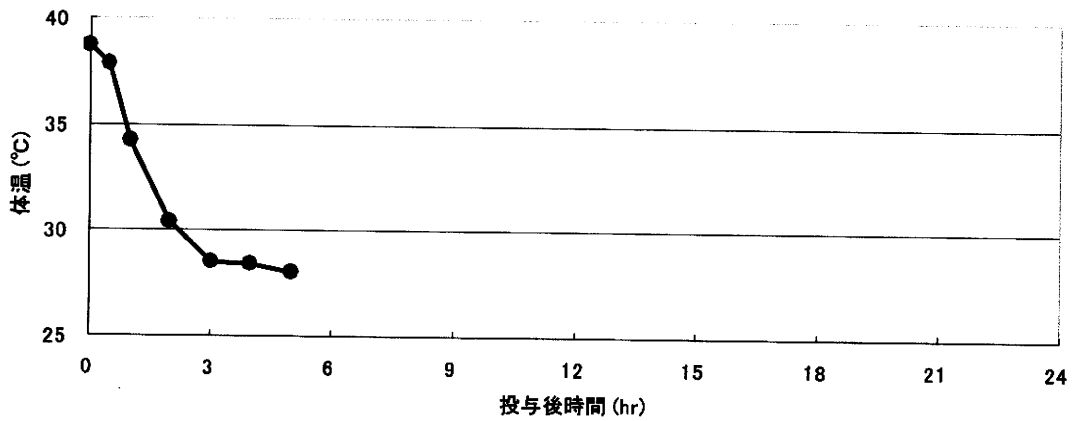
OA投与マウスNo.3



OA投与マウスNo.4

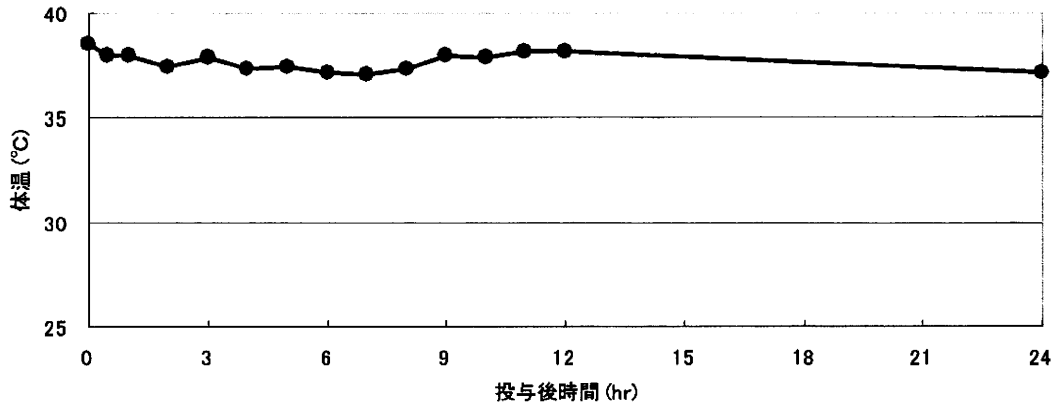


OA投与マウスNo.5

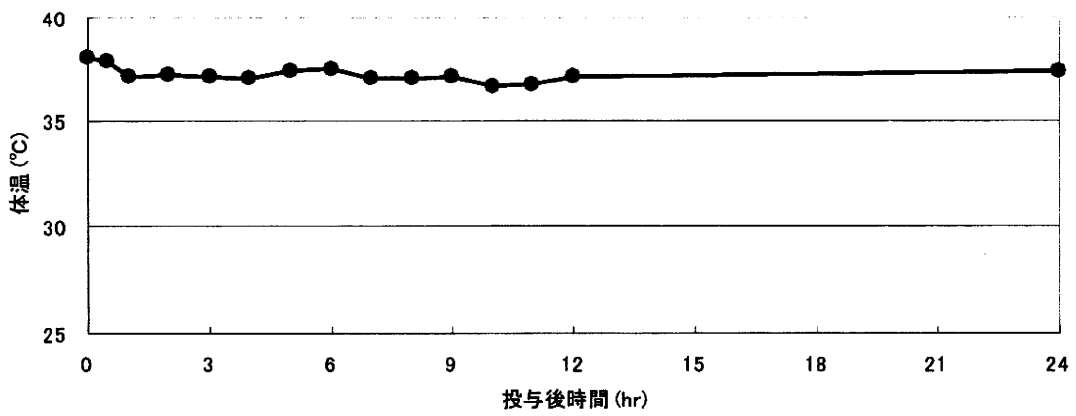


No.1、3、4、5は12時間以内に斃死した。No.2は24時間後には生存していたが、その後数時間で斃死した。

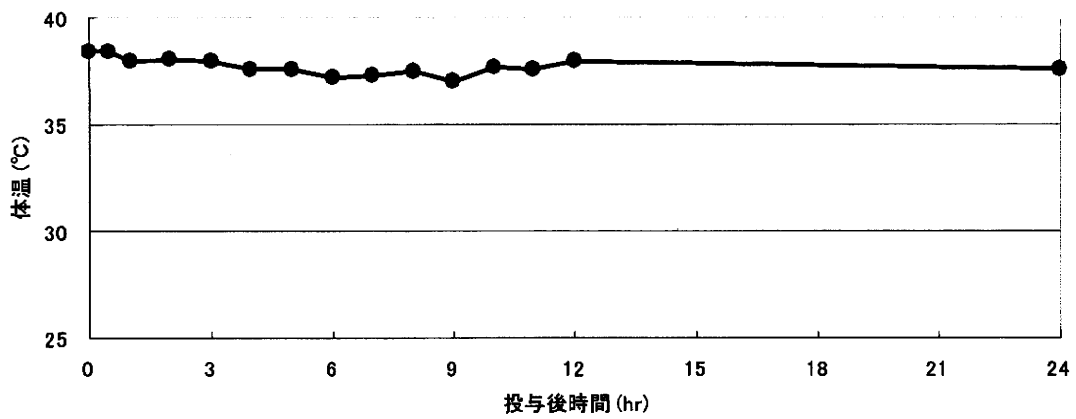
対照マウスNo.1



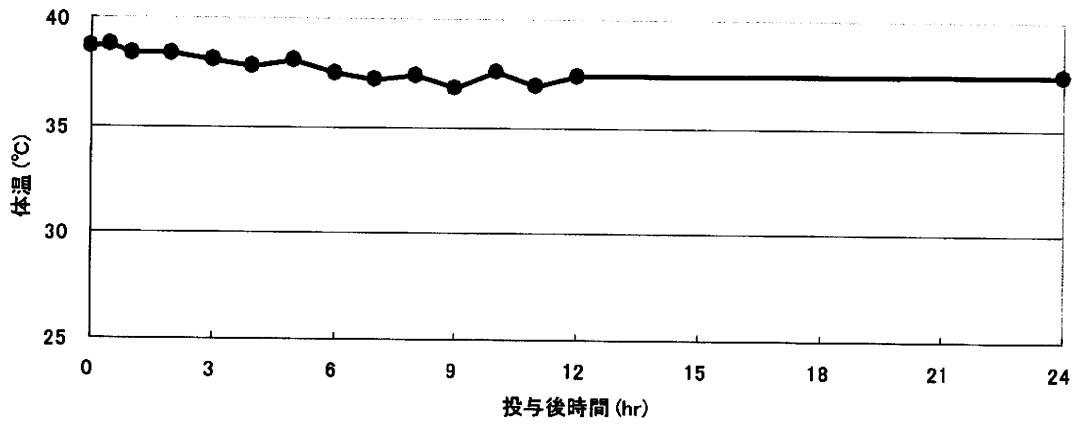
対照マウスNo.2



対照マウスNo.3

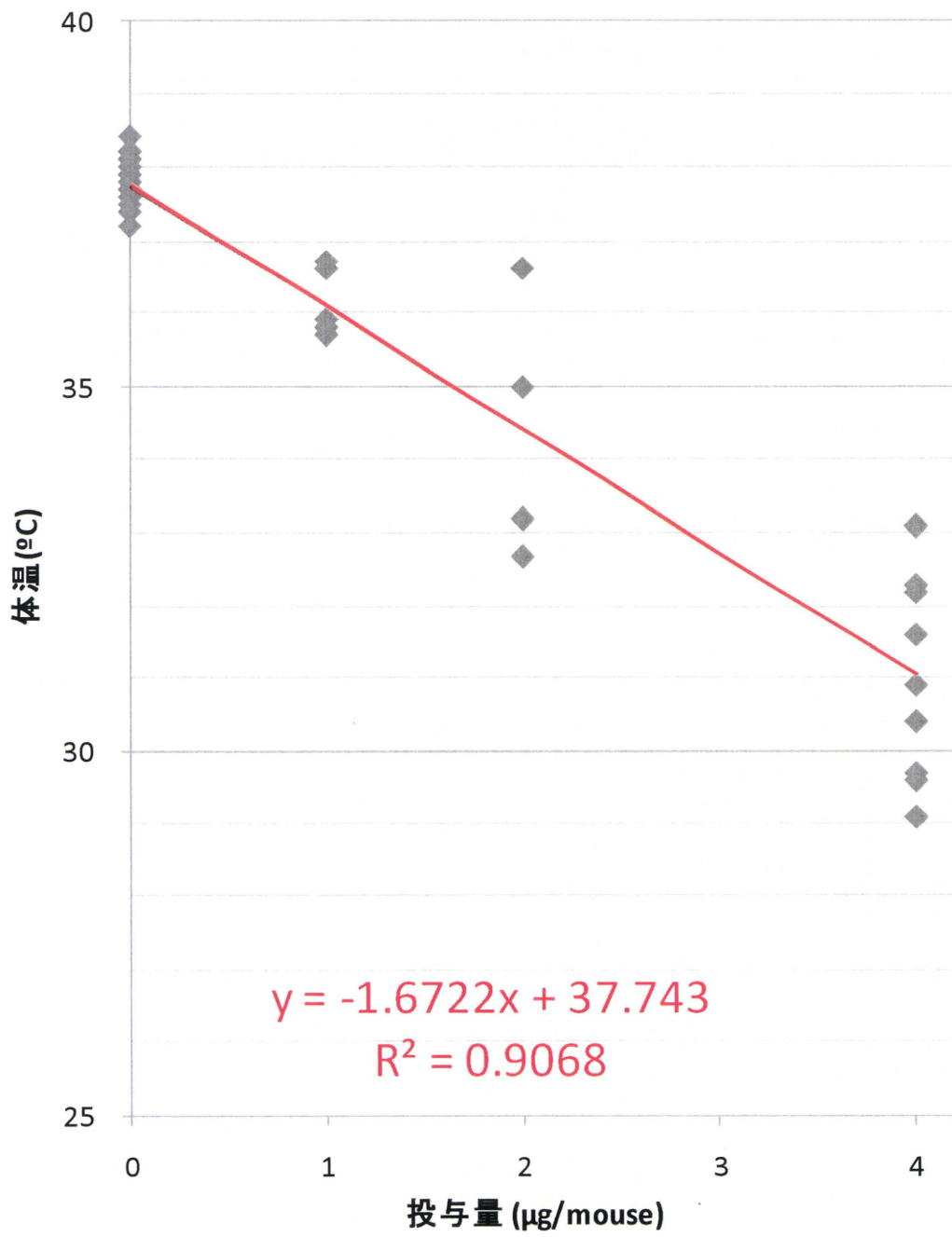


対照マウスNo.4



ほとんど体温の低下は認められなかった。

図5 オカダ酸投与量とマウスの体温低下の相関関係



平成 22 年度 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業

「下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの原理・機序の解明、

および代替法の開発に関する研究」

分担研究報告書

分担研究：4. サーモグラフィー・カメラを用いた、低用量のオカダ酸投与による  
マウスの体温変化の検出に関する研究

研究代表者 鈴木穂高 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 主任研究官

## 研究要旨

昨年度に行った「サーモグラフィー・カメラを用いたオカダ酸投与後のマウスの体温変化に関する研究」において、致死量のオカダ酸を腹腔内投与したマウスでは、サーモグラフィー・カメラを用いた体表温の簡便な測定で容易に判別が可能なほどの体温低下が起こっていることが示された。本研究では、致死量以下のオカダ酸を投与した場合のマウス体表温の変化がサーモグラフィー・カメラによってどのように検出されるかを調べ、下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの判定にサーモグラフィー・カメラが使用可能かどうかを検討するために行った。

オカダ酸の投与量と体温低下の程度、体温低下の持続する時間の間には正の相関が、オカダ酸の投与量と体温低下が誘導されるまでの時間の間には負の相関が認められた。これらのことから、マウスの体温低下を指標とした下痢性貝毒検査の迅速判定に、サーモグラフィー・カメラを用いた簡便な体温測定が使用できる可能性が示された。

### A. 研究目的

昨年度に行った「オカダ酸投与後のマウスの体温変化に関する研究」において、致死量のオカダ酸をマウスに腹腔内投与したところ、すべてのマウスで投与1時間以内に 35℃以下となるような急激な体温低下を示しており、多くのマウスでは3

時間後以降に 30℃を下回るような低体温状態となっていた。また、同じく昨年度に行った「サーモグラフィー・カメラを用いたオカダ酸投与後のマウスの体温変化に関する研究」では、この急激、かつ著しい体温低下はサーモグラフィー・カメラによって十分に検出が可能であった。

本研究では致死量以下のオカダ酸を投与した場合のマウスの体温の変化がサーモグラフィー・カメラによってどのように検出されるのか、特に、致死量のオカダ酸投与群と致死量以下のオカダ酸投与群、対照群でサーモグラフィー・カメラによる画像を比較し、サーモグラフィー・カメラを下痢性貝毒のマウス・パイオアッセイの判定に用いることが可能かどうか検討することを目的とした。

## B. 研究方法

オカダ酸をアセトンに溶解し、大豆油に混和した後、アセトンを揮発させ、1% Tween 60 加生理食塩水で懸濁したものを投与液とした。4週齢、雄、18~20gのICRマウス5匹(日本エスエルシーから購入)に致死量(4 $\mu$ g/ml/匹)、あるいは致死量以下(2 $\mu$ g/ml、または1 $\mu$ g/ml)のオカダ酸を1ml腹腔内投与した。対照群には、大豆油を1% Tween 60 加生理食塩水で懸濁した溶媒のみを5匹のマウスに1ml腹腔内投与した。投与前、および投与30分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、8時間、10時間、24時間後にサーモグラフィー・カメラ(FLIR)を用いてマウスの体表温を測定した。1群の5匹のマウスを一度に測定した。

## C. 研究結果

サーモグラフィー・カメラによるマウスの体温変化を図1に示した。致死量(4 $\mu$ g/ml/匹)のオカダ酸を投与したマウスでは、投与30分~1時間後には赤~白の33 $^{\circ}$ C以上から、黄~赤を主体とした30~32 $^{\circ}$ C前後まで体表温が急激に低下し、その後、2時間後には(1匹を除き)黄(30 $^{\circ}$ C前後)、3時間後以降は黄緑(28~29 $^{\circ}$ C)と体温が低下している様子が観察された。致死量以下の2 $\mu$ g/ml/匹のオカダ酸を投与したマウスでは、投与30分後の体温低下は著明ではないが、投与1~3時間後には半数以上のマウスで、黄~赤を主体とした30~32 $^{\circ}$ C前後まで体温が若干低下していたが、その後、体温は上昇し、投与6~8時間後には体温は投与前と同じ赤~白の33 $^{\circ}$ C以上まで回復していた。致死量以下の1 $\mu$ g/ml/匹のオカダ酸を投与したマウスでは投与1時間後までは体温低下は著明ではないが、投与2~3時間後には、黄~赤を主体とした30~32 $^{\circ}$ C前後まで体温が若干低下していた。その後、体温は上昇し、投与4~8時間後には体温は投与前と同じ赤~白の33 $^{\circ}$ C以上まで回復していた。一方、対照群ではマウスの体温は投与前から投与24時間後まで常に赤~白の33 $^{\circ}$ C以上を示しており、体温の低下は認められなかった。致死量の4 $\mu$ g/ml/匹のオカダ酸を投与した群では、5匹中3匹が投与24時間後までに斃死しており



(投与 10 時間後までは 5 匹とも生存していた)、致死率は 60%であった。致死量以下のオカダ酸投与群や対照群では斃死するマウスは見られなかった。

#### D. 考察

昨年度に行った「サーモグラフィー・カメラを用いたオカダ酸投与後のマウスの体温変化に関する研究」では、致死量のオカダ酸を投与したマウスの急激、かつ著しい体温低下がサーモグラフィー・カメラによって容易に検出できることを報告した。本年度、致死量以下のオカダ酸投与後の体温変化について、サーモグラフィー・カメラを用いて測定したところ、オカダ酸投与量に従って、体表温の低下の程度が大きく、体表温の低下が顕著になるまでの時間が短く、そして体表温の低下の持続時間が長くなる傾向が認められた。このような傾向は、本年度の「3. オカダ酸投与によるマウスの体温変化の用量依存性に関する研究」で報告したオカダ酸投与量と体温(直腸温)低下の程度が用量依存性を示すという事実と非常によく一致しており、体温低下を指標とした下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの判定を行う際に、サーモグラフィー・カメラ(を用いたマウスの体表温の測定)が使用可能であることが示された。昨年度からの結果を踏まえると、体表温

が 28~29℃の黄緑色になったマウスはほぼ回復することがなく、大半は投与 24 時間後までに斃死すること、投与 24 時間後まで生存していたとしても、その後数時間以内にほとんどが斃死することが分かった。今後、このような指標をもとに、実際の検体を用いて検討したいと考えている。

体温低下を指標として、現行の下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイを迅速化、高感度化することができる可能性については「3. オカダ酸投与によるマウスの体温変化の用量依存性に関する研究」でも示したが、体温計を用いた直腸温の測定に比べ、サーモグラフィー・カメラを用いた体表温の測定には、

1. マウスを拘束する必要がないので、マウスに対するストレスが少ない。
2. 一度に多くの検体を測定できる。
3. 視覚的に分かりやすく、画像から温度を読み取ることも可能である。
4. 画像を残しておくことで検査結果を残しておくことができる。

といった利点があり、より簡便、かつ効率よく多検体を判定することが可能であることから、現場での利用に適していると考えられる。

#### E. 結論

昨年度の研究により、致死量の下痢性

貝毒(オカダ酸)をマウスに腹腔内投与すると、マウスの体温(直腸温)が著しく低下すること、並びにこの体温低下がサーモグラフィー・カメラを用いたマウス体表温の測定においても十分に検出可能であることを示した。また、今年度の先行の研究により、このオカダ酸投与後のマウスの体温(直腸温)低下に、明瞭な用量依存性が認められることが示されたが、本研究により、サーモグラフィー・カメラを用いたマウス体表温の測定においても、オカダ酸投与量と体温低下の間に用量依存性が検出できることが確認された。これらのことより、マウスの体温低下を指標として、現行の下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイを迅速化、高感度化した場合に、サーモグラフィー・カメラを用いた簡便な体温測定を使用できる可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

H. Suzuki, K. Machii

Mouse Strain Differences in Mouse Bioassay for Diarrhetic Shellfish Poisoning Toxins

Scientific Proceedings, 16th FAVA

Congress 2011 and 78th PVMA Annual Convention & Scientific Conference, p260, (2011)

学会発表

鈴木穂高

下痢性貝毒オカダ酸投与後に見られるマウスの急激な体温低下  
第150回日本獣医学会  
(帯広市)

2010年9月

Hodaka Suzuki

Rapid and Drastic Decrease of Body Temperature in Mice Intraperitoneally Injected with Okadaic Acid

The 14th International Conferences on Harmful Algae

(ヘルソニソス、ギリシャ)

2010年11月

Kenji Machii, Hodaka Suzuki

Study on the Mechanisms of Mice Death in Intraperitoneal Injection of Okadaic Acid

The 14th International Conferences on Harmful Algae

(ヘルソニソス、ギリシャ)

2010年11月

H. Suzuki, K. Machii  
Mouse Strain Differences in Mouse  
Bioassay for Diarrhetic Shellfish  
Poisoning Toxins  
16th Federation of Asian Veterinary  
Associations Congress 2011  
(セブ・シティー、フィリピン)  
2011年2月

鈴木穂高、町井研士  
下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイに  
おけるマウスの系統差  
第151回日本獣医学会  
(府中市)  
2010年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

图1 サーマグラフィーによる、オカダ酸投与後のマウスの体温変化 (1群5匹)

