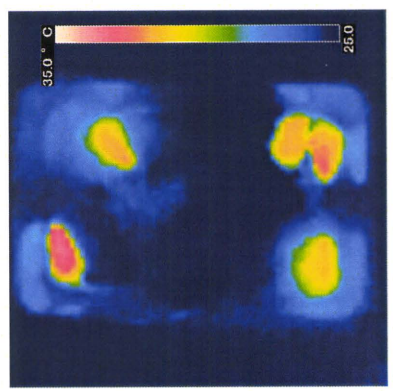
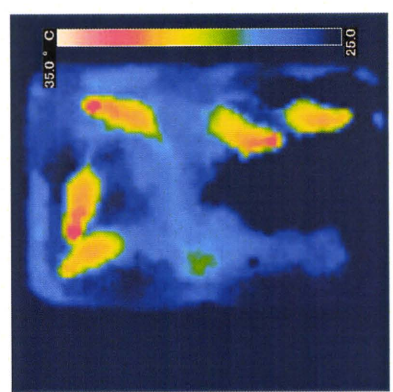


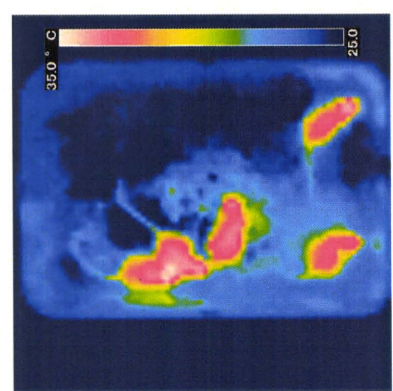
4 μg /匹 OA 投与群



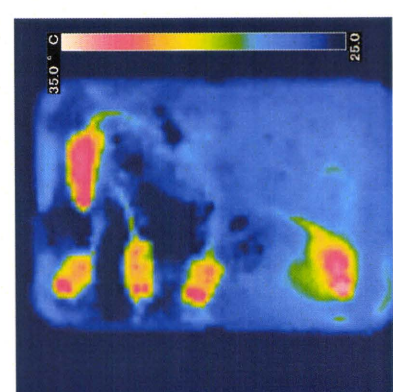
2 μg /匹 OA 投与群



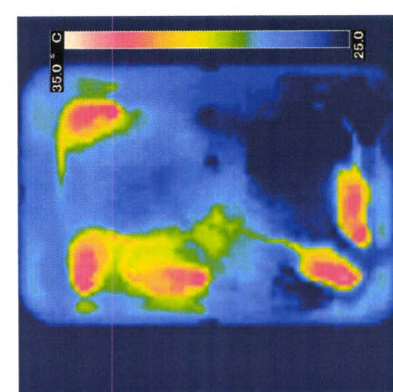
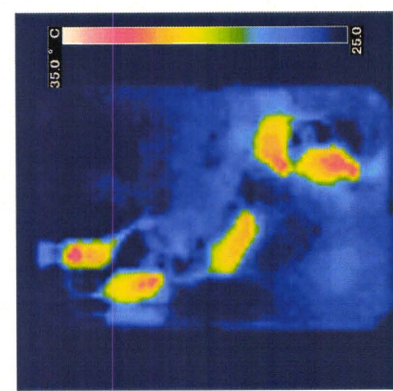
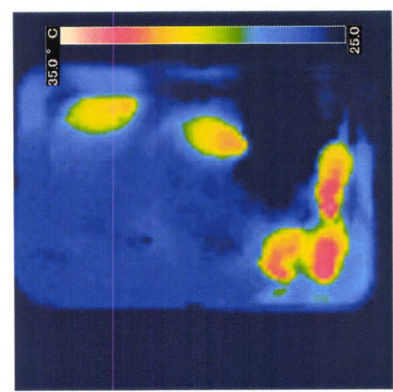
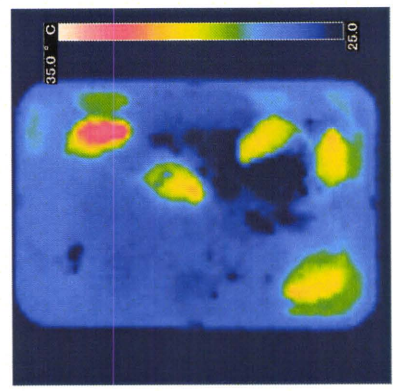
1 μg /匹 OA 投与群



对照群

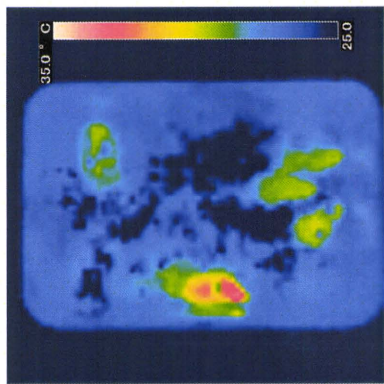


1 時間後

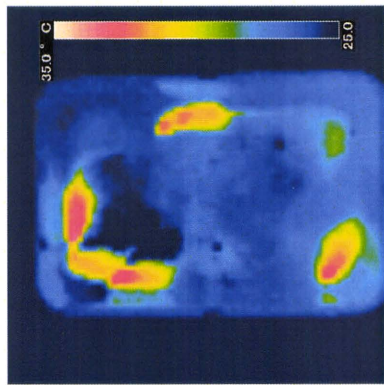


2 時間後

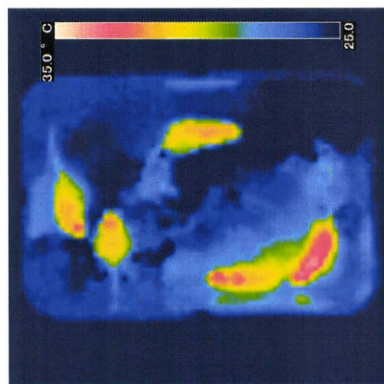
4 μ g/匹 OA 投与群



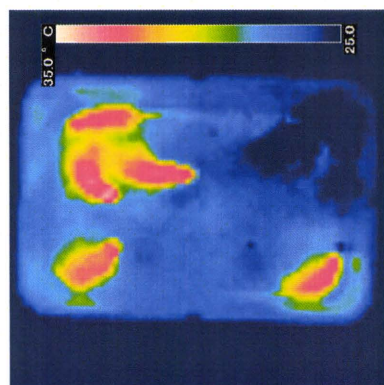
2 μ g/匹 OA 投与群



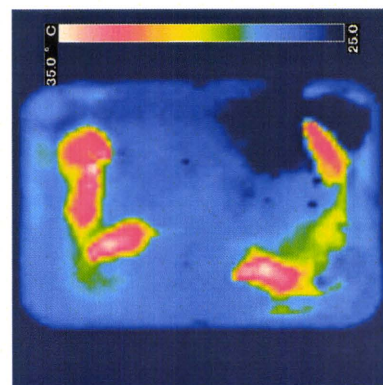
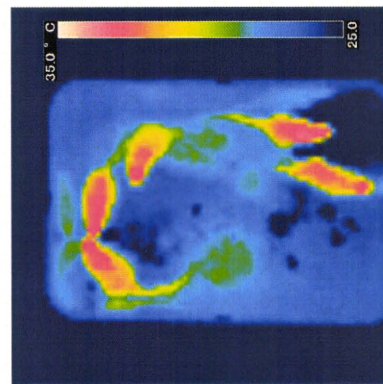
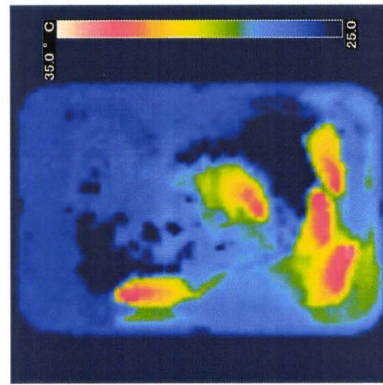
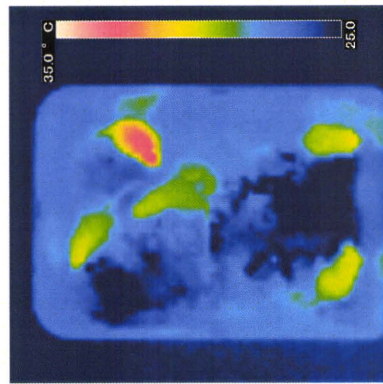
1 μ g/匹 OA 投与群



对照群

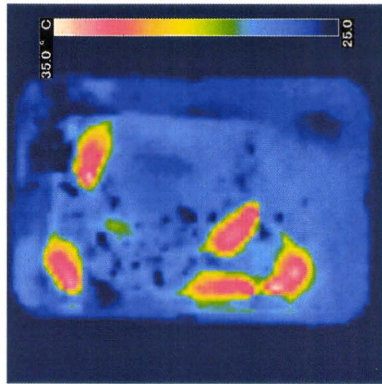


3 時間後

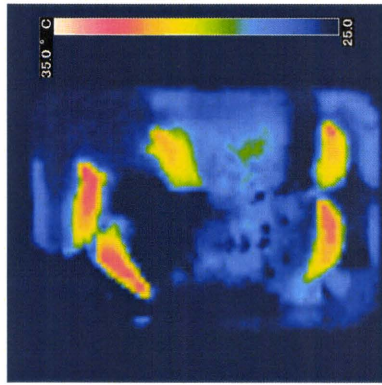


4 時間後

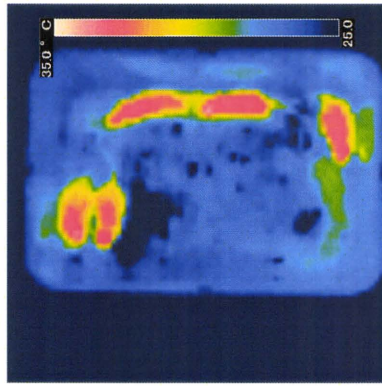
对照群



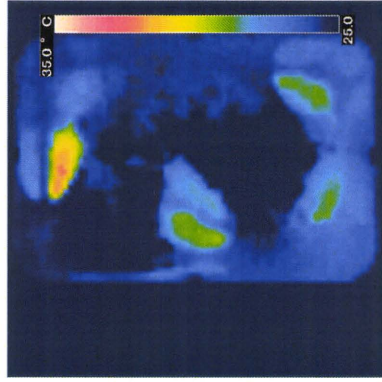
1 μ g/匹 OA 投与群



2 μ g/匹 OA 投与群

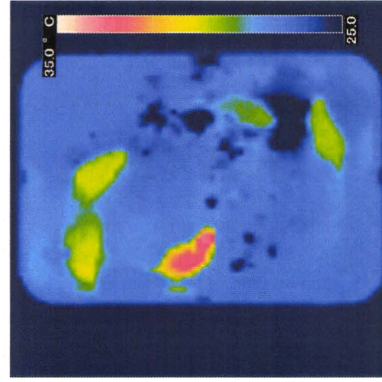
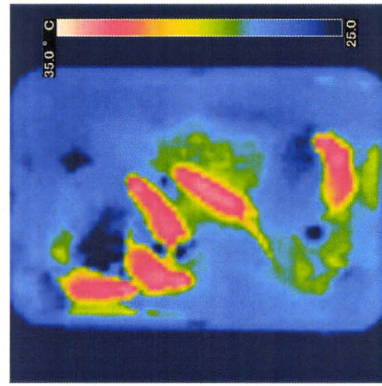
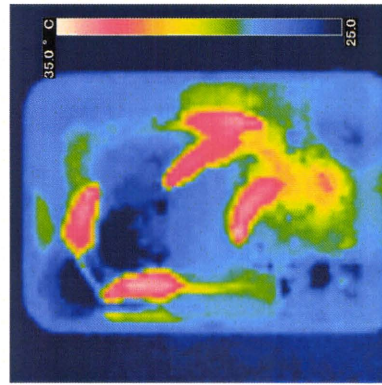
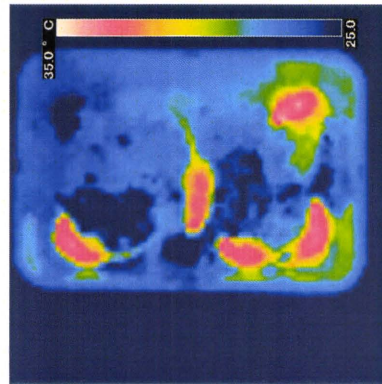


4 μ g/匹 OA 投与群



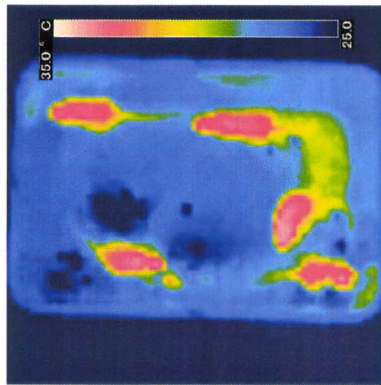
6 時間後

8 時間後

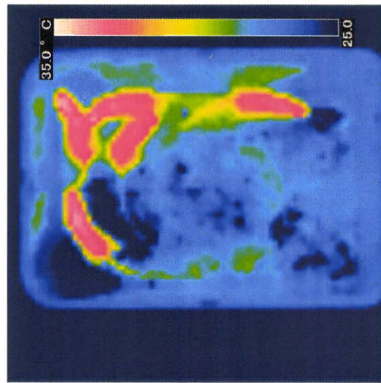


対照群

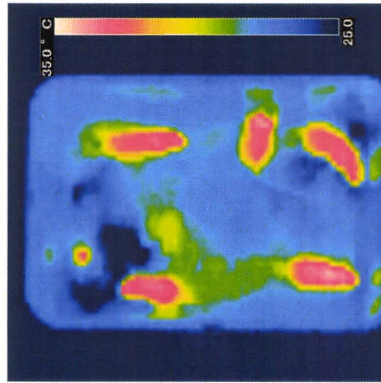
10 時間後



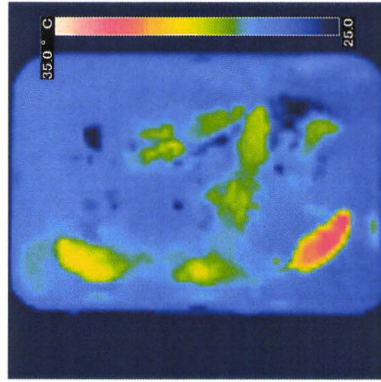
1 μ g/匹 OA 投与群



2 μ g/匹 OA 投与群

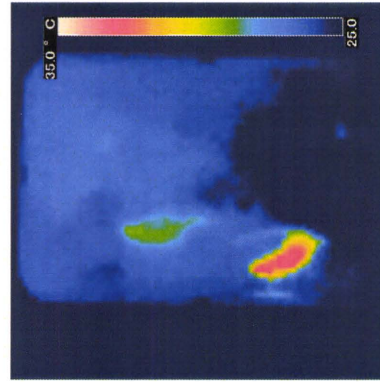
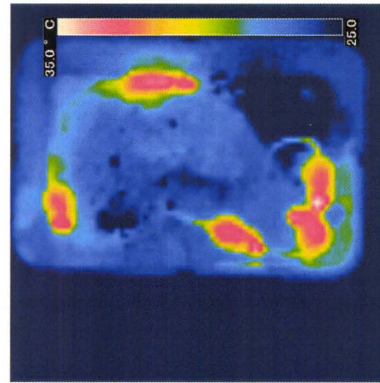
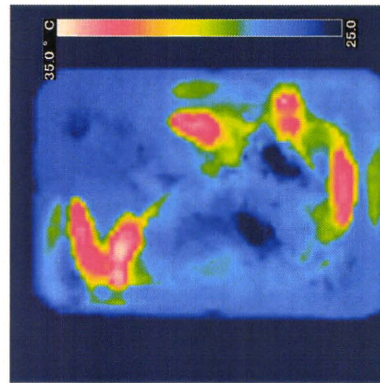
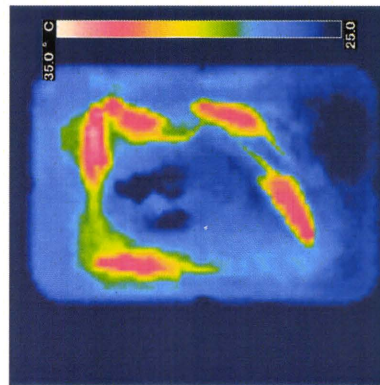


4 μ g/匹 OA 投与群



49

24 時間後



5 匹中 3 匹が投与 10 時間後以降、
斃死し、2 匹が生存した

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：5. オカダ酸投与によるマウスの体温変化 マウス系統差に関する研究

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

本年度、本研究に先行して行った「1. オカダ酸に対するマウスの系統差に関する研究」において、下痢性貝毒、オカダ酸に対する感受性にはマウスの系統により大きな差が認められることを報告した。本研究では、各系統マウスの感受性の差についてさらに調べるため、先行研究において見出した指標である体温低下に着目し、各系統マウスの比較を行った。

下痢性貝毒に対する感受性(生存時間)の系統差については、先行の研究と同様の結果が得られた。体温低下に関しては、すべての系統のマウスで対照群に比べて投与群では著しい体温低下が投与1時間後から認められ、下痢性貝毒投与によるマウスの体温低下が普遍的な現象であることが示された。系統間の比較から、下痢性貝毒に対する感受性は下痢性貝毒によって引き起こされる体温低下の程度では説明できず、循環不全・低体温に対する感受性がマウスの系統によって異なっていることが原因ではないかと推測された。

A. 研究目的

本年度、先行して行った「1. オカダ酸に対するマウスの系統差に関する研究」において、致死量のオカダ酸を各系統のマウスに腹腔内投与したところ、その致死率や致死時間に系統間で有意差が見られ、下痢性貝毒(オカダ酸)に感受性の系統と抵抗性の系統のマウスが存在す

ることが明らかとなった。

本研究では、各系統マウスの感受性の差についてさらに調べるため、まず、先行研究において見出した指標である体温低下について各系統マウスの間で比較を行った。

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。マウスは4~5週齢、体重16~21g、雄のC3H/He、C57BL/6、DBA/2、ICRの4系統のマウスを(日本エスエルシーから購入)用いた。各系統4匹のマウスに4 μ 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各系統4匹のマウスに1ml腹腔内投与した。投与前と投与10時間後までの1時間ごと、そして投与24時間後に、マウスの直腸温を測定した。直腸温の測定にはテルモファイナー CTM-303 とカテーテル型プローブ(テルモ株式会社)を用い、1匹につき30秒間保持し、数値が安定したところで測定値とした。

C. 研究結果

致死量(4 μ g/ml/匹)のオカダ酸を投与した各系統マウスの体温(直腸温)の推移を図1.1~4に示した。

今回は4系統ともに、投与24時間以内にすべてのマウスが斃死した。ICRマウスでは4匹中2匹が投与3時間以内に斃死し、投与7時間以内に4匹全てが斃死した。C57BL/6マウスでは4匹中3匹が投与3時間以内に斃死し、投与5時間以内に4匹全てが斃死した。一方、C3H/Heマウス

では4匹中1匹が投与5時間以内、1匹が8時間以内に斃死したが、残りの2匹は投与10時間以降まで生存していた。また、DBA/2マウスでは4匹中1匹が投与6時間以内、1匹が8時間以内、1匹は10時間以内に斃死し、残りの1匹は投与10時間以降まで生存していた。この生存時間の傾向は、先行研究の感受性系統と抵抗性系統の結果と一致しており、再現性が示された。

体温に関しては、各系統マウスともに、オカダ酸投与群では対照群に比べ、投与1時間後から有意に低下していた。体温低下の程度をマウスの系統間で比較するため、投与1時間後、2時間後までの体温の低下率を表1に示した。体温の低下率は、ICR、C57BL/6、DBA/2マウスでは投与1時間後で10%程度、2時間後に20%程度と急激であった。一方、C3H/Heマウスでは投与1時間後で6%程度、2時間後に12%程度と体温低下が若干緩やかであった。投与1時間後、2時間後ともにC3H/Heマウスと他の3系統のマウスの体温の低下率には有意差が認められた。対照群ではいずれの系統においても、体温の低下率は1.2%以下であり、ほとんど変化は見られなかった。

D. 考察

本研究に先行して行った「1. オカダ

酸に対するマウスの系統差に関する研究」において、DBA/2 系統、C3H/He 系統は下痢性貝毒抵抗性、C57BL/6 系統、ICR 系統は下痢性貝毒感受性と結論づけたが、本研究においても、結果に再現性が認められた。

いずれの系統のマウスにおいても、オカダ酸投与後の体温低下は著明であったが、C3H/He 系統では体温低下の進行が若干遅い傾向が認められた。しかし、同じく下痢性貝毒に抵抗性を示す DBA/2 系統では体温の低下率は感受性の C57BL/6 系統、ICR 系統と同程度であり、体温低下の低下が遅いことだけでは下痢性貝毒に対する感受性・抵抗性を説明できない。図 1.1~4 を見ると、感受性系統のマウスでは体温が 30℃を下回ると、すぐに斃死してしまう個体が多いが、抵抗性系統のマウスでは体温が 30℃を下回った後も数時間以上生存し、体温が 25℃前後まで低下してから斃死する個体が多い。これらのことから、下痢性貝毒に対して抵抗性系統のマウスは循環不全、低体温に対して抵抗性が強く、感受性系統のマウスは循環不全、低体温に対して抵抗性が弱いということが考えられる。この点に関しては今後、検証したいと考えている。

低下した体温(温度)そのものではなく、体温低下率((投与前の体温-投与1時間、あるいは2時間後の体温)/投与前の体温

*100)でマウス系統間の比較を行ったのは、系統間で平常時(投与前)の体温に若干の違いがあったためである。

E. 結論

本年度の先行研究において、下痢性貝毒(オカダ酸)に対する感受性にマウスの系統差があることを明らかにした。本研究は追試のために行った研究ではないが、斃死するまでの時間を見る限り、DBA/2 系統、C3H/He 系統を抵抗性、C57BL/6 系統、ICR 系統を感受性と結論付けた先行研究の結果を支持する結果となっていた。

昨年度の研究より下痢性貝毒投与後に著しい変動を示し、簡便に測定できる指標として、マウスの体温低下に着目して調べてきた。本研究においても、すべての系統のマウスで対照群に比べて投与群では著しい体温低下が投与1時間後から認められ、下痢性貝毒投与によるマウスの体温低下が普遍的な現象であることが示された。系統間の比較では、抵抗性の C3H/He 系統で体温低下が緩やかであるという結果が得られたが、同じく抵抗性の DBA/2 系統では体温低下は C57BL/6、ICR と言った感受性系統と同程度であり、下痢性貝毒に対する感受性の違いを体温低下の程度で説明することはできなかった。

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

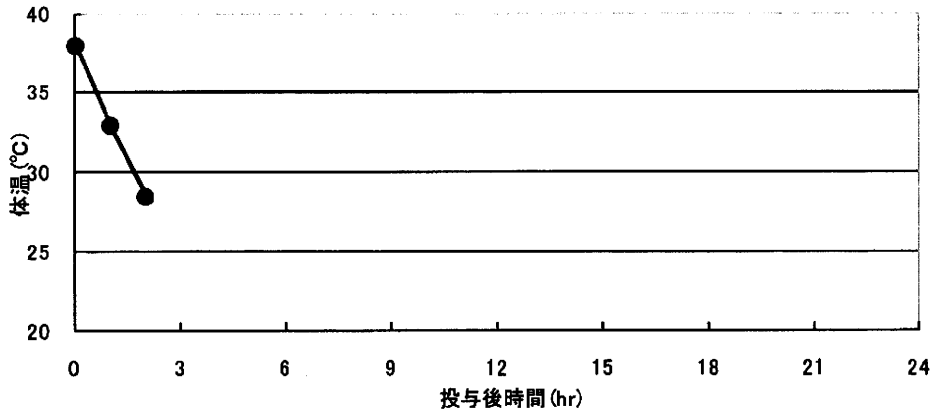
なし

表 1 オカダ酸投与後のマウスの体温変化(体温の低下率)

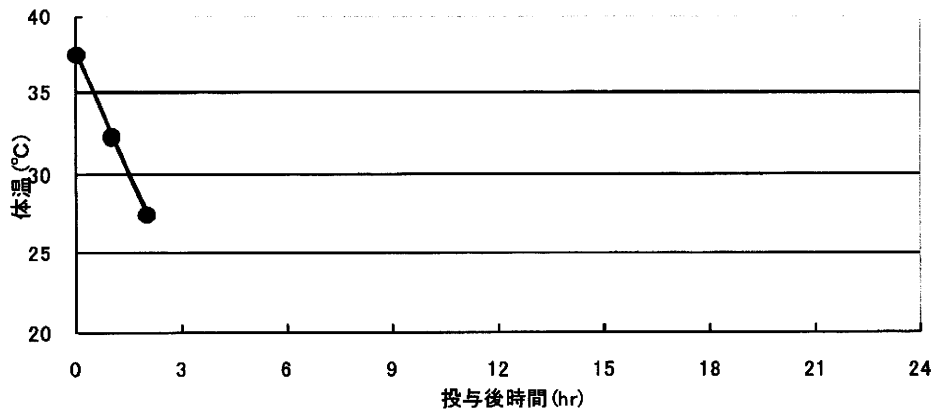
OA 投与群		
	1 時間後	2 時間後
ICR	12.89±1.28%	23.60±2.88%
C3H/He	6.12±1.93%	11.64±3.62%
C57BL/6	10.83±1.33%	20.68±1.64%
DBA/2	9.89±1.48%	17.76±1.88%
対照群		
	1 時間後	2 時間後
ICR	1.07±0.78%	0.53±0.71%
C3H/He	0.13±1.61%	0.33±0.70%
C57BL/6	0.39±0.76%	1.17±1.36%
DBA/2	0.66±0.51%	0.00±0.22%

図 1.1 オカダ酸投与後のマウスの体温変化
(ICR 系統・OA 投与)

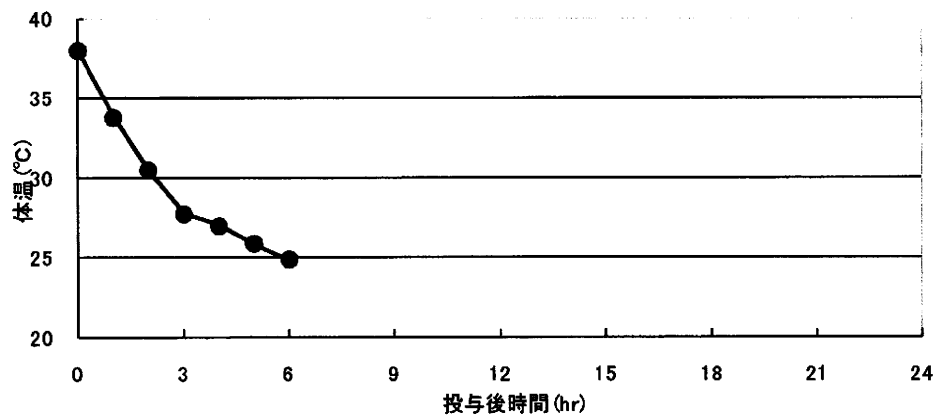
OA投与ICRマウスNo.1



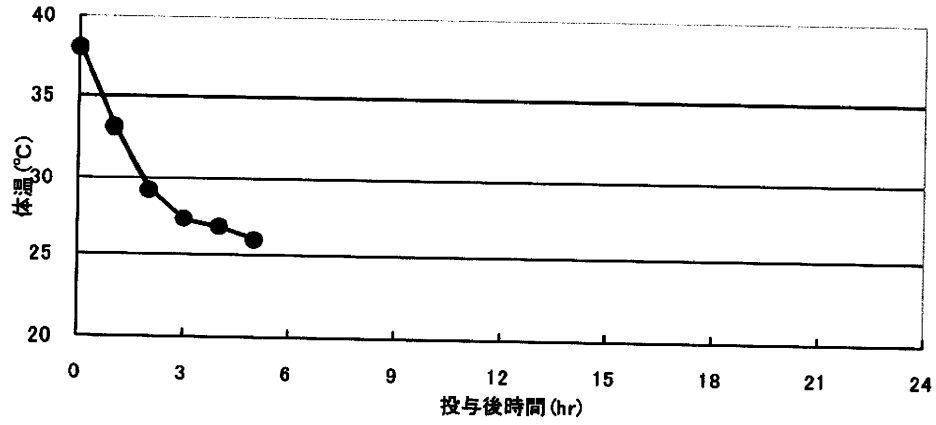
OA投与ICRマウスNo.2



OA投与ICRマウスNo.3

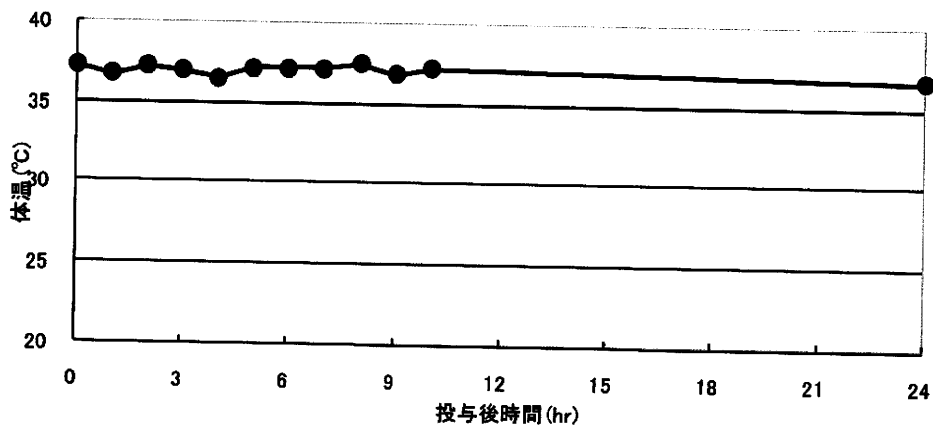


OA投与ICRマウスNo.4

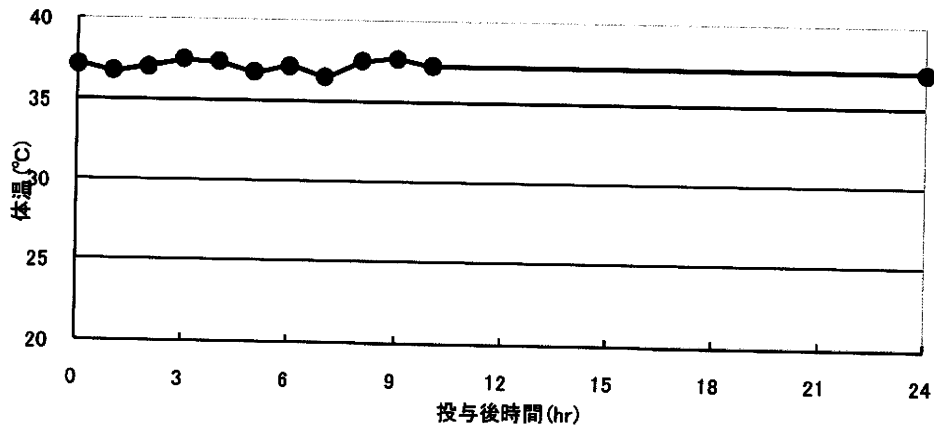


(ICR 系統・対照)

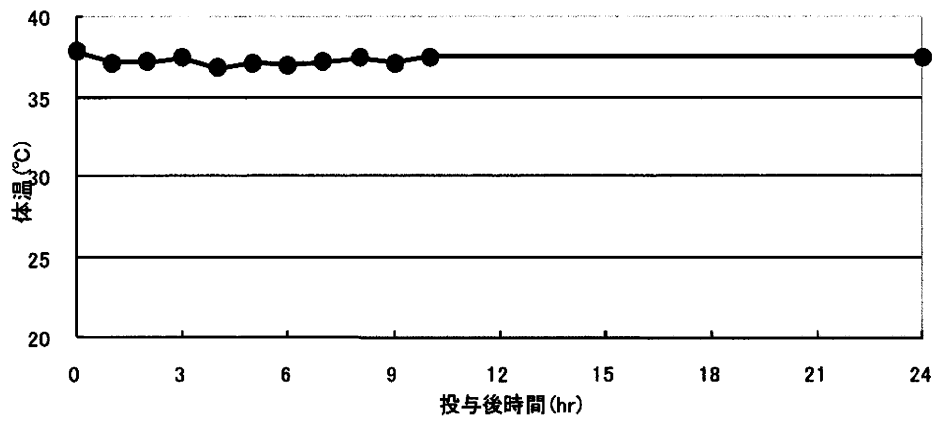
対照ICRマウスNo.1



対照ICRマウスNo.2



対照ICRマウスNo.3



対照ICRマウスNo.4

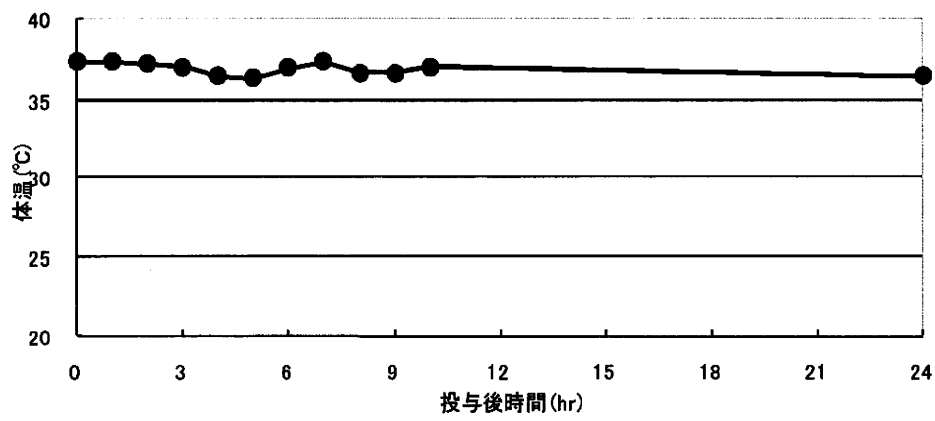
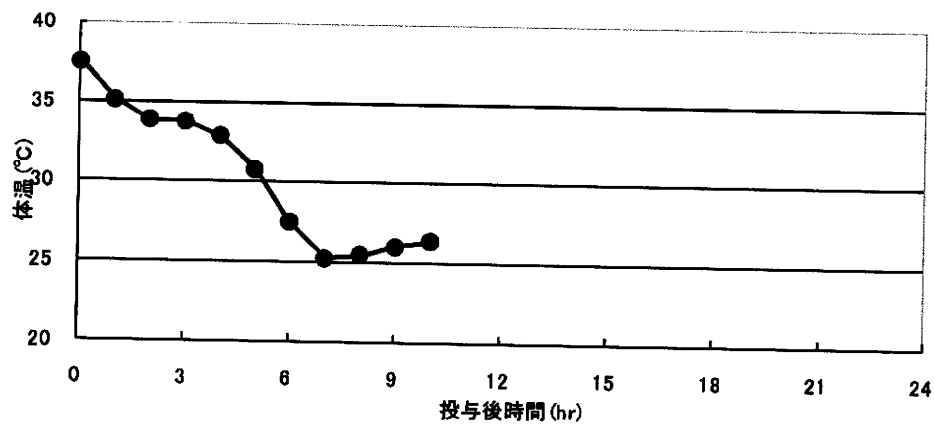
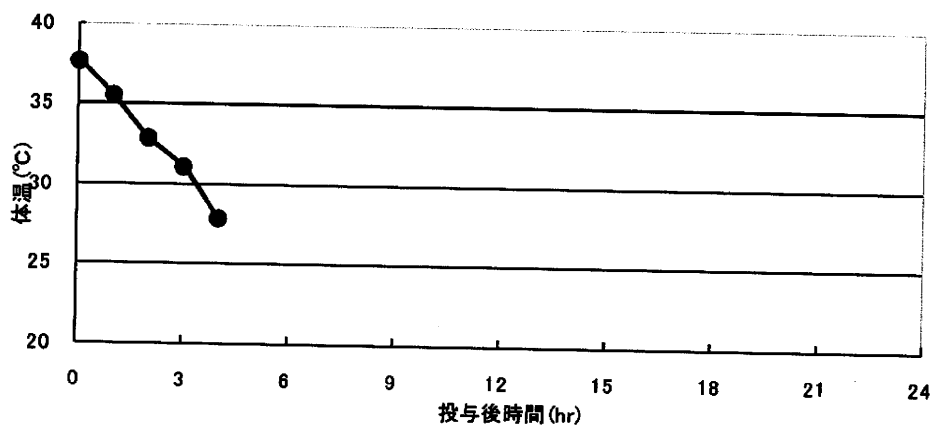


図 1.2 オカダ酸投与後のマウスの体温変化
(C3H/He 系統・OA 投与)

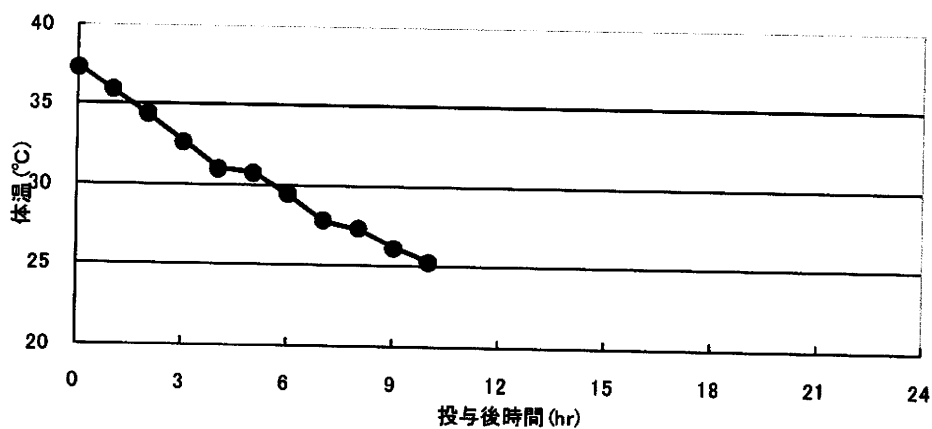
OA投与C3H/HeマウスNo.1



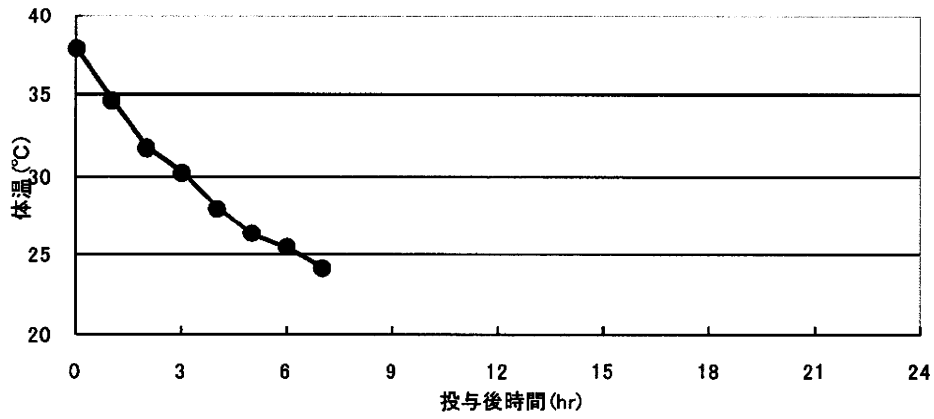
OA投与C3H/HeマウスNo.2



OA投与C3H/HeマウスNo.3

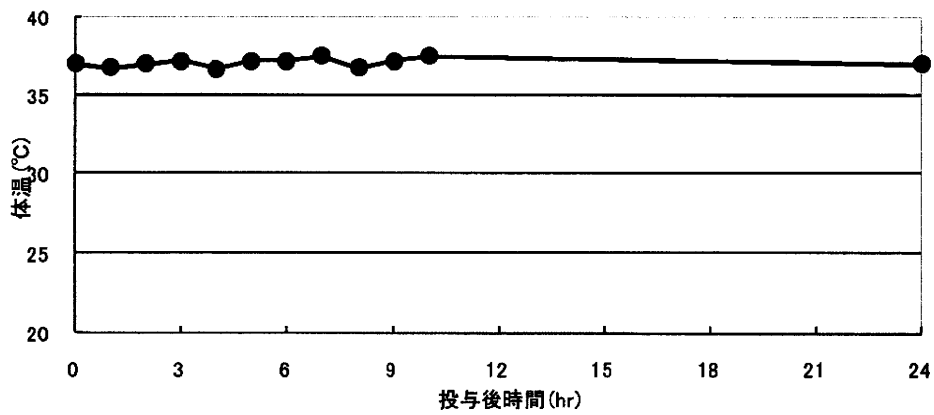


OA投与C3H/HeマウスNo.4

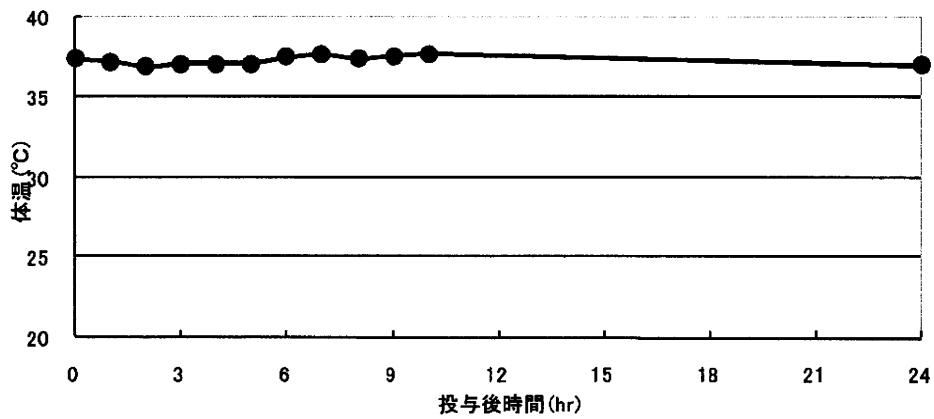


(C3H/He 系統・対照)

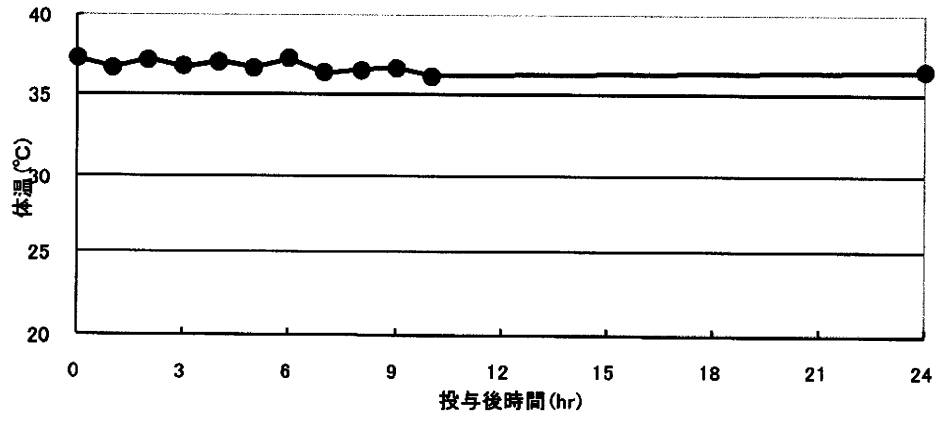
対照C3H/HeマウスNo.1



対照C3H/HeマウスNo.2



対照C3H/HeマウスNo.3



対照C3H/HeマウスNo.4

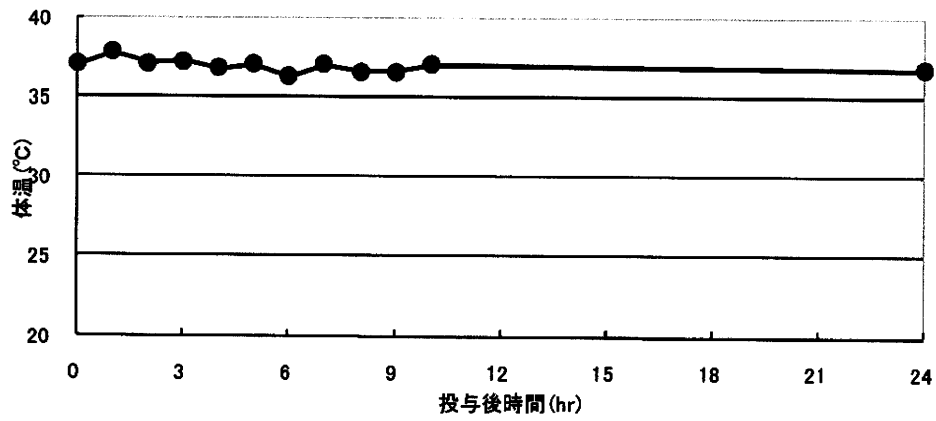
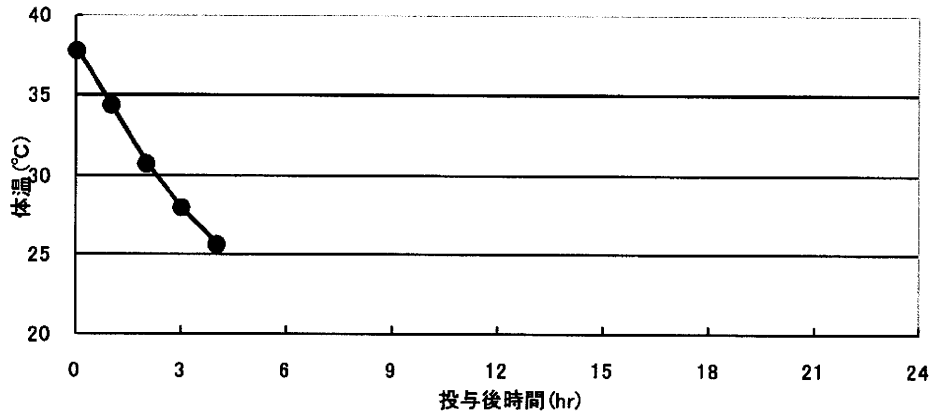
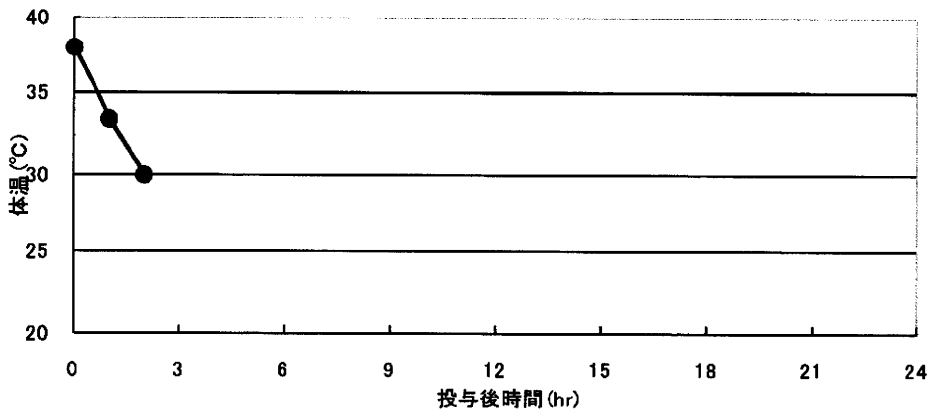


図 1.3 オカダ酸投与後のマウスの体温変化
(C57BL/6 系統・OA 投与)

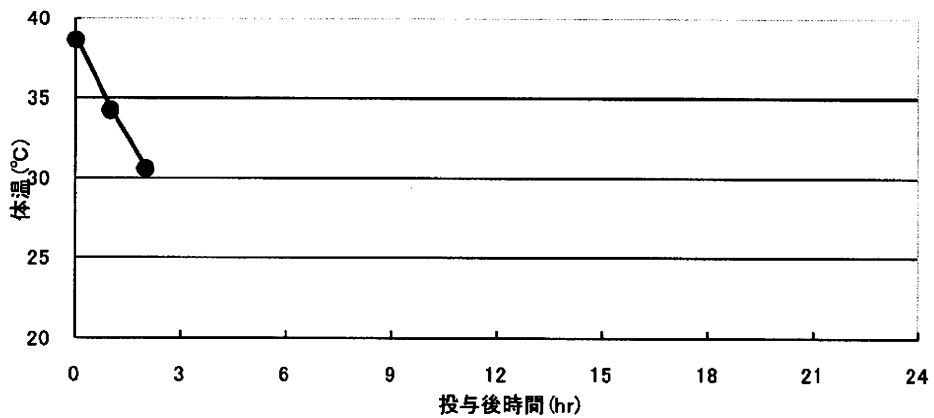
OA投与C57BL/6マウスNo.1



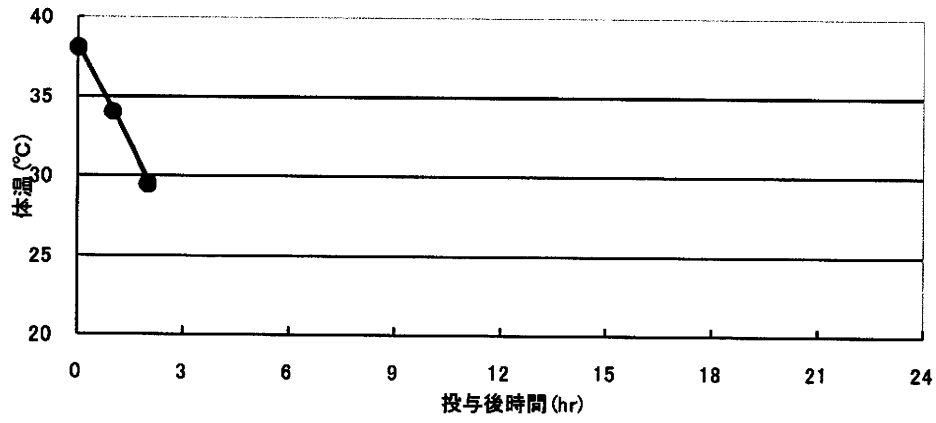
OA投与C57BL/6マウスNo.2



OA投与C57BL/6マウスNo.3

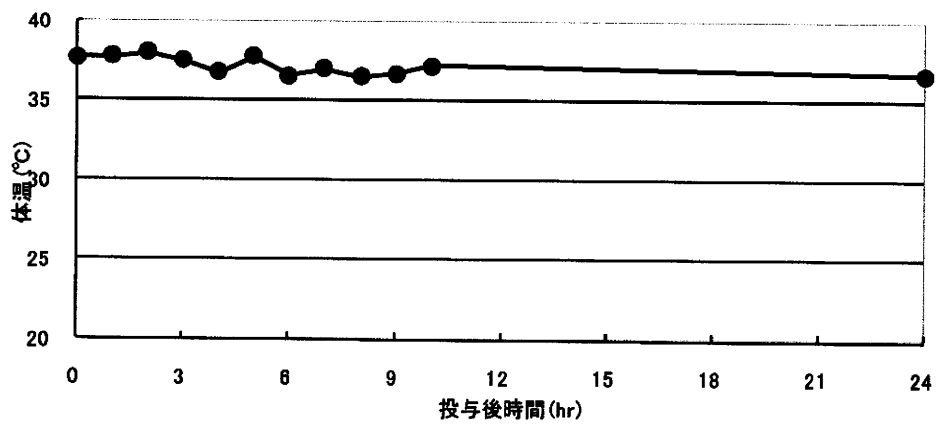


OA投与C57BL/6マウスNo.4

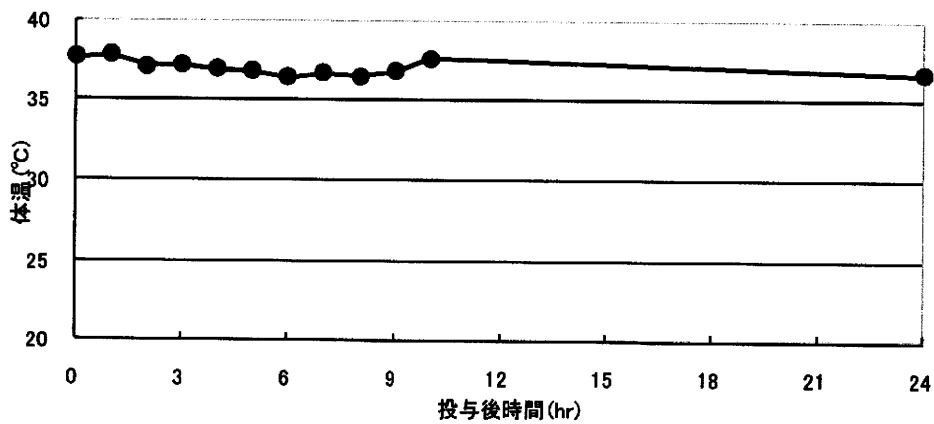


(C57BL/6 系統・対照)

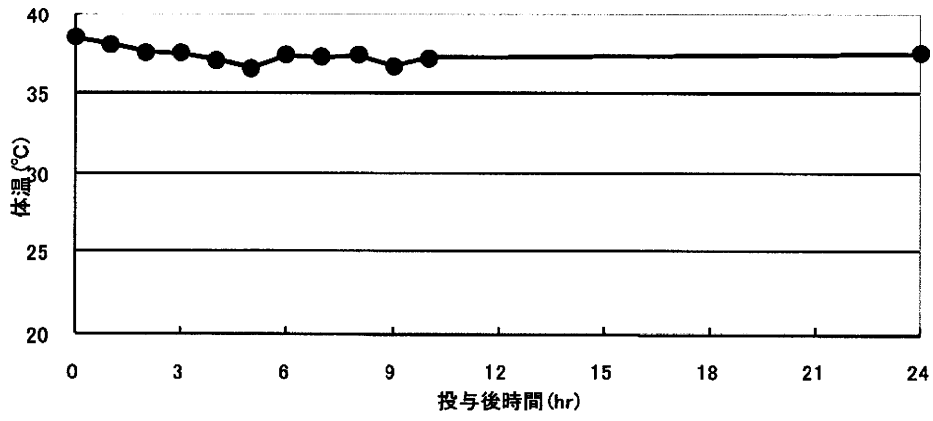
対照C57BL/6マウスNo.1



対照C57BL/6マウスNo.2



対照C57BL/6マウス3



対照C57BL/6マウス4

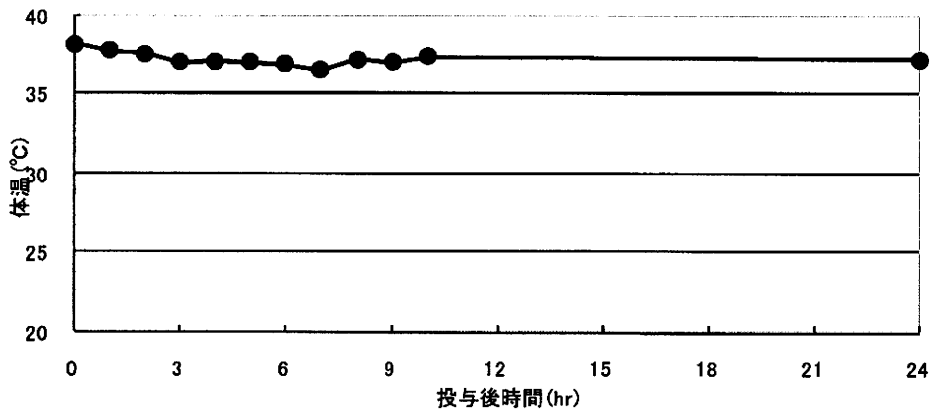
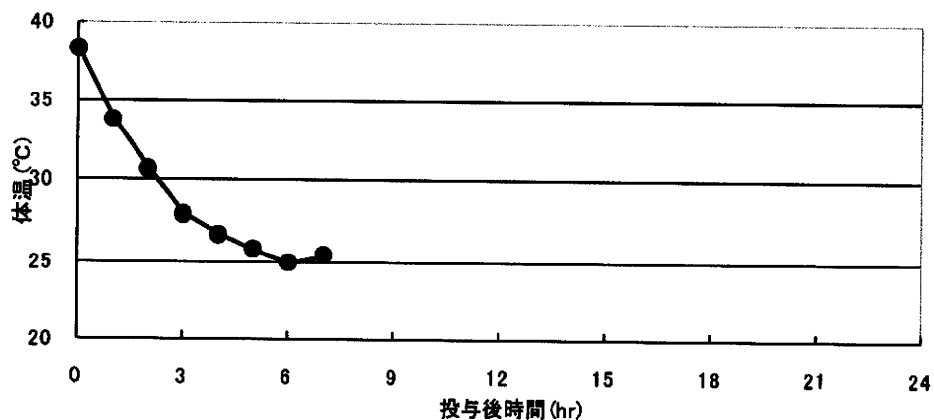
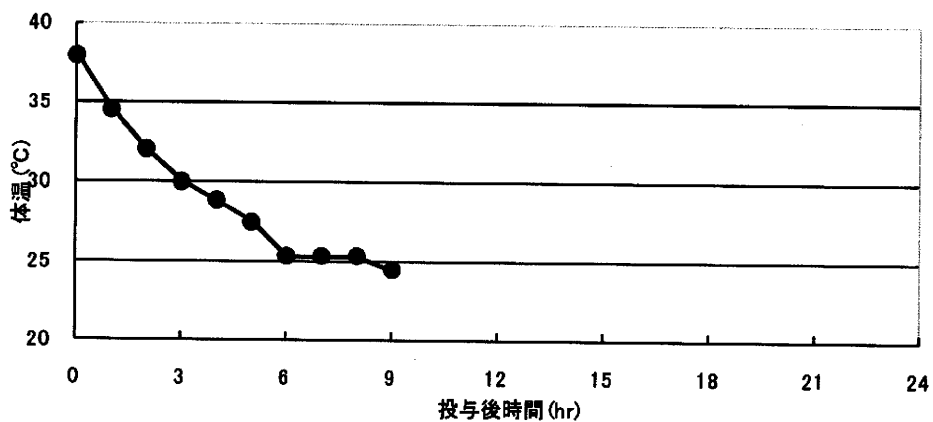


図 1.4 オカダ酸投与後のマウスの体温変化
(DBA/2 系統・OA 投与)

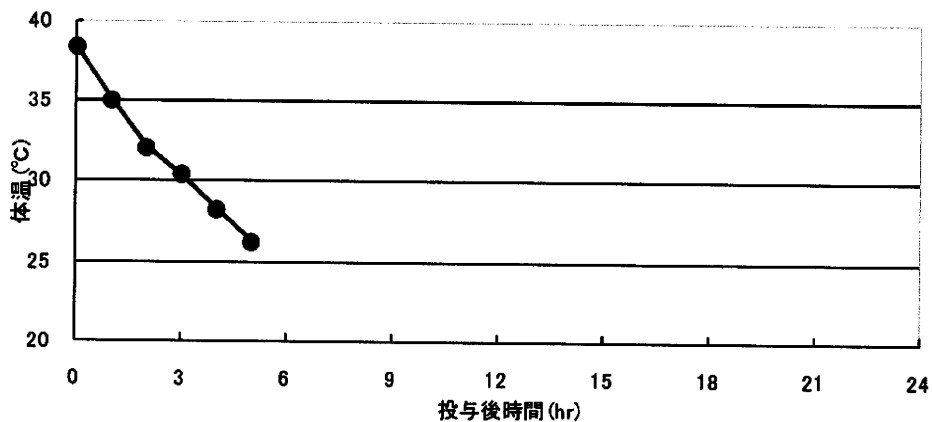
OA投与DBA/2マウスNo.1



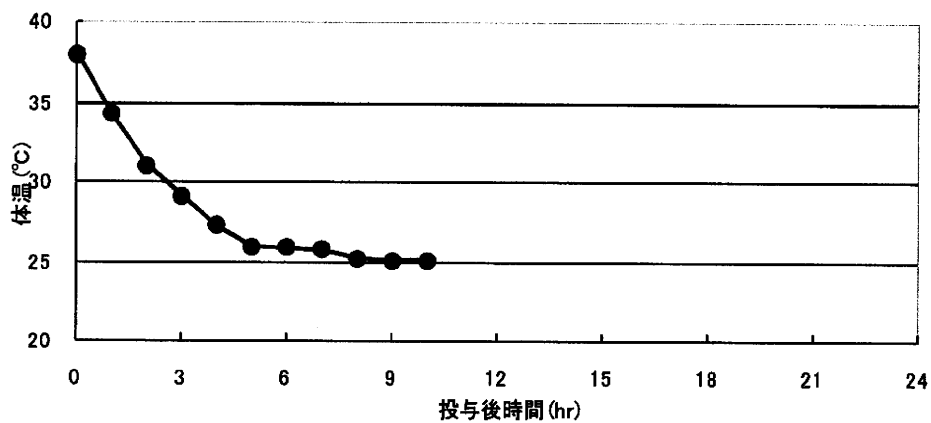
OA投与DBA/2マウスNo.2



OA投与DBA/2マウスNo.3

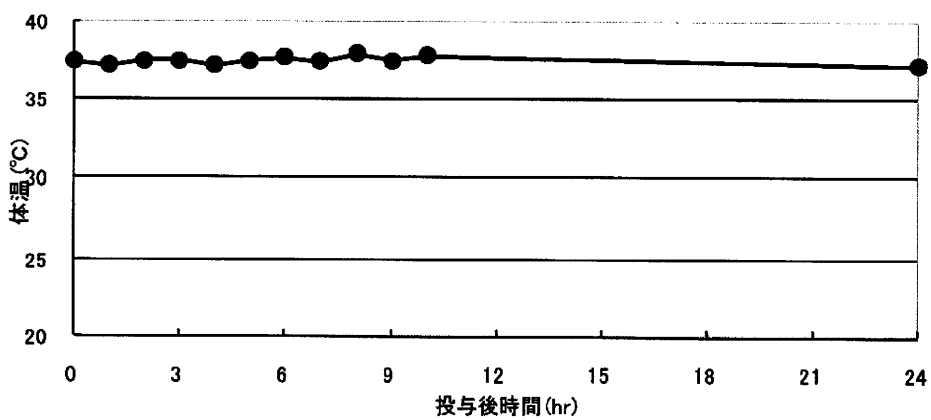


OA投与DBA/2マウスNo.4



(DBA/2 系統・対照)

対照DBA/2マウスNo.1



対照DBA/2マウスNo.2

