

ここで、トラフグ肝組織切片におけるTTX取り込みの選択性(基質特異性)を調べるため、トラフグ肝組織切片をPSP含有培養液で48時間培養して、TTX含有培養液で培養したときの結果と比較した。トラフグ肝組織切片を $0.13 \mu\text{mol/ml}$ PSPを含む培養液で培養したとき、肝組織切片から $5\sim 7 \mu\text{g/g}$ 程度のPSPが検出されたが、培養時間を12時間から48時間に延長してもPSP量は増加しなかった(図11)²⁹⁾。これに対し、同じ濃度のTTXで培養した場合には、肝組織切片のTTX量は培養時間とともに増加し、培養12時間後 $21.5 \pm 7.3 \mu\text{g/g}$ だったTTX量は48時間後に $55.3 \pm 8.2 \mu\text{g/g}$ に達し、PSPとTTXでトラフグ肝臓への取り込みの様子が著しく異なった。このことから、トラフグ肝臓はTTXとPSPを区別してTTXを選択的に取り込んでいることが明らかになった。

次に、肝臓に取り込まれたTTXは肝細胞のどこに、どのような形態で存在しているのかを明らかにするため、ショウサイフグとヒガンフグの肝臓を用いて、肝細胞オルガネラにおけるTTXの分布を調べた。遠心分離法で細胞分画した血球画分、核画分、ミトコンドリア画分、ミクロソーム画分および細胞質画分の中で、80%以上のTTXが細胞質画分に検出され、ほとんどが遊離型であった²⁹⁾。これとは別に、コモンフグおよびショウサイフグの有毒肝臓からゲル濾過クロマトグラフィーで調製した高分子画分をRNaseまたはプロテアーゼや塩酸で加水分解すると、TTXあるいはTTX関連化合物が検出されたことから、フグ毒の一部は高分子生体成分と結合して存在していることが示唆された^{24, 25)}。

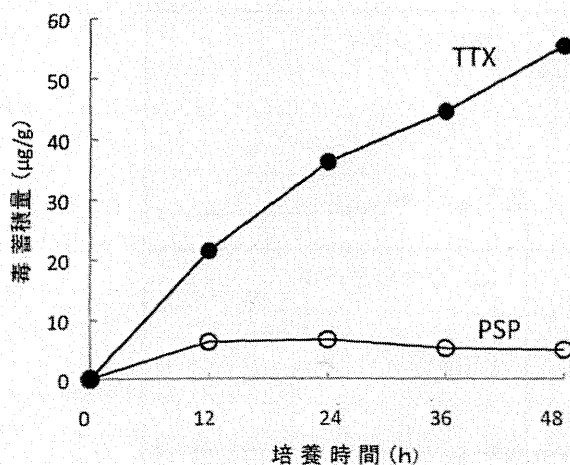


図11. トラフグ肝組織切片における麻痺性貝毒とテトロドトキシンの蓄積

●; テトロドトキシシン (TTX)、○; 麻痺性貝毒 (PSP)。肝組織切片を、麻痺性貝毒またはテトロドトキシシン ($0.13 \mu\text{mol/ml}$) を含む新生児ウシ血清添加Leibovitz's L-15培地中、 20°C で48時間培養した。データは平均値 ($n=3$) で示す。

4-2. 血漿のタンパク質

フグの毒化への関与や機能については明らかにされていないが、フグ科トラフグ属の血漿中にはTTX結合タンパク質が存在することが報告されている^{26, 27)}。最初、Matsuiらがクサフグ血漿からTTX結合タンパク質を見出し²⁶⁾、その後、Yotsu-Yamashitaらは、ヒガンフグ血漿からPSPのサキシトキシン (STX) と結合するタンパク質を単離し、一次構造を決定した。このSTX結合タンパク質は、TTXによりSTXの結合が阻害されたため、TTXとも結合することがわかり、puffer fish saxitoxin and tetrodotoxin binding protein (以下、PSTBPと略す) と命名された²⁷⁾。PSTBPはSTXに対する親和性が強く、STXの解離定数Kdは 14.6 nM であった。 ^3H -STXの結合を50%阻害するために必要なTTX濃度は $81 \mu\text{M}$ で、STX濃度 ($0.35 \mu\text{M}$) の100倍以上必要であることから、STXに比べPSTBPのTTX結合力は弱いと考えられる²⁸⁾。

PSTBPの魚種間分布を、リコンビナントPSTBPに対するポリクローナル抗体との抗原交差性を指標にして調べたところ、クサフグとヒガンフグ以外にもトラフグ属のトラフグ、コモンフグ、ショウサイフグ、ナシフグ、マフグの血漿で陽性反応がみられたが、一般魚であるクロソイ、アイナメ、ババガレイ (ナメタガレイ)、ヒラメでは陰性であった²⁹⁾。また、ヒガンフグにおけるPSTBPの組織間分布は雌雄による差はなく、調べたすべての組織(心臓、肝臓、腎臓、脾臓、消化管、皮膚、筋肉、卵巣、精巣、胆嚢、鰓)で検出されたものの、毒性の高い肝臓や卵巣よりも皮膚に多く存在していた²⁹⁾。

このPSTBPはヒラメ血漿から見出されたトリブチルスズ結合タンパク質TBT-bpと高い相同性を示した³⁰⁾。トリブチルスズ結合タンパク質TBT-bpは体内の有害トリブチルスズを皮膚に運搬し、体外に排出する働きがあること、そして、PSTBPは皮に多く存在していることから、PSTBPはフグ体内でのTTXの移動、特に皮膚への運搬あるいは貯蔵に関与しているのかもしれない。TTXはPSTBPをもたないアイナメの血漿タンパク質とも結合し、さらにはフグ毒とは関連がないと思われるウシ由来の血清アルブミンや $\alpha 1$ -酸性糖タンパク質とも非特異的に結合することも報告されており³¹⁾、フグの毒化にはここで紹介したタンパク質以外の多くのタンパク質が複雑に関与していると推測される。

5. フグにおけるフグ毒の役割

本稿の最後に、フグはなぜ猛毒のTTXをもつのか、フグにおけるフグ毒の役割に関する研究例をいくつか紹介したい。

フグは他の魚種に比べればTTXに対する耐性は高いものの、TTXを投与すると痺れ、投与量が多ければ死亡する。筆者らが、養殖トラフグ(体重550~860 g)に精製したTTXを筋肉内に単回投与したところ、体重1 kgあたり0.5~0.7 mgで麻痺が起こりしばらく水槽中で横たわっていたが、4時間後には回復した。しかし、1 mg/kg体重のTTXを投与したトラフグは1時間後に死亡した(未発表データ)。このように、トラフグと言えども多量のTTXを強制投与された場合には、麻痺を引き起こして死亡するのである。

フグにおけるTTXの役割として生体防御を示唆する報告があり、クサフグを刺激すると皮から著量のTTXを放出し、それが他魚種には忌避物質として作用することが報告されている³²⁻³⁴⁾。一方、フグにとってTTXは誘因物質として作用し、クサフグはTTXを含む餌を好み、雄のクサフグは生殖誘因されることが実験的に観察されている³⁵⁾。また、栽培養殖の現場ではトラフグはフグ同士の噛み合いが多く、餌にフグ毒を添加するとフグが落ち着くという話も聞く。

本田らは、フグはTTXを必要としているのではないかという仮説に基づき、毒をもたない養殖トラフグにフグ毒を添加した飼料を与えて飼育し、トラフグの免疫機能に及ぼす影響について調べた³⁶⁾。無毒飼料で飼育したトラフグに比べ、フグ毒添加飼料で飼育したトラフグでは、ヒツジ赤血球に対する抗体価と脾臓細胞の幼若化能が有意に高くなることを見出し、フグ毒にはトラフグに対する免疫賦活効果があることが推測された。筆者らは、この現象を遺伝子レベルで明らかにしようと、フグ毒をもたない養殖トラフグ(体重840~1140 g)の筋肉内にTTX溶液(0.5 mg TTX/kg体重)を投与して12時間後の肝臓におけるmRNAの発現パターンを、緩衝液を投与したトラフグ肝臓と比較した。その結果、鉄の代謝を制御するペプチドホルモンで抗菌活性をもつhepcidinや補体Complement C3など生体防御に関与する急性期応答タンパク質をコードする遺伝子の発現レベルが増大することを観察した³⁷⁾。

ごく最近、フグにおけるTTXの意義に迫る大変興味深い報告があった³⁸⁾。これまで、TTXは脊椎動物の血液脳関門を通過しないと考えられていたが、天然トラフグ稚魚

(体重4~24 g)の脳(小脳、延髄)からTTXが検出され、さらに視神経と嗅覚器にもTTXがみられた。一方、人工ふ化させた無毒の養殖トラフグ稚魚(平均体重3.6 g)ではTTXは検出されなかったが、これにTTXを含む飼料(25 MU/g飼料)を5日間与えたところ、天然トラフグ稚魚と同様に脳と中枢神経にTTXが検出され、確かにTTXが移行することが明らかにされた。TTXがトラフグの脳や中枢神経でどのような働きをしているのかは今後の課題だが、TTXがトラフグの行動に影響を与えることも予想され、フグとTTXは密接に関係していることが解き明かされるものと大いに期待される。

実験結果をジグソーパズルの1ピースとするなら、フグの毒化機構というジグソーパズルを完成させるには、あとどれくらいピースが必要なのだろうか。大学院生のときに、恩師が「1つわかったと思うと、2つわからないことが出てくる。研究に終わりはない。」とよく仰っていた言葉の意味がやっとわかるようになってきた。フグ毒化の全貌は想像以上に複雑で大きなパズルなのだろうか。

引用文献

- 1) "自然毒のリスクプロファイル", 厚生労働省, <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/> (2013年4月25日)。
- 2) 那珂川町里山温泉トラフグ研究会, 養殖, 596, 9-12(2010)。
- 3) T. Matsui, S. Hamada and S. Konosu, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47, 535-537(1981)。
- 4) 山森邦夫, 河野迪子, 古川清, 松居隆, *食品衛生学雑誌*, 45, 73-75(2004)。
- 5) 本田俊一, 荒川修, 高谷智裕, 橘勝康, 八木基明, 谷川昭夫, 野口玉雄, *日本水産学会誌*, 71, 815-820(2005)。
- 6) M. Kono, T. Matsui, K. Furukawa, M. Yotsu-Yamashita and K. Yamamori, *Toxicon*, 51, 1269-1273(2008)。
- 7) 野口玉雄, 高谷智裕, 荒川修, *食品衛生学雑誌*, 45, 146-149(2004)。
- 8) T. Noguchi, O. Arakawa and T. Takatani, *Comp. Biochem. Physiol. D*, 1, 153-157(2006)。
- 9) 野口玉雄, "フグはなぜ毒をもつのか", 日本放送出版協会, 1996。
- 10) 野口玉雄, "フグはフグ毒をつくらない", ベルソープックス036, 日本水産学会監修, 成山堂書店, 2010。
- 11) "フグ研究とトラフグ生産技術の最前線", 水産学シリーズ174, 長島裕二, 村田修, 渡部終五編, 日本水産学会監修, 恒星社厚生閣, 2012。
- 12) 塩見一雄, 長島裕二, "新・海洋動物の毒", 成山堂書店, 2013。
- 13) T. Matsumoto, Y. Nagashima, Y. Kusuhara, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi, *Toxicon*, 51, 1051-1059(2008)。
- 14) T. Matsumoto, Y. Nagashima, Y. Kusuhara, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi, *Toxicon*, 52, 369-374(2008)。
- 15) J. Wang, T. Araki, R. Tatsuno, S. Nina, K. Ikeda, M. Hamasaki, Y. Sakakura, T. Takatani and O. Arakawa, *Toxicon*, 58, 565-569(2011)。
- 16) Y. Nagashima, M. Toyoda, M. Hasobe, K. Shimakura and K.

- Shiomi, *Toxicon*, 41, 569-574(2003).
- 17) T. Matsumoto, Y. Nagashima, Y. Kusuhara, Y. Sugiyama, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi, *Toxicon*, 50, 173-179 (2007).
 - 18) S. Sato, T. Ogata, V. Borja, C. Gonzales, Y. Fukuyo and M. Kodama, *Toxicon*, 38, 1101-1109(2000).
 - 19) K. Nakashima, O. Arakawa, S. Taniyama, M. Nonaka, T. Takatani, K. Yamamori, Y. Fuchi and T. Noguchi, *Toxicon*, 43, 207-212(2004).
 - 20) J. H. Landsberg, S. Hall, J. N. Johannessen, K. D. White, S. M. Conrad, J. P. Abbott, L. J. Flewelling, R. W. Richardson, R. W. Dickey, E. L. E. Jester, S. M. Etheridge, J. R. Deeds, F. M. V. Dolph, T. A. Leighfield, Y. Zou, C. G. Beaudry, R. A. Benner, P. L. Rogers, P. S. Scott, K. Kawabata, J. L. Wolny and K. A. Steidinger, *Environ. Health Perspect.*, 114, 1502-1507(2006).
 - 21) L. Ngy, K. Tada, C.-F. Yu, T. Takatani and O. Arakawa, *Toxicon*, 51, 280-288(2008).
 - 22) T. Matsumoto, Y. Nagashima, K. Takayama, K. Shimakura and K. Shiomi, *Fish Physiol. Biochem.*, 31, 95-100(2005).
 - 23) Y. Nagashima, Y. Hamada, H. Ushio, S. Nishio, K. Shimakura and K. Shiomi, *Toxicon*, 37, 1833-1837(1999).
 - 24) M. Kodama, T. Noguchi, J. Maruyama, T. Ogata and K. Hashimoto, *J. Biochem.*, 93, 243-247(1983).
 - 25) Y. Nagashima, T. Nagai, K. Shiomi, M. Tanaka, T. Taguchi and Y. Shida, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1177-1182(1993).
 - 26) T. Matsui, K. Yamamori, K. Furukawa and M. Kono, *Toxicon*, 38, 463-468(2000).
 - 27) M. Yotsu-Yamashita, A. Sugimoto, T. Terakawa, Y. Shoji, T. Miyazawa and T. Yasumoto, *Eur. J. Biochem.*, 268, 5937-5946 (2001).
 - 28) M. Yotsu-Yamashita, Y. Shoji, T. Terakawa, S. Yamada, T. Miyazawa and T. Yasumoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 2520-2524(2002).
 - 29) M. Yotsu-Yamashita, H. Yamaki, N. Okoshi and N. Araki, *Toxicon*, 55, 1119-1124(2010).
 - 30) Y. Oba, Y. Shimasaki, Y. Oshima, H. Satone, T. Kitano, M. Nakao, S. Kawabata and T. Honjo, *J. Biochem.*, 142, 229-238 (2007).
 - 31) T. Matsumoto, D. Tanuma, K. Tsutsumi, J.-K. Jeon, S. Ishizaki and Y. Nagashima, *Toxicon*, 55, 415-420(2010).
 - 32) M. Kodama, T. Ogata and S. Sato, *Mar. Biol.*, 87, 199-202 (1985).
 - 33) T. Saito, T. Noguchi, T. Harada, O. Murata and K. Hashimoto, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51, 1175-1180(1985).
 - 34) K. Yamamori, M. Nakamura, T. Matsui and T. J. Harada, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45, 2182-2186(1988).
 - 35) K. Matsumura, *Nature*, 378, 563-564(1995).
 - 36) 本田俊一, 一部哲哉, 荒川修, 高谷智裕, 橘勝康, 八木基明, 谷川昭夫, 野口玉雄, *水産養殖*, 53, 205-210(2005).
 - 37) T. Matsumoto, S. Ishizaki and Y. Nagashima, *Toxicon*, 57, 304-310(2011).
 - 38) K. Okita, T. Takatani, J. Nakayasu, H. Yamazaki, K. Sakiyama, K. Ikeda, O. Arakawa and Y. Sakakura, *Toxicon*, 71, 128-133 (2013).

PROFILE

長島 裕二

東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科
教授
農学博士



1982年東京水産大学大学院食品生産化学専攻修士課程修了、1984年東京水産大学食品工学科助手、1992年同大学食品生産学学科助教授、2003年東京海洋大学食品生産学学科助教授、2004年同教授、現在に至る。

松本 拓也

県立広島大学生命環境学部環境科学科
助教
博士(海洋科学)



2003年東京水産大学水産学部食品生産学科学卒業、2008年東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科博士後期課程修了、同年同大学博士研究員、2010年日本学術振興会特別研究員-PD、2012年10月より現職。

