

琉球大学学術リポジトリ

[報文]ハブのトレース誘引刺激物質の開発1： 餌動物体表の臭いに由来する化学成分

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): ハブ, 誘引物質, マウス, 皮脂, トレース行動, 超音波溶出法 キーワード (En): Protobothrops flavoviridis, Stimulant, mouse, lipid, trace behavior, Ultra sonic-method 作成者: 新屋敷, 博人, 寺田, 考紀, 荻原, 和仁, 西村, 昌彦, 玉那覇, 康二, SHINYASHIKI, Hiroto, TERADA, Koki, OGIHARA, Kazuhito, NISHIMURA, Masahiko, TAMANAHARA, Koji メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016630

ハブのトレース誘引刺激物質の開発 I — 餌動物体表の臭いに由来する化学成分 —

新屋敷博人¹・寺田考紀²・荻原和仁³・西村昌彦⁴・玉那覇康二²

¹株式会社 トロピカルテクノセンター

²沖縄県衛生環境研究所衛生科学班

³琉球大学理学部

⁴沖縄県中部福祉保健所

Development of trace inducing stimulants for Habu (*Protobothrops flavoviridis*) I : Chemical components generated from odor of bait animal's body surface

Hiroto SHINYASHIKI¹, Koki TERADA², Kazuhito OGIHARA³,
Masahiko NISHIMURA⁴ and Koji TAMANAHA²

¹Tropical Technology Center, 5-1, Suzaki, Urma-city, Okinawa 901-2234, Japan

²Department of Biological Sciences Okinawa Prefectural Institute of Health
and Environment, 2003, Ozato, Nanjo-city, Okinawa, 901-1202, Japan

³Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus,
1, Senbaru, Nishihara, Okinawa, 903-0213, Japan

⁴Chubu Regional Public Health and Welfare Center,
1-6-28, Mihara, Okinawa-city, Okinawa, 904-2155, Japan

キーワード：ハブ、誘引物質、マウス、皮脂、トレース行動、超音波溶出法

Key word : *Protobothrops flavoviridis*, Stimulant, mouse, lipid, trace behavior, Ultra sonic-method

I はじめに

1. 背景

現在、沖縄県にはハブ (*Protobothrops flavoviridis*)、サキシマハブ (*P. elegans*)、ヒメハ

ブ (*Oviphis okinavensis*)、台湾ハブ (*P. mucrosquamatus*) が生息している。

沖縄県下における毒ヘビによる咬傷者数は1967年(昭和42年)の549人をピークに減少しているが、2007年(平成19年)においても、年間100人前後が咬傷被害を受けている¹⁾。さらに、咬傷事故に至らない偶発的なハブとの遭遇や脱皮殻の目撃などの数はさらに大きなものとなっている。これらが与える脅威は周辺住民の社会活動、生産活動を無意識のうち

¹〒904-2234 沖縄県うるま市州崎5-1

²〒901-1202 沖縄県南城市大里2003

³〒903-0213 沖縄県中頭郡西原町千原1番地

⁴〒904-2155 沖縄県沖縄市美原1-6-28

に縮小させる悪影響がある²⁾。ハブの存在が至極当然、という意識と咬傷事故が年間を通して時期、場所も散発的に発生していることからあまりにも人々の関心は薄い。しかし、「ある地域において一つの疾病や生物が人間にもたらす健康被害が年間100人に達する。」と客観的に考えた場合、咬傷事故が減少した現在でもかなり特殊な状態にあることを想像するのは容易である³⁾。

沖縄県内の都市部周辺でのハブ捕獲のニュース⁴⁾からも分かるように、ハブはネズミ類などを餌としているためにその生息域は森林などの自然の中だけでは限らず、住宅地近郊の人間の身近な生活環境とも深く交錯している。それを示す具体事例として咬傷事故の7-8割以上が農耕地、屋敷の内外、道路という人間の社会活動と日常生活に関わる圏内で発生している。さらにハブの活動に最適な時間・時期も作業最適気温時間帯・農繁期と大きく重複し、積極的に農作業に従事するほど咬傷の危険度も増加する。このことは農業を中心とした第一次産業に携わる人々の生産活動だけでなく精神的な被害などを考慮すると有形無形にかかわらず多大な不利益を被っている¹⁾⁻³⁾。

有害な蛇類を対象とした衛生・防除に関する研究は世界でも例が少なく、長年にわたって国・県の行政レベルで多様な観点からハブ被害に対する危機管理に取り組んできた意義と得られた成果は大きな価値を持つ。ハブ咬傷治療の抗毒の研究開発⁵⁾をはじめ、ハブとの遭遇・咬傷数を減少させることを目的とした地道な基礎生態研究に基づいた防除、駆除に関わる実践的な手法や運用法を確立、開発し、その知見を蓄積してきた。

2. 研究の経緯---餌動物（マウス）の体表に由来する化学成分

これまでの野外、屋外実験場におけるハブの基礎生態研究の行動観察により得られた様々な知見からハブの嗅覚は鋭敏で、餌探索行動の一手段として嗅覚に依存していることが分かっている。ハブ防除における捕獲と除去に関する主要手法の一つとして、ハブトラップ内に生きたマウスを入れて誘き寄せさせるベイトトラップが高い効果をあげている⁶⁾。実際にハブを用いた屋外実験では、餌動物のマウス、ラットなどを直接地表に引きずった跡や、有機溶媒を用いたマウス体表からの抽出物やその画分を撒いた跡

を、ハブが正確にトレースすることが報告されている⁷⁾⁻⁸⁾。これらのことから、ハブの餌動物の探索行動にはその臭いに由来する化学成分が深く関与すると示唆されている⁹⁾⁻¹⁰⁾。この餌動物の直接引きずり跡のハブのトレース行動は誘引活性、再現性ともに高く、ハブ誘引剤開発の可能性を示している。

II 方法

1. 有機溶媒による皮脂成分の抽出

ステンレス容器内に、100mlのジエチルエーテルに対して過麻酔させた実験用マウス（ウィンスター種、平均体重：26g）2個体を振りながら1分間浸漬後回収した（50ml/1個体に相当）。抽出操作は皮膚分泌物である脂溶性の皮脂を目的として行った。その後、体毛、皮膚片、マウスに付着した飼育ケージ内のおが屑などの夾雑物を除去するために濾過し、これを有機溶媒粗抽出液とした。得られた有機溶媒粗抽出液は図1に示した分離操作により分画を行った。得られた各画分は衛生環境研究所屋外実験場におけるハブ誘引試験に供した。

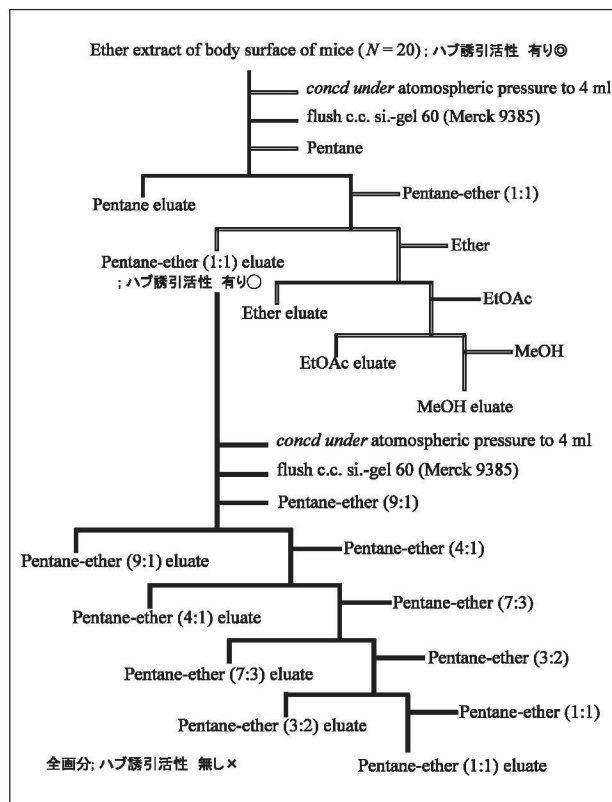


図1 マウス体表部のエーテル抽出物の分画操作と得られた画分のハブ誘引活性

2. 超音波による体表由来成分の溶出；超音波法マウス飼育ケージ内（♂+♀、5-25個体、仔含

む) にマウスの腹囲程度の内径の試験管 (内径: 3.75cm、長さ: 15–20cm) を一定期間設置 (5–10匹/1本: 5–10匹あたり試験管1本に相当) した。試験管の内外部には付着物 (汚れ) が確認され、マウスの体表に由来する物質とした。付着物は超音波洗浄機を用いて任意の量の水に強制的に溶出させた (溶出 [洗浄] 時間: 2分/本)。皮脂以外の化学成分のハブの誘引活性に対する関与を考慮し、濾過は行わなかった。さらに含有成分の変性が推測されたため、熱、化学的処理等も行わなかった。これを超



写真1 飼育ケージ内に入れた試験管とマウスの様子

音波溶出粗抽出液とした。得られた超音波溶出粗抽出液は衛生環境研究所屋外実験場におけるハブ誘引試験に供した。

3. 超音波による体表由来成分の溶出 (ヒヨコ+マウス) : 超音波法

ヒヨコ25匹を飼育箱 (32cm×24cm×16cm, w×l×h) に入れ、同じ幅と長さのプラスチックメッシュ (ポリプロピレン製) を上から被せ、メッシュが常時ヒヨコの頭部や背面に接触する状態にした。24時間後メッシュを回収し、付着したヒヨコの体表由来成分を超音波洗浄機を用いて任意の量の水に強制的に溶出させた。濾過、化学、熱処理は行わなかった。これをヒヨコの超音波溶出粗抽出液とした。

マウスケージ内の試験管の超音波溶出粗抽出液とヒヨコ飼育箱内のメッシュの超音波溶出粗抽出液を混合した。得られた混合粗抽出液は衛生環境研究所屋外実験場におけるハブ誘引試験に供した。

4. 屋外実験場におけるハブ誘引試験

ハブ (*Protobothrops flavoviridis*) :

沖縄本島内で捕獲し、外傷が無く健康な個体を用いた。それらの個体は野外実験場内の専用ケージで飼育した。ケージ内には腐葉土 (もしくは枯葉) を敷き、直射日光が差し込まない隠れ場所と、水容器を設置した。餌は1–2週間に一度マウスかヒヨコを与えた。

誘引試験で使用するハブは、採餌後2週間以上経過したものを用い、1週間ごとに交換した。また、実験環境に馴染ませるために、実験開始3日前に実験場に入れた。

屋外実験場:

(1) 9×7mの金網の囲い

地表には枯葉を敷き、隠れ場所4箇所と水容器を3個設置した。ハブは4個体入れて実験を行った。

(2) 5×4mの金網の囲い

地表には枯葉を敷き、隠れ場所3箇所と飲み水用容器を2個設置した。ハブは2個体入れて実験を行った。

(3) 8×6mの金網の囲い

地表には枯葉を敷き、隠れ場所4箇所と飲み水

用水容器を2個設置した。ハブは3個体入れて実験を行った。

誘引試験：

実験試料は、実験囲い中央付近で約2～3mにわたって直線（ライン）状に均一に散布した。試料の散布ラインの両端には、ブロック片を置き、低照度監視カメラとタイムラプスビデオで、ハブの行動を記録した。

ハブ交換時には、実験囲い内の誘引物質を散布した周辺の落ち葉を新しい落ち葉に交換した。

誘引効果の判定：

録画を再生し、実験試料を散布したライン上及びその周辺に接近したハブの行動の詳細を観察した。ライン上をトレースする行動が見られた場合、誘引効果があると判断した。1晩で誘引物質の上にハブがのべ何回接近し、何回トレース行動があったかを記録した。

Ⅲ ハブ誘引試験結果

1. 有機溶媒による皮脂成分の抽出

表1 餌動物の体表由来成分のハブ誘引試験の結果

臭い	実験回数	+以上	++以上
マウス 背	16	7 (0.44)	1
ヒヨコ 背	3	3 (1.00)	1
マウス試験管 エ	1	0	0
マウス試験管 エ残	2	0	0
マウス試験管 エ+エ残	4	0	0
マウス試験管 水	17	4 (0.24)	0
ラット試験管 水	1	0	0
ヒヨコ 水	6	2 (0.33)	0
マウス試験管 水+ヒヨコ 水	5	3 (0.60)	1

太字は強い誘引活性を持つ。+以上：明確なトレース行動があった実験数。++以上は特に強い反応があった実験数。背：背を地面に引きずり；試験管：ケージ内に設置した試験管；エ：エーテル抽出液；エ残：エーテル抽出後の残り；水：超音波溶出液。

マウス体表部のエーテル抽出物、それを分画して得られたペンタン-エーテル（1：1）画分にはハブのトレース行動が確認されたが母液よりも誘引活性は減少した。さらに、これら両者のハブ誘引活性はマウスの直接引きずりより低いものであった。そして、分離精製操作を繰り返すことで活性はさらに減少、又は消失した。

2. 超音波による体表由来成分の溶出；超音波法

設置期間中にマウスは試験管内で休息や睡眠、活動中は頻繁に出入りを繰り返した。試験管の内外部にマウスの体表由来の成分である皮脂、尿、糞などの付着が確認された。排泄直後の糞は除去し、その付着物は超音波洗浄機を用いて任意の量の水に強制的に溶出させ、白濁した溶出液が得られた。顕微鏡観察により皮膚片、体毛、おが屑片、その他の体表由来の夾雑物の存在が確認された。その超音波溶出粗抽出液に対してハブは明確なトレース行動を示し、その誘引活性は直接引きずりと同等もしくはそれに次ぐ活性であった。

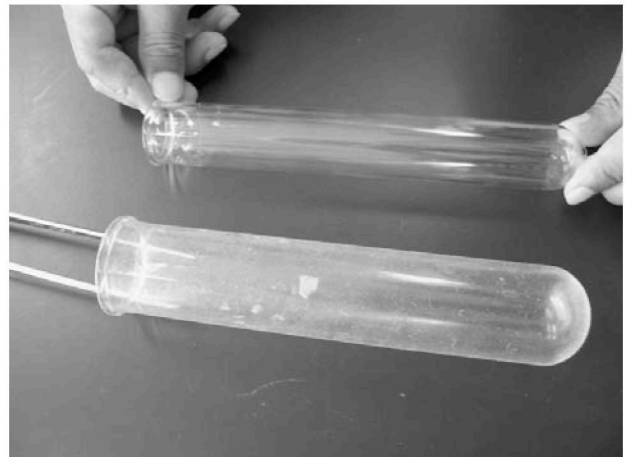


写真2 手前：付着物のついた試験管，奥：通常の試験管

3. 超音波による体表由来成分の溶出（ヒヨコ+マウス）；超音波法

マウスケージ内の試験管とヒヨコ飼育箱メッシュの付着物を混合したサンプルは黄白色の懸濁液であった。この混合サンプルに対してハブは強力なトレース行動を示した。新しい知見であるため、現在も誘引試験を継続し、評価を行っている。

Ⅳ 考 察

ジエチルエーテルを用いた抽出はマウス皮膚表面

の化学成分の大部分を占めるであろうと考えられた皮脂抽出を目的として行った。

実際に得られたエーテル粗抽出液は大部分が皮脂成分であり、定性的ではあるが、その成分組成は文献^{12)–15)}ともほぼ一致したクロマトグラフィーが得られた。しかし、誘引効果に対してはエーテル粗抽出液、それを分離精製操作して得られた画分ともに餌動物引きずりの場合の誘引活性に及ばなかった。そして、このエーテル粗抽出液の濾過処理の濾紙に誘引活性が認められたことから皮脂だけでなくそれ以外の体表由来成分もハブの誘引活性に関与していると考えられた。

マウスの飼育ケージ内に入れた試験管をマウスは巣穴や遊具として利用していた。そのため付着物は分泌腺を介した皮脂を主とした分泌物とそれ以外の尿、糞、さらに、口で毛づくろいの行動も多く観察されたことから唾液などの付着が予想された。試験管表面の付着物の誘引活性に与える影響を調べるために、それらを超音波によって強制的に水に溶出させた（超音波法）。得られたマウス試験管超音波溶出粗抽出液（溶出液）は高いハブ誘引効果を示し、マウスの直接引きずりに次ぐ高い活性が確認された。このことから、ハブの餌臭のトレース行動には餌動物の皮脂成分とそれ以外の成分（皮膚片や唾液由来のタンパク質など）が相乗的に作用して誘引活性が増強されることが示唆された。

そして、試験回数が少ないもののヒヨコの背中引きずりの誘引率はマウスより高い（寺田、未発表）。そして、マウスとヒヨコの体表成分由来の超音波溶出粗抽出液を混合したサンプルのハブ誘引効果はこれまでの誘引試験の指標となるマウスの背中引きずりの誘引活性より強力、もしくは同等という非常に高い反応がみられた。このことから、餌動物由来の臭いを構成している化学成分の少なくとも二つ以上の化学物質が餌認識の鍵物質としての働き、ハブのトレース行動を発現させていることが示唆された。今回得られた結果に関する統計処理は現在検討中である。

V 今後の展開

ハブを誘引する化学物質を特定することでハブ捕獲能の向上が挙げられ、ハブ咬傷に関して危機管理の制御が可能になる。さらに、有害なヘビ類の誘引

に関する研究はいくつか行われているが実用化されたものはまだになく、学術的な意義は大きく、何よりもそのことがもたらす社会的な貢献は計り知れない。

今回、新しい知見として得られた、餌動物体表由来成分の超音波による溶出サンプルがもたらす利点として以下のことが挙げられる。

- ・有機溶媒を用いないため低コストで処理者の健康面に負担が無い。
- ・超音波による処理だけなので誰でもできる。
- ・餌動物を屠殺せずにハブ誘引成分を採集できる。
- ・試料抽出（溶出）の容易さは実験展開に柔軟な対応が可能。

また、実際に野外で応用するためには誘引効果の持続、吸着剤の検討、濃縮や保存の影響による誘引効果の影響など克服すべき課題がある。

現在の具体的な実用案はハブトラップと組み合わせることでトラップ内に誘き寄せさせる頻度をあげることでトラップの捕獲効率の増加が期待できる。

VI 要約

著者らは、ハブの餌動物であるマウスの体表由来の皮脂を抽出し、エーテル抽出物にある一定のハブ誘引活性を確認した。しかし、分離精製操作によりその活性は減少、又は消失し、皮脂以外の成分の関与が示唆された。そのため、マウスケージに入れた試験管に付着した全ての物質を超音波を用いて強制的に溶出させた。これらの誘引効果は強く、マウスの直接引きずりに相当、もしくはそれに次ぐものであった。さらに、マウスとヒヨコの体表由来成分と混合して誘引試験に供した結果、マウスの直接引きずりと同等、もしくはそれ以上のハブ誘引活性を示し（現在も実験、効果検討中）、ハブ誘引剤の実用化の可能性が示唆された。また、いくつかの課題は有るが、超音波法は餌動物の屠殺の必要がない、有機溶媒を使わない、操作が簡便などの利点から誘引の可能性を持った成分の採取、入手が容易になる。そのため、既存のトラップと組み合わせることによるハブ捕獲効果の向上など、ハブ防除に関して能動的な制御の可能性が期待される。

VII 参考文献

1. 松田聖子・西村昌彦（2008）沖縄県における平

- 成19年の毒蛇咬症. 平成19年度 抗毒素研究報告書, 沖縄県衛生環境研究所, 別刷pp.44-62.
2. 西村昌彦 (2004) 住民とハブとの遭遇頻度は咬症件数の何倍か. 平成16年度 沖縄県衛生環境研究所報, 沖縄県衛生環境研究所, 第38巻pp. 75-77.
 3. 吉田朝啓 (1976) ハブと沖縄振興開発1-13. サンデーおきなわ (1976, 5 - 8月), 沖縄県, pp.6.
 4. 那覇市樋川の民家の庭で体長2mのハブ捕獲 琉球新報 (2003年7月14日夕刊) 沖縄県, 第3面
 5. 坂本国昭・有働睦夫・江藤晶 ヒト型毒素の研究 平成7年度 抗毒素研究報告書, 沖縄県衛生環境研究所, pp.3-8.
 6. 西村昌彦 (1999) 沖縄県内の市町村が運用するハブ捕り器の捕獲成績 -1998年の資料を中心とした予報-. 平成11年度 沖縄県衛生環境研究所報, 沖縄県衛生環境研究所, 第33巻pp.133-138.
 7. 西村昌彦・新屋敷博人・荻原和仁 (2006) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発21-囲い内の地表につけたマウス体表の抽出物分画などへの反応. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (29), 沖縄県, pp.69-77.
 8. 西村昌彦・新屋敷博人・荻原和仁・屋宏典・漢那宗士 (2007) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発22-マウス・ラット体表からの抽出物やジエステルなどへの反応. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (30), 沖縄県, pp.89-102.
 9. Rodda, G.H., Sawai, Y., Chiszar, D. and Tanaka, H. eds. (1999) Problem Snake Management - the Habu and the Brown Treesnake. Comstock Publishing Associates, Ithaca.
 10. 西村昌彦・寺田考紀 (2004) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発16-おもに囲いにおける雌の本体・這い跡・拭き取り臭にたいする雄の反応. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (27), 沖縄県, pp.7-26.
 11. 西村昌彦・新屋敷博人・荻原和仁 (2004) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発17-おもに囲い内の地表につけたマウスの体表・体表の抽出物とその分画への反応. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (27), 沖縄県, pp.27-39
 12. Nicolaidis, N., Fu, H.C. and Ansari, N.A. (1970) Diester waxes in surface lipids of animal skin. *Lipids*, 5: 299-307.
 13. Nikkari, T. (1965) Composition and secretion of the skin surface lipids of the rat; effects of dietary lipids and hormones. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 17(suppl., 85): 1-140.
 14. 西村昌彦・新屋敷博人・荻原和仁 (2007) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発23-ラット抽出物の濾過残渣の予備的分析. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (30), 沖縄県, pp.103-106.
 15. 西村昌彦・新屋敷博人・荻原和仁 (2008) ハブの行動観察からみた誘引忌避剤の開発24-餌動物の濾過無しの抽出液、体表を擦った吸着剤、ステロイド類、トリグリセライド類ステリンなどへの反応. 沖縄特殊有害動物駆除対策基本調査報告書 (31), 沖縄県, pp.83-92.