

## フグと東工大

### 大岡山で繰り広げられたフグ毒との闘い すずかけ台で花開いたフグの研究



フグ毒は骨格筋の働きをブロックするが、脳や心筋には影響を与えない。従って、フグ毒にあたると意識がしっかりしているのに、しゃべることができず、手足が動かず、呼吸ができない状態になる。呼吸が止まっても心臓はしばらく動き続けるので、この間に人工的に呼吸を維持できれば、一命を取り留めることもあるが、多くの場合、不幸な結末となる。フグ毒は古くから人類特に日本民族を悩ませてきたが、その研究の歴史を辿ると、「フグ毒の化学的研究」のブレークスルーが“大岡山”発だったことが分かる。解説書には、「1950年にテトロドトキシンが結晶として単離され、1964年に構造が決定されるとともに作用機構が解明され、1972年に有機化学的に合成された」と簡潔に記述されているが、1950年に結晶化を成し遂げた横尾晃がフグ毒の研究を始めたのが大岡山の本館3階55号室だった。フグといえば、2003年頃から、すずかけ台の生命理工学研究科でも飼育され、注目すべき成果を上げている。

#### 1. フグ毒はどのような形をしていて、どのように悪さをするのか？

##### フグ中毒の症状

天然のフグをさばくには特別な知識がある。猛毒であるテトロドトキシンが多く含まれる卵巣や肝臓を上手に取り除いた上で調理しなければならないからだ。命を懸けてフグを食べた時代もあったが、今では毒の正体が分かっており、正しく調理すれば、安心してフグを堪能することができる。それでもフグ毒にあたって死ぬという痛ましい事故(事件?)が後を絶たないのはなぜか。どうも適量のフグ毒は最高の調味料になるからのようだ。

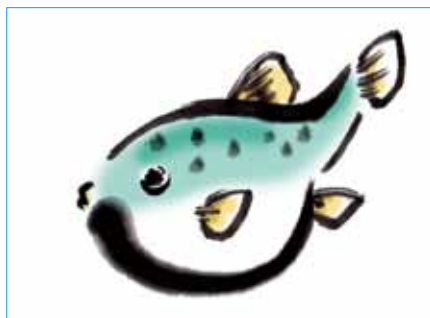
こんなことがあった。歌舞伎役者の八代目坂東三津五郎(1906～1975、人間国宝)が京都南座での正月興行の舞台が跳ねてから、ひいきの客の招待で料理屋に行き、てっちり(ふぐ刺し、図①)のコースをご馳走になった。食通で有名な三津五郎が客とあって、暗黙の了解で、キモ(肝臓)が添えられた。同席した

3人の芸妓(京都では“げいこ”)たちは気持ち悪がってキモは辞退したが、その分をといわんばかりに三津五郎は「もう一皿」、「もう一皿」と板前にせがみ、とうとう4皿も平らげてしまった。上機嫌で宿泊先のホテルに引き上げたまでは良かったが、しばらくして、意識ははっきりしているが、舌がもつれ手がしびれコップも持てない状態になった。すぐに救急車で近くの診療所に搬送され救命処置を受けたが、夜明けを待たずに亡くなった(1975年1月16日)。本人はキモの“美味さ”と“怖さ”をよく知っていたので、「おぞましい食い意地の因果応報」として自分の死を受け入れつつ息を引き取ったそうだが、料亭側が支払った慰謝料が2600万円だったというのも話題になった。

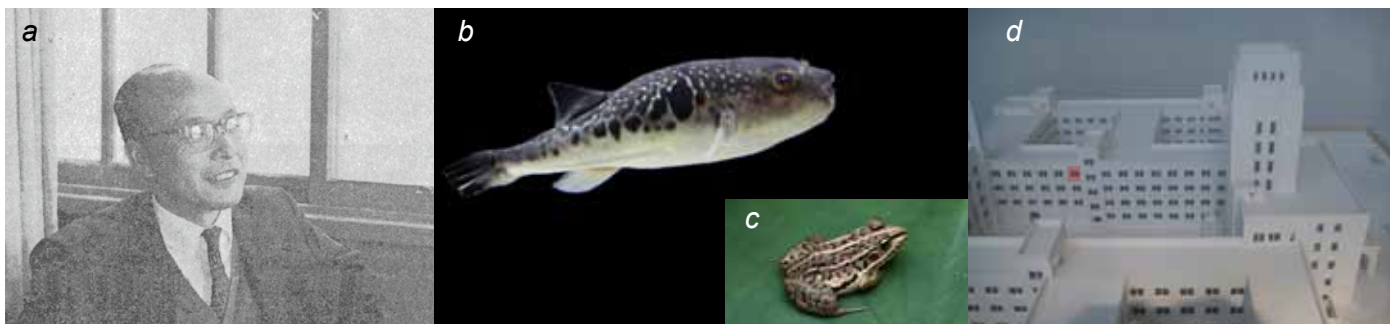
#### 毒の正体

##### (1) 研究の始まり

フグ毒に関する研究は、1889年に高橋順太郎(東京帝国大学教授、1856～1920)と猪子吉人(1866～1893、28歳)がその毒力表を作成したのが始まりとされている(注1)。1909年に、田原良純(注2)(東京衛生試験所長、1855～1935)がフグ毒を卵巣から部分精製し、4つの歯を持つという意味の学名 Tetraodontidae に因んでテトロドトキシン(Tetrodotoxin = Tetrodo + 毒素 toxin)と命名したが、それに続くテトロドトキシンの完全精製(純粋な形で取り出すこと)は困難を極めた。この難題に取り組んだのが本学の横尾晃だった。



①フグとフグの身(てっちり、ふぐ刺し)。



②左：横尾晃<sup>あきら</sup>（1911～1994）台北帝大→東工大→台北大，助教授（短期間）→広島医大予科→岡山大→青山学院大。中央：トラフグとフグ毒の検定に用いられたトノサマガエル。正式には、マウス5匹に注射し、30分以内に5匹とも死に至らせる量を1単位とした。右：本館3階55号室（フグ毒の精製が行われた有機化学教室，赤マーク）。

## (2) フグ毒の化学的研究 —単離と結晶化—

横尾晃（1911～1994, ②a）は昭和11年（1936）に台湾の台北帝國大学（日本統治時代の7番目の帝大）理学部を卒業後（注3）、本学の有機化学教室のメンバーになり、星野敏雄（1899～1979）のもとで、毒性を有する天然化合物の研究に着手した。2年後に助手になり、その年（1938）からフグ毒の研究を始めた。きっかけはこうだ。東北帝國大学教授で本学を兼務していた真島利行（1874～1962）の門下生は毎年夏になると軽井沢に集まり懇談会を開いていたが、その席で真島さんが「フグは日本特産なのに、その毒の研究はさっぱり進んでいない。何とかしたいものだ」といったのを受けて、星野さんが横尾さんに「フグ毒をやってみないか」と打診したのだ。

フグの卵巣をすりつぶして、化学的手法を駆使して抽出・沈殿を繰り返し、毒を濃縮するわけだが最初の抽出液は4斗樽（図⑤）<sup>よんどたる</sup>数杯にもなる。今流に言えば風呂桶1杯だ。体力と根気のいる仕事だった。毒性を有する画分を集めるには、毒性試験をしなければならない。これも自分で、分画液をマウスに注射し調べた。3年がかりで、かなり純度の高いフグ毒が得られるようになったところで戦争が始まり、思うように実験ができなくなってしまった。当時のキャンパスにはカエルがたくさんいたので、試しに、マウスの代わりにカエルで毒性試験をしてみたところ、これが期待以上にうまくいった。マウスの場合はフグ毒を打つと死んでしまうために、同じ個体を何度も使えない。

しかし、カエルの場合は一時的に麻痺するが時間が経つと回復することが多く、毒性試験に繰り返し使えるというメリットがあった。その上、マウスは高価で入手が難しかったのに対し、カエルならばそこら辺から捕まえて来ればよかった。戦中及び終戦直後の逆境を何とか乗り切り、精製の目処がついたところで、途中経過を「河豚毒の化学研究」と題して日本化学会大会で発表した（昭和21年〔1946〕10月）。論文投稿にこぎつけたのは、昭和22年（1947）7月で、星野研究室に所属して11年、フグ毒の研究に着手して9年もの歳月が流れていた。（注4,5）

この頃、広島県立医科大学が新設され、その予科で化学担当教官を探しているというので、星野さんの勧めもあって、広島に赴任することにした。本学の有機化学教室には優秀な若手も多く、活気がみなぎっていた。そのような比較的恵まれた環境から巣立ち、新設の医科大学予科で独立の小さな研究室を運営するのは設備面・資金面でも容易ではなかった。妻の八重さんと一緒に近所の田圃に出かけ、トノサマガエル（図②c）を捕まえてきてフグ毒の検定をしながら実験を続けたそうだ。樽やバケツを使って、多量のフグの卵巣から少量のフグ毒を抽出・精製するという仕事は、劣悪な環境と過酷な作業に苦しみながらも多量のピッチブレンドを処理して少量のラジウムを取り出すことに成功したキューリー夫妻の仕事を彷彿とさせる。何度も試行錯誤を繰り返したので、横尾夫妻が処理したフグの卵巣は最終的には5トンにも上った

大岡山時代に築いた基礎と経験がものをいったのだろう；広島に移って2年ほどしたところで、50kgの卵巣から65mgの結晶を得ることに成功した。出発材料としては、フグの中でもトラフグを用いたので、（フグの種類によって毒の構造も少し違う可能性を考えて）、トラフグの学名（*Spheroides rubripes*、現在の学名は図⑥参照）に困んで、スフェロイジンと命名した（注4～9）（後にスフェロイジンとテトロドトキシンは同一物であることを自ら確かめた）。（注9）

### ゴミにしか見えなかった 運命の女神

一時諦めそうになったが、踏みとどまった逸話が残っているので紹介しておこう。雑誌社のインタビューに答えたものだ（注10）：「フグ毒は精製しないうちは非常に水に溶けやすいので、精製の最終段階で毒力が急減してしまったときはがっかりでした。しかし時計皿の上に何かゴミのようなものが残ったので、まさかとは思ったが念のために、これをトノサマガエルに注射してみたら、いつもはマヒ状態を示すカエルがそのままの姿でジッと動かない。効かなかったのかと思ってよく見ると、注射したときの姿そのままで頓死していたのです。毒が強すぎて即死だったのです。私は今でもこのトノサマガエルが足をふんばって死んでいた姿をはっきりと覚えています。このゴミかと思ったのが最初の結晶だったわけです…」。

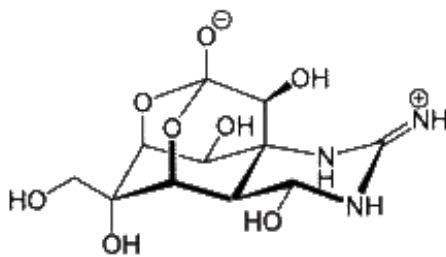


③ フグの卵巣を処理するために用いた樽 (イメージ)。

### 広島県立医科大学予科 (注11)

横尾さんが「化学」の教授として赴任することになる広島県立医科大学予科は広島県立医科大学と共に昭和22年(1947)6月18日に開設が認められ、6月28～29日の入学試験及び7月8日の広島医専からの転入試験を経て、7月14日に第1回入学式が行われた。横尾さんが着任したのは、少し遅れ11月だった。当時は戦後の急激なインフレのために家庭が経済的に破綻し、成績が優秀であるにもかかわらず、学業を途中で断念せざるを得ない学生が多かった。食糧不足もひどく、食べ盛りの学生には辛かったようだ。職員も空腹を抱えての毎日は大変だったようで、宿舍の庭で大根・かぼちゃ・芋などを育てていた。

こんな環境にもめげず、横尾さんは研究を続け、上述のようにフグ毒の精製度を高めていった。「フグ毒の化学的研究」と題する一連の論文の第2報(1948) (注6)と第3報(1950) (注7)をこの時期に発表している。しかし広島県立医科大学とその予科は、戦後の学制改革の波をかぶり、広島大学の医学部として統合されることになり、予科の教官は行き場を失った；単科の新制医科大学になれば予科の教官はそのまま一般教育担当として残れるが、広島大学に統合されると既に一般教育担当教官はいるので、予科の教官は不要となるのだ。こうして、横尾さんは、やむなく昭和25年(1950)4月に岡山大学理学部化学科(有機化学講座)へ転出した。



④ フグ毒 ( $C_{11}H_{17}N_3O_8$ , テトロドトキシン, Tetrodotoxin, TTX)。1964年4月、京都で第3回IUPAC国際天然物化学会議(The Third IUPAC Symposium on the Chemistry of Natural Products)が開かれ、Woodwardら(Harvard大学)、津田ら(東京大学・三共)、後藤ら(名古屋大学)の3グループによりフグ毒 Tetrodotoxin の構造決定が同時に発表された (注13～15)。X線構造解析による絶対配置の決定は1970年 (注16)。ラセミ体の全合成は1972年に岸ら (注17)(名古屋大学、後にHarvard大学教授)によってなされ、最終的な不斉全合成は、2003年に達成された。 (注18)

### 岡山大学では 有機合成化学に回帰

フグ毒の結晶を手にした横尾さんは、岡山大学ではその構造決定に挑みたいと考えていたが、しばらくして大病を患い無理がきかない体になったこと、人手が少ないこと、多額の研究費が必要なことなどから、地方の小さな大学では構造決定は難しいと考え、フグ毒の研究に終止符を打つことにした。さぞ残念だったに違いない。それ以降は、有機合成化学者としての道を歩み、含窒素7員環化合物の合成を手がけた。

### (3) フグ毒の化学的研究 —構造決定と有機合成—

横尾さんの努力及びその後の精製法の改良 (注12)によって、50kgのフグ卵巣から約1g(1000mg)のテトロドトキシンが得られるようになったので、その構造決定と作用機構の解明が進んだ。構造決定に関しては、ほぼ同時に3つのグループが成功し、1964年に京都で開かれた国際会議で発表し、大きな話題となった(図④) (注13～15)。翌年には、結晶化を成し遂げた横尾さんと構造を

決定したグループの代表者(津田恭介、平田義正、仁田勇)に朝日賞が贈られた。

フグ由来のテトロドトキシンの構造が決定されたのと同じくして、米国スタンフォード大学のグループがイモリ(図⑤ California newt *Taricha torosa*)の毒素 Tarichatoxin の構造を決め、それがテトロドトキシンと同じであることを Science 誌に報告した (注19,20)。この毒素はスタンフォード大学に着任したばかりの若手の発生学者(Victor C. Twitty, 1901～1967)によって1930年代初頭に、次のような発生学の研究中に、偶然発見された (注21)。彼はイモリの眼球をサンショウウオ(Tiger salamander *Ambystoma tigrinum*)の幼生に移植する実験をしていたが、移植されたサンショウウオの幼生がマヒ状態になるという予期せぬ結果から毒素の存在に気づいた。構造決定は同じスタンフォード大学の化学科のグループによってなされた (注19)。フグ毒もイモリ毒(Tarichatoxin)も構造は同じゆえ、厳密には、テトロドトキシンの構造は4つのグループにより決定されたことになる。

決定した構造が正しいかどうかは、化学的に合成したものが毒性を有するかどうかで判定されるが、テトロドトキシンはその複雑な構造ゆえに有機合成化学者の挑戦を撥ね退け続け、8年後の1972年ようやく全合成が達成され構造が確定した。 (注17)



⑤ テトロドトキシンを有するカリフォルニア・イモリ(California newt, *Taricha torosa*)。眼球のサイズは、眼窩(眼窩の収まる頭蓋骨のくぼみ)の大きさに依存して変化するが、この仕組みを明らかにするために、眼窩の小さなイモリの眼球を眼窩が大きなサンショウウオの幼生に移植する実験が行われた。

## —合成研究のその後—

### 本学で始めた合成への挑戦が 新任地で結実

ヒマラヤ山脈のエベレストは1953年にEdmund HillaryとシェルパのTenzing Norgayによって初登頂されたが、その後も新しい登攀ルートの開拓や無酸素登頂など、登山家の挑戦は続いた。フグ毒(テトロドトキシン)も同様で、1972年以降も有機合成化学者の挑戦は続いた。テトロドトキシンが今も多く有機化学者を惹きつけてやまないのは、分子量が319と比較的小さいにもかかわらず、(1)分子内に不斉炭素が8個もあり、(2)それらすべての炭素に官能基が付いているという極めて複雑な構造を有するからだ。さらに、(3)テトロドトキシンの誘導体が入手できるようになれば、その作用機構の詳細な解析や局所麻酔薬等の医薬品の開発も可能になる。

本学の天然物化学研究施設(1965～1986, 生命理学科に発展的解消)には、糖質化学を専門とする吉村壽次(1925～2013, 図⑥上)研究室があつて、糖を出発原料とする合成化学に力を入れていた。地球上に最も多く存在する有機化合物は糖(グルコース)ゆえ、糖を出発原料にするのが究極の有機合成化学だとの考えのもとに、分岐糖の立体選択的な合成法を開発していた。しかし、これは非常に地味な仕事で、それだけでは期待したほど注目されなかった。そこで、複雑な天然物の合成に応用して、その威力を立証することにした。その標的の1つとなったのが分岐糖の一種であるテトロドトキシンだった。

吉村研究室で本格的にテトロドトキシンの合成に取り組んだのは助手の舟橋弥益男(1939～, 図⑥上)だった。舟橋さんは途中で千葉大学に転出することになり(1980), 灯は消えかけたが、当時大学院生でその後吉村研の助手になった佐藤憲一(図⑥下)が志願して引き継いだ。

佐藤さんは、子供の頃から研究者に憧れていたが、学生だった時に、テトロ



⑥上: 吉村研究室のメンバー(1976)。石川台地区にあった旧天然物化学研究施設の玄関前にて。

下: 佐藤憲一(1947～)。神奈川大学工学研究科応用化学専攻修士1973, 本学化学専攻博士1978, 助手1978, 神大・工・応化・助教授1986, 教授1992。この間一時期キッセイ薬品研究員1973～74。佐藤さんの学生へのメッセージ:「好きで挑戦したくなるものがあれば、それがあなたの才能です。成績優秀に越したことはありませんが、「才能」さえあれば、いい仕事はできます」。

ドトキシンの合成を成し遂げた岸さんの話を聞いて有機合成化学者の道を志した。本学の吉村研で研究生を終えた後、長野県にあるキッセイ薬品に勤め(1973), 漢方薬である南天の成分を改変した抗アレルギー薬リザベンを開発した。わずか2年足らずのうちに国際特許を7件も出願した。信州の会社を選んだ理由は山登りが好きだったからだが、厳しい山々を身近で見ているうちに、どうせなら厳しい人生の山を登りたいという気持ちが込み上げてきて、吉村研に戻って博士課程に進むことにした(1975)。こうして登山と同じように追い込みの時は寝袋に世話になりながら、週に2日程しか下宿に帰らない生活が始まった。分岐糖の合成法の開発という本来の研究の傍ら、糖を出発原

料とするテトロドトキシンの新しい合成ルートの確立を目指して、戦略を練る日々が続いたが、テトロドトキシンの全合成は思いのほか難関だった。頂上が視界に入ってきたところで、吉村さんが定年となり(1985), 佐藤さんも母校の神奈川大学に移ることになった(1986)。ここで出会った学生たちと一緒に「研究は私たちのロマン」を合言葉に頂上を目指し、ついにグルコース及びミオイノシトールからの不斉全合成に成功した(注22-25)。3種類の合成経路(注26)を開発した点でも佐藤さんたちは高く評価され、2014年度の“Gerald Blunden Award”を受賞している。佐藤さんたちの合成法が一番確実で信頼性が高いようだ。

## (4) フグ毒の薬理学的研究

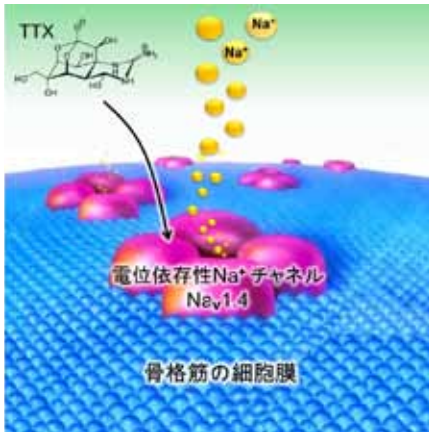
### —作用機構—

殺虫剤の作用機構を電気生理学的手法を用いて調べていた榎橋敏夫(東大農学部害虫学研究室, 助手)(注27)は、フグ毒も殺虫剤と同じような作用をするのではないかと思い調べてみたところ、予想は当たり、筋肉のナトリウム( $\text{Na}^+$ )チャネルを阻害して麻痺を起こさせる可能性が高いことが判明した(1960)(注28)。その後、榎橋さんは米国のデューク大学医学部に移り、この作用を証明した(1964)(注29)。フグ毒は今も、 $\text{Na}^+$ チャネルのみを特異的かつ低濃度で阻害する毒物(研究用試薬)として生理学者や薬理学者に重宝されている。

## (5) フグはどうして平気なのか

フグはどのようにして自分自身の毒から身を守っているのか? フグの肝臓を数グラム食べただけで人が死ぬのだから、フグの体内には多量の毒(テトロドトキシン)が蓄積されている。しかし自分自身に作用しないのはなぜか? この疑問に対する答えは、テトロドトキシンの標的である $\text{Na}^+$ チャネル(厳密には骨格筋に発現する電位依存性 $\text{Na}^+$ チャネル;  $\text{Na}_v1.4$ , 図⑦)の構造解析によって得られた。

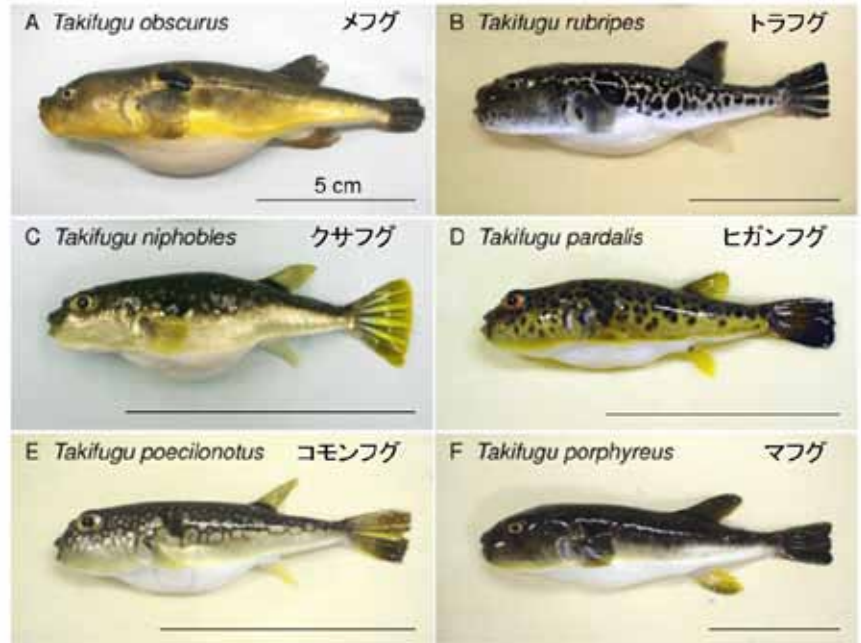
電位依存性 $\text{Na}^+$ チャネルは、アミノ酸約2000個からなる巨大分子で、その構



⑦ テトロドトキシン (TTX)の標的となる骨格筋の $\text{Na}^+$ チャンネル(実際には $\alpha\beta$ サブユニットからなるが、ここでは $\alpha$ のみ表示;  $\alpha$ は4つの類似ドメインからなり、中央部の穴が $\text{Na}^+$ の通路となる)。◆神経細胞からの情報を受け取ると骨格筋細胞は電位変化を起こす。この変化が電位依存性 $\text{Na}^+$ チャンネル( $\text{Na}_v1.4$ )によって検出・増幅されて、骨格筋の収縮装置に伝わる。テトロドトキシンが $\text{Na}_v1.4$ に結合すると、 $\text{Na}_v1.4$ の中央部のチャンネルが閉じたままとなり、収縮装置に情報が伝わらなくなる。バイオ系の学生のためにもう少し詳しく記すと次のようになる:

神経線維を介した脳からの刺激が軸索の終末に到達→神経終末のシナプス小胞からアセチルコリンAChが放出→AChが筋肉細胞表面のAChレセプターに結合→レセプターが開き外液から $\text{Na}^+$ が筋細胞内に流入→興奮電位が発生→周囲の電位依存性 $\text{Na}^+$ チャンネル開口→(この繰り返しにより、将棋倒しのように、興奮がT細管を介して筋細胞深部へ伝わる)→筋小胞体表面の $\text{Ca}^{2+}$ チャンネルが開く→小胞体から $\text{Ca}^{2+}$ が筋細胞質へ放出→アクチンとミオシンからなる収縮装置の活性化→筋収縮。

造決定は難作業だったが、1984年に京都大学医学部の沼正作グループによって決定された(注30)。その後の研究で電位依存性 $\text{Na}^+$ チャンネルには複数の種類があり、働き場所も異なることが分かった。そのうちでテトロドトキシンを結合するタイプ(骨格筋型 $\text{Na}_v1.4$ )について、構造を比較したところ、毒が効く魚(ゼブラフィッシュ)と効かない魚(フグ)の $\text{Na}_v1.4$ では、テトロドトキシンの結合部位(図⑦)がわずかに異なっており、フグの $\text{Na}_v1.4$ にはテトロドトキシスが結合できないことが分かった(注31)。進化の過程の小さな突然変異によって、フグはテトロドトキシン非感受性を獲得したことになる。



⑧ すずかけ台キャンパスの生物実験棟1階で飼育されていたフグ。

テトロドトキシンはフグ毒といわれるが、フグの体内で作られるわけではなく、海底の細菌によって作られたものが食物連鎖によって濃縮されたものであることも分かっている。その証拠に、問題の細菌を含まない海水を用いて人工の餌で育てた養殖フグにはテトロドトキシンは含まれていない。

## 2. すずかけ台で花開いた フグの研究

### すずかけ台にフグがやってきた

ゴキブリ退治用のホウ酸団子はご存知だろう。ホウ酸 [ $\text{H}_3\text{BO}_3$  or  $\text{B}(\text{OH})_3$ ] は毒性が強いが、その取扱いや排出はあまり厳しく規制されていない。ホウ酸は海水中に多く含まれているので、その排出を規制しても意味がないからだ。しかし、よく考えてみると、海水魚は毒入り水槽の中で生き続けていることになり不思議だ。きっとホウ酸を効率よく体外に排出し難を逃れているに違いない。これは海水魚に共通の問題だが、モデル動物のフグを用いて解決された。

### フグがモデル生物といわれるのは なぜか

当時はゲノム(生物の設計図に相当する全遺伝情報、すなわち特定の生物の全DNA配列)が解読されている生物は極わずかだったが、その中にフグが含まれていたからだ。広瀬茂久(⑬, 2013年に定年)研究室の加藤明(⑩, 当時は助手、現バイオ研究基盤支援総合センター准教授)は、上記のようなフグの利点に着目し、種々のフグ(トラフグやメフグなど、図⑧)を下関や韓国から取り寄せ、体液の恒常性維持機構の研究のために飼育を始めた(2003)(注32)。フグの取り扱いに関しては、フグの展示で世界一を誇る下関の水族館「海響館」の協力が得られ大助かりだった。フグの歯は鋭利な刃物のようにになっているので注意しないと指を噛み切られると聞いた時には驚いたそう(飼育の際には、事故や共食いを避けるために、特殊なペンチで歯先を切る)。フグは敵を威嚇するために膨張囊(胃部にある特殊な袋)に勢いよく水(& 空気)を吸い込んで体を膨らませるが、この袋の丈夫さも驚きで、普通のハサミでは歯も立たない; 強靱な材料を開発するためのヒントが隠されているかも知れない。



⑨ 木村友梨：海水魚のホウ酸輸送体の同定に成功した。



⑩ 共同研究者の Michael F. Romero (Mayo Clinic College of Medicine, 右) とディスカッション中の加藤明。すずかけ台 B1 棟 2F フロントスペース。

### 海水魚のホウ酸排出機構を解明

2008 年に加藤さんのチームに加わった木村友梨⑨は卒研と修士論文のテーマとして、海水魚のホウ酸耐性機構を取り上げ、メフグを用いて解析を進めた。ホウ酸を含まない飼育水から、通常の海水へとメフグを移したときに、オンになる遺伝子に着目し、3 年がかりの探索の末に候補分子の同定に成功し、その発現部位から、海水魚の腎臓には過剰なホウ酸を能動的に排出する仕組みが備わっていることを明らかにした(大まかなホウ酸濃度:海水中 0.4 mM, 血中 0.05 mM, 尿中 20 mM)。彼女の修士論文は、博士論文としても十分に通用するものとして話題になった。周囲は博士課程への進学を期待したが、本人は「国民

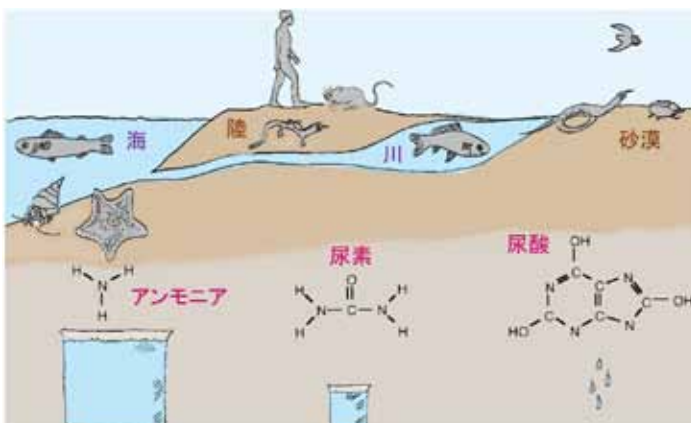
に愛される食品作り」が夢とのことで、政府機関への内定を蹴って、食品会社に就職した。

### 魚類のアンモニア排出機構も解明

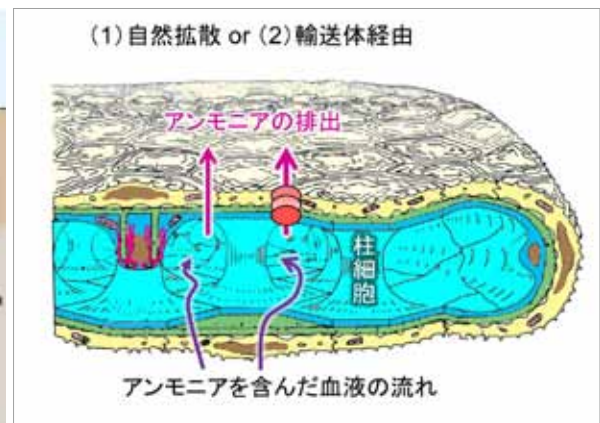
アンモニアも生物にとっては大敵だ。血中濃度が上がるとすぐに昏睡に陥り死に至る。私たちの生命活動を支えている代謝反応(特にアミノ酸などの含窒素化合物の分解)では、アンモニアの発生が避けられないので、私たちの肝臓にはアンモニアを尿素に変換し無毒化する仕組みが備わっている(図⑪)。尿素は腎臓から尿として排泄される。よくできた系ではあるが、(1)アンモニアを尿素に変換するにはかなりのエネルギー(ATP)を消費することや(2)尿素を尿として排泄するとき水分口

スが起こることなど、それなりの代償を払わざるを得ない。「生きるためには、それぐらいは仕方がない」といえばそれまでだが、砂漠に住む生物にとっては後者の水分ロスは許容できない。そこでこれらの生物は、尿素をさらに尿酸にまで変換し、固形物として排泄することにより、水分ロスを最小限に抑えている(図⑫)(注33)。

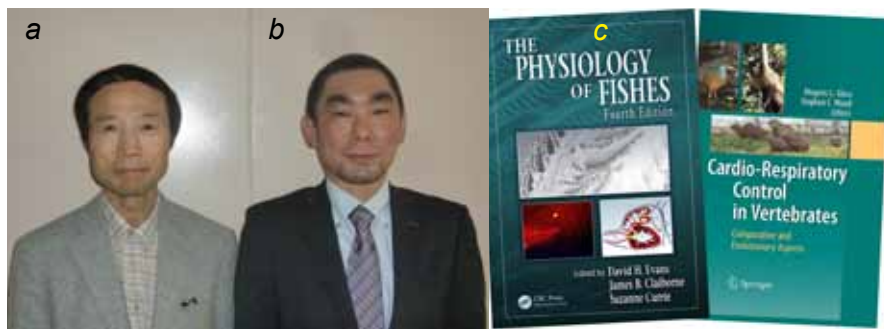
魚類の場合は大量の水に囲まれて生きているので、エラを介して、アンモニアを直接外界に捨てるという戦略をとっている(図⑫)。尿素に変換する必要がないので、かなりの省エネになる。この魚類のアンモニア排出は、長い間、自然拡散によると考えられてきた。教科書にもそう記されていた。アンモニ



⑪ 動物の生息域とアンモニアの処理法。窒素代謝産物をどのような形(アンモニア・尿素・尿酸)で排泄するかは、排泄に必要な水が得やすいかどうかで決まる。(注25)



⑫ 魚類のエラのラメラの断面図。エラにはこのようなラメラが、ラジエーターのフィンのように多数並び、ガス交換(呼吸)が行われている。アンモニア放出の場でもある。



13 広瀬茂久(a), 中田勉(b), 及び彼らの研究が紹介されている教科書(c)。広瀬研究室では「特殊機能を発達させた生物に学ぶ」を合言葉に、教科書に載るような仕事を目指した(注35)。中田さんのアンモニア輸送体に関する研究は、“The Physiology of Fishes” (4th Edition, pp. 215-219)などで紹介されている。

アは水溶液中では  $\text{NH}_4^+$  として存在するが、イオンを通さない疎水的な細胞膜を通過するときは  $\text{NH}_3$  となり外界に出たところで再び  $\text{NH}_4^+$  になるので、なんら問題はないと考えられていたのだ。しかし実際には、助っ人がいて、アンモニアの排泄を促進していることが明らかになった(図12)(注34)。すずかけ台のバイオ系での研究成果なので以下に紹介しよう。

上記の広瀬研究室で、大学院の5年間(2002.4~2007.3)を過ごした中田勉(13b, 現信州大学医学部講師)は、ある日、興味深い論文に出会った。酵母はアンモニアを栄養(窒素源)として利用できるが、これができない変異体が報告され、その原因遺伝子がアンモニア輸送体らしいことが示唆されていた。中田さんは魚類の硫酸イオン輸送体に関する仕事をしてきたがアンモニアの排出機構にも興味があったので、さっそくフグのゲノム配列を検索してみたところ、酵母のアンモニア輸送体と似た遺伝子がフグにも存在することが明らかになった。実際にフグのアンモニア輸送体の設計図(mRNA)を取り出し、それをもとに遺伝子工学的にフグのアンモニア輸送体を合成して、性質や発現部位を調べてみると、アンモニア輸送活性があり、エラで働いていることが分かった(注34)。従来の定説(すなわち、魚類におけるアンモニア排出は自然拡散によるとする説)を覆し、輸送体の力を借りて迅速に行われていることを明らかにしたことになる。このことは、アンモニアの無毒化(尿素への変換)ない

しはすみやかな体外への排出(輸送体経由)が生存にとっていかに大切かをよく物語っている。

動物生理学の教科書の1つとして、“The Physiology of Fishes”が有名で、世界で広く使われている。その第4版では、中田さんらの仕事が図入りで紹介されている(図13c)。教科書に載るような仕事を目指し、実験に精を出した結果だが、努力が報われ嬉しかったに違いない。



横尾さんは岡山大学を定年退職後、青山学院大学に勤めるために東京に戻った。晩年は東京都町田市金森で過ごし、1994年に83歳で亡くなった。お別れ会は本学のすずかけ台キャンパス近くの和合聖堂で催された。そのキャンパスで、フグを用いて、(1)生物学上の常識を覆す研究や(2)長い間解決の糸口を見いだせないでいた難問を解く仕事がなされたと知れば、横尾さんも喜んでくれるに違いない。本稿を、戦前・戦中・終戦直後の厳しい時期に、本学でフグ毒の研究に挑戦した横尾さんに捧げる。

(注1) 高橋順太郎 & 猪子吉人, 「河豚毒」, 明治22年『帝国大学紀要医科』第1冊第5号, 1889。

(注2) Tahara, Y., "Studies on globefish poison", *J. Pharm. Soc. Japan* 29, 587-625, 1909。

Rhag and Rhcg (Benjelloun et al. 2005; Bakouh et al. 2006).

Recently, the Rh proteins and their functional significance have been examined in fish. In an elegant study on the pufferfish *Takifugu rubripes*, Nakada et al. (2007a) identified four Rh protein homologues (fRhag, fRhbg, fRhcg1 and fRhcg2) that mediated methylammonium transport when expressed in *Xenopus* oocytes. In situ hybridization and immunohistochemistry clearly demonstrated that not only were the Rh proteins located on the gill, they possessed an orientation nearly identical to that found in mammalian kidneys (Fig. 2). While fRhag was localized to pillar cells, fRhbg and fRhcg2 were located on the basolateral and apical surfaces, respectively, of the pavement cells. Expression of fRhcg1 was detected only on the apical surface of mitochondria-rich cells, where it may be acting in concert with basolateral  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPases to actively excrete ammonia (Nakada et al. 2007a). Rather than indiscriminate diffusion, ammonia may be following a specific pathway through the gill tissue from blood to water.

Rh proteins now have been found also in the gills of rainbow trout (Nawata et al. 2007), mangrove killifish (Hung et al. 2007), and zebrafish (*Danio rerio*) (Nakada et al. 2007b). Furthermore, their expression is inducible, and responsive to changes in the ammonia load. For example, the onset of ammonotelism during devel-

(注3) 当時世話になったのがヒノキチオールが発見で有名な野副鉄男(戦後の1948年に日本に帰り、東北大学教授となった; 1958年文化勲章)。ヒノキチオールはタイワンヒノキから発見された最初の7員環化合物。

(注4) 横尾晃, 「在席初期の頃の思い出」, 星野敏雄先生還暦記念集(岩倉義男他編集), 248-249, 1960。

(注5) 横尾晃, 「河豚毒の化学的研究」(第1報に相当), 東京工業大学学報13: 8-12, 1948. 理化学研究所彙報24輯, 3号, 136-139, 1948。

(注6) 横尾晃, 「河豚毒の化学的研究(第2報)」, 広島医学1巻, 2号, 52-53, 1948。

(注7) 横尾晃, 「河豚毒の化学的研究(第3報) — Spheroidine の分離」, 日本化学雑誌71巻11号, 590-592, 1950. 0.01  $\gamma/\text{g}$  マウス。  $\gamma = \mu\text{g}$

(注8) Yokoo, A., Studies on toxin of a globe fish. Report No. 4, *Proc. Japan Acad.* 28, 200-202, 1952.

(注9) 横尾晃, 諸澤四朗, 「河豚毒の化学的研究(第5報) — Tetrodotoxin との比較」, 薬学雑誌75巻2号, 235-236, 1954。

(注10) 久保田尚志, 「フグ毒にとり組んだ10年 横尾晃研究室」, 化学20巻2号, 165-168, 1965. 口絵に写真あり。

(注11) 渡鷹橋靖幸, 「広島県立医科大学予科」, 広仁会々報(第68号)平成17年7月号, 31~38頁, 2006。

(注12) 平田義正, 後藤俊夫, 日本特許No. 290717 (1960年出願)。

後藤俊夫, 高橋傲, 岸義人, 平田義正, 「フグ毒テトロドキシンの抽出と精製」, 日本化学雑誌85巻8号, 508-511, 1964。

(注13) Tsuda, K., Ikuma, S., Kawamura, M., Tachikawa, R., Sakai, K., Tamura, C., and Amakasu, O., Tetrodotoxin.

- VII. On the structures of tetrodotoxin and its derivatives, *Chem. Pharm. Bull.* 12, 1357–1374, 1964.
- (注 14) Goto, T., Kishi, Y., Takahashi, S., Hirata, Y., The structure of tetrodotoxin, *Tetrahedron Letters* 4, 2105–2113, 1963.
- Goto, T., Kishi, Y., Takahashi, S., Hirata, Y., Tetrodotoxin, *Tetrahedron* 21, 2059–2088, 1965.
- (注 15) Woodward, R.B., Gougoutas, J.Z., The structure of tetrodotoxin, *J. Am. Chem. Soc.* 86, 5030, 1964.
- Woodward, R.B., The structure of tetrodotoxin, *Pure and Applied Chemistry* 9, 49–74, 1964.
- Third International Symposium on the Chemistry of Natural Products, Kyoto, Japan, 12–18 April 1964.
- (注 16) Furusaki, A., Tomie, Y., Nitta, I., The crystal and molecular structure of tetrodotoxin hydrobromide, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 43, 3332–3341, 1970.
- (注 17) Kishi, Y., Fukuyama, T., Aratani, M., Nakatsubo, F., Goto, T., Inoue, S., Tanino, H., Sugiura, S., Kakoi, H., Synthetic studies on tetrodotoxin and related compounds. IV. Stereospecific total syntheses of DL-tetrodotoxin, *J. Am. Chem. Soc.* 94, 9219–9221, 1972.
- (注 18) Ohyabu, N., Nishikawa, T., Isobe, M., First asymmetric total synthesis of tetrodotoxin, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 8798–8805, 2003.
- Hinman, A., Du Bois, J., A stereoselective synthesis of (–)-tetrodotoxin, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 11510–11511, 2003.
- (注 19) Mosher, H.S., Fuhrman, F.A., Buchwald, H.D., Fischer, H.G., Tarichatoxin-tetrodotoxin: a potent neurotoxin, *Science* 144, 1100–1110, 1964.
- (注 20) Buchwald, H.D., Durham, L., Fischer, H.G., Harada, R., Mosher, H.S., Kao, C.Y., Fuhrman, F.A., Identity of tarichatoxin and tetrodotoxin, *Science* 143, 474–475, 1964.
- (注 21) Twitty, V.C., and Johnson, H.H., Motor inhibition in *Amblystoma* produced by *Triturus* transplants, *Science* 80, 78–79, 1934.
- (注 22) Funabashi, M., Wakai, H., Sato, K., and Yoshimura, J., Branched-chain sugars. Part 15. Synthesis of 1L-(1,2,3',4,5/3,6)-3-hydroxymethyl-4,5-O-isopropylidene-3,3'-O-methylene-6-nitro-2,3,4,5-tetrahydroxycyclohexenecarbaldehyde dimethyl acetal, a potential key compound for total synthesis of optically active tetrodotoxin, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1980, 14–19, 1980.
- (注 23) Sato, K., Akai, S., Sugita, N., Ohsawa, T., Kogure, T., Shoji, H., Yoshimura, J., Novel and stereocontrolled synthesis of (+/-)-tetrodotoxin from myo-inositol, *J. Org. Chem.* 70, 7496–7504, 2005.
- (注 24) Sato, K., Akai, S., Shoji, H., Sugita, N., Yoshida, S., Nagai, Y., Suzuki, K., Nakamura, Y., Kajihara, Y., Funabashi, M., Yoshimura, J., Stereoselective and efficient total synthesis of optically active tetrodotoxin from D-glucose, *J. Org. Chem.* 73, 1234–1242, 2008.
- (注 25) Akai, S., Seki, H., Sugita, N., Kogure, T., Nishizawa, N., Suzuki, K., Nakamura, Y., Kajihara, Y., Yoshimura, J., and Sato, K., Total synthesis of (–)-tetrodotoxin from D-glucose: a new route to multi-functionalized cyclitol employing the ferrier(II) reaction toward (–)-tetrodotoxin, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 83, 279–287, 2010.
- (注 26) Sato, K., Akai, S., and Yoshimura, J., Stereocontrolled total synthesis of tetrodotoxin from myo-Inositol and D-glucose by three routes: aspects for constructing complex multi-functionalized cyclitols with branched-chain structures, *Natural Product Communications* 8, 987–998, 2013. Review
- (注 27) 檜橋敏夫：東京大学農学部獣医学科 1948 年卒，1961 年シカゴ大学ポスドク，1963 年デューク大学医学部生理薬理学科 助手になって以来 12 年間そこでキャリアを積み上げ，1977 年にノースウエスタン大学医学部薬学科に移り，17 年間に及んで学科長を務めた。
- (注 28) Narahashi, T., Deguchi, T., Urakawa, N., and Ohkubo, Y., Stabilization and rectification of muscle fiber membrane by tetrodotoxin. *Am. J. Physiol.* 198: 934–938, 1960.
- (注 29) Narahashi, T., Moore, J.W., and Scott, W.R., Tetrodotoxin blockage of sodium conductance increase in lobster giant axons, *J. Gen. Physiol.* 47, 965–974, 1964.
- (注 30) Noda, M., Shimizu, S., Tanabe, T., Takai, T., Kayano, T., Ikeda, T., Takahashi, H., Nakayama, H., Kanaoka, Y., Minamino, N., Kangawa, K., Matsuo, H., Raftery, M.A., Hirose, T., Inayama, S., Hayashida, H., Miyata, T., & Numa, S., Primary structure of *Electrophorus electricus* sodium channel deduced from cDNA sequence, *Nature* 312, 121–127, 1984.
- (注 31) Venkatesh, B., Lu, S.Q., Dandona, N., See, S.L., Brenner, S., Soong, T.W., Genetic basis of tetrodotoxin resistance in pufferfishes, *Curr. Biol.* 15, 2069–2072, 2005.
- (注 32) Kato, A., Doi, H., Nakada, T., Sakai, H., Hirose, S., *Takifugu obscurus* is a euryhaline fugu species very close to *Takifugu rubripes* and suitable for studying osmoregulation, *BMC Physiol.* 5:18, 2005.
- (注 33) 広瀬茂久，「生命化学Ⅲ—細胞・代謝・ホルモン」，丸善，p. 130, 1997.
- (注 34) Nakada, T., Westhoff, C.M., Kato, A., Hirose, S., Ammonia secretion from fish gill depends on a set of Rh glycoproteins, *FASEB J.* 21, 1067–1074, 2007.
- (注 35) 広瀬茂久，大八木昭，金子豊二，「pH 3.5 の湖にすむ魚の秘密」，現代化学 2004 年 5 月号 (No. 398)，28–33。特別推進研究 (1997～2001) の支援を受けた本研究の成果も教科書に載っている。
- Hirata, T., Kaneko, T., Ono, T., Nakazato, T., Furukawa, N., Hasegawa, S., Wakabayashi, S., Shigekawa, M., Chang, M.H., Romero, M.F., Hirose, S., Mechanism of acid adaptation of a fish living in a pH 3.5 lake, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R1199–R1212, 2003.

図の出典：①，② b，② c，and ③ were obtained from Photolibary; ② a, from「化学」Vol. 20, No. 2, 1965; ⑦, modified from「イオンチャネル・2」(東田陽博編，メジカルビュー社，1993)の表紙；⑧，from Kato *et al.* BMC Physiology 5:18, 2005; ⑩，modified from The Nature of Life (J.H. Postlethwait & J.L. Hopson), McGraw-Hill, Figure 25.4 (p. 537); ⑫，modified from Olson, J. Exp. Zool. 293, 214–231, 2002.

2015 年 10 月  
増補版 2016 年 1 月

東京工業大学 博物館 資史料館部門  
centshiryou@jim.titech.ac.jp