

研究課題名

野生齧歯類における殺鼠剤抵抗性獲得機序の解明と野生鳥類における殺鼠剤感受性評価法の確立～新規カクテル型殺鼠剤への応用を目指して～

共同研究者名

氏名	所属	職
代表者 武田一貴	北海道大学大学院獣医学研究科	大学院生
分担者 石塚真由美	北海道大学大学院獣医学研究院	教授
池中良徳	北海道大学大学院獣医学研究院	准教授
中山翔太	北海道大学大学院獣医学研究院	助教
水川葉月	愛媛大学大学院農学研究科	准教授
野見山桂	愛媛大学沿岸環境科学研究センター	准教授

研究目的

現在、野生齧歯類の駆除は困難である。これらの多くはワルファリンなどの殺鼠剤に抵抗性を有するうえ、その対策に用いられた第二世代殺鼠剤は毒性が強く猛禽類での二次被害が絶えない。また野生ラット、猛禽類を用いての *in vivo* 試験は困難であり、生体レベルの毒性評価法自体が存在しない。

そこで当該研究は①抵抗性獲得機序の解明とそれに応じた新規殺鼠剤の開発 ②殺鼠剤抵抗性ラットや鳥類種における殺鼠剤感受性評価を行う *in silico* モデリング手法の構築を目指す。

研究内容

野生ラットを用いた試験は個体数の確保や環境中化学物質の影響評価が不可能なため殺鼠剤に対する応答を正確に観察できない。そこで当該研究では東京の殺鼠剤抵抗性ラットを捕獲し、長期飼育することでクローズ

ドコロニーを確立した。これにより抵抗性ラットとしての遺伝的特徴は保ちつつ、外部要因を排除した実験系が可能とした。

本コロニーを抵抗性ラットのモデル動物として抵抗性獲得機序の解明を行った。これに加え、es-BANK に保管されたハイタカなど野生猛禽類の肝サンプルを用いて、感受性に関与する諸因子のパラメーターを収集する。

この *in vivo*, *in vitro* 試験の知見を組み合わせ *in silico* モデリングによる殺鼠剤毒性評価法と新規殺鼠剤の開発を行う。

研究成果

今年度は下記の 3 試験系を実施した。

- ①殺鼠剤の標的分子であるビタミン K エポキシド還元酵素（VKOR）の *in vitro* 評価系構築
- ②es-bank からの鳥類種肝サンプリング
- ③肝サンプルからの VKOR 含有（ミクロソーム）画分調製

①殺鼠剤はビタミン K を還元・活性化する酵素 VKOR を阻害し、出血毒性を発揮する。本試験系では肝臓から抽出したミクロソーム画分とビタミン K、殺鼠剤を試験管内で反応させ、その阻害率を測定した。今回は試験系の立ち上げとして一般的な実験用ラット（SD ラット）を用い阻害試験を行った（図 1）。

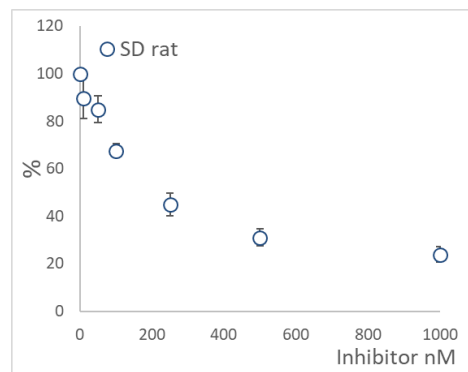


図 1：VKOR 活性阻害試験。横軸は阻害剤（ワルファリン濃度）、縦軸は阻害剤非添加時との比を示す。供試動物 SD ラット 10 週齢♂、N=4

②es-bank からは現在殺鼠剤による中毒事

例が多く確認されている猛禽類のうち、下記 7 種類の肝臓を採取した。また、トビについては愛媛大学で調製されたミクロソーム画分を取得した。

鳥類種	個体数
クマタカ	1

ノスリ	2
ハヤブサ	3
シマフクロウ	1
アオバズク	4
オオコノハズク	4
フクロウ	8

③es-bank から回収したサンプルから VKOR を含むミクロソーム画分を調製した。現在までにフクロウ 2 個体のミクロソーム画分が調製済である。これらを用いて①で確立した VKOR 活性を測定したところ、1 個体で VKOR 活性が測定できた。しかしながら、もう 1 個体では活性値が検出限界以下であった。これはサンプルの保存状態に起因すると考えられる。

成果発表

2nd Chemical Hazard Symposium December 8th, 2018, CMES, Ehime University, Ehime Japan Novel Mechanism of Rodenticide (warfarin) Resistance of Wild Rats in Tokyo ~Enhanced Pentose Phosphate Pathway Causes Rapid Metabolism of Warfarin~ Kazuki Takeda, Yoshinori Ikenaka, Kazuyuki D. Tanaka, Shouta M.M. Nakayama, Tsutomu Tanikawa, Hazuki Mizukawa, and Mayumi Ishizuka

今後の問題点

今回フクロウについて 1 個体で VKOR 活性を測定する事ができた。この成果を基に、殺鼠剤を添加しての活性阻害試験や他の鳥類種についても引き続きミクロソーム画分調製・*in vitro* での VKOR 活性試験を行う事が求められる。