

貝毒に関する最近の動向

安 元 健*

緒 言

有毒プランクトンを餌とした二枚貝が毒化し、中毒を引き起こす事例は世界的に増加の傾向にある。即ち、貝の毒化の頻度の増加と毒化期間の長期化、毒化海域の拡大、毒の種類が多様化等によってもたらされる食品衛生上の脅威、水産業の被害は確実に増大している。細菌汚染による食中毒とは異なっており、漁獲後の低温管理や、加熱滅菌によって中毒を回避することは不可能である。有毒個体は外観では識別できず、加熱で毒を完全に破壊することも不可能である。貝毒に対処するには原因毒の化学構造を把握し、その知識に基づいて検出・定量法を設計すること、および、原因プランクトンを特定して海中での動態を監視することが必要であり、天然物化学と分析化学の分野からの協力が要求される。本稿では貝毒についての基本的な事項に、最近の知見を加えて紹介したい。

1. 麻痺性貝毒

北米や欧州では古くから知られていて、フグ中毒によく似た急性の筋肉麻痺と高死亡率で恐れられている。わが国で発生が確認されたのは1950年代以降であるが、現在では全国各地の二枚貝養殖場がその脅威に晒されていると言っても過言ではない。全国的な毒性監視事業が整備されているので、わが国での中毒発生は少ないが最も注意を要する貝毒である。

〔毒化原因種〕 代表的な毒化原因プランクトンとしては *Gonyaulax catenella* 及び *Gonyaulax tamarens* が知られていた。この生物の分類には種々の説が出され、一時期は属名を *Protogonyaulax* とすることが提唱され、わが国の公式文書にも用いられていた。しかし現在では *Alexandrium* の属名を使用することが世界的に決定されている。*Gymnodinium catenatum* の毒性

が確認されたのは10年程前であるが、現在では日本沿岸各地で貝の毒化原因となっている。*Pyrodinium bahamense* var. *compressa* は太平洋南方海域での毒化原因として知られ、日本沿岸での発生はない。

これらの有毒種は耐久性の休眠胞子を形成して海底に堆積し、その海域に定着することが多い。また、耐久性胞子は船舶のバラスト水を介して他の海域に伝播される原因ともなる。

〔原因毒〕 最初に得られた原因毒のサキントキシン (saxitoxin, STX と略記) の構造は1975年にX線結晶解析で決定された。分子量、グアニジニウム基の存在、ナトリウムチャンネルを阻害する作用など、多くの点でフグ毒のテトロドトキシンに類似することが注目された。その後、分析手段の進歩につれて多数の誘導体が発見された。構造の決定された代表的な18成分の構造とその略称を図1に示す。それらは3群に分けることが出来る。第一群は、カルバーメートトキシン群と呼ばれる成分群で、STXを基本骨格とし、N-1の酸素の有無と、C-11位の硫酸エステルの有無とその立体配置で区別される。第二群はサルファメートトキシン群とも呼ばれ、第一群のカルバモイル窒素がスルホン化された成分である。第三群はデカルバモイルトキシン群とよばれる最近発見された成分群で、カルバモイル基がなく、生合成の中間産物、または貝類に存在する酵素によって第一群と第二群の毒が分解されて生じた成分と考えられる。

このように多数の成分の中で注目されるのは第二群の毒である。毒性が低いのでマウス試験法では検出されにくい、酸性条件下で容易にカルバモイル基に結合したスルホン基が脱離し、高毒力の第一群に変化する。即ち、加熱・調理時のpHが酸性だと毒力が数百倍にも上昇する。

〔定量法〕 麻痺性貝毒の定量にはマウス毒性試験法が用いられている。二枚貝の希塩酸抽出液を段階希釈し

* 東北大学農学部

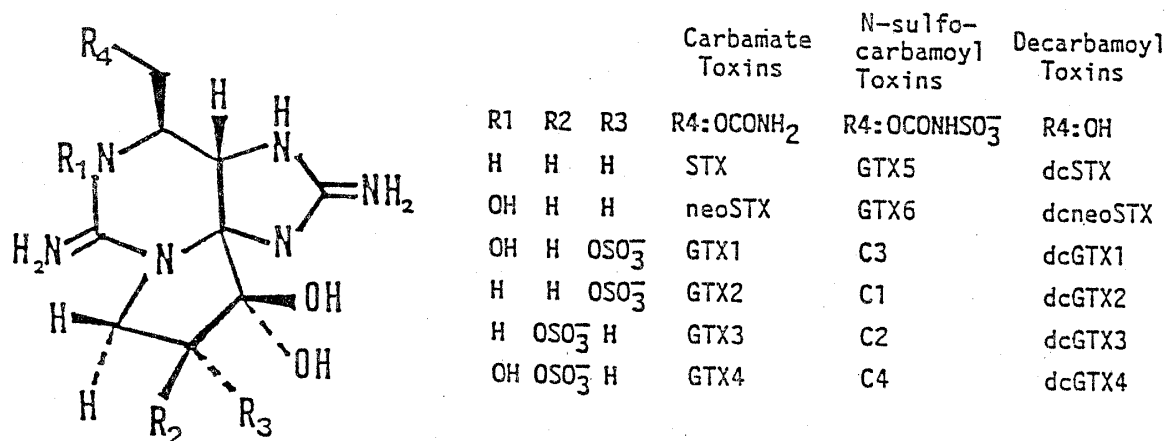


図 1. 麻痺性貝毒構造式

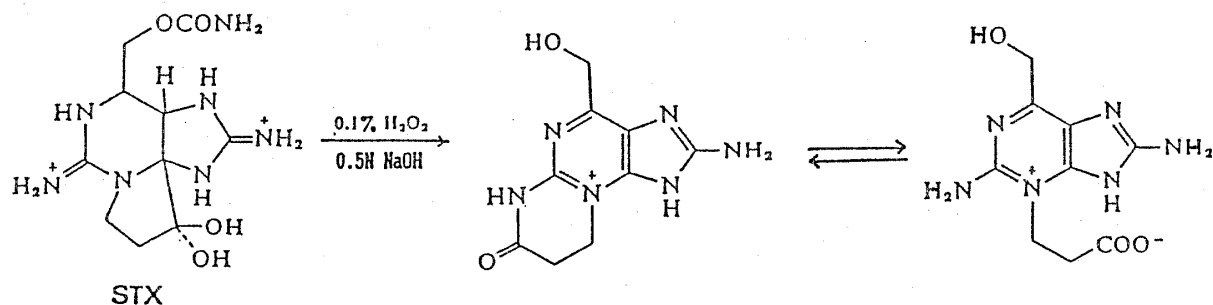


図 2. アルカリ性過酸化水素との反応で得られるサキトキシンの蛍光誘導体

マウスの腹腔内に注射し、死亡するまでの時間を測定して毒量を算出する方法である。簡便ではあるが、多数のマウスを殺す倫理的問題に加えて、毒組成についての情報が得られない欠点がある。STX をアルカリ条件下で過酸化水素で酸化すると図 2 に示す蛍光化合物を与えることが知られていた。しかし、1 位の窒素が酸化された成分群では分解が進んで蛍光化合物が得られないとされていた。我々は蛍光化に適した酸化剤と酸化条件を検討し、全ての成分群の蛍光検出を可能にした。そこで、毒の各成分を高速液体クロマトグラフィーで分離し、ついで過ヨウ素酸で酸化して蛍光化合物に変換する微量定量法を完成した。簡便、迅速であり、毒量ばかりでなく毒組成についても正確な情報を提供する。問題点は、分離能や感度を補正するために標準試料が必要なことである。我々は全ての成分を保持しているので問題ないが、入手できない他の研究室では普及が遅れている。

2. 下痢性貝毒

昭和 51 年に宮城県で発生したムラサキガイを原因とする下痢症の原因が、自然毒であることを明らかにして下痢性貝毒と命名した。二枚貝を食べてから短時間（通常 3 時間内）に発症すること、発熱のないこと、腹

痛の激しくないことでビブリオ菌食中毒などと区別される（図 3）。現在では世界的に多数の食用二枚貝による

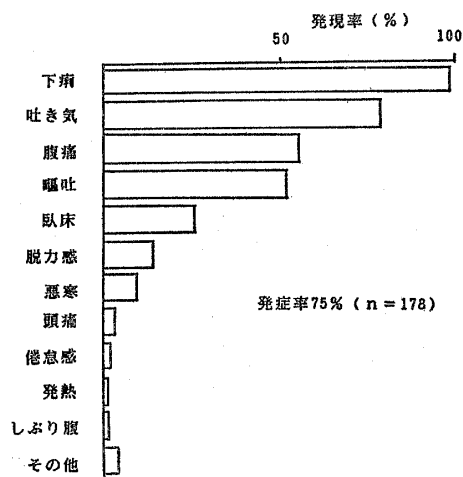


図 3. 下痢性貝中毒患者の症状別発現率

発生が確認されていて、ヨーロッパ諸国や日本、カナダのような先進国での発生が多い。発生海域が広く、毒化は長期間継続するので、二枚貝養殖業に与える被害は大きい。発見の当初は一過性の下痢症として軽視されていたが、原因毒に強い発ガン促進作用のあることが明らか

貝毒に関する最近の動向

にされて以来、公衆衛生上の懸念が増大した。毒は中腸腺（消化腺）にほぼ局在するので、ホタテガイのような大型の貝では、この部位を除去すれば中毒を防止できる。

〔毒化原因生物〕 日本での主要毒化原因種は渦鞭毛藻に属する植物プランクトンの *Dinophysis fortii* である。海水中の密度が僅か 200 細胞/L 程度の低い密度でも、それを食べた貝が毒化する。本種は光合成だけでは生育しない半従属栄養種なので、培養が困難であり、多くの研究者の努力によっても人工培養には成功していない。我々は後に述べるように微量蛍光定量法を開発し、顕微鏡下で毛細管を使って拾い集めた純粋な *D. fortii* 試料に適用して、本種が毒化原因種であることを確認した。同様な手法でこれまでに採集した *Dinophysis* 属の 7 種の全てに毒成分を検出している。表 1 にプランクトンの種名と検出された成分を示した。

D. fortii の毒含量が採集海域や季節によって変動すること、本種が微細な藍藻類を餌にすることから、真の毒の起源は藍藻ではないかと疑われたことがある。しかし、我々は培養可能な *Prorocentrum lima* を用いて主要毒のオカダ酸の生合成を調べ、その経路が藍藻の二次代謝産物の生合成経路と異なることを明らかにした。但し、毒の起源が藍藻ではないにしても、細菌である可能性はまだ残っている。

〔原因毒〕 最初に単離された毒は毒化原因プランクトンの属名に因んでジノフィシストキシン-1 (dinophysistoxin-1, DTX1) と命名された。その基本骨格は当時海綿から単離された細胞毒性物質のオカダ酸 (okadaic acid, OA) と同一であることが判明した。現在このグループの毒 4 成分が明らかになっている。第二のグループはペクテノトキシン (pectenotoxin, PTX) と命名され 4 成分の構造が明らかにされた。第三の毒イェットキシン (yessotoxin, YTX) は、エーテル環が梯子状に連結した骨格の末端に硫酸エステルが 2 個結合している。エーテル環の結合様式は、フロリダ沿岸で赤潮を形成して魚貝類の大量へい死を招く *Gymnodinium breve* の毒

プレベトキシン類に良く似ている。構造の決定された下痢性貝毒成分を図 4 に示す。

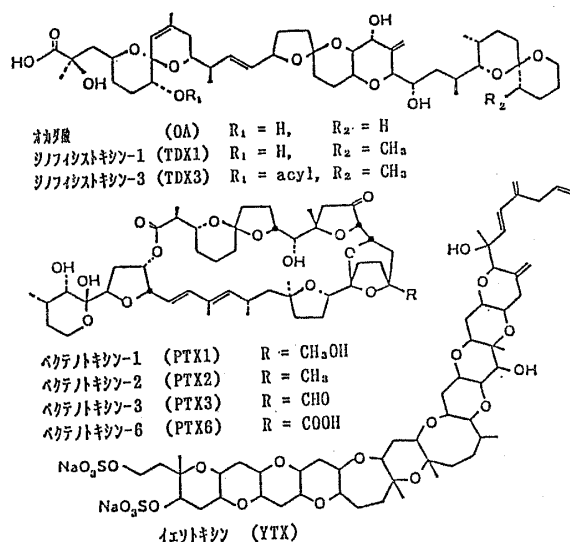


図 4. 下痢性貝毒群の化学構造

D. fortii が DTX1, OA, PTX2 の三成分の起源であることは確認されたが、YTX の起源は未同定である。

〔定量法〕 下痢性貝毒の定量は脂溶性画分をマウス腹腔内に注射し、24 時間後の生死を判定することで行われる。動物を使用する点や、特異性が低く、夾雑物の影響を受け易い欠点がある。しかし、試料が多様な成分の混合物である場合はその試料の毒性を判定する方法としては有用である。他に適当な代替法がないこともあって、マウス試験法は世界的に広く使用されている。

カルボキシル基を有する成分群については蛍光化試薬の 9-アンスリルジアゾメタンで標識した後、高速液体クロマトグラフィーで分離定量が可能である (図 5)。一級水酸基を有する PTX1 と構造未知の成分 PTX4 は 1-アンスロイルニトリルを用いて、同様に微量定量が可能である (図 6)。YTX の微量定量法はまだ開発されていない。

カルボキシル基を有する OA を蛋白に結合した抗原

表 1. 下痢性貝毒を生産するプランクトン

和 名	学 名
ジノフィシス フォルティ	<i>Dinophysis fortii</i> OA, DTX1, PTX2
ジノフィシス アクミナータ	<i>D. acuminata</i> OA
ジノフィシス ミトラ	<i>D. mitra</i> DTX1
ジノフィシス ロトンダータ	<i>D. rotundata</i> DTX1
ジノフィシス トリポス	<i>D. tripos</i> DTX1
ジノフィシス アクータ	<i>D. acuta</i> OA, DTX1
ジノフィシス ノルヴェジカ	<i>D. norvegica</i> OA, DTX1

注 OA: オカダ酸, DTX1: ジノフィシストキシン-1, PTX2: ペクテノトキシン-2

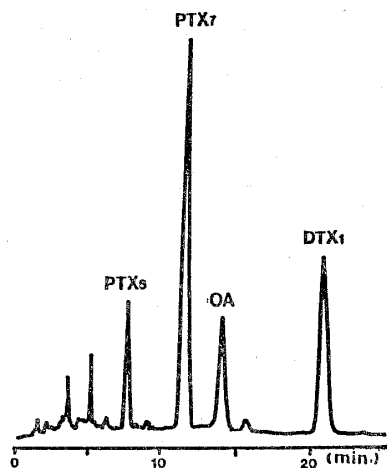
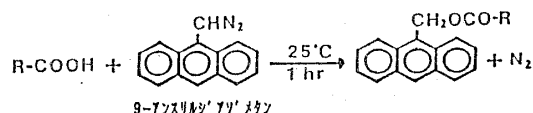


図5. カルボキシル基を有する下痢性貝毒群と1-アンスロイルアゾメタンとの反応及び生成した蛍光化合物のクロマトグラム

カラム: Develosil ODS-5 (野村化学, 4.6×250mm), 溶媒: アセトニトリル-メタノール-水 (8:1:1), 流速: 1.1ml/min, 検出: ex. 365nm, em. 412nm, OA: オカダ酸, DTX1: ジノフィシストキシン-1, PTX6: ペクテノトキシン-6, PTX7: ペクテノトキシン-7 (構造未定のため図4に示してない)。

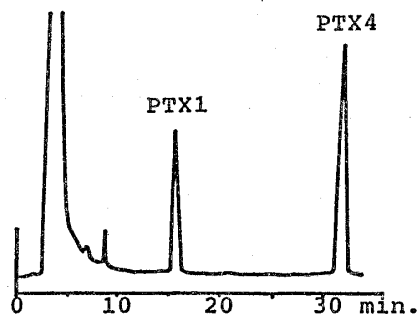
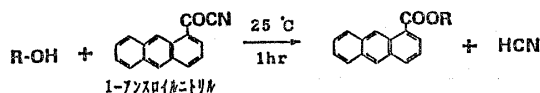


図6. 一級水酸基を有する下痢性貝毒と1-アンスロイルイソニトリルとの反応及び生成した化合物のクロマトグラム

カラム: Develosil ODS (野村化学, 4.6×250mm), 溶媒: アセトニトリル-水 (8:2) 1.1ml/min, 検出: ex. 365nm, em. 465nm, PTX1: ペクテノトキシン-1, PTX4:

をマウスに接種し, 得られた抗体を酵素で標識して酵素免疫定量法が開発された。現在, 宇部興産社から DSP-チェックの名で測定キットが市販されている。同様に

PTX6を用いて免疫抗体も得ているが, キットとして市販するには至っていない。

3. 記憶喪失性貝毒

1987年の11月から12月にかけて, カナダ大西洋岸でムラサキガイを食べた人の間で奇妙な食中毒が続発した。食後3~6時間内に腹痛, 下痢, 嘔吐, 流涎が見られ, ほぼ同時に記憶の喪失や混乱, 平衡感覚喪失, 家族の識別不能が起きた。重症者は昏睡に陥った。153名の患者中の19名が集中管理室で手当を受け, 2週間内に3名が死亡した。死亡者はすべて高齢者が腎臓に障害を持つ人であった。この中毒は症状の特徴に因んで記憶喪失性貝毒 (Amnesic Shellfish Poisoning, ASP) と命名された。

その後1990年にはオレゴン州でもマテガイなどの二枚貝が毒化し, 貝類を食べたベリカンが大量に死亡したり, ダンジネス種のカニの内臓に毒が蓄積したりした。さらに原因プランクトンを食べたカタクチイワシの内臓にも毒が検出された。

〔毒化原因生物〕 カナダでの原因種は当時赤潮を形成していた珪藻の *Nitzschia pungens* f. *multiseries* が毒化原因と判明した。オレゴン州での原因種は *Pseudonitzschia australis* と同定された。これらの珪藻は世界的に広く分布し, 沿岸で赤潮を形成する。日本沿岸でも一般的な種類なので, 今後の警戒が必要である。

〔原因毒〕 カナダの研究班によって毒の本体はドゥモイ酸 (domoic acid) と同定された。ドゥモイ酸は東北大学の竹本教授 (故人) らによって紅藻のハナヤナギから駆虫成分として単離・構造決定されたアミノ酸である (図7)。別種の紅藻マクリの駆虫成分のカイニン酸と構

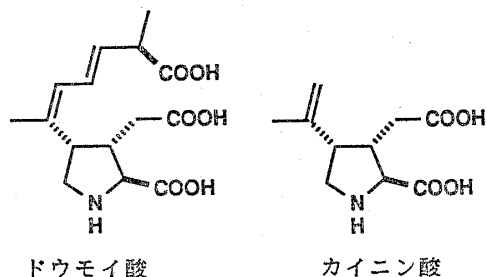


図7. 記憶喪失性貝毒の原因毒ドゥモイ酸とその類縁体で駆虫薬として知られるカイニン酸

造と作用が類似しており, 大脳の神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体に親和性を示す。摂取量が60mg以上で発症し, 115mg以上で記憶障害がでるものと推定された。魚介類中の濃度が20ppmを超えると食品として不適当と判定される。

〔定量法〕 マウスの腹腔内に注射すると, 前肢を交

貝毒に関する最近の動向

互に用いて耳を搔く特徴的な動作（実際には座撃）を示すが致死毒性は約 10mg/kg であり、感度が悪い。分子内に共役二重結合があるので、高速液体クロマトグラフィーに紫外検出計を接続して定量される。

4. 未解明の貝毒

下痢性貝毒の検出にマウス毒性試験が広く採用された結果、多くの地域で二枚貝に毒性が検出された。その中には微量蛍光検出法で測定した毒含量とマウス毒性が対応しない試料があり、原因を追究したところ、未知の毒が検出される事例が増加している。地中海産のイガイやカナダ産のムラサキイガイがそうである。一方、オカダ酸が蛋白ホスファターゼの強力な阻害物質であることを利用した検出・定量法が開発された結果、オカダ酸に加えて構造未知の成分が発見されつつある。さらに、淡水産藍藻の毒として有名な環状ペプチドのミクロシスチン LR (図 8) も海産二枚貝から検出された。ミクロシスチン類はオカダ酸と同様に蛋白ホスファターゼ阻害作用を有し、強力な発ガン促進物質であり、肝臓毒であるばかりでなく肝臓癌の原因となることが疑われている。この原稿を執筆している段階で、ニュージーランドで未知のタイプの貝毒の発生を報じるニュースが新聞で報道された。かつて 1940 年台に 185 人もの死者を出した浜名湖のアサリ中毒は、その後の発生はないものの原因は未

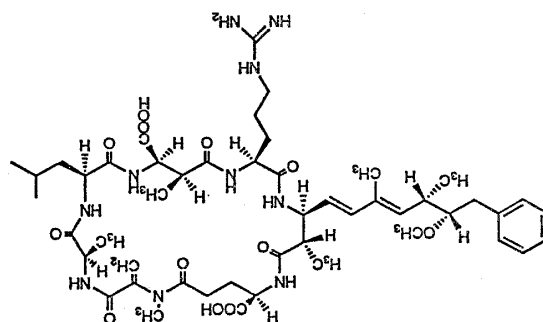


図 8. 淡水産藍藻の有毒成分として発見され、最近では海産二枚貝からも検出されたミクロシスチン-LR

解明である。沿岸水域の環境変化や輸入食品の増加に対応して、貝毒の監視や解明は益々重要となるであろう。

本稿の内容に関係する文献を網羅すると莫大な数になるので、参考文献としては成書や総説を主体としたことをお詫びします。

参考文献

- 1) 安元 健:「食品衛生ハンドブック」, 藤原喜久夫・栗飯原景昭編, pp.205-215 (1992) 南江堂
- 2) 安元 健: 日本農芸化学会誌, 66, 1196 (1992)
- 3) 安元 健: 化学と生物, 28, 703 (1990)
- 4) 安元 健: 化学と生物, 27, 401 (1989)
- 5) 安元 健: 実験医学, 8, 1243