貝毒に関する研究の現状と課題*

大 島 泰 克

1. はじめに

通常食用となっている二枚貝が突然に毒化して、それを食べた人が中毒を起こすことがある。この毒は二枚貝自体が生産するのではなく、有毒の単細胞藻類から食物連鎖を通して二枚貝に移行、蓄積される。この貝毒と総称されているものには原因となる藻類、毒の化学的性状、作用を異にする4グループがあり、食品衛生上のみならず、産業上も大きな脅威となっている。ここではそれらについての基礎的な説明と最近の話題を述べる。

2. 麻痺性貝毒

2.1 発生状況

貝毒のなかでもっとも古くから知られているもので、アメリカインディアンの伝承にもあるが、1790年にロシアの探険隊がアラスカでイガイを食べて100名が死亡したのが最初の記録とされている。症状が神経麻痺を主徴とすることから麻痺性貝中毒 (paralytic shellfish poisoning) と呼ばれ、死亡率が高いのが特徴である。わが国では、昭和23年愛知県豊橋市でアサリにより12名の患者が出て以来、これまでに7件146名(うち死亡4名)の患者の発生をみている。地域的には北海道から九州にいたる各地で二枚貝の毒化が起きているが、特に東北、北海道では重要な産業であるホタテガイが毎年のように長期の出荷規制を受けることから経済的被害が大きい。1980年代以降わが国でも監視体制が整備されつつあり、この貝毒による食中毒はほとんど発生していなかったが、1989年7月に青森県で

定置網掃除の副産物であるムラサキイガイが原因で、死者を含む食中毒が発生している。このような主要生産種以外の二枚貝による事故をいかに防ぐかが今後の問題とされる。

世界的にみると古くから麻痺性貝毒の出現が知られているアメリカ大陸東西海岸、ヨーロッパ等北半球の冷水域では1976年にスペインから輸出されたムラサキイガイでヨーロッパ各国で多数の食中毒患者が発生して以来、大規模な事故は起きていない。しかし、近年、ボルネオ、フィリピン、グアテマラ等の熱帯、亜熱帯地域で患者数百人を超える大規模な事件が多発している。これらは有毒渦鞭毛藻の大規模な赤潮に伴って発生し、監視体制、情報伝達網の整備が難しい地域で起こることから被害が大きくなる傾向がある。また、台湾、韓国、ホンコン、オーストラリア、メキシコ等、これまで麻痺性貝毒の記録のなかった地域から中毒の発生あるいは二枚貝の毒化が報告されており、汚染海域は広がる傾向にある。

2.2 毒化原因生物

二枚貝の毒化原因としては数種の渦鞭毛藻 (dino-flagellate) が知られている。最も古くから知られており、研究の進んでいるのは *Alexandrium* 属であるが、かつてこれは *Gonyaulax* 属の "tamarensis group" にまとめられていた。新しい属名について分類学者の間で見解が一致せず、*Protogonyaulax*, *Gessnerium* 等文献の記載にも混乱が続いていたが、1989年6月にスウェーデンで開催された第4回国際海洋有毒植物プランクトン学会において渦鞭毛藻分類の専門家多数を集めた討論が行われ、今後統一して *Alexandrium* を使用することで合意に達している。*Alexandrium* は北米、ヨーロッパにおける主要原因種であるが、日本では *A. tamarense* と *A. catenella* の2種が毒化原因として確認されている¹⁾。分布域は重複するものの一般に前者が北日本、後者が西日本における主要な毒化原因とされてきた。しかし、1988年10~12月には *A. catenella* が北海道噴火湾に出現してホタテガイの毒化を起こしたり、1988、1989年の6~7月には茨城県沿岸で同種の大規模な赤潮が発生するなど複雑化している。熱帯域において多発している麻痺性貝毒は、タイなどの一部で報告されている *A. cohorticula*²⁾を除いて、

Yasukatsu Oshima

昭和44年 東京大学理学部化学科卒業
49年 同大学院博士課程修了
50年 ロードアイランド大学研究員
52年 東北大学農学部助手
54年 同助教授
農学博士

〔趣味〕 ラグビー

* Shellfish Poisoning: An Overview, 1989年10月2日受理

Pyrodinium bahamense var. *compressa* に起因している。本種は広大な海域で赤潮を形成し、二枚貝のみかプランクトンフィーダーの魚までも毒化させることがある。また、最近我々によって毒生産能が確認された *Gymnodinium catenatum* は上記2属が有殻の渦鞭毛藻であるのに対し、無殻であるのが特徴である。1976年のスペインの毒化以来第3の有殻の有毒グループとして、メキシコ(太平洋岸)、オーストラリア(タスマニア)³⁾、日本(山口県仙崎)⁴⁾などで散発している。無殻のため *Alexandrium* 属などに用いられる固定法では失われることがあるので、これまでのプランクトン調査で見過ごされてきた可能性もあり、今後注意を要する種類である。

形態学的に同一種に分類された中には出現環境を大きく異にするものや、無毒あるいは毒組成の大きく異なる株があり、同一種内に多系群が存在することを示している⁵⁾。このことは増殖要因の解明を目的として原因渦鞭毛藻の生理生態研究を実施する際に、問題を複雑かつ難しくしている。また、毒生産能(1細胞当りの毒力)は培養条件によって大きく変動するが、その機構あるいは毒の渦鞭毛藻内での機能は未だ解明されていない。

Alexandrium を中心として上記の渦鞭毛藻の生活史が最近明らかにされつつある(図1)。二枚貝の毒化に関与するのは無性的に細胞分裂を繰り返して増殖する遊泳細胞であるが、形態的には区別できない2交配型からなる。両者は接合したのち遊泳力を失い、休眠接合子(シスト)となって海底に沈む¹⁾。*G. catenatum*⁶⁾と *P. bahamense* var. *compressa*⁷⁾についてもシストが発見されており、ほぼ同様の生活史を有すると考えられている。シストは耐久性があり、次年度遊泳細胞発生ひいては二枚貝毒化の種となる。従って、海底の堆積物中のシストの有無を調査することで、その海域の有毒渦鞭毛藻出現を予測できる。また、シストは有毒渦鞭毛藻の分布域の拡大にとって重要と考えられている。特にバラスト水中に混入したシストが貨物船によって運ばれ、毒化域の拡大の原因となる可能性が指摘され、対策が求められている。

二枚貝の毒化には関連しないが淡水産の藍藻 *Aphanizomenon fros-aqua* の特殊な系群が麻痺性貝毒を生産することが明らかにされている。また、最近児玉らによって麻痺性貝毒を生産する細菌が単離されており、渦鞭毛藻の毒素生産との関連が注目されている⁸⁾。熱帯域の珊瑚礁に生息するオオギガニ科のカニは高濃度で麻痺性貝毒を含むことが知られているが、我々はさきにカニの餌となる紅藻モサズキから麻痺性貝毒を検出した⁹⁾。これも海藻に付着あるいは共

図1 *Alexandrium* 属の生活史 (n, 2nは核相, +, -は交配型を示す)

生している細菌による可能性が高い。

2.3 麻痺性貝毒の性質、構造、分析法

1950年代にアラスカバークラムから単離され、学名 *Saxidomus giganteus* にちなみサキシトキシンと命名された主要毒の構造は、1975年に明らかにされた。試料の入手しやすさから生物試験による定量法の設定をはじめとして毒物学、薬理学など初期の研究はサキシトキシンを対象にして行われてきた。しかし、1975年以降、ゴニオトキシン1~4、ネオサキシトキシンをはじめとするサキシトキシン同族体が次々に発見され、現在までに図2に示す18の成分の存在が確認されている。二枚貝中ではほとんどの場合、数成分の混合物として存在し、出現した原因プランクトンによって組成が異なることが多い。いずれの成分も水溶性で、中性や微酸性溶液中では加熱に対して安定であるが、アルカリ性では不安定である。サキシトキシンの毒性は1 mgでマウス5,500尾を殺すほどで、フグ毒のテトロドトキシンに匹敵する。毒性の発現はいずれも神経細胞などのNaチャンネルの選択的な遮断による。毒力は成分によって異なり、ゴニオトキシン1~4などのカルバメート型成分はほぼサキシトキシンに等しいが、脱カルバモイル型はその50~60%の強さである。また、ゴニオトキシン5, 6, 8などの側鎖カルバモイル基がスルホン化された毒群はカルバメート型毒の数分の1から十数分の1と極めて低い。しかし、これらスルフォカルバモイル毒群は加熱すると加水分解を受け、pHによって高毒性のカルバメートあるいは脱カルバモイル型成分に変換される。各地の *G. catenatum* や北海道、茨城に出現した *A. catenella* によって毒化した二枚貝はこれらの低毒力成分を多量に含むことが明らかになり⁵⁾、ヒトの消化管内あるいは食品加工中の変換の可能性を含め、今後食品衛生的にどう評価

するかが問題となっている。

現在貝毒の監視はマウスに対する致死毒性を利用した試験法によって行われている。マウス毒性試験法は簡便であるが動物の入手、管理が大変であり、分析の特異性、精度にも問題がある。また、人道的見地からこの試験法を認めない国もあり、生物試験に代わる分析法が求められていた。我々は麻痺性貝毒をアルカリ中で酸化すると芳香化して蛍光物質に変換する特異的な性質を利用して、ポストカラム反応型の蛍光—高速

液体クロマトグラフィー法を開発した¹⁰⁾。図3に装置の模式図および分析例を示す。逆相分配型カラムとアルキル硫酸またはアルキルアンモニウムを含む移動相の組み合わせによるイオン対クロマトグラフィーで毒の分離を行う。酸化剤としては過ヨウ素酸を用い、蛍光強度を上げるためにモニターに入る前に酢酸でpHを調整する。高感度で毒が検出でき、実際の試料について行った分析でもマウス毒性試験と極めて良好な相関が得られ、麻痺性貝毒の監視に実用可能であること

図2 麻痺性貝毒の構造

STXはサキシトキシン, GTXはゴニオトキシン, dcは脱カルバモイルを示す。

図3 麻痺性貝毒分析装置の模式図とクロマトグラム

毒の塩基性により3グループにわけ、異なる移動相を用いて分析する。分析例としてタスマニア産ムラサキガイを示す。各クロマトグラムは試料2.5mg相当の抽出液の注入による。

を明らかにした。今後この装置を貝毒監視の目的で普及させるには外部標準として必須の精製毒の供給をいかにするかが問題となろう。なお、本装置は1,000細胞以下の試料で全組成分析が可能に高感度であることから、今や原因渦鞭毛藻の研究には必須となっている。新しい麻痺性貝毒生産生物の追求、毒組成分析による系群判別、さらにほとんど解明されていない二枚貝の毒の蓄積、代謝機構等の研究にも役立つものと期待される。

なお、麻痺性貝毒の定量法として抗原抗体反応を利用した免疫的方法が開発されつつある。毒と蛋白との複合体を抗原としてモノクローナル抗体がつくられ、サキシトキシンの測定キットも市販されようとしている。しかし比毒性の大きく異なる多数の毒が混在する実際の試料での実用性は確立されていない。

3. 下痢性貝毒

3.1 発生状況

下痢性貝中毒 (diarrhetic shellfish poisoning) は古くより東北地方などで発生していたと考えられるが、1976年6月に発生したムラサキイガイを原因とする食中毒を契機として安元ら¹¹⁾によって発見された比較的新しい型の食中毒である。しかし、これまでに国内で1,200名、ヨーロッパでも8,000名を超える患者の発生をみており、麻痺性貝毒をはるかに上回っている。中毒の主な症状は、消化器系の障害で、下痢、おう吐、腹痛が顕著である。これらの症状に加えて中毒の発生が夏期(6~9月)に限られることから、腸炎ビブリオと誤認されやすいが、新鮮な二枚貝や加熱調理品でも発生し、発熱症状を伴わないことから区別できる。原因毒は、熱安定性であり、通常の加熱調理で破壊されることはない。死亡事例はない。

貝の毒化は、麻痺性貝毒と同様で、渦鞭毛藻の季節的な発生によって起こる。ホタテガイ、ムラサキイガイが毒化の激しい海域と養殖域が一致しており、消費量も多いことから、食中毒の原因となることが多いが、アサリをはじめとしてほとんどの二枚貝が毒化する。しかし、毒は中腸腺に局在しているために、ホタテガイのように除去できるものは中毒を回避できる。

国内で毒化の確認された海域は、北海道から九州の沿岸に散在しているが、程度の激しい海域は、陸奥湾、三陸海岸、噴火湾、オホーツク沿岸などである。スペイン、フランス、オランダ、ノルウェーなどヨーロッパ各国、チリ等でも発生がみられ、熱帯域でもその存在が疑われている¹²⁾。

3.2 毒化原因生物

毒化原因についても中毒発見当初から安元らによっ

て精力的に進められた。東北地方の二枚貝の毒力推移と出現プランクトンの変動を精密に追跡し、さらに大きく別に分画したプランクトン試料の毒力と構成種の解析から渦鞭毛藻の *Dinophysis fortii* が原因と推定した¹³⁾。しかし、本種の培養は極めて難しく最終的な毒生産の確認は、高感度の化学的分析法の開発を待たなければならなかった。下痢性貝毒の主要毒であるディノフィシストキシン-1およびオカダ酸が蛍光-液体クロマトグラフィーで検出できることを示した Lee ら¹³⁾は、顕微鏡下で純粹にして集めたプランクトンを分析に供し、*D. fortii* をはじめ、*D. accuminata*, *D. mitra*, *D. acuta*, *D. rotundata*, *D. norvegica* 等多数の *Dinophysis* 属に下痢性貝毒を確認するにいたった。また、同一種でも地域により生産する毒の組成が異なることも明らかになっている。さらにベクテノトキシンも *D. fortii* 起源であることが示されている。*D. fortii* は $20 \text{ cells} \cdot \text{L}^{-1}$ 程度の低密度の出現で二枚貝を毒化させる。

被害の大きい東北、北海道では *D. fortii* の分布、動態についての調査が各県の水産試験場の協力で実施されている。通常4月に日本海側で最初に観察され、5月には陸奥湾ついで太平洋岸に移り、高密度域は北から南にかけて順次移動する。その出現状況は対馬暖流と津軽暖流および津軽暖流に端を発する沿岸南下流に対応し、その関連に興味もたれている¹¹⁾。*Dinophysis* も細胞分裂で増殖するが、通常の栄養塩添加海水で培養できない。最近東京水産大学の石丸は *D. fortii* がクロフィルを持たず、渦鞭毛藻に通常見られないフィコシアニン特有の蛍光を発する顆粒が存在することを発見し、この起源を追跡した結果、より微細なクリプト藻を取り込むことを観察した。従属栄養あるいは取り込んだ色素を利用した光合成を行っているものと推定している。

3.3 下痢性貝毒成分の構造と分析法

安元らの研究で毒化二枚貝から10種以上の有毒成分が発見されている¹²⁾。すべてポリエーテル化合物であり、骨格構造から3種の同族体に分けられる(図4)。初めて単離された下痢性貝毒はディノフィシストキシン-1(DTX1)であるが、海綿および底生の渦鞭毛藻 *Prorocentrum lima* から分離されていたオカダ酸(OA)の35位メチル体であることが明らかになった。のちにオカダ酸も毒化二枚貝から検出され、下痢性貝毒であることが示された。7位に脂肪酸エステルを有するディノフィシストキシン-3(DTX3)を含め、末端にカルボン酸を有するこのグループは、強い下痢原性を有し、中毒症状の主原因と考えられている。また、ホタテガイからは同一骨格を有し、43位の酸化状態のみ異なるベクテノトキシン(PTX)群が単離、構造決

図4 下痢性貝毒の構造

DTXはディノフィシストキシン, OAはオカダ酸, PTXはペクテノトキシン, YTXはイエソトキシンを示す。

定されている。強い肝臓毒性が認められることから慢性毒性に懸念が持たれており、看過できない成分である。また、第三のグループとしてイエソトキシン(YTX)が明らかにされているがその起源は不明である。

食品中の下痢性貝毒の監視はマウス毒性試験法によって行われている。下痢性貝毒は、多様な構造を有する複成分系であるので、麻痺性貝毒におけるようなすべての成分を検出できる化学的分析法の適用は不可能である。ディノフィシストキシン群については、末端付近のカルボン酸を利用して、9-anthryldiazomethaneで蛍光ラベル化して高速液体クロマトグラフィーで検出する方法が開発され、さきに述べた原因種の特定のみならず、一部貝毒監視に実用されている¹³⁾。また、同群については酵素免疫定量法も開発され、一部の検体については、毒の定量が迅速かつ簡便に行うことができるようになった¹⁴⁾。

4. 神経性貝毒

アメリカのフロリダ、メキシコ湾沿岸では渦鞭毛藻 *Gymnodinium breve* (= *Ptychodiscus brevis*) の赤潮が頻発している。この渦鞭毛藻赤潮は魚類をはじめとする海洋生物のへい死を引き起こすが、ときに二枚貝に蓄積され食中毒の原因となることもある。酒に酔っ

た感じや運動失調を伴うことから、神経性貝中毒(neuro shellfish poisoning)と呼ばれる。また、風に乗った飛沫に含まれる毒により気管支系の障害も問題となっている。原因毒はブレベトキシン群と呼ばれ、ポリエーテル系化合物で、これも多数成分が発見されている。食中毒よりも一般の赤潮毒としての被害が大きいので詳しい説明は別章に譲る。なお、日本でも同属の *G. nagasakiense* による赤潮が頻発しているが、ブレベトキシンは検出されていない。

5. 健忘性貝毒

1987年の11月から12月にかけて、カナダのセントローレンス湾のプリンスエドワード島産のムラサキイガイで106名の中毒患者が発生し、3名が死亡した。高

図5 ドーモイ酸の構造

齢者に重症者が多く、かつ、記憶喪失が顕著であったので amnesic shellfish poisoning と命名された。ここでは健忘性貝中毒と仮称することにする。麻痺性貝毒生物試験法を適用すると、異なる症状を呈してマウスが死亡した。この毒性を指標に急遽中毒原因物質の探索が行われ、さきに紅藻ハナナギから駆虫物質として単離されていたドーモイ酸(図5)が同定された。毒化原因種についても探索が行われ、当時高密度で発生していた硅藻中の *Nitzschia pungens* の培養藻体からドーモイ酸が検出された。有毒の硅藻は極めて珍しいが、*Nitzschia* は各地で一般的にみられる硅藻であり、日本近海でもドーモイ酸を生産する種類が分布するかどうか早急に調査する必要がある。

6. おわりに

以上に紹介したように、貝毒には近年顕在化したり毒化域の拡大した例が多く、赤潮被害と対比される。しかし、麻痺性貝毒のように工業が発達する以前から知られたものや優占種とは言えないほどの低密度の原因種の出現で毒化が起こる例が多く、単純に人間の社会活動、とくに沿岸の富栄養化とは結びつかない面がある。顕在化した理由としては(1)分析法の発達、(2)監視網の細密化、(3)二枚貝養殖技術の発達による漁場の拡大やホタテガイなどの垂下養殖に見られるような漁業形態の変化、(4)夏期にも二枚貝が大量に流通するなど消費形態の変化も考えられる。

これまで述べてきたように貝毒の原因生物に関する研究では、微量かつ複雑な化合物の検出、定量法の開発が不可欠であり、今後も化学者と生物学者の緊密な連携が必要とされる。

文 献

- 1) 福代康夫編(1985)貝毒プランクトン—生物学と生態学, 125 pp., 恒星社厚生閣, 東京.
- 2) Fukuyo Y., Yoshida K., Ogata T., Ishimaru T., Kodama M., Pholpunthgin P., Wisessang S., Phanichakarn P. and Piyakarnchana T. (1989) Suspected causative dinoflagellates of paralytic shellfish poisoning in the gulf of Thailand, *In Red Tides-Biology, Environmental Science and Toxicology*, pp.403-406, Elsevier, New York.
- 3) Oshima Y., Hasegawa M., Yasumoto T., Hallegraef G. and Blackburn S. (1987) Dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as the source of paralytic shellfish toxins in Tasmanian shellfish. *Toxicon*, **10**, 1105-1111.
- 4) Ikeda T., Matsuno S., Sato S., Ogata T., Kodama M., Fukuyo Y. and Takayama H. (1989) First report on paralytic shellfish poisoning caused by *Gymnodinium catenatum* Graham (Dinophyceae) in Japan, *In Red Tides-Biology Environmental Science and Toxicology*, pp.411-414, Elsevier, New York.
- 5) Oshima Y., Sugino K., Itakura H., Hirota M., and Yasumoto T. (in press) Comparative studies on paralytic shellfish toxin profiles of dinoflagellates and bivalves, *In Toxic Marine Phytoplankton*, pp.391-396, Elsevier, New York.
- 6) Hallegraef G., Steffensen D.A. and Wetherbee R. (1988) Three estuarine Australian dinoflagellates that can produce paralytic shellfish toxins. *J. Plankton Res.*, **10**, 533-541.
- 7) Matsuoka K., Fukuyo Y. and Gonzales C.L. (1989) A new discovery of cysts of *Pyrodinium bahamense* var. *compressa* from the Samar Sea, Philippines, *In Red Tides-Biology, Environmental Science and Toxicology*, pp.301-304, Elsevier, New York.
- 8) Kodama M., Ogata T. and Sato S. (1989) Saxitoxin-producing bacterium isolated from *Protogonyaulax tamarensis*, *In Red Tides-Biology, Environmental Science and Toxicology*, pp.363-366, Elsevier, New York.
- 9) Kotaki Y., Tajiri M., Oshima Y. and Yasumoto T. (1983) Identification of a calcareous red alga as the primary source of paralytic shellfish toxins in coral reef crabs and gastropods, *日本水産学会誌*, **49**, 283-286.
- 10) Oshima Y., Sugino K. and Yasumoto T. (1989) Latest advances in HPLC analysis of paralytic shellfish toxins, *In Mycotoxins and Phycotoxins '88*, pp.319-326, Elsevier, New York.
- 11) Yasumoto T., Oshima Y. and Yamaguchi M. (1978) Occurrence of new type of shellfish poisoning in the Tohoku District. *日本水産学会誌*, **44**, 1249-1255.
- 12) 安元 健, 村田道雄(1988)新編生物活性天然物質, 170(1988), 医歯薬出版.
- 13) Lee J.S., Murata M. and Yasumoto T. (1989) Analytical methods for determination of diarrhetic shellfish toxins. *In Mycotoxins and Phycotoxins '88*, pp.327-334, Elsevier, New York.
- 14) Uda, T., Itoh, Y., Nishimura, M., Usagawa, T., Murata, M. and Yasumoto, T. (1979) Enzyme immunoassay using monoclonal antibody specific for diarrhetic shellfish poisons, *In Mycotoxins and Phycotoxins '88*, pp.335-342, Elsevier, New York.