魚類の忌避性防御物質

橋 和夫*

化学生態学は、動植物の生態学的な諸現象を化学物質との関連で説明しようとするユニークな研究領域である。植物や昆虫などの陸上の生物と異なり、水を媒介とする海の生物間における化学生態学は、従来と異なる新しい化学物質の世界を開くものと期待される。魚の忌避性防御物質の研究を通して、我々は海の世界の不思議さをますます感じることだろう。これらの化学的成果を陸上のそれと比較してみるのも興味深い。

珊瑚礁の周りを悠々と泳ぐ色鮮やかな魚は、観賞魚として重用されるが、あまり食用にはならない。一方、外海を活発に泳ぎ回るアジやサバの仲間が一般に食用として重要なのはなぜだろうか。これは、前者が主として草食であるのに対し後者は肉食であるという食性の違い（なぜか陸上の動物と逆である）によると思われる⁽¹⁾。しかし、魚の立場で考えれば、旨いから活発に泳がねばならないということになる。人間と海洋動物が同じ味覚を持つとは限らないが、おいしい魚がのんびり泳いでいたのではとうの昔に減んでいたに違いない。

現存する生物には各々、それが存続してきた固有の理由がある。他の生物が住めない特殊な環境をその生活の場として選んだ生物を除けば、外敵からの防御は栄養の確保と並んで適者を決める大きな要素であろう。従属栄養生物たる動物が出現した生物史の初期には、化学物質が個体あるいは種属防御のすべてを担っていたと思われ、この化学防御は現在でも多くの植物や付着性の動物では重要である。捕食する側の運動能力、視覚、あるいは咀嚼消化器系の進化に伴い、守る側も逃避、保護色や擬態、あるいは巣窟といった物理的防御、および動植物表皮におけるクチクラの発達などの構造的防御が主要となってきた。しかし一方、化学防御も独自の進化を遂げ、高等動物の一部にも受け継がれている。陸上では昆虫をはじめ

ミナミウシノシタ

とする小動物に多く見られるが、哺乳類でもイタチやスカンクの例はよく知られている。

再び魚の世界に目を戻そう。冒頭に述べた味のまずさも受動的な化学防御であり、一見無防備な海藻や軟サンゴなどでは重要であろう。味のまずさが特定の物質に起因する場合はこれが防御物質になるが、一般には摂食阻害物質と、区別して呼ばれる。これに対し、潜在的な天敵に何らかの形で不快感を与える物質を積極的に体外に出す、いわば攻撃的な化学防御がある。これを有する魚は、同じ水槽に入れた小魚が死ぬなどがきっかけになって発見された場合が多い。

魚の体表が一般にヌルヌルして把みにくいのは、その上皮組織に多糖質を分泌する粘液細胞があるせいで、これは泳ぐ際に水の抵抗を減らすためといわれるが、一部の魚はこれに加え棍状細胞などと呼ばれる染色性の違う分泌細胞を持ち、そこに他の魚にとって有毒な物質（魚毒）を蓄えている。これらは粘液毒または皮膚毒と呼ばれる

Repellent Defense Substances of Fishes

* Kazuo TACHIBANA, (財)サントリー生物有機化学研究所

が、一般にこれを所有する魚が珊瑚礁など生存競争の激しい領域に生息するにもかかわらず、共通して泳力が弱く鱗があっても痕跡程度であるなど物理的構造的防御を欠くことから、これらは防御物質として機能するとされている⁽²⁾。以下にも述べるように、他の防御手段を持たないというのは必ずしも当たっていないが、魚に刺激を加えるとこれが放出される事実は、この推論を強く裏付ける。また、同じ水槽に閉じこめられた魚を殺すか気絶させることができて、実際に毒を放出する海の水は絶えず動いており、その希釈も速やかであると考えられるので、捕食の手段としての攻撃的な意義は可能性に乏しい⁽³⁾。

以上の状況証拠より、これらの毒を忌避性防御物質と呼んでも差し支えないと思われるが、実際にこれらの物質あるいはそれを含む分泌物が大型の魚を追い払ったことが確認された例は少なく、防御物質としての科学的証明は今後の課題である。このような実験的な難しさのため、これらの多くは魚毒として報告されている。ある動物に不快感を与える物質がその動物にとって毒であることは、考えてみればきわめて合理的であり（逆は常に真ではないが）、外敵の感覚器官での忌避物質の生理作用が他のある器官では命に関わるような機構で発現しているとすれば説明がつく。

さて、このような忌避性防御物質とは一体どんな魚のどんな化学物質なのであろうか。筆者の知る範囲で以下に列記してみたい。

ハコフグ科の魚

ハコフグは、まさに四角い箱状の甲板に覆われたフグ目の魚である。この科の魚が他の魚を殺すことはかなり早くから知られており、西インド諸島にあるバージン諸島付近に生息する trunkfish

クロハコフグ

と呼ばれる魚が“唇腺”中にゼリー状の有毒物質を有するという記述がすでに1918年になされている⁽³⁾。1950年代にはクロハコフグ *Ostracion lentiginosus* と同じ水層に置かれた他の魚が死ぬことが認められ、この魚の出す粘液より粗毒を調製し ostracitoxin と名付けた Thompson は、その界面活性および溶血性を根拠に、これがナマコやヒトデの持つサポニンと同様の物質と推測した⁽⁴⁾。また、毒液はこの魚の口に認められる“唇腺”および皮膚に認められる槌状細胞から分泌されると推定した⁽⁵⁾。

一方、Boylan らは、ハワイ語で pahu と呼ばれるこのハコフグを蒸留水に漬けることによって粘液を放出させ、得られた水溶液より魚毒性を指標に活性物質を単離し、pahutoxin と命名した⁽⁶⁾。この水溶液は放置しておくで徐々に毒性を失うが、*n*-ブタノールで抽出すると安定化し、毒の純度も上がる。後述の例によく見られるように、これは粘液に分解酵素が含まれることによるとされるが、これが彼らの言うように自己中毒を防ぐためかどうかは定かでない。

ブタノール抽出物からケイ酸カラムにより単離された pahutoxin の構造は、分光データおよび加水分解などにより 3-アセトキシパルミチン酸コリンエステルと決定され、化学合成により確認された。天然の pahutoxin は施光度を持つが、その

Pahutoxin

絶対構造は不明である。合成品はラセミ体であるが、天然品と同じ魚毒性、溶血性を示した。Boylan らはさらに、脂肪鎖 (C_{16}) を短くした同族体を合成して活性への影響を調べ、 C_{14} 同族体は魚毒性、溶血性ともに数分の一に減少、 C_{12} 同族体ではさらに一桁落ちることを示した。脂肪酸ナトリウム（古典的な石鹼）の溶血性も C_{14} から C_{18} が最も強いとされているが、洗剤の魚毒性に関する東京都公害研究所の最近の研究で、アルキル硫酸ナトリウムの鎖長が C_{12} 、 C_{14} 、 C_{16} と延びるにつれ魚毒性が飛躍的に増大するとされ⁽⁷⁾、また

これらの表面活性もやはり同じペースで増加する⁽⁸⁾。多くの防御物質の忌避作用や魚毒性がその界面活性と大きく関連を持つことは、以下に度重ねて登場する通りである。

20年以上前に発表された pahutoxin は、海洋動物の忌避物質として最初の構造解明であったが、魚のそれとしてはつい数年前まで唯一でもあった。先のバージン諸島で smooth trunkfish *Lactophrys triqueter* を採集した Goldberg らにより、その粘液に含まれる防御物質として deacetoxypahutoxin, すなわち パルミチン酸コリンエステルが発表されたのは5年前のことである⁽⁹⁾。彼らは、その粗毒の質量スペクトルに副成分としてメチレンの1つ多い C_{17} 同族体を認めている。一方、三浦半島で採集した日本のハコフグ *O. immaculatus* を調べた伏谷は、主成分として pahutoxin, 副成分としてやはり炭素が1つ多い同族体を単離した⁽¹⁰⁾。ただし、この余分な炭素は主脂肪鎖ではなく、酢酸エステルがプロピオン酸エステルに置き換わったことに由来する。

ヌノサラシ科の魚

水層中の海水が泡立つほどの界面活性粘液を放出することより英語で soapfish と総称されるこの科の魚は、従来ハタ科に含まれていたが、皮膚の分泌細胞の存在などにより現在は独自の科を形成する⁽¹¹⁾。黒っぽい地に白い布を何枚も晒したような派手な出で立ちで、英語でも golden striped bass と呼ばれるヌノサラシ *Grammistes sexlineatus*——その稚魚を与えられたミノカサゴは、一旦はこれを口にしたらものの直ぐに吐き出し、二度とそれを食べようとはしなかったそうであ

る^(11,11)。ミノカサゴが個体レベルでの学習を行っていることを示しているといえよう。一方のヌノサラシも学習されやすいような恰好をしているわけだが、ヌノサラシに限らずこの科の魚が一般に目立つ色合をしているのは、間違えて襲われないようにであろう。ルリハタ *Aulacocephalus temmincki* やキハッソク *Diploprion bifasciatum* も観賞魚とされる綺麗な魚だが、輸送中に同じ水槽の魚が死ぬことがよくあるらしい。

石垣島辺りで時々釣糸に掛かるアゴハタ *Pogonoperca punctata* は下顎の突き出たハタに似た魚で、同じ科の上記3種ほどには派手ではないが、稚魚は水玉模様の目立つ恰好をしている。沖縄ではかつてこの魚がシガテラ魚とされていた。シガテラは珊瑚礁領域の魚が食物連鎖により地域的に毒化する現象で、本誌でも度々紹介されている^(12,13)。人間が食中毒を起こすのはハタやフエダイなどの大型魚が多く、また肝臓など内臓の毒性が特に強い。橋本らがアゴハタをシガテラ魚として調べたところ、皮膚に強い魚毒性と溶血性を認めたが、内臓は無毒だった⁽¹¹⁾。この皮膚より得られた粘液を経口投与されたネコは確かにシガテラ様の中毒を起こした。

先の pahutoxin 同様 *n*-ブタノールに転溶可能なこの毒は、向流分配により3つに分離でき、各各ゲル濾過で精製されたが、主成分 grammistin A は陽イオン交換でさらに2成分に分離した^(11,14)。これらは疎水性アミノ酸残基を多く含む分子量4,000前後のペプチド性物質であったが、加水分解によるアミノ酸の回収率はすべて80%程度で、また Dragendorff 試薬に陽性であることより、3級または4級アミンを持つ疎水性部分

アゴハタ (左), ヌノサラシ (中央), キハッソク (右) (文献(11)より)

を含むとされている⁽¹⁴⁾。なお、この研究の行なわれた東大農学部水産化学研究室の御好意により最近筆者らが入手したこれらの1つは、HPLCにより数成分を与えた。10年以上前の試料で分解もしていようが、これらには非ペプチド性の成分も複数あった。

橋本らによる grammistin の単離に先立ち、プエルト・リコ大の Maretski らは、大西洋の soapfish *Rypticus saponaceus* の粘液毒の性状を報告している⁽¹⁵⁾。アゴハタに似た風貌のこの魚は、同じ生けすの魚を殺してしまうためプエルト・リコの漁師の間で要注意の魚とされていた。腹腔内投与によりマウスに致死作用を有するこの粘液は、ハコフグ同様中性水溶液中で徐々に活性を失うが、酸性では安定で、やはり分解酵素を含むと思われる。粘液を含む海水から得られた *n*-ブタノール抽出液を風乾すると無機塩が沈澱し、ガム状の粗毒を与えた。希塩酸可溶のこの粗毒は、やはり疎水性アミノ酸残基を多く含むペプチドであったが、全アミノ酸の回収率や窒素原子含量が低いことより非ペプチド部分を含むとされた。これらおよびゲル濾過の挙動より、彼らはポリペプチドまたは複合蛋白質がその毒性に関与するとしている。後に rypiticin と名付けられたこの毒とアゴハタの grammistin との類縁性は、橋本らにより確かめられている⁽¹¹⁾。

ヌノサランの粘液毒もゲル濾過および向流分配での挙動より grammistin に類似するとされているが⁽¹⁶⁾、相当する溶血性画分に従来この粘液が持つとされていた抗菌性は認められず⁽¹¹⁾、ヌノサラン科の粘液には grammistin 様物質以外の生理活性成分が含まれる可能性は否めない。現にキハッソクの粘液に、親水性溶血成分に加えて非ペプチド性の脂溶性低分子の溶血成分が存在し⁽¹¹⁾、細胞毒性をも有するこの構造決定は現在でも進められている⁽¹⁷⁾。一方、ルリハタの粘液の溶血成分はゲル濾過によると grammistin よりも高分子であることが示されており、この粘液はヌノサラン科の他の粘液にはない非溶血性の低極性ペプチド成分を含む⁽¹⁸⁾。

コバンハゼとウバウオ

砂地の色に隠れて一般には地味なハゼ科の中で、コバンハゼ属は枝サンゴなどに匿われて生息する派手な色の仲間である。この属の魚が毒を出すことは、やはり同じバケツにいたりこれを掬った網で扱われた他の小魚が死ぬことからわかった^(11,18)。この粘液の活性も多分に洩れずそのままでは不安定で、海水溶液の凍結保存でも消失する。ヌノサラン科でこれを経験済みの橋本らは、この小魚の上皮エタノール抽出液をまず煮沸して、以後の精製に用いた。石垣島付近で採集した1匹 0.5 g 程度のフタイロサンゴハゼ *Gobiodon quinquestrigatus* 数百匹より得た抽出液を脱脂塩析の後、沈澱部より grammistin と同様の方法で溶血性相当画分を得た⁽¹⁸⁾。これより陽イオン交換樹脂を通して得られた2つの活性成分のうち、より塩基性の主要成分について構造解析が行なわれ、アミノ酸組成が少し違う以外は grammistin に非常に近い物質であることが判明している⁽¹¹⁾。

やはり石垣島付近で採集された同属種（アカテンコバンハゼ *G. rivulatus*, キイロサンゴハゼ *G. okinawae*, 未同定1種）についても、すべて疎水性アミノ酸残基に富むペプチド鎖および Dragendorff 試薬陽性の疎水部を含む同族体が得られた。発達した鱗を持ち、この科には属さないがやはり枝サンゴに置われ色も派手なダルマハゼ *Paragobiodon echinocephalus* の上皮抽出液には、相当成分は含まれず、皮膚の構造的違いに対応する⁽¹⁸⁾。

コバンハゼ

ハシナガウバウオ

Moses sole (S. H. Gruber 提供)

ウバウオは独自の科目を成す数 cm の小魚で、通常珊瑚礁の岩の割れ目、サンゴの枝間やウニの棘に隠れて生息する。この中で、ガンガゼというウニの黒く細長い毒棘に匿われて生息するハシナガウバウオ *Diademichthys lineatus* とミサキウバウオ *Lepadichthys frenatus* が刺激により多量の粘液を出すことが Randall により見いだされた⁽¹⁹⁾。ウバウオはウニに護られてはいるものの、鱗を欠くなど防御物質を持つ他の魚と多くの共通点を持つ。堀らは、ハシナガウバウオの粘液の魚毒溶血成分の単離を試み、*n*-ブタノール抽出液のゲル濾過およびシリカゲルクロマトグラフィーにより得られた活性成分がフェニルアラニンおよび塩基性アミノ酸残基を多く含む grammistin 様物質であることを認めた⁽¹⁹⁾。加水分解によるアミノ酸の回収率が 44% と、アゴハタやコバンハゼの活性成分に比べ低いのは、分子の非ペプチド部分が大きいためか試料の精製度の差によるかは不明である。採集の困難さなどの理由でこの研究は中断されているが、この成分がウバウオ科 (Gobiesocidae) に普遍的であればとして、これに gobiesocin という名が提唱されている。なお、この粘液の溶血性は一部エーテルで抽出され、シリカゲルカラムで脂肪酸混合物より成る画分に濃縮された。

ミナウシノシタ属

カレイ目の稚魚は他の魚と同様に体の両側に眼を持つが、成長するにつれ片眼が頭の上を経て反対側に移動し、眼のあるほうを上を横倒しにな

る。左上がヒラメ、右上がカレイといった具合だが、これらのカレイ亜目の外にウシノシタ亜目と呼ぶ、その形が牛の舌に似た仲間がいる。ムニエルで名高いシタビラメは左上のウシノシタ科に属し、ミナミウシノシタ属は右上でササウシノシタ科である。眼が移って横向きになっても体の運動は変化せず、したがって上下方向に波打たせる。この運動で彼らは巧妙に砂に埋まり、これで大概の敵からは逃れられる。ところが、サメやエイは鼻先にローレンツィニ器官という感覚細胞の集まりを持ち、ここで生命活動に伴う微弱な電波をも受信する⁽¹⁾。砂底に埋めた電極にサメが襲いかかることは実験で確かめられ⁽²⁰⁾、海底ケーブルなどがよくサメにやられるのはこのためである。ミナミウシノシタの化学防御は、カレイ目の天敵たるサメを意識したものと言えよう。

紅海沿岸ではその名も旧約聖書のモーセに由来する Moses sole (*Pardachirus marmoratus*) がサメ撃退魚として知られる⁽²¹⁾。水槽に入れたこの魚を攻撃したネムリブカは口を大きく開けたまま退散。ウシノシタは無傷でこれを撃退したと言う⁽²²⁾。一方、日本南岸以南に広く分布するミナミウシノシタ *P. pavoninus* がその鰭の根元から魚毒性粘液を出すことも知られており、これら 2 種を形態的に詳しく調べた Clark らは、背鰭および尻鰭 (カレイ目の腹鰭は前方にわずかにあるが、背鰭の反対側に並んでいるのは尻鰭である) の棘一本一本の根元表裏に囊状の毒腺を認めた (図 1)⁽²³⁾。この属の形態的特徴として、鰭棘に対応してその根元に小孔が存在し、これは肉眼でも見る

図 1 ミナミウシノシタ属の毒分泌腺

ことができる。そして、たとえば水から揚げるなどの刺激を与えるかまたは鰭の根元を押すと、ここからミルク状の粘液が出てくる。Clark らは、多細胞から成る発達した毒腺を持つこれらの魚は他の毒分泌魚とは独立に進化したとするが、ハコフグの唇腺の例もあり、毒分泌細胞の局在によりこれらの腺が形成されたと考えられる。

Clark らの生物学的な研究と並行して、Moses sole 粘液の化学的研究はヘブライ大で進められた。この粘液も強い魚毒性と溶血性を有するが、これらもやはり不安定で凍結乾燥中に約 1/7 に減少する⁽²⁴⁾。Primor らは、凍結乾燥物のゲル濾過により電気泳動および超遠心で単一のバンドを与える魚毒成分を単離し、これを pardaxin と命名した⁽²⁵⁾。アミノ酸分析の結果などから、当初これは分子量約 17,000 の蛋白質とされたが、最近、陰イオン交換で分子量 3,500 程度のペプチド 2 成分に分離することが明らかになった⁽²⁶⁾。この粗粘液および pardaxin には、上記の活性の他に、平滑筋の収縮、魚の鰓上皮での ATPase 阻害、ウイルス粒子に対する活性など多様な生理活性が報告されているが、いずれも界面活性剤様作用によるリン脂質二重膜の破壊またはイオン透過性の増大により説明可能であり⁽²⁷⁾、これよりミツバチの溶血因子 melittin の活性に似るとされた^(24,28)。この粘液をサメが嫌がることは、マイアミ大の Gruber が開発した試験法により確認されている⁽²⁹⁾。彼らは粘液の有する強い界面活性性をヒントに、サメよけの開発を目論み、一連の市販界面活性剤をスクリーニングし、洗剤や歯磨きに多用されるラウリル硫酸ナトリウム (SDS) が現在のところ最も強い活性のあることを示した。この有効性は外海における野生のサメに対する実験でも確認された⁽³⁰⁾。

筆者は石垣島川平湾の砂地でミナミウシノシタを採集したが、この魚は砂地の色に合わせて体色を変え、上に出ていても非常に見付けにくい。砂に潜っている時はなおさらだが、よく見ると砂地

Gly-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-Thr-Thr-Gly-
-Leu-Pro-Ala-Leu-Ile-Ser-Trp-Ile-Lys-Arg-Lys-Arg-
-Gln-Gln-NH₂

Melittin

に輪郭が見られ、両眼を外に出している。一度見付ければ生け捕るのは容易で、手網を前方に翳し、尾のほうから手で掬うと網に跳び込む。取り逃がしてもあまり遠くへは行かず、1 m ほど泳いでまた潜る。泳ぐ速さもこちらが足鰭をつけていれば悠々と追い掛けられる程度であり、カレイ目の中では最も動きの鈍い魚だそう⁽²³⁾。この魚は沖縄で時々底引き網に掛かるが、苦くて食用にはならないとされる。ただ、皮を剥いて刺身にするという旨いという現地の人もいる。泳ぎが緩慢でも防御物質を持つ故に、まずいという必然性はないということだろう。

生け捕りにしたミナミウシノシタより採取した粘液は直ちに凍結し、持ち帰った後に凍結乾燥し、以下の分離に用いた。やはり再現性に欠く不安定さを示したこの試料の魚毒性および溶血性は、アセトン沈澱により上澄と沈澱物に分配した。上澄部の活性は安定で、この残渣をさらに酢酸エチルと水に分配すると活性は有機相に回収され、水相回収物はほとんど無機塩であった。したがって、この魚の粘液は pardaxin 様物質以外に脂溶性活性物質を持つことがわかった。この脂溶性画分をシリカゲルカラムで分画したところ、活性はカラムに載せた試料の 80% を含む主要画分に回収され、これより逆相クロマトグラフィーなどにより相互分離された 6 成分はすべて同等の魚毒性を示した。酢酸エチル抽出液はすでに活性物質として 80% の純度を持ったことになる。¹H NMR をはじめとする分光データは、pavoninin-1~6 と命名されたこれらの活性成分がすべて N-アセチルグルコサミン (glcNAc) を 1 分子含むステロイド配糖体であることを示し、化学変換などにより全構造が次図のように決定された^(31,32)。ハコフグの毒における Thompson の推定が、20 年後に違う魚で実現したわけである。コレステロ

ールに近い pavoninin-5 がやはり主成分で、-3、-1 と続く。

個々の pavoninin がサメ忌避活性を持つか否かは確認されていないが、相互分離前の試料ではこれが示された⁽³²⁾。この結果に基づき、Gruber

ネムリブカに対する活性試験

は Moses sole の防御粘液にも pardaxin 以外の脂溶性忌避物質があると推定し、同様に調製した脂溶性画分に魚毒性を認めた⁽³⁰⁾。筆者はこれより mosesin と名付けた一連のステロイド配糖体を単離、glcNAc の代わりにガラクトースを1分子持つこれらの構造を、pavoninin および生合成的にも関連すると思われるコール酸との分光データの比較などにより上図のように決定した⁽³³⁾。ヒメダカに対する mosesin の魚毒性は pavoninin と変わらないが、サメ忌避活性は前者が数倍強いことが示されている。やはりステロイド配糖体で同等の溶血性を示す市販サポニンのサメ忌避性はこれらよりはるかに弱く、恐らく糖の位置や分子内での界面活性の方向が関係していると思われるが、いずれにせよ忌避物質としての活性が魚毒性や溶血性のみに対応するわけではないことがわかる。

Moses sole の粗粘液凍結乾燥品のサメ忌避活

表 1 Gruber 法によるサメ忌避活性の比較

検 体	濃度閾値 (mg/ml)	
	餌誘引法 ^a	T I 法 ^b
pavoninin 混合物	～5	1.0～5.0
mosesin 混合物	2.0～5.0	0.1～1.0
Moses sole 粗粘液	0.8～3.0	0.66
市販サボニン	～50	100
SDS	0.2～2.0	0.45

^a Feeding assay

^b 持続性不動 (tonic immobility) の停止

性は mosesin を上回り, pardaxin の関与は依然重要である (表 1). ミナミウシノシタ粘液より得られたアセトン沈澱部の魚毒性は中性水溶液で速やかに消失し, 筆者らのこの活性成分の精製は当初でこずったが, 低分子を除くことなくいきなり Sephadex G-150 を通すゲル濾過が安定な魚毒性画分を与えることがわかり, これにサメ忌避性も示された. この画分の溶出位置は pardaxin の報告⁽²⁵⁾に対応し, 見かけの分子量は筆者らの概算では 10,000 程度であった. この画分は陰イオン交換により 2 つの活性成分を与え, 各々逆相 HPLC により精製されたが, ここでそれらの強い疎水性も示された. より等電点の低い主要画分からは微量成分も 1 つ得られ, これらはその性質が pardaxin の報告に対応することより, 種名に因んで pardaxin P-1, P-2, P-3 と命名された. これらはアミノ酸分析と SDS 電気泳動によりすべてアミノ酸残基 33 個より成るペプチドであることが示され, そのアミノ酸配列は自動化されたエドマン分解により 図 2 のように決定された⁽⁸⁴⁾. さらに, 主成分 pardaxin P-1 と P-2 は固相法で合成され, 溶血性を含めて天然物と一致した⁽³⁵⁾. これらのペプチドの魚毒性, 溶血性はモル濃度で pavoninin を上回る.

カルボキシル末端側がすべて親水性アミノ酸残基である一方, 残りが疎水性アミノ酸に富む洗剤

Gly-Phe-Phe-Ala-Leu-Ile-Pro-Lys-Ile-Ile-Ser-Ser-
[Phe]
-Pro-Leu-Phe-Lys-Thr-Leu-Leu-Ser-Ala-Val-Gly-Ser-
(Ile)
-Ala-Leu-Ser-Ser-Ser-Gly-Glu-Gln-Glu
(Gly)

図 2 Pardaxin P-1 のアミノ酸配列

丸かっこ内は pardaxin P-2 の, 角かっこ内は同 P-3 の変異

を思わせる配列はハチ毒 melittin にも見られ, その生理作用から pardaxin を melittin 様活性物質とした Primor らの推論が構造的にも裏付けられた. 無脊椎動物の中で陸に上がり発展した昆虫と水に住む魚とは系統樹でも大きく隔り, この 2 種類のペプチドが遺伝子的に関連するとは思えないが, このように大きく隔った動物が違う生態系で類似した物質を同様の目的に使っているのは面白い.

これら 2 種類の生理活性ペプチドはともにモル濃度にして SDS の 1,000 倍程度の強い界面活性を示し, また緩衝液中で会合し, 上記のようにゲル濾過, 超遠心での見かけの分子量が大きくなるなど物理的挙動でも類似するが, これはアミノ酸配列 (一次構造) だけでなく, 予想される立体配座 (二次構造) の類似に由来する. CD スペクトルおよび予測計算により pardaxin P はその中間部で α -ヘリックスをとると推定されるが, この部分をらせん軸方向に投影すると疎水性および親水性アミノ酸残基が見事に左右に分かれる (図 3)⁽³⁵⁾. この分子のきわめて強い界面活性はむしろこの二次構造に由来し, 緩衝液中での会合や脂質膜への作用もこの疎水面を介してなされると思われる. 同様の推論は melittin にも当てはまる.

Moses sole の pardaxin の配列は Zlotkin らによりアミノ末端より 10 個まで報告されており⁽²⁸⁾, これは pardaxin P-1, P-2 と一致するが, Lazarovici らの最近の報告⁽²⁶⁾中のこの部分の配列はこれとは若干違っている. 筆者らも, 対応アセトン沈澱よりミナミウシノシタと同じ手法で pardaxin P-1 に相当する物を少量得たが, その

図 3 Pardaxin P-1 の推定 α -ヘリックス部投影図

アミノ末端部分は Zlotkin のほうを支持する。アミノ酸分析の結果、カルボキシル末端側が pardaxin P-1 とはわずかに異なるようである。

ステロイド配糖体とペプチドの防御における役割分担は未知であるが、Moses sole 粗粘液の強いサメ忌避活性は両者の間に相乗効果の可能性を示す。また、Gruber の実験では、忌避物質の投与は口腔でも鼻孔でも効果を示し⁽³¹⁾、サメがどこで刺激を感じるかも今後の課題である。Primor らは魚毒性よりの類推から当初より鰓を想定している^(24,36)が、確かに pardaxin P を含む活性画分を口に注入されたネムリブカは泳ぎながらしきりに鰓を動かしているのが観察された。Thompson (S.A.) は melittin が痛み因子ともされることより、サメの痛覚に作用していると推論している。

フグ科の魚

フグが猛毒 tetrodotoxin を持つことはあまりに有名で、本誌でも詳しく紹介されている⁽¹²⁾が、この毒がフグの個体防御にも使われていることが最近確実になった。確かに、フグは比較的目立ち、泳ぎも速くないので、何らかの化学防御を持つ資格があるが、これはフグやその卵を好んで食べる天敵が中毒して減少し、種属の維持がなされるという消極的なものと考えられた一方、フグの個体レベルでの化学防御を示唆する指摘も古くからある。1963 年に Eager はハワイ大の修士論文に、サザナミフグ *Arothron hispidus* を希塩酸に漬けると tetrodotoxin 様の毒を放出し、またこの魚の皮膚には彼が血清腺と呼ぶ分泌細胞が存在することを記している^(5,11)。また、キタマクラ *Canthigaster rivulatus* やハリセンボン科のネズミフグ *Diodon hystrix* も毒を出すとする。Randall がキタマクラ属の一種 *C. solandri* を水層のフエダイに食わせたところ、一度はこれを口にし

トラフグ

たフエダイはそれを強く吐き出した⁽¹⁹⁾という、ヌノサラン同様の記述もある。最近の分析法の確立により、これらの指摘が以下のように科学的に裏付けられている。

児玉らは、水層に入れたフグに電気ショックを与えると、皮が有毒とされる種に限って tetrodotoxin が放出されるのを認めた^(37,38)。皮は無毒とされるシマフグ *Takifugu xanthopteron* やトラフグ *T. rubripes* では毒の放出はなかった。さらに、有毒なヒガンフグ *T. pardalis* などの皮膚組織を詳しく調べたところ、彼らが TTX 細胞と呼ぶ分泌細胞が認められ、さらにこれが凝集して陥入した形の TTX 腺も認められた⁽³⁸⁾。毒を放出しないシマフグでは通常の粘液細胞のみであったが、トラフグでは分泌腺にまでは発達していないにしても TTX 細胞は存在した。彼らは、ある種のフグが皮にその毒を濃縮するのは、フグにとって個体防御とともに一種の解毒機構としての意義を考えることも可能であるとしている。フグには皮も含めて毒性の弱い tetrodotoxin 誘導体が数種見つかっている^(12,39)が、TTX 腺にはこれら誘導体はなく、tetrodotoxin のみが選択的に蓄えられているとあるのは興味深い。

フグの毒性に個体差があるのは捕獲後の取り扱いの差によるとする説⁽¹¹⁾があるが、クサフグ *T. niphobles* などの体表に手で刺激を加え tetrodotoxin を放出させると、フグの皮には毒がほとんど残らない⁽⁴⁰⁾という事実は、この説を裏付ける。有毒種の肝臓を食わせて毒化させた元々無毒の養殖トラフグは、この手による刺激で毒を放出しており、皮は無毒とされるトラフグでも油断禁物である。フグは危険を感じるとボールのように脹れて敵を威嚇し、Eager はこれで体表の分泌腺が圧迫されて毒が出るとしたが、児玉らによればこの動作は必要ではないようである。電気刺激を繰り返すとフグは疲れて脹れなくなるが、その後も毒

は放出し続けた⁽³⁸⁾。

魚に注射すると有毒でも通常の意味での魚毒性はなく、また界面活性や溶血性も欠くという点で、tetrodotoxin は他の忌避物質と大きく異なり、忌避の機構も多分違うだろう。カメムシなどの昆虫やウミウシは忌避物質を食物より蓄積するが、tetrodotoxin もやはりフグの体外より来るように^(12,41)、この点でも恐らく受益者が自分で作っている他の魚の忌避物質とは対照的である。

皮膚毒を持つ刺毒魚

忌避物質を撒き散らす代わりに敵をその毒棘で刺すことによって追い払うのも、構造的防御と結びついた一つの化学防御であるが、Halstead は毒が棘により体内に注入される場合を venom、環境に撒き散らされる場合を crinotoxin と明確に区別している⁽⁵⁾。見かけ上両者は忌避の機構を異にするが、pardaxin と melittin など双方に生理活性をとにもする物が見つかるとなれば、案外忌避機構にも共通点があるのかも知れない。Cameron らは、これら 2 種類の毒分泌器が共通の“蛋白細胞”より進化し、一方は形を変えて棘と共役したと推定している⁽²⁾。棘により注入される刺毒は、筆者の知る限り魚ではすべて蛋白であるのに対し、忌避性毒には非ペプチド性低分子が次々と見つかっており、Cameron らの推論が正しいにせよ、化合物の違いを見れば分岐点は進化過程をかなり遡る。もっとも、刺毒の化学的な研究が進めば、逆にこの中にも低分子毒の存在が示される可能性はあり、現にハナミノカサゴ *Pterois volitans* の毒棘に魚毒性低分子の存在が報じられている⁽⁴²⁾。

毒腺はなくても棘状の背鰭で刺す魚は多く、刺毒魚かどうかわからない魚もいるが、はっきりし

た毒棘を持つ魚には毒腺以外に皮膚に毒分泌細胞のある物が多い。オニダルマオコゼ属の魚は毒腺と独立に上皮に粒状腺と呼ばれる分泌腺を持つ。この属の 1 種 *Synanceia trachynis* の粒状腺分泌物を調べた Cameron らによれば、その遠沈上澄部を魚に筋肉注射すると強い毒性を示し、その部分が壊死を起こすが、その魚毒性は弱い⁽⁴³⁾。加えて、この分泌物が苦味を呈することより、これが他の忌避物質とは違い味覚に作用する摂食阻害物質で、前項のフグの場合に似るとしている。この上澄部をさらに重力をかけて遠心分離すると、この毒性を示す上澄部と神経毒性や弱い溶血性を持つ沈澱部に分離する。したがって、少なくとも 2 種の活性物質を含むわけであるが、刺毒との関連は不明である。

ナマズ目の魚の多くは毒棘を持ち、これらはまた皮膚に分泌細胞を持つ⁽⁵⁾。クウェート大の Al-Hassan らは、アラビア湾のハマギギ科の魚 *Arius thalassinus* の皮膚より得た“ゲル”に哺乳類に対する強心性の毒性を認め、これがアセチルコリン様作用物質とプロスタグランディンの放出に関わる物質の 2 成分によるとした^(44,45)。前者は熱およびトリプシンに対し安定であり、非ペプチド性低分子と推定している。この魚の体表はこの粘液で覆われ、この毒が刺毒と一緒に犠牲者の体内に入ってゆくとしている。一方、塩見らは、東京湾付近で採集したゴンズイ *Plotosus lineatus* の皮膚に同様な分泌細胞および毒の存在を報告している。これは注射部位に浮腫を起こし、イオン交換樹脂カラムで 2 つに分離する分子量 12,000 程度の物質とより高分子の溶血因子とから成る⁽⁴⁶⁾。粗粘液のこれらの活性は熱に不安定であるが、プロテアーゼで失活しない。精製を進めた毒の安定性が不明であり、何とも言えないが、もしプロテアーゼ阻害物質が共存するとすれば他の多くとは逆で、その毒の生物学的意義との関連に

ハナミノカサゴ

ゴンズイ

興味が持たれる。因に、この粗毒は魚毒性を有さない。

西太平洋には見られないが、バラコイデス科を形成する toadfish と呼ばれる頭でっかちの魚は、背中に 2 本、両胸鰭の付け根に 1 本ずつ毒棘を持つものの、その毒性はさほど強くないとされる⁽⁴⁾。この棘が毒腺と共役しているか定かでない oyster toadfish *Opsanus tau* は、胸鰭の前後に忌避性毒を出す組織とされる腋窩腺および胸腺と呼ばれる体表に開いた分泌腺を持つ⁽⁵⁾。この魚はなかなか毒を分泌せず、ピンセットでつつくなど、しつこく虐めると魚毒性の粘液を出す⁽³⁾。Nair らはジャマイカでこれを採集し、分泌液の魚毒性を低極性画分に濃縮し、GC-MS による分析の結果、主成分は驚くかなれ 3-オクタノン（エチルペンチルケトン）と同定された⁽⁴⁷⁾。ある種のアリの警報フェロモンとしても知られるこの物質は、市販品でも魚毒性が確認されている。これを 1 ppm 含む水溶液に置かれた 3 匹のメダカは直ちに跳き苦しみ、8 分後には全員底に討ち死にしたかに見えた。ところが、この時点で水を入れ換えてやると、2 分後には元気に泳ぎ出したという。Nair らはこのことより、この毒が魚の中枢神経に作用するとしている。この GC-MS には加えて 3-デカノンと 5-ドデカノンの存在が示されている。

その他の魚

アデウツボ *Gymnothorax nudivomer* が体表から出す溶血毒は高分子蛋白と推定されている⁽¹¹⁾。ただし、この活性はきわめて不安定であり、詳しくはわかっていない。これを含めたウツボ数種の表皮には、毒を分泌しているとされる独特の細胞が認められている。メクラウナギ属の一種 *Myxine glutinosa* の皮膚の同様の細胞についても

詳しい組織学的な記述がある⁽⁵⁾が、その分泌物については報告されていないようである。

*

筆者は、石垣島で採集したミナミウシノシタ 7 尾を生きたまま、海水と酸素を入れたビニール袋に入れて沖縄本島に空輸したことがある。彼らは本島の水槽に着いた時には弱っており、翌日全滅してしまった。恐らく飛行機か車の振動の際放出した自分の毒に中毒したと思われる。幸い、沖縄県水産試験場八重山支場の御好意で、現地で試験水槽と冷凍庫が使える、実験材料は手に入ったが、魚を手元に置けない以上、採集地である程度のことはやらざるを得ない。分解酵素が共存する不安定な材料を相手にする際には、こうした材料の入手と実験室との地理的な、したがって時間的な隔りが再現性の乏しさや研究者間の結果の違いの原因になる。分離分析技術の大きな発展を見た現在、この問題が魚に限らず海洋生物の化学防御機構を知る上で克服すべき大きな要素になっているのではなからうか。分子生物学に代表される生物個体内に関する分野の華々しさはないが、生物間相互の現象における化学的な解明はまだ暫くは我々の好奇心を満たし続けてくれそうだ。

文 献

文献 3), 5), および 11) は魚の皮膚毒に関する総説または章で、引用箇所以外にも参考にした。魚の和名や分布などは文献 48) を参照した。

- 1) 高松史朗：“魚にきいた魚の話”，光文社，1981。
- 2) A. M. Cameron & R. Endean: *Toxicon*, 11, 401 (1973)。
- 3) M. S. R. Nair: ‘Fish skin toxins’, in “Handbook of Natural Toxins, Vol. 4; Marine Toxins and Venoms”, ed. by A. T. Tu, Marcel Dekker, 1987, in press。
- 4) D. A. Thompson: *Science*, 146, 244 (1964)。
- 5) B. W. Halstead: ‘Ichthyocrinotoxic fishes’, in his book, “Poisonous and Venomous Marine Animals of the World; Revised Edition”, Darwin, 1978, p. 879。
- 6) D. B. Boylan & P. J. Scheuer: *Science*, 155, 52 (1967)。
- 7) M. Kikuchi & M. Wakabayashi: 日水誌, 50, 1235 (1984)。
- 8) “化学便覧，基礎編”，日本化学会編，丸善，1966, p. 533。
- 9) A. S. Goldberg, J. Wasyluk, S. Renna, S. Reisman & M. S. R. Nair: *Toxicon*, 20, 1069 (1982)。
- 10) N. Fusetani & K. Hashimoto: *Toxicon*, 25, 459 (1987)。

- 11) 橋本芳郎：‘魚類の皮膚毒’，“魚貝類の毒”，同著，学会出版センター，1977，p.320.
- 12) 野口玉雄，橋本周久：化学と生物，25，44 (1987).
- 13) 上村大輔：化学と生物，23，435 (1985).
- 14) Y. Hashimoto & Y. Oshima : *Toxicon*, 10, 279 (1972).
- 15) A. Maretzki & J. del Castillo : *Toxicon*, 4, 245 (1967).
- 16) Y. Oshima, K. Shiomi & Y. Hashimoto : 日水誌, 40, 223 (1974).
- 17) 伏谷伸宏：私信.
- 18) Y. Hashimoto, K. Shiomi & K. Aida : *Toxicon*, 12, 523 (1974).
- 19) K. Hori, N. Fusetani, K. Hashimoto, K. Aida & J. E. Randall : *Toxicon*, 17, 418 (1979).
- 20) P. R. Ryan : *Oceanus*, 24(4), 42 (1981).
- 21) N. Primor : 私信.
- 22) E. Clark : *Natl. Geogr.*, 146, 719 (1974).
- 23) E. Clark & A. George : *Env. Biol. Fish.*, 4, 103 (1979).
- 24) N. Primor & E. Zlotkin : *Toxicon*, 13, 227 (1975).
- 25) N. Primor, J. Parness & E. Zlotkin : in "Toxins : Animal, Plant, and Microbial", ed. by P. Rosenberg, Pergamon, 1978, p.539.
- 26) P. Lazarovici, N. Primor & L. M. Loew : *J. Biol. Chem.*, 261, 16704 (1986).
- 27) A. Moran, Z. Korchak, N. Moran & N. Primor : in "Toxins, Drugs, and Pollutants in Marine Animals", ed. by L. Bolis *et al.*, Springer-Verlag, 1984, p.13.
- 28) E. Zlotkin & Y. Barenholz : in "Shark Repellents from the Sea : New Perspectives", ed. by B. J. Zahuranec, Westview, 1983, p.157.
- 29) S. H. Gruber : *Oceanus*, 24(4), 72 (1981).
- 30) S. H. Gruber, E. Zlotkin & D. R. Nelson : in "Toxins, Drugs, and Pollutants in Marine Animals", ed. by L. Bolis *et al.*, Springer-Verlag, 1984, p.26.
- 31) K. Tachibana, M. Sakaitani & K. Nakanishi : *Science*, 226, 703 (1984).
- 32) K. Tachibana, M. Sakaitani & K. Nakanishi : *Tetra-*
hedron, 41, 1027 (1985).
- 33) 橋 和夫，中西香爾，S. H. Gruber : 第 27 回天然有機化合物討論会講演要旨集，1985，p.545.
- 34) S. A. Thompson, K. Tachibana, K. Nakanishi & I. Kubota : *Science*, 233, 341 (1986).
- 35) S. A. Thompson, M. Minakata, W.-H. Xu, K. Tachibana, K. Nakanishi & I. Kubota : in "Peptide Chemistry 1986 (Japan)", ed. by T. Miyazawa, 蛋白質研究奨励会，1987，p.181.
- 36) N. Primor, J. A. Zadunaisky, H. V. Murdaugh, Jr., J. L. Boyers & J. N. Forrest, Jr. : *Comp. Biochem. Physiol.*, 78C, 483 (1984).
- 37) 児玉正明：化学と生物，23，690 (1985).
- 38) M. Kodama, S. Sato, T. Ogata, Y. Suzuki, T. Kaneko & K. Aida : *Toxicon*, 24, 819 (1986).
- 39) M. Nakamura & T. Yasumoto : *Toxicon*, 23, 271 (1985).
- 40) T. Saito, T. Noguchi, T. Harada, O. Murata & K. Hashimoto : 日水誌, 51, 1175 (1985).
- 41) T. Yasumoto, D. Yasumura, M. Yotsu, T. Michishita, A. Endo & Y. Kotaki : *Agric. Biol. Chem.*, 50, 793 (1986).
- 42) M. S. R. Nair, P. Cheung, I. Leong & G. D. Ruggieri : *Toxicon*, 23, 525 (1985).
- 43) A. M. Cameron, J. Surridge, W. Stablum & R. J. Lewis : *Toxicon*, 19, 159 (1981).
- 44) J. M. Al-Hassan, M. Ali, M. Thompson, T. Fatima & C. J. Gubler : *Toxicon*, 23, 532 (1985).
- 45) J. M. Al-Hassan, M. Thompson, M. Ali, S. Fayad, A. Elkhawad, O. Thulesius & R. S. Criddle : *Toxicon*, 24, 1009 (1986).
- 46) K. Shiomi, M. Takamiya, H. Yamanaka, T. Kikuchi & K. Konno : *Toxicon*, 24, 1015 (1986).
- 47) M. S. R. Nair, I. Leong & M. S. B. Nayar : *Toxicon*, 20, 933 (1982).
- 48) 益田 一，尼岡邦夫，荒賀忠一，上野輝彌，吉野哲夫 (編)：“日本産魚類大図鑑”，東海大学出版会，1984.

プロフィール

服部 勉 (Tsutomu Hattori) 昭和7年7月8日生<略歴>昭和30年名古屋大学理学部化学科卒業/35年東北大学農学研究所勤務，現在同教授<研究テーマ>と抱負>培養微生物，野外の微生物，双方のコロニー形成現象の解析，低栄養微生物，土壤団粒をめぐる微生物活動，界面と微生物の関連性など

原田 馨 (Kaoru Harada) 昭和2年9月19日生<略歴>昭和27年大阪大学理学部化学科卒業後，同大学大学院在学。1956年米国フロリダ州立大学研究員/1964年より米国マイアミ大学化学科および分子進化研究所の助教授，準教授，教授および研究教授/1974年筑波大学教授，現在にいたる<研究テーマと抱負>歳とともにますます化学物質の不思議さに魅了される思いです。オーソドックスでな

いアプローチでこの化学物質の不思議さに挑戦したいと思っています<趣味>手仕事，スポーツ (身体を動かすほう)

Ronald V. Vargas 1956年10月14日生<略歴>1981年コスタリカ大学農学部卒業/1987年東北大学大学院農学研究科農芸化学専攻後期課程修了/同年コスタリカ大学農学研究科勤務，現在にいたる<研究テーマと抱負>土壌中に生息しているプロトゾアの動態に関する研究<趣味>各国の鉄道模型を集めること

日向 康吉 (Kokichi Hinata) Vol 17, No.11, p.742 参照

古屋 晃 (Akira Furuya) Vol.22, No.12, p.871 参照

三輪 操 (Misao E. Miwa) 昭和24年8月29日生<略歴>昭和47年東京大学農学部農芸化学科卒業/52年同大学大学院農学系研究科博士課程修了/53年農林水産省食品総合研究所勤務，現在にいたる。この間，58~61年米国マサチューセッツ工科大学留学<研究テーマと抱負>食品の健全性に関する研究，特にがん，アレルギーとの関わりについて<趣味>山歩き，テニス

吉村 佳典 (Yoshimichi Yoshimura) 昭和29年4月1日生<略歴>昭和52年広島大学工学部醸酵工学科卒業/54年同大学大学院修士課程修了/同年徳山曹達(株)醸造研究所入社，現在にいたる<研究テーマと抱負>機能性オリゴ糖，生理活性オリゴ糖の合成とその作用機作<趣味>テニス，スキー，パソコン，パチンコ