大阪湾で麻痺性貝毒により毒化したアカガイ、トリガイにおける 毒量および毒成分の経時変化と種間の差異

山本圭吾,^{1*} 及川 寛²

(2017年1月18日受付, 2017年3月11日受理, 2017年5月19日J-STAGE 早期公開)

¹(地独)大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター, ²(国研)水産研究・教育機構中央水産研究所

Temporal changes and differences in the toxin contents and the profiles between arc shell and Japanese cockle contaminated with paralytic shellfish toxin in Osaka Bay, eastern Seto Inland Sea, Japan

KEIGO YAMAMOTO^{1*} AND HIROSHI OIKAWA²

¹Marine Fisheries Research Center, Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture, Sennan, Osaka 599-0311, ²National Research Institute of Fisheries Science, Japan Fisheries Research and Education Agency, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan

The causative dinoflagellate blooms of paralytic shellfish toxins (PSTs) and changes in the toxin contents and the profiles in both arc shell *Scapharca broughtonii* and Japanese cockle *Fulvia mutica* in Osaka Bay for three years from 2013 to 2015 were investigated. During the investigation, the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* occurred in Osaka Bay. *A. tamarense* was the most important causative species in contamination of bivalves with PSTs. Contamination and detoxification in arc shell with PSTs were slower than those in Japanese cockle and slight amounts of PSTs remained in the arc shell throughout the year. On the other hand, PSTs in Japanese cockle were not detected after the end of bloom of *A. tamarense*. The dominant toxins of arc shell were GTX2 and GTX3 and relative ratio of STX in the arc shell increased with decontamination of toxins. In contrast, the dominant toxins in Japanese cockle were C1 and C2. In conclusion, the rate of GTX1 and GTX4 increased during the bloom of *A. tamarense* in both species. It was suggested that toxins in Japanese cockle were rapidly excreted without any *in vivo* conversions of toxins from the causative dinoflagellates.

キーワード：アカガイ, 種間差, 毒成分, トリガイ, 麻痺性貝毒

麻痺性貝毒は、渦鞭毛藻の一種である *Alexandrium* 属や *Gymnodinium* 属の有毒種が生産した麻痺性貝毒をプランクトン捕食者である二枚貝類が蓄積し、毒化した二枚貝をヒトが喫食することにより起こる自然毒中毒である。麻痺性貝毒は1980年代までは主に東北、北海道海域において、*Alexandrium tamarense* を原因種とするホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* やムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* 等の毒化に限られていたが、1980年代後半より、東海地方以西の西日本でも *A. tamarense* に加え *Gymnodinium catenatum* などによるアサリ *Ruditapes philippinarum*, ヒオウギガイ *Chlamys nobilis*, ムラサキイガイなどの毒化が発生し、貝毒発生

海域の広域化、毒化貝種の多様化が進んでいる。¹⁻³⁾

大阪湾では1960年代から赤潮を対象としたプランクトンモニタリングが行われていたが、貝毒原因プランクトンである *A. tamarense* や同属の *A. catenella* などの出現は確認されるものの、毒化を引き起こすほどの増殖事例はみられなかった。しかし、2002年春季に同海域で初となる *A. tamarense* による規制値 (4 MU g⁻¹) を超える二枚貝の毒化が確認^{4,5)}されて以降、毎年のように *A. tamarense* の増殖と二枚貝の毒化が確認されるようになった。典型的な富栄養海域とされる大阪湾では⁶⁾2002年の毒化以前はほとんど問題にされてこなかったが、2007年、2011年、2013年には海域での増殖に加え、

大阪湾奥に流入する淀川の感潮域でも確認されただけでなく赤潮状態にまで増殖するなど,⁷⁻¹⁰⁾ 増殖の規模は拡大傾向にある。さらに, 2005年には*A. catenella*でも赤潮が確認されたことに加え,*G. catenatum*, *A. tamiyavanichii*の出現も確認されている。大阪湾では西日本で一般に問題となるマガキ*Crassostrea gigas*やアサリだけでなく, 底曳き網で漁獲されるアカガイ*Anadara broughtonii*, トリガイ*Fulvia mutica*, さらに淀川感潮域で漁獲されるヤマトシジミ*Corbicula japonica*が麻痺性貝毒により毒化する。⁷⁾中でもアカガイ, トリガイは大阪湾の底曳き網漁業において重要な漁業対象種であり, 春季には年間で最も価格が高いこともあり, 麻痺性貝毒による出荷自主規制で生じる漁業被害は大きい。そのため, 両種における麻痺性貝毒成分の蓄積動態は生産現場において重要な情報となる。

本報では, 2013年から2015年の3年間, 年間を通じて麻痺性貝毒原因プランクトンを調査するとともに, 春季を中心にアカガイ, トリガイの毒力および毒成分組成の推移を調査し, 原因プランクトンの増殖と毒組成の関係, 毒量変化の両種における差異について検討した結果を報告する。

材料と方法

麻痺性貝毒原因プランクトン調査 調査は2013年1月から2015年12月に月2回から4回の頻度で行った。月の月上旬にFig. 1(a)に示した大阪湾全域の20定点

で, それ以外の調査日はFig. 1bに示した大阪湾東部の14定点ないし定点Aを除いた13定点において麻痺性貝毒原因プランクトンの栄養細胞密度を調査した。調査は大阪府立環境農林水産総合研究所調査船「おおさか(2013年1-2月: 28t, 2013年3月以降: 19tの新造船)」により行った。各定点で表層水をバケツにより採水し, 一部については現場で25% グルタルアルデヒド水溶液を最終濃度2.5%になるように加えて固定した。試水は実験室に持ち帰り, 無固定の試水について生物顕微鏡下で1mL中の細胞数を計数した。*Alexandrium*属については固定した試水について, Calcofluor whiteで染色した細胞の鏡版観察を行い, 第一頂板の腹孔の有無により種を同定した。さらに, 未固定試料の一部については核酸クロマトグラフ¹¹⁾により種の分子同定を行った。

二枚貝の試料採取と処理 アカガイ, トリガイはFig. 1(b)に示した大阪府中部に位置する泉佐野漁港において, 底曳き網の一種である石桁網で漁獲された漁獲物を入手した。調査は*A. tamarense*による毒化盛期である2-5月は週1回, その他の月は月1回としたが, 毒量が規制値を上回った場合, 6月以降についても行政による安全宣言が出るまで毎週のサンプリングを行った。2月-5月および規制期間においては石桁網により漁業を行っている漁業者1統に依頼し, 漁場の聞き取りを行った上でサンプルを入手した。その他の時期については市場に水揚げされた漁獲物をランダムにサンプリング

Fig. 1 Locations of the sampling stations for monitoring of causative paralytic shellfish poisoning dinoflagellate (closed circles) and a sampling port for bivalves (star) in Osaka Bay: (a) Stations for the samplings on every first Monday and Tuesday in each month, (b) stations for the samplings on other Mondays. A, Station for samplings usually on every third Monday (middle of month); B and B', nearby stations, so treated as the same station.

した。ただし、サンプルを入手した漁業者からは可能な限り漁場の聞き取りを行った。入手したサンプルは原則的に軟体部重量 100 g 以上になるように複数の個体を処理したが、漁獲が著しく少なかった場合は 1 個体のみからなる試料ないしは欠測となることもあった。マウス試験による毒力の測定は公定法¹²⁾に従い、サンプルをホモジナイズ後、酸性条件で煮沸し 4℃ で 3000 rpm, 10 min の遠心分離を行い、上清をマウス試験用の抽出液とした。

二枚貝の毒成分分析 アカガイ、トリガイにおける毒成分の分析は Oshima¹³⁾が報告したポストカラム蛍光化法により行い、分析用標準品は gonyautoxin 1 (GTX1), GTX2, GTX3, GTX4, decarbamoyl GTX2 (dcGTX2), dcGTX3, N2 1-sulfocarbamoylgonyautoxin 2 (C1), N2 1-sulfocarbamoylgonyautoxin 3 (C2), neosaxitoxin (neoSTX), decarbamoylsaxitoxin (dcSTX), GTX5, GTX6, saxitoxin (STX) の計 13 成分を用いた。HPLC 分析装置は Hitachi 製の L-7250 オートサンプラー, L-7100 送液ポンプ, L-7300 反応槽 (65℃), L-7480 蛍光検出器 (励起波長 330 nm, 蛍光波長 390 nm) を使用し、分析用カラムは Inertsil C8-3 (GL サイエンス, 4.6 mm id × 250 mm) を用いた。なお、HPLC 分析値から毒力を求めたが、毒力の算出には大島¹³⁾が報告した比毒性値 (以下、HPLC 毒力とする) を用いた。

結 果

麻痺性貝毒原因プランクトン栄養細胞の年別出現状況 2013 年から 2015 年のプランクトン調査で確認された麻痺性貝毒原因種は *A. tamarense* と *A. catenella* で、これまで大阪湾で確認事例 (<http://www.kannousuiken-osaka.or.jp/suisan/gijutsu/kaidoku/mahi.html>, 2016 年 12 月 8 日) のある *G. catenatum*, *A. tamiyavanichii* は本調査期間中に確認されなかった。Fig. 2 に 2013 年から 2015 年における *A. tamarense* および *A. catenella* の年別出現状況を示した。

Alexandrium tamarense は 2013 年 2 月中旬から出現が確認され、4 月上旬まで 10 cells mL⁻¹ 未満で推移したが、4 月中旬にかけて急速に増殖し、4 月 15 日に 714 cells mL⁻¹ で最大となった後減少し、5 月下旬には確認されなくなった。2014 年は 2 月上旬に確認された後、3 月上旬まで確認されず、その後も 3 月下旬まで低密度であった。4 月上旬から急速に増殖し、4 月中旬にいったん減少したが、4 月 22 日に 202 cells mL⁻¹ で最大となった。その後、急速に減少し 5 月上旬には確認されなくなった。2014 年はさらに 12 月下旬にも出現が確認された。2015 年は過去 2 年より早く 1 月中旬に確認され、3 月中旬まで低密度で推移した。3 月下旬に 10 cells mL⁻¹ を超えたが、4 月上旬から中旬にかけていっ

Fig. 2 Changes in cell densities of *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* in Osaka Bay from 2013 to 2015. In order to display the logarithmic graph, 1 is added to the density to obtain the value on the vertical axis.

たん減少した。その後、4 月下旬に再び増加して 4 月下旬に 30 cells mL⁻¹ で最大となった後急速に減少し、5 月中旬には確認されなくなった。

Alexandrium catenella は、2013 年は確認されず、2014 年は 7 月中旬に 3 cells mL⁻¹ で確認されたのみであった。2015 年は 6 月下旬に確認され、7 月上旬に 30 cells mL⁻¹ で最大となった後、8 月上旬には確認されなくなった。

アカガイの毒量および毒成分の経時変化 Figure 3 に 2013 年から 2015 年のアカガイにおけるマウス毒力並びに HPLC 毒力の推移を示した。

2013 年のマウス試験では 3 月上旬のサンプルから検出限界 (2 MU g⁻¹) を超え、4 月上旬までは検出限界近くで推移したが、4 月下旬にかけて上昇し 4 月 29 日に期間最大の 15.2 MU g⁻¹ となった。HPLC 毒力はマウス毒力より常に高め傾向を示し、同日に 35.4 MU g⁻¹ で最大となった。2014 年はマウス毒力で 1 月から検出限界を超えており、HPLC でも同程度の濃度を示していた。その後、毒力はともに 3 月上旬まで 2 MU g⁻¹ 前後の濃度で推移した後徐々に上昇し、4 月 21 日に期間最大の毒力を示し、マウス毒力と HPLC 毒力でそれぞれ 50.6 MU g⁻¹, 40.3 MU g⁻¹ となった。その後 5 月上旬にかけて毒力は急速に減少したが、中旬以降 6 月上旬まで 10 MU g⁻¹ 前後の濃度を維持し、7 月上旬まで規制値 (4 MU g⁻¹) を上回る濃度であった。さらに 7 月中旬以降 9 月までは規制値以下の濃度で

あったが、8月および10月のサンプルにおいてマウス毒力、HPLC毒力とも濃度が再び上昇した。このように、マウス毒力とHPLC毒力は期間を通じて概ね同様

Fig. 3 Changes of toxicity in arc shell analyzed by mouse bioassay and high performance liquid chromatograph (HPLC) from 2013 to 2015.

の値であった。2015年は2014年と同様、1月にはマウス毒力で陽性となった。マウス毒力はHPLC毒力と同様の毒力を示し、3月上旬まで2-3 MU g^{-1} の濃度で推移した。その後3月中旬から毒力は上昇傾向となったが、1週ごとに増減し4月27日に最大となった。このときマウス毒力とHPLC毒力はそれぞれ32.8 MU g^{-1} 、52.4 MU g^{-1} を示した。5月上旬以降は急速に減少したが9月のサンプルまでおおむねマウス試験の検出限界である2 MU g^{-1} を上回る値であった。

以上のように、アカガイの毒力は3年ともマウス毒力、HPLC毒力ともに同様の変動傾向を示したが、2013年の1月-3月を除き、調査を行ったほぼすべてのサンプルでマウス試験の検出限界を下回ることにはなかった。

Figure 4に2013年から2015年のアカガイにおける各年の毒成分組成の変化を示した。3年間の調査期間を通じて最も高い割合（平均約55%）を占めたのはGTX2およびGTX3であった。また、弱毒成分であるC1、C2も一定割合で（15-20%）検出された。GTX1およびGTX4は2013年には4月15日から5月13日のサンプルで、2014年は3月17日から6月2日のサンプルおよび6月16日のサンプルで、2015年は3月16日、5月25日および3月30日から5月5日のサンプルでそれぞれ検出された。GTX1およびGTX4が増加する期間はC1、C2の割合も増加する傾向がみられ、

Fig. 4 Changes in composition of toxin components in arc shell from 2013 to 2015.

GTX1 および GTX4 の増減傾向は C1, C2 の増減傾向と類似していた。STX は GTX1 および GTX4 と異なる推移を示し、GTX1, 4 の割合が低くなると STX は高い割合を占める傾向があった。すなわち、毒化ピークから離れるに従い全体に占める割合は高くなった。neoSTX は 2013 年には比較的高い割合で検出され、他の年は 2014 年の後半を除くとほとんど検出されなかった。dcGTX3, dcGTX2, dcSTX は検出されたがいずれも低い値であった。また、GTX5 および GTX6 は調査期間中まったく検出されなかった。

トリガイの毒量および毒成分の経時変化 Figure 5 に 2013 年から 2015 年のトリガイにおけるマウス試験による毒力推移と、HPLC の分析結果から Oshima¹³⁾ が示した比毒性に従いマウス毒性値に換算したもの (HPLC 毒力) を併せて示した。2013 年はマウス試験、HPLC 毒力とも 3 月下旬までマウス試験の検出限界 (2 MU g^{-1}) 以下で推移していたが、4 月上旬のサンプルでマウス毒力、HPLC 毒力とも規制値 (4 MU g^{-1}) を上回った。その後、4 月下旬まで毒力は大きく増加し、4 月 22 日のサンプルで最大となった。そのときのマウス毒力、HPLC 毒力はそれぞれ 44.8 MU g^{-1} , 52.9 MU g^{-1} であった。その後毒力は速やかに減少し、6 月上旬に規制値を下回り、下旬には検出されなくなった。2014 年は 3 月上旬までマウス試験は実施しなかったが、

HPLC 分析では麻痺性貝毒成分は全く検出されなかった。しかし、3 月中旬のサンプルでマウス毒力、HPLC 毒力とも 2 MU g^{-1} を上回った後に大きく増加し、4 月 15 日に最大の毒力を示し、マウス毒力で 54.0 MU g^{-1} , HPLC 分析からの換算値で 50.0 MU g^{-1} となった。その後、毒力は 5 月中旬まで速やかに減少したが、5 月 17 日のサンプルで再び増加した。なお、5 月下旬以降は急速に減少し 6 月中旬以降は検出されなくなった。2015 年はマウス毒力、HPLC 毒力とも 2 月中旬のサンプルで 2 MU g^{-1} を上回った。3 月下旬まで 2 MU g^{-1} 前後で推移した後、3 月 30 日に濃度上昇がみられたが、すぐに減少し、4 月 21 日にはマウス毒力、HPLC 毒力とも規制値を下回った。その後、4 月 27 日のサンプルで再び急増し、期間最大の毒力 (マウス毒力、HPLC 毒力でそれぞれ 65.2 MU g^{-1} , 84.7 MU g^{-1}) を示したが 1 週間後の 5 月 5 日のサンプル以降、マウス毒力、HPLC 毒力とも検出限界以下の低濃度となった。

以上のように、トリガイの毒力は 3 年ともマウス毒力、HPLC 毒力とも同様の変動傾向を示し、アカガイより両分析の値は近似していた。また、アカガイとは異なり、春季の原因プランクトンが出現する時期以外は、麻痺性貝毒成分は検出されないことが多かった。

Figure 6 に 2013 年から 2015 年のトリガイにおける各年の毒成分組成の変化を示した。3 年間の調査期間を通じて最も高い割合 (約 30–60%) を占めたのは弱毒成分の C1 および C2 であった。GTX1 および GTX4 は 2013 年には 4 月 8 日から 5 月 20 日のサンプルで、2014 年は 3 月 17 日から 6 月 9 日までのサンプルで、2015 年は 2 月 16 日から 3 月 16 日および 3 月 30 日から 4 月 27 日のサンプルで高い割合 (GTX1+4 で約 20–40%) で検出された。GTX2 および GTX3 の検出期間は GTX1 および GTX4 とほぼ同様であったが、GTX1, 4 よりも長期間にわたり検出される傾向があった。STX は毒化した期間の後半に検出されることが多く、2014 年の 10 月についてはほぼ 100% となった。neoSTX は 2013 年には比較的高い割合で検出されたが他の年については低い割合にとどまった。dcGTX2 および dcGTX3 は低い割合ではあるが、GTX1, 4 と同様の時期に検出された。dcSTX は検出されたがいずれも低い割合であった。また、アカガイ同様、GTX5 および GTX6 は調査期間中まったく検出されなかった。

考 察

大阪湾における麻痺性貝毒原因プランクトンの増殖と麻痺性貝毒発生レベル 2013 年から 2015 年において、麻痺性貝毒原因プランクトンは *A. tamarense* が 3 年間共通で 3 月から 4 月後半にかけて出現した。一方、*A. catenella* は 7 月を中心に増殖した。また、この 2 種

Fig. 5 Changes of toxicity in Japanese cockle analyzed by mouse bioassay and high performance liquid chromatograph (HPLC) from 2013 to 2015.

Fig. 6 Changes in composition of toxin components in Japanese cockle from 2013 to 2015.

以外の麻痺性貝毒原因種はモニタリング調査では確認されなかった。このことから、本研究期間における麻痺性貝毒原因種としては *A. tamarens* および *A. catenella* であることが推察された。ここで、John *et al.* は *A. catenella-tamarens* グループの分子系統解析を行い、5つの分類群に分かれることを示した¹⁴⁾上で *A. catenella* の種名を廃棄することを提案した¹⁵⁾。この報告に従うと *A. tamarens* は *A. fundyense* に、*A. catenella* は *A. pacificum* となるが、本件の是非については議論の途上であることから本報告においては従来通り *A. tamarens* および *A. catenella* とした。*A. tamarens* はいずれの年も大阪府における警戒密度である 10 cells mL^{-1} を超えて確認された。山本ら¹⁰⁾は2002年から2016年まで15年間の *A. tamarens* 出現状況をまとめ、本研究期間3年間すべてを貝毒発生年、うち2013年、2014年を最高細胞密度が $100 \text{ cells mL}^{-1}$ を超える大規模発生年に分類している。一方、マウス試験の最高毒力はアカガイで2013年、2015年、2014年の順に高く、トリガイでは2013年、2014年、2015年の順に高くなっていた。過去に麻痺性貝毒に暴露された二枚貝は有毒プランクトンに対する摂餌抵抗性を増し、今まで汚染されたことのないものよりも高いレベルまで毒を蓄積しうることが報告されていることから、¹⁶⁾ *A. tamarens* の増殖レベルが他の2年より低かった2015年にも高い毒力を示した可能性が考えられる。一方、*A. catenella* は最大で 30 cells

mL^{-1} であり、大阪府の警戒密度である $500 \text{ cells mL}^{-1}$ を大きく下回り低密度の発生にとどまった。したがって、本研究期間におけるアカガイ、トリガイの毒化に対する影響は大きくなかったことが推察される。ただし、*A. catenella* の最高細胞密度は増加傾向であったことから、今後本種の増殖期間である夏季にも貝毒の発生リスクが高くなる可能性がある。

調査期間中、*G. catenatum* および *A. tamiyavanichii* の出現は確認されなかった。この2種の毒成分として、栄養細胞では GTX5 が多く検出されることが報告されている。^{17,18)} 本調査期間中、GTX5 は全く検出されていないことから、毒組成の観点からも2013年から2015年の毒化原因種としては *A. tamarens* ないしは *A. catenella* であったことが推察される。

麻痺性貝毒原因プランクトンの出現とアカガイの毒量、および毒成分組成の関係 アカガイを3年にわたり調査したが、最も高い割合で存在した麻痺性貝毒成分は GTX2 および GTX3 であった。坂本、小谷¹⁹⁾は呉湾における *A. tamarens* 栄養細胞の毒量および毒成分を調査し、C1 + C2 および GTX1 + GTX4 の4成分で80%以上を占めることを示した。さらに、山本ら⁸⁾も大阪湾で発生した *A. tamarens* 赤潮について同様の結果を示している。GTX1, GTX4 は主に3月中旬から5月上旬に検出されたが、この期間は *A. tamarens* の増殖期間に一致する。このことから、この期間の GTX1,

GTX4の増加は原因プランクトンの取り込みを反映したものである。二枚貝体内ではC1, C2は中性以上でdcGTX2, 3に変化する。²⁰⁾しかし、今回の結果ではいずれの年もdcGTX2, 3の割合は低く推移しており、*A. tamarense*の増殖期間以外ではほとんど検出されないことから、C1, C2からの変換能は弱く、さらに変換されたdcGTX2, 3は速やかに排出された可能性が考えられた。一方、N1-OH基は還元反応によりN1-H基へ変換することで毒成分が変化し、GTX1, GTX4はGTX2, GTX3に変化する。²¹⁾さらにSato *et al.*²²⁾はヘムタンパクの存在によりこの還元反応が触媒されることを報告している。アカガイは通常の軟体動物と異なり、血液中にヘム色素を持つエリスロクロリンを含むことは広く知られている。すなわち、GTX1, GTX4がヘムタンパクにより触媒され、速やかに還元されることでGTX2, GTX3が主成分になったと推測される。さらに前述の還元反応により、最終的に最も安定的なSTXに変化する²³⁾が、本調査においても毒化期間の後半になるほどSTXの割合は増加した。この傾向は他の二枚貝類でも確認されており、長期に毒を蓄積するAlaska butter clam *Saxidomus giganteus*では水管に毒が蓄積しSTXが毒の主成分となっている。²⁴⁾本研究において、2014年10月にはアカガイでマウス毒力の増加が確認されたが、比毒性の高いSTXの割合が増加することにより、毒力の増加が確認されたと考えられる。

*Alexandrium tamarense*の出現が確認されなかった6月以降の毒力データが存在する2014年の8月および10月、2015年の7月においてわずかながら毒力の上昇がみられた。比較的高密度に*A. catenella*が確認された2015年の同種の出現時期は上述の通り7月であった。この時のアカガイの毒組成をみるとneoSTXが他のサンプルに比べ多く検出されている。加賀ほか²⁵⁾は岩手県沿岸に出現する*Alexandrium*属数種の毒成分を分析した結果、*A. catenella*ではneoSTXがC1+C2に次いで高い割合であることを示した。これらのことから、2015年の毒量の上昇は*A. catenella*によるものであった可能性が高い。一方、2014年については同様に6月以降neoSTXの割合が増加しているが、*A. catenella*は出現しているが極めて低密度であったこと、*A. catenella*の出現時期と毒力の上昇時期が一致しないことから、別の要因が考えられる。このうち、10月の増加は前述のとおり、毒成分がSTXへ変換することによる毒性値の上昇の可能性があるが、6月の毒力増加時には栄養細胞出現時期と同様にGTX1およびGTX4が検出されていた。山本ら²⁶⁾は大阪湾において*A. tamarense*ないし*A. catenella*のシストを調査したところ、多くの海域で 10^3 cysts cm⁻³を超える密度で存在することを明らかにした。シストは栄養細胞に比べ、約6倍の高い毒量を持

つとされている。²⁷⁾ Persson *et al.*²⁸⁾は、*A. fundyense* シストをカキに捕食させる室内実験を行った結果から、シストによる二枚貝の毒化の可能性を示唆している。すなわち、原因プランクトンの増殖が確認されない時期における毒量の上昇についてはシストの捕食による毒化の可能性を考慮する必要があるだろう。

麻痺性貝毒原因プランクトンの出現とトリガイにおける毒量、および毒成分組成の推移 2015年のトリガイにおいて最も高い割合を示した麻痺性貝毒成分はC1およびC2であった。トリガイにおいてもアカガイ同様、*A. tamarense* 増殖期間にGTX1およびGTX4の濃度の上昇が確認された。*A. tamarense* 出現の後半にはSTXの割合が増加していたが、アカガイほど顕著ではなかった。また、GTX2およびGTX3はGTX1およびGTX4の検出前後から検出され始めた。これまで大阪湾以外でのトリガイの毒化事例は少ないが、長谷川ら²⁹⁾は愛知県海域で2014年にトリガイが毒化したことを報告している。このときの原因プランクトンは本研究と同様、*A. tamarense* であったが、本研究と同様毒の主成分はC群であり、C1+C2で80%を占めていた。すなわち、トリガイではC1, C2, GTX1, GTX4のいずれの成分も変換される割合は低く、残存したものが高い割合で検出されたと考えられた。一方、京都府海域で毒化したトリガイにおける毒成分はC1+C2が約40%であったが、次いでGTX5およびGTX6が高い割合を占めていた。³⁰⁾ 京都府の事例は原因プランクトンが*A. tamarense*ではなく*G. catenatum*であった。*G. catenatum* 栄養細胞はGTX5, およびGTX6を主成分として持つことから、これを直接反映したものと考えられる。これらの事例を併せて考えるとトリガイは体内での毒成分の変換が弱く、おおむね現場プランクトンの毒成分を反映した毒成分になると考えられた。

*Alexandrium tamarense*の出現が確認されなかった6月以降の毒力データが存在する2014年、および2015年のトリガイにおけるマウス毒力は、ほぼ検出限界以下の値で推移した。2015年はこの時期HPLC分析においても毒成分は検出されなかったが、2014年の試料では毒成分が検出されていた。この時の検出された毒成分はC1およびGTX2, GTX3, dcSTX, dcGTX3であり、10月のみSTXが検出された。ただし、これらはいずれもごく微量であり、プランクトンが消失した後は、短期間でマウス毒力あるいはHPLCで検出される毒成分が減少していた。以上のことから、トリガイにおいて毒成分は比較的速やかに排出されると推測され、強毒成分への変換が弱いことと併せ、アカガイより毒力の低下が早いことが推察された。

アカガイ、トリガイにおける毒化、減毒の差異 アカガイとトリガイにおける毒化過程において、本研究期間

における主たる麻痺性貝毒原因種と考えられる *A. tamarense* の出現のピークとアカガイ、トリガイの毒化のピークを比較した。*A. tamarense* の出現時期は、2013 年は 4 月中旬に 1 回ピークが、2014 年は 4 月上旬と下旬、2015 年は 3 月下旬と 4 月下旬に 2 回のピークがあった。これに対し、マウス毒力のピークはアカガイでは 2013 年は 4 月下旬、2014 年は 4 月中旬に 1 回、2015 年は 3 月下旬、4 月中旬、4 月下旬の 3 回、トリガイでは 2013 年が 4 月中旬に 1 回、2014 年 4 月中旬、5 月中旬、2015 年が 3 月下旬、4 月下旬の 2 回とトリガイでは概ね *A. tamarense* のピークと毒化のピークが同時期であったが、アカガイでは 1 週間から 10 日のタイムラグがあった。このようにアカガイについては高毒化するまでに比較的天数を要すると考えられることから、毒化初期の対応として、原因プランクトンの増加を指標にリスクを管理することは可能であろう。ただし、後述のとおり年を通して毒化が継続している可能性もあることから漁期前の毒化レベルを確認するといった処置も必要と思われる。トリガイについてはこれまでは現行の警戒密度 (10 cells mL^{-1}) で問題が起きていないが、原因プランクトンの増殖ピークと毒化のピークがほぼ同時期であるといった特性を考慮すると、プランクトンの増加と同時に毒化が進行する可能性があることから、アカガイより一段低い密度を警戒値に設定し早期に対応する必要があると考えられる。

一方、減毒過程において最も顕著な違いは原因プランクトンが消滅した後の毒成分の保持期間であった。すなわち、アカガイでは原因プランクトンが確認されなくなった後も低いレベルではあるが麻痺性貝毒が検出されるのに対し、トリガイではほぼ検出されなくなっていた。Fig. 7 に 2002 年から 2016 年に大阪府が実施したアカガイ、トリガイおよびアサリのマウス試験のデータ (<http://www.pref.osaka.lg.jp/shokuhin/shokutyudoku/kai.html>, 2016 年 12 月 8 日) を用いて、それぞれの貝種の年間最高毒量と規制日数の関係を解析した結果を示した。回帰直線の傾きはアサリで最も小さく、トリガイ、アカガイの順に大きくなったが、このことはすなわち、同じ二枚貝であっても、アサリ、アカガイ、トリガイでは高毒化しても減毒する速度が貝種によって異なるため規制日数の期間に差が出てくることを示しており、アサリでは高毒化しても速やかに減毒するため規制日数が短く、逆にアカガイでは低い毒量でも減毒が遅く、規制日数が長くなると考えられる。上述のとおり、アカガイではトリガイに比べ毒成分の変換能が高く、強毒成分である GTX2, GTX3, および STX が原因プランクトン消滅後も長期間検出される。このことがアカガイにおいて長期間毒を保持し続ける要因の一つと考えられる。さらに、アカガイ、トリガイで毒化後期に部位別に毒量

Fig. 7 Relationships between maximum toxicity and regulation days in bivalves from 2002 to 2016: (a) short-necked clam, (b) Japanese cockle, (c) arc shell. Data was obtained from Osaka Prefectural Fisheries Division.

を検討した結果、アカガイでは筋肉部分に毒が多く存在したのに対し、トリガイでは内臓にほとんどの毒が存在していた (山本 未発表)。また愛知県におけるトリガイの毒化事例でも可食部である斧足の毒量は低いことが示されている。²⁹⁾ 一般的には有毒プランクトンが最初に取り込まれる消化管や中腸腺に総毒量の過半が含まれることはよく知られている。²⁰⁾ が、アカガイでは摂取した毒成分が筋肉部にも蓄積され、筋肉部に蓄積した毒成分は排出が遅いことが推測された。このことにより、アカガイについては原因プランクトンの消滅後も一定の警戒レベルを維持する必要があると考えられる。アカガイと比較するとトリガイでは減毒も早く、毒がほぼ完全に消滅する傾向が確認されたため、これまで同様原因プランクトンの動向に注意しつつ、原因種が減少した場合警戒レベルを下げられる可能性も考えられる。ただし、京都府におけるトリガイでは原因プランクトン消滅後も約 1 か月半程度毒化が継続している。³⁰⁾ トリガイについてはいまだ事例が少ないこともあり、今後も知見を蓄積する必要がある。

謝 辞

本研究を行うにあたり、サンプリングにご協力頂いた

泉佐野漁業協同組合高倉智之前組合長, 大伍健一氏, 大和谷孝義氏, 大和谷忠和氏, 岡田壮史氏をはじめとする泉佐野漁協の底曳き網漁業者の皆様にはこの場を借りて御礼申し上げます。分析用標準品のうち GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, dcGTX2, dcGTX3, C1, C2, neoSTX は農林水産省消費安全局から配布されました。また, dcSTX は東北大学名誉教授大島泰克博士より, GTX5, GTX6 は水産研究・教育機構中央水産研究所渡邊龍一博士よりそれぞれ分与いただきました。さらに, STX は水産研究・教育機構中央水産研究所瀬戸内海区水産研究所にて製造したものを広島大学浅川学教授に定量していただきました。大阪府水産課の大道斉氏ならびに新瀬幾恵氏には行政によるマウス試験結果をご教示いただきました。大阪府立環境農林水産総合研究所水産技術センター職員の方々, 特に横松宏幸技師には貝毒抽出において多大なるご協力をいただきました。ここに記して深く感謝の意を表します。本研究の一部は農林水産省レギュラトリサイエンス新技術開発事業「課題名: 貝毒リスク管理措置の見直しに向けた研究」で実施しました。

文 献

- 1) 左子芳彦. 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium* の生活環と広域化. 月刊海洋 1995; **27**: 628-635.
- 2) Fukuyo Y, Imai I, Kodama M, Tamai K. Red tides and other harmful algal blooms in Japan. In: Max-Taylor FJR, Trainer VL (eds). *Harmful Algal Blooms in the PICES Region of the North Pacific, PICES Scientific Report No. 23*. Institute of Ocean Sciences, Sidney, Canada. 2002; pp. 7-20.
- 3) Imai I, Yamaguchi M, Hori Y. Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Benthos Res.* 2006; **1**: 71-84.
- 4) 濱野米一, 川津健太郎, 塚本定三. 大阪湾における麻痺性貝毒による二枚貝の毒化. 大阪府立公衆衛生研究所報告 2002; **40**: 11-18.
- 5) 山本圭吾. 2002 年春期に大阪湾東部海域で発生した麻痺性貝毒について. 大阪府立水産試験場研究報告 2004; **15**: 1-8.
- 6) 城 久. 大阪湾における富栄養化の構造と富栄養化が漁業生産におよぼす影響について. 大阪府水産試験場研究報告 1986; **7**: 1-174.
- 7) 山本圭吾, 中嶋昌紀, 田淵敬一, 濱野米一. 2007 年春期に大阪湾で発生した *Alexandrium tamarense* 新奇赤潮と二枚貝の高毒化. 日本プランクトン学会報 2009; **56**: 13-24.
- 8) Yamamoto K, Matsuyama Y, Ohmi H, Ariyama H. Diel vertical migration of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*, temporal changes of associated environmental factors and cell toxin content during the course of a large-scale bloom. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2010; **76**: 877-885 (in Japanese with English abstract).
- 9) 山本圭吾, 大美博昭, 佐野雅基. 2007 年春期に淀川感潮域で発生した有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* 赤潮とシストの分布. 日本プランクトン学会報 2011; **58**: 136-145.
- 10) 山本圭吾, 中嶋昌紀, 今井一郎. 長期モニタリングデー
- タからみた大阪湾における環境変化と有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* ブルーム規模の拡大. 日本プランクトン学会報 2017; **64**: 11-21.
- 11) Nagai S, Miyamoto S, Ino K, Tajimi S, Nishi H, Tomono J. Easy detection of multiple *Alexandrium* species using DNA chromatography chip. *Harmful algae* 2016; **51**: 97-106.
- 12) 社団法人日本食品衛生協会. 食品衛生検査指針理化学編 2005; **3**: 673-680.
- 13) Oshima Y. Post column derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC Int.* 1995; **78**: 528-532.
- 14) Uwe J, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, & Anderson D. M. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist* 2014; **165**: 779-804.
- 15) Uwe J, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Proposal to reject the name *Gonyaulax catenella* (*Alexandrium catenella*) (Dinophyceae). *Taxon* 2014; **63**: 932-933.
- 16) Twarog BM. "Immunity" to paralytic shellfish toxin in bivalve molluscs. In: Proceedings of the Second International Symposium on Coral Reefs 1974; Vol. 1: 505-512.
- 17) Oshima Y, Sugino K, Itakura H, Hirota M, Yasumoto T. Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellates and bivalves. In: Graneli E, Sundstorm B, Edler L, Anderson DM (eds). *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, Amsterdam. 1990; 391-396.
- 18) 相良剛史, 谷山茂人, 吉松定昭, 高谷智裕, 橋本多美子, 西堀尚良, 西尾幸郎, 荒川修. 瀬戸内海播磨灘で発生した有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamiyavanichii* と毒化ムラサキイガイの毒性と毒成分. 食品衛生学雑誌 2010; **51**: 170-177.
- 19) 坂本節子, 小谷祐一. 呉湾に発生した *Alexandrium tamarense* の麻痺性貝毒量および毒成分組成の株間における変異. 南西海区水産研究所研究報告 1998; **31**: 45-52.
- 20) 村上りつ子, 野口玉雄. 麻痺性貝毒 最近の知見を中心に. 食品衛生学雑誌 2000; **41**: 1-10.
- 21) Sato S, Sakai R, Kodama M. Identification of thioether intermediates in the reductive transformation of gonyautoxins into saxitoxins by thiols. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000; **10**: 1787-1789.
- 22) Sato S, Takata Y, Kondo S, Kotoda A, Hongo N, Kodama M. Quantitative ELISA kit for paralytic shellfish toxins coupled with sample pretreatment. *Journal of AOAC International* 2014; **97**: 339-344.
- 23) Shimizu Y, Yoshioka M. Transformation of paralytic shellfish toxins as demonstrated in scallop homogenates. *Science* 1981; **212**: 547-549.
- 24) Kvitek RG, Beitler MK. Relative insensitivity of butter clam neurons to saxitoxin: A pre-adaptation for sequestering paralytic shellfish poisoning toxins as a chemical defense. *Marine ecology progress series. Oldendorf* 1991; **69**: 47-54.
- 25) Kaga S, Sekiguchi K, Yoshida M, Ogata H. Occurrence and toxin production of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in coastal waters of Iwate Prefecture, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2006; **72**: 1068-1076 (in Japanese with English abstract).
- 26) 山本圭吾, 鍋島靖信, 山口峰生, 板倉 茂. 2006 年およ

- び 2007 年の大阪湾における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* と *A. catenella* シストの分布と現存量. 水産海洋研究 2009; **73**: 57–66.
- 27) Oshima Y, Bolch CJ, Hallegraeff GM. Toxin composition of resting cysts of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae). *Toxicon* 1992; **30**: 1539–1544.
- 28) Persson A, Smith BC, Wikfors GH, Quilliam M. Grazing on toxic *Alexandrium fundyense* resting cysts and vegetative cells by the eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *Harmful Algae* 2006; **5**: 678–684.
- 29) 長谷川晶子, 早川大輔, 中村瑞那, 秦 眞美, 山下照夫, 皆川洋子. 2014 年シーズン愛知県においてマウス法規制値を超えた麻痺性貝毒の分析. 愛知県衛生研究所報 2015; **65**: 23–30.
- 30) 尾崎 仁, 中西雅幸. ELISA 法を用いて測定したトリガイ軟体部毒量と公定法毒力との関係. 京都府農林水産技術センター海洋センター研究報告 2016; **38**: 13–18.