

下痢性貝毒による食中毒の未然発生防止のための予察技術開発

畑 直亜・藤原正嗣・西村昭史

目的

三重県沿岸海域では下痢性貝毒による二枚貝の出荷規制事例が散発的ながら多数発生している。しかし、原因プランクトンとされる *Dinophysis* 属の出現動態と二枚貝毒化との対応関係は不明瞭な事例が多く、二枚貝の毒化予察は困難な状況にある。そこで、下痢性貝毒を高感度に分析可能な液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) を活用した新しいプランクトンの毒量モニタリング技術を開発すると共に、三重県沿岸海域における二枚貝の毒化メカニズムを解明し、二枚貝毒化予測の精度向上に資する。

方法

1. 海水試料中の *Dinophysis* 属の細胞数および毒量の測定

鳥羽市浦村定点において、2006年4月から8月に週1回の頻度で計17回のサンプリングを行った。小型プランクトンネット (口径30cm, 側長80cm, 目合い20 μ m) を用いた鉛直採集により海水試料を採集し、検鏡により *Dinophysis* 属の細胞数を計数すると共に、一部は-30 $^{\circ}$ Cで凍結保存して後日LC/MS分析に供した。また、ネット採集による *Dinophysis* 属の出現動態把握的的確性を検証するため、従来のバンドーン採水器による層別採水も並行して行い、両手法による *Dinophysis* 属の細胞数の推移を比較した。採水法の採水層は、0.5m, 2m, 5m および海底上1m層の4層とし、細胞数は水柱平均値を用いた。なお、LC/MS分析は、OA (オカダ酸), DTX1 (ディノフィシストキシン-1), DTX3 (ディノフィシストキシン-3), PTX1 (ペクテノトキシン-1), PTX2 (ペクテノトキシン-2), PTX2sa (ペクテノトキシン-2 セコ酸), PTX6 (ペクテノトキシン-6), YTX (イエツトキシン), 45OHYTX (45-ヒドロキシイエツトキシン) の9成分を対象とした。

2. 二枚貝試料の毒量およびマウス毒力の測定

ムラサキガイ、マガキおよびヒオウギガイを浦村定点の筏より2m層に垂下し、海水試料と並行してサンプリングしてLC/MS分析に供した。ムラサキガイについては、試料の一部をマウス試験にも供した。LC/MS分析値 (μ g) からのマウス毒力 (MU) への換算には、既報により報告されているマウス腹腔内投与による比毒性 (μ g/MU) (Yasumoto *et al.*, 1995; Satake *et al.*, 1996) の

値を用いた。検査部位は中腸腺とし、LC/MS分析の対象成分は上記と同様とした。なお、LC/MS分析は、東北区水産研究所が実施した。

結果および考察

1. ネット採集による *Dinophysis* 属の出現動態把握的的確性

2004年~2006年のネット採集法と採水法による *Dinophysis* 属の細胞数の推移を比較して図1に示した。両手法による細胞数の間には有意水準 $\alpha=0.05$ で相関が認められた ($r=0.86$)。このことから、ネット採集法によって *Dinophysis* 属の出現動態を的確に把握できていることが確認できた。

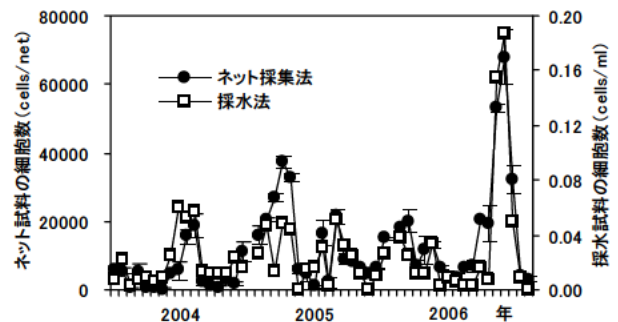


図1. ネット採集法と採水法による *Dinophysis* 属の細胞数の推移

2. 海水試料とムラサキガイにおける下痢性貝毒成分の推移

海水試料からは、OA, DTX1, DTX3, PTX1, PTX2, PTX2sa, YTX の7成分が検出された。2004~2006年の全調査日の測定結果より平均的な毒組成を求めると、PTX2saが56.7%, PTX2が38.7%とPTX2類が全体の95.4%を占めた。OAは2.4%, DTX1は1.6%で、その他成分は1%に満たなかった。ムラサキガイからは、OA, DTX1, DTX3, PTX1, PTX6, PTX2, PTX2sa, YTX, 45OHYTX の9成分が検出された。平均的な毒組成は、PTX2saが80.7%で大部分を占め、YTXは8.4%, OAは3.5%, DTX1は3.0%, 45OHYTXは1.9%, PTX2は1.4%で、その他成分は1%に満たなかった。

海水試料とムラサキガイにおける各毒成分の推移を比較したところ、両者の間でOA, DTX1, PTX2類 (PTX2とPTX2saの合計) およびYTXの推移に対応が認められ

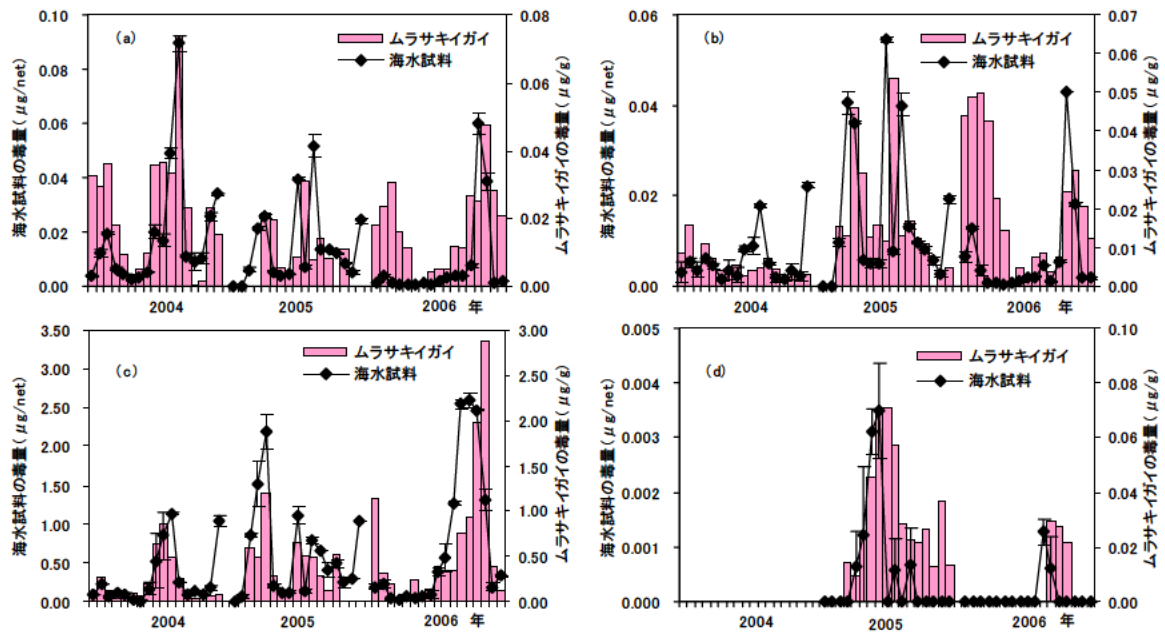


図 2. 海水試料とムラサキガイにおける OA (a), DTX1 (b), PTX2 類 (c), および YTX (d) の推移

た (図 2)。OA は海水試料とムラサキガイの毒量とともに当日の値を用いた場合の相関が高く、その他毒成分はムラサキガイの毒量を 1 週間後の値とした場合に相関が高かった。相関係数は、OA が 0.55, DTX1 が 0.60, PTX2 類が 0.74, YTX が 0.78 であった。ただし、YTX については、海水試料から毒量が検出できなかった 2004 年のデータは比較に含めていない。以上のように、主要な毒成分について、海水試料とムラサキガイの毒量の推移との間に対応が認められたことから、海水試料中の毒量をモニタリングすることにより、二枚貝が蓄積する毒量を把握できる可能性が示唆された。

ムラサキガイのマウス試験では、2004 年 6 月 30 日に 0.25 ~ 0.30 MU/g 中腸腺, 2005 年 7 月 6 日に 0.25 ~ 0.30 MU/g 中腸腺, 7 月 13 日および 20 日に 0.30 ~ 0.35 MU/g の毒力が検出された。これに対して、LC/MS 分析値 (μ g) から換算したマウス毒力 (MU) は、0 ~ 0.15 MU/g 中腸腺と低い値で推移し、毒力のピークはマウス試験結果と一致しなかった。今後、マウス試験で毒力が検出された試料については、LC/MS により毒成分の特定を試みる必要がある。

3. *Dinophysis* 主要種の毒量および毒成分組成

2004 年 ~ 2006 年までの 3 年間で得られた海水試料のうち、*Dinophysis* 属の単一種が 10,000 cells/net 以上と高密度で、かつ 80% 以上の割合で優占している試料を抽出し、細胞数および毒成分の測定結果から 1 細胞あたりの毒量と毒成分組成を推定して図 3 に示した。*Dinophysis acuminata* の推定毒量は 60.3 ± 33.1 pg/cell, *Dinophysis caudata* は 166.2 ± 47.2 pg/cell, *Dinophysis rotundata* は

2.7 ± 2.6 pg/cell であった。*D. acuminata* 高密度試料の毒成分組成は、PTX2sa が 47.2%, PTX2 が 47.1% と PTX2 類が全体の 94.3% を占めた。DTX1 は 2.6%, OA は 2.4% で、その他毒成分は 1% に満たなかった。*D. caudata* 高密度試料は、PTX2sa が 76.7%, PTX2 が 23.0% と PTX2 が全体の 99.7% を占め、その他毒成分は 1% 未満であった。以上の結果より、*D. acuminata* は主要毒成分として PTX2 および PTX2sa を、微量毒成分として OA および DTX1 を保有すること、*D. caudata* は主要毒成分として PTX2 および PTX2sa を保有すること、*D. rotundata* は毒をほとんど保有しないことが明らかとなった。

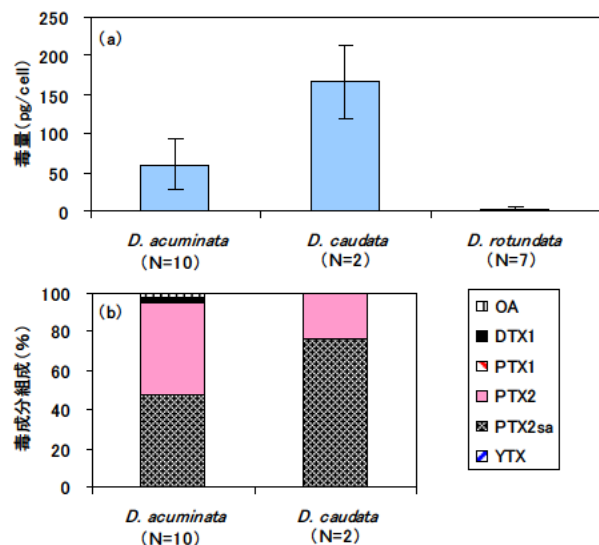


図 3. 高密度試料から推定される *Dinophysis* 属主要種の毒量 (a) および毒成分組成 (b)

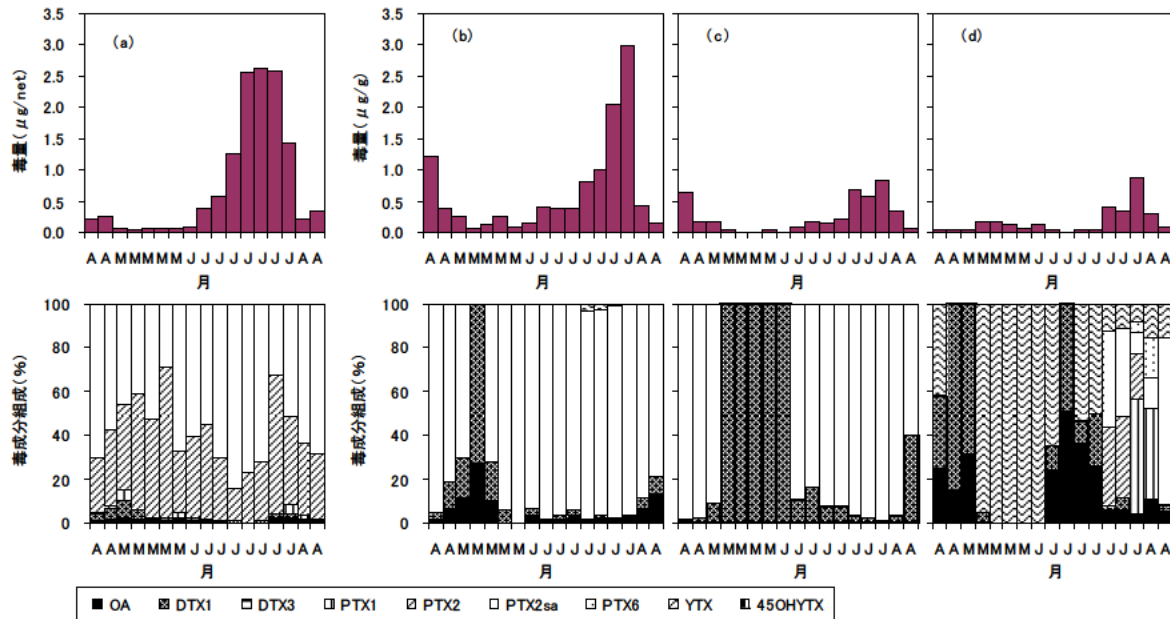


図 4. 海水試料 (a) およびムラサキイガイ (b), マガキ (c), ヒオウギガイ (d) における毒量と毒成分組成の推移

4. 二枚貝主要種の毒蓄積量および毒成分組成

海水試料およびムラサキイガイ、マガキ、ヒオウギガイにおける毒量と毒成分組成の推移を比較して図 4 に示した。ムラサキイガイの毒量の最高値は $3.0 \mu\text{g/g}$ 、マガキは $0.8 \mu\text{g/g}$ 、ヒオウギガイは $0.9 \mu\text{g/g}$ で、ムラサキイガイは他の 2 種と比較して毒を蓄積し易いことが明らかとなった。ムラサキイガイの毒成分は PTX2sa が主体で、その他に OA, DTX1, YTX の蓄積が認められた。海水試料で検出された PTX2 は検出されず、ムラサキイガイは PTX2 を PTX2sa に変換する代謝機構を有すると推察された。PTX2 はマウス毒性を示す有毒成分であるのに対し、PTX2sa は無毒とされている成分である。マガキの毒成分もムラサキイガイと同様に PTX2sa が主体であり、マガキも PTX2 を PTX2sa に変換する機構を有すると推察された。DTX1 の蓄積が認められた点もムラサキイガイと類似していたが、OA の蓄積が見られなかった点が

ムラサキイガイとは異なっていた。ヒオウギガイの毒成分は他の 2 種とは大きく異なっていた。YTX の蓄積が多い点や、PTX 群の毒成分が PTX1, PTX2, PTX2sa, PTX6 と多様である点が特徴であった。ヒオウギガイは、ムラサキイガイやマガキとは、かなり異なる毒の代謝機構を有すると推察された。

参考文献

- Yasumoto, T., Fukui, M., Sasaki, K., Sugiyama, K., 1995: Determinations of marine toxins in foods. *J. AOAC Int.*, **78**, 574-582.
- Satake, M., Terasawa, K., Kadowaki, Y., Yasumoto, T., 1996: Relative configuration of yessotoxin and isolation of two new analogs from toxic scallops. *Tetrahedron Lett.*, **37**, 5,955-5,958.