

論分の内容の要旨

論文題目 トゲクリガニの麻痺性貝毒成分に関する研究

氏名 及川 寛

プランクトンフィーダーである二枚貝は、麻痺性貝毒（PSP: paralytic shellfish poisoning）を生産する渦鞭毛藻プランクトンを捕食して毒化するため、食品衛生上の大きな問題となっている。この麻痺性貝中毒は死亡事故にもつながるため、国内で流通する二枚貝については毒化監視の体制が整備され、一定レベルの安全性が確保されている。一方、近年、海外では麻痺性有毒プランクトンが発生した海域において二枚貝を捕食する生物が新たな毒化生物となることが報告され、タイワンガザミ *Portunus pelagicus* やアメリカンロブスター *Homarus americanus* など、食用対象となる甲殻類も含まれている。日本国内でも、麻痺性有毒プランクトンが発生する沿岸域には多数の甲殻類が生息し、漁業対象となる種もあるが、安全性については十分な検討が行われていない。

以上のような背景の下、本研究では、麻痺性貝毒の発生した海域で二枚貝を捕食する可能性のある生物の毒化を検討した。その結果、福島県小名浜港で採取したトゲクリガニ *Telmessus acutidens* が PSP 成分の蓄積により高毒化することを見いだした。そこで、天然海域で毒化実態を明らかにするため、長期間にわたり多くのトゲクリガニを採取して毒性を調べるとともに、二枚貝のムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* の毒化状況と比較し、食物連鎖による毒化現象を解析した。さらに、飼育実験により、

トゲクリガニの毒化および減毒過程を定量的に把握するとともに、トゲクリガニの PSP 成分組成も検討した。その成果の概要は以下の通りである。

1. 麻痺性貝毒発生海域における各種海産動物の毒化

麻痺性有毒プランクトンが発生した海域で、潜水により各種海産動物を採取し、毒性をマウスアッセイで調べるとともに、毒化が認められた試料について PSP 成分の蓄積を調べた。その結果、1999 年に福島県小名浜港で採取したトゲクリガニの肝臓から 80 MU/g の毒性を検出した。ここで 1 MU (マウスユニット) とは 20 g の ddY 雄マウスを 15 分間で死亡させる毒力を表す。毒化の原因となった成分を明らかにするため、ポストカラム蛍光検出による高速液体クロマトグラフィー (HPLC-FLD) で PSP 成分標準品と溶出時間が同じであったピークをカラムクロマトグラフィーにより精製し、エレクトロスプレーイオン化法によるマスマスペクトロメトリー (ESI-MS) を行った。その結果、マスマスペクトルの特徴からサキシトキシン (STX) の誘導体であるゴニオトキシン (GTX) 1、GTX2、GTX3、GTX4、C (*N*-sulfocarbamoyl-11-hydroxysulfate toxin)1 および C2 の 6 種の PSP 成分を確認した。また、微量のため ESI-MS による確認はできなかったが HPLC-FLD 分析では STX も確認された。このトゲクリガニの PSP 成分組成を、同じ海域で採取したムラサキイガイのそれと比較した結果、両者はともに GTX1、GTX2、GTX3 および GTX4 の GTX 群を主要な成分としたが、トゲクリガニでは N1 位が-OH である GTX1 および GTX4 成分 (GTX1+4) に比べ、N1 位が-H である GTX2 および GTX3 成分 (GTX2+3) が多く、STX が検出されるなど、ムラサキイガイの成分組成と違いも認められた。また、麻痺性有毒プランクトンの発生が小規模であった 2000 年は、ムラサキイガイとトゲクリガニはともに PSP 成分の蓄積量が少なく、両者の毒化に関連性があることが推測された。トゲクリガニのほか、食用対象となるイシガニ *Charybdis japonica* についても小名浜港と広島県大野浦で調査を行った。その結果、小名浜港のイシガニ肝臓から微量の PSP 成分を検出し、大野浦で調べた 17 試料のうち 3 試料からも 2.9~4.0 MU/g の毒性を検出した。これらのことから、麻痺性有毒プランクトン発生海域では、二枚貝だけでなくトゲクリガニやイシガニなどの甲殻類、とくにトゲクリガニの毒化実態を早急に明らかにする必要があると考えられた。

2. 小名浜港におけるトゲクリガニの毒化実態

トゲクリガニの毒化実態を明らかにするため、小名浜港において、かご網で長期にわたり、多数のトゲクリガニを採取し毒性を調べ、ムラサキイガイの毒化状況と比較した。まず、ムラサキイガイの最大毒性値が 21.5 MU/g であった 2001 年には、採取したトゲクリガニの 74% に毒性が認められた。一方、ムラサキイガイの毒性値が 4 MU/g 以下で推移した 2002 年は、トゲクリガニ 38 試料のうち 3 試料 (7.9%) から同様に低い毒性が検出された。さらに、麻痺性有毒プランクトンが大規模に発生し、ムラサキイガイが 50 MU/g 以上に高毒化した 2003 年には、ムラサキイガイの毒化後に採取したトゲクリガニのほぼ 90% に毒性が検出され、最大毒性値も 85.3 MU/g と記録された。2003 年のトゲクリガニの一部試料については、毒性の組織分布も調べた。その結果、肝臓臓部の毒性が高い試料の一部で胸部筋肉に僅かに毒性が認められたが、付属肢筋肉には認められず、PSP 成分は肝臓臓部にほぼ偏在することが明らかとなった。以上のように、小名浜港ではムラサキイガイの毒化レベルが高い年にはトゲクリガニの有毒個体の割合が高く、高毒化個体も認められるなど、トゲクリガニの毒化はムラサキイガイのそれと同調した。また、試料採取で潜水した際には、トゲクリガニがムラサキイガイを捕食することも観察されており、以上の結果はトゲクリガニの毒化が、麻痺性有毒プランクトンの生産する PSP 成分を起源とした食物連鎖によることを示唆する。

次に、2003 年のトゲクリガニおよびムラサキイガイにつき、HPLC-FLD により PSP 成分組成を調べた。トゲクリガニの PSP 成分組成は、ムラサキイガイのそれに比較して GTX1+4 は低く、GTX2+3 は高い傾向にあり、STX や neoSTX などの STX 群もトゲクリガニでその割合が高かった。GTX2+3 は GTX1+4 が還元作用を受けて生成する成分で、STX も GTX2+3 からの *o*-sulfate の還元的な離脱により生じる成分である。したがって、これらの結果は、トゲクリガニ体内で PSP 成分が還元的に変換されていることを示唆する。

以上のように、トゲクリガニの天然海域における毒化実態が明らかにされたが、これらの結果からはトゲクリガニの PSP 成分の蓄積過程や減毒過程を定量的に検討できなかった。一方、PSP 成分組成の変化についても直接的な検証が必要と考えられ、これらについては毒化餌料を用いた飼育実験でさらに検討することとした。

3. 給餌飼育によるトゲクリガニの麻痺性貝毒成分の蓄積および排出

市場で購入後 1 ヶ月以上馴致飼育し、一部の個体の無毒をマウスアッセイで確認したトゲクリガニに対し、毒化ムラサキイガイを一定条件下で給餌し、トゲクリガニの毒化過程を定量的に検討するとともに、

毒化させたトゲクリガニに無毒のムラサキイガイを与えるか、あるいは無給餌で飼育し、その減毒過程を調べた。まず、トゲクリガニが蓄積した総毒量は、毒化餌料の摂取量に比例して高くなり、両者は高い相関を示した。また、20日間の給餌により単位重量当たりのトゲクリガニ肝臓の毒量も餌料ムラサキイガイの3.2倍となり、トゲクリガニはムラサキイガイの摂食により毒化することが直接的に示された。また、トゲクリガニは摂取した毒量の3割以上を蓄積したことから、二枚貝の毒化した海域では、トゲクリガニも毒化の危険性が高い種であることが明らかとなった。一方、減毒試験では、トゲクリガニの総毒量は減毒開始した後の5日間で半減し、20日後には当初の2割以下となった。このように、トゲクリガニの毒性は、初期に大きく低下し、その後も緩慢ながら低下傾向をたどり、既報の二枚貝の減毒過程と共通する特徴をもつことが明らかにされた。また、トゲクリガニのPSP成分組成は、餌料ムラサキイガイに比べてGTX2+3の割合が高く、STXも検出された。さらに、これらの成分の割合は、毒化餌料を給餌して毒化過程にあるものより、減毒過程のものでさらに高くなった。このようなPSP成分組成の変化は、天然海域のムラサキイガイの毒性が低下する過程でトゲクリガニに認められたPSP成分組成の変化と共通しており、食物連鎖によりトゲクリガニに蓄積されたPSP成分が還元的な変換を受けていることを裏付けた。なお、このようなPSP成分の還元的変換は麻痺性有毒プランクトンからPSP成分を蓄積する二枚貝体内でも生じるとされている。以上のトゲクリガニについての成果を受け、厚生労働省は2004年、二枚貝を捕食する生物の麻痺性貝毒による規制値を設定するとともに、二枚貝を捕食する生物の毒化について積極的な調査を行うよう関係機関に通知した。

以上、本研究により、麻痺性有毒プランクトンの発生海域では、トゲクリガニが食物連鎖を介してPSP成分を肝臓部に蓄積し、高毒化することが示された。また、毒化および減毒過程の検討から、トゲクリガニについて、食品としての安全性を確保するためには少なくとも二枚貝と同様な監視体制が必要であることが明らかとなった。さらに、トゲクリガニ体内ではPSP成分は還元的な作用を受けることが示唆されるなど、食物連鎖におけるPSP成分の動態の一端が示された。本研究を契機に、今後は国内においても二枚貝を捕食する生物の安全性についてさらに検討が進むものと考えられ、本研究の成果は、食品衛生学上に資するところが大きいと考えられる。