

17. 貝毒プランクトンによるホタテガイ毒化実態モニタリング試験（受託研究）

担当者	調査研究部	馬場勝寿・金森 誠
共同研究機関	中央水産試験場	利用加工部 三上加奈子・武田忠明
協力機関	独立行政法人	水産総合研究センター 中央水産研究所

（1） 目的

下痢性貝毒や麻痺性貝毒の規制見直しにかかる基礎的知見、及び貝毒検査キットの導入に向けた知見の集積を目的に、最新の技法を用いたプランクトン及びホタテガイの毒成分分析を行う。

平成 17 年に厚岸産カキから規制値を超える貝毒が検出され、市場に混乱が生じた。この後、道は「貝毒監視体制検討委員会」を設置し、二枚貝における貝毒監視体制を強化するとともに、より効率的で科学的な貝毒監視体制を検討してきた。また、近年、下痢性貝毒に関して3つの状況変化（①分析技術が著しく進歩し天然の原因プランクトンの毒性測定が可能になった、②原因プランクトン *Dinophysis* 属の餌料生物が解明され培養が可能になった、③FAO と WHO により設置された国際政府間機関である「CODEX」の毒成分リストからペクテノトキシン(PTX)とイエソトキシン(YTX)が外された（顕著な経口毒性が認められないため））があり、これらへの対応が求められている。そこで、北海道に出現する貝毒プランクトンについて、①最新の技術を用いた毒性試験、②最新の知見に基づいた出現要因の解析、③マウステスト以外の毒性評価を行い、効率的・科学的な貝毒監視体制の検討に必要な知見を集積する。

（2） 経過の概要

貝毒プランクトンの採取は八雲（噴火湾西部海域）離岸 5 km（水深 32m）において、月 1 回実施した（図 1）。ホタテガイの垂下および採取は貝毒プランクトン採取地点近傍の水深 24m 地点で実施した。貝毒プランクトンの採集はバンドーン採水器を用いて深度 5m ごとに行った。貝毒プランクトンの計数用のサンプルは試水 1L を 20 μ m メッシュのプランクトンネットで 10mL までろ過濃縮後、0.75%グルタルアルデヒドで固定し、このうち 1 mL を検鏡した。貝毒プランクトンは種ごとに計数し、1L 当りの出現数に換算した。貝毒プランクトンの毒性分析用のサンプルは試水（深度 0～15m と深度 20～30m で各 10L 採水）計 20L を 20 μ m

メッシュのプランクトンネットで約 30mL までろ過濃縮後、倒立顕微鏡下で種ごとに約 9～100 細胞集め、毒性分析に供した。また、比較のために、サロマ湖湖中央定点においても、同様に貝毒プランクトンを採取し、毒性分析に供した。調査対象・作業項目とその担当機関を表 1 に示した。

ホタテガイ中腸腺の毒成分分析は通常の方法で行った。また、マウステストで下痢毒性が検出された 2010 年のサンプルについては、下痢性貝毒簡易測定キットである脱リン酸化酵素 PP2A 阻害法による測定も併せて実施した。

（3） 得られた結果

ア 天然 *Dinophysis* 属プランクトン各種の毒性、ホタテガイの下痢性貝毒蓄積状況および *Dinophysis* 属プランクトンの出現状況

本事業で行っている下痢性貝毒のマウステストでは、2010 年 7～10 月に 0.05MU/g（軟体部）以上の貝毒が検出された（図 2-1）。

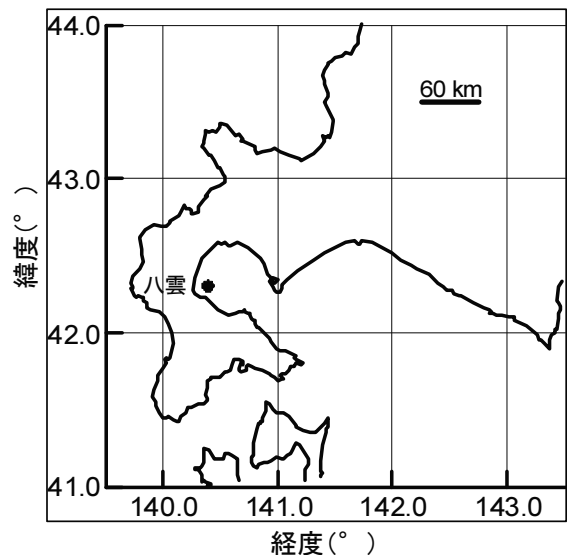


図 1. 調査地点図

表 1. 調査対象・作業項目と担当機関

調査対象と役割	担当機関
下痢性貝毒プランクトン(<i>Dinophysis</i> 属)	
採取、計数、ソーティング、毒抽出・濃縮	函館水試
毒測定	函館水試・中央水研
麻痺性貝毒プランクトン(<i>Alexandrium</i> 属)	
採取、計数、ソーティング、培養	函館水試
毒抽出・毒測定	中央水試
ホタテガイ(二枚貝)下痢性貝毒	
採取、測定、毒抽出	函館水試
酵素阻害法(PP2A)による毒測定	函館水試
LC/MSによる毒測定	函館水試・中央水研
ホタテガイ(二枚貝)麻痺性貝毒	
採取、測定	函館水試
毒抽出、毒測定	中央水試

加水分解処理後に脱リン酸化酵素 PP2A 阻害法により測定した毒性と LC/MS 測定した毒性との一致性は高かった (図 2-2)。加水分解未処理のサンプルの測定値は加水分解処理群に比べて非常に低かった (図 2-2)。このことは、ホタテガイ中腸腺に含まれる DTX・OA 群 (DTX・OA 群) の毒のほとんどはエステル型 (他の高分子と結合したもの) である事を示している。

ホタテガイに蓄積された DTX・OA 群 (DTX・OA 群) の毒は、春 (2~4 月) は DTX1 が主体で、初夏~冬 (5~12 月) は DTX3 の割合が高くなった (図 2-2)。*Dinophysis* 属が持つ成分は OA と DTX1 であり、DTX3 はホタテガイの代謝産物である。季節によりホタテガイの DTX・OA 群に対する代謝速度が異なる事を示していると考えられる。貝毒プランクトンの出現状況 (図 3) と各種の持つ毒の組成 (表 2) から、噴火湾における主要な原因プランクトンは、春 (2~4 月) は *D. acuminata* で、初夏 (5~6 月) は *D. acuminata* と *D. norvegica*、夏~秋 (7~10 月) は *D. acuminata* と *D. norvegica* と *D. fortii* と推察される。冬 (11~12 月) に唯一出現する *D. tripos* には DTX・OA 群の毒は含まれていないことから、冬にホタテガイに DTX・OA 群の毒が検出されるのは、夏~秋に蓄積されたものが残留しているためと考えられる。

ホタテガイに蓄積されているペクテノトキシン (PTX) 群の毒は PTX6 が主体であった (図 2-3)。*Dinophysis* 属が持つ成分は PTX2 であり、PTX1 と PTX6 はホタテガイの代謝産物である。貝毒プランクトンの出現状況 (図 3) と各種の持つ毒の組成 (表 2) から、噴火湾における主要な原因プランクトンは、春 (2~4 月) は *D. acuminata* で、初夏 (5~6 月) は *D. acuminata* と *D. norvegica*、夏~秋 (7~10 月) は *D. acuminata* と *D. norvegica* と *D. fortii* と *D. tripos*

と推察される。特に、*D. tripos* の PTX2 の含有量が多く、夏~秋のホタテガイの PTX 群蓄積の主要な原因プランクトンと考えられる。

ホタテガイに蓄積されているイエソトキシン (YTX) 群の毒は YTX と 45 ヒドロキシ YTX (45OH YTX) が主体であった (図 2-4)。特に 2010 年の蓄積量が多かった。2010 年 10 月に原因プランクトンの

表 2. 噴火湾八雲沖 5 km (水深 32m) 及びサロマ湖調査定点 (貝毒プランクトンモニタリング定点) で採取された *Dinophysis* 属各種の含有毒 (LC/MS)

採取日	採取場所	種	毒含量 (pg/cell)			細胞数
			OA	DTX1	PTX2	
2009年						
3/17	噴火湾	<i>D. acuminata</i>	0.00	2.27	55.60	50
6/16	噴火湾	<i>D. acuminata</i>	0.00	4.68	10.88	50
6/16	噴火湾	<i>D. norvegica</i>	0.00	1.32	89.20	50
7/23	噴火湾	<i>D. fortii</i>	0.00	0.00	0.00	50
8/21	噴火湾	<i>D. mitra</i>	0.00	0.00	0.00	50
9/14	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	144.40	50
11/24	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	230.40	50
2010年						
6/21	噴火湾	<i>D. norvegica</i>	2.59	0.71	74.40	50
6/21	噴火湾	<i>D. rotundata</i>	0.00	0.00	0.00	50
7/23	噴火湾	<i>D. fortii</i>	0.00	12.84	0.00	15
7/23	噴火湾	<i>D. acuminata</i>	0.00	2.95	20.48	50
8/24	噴火湾	<i>D. fortii</i>	0.00	25.68	36.08	50
8/24	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	137.30	37
8/24	噴火湾	<i>D. mitra</i>	0.00	0.00	0.00	50
8/24	噴火湾	<i>D. acuminata</i>	0.00	3.24	25.44	50
8/24	噴火湾	<i>D. rotundata</i>	0.00	0.00	0.00	50
9/21	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	137.20	50
9/21	噴火湾	<i>D. mitra</i>	0.00	2.56	0.00	50
9/21	噴火湾	<i>D. fortii</i>	0.00	97.60	74.00	50
10/14	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	39.92	50
11/25	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	142.00	50
2011年						
7/27	噴火湾	<i>D. acuminata</i>	0.00	0.00	44.00	50
7/27	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	78.80	50
8/29	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	416.00	50
8/29	噴火湾	<i>D. mitra</i>	0.00	0.00	2.75	50
9/27	噴火湾	<i>D. tripos</i>	0.00	0.00	160.40	50
9/27	噴火湾	<i>D. mitra</i>	0.00	0.00	2.46	50
7/20	サロマ湖	<i>D. fortii</i>	0.00	39.72	82.80	50
8/22	サロマ湖	<i>D. fortii</i>	0.00	30.52	58.40	50
8/22	サロマ湖	<i>D. rotundata</i>	0.00	0.00	0.00	20
9/7	サロマ湖	<i>D. fortii</i>	0.00	18.89	39.44	36
10/11	サロマ湖	<i>D. fortii</i>	0.00	26.68	86.80	50
11/29	サロマ湖	<i>D. acuminata</i>	0.00	0.00	31.72	50
12/20	サロマ湖	<i>D. acuminata</i>	0.00	0.00	36.56	50
12/20	サロマ湖	<i>D. norvegica</i>	0.00	0.00	30.40	15
1/29	サロマ湖	<i>D. acuminata</i>	0.00	0.00	23.82	11
1/29	サロマ湖	<i>D. norvegica</i>	0.00	0.00	15.13	9
2/27	サロマ湖	<i>D. norvegica</i>	0.00	0.00	20.14	28

*: MU/μg

Protoceratium reticulatum が大量に出現していたと考えられる。*P. reticulatum* はモニタリングの対象外である。*P. reticulatum* が持つ成分は YTX であり、45OH YTX はホタテガイの代謝産物である。

マウステストで毒性が検出された2010年7～10月において、最も多く噴火湾のホタテガイに含まれていた下痢性貝毒成分はPTX群であり、次いでYTX群、最も少なかったのはDTX・0A群の成分であった。

DTX・0A群には経口毒性があるが、PTX群とYTX群には顕著な経口毒性は認められていない。経口毒性のあるDTX・0A群の含有割合が低い噴火湾のホタテガイは、下痢性貝毒に関して、比較的安全性が高いと考えられる。

イ ホタテガイの麻痺性貝毒蓄積状況および *Alexandrium* 属プランクトンの出現状況

出現した麻痺性貝毒プランクトンのほとんどは *Alexandrium tamarense* であり、*A. ostenferdii* はわず

かだった(図5)。出現規模は2009年(最大960細胞/L, 5月21日), 2010年(最大730細胞/L, 5月17日), 2011年(最大470細胞/L, 6月20日)の順に大きかった。

ホタテガイに蓄積した麻痺性貝毒は2011年(最大246.0nmol/g, 6月20日), 2010年(最大22.7nmol/g, 5月17日), 2009年(最大12.0nmol/g, 6月16日)の順に多かった(図4)。*A. tamarense* の最大出現数と麻痺性貝毒蓄積毒量の多寡が一致していない。この原因は、*A. tamarense* の出現時期が遅いほどホタテガイを毒化させる力が高いためと考えられる。

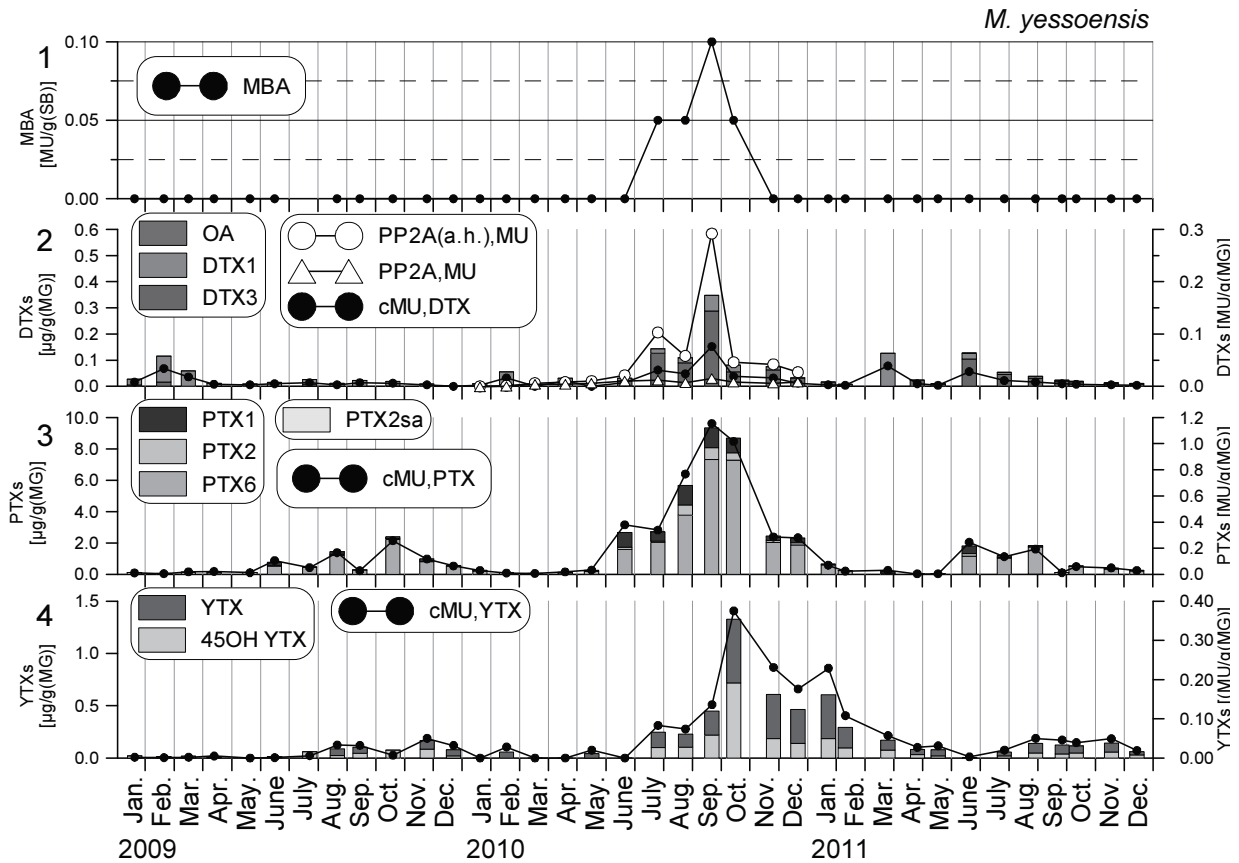


図2. 噴火湾八雲沖(離岸4.5km, 水深24m)に垂下された耳吊りホタテガイ (*Mizuhopecten yessoensis*) に蓄積した中腸腺1g当たりの下痢性貝毒。1: マウステストの結果(MBA: mouse bioassay), 2: DTX・OA群の毒量(LC/MS測定)と脱リン酸化酵素PP2A阻害法により測定したオカダ酸相当量DTX・OA群毒力(MU, (a.h.は加水分解群), 3: PTX群の毒量(LC/MS測定), 4: YTX群の毒量(LC/MS測定)。cMUはマウスユニット換算値

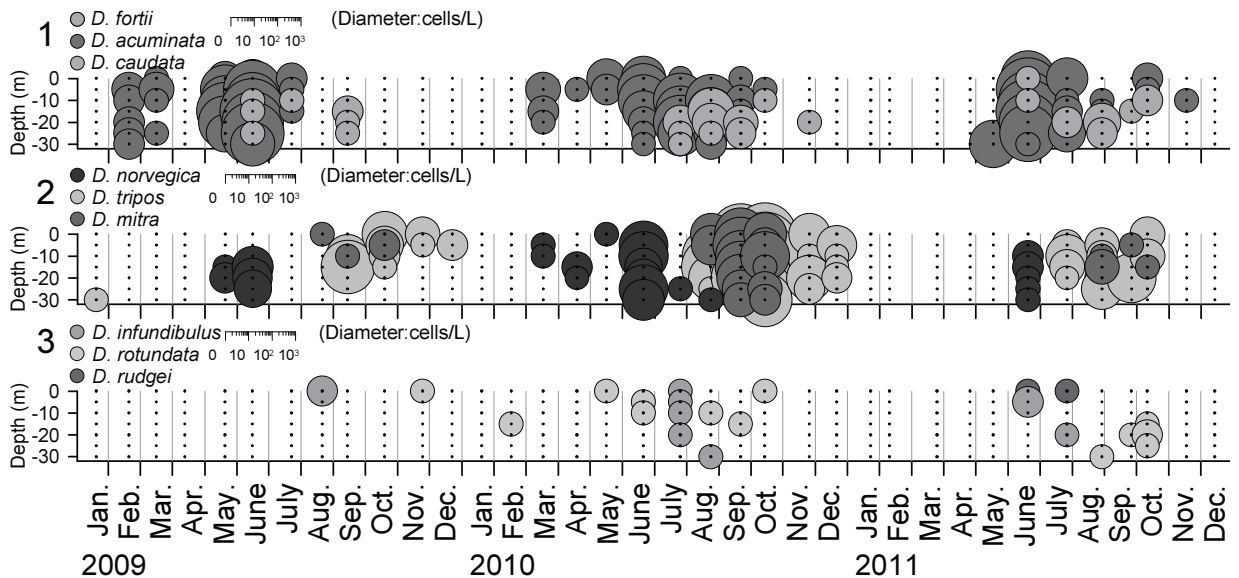


図3. 噴火湾八雲沖(離岸5km, 水深32m)における下痢性貝毒プランクトン *Dinophysis* 属渦鞭毛藻9種の出現状況

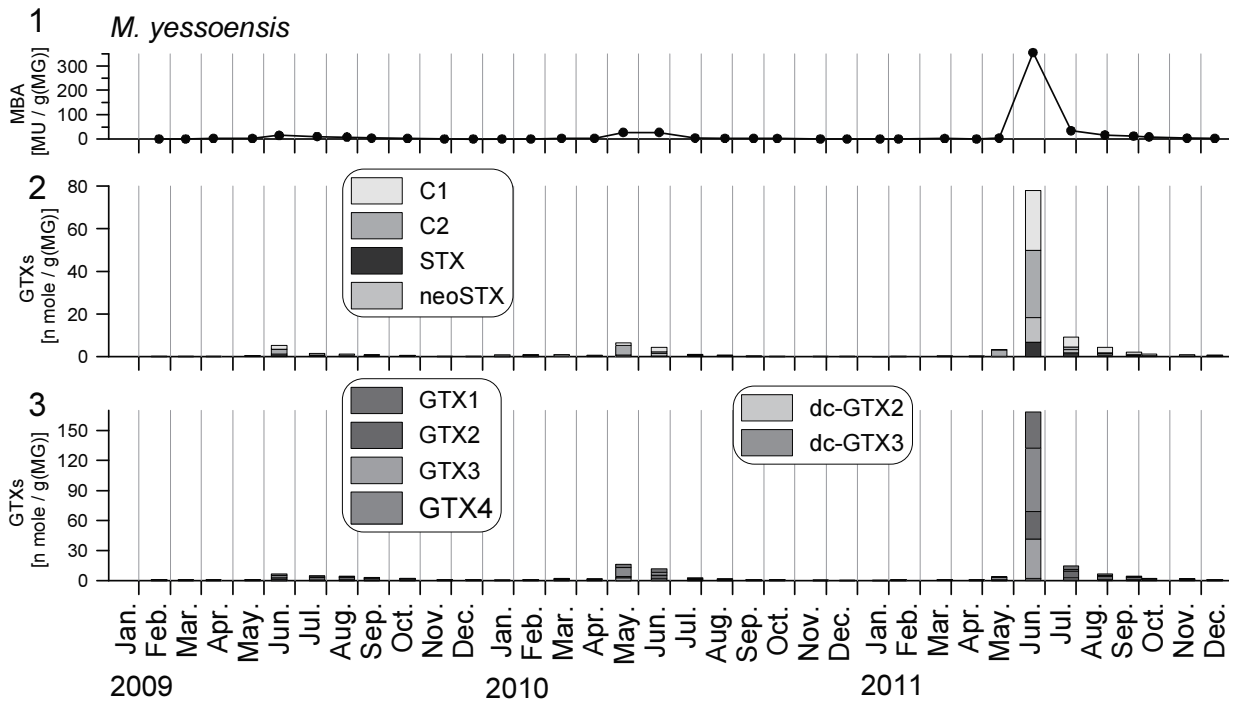


図4. 噴火湾八雲沖（離岸 4.5km, 水深 24m）に垂下された耳吊りホタテガイ (*Mizuhopecten yessoensis*) に蓄積された中腸腺 1 g 当たりの麻痺性貝毒, 1 : マウステストの結果, 2 : GTX 群 (C1, C2, STX, neoSTX) の毒量 (HPLC 測定), 3 : GTX 群 (GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, dcGTX2, dcGTX3) の毒量 (HPLC 測定)

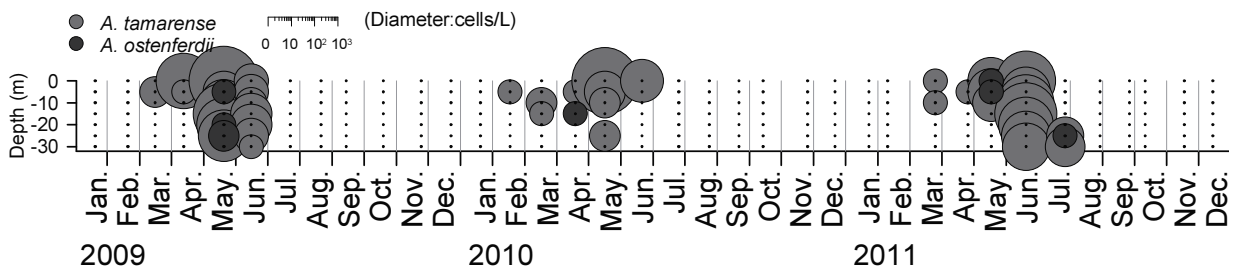


図5. 噴火湾八雲沖（離岸 5km, 水深 32m）における麻痺性貝毒プランクトン *Alexandrium* 属渦鞭毛藻 2 種の出現状況