

食品安全委員会 かび毒・自然毒等専門調査会(第6回)
2006年10月30日

話題提供

海産自然毒

貝毒監視体制の現状と今後の問題一

東北大学大学院生命科学研究科

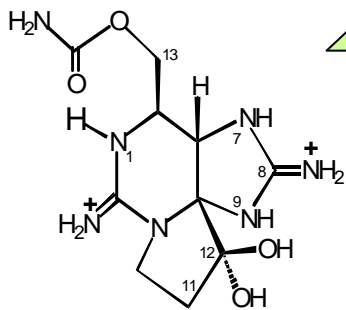
大島泰克

二枚貝食中毒の原因
微細藻と毒の化学
構 造

麻痺性貝毒



*Alexandrium
tamarense*



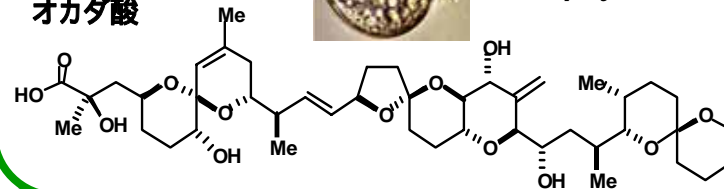
サキシトキシン

下痢性貝毒



Dinophysis fortii

オカダ酸



毒化二枚貝



ホタテガイ

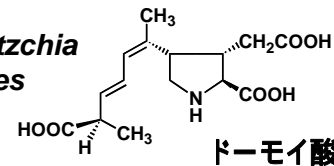


ムラサキイガイ

記憶喪失性貝毒

*Pseudonitzschia
multiseriata*

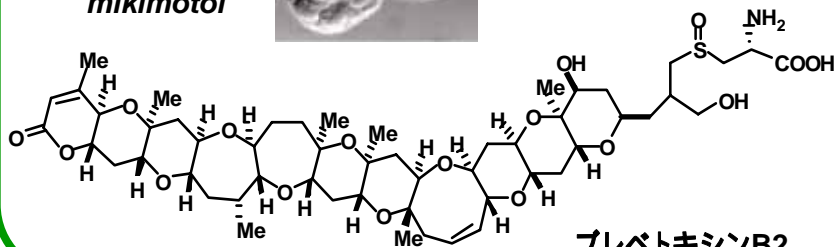
(珪藻)



ドーモイ酸

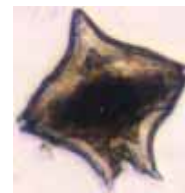
神経性貝毒

*Gymnodinium
mikimotoi*



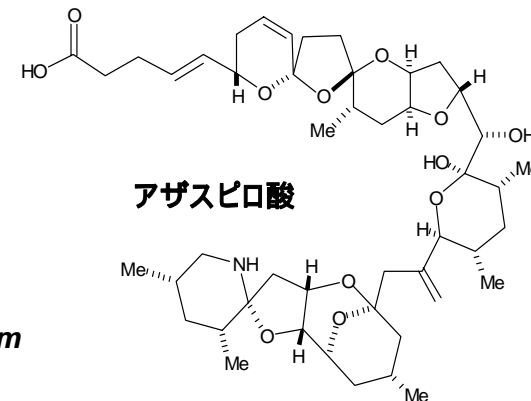
ブレベトキシンB2

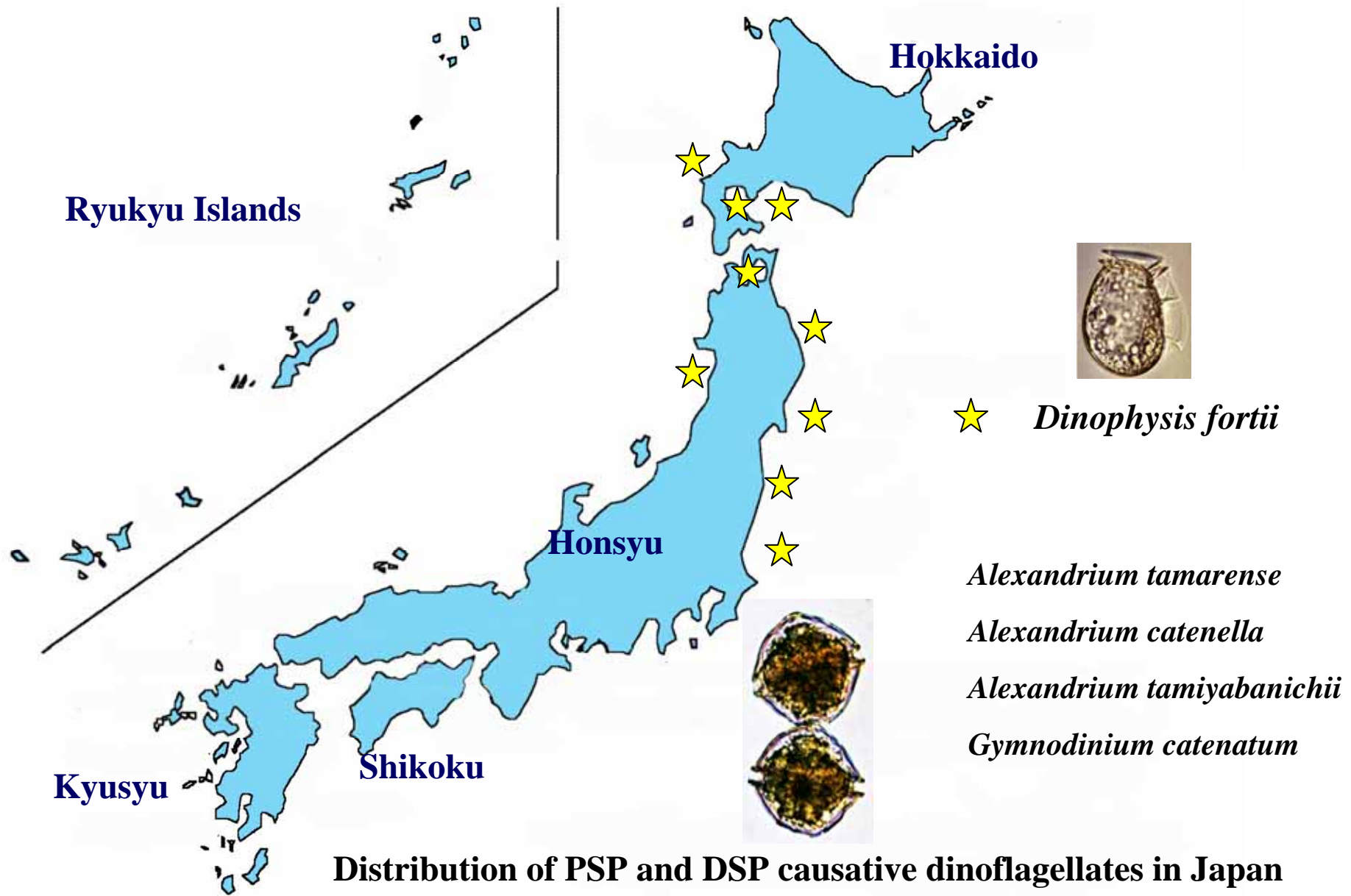
アザスピロ酸中毒



*Protoperidinium
crassipes*

アザスピロ酸



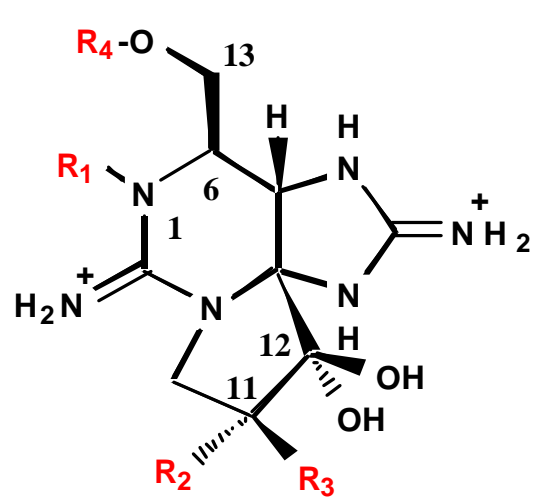


平成18年度貝毒発生状況（下痢性貝毒）

道府県	海域	種類	規制	解除	既成日数
青森県	陸奥湾西部海域	ホタテガイ	7月6日	7月27日	21
	暖流系海域	ムラサキイガイ	4月6日	9月25日	172
	寒流系海域	ムラサキイガイ	4月21日	9月22日	154
岩手県	宮古湾海域	ホタテガイ	5月3日	5月23日	20
	南部海域	ホタテガイ	5月24日	6月13日	20
宮城県	南部海域	ムラサキイガイ	6月1日	8月24日	84
福島県	福島県下一円	ムラサキイガイ	5月19日	7月14日	56

平成18年度貝毒発生状況（麻痺性貝毒）

北海道	噴火湾湾口、東部、西部	ホタテガイ	5月9日	一部継続中	150 ~
岩手県	大船渡湾西部海域	ホタテガイ	6月13日	7月11日	28
宮城県	石巻湾	カキ	2月27日	5月1日	63
	仙台湾中央部海域	アサリ	3月8日	4月25日	48
	南部海域	ムラサキイガイ、ウバガイ コタマガイ、アカガイ トゲクリガニ	3月3日 3月15日 3月14日	5月23日 4月25日 6月27日	81 41 105
福島県	福島県下一円	ムラサキイガイ	3月16日	5月19日	64
茨城県	茨城県海域	ムラサキイガイ	4月12日	5月17日	35
三重県	鳥羽、的矢海域	ムラサキイガイ、マガキ	3月23日	5月10日	48
大阪府	大阪湾海域	アサリ、アカガイ	3月27日	5月10日	44
兵庫県	芦屋市海域	アサリ	4月6日	4月27日	21
	洲本市海域	アサリ	3月30日	5月18日	49
和歌山県	和歌浦湾海域	アサリ	4月13日	5月10日	27
	浦神湾、森浦湾海域	ヒオウギガイ	6月8日	7月13日	35
広島県	広島湾北部海域	アサリ、カキ	5月11日	5月25日	14
山口県	仙崎湾海域	ムラサキイガイ、アサリ	11月22日	2月14日	84
徳島県	阿南、小松島、徳島	二枚貝(天然カキ)	3月29日	5月11日	43
長崎県	五島市玉之浦湾海域	マガキ	1月6日	3月24日	77
大分県	佐伯市蒲江海域	アサリ	4月19日	5月31日	42
	佐伯市小蒲江、猪串湾	ヒオウギガイ	3月31日	7月21日	112

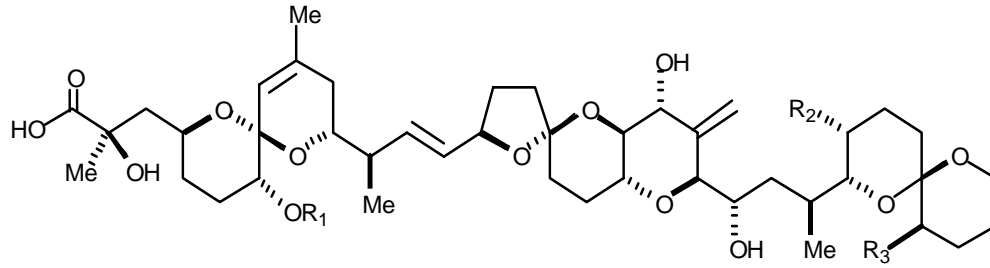


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄ : $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} - \text{NH}_2 \end{array}$	R ₄ : $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{C} - \text{N} \quad \text{SO}_3^- \end{array}$	R ₄ : H
H	H	H	STX (2483)	GTX5 (160)	dcSTX (1274)
OH	H	H	neoSTX (2295)	GTX6 (180)	dcneoSTX (33)
OH	OSO ₃ ⁻	H	GTX1 (2468)	C3 (33)	dcGTX1 (1500)
H	OSO ₃ ⁻	H	GTX2 (892)	C1 (15)	dcGTX2 (1617)
H	H	OSO ₃ ⁻	GTX3 (1584)	C2 (239)	dcGTX3 (1872)
OH	H	OSO ₃ ⁻	GTX4 (1803)	C4 (143)	dcGTX4 (1080)

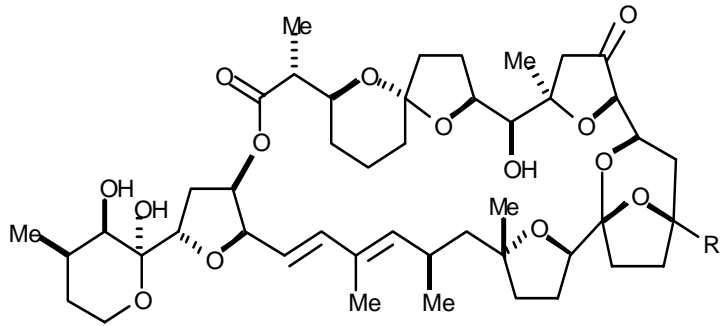
STX: saxitoxin GTX: gonyautoxin dc-: decarbamoyl-

Number in parenthesis: specific toxicity in MU/μmole.

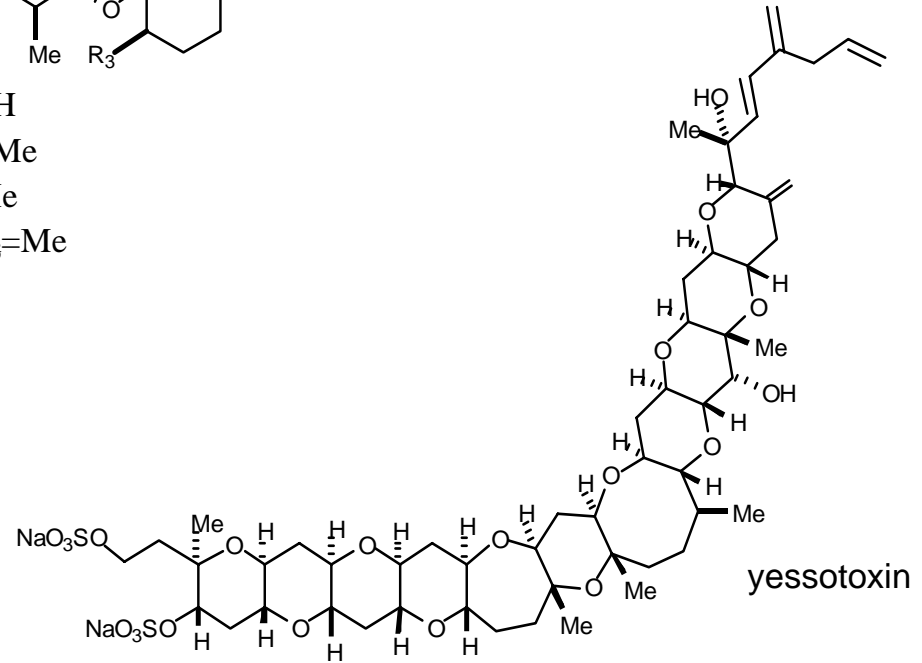
Structures and specific toxicities of the major paralytic shellfish toxins.



okadaic acid (OA) : $R_1=H, R_2=Me, R_3=H$
 dinophysistoxin-1 (DTX1) : $R_1=H, R_2=Me, R_3=Me$
 dinophysistoxin-2 (DTX2) : $R_1=H, R_2=H, R_3=Me$
 dinophysistoxin-3 (DTX3) : $R_1=acyl, R_2=Me, R_3=Me$



pectenotoxin-1 (PTX1): $R=OH$
 pectenotoxin-2 (PTX2): $R=CH$
 pectenotoxin-3 (PTX3): $R=CHO$
 pectenotoxin-6 (PTX6): $R=COOH$



yessotoxin

下痢性貝毒に関する有毒成分の構造

貝毒監視体制（行政措置の発端）

1976年 宮城県における下痢性貝毒の発見

1977年 青森県ホタテガイによる下痢性貝毒食中毒多発
噴火湾(北海道)のホタテガイの麻痺性貝毒による高度の毒化

1978年5月20日付厚生省環境衛生局乳肉衛生課事務連絡
「貝を原因とする食中毒について」脂溶性貝毒(下痢性貝毒)の検査法の通知。

1978年7月21日付厚生省環境衛生局乳肉衛生課長通知(環乳第37号)
各都道府県政令市特別区衛生主管部(局)長宛
「貝類による食中毒の防止について」:水産庁による行政指導の通知、規制に関する暫定措置の連絡と監視要請。麻痺性貝毒は可食部 4 MU/g、脂溶性貝毒は可食部 0.05 MU/g を超える貝類の監視。

以後

- 危険部位の除去による流通の認定
- 貝毒名称の変更
- 試験法の一部変更等
- ホタテガイ以外の二枚貝への適用

日本における貝毒の監視体制の概要

生産道府県による二枚貝の毒性定期検査

道府県による行政検査 + 漁連等による自主検査

実施：衛生機関 または 民間委託

ホタテガイ、カキ等は生産海域の区分、認定

規制値を超えるか、または、それ以下でも毒が検出された場合

採捕、流通の自主規制

消費地等への通知

規制値以下に下がってから一定期間後に解除

道府県の水産機関による毒化原因プランクトン調査

毒化予知、自主規制解除等に補助的な情報として役立っている。

わが国の麻痺性貝毒中毒事例

	発生年月	原因二枚貝	発生場所	患者数	(死者)
1	1948年7月	アサリ	愛知県豊橋市	12	(0)
2	1961年5月	アカザラガイ	岩手県大船渡市	20	(1)
3	1962年2月	マガキ	京都府宮津市	42	(0)
4	1977年3月	アサリ	三重県南島町	15	(0)
5	1979年1月	マガキ	山口県長門市	16	(0)
6	1979年4月	ムラサキイガイ	北海道旭川市	5	(1)
7	1989年7月	ムラサキイガイ	青森県尻屋	16	(1)
8	1991年7月	ホタテガイ	北海道函館	4	(1)
9	1997年3月	イワガキ	長崎県五島	25	(0)
	計			155	(4)

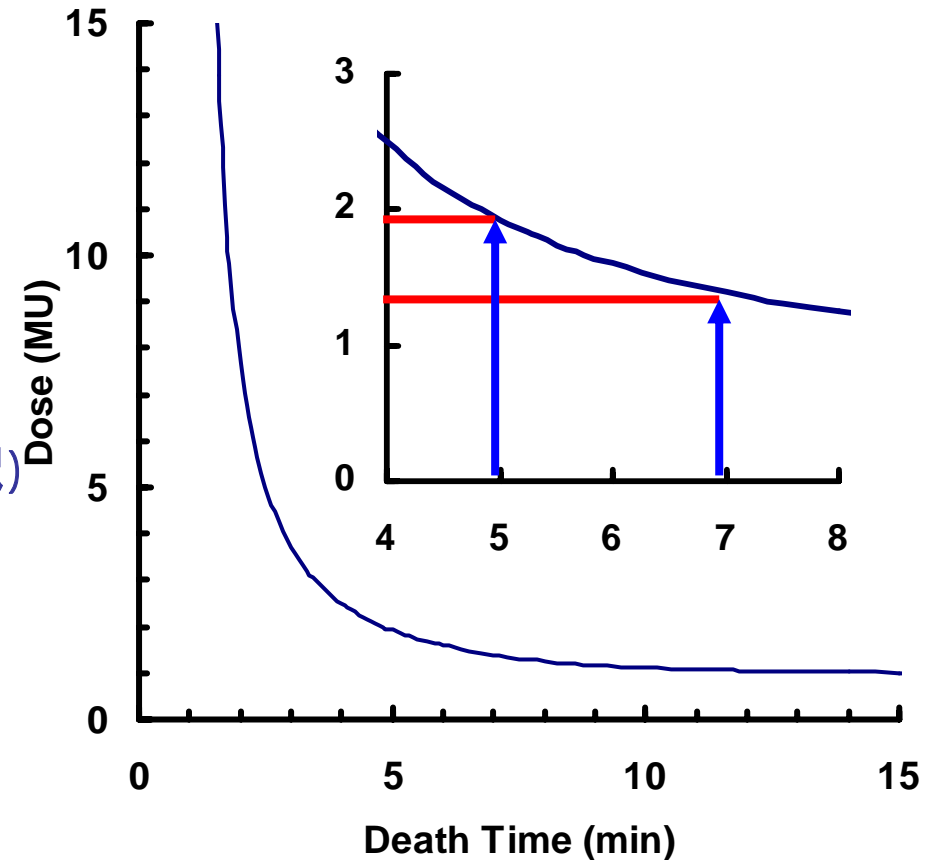
麻痺性貝毒(サキシトキシン) マウス毒性試験の概要

- 1) 試料ホモジナイズ
- 2) 0.1 N HCl (等量)加熱抽出
- 3) 遠心分離またはろ過
- 4) 抽出液をマウスに腹腔内投与
- 5) 致死時間測定 (5~7分となる希釈)
投与量一致死時間の関係から
毒力(MU:マウス単位)
- 6) 重量あたりの毒力算出

規制値 4 MU/g

問題: マウスの感受性による違いを補正する
標準化のための saxitoxin (FDA) が
化学兵器禁止条約関連国内法に抵触

Dose-death time relationship for STX



Sommer の表

可食部200 g 相当の中腸腺 (例 20 g)

3倍量アセトン、ホモジナイズ
減圧濾過

*1 試料中の水の影響で水溶性物質混入

濾液*1

残渣

3倍量アセトン、ホモジナイズ
減圧濾過

*2 脂溶性物質の徹底的抽出

濾液*2

残渣

3倍量アセトン、ホモジナイズ**
減圧濾過

濾液*2

残渣

減圧濃縮
エーテル・水分配

エーテル相

水相*3

*3 水溶性物質(麻痺性貝毒等)の除去
YTXの大部分も除去される

水

エーテル相

水相*3

減圧濃縮、乾固

1% Tween 60 に懸濁*4

*4 可食部20 g/1 ml となるように定容
(例 中腸腺 2 g 相当)

検液

マウス腹腔内投与

24 時間後の生死で毒の存在を判定 *5

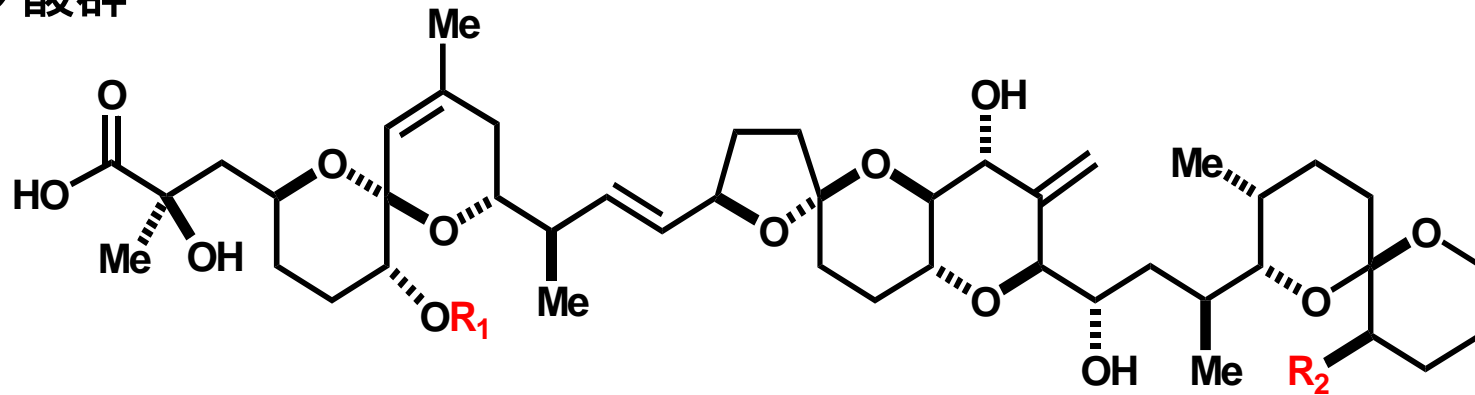
*5 0.05 MU/g 以上は規制対象

下痢性貝毒試験(公定法)の流れ図 (食品衛生検査指針1991)

下痢性貝毒の歴史

- 1976 年 宮城県で発生したムラサキイガイによる食中毒を
端緒として発見
- 1978 年 “脂溶性貝毒”毒性試験法と規制値の決定
- 1980 年 二枚貝毒化原因 渦鞭毛藻 *Dinophysis fortii* の発見
- 1982 年 主要毒 Dinophysistoxin-1 の構造決定
(青森産ホタテガイ)
- 1985 年 Pectenotoxin類の構造決定
- 1987 年 Yessotoxinの構造決定
- 1987 年 OA, DTX1 ADAM-蛍光分析法開発
- 1989 年 Dinophysistoxin-3の構造
- 1989 年 *Dinophysis* spp. 毒生産確認

オカダ酸群

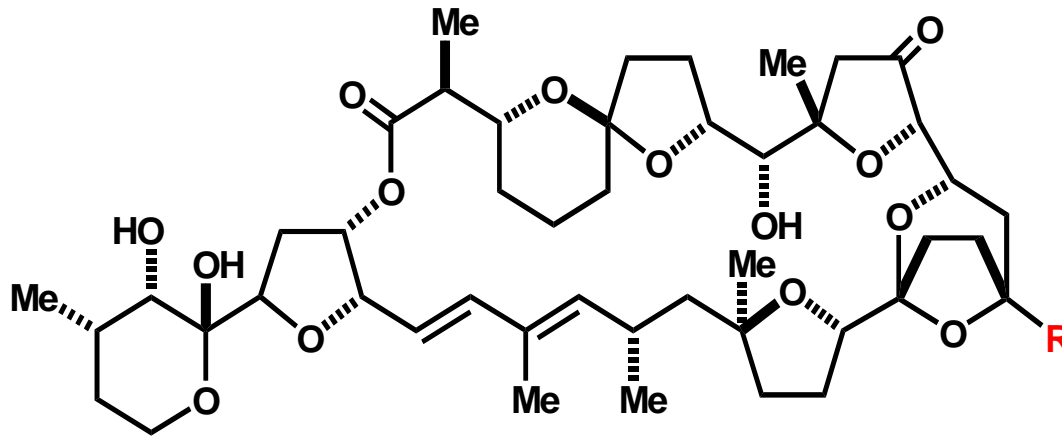


- Okadaic acid (OA) $R_1=H, R_2=H$
- ◇クロイソカイメン *Halicondria okadae* の細胞毒として構造決定
 - ◇渦鞭毛藻 *Prorocentrum lima* が生産することを確認
 - ◇ヨーロッパ産ムラサキガイの下痢性貝毒成分として確認
 - ◇ *Dinophysis* spp. による生産確認
 - ◇タンパク脱リン酸化酵素(PP2A, PP1)の特異的に阻害, 発ガンプロモーター活性

- Dinophysistoxin-1 (DTX1) $R_1=H, R_2=Me$
- ◇陸奥湾産ホタテガイの主要毒として単離 (マウス腹腔内投与致死活性を指標)
 - ◇ 35-(*R*)-methyl okadaic acid と構造決定
 - ◇下痢原性の確認 (ウサギ結腸ループ、乳飲みマウス)
 - ◇ *Dinophysis fortii* による生産確認

- Dinophysistoxin-3 (DTX3) $R_1=acyl, R_2=Me$
- ◇陸奥湾産ホタテガイから単離
 - ◇ 7-*O*-acyl dinophysistoxin-1 と構造決定
 - ◇下痢原性あり (消化管内での加水分解によるDTX1の生成?)
 - ◇原因渦鞭毛藻にない。貝の代謝物と考えられる

ペクテノトキシン群



PTX1: R=CH₂OH

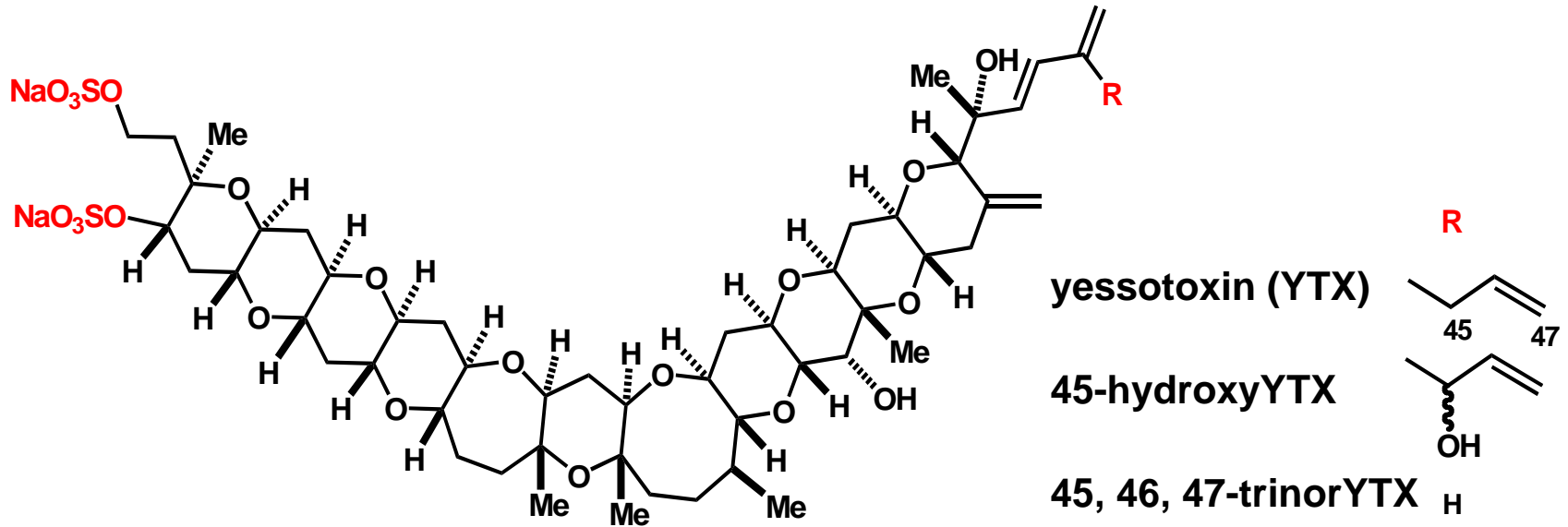
PTX2: R=CH₃

PTX3: R=CHO

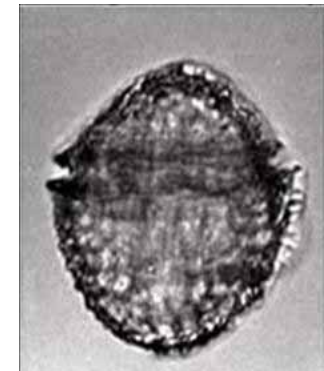
PTX6: R=COOH

- ◇ 陸奥湾産ホタテガイから単離、構造決定
- ◇ *Dinophysis fortii* によるPectenotoxin-2の生産確認
- ◇ 多くの同族体は貝体内で変換されて生ずると考えられる
- ◇ 肝臓毒性
- ◇ 二枚貝による解裂 seco acid の生成 無毒化 二枚貝の酵素が関与

イエットキシン群



- ◇陸奥湾産ホタテガイ (*Patinopecten yessoensis*) から単離・構造決定
(マウス腹腔内投与致死活性を指標)
- ◇経口毒性低い。下痢原性なし。
- ◇ヨーロッパ産ムラサキイガイから同族体とともに検出。
- ◇渦鞭毛藻 *Protoperidinium leticulatum* の生産確認



Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation
on Biotoxins in Bivalve Molluscs
Oslo, Norway, Sept. 26-30, 2004

開催の経緯 : 魚類および水産物に関するCODEX委員会 (CCFFP) 第25回会議において, FAO と WHO に対して, 二枚貝の毒についての科学的な助言をCCFFPと共同で提案するように依頼した。さらに第26回会議において, 以下の項目について諮問することとした。

- 食品中の毒の許容量についての指針
- それぞれの貝毒成分に対する分析手法の指針
- 有毒プランクトンおよび二枚貝のモニタリングについての指針
- 有毒プランクトンの地理学的な分布についての情報

以上の諮問にこたえ、FAO, ユネスコ政府間海洋学委員会 (IOC), WHOは各国の専門家を招集して, 暫定専門家会議を開催。

Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation
on Biotoxins in Bivalve Molluscs
Oslo, Norway, Sept. 26-30, 2004

検 討 対 象

Toxin Group	日本	出現国
Saxitoxin	麻痺性貝毒	—
Okadaic acid	下痢性貝毒	—
Pectenotoxin	下痢性貝毒	—
Yessotoxin	測定対象となっていない	NZ, Ita, Sp, Nor
Domoic Acid	記憶喪失性貝毒、毒化例なし	Can, US, UK
Azaspiracid	毒化例なし	Ire, Nor, UK
Brevetoxin	神経性貝毒、毒化例なし	US, NZ
Cyclic imine	毒化例なし	Can, NZ

Table 2. Summary of Toxicology for Marine Biotoxins

Toxin Group	LOAEL(1) NOAEL(2) µg/kg bw	Safety Factor Human data (H) Animal data (A)	Provisional Acute Reference Dose Adult bw= 60kg	Derived Guidance Level/ Max Tolerable Level based on 100g (1), 250g (2) or 380g (3) consumption	Current Guidance Level /Max Tolerable Level - implemented in some countries
AZA	0.4 (1)	10(H)	0.04 ug/kg 2.4 ug/adult	0.024 mg/kg SM (1) 0.0096mg/kg SM (2) 0.0063 mg/kg SM (3)	0.16 mg/kg
BTX			N/A		
Cyclic Imines			N/A		
DA	1,000 (1)	10(H)	0.1mg/kg 6mg/adult	60 mg/kg SM (1) 24 mg/kg SM (2) 16 mg/kg SM (3)	20 mg/Kg
OA	1 (1)	3(H)	0.33µg/kg 20 µg/adult	0.2 mg/kg SM (1) 0.08 mg/kg SM (2) 0.05 mg/kg SM (3)	0.16 mg/kg
PTX			N/A		0.16 mg/kg
STX	2 (1)	3(H)	0.7 µg/kg 42 µg/adult	0.42 mg/kg SM (1) 0.17 mg/kg SM (2) 0.11 mg/kg SM(3)	0.8 mg/kg
YTX	5,000 (2)	100(A)	50 µg/kg 3 mg/adult	30 mg/kg SM (1) 12 mg/kg SM (2) 8 mg/kg SM (3)	1 mg/kg

CCFFPの諮問に対して専門家委員会が示した食品中の許容量
要約 (250gを食べた場合)

毒群	専門家委員会 が答申した許 容量(ug/kg)	EU等で採用してい る現行許容量 (ug/kg)	わが国の許容量 (MU/g)および毒 重量換算値 (ug/kg)
麻痺性貝毒 (STX群)	170	800	4 MU/g (800ug/kg)
下痢性貝毒 (OA群)	80	160	0.05MU/g (200ug/kg)
下痢性貝毒 (YTX群)	12000	1000	0.05MU/g (100ug/kg)
下痢性貝毒 (PTX群)		160	0.05MU/g (230ug/kg)

コーデックス 魚類・水産製品部会 (CCFFP) 二枚貝中の生物毒作業部会
 (2006年4月 オタワ)

OA, STX はEUと同基準の許容レベル、PTX, YTXについては基準を設けない

今後の問題

機器分析の導入

麻痺性貝毒: 蛍光HPLC

下痢性貝毒: LC/MS

標準品の確保

下痢性貝毒関連毒 個別規制

毒群ごとのリスク評価

毒群ごとの分析法の評価と検査体制のグランドデザイン

OA PP2A阻害assay, ELISA

PTX ELISA

YTX ELISA

上記以外の貝毒 潜在的危険性にどう対応するか