

(案)

自然毒評価書

二枚貝中のオカダ酸群

2014年5月

食品安全委員会

かび毒・自然毒等専門調査会

目 次

	頁
目 次.....	1
＜審議の経緯＞.....	3
＜食品安全委員会委員名簿＞.....	3
＜食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿＞.....	3
要約.....	4
I 背景.....	6
1. 経緯.....	6
2. リスク管理措置等の概要.....	6
(1) 日本の規制状況.....	6
(2) 諸外国等の規制状況.....	7
(3) 検査法.....	8
3. 国際機関等の評価.....	10
(1) FAO/IOC/WHO.....	10
(2) 欧州食品安全機関 (EFSA)	11
II. 評価対象.....	13
III. 評価対象物質の概要.....	14
1. 名称、分子式、分子量、構造式.....	14
(1) OA.....	14
(2) DTX1.....	15
(3) DTX2.....	15
(4) DTX3.....	16
2. 物理化学的性質.....	17
3. 起源・産生生物等.....	17
4. 発見の経緯.....	18
IV. 安全性に係る知見の概要	20
1. DSP の疫学的知見	20
(1) 貝毒摂取量と DSP の関係が調べられている主な知見.....	20
(2) 各国におけるその他の主な知見.....	27
(3) まとめ.....	29
2. 吸収、代謝、分布、排泄.....	29
3. 実験動物等における毒性.....	30
(1) 急性毒性.....	30
(2) 亜急性毒性.....	35
(3) 慢性毒性・発がん性.....	36
(4) 生殖発生毒性.....	37
(5) 遺伝毒性.....	37

(6) 毒性のメカニズム.....	38
(7) 毒性のまとめ.....	39
4. 暴露状況.....	40
(1) 貝の生産量・輸入量・流通量等.....	40
(2) 日本における二枚貝喫食者の1日当たりの喫食量の推計.....	42
(3) 貝の汚染実態等.....	43
(4) 暴露状況のまとめ.....	47
5. 加工・調理による減衰.....	48
V. 食品健康影響評価.....	49
VI. 今後の課題.....	52
<略語一覧>.....	53
<参考資料1>.....	54
<参考資料2>.....	56
<参照文献>.....	58
<別添>.....	68
I. PTX 群について.....	68
1. PTX の概要.....	68
2. 安全性に係る知見の概要.....	69
(1) 急性毒性.....	69
(2) 亜急性毒性、慢性毒性・発がん性、生殖発生毒性、遺伝毒性及びその他（神経毒性、免疫毒性）.....	71
(3) 人における暴露.....	71
II. YTX 群.....	72
1. YTX の概要.....	72
<別添参照文献>.....	74

＜審議の経緯＞

2013 年	8 月	27 日	厚生労働大臣から二枚貝中の下痢性貝毒に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2013 年	9 月	2 日	第 487 回食品安全委員会（要請事項説明）
2013 年	10 月	15 日	第 29 回かび毒・自然毒等専門調査会
2013 年	12 月	19 日	第 30 回かび毒・自然毒等専門調査会
2014 年	2 月	6 日	第 31 回かび毒・自然毒等専門調査会
2014 年	3 月	26 日	第 32 回かび毒・自然毒等専門調査会
2014 年	4 月	24 日	第 33 回かび毒・自然毒等専門調査会
2014 年	5 月	27 日	第 515 回食品安全委員会（報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森国敏（委員長代理）
石井克枝
上安平冽子
村田容常

＜食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿＞

宮崎 茂（座長）	杉山圭一
合田幸広（座長代理）	鈴木敏之
荒川 修	豊福 肇
川原信夫	長島裕二
久米田裕子	矢部希見子
小西良子	山崎寛治
渋谷 淳	渡辺麻衣子

要約

二枚貝中のオカダ酸（以下「OA」という。）群について、FAO/IOC/WHO、EFSA等の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。評価に用いた試験成績は、ヒトにおける下痢性貝中毒（以下「DSP」という。）の疫学的知見、急性毒性試験、亜急性毒性試験、遺伝毒性試験等である。

OA 群は、有毒プランクトンを捕食して毒化した二枚貝に検出される貝毒であり、OA 群を含む貝をヒトが摂取することにより DSP を発症した事例が 1970 年代から報告されている。ヒトへの下痢原性が認められている OA 群には OA 及びその誘導体であるジノフィシストキシン（以下「DTX」という。）群である DTX1、DTX2 及び DTX3 が含まれ、これらを本評価の対象とした。

日本、ヨーロッパ、北米等の各国で多くの DSP 事例が報告されているが、原因貝毒の種類、発症者の貝喫食量、摂取した貝毒量等の疫学データが報告されている事例は限られている。その中で、2009 年にフランスで発生した DSP 事例については、疫学調査対象となった発症者の貝喫食量及び体重が報告されており、この事例の疫学データから、LOAEL は 0.8 µg OA 当量/kg 体重と推計された。

げっ歯類を用いた OA 群の急性毒性試験により、下痢を含む消化管障害及び肝臓への影響が認められた。投与経路により毒性の程度が異なり、経口投与では腹腔内投与と比較して毒性の程度が低いことが示されている。長期の慢性毒性試験・発がん性試験のデータはないが、げっ歯類を用いた二段階発がん試験において、OA 及び DTX1 には発がんプロモーション作用があることが示されている。遺伝毒性試験において、染色体異常試験等、一部の試験で陽性の結果が得られているが、OA を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）、前進突然変異試験（HPRT 試験）及び *in vitro* 不定期 DNA 合成試験の結果が陰性であったことから、OA は遺伝毒性発がん物質ではないと判断した。

OA 群については、慢性毒性試験のデータがないこと、二枚貝が捕食する有毒プランクトンの発生及び密度には季節性があり、年間を通じて二枚貝に貝毒が蓄積されるわけではないこと、及びヒトに認められている健康影響は急性毒性であり、貝毒が蓄積した二枚貝をヒトが毎日喫食する可能性は低いことから、TDI は設定せず、ヒトにおける疫学的知見を基に急性参照用量（ARfD）を設定することとした。

先に述べたフランスの事例より、本専門調査会では、OA 群の LOAEL を 0.8 µg OA 当量/kg 体重とした。この値が LOAEL であること、様々な国及び幅広い年齢の男女を含む事例のデータに基づくこと、及びヒトにおける症状は下痢を主とする消化器症

状であって、数日で回復することから、不確実係数 3 を適用した。この結果、OA 群の ARfD を 0.3 μg OA 当量/kg 体重と設定した。

I 背景

1. 経緯

オカダ酸（以下「OA」という。）群は、有毒プランクトンを捕食して毒化した二枚貝に検出される貝毒であり、OA 群を含む貝をヒトが摂取することにより下痢を起こした事例（下痢性貝中毒（Diarrhoeic Shellfish Poisoning：以下「DSP」という。））が 1970 年代から報告されている。

貝毒の検出には、マウス毒性試験（Mouse Bioassay：以下「MBA」という。）が広く用いられてきた。MBA は、OA 群の他にペクテノトキシン（以下「PTX」という。）群及びイエソトキシン（以下「YTX」という。）群の検出も可能な方法であるが、OA 群、PTX 群及び YTX 群の各毒群を区別して測定できるものではない。また、MBA では、遊離脂肪酸等の貝成分も検出されてしまうため、偽陽性となる可能性もある。このように検出感度及び測定精度の低さ、結果のばらつき等を理由に、国際的には MBA よりも高精度かつ高感度な液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）法等の機器分析法の導入・検討が進められている。米国では機器分析法が導入されており（参照 1, 2）、EU でも 2015 年に機器分析法への完全移行が予定されている（参照 3）。また、コーデックス委員会（CAC）においては、各毒群の毒性の違いを踏まえ、2008 年に OA 群の基準値が設定され、諸外国でも毒群ごとに基準値を設定している。

現在、日本においては、マウスを用いた下痢性貝毒の検査法（以下「MBA 通知法」という。）に基づいて 1980 年 7 月より下痢性貝毒の規制が行われており、1995 年以降、市販されている貝類による DSP は報告されていない。しかしながら、一般の国際動向を踏まえて、厚生労働省では 2013 年 8 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会において、日本における機器分析法への移行の必要性及びそれに対応した基準値の設定について審議を行い、OA 群についてコーデックス基準の導入を検討することとされた。これを受けて、食品安全委員会は、厚生労働省から、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、二枚貝中の下痢性貝毒に係る基準を設定することについて意見を求められた。

2. リスク管理措置等の概要

（1）日本の規制状況

日本の現行の下痢性貝毒規制状況としては、1980 年 7 月の厚生省通知に基づき、MBA 通知法による下痢性貝毒の検査法及び規制値（食品 1 g 当たり 0.05 MU（マウスユニット：1 MU は、体重 16～20 g のマウスに腹腔内投与後、マウスが 24 時間で死亡する毒量とされている）（参照 4）が通知されている。規制値を超える貝類は、食品衛生法第 6 条第 2 号の規定に基づいて販売等が禁止されている。ただし、有毒部分の除去等の処理により、その可食部 1 g 当たりの毒量が規制値以下になることが明らかに認められるものであって、当該処理のため処理施設へ

搬送されるものについては、取り扱って差し支えないこととされている。また、農林水産省の通知等により、都道府県等において原因プランクトンや貝類中の毒量のモニタリングが行われており、規制値を超えた場合には生産者による出荷の自主規制が実施されている。このような状況下において、1995 年以降、市販されている貝類による DSP 事例は報告されていない。

表 1 日本における現行規制

貝毒	規制値	検査法
下痢性貝毒	0.05 MU /g	MBA 通知法

(2) 諸外国等の規制状況

コーデックス及び諸外国における貝可食部当たりの基準値は以下の表 2 から表 4 のとおりである。現行の MBA による食品衛生法違反の判断基準は、0.05 MU/g としており、この値は、マウスの腹腔内への調製液の投与により 24 時間以内に 3 匹中 2 匹が死亡することであり、FAO/IOC/WHO (2004)の評価においては、この場合、OA 群が 0.16 mg/kg を超えて存在していると推定されるとしている。(参照 5)

表 2 コーデックス委員会

	基準値
OA 群 (OA 及び DTX 群)	0.16 mg OA 当量/kg

(CODEX STAN 292-2008)

表 3 EU

	基準値
OA 群 (OA 及び DTX 群) 及び PTX 群 (PTX1、PTX2)	160 µg OA 当量/kg

(COMMISSION REGULATION (EC) No 853/2004, No 2074/2005)

表 4 米国

	基準値
OA 群 (OA、DTX 群、OA 及び DTX 群のエステル)	0.16 ppm OA 当量

(FDA Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance :Chapter 6 :Natural Toxins. 2011/10/19)

コーデックス委員会において、毒性等価係数 (Toxicity Equivalent Factor: TEF) については科学的知見の蓄積が必要であり、二枚貝の規格には含まれないこと

とし、FAO において新しい知見を適宜更新することとなっている。現在、OA=1.0、DTX1=1.0 及び DTX2=0.5 又は 0.6 と提案されている。(参照 6, 7)

EU において、TEF については、OA=1、DTX1=1 及び DTX2=0.6 と設定されている。DTX3 については、それぞれの非エステル化状態 (OA、DTX1 又は DTX2) と同等であるとされている。(参照 8)

(3) 検査法

①MBA 法

MBA 通知法は、厚生省環境衛生局乳肉衛生課長通知（昭和 56 年 5 月 19 日環乳第 37 号）に定められた検査法であり、それ以降本法を用いて下痢性貝毒の規制が行われてきた。本法は、体重 16~20 g の ddY 系又は ICR 系の雄マウスを 24 時間で死亡させる毒量を 1 MU と定義し、1 群 3 匹中 2 匹以上が 24 時間以内に死亡した最小投与量と最大希釈倍率を基に毒量が計算される手法である。貝毒の検査には、貝のアセトン抽出物を減圧濃縮後、水、エーテル分配によりエーテル層に分配された脂溶性物質を 1% Tween 60 生理食塩水に懸濁させた調製液が用いられる。貝からの調製液をマウスに腹腔内投与してマウスの死亡により貝毒を検出する本検査法では、OA 群のみならず、PTX 群及び YTX 群も検出できるが、各毒群を区別して検出する方法ではない(参照 4)。

MBA 法は EFSA の意見書(参照 8)において表 5 のような利点及び欠点が指摘されている。

表 5 MBA の利点と欠点

利点	・マウスに対する複数の毒性成分を一括で検出できる。 ・複雑な分析機器が不要である。 ・マウスの生死により判定するため、結果がわかりやすい。
欠点	・検査機関により結果にばらつきがある（使用する動物の系統、性別、週齢、体重、健康状態等により、結果にばらつきが大きい。） ・遊離脂肪酸等の干渉物質の存在により、偽陽性の結果が起り得る。 ・マウスへの投与量が 1 ml であれば、これはマウスへのストレスを最小限にすることを意図するガイドラインの値 (0.5 ml) を超えている。 ・腹腔内投与は消化管での加水分解を必要とする DTX3 のような OA 群関連貝毒の検出に適さない。 ・使用する溶媒（溶剤）の種類に結果が依存する。 ・特別な動物管理施設及び習熟した技術を要する。 ・定量的な測定ができない。 ・実験作業が自動化できない。 ・偽陰性の結果が起り得る。 ・検査法にマウスを用いることは、多くの国において倫理的な理由で許容できないと考えられている。

(参照 8)より引用、作成。

EU では、他国に先んじて 2011 年に脂溶性貝毒（OA 群、PTX 群、YTX 群及びアザスピロ酸群）を測定するための公定法としてマウスを使用しない代替法へ変更しており^{注1)}、国際的な動向に基づく、日本でも貝毒試験の機器分析への移行が今後必要になると考えられている(参照 9)。また、貝毒による被害を未然に防ぐためには、毒化した貝を早期に発見することが必要である。MBA は、貝の検査に時間がかかり、短時間かつ高感度で下痢性貝毒である OA 及び DTX 群化合物を測定する方法の開発が望まれていた(参照 10, 11)。

② 機器分析法

近年、液体クロマトグラフ(LC)と質量分析計 (MS) を連結させた LC-MS 法を用いた貝毒成分の微量分析技術が確立し、従来の高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法による貝毒成分分析に比べて微量なサンプル量でも定量的かつ高感度に分析できるようになった。日本国内の主要生産海域から二枚貝を数百検体収集し、LC-MS による貝毒の精密分析法と MBA で毒力を測定し比較した結果、LC-MS 法は MBA の代替検査法として実用可能であるだけでなく、YTX 群や PTX 群を多く含む試料の検査法として、MBA よりも検出感度と精度の観点から優れていることが明らかになっている(参照 12, 13)。

LC-MS 法については EFSA の意見書において、表 6 のような利点及び欠点がある。あげられている。

表 6 LC-MS 法の利点と欠点

利点	・ 特異性及び検出感度が高い。 ・ DTX3 のように、加水分解を必要とする OA 群の測定が可能。 ・ 個々の貝毒についてスクリーニング及び測定が可能。 ・ 作業の自動化が可能。
欠点	・ 高価な分析機器と高度な技術が必要。 ・ 貝毒成分の同定、定量には貝毒標準品が必要。

(参照 8)より作成。

注1) COMMISSION REGULATION (EU) No 15/2011 of 10 January 2011 amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards recognized testing methods for detecting marine biotoxins in live bivalve molluscs

3. 国際機関等の評価

(1) FAO/IOC/WHO

国際連合食糧農業機関 (FAO)、ユネスコ政府間海洋学委員会 (IOC) 及び世界保健機関 (WHO) は、コーデックス魚類・水産製品部会からの科学的助言の要請に応えるため、2004 年に二枚貝における生物毒に係る合同専門家会合を開催した。専門家会合の勧告の大部分は、活二枚貝及び生鮮二枚貝に係るコーデックス基準における汚染物質の項の起草に反映され(参照 5)、同基準は 2008 年開催のコーデックス委員会 (CAC) で採択された(参照 14)。FAO/IOC/WHO における評価対象の貝毒は、化学構造に基づいて 8 つのグループに分類され、リスク評価は、個々の毒群に対し、ハザードの同定 (hazard identification)、ハザードの特性 (hazard characterization)、暴露評価 (exposure assessment) 及びリスク特性 (risk characterization) について段階を踏んで実施された。毒化した貝を摂取する場合、貝を喫食する頻度が少なくても、一度に一定量以上の貝毒を含む貝を摂取することがあれば、貝毒によるヒトの健康影響が起こり得るものである。また、貝毒による毒性データのほとんどが、急性毒性又は短期間の研究であることから、FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議 (JMPR) の基準に基づいた急性参照用量 (Acute Reference Dose : ARfD) ^{注2)}を優先することとされた。関連する毒性データの不足により、耐容一日摂取量 (Tolerable Daily Intake (TDI)) を設定することはできなかった。短期の摂取による暴露評価については、1 日当たり又は 1 食当たりの貝毒の摂取により評価すべきであるとされた。なお、貝の汚染は季節的な変動が大きいため、喫食頻度及び喫食者数については、1 年間のデータを収集して決定すべきであるとされた(参照 5)。

OA 群についての評価では、貝の摂取によりヒトに下痢を起こす用量よりも多い用量を動物に暴露した場合、二段階発がん試験により OA 及び DTX1 には発がんプロモーション作用が認められたが、ヒトへの発がんリスクは考えられないと結論された。(参照 5)

ヒトの発症事例に基づいて最小毒性量 (Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL)) を 1.0 µg OA/kg 体重とし、40 人以上のヒトの事例を含み、症状が可逆的であることより不確実係数を 3 とし、暫定的な ARfD を 0.33 µg OA 当量/kg 体重と設定した。(参照 5)

^{注2)} 食品や飲料水を介して特定の農薬など化学物質のヒトへの急性影響を考慮するために設定されている。ARfD は、ヒトの 24 時間又はそれより短時間の経口摂取により健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの摂取量であらわされる。 (「食品の安全性に関する用語集」 第 4 版 食品安全委員会 2008 年より)

FAO/IOC/WHO では、成人における貝 1 食当たりの一般的な喫食量として、100 g、データが得られたほとんどの国における喫食量の 97.5 パーセンタイルである 250 g 及びデータが得られた国の中で喫食量の 97.5 パーセンタイルの最大量であった 380 g に基づいて許容値案が推計された。その結果、成人の体重を 60 kg と仮定すると、それぞれの喫食量における OA 群の許容値は、0.2、0.08 及び 0.05 mg OA 当量/kg 可食部と推計された。(参照 5, 10)

なお、FAO/IOC/WHO の評価では、PTX 群に関連したヒトの有害影響を示すデータはないとしている。カナダ及びノルウェーの報告によると、PTX 群のヒトにおける急性の摂取量として、それぞれ 0.61 µg/kg 体重及び 1.63 µg/kg 体重との試算もあるとされ、これらの試算結果は、マウス経口投与による LD₅₀ の値より、およそ 8,000～3,000 倍低い値となるということについても考慮された。しかし、PTX 群についてのデータは十分ではなかったとして TDI 及び ARfD は設定されなかった。

また、FAO/IOC/WHO の評価では、YTX 群によるヒトの中毒事例はないとしている。さらに、YTX 群による慢性毒性データが充分ではないため TDI は設定せず、マウス経口投与試験の無毒性量 (NOAEL) であった 5 mg YTX /kg 体重に、不確実係数 100 を適用し、ARfD を 50 µg YTX 当量/kg 体重とした(参照 5, 10)。

(2) 欧州食品安全機関 (EFSA)

EFSA においては、動物又はヒトにおける OA の毒性データは限られているため、TDI は設定できなかったとされ、OA 群による急性毒性を考慮し、入手可能なヒトのデータに基づいて ARfD が設定された。様々なヒトの症例報告における推定暴露量の不確実性が考慮され、ヒトの LOAEL を成人で約 50 µg OA 当量/ヒト、即ち体重 60 kg として 0.8 µg OA 当量/kg 体重と推計した。LOAEL から、NOAEL の推定に不確実係数として 3 が適用された。これは、様々な国における比較的大人数から得られたデータであり、感受性の高い摂取者が対象となっていると考えられることより、不確実係数への追加は必要ないとされた。この結果、ARfD は 0.3 µg OA 当量/kg 体重と推計された。

発がん性については、OA 及び DTX1 は、発がんプロモーション作用を示すが、DNA への直接的な作用を有する遺伝毒性発がん物質ではないと考えられた。OA が染色体異常を誘導し、*in vitro* では異数体形成を誘導することについては、OA の細胞障害性が関与している可能性も指摘された。

OA 群の急性毒性を予防するために、健康影響評価には二枚貝の摂取量として、一度に大量に摂取する場合の摂取量を採用することが重要であるとされた。5 つの加盟国が提出した二枚貝の喫食量に基づき、95 パーセンタイル値の 400 g を高喫食量として評価に用いることが適切であると考えられた。現行の EU 規制値である 160 µg OA 当量/kg 貝可食部の OA 群を含有する貝類を一食当たり 400 g 喫食すると 64 µg OA 当量/ヒトの貝毒に暴露されると推計され、体重 60 kg の成人の場合約 1 µg OA 当量/kg 体重に相当する。この値は ARfD の約 3 倍となり、LOAEL の値

とほぼ同等となることから、感受性の高い摂取者に影響が出る可能性があると考えられた。また、一回の喫食量と DSP 発症のデータから、現在 EU の市場で入手可能な貝類を摂取した場合、 $0.3 \mu\text{g}$ OA 当量/kg 体重の ARfD を超過する確率が 20%であることが示された。従って、体重 60 kg の成人が ARfD を超過しないためには、400 g の貝に含まれる貝毒は $18 \mu\text{g}$ 以下、つまり $45 \mu\text{g}$ OA 当量/kg 貝可食部以下である必要があると結論付けられた。

OA 群それぞれの毒性についての知見は限られており、ほとんどの研究が急性毒性に関するものであり、TEF はマウスの腹腔内投与での LD_{50} 値をもとに、OA=1、DTX1=1、DTX2=0.6 と設定された。DTX3 においては、それぞれの非エステル化毒群 (OA、DTX 1 及び DTX2) の TEF と同じであるとされた。(参照 8)

なお、PTX 群が OA 群の基準値に含まれていることについては、PTX 群は OA 群と共に生じる場合が多いが、OA 群の基準値に含むべきではないと言及している。経口投与後の PTX 群の全身吸収性は低く、報告された毒性は主に腸管毒性に限定されている。また、動物における PTX 群の慢性影響に関するデータがないため、TDI は設定されず、PTX 群の急性毒性を考慮し、ヒトにおける観察結果がないことから、入手可能な動物の急性毒性に関するデータに基づいて ARfD を $0.8 \mu\text{g}$ PTX2 当量/kg 体重と設定した(参照 15)。

YTX 群についても動物における YTX の慢性影響に関するデータがないことから、TDI は設定されず、YTX 群の急性毒性を考慮して、ヒトにおける観察結果がないことから、入手可能な動物の急性毒性に関するデータに基づいて ARfD を $25 \mu\text{g}$ YTX 当量/kg 体重と設定した(参照 16)。

II. 評価対象

有毒プランクトンを捕食するのは二枚貝であり、貝毒が蓄積した二枚貝を原因食品として、DSP 事例が報告されていることから、本評価書では厚生労働省からの諮問のとおり評価対象の食品を二枚貝とした。

日本における現行の下痢性貝毒の試験法は、公定法として MBA が採用（MBA 通知法）されている。この試験法で検出される貝毒は、OA 群、PTX 群及び YTX 群の 3 種類であるが、それぞれの毒群を区別して測定はできない。

OA 群に含まれる OA 及び DTX1～3 は、脂溶性であり、主に貝の中腸腺に蓄積して、喫食したヒトに下痢を引き起こす(参照 8, 10)。DTX4 及び DTX5 など OA ジオールエステル類については、*Dinophysis* 属プランクトンから検出された報告があり、また、人工培養した *Prorocentrum lima* より OA のエステル誘導体として DTX6 が単離されたとの報告もあるが、現在までに二枚貝からの検出例は報告されていない(参照 17, 18, 19, 20)。

PTX 群及び YTX 群は、ホタテガイに多く含まれる貝毒で、マウスに致死性を示すため MBA では検出されるが、下痢原性はみられず、ヒトの健康に対する影響を示唆する報告はない(参照 15, 16)。

以上のことから、本専門調査会における評価対象物質は、ヒトにおける下痢原性が報告されている OA 群（OA 及び DTX1～3）とする。PTX 群及び YTX 群については、ヒトの健康に対する影響を示唆するデータがないことから、評価の対象とはせず、現時点における毒性知見等を別にとりまとめた（別添参照）。

Ⅲ. 評価対象物質の概要

1. 名称、分子式、分子量、構造式

OA 及びその誘導体である DTX1、DTX2 及び DTX3 は OA 群と呼ばれ、構造上、OA と DTX2 ではメチル基の位置が 1 ヶ所異なるだけだが、DTX1 はメチル基が OA よりさらに 1 つ多い。また、DTX3 は OA、DTX1 及び DTX2 が飽和脂肪酸や不飽和脂肪酸でエステル化された多様な誘導体を総称するものである(参照 8, 10)。単離されている DTX3 は、DTX1 の 7 位水酸基に脂肪酸がエステル結合した構造を有し(参照 21)、結合脂肪酸は、炭素数 14~22 で、主な結合脂肪酸はパルミチン酸 (C16:0)、パルミトイン酸 (C16:1) 等である (参照 22)。

(1) OA

a 化学名

CAS (No.78111-17-8)

和名 : オカダ酸

英名 : Okadaic Acid

IUPAC 名称

9, 10-deepithio-9, 10-didehydroacanthifolicin

(R)-2-hydroxy-3-((*2S,5R,6R,8S*)-5-hydroxy-8-((*R,E*)-4-((*2R,4a'R,5R,6'S,8'R,8a'S*)-8'-hydroxy-6'-((*1S,3S*)-1-hydroxy-3-((*2S,3R,6S*)-3-methyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undecan-2-yl)butyl)-7'-methyleneoctahydro-3*H,3'H*-spiro[furan-2,2'-pyrano[3,2-*b*]pyran]-5-yl)but-3-en-2-yl)-10-methyl-1,7-dioxaspiro[5.5]undec-10-en-2-yl)-2-methylpropanoic acid

b 分子式 : C₄₄H₆₈O₁₃

c 分子量 : 805.015 ^{注3)}

d 構造式

OA 及び DTX1、2、3 の化学構造については、まとめて以下に示す。

^{注3)} 日本化学物質辞書 (http://nikkajweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.jsp) 2014 年 3 月

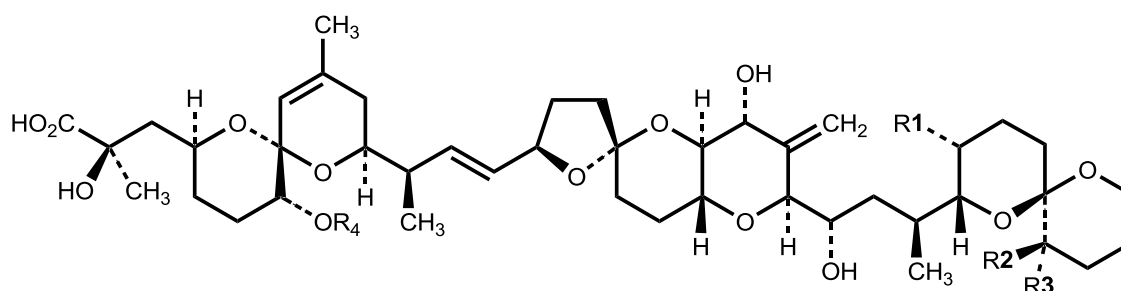


図 1 OA 及び DTX1、2、3 の化学構造

表 7 OA 群の化学構造式

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
OA	CH ₃	H	H	H
DTX1	CH ₃	CH ₃	H	H
DTX2	H	H	CH ₃	H
DTX3 (acylated forms of OA, DTX1 and DTX2)	H/ CH ₃	H/ CH ₃	H/ CH ₃	Fatty acid

化学構造式については The Merck Index より、化学構造については (参照 8, 23)より引用、作成。

(2) DTX1

a 化学名

CAS (No.81720-10-7)

和名：ジノフィシストキシン-1

英名：Dinophysistoxin-1

IUPAC 名称

(35*R*)-9, 10-deepithio-9,10-didehydro-35-methylacanthifolicin

b 分子式：C₄₅H₇₀O₁₃

c 分子量：819.042 ^{注 3)}

(3) DTX2

a 化学名

CAS (No.139933-46-3)

和名：ジノフィシストキシン-2

英名：Dinophysistoxin-2

IUPAC 名称

(35*R*)-9, 10-deepithio-9,10-didehydro-35-methyl-39-noracanthifolicin

b 分子式 : $C_{44}H_{68}O_{13}$

c 分子量 : 805.015 ^{注 3)}

(4) DTX3

a 化学名

CAS 該当なし。

和名 : ジノフィシストキシン-3

英名 : Dinophysistoxin-3

IUPAC 名称

(35*R*)- 9, 10-deepithio-9,10-didehydro-35-methylacanthifolicin 7-palmitate

(35*R*)-7-*O*-palmitoyl- 9, 10-deepithio-9,10-didehydro-35-methylacanthifolicin

(35*R*)-7-*O*-hexadecanoyl-9, 10-deepithio-9,10-didehydro-35-methylacanthifolicin

b 分子式 : $C_{61}H_{100}O_{14}$ ^{注 3)}

c 分子量 : 1,057.46 ^{注 3)}

2. 物理化学的性質

表 8 OA 群の物理化学的性質

物質名	OA	DTX1	DTX2	DTX3
形状	白色の固体	白色の無定形の固体	無色の固体	無色の固体
融点 (°C)	164-166°C	134°C	128-130°C	—
溶解性	OA 及びその類縁体は脂溶性化合物であり、メタノール、アセトン、クロロホルム、ジクロロメタンのような有機溶媒に高い溶解性を示す。それらの誘導体は異なる極性を持つため、それらの有機溶媒への溶解性は極めて多様である。			アシル誘導体 DTX3 は、OA、DTX1 又は DTX2 よりも極性が低い。

(参照 24, 25, 26, 27)及び The Merck Index (2001) より引用、作成。

3. 起源・産生生物等

OA 群を産生する生物は、*Dinophysis* 属及び *Prorocentrum* 属の渦鞭毛藻であり、それらを捕食した貝が毒化するとされている(参照 10)。ホタテガイでは中腸腺にほとんどの貝毒が蓄積し、イガイでは中腸腺、えらの順に貝毒が蓄積することが報告されている(参照 28)。二枚貝は、OA、DTX1 又は DTX2 を取りこんだ後、脂肪酸を付加して DTX3 に変換していると考えられている。(参照 29)

貝毒を産生する主な微細藻類等について表 9 に示した。日本では *Dinophysis fortii* (*D. fortii*) 及び *Dinophysis acuminata* (*D. acuminata*) が主要な有毒種であるが、欧州では *D. acuminata* 及び *Dinophysis acuta* (*D. acuta*) が原因種となることが多いとされている(参照 1, 10, 18, 21, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44)。

表 9 貝毒を産生する主な微細藻類

主な微細藻類	確認された主な 貝毒	貝毒の産生が確認された主な国	貝毒が検出された主 な貝
<i>Dinophysis fortii</i>	OA、DTX1、 DTX3、 PTX2	イタリア、中国、日本、オーストラリア、ブラジル	イガイ、ムラサキイガイ、ホタテガイ、アサリ、コタマガイ
<i>Dinophysis acuminata</i>	OA、DTX1、 DTX2、DTX3 PTX2	ヨーロッパ（ベルギー、ギリシア、デンマーク、フランス、ドイツ、アイルランド、イタリア、オランダ、ポルトガル、スペイン、英国、スコットランド）、米国、カナダ、韓国、日本、中国、オーストラリア、ニュージーランド、チリ、ブラジル、南アフリカ	イガイ、ホタテガイ
<i>Dinophysis acuta</i>	OA、DTX1、 DTX2 PTX2	アイルランド、スペイン、ポルトガル、スウェーデン、ノルウェー、ニュージーランド、米国、チリ、中国	イガイ、ミドリイガイ、ムラサキイガイ
<i>Dinophysis caudata</i>	OA、DTX1、 DTX2、 PTX2	アイルランド、イタリア、スペイン、フィリピン、シンガポール、中国、ウルグアイ、アルゼンチン、ブラジル	イガイ
<i>Dinophysis mitra</i>	DTX1	日本、ブラジル	ホタテガイ
<i>Dinophysis rotundata</i>	DTX1	イタリア、日本、中国、ブラジル	ホタテガイ
<i>Dinophysis tripos</i>	DTX1 PTX2	スペイン、イタリア、日本、ブラジル	ホタテガイ
<i>Dinophysis cf ovum</i>	OA	ブラジル	イガイ
<i>Dinophysis miles</i>	DTX1	フィリピン	ミドリイガイ
<i>Dinophysis sacculus</i>	OA、DTX1	クロアチア、イタリア、ポルトガル、スペイン、フランス	イガイ
<i>Dinophysis norvegica</i>	OA、DTX1	スウェーデン、ノルウェー、カナダ、米国、日本	イガイ、ホタテガイ

4. 発見の経緯

1961年にオランダでイガイ喫食後におう吐及び下痢を呈した事例(参照 26, 45)、1971年のオランダで100人に上るヒトが影響を受けた事例及び1976年にオランダでイガイを喫食した25人におう吐と腹痛等の消化器症状等がみられた事例(参照 46)が報告されていたが、それらの原因物質は同定されなかった。また、1968年のノルウェーにおけるイガイを喫食した事例(参照 45)、1970年のチリのフィヨルドの住民の事例については、大規模なジノフィシス属の発生との関連が示唆されていた(参照 26)が、それらの原因物質は同定されなかった。

1977年に宮城県で発生したムラサキイガイ喫食による中毒事例では、下痢症が、細菌汚染ではなく自然毒によることが明らかにされ(参照 28)、1982年にこの中毒の原因となった主要な貝毒としてDTX1が同定された(参照 25)。DTX1は、クロイ

ソカイメンから単離されて OA と呼ばれていた化合物(参照 47) の誘導体であり、その後、OA も二枚貝より検出された。

日本のホタテガイの主要貝毒である DTX3 はホタテガイより単離され、DTX1 の 7 位に脂肪酸がエステル結合した構造を有している。このうち唯一単離に成功したのはパルミチン酸エステルであった(参照 21)DTX2 は、アイルランドの DSP 事例において貝より分離同定され、*D. acuta* から単離されている(参照 10)。

IV. 安全性に係る知見の概要

1. DSP の疫学的知見

DSP 事例は日本を含む世界各国で報告されている。DSP は、急性の消化器障害をおこし、主な症状は、下痢、腹痛、おう吐、吐き気、頭痛及び悪寒である。貝毒を含んだ食品を喫食後、30 分から 4 時間のうちに発症し、ほとんどが 72 時間のうちに回復する。激しい下痢がこの中毒の主な症状として挙げられるが、症状は一過性で、死に至った報告はない。(参照 1, 8, 10)

(1) 貝毒摂取量と DSP の関係が調べられている主な知見

DSP 事例の報告は多いが、ヒトが摂取した貝の貝毒含有量及び貝摂取量、DSP を呈したヒトの貝毒暴露量推計等が報告されている疫学的知見は限られている。貝毒摂取量と DSP の関係について、喫食量、貝毒摂取量推計等の詳細が報告されている事例を表 10 にまとめた。

表 10 貝毒摂取量との関係が調べられている主な DSP 事例

DSP 発 生国、発 生年	貝 毒 の 種 類	喫食された 貝の種類*	(a)喫食人 数 (b)発症者 数 (c)疫学調 査の対象 となった 人の詳細	(d)貝毒の測 定に用いら れた試料 (e)方法	報告された OA 群の濃度	推計された貝の 喫食量等	貝毒の推定摂取量
①日本 (宮城県 等) 1976 年及び 1977 年 6 月～7 月	DTX1	Mussels (<i>Mytilus edulis</i>)、 Scallops (<i>Patinopect en yessoensis</i> 及 び <i>Chlamys nipponensis akazara</i>)	(a)記載なし (b)164 名 (c)10～68 歳の男女、 計 8 名	(d)2 件 の DSP の原因 となった貝 3 ロット (e)MBA	中腸腺 1 g 当たり 5.0 MU ～ 8.5 MU	3～10 個 (8 名) 喫食された貝の 中腸腺平均重量 は貝 1 個あたり 約 0.8 g であっ た。	軽い症状: 3 個の貝を摂取 し、一人 12 MU の貝毒を 摂取したと推計された。 重い症状: 5～10 個の貝 を摂取し、それぞれ一人 19～70 MU の貝毒を摂取 したと推計された。
②日 本 (北 海 道) 1982 年 6 月 20 日 ～22 日	不明	イ ガ イ (<i>Mytilus coruscum</i>)、 コタマガイ (<i>Gomphina (Maeridiscu s melanaegis)</i>) ホタテガイ (<i>Pecten (Patinopect en yessoensis</i>)	(a)35 名 (b)21 名 (c)2～38 歳 の男女、計 6 名、うち 1 名は無症 状。	(d)家庭に残 存したゆで たイガイ(<i>M. coruscum</i>) (e)MBA 通知 法	記載なし。	5～20 個 (6 名) イ ガ イ (<i>M. coruscum</i>) の中腸腺平均 重量は貝 1 個 当たり約 3.8 g であった。	推定 8.6 MU 摂取した 37 歳女性は発症し、推定 5.4 ～6.5 MU 喫食した 10 歳 女兒は無症状であった。

DSP 発 生国、発 生年	貝 毒 の 種 類	喫食された 貝の種類*	(a)喫食人 数 (b)発症者 数 (c)疫学調 査の対 象 となった 人の詳細	(d)貝毒の測 定に用いら れた試料 (e)方法	報告された OA 群の濃度	推計された貝の 喫食量等	貝毒の推定摂取量
③ 日 本 (岐 阜 県) 1982 年 7 月 7 日 ～12 日	DTX3	ホタテガイ	(a)48 名 (b)16 家族 又はグル ープ 44 名 (c)20 名	(d)中毒の原 因となった 貝を 3 業者 から回収 (3 ロット)。 (e)MBA 通知 法	中腸腺 1 g 当たり 7.0 MU ～ 13.5 MU。 中腸腺重量 は 1.19 g～ 1.36 g。 むき身換算 毒量は 0.8 MU/g ～ 1.6 MU/g。	1～9 個 (6 名)	推定 18 MU 摂取した 6 歳 男児が最も少ない喫食量 で発症した。
④ノルウ ェー、 2001 年 (不詳)	OA 群	mussels	(a)77 名 (b)39 名 (c)72 名	(d)残った貝 (e) 蛍 光 HPLC	貝の可食部 100 g 当たり OA 当量とし て 55-56 µg	ノルウェーにお ける平均的な blue mussels 摂 取量	推計 1～1.5 µg OA 当量 /kg 体重で発症した。
⑤ポルト ガル、 2001 年 7 月 1 日	DTX3	Razor clams (<i>Solen marginatus</i>)	(a)6 名 (b)5 名 (c)9～61 歳 の 6 名	(d)翌日 (7 月 2 日) に原因 となった貝 の採取場所 で採取した 貝。 (e)LC-MS	加水分解後 に OA 当量 として 50 µg/100 g 可 食部。	「多い」ヒトは 貝可食部を 350 g、 「少ない」ヒト は貝可食部を 150 g、 「わずかな」ヒ トは貝可食部を 50 g 喫食したと 仮定。	「多い」: OA 当量として 一人 175 µg 「少ない」: OA 当量とし て一人 75 µg 「わずかな」: OA 当量とし て 25 µg 摂取したと推 計された。
⑥英国、 2006 年 6 月 1 日	DTX3	mussels	(a)記 載 な し (b)159 名 (c)記 載 な し	(d)レストラ ンに出荷さ れていた 3 試料 (3 ロッ ト)。 (e)LC-MS	可食部 100 g 当 たり 、 30.2 、 26.5 及び 25.8 µg OA 当量。可 食部重量の 割合は 28～ 30% (貝販売 業者より)	殻 つ き の 貝 500 g 又は 1 kg がレストラン で提供されて いた一人分。	貝可食部の割合を 29%、 OA/DTX 含有割合を平均 27.5 µg/100 g 可食部と すると、OA 当量として約 40 µg 以上摂取したと推 計された。
⑦フラン ス、2009 年 6 月 3 ～9 日	OA DTX3	mussels	(a)11 件の DSP 中毒 (少なく とも 49 名) (b)18 名 (c)11 歳～ 65 歳の男 女 13 名	(d)レストラ ンに残って いた 10 kg の貝。 (e)MBA 及び LC-MS/MS	OA 換算して 1,261 µg/kg 可食部。10 kg の貝の可 食部は 2.4 kg であつ た。	殻つきの貝一食 分が約 150～ 900 g であり、 貝可食部はそ の 24%として、36 ～216 g と推計 された。	約 150 g の殻つき貝 (貝 可食部約 36 g) を喫食し た 2 名は OA 当量として 約 45 µg 摂取したと推計 された。体重は 38 kg 及 び 58 kg であったことよ り、それぞれ OA 当量と して 1.2 及び 0.8 µg/kg 体重の貝毒を摂取したと 推計された。

DSP 発 生国、発 生年	貝 毒 の 種 類	喫食された 貝の種類*	(a)喫食人 数 (b)発症者 数 (c)疫学調 査の対 象 となった 人の詳細	(d)貝毒の測 定に用いら れた試料 (e)方法	報告された OA 群の濃度	推計された貝の 喫食量等	貝毒の推定摂取量
⑧ポルト ガル、 2001 年 7 月 13 日	DTX3	Green crabs (<i>Carcinus maenas</i>) *	(a)記載な し (b)1 名 (c)1 名	(d)残ったゆ でた Green crabs (<i>C. maenas</i>) は 冷凍され、8 月 29 日に分 析された。 (e)LC-MS	Green crabs (<i>C. maenas</i>) の 可 食 部 100 g 当たり OA 当量とし て 32.2 µg。	—	Green crabs (<i>C. maenas</i>) の 可 食 部 を 約 140 g、OA 当量として約 45 µg 摂取したと推計さ れた。

*貝の名称は、参照とした文献に記載されていた名称に準じて記載した。

①宮城県等（1976～1977 年）

1976～1977 年に日本の東北地方三陸産ムラサキイガイ（mussels (*Mytilus edulis*))^{注4)}及び 2 種のホタテガイ（scallops (*Patinopecten yessoensis* 及び *Chlamys nipponensis akazara*)) を原因とした急性に下痢を起こす中毒事例が、DSP の最初の疫学的報告である(参照 28)。1976 年及び 1977 年の 6 月下旬に岩手県、宮城県、神奈川県及び東京都で、三陸産ムラサキイガイ及びホタテガイの喫食による食中毒が多発し、約 800 人の患者が報告された(参照 25)。中毒患者 164 名の主な症状とその発症率は、下痢（92%）、吐き気（80%）、おう吐（79%）及び腹痛（53%）であった。発症は喫食 30 分後から数時間後に始まり、3 日後には回復した。1977 年 6 月 30 日及び 7 月 1 日に宮城県で計 25 名の患者が報告された 2 件の DSP 事例について、食中毒の原因となったムラサキイガイ 3 ロットを用いてヒトの中毒症状と MBA の結果の関係が調べられた。貝を 5～10 個喫食した 6 名に、下痢、腹痛等の胃腸疾患がみられた。貝を 3 個食べた 2 名は、軽症で、一人は、喫食 3 時間後に吐き気及び弱い下痢がみられ、もう一人は、おう吐のみの症状であった。貝から抽出した貝毒をマウスに腹腔内投与し、投与 48 時間後にマウスを観察する毒性試験が実施された。この MBA の結果は、中腸腺 1 g 当たり 5.0 MU であった。貝の中腸腺平均重量は一個当たり 0.8 g であったことより、貝毒を 12 MU 摂取すると人に軽い症状を起こすと考えられた(参照 28)。その後、この中毒事例の原因とな

^{注4)} この事例の原因食品として原著に記載されている mussels (*Mytilus edulis*) については、後に公表された著者らによる日本語の文献において、和名としてムラサキイガイ（通称ムール貝）として記載されている。（参考：村田道雄、安元健「下痢性貝毒の構造解析と微量分析」油化学 第 38 巻、第 10 号、1989 年）

ったムラサキイガイの中腸腺に含まれていたのは、主に渦鞭毛藻類の *D. fortii* が産生した DTX1 であることが明らかとなった。この症例では、患者それぞれの貝喫食量と症状が明らかであったことより、摂取した推計貝毒量とともに表 11 に示した(参照 25, 48)。

表 11 ヒトの症状と摂取した貝毒との関係

患者(年齢、性別)	喫食した貝の数(個)	貝毒の強さ (MU) *		症状の強さ
		中腸腺 1 g 当たり	摂取した 合計**	
40、女性	3	5.0	12	軽い。(喫食 3 時間後に吐き気及び弱い下痢。)
15、男性	3	5.0	12	軽い。(おう吐。下痢はなし。)
45、男性	5	5.0	20	強い
10、男性	5	5.0	20	強い
56、男性	10	5.0	40	強い
52、女性	5	8.5	35	強い
53、男性	10	8.5	70	強い
68、男性	6	4.0	19	強い

*1 MU : マウスに貝抽出物を腹腔内投与後、48 時間内に死亡した最小投与量。

**貝一個当たりの中腸腺の平均重量約 0.8 g としてそれぞれの患者の摂取量を算出。
(参照 28)より作成

②北海道 (1982 年)

1982 年 6 月 20 日～22 日に北海道日本海側の浜益村で採取した貝を喫食した 35 名中 21 名に、食後 1 時間 30 分から 19 時間のうちに下痢、腹痛、おう吐、吐き気、頭痛、眠気等の症状がみられた。原因と考えられる貝の種類はイガイ (*Mytilus coruscum*)、コタマガイ (*Gomphina (Maeridiscus) melanaegis*) 又はホタテガイ (*Pecten (Patinopecten yessoensis)*) であった。ゆでたイガイを喫食した 2 歳～38 歳の男女 6 名 (1 家庭) のうち 5 名が発症した事例では、原因と推定されるゆでたイガイの残品が入手でき、イガイを喫食したヒトの貝毒摂取量が推計された。発症した 37 歳女性はイガイを 8 個喫食し、推定貝毒摂取量は MBA 通知法の結果、8.6 MU であった。無症状の 10 歳女兒は 5～6 個のイガイを喫食し、推定貝毒摂取量は 5.4～6.5 MU であった。(参照 49)

③岐阜県 (1982 年)

1982 年 7 月 7 日、岐阜県で、青森県陸奥湾産のホタテガイを喫食した 44 名の DSP 事例が報告されている。下痢 (100%)、おう吐・腹痛 (ほぼ 50%) が主な症状で、発熱はみられなかった。原因と考えられた中腸腺付むき身ホタテガイが小売

店から回収された。このホタテガイ及び患者の便を用いた微生物検査では、食中毒の原因となる菌は検出されなかった。小売店から回収されたホタテガイを試料とした MBA 通知法による分析の結果、貝毒の毒量は、むき身 1 g 当たり 0.8~1.6 MU であった。聞き取り調査により詳細が明らかとなった 6 歳から 73 歳の男女 20 名の患者の喫食量は一人当たり 80~180 g で、最も少ない人の推定貝毒摂取量は 18 MU であった。このホタテガイの貝毒をケイ酸カラムクロマトグラフィーにより分離し、ゲル濾過した結果、全体の約 90%が DTX3 であると推定された。(参照 50)

④ノルウェー（2001 年（不詳））

ノルウェーで、イガイ（mussel）養殖場のオープニングセレモニーに参加した 77 名にムラサキイガイ（blue mussels）を含むメニューが提供され、喫食したヒトに DSP が発生した。翌日、参加者のうち 72 名について調査され、39 名が吐き気、おう吐、胃痛、下痢及び頭痛を訴えたことが報告された。残っていたイガイを加水分解せずに HPLC により解析した結果、貝の可食部 100 g 当たり OA 当量として 55~65 µg の貝毒が検出された。一人あたりの摂取量は不明であったが、ノルウェー人の平均的なムラサキイガイ摂取量に基づき、OA 換算すると 1~1.5 µg/kg 体重の貝毒を摂取したと推計された。(参照 51)

⑤ポルトガル（2001 年）

2001 年 7 月にポルトガルで DTX3 が原因と考えられる DSP 事例が発生した。Razor clams（マテガイ類の一種。*Solen marginatus*）を 2 kg 及びその他の貝を採取し、採取した貝を喫食した 5 名の症状は、貝の喫食量に依存していた。重症者は回復に 3 日を要した。残った貝はなかったため、DSP 発生直後に、DSP の原因となった貝と同じ場所で採取した貝を試料として LC-MS で分析した結果、OA 濃度は可食部 100 g 当たり 1 µg であったが、試料をアルカリ加水分解後に分析すると OA 濃度は可食部 100 g 当たり 50 µg であった。殻つき貝の可食部の割合を 60%とすると、採取した 2 kg の貝の可食部は 1.2 kg であり、「多い」、「少ない」又は「わずか」に喫食したヒトの貝喫食量は、それぞれ 350 g、150 g 又は 50 g になると著者らは推測した。この喫食量を基に、OA としての一人当たり摂取量を推計すると、それぞれ 175、75 又は 25 µg となった。(参照 51, 52)

⑥英国（2006 年）

2006 年 6 月、ロンドンのチェーンレストランでイガイ（mussels）を喫食した 159 名が DSP を発症した。ほとんどのヒトは、喫食後 2~12 時間以内に発症した。あるレストランでは、イガイが 6 月 17、18、19、20 及び 21 日にそれぞれ 407、242、265、239 及び 297 人分注文され、DSP を発症した人数（発症率：%）はそれぞれ 16 名（4%）、25 名（10%）、2 名（1%）、4 名（2%）及び 25 名（8%）であった。レストランに出荷されたイガイは、6 月 14、15 及び 19 日に採取されたもの

で、MBAの結果、6月14日に採取されたイガイは陰性であり、6月15日及び19日に採取されたイガイは陽性であったが、EU規制値である可食部試料100g当たり16µg OA当量より低いと判断された。一方、LC-MSによる分析では、これら3試料からOA及びOAエステル(DTX3)が検出され、うち1試料からはDTX1及びDTX1エステル(DTX3)も検出された。試料をアルカリ加水分解することにより、DTX3はOAとして、DTX1エステルはDTX1として測定し、3試料におけるOA及びDTX合計量を算出すると、6月14、15及び19日に採取された試料100g当たり、それぞれ25.8、26.5及び30.2µgであった。発症したヒトの貝摂取量についての情報はなかったが、レストランで提供されていたのは殻つきの貝500g又は1kgが一人分であった。これら出荷した貝の全重量に対する可食部重量の割合は28~30%であった。貝可食部の割合を29%、OA又はDTXの含有割合を平均27.5µg/100g可食部と仮定すると、500gの殻つき貝を喫食したヒトは145gの貝を食べたこととなり、OA等量として約40µgの貝毒を摂取したと推計された。同様に1kgの殻つき貝を喫食したヒトは、OA等量として約80µgの貝毒を摂取したと推計された。レストランで提供された貝に含まれていたPTXがこの中毒の発症に影響を及ぼしていたか否かは不明であった。(参照 51)

⑦フランス(2009年)

2009年6月3日から6月9日の間にフランスで11歳~65歳の45人を含む11件のDSPが報告された。原因となった貝は、ビレーヌ湾で採取されていた。症状は主に下痢、腹痛、吐き気及びおう吐であった。発症したほとんどのヒトが貝を喫食して、3~15時間後に症状がみられ、1日~4日後に回復した。2009年の5月中旬から*Dinophysis*属が検出されていたが、5月25日にサンプリングされた貝についてはMBAの結果は陰性であった。一方、6月1日にサンプリングされた貝については陽性であった。報告された11件中のうち3件のDSPの原因となったイガイ(mussels)は6月1日に採取されたものであった。6月1日には210kgのイガイが採取され、レストラン、市場等に流通していた。このうち10kgのイガイがレストランから回収されて解析された。10kgのイガイの可食部は2.4kg(殻つき貝重量に対する可食部の割合:24%)であった。この可食部を用いたMBAの結果は陽性であり、マウスは投与47、49及び56分後に死亡した。LC-MS/MSによる解析の結果、可食部1kg当たりOAが681µg、DTX3が580µg検出され、DTX3の加水分解物はすべてOAであった。従って、イガイの可食部1kg当たりとしてOA換算すると1,261µgの貝毒が含まれていたと考えられた。患者11名について、それぞれの体重、貝喫食量、中毒症状等の詳細が明らかであったことより、表12に示した。このデータを基に、以下のように推計された。レストランで提供されたのは殻つきの貝一人分が約150~900gであり、貝可食部は殻つき貝の24%として、36~216gと推計された。最も少ない摂取量で発症したのは約150gの殻つき貝を喫食して喫食後約6~7時間で発症した2名であった。この二人はイガイ可食部36g、

OA として約 45 µg 摂取したと考えられた。二人の体重は 38 kg 及び 58 kg であったことより、それぞれ 1.2 及び 0.8 µg OA 当量/kg 体重の貝毒を摂取したと推計された。従って、最も感受性の高いヒトは 0.8 µg OA 当量/kg 体重の貝毒を摂取すると発症すると考えられた。この値より、平均体重を 60 kg とすると、LOAEL は OA に換算して一人当たり約 50 µg と推計された。(参照 53)

表 12 フランスで 2009 年 6 月に発生した DSP 事例の詳細

発生事例	摂取日	発症人数/摂取人数 (年齢)	体重 (kg)	喫食した殻つき貝の重量 (g)	症状	摂取後発症までの期間/回復に要した期間
1	6 月 1 日	3/3 (32、35、55)	59	400	腹痛、下痢	15 時間/1 日
			64	400	腹痛、下痢	12 時間/3 日間
			70	400	腹痛、下痢	12 時間/3 日間
2	6 月 1 日	7/7 (11、17、18、39、40、63、65)	90	400	吐き気、おう吐、腹痛、下痢	6 時間/3 日間
			58	600-700	吐き気、おう吐、腹痛、下痢	6 時間/3 日間
			67	約 900	吐き気、おう吐、腹痛、下痢	6 時間/4 日間
			58	約 150	吐き気、おう吐、腹痛、下痢	6~7 時間/2 日間
			48	約 400	腹痛、下痢	6~10 時間/不明
			61	約 900	吐き気、おう吐、腹痛、下痢、発熱	6~7 時間/3 日間
			38	約 150	吐き気、腹痛、下痢	6~7 時間/不明
3	6 月 2 日	3 家族中少なくとも 8 名	58	約 900	吐き気、腹痛、下痢	3 時間/1 日

(参照 53)より作成。

⑧ポルトガル (2001 年)

ヨーロッパミドリガニ (Green Crabs (*Carcinus maenas*)) を喫食したことによる DSP 事例が報告されている。2001 年 7 月にポルトガル北西部で、貝の喫食による DSP 事例が報告されていたが(参照 52)、同地方で 7 月 13 日にヨーロッパミドリガニを採取して喫食したヒトが、喫食 2~3 時間後に DSP の症状を呈し、回復するのに 3 日以上かかった。喫食した残りのヨーロッパミドリガニは冷凍保存され、1.5 か月後に LC-MS により分析された。可食部 100 g 当たり OA が 1.3 µg であっ

たが、アルカリ加水分解された試料より、可食部 100 g 当たり 32.2 μg OA 当量の貝毒が検出された。ヨーロッパミドリガニから OA 群が検出されたのは、ヨーロッパミドリガニが毒化された貝を摂取したためと著者らは考えた。ヨーロッパミドリガニ 30 個余りのほとんどを喫食したのが一人であったことより、ヨーロッパミドリガニの可食部を約 140 g として、約 45 μg OA 当量の貝毒が摂取されたと推計された。調理されたヨーロッパミドリガニから 0.4 $\mu\text{g/g}$ のドウモイ酸 (DA) が検出されたが、DA がこの DSP 事例に関与したとは考え難かった。(参照 51, 52)

(2) 各国におけるその他の主な知見

1978 年 7 月 7 日に大阪府で青森県産のホタテガイを喫食した 3 名 (2 家庭) に、食後 6~9 時間のうちに激しいおう吐及び下痢がみられた。発熱、腹痛及び頭痛の症状はみられなかった。ホタテガイ喫食量は一人当たり約 100 g と推定された。残っていたホタテガイを用いて MBA が実施された結果、中腸腺 1 g 当たりの貝毒は 8 MU であった。用いられた試料の中腸腺とホタテガイ重量比は 1 : 6.15 であったことより、ホタテガイ 1 g 当たりの貝毒量は 1.2 MU と推計された。患者の貝毒摂取量は一人当たり約 100 MU (1 MU を 4 μg と換算すると 400 μg) と推定された。(参照 54)

1984 年 10 月にスウェーデン及びノルウェーでイガイ (*mussels* (*Mytilus edulis*)) を喫食した後に胃腸疾患を症状とする中毒が報告された。ノルウェーではこの後 1985 年 4 月まで同様の中毒の発生がみられた。「中毒に関係したと考えられるイガイ」を用いた MBA が実施された結果、「軽度~重度な毒力」で、中腸腺 1 g 当たり 1.5~2 MU の試料があったことが報告されている。胃腸疾患がみられたヒトのイガイ喫食量は、30~200 g と報告され、摂取された貝毒の毒力は、10~15 MU (40~60 μg の OA に相当) と推計された。スウェーデンの事例の原因と考えられたイガイを分析した結果、イガイの毒力は 17 MU/100 g であり、OA として 68 μg 、DTX として 53 μg と報告されている。(参照 51, 55)

1998 年、ポルトガルで 18 名がフジノハナガイ (*Donax clams* (*Donax trunculus*)) を喫食した後に OA のエステル化合物である DTX3 が原因と考えられる DSP を発症したことが報告された。報告によると、症状の重さは、喫食した貝の量に依存し、少量の貝を食べたヒトは軽症であったが、500 g の貝を食べたヒトは重い症状であった。HPLC 分析の結果、OA 濃度は 10 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 可食部と低かった。しかし、試料をアルカリ加水分解して分析すると OA 濃度は可食部 100 g 当たり 130 μg となった。著者らは、殻つき貝に対する可食部の割合を 18~20% として、500 g の貝を喫食したヒトは、OA に換算して 117~130 μg の貝毒を摂取したと推計した。(参照 56)

2011 年 6 月に米国ワシントン州のセクイム湾で採取したイガイ (mussels) を喫食した家族に中毒症状がみられたことが報告されている。6 月 29 日に採取したイガイを家庭でゆでて喫食した 2 歳、5 歳及び 45 歳の 3 人に、喫食後それぞれ 4 時間、7 時間及び 14 時間で DSP の症状が認められた。症状は、おう吐、下痢、悪寒、筋肉痛及び発熱であり、おう吐及び下痢は、それぞれ 4 時間及び 52 時間続いた。いずれの患者も喫食後 96 時間で回復した。喫食量は一人当たり貝 8~15 個であり、貝を 4 個喫食した大人は発症しなかった。家に残っている貝はなかったが、この家族が貝を採取した場所は、2011 年のモニタリング地区であり、6 月 29 日前後の 11 検体のイガイの入手が可能であった。加水分解した検体を用いて LC-MS/MS により、遊離 OA、DTX1、DTX2、及びそれらのアシルエステル化合物を OA 換算した総 OA 量を測定した結果、11 検体中 9 検体から主に DTX1 が検出され、貝可食部 100 g 当たり OA として 37.6~160.3 μg であった。この値は FDA のガイダンス値を上回っていた。(参照 1)

2011 年 8 月 3 日にカナダのブリティッシュコロンビア州において、5 か所のレストランで調理されたイガイ (mussels) を喫食した 62 名が DSP を発症した。全員が 7 月 28 日から 8 月 6 日の間にイガイを喫食しており、下痢、吐き気、おう吐、腹痛、けいれんが共通にみられた。潜伏期間は 5~15 時間で、症状は 1~3 日間続いた。原因となった貝は、ジョージア海峡北部のイガイ採取場で 7 月 24 日及び 30 日に採取されたものと考えられた。6 月 21 日から 8 月 18 日の間に採取されたイガイ中の OA 群を分析した結果、検出された主な貝毒は DTX3 であり、7 月 19 日以降から 8 月 18 日の間に採取された 8 検体全てにおいて検出され、その濃度の範囲は 0.05~0.72 $\mu\text{g/g}$ であった。DTX1 は 7 月 5 日以降の 10 検体全てで検出され、その濃度の範囲は 0.08~0.23 $\mu\text{g/g}$ であった。OA は、11 検体中 10 検体で検出限界未満、DTX2 は全ての検体で検出限界未満であった。(参照 57)

2002 年にノルウェーで Brown crabs (イチョウガニ科のカニの一種。 *Cancer pagurus*) を採取して喫食した 200 人以上が DSP を発症した。発症するまでの時間は長かったが、報告された症状は DSP による中毒症状と似ていた。Brown crabs はノルウェーの南海岸に沿った複数の地域で採取されていた。原因となった Brown crabs は残っていなかったため、Brown crabs を採取した場所で新たに採取してゆでた Brown crabs から抽出した試料を用いて LC-MS 法で分析された。OA、DTX1 及び DTX2 はほとんど検出されなかったが、アルカリ加水分解後の試料から、OA として可食部 1 kg 当たり 1,000~1,500 μg の貝毒が検出された。貝毒は Brown crabs の中腸腺から検出され、カニ肉からは検出されなかった。LC-MS/MS 分析の結果、Brown crabs から分離された貝毒の 90%以上は OA エステルであった。発症

したヒトの摂取量についての詳細は報告されていなかったが、一人当たり OA に換算して 75~150 µg の DTX3 を摂取したヒトが発症したと考えられた。(参照 58, 59)

(3) まとめ

以上のように、世界各地で報告されている子供を含む男女千数百人の DSP 事例において、収集されたデータは限られており、貝毒摂取量の推定にあたり不確実性が伴う。しかし、2009 年にフランスで発生した DSP 事例では、DSP の原因となったイガイ (mussels) を用いて MBA 及び機器分析結果が報告されており、DSP を発症したヒトの推定喫食量及び喫食したヒトの体重が調べられていた。この事例に基づくと、最も少ない摂取量で発症した 2 名のうち 1 名は約 150 g の殻つき貝を喫食し、イガイ可食部 36 g、OA として約 45 µg 摂取したと推計された。このヒトの体重が 58 kg であったことより、最も感受性の高いヒトは OA 換算して 0.8 µg/kg 体重の貝毒を摂取すると発症すると考えられた。また、1976 年に発生した日本の事例より推計された LOAEL は 12 MU であり、OA に換算すると一人当たり約 48 µg と推計された。更に、(1) に挙げた事例より不確実性が高いものの、(2) に挙げた事例についても (1) と同程度の範囲の貝毒量で発症しているものと推定された。

2. 吸収、代謝、分布、排泄

マウス (Swiss、雌雄、一群 6 匹) にトリチウム標識した OA ($[^3\text{H}]\text{OA}$) を約 25 µg/kg 体重の用量で腹腔内投与すると、投与 1 時間後には胆嚢、血液、腸管及び腸管内容物に $[^3\text{H}]\text{OA}$ が検出された。腸管内容物の $[^3\text{H}]\text{OA}$ 量は、投与 3 時間後に減少したが 8 時間後には再び上昇した。コレステラミンの投与により $[^3\text{H}]\text{OA}$ の腸管組織及び腸管内容物における分布が変化したことから、OA は腸肝循環すると考えられた。(参照 60)

マウス (Swiss、雌雄不明、一群 6 匹) に 50 又は 90 µg/kg 体重の $[^3\text{H}]\text{OA}$ を胃内投与し、24 時間後にと殺して OA の分布が調べられた。50 µg/kg 体重の $[^3\text{H}]\text{OA}$ 投与群のマウスに下痢はみられず、投与の影響と考えられる一般所見は認められなかった。投与 24 時間後までに 11.6% が尿及び 6.6% が糞から排泄された。投与 24 時間後における、投与量に対する $[^3\text{H}]\text{OA}$ の割合は、腸内容物に 36.3%、皮膚に 8.3 %、糞に 6.6 %、血液に 4.3 %、筋肉に 3.0 %、腸管組織に 2.6%、さらに、肝臓及び胆嚢、胃、腎臓、脳、肺、脾臓、心臓ではいずれも 1% 以下であった。投与した $[^3\text{H}]\text{OA}$ は、調べたすべての組織に分布していたが、胃、腸管及びその内容物で約 45% を占めていた。90 µg/kg 体重投与群では、投与 8 時間後にはすべてのマウスに下痢がみられた。24 時間後までに死亡は認められなかった。90 µg/kg 体重投与群では 50 µg/kg 体重投与群投与量に比較して、 $[^3\text{H}]\text{OA}$ の組織分布が胃では有意に減少した一方、腸管では有意に増加した。(参照 61)

マウス (ICR、雄、一群 12 匹) に 75、150 又は 250 µg/kg の OA を経口投与し、投与 5 分後から 12 週目まで継時的に一匹ずつと殺し、免疫組織化学染色により OA

の組織分布が調べられた。150 µg/kg 投与群では、5 分後に心臓、肺、肝臓、腎臓、胃、小腸、盲腸及び大腸に OA が認められた。OA は投与後 15 分のうちに腸絨毛上皮に、30 分後には粘膜固有層に認められた。OA は、胃及び小腸では 24 時間後には検出できなくなったが、その他の組織では、投与後 2 週目までは検出された。便からの排泄は投与後 4 週間目まで続いた。OA は空腸から吸収され、血液を介して全身に分布すると考えられた。(参照 62)

マウス (Swiss、雌) に OA を 115 又は 230 µg/kg 単回経口投与し、投与 24、36 又は 48 時間後に免疫組織化学染色により OA の組織分布が調べられた。OA は肝臓、十二指腸及び回腸に分布していた。腸管では、腸管上皮の杯細胞に OA が認められた。大腸から OA は検出されなかった。(参照 63)

2004 年 1 月に、チリで発生した中毒事例では、採取したムラサキイガイの中腸腺を用いた MBA の結果は陰性であったが、貝の中腸腺から DTX の 7-*O*-アシル化誘導体 (DTX3) が検出された。原因となった貝抽出物をアルカリ加水分解すると DTX1 が検出され、ヒトの便からは DTX1 のみが検出された。貝から検出された DSP に関係する貝毒は DTX3 のみであったことより、著者らは、ヒトの消化管内で DTX3 が DTX1 に変換されたと考えた。(参照 51, 64)

3. 実験動物等における毒性

OA 群の毒性は、汚染された貝から抽出した貝毒を実験動物に腹腔内投与又は経口投与することにより調べられてきた。以下に述べるように、マウス又はラットに OA 又は DTX 群を投与すると、毒性所見として下痢を含む消化管障害及び肝臓の障害が認められる。また、投与経路により毒性の程度が異なり、経口投与では、腹腔内投与より毒性が低いことが示されている。

(1) 急性毒性

マウスに OA 群を腹腔内投与又は経口投与すると投与量の増加と共に自発運動の低下がみられ、投与後 30 分から 48 時間で死亡した(参照 28)。OA 群の LD₅₀ 値を表 13 に示した。

表 13 OA 群の LD₅₀

貝毒の種類	動物種、系統	投与経路	LD ₅₀ 値 ($\mu\text{g/kg}$ 体重)	参照
OA	マウス、ddY 及び CD-1		192	(参照 47, 65, 66)
	マウス、CD-1	腹腔内	204~206	(参照 65)
	マウス、CD-1		225	(参照 66)
OA	マウス、CD-1	経口	1,000~2,000	(参照 66)
	マウス、 NMRI		880	(参照 67)
DTX2	マウス、CD-1	腹腔内	338~352	(参照 65)

腹腔内投与による LD₅₀ 値は 192~225 $\mu\text{g/kg}$ 体重であった。経口投与による LD₅₀ 値は幅があり、880~2,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重と推測されている。

マウス (CD-1、雌、一群 5~9 匹) に OA 又は DTX2 を腹腔内投与して推計された LD₅₀ は、204~206 $\mu\text{g/kg}$ 体重又は 338~352 $\mu\text{g/kg}$ 体重であったことより、著者らは OA と DTX2 の毒性比は 1 : 0.6 であろうと考えた。(参照 65)

マウスに OA、DTX1、DTX2 又は DTX3 を腹腔内又は経口投与して死亡がみられた最小用量等、その他の研究で報告されている致死量については、表 14 にまとめた。

表 14 OA 群の致死量

貝毒の種類	動物種、 系統	投与経路	致死量 ($\mu\text{g/kg}$ 体 重)	参照
OA	マウス、ddY、	腹腔内	200	(参照 68)
OA	マウス、ddY、 及び CD-1、	経口	400 ~ 2,000	(参照 62, 63)
DTX1	マウス (系統 不明)	腹腔内	160~2 00	(参照 25)
DTX1	マウス、ddY、	経口	100~ 400	(参照 25, 69)
DTX3	マウス (系統不明)	腹腔内	500	(参照 70)

OA の腹腔内投与によるマウスの致死量は約 200 $\mu\text{g/kg}$ 体重であった。(参照 68)

マウスに OA を経口投与して死亡がみられた最小用量には幅があり、経口投与による致死量は、腹腔内投与による致死量の 2~10 倍であった。(参照 8)

DTX1 を腹腔内投与してマウスが死亡する最小用量は 160 µg/kg 体重であった (参照 25)。また、マウス (ddY、雄、一群 5 匹) に 100、200、300 又は 400 µg/kg 体重の用量で DTX1 を腹腔内投与すると 24 時間後に死亡したマウスはそれぞれ 1、0、2 又は 3 匹であったことより、著者らは、DTX1 の致死量は 200 µg/kg 体重と考えた (参照 69)。

DTX3 は、OA、DTX1 及び DTX2 が、貝により代謝された化合物と考えられており、それぞれの 7 位の炭素に飽和又は不飽和脂肪酸がエステル結合した化合物の総称である。マウスに DTX3 を腹腔内投与した致死量は約 500 µg/kg 体重と報告されている。 (参照 70)

マウス又はラットに OA 群を腹腔内又は経口投与した急性毒性試験において、消化管の障害と共に下痢が認められ、肝臓への影響も報告されている (表 15)。

表 15 OA 群の腹腔内投与又は経口投与による急性毒性

貝毒の種類	種、系統、性別、(一群匹数)	投与経路	投与量 (µg/kg 体重)	主な所見	NOAEL (µg/kg 体重)	LOAEL (µg/kg 体重)	参照
DTX1	マウス、系統、性別匹数不明	腹腔	160	下痢		160	(参照 25)
DTX1	マウス、BALB/c、雌雄 (12)	腹腔	50、100、200、300、400 又は 500	投与 15 分後から腸管障害及び下痢。 肝臓、心臓及び腎臓に変化は認められなかった。	50	100	(参照 71)
OA	マウス、ddY (1~5)	経口	200、400、1,000 又は 2,000	全ての投与群で腸管障害及び水溶性下痢便。 消化管以外の器官に病理所見みられなかった。		200	(参照 68)
OA、DTX1、又は DTX3	マウス、ICR、雌 (24)	経口	それぞれ 750	投与 15 分後に腸管障害と共に下痢がみられた。OA、DTX1 及び DTX3 の腸管障害は同じ程度であった。 DTX3 投与群に肝臓障害。		OA:750、DTX1:750、又は DTX3:750	(参照 72)
OA、DTX1、又は DTX3	マウス、ICR、雌 (24)	腹腔	それぞれ 375	OA 及び DTX1 は、経口投与群より腹腔内投与群の方が腸管障害が重かった。 すべての投与群で肝臓障害が認められた。DTX3 の影響は最も強かった。		OA:350、DTX1:350 又は DTX3:350	(参照 72)
[³ H]OA	マウス、Swiss (6)	経口	50 又は 90	90 µg/kg 投与群のマウス全てに下痢 (投与 8 時間後まで)。	50	90	(参照 61)

貝毒の種類	種、系統、性別、(一群匹数)	投与経路	投与量 ($\mu\text{g/kg}$ 体重)	主な所見	NOAEL ($\mu\text{g/kg}$ 体重)	LOAEL ($\mu\text{g/kg}$ 体重)	参照
OA	マウス、ICR、雄 (12)	経口	75、150 又は 250	全ての投与群で体重に対する腸管重量比の増加及び肝臓重量比が減少した。 肺では投与 5 分後に静脈周辺に水腫、投与 10 分後に末梢部に出血及び水腫。		75	(参照 62)
OA	マウス、CD1、雌 (5 又は 10)	腹腔	100、159、200、252、317 又は 400	全ての投与群に腸管障害及び肝臓障害。		100	(参照 66)
OA	マウス、CD1、雌 (5)	経口	1,000 又は 2,000	全ての投与群で投与 30 分後には下痢。		1,000	(参照 66)
OA	マウス、CD1、雌 (5)	経口	1,000	下痢及び腸管障害。		(1,000 $\mu\text{g/kg/日}$)	(参照 73)
OA	マウス、Swiss、雌 (3)	経口	435、525 又は 610	525 $\mu\text{g/kg}$ 体重以上の投与群で OA 投与後に下痢。		525	(参照 63)

げっ歯類を用いた試験の結果より、主な症状を以下にまとめた。

マウス (BALB/c、乳のみマウス、一群 12 匹) に 50、100、200、300、400 又は 500 $\mu\text{g/kg}$ 体重の DTX1 を腹腔内投与すると、300 $\mu\text{g/kg}$ 体重以上の投与群で投与後 15 分以内に、また 100 及び 200 $\mu\text{g/kg}$ 体重の投与群で投与後 60 分以内に、十二指腸及び小腸上部が膨脹して内部には粘液様物質がみられた。小腸絨毛及び粘膜下にはうっ血が認められた。300 $\mu\text{g/kg}$ 体重の DTX1 を投与したマウスは、投与 1 時間後にと殺され、十二指腸、肝臓、心臓及び腎臓の組織学的検査が実施された。腸管絨毛の粘膜層に水腫及び粘膜組織細胞内に空胞形成がみられた。DTX1 による腸管への毒性影響は、腸管絨毛における血清成分の粘膜固有層への血管外流出、絨毛吸収上皮の変性、変性した上皮の粘膜固有層からの剥離という連続的な三段階に分けられ、用量及び時間依存的に進行した。肝臓、心臓及び腎臓に変化は認められなかった。(参照 71)

マウス (CD-1、雌、一群 5 又は 10 匹) に 100～400 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で OA を腹腔内投与した急性毒性試験においても、100 $\mu\text{g/kg}$ 体重投与群から用量依存的に腸管上皮及び粘膜固有層への影響が認められている。(参照 66)

マウス (ICR、雄) 又はラット (Wistar、雄) に OA、DTX1 又は DTX3 をそれぞれ 750 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で経口投与し、組織学的検査が実施された。投与したいずれの貝毒でも毒性はほぼ同じであった。投与 5 分後に腸管上皮細胞のゴルジ体シ

ス囊は膨らみ、細胞質に多くの小胞が認められた。投与 15 分以内に回腸絨毛の上皮組織に部分的に障害が認められた。小腸の吸収上皮細胞では微絨毛が消失し、細胞質の一部にびらんがみられた。下痢も投与 15 分以内に観察され、これらの症状は関連していると著者らは考えた。投与 30 分後には、毛細血管の透過性が亢進して絨毛粘膜固有層に水腫がみられた。投与 60 分後には腸管絨毛の粘膜上皮に空胞及び核の凝縮がみられ、粘膜上皮は剥離した。投与 2 時間後には粘膜上皮に再生がみられた。OA、DTX1 又は DTX3 を腹腔内投与すると、経口投与と同じような組織学的変化が認められたが、DTX3 群の腸管障害は OA 及び DTX1 群より弱かった(参照 72)。マウス (ddY、雄、一群 1~5 匹) に 200~2,000 µg/kg 体重の OA を経口投与すると、消化管における組織障害は腺胃以下の消化管全長の粘膜組織にみられ、その広がりや重篤度は投与量に依存していた(参照 68)。

マウス (ICR、雄、一群 12 匹) に 75、150 又は 250 µg/kg 体重の OA を経口投与し、投与 5 分後から 12 週目まで経時的に一匹ずつと殺して組織学的検査が実施された。体重に対する十二指腸から回腸までの小腸重量比は、全ての群で増加したのに対して、肝臓重量比は減少した。試験期間中に下痢はみられなかった。150 µg/kg 体重の投与群において、肺では OA の分布と共に 5 分後に静脈周辺に水腫、10 分後に主に末梢部に出血及び水腫が認められたが、8 時間後には回復した。小腸では、投与後 15 分以内に腸管上皮絨毛に、30 分後には粘膜固有層に OA の分布がみられた。投与 60 分後には腸管絨毛の萎縮及び粘膜固有層の充血がみられ、粘膜固有層から腸管内へ粘膜上皮が脱落した。投与 6~24 時間後にはこれらの障害はしだいに回復して、再生した粘膜上皮が粘膜固有層を覆っていた。胃には 60 分後、大腸及び盲腸には 2 時間後びらんが認められた。これらのびらんは、投与 6 時間後~7 日後には回復した。肝臓及び心臓に病理所見は認められなかった。(参照 62)

OA 群の下痢原性を調べる目的で、以下のようにマウス、ラット又はウサギを用いた腸管ループ試験^{注5)}及び乳のみマウスを用いた下痢原性試験^{注6)}が実施されている。1~5 µg の OA をラット (種不明、雄) の十二指腸に投与した腸管ループ試験では、投与 15 分後には腸管絨毛先端の粘膜上皮が腫大し、基底膜から剥離した。杯細胞に変化はみられなかった。投与 60~90 分後には腸管絨毛の粘膜上皮のほとんどが腸管内に剥離し、短縮した絨毛は杯細胞で覆われていた。3 µg の OA 投与群

^{注5)} 腸管内へ試料を投与したのちに管腔内における水溶性物質の貯蓄を調べる方法。ループの長さ (cm) に対する水溶性物質の貯蓄量 (ml) の比で表し、この比が 1 を超える場合を陽性とする。ラットを用いた腸管ループ試験で、明らかに水溶性物質の貯蓄が認められる OA の投与量は約 0.5 µg である。

^{注6)} 4~5 日齢のマウスに貝抽出物を胃内投与し、4 時間後に消化管内における水溶性物質の貯蓄を調べる方法。と殺したマウスの腸管を取り出し、腸管を除いたマウスの重量に対する腸管重量の比で表す。この比が 0.8 から 0.9 を超えると陽性とされる。検出限界は、OA で 0.05 MU 及び DTX1 で 1 MU である。(参照 10)

では絨毛先端部のみに変化がみられたが、5 µg の OA 投与群では絨毛構造が障害を受け、投与量依存的な影響が認められた。(参照 40)

ホタテガイより分離した OA、DTX1 又は DTX3 をマウス 1 匹当たり 0.025、0.05、0.1、0.2 又は 0.4 MU の用量で乳のみマウス (CD-1、一群 3~5 匹) に単回経口投与し、これら貝毒の下痢原性が比較された。OA 及び DTX1 投与群は、マウス 1 匹あたり 0.1 MU 以上の投与群で陽性となり、DTX3 投与群は、マウス 1 匹あたり 0.05 MU 以上の投与群で陽性となった(参照 74)。4 日齢の乳のみマウス (CD-1、一群 3 匹) を用いた下痢原性試験においても、OA 又は DTX1 を 0.1 µg/マウス以上投与すると陽性となり、著者らは OA と DTX1 の下痢への影響が同等であると考えた(参照 69)。

OA 並びに DTX3 群として OA より合成した 7-*O*-パルミチン酸 (C_{16:0})、7-*O*-リノール酸 (C_{18:2}) 又は 7-*O*-ドコサヘキサエン酸 (C_{22:6 ω 3}) エステルを用いて、これら化合物の下痢原性を調べる目的で、マウス (CD-1) 腸管ループ試験及び乳のみマウス (CD-1) への胃内投与による下痢原性試験が実施された。腸管ループ試験の結果、腸管内の水溶性物質の貯蓄量は OA 群が最も多かったが、乳のみマウス下痢原性試験では OA 群及び DTX3 群の下痢原性に差はみられなかった(参照 75)。

ラット (Wistar、雄) の直腸に挿入したチューブから 200 µl のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した OA を 60 n mol/kg 体重 (48.3 µg/kg 体重相当) の用量で投与すると、粘膜固有層に一過性の微小血栓が観察され、続いて粘膜に水腫がみられた(参照 76)。

マウス (ICR、雄) 又はラット (Wistar、雄) に OA、DTX1 又は DTX3 をそれぞれ 375 µg/kg 体重の用量で腹腔内投与すると、OA、DTX1 及び DTX3 投与群の肝細胞に空胞が認められた。DTX3 群では、肝細胞壊死もみられた。750 µg/kg 体重の用量で経口投与した急性毒性試験において、肝臓への影響は DTX3 投与動物にのみ認められ、経口投与 24 時間後のマウス肝臓では、肝小葉中間部から周辺部の肝細胞に脂肪滴及び壊死がみられた(参照 72)。マウス (CD-1、雌) では、100 µg/kg 体重以上の OA 経口投与で肝細胞に空胞及び壊死が報告されている(参照 66)。

(2) 亜急性毒性

マウス (CD-1、雌、一群 3 匹) に、予備試験として 0.185、0.375 又は 0.750 µg/kg 体重/日の精製 OA を一週間経口投与したところ、0.375 µg/kg 体重/日以上投与群に下痢がみられた。続いて、下痢のみられなかった 0.185 µg/kg 体重/日の用量で CD-1 マウス (雌、一群 5 匹) に OA を一週間投与する亜急性毒性試験が実施された。対照群には溶媒が投与された。摂餌量、体重増加並びに肝臓、心臓、肺、腎臓、胸腺及び脾臓の重量、血液検査及び生化学検査が実施されたが、影響ははみら

れなかった。組織学的検査の結果、OA 投与群では、5 匹中 1 匹の前胃に粘膜上皮の過形成及び粘膜下組織に軽度な亜急性炎症が認められた(参照 77)。

(3) 慢性毒性・発がん性

慢性毒性試験の知見はない。

長期投与による発がん性試験は実施されていない。げっ歯類を用いた皮膚二段階発がん試験及び腺胃二段階発がん試験において、OA 及び DTX 群の発がんプロモーション作用^{注7)}が報告されている。

マウス (CD-1、雌、一群 15 匹) に、イニシエーターとして 100 µg の 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) をマウスの皮膚に一回塗布した後、1 週間目から 30 週目まで 10 µg の OA を一週間に二回塗布すると、試験開始 5 週目に 15 匹中 4 匹に腫瘍が認められ、16 週目には 93%のマウスに、30 週目には 80%のマウスに腫瘍が認められた。発生した腫瘍の 92.3%は乳頭腫であり、5.1%が扁平上皮癌及び 2.6%が肉腫であった。DMBA のみの塗布群では 9 週目から 1 匹、OA のみの塗布群では 29 週目から 1 匹に腫瘍が認められた(参照 78)。OA のみ塗布群の腫瘍は乳頭腫であった (菅沼ら、私信)。

5 µg の OA 又は 5 µg の DTX1 を用いて実施された同様の皮膚二段階発がん試験では、試験開始 30 週目に腫瘍がみられたマウスの割合は 80%又は 86.7%であった。DMBA のみの塗布群では 20 週目から 1 匹、DTX1 のみの塗布群では 27 週目から 1 匹に腫瘍が認められた(参照 79, 80)。

皮膚二段階発がん試験では、プロモーション作用を有する化学物質により、可逆的な乳頭腫様病変が発生した報告もあり(参照 81)、プロモーション作用のある化学物質により乳頭腫が自然発生することがあると考えられ、本調査会では、OA 群にイニシエーション作用はないと判断した。

OA 及び DTX1 は、マウスの皮膚にある同じ受容体に結合すると考えられている。ホルボールエステルは、OA と同様にプロモーション作用を示すが、ホルボールエステルの受容体とは異なったタンパク質であることが示されている(参照 80)。

SD ラット (雄、一群 9 ~ 28 匹) に 100 mg/L の *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 8 週間飲水投与してイニシエートした後、OA を経口投与する、腺胃における二段階発がん試験が実施された。試験開始 9 週目から 55 週目まで 0.25 mg/L の OA (10 µg/匹/日)、更に 56 週目から 72 週目まで 0.5 mg/L の OA が経口投与された。ラットの腺胃に腺腫様過形成及

^{注7)} 正常細胞は、いくつかの段階を経てがん細胞へ変化すると考えられており、1 段階目は、発がん物質 (イニシエーター) によって細胞の遺伝子が障害を受け変異を起こす段階 (イニシエーション作用)、2 段階目は、発がんプロモーターと呼ばれる物質や他の発がん物質による作用で、障害を受けた遺伝子を持つ細胞が増殖する段階 (プロモーション作用) と考えられている。発がんプロモーターそれ自身は、発がんを引き起こすものではなく、他の発がん物質による発がん作用を促進する作用を有する。

び腺癌が認められ、これらを合わせたものを腺胃の腫瘍性変化の指標とすると、MNNG によるイニシエート後に OA を投与した群では腫瘍性変化が 16 匹中 12 匹 (75.0 %) 及び MNNG のみの投与群では 28 匹中 13 匹 (46.4%) にみられた。腫瘍性変化はラット一匹当たりそれぞれ 1.1 ± 0.9 個及び 0.6 ± 0.8 個であった。OA のみの投与群 (9 匹) に腫瘍性変化は認められなかった。(参照 82)

(4) 生殖発生毒性

妊娠 11 日目のマウス (Swiss-Webster、一群 3 匹) に $50 \mu\text{g/kg}$ 体重の ^3H]OA を胃内投与し、24 時間後にと殺して胎児への移行が調べられた。投与 4 時間後から、母マウスには下痢がみられた。母マウスの肝臓、腎臓、血液及び尿には、それぞれ投与した ^3H]OA の 1.9%、2.5%、3.2%及び 7.0%の ^3H]OA が認められた。OA は胎盤を通過して胎児に移行し、投与した ^3H]OA の 5.60%が胎児に検出された。OA の胎児への毒性影響は不明であった。(参照 83)

(5) 遺伝毒性

OA は、サルモネラ菌株 *S. Typhimurium* TA100 及び TA98 を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験) において、代謝活性化の有無にかかわらず突然変異を誘発しなかった(参照 63)。一方、CHL 細胞 (チャイニーズハムスター肺線維芽細胞由来細胞株) を用いてジフテリア毒素耐性をマーカーとした突然変異試験の結果、OA は代謝活性化なしに 10~17.5 ng/ml の濃度範囲で、濃度依存的に突然変異を誘発し、1 μg 当たりの OA の誘発性ジフテリア毒素耐性コロニー数は $5,500/10^6$ 生存細胞と推計された。(参照 84)

OECD ガイドラインに準じて実施された CHO-K1 細胞 (チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株) を用いた前進突然変異試験 (HPRT 試験) において、OA は代謝活性化の有無にかかわらず突然変異を誘発しなかった。*in vitro* ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験) の結果も陰性であったことより、著者らは、OA は DNA に作用する物質ではないと考えた。(参照 85)

Caco 2 細胞 (ヒト結腸癌由来細胞株) を 20~60 nM の OA と 4 時間及び 5~20 nM の OA と 24 時間インキュベート後に小核試験が実施された。小核形成及び多核細胞は時間及び濃度に依存して増加した(参照 63)。CHO-K1 細胞を 1~50 nM の OA と 4 時間又は 24 時間インキュベーション後に小核試験が実施された。4 時間では OA の影響はみられなかったが、20~30 nM の濃度で 24 時間インキュベーションすると小核形成及び多核細胞が有意に増加した。S9 存在下では、30 及び 50 nM の OA と 4 時間インキュベーションすると小核形成及び多核細胞が有意に増加した(参照 86)。マウス (Swiss、雌、一群 3 匹) に 435、525 又は 610 $\mu\text{g/kg}$ 体重の OA を経口投与し、24 時間後にと殺して直腸細胞を用いる *in vivo* 小核試験が

実施された。525 µg/kg 体重の OA 用量で有意に小核が増加したが、用量依存性は認められなかった(参照 63)。FISH^{注8)}により、セントロメア検出用プローブを用いて小核の解析をした結果、OA はセントロメアを含む小核を誘導した。OA の染色体異数性誘発能は OA と DNA との直接的作用というより、PP1 及び PP2 のホスファターゼ阻害作用によると著者らは推測した(参照 86)。

OA による付加体形成は、BHK21 C13 細胞 (ハムスター腎臓由来細胞株)、HESV 細胞 (ヒトケラチノサイト由来細胞株) 又は WI26 VA4 細胞 (ヒト胎児肺由来細胞株) を OA と 1 時間培養後、³²P-ポストラベリング法により示されている。細胞毒性を示さない用量内の実験であったが、WI26 VA4 細胞では、0.1 及び 0.5 nM の OA 濃度ではスポット数の増加が認められた一方、これ以上の OA 濃度ではスポット数は少なく、何れの細胞株においても明らかな用量依存性は認められなかった(参照 8, 87, 88)。ゼブラフィッシュ受精卵を用いた *in vivo* 付加体形成試験で、OA と培養すると ³²P-ポストラベリング法によりスポットが観察された報告もある(参照 88)。

(6) 毒性のメカニズム

OA は、セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ (PP1 及び PP2A) に結合し、これらの酵素のプロテインホスファターゼ作用を阻害する(参照 89, 90)。OA の PP2A 阻害作用は、PP1 の阻害作用より強いことが示されている(参照 5, 8, 89, 91)。

タンパク質のリン酸化及び脱リン酸化の制御は、細胞のシグナル伝達、代謝、細胞増殖等、様々な細胞機能の調節に重要な役割を果たしている。PP2A 及び PP1 の阻害作用により、リン酸化されたタンパク質の過剰な蓄積を招き、細胞の調節機能が破たんすることが示されており(参照 92, 93, 94, 95)、これらが OA の毒性に関与していると考えられている(参照 8, 40)。DTX1 は OA とほぼ同じ強度のプロテインホスファターゼ阻害作用を示した(参照 96, 97)が、C7 位にパルミチン酸がエステル結合した OA エステル化体 (DTX3) は、弱いプロテインホスファターゼ阻害作用を示したことが報告されている(参照 75, 97, 98)。

OA により下痢が認められるメカニズムとして、当初、腸上皮細胞におけるナトリウム分泌に関与するタンパク質が OA によって過剰にリン酸化されることに起因する可能性が指摘された(参照 93)。しかし、その後、T84 細胞 (ヒト結腸がん由来培養細胞株) の単層培養シートを用いて、細胞を介したイオン透過性、乳酸デヒドロゲナーゼ分泌並びに ²²Na 及び [³H] マンニトールの透過性が調べられた結果、OA

^{注8)} 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション。DNA 断片を標識し (プローブ)、スライドガラス上の DNA とハイブリダイゼーションし、特定の DNA を可視化する方法。

は細胞のイオン流量には影響せず、分泌促進物質ではないと考えられた(参照 99)。更に、T84 細胞及び Caco2 細胞の単層培養細胞シートを OA と培養すると、それぞれ 600 nM 及び 500 nM 以上の OA 濃度で経上皮電気抵抗 (TEER : Transepithelial Electro Resistance)^{注9)}が明らかに減少したが、細胞障害性はみられなかった(参照 100)。これらの結果は、腸管における細胞間隙を介する傍細胞経路 (paracellular pathway) の透過性が増加していることを示しており、OA に起因する下痢に関与しているのは、傍細胞経路の透過性の増加であることが示唆された(参照 99)。ラット直腸に OA を投与して結腸粘膜上皮傍細胞経路の透過性を調べた *in vivo* 実験では、粘膜下組織における微小血栓形成に続く膨脹と共に傍細胞経路の透過性が増加しており、著者らは、これらの結果下痢が生じると考えた(参照 76)。

Caco 2 細胞の単層培養細胞シートを用いた試験で、DTX2 及び DTX1 も TEER の減少を誘導し、傍細胞経路の透過性を増加させることが示された。OA 及び DTX2 の透過性への影響はほぼ同じであったが、DTX1 は、これらより低い濃度で TEER の減少を招いた。(参照 101)

(7) 毒性のまとめ

OA 群の毒性知見は限られており、ほとんどが貝から抽出した化合物を実験動物に腹腔内又は経口投与して調べられた急性毒性試験の結果である。

OA 群をげっ歯類に投与すると、投与方法にかかわらず同じような急性毒性所見が認められたが、経口投与では、腹腔内投与より毒性が低かった。急性毒性としては、下痢を含む消化管障害及び肝臓への影響が認められた。OA 群の投与により明らかに小腸絨毛の毒性影響がみられた。これは OA 群を経口投与した場合の下痢と関連していると考えられた。

OA 群を用いた発がん性試験を含めた長期毒性試験のデータはない。一方、OA 及び DTX1 はげっ歯類を用いた皮膚及び腺胃における二段階発がん試験でプロモーション作用を有することが示されている。マウスの皮膚に OA 又は DTX1 を塗布した皮膚二段階発がん試験において、OA 又は DTX1 のみを単独投与した群のそれぞれ 1 例ずつに乳頭腫が認められたが、OA 群にイニシエーション作用はないと考えられた。また、ラットに経口投与した腺胃における二段階発がん試験では、OA のみの投与群に腫瘍は認められなかった。染色体異常試験では陽性との結果も認められている。しかしながら、OA の遺伝毒性については、Ames 試験、HPRT 試験及び *in vitro* 不定期 DNA 合成試験の結果は陰性であり、DNA 損傷による染色体異

^{注9)} 経上皮電気抵抗は、細胞部分及び細胞間接着装置部分のイオン透過性によって決まる。イオン透過性は、細胞間接着装置部分のほうがかはるかに大きいため、経上皮電気抵抗は、細胞間接着装置の状態を表す。

常を誘発するとは考えられなかった。従って、OA は DNA に直接損傷を与える変異原ではなく、遺伝毒性発がん物質ではないと考えた。

4. 暴露状況

日本の沿岸地域においては、カキ、ホタテガイ等の二枚貝の養殖が盛んに行われており、二枚貝は貴重な水産食品として日常の食生活を支える重要な役割を演じている。二枚貝は大量の海水を濾過し微細藻類を中心とする粒状物を集めて摂食活動を行い、その際に有毒微細藻類が含まれていれば毒化が起き、毒化した貝を食べてヒトの食中毒が発生するとされ、ヒトへの健康被害が及ぶことから公衆衛生上の問題となるとされている。(参照 102)

1972 年～1984 年までの日本において、病因が判明した魚介類の自然毒による食中毒の原因食品別発生状況を参考資料 1-1 として表に示した。DSP の発生件数はフグ中毒に次いで第 2 位であるが、患者数から言えば DSP 事例が最も多かったことが報告されている。また、1976 年 6 月～1983 年 8 月までの日本における DSP 事例のうち、中毒の原因となった貝の種類については、参考資料 1-2 として表に示した通りであり、ムラサキイガイが 22 件、ホタテガイが 14 件、イガイが 11 件、アサリ及びコタマガイが 1 件であった。中毒の発生は 6 月～8 月が多かった。(参照 103)

1989 年～2010 年までの日本で発生した DSP 事例については、厚生労働省監修の全国食中毒事件録（平成元年～平成 22 年版）に基づき、参考資料 1-3 のように報告されている。1989 年以降 1994 年までに日本で報告された DSP 事例は 3 件のみであり、患者数は合計 7 人であったとされているが、1995 年以降の報告はない。(参照 9)

(1) 貝の生産量・輸入量・流通量等

①貝の生産量

FAO (2011) によると、2007 年における二枚貝の生産量は世界の魚介類生産全体のほぼ 10%を占めるとされている(参照 10)。1950 年では 100 万トンであったのが、2007 年では 1,400 万トンとなっている。また、2007 年における国ごとの生産量については、第一位は中国の 910 万トンであり、日本は 79 万 7,200 トン、米国は 76 万 4,000 トン、韓国は 53 万 5,000 トン、タイは 38 万 6,000 トン、フランスは 23 万 4,000 トン、スペインは 22 万 8,000 トンであったとされている。2007 年における貝の種類の構成としては、36%がアサリ、35.2%がカキ、14.3%がイガイ、14.6%がホタテガイとされている。また、世界の養殖貝は、1990 年には 330 万トン、2007 年には 1,200 万トンであり、貝の種類ごとの養殖の割合はカキが生産の 97%、イガイが生産の 95%、アサリが生産の 84%、ホタテガイの生産の 67%が養殖であったとされている。(参照 10)

農林水産省「食料需給表 主要項目の品目別累年統計（国内生産量の内訳）主要魚介類・海藻類」のデータに基づくと、日本国内の貝の生産量の主なものとしては、図 2 に示す通り、ホタテガイであり、近年の国内生産量は、およそ 50 万トンである。特に 1980 年代後半よりホタテガイの生産が増加し、ホタテガイの次にかき類、あさり貝が続いている。2008 年～2012 年までの 5 年間に於ける日本国内の貝の生産量に占めるホタテガイ及びカキの割合は、それぞれ平均 64.7%、平均 23.4%であり、この 2 種類の貝で日本国内の貝の生産量のおよそ 88%を占めていた。なお、イガイ及びムラサキイガイは単独の国内生産量は少なく、貝類の計の中に含まれている。

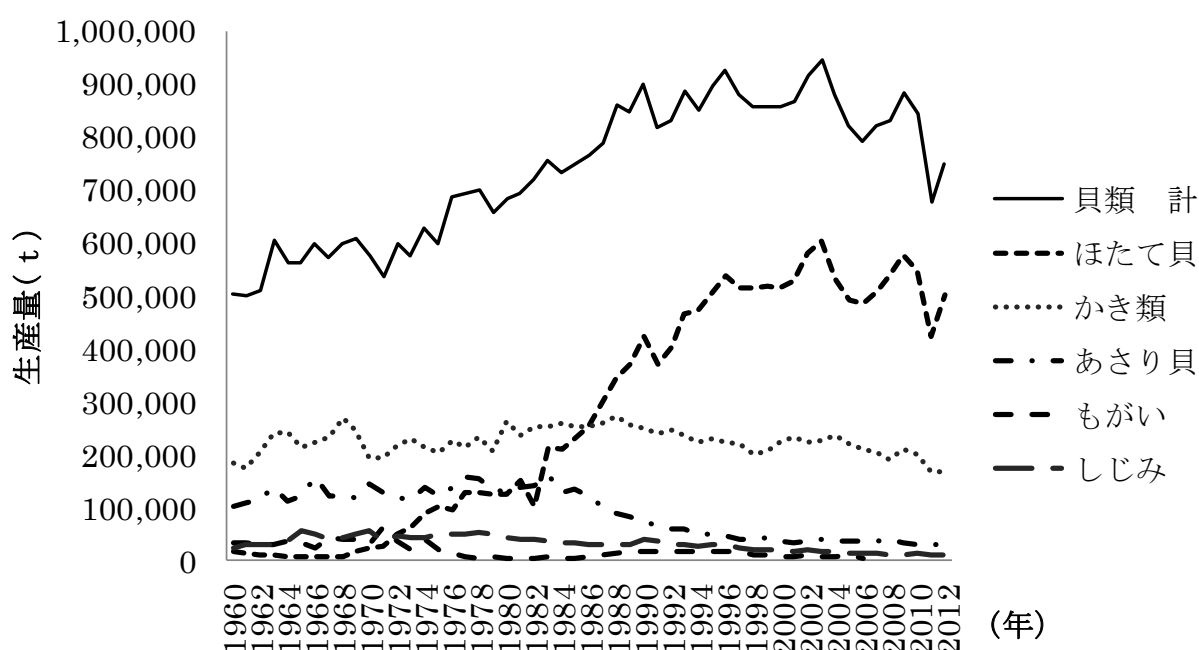


図 2 主要魚介類(貝類)の国内生産量（全国年次統計）単位：（t）

農林水産省「食料需給表 主要項目の品目別累年統計（国内生産量の内訳）主要魚介類・海藻類」より引用、作成^{注10)}

②二枚貝の輸入量

二枚貝の輸入量（平成 22～24 年度）について、厚生労働省輸入食品監視支援システム（FAINS）による検索結果における届出重量データによると、二枚貝の未加工品（アサリ、アカガイ、タイラギガイ、シジミ、ハマグリ、カキ、ムラサキイガイ

^{注10)} 貝の名称は、参照とした統計に記載されていた名称に準じて記載した。

イ、バカガイ、ミルカイガイ・ミルガイ、その他の二枚類のデータが含まれている。

注¹⁰⁾ 全体の輸入届出重量は、平成 22 年度が 5 万 9,344.71 トン、平成 23 年度が 4 万 7,167.09 トン、平成 24 年度が 5 万 1,235.43 トンであったとされている。また、二枚貝加工品（その他）には二枚貝以外の貝も含まれる可能性があるとしてされているが、その輸入届出重量は、平成 22 年度が 4 万 2,815.43 トン、平成 23 年度が 4 万 5,933.47 トン、平成 24 年度が 4 万 6,293.62 トンであったとされている(参照 104)。また、ムラサキイガイについての輸入届出重量は、平成 22 年度が 32.68 トン、平成 23 年度が 60.41 トン、平成 24 年度が 60.08 トンであったとされている。(参照 104)

（２）日本における二枚貝喫食者の１日当たりの喫食量の推計

貝を喫食する頻度が少なくても、毒化された貝を一度に大量に摂取することによりヒトへの健康影響が起こることがあると考えられ、消費者の健康保護のためには、長期の平均的な貝の喫食量よりも短期間に大量に摂取する場合の喫食量を参照することが求められる。また、ARfD の設定は、１日当たり又は１食当たりの貝毒の推定摂取量に基づいて行われている。(参照 5, 8)

日本における二枚貝喫食者の１日当たりの喫食量を推計するに当たり、限られたデータではあるが、平成 17 年度～平成 19 年度の日本における二枚貝の１日当たりの喫食量（g / 日）の調査結果を参考とした。この調査は、国民健康・栄養調査に準じて、季節により摂取量の変動がみられるものについて考慮し、一年間を通して実施されたものであり、各年度の 5～6 月、8～9 月、11～12 月、2～3 月に摂取量データが集められた。喫食した貝種ごとに、喫食したヒトのデータに基づいた１日当たりの喫食量の平均値、最大値、95 パーセンタイル値、99 パーセンタイル値（いずれも g / 日）等を表 16 に示した。貝を喫食したヒトにおいて、貝種ごとの１日当たりの喫食量の平均値が最大であった値はイガイの 72.2g、95 パーセンタイル値で最大の値はイガイの 148.0 g 及び 99 パーセンタイル値で最大の値はハマグリ の 300.0 g であった。また、二枚貝の１日当たりの喫食量の最大値はカキ（養殖）では 360.0 g 及びホタテガイでは 297.0 g であった。

なお、同一日に同一の対象者が複数回にわたって同一の食品を喫食している場合は、その合計喫食量とされている。(参照 105)

表 16 日本における二枚貝喫食者の 1 日当たりの喫食量（平成 17～19 年度 食品別摂取量基本統計より）単位：（g）

食品名	平均値	最大値	最小値	50パーセン タイル値	95パーセン タイル値	97.5パー センタイル値	99パーセン タイル値
あかがい	28.5	100.0	2.0	13.8	100.0	100.0	100.0
あさり	29.9	166.3	0.2	25.0	72.1	87.1	106.0
あさり佃煮	13.4	50.0	2.0	10.0	37.0	50.0	50.0
あさり水煮缶詰	14.4	66.7	0.8	10.0	33.3	50.0	50.0
あさり味付け缶詰	22.6	43.3	2.5	16.0	43.3	43.3	43.3
いがい	72.2	148.0	12.0	50.0	148.0	148.0	148.0
いたやがい養殖	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
かき養殖	68.6	360.0	5.0	56.7	150.0	224.0	250.0
水煮養殖かき	45.0	142.9	30.0	33.3	142.9	142.9	142.9
かき燻製油漬缶詰	-	-	-	-	-	-	-
しじみ	16.3	106.4	0.2	15.0	40.0	50.0	56.7
たいらがい貝柱	48.0	120.0	10.0	40.0	120.0	120.0	120.0
とりがい斧足	11.0	24.0	1.0	6.0	24.0	24.0	24.0
ばかがい	26.3	60.0	1.5	23.4	50.0	60.0	60.0
はまぐり	43.2	300.0	10.0	37.5	108.0	144.0	300.0
水煮はまぐり	-	-	-	-	-	-	-
はまぐり焼き	-	-	-	-	-	-	-
はまぐり佃煮	18.2	30.0	5.0	16.5	30.0	30.0	30.0
ちょうせんはまぐり	-	-	-	-	-	-	-
ほたてがい	49.8	297.0	3.9	39.6	126.0	148.5	225.0
ほたてがい水煮	38.1	200.0	4.5	28.6	108.0	133.3	200.0
ほたてがい貝柱	42.8	207.5	2.1	30.0	120.0	133.3	172.5
干しほたてがい貝柱	7.0	120.0	0.3	4.0	15.0	20.0	120.0
ほたてがい貝柱・ 水煮缶詰	23.2	80.0	1.5	20.0	60.0	76.6	77.3
ほっきがい	27.4	100.0	6.0	27.9	50.0	100.0	100.0
みるがい水管	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
もがい味付け缶詰	27.9	60.0	10.0	25.0	60.0	60.0	60.0

（参照 105）より引用、作成。

（３）貝の汚染実態等

①日本における貝毒モニタリング

日本では、自治体等により生産段階におけるプランクトン及び貝類中に含まれる貝毒のモニタリングが行われており、下痢性貝毒の規制値を超えた貝毒が検出された場合には、出荷自主規制の対象となる。日本における平成 15 年～平成 24 年までの下痢性貝毒による出荷自主規制報告件数の推移を図 3 に示した。

また、二枚貝検査とともに、生産現場で有毒プランクトンの出現及びその密度の監視も行われており、貝の毒化予察や出荷規制解除の際に重要な補助情報として利用されている。しかし、高密度な有毒プランクトンの存在下で二枚貝が毒化しない事例や、同一環境下に生息する二枚貝の種間で著しく毒力が異なる事例など、二枚貝の毒化機構については難解な点が多いとされている。（参照 13）

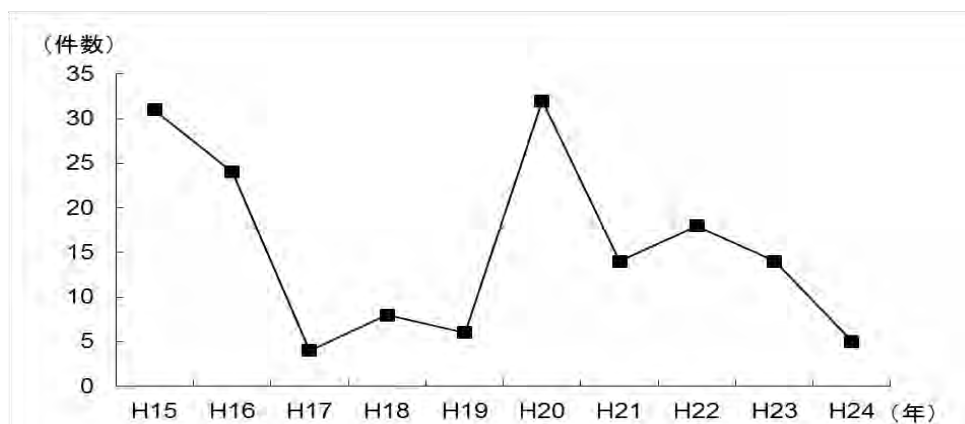


図 3 下痢性貝毒による出荷自主規制件数の推移（平成 15 年～平成 24 年）
(参照 106)

なお、FAO/IOC/WHO 2004 の評価では、二枚貝における OA 群の発生状況及び濃度のデータが充分ではないとされたが、暴露評価の目的として、貝毒の発生により閉鎖となった貝の採捕地域でみられたとされる典型的な貝中の OA 群の濃度は 0.16~1 mg / kg、報告された貝中の OA 群の最大濃度として 36 mg / kg という値が示されている。(参照 5)

②二枚貝の輸入食品違反事例等

平成 16 年度～平成 20 年度の厚生労働省による輸入食品の MBA 通知法の検査結果に基づく食品衛生法違反事例^{注11)}として、加熱後摂取冷凍食品（凍結直前未加熱）カキフライ及び活赤貝より 0.1~0.2 MU/g の貝毒が検出されたことが報告されている。

③国内産二枚貝中における貝毒の濃度及び組成等

日本において毒化が認められたイガイ、ホタテガイ^{注12)}、及びカキが三陸海岸の 4 地区から採取され、MBA により毒力が比較された。イガイの毒力が最も強く、イガイの毒力に比べるとホタテガイは約 60~86%及びカキは約 14%であった。(参照 28)

先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「現場即応型貝毒検出技術と安全な貝毒モニタリング体制の開発」^{注13)}により、2003 年度～2005 年度に日本各地で採取された貝について、貝毒が含まれていると考えられた検体を用いて LC-MS

注11) 厚生労働省 輸入食品等の食品衛生法違反事例

注12) *Patinopecten yessoensis* 及び *Chlamys nipponensis akazara*

注13) 独立行政法人 水産総合研究センター中央水産研究所提供。

法による分析が実施された。中腸腺を用いた LC-MS 法による OA 及び DTX の検出限界 (LOD) は 8 ng/g 及び定量限界 (LOQ) は 26 ng/g であった。日本の公定法による MBA がそれぞれの検体について 2 回実施され、2 回の合計で一匹以上のマウスが致死となった検体は、ホタテガイ 676 検体、ムラサキイガイ 136 検体及びイガイ 36 検体 (以下、ホタテガイ検体、ムラサキイガイ検体及びイガイ検体という。) であった。これらの検体を用いて、LC-MS により OA、DTX1、DTX3、PTX1、PTX2、PTX6、YTX 及び 45-ヒドロキシエッソトキシン (45-OH-YTX) ^{注14)} が測定された (参照 107)。すべての検体からいずれかの貝毒が検出された。LC-MS 法の測定結果に基づいたホタテガイ検体、ムラサキイガイ検体及びイガイ検体における貝毒組成の平均を図 4 に示した。

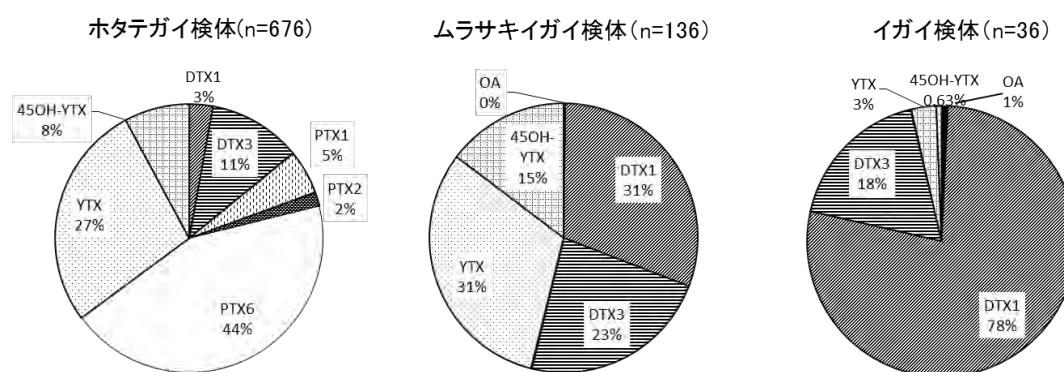


図 4 ホタテガイ、ムラサキイガイ及びイガイ検体の貝毒組成 (n: 検体数)

日本の公定法に準じた 2 回の MBA により、一匹以上のマウスが致死となったホタテガイ 676 検体、ムラサキイガイ 136 検体及びイガイ 36 検体の分析結果。

ホタテガイ検体に含まれる貝毒で最も多いのは PTX6 (44%)、次いで YTX (27%)、DTX3 (11%) であった。OA 群の割合は、14% であった。ムラサキイガイ検体では、最も多く含まれていたのが YTX (31%) で、次いで DTX1 (31%)、DTX3 (23%) であった。イガイ検体では、最も多く含まれていたのが DTX1 (78%) 次いで DTX3 (18%) であり、OA 群が全体の 97% を占めていた。

このホタテガイ検体を用いて LC-MS 分析による OA、DTX1 及び DTX3 の測定値より OA 当量を試算した。DTX3 は、7-*O*-パルミチン酸 DTX1 として測定し

注14) 45-OH-YTX : 45-hydroxyessotoxin. 45-OH-YTX は C45 位に OH 基が付いた YTX のアナログで、ホタテガイ及びイガイより検出される。YTX 群は貝の中で代謝されると考えられている。(別添参照 28, 参照 10)

た値を補正^{注15)}して総 DTX3 とした(参照 12, 22)。試算に用いた TEF は、OA、DTX1 及び DTX3 に対し、1:1:1 とした。限られたデータではあるが、日本国内の二枚貝における中腸腺と可食部の割合としては、ホタテガイでは、むき身重量における中腸腺重量比が 12.5%~16.3%であったとする報告(参照 108)及びムラサキイガイについては 13%としている報告(参照 109)がある。また、EFSA では主にイガイの中腸腺重量と可食部重量の割合を基に、この割合を 1:5 としている。従って、試験試料である中腸腺から可食部当たりの毒量に換算するために、中腸腺重量と可食部重量の割合を 1:10 又は 1:5 と仮定し、以下に示したように、計 2 通りの試算を行った。

(試算 1) OA、DTX1 及び DTX3 を等価とし、中腸腺と可食部の割合を 1:10 とした場合。

(試算 2) OA、DTX1 及び DTX3 を等価とし、中腸腺と可食部の割合を 1:5 とした場合。

ホタテガイ検体の試算 1 及び試算 2 による OA 群の分布を図 5 に示した。

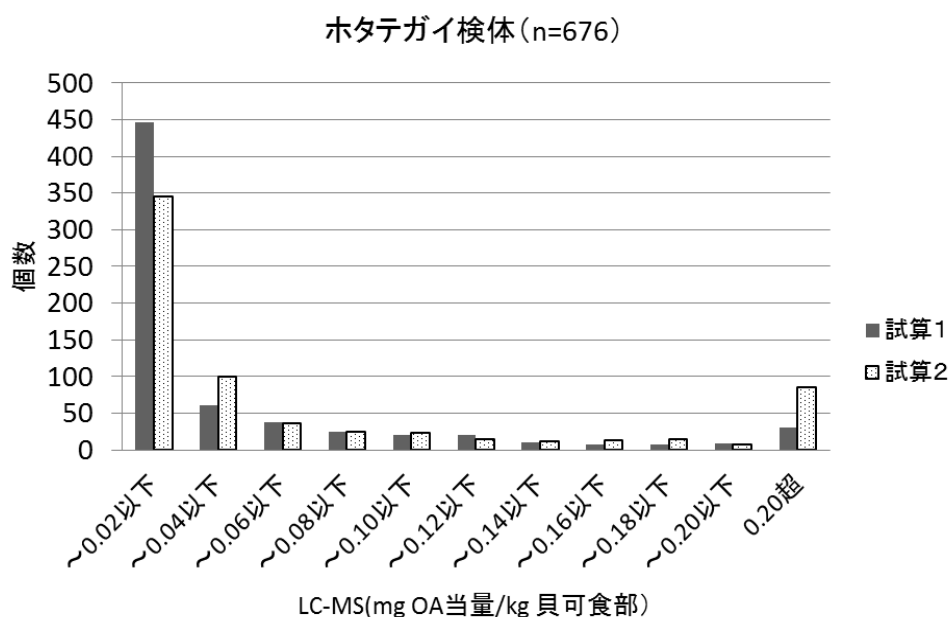


図 5 ホタテガイ検体の OA 当量の試算結果 (n: 検体数)

試算 1 では、446 検体 (66.0 %) が 0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、0.16 mg/kg 貝可食部以下が 629 検体 (93.1%) であった。試算 2 では、345 検体 (51.2%)

^{注15)} ほとんどの貝において、7-*O*-パルミチン酸 DTX1 の割合は、総 DTX3 のほぼ 45%であることより、LC-MS で 7-*O*-パルミチン酸 DTX1 を定量した値に 100/45 を掛けて総 DTX3 とした。(参照 107)

が 0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、0.16 mg/kg 貝可食部以下が 569 検体 (84.2%) であった。

なお、これらホタテガイ検体において LC-MS による OA 当量及び MBA の結果が概ね一致することが確認されており、その関係を参考資料 2 に示した。

④貝毒の季節性及び地理的特性等

日本国内における貝の毒化地域は、北海道から九州に及んでいるが、東北、北海道沿岸等での毒化が最も顕著であるとされている(参照 4)。貝の毒化期は初夏から秋にわたり、4 月中旬～5 月にかけて毒化を開始、6～7 月にピークを迎え、9～10 月に消失するのが一般的であるとされている(参照 4)。二枚貝の毒化する季節は地域及び年によって多少異なっているが、DSP 発生事例は 6 月～8 月が多い(参照 103)。

毒化したイガイ、ムラサキイガイにおける OA の減衰について検討した結果では、およそ 2 週間で毒のレベルが半分程度になると報告されている。(参照 110)

(4) 暴露状況のまとめ

MBA 通知法を用いて生産地で貝毒モニタリングによる出荷自主規制が行われている現状において、1989 年以降 2010 年までの 20 年間に DSP 事例の報告が 3 件あるが、1995 年以降の報告はない。このことは、現行の MBA 通知法を用いた出荷自主規制に一定の実効性があったことを示している。

日本において貝の生産量が最も多いのはホタテガイであった。国内で毒化が認められている二枚貝における種類別の MBA による毒力は、イガイが最も強く、次いでホタテガイ、カキの順であったことが報告されている。

OA 群の暴露量の推計には、一度に大量に二枚貝を喫食する事例を想定した。日本における二枚貝喫食者の 1 日当たりの二枚貝喫食量推計によると、イガイの平均値は 72.2 g、95 パーセンタイル及び 97.5 パーセンタイルの最大値は、それぞれイガイ及びホタテガイの 148.0 g 及び 148.5 g、二枚貝としての 1 日当たりの最大値は、カキ（養殖）の 360.0 g であった。また、二枚貝のうち日本における生産量が最も多いホタテガイの 1 日当たりの喫食量推定の最大値は、297.0g であった。

日本で採取された、毒化が認められたホタテガイ 676 検体を LC-MS を用いて分析した結果、半分以上が 0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、全体の 80～90%が 0.16 mg/kg 貝可食部以下であった。なお、これらホタテガイ検体において LC-MS による OA 当量及び MBA の結果が概ね一致することが確認された。

5. 加工・調理による減衰

OA 群は、熱安定で非水溶性であり、通常の加熱調理では除去しにくい、OA 群が蓄積しているのは中腸腺であるため(参照 28)、あらかじめ貝からこの部分を除去すれば DSP を防ぐことができるとされている(参照 24)。

OA 群 (OA 及び DTX2) に汚染されていたアイルランドの 2 系統のイガイサンプルを用いて、50℃～150℃まで温度の段階を踏んで各 10 分加熱することにより貝毒の安定性を調べた結果では、OA も DTX2 も熱に安定であり、DTX2 は、100℃より有意に分解が始まったが、OA は高温でわずかに分解されたものの 120℃でも安定であり、130℃になるまでは有意な分解は認められなかったとされている。(参照 111)

OA は DTX2 よりも熱安定性であり、OA は 120℃以上で分解されるが、DTX2 はおよそ 100℃で分解され、貝組織中では、OA 群は凍結 (−20～−80℃) で数か月安定であるとされている。また、OA 及び DTX2 の温度安定性については、2007 年に評価されており、液体及び凍結乾燥品いずれの物質においても、−20℃、4℃、20℃、40℃の温度域で 8 か月間以上経過しても安定であったとされている。(参照 8, 112)

V. 食品健康影響評価

食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会は、厚生労働省からの諮問を受けて二枚貝中の下痢性貝毒に係る基準の設定について、厚生労働省から提出された資料及び国内外の文献並びに FAO/IOC/WHO (2004) 及び EFSA の評価結果を用いて審議を行い、食品健康影響評価を実施した。

DSP は、有毒プランクトンを捕食して毒化したホタテガイ、ムラサキイガイ等の二枚貝の喫食を介して OA 群を摂取することにより発生する。OA 群を含んだ食品を喫食後、30 分から 4 時間までのうちに下痢等を発症するが、症状は一過性で、ほとんどが 72 時間以内に回復する。

日本における DSP に対するリスク管理は、MBA 通知法、規制値及び生産地におけるモニタリングによる自主検査により実施されている。

貝から抽出した脂溶性画分の調製液をマウスに腹腔内投与する MBA 通知法は、マウスへの致死性を指標としており、OA 群、PTX 群、YTX 群等を検出できるが、各毒群を区別して検出する方法ではない。PTX 群及び YTX 群については、MBA 通知法ではマウスに致死毒性を示すが、経口投与による下痢原性は認められず、ヒトへの健康影響も報告されていない。従って、本評価書ではヒトでの下痢原性が認められている OA 群 (OA、DTX1、DTX2 及び DTX3) を評価の対象とした。

OA 群による DSP 事例については日本、ヨーロッパ、北米等において子供を含む千数百人の症例が報告されている。しかし、原因貝毒の種類、発症者の貝喫食量及び摂取した貝毒量等の疫学データが報告されている事例は限られている。2009 年にフランスで発生したイガイの DTX3 を原因とする DSP 事例では、11～65 歳の 45 人を含む 11 件の中毒症例が報告され、この事例では疫学調査対象となった発症者の貝毒摂取量及び体重が報告されていた。最も少ない DTX3 摂取量で発症したヒトは、殻つき貝 150 g を喫食し、イガイ可食部 36 g、約 45 µg OA 当量の貝毒を摂取したと推定された。体重が 58 kg であったことから、LOAEL は、0.8 µg OA 当量/kg 体重と推計された。1976～1977 年に日本で発生したイガイ及びホタテガイを原因とする DSP 事例では、原因となった貝毒は DTX1 であったことが示されており、発症者 164 名のうち、10～68 歳の男女 8 名についての疫学調査が報告されている。最も少ない摂取量で発症したのは一人当たり 12 MU の貝毒を摂取したと推定された 2 名であった。この値は、1 MU を OA 当量として 4.0 µg と換算すると、48 µg OA 当量と推計された。

げっ歯類を用いた OA 群の急性毒性試験では、下痢を含む消化管障害及び肝臓への影響が認められた。投与経路により毒性の程度が異なり、経口投与では腹腔内投

与と比較して毒性が低いことが示されている。OA 及び DTX1 はげっ歯類を用いた二段階発がん試験において発がんプロモーション作用があることが示されているが、長期の慢性毒性・発がん性のデータはない。遺伝毒性試験において、染色体異常試験等、一部の試験で陽性の結果が得られているが、OA を用いた Ames 試験、HPRT 試験及び *in vitro* 不定期 DNA 合成試験の結果は陰性であった。従って、本専門調査会では、OA は遺伝毒性発がん物質ではないと判断した。

OA 群について慢性毒性のデータがないこと、二枚貝が捕食する有毒プランクトンの発生及びその密度には季節性があり、年間を通じて二枚貝に貝毒が蓄積されるわけではないこと、並びにヒトに認められている健康影響は急性毒性であり、貝毒が蓄積した二枚貝をヒトが毎日喫食する可能性は低いことから、本専門調査会は、OA 群の TDI は設定せず、ヒトにおける疫学的知見を基に ARfD を設定することとした。報告されているヒトの DSP 事例については、貝毒摂取量の推定において不確実性が伴うが、先に述べたフランスにおける事例から LOAEL を 0.8 µg OA 当量/kg 体重と設定した。これは、日本における事例から推測される LOAEL の値とほぼ一致した。この値は LOAEL であること、様々な国及び幅広い年齢の男女を含めたヒトの事例のデータに基づくこと、及びヒトにおける症状は下痢を主とする消化器症状であって、数日で回復することから、不確実係数 3 を適用し、OA 群の ARfD を 0.3 µg OA 当量/kg 体重と設定した。

なお、データが限られていたため、日本における二枚貝の喫食を介した OA 群の暴露量推計はできなかったが、ARfD を超えない二枚貝の OA 群による貝の汚染濃度を試算し、＜参考＞として記載した。

＜参考＞

平成 17～19 年度に厚生労働省が実施した喫食量推計により、日本における 1 日当たりの二枚貝の貝種ごとの喫食量推計が示された。限られたデータではあるが、平均値として最大であった値はイガイの 72.2 g であり、95 パーセンタイル値として最大であった値はイガイの 148.0 g であった。また、ホタテガイの喫食量の最大値は 297.0 g であり、二枚貝のデータにおける喫食量の最大値は養殖カキ 360.0 g であった。

これらを参考として、二枚貝の喫食量を 72 g、148 g、300 g 及び 360 g と仮定し、日本人の平均体重を 55.1kg と設定すると、ARfD (0.3 µg OA 当量/kg 体重) を超えない二枚貝の OA 群による汚染濃度はそれぞれ 229 µg /kg、111 µg/kg、56 µg/kg 及び 45 µg/kg 貝可食部と推計される。

なお、喫食量の最大値が 360 g 及び 99 パーセンタイル値としての最大が 300 g であったことから、頻度は低いながら、1 日当たりの喫食量として、貝を多く喫食する場合も考えられる。このため、貝の可食部 1 kg 当たり 0.16 mg の OA 群が含

まれている二枚貝を想定して試算すると、中腸腺を除去せずに 103 g を超えて喫食する場合には ARfD を超えることになる。しかしながら、貝毒は中腸腺に蓄積することが示されており、仮に二枚貝に貝毒が蓄積していたとしても、中腸腺を除去することにより、ヒトへの健康影響は低くなるものと考えられる。なお、現行の MBA による 0.05 MU/g の値は、FAO/IOC/WHO（2004）の評価においては、OA 群が 0.16 mg/kg を超えて存在していると推定されている。

VI. 今後の課題

本評価は、国内外における DSP 事例から得られた情報並びに FAO/IOC/WHO(2004)及び EFSA のリスク評価に用いられた情報を参照しながら、新たに得られた知見を含め、限られたデータを活用して実施した。

現時点では、利用可能な毒性データ及び疫学データは限られている。今後、以下のような知見及びデータが収集されることにより、より詳細なリスク評価が可能になると考えられる。

- ・長期毒性試験を含む各種毒性試験のデータ
- ・DSP 発症者の体重、二枚貝の喫食量及び貝毒摂取量等の詳細な疫学データ
- ・貝種ごとの二枚貝の喫食量及び喫食頻度に関するデータ
- ・国内流通二枚貝全体における OA 群の濃度分布を推計するための実態調査のデータ

また、PTX 群、YTX 群及びその他の貝毒については、ヒトへの健康影響に関するデータの収集を図ることによって、より詳細なリスク評価が可能になると考えられる。

<略語一覧>

ADI	Acceptable daily intake (一日摂取許容量)
ARfD	Acute Reference Dose (急性参照用量)
CAC	Codex Alimentarius Commission (コーデックス委員会)
DSP	Diarrhetic Shellfish Poisoning (下痢性貝中毒)
DTX	Dinophysis toxin (ジノフィシストキシン)
DTX1	Dinophysis toxin-1 (ジノフィシストキシン-1)
DTX2	Dinophysis toxin-2 (ジノフィシストキシン-2)
DTX3	Dinophysis toxin-3 (ジノフィシストキシン-3)
EFSA	European Food Safety Authority (欧州食品安全機関)
EU	European Union (欧州連合)
FAO	Food and Agriculture Organization (国際連合食糧農業機関)
FDA	Food and Drug Administration (アメリカ食品医薬品局)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (高速液体クロマトグラフ)
IOC	Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO (ユネスコ政府間海洋学委員会)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (国際純正・応用化学連合)
JMPR	WHO/FAO Joint Meeting on Pesticide Residues (合同残留農薬専門会議)
LC-MS	Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer (液体クロマトグラフ質量分析計)
LC-MS/MS	Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometer (液体クロマトグラフタンデム質量分析計)
LD ₅₀	Lethal Dose ₅₀ (半数致死量)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (最小毒性量)
LOD	Limit of Detection (検出限界)
LOQ	Limit of Quantitation (定量限界)
MBA	Mouse Bioassay (マウス毒性試験)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (無毒性量)
OA	Okadaic Acid (オカダ酸)
PP1	Serine/threonine phosphatase protein phosphatase 1
PP2A	Serine/threonine phosphatase protein phosphatase 2A
PTX	Pectenotoxin (ペクテノトキシン)
PTX1	Pectenotoxin-1 (ペクテノトキシン-1)
PTX2	Pectenotoxin-2 (ペクテノトキシン-2)
TDI	Tolerable daily intake (耐容一日摂取量)
TEF	Toxicity Equivalent Factor (毒性等価係数)
WHO	World Health Organization (世界保健機関)
YTX	Yessotoxin (イエソトキシン)

<参考資料 1>

1-1. 日本におけるフグ中毒以外の動物性自然毒食中毒の原因食品別発生状況
(1972～1984 年)

順位	原因食品	病因物質	患者数 (人)	死 者 数 (人)
1	ホタテガイ	下痢性貝毒	519	0
2	コタマガイ	下痢性貝毒	287	0
3	ムラサキイガイ	下痢性貝毒	250	0
4	アブラソコムツ	ワックス	204	0
5	イシナギ	ビタミン A	123	0
6	カンパチ	シガテラ毒	102	0
7	イガイ	下痢性貝毒	63	0
8	エゾボラモドキ	テトラミン	34	0
9	アオブダイ	水溶性麻痺毒 及び脂溶性毒	28	1
10	ドクカマス	シガテラ毒	22	0
11	ヒメエゾボラ	テトラミン	20	0
12	アサリ	下痢性貝毒	16	0

山中英明. 魚介類の自然毒による食中毒の現状. 食衛誌. 1986; 27: 343-345.

1-2. 日本における DSP 事例 (1976 年 6 月～1983 年 8 月)

発生年月日	発生場所	患者数 (人)	原因食品
1976.6.22	岩手県藤沢町	24	ムラサキイガイ
1976.6.25	宮城県本吉町	2	ムラサキイガイ
1976.7.1	宮城県本吉町	9	ムラサキイガイ
1976.7.3	宮城県本吉町	2	ムラサキイガイ
1977.6.4	岩手県久慈市	3	ムラサキイガイ
1977.6.25	神奈川県横浜市	37	ホタテガイ
1977.6.28	岩手県東山町	5	ムラサキイガイ
1977.6.30	宮城県登米町	23	ムラサキイガイ
1977.7.1	宮城県中田市	2	ムラサキイガイ
1977.7.9	福島県いわき市	3	ムラサキイガイ
1978.6.19	岩手県新里村	5	ムラサキイガイ
1978.6.25	福島県いわき市	3	ホタテガイ
1978.6.27	茨城県日立市他	366	ホタテガイ
1978.6.29	東京都杉並区	7	ムラサキイガイ
1978.7.1	神奈川県横浜市	38	ムラサキイガイ
1978.7.6	東京都町田市	6	ムラサキイガイ
1978.7.19	福島県いわき市	38	ムラサキイガイ
1978.8.6	栃木県宇都宮市	3	ムラサキイガイ
1978.8.7	栃木県鹿沼市	3	ムラサキイガイ
1978.8.7	福島県いわき市	5	ムラサキイガイ
1978.8.11	茨城県那珂湊市	10	ムラサキイガイ
1981.6.18	青森県八戸市	2	ムラサキイガイ

発生年月日	発生場所	患者数 (人)	原因食品
1981.7.13	茨城県波崎町他 (千葉、埼玉、神奈川)	275	コタマガイ
1981.7.24	福島県相馬市	16	アサリ
1981.8.2	茨城県茨城町	7	ムラサキイガイ
1981.9.22	埼玉県鴻巣市	4	ホタテガイ
1982.6.9	青森県青森市	12	ホタテガイ
1982.6.16	青森県青森市	2	ホタテガイ
1982.6.20	北海道浜益村	12	コタマガイ
1982.6.20	北海道浜益村	2	イガイ
1982.6.20	三重県四日市市	5	ムラサキイガイ
1982.6.22	大阪府泉佐野市	5	イガイ
1982.6.22	岐阜県岐阜市	1	イガイ
1982.6.22	千葉県大原町	1	ホタテガイ
1982.7.2	埼玉県蓮田市	25	ホタテガイ
1982.7.2	新潟県村上市	7	ホタテガイ
1982.7.7	新潟県村上市	44	ホタテガイ
1982.8.5	新潟県村上市	2	ホタテガイ
1982.9.6	新潟県村上市	5	ホタテガイ
1983.5.29	新潟県山北町	4	イガイ
1983.6.4	新潟県村上市	48	ムラサキイガイ
1983.6.5	新潟県村上市	5	イガイ
1983.6.6	新潟県村上市	23	イガイ
1983.6.6	新潟県山北町	10	イガイ
1983.6.7	新潟県村上市	2	イガイ
1983.6.8	新潟県村上市	3	イガイ
1983.6.8	新潟県村上市	4	イガイ
1983.6.8	新潟県山北町	4	イガイ
1983.7.18	北海道湧別町	4	ホタテガイ
1983.8.9	青森県青森市	7	ホタテガイ

山中英明. 魚介類の自然毒による食中毒の現状. 食衛誌. 1986; 27: 343-345。

1-3. 1989年～2010年までに日本で発生したDSP事例

年	都道府県*	発生月	原因魚介名	原因施設	摂食者数	患者数
1990	宮城県**	6	ホタテガイ	販売店	21	1
1993	大阪府	8	ムラサキイガイ	家庭	3	1
1994	青森県***	7	ホタテガイ	販売店	8	5

*: 全国食中毒事件録において当該食中毒を報告した都道府県

**：食中毒の発生場所は千葉県

***：食中毒の発生場所は埼玉県

登田美桜, 畝山智香子, 豊福肇, 森川馨. わが国における自然毒による食中毒事例の傾向（平成元年～22年）. 食衛誌. 2012; 53: 105-120。

<参考資料 2>

ホタテガイ検体における LC-MS 法による試算値と MBA の関係

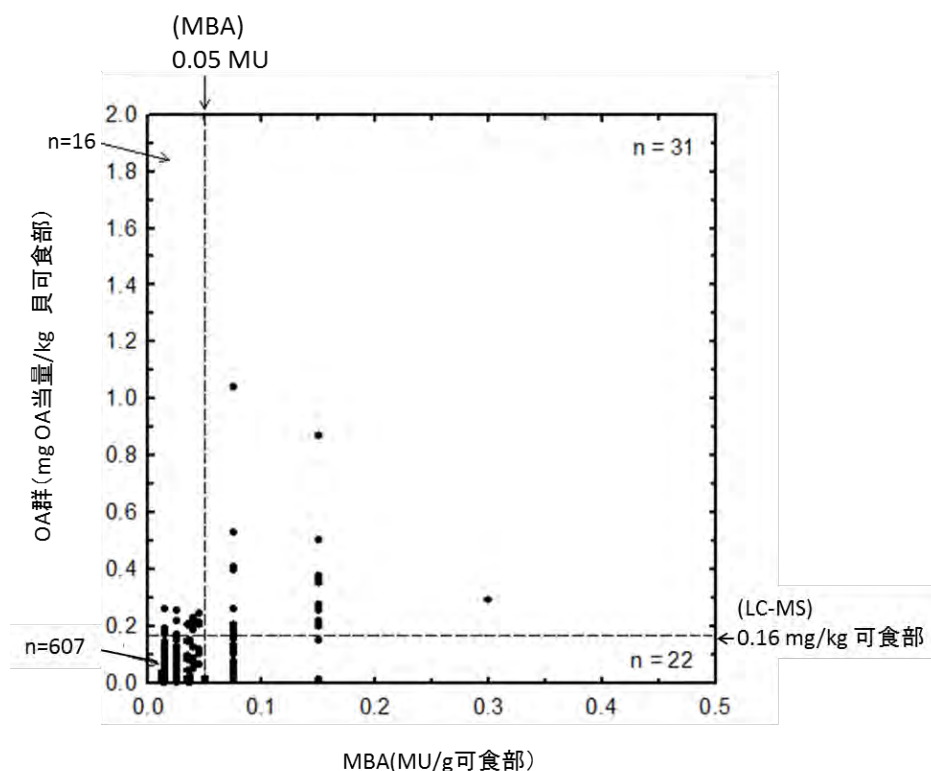


図 ホタテガイ検体における LC-MS 法による試算値と MBA の関係^{注16)} (マウス 6 匹を用いた MBA により 1 匹以上致死活性のあった 676 検体、n: 検体数)

日本の公定法による MBA がそれぞれの検体について 2 回実施され、2 回の合計で 1 匹以上のマウスが致死となったホタテガイ 676 検体において、LC-MS により分析された OA 群と MBA の結果を比較した図を示した。LC-MS 法による OA 当量が可食部 1 kg 当たり 0.16 mg を超えたものは 47 検体であり、このうち 31 検体 (66%) が MBA 陽性で、残り 16 検体が MBA 陰性であった。この 16 検体については、MBA の OA 群に対する検出感度及び測定精度の低さに起因すると考えられた。一方、LC-MS 法による OA 当量が可食部 1 kg 当たり 0.16 mg 以下を示した 629 検体中 607 検体 (約 97%) が MBA 陰性を示した。MBA 陽性を示した 22 検体については、LC-MS 測定により、PTX 群及び YTX 群の組成比が高い検体であることが裏付けられており、MBA における PTX 群、YTX 群及び遊離脂肪酸等による偽陽性反応が影響したと推定される。

^{注16)} 先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「現場即応型貝毒検出技術と安全な貝毒モニタリング体制の開発」データ。独立行政法人 水産総合研究センター中央水産研究所提供。

MBA の感度および精度の低さから、LC-MS 法による OA 当量との不一致が散見されるものの、LC-MS 法で OA 当量が可食部 1 kg 当たり 0.16 mg/kg 以下の検体のうち 97%が MBA でも陰性であったことは、これらホタテガイ検体において OA 当量と MBA 結果がほぼ対応していることを示している。

また、EFSA において、80%がイガイである二枚貝 1,210 検体について、MBA の結果と LC-MS 法による OA 群濃度を比較したところ、MBA 陰性検体の約 13% が EU の規制値である 160 µg/kg 貝可食部を超えており、MBA 陽性検体の 29% が 160 µg/kg 貝可食部以下の検体であった^{注17)}。

なお、限られたデータではあるが、2010 年 1 月より貝毒サーベイランスの方法が MBA から LC/MSMS に移行しているフランスにおいて、市場流通段階において規制値を超えて流通した貝の割合を比較した結果、2010 年末までの LC/MSMS に移行後のデータと移行前のデータに変化はなかったという報告がある^{注18)}。

このように、機器分析法へすでに移行している海外の状況、機器分析法では、評価対象である OA 群を特異的に高感度で測定できること、現行の MBA による規制値 0.05 MU/g の値は、試験に用いられたマウスの 3 匹中 2 匹が 24 時間以内に死亡する毒量であり、この場合、FAO/IOC/WHO (2004) の評価においては、OA 群が 0.16 mg OA 当量/kg 貝可食部を超えて存在していると推定されていること等を考え併せると、日本において MBA 通知法を用いて生産地で貝毒モニタリングによる出荷自主規制が行われている現行のリスク管理から、機器分析法によるリスク管理に移行しても DSP が発生するリスクが上昇することは考えにくい。

^{注17)} EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Okadaic acid and analogues. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. EFSA Journal. . 2008; 589: 1-62

^{注18)} Trotureau, S., Velge, P., Krys, S. and Hossen, V. Bilan de la premiere annee de surveillance par analyse chimique des phycotoxines lipophiles reglementees dans les coquillages mis sur le marche. 2011, Bulletin pidemiologique, santé animale et alimentation. 2011, 45, 24-26.

<参考文献>

- 1 J. K. Lloyd, J. S. Duchin, J. Borchert, H. F. Quintana and A. Robertson. Diarrhetic shellfish poisoning, Washington, USA, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19: 1314-1316
- 2 U. S. Food and Drug Administration. *Bad Bug Book Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins.* 2012;
- 3 COMMISSION REGULATION (EU) No 15/2011. 2011;
- 4 社団法人.日本食品衛生協会. 食品衛生検査指針 理化学編. 厚生労働省 監修 2005;
- 5 FAO/IOC/WHO. Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. 2004;
- 6 CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX COMMITTEE ON FISH AND FISHERY PRODUCTS. Thirty-Second Session. Proposed Draft Performance Criteria for Reference and Confirmatory Methods for Marine Biotoxins in the Standard for Raw and Live Bivalve Molluscs COMMENTS. . 2012; At Step 3 of the Procedure.:
- 7 CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX COMMITTEE ON FISH AND FISHERY PRODUCTS. Thirty-third Session. DRAFT PERFORMANCE CRITERIA FOR REFERENCE AND CONFIRMATORY METHODS FOR MARINE BIOTOXINS. . 2014; At Step 6 of the Procedure.:
- 8 EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Okadaic acid and analogues. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *EFSA Journal.* . 2008; 589: 1-62
- 9 登田美桜, 畝山智香子, 豊福肇, 森川馨. わが国における自然毒による食中毒事例の傾向 (平成元年～22 年) . *食衛誌.* 2012; 53: 105-120
- 10 FAO. Assessment and management of biotoxin risks in bivalve molluscs. *Fisheries and Aquaculture Technical Paper 551.* 2011;
- 11 新垣雄光. 貝毒を迅速に分析する。 . *ぶんせき.* 2008; 5: 236-237
- 12 T. Suzuzki, T. Jin, Y. Shirota, T. Mitsuya, Y. Okumura and T. Kamiyama. Quantification of lipophilic toxins associated with diarrhetic shellfish poisoning in Japanese bivalves by liquid chromatography–mass spectrometry and comparison with mouse bioassay. *Fisheries Science.* 2005; 71: 1370-1378
- 13 鈴木敏之. 貝毒の精密分析法の開発及び二枚貝の毒化機構に関する研究. *日本水産学会誌.* 2007; 73: 425-428

- 14 CODEX. Standard for Live and Raw Bivalve Molluscs (CODEX STAN 292-2008). 2008;
- 15 EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Pectenotoxin group1. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. EFSA Journal . 2009; 1109: 1-47
- 16 EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Yessotoxin group1. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. . EFSA Journal. 2008; 907: 1-62
- 17 T. Suzuki, V. L. Beuzenberg, L. Mackenzie and M. A. Quilliam. Discovery of okadaic acid esters in the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* from New Zealand using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2004; 18: 1131-1138
- 18 E. Fux, J. L. Smith, M. Tong, L. Guzman and D. M. Anderson. Toxin profiles of five geographical isolates of *Dinophysis* spp. from North and South America. Toxicon. 2010; 57: 275-287
- 19 B. Suarez-Gomez, M. L. Souto, M. Norte and J. J. Fernandez. Isolation and structural determination of DTX-6, a new okadaic acid derivative. J Nat Prod. 2001; 64: 1363-1364
- 20 K. Konoki, T. Onoda, R. Watanabe, Y. Cho, S. Kaga, T. Suzuki and M. Yotsu-Yamashita. In vitro acylation of okadaic acid in the presence of various bivalves' extracts. Mar Drugs. 2013; 11: 300-315
- 21 T. Yasumoto, M. Murata, Y. Oshima, M. Sano, G. Matsumoto and J. Clardy. Diarrhoeic shellfish toxins. Tetrahedron. 1985; 41: 1019-1025.
- 22 T. Suzuki, T. Kamiyama, Y. Okumura, K. Ishihara, R. and M. Kaneniwa. Liquid-chromatographic hybrid triple–quadrupole linear-ion-trap MS/MS analysis of fatty-acid esters of dinophysistoxin-1 in bivalves and toxic dinoflagellates in Japan. Fisheries Science. 2009; 75: 1039-1048
- 23 K. Larsen, D. Petersen, A. L. Wilkins, I. A. Samdal, M. Sandvik, T. Rundberget, D. Goldstone, V. Arcus, P. Hovgaard, F. Rise, N. Rehmann, P. Hess and C. O. Miles. Clarification of the C-35 stereochemistries of dinophysistoxin-1 and dinophysistoxin-2 and its consequences for binding to protein phosphatase. Chem Res Toxicol. 2007; 20: 868-875
- 24 T. Yasumoto, M. Murata, Y. Oshima, G. K. Matsumoto and J. Clardy. Diarrhoeic shellfish poisoning. In E.P. Ragelis, ed. Seafood toxins. ACS Symposium Series No. 262. American Chemical Society. 1984; 207–214
- 25 M. Murata, M. Shimatani, H. Sugitani, O. Y and Y. T. Isolation and structural elucidation of the causative toxin of the diarrhetic shellfish

- poisoning. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 1982; 48: 549-552
- 26 J. Blanco, A. M. Morono and L. Fernandez. TOXIC EPISODES IN SHELLFISH, PRODUCED BY LIPOPHILIC PHYCOTOXINS: AN OVERVIEW. Revista Galega dos Recursos Mariños (Monog). 2005; 1-70
 - 27 T. Hu, J. Doyle, D. Jackson, J. Marr, E. Nixon, S. Pleasance, M. A. Quilliam, J. A. Walter and J. L. C. Wright. Isolation of a new diarrhetic shellfish poison from Irish mussels. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1992; 39-41
 - 28 T. Yasumoto, Y. Oshima and M. Yamaguchi. Occurrence of a new type of shellfish poisoning in the Tohoku district. . Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 1978; 44: 1249-1255
 - 29 T. Suzuki, H. Ota and M. Yamasaki. Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-*O*-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten yessoensis*. Toxicon. 1999; 37: 187-98
 - 30 B. Reguera. OUTBREAK CAUSED BY LOW CONCENTRATIONS OF *DINOPHYSIS* SPP.: WHAT CAN REMOTE SENSING DO TO HELP. MONITORING OF THESE EVENTS. 2003;
 - 31 安元健. 貝毒に関する最近の動向. 調理科学. 1993; 26: 67-71
 - 32 V. Burgess and G. Shaw. Pectenotoxins-an issue for public health: a review of their comparative toxicology and metabolism. Environ Int. 2001; 27: 275-283
 - 33 P. Díaz, Molinet C, M. A. Caceres and A. Valle-Levinson. Harmful Algae. 10:155-164. Seasonal and intratidal distribution of *Dinophysis* spp. in a Chilean fjord. . 2011;
 - 34 T. Chen, X. Xu, J. Wei, J. Chen, R. Miu, L. Huang, X. Zhou, Y. Fu, R. Yan, Z. Wang, B. Liu and F. He. Food-borne disease outbreak of diarrhetic shellfish poisoning due to toxic mussel consumption: the first recorded outbreak in china. PLoS One. 2011; 8: e65049
 - 35 J. H. Kim, K. J. Lee, T. Suzuki, Y. S. Kang, P. H. Kim, K. C. Song and T. S. Lee. Seasonal Variability of Lipophilic Shellfish Toxins in Bivalves and Waters, and Abundance of *Dinophysis* spp. in Jinhae Bay, Korea. . Journal of Shellfish Research. . 2010; 29: 1061-1067.
 - 36 地方独立行政法人 北海道道立総合研究機構. 北海道. 赤潮・特殊プランクトン 予察調査報告書. 平成 26 年 2 月. 2014;
 - 37 M. P. Vrancic, I. Ujevic, Z. N. Gladan and A. Furey. Accumulation of Phycotoxins in the Mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Central Adriatic Sea. CROATICA CHEMICA ACTA. 2006; 79: 291-297

- 38 D. Qiu, L. Huang, S. Liu and S. Lin. Nuclear, mitochondrial and plastid gene phylogenies of *Dinophysis miles* (Dinophyceae): evidence of variable types of chloroplasts. PLoS One. 2012; 6: e29398
- 39 A. Li, J. Ma, J. Cao and P. McCarron. Toxins in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) associated with diarrhetic shellfish poisoning episodes in China. Toxicon. 2012; 60: 420-425
- 40 FAO. Marine biotoxins. FAO Food and Nutrition Paper 80. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. 2004;
- 41 B. Reguera, P. Riobo, F. Rodriguez, P. A. Diaz, G. Pizarro, B. Paz, J. M. Franco and J. Blanco. Dinophysis toxins: causative organisms, distribution and fate in shellfish. Mar Drugs. 2014; 12: 394-461
- 42 T. Kamiyama and T. Suzuk. Production of dinophysistoxin-1 and pectenotoxin-2 by a culture of *Dinophysis acuminata* (Dinophyceae). Harmful Algae. 2009; 8: 312-317
- 43 T. Suzuki, A. Miyazono, K. Baba, R. Sugawara and T. Kamiyama. LC-MS/MS analysis of okadaic acid analogues and other lipophilic toxins in single-cell isolates of several *Dinophysis* species collected in Hokkaido, Japan. Harmful Algae. 2009; 8: 233-238
- 44 J. S. Lee, T. Yanagi, R. Kenna and T. Yasumoto. Determination of diarrhoeic shellfish toxins in various dinoflagellate species. Agric. Biol. Chem. 1987; 51: 877-881.
- 45 T. Aune and M. Yndestad. Chapter 5. Diarrhoeic shellfish poisoning. In I.R. Falconer, ed. Algal toxins in seafood and drinking water, London, Academic Press. 1993; 87-104.
- 46 M. Kat. The occurrence of *Prorocentrum* species and coincidental gastrointestinal illness of mussel consumers. Toxic Dinoflagellates. Amsterdam, Elsevier. 1979; 215-220
- 47 K. Tachibana, P. J. Scheuer, Y. Tsukitani, H. Kikuchi, D. Van Engen, J. Clardy, Y. Gopichand and J. Schmitz. Okadaic acid, a cytotoxic polyether from two marine sponges of the genus *Halichondria*. J. Am. Chem. Soc. 1981; 103: 2469-2471.
- 48 T. Yasumoto, Y. Oshima, W. Sugawara, Y. Fukuyo, H. Oguri, T. Igarashi and N. Fujita. Identification of *Dinophysis fortii* as the Causative Organism of Diarrhetic Shellfish Poisoning. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. . 1980; 46: 1405-1411
- 49 佐藤七朗, 石下真通, 川瀬史郎, 田沢悌二郎, 中川哲雄. 麻痺性および下痢性貝毒による食中毒の北海道における初発事例. 道衛研所報. 1983; 第33集 78-83

- 50 野々村文雄, 岩田好博, 中屋謙一, 杉谷哲, 山田不二造, 近藤和久, 円田辰吉, 臼井宗一, 井上睦. 岐阜県で発生した下痢性貝毒による食中毒事例 [An Outbreak of Food Poisoning due to Diarrhetic Shellfish Poison in Gifu Prefecture]. 食衛誌. 1983; 24: 573-578
- 51 COT (The Committee on Toxicity of Chemicals in Food and Environment). Statement on risk assessment of marine biotoxins of the okadaic acid, pectenotoxin, azaspiracid and yessotoxin groups in support of human health. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/cotstatementlipophilic200616.pdf>. 2006;
- 52 P. Vale and M. S. M. A. de. First confirmation of human diarrhoeic poisonings by okadaic acid esters after ingestion of razor clams (*Solen marginatus*) and green crabs (*Carcinus maenas*) in Aveiro lagoon, Portugal and detection of okadaic acid esters in phytoplankton. Toxicon. 2002; 40: 989-996
- 53 V. Hossen, N. Jourdan-da Silva, Y. Guillois-Becel, J. Marchal and S. Kryszewski. Food poisoning outbreaks linked to mussels contaminated with okadaic acid and ester dinophysistoxin-3 in France, June 2009. Euro Surveill. 2009; 16:
- 54 浜野米一, 浅尾努, 井上清, 小田美光, 山本博之, 木下喜雄, 新原富夫, 国田信治. 魚貝毒に関する研究 (第 1 報) —脂溶性貝毒が原因と思われる食中毒事例について. 大阪府立公衛研所報 食品衛生編. 1979; 10: 5-8
- 55 B. Underdal, M. Yndestad and T. Aune. DSP intoxication in Norway and Sweden, Autumn 1984-Spring 1984. . In D.M. Anderson, A.W. White & D.G. Baden, eds. Toxic dinoflagellates, Amsterdam, Netherlands, Elsevier. 1985; 489-494
- 56 P. Vale and M. A. Sampayo. Esters of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in Portuguese bivalves related to human poisonings. Toxicon. 1999; 37: 1109-1121
- 57 M. Taylor, L. McIntyre, M. Ritson, J. Stone, R. Bronson, O. Bitzikos, W. Rourke, E. Galanis and Outbreak Investigation Team. Outbreak of Diarrhetic Shellfish Poisoning associated with mussels, British Columbia, Canada. Mar Drugs. 2013; 11: 1669-1676
- 58 T. Torgersen, J. Aasen and T. Aune. Diarrhetic shellfish poisoning by okadaic acid esters from Brown crabs (*Cancer pagurus*) in Norway. Toxicon. 2005; 46: 572-578
- 59 T. Aune, T. Torgersen, J. Aasen, T. Castberg, L.-J. Naustvoll and A. Woll. Risk assessment of DSP toxins in brown crabs (*Cancer pagurus*). In:

- Molluscan Shellfish Safety. Proceedings of the 5th International Conference on Molluscan Shellfish Safety, Galway, Ireland, June 14th-18th, 2004. 2006; 464-468
- 60 W. G. Matias and E. E. Creppy. Evidence for enterohepatic circulation of okadaic acid in mice. . *Toxic Substance Mechanism*. 1996; 15: 405-414
- 61 W. G. Matias, A. Traore and E. E. Creppy. Variations in the distribution of okadaic acid in organs and biological fluids of mice related to diarrhoeic syndrome. *Hum Exp Toxicol*. 1999; 18: 345-350
- 62 E. Ito, T. Yasumoto, A. Takai, S. Imanishi and K. Harada. Investigation of the distribution and excretion of okadaic acid in mice using immunostaining method. *Toxicon*. 2002; 40: 159-165
- 63 L. Le Hegarat, A. G. Jacquin, E. Bazin and V. Fessard. Genotoxicity of the marine toxin okadaic acid, in human Caco-2 cells and in mice gut cells. *Environ Toxicol*. 2006; 21: 55-64
- 64 C. García, D. Truan, M. Lagos, J. P. Santelices, J. C. Díaz and N. Lagos. Metabolic transformation of dinophysistoxin-3 into dinophysistoxin-1 causes human intoxication by consumption of O-acyl-derivatives dinophysistoxins contaminated shellfish. *J Toxicol Sci*. 2005; 30: 287-296
- 65 T. Aune, S. Larsen, J. A. Aasen, N. Rehmann, M. Satake and P. Hess. Relative toxicity of dinophysistoxin-2 (DTX-2) compared with okadaic acid, based on acute intraperitoneal toxicity in mice. *Toxicon*. 2007; 49: 1-7
- 66 A. Tubaro, S. Sosa, M. Carbonatto, G. Altinier, F. Vita, M. Melato, M. Satake and T. Yasumoto. Oral and intraperitoneal acute toxicity studies of yessotoxin and homoyessotoxins in mice. *Toxicon*. 2003; 41: 783-792
- 67 T. Aune, A. Espenes, J. A. Aasen, M. A. Quilliam, P. Hess and S. Larsen. Study of possible combined toxic effects of azaspiracid-1 and okadaic acid in mice via the oral route. *Toxicon*. 2012; 60: 895-906
- 68 石下真通, 佐藤七朗, 安元健. 下痢性貝毒成分（オカダ酸ならびにペクテノキシニン-2）投与マウスに関する病理学的研究。 . 道衛研所報. 1989; 38: 15-18
- 69 H. Ogino, M. Kumagai and T. Yasumoto. Toxicologic evaluation of yessotoxin. *Nat Toxins*. 1997; 5: 255-259
- 70 T. Yasumoto, M. Murata, J.-S. Lee and K. Torigoe. Polyether toxins produced by dinoflagellates. . In S. Natori, K. Hashimoto & Y. Ueno, eds. *Mycotoxins and phycotoxins*, '88. 1989; Amsterdam, Netherlands, Elsevier.: 375-382
- 71 K. Terao, E. Ito, T. Yanagi and T. Yasumoto. Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning. I. Ultrastructural changes in the

- small intestine and liver of suckling mice induced by dinophysistoxin-1 and pectenotoxin-1. *Toxicon*. 1986; 24: 1141-1151
- 72 K. Terao, E. Ito, M. Ohkusu and T. Yasumoto. A comparative study of the effects of DSP-toxins on mice and rats. In *Toxic Phytoplankton Blooms in the sea*. Smayda, T.J.; Shimizu, Y., Eds.; Elsevier: New York, NY, USA. 1993; 581-586
- 73 A. Tubaro, S. Sosa, G. Altinier, M. R. Soranzo, M. Satake, R. Della Loggia and T. Yasumoto. Short-term oral toxicity of homoyessotoxins, yessotoxin and okadaic acid in mice. *Toxicon*. 2004; 43: 439-445
- 74 Y. Hamano, Y. Kinoshita and T. Yasumoto. Enteropathogenicity of diarrhoeic shellfish toxins in intestinal models. *Journal of the Food Hygiene Society of Japan*. 1986; 27: 375-379
- 75 T. Yanagi, M. Murata, K. Torigoe and T. Yasumoto. Biological Activities of Semisynthetic Analogs of Dinophysistoxin-3, the Major Diarrhetic Shellfish Toxin. *Agric. Biol. Chem*. 1989; 53: 525-529
- 76 M. Hosokawa, H. Tsukada, T. Saitou, M. Kodama, M. Onomura, H. Nakamura, K. Fukuda and Y. Seino. Effects of okadaic acid on rat colon. *Dig Dis Sci*. 1998; 43: 2526-2535
- 77 S. Sosa, M. Ardizzzone, D. Beltramo, F. Vita, V. Dell'Ovo, A. Barreras, T. Yasumoto and A. Tubaro. Repeated oral co-exposure to yessotoxin and okadaic acid: a short term toxicity study in mice. *Toxicon*. 2013; 76: 94-102
- 78 M. Suganuma, H. Fujiki, H. Suguri, S. Yoshizawa, M. Hirota, M. Nakayasu, M. Ojika, K. Wakamatsu, K. Yamada and T. Sugimura. Okadaic acid: an additional non-phorbol-12-tetradecanoate-13-acetate-type tumor promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85: 1768-1771
- 79 H. Fujiki, M. Suganuma, H. Suguri, S. Yoshizawa, K. Takagi, N. Uda, K. Wakamatsu, K. Yamada, M. Murata, T. Yasumoto and et al. Diarrhetic shellfish toxin, dinophysistoxin-1, is a potent tumor promoter on mouse skin. *Jpn J Cancer Res*. 1988; 79: 1089-1093
- 80 H. Fujiki, M. Suganuma, S. Yoshizawa, S. Nishiwaki, B. Winyar and T. Sugimura. Mechanisms of action of okadaic acid class tumor promoters on mouse skin. *Environ Health Perspect*. 1991; 93: 211-214
- 81 National Toxicology Program (NTP). Abstract for TR-444-o-Benzyl-p-Chlorophenol (CASRN 120-32-1), Initiation/Promotion Study of o-Benzyl-p-Chlorophenol (CAS No. 120-32-1) in Swiss (CD-1®) Mice (Mouse Skin Study) 1995;
- 82 M. Suganuma, M. Tatematsu, J. Yatsunami, S. Yoshizawa, S. Okabe, D. Uemura and H. Fujiki. An alternative theory of tissue specificity by tumor

- promotion of okadaic acid in glandular stomach of SD rats. *Carcinogenesis*. 1992; 13: 1841-1845
- 83 W. G. Matias and E. E. Creppy. Transplacental passage of [³H]-okadaic acid in pregnant mice measured by radioactivity and high-performance liquid chromatography. *Hum Exp Toxicol*. 1996; 15: 226-230
 - 84 S. Aonuma, T. Ushijima, M. Nakayasu, H. Shima, T. Sugimura and M. Nagao. Mutation induction by okadaic acid, a protein phosphatase inhibitor, in CHL cells, but not in *S. typhimurium*. *Mutat Res*. 1991; 250: 375-381
 - 85 L. Le Hegarat, F. Nessler, A. Mourot, D. Marzin and V. Fessard. Lack of DNA damage induction by okadaic acid, a marine toxin, in the CHO-Hprt and the in vitro UDS assays. *Mutat Res*. 2004; 564: 139-47
 - 86 L. Le Hegarat, L. Puech, V. Fessard, J. M. Poul and S. Dragacci. Aneugenic potential of okadaic acid revealed by the micronucleus assay combined with the FISH technique in CHO-K1 cells. *Mutagenesis*. 2003; 18: 293-298
 - 87 V. Fessard, Y. Grosse, A. Pfohl-Leszkowicz and S. Puiseux-Dao. Okadaic acid treatment induces DNA adduct formation in BHK21 C13 fibroblasts and HESV keratinocytes. *Mutat Res*. 1996; 361: 133-141
 - 88 C. Huynh, E. Pinell, S. Puiseux-Dao, H. Boulekbache and A. Pfohl-Leszkowicz. Okadaic acid and DNA adduct formation. *Harmful Algae*. 1998; Reguera B, Blanco J, Fernandez ML, Wyatt T, eds:
 - 89 C. Bialojan and A. Takai. Inhibitory effect of a marine-sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. Specificity and kinetics. *Biochem J*. 1988; 256: 283-290
 - 90 R. E. Honkanen, D. E. Mowdy and R. W. Dickey. Detection of DSP-toxins, okadaic acid, and dinophysis toxin-1 in shellfish by serine/threonine protein phosphatase assay. *J AOAC Int*. 1996; 79: 1336-1343
 - 91 A. Takai and G. Mieskes. Inhibitory effect of okadaic acid on the p-nitrophenyl phosphate phosphatase activity of protein phosphatases. *Biochem J*. 1991; 275 (Pt 1): 233-239
 - 92 T. A. Haystead, A. T. Sim, D. Carling, R. C. Honnor, Y. Tsukitani, P. Cohen and D. G. Hardie. Effects of the tumour promoter okadaic acid on intracellular protein phosphorylation and metabolism. *Nature*. 1989; 337: 78-81
 - 93 P. Cohen, C. F. Holmes and Y. Tsukitani. Okadaic acid: a new probe for the study of cellular regulation. *Trends Biochem Sci*. 1990; 15: 98-102
 - 94 S. Pierotti, S. Ferrari, C. Malaguti, A. Milandri, R. Poletti and G. P. Rossini. Functional assay to measure yessotoxins in contaminated mussel samples.

- In P. Holland, L. Rhodes & L. Brown, eds. Proc. HABTech03 Workshop. Cawthron Report No. 906. 2004; Nelson, November 2003: 96-101
- 95 V. Valdiglesias, M. V. Prego-Faraldo, E. Pasaro, J. Mendez and B. Laffon. Okadaic acid: more than a diarrheic toxin. *Mar Drugs*. 2013; 11: 4328-4349
- 96 A. Takai, M. Murata, K. Torigoe, M. Isobe, G. Mieskes and T. Yasumoto. Inhibitory effect of okadaic acid derivatives on protein phosphatases. A study on structure-affinity relationship. *Biochem J*. 1992; 284 (Pt 2): 539-544
- 97 S. Nishiwaki, H. Fujiki, M. Suganuma, H. Furuya-Suguri, R. Matsushima, Y. Iida, M. Ojika, K. Yamada, D. Uemura, T. Yasumoto and et al. Structure-activity relationship within a series of okadaic acid derivatives. *Carcinogenesis*. 1990; 11: 1837-1841
- 98 G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson and A. D. Cembella. Manual on harmful marine microalgae. IOC Manuals and Guides 33. UNESCO. 1995;
- 99 J. Tripuraneni, A. Koutsouris, L. Pestic, P. De Lanerolle and G. Hecht. The toxin of diarrheic shellfish poisoning, okadaic acid, increases intestinal epithelial paracellular permeability. *Gastroenterology*. 1997; 112: 100-108
- 100 A. Ehlers, J. Scholz, A. These, S. Hessel, A. Preiss-Weigert and A. Lampen. Analysis of the passage of the marine biotoxin okadaic acid through an in vitro human gut barrier. *Toxicology*. 2010; 279: 196-202
- 101 D. A. Fernandez, M. C. Louzao, M. Fraga, N. Vilarino, M. R. Vieytes and L. M. Botana. Experimental basis for the high oral toxicity of dinophysistoxin 1: a comparative study of DSP. *Toxins (Basel)*. 2014; 6: 211-228
- 102 今井一郎, 福代康夫, 広石伸互. わが国における貝毒発生の歴史的経過と水産業への影響. 水産学シリーズ 153 貝毒研究の最先端—現状と展望. 2007;
- 103 山中英明. 魚介類の自然毒による食中毒の現状. 食衛誌. 1986; 27: 343-345
- 104 厚生労働省. 平成 22 年度から平成 24 年度までの輸入実績.
- 105 厚生労働省. 食安基発 0123. 第 1 号. 平成 26 年 1 月 23 日. 平成 17~19 年度食品・添加物等規格基準に関する実態調査
食品摂取頻度・摂取量調査取りまとめ報告書 (国立健康・栄養研究所). 厚生労働省提出 追加資料. 2014;
- 106 第 29 回かび毒・自然毒等専門調査会資料 都道府県からの報告件数 (農林水産省取りまとめ). 2014;
- 107 厚生労働省. 「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業 (現場即応型貝毒検出技術と安全な貝毒モニタリング体制の開発)」において実施した国内産二枚貝の機器分析法による分析. 2014;
- 108 橋本諭, 西村一彦, 高橋健一, 板橋豊. 遊離脂肪酸による下痢性貝毒マウス試験偽陽性の発生評価. 食衛誌. 2011; 52: 194-198

- 109 畑直亜, 鈴木敏之, 辻将治 and 中西麻希. 伊勢湾における有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis* 属の発生とムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* の毒化との関係。 . 日本水産学会誌. 2011; 77: 1065-1075
- 110 F. M. Blancol J, Miguez A, Morono A. Okadaic acid depuration in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: one- and two-compartment models and the effect of environmental conditions. MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES. 1999; 176: 153 -163
- 111 P. McCarron, J. Kilcoyne and P. Hess. Effects of cooking and heat treatment on concentration and tissue distribution of okadaic acid and dinophysistoxin-2 in mussels (*Mytilus edulis*). Toxicon. 2008; 51: 1081-1089
- 112 McCarron, P. Emteborg, H. and Hess, P. Freeze-drying for the stabilisation of shellfish toxins in mussel tissue (*Mytilus edulis*) reference materials. Anal. Bioanal. Chem. 2007. 387(7), 2475-2486

<別添>

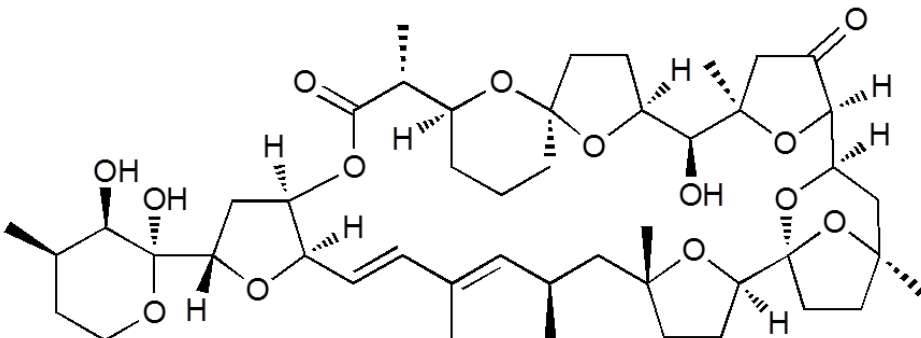
I. PTX 群について

1. PTX の概要

PTX 群は *Dinophysis* 属より産生され、種々の貝より検出されている(参照 1, 2)。PTX 群は、OA 群とともに検出されることが多いとされている(参照 2)。PTX1 及び PTX2 は日本のホタテガイ (*Patinopecten yessoensis*) より単離された(参照 3)。二枚貝は消化管中で PTX2 を代謝して各種の PTX 群化合物を生成するとされている(参照 4, 5)。日本のホタテガイは PTX2 を PTX1、PTX3 へと酸化変換し、最終代謝物と推定される PTX6 を蓄積する(参照 4, 5)。また、PTX2 はイガイ (Greenshell mussels (*Perna canaliculus*))、Blue mussels (*Mytilus galloprovincialis*) 及びニュージーランドホタテガイ (scallops (*Pecten novaezelandiae*)) 等多くの二枚貝において、速やかに PTX2 セコ酸 (PTX2 SA) 及びそのエピマーである 7-epi-PTX2 セコ酸 (7-epi-PTX2 SA) となる(参照 6, 7)。ヨーロッパの貝から検出される主な PTX 群は、PTX1、PTX2、PTX2 セコ酸及び 7-epi PTX2 セコ酸である(参照 8)。PTX2 の概要を表 1 にまとめた。

これまでに 15 の PTX 類縁体が単離、同定されている(参照 2, 9)。PTX 群は、脂溶性で有機溶媒に溶解するが、酸触媒による異性化反応によりスピロケタール異性体が産生される(参照 10, 11)。PTX 群は、強アルカリ条件下で容易に分解されるが、安定性についての詳細な研究は行われていないとされている(参照 9)。

表 1 PTX2 の概要

項目	
CAS	No.97564-91-5
分子式	C ₄₇ H ₇₀ O ₁₄
分子量	859.063 ^{注19)}
構造	

^{注19)} 日本化学物質辞書 (http://nikkajiweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.jsp) 2014 年 3 月

2. 安全性に係る知見の概要

実験動物を用いた急性毒性試験の結果を以下にまとめた。

(1) 急性毒性

マウスにPTX群を腹腔内投与した致死量を表2に示した。マウスにPTX群を腹腔内投与した致死量を表2に示した。PTX1及びPTX2の毒性が高く、PTX3、PTX4及びPTX6はそれらより毒性が低い。また、PTX7、PTX8、PTX9及びPTX2セコ酸の毒性は非常に低く、5,000 µg/kg 体重の用量でも死亡は認められていない(表2)。

表 2 PTX 群をマウスに腹腔内投与した時の致死量

貝毒の種類	致死量 (µg/kg 体重)
PTX 群	160～770
PTX1	250
PTX2	260
	LD ₅₀ :219 ～411
PTX3	350
PTX4	770
PTX6	500
PTX7	>5,000
PTX8	>5,000
PTX9	>5,000
PTX11	LD ₅₀ :250
PTX2 セコ酸	>5,000

(参照 12, 13, 14, 15)より作成。

マウスにPTX群を経口投与及した致死量を表3に示した。経口投与ではPTX2、PTX2 セコ酸、PTX11ともに5,000 µg/kg 体重投与まで死亡はみられず、肉眼的観察においても毒性所見はみられなかった(参照 4, 13, 16)。なお、PTX2の経口投与でマウスの死亡が報告されている最小用量は25 µg/kg 体重であったが、この試験では、25 µg/kg 体重で4匹中1匹、100 µg/kg 体重で4匹中0匹、200 µg/kg 体重で5匹中1匹、300 µg/kg 体重で5匹中2匹及び400µg/kg 体重投与で4匹中1匹(参照 17)と用量相関はみられなかった(参照 18)。

表 3 PTX 群を経口投与した時の致死量

貝毒の種類	致死量 ($\mu\text{g/kg}$ 体重)
PTX2	>5,000
PTX2セコ酸	>5,000
PTX6	>5,000
PTX11	>5,000

(参照 12, 13, 14, 19) より作成。

PTX1、PTX2、PTX6又はPTX11をマウスに投与する急性毒性試験が実施されている。

PTX1を750 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で経口投与したICRマウス（雄）又はWistarラット（雄）の小腸上皮組織に変化はみられなかった(参照 20)。また、150～1,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量でPTX1を乳のみマウスに腹腔内投与した結果、小腸に影響はみられなかった(参照 21)。更に、ウサギ腸管ループ試験及び乳のみマウス（CD-1）に経口投与後した下痢原性試験においても結果は陰性であり、PTX1に下痢原性がないことが報告されている(参照 22)。

乳のみマウスに500 $\mu\text{g/kg}$ 体重以上の用量で腹腔内投与すると、肝臓にうっ血及び肝小葉の門脈域に空胞が認められた。(参照 21)

PTX2を250～2,500 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量でマウスに経口投与した急性毒性試験において、用量依存的な腸管の障害が報告されている(参照 23)。しかし、その後の研究では、PTX2を750 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量でマウス（ICR、雄）又はラット（Wistar、雄）に経口投与した急性毒性試験の結果、小腸上皮組織に変化はみられなかった(参照 20)。また、マウス（Swiss、雌）に5,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重のPTX2を経口投与した急性毒性試験の結果においても、毒性所見は認められなかった(参照 13)。更に、PTX1を乳のみマウス（BALB/c、雌雄）に150～1,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で腹腔内又は経口投与した毒性試験においても、下痢は認められなかった(参照 21)。一方、PTX1は、腹腔内投与では500 $\mu\text{g/kg}$ 体重以上、経口投与で1,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重以上の投与で、肝臓の障害が報告されている(参照 21)。

PTX6を2,000～7,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量でマウス（ICR、雄）に経口投与し、投与60～120分後に腸管の重量を調べた結果、腸管に水溶性物質の蓄積はみられず、下痢原性はなかった。また、ラット（Wistar、雄）に5,000 $\mu\text{g/kg}$ 体重のPTX6を経口投与して腸管を調べた試験においても腸管の水溶性物質蓄積はみられなかった。剖検の結果、空腸から回腸にかけて水腫がみられ絨毛が短縮していた。しかし、この所見は投与8時間後には確認できず、回復したと考えられた。(参照 19)

PTX11をSwissマウス（雌）に148～325 $\mu\text{g/kg}$ 体重の用量で腹腔内投与した試験では、下痢は認められなかった。(参照 14)

以上のように、PTX1、2、6、11では明らかな下痢原性が認められないものの、マウスへの腹腔内投与における組織学的検査では、PTX1、PTX2及びPTX6に肝小葉の門脈域に空胞形成を特徴とする肝臓への影響が報告されている。その他のPTX 群については報告がないため不明である。

PTX6は、アクチンの重合を抑制することが示されている。OA群の貝毒と異なりPTX1にはプロテインホスファターゼの阻害作用はない(参照 24)。

(2) 亜急性毒性、慢性毒性・発がん性、生殖発生毒性、遺伝毒性及びその他（神経毒性、免疫毒性）

報告なし。

(3) 人における暴露

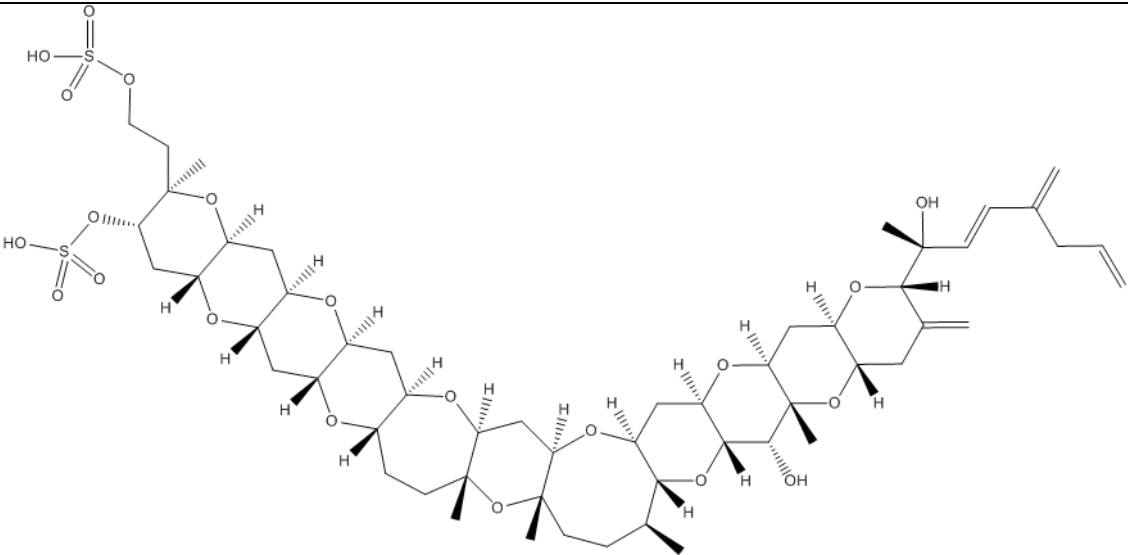
1997年及び2000年にPTXを原因とする下痢性の中毒事例がオーストラリアで発生したと報告されたが、後にこの原因物質はPTXではなく、OAエステル(DTX3)であったことが明らかとなった。従って、現在までにPTXのヒトへの健康影響の報告はない。(参照 2)

II. YTX 群

1. YTX 群の概要

YTX は日本のホタテガイ (*Patinopecten yessoensis*) 中腸腺より単離され(参照 25)、その名が付けられた。YTX 群は *Prorocentrum reticulatum* (*P. reticulatum*) より産生され、イタリア、ノルウェー、スペイン、米国、チリ、カナダ、オーストラリア、日本、ニュージーランド、ノルウェー、英国等、世界の種々の地域の二枚貝より検出されている(参照 16, 26, 27)。 *P. reticulatum* において、90 以上の YTX 類縁体が存在することが示されている(参照 28, 29)。 YTX 群は、エーテル環 11 個がはしご状に連結した特異な構造を有し、1 つの不飽和側鎖、及び 2 つの硫酸エステルより構成される(参照 28)。 YTX の類縁体は、熱による影響は受けないようであり、熱を使用した濃縮過程においても貝毒は減衰しないとされている(参照 28, 30)。 YTX 群における硫酸エステルの存在は、この分子により極性を持たせ、メタノール水溶液でも十分に抽出できるとされている(参照 31)。

表 4 YTX の概要

CA S	No.112514-54-2
分子 式	C ₅₅ H ₈₂ O ₂₁ S ₂
分子 量	1143.357 ^{注20)}
構造	

^{注20)} 日本化学物質辞書 (http://nikkajiweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.jsp) 2014 年 3 月

2. 安全性に係る知見の概要

YTX の毒性知見は限られており、実験動物を用いた慢性毒性試験データはない。また、現在までに YTX のヒトへの健康影響の報告はない。実験動物を用いた急性毒性試験の結果を以下にまとめた。

マウスに YTX を腹腔内投与した LD₅₀ は、100～750 µg/kg 体重であった。マウスに YTX を経口投与した試験からは、1 mg/kg 体重投与しても致死及び毒性所見は認められず、腹腔内投与に比べて明らかに毒性が低いことが示されている。(参照 17, 28, 32)

乳のみマウスを用いた腸管ループ試験において、一匹当たり YTX を 0.1～0.4 µg 投与した結果、YTX に下痢原性は認められなかった。また、YTX に PP2A 阻害作用は認められなかった。経口摂取による YTX の毒性がマウスで観察されなかったことより、YTX の経口摂取によるヒトの健康への影響はほとんど無いと著者らは考えた。(参照 17)

YTX は、高投与量で心筋細胞の影響が報告されている(参照 33)。

NMRI マウス、BOM マウス (雌、一群 3 匹) に 0.1、0.25、0.5、0.75 又は 1.0 mg/kg 体重の YTX を腹腔内投与又は、1.0、2.5、5.0、7.5 又は 10.0 mg/kg 体重の YTX を経口投与して、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、空腸、直腸及び脾臓の組織学的検査が実施された。変化がみられたのは、心筋のみで、0.75 mg/kg 体重以上の YTX 腹腔内投与群の心筋細胞に軽度の水腫が認められた。また、YTX を 0.75 mg/kg 体重以上の用量で腹腔内投与及び 7.5 mg/kg 体重以上の用量で経口投与すると、主に毛細血管近傍の心筋細胞内に軽度の水腫が認められた。同様の所見は YTX を投与しない対照群の 1 匹にもみられた。更に、1.0 mg/kg 体重の YTX を腹腔内投与及び 10.0 mg/kg 体重の YTX を経口投与したマウスの心筋組織を用いた電子顕微鏡検査では、心筋細胞の膨大、筋原線維から分離した球形のミトコンドリアが認められた。(参照 32)

心臓への影響について、1 mg/kg/日の投与量の YTX を 7 日間経口投与したマウスの心筋の電子顕微鏡による観察で認められた変化は回復すること(参照 34)、また、血中乳酸脱水素酵素 (LDH) 及びクレアチニンキナーゼ (CK) の変化はみられず、アポトーシスを示す DNA のフラグメント化もみられなかった (参照 35)。

<別添参考文献>

- 1 FAO. Marine biotoxins. FAO Food and Nutrition Paper 80. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. 2004;
- 2 EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Pectenotoxin group1. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. EFSA Journal. . 2009; 1109: 1-47.
- 3 T. Yasumoto, M. Murata, Y. Oshima, M. Sano, G. Matsumoto and J. Clardy. Diarrhoeic shellfish toxins. Tetrahedron. 1985; 41: 1019-1025.
- 4 鈴木敏之, 高坂祐樹, 木村淳子, 松嶋良次, 渡邊龍一, 村田雅一. 貝毒監視体制の世界的な動向と日本の現状. 食衛誌. 2013; 54: 265-274
- 5 T. Suzuki, T. Mitsuya, H. Matsubara and M. Yamasaki. Determination of pectenotoxin-2 after solid-phase extraction from seawater and from the dinoflagellate *Dinophysis fortii* by liquid chromatography with electrospray mass spectrometry and ultraviolet detection. Evidence of oxidation of pectenotoxin-2 to Pectenotoxin-6 in scallops. J Chromatography A. 1998; 815: 155-60.
- 6 L. Stobo, L. Webster and S. Gallacher. OCCURRENCE OF AZASPIRACIDS, SPIROLIDES, YESSOTOXINS, PECTONOTOXINS AND FREE FATTY ACIDS IN PLANKTON AND SHELLFISH. . Fisheries Research Services Contract Report. No. 08/03. 2003;
- 7 T. Suzuki, L. Mackenzie, D. Stirling and J. Adamson. Pectenotoxin-2 seco acid: a toxin converted from pectenotoxin-2 by the New Zealand Greenshell mussel, *Perna canaliculus*. Toxicon. 2001; 39: 507-514
- 8 P. Vale and M. S. M. A. de. Pectenotoxin-2 seco acid, 7-epi-pectenotoxin-2 seco acid and pectenotoxin-2 in shellfish and plankton from Portugal. Toxicon. 2002; 40: 979-987
- 9 T. Suzuki. Section 2. Microalgal Toxins: Chemistry and Detection. In: Toxins and Biologically Active Compounds from Microalgae. CRC Press. 2014;
- 10 K. Sasaki, J. L. Wright and T. Yasumoto. Identification and Characterization of Pectenotoxin (PTX) 4 and PTX7 as Spiroketal Stereoisomers of Two Previously Reported Pectenotoxins. J Org Chem. 1998; 63: 2475-2480
- 11 T. Suzuki, V. Beuzenberg, L. Mackenzie and M. A. Quilliam. Liquid chromatography-mass spectrometry of spiroketal stereoisomers of pectenotoxins and the analysis of novel pectenotoxin isomers in the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* from New Zealand. J Chromatography A. 2003; 992: 141-150

- 12 COT (The Committee on Toxicity of Chemicals in Food and Environment). Statement on risk assessment of marine biotoxins of the okadaic acid, pectenotoxin, azaspiracid and yessotoxin groups in support of human health.
<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/cotstatementlipophilic200616.pdf>. 2006;
- 13 C. O. Miles, A. L. Wilkins, R. Munday, M. H. Dines, A. D. Hawkes, L. R. Briggs, M. Sandvik, D. J. Jensen, J. M. Cooney, P. T. Holland, M. A. Quilliam, A. L. MacKenzie, V. Beuzenberg and N. R. Towers. Isolation of pectenotoxin-2 from *Dinophysis acuta* and its conversion to pectenotoxin-2 seco acid, and preliminary assessment of their acute toxicities. *Toxicon*. 2004; 43: 1-9
- 14 T. Suzuki, J. A. Walter, P. LeBlanc, S. MacKinnon, C. O. Miles, A. L. Wilkins, R. Munday, V. Beuzenberg, A. L. MacKenzie, D. J. Jensen, J. M. Cooney and M. A. Quilliam. Identification of pectenotoxin-11 as 34S-hydroxypectenotoxin-2, a new pectenotoxin analogue in the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* from New Zealand. *Chem Res Toxicol*. 2006; 19: 310-318
- 15 J. Aasen, T. Torgersen and T. Aune. Application of an improved method for detection of lipophilic marine algal toxins (OA/DTXs, PTXs, YTXs and AZAs) with LC/MS. . In A. Villalba, B Reguera, J.L. Romalde & R. Beiras, eds. *Molluscan shellfish safety*. Paris, IOC of UNESCO. 2003; 49-55
- 16 FAO/IOC/WHO. Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs. 2004;
- 17 H. Ogino, M. Kumagai and T. Yasumoto. Toxicologic evaluation of yessotoxin. *Nat Toxins*. 1997; 5: 255-259
- 18 European Union/Sante et Consommateurs. Report of the meeting of the working group on toxicology of DSP and AZP, 21 to 23 May 2001, Brussels.
- 19 E. Ito, T. Suzuki, Y. Oshima and T. Yasumoto. Studies of diarrhetic activity on pectenotoxin-6 in the mouse and rat. *Toxicon*. 2008; 51: 707-716
- 20 K. Terao, E. Ito, M. Ohkusu and T. Yasumoto. A comparative study of the effects of DSP-toxins on mice and rats. In *Toxic Phytoplankton Blooms in the sea*. Smayda, T.J.; Shimizu, Y., Eds.; Elsevier: New York, NY, USA. 1993; 581-586
- 21 K. Terao, E. Ito, T. Yanagi and T. Yasumoto. Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning. I. Ultrastructural changes in the small intestine and liver of suckling mice induced by dinophysistoxin-1 and pectenotoxin-1. *Toxicon*. 1986; 24: 1141-1151

- 22 Y. Hamano, Y. Kinoshita and T. Yasumoto. Suckling mice assay for diarrhetic shellfish toxins. In: Toxic Dinoflagellates. . Elsevier, Anderson DM, White AW and Baden DG (eds), New York. 1985; 383-388
- 23 石下真通, 佐藤七朗, 安元健. 下痢性貝毒成分 (オカダ酸ならびにペクテノトキシン-2) 投与マウスに関する病理学的研究. . 道衛研所報. 1988; 38: 15-18
- 24 K. E. Fladmark, M. H. Serres, N. L. Larsen, T. Yasumoto, T. Aune and S. O. Doskeland. Sensitive detection of apoptogenic toxins in suspension cultures of rat and salmon hepatocytes. *Toxicon*. 1998; 36: 1101-1114
- 25 M. Murata, M. Kumagai, J. S. Lee, T. Yasumoto. Isolation and structure of Yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. 1987; 28: 5869-5872.
- 26 H. Toyofuku. Joint FAO/WHO/IOC activities to provide scientific advice on marine biotoxins (research report). *Mar Pollut Bull*. 2006; 52: 1735-45
- 27 FAO. Assessment and management of biotoxin risks in bivalve molluscs. Fisheries and Aquaculture Technical Paper 551. 2011;
- 28 EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Yessotoxin group1. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. . *EFSA Journal*. 2008; 907: 1-62
- 29 C. O. Miles, I. A. Samdal, J. Aasen, A. L. Wilkins, D. J. Jensen, M. A. Quilliam, D. Petersen, L. M. Briggs, A. L. Wilkins, F. Rise, J. M. Cooney and A. L. MacKenzie. Evidence of numerous analogues of yessotoxin in *Protoceratium reticulatum*. . *Harmful Algae*. 2005; 4: 1075-1091.
- 30 C. Alfonso, A. Alfonso, M. J. Pazos, M. R. Vieytes, T. Yasumoto, A. Milandri, R. Poletti and L. M. Botana. Extraction and cleaning methods to detect yessotoxins in contaminated mussels. *Anal Biochem*. 2007; 363: 228-238
- 31 J. Blanco, A. M. Morono and L. Fernandez. TOXIC EPISODES IN SHELLFISH, PRODUCED BY LIPOPHILIC PHYCOTOXINS: AN OVERVIEW. *Revista Galega dos Recursos Mariños (Monog)*. 2005; 1-70
- 32 T. Aune, R. Sorby, T. Yasumoto, H. Ramstad and T. Landsverk. Comparison of oral and intraperitoneal toxicity of yessotoxin towards mice. *Toxicon*. 2002; 40: 77-82
- 33 K. Terao, E. Ito, M. Oarada, M. Murata and T. Yasumoto. Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning--5. The effects in mice of yessotoxin isolated from *Patinopecten yessoensis* and of a desulfated derivative. *Toxicon*. 1990; 28: 1095-1104
- 34 A. Tubaro, A. Giangaspero, M. Ardizzone, M. R. Soranzo, F. Vita, T. Yasumoto, J. M. Maucher, J. S. Ramsdell and S. Sosa. Ultrastructural

damage to heart tissue from repeated oral exposure to yessotoxin resolves in 3 months. *Toxicon*. 2008; 51: 1225-1235

- 35 A. Tubaro, S. Sosa, G. Altinier, M. R. Soranzo, M. Satake, R. Della Loggia and T. Yasumoto. Short-term oral toxicity of homoyessotoxins, yessotoxin and okadaic acid in mice. *Toxicon*. 2004; 43: 439-445