

中毒発生海域より分離した *Ostreopsis* sp. の パリトキシン様物質産生能

相 良 剛 史

四国大学短期大学部

Profiles of palytoxin-like compounds from the dinoflagellate *Ostreopsis* sp.
isolated from the areas where poisonous fishes were collected

TAKEFUMI SAGARA

Shikoku University, Junior College, Tokushima, Tokushima 771-1192, Japan

1. はじめに

近年、わが国ではブダイ科魚類やハタ科魚類、ハコフグ科魚類の喫食によるパリトキシン (PTX) 中毒に類似した食中毒が相次いで発生し、問題となっている。^{1,2)} PTX は軟質サンゴの一種である *Palythoa toxica* より見出された毒であるが、³⁾ 底生性渦鞭毛藻の一種である *Ostreopsis siamensis* や *O. ovata* などから PTX およびその類縁体が検出され、^{4,5)} 魚類の毒化原因は *Ostreopsis* 属等の渦鞭毛藻であるとの見方が強まっている。本項では、魚類への PTX 様毒の蓄積機構解明に資するため、中毒発生海域より分離した *Ostreopsis* sp. の PTX 様物質産生能について検討をおこなったので、その概要について述べる。

2. *Ostreopsis* sp. より抽出した有毒成分の生化学的性状

2004 年 5 月に宮崎県沿岸、2005 年 6 月に長崎県沿岸から採取し単離した *Ostreopsis* sp. を ESM 培地⁶⁾ を用い、培養温度を 20°C、光強度を 40 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、明暗周期を 12 時間明/12 時間暗の条件下で培養した。得られた培養藻体に 3 倍量の 50% メタノールを加えて超音波破砕機でホモジナイズし、2,000 $\times g$ で 10 分間遠心分離して上清を抽出液とした。残渣については、同様の操作を 2 回繰り返して上清を合一した。抽出液を減圧濃縮後、同量のジエチルエーテルで 2 回脱脂した。得られた水画分を再び減圧濃縮し、蒸留水で定容して水溶性画分とし、毒性および毒の性状を調べた。^{7,8)} いずれも、 1.0×10^4 cells 相当量の粗抽出液をマウスに投与したところ、遅延性致死活性が認められた。さらに、両者はマウス赤血球に対して、インキュベーション 1 時間では濃度 1.0×10^3 cells 相当量/ml でもほとんど溶血しなかったが、インキュベーション 4 時間において、前者で 86.5%、後方で 68.2% と、いずれも同濃度で高い溶血率を示した。また、ヒト赤血球に対しても同

濃度、同時間でそれぞれ溶血率 47.8% および 36.2% の活性が認められ、これらの活性はウワバインにより特異的に抑制された。従って、宮崎県産ならびに長崎県産 *Ostreopsis* sp. は、マウスならびにヒト赤血球に対して遅延性溶血活性を示す毒を産生し、本毒の性状は PTX 標準品に酷似していたことから、両株の PTX 様物質産生能が確認された。

3. *Ostreopsis* sp. より抽出した有毒成分の分析

長崎県産 *Ostreopsis* sp. の培養藻体から調製した試験液につき、Waters 社製 Quattro micro (MS/MS) および HITACHI 社製 NanoLC / Linear-Trap-TOF Nano-Frontier LD (TOF-MS) で分析した。Quattro micro を用いてマルチプルリアクションモニタリング (MRM) 法で MS/MS 分析すると、2 価 PTX のカリウム付加の脱水イオンと推察される $[\text{M} + \text{K} + \text{H} - 5\text{H}_2\text{O}]^{2+} = 1314$ からフラグメンテーションにより生じた m/z 327.4 (図

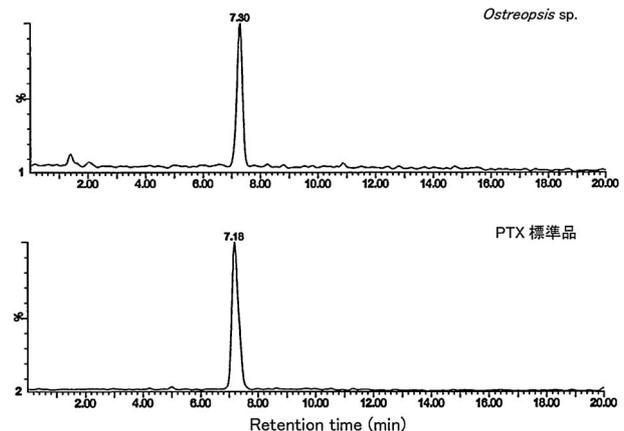


図 1 PTX 特有の付加イオン $[\text{M} + \text{K} + \text{H} - 5\text{H}_2\text{O}]^{2+} = 1314$ からフラグメンテーションにより生じた m/z 327.4 をモニターした *Ostreopsis* sp. の部分精製毒 (上) と PTX 標準品 (下) の MRM クロマトグラム

1), PTX の 3 価のナトリウム, カリウム付加イオンと推察される $[M+Na+K+H]^{2+}=913.5$ から生じた m/z 327.4 および PTX 特有のフラグメントイオンである m/z 327 を前駆イオンとしてフラグメンテーションにより生じた m/z 75.9 の MRM クロマトグラムに, PTX 標準品と一致する保持時間でピークが得られた。TOF-MS 分析では, PTX 標準品から検出された $[M+3H-3H_2O]^{3+}=875.834$ のピークは検出されなかったが, $[M+3H-3H_2O]^{3+}=977.596$ と $[M+2H-2H_2O]^{2+}=1474.915$ を強く検出し, それらを含めた複数の 3 価および 2 価の脱水イオン等, PTX 関連物質と推測されるピークが PTX の HPLC 保持時間に検出された。このため, 本種の毒は PTX そのものではなく, PTX 類似構造をもつ物質であると推定された。これにより, *Ostreopsis* sp. が魚介類の毒化原因となっていることが改めて示唆された。

謝 辞

本研究は, 平成 17~18 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業「魚介類に含まれる食中毒原因物質の分析法に関する研究」の一部として実施された。関係各位に謝意を表す。

文 献

- 1) Taniyama S, Mahmud Y, Terada M, Takatani T, Arakawa O, Noguchi T. Occurrence of a food poisoning incident by palytoxin from a serranid *Epinephelus* sp. in Japan. *J. Nat. Toxin* 2002; **11**: 277-282.
- 2) Taniyama S, Arakawa O, Takatani T, Noguchi T. Food poisoning similar to *Scarus oviifrons* poisoning. *New Food Industry* 2003; **45**: 55-61.
- 3) Moore RE, Scheuer PJ. Palytoxin: a new marine toxin from a coelenterate. *Science* 1971; **172**: 495-498.
- 4) Usami M, Satake M, Ishida S, Inoue A, Kan Y, Yasumoto T. Palytoxin analogs from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. *J. Am. Chem. Soc.* 1995; **117**: 5389-5390.
- 5) Penna A, Vila M, Fraga S, Giacobbe MG, Andreoni F, Riobo P, Vernesi C. Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the Western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8S rDNA sequences. *J. Phycol.* 2005; **41**: 212-225.
- 6) 岡市友利, 西尾幸郎, 今富幸也. 有毒プランクトン研究法—試料の採集と培養. 「有毒プランクトン—発生・作用機構・毒成分」(日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京. 1982; 22-34.
- 7) Taniyama S, Arakawa O, Terada M, Nishio S, Takatani T, Mahmud Y, Noguchi T. *Ostreopsis* sp., a possible origin of palytoxin (PTX) in parrotfish *Scarus oviifrons*. *Toxicon* 2003; **42**: 29-33.
- 8) Gleibs S, Mebs D, Werdning B. Studies on the origin and distribution of palytoxin in a Caribbean coral reef. *Toxicon* 1995; **33**: 1531-1537.