

貝毒発生監視調査事業

増養殖環境課 鈴木 怜

1 はじめに

麻痺性貝毒とは、主にホタテガイ、カキ、アサリなどの二枚貝類が、強力な神経毒を有する渦鞭毛藻類（*Alexandrium* spp.、*Gymnodinium catenatum*）などを捕食し、これらの毒が体内、特に中腸線に蓄積して毒化する現象である¹⁻³⁾。毒化した貝をヒトが食すると、30分程度で麻痺の中毒症状が現れ、最悪の場合死に至ることがある（ヒトの経口最小致死量≒3,000 MU/60kg）¹⁻³⁾。本県では、平成13～15年にかけて野見湾のアサリから、平成22～25年にかけて宿毛湾のヒオウギガイから規制値を超える麻痺性貝毒が検出され、出荷自主規制措置が講じられるなど、水産業に大きな影響を及ぼしている。

現在、本県における麻痺性貝毒の検査は、県衛生研究所にて公定法であるマウス試験法（Mouse Bioassay：以下「MBA」という。）で実施されている。しかし、指定されたマウスが必要（週齢、系統、性、体重など）、分析コストが高い、分析に多くの二枚貝サンプルが必要といった問題があり、検査海域を細かく設定する、原因種が多く出現した場合に臨時で検査をするといった漁業現場のニーズに即した検査が困難な状況にある。加えて、世界的に動物試験を可能な限り制限しようとする動きが広がっている。そのため、米国、カナダ、EUなどでは下痢性貝毒の検査に機器分析が導入されており（EUでは2015年に機器分析に全面移行する予定）、日本でも導入に向けた検討が進んでいる（平成26年度薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会議事録及び資料）。麻痺性貝毒の検査に関しては、今のところ世界的にMBAで行われているが、機器分析導入の適否に関する検討も行われている（第56回コーデックス連絡協議会資料）。

近年、迅速、高感度、安価なELISA法による麻痺性貝毒分析技術が実用化された。他府県ではELISA法をスクリーニングに用いるための試験が実施されており⁴⁻⁹⁾、大阪府や熊本県ではすでに貝毒検査体制に導入されている¹⁰⁻¹⁶⁾。ELISA法によるスクリーニングで、MBAにかかる経費と労力が軽減でき、また、より多くの監視定点を設定できるなどモニタリングの精度も向上すると考えられる。しかし、麻痺性貝毒は20以上からなる複合毒であり、成分によって毒力は100倍以上も異なる^{1,2)}。ELISA法では、毒力ではなく毒の総濃度を測定することから、含まれる成分によっては過大評価又は過小評価をまねくことになる。また、毒の組成は毒化原因となるプランクトンの多様性を反映して各海域によって大きく異なるため¹⁷⁾、各海域における毒の濃度から推定毒力に変換するための係数を検討する必要がある。

本事業は、ELISA法を用いた貝毒分析の結果をMBAの結果と比較して本県海域における変換係数を作成すること、及び本法を用いたスクリーニングが本県の貝毒発生監視体制に導入可能か検討することを目的とした。

2 方法

（1）供試サンプル

麻痺性貝毒が規制値を超えた宿毛湾のヒオウギガイを中心に、39サンプルを用いた（表1、図1）。

表1 供試サンプル

No.	採取地点	(備考)	採取日	種類	MBA結果(MU/g)
1	宿毛湾		H23.4.27	ヒオウギガイ	178
2	宿毛湾		H23.5.16	ヒオウギガイ	384
3	宿毛湾		H23.6.27	ヒオウギガイ	208
4	宿毛湾		H23.7.11	ヒオウギガイ	130
5	宿毛湾		H23.7.25	ヒオウギガイ	64.0
6	宿毛湾		H23.8.8	ヒオウギガイ	48.0
7	宿毛湾		H23.8.22	ヒオウギガイ	78.0
8	宿毛湾		H23.8.29	ヒオウギガイ	33.0
9	宿毛湾		H24.7.23	ヒオウギガイ	140
10	宿毛湾		H25.3.4	ヒオウギガイ	3.0
11	宿毛湾		H25.5.10	ヒオウギガイ	14.8
12	宿毛湾		H25.6.10	ヒオウギガイ	12.0
13	宿毛湾		H25.7.4	ヒオウギガイ	120
14	宿毛湾		H25.7.18	ヒオウギガイ	190
15	宿毛湾		H25.8.1	ヒオウギガイ	120
16	宿毛湾		H25.8.16	ヒオウギガイ	110
17	宿毛湾		H25.8.30	ヒオウギガイ	100
18	宿毛湾		H25.9.13	ヒオウギガイ	48.0
19	宿毛湾		H25.9.19	ヒオウギガイ	28.8
20	宿毛湾		H25.9.27	ヒオウギガイ	46.0
21	宿毛湾		H25.10.4	ヒオウギガイ	32.5
22	浦ノ内湾		H25.2.12	アサリ	<1.75
23	浦ノ内湾		H25.3.4	アサリ	<1.75
24	浦ノ内湾		H25.4.8	アサリ	<1.75
25	浦ノ内湾		H25.5.13	アサリ	<1.75
26	浦ノ内湾		H25.6.5	アサリ	<1.75
27	浦ノ内湾	(横浪)	H25.2.18	カキ	<1.75
28	浦ノ内湾	(深浦)	H25.2.18	カキ	<1.75
29	浦ノ内湾	(須ノ浦)	H25.2.18	カキ	<1.75
30	浦ノ内湾	(灰方)	H25.2.18	カキ	<1.75
31	野見湾		H25.6.10	ヒオウギガイ	3.0
32	野見湾		H25.9.2	ヒオウギガイ	7.3
33	野見湾	(中ノ島)	H25.2.12	アサリ	<1.75
34	野見湾	(大谷)	H25.2.12	アサリ	<1.75
35	野見湾	(野見)	H25.2.12	アサリ	<1.75
36	足摺港		H24.7.10	ヒオウギガイ	7.2
37	足摺港		H24.8.7	ヒオウギガイ	3.0
38	足摺港		H25.3.4	ヒオウギガイ	<1.75
39	浦戸湾		H25.5.9	アサリ	<1.75

※MBA結果は、ヒオウギガイは中腸腺の値、アサリ・カキは可食部の値



図1 サンプル採取地点

(2) 麻痺性貝毒の抽出及び分析

貝毒成分の抽出、希釈及び分析に関しては、前年度と同様の方法で実施した¹⁸⁾。

3 結果と考察

(1) 宿毛湾

宿毛湾で採取されたヒオウギガイの中腸腺 21 サンプルを分析に供した(表 1、No.1~21)。

前年度の分析結果(13 サンプル)も加え、年度ごとに毒濃度(ELASA)と毒力(MBA)の相関を調べたところ、データの分布にはややばらつきが見られ、平成 24 年度以降そのばらつきが拡大(=相関が低下)していった(表 2、図 2)。相関が低下した要因としては、①平成 23 年度は ELISA 法と MBA、両分析で同じ抽出液を用いたが、平成 24 年度以降は同地点で同日に採取したサンプルではあるが水産試験場と衛生研究所それぞれで抽出を行ったこと、②MBA では 20 個体分程度の中腸腺から抽出を行っているが、ELISA 法では 2~3 個体分しか用いなかったことなどが考えられた。また、毒化原因種が異なるデータを一括して解析すると相関が弱くなるとの報告もあるが⁴⁾、宿毛湾の場合、主な原因種は全ての年度で *Gymnodinium catenatum* と推測されていることから¹⁹⁻²¹⁾、このことは考慮しなくてよいと考えられた。

表2 宿毛湾ELISA分析結果

No.(表1に対応)	採取日	MBA(MU/g)	ELISA(nmol/g)	備考
1	H23.4.27	178	254.0	
2	H23.5.16	384	560.7	
3	H23.6.27	208	234.9	
4	H23.7.11	130	94.0	
5	H23.7.25	64.0	70.4	
6	H23.8.8	48.0	14.0	
7	H23.8.22	78.0	35.0	
8	H23.8.29	33.0	13.5	
—	H24.5.9	300	635.5	※H24分析分
—	H24.5.28	240	462.2	※H24分析分
—	H24.6.25	180	224.8	※H24分析分
—	H24.7.9	190	158.8	※H24分析分
9	H24.7.23	140	106.1	
—	H24.8.6	130	147.6	※H24分析分
—	H24.8.20	130	74.6	※H24分析分
—	H24.9.3	96.0	60.9	※H24分析分
—	H24.9.10	40.0	67.2	※H24分析分
—	H24.9.19	29.0	38.5	※H24分析分
—	H24.9.24	47.0	40.1	※H24分析分
—	H24.10.2	23.0	39.0	※H24分析分
—	H24.10.9	30.0	19.9	※H24分析分
—	H24.10.16	17.0	11.1	※H24分析分
10	H25.3.4	3.0	20.7	
11	H25.5.10	14.8	35.6	
12	H25.6.10	12.0	11.9	
13	H25.7.4	120	29.0	
14	H25.7.18	190	74.2	
15	H25.8.1	120	54.5	
16	H25.8.16	110	35.9	
17	H25.8.30	100	40.7	
18	H25.9.13	48.0	23.7	
19	H25.9.19	28.8	42.2	
20	H25.9.27	46.0	26.9	
21	H25.10.4	32.5	29.0	

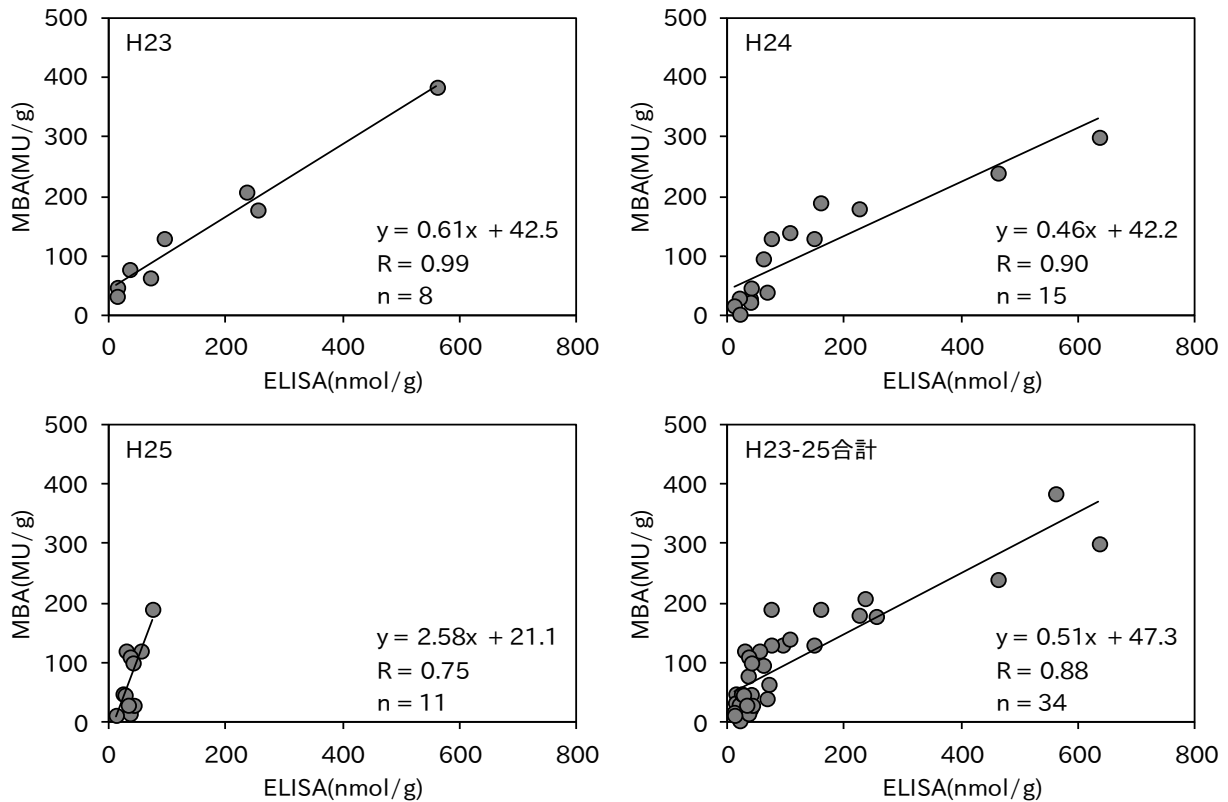


図 2 年度ごとの ELISA 法と MBA の相関

また、各年度の回帰係数（回帰直線の傾き）を比較したところ、年度間で大きな差が見られた（図 2）。

これらの原因を解明するために、（独）水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所の及川主任研究員に宿毛湾における麻痺性貝毒の組成分析を依頼して行ったところ、毒化原因種は同一であるものの、宿毛湾の麻痺性貝毒成分の組成は各年度で異なっており、また、同じ年度内でも時間の経過とともに変化していることが明らかとなった（図 3）。そのため、この組成の変化が、毒濃度と毒力の相関にばらつきをもたらし、年度間の回帰係数にも差が見られる要因と考えられた。これらのことから、宿毛湾のヒオウギガイに関して、毒濃度から推定毒力に変換するための係数を決定し、ELISA 法をスクリーニングに利用することは、現時点では困難と考えられた。

以上のことを、本事業で使用している検査キットの製造・販売元である（一財）新日本検定協会の高田博士に相談したところ、分析の対象が異なる（毒濃度と毒力）こともあり、ELISA 法と MBA との間にはきれいな相関が得られないことが多いとの回答であった。その協議の中で、麻痺性貝毒の規制値（4MU/g）付近のサンプルを分析し、ELISA 法による分析値（可食部換算）が何 nmol/g になれば規制値を超えるのかを把握してスクリーニングを行う方法はどうかとの提案があったことから、可食部換算で 4MU/g 付近（2.9~4.9MU/g）のサンプル 7 検体を再分析した（表 3）。ただし、再分析するに当たり、これまでは 10 倍希釈を作成するのに試料 60 μ L とキットに含まれるリン酸緩衝液 540 μ L を混和させていたが、希釈精度を高めることを目的に、試料 1mL と 0.1M 塩酸 9mL を混和させる方法に変更した。

分析の結果、ELISA 法による分析値が規制値（4MU/g）付近になる最小の値は 1.4nmol/g であった（表 3、図 4）。この値をもってスクリーニングを行うことは可能であるが、ヒオウギガイの場合、毒濃度の値が比較的高く検出される傾向がある¹⁸⁾。そのため、毒化していないヒオウギガイに関しても 1.4nmol/g を超える事例が頻発する可能性があるため、この値によるスクリーニングに関しては更に検討する必要があると思われた。

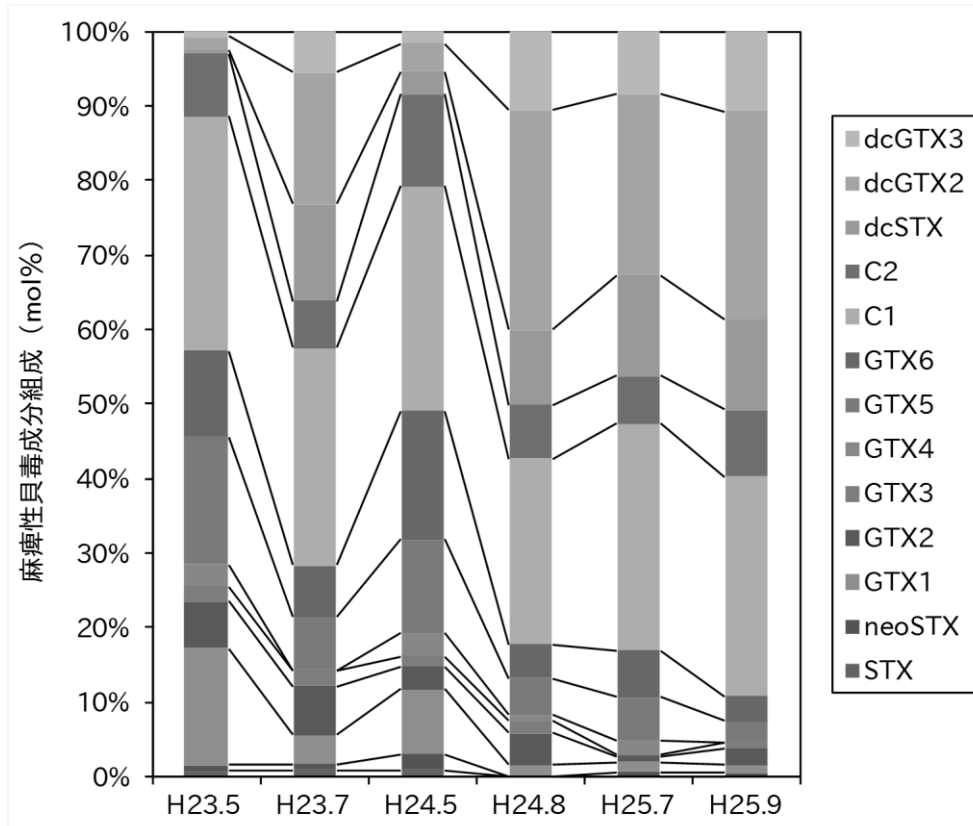


図3 宿毛湾で毒化したヒオウギガイの麻痺性貝毒成分組成 (瀬戸内海区水産研究所 及川主任研究員より)

表3 規制値付近のサンプルのELISA再分析結果

採取日	MBA (MU/g)		ELISA (nmol/g)	
	中腸腺	可食部換算	中腸腺	可食部換算
H23.8.29	33.0	3.8	77.4	8.9
H24.9.10	40.0	4.3	86.1	9.3
H24.9.19	29.0	3.2	79.4	8.8
H24.9.24	47.0	4.9	74.5	7.8
H24.10.9	30.0	4.9	18.2	1.9
H25.9.27	46.0	3.7	18.0	1.4
H25.10.4	32.5	2.9	29.0	2.6

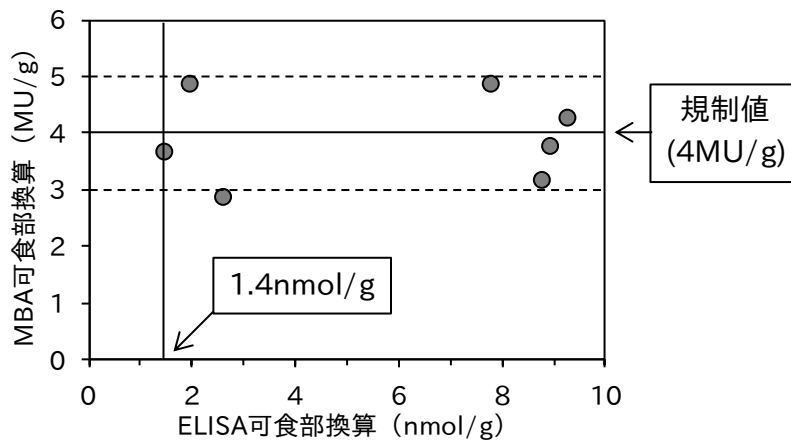


図4 規制値付近のサンプルのELISA法とMBAの相関

(2) 浦ノ内湾

浦ノ内湾で採取されたアサリの可食部 5 サンプル及びカキの可食部 4 サンプルを分析に供した (表 1、No.22~30)。分析の結果、貝毒はほぼ検出されなかった (表 4)。

表4 浦ノ内湾ELISA分析結果

No.(表1に対応)	採取日	種類	MBA(MU/g)	ELISA(nmol/g)
22	H25.2.12	アサリ	<1.75	0.21
23	H25.3.4	アサリ	<1.75	0.21
24	H25.4.8	アサリ	<1.75	0.25
25	H25.5.13	アサリ	<1.75	0.18
26	H25.6.5	アサリ	<1.75	0.17
27	H25.2.18	カキ	<1.75	0.17
28	H25.2.18	カキ	<1.75	0.17
29	H25.2.18	カキ	<1.75	0.17
30	H25.2.18	カキ	<1.75	0.16

(3) 野見湾

野見湾で採取されたヒオウギガイの中腸腺 2 サンプル及びアサリの可食部 3 サンプルを分析に供した (表 1、No.31~35)。分析の結果、ヒオウギガイに関しては、毒力は低かったにも関わらず、毒濃度に関してはやや高めの値が検出された (表 5)。その要因としては、ヒオウギガイを採取した時期に、野見湾では一部の海域で麻痺性貝毒原因種が多く出現しており、採取地点でも原因種が少数存在していた可能性が考えられた。また、アサリに関しては、貝毒はほぼ検出されなかった (表 5)。

表5 野見湾ELISA分析結果

No.(表1に対応)	採取日	種類	MBA(MU/g)	ELISA(nmol/g)
31	H25.6.10	ヒオウギガイ	3.0	12.3
32	H25.9.2	ヒオウギガイ	7.3	13.8
33	H25.2.12	アサリ	<1.75	0.18
34	H25.2.12	アサリ	<1.75	0.19
35	H25.2.12	アサリ	<1.75	0.20

(4) 足摺港

足摺港で採取されたヒオウギガイの中腸腺 3 サンプルを分析に供した (表 1、No.36~38)。分析の結果、毒化の程度が低かったにも関わらず、前年度同様やや高めの毒濃度が検出された (表 6)。その要因としては、土佐清水沿岸では低密度ながら麻痺性貝毒原因種が出現していたことが考えられた。

表6 足摺港ELISA分析結果

No.(表1に対応)	採取日	種類	MBA(MU/g)	ELISA(nmol/g)
36	H24.7.10	ヒオウギガイ	7.2	10.9
37	H24.8.7	ヒオウギガイ	3.0	6.4
38	H25.3.4	ヒオウギガイ	<1.75	6.0

(5) 浦戸湾

浦戸湾で採取されたアサリの可食部 1 サンプルを分析に供した (表 1、No.39)。その結果、貝毒はほぼ検出されなかった (表 7)。

表7 浦戸湾ELISA分析結果

No.(表1に対応)	採取日	種類	MBA(MU/g)	ELISA(nmol/g)
39	H25.5.9	アサリ	<1.75	0.14

(6) ELISA 法分析の活用案

前述のとおり、本県貝毒発生監視体制への ELISA 法の導入は、現時点では困難と考えられた。そこで、ELISA 法を用いた検査の活用方法について検討を行った。その結果、貝毒発生から規制解除までの間の検査を MBA から ELISA 法に置き換える方法が考えられた(図5)。この方法であれば、貝毒発生時の毒濃度を分析しておけば、ELISA 法でその後の毒力の変動をある程度推測できると考えられ、MBA による検査を実施するタイミングを助言することができると思われる。この方法によって、その間のサンプル採取に係るコストや MBA に係る労力を低減できると考えられる。

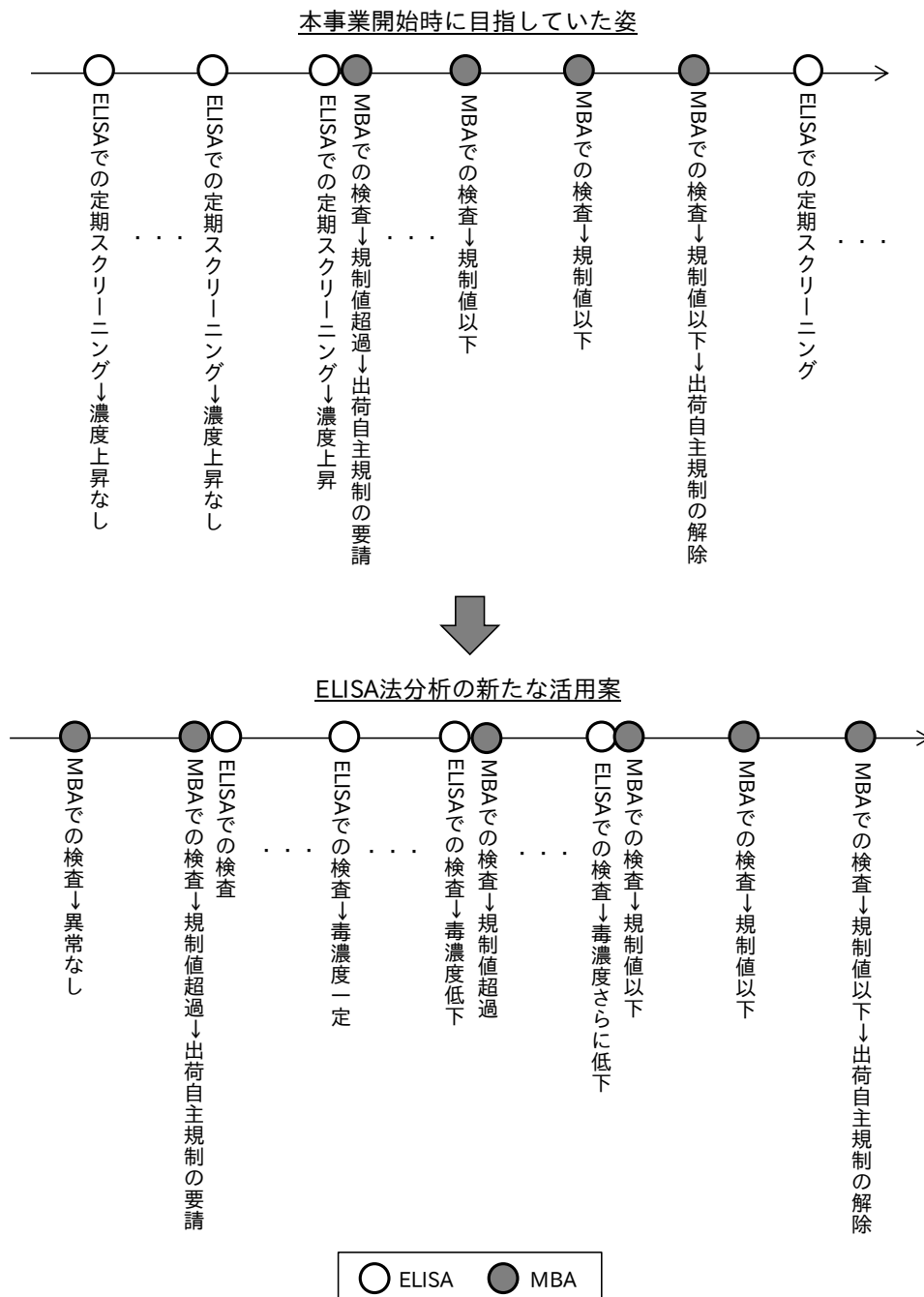


図5 ELISA 法分析の活用案

4 謝辞

二枚貝サンプルの採取に関しまして、中央漁業指導所 猪原亮水産業普及指導員、土佐清水漁業指導所 谷知宏技師・故林裕之技師、宿毛漁業指導所 占部敦史技師に協力して頂いた。麻痺性貝毒の機器分析に関しまして、(独)水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所環境保全センター 有害・有毒藻類グループ 及川寛主任研究員に協力して頂いた。麻痺性貝毒分析キットに関しまして、(一財)新日本検定協会 高田義宜主席検査員・長田正大課長に助言を頂いた。これらの方々に厚く御礼申し上げる。

5 参考文献

- 1)今井一郎, 板倉 茂. 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. 「貝毒研究の最先端－現状と展望」(今井一郎, 福代康夫, 広石伸互編) 恒星社厚生閣, 東京. 2007; 9-18.
- 2)野口玉雄. 魚貝毒(マリントキシン)による食中毒. 「水産食品の安全・安心対策－現状と課題」(阿部宏喜, 内田直行編) 恒星社厚生閣, 東京. 2004; 46-67.
- 3)野口玉雄, 村上りつ子. 「貝毒の謎－食の安全と安心－」成山堂書店, 東京. 2004.
- 4)畑 直亜, 館 洋, 山田浩且, 保健環境研究所久留浩一郎. 生産者による自主管理型貝毒監視体制の構築. 平成 23 年度三重県水産研究所事業報告 2013.
- 5)畑 直亜, 中西尚文, 館 洋, 山田浩且, 保健環境研究所. 生産者による自主管理型貝毒監視体制の構築. 平成 24 年度三重県水産研究所事業報告 2014; 65-66.
- 6)畑 直亜, 坂口研一, 中西尚文, 藤原正嗣, 保健環境研究所. 生産者による自主管理型貝毒監視体制の構築. 平成 25 年度三重県水産研究所事業報告 2014; 65-66.
- 7)篠崎貴史, 渡邊龍一, 川津健太郎, 櫻田清成, 高日新也, 上野健一, 松嶋良次, 鈴木敏之. 麻痺性貝毒簡易検出キット(PSP-ELISA)を用いた貝毒モニタリングシステムの有効性. 食品衛生学雑誌 2013; 54(6); 397-401.
- 8)久留浩一郎, 宮村和良. 県産食用貝類の安全性確保に関する研究. 平成 19 年度大分県農林水産研究センター水産試験場事業報告 2009; 130-131.
- 9)向井宏比古. 熊本県沿岸域における麻痺性貝毒モニタリングへのスクリーニングとしての ELISA 法(サキシトキシン定量キット)の利用について. 熊本県水産研究センター研究報告 2008; 8: 73-79.
- 10)川津健太郎. 大阪湾における麻痺性貝毒の発生について. 大阪府立公衆衛生研究所メールマガジン. 2013; 117.
- 11)篠崎貴史, 中野平二, 向井宏比古, 浜田峰雄. 水産物安全安心確保事業 II (エライザ法による麻痺性貝毒量の定期モニタリング調査). 平成 19 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2008; 182-183.
- 12)篠崎貴史, 中野平二, 向井宏比古. 水産物安全安心確保事業 II (エライザ法による麻痺性貝毒量の定期モニタリング調査). 平成 20 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2009; 206-208.
- 13)篠崎貴史, 中野平二. 水産物安全確保対策事業 IV (PSP-ELISA キット導入試験). 平成 21 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2010; 248-250.
- 14)篠崎貴史, 中野平二, 櫻田清成, 高日新也, 増田雄二. 水産物安全確保対策事業 I (エライザ法による麻痺性貝毒量の定期モニタリング調査). 平成 22 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2011; 248-250.
- 15)篠崎貴史, 中野平二, 高日新也, 増田雄二. 水産物安全確保対策事業 I (エライザ法による

- 麻痺性貝毒量の定期モニタリング調査) . 平成 23 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2012; 241-243.
- 16)吉村直晃, 中野平二. 水産物安全確保対策事業 I (エライザ法による麻痺性貝毒量の定期モニタリング調査) . 平成 24 年度熊本県水産研究センター事業報告書 2013; 265-267.
- 17)大島泰克, 濱野米一. 麻痺性貝毒のモニタリング. 「貝毒研究の最先端－現状と展望」(今井一郎, 福代康夫, 広石伸互編) 恒星社厚生閣, 東京. 2007; 19-29.
- 18)鈴木 怜. 貝毒発生監視調査事業. 平成 24 年度高知県水産試験場事業報告書 2014; 110: 106-114.
- 19)鈴木 怜, 黒原健朗, 青野怜史, 谷口正雄, 齋田尚希, 長岩理央, 大山隼人. 赤潮等発生監視調査事業. 平成 23 年度高知県水産試験場事業報告書 2012; 109: 77-89.
- 20)鈴木 怜, 渡辺 貢, 猪原 亮, 谷 知宏, 占部敦史. 赤潮等発生監視調査事業. 平成 24 年度高知県水産試験場事業報告書 2014; 110: 91-105.
- 21)鈴木 怜, 渡辺 貢, 猪原 亮, 谷 知宏, 故林 裕之, 占部敦史. 赤潮等発生監視調査事業. 平成 25 年度高知県水産試験場事業報告書 2015; 111: 113-128.