

アオブダイ中毒およびアオブダイ中毒様食中毒に関する研究

Studies on Parrotfish Poisoning and Similar Incidents Caused
by Other Fishes

2002年12月



長崎大学大学院
生産科学研究科

谷山茂人

目 次

緒 言	1
第1章 中毒事件に関する疫学調査	13
第1節 アオブダイによる食中毒	14
第2節 ハタ科魚類による食中毒	21
第3節 ブダイ科魚類による食中毒	29
第4節 ハコフグ科魚類による食中毒	34
第2章 西日本産アオブダイの毒性とアオブダイ毒の性状	38
第1節 徳島県産アオブダイの毒性スクリーニング	39
第2節 アオブダイ毒のマウスに対する血清CPK上昇活性	46
第3節 アオブダイ毒のマウスおよびヒト赤血球に対する溶血活性	49
第4節 鹿児島県産アオブダイの毒性および毒の性状	57
第3章 西日本で発生したアオブダイ中毒様食中毒の原因物質	60
第1節 高知県産ハタ科魚類の毒性と毒の性状	61
第2節 三重県産ブダイ科魚類の毒性と毒の性状	68
第3節 三重県産ハコフグ科魚類の毒性と毒の性状	73
第4章 バングラデシュ産淡水フグによるアオブダイ中毒様食中毒の原因物質	81
第1節 淡水フグ毒のマウスに対する致死活性	82
第2節 急性致死活性因子の組成	87
第3節 遅延性致死活性因子のマウスおよびヒト赤血球に対する溶血活性	91
第5章 アオブダイ毒の起源生物	96
第1節 有毒渦鞭毛藻 <i>Ostreopsis</i> 属の培養	97
第2節 <i>Ostreopsis</i> 属産生毒のマウスに対する致死活性および血清CPK上昇活性	100
第3節 <i>Ostreopsis</i> 属産生毒のマウスおよびヒト赤血球に対する溶血活性	103
第6章 総合考察	110
謝 辞	114
参考文献	115

緒言

硬骨魚綱スズキ目ブダイ科アオブダイ *Scarus ovifrons* Temminck et Schlegel は、南日本沿岸や東インド、メラネシア、ポリネシアの岩礁あるいはサンゴ礁域に生息するブダイ科の魚で体長が 90 cm にも達する大型魚である。歯が癒合、露出してオウムのような嘴を形成することから、英名を Parrotfish (オウム魚) という。体色は青緑色で、雄の老成魚では前額部がコブ状に肥大する。地方によっては、アオ (和歌山、境)、バンド (境、高知)、バンドウ (牟岐)、アオイガミ (辰ヶ浜、須崎)、イガミノオバ (辰ヶ浜)、アオドサ、ドサ (宮崎)、モハミ、ハッチイ、ハチキ (鹿児島)、などと呼ばれる (野口ら, 1997)。わが国では、この魚は伊豆半島以南から九州沿岸の岩礁地帯などで見られ、定置網やエビ刺し網などにより、他の魚と混獲され、稀に市場に出回っていた。この魚の筋肉は磯臭くて不味とされているが、その肝臓は大きくて脂肪分に富んで美味で、長崎県福江島などではフライや煮付にして普通に食されていた。

この魚は時として筋肉や肝臓などに強毒をもち、西日本を中心にフグ中毒やシガテラ中毒とは異なる特異な中毒を起こしてきた。

本中毒の発症時間は数時間から十数時間で、主症状は、横紋筋融解に由来する筋肉痛 (横紋筋融解症)、歩行困難、胸部の圧迫、呼吸困難、麻痺、痙攣、衰弱などで、しばしば筋肉崩壊と関連してミオグロビン尿 (黒褐色の排尿) 症を伴う。また、中毒患者の生化学的検査において、発症後数日でアミノ酸代謝に重要な役割を果たす血清クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT) および乳酸脱水素酵素 (LDH) が異常に高いレベルを示す。回復には数日から数週間かかり、最悪の場合、死に至ることもあり、その致死時間は十数時間から数日間と広範囲である (天野ら, 1975; Noguchi ら, 1987; Okano ら, 1998; 吉嶺ら, 2000)。

本中毒の原因物質は、Noguchi ら (1987) によって、猛毒パリトキシン (palytoxin: PTX) 様物質であると推定されたが、本中毒の発生が散発的で有毒検体の入手が非常に困難であることに加えて、マウスに対する致死活性および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) などを用いた機器分析における PTX の検出感度が極めて低いことから、その詳細な生化学的性状の解明や構造の決定には至っていない。しかしながら、フグ毒テトロドトキシン (tetrodotoxin: TTX) や麻痺性貝毒 (paralytic shellfish poison: PSP) による中毒と同様に、

重篤な場合には、死に至ることから、食品衛生上、アオブダイ中毒に関する研究の発展が強く望まれている。

PTX (Fig. 1) は、1960年代に軟質サンゴの一種である腔腸動物門花虫綱スナギンチャク科のスナギンチャク *Palythoa* spp.より見出された毒で (Moore と Scheuer, 1971; Kimura ら, 1972; Attaway と Ciereszko, 1974; Hirata, 1979; Bress ら, 1983), TTX や PSP の 10 - 100 倍の強さをもち (Hirata ら, 1979; Shimizu, 1983), 魚介類の毒 (マリントキシン) のなかでは最強の部類に属する。PTX の化学式は $C_{129}H_{223}N_3O_{54}$, 分子量 2,680 の神経毒で (Moore と Bartolini, 1981; Uemura ら, 1981), その静注の際の 50%致死量 (LD_{50}) は極めて低く、動物によって差異がみられるが、最低がウサギの 25 ng/kg, 最高がマウスの 450 ng/kg と報告されている (Wiles ら, 1974)。PTX を静注した動物は、種によって多少異なるものの、運動失調、呼吸困難、嘔吐、脱力、痙攣、てんかんなどがみられ、麻酔動物に致死量の PTX を静注すると、直後に一過性の血圧上昇を呈した後、急速に血圧が下降し、数分内に死に至る (Vick と Wiles, 1975; Deguchi ら, 1976)。その強い致死作用は循環系に対する作用に起因することが明らかにされている (Kaul ら, 1974; Vick と Wiles, 1975; Deguchi ら, 1976)。

この毒による中毒は、シンガポール産オウギガニ科のヒロハオウギガニ *Lophozozymus pictor*, フィリピン産 *L. pictor*, *Demania alcali* および *D. toxica* で知られ、死者も出ている (Alcala と Halstead, 1970; The と Gardiner, 1974; Carumbana ら, 1976; Gonzales と Alcala, 1977; Alcala, 1983; Yasumoto ら, 1986; Alcala ら, 1988)。フィリピン産 *Demania* 属による中毒の場合、カニを喫食後、やがて激しい下痢、吐き気および嘔吐、次いで血圧低下や頻繁な痰の吐出、倦怠感、筋肉痛などがみられ、約 4 時間後に固形物の嚥下不能、言語障害、痙攣などが相次いで起こり、約 7 時間後に呼吸不能で死亡しており (Alcala と Halstead, 1970; Carumbana ら, 1976; Gonzales と Alcala, 1977; Alcala, 1983), 症状等がアオブダイ中毒によく類似している。また、沖縄ではソウシハギ *Aluterus scriptus* による家畜の中毒が報告されていたが、Hashimoto ら (1969a) は、ソウシハギの消化管内容物が強い毒性を示すことを発見し、その原因物質は、それが捕食していたイワスナギンチャク *P. tuberculosa* に由来することをつきとめ、この種類から PTX を分離した (Kimura ら, 1972)。

他方、最近、わが国においてアオブダイ以外の魚類によるアオブダイ中毒様食中毒が発生している。2000年10-11月に高知県でハタ科魚類の喫食により11名が集団食中毒した。その患者らには、アオブダイ中毒に特徴的な横紋筋融解症、ミオグロビン尿症、急激な血清CPK値の上昇がみられ、アオブダイ中毒と同様の原因物質による中毒が疑われた。さら

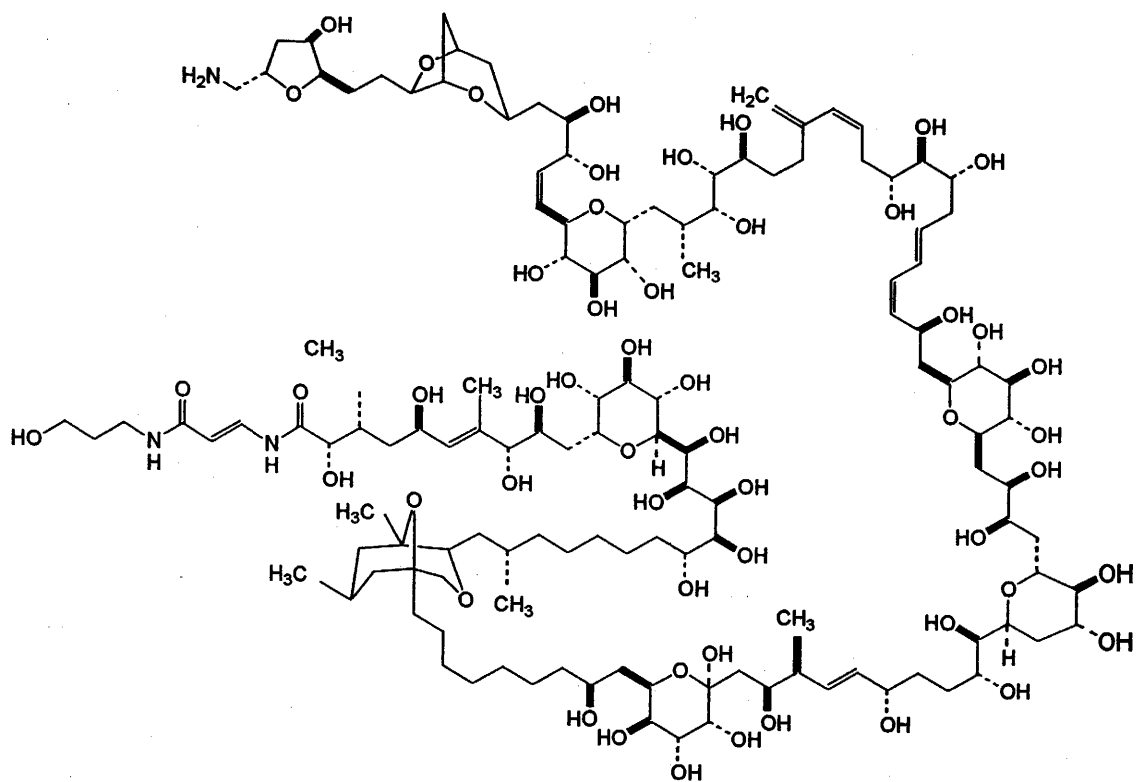


Fig. 1. Structure of palytoxin (PTX).

に、2001年1月に三重県でアオブダイ以外のブダイ科魚類、および同年11月に同県でハコフグ科魚類による同様の食中毒が発生した。これまで、高知県および三重県では、しばしばアオブダイが毒化し、死者を伴う中毒が発生しているが、アオブダイ以外の魚類による同様の中毒事例の報告はない。また、市場において、ハタ科魚類は度々入荷され、1 kg 当たり 10,000 円以上の高値で取引されている魚種もある。一方、ハコフグ科魚類も長崎県五島列島などでは、内臓を味噌焼きにする郷土料理として販売され、観光収入源の一つとなっている。

わが国ではハタ科魚類による中毒として、シガテラ中毒が知られている。シガテラ *ciguatera* とは、熱帯および亜熱帯海域において、主にサンゴ礁の周辺に生息する毒魚によって起こる死亡率の低い食中毒の総称であるが、フグ中毒やアレルギーを起こすサバ科魚類による食中毒は除外される (橋本, 1977; 安元, 1980; Baden ら, 1995; 野口ら, 1997)。シガテラ中毒の発症 (潜伏) 時間は 1 - 8 時間と比較的早い。症状としては、食後まず口唇、舌、咽頭の尖痛、続いて麻痺、吐気、嘔吐、金属的な味、下痢、頭痛、関節痛、神経過敏、めまい、チアノーゼ、不眠、極度の疲労衰弱、歩行不能、筋肉痛などが起こる。特に、四肢に鋭い痛み、歯がゆるんだ感じ、眼の奥の痛み、視覚障害があり、皮膚障害を伴い、毛髪や爪が抜ける。重症になると、神経症状が著しくなり、温度感覚の異常 (ドライアイスセンセーション)、全般的な筋肉運動調節異常、麻痺、痙攣などがひどくなる (Halstead, 1967, 野口ら, 1997; 大木ら, 2001)。回復は一般に非常に遅く、完全回復には数ヶ月を要することもある。シガテラ中毒の主因となる原因物質はシガトキシン (*ciguatoxin*: CTX) であり (Scheuer ら, 1967; Yasumoto と Murata, 1993; Baden ら, 1995)、その蓄積機構は、有毒渦鞭毛 *Gambierdiscus toxicus* を起点とする食物連鎖であることが明らかとなっている (Murata ら, 1990)。これまでに知られている有毒魚種は 400 種以上といわれているが、実際に中毒を起こす種類は数十種で、このうちいくつかのものは食用として一般に食べられている (Halstead, 1969; 橋本, 1979; 野口ら, 1997)。わが国におけるシガテラ中毒は、1949 年のオニカマス *Sphyræna barracuda* に始まり、計 54 件発生し、300 名以上が中毒しているが (Hashimoto, 1969b; 橋本, 1979; 山中, 1986; 塩見, 1996)、死者は出ていない (Table 1)。また、その発生地域は、主に奄美諸島や南西諸島であるが、四国や九州でもかなり多くの事例がみられる。また、ポリネシアにおいてはアオブダイの近縁種であるナンヨウブダイ (アオバブダイ) *S. gibbus* によってしばしばシガテラ中毒が発生しているという報告があるものの (Chungue ら, 1977a, b)、わが国では同様の知見はない。他方、日本産フグのうちハコ

Table 1. Ciguatera poisoning incidents in Japan

Date of Occurrence	Place of incident	Number of victim	Causative fish
May-1949	Tokyo	30	Barracuda <i>Sphyraena barracuda</i>
Summer-1958	Ishigaki Is., Okinawa	1	Snapper <i>Lutjanus monostigma</i>
1-Apr.-1965	Okinawa	29	Barracuda <i>S. barracuda</i>
13-Jul.-1966	Minato, Tokyo	11	Red snapper <i>L. bohar</i>
15-Jan.-1967	Kawasaki, Kanagawa	8	Red snapper <i>L. bohar</i>
1-Feb.-1967	Suginami, Tokyo	6	Red snapper <i>L. bohar</i>
10-May-1967	Katsuura, Chiba	18	Amberjack <i>Seriola aureovittata</i>
11-Apr.-1968	Isawa, Iwate	11	Coral cod <i>Variola louti</i>
Jan.-1969	Tokyo	19	Serranidae
28-Feb.-1971	Fujieda, Shizuoka	15	Coral cod <i>V. louti</i>
17-Dec.-1971	Kami, Kochi	8	Coral cod <i>V. louti</i>
18-Dec.-1971	Nagaoka, Kochi	8	Serranidae fish
19-Dec.-1971	Kochi, Kochi	9	Serranidae fish
21-Dec.-1971	Takaoka, Kochi	4	Serranidae fish
29-Dec.-1971	Kochi, Kochi	3	Serranidae fish
30-Dec.-1971	Kochi, Kochi	3	Serranidae fish
1-Jan.-1972	Kochi, Kochi	1	Serranidae fish
2-Jan.-1972	Takaoka, Kochi	6	Serranidae fish
24-Aug.-1972	Shizuoka, Shizuoka	78	Amberjack <i>S. purpurascens</i>
26-Feb.-1973	Nakagami, Okinawa	1	Giant moray <i>Gymnothorax javanicus</i>
11-Jul.-1974	Hyuga, Miyazaki	10	Red snapper <i>L. bohar</i>
25-Jun.-1976	Kunigami, Okinawa	5	Serranidae fish
14-Oct.-1976	Atami, Shizuoka	24	Amberjack <i>S. purpurascens</i>
21-Sep.-1977	Koga, Shiga	22	Barracuda <i>S. barracuda</i>
16-Sep.-1998	Gusukube, Okinawa	1	Red snapper <i>L. bohar</i>
25-Sep.-1979	Naha, Okinawa	2	Unknown
12-Jan.-1981	Naha, Okinawa	3	Serranidae fish
30-May-1982	Hirara, Okinawa	2	Serranidae fish
2-Oct.-1982	Naze, Kagoshima	7	Coral cod <i>V. louti</i>
30-Jun.-1983	Yoron, Kagoshima	1	Red snapper <i>L. bohar</i>
20-Jul.-1983	Ishigaki, Okinawa	3	Coral cod <i>V. louti</i>
26-Dec.-1983	Hamamatsu, Shizuoka	2	Giant grouper <i>Epinephelus tauvina</i>
19-Oct.-1984	Urasoe, Okinawa	4	Snapper <i>L. monostigma</i>
13-May-1985	Naha, Okinawa	2	Unknown
11-Aug.-1985	Motobu, Okinawa	4	Red snapper <i>L. bohar</i>
23-Nov.-1986	Beppu, Oita	4	Red snapper <i>L. bohar</i>
18-May-1987	Yonaguni, Okinawa	6	Red snapper <i>L. bohar</i>
23-Mar.-1988	Naha, Okinawa	3	Rock pogy <i>Oplegnathus punctatus</i>
8-Sep.-1988	Naha, Okinawa	4	Whitelined grouper <i>Anypserodon leucogrammicus</i>
28-Nov.-1989	Ginowan, Okinawa	3	Brutal moray <i>G. kidako</i>
27-May-1990	Naha, Okinawa	9	Black rock-cod <i>E. fuscoguttatus</i>
20-Jul.-1990	Nishihara, Okinawa	5	Serranidae fish
27-Jul.-1990	Urasoe, Okinawa	2	Unknown
28-Jul.-1991	Naha, Okinawa	5	Brutal moray <i>G. kidako</i>
12-Aug.-1991	Naha, Okinawa	5	Snapper <i>L. monostigma</i>
17-Sep.-1991	Naha, Okinawa	4	Whitelined grouper <i>A. leucogrammicus</i>
10-Mar.-1992	Gushikawa, Okinawa	5	Rock pogy <i>O. punctatus</i>
9-Aug.-1992	Gushikawa, Okinawa	3	Snapper <i>L. monostigma</i>
21-Sep.-1992	Ginowan, Okinawa	1	Red snapper <i>L. bohar</i>
1-Apr.-1998	Miyazaki, Miyazaki	10	Rock pogy <i>O. punctatus</i>
28-Jul.-1998	Ishigaki, Okinawa	1	Dolphine fish <i>Coryphaena hippurus</i>
3-Aug.-1998	Kikai, Kagoshima	4	Rock pogy <i>O. punctatus</i>
Nov.-1999	Chiba	1	Rock pogy <i>O. punctatus</i>

フグ科ハコフグ *Ostracion cubicus*, ウミスズメ *Lactoria diaphana* の毒性について、谷(1945)は皮, 筋肉, 肝臓, 生殖腺, 腸は無毒であるとし, 厚生省(現 厚生労働省)環境衛生局長通知の「フグの衛生確保について」(厚生省, 1983)においてもハコフグ *O. cubicus* の筋肉および精巢は可食部位とされている。ハコフグ科魚類による中毒は, 1965年5月11日に静岡県でハコフグ科魚類を内臓ごと喫食した4名中2名が発症したという報告があるが(白井, 1982), その詳細は不明である。また, 2000年10月30日に福岡県で鮮魚店より購入したハコフグ科魚類の主として肝臓を喫食した1名が中毒し, 患者の症状等から原因毒としてTTXが疑われたが, その特定には至らなかった(高木, 2001)。

従って, ハタ科魚類, アオブダイ以外のブダイ科魚類およびハコフグ科魚類へのアオブダイ中毒様食中毒の拡大は, 水産経済ならびに食品衛生上, 非常に大きな問題と考えられる。

また, 近年, バングラデシュにおいて, 淡水フグ *Tetraodon* sp.による一般的なフグ中毒とは若干異なる特異な中毒が報告されている(Mahmudら, 2000)。Mahmudら(2000)によれば, 本中毒は, 1988-1996年にかけて, 少なくとも10件発生しており, 55名が中毒し, 21名が死亡している(Table 2)。これまで, フグ中毒はTTXが原因毒とされてきたが, 最近, 主成分としてPSPを保有する海産フグや淡水フグが報告され(Satoら, 2000; Kungsuwanら, 1997; Zamanら, 1997, 1998), フグ中毒がTTX以外の毒に起因して発生することが示唆された。フグ中毒とPSP中毒はよく似ており, フグ中毒は食後30分ないし3時間, PSP中毒は通常30分程度で発症し, 主症状はいずれも麻痺である(橋本, 1979; 野口ら, 1997)。フグ中毒の場合, 致死時間の最も短い例は1時間30分, 長くても約8時間(平均4-6時間)で, PSP中毒の場合でも死亡は12時間以内と比較的短い(橋本, 1979; 野口ら, 1997)。しかしながら, バングラデシュ産淡水フグによる中毒事例では, 前述した一般的なフグ中毒やPSP中毒の症状以外に, 筋肉痛やミオグロビン尿症, 血清CPK値の急激な上昇がみられ, 致死時間は24-48時間とかなり長い事例が多い。バングラデシュにおけるこの種による中毒の公式記録はMahmudら(2000)の報告しかないものの, 食糧事情に乏しい地方の村落ではこの淡水フグの喫食による中毒が頻発し, 多数の死者が出ているといわれており, 食品衛生上, 大きな問題となっているため, 原因物質の解明等が急務となっている。

他方, アオブダイの毒化原因はこれまで不明とされてきたが, 本研究により新たな知見が得られた。1997年9月に大阪市で発生したアオブダイ中毒事例の原因魚類は徳島県牟岐町沖で採捕されたものであり, 同海域でのアオブダイの毒化が考えられたことから, 同時

Table 2. Morbidity and mortality of freshwater puffer poisoning incidents in Bangladesh

Place of incident	Date of occurrence	Ingested muscle (g/person)	Latency period (hrs.)	Number of victim	Number of death	Fatal period (hrs.)	Recovery time (day)	Level of CPK (IU/l)	Symptoms
Shathkhira	23-Apr.-1988	80	2	3	0	—	5	NE	Dizziness, headache, muscle pain, nausea, fatigue, vomiting
Munshiganj	10-Apr.-1990	280	1	7	5	24	2-3	55-65	Numbness, nausea, muscle pain, respiratory arrest, paralysis, vomiting
Netrokona	08-Jul.-1991	150	Unknown	2	0	—	3	NE	Numbness in lips, dizziness, nausea, muscle pain, vomiting
Chandpur	19-Feb.-1994	120	3	4	1	24	3	NE	muscle pain, nausea, respiratory attack, vomiting
Manikganj	15-Mar.-1994	10	3-5	5	3	24	2-3	NE	Muscle pain, black urine, dyspnea, vomiting
Bhola	07-Dec.-1994	250	Unknown	10	2	48	14	298-430	dyspnea, paralysis, respiratory arrest, Muscle pain, black urine, vomiting
Rajshahi	19-Jan.-1995	80	1-2	5	0	—	5-6	230-450	Respiratory arrest, chest tightness, paralysis, muscle pain, headache
Barisal	12-Apr.-1995	60	1	4	4	8-14	Unknown	NE	Numbness in lips, dyspnea, paralysis, blockage of urinary bladder, vomiting
Sylhet	16-May.-1995	Unknown	0.5	7	2	2	11	NE	Dizziness, paralysis, respiratory attack, hypothermia, salivation
Chandpur	05-May-1996	Unknown	1-2	8	4	4	7	NE	nausea, dyspnea, muscle pain, stomachache, vomiting

NE: Not examined.

—: Survived.

期に同海域で採捕されたアオブダイの消化管内容物を検索したところ、砂、海藻、サンゴのかけらが見出された。他方、同海域の海藻上には底生性渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属を優占属とし、同年夏期には海藻 1 g 当たり最大 150,000 cells に達する多量の渦鞭毛藻の付着が確認された (吉松ら, 1999a, b)。 *Ostreopsis* 属は、渦鞭毛植物渦鞭毛藻網ペリニジウム目に属する植物プランクトンで、現在、 *O. siamensis*, *O. lenticularis* Fukuyo, *O. ovata* Fukuyo, *O. heptagona* を始めとする数種が知られている (Fukuyo, 1981; Norris ら, 1985)。発生学的にはシガテラ毒を産生する *G. toxicus* と類似のものとされ (Taylor, 1984, 1987)、前述した *O. siamensis*, *O. lenticularis*, *O. ovata* の3種は、本来、 *P. tuberculosa* と同様にポリネシア、ガンビア諸島、ニューカレドニア諸島などのシガテラ中毒の発生する熱帯もしくは亜熱帯地域に生息しており、わが国では南西諸島でのみ確認されていた (Fukuyo, 1981)。本属は比較的大型の底生性渦鞭毛藻であるため、赤潮となることはないが、このような日本沿岸の温帯海域での多量の分布は初めて発見された。一方、近年、 *Ostreopsis* 属が PTX 誘導体を産生するという報告がある (Usami ら, 1995; Ukena ら, 2001)。

このような状況の下、本研究では、西日本で発生したアオブダイ中毒およびアオブダイ中毒様食中毒を対象とした疫学調査を行うとともに、バングラデシュで頻発している淡水フグによる中毒を含むそれらの原因物質について生化学的性状の究明を試みた。さらに、アオブダイ中毒の原因物質の起源生物についても検討を加えた。本論文は、それらの成果を取りまとめたもので、全6章からなる。

第1章では、わが国で発生したアオブダイ中毒およびアオブダイ中毒様食中毒の疫学調査を行い、その詳細な発生状況を明らかにすることを目的とした。さらに、アオブダイ中毒様食中毒については、その原因魚種について検討を加えた。

1997 - 2001 年に、主として中毒発生地域の保健所や中毒患者の担当医師を対象に疫学調査を行った。その結果、アオブダイ中毒は、西日本を中心に少なくとも 20 件発生しており、75 名が中毒し、そのうち 6 名が死亡している。最近では、1997 年 9 月下旬、大阪市で徳島県牟岐町沖産アオブダイの筋肉と肝臓を喫食した 13 名中 11 名が (事例 1)、1999 年 4 月上旬、鹿児島市で同県佐多岬沖産アオブダイの肝臓を喫食した 2 名が中毒した (事例 2)。また、原因魚類である有毒アオブダイの多くは、長崎県福江島周辺、四国太平洋沿岸および三重県熊野灘周辺で採捕されていたことから、本種の毒化海域はかなり限定していると考えられた。

他方、2000年10月下旬から11月上旬に高知市および土佐市で高知県柏島産ハタ科魚類（筋肉と内臓）を喫食した33名中11名が集団食中毒した（事例3）。本事例は、潜伏時間が3-36時間と長く、主症状は横紋筋融解症やミオグロビン尿症で、中毒患者らの血清CPK値は発症後数日で著しく上昇し、アオブダイ中毒に酷似していたことから、アオブダイ中毒様食中毒と考えられた。当初、患者らの証言により、原因魚種は、クエ *Epinephelus bruneus* であるとされたが、わが国では高級魚として流通している本種による同様の中毒事例の報告がないため、等電点電気泳動による魚種の同定を試みたところ、原因魚種の筋形質タンパクの泳動パターンは、クエ *E. bruneus* のそれと若干の差異が認められたものの、それらは極めてよく一致していた。従って、本中毒の原因魚種は、地元で通称「クエ」と呼ばれるハタ科魚類であると示唆された。本中毒を機に、わが国でアオブダイ以外の魚類によってもアオブダイ中毒が発生することが初めて示された。

また、2001年1月中旬に三重県紀伊長島町で同県産ブダイ科魚類（筋肉と内臓）により1名が（事例4）、さらに2001年11月上旬、同県御浜町でハコフグ科魚類（内臓）により1名が中毒し（事例5）、患者の症状等からアオブダイ中毒様食中毒が疑われたので、これらの事例についても同様に疫学調査を行った。いずれの患者も共通してアオブダイ中毒に特徴的な横紋筋融解症、ミオグロビン尿症、血清CPK値の急激な上昇を呈したことから、事例4および5も、アオブダイ中毒と同様の原因物質による中毒であると示唆された。他方、事例4の原因魚類はブダイ *Calotomus japonicus*、また、事例5のそれはハコフグ *O. cubicus* であるとされたが、いずれも原因食品の残品の回収がほぼ不可能であったため、それらの同定には至らなかった。

第2章では、事例1について原因魚類である有毒アオブダイが採捕された徳島県牟岐町沖および隣接する同県浅川湾より同時期に採捕した本種の毒性および毒の性状を調べるとともに、事例2については、原因食品の残品（筋肉）を入手して原因物質の検討を行った。

徳島県産アオブダイ12検体の筋肉と肝臓の毒性について調べたところ、主として肝臓にマウスに対する遅延性致死活性を示す毒（遅延性毒: 0.5 - 2.0 MU/g）がみられた。さらに、本毒を投与したマウスの血清CPK値（基準値20 - 160）は、投与6時間後に最高1,480 - 3,670 IU/lと著しく上昇した。

他方、現在、アオブダイ中毒の原因物質の検出は、マウスに対する致死活性を指標とした毒性試験法によるところが大きい。しかしながら、マウスの感受性が低く、特異性もな

いことから、本中毒の早期解明ならびにその予防のためには、簡便、迅速で、かつ特異性と鋭敏さを備えた検出方法が必要と考えられた。そこで、アオブダイから得られた粗毒を用いて、マウスならびにヒト赤血球に対する溶血活性を指標としたアオブダイ毒の検出方法の開発を試みた。PTX 標品ならびに前述した遅延性毒について、マウス赤血球に対する溶血活性を調べたところ、前者は、マウス赤血球に対して、インキュベート 1 時間において、PTX 濃度 10^1 ng/ml 以下では 5% 未満の溶血率であったが、インキュベート 4 時間において、PTX 濃度 10^1 ng/ml 以上で遅延性溶血活性が認められた。さらに、本活性は抗 PTX 抗体 (200 μ g/ml) により抑制されるとともに、PTX 標品はヒト赤血球に対しても強心配糖体 g-ストロンファンチン (ウワバイン) (200 μ M) で抑制される遅延性溶血活性を示した。一方、アオブダイより得られた遅延性毒は、濃度 10^{-1} g 試料相当量/ml において、インキュベート 1 時間ではほとんど溶血しなかったのに対し (1% 未満)、インキュベート 4 時間では $49.6 \pm 1.5\%$ の遅延性溶血活性を示し、本活性は抗 PTX 抗体により特異的に抑制された ($25.7 \pm 4.2\%$)。さらに、本毒はヒト赤血球に対してもウワバインにより抑制される若干の遅延性溶血活性を示した。従って、アオブダイ中毒の原因物質は PTX 様物質であることを再確認するとともに、マウスもしくはヒト赤血球に対する溶血活性を指標とする検出法は、アオブダイ毒の検出に極めて有効であると考えられた。

しかしながら、事例 2 の原因食品の残品 (筋肉) から致死活性および遅延性溶血活性は認められなかった。有毒アオブダイは筋肉よりも肝臓に強い毒を保有しており、筋肉は無毒であることがしばしばある。第 1 章の疫学調査において、事例 2 の場合、中毒患者を除く筋肉のみを喫食した 25 名は中毒しなかったことから、事例 2 の原因物質は肝臓にのみ局在していたと推察された。

第 3 章では、事例 3 および 5 の原因魚類の残品 (事例 3: ハタ科魚類の筋肉, 事例 5: ハコブグ科魚類の皮) について、それらの毒性と毒の性状を調べ、それらの原因物質の解明を目的とした。また、事例 4 については、販売店舗より同一ロットとされるブダイ *C. japonicus* を入手して同様に検討した。

ハタ科魚類の筋肉からは、マウスに対して遅延性致死活性を示す毒 (0.5 MU/g) が得られるとともに、本毒はマウスおよびヒト赤血球に対して濃度 10^{-1} g 試料相当量/ml で遅延性溶血活性を示した (それぞれ $81.6 \pm 0.6\%$, $19.5 \pm 0.9\%$)。さらに、後者の活性は、抗 PTX 抗体ならびにウワバインにより特異的に抑制され、これらの諸性状は前述のアオブダイよ

り得られた粗毒ならびに PTX に酷似していた。ハコフグ科魚類の皮については、マウスに対する致死活性は認められなかったものの、マウスならびにヒト赤血球に対する同様の性状がみられた。これらの結果から、ハタ科魚類およびハコフグ科魚類が PTX 様物質を保有し、それらによってアオブダイ毒様中毒を引き起こされたことが示された。また、ブダイ *C. japonicus* の筋肉に致死活性は認められなかったものの、マウス赤血球に対してのみ抗 PTX 抗体により抑制される若干の遅延性溶血活性がみられ、本種が微量の PTX 様物質を保有していることが推察され、事例 4 の原因物質も PTX 様物質であった可能性が示唆された。

第 4 章では、バングラデシュで頻発している淡水フグ中毒の原因物質の解明の一助として、バングラデシュ産淡水フグの毒性および毒の性状について検討した。

まず、1999 年 5 月にバングラデシュのキシオルゴンジュで採捕された淡水フグ *Tetraodon* sp. について、皮、筋肉、肝臓、生殖腺、腸の部位別毒性を調べたところ、saxitoxin (STX) および decarbamoylSTX (dcSTX) を主成分とする 1.7 - 5.9 MU/g の PSP が得られた。他方、溶媒分画により得られた 1-ブタノール画分は、マウスに対して遅延性致死活性を示す毒 0.5 MU/g がみられた。さらに、本毒はマウスならびにヒト赤血球に対して、抗 PTX 抗体もしくはウワバインにより特異的に抑制される遅延性溶血活性を示したことから、本種が PSP と PTX 様物質の 2 種の毒性因子を保有していることが示された。しかしながら、PSP 中毒の最少致死量が 3,000 MU とされていることを考慮すると、本種より得られた PSP の毒力は低く、かつ中毒患者の主症状はアオブダイ中毒に特徴的な横紋筋融解症やミオグロビン尿症であることやその致死時間が長いことから、本中毒の主たる原因物質は、アオブダイ中毒と同様の PTX 様物質であると推察された。

第 5 章では、アオブダイ中毒の原因物質の起源生物である可能性の高い底生性渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属の毒性ならびに毒の性状について検討した。

1997 年 10 月、徳島県牟岐町沖で採取、分離して得られた *Ostreopsis* sp. の単一株につき、ES 変成培地を用いて、培養温度 21°C、光強度 85 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12 L/12 D の条件下で 16 日間培養した。得られた培養藻体の産生毒について調べたところ、マウスに対する遅延性致死活性 (1 MU/1.0 $\times 10^4$ cells 試料相当量/ml) がみられ、それらマウスの血清 CPK 値は、毒投与 24 時間後に最高 980 - 1,560 IU/l を示し、アオブダイ中毒の原因物質と同様の傾向を示した。さらに、本毒は、濃度 10^2 cells 試料相当量/ml 以上でマウスならびにヒト赤血

球に対して抗 PTX 抗体もしくはウワバインで特異的に抑制される遅延性溶血活性を示すことが認められた。

他方、2001年6月、アオブダイ中毒の発生率が最も高く、その毒化海域とされている長崎県五島列島福江島で *Ostreopsis* 属の分布調査を行ったところ、非常に低密度ではあるが、底生性渦鞭毛藻 *O. siamensis* の分布が確認された。そこで、玉之浦湾で採取した本種の単一株についても同様に培養し、その産生毒について検討したところ、前述の *Ostreopsis* sp. 毒と同様の性状を示した。従って、有毒底生性渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属がアオブダイ中毒の原因物質の起源生物であることが強く示唆された。

最後に、第6章では、以上の結果に基づき総合的な考察を行った。