

## 最近の静岡県我入道産バイ貝の毒性および毒成分

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
巻/号	522
掲載ページ	p. 319-322
発行年月	1986年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 最近の静岡県我入道産バイ貝の毒性および毒成分

辻 邦郎, 福山俊典, 平井孝一,  
夏山龍煥, 小菅卓夫

(1985年7月13日受理)

## A Recent Survey on Toxicity of the Japanese Ivory Shell from Ganyudo Area, Shizuoka Prefecture, and Identification of Responsible Toxins

Kuniro Tsuji,\* Toshinori Fukuyama,\* Koichi Hirai,\*  
Ryukan Natsuyama,\* and Takuo Kosuge\*

Specimens of the ivory shell *Babylonia japonica* were harvested from the Ganyudo area of Suruga Bay, Shizuoka Prefecture, from June to September 1984, and assayed for toxicity. The results showed that the toxicity of the shellfish, once-disappeared in 1978, recovered up to 500 mouse units/g midgut gland.

Two responsible toxins were isolated by several steps of column chromatography. Instrumental analyses allowed us to identify them as neosurugatoxin and prosurugatoxin.

1965年、静岡県沼津市我入道産バイ *Babylonia japonica* による食中毒が発生したが、このバイの毒性は1969~71年をピークとして以後は急激に減少し、<sup>1)</sup>1978年には毒性が認められなくなった(成田ら、未発表)。突発的に毒化を起こした魚貝類は、短期間のうちにその毒性が消失してしまうことが多い。しかしながら、我入道産毒化バイの場合、約13年間という長期にわたり毒性が持続していたことになり、この種の毒化例としては稀である。

先に、我入道産毒化バイによる食中毒の原因毒素として、ネオスルガトキシン<sup>2,3)</sup>、プロスルガトキシン<sup>4)</sup>を単離し、Fig. 1に示したように、構造を決定した。また、最近、バイ毒化原因についても、海洋細菌が関与していることをつきとめることができた。<sup>5)</sup>

バイの毒化原因解明の研究途上、1984年6~9月に我入道海域において採取したバイの毒性を調査したとこ

ろ、明らかに毒性(マウス瞳孔散大活性)を有していることが認められた。一度は消失したバイの毒性が、再び認められたので、この毒素が、ネオスルガトキシン、プロスルガトキシンと同一のものか否かを確かめるため、毒素の分離を行った。

## 材料と方法

**毒性試験** 1984年6~9月、我入道海域で採取したバイから中腸腺を取り出し、ホモジナイズ後、その10gをとり、1%酢酸50mlを加え、4°C、6時間攪拌抽出後、4°C、17,000 rpm、30分間遠心分離し、上清を分け、沈殿は再度1%酢酸50mlで抽出を行った。上清を合せ、エーテル100mlで3回洗浄した後、水層のエーテルを減圧下除去し、全量を100mlとして、その一定量をマウス(ddy系、20g、雄)に腹腔内投与し、瞳孔を散大させる最少作用量を1 mouse unit=MUとしたときの毒性(MU/g)を求めた。

**毒素の分離** 1984年7月に採取したバイ37個を原料とした。このものは100 MU/gの毒性を有しており、この毒性がすべてネオスルガトキシンによるものとすれば、約2.4 mgのネオスルガトキシンが含有されているものと計算された。このように毒素の含量が微量でしかも極めて不安定であるため、その分離操作は、プロスルガトキシンの単離方法を参考にし簡略化して行った。すなわち、中腸腺345gを0.5%酢酸670mlで4°C、6時間攪拌抽出後、4°C、11,500 rpm、40分間遠心分離し、

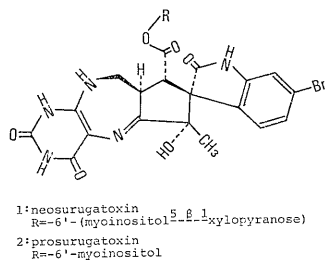


Fig. 1. Structures of neosurugatoxin and prosurugatoxin.

\* 静岡薬科大学 (Shizuoka College of Pharmacy, 2-2-1 Oshika, Shizuoka 422, Japan).

上清を分け、沈殿は再度、0.5% 酢酸 670 ml で抽出した。上清約 1.4 l に等量のアセトンを加え、一夜放置後、生じた沈殿を遠心分離により除去し、減圧下 25°C 以下で約 1 l まで濃縮し、エーテル 1 l で 3 回洗浄した後、凍結乾燥し、24.0 g の抽出物を得た。

次に、この抽出物をマウス瞳孔散大活性及び紫外吸収 (UV) スペクトル (280 nm) で検出しながら、Sephadex G-25 column (4.7×90 cm, solvent; 0.1% 酢酸) にて分離し、ここで得られた活性分画を Bio-Gel P-2 column (2.5×30.5 cm, solvent; 0.1% 酢酸) で分離した。ここでの活性分画を更に、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて 2 度精製した。なお、このときの HPLC 条件は次のようである。

column; YMC-Pack A-324 (ODS) 10×300 mm

flow rate; 3 ml/min

detector; UV (280 nm)

eluent; ① CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O=25/75

② CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=10/90

また、精製毒の secondary ionization mass spectrometry (SIMS) の測定条件は次のようにした。

一次イオン; Xe<sup>+</sup>

一次イオン加速電圧; 9 kV

二次イオン加速電圧; 3 kV

使用機種; Hitachi M-80

マトリクス剤; glycerol

<sup>1</sup>H-NMR は、Nicolet NT 300 spectrometer にて測定した。

## 結果と考察

**毒性試験** 1984 年 6~9 月にかけてのバイの毒性を Table 1 に示した。食中毒が発生した当時、我入道海域には異常発生ともいえるほどの多数のバイが棲息していたが、バイの毒力が低下するにつれ少なくなり、現在では大量のバイの捕獲は困難である。Table 1 に示したように、1984 年 9 月に採取したものは、500 MU/g の毒性を有しており、我入道バイの毒性は再び上昇傾向にあることが認められた。

**毒素の分離** 中腸腺の 0.5% 酢酸抽出物を Sephadex G-25 column に付したときのクロマトグラムを Fig. 2 に示した。マウス瞳孔散大活性は、大量の物質が溶出した後の分画 fract. No. 111~170 (Active fract. I, 159 mg) に認められた。この黄色の活性分画は、0.1 mg/mouse でマウスの瞳孔を 80~100% 散大させた。

Active fract. I, 0.1 mg を HPLC を用いて、A~E

Table 1. Toxicities of ivory shell specimens from Ganyudo area

Date	Number of specimens	Total weight (g)	Weight of midgut gland (g)	Toxicity (MU/g)
Jun., 1984	3	220	25	200
Jul., 1984	37	2800	345	100
Sep., 1984	8	555	50	500

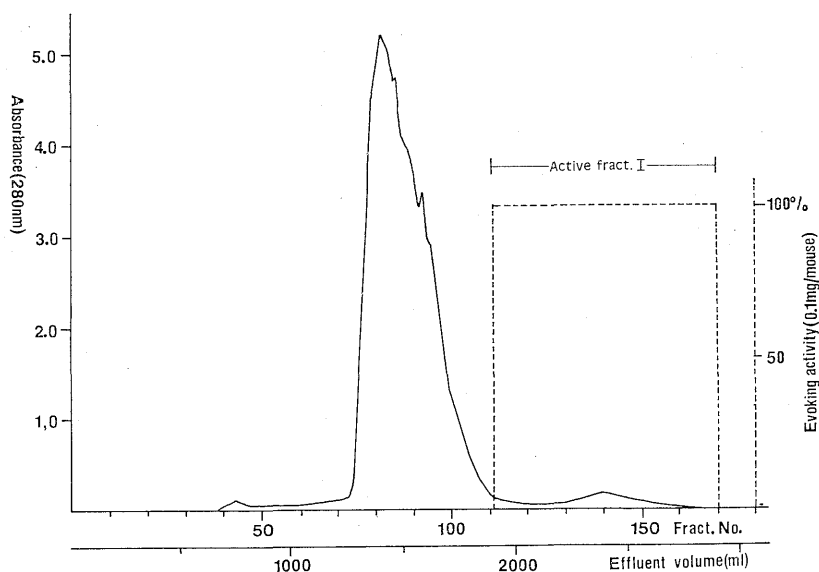


Fig. 2. Gel filtration of 0.5% AcOH extract on Sephadex G-25. column size: 4.7×90 cm, solvent: 0.1% AcOH.

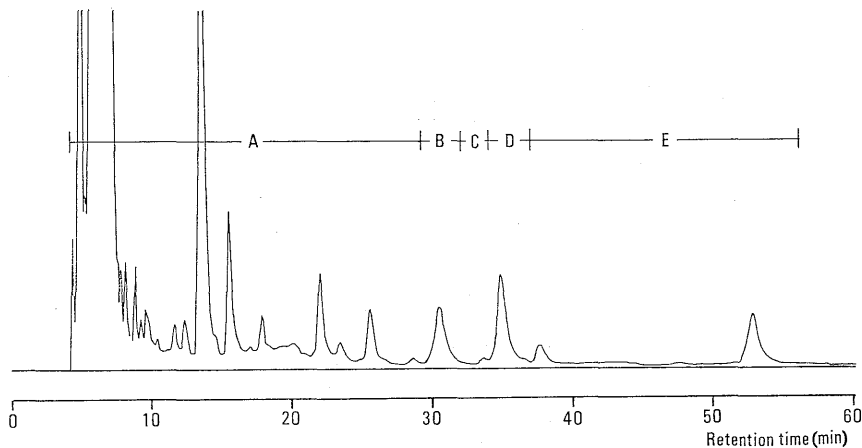


Fig. 3. Fractionation of Active fract. I by HPLC. column: YMC-Pack A-324 (ODS) 10×300 mm, mobile phase: MeOH/H<sub>2</sub>O=25/75, flow rate: 3 ml/min, detector: UV (280 nm)

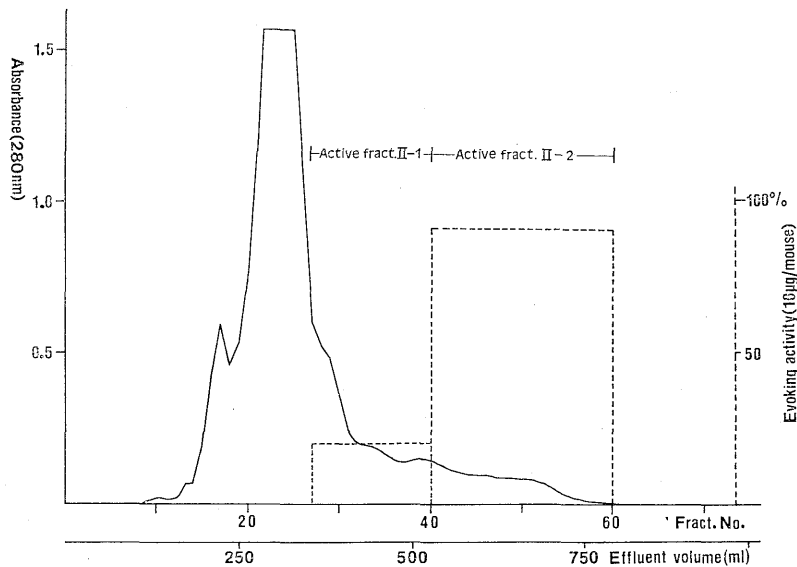


Fig. 4. Gel filtration of Active fract. I on Bio-gel P-2. column size: 2.5×30.5 cm, solvent: 0.1% AcOH.

の分画に分け、それぞれの活性の検討を行ったところ (Fig. 3), プロスルガトキシンと同一 retention time (R.T.) の D 分画にのみ活性が認められた。しかしながら、ネオスルガトキシンと同一 R.T. の B 分画には活性は認められなかった。

次に、Active fract. I の Bio-Gel P-2 column におけるクロマトグラムを Fig. 4 に示した。ネオスルガトキシンと同一の K<sub>d</sub> 値の分画 fract. No. 27~40 (Active fract. II-1, 17.9 mg) は 10 µg/mouse で 20~30% の活性を有し、また、プロスルガトキシンと同一の K<sub>d</sub> 値の分画 fract. No. 41~60 (Active fract. II-2, 9.6 mg) は、10 µg/mouse で 80~100% の活性を有した。

Fig. 5 に Active fract. II-1, 50 µg を HPLC にかけたときのクロマトグラムを示したが、Active fract. I の HPLC の検討では認められなかったネオスルガトキシン分画 (B 分画) にも活性が認められた。そこで Active fract. II-1 を 2 度の HPLC (eluent; ①, ②) にて精製し、白色アモルファス物質を得た。このものは、微量のため <sup>1</sup>H-NMR 測定はできなかったが、UV スペクトル (λ<sub>max</sub> nm, 309 (sh), 325 (sh), 280, 219) 及び質量スペクトル (SIMS): (m/z; 784, 786 (M+H)<sup>+</sup>) は、ネオスルガトキシンのものと一致した。

Fig. 6 に Active fract. II-2, 10 µg を HPLC に付したときのクロマトグラムを示した。プロスルガトキ

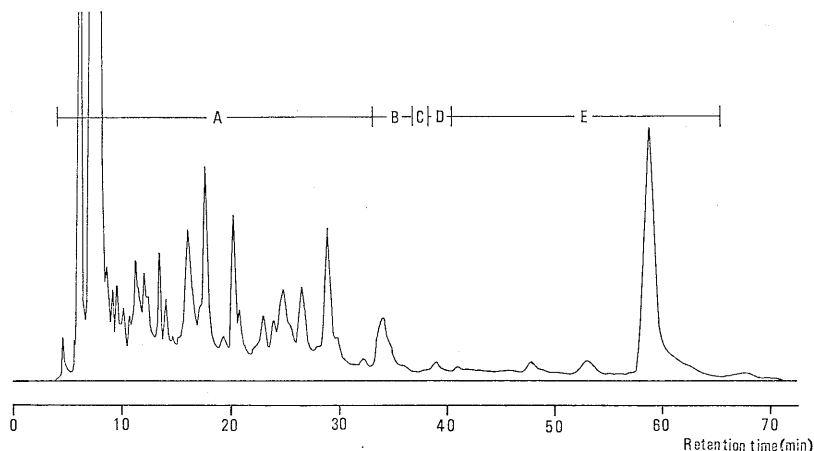


Fig. 5. Fractionation of Active fract. II-1 by HPLC. column: YMC-Pack A-324 (ODS)  $10 \times 300$  mm, mobile phase: MeOH/H<sub>2</sub>O=25/75, flow rate: 3 ml/min, detector: UV (280 nm).

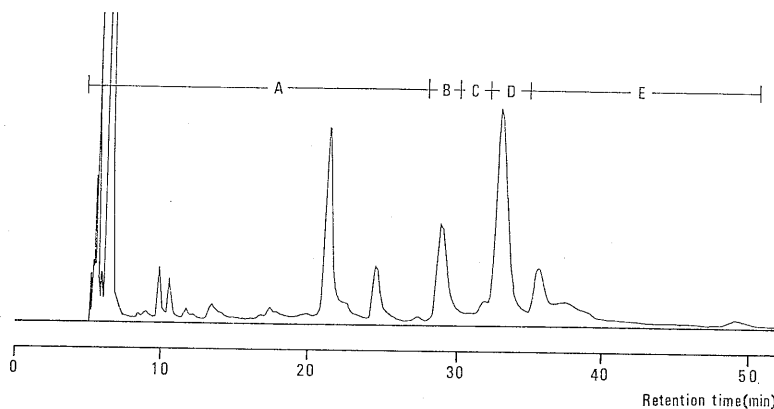


Fig. 6. Fractionation of Active fract. II-2 by HPLC. column: YMC-Pack A-324 (ODS)  $10 \times 300$  mm, mobile phase: MeOH/H<sub>2</sub>O=25/75, flow rate: 3 ml/min, detector: UV (280 nm).

ンと同一の R.T. の D 分画にのみ活性が認められたので、すべての Active fract. II-2 を HPLC にて精製し、マウス瞳孔散大活性を有する白色アモルファス物質約 0.3 mg を得た。このものの <sup>1</sup>H-NMR, SIMS, 及び UV スペクトルは、プロスルガトキシンに一致し、プロスルガトキシンと同定した。<sup>4)</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (in D<sub>2</sub>O); 7.28–7.34 (2 H, m), 7.23 (1 H, d, J=1.2 Hz), 4.90 (1 H, t, J=10.0 Hz), 3.95 (1 H, t, J=3.0 Hz), 3.90–3.96 (1 H, m), 3.65 (1 H, br S), 3.55 (1 H, t, J=9.5 Hz), 3.39 (1 H, dd, J=3.0, 10.0 Hz), 3.35 (1 H, dd, J=3.0, 10.0 Hz), 3.32–3.42 (1 H, m), 3.02 (1 H, t, J=9.5 Hz), 1.46 (3 H, S)  
SIMS; m/z: 652, 654 (M+H)<sup>+</sup>

UV λ<sub>max</sub><sup>H<sub>2</sub>O</sup> nm; 309 (sh), 324 (sh) 279, 219

以上の実験結果より、現在の我入道産パイの毒性もネオスルガトキシン、プロスルガトキシンによるものであることが確認された。

瞳孔散大を伴う貝類の毒化は、今までのところ我入道

産パイ以外に例をみないが、いつ何時、他の海域で発生するやもしれず、海洋細菌によるパイの毒化機序解明を急いでいる。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金によって行なわれた。ここに記して謝意を表します。

## 文 献

- 1) 成田弘子, 木村庄治: 静岡衛研報告, **18**, 69–70 (1975).
- 2) T. Kosuge, K. Tsuji, K. Hirai, K. Yamaguchi, T. Okamoto, and Y. Iitaka: *Tetrahedron Lett.*, **22**, 3417–3420 (1981).
- 3) T. Kosuge, K. Tsuji, and K. Hirai: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3255–3259 (1982).
- 4) T. Kosuge, K. Tsuji, K. Hirai, T. Fukuyama, H. Nukaya, and H. Ishida: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2890–2895 (1985).
- 5) T. Kosuge, K. Tsuji, K. Hirai, and T. Fukuyama: *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3059–3061 (1985).