

肉食性巻貝唾液腺の毒性及びテトラミン含量

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	川嶋,陽子 長島,裕二 塩見,一雄
発行元	日本食品衛生学会
巻/号	43巻6号
巻号補足	
掲載ページ	p. 385-388
発行年月	2002年12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



調査・資料

肉食性巻貝唾液腺の毒性及びテトラミン含量

(平成 14 年 7 月 2 日受理)

川嶋 陽子* 長島 裕二* 塩見 一雄*,†

Toxicity and Tetramine Contents of Salivary Glands from Carnivorous Gastropods

Yoko KAWASHIMA, Yuji NAGASHIMA and Kazuo SHIOMI†

(Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Fisheries: 4-5-7, Konan, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan; † Corresponding author)

Salivary glands from 29 species of marine carnivorous gastropods in nine families were examined for lethal activity against mice and tetramine content. Mouse lethality was assayed by intravenous injection of buffer extracts into mice, and was detected in 14 species. Heat-stability tests confirmed that toxins in four species were thermolabile, while those in eight species were thermostable. Based on the tetramine contents determined by the colorimetric method using methanolic extracts, the thermostable toxins in seven species (*Neptunea eulimatalamellosa*, *N. vinosa*, *N. arthritica*, *N. bulbacea*, *N. intersculpta* f. *pribiloffensis*, *N. intersculpta* f. *frater pilsbry* and *Hemifusus tuba*) were considered to be tetramine contained at high levels (more than 900 µg/g salivary gland), but that in one species (*Buccinum opisthoplectum*) appeared to be a low-molecular-weight compound differing from tetramine. It is interesting that one (*Hemifusus tuba*) of the seven species containing high amounts of tetramine belongs to the family Melongenidae, although the other six *Neptunea* species are members of the family Buccinidae, as expected from previous studies.

(Received July 2, 2002)

Key words: エゾバイ科 Buccinidae; 唾液腺 salivary gland; テトラミン tetramine; 肉食性巻貝 carnivorous gastropod; 毒性 toxicity

緒 言

エゾバイ科巻貝はツブあるいはツブ貝と称して広く市場に流通しているが、唾液腺のテトラミン含量が数 mg/g と非常に高い種類があり、しばしば食中毒の原因となっている。主な中毒症状は頭痛、めまい、船酔い感、酩酊感、視覚異常であるが、テトラミンは短時間で体外に排泄されるので回復は早く死亡することはない¹⁾。これまでのところ、ムカシエゾボラ^{2)~4)}、ヒメエゾボラ^{3)~7)}、エゾボラモドキ^{6), 7)}、ヒメエゾボラモドキ⁸⁾、チヂミエゾボラ⁷⁾及びエゾボラ^{7), 9)}の6種に高濃度のテトラミンが検出されており、テトラミンはエゾバイ科巻貝に広く分布すると考えられるが、調べられていない種類も多い。また、テトラミンの分布はエゾバイ科に限られているわけではなく、フジツガイ科のアヤボラの唾液腺にも検出されているが⁶⁾、エゾバイ科以外の巻貝におけるテトラミンの測定例は乏しい。

唾液腺にテトラミンが検出されている巻貝はいずれも肉食性で、カニ類や二枚貝などを餌としているが、捕食の際

に餌動物の麻痺にテトラミンを利用している⁴⁾。同様な目的で多くの肉食性巻貝が唾液腺に毒成分を有することは大いに考えられる。実際、著者ら⁹⁾は、フジツガイ科のボウシュウボラ、カコボラ及びエゾバイ科のエゾバイの3種巻貝の唾液腺に、テトラミンとは異なる毒成分を見いだしている。このうち、カコボラ毒はすでに精製し、分子量 25 k の熱に不安定なタンパク質であること^{9), 10)}、及びエゾバイ毒も易熱性であることを確認している⁹⁾。巻貝は一般には加熱調理して食べることを考慮すると、カコボラ毒及びエゾバイ毒が食中毒を引き起こすことはないと判断される。しかし、ボウシュウボラ毒は耐熱性で⁹⁾、食品衛生の点から問題があると思われる。

以上のように、肉食性巻貝の唾液腺毒として有名なテトラミンについてもその分布は十分に明らかにされておらず、更に肉食性巻貝にはテトラミン以外の毒成分が広く存在している可能性があり、将来的には食品衛生上の問題を引き起こすことも考えられる。そこで本研究では、各種肉食性巻貝の唾液腺についてマウス毒性を調べるとともに、テトラミン含量を測定した。

† 連絡先

* 東京水産大学食品生産学科: 〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

Table 1. Toxicity and Tetramine Contents of Salivary Glands from Carnivorous Gastropods

Family	Gastropod Species* ¹	Place and date of collection or purchase* ²	Salivary gland sample* ³	Toxicity against mice (titer)		Content of tetramine (μ g/g)
				Before heating	After heating	
Potamididae	<i>Batillaria multiformis</i> (Uminina)	I, July 1996	A (10)	<1		<10
Naticidae	<i>Neverita didyma</i> (Tsumetagai)	II, August 1995	A (1)	<1		<10
Cymatiidae	<i>Fusitriton galea</i> (Kabutoayabora)	III, June 1997	A (1)	32	<1	10
	<i>Monoplex echo</i> (Kakobora)	I, July 1996	A (1)	512	<1	<10
Tonnidae	<i>Tonna luteostoma</i> (Yatsushirogai)	III, July 1992	A (1)	<1		
Muricidae	<i>Chicoreus asianus</i> (Onisazae)	I, June 1995	A (1)	2		
	<i>Ceratostoma burnetti</i> (Hiregai)	I, June 1997	A (1)	<1		
	<i>Thais clavigera</i> (Ibonishi)	I, July 1996	A (20)	<1		
	<i>Thais bronni</i> (Reishigai)	I, July 1996	A (1)	<1		90
	<i>Drupa rubusidaeus</i> (Akaigareishigai)	IV, July 2001	A (7)	2		190
	<i>Purpura siro</i> (Shiروهishigai)	I, June 1997	A (1)	<1		420
	<i>Rapana venosa</i> (Akanishi)	III, October 1992	A (1)	<1		40
		III, October 1992	B (1)	<1		<10
		III, October 1992	C (1)	<1		30
Buccinidae	<i>Pisania ferrea</i> (Isonina)	I, July 1996	A (30)	4	<1	50
	<i>Neptunea eulimatalamellosa</i> (Kuriiroezobora)	III, July 1992	A (1)	4	4	8,600
		III, July 1992	B (1)	4	4	5,500
		III, September 1996	C (1)	8	8	7,050
	<i>Neptunea vinosa</i> (Fujiiroezobora)	III, September 1996	A (1)	4	4	6,960
	<i>Neptunea arthritica</i> (Himeezobora)	III, April 1996	A (1)	4	4	10,600
		III, May 2001	B (1)	2	2	3,530
		III, May 2001	C (1)	4	4	9,700
		III, May 2001	D (1)	4	4	6,840
	<i>Neptunea bulbacea</i> (Atsuezobora)	III, May 2001	A (1)	2	2	1,950
		III, May 2001	B (1)	4	4	3,730
	<i>Neptunea intersculpta</i> f. <i>pribiloffensis</i> (Maruezoboramodoki)	III, June 2001	A (1)	8	8	11,810
	<i>Neptunea intersculpta</i> f. <i>frater pilsbry</i> (Koezoboramodoki)	III, June 2001	A (1)	2	2	940
		III, June 2001	B (1)	2	2	910
	<i>Babylonia japonica</i> (Bai)	III, July 1995	A (5)	<1		80
		III, May 2001	B (10)	<1		130
	<i>Babylonia areolata</i> (Seironbai)	III, July 1992	A (14)	<2		250
	<i>Buccinum polaremirandum</i> (Himeezobai)	III, June 1997	A (1)	<1		40
	<i>Buccinum shantaricum</i> (Ezobai)	III, October 1992	A (1)	2	<1	
		III, July 1993	B (1)	8	<1	140
		III, July 1995	C (1)	6	<1	20
	<i>Buccinum striatissimum</i> (Etchubai)	III, May 2001	A (9)	<2		30
		III, May 2001	B (8)	<2		50
	<i>Buccinum opisthoplectum</i> (Kubirebai)	III, March 1993	A (10)	1	1	<10
		III, May 2001	B (13)	<2		100
	<i>Kelletia lischekei</i> (Migakibora)	III, August 1995	A (1)	<1		10
Melongenidae	<i>Hemifusus tuba</i> (Tengunishi)	III, October 1992	A (1)	1	1	8,800
		III, October 1992	B (1)	<1		4,500
Fascioliariidae	<i>Latirtolagena smaragdula</i> (Marunishi)	IV, June 2001	A (5)	<1		80
Vasidae	<i>Vasum seramicum</i> (Onikobushigai)	IV, June 2001	A (3)	<1		<10

*¹ Japanese names are in parentheses.*² Place of collection or purchase: I, Katsuura, Chiba Prefecture; II, Tokoname, Aichi Prefecture; III, Tokyo Central Wholesale Market; IV, Okinawa Prefecture.*³ The number of specimens used to collect enough salivary gland sample is indicated in parentheses.

実験方法

1. 試料

試料としてはウミナ科 (Potamididae) 1 種, タマガイ科 (Naticidae) 1 種, フジツガイ科 (Cymatiidae) 2 種, ヤツシロガイ科 (Tonnidae) 1 種, アクキガイ科 (Muricidae) 7 種, エゾバイ科 (Buccinidae) 14 種, カンムリボラ

科 (Melongenidae) 1 種, イトマキボラ科 (Fascioliariidae) 1 種, オニコブシガイ科 (Vasidae) 1 種の合計 29 種を用いた (Table 1). これら試料は東京都中央卸売市場で購入又は各地で採集し, 生きたまま, 又は新鮮な状態で研究室に持ち帰り, 直ちに実験に使用するか, 使用するまで -20°C で凍結保存した.

2. 抽出方法

生きたまま、又は半解凍状態の試料から、他の組織が混入しないように注意しながら唾液腺を採取した。唾液腺が小さい種類については複数の検体から採取した唾液腺を合わせて用いた。唾液腺試料は乳鉢で磨砕後、約半量を9倍量の0.15 mol/L 塩化ナトリウム-0.01 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) で抽出し、致死活性測定用のバッファー抽出液とした。テトラミンの抽出には水系溶媒よりもメタノールの方が効率的であることが報告されているので¹¹⁾、残りの約半量の唾液腺試料はテトラミン定量用にメタノールで抽出した。試料を10倍量のメタノールで2回抽出し、2回分の抽出液を合わせて減圧乾固した。乾固物は抽出に用いた唾液腺重量と等量のイオン交換水に懸濁し、遠心分離により得られた上清をメタノール抽出液として用いた。

3. 致死活性の測定方法

致死活性の測定には、ddY系4週齢の雄マウス（体重約20 g）を用いた。唾液腺のバッファー抽出液（又はその段階的2倍希釈液）を1群2匹のマウスに静脈投与し、致死の有無を24時間観察した。投与量はマウスの体重1 g 当たり10 μ L に設定した。各群2匹のマウスが両方とも死亡した場合を致死活性陽性とし、活性の強さは陽性と判断された最高希釈倍率 (titer) で表示した。なお、致死活性が認められた試料については、毒成分の熱安定性を調べるために沸騰水浴中で10分間の加熱処理を行い、生じた不溶物を遠心分離で除去後、同様に生物試験を行った。

4. テトラミンの定量

テトラミンの定量は、テトラブロモフェノールフタレイソエチルエステル (TBPE・K, 東京化成工業(株)) を含むジクロロエタン (DCE, 国産化学(株)) 溶液をイオン会合性試薬とした藤井らの方法⁸⁾ に準じて次のように行った。メタノール抽出液 0.1 mL に1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 0.1 mL 及びイオン交換水 2.3 mL を加えてかくはんし、5分間放置後イオン会合性試薬 (7 mg の TBPE・K を約 190 mL のイオン交換水に溶解し、塩酸で pH 3.0 に調整して 200 mL に定容後、等量の DCE と振とうして得られた下層) を 3 mL 加えて振とうした。15分間放置後、下層を分取して30分後に波長 610 nm における吸光度を測定した。検量線の作成には塩化テトラミン標準品 (東京化成工業(株)) を用いた。

結果及び考察

1. 毒性

マウス致死活性は、調べた29種巻貝のうちフジツガイ科2種（カブトアヤボラ、カコボラ）、アキガイ科2種（オニサザエ、アカイガレイシガイ）、エゾバイ科9種（イソナ、クリイロエゾボラ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、アツエゾボラ、マルエゾボラモドキ、コエゾボラモドキ、エゾバイ、クビレバイ）及びカンムリボラ科1種（テングニシ）の合計14種に検出された (Table 1)。このうちカコボラでは titer 512 と異常に強い毒性がみら

れ、カブトアヤボラ (titer 32) がそれに続き、その他では titer 8 以下であった。カコボラ^{9), 10)} 及びエゾバイ⁹⁾ の唾液腺のマウス毒性については以前にも報告したが、今回得られた毒性は以前の結果と同じレベルであった。

毒性が検出された14種のうち、クリイロエゾボラ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、アツエゾボラ、マルエゾボラモドキ、コエゾボラモドキ及びテングニシの7種の場合、最小致死量付近の投与量では投与直後からマウスに強いけいれんがみられ、数分以内に死亡した。その他の7種では、最小致死量付近の投与量ではマウスの致死時間は十数分から数時間とやや長く、死亡直前にけいれんやジャンプ症状が観察された。

マウス毒性が認められた14種のうち、抽出液が少なかったアカイガレイシガイとオニサザエを除く12種については、毒成分の熱安定性を調べるために抽出液を沸騰浴中で10分間の加熱処理を施し、再び毒性試験に供した。その結果、カブトアヤボラ、カコボラ、イソナ及びエゾバイの4種では、致死活性は加熱処理により完全に失われた。イソナは食用種ではないので食品衛生上の問題は元々なく、その他の3種巻貝も食べる場合には通常は加熱調理するので、中毒の心配はないと考えられる。なお、カコボラ毒で証明されているように^{9), 10)}、易熱性の毒成分はタンパク質であると推定される。一方、その他の8種では加熱前後の毒性には違いがみられず、毒成分は耐熱性であることが判明した。

2. テトラミン含量

1,000 μ g/g 前後あるいはそれ以上の高濃度のテトラミンは、エゾバイ科エゾボラ属 *Neptunea* の6種（クリイロエゾボラ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、アツエゾボラ、マルエゾボラモドキ、コエゾボラモドキ）とカンムリボラ科のテングニシの合計7種に検出された (Table 1)。その他では、アキガイ科のシロレイシガイ (420 μ g/g) 及びエゾバイ科のセイロンバイ (250 μ g/g) での含量がやや高かった程度である。

高濃度のテトラミンが認められたエゾバイ科6種のうち、ヒメエゾボラ^{3)~7)} については既に報告例があるが、クリイロエゾボラにおいては 270~350 μ g/g⁷⁾ とやや高い濃度での報告があるのみであり、残りの4種に関しては本研究がテトラミン測定の最初の例である。エゾバイ科巻貝の唾液腺にはテトラミンが広く分布するといわれているが、これまでの研究において高濃度のテトラミンが検出された種類はすべてエゾボラ属である^{2)~9)}。本研究でも、調べたエゾボラ属巻貝6種のテトラミン含量は例外なく高く、それに対してエゾバイ属 *Buccinum* などに分類されているその他8種のエゾバイ科巻貝では、テトラミン含量は明らかに低い (<10~50 μ g/g)。エゾボラ属巻貝は肉食性で、餌動物の麻痺にテトラミンを利用しているが、調べたその他のエゾバイ科巻貝はいずれも腐肉食性であるので、高濃度のテトラミンを必要としないと推測される。過去の研究結果^{2)~9)} 並びに本研究結果から、エゾバイ科

巻貝の中で、唾液腺に高濃度のテトラミンを含み食品衛生上警戒すべき種類はエゾボラ属であると判断される。

エゾバイ科以外では、わずか1種ではあるが、カンムリボラ科のテングニシの唾液腺にも4,500~8,800 $\mu\text{g/g}$ という高濃度のテトラミンが新たに検出されたことは重要である。フジツガイ科のアヤボラのテトラミン含量も非常に高いことが報告されており⁶⁾、本研究により高含量のテトラミンはエゾボラ属に限ったことではないことが更に裏付けられたといえる。今後のテトラミン中毒対策においては、エゾボラ属巻貝だけではなくテングニシやアヤボラも中毒原因になることを念頭に置いて進める必要があろう。なお、アヤボラと同じ *Fusitriton* 属に分類されているカブトアヤボラのテトラミン含量は10 $\mu\text{g/g}$ と非常に低く、*Fusitriton* 属の巻貝が、共通してテトラミンを高濃度を含むわけではない。

本研究では、それぞれの種類について調べた検体数が少ないので、テトラミン含量の個体差、季節差、地域差に関する知見は得られなかったが、これまでの報告^{6)~9)}と同様にかかなりの個体差が認められた(例えば、ヒメエゾボラの4検体では3,530~10,600 $\mu\text{g/g}$)。テトラミン含量の季節差については、アイルランド海産のムカシエゾボラでは顕著な差が認められているのに対し⁴⁾、北海道産のエゾボラでは著しい差はないとされている⁷⁾。この違いは、単に種類の違い、あるいは生息海域の違いによるのかもしれない。いずれにしても高濃度にテトラミンを含む巻貝について、テトラミン含量の季節差、地域差を明らかにしておく必要がある。

3. 毒性とテトラミン含量の関係

耐熱性の毒成分の存在が8種(クリイロエゾボラ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、アツエゾボラ、マルエゾボラモドキ、コエゾボラモドキ、クビレバイ、テングニシ)に認められ、このうちクビレバイを除く7種の唾液腺には高濃度のテトラミンが検出された。前述したように、これら7種の場合、最小致死量付近の投与量ではマウスに強いけいれんがみられ、数分以内に死亡した。マウスの症状及び致死時間は、著者ら⁹⁾が以前に最小致死量(約40 $\mu\text{g}/20\text{g}$)のテトラミンを投与したときと同じであり、しかもマウス致死活性とテトラミン含量との間にはほぼ正の相関がみられる。テトラミンの最小致死量と本研究で用いたバッファ抽出液の調製方法を考慮すると、テトラミン含量が2,000 $\mu\text{g/g}$ で致死活性がtiter 1に相当する。コエゾボラモドキのようにテトラミン含量から予想されるよりもマウス致死活性が高いものもあるが、7種のマウス致死活性はテトラミンによるものであると判断した。なお、テングニシの場合には、テトラミン含量が高いにもかかわらずマウス致死活性(titer<1~1)は低かったが、これはバッファによるテトラミンの抽出効率が悪かったためと考えられる。一方、クビレバイではテトラミン含量は非常に低いので、テトラミン以外の耐熱性の毒成分の存在が強く示唆された。著者ら⁹⁾は以前に、ボウシュウボラ

もテトラミンとは異なる耐熱性の毒成分を含むことを報告している。耐熱性毒は食中毒を引き起こす可能性があるので、クビレバイやボウシュウボラの毒成分の本体を明らかにすることは今後の大きな課題である。

以上、本研究結果並びにこれまでの知見を併せて、肉食性巻貝の唾液腺にはテトラミンとは異なる毒成分もかなり広く分布し、その一部は食品衛生上問題があるといえる。また、テトラミンの分布はエゾバイ科(特にエゾボラ属)に限られていないことも明らかである。肉食性巻貝の唾液腺毒による中毒防止のためには、テトラミンをはじめとした毒成分の分布を更に細に調べるとともに、未知の耐熱性毒の本体を究明することが望まれる。

文 献

- 1) 塩見一雄, 長島裕二 “海洋動物の毒—フグからイソギンチャクまで—(三訂版)” 東京, 成山堂, 2001, p. 138-144.
- 2) Fänge, R., The salivary gland of *Neptunea antiqua*. Ann. N.Y. Acad. Sci., **90**, 689-694 (1960).
- 3) Anthoni, U., Bohlin, L., Larsen, C., Nielsen, P., Nielsen, N. H., Christophersen, C., The toxin tetramine from the “edible” whelk *Neptunea antiqua*. Toxicon, **27**, 717-723 (1989).
- 4) Power, A. J., Keegan, B. F., Nolan, K., The seasonality and role of the neurotoxin tetramine in the salivary glands of the red whelk *Neptunea antiqua* (L.). Toxicon, **40**, 419-425 (2002).
- 5) Asano, M., Itoh, M., Occurrence of tetramine and choline compounds in the salivary gland of a marine gastropod *Neptunea arthritica* Bernardi. Tohoku J. Agric. Res., **10**, 209-227 (1959).
- 6) Asano, M., Itoh, M., Salivary poison of a marine gastropod *Neptunea arthritica* Bernardi and the seasonal variation of its toxicity. Ann. N.Y. Acad. Sci., **90**, 674-688 (1960).
- 7) Shindo, T., Ushiyama, H., Kan, K., Saito, H., Kuwahara, Y., Uehara, S., Yasuda, K., Study on contents of tetramine in salivary gland, meat and internal organs of buccinid gastropods (Mollusca). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **41**, 17-22 (2000).
- 8) Fujii, R., Moriwaki, M., Tanaka, K., Ogawa, T., Mori, E., Saito, M., Spectrophotometric determination of tetramine in carnivorous gastropods with tetrabromophenolphthalein ethyl ester. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **33**, 237-240 (1992).
- 9) Shiomi, K., Mizukami, M., Shimakura, K., Nagashima, Y., Toxins in the salivary gland of some marine carnivorous gastropods. Comp. Biochem. Physiol., **107B**, 427-432 (1994).
- 10) Shiomi, K., Kawashima, Y., Mizukami, M., Nagashima, Y., Properties of proteinaceous toxins in the salivary gland of marine gastropod (*Monoplex echo*). Toxicon, **40**, 563-571 (2002).
- 11) Kungswan, A., Noguchi, T., Kano, S., Hashimoto, K., Assay method for tetramine in carnivorous gastropods. Nippon Suisan Gakkaishi, **47**, 881-884 (1986).