

貝毒が検出された。ヨーロッパミドリガニから OA 群が検出されたのは、ヨーロッパミドリガニが毒化された貝を摂取したためと著者らは考えた。ヨーロッパミドリガニ 30 個余りのほとんどを喫食したのが一人であったことより、ヨーロッパミドリガニの可食部を約 140 g として、約 45 μg OA 当量の貝毒が摂取されたと推計された。調理されたヨーロッパミドリガニから 0.4 $\mu\text{g}/\text{g}$ のドウモイ酸 (DA) が検出されたが、DA がこの DSP 事例に関与したとは考え難かった。(参照 51, 52)

(2) 各国におけるその他の主な知見

1978 年 7 月 7 日に大阪府で青森県産のホタテガイを喫食した 3 名 (2 家庭) に、食後 6~9 時間のうちに激しいおう吐及び下痢がみられた。発熱、腹痛及び頭痛の症状はみられなかった。ホタテガイ喫食量は一人当たり約 100 g と推定された。残っていたホタテガイを用いて MBA が実施された結果、中腸腺 1 g 当たりの貝毒は 8 MU であった。用いられた試料の中腸腺とホタテガイ重量比は 1 : 6.15 であったことより、ホタテガイ 1 g 当たりの貝毒量は 1.2 MU と推計された。患者の貝毒摂取量は一人当たり約 100 MU (1 MU を 4 μg と換算すると 400 μg) と推定された。(参照 54)

1984 年 10 月にスウェーデン及びノルウェーでイガイ (mussels (*Mytilus edulis*)) を喫食した後に胃腸疾患を症状とする中毒が報告された。ノルウェーではこの後 1985 年 4 月まで同様の中毒の発生がみられた。「中毒に関係したと考えられるイガイ」を用いた MBA が実施された結果、「軽度~重度な毒力」で、中腸腺 1 g 当たり 1.5~2 MU の試料があったことが報告されている。胃腸疾患がみられたヒトのイガイ喫食量は、30~200 g と報告され、摂取された貝毒の毒力は、10~15 MU (40~60 μg の OA に相当) と推計された。スウェーデンの事例の原因と考えられたイガイを分析した結果、イガイの毒力は 17 MU/100 g であり、OA として 68 μg 、DTX として 53 μg と報告されている。(参照 51, 55)

1998 年、ポルトガルで 18 名がフジノハナガイ (Donax clams (*Donax trunculus*)) を喫食した後に OA のエステル化合物である DTX3 が原因と考えられる DSP を発症したことが報告された。報告によると、症状の重さは、喫食した貝の量に依存し、少量の貝を食べたヒトは軽症であったが、500 g の貝を食べたヒトは重い症状であった。HPLC 分析の結果、OA 濃度は 10 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 可食部と低かった。しかし、試料をアルカリ加水分解して分析すると OA 濃度は可食部 100 g 当たり 130 μg となった。著者らは、殻つき貝に対する可食部の割合を 18~20% として、500 g の貝を喫食したヒトは、OA に換算して 117~130 μg の貝毒を摂取したと推計した。(参照 56)

2011年6月に米国ワシントン州のセクイム湾で採取したイガイ (mussels) を喫食した家族に中毒症状がみられたことが報告されている。6月29日に採取したイガイを家庭でゆでて喫食した2歳、5歳及び45歳の3人に、喫食後それぞれ4時間、7時間及び14時間でDSPの症状が認められた。症状は、おう吐、下痢、悪寒、筋肉痛及び発熱であり、おう吐及び下痢は、それぞれ4時間及び52時間続いた。いずれの患者も喫食後96時間で回復した。喫食量は一人当たり貝8~15個であり、貝を4個喫食した大人は発症しなかった。家に残っている貝はなかったが、この家族が貝を採取した場所は、2011年のモニタリング地区であり、6月29日前後の11検体のイガイの入手が可能であった。加水分解した検体を用いてLC-MS/MSにより、遊離OA、DTX1、DTX2、及びそれらのアシルエステル化合物をOA換算した総OA量を測定した結果、11検体中9検体から主にDTX1が検出され、貝可食部100g当たりOAとして37.6~160.3 µgであった。この値はFDAのガイダンス値を上回っていた。(参照 1)

2011年8月3日にカナダのブリティッシュコロンビア州において、5か所のレストランで調理されたイガイ (mussels) を喫食した62名がDSPを発症した。全員が7月28日から8月6日までの間にイガイを喫食しており、下痢、吐き気、おう吐、腹痛及びけいれんが共通にみられた。潜伏期間は5~15時間で、症状は1~3日間続いた。原因となった貝は、ジョージア海峡北部のイガイ採取場で7月24日及び30日に採取されたものと考えられた。6月21日から8月18日までの間に採取されたイガイ中のOA群を分析した結果、検出された主な貝毒はDTX3であり、7月19日以降から8月18日までの間に採取された8検体全てにおいて検出され、その濃度の範囲は0.05~0.72 µg/gであった。DTX1は7月5日以降の10検体全てで検出され、その濃度の範囲は0.08~0.23 µg/gであった。OAは、11検体中10検体で検出限界未満、DTX2は全ての検体で検出限界未満であった。(参照 57)

2002年にノルウェーでBrown crabs (イチョウガニ科のカニの一種、*Cancer pagurus*) を採取して喫食した200人以上がDSPを発症した。発症するまでの時間は長かったが、報告された症状はDSPによる中毒症状と似ていた。Brown crabsはノルウェーの南海岸に沿った複数の地域で採取されていた。原因となったBrown crabsは残っていなかったため、Brown crabsを採取した場所で新たに採取してゆでたBrown crabsから抽出した試料を用いてLC-MS法で分析された。OA、DTX1及びDTX2はほとんど検出されなかったが、アルカリ加水分解後の試料から、OAとして可食部1kg当たり1,000~1,500 µgの貝毒が検出された。貝毒はBrown crabsの中腸腺から検出され、カニ肉からは検出されなかった。LC-MS/MS分析の結果、Brown crabsから分離された貝毒の90%以上はOAエステルであった。発症

したヒトの摂取量についての詳細は報告されていなかったが、一人当たり OA に換算して 75~150 μg の DTX3 を摂取したヒトが発症したと考えられた。(参照 58, 59)

(3) まとめ

以上のように、世界各地で報告されている子供を含む男女千数百人の DSP 事例において、収集されたデータは限られており、貝毒摂取量の推定にあたり不確実性が伴う。しかし、2009 年にフランスで発生した DSP 事例では、DSP の原因となったイガイ (mussels) を用いて MBA 及び機器分析結果が報告されており、DSP を発症したヒトの推定喫食量及び喫食したヒトの体重が調べられていた。この事例に基づくと、最も少ない摂取量で発症した 2 名のうち 1 名は約 150 g の殻つき貝を喫食し、イガイ可食部 36 g、OA として約 45 μg 摂取したと推計された。このヒトの体重が 58 kg であったことより、最も感受性の高いヒトは OA 換算して 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の貝毒を摂取すると発症すると考えられた。また、1976 年に発生した日本の事例より推計された LOAEL は 12 MU であり、OA に換算すると一人当たり約 48 μg と推計された。更に、(1) に挙げた事例より不確実性が高いものの、(2) に挙げた事例についても (1) と同程度の範囲の貝毒量で発症しているものと推定された。

2. 吸収、代謝、分布、排泄

マウス (Swiss、雌雄、一群 6 匹) にトリチウム標識した OA (^3H OA) を約 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の用量で腹腔内投与すると、投与 1 時間後には胆嚢、血液、腸管及び腸管内容物に ^3H OA が検出された。腸管内容物の ^3H OA 量は、投与 3 時間後に減少したが 8 時間後には再び上昇した。コレステラミンの投与により ^3H OA の腸管組織及び腸管内容物における分布が変化したことから、OA は腸肝循環すると考えられた。(参照 60)

マウス (Swiss、雌雄不明、一群 6 匹) に 50 又は 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の ^3H OA を胃内投与し、24 時間後にと殺して OA の分布が調べられた。50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の ^3H OA 投与群のマウスに下痢はみられず、投与の影響と考えられる一般所見は認められなかった。投与 24 時間後までに 11.6% が尿及び 6.6% が糞から排泄された。投与 24 時間後における、投与量に対する ^3H OA の割合は、腸内容物に 36.3%、皮膚に 8.3%、糞に 6.6%、血液に 4.3%、筋肉に 3.0%、腸管組織に 2.6%、さらに、肝臓及び胆嚢、胃、腎臓、脳、肺、脾臓及び心臓ではいずれも 1% 以下であった。投与した ^3H OA は、調べた全ての組織に分布していたが、胃、腸管及びその内容物で約 45% を占めていた。90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群では、投与 8 時間後には全てのマウスに下痢がみられた。24 時間後までに死亡は認められなかった。90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群では 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群投与量と比較して、 ^3H OA の組織分布が胃では有意に減少した一方、腸管では有意に増加した。(参照 61)

マウス (ICR、雄、一群 12 匹) に 75、150 又は 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の OA を経口投与し、投与 5 分後から 12 週目まで継時的に一匹ずつと殺し、免疫組織化学染色により OA

の組織分布が調べられた。150 µg/kg 投与群では、5分後に心臓、肺、肝臓、腎臓、胃、小腸、盲腸及び大腸に OA が認められた。OA は投与後 15 分のうちに腸絨毛上皮に、30 分後には粘膜固有層に認められた。OA は、胃及び小腸では 24 時間後には検出できなくなったが、その他の組織では、投与後 2 週目までは検出された。便からの排泄は投与後 4 週間目まで続いた。OA は空腸から吸収され、血液を介して全身に分布すると考えられた。(参照 62)

マウス (Swiss、雌) に OA を 115 又は 230 µg/kg 単回経口投与し、投与 24、36 又は 48 時間後に免疫組織化学染色により OA の組織分布が調べられた。OA は肝臓、十二指腸及び回腸に分布していた。腸管では、腸管上皮の杯細胞に OA が認められた。大腸から OA は検出されなかった。(参照 63)

2004 年 1 月にチリで発生した中毒事例では、採取したムラサキイガイの中腸腺を用いた MBA の結果は陰性であったが、貝の中腸腺から DTX の 7-O アシル化誘導体 (DTX3) が検出された。原因となった貝抽出物をアルカリ加水分解すると DTX1 が検出され、ヒトの便からは DTX1 のみが検出された。貝から検出された DSP に関係する貝毒は DTX3 のみであったことより、著者らは、ヒトの消化管内で DTX3 が DTX1 に変換されたと考えた。(参照 51, 64)

3. 実験動物等における毒性

OA 群の毒性は、汚染された貝から抽出した貝毒を実験動物に腹腔内投与又は経口投与することにより調べられてきた。以下に述べるように、マウス又はラットに OA 又は DTX 群を投与すると、毒性所見として下痢を含む消化管障害及び肝臓の障害が認められる。また、投与経路により毒性の程度が異なり、経口投与では、腹腔内投与より毒性が低いことが示されている。

(1) 急性毒性

マウスに OA 群を腹腔内投与又は経口投与すると投与量の増加とともに自発運動の低下がみられ、投与後 30 分から 48 時間で死亡した(参照 28)。OA 群の LD₅₀ 値を表 13 に示した。

表 13 OA 群の LD₅₀

貝毒の種類	動物種、系統	投与経路	LD ₅₀ 値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	参照
OA	マウス、ddY 及び CD-1		192	(参照 47, 65, 66)
	マウス、CD-1	腹腔内	204~206	(参照 65)
	マウス、CD-1		225	(参照 66)
OA	マウス、CD-1	経口	1,000~2,000	(参照 66)
	マウス、 NMRI		880	(参照 67)
DTX2	マウス、CD-1	腹腔内	338~352	(参照 65)

腹腔内投与による LD₅₀ 値は 192~225 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であった。経口投与による LD₅₀ 値は幅があり、880~2,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と推測されている。

マウス (CD-1、雌、一群 5~9 匹) に OA 又は DTX2 を腹腔内投与して推計された LD₅₀ は、204~206 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重又は 338~352 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であったことより、著者らは OA と DTX2 の毒性比は 1 : 0.6 であろうと考えた。(参照 65)

マウスに OA、DTX1、DTX2 又は DTX3 を腹腔内又は経口投与して死亡がみられた最小用量等、その他の研究で報告されている致死量については、表 14 にまとめた。

表 14 OA 群の致死量

貝毒の種類	動物種、系統	投与経路	致死量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	参照
OA	マウス、ddY、	腹腔内	200	(参照 68)
OA	マウス、ddY、 及び CD-1、	経口	400 ~ 2,000	(参照 62, 63)
DTX1	マウス (系統 不明)	腹腔内	160~2 00	(参照 25)
DTX1	マウス、ddY、	経口	100~ 400	(参照 25, 69)
DTX3	マウス (系統不明)	腹腔内	500	(参照 70)

OA の腹腔内投与によるマウスの致死量は約 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であった。(参照 68)

マウスに OA を経口投与して死亡がみられた最小用量には幅があり、経口投与による致死量は、腹腔内投与による致死量の 2~10 倍であった。(参照 8)

DTX1 を腹腔内投与してマウスが死亡する最小用量は 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重であった (参照 25)。また、マウス (ddY、雄、一群 5 匹) に 100、200、300 又は 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の用量で DTX1 を腹腔内投与すると 24 時間後に死亡したマウスはそれぞれ 1、0、2 又は 3 匹であったことより、著者らは、DTX1 の致死量は 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と考えた (参照 69)。

DTX3 は、OA、DTX1 及び DTX2 が、貝により代謝された化合物と考えられており、それぞれの 7 位の炭素に飽和又は不飽和脂肪酸がエステル結合した化合物の総称である。マウスに DTX3 を腹腔内投与した致死量は約 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と報告されている。(参照 70)

マウス又はラットに OA 群を腹腔内又は経口投与した急性毒性試験において、消化管の障害とともに下痢が認められ、肝臓への影響も報告されている (表 15)。

表 15 OA 群の腹腔内投与又は経口投与による急性毒性

貝毒の種類	種、系統、性別、(一群匹数)	投与経路	投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	主な所見	NOAEL ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	LOAEL ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	参照
DTX1	マウス、系統、性別匹数不明	腹腔	160	下痢		160	(参照 25)
DTX1	マウス、BALB/c、雌雄 (12)	腹腔	50、100、200、300、400 又は 500	投与 15 分後から腸管障害及び下痢。肝臓、心臓及び腎臓に変化は認められなかった。	50	100	(参照 71)
OA	マウス、ddY (1~5)	経口	200、400、1,000 又は 2,000	全ての投与群で腸管障害及び水溶性下痢便。消化管以外の器官に病理所見はみられなかった。		200	(参照 68)
OA、DTX1、又は DTX3	マウス、ICR、雌 (24)	経口	それぞれ 750	投与 15 分後に腸管障害と共に下痢がみられた。OA、DTX1 及び DTX3 の腸管障害は同じ程度であった。DTX3 投与群に肝臓障害。		OA:750、DTX1:750、又は DTX3:750	(参照 72)
OA、DTX1、又は DTX3	マウス、ICR、雌 (24)	腹腔	それぞれ 375	OA 及び DTX1 は、経口投与群より腹腔内投与群の方が腸管障害が重かった。すべての投与群で肝臓障害が認められた。DTX3 の影響は最も強かった。		OA:350、DTX1:350 又は DTX3:350	(参照 72)
[³ H]OA	マウス、Swiss (6)	経口	50 又は 90	90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群のマウス全てに下痢 (投与 8 時間後まで)。	50	90	(参照 61)

貝毒の種類	種、系統、性別、(一群匹数)	投与経路	投与量 (μg/kg 体重)	主な所見	NOAEL (μg/kg 体重)	LOAEL (μg/kg 体重)	参照
OA	マウス、ICR、雄 (12)	経口	75、150 又は 250	全ての投与群で体重に対する腸管重量比の増加及び肝臓重量比が減少した。 肺では投与 5 分後に静脈周辺に水腫、投与 10 分後に末梢部に出血及び水腫。		75	(参照 62)
OA	マウス、CD1、雌 (5 又は 10)	腹腔	100、159、200、252、317 又は 400	全ての投与群に腸管障害及び肝臓障害。		100	(参照 66)
OA	マウス、CD1、雌 (5)	経口	1,000 又は 2,000	全ての投与群で投与 30 分後には下痢。		1,000	(参照 66)
OA	マウス、CD1、雌 (5)	経口	1,000	下痢及び腸管障害。		(1,000 μg/kg/日)	(参照 73)
OA	マウス、Swiss、雌 (3)	経口	435、525 又は 610	525 μg/kg 体重以上の投与群で OA 投与後に下痢。		525	(参照 63)

げっ歯類を用いた試験の結果より、主な症状を以下にまとめた。

マウス (BALB/c、乳のみマウス、一群 12 匹) に 50、100、200、300、400 又は 500 μg/kg 体重の DTX1 を腹腔内投与すると、300 μg/kg 体重以上の投与群で投与後 15 分以内に、また 100 及び 200 μg/kg 体重の投与群で投与後 60 分以内に、十二指腸及び小腸上部が膨脹して内部には粘液様物質がみられた。小腸絨毛及び粘膜下にはうっ血が認められた。300 μg/kg 体重の DTX1 を投与したマウスは、投与 1 時間後にと殺され、十二指腸、肝臓、心臓及び腎臓の組織学的検査が実施された。腸管絨毛の粘膜層に水腫及び粘膜組織細胞内に空胞形成がみられた。DTX1 による腸管への毒性影響は、腸管絨毛における血清成分の粘膜固有層への血管外流出、絨毛吸収上皮の変性、変性した上皮の粘膜固有層からの剥離という連続的な三段階に分けられ、用量及び時間依存的に進行した。肝臓、心臓及び腎臓に変化は認められなかった。(参照 71)

マウス (CD-1、雌、一群 5 又は 10 匹) に 100~400 μg/kg 体重の用量で OA を腹腔内投与した急性毒性試験においても、100 μg/kg 体重投与群から用量依存的に腸管上皮及び粘膜固有層への影響が認められている。(参照 66)

マウス (ICR、雄) 又はラット (Wistar、雄) に OA、DTX1 又は DTX3 をそれぞれ 750 μg/kg 体重の用量で経口投与し、組織学的検査が実施された。投与したいずれの貝毒でも毒性はほぼ同じであった。投与 5 分後に腸管上皮細胞のゴルジ体シ

ス囊は膨らみ、細胞質に多くの小胞が認められた。投与 15 分以内に回腸絨毛の上皮組織に部分的に障害が認められた。小腸の吸収上皮細胞では微絨毛が消失し、細胞質の一部にびらんがみられた。下痢も投与 15 分以内に観察され、これらの症状は関連していると著者らは考えた。投与 30 分後には、毛細血管の透過性が亢進して絨毛粘膜固有層に水腫がみられた。投与 60 分後には腸管絨毛の粘膜上皮に空胞及び核の凝縮がみられ、粘膜上皮は剥離した。投与 2 時間後には粘膜上皮に再生がみられた。OA、DTX1 又は DTX3 を腹腔内投与すると、経口投与と同じような組織学的変化が認められたが、DTX3 群の腸管障害は OA 及び DTX1 群より弱かった(参照 72)。マウス (ddY、雄、一群 1~5 匹) に 200~2,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OA を経口投与すると、消化管における組織障害は腺胃以下の消化管全長の粘膜組織にみられ、その広がり及重篤度は投与量に依存していた(参照 68)。

マウス (ICR、雄、一群 12 匹) に 75、150 又は 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OA を経口投与し、投与 5 分後から 12 週目まで経時的に一匹ずつと殺して組織学的検査が実施された。体重に対する十二指腸から回腸までの小腸重量比は、全ての群で増加したのに対して、肝臓重量比は減少した。試験期間中に下痢はみられなかった。150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の投与群において、肺では OA の分布と共に 5 分後に静脈周辺に水腫、10 分後に主に末梢部に出血及び水腫が認められたが、8 時間後には回復した。小腸では、投与後 15 分以内に腸管上皮絨毛に、30 分後には粘膜固有層に OA の分布がみられた。投与 60 分後には腸管絨毛の萎縮及び粘膜固有層の充血がみられ、粘膜固有層から腸管内へ粘膜上皮が脱落した。投与 6~24 時間後にはこれらの障害はしだいに回復して、再生した粘膜上皮が粘膜固有層を覆っていた。胃には 60 分後、大腸及び盲腸には 2 時間後にびらんが認められた。これらのびらんは、投与 6 時間後~7 日後には回復した。肝臓及び心臓に病理所見は認められなかった。(参照 62)

OA 群の下痢原性を調べる目的で、以下のようにマウス、ラット又はウサギを用いた腸管ループ試験^{注6)}及び乳のみマウスを用いた下痢原性試験^{注7)}が実施されている。1~5 μg の OA をラット (種不明、雄) の十二指腸に投与した腸管ループ試験では、投与 15 分後には腸管絨毛先端の粘膜上皮が腫大し、基底膜から剥離した。杯細胞に変化はみられなかった。投与 60~90 分後には腸管絨毛の粘膜上皮のほとんどが腸管内に剥離し、短縮した絨毛は杯細胞で覆われていた。3 μg の OA 投与群

注6) 腸管内へ試料を投与したのちに管腔内における水溶性物質の貯蓄を調べる方法。ループの長さ (cm) に対する水溶性物質の貯蓄量 (ml) の比で表し、この比が 1 を超える場合を陽性とする。ラットを用いた腸管ループ試験で、明らかに水溶性物質の貯蓄が認められる OA の投与量は約 0.5 μg である。

注7) 4~5 日齢のマウスに貝抽出物を胃内投与し、4 時間後に消化管内における水溶性物質の貯蓄を調べる方法。と殺したマウスの腸管を取り出し、腸管を除いたマウスの重量に対する腸管重量の比で表す。この比が 0.8 から 0.9 を超えると陽性とされる。検出限界は、OA で 0.05 MU 及び DTX1 で 1 MU である。(参照 10)

では絨毛先端部のみに変化がみられたが、5 μg の OA 投与群では絨毛構造が障害を受け、投与量依存的な影響が認められた。(参照 40)

ホタテガイから分離した OA、DTX1 又は DTX3 をマウス 1 匹当たり 0.025、0.05、0.1、0.2 又は 0.4 MU の用量で乳のみマウス (CD-1、一群 3~5 匹) に単回経口投与し、これら貝毒の下痢原性が比較された。OA 及び DTX1 投与群は、マウス 1 匹あたり 0.1 MU 以上の投与群で陽性となり、DTX3 投与群は、マウス 1 匹あたり 0.05 MU 以上の投与群で陽性となった(参照 74)。4 日齢の乳のみマウス (CD-1、一群 3 匹) を用いた下痢原性試験においても、OA 又は DTX1 を 0.1 μg /マウス以上投与すると陽性となり、著者らは OA と DTX1 の下痢への影響が同等であると考えた(参照 69)。

OA 並びに DTX3 群として OA より合成した 7-*O*-パルミチン酸 ($\text{C}_{16:0}$)、7-*O*-リノール酸 ($\text{C}_{18:2}$) 又は 7-*O*-ドコサヘキサエン酸 ($\text{C}_{22:6\omega 3}$) エステルを用いて、これら化合物の下痢原性を調べる目的で、マウス (CD-1) 腸管ループ試験及び乳のみマウス (CD-1) への胃内投与による下痢原性試験が実施された。腸管ループ試験の結果、腸管内の水溶性物質の貯蓄量は OA 群が最も多かったが、乳のみマウス下痢原性試験では OA 群及び DTX3 群の下痢原性に差はみられなかった(参照 75)。

ラット (Wistar、雄) の直腸に挿入したチューブから 200 μl のジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した OA を 60 n mol/kg 体重 (48.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重相当) の用量で投与すると、粘膜固有層に一過性の微小血栓が観察され、続いて粘膜に水腫がみられた(参照 76)。

マウス (ICR、雄) 又はラット (Wistar、雄) に OA、DTX1 又は DTX3 をそれぞれ 375 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の用量で腹腔内投与すると、OA、DTX1 及び DTX3 投与群の肝細胞に空胞が認められた。DTX3 群では、肝細胞壊死もみられた。750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の用量で経口投与した急性毒性試験において、肝臓への影響は DTX3 投与動物にのみ認められ、経口投与 24 時間後のマウス肝臓では、肝小葉中間部から周辺部の肝細胞に脂肪滴及び壊死がみられた(参照 72)。マウス (CD-1、雌) では、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重以上の OA 経口投与で肝細胞に空胞及び壊死が報告されている(参照 66)。

(2) 亜急性毒性

マウス (CD-1、雌、一群 3 匹) に、予備試験として 0.185、0.375 又は 0.750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の精製 OA を一週間経口投与したところ、0.375 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群に下痢がみられた。続いて、下痢のみられなかった 0.185 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の用量で CD-1 マウス (雌、一群 5 匹) に OA を一週間投与する亜急性毒性試験が実施された。対照群には溶媒が投与された。摂餌量、体重増加並びに肝臓、心臓、肺、腎臓、胸腺及び脾臓の重量、血液検査及び生化学検査が実施されたが、影響ははみら

れなかった。組織学的検査の結果、OA 投与群では、5 匹中 1 匹の前胃に粘膜上皮の過形成及び粘膜下組織に軽度な亜急性炎症が認められた(参照 77)。

(3) 慢性毒性・発がん性

慢性毒性試験の知見はない。

長期投与による発がん性試験は実施されていない。げっ歯類を用いた皮膚二段階発がん試験及び腺胃二段階発がん試験において、OA 及び DTX 群の発がんプロモーション作用^{注8)}が報告されている。

マウス (CD-1、雌、一群 15 匹) に、イニシエーターとして 100 µg の 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) をマウスの皮膚に一回塗布した後、1 週目から 30 週目まで 10 µg の OA を一週間に二回塗布すると、試験開始 5 週目に 15 匹中 4 匹に腫瘍が認められ、16 週目には 93%のマウスに、30 週目には 80%のマウスに腫瘍が認められた。発生した腫瘍の 92.3%は乳頭腫であり、5.1%が扁平上皮癌及び 2.6%が肉腫であった。DMBA のみの塗布群では 9 週目から 1 匹、OA のみの塗布群では 29 週目から 1 匹に腫瘍が認められた(参照 78)。OA のみ塗布群の腫瘍は乳頭腫であった (菅沼ら、私信)。

5 µg の OA 又は 5 µg の DTX1 を用いて実施された同様の皮膚二段階発がん試験では、試験開始 30 週目に腫瘍がみられたマウスの割合は 80%又は 86.7%であった。DMBA のみの塗布群では 20 週目から 1 匹、DTX1 のみの塗布群では 27 週目から 1 匹に腫瘍が認められた(参照 79, 80)。

皮膚二段階発がん試験では、プロモーション作用を有する化学物質により、可逆的な乳頭腫様病変が発生した報告もあり(参照 81)、プロモーション作用のある化学物質により乳頭腫が自然発生することがあると考えられ、本調査会では、OA 群にイニシエーション作用はないと判断した。

OA 及び DTX1 は、マウスの皮膚にある同じ受容体に結合すると考えられている。ホルボールエステルは、OA と同様にプロモーション作用を示すが、ホルボールエステルの受容体とは異なったタンパク質であることが示されている(参照 80)。

SD ラット (雄、一群 9 ~ 28 匹) に 100 mg/L の *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) を 8 週間飲水投与してイニシエートした後、OA を経口投与する、腺胃における二段階発がん試験が実施された。試験開始 9 週目から 55 週目まで 0.25 mg/L の OA (10 µg/匹/日)、更に 56 週目から 72 週目まで 0.5 mg/L の OA が経口投与された。ラットの腺胃に腺腫様過形成及

注8) 正常細胞は、いくつかの段階を経てがん細胞へ変化すると考えられており、1 段階目は、発がん物質 (イニシエーター) によって細胞の遺伝子が障害を受け変異を起こす段階 (イニシエーション作用)、2 段階目は、発がんプロモーターと呼ばれる物質や他の発がん物質による作用で、障害を受けた遺伝子を持つ細胞が増殖する段階 (プロモーション作用) と考えられている。発がんプロモーターそれ自身は、発がんを引き起こすものではなく、他の発がん物質による発がん作用を促進する作用を有する。

び腺癌が認められ、これらを合わせたものを腺胃の腫瘍性変化の指標とすると、MNNGによるイニシエート後に OA を投与した群では腫瘍性変化が 16 匹中 12 匹 (75.0%) 及び MNNG のみの投与群では 28 匹中 13 匹 (46.4%) にみられた。腫瘍性変化はラット一匹当たりそれぞれ 1.1 ± 0.9 個及び 0.6 ± 0.8 個であった。OA のみの投与群 (9 匹) に腫瘍性変化は認められなかった。(参照 82)

(4) 生殖発生毒性

妊娠 11 日目のマウス (Swiss-Webster、一群 3 匹) に $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の ^3H OA を胃内投与し、24 時間後にと殺して胎児への移行が調べられた。投与 4 時間後から、母マウスには下痢がみられた。母マウスの肝臓、腎臓、血液及び尿には、それぞれ投与した ^3H OA の 1.9%、2.5%、3.2% 及び 7.0% の ^3H OA が認められた。OA は胎盤を通過して胎児に移行し、投与した ^3H OA の 5.60% が胎児に検出された。OA の胎児への毒性影響は不明であった。(参照 83)

(5) 遺伝毒性

OA は、サルモネラ菌株 *S. Typhimurium* TA100 及び TA98 を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験) において、代謝活性化の有無にかかわらず突然変異を誘発しなかった(参照 63)。一方、CHL 細胞 (チャイニーズハムスター肺線維芽細胞由来細胞株) を用いてジフテリア毒素耐性をマーカーとした突然変異試験の結果、OA は代謝活性化なしに $10 \sim 17.5 \text{ ng}/\text{ml}$ の濃度範囲で、濃度依存的に突然変異を誘発し、 $1 \mu\text{g}$ 当たりの OA の誘発性ジフテリア毒素耐性コロニー数は $5,500/10^6$ 生存細胞と推計された。(参照 84)

OECD ガイドラインに準じて実施された CHO-K1 細胞 (チャイニーズハムスター一卵巣由来細胞株) を用いた前進突然変異試験 (HPRT 試験) において、OA は代謝活性化の有無にかかわらず突然変異を誘発しなかった。*in vitro* ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験) の結果も陰性であったことより、著者らは、OA は DNA に作用する物質ではないと考えた。(参照 85)

Caco 2 細胞 (ヒト結腸癌由来細胞株) を $20 \sim 60 \text{ nM}$ の OA と 4 時間及び $5 \sim 20 \text{ nM}$ の OA と 24 時間インキュベート後に小核試験が実施された。小核形成及び多核細胞は時間及び濃度に依存して増加した(参照 63)。CHO-K1 細胞を $1 \sim 50 \text{ nM}$ の OA と 4 時間又は 24 時間インキュベーション後に小核試験が実施された。4 時間では OA の影響はみられなかったが、 $20 \sim 30 \text{ nM}$ の濃度で 24 時間インキュベーションすると小核形成及び多核細胞が有意に増加した。S9 存在下では、 30 及び 50 nM の OA と 4 時間インキュベーションすると小核形成及び多核細胞が有意に増加した(参照 86)。マウス (Swiss、雌、一群 3 匹) に 435 、 525 又は $610 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OA を経口投与し、24 時間後にと殺して直腸細胞を用いる *in vivo* 小核試験が

実施された。525 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OA 用量で有意に小核が増加したが、用量依存性は認められなかった(参照 63)。FISH^{注9)}により、セントロメア検出用プローブを用いて小核の解析をした結果、OA はセントロメアを含む小核を誘導した。OA の染色体異数性誘発能は OA と DNA との直接的作用というより、PP1 及び PP2 のホスファターゼ阻害作用によると著者らは推測した(参照 86)。

OA による付加体形成は、BHK21 C13 細胞(ハムスター腎臓由来細胞株)、HESV 細胞(ヒトケラチノサイト由来細胞株)又は WI26 VA4 細胞(ヒト胎児肺由来細胞株)を OA と 1 時間培養後、³²P-ポストラベリング法により示されている。細胞毒性を示さない用量内の実験であったが、WI26 VA4 細胞では、0.1 及び 0.5 nM の OA 濃度ではスポット数の増加が認められた一方、これ以上の OA 濃度ではスポット数は少なく、いずれの細胞株においても明らかな用量依存性は認められなかった(参照 8, 87, 88)。ゼブラフィッシュ受精卵を用いた *in vivo* 付加体形成試験で、OA と培養すると ³²P-ポストラベリング法によりスポットが観察された報告もある(参照 88)。

(6) 毒性のメカニズム

OA は、セリン/スレオニンプロテインホスファターゼ (PP1 及び PP2A) に結合し、これらの酵素のプロテインホスファターゼ作用を阻害する(参照 89, 90)。OA の PP2A 阻害作用は、PP1 の阻害作用より強いことが示されている(参照 5, 8, 89, 91)。

タンパク質のリン酸化及び脱リン酸化の制御は、細胞のシグナル伝達、代謝、細胞増殖等、様々な細胞機能の調節に重要な役割を果たしている。PP2A 及び PP1 の阻害作用により、リン酸化されたタンパク質の過剰な蓄積を招き、細胞の調節機能が破たんすることが示されており(参照 92, 93, 94, 95)、これらが OA の毒性に関与していると考えられている(参照 8, 40)。DTX1 は OA とほぼ同じ強度のプロテインホスファターゼ阻害作用を示した(参照 96, 97)が、C7 位にパルミチン酸がエステル結合した OA エステル化体 (DTX3) は、弱いプロテインホスファターゼ阻害作用を示したことが報告されている(参照 75, 97, 98)。

OA により下痢が認められるメカニズムとして、当初、腸上皮細胞におけるナトリウム分泌に関与するタンパク質が OA によって過剰にリン酸化されることに起因する可能性が指摘された(参照 93)。しかし、その後、T84 細胞(ヒト結腸がん由来培養細胞株)の単層培養シートを用いて、細胞を介したイオン透過性、乳酸デヒドロゲナーゼ分泌並びに ²²Na 及び [³H] マンニトールの透過性が調べられた結果、OA

注9) 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション。DNA 断片を標識し(プローブ)、スライドガラス上の DNA とハイブリダイゼーションし、特定の DNA を可視化する方法。

は細胞のイオン流量には影響せず、分泌促進物質ではないと考えられた(参照 99)。更に、T84 細胞及び Caco2 細胞の単層培養細胞シートを OA と培養すると、それぞれ 600 nM 及び 500 nM 以上の OA 濃度で経上皮電気抵抗 (TEER : Transepithelial Electro Resistance) ^{註10)}が明らかに減少したが、細胞障害性はみられなかった(参照 100)。これらの結果は、腸管における細胞間隙を介する傍細胞経路 (paracellular pathway) の透過性が増加していることを示しており、OA に起因する下痢に関与しているのは、傍細胞経路の透過性の増加であることが示唆された(参照 99)。ラット直腸に OA を投与して結腸粘膜上皮傍細胞経路の透過性を調べた *in vivo* 実験では、粘膜下組織における微小血栓形成に続く膨脹と共に傍細胞経路の透過性が増加しており、著者らは、これらの結果下痢が生じると考えた(参照 76)。

Caco 2 細胞の単層培養細胞シートを用いた試験で、DTX2 及び DTX1 も TEER の減少を誘導し、傍細胞経路の透過性を増加させることが示された。OA 及び DTX2 の透過性への影響はほぼ同じであったが、DTX1 は、これらより低い濃度で TEER の減少を招いた。(参照 101)

(7) 毒性のまとめ

OA 群の毒性知見は限られており、ほとんどが貝から抽出した化合物を実験動物に腹腔内又は経口投与して調べられた急性毒性試験の結果である。

OA 群をげっ歯類に投与すると、投与方法にかかわらず同じような急性毒性所見が認められたが、経口投与では、腹腔内投与より毒性が低かった。急性毒性としては、下痢を含む消化管障害及び肝臓への影響が認められた。OA 群の投与により明らかに小腸絨毛の毒性影響がみられた。これは OA 群を経口投与した場合の下痢と関連していると考えられた。

OA 群を用いた発がん性試験を含めた長期毒性試験のデータはない。一方、OA 及び DTX1 はげっ歯類を用いた皮膚及び腺胃における二段階発がん試験でプロモーション作用を有することが示されている。マウスの皮膚に OA 又は DTX1 を塗布した皮膚二段階発がん試験において、OA 又は DTX1 のみを単独投与した群のそれぞれ 1 例ずつに乳頭腫が認められたが、OA 群にイニシエーション作用はないと考えられた。また、ラットに経口投与した腺胃における二段階発がん試験では、OA のみの投与群に腫瘍は認められなかった。染色体異常試験では陽性との結果も認められている。しかしながら、OA の遺伝毒性については、Ames 試験、HPRT 試験及び *in vitro* 不定期 DNA 合成試験の結果は陰性であり、DNA 損傷による染色体異

^{註10)} 経上皮電気抵抗は、細胞部分及び細胞間接着装置部分のイオン透過性によって決まる。イオン透過性は、細胞間接着装置部分のほうがはるかに大きいため、経上皮電気抵抗は、細胞間接着装置の状態を表す。

常を誘発するとは考えられなかった。従って、OA は DNA に直接損傷を与える変異原ではなく、遺伝毒性発がん物質ではないと考えた。

4. 暴露状況

日本の沿岸地域においては、カキ、ホタテガイ等の二枚貝の養殖が盛んに行われており、二枚貝は貴重な水産食品として日常の食生活を支える重要な役割を演じている。二枚貝は大量の海水を濾過し微細藻類を中心とする粒状物を集めて摂食活動を行い、その際に有毒微細藻類が含まれていれば毒化が起き、毒化した貝を食べてヒトの食中毒が発生するとされ、ヒトへの健康被害が及ぶことから公衆衛生上の問題となるとされている。(参照 102)

1972 年～1984 年までの日本において、病因が判明した魚介類の自然毒による食中毒の原因食品別発生状況を参考資料 1-1 として表に示した。DSP の発生件数はフグ中毒に次いで第 2 位であるが、患者数から言えば DSP 事例が最も多かったことが報告されている。また、1976 年 6 月～1983 年 8 月までの日本における DSP 事例のうち、中毒の原因となった貝の種類については、参考資料 1-2 として表に示した通りであり、ムラサキイガイが 22 件、ホタテガイが 14 件、イガイが 11 件、アサリ及びコタマガイが 1 件であった。中毒の発生は 6 月～8 月が多かった。(参照 103)

1989 年～2010 年までの日本で発生した DSP 事例については、厚生労働省監修の全国食中毒事件録(平成元年～平成 22 年版)に基づき、参考資料 1-3 のように報告されている。1989 年以降 1994 年までに日本で報告された DSP 事例は 3 件のみであり、患者数は合計 7 人であったとされているが、1995 年以降の報告はない。(参照 9)

(1) 貝の生産量・輸入量・流通量等

①貝の生産量

FAO (2011) によると、2007 年における二枚貝の生産量は世界の魚介類生産全体のほぼ 10%を占めるとされている(参照 10)。1950 年では 100 万トンであったのが、2007 年では 1,400 万トンとなっている。また、2007 年における国ごとの生産量については、第一位は中国の 910 万トンであり、日本は 79 万 7,200 トン、米国は 76 万 4,000 トン、韓国は 53 万 5,000 トン、タイは 38 万 6,000 トン、フランスは 23 万 4,000 トン、スペインは 22 万 8,000 トンであったとされている。2007 年における貝の種類構成としては、36%がアサリ、35.2%がカキ、14.3%がイガイ、14.6%がホタテガイとされている。また、世界の養殖貝は、1990 年には 330 万トン、2007 年には 1,200 万トンであり、貝の種類ごとの養殖の割合はカキが生産の 97%、イガイが生産の 95%、アサリが生産の 84%、ホタテガイの生産の 67%が養殖であったとされている。(参照 10)

農林水産省「食料需給表 主要項目の品目別累年統計（国内生産量の内訳）主要魚介類・海藻類」のデータに基づくと、日本国内の貝の生産量の主なものとしては、図2に示す通り、ホタテガイであり、近年の国内生産量は、およそ50万トンである。特に1980年代後半よりホタテガイの生産が増加し、ホタテガイの次にかき類、あさり貝が続いている。2008年～2012年までの5年間における日本国内の貝の生産量に占めるホタテガイ及びカキの割合は、それぞれ平均64.7%、平均23.4%であり、この2種類の貝で日本国内の貝の生産量のおよそ88%を占めていた。なお、イガイ及びムラサキイガイは単独の国内生産量は少なく、貝類の計の中に入れられている。

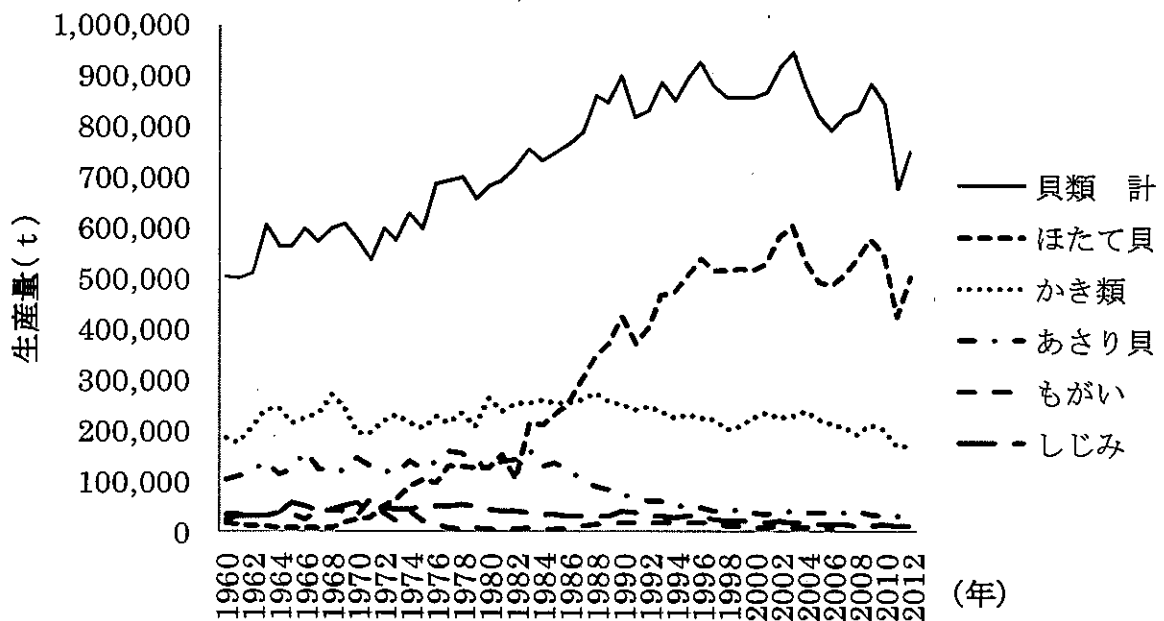


図2 主要魚介類(貝類)の国内生産量(全国年次統計)単位:(t)

農林水産省「食料需給表 主要項目の品目別累年統計(国内生産量の内訳)主要魚介類・海藻類」より引用、作成^{注11)}

②二枚貝の輸入量

二枚貝の輸入量(平成22～24年度)について、厚生労働省輸入食品監視支援システム(FAINS)による検索結果における届出重量データによると、二枚貝の未加工品(アサリ、アカガイ、タイラギガイ、シジミ、ハマグリ、カキ、ムラサキイガイ)

注11) 貝の名称は、参照とした統計に記載されていた名称に準じて記載した。

イ、バカガイ、ミルクイガイ・ミルガイ、その他の二枚類のデータが含まれている。
註11) 全体の輸入届出重量は、平成 22 年度が 5 万 9,344.71 トン、平成 23 年度が 4 万 7,167.09 トン、平成 24 年度が 5 万 1,235.43 トンであったとされている。また、二枚貝加工品（その他）には二枚貝以外の貝も含まれる可能性があるとしてされているが、その輸入届出重量は、平成 22 年度が 4 万 2,815.43 トン、平成 23 年度が 4 万 5,933.47 トン、平成 24 年度が 4 万 6,293.62 トンであったとされている(参照 104)。また、ムラサキイガイについての輸入届出重量は、平成 22 年度が 32.68 トン、平成 23 年度が 60.41 トン、平成 24 年度が 60.08 トンであったとされている。(参照 104)

(2) 日本における二枚貝喫食者の 1 日当たりの喫食量の推計

貝を喫食する頻度が少なくても、毒化された貝を一度に大量に摂取することによりヒトへの健康影響が起こることがあると考えられ、消費者の健康保護のためには、長期の平均的な貝の喫食量よりも短期間に大量に摂取する場合の喫食量を参照することが求められる。また、ARfD の設定は、1 日当たり又は 1 食当たりの貝毒の推定摂取量に基づいて行われている。(参照 5, 8)

日本における二枚貝喫食者の 1 日当たりの喫食量を推計するに当たり、限られたデータではあるが、平成 17 年度～平成 19 年度の日本における二枚貝の 1 日当たりの喫食量 (g / 日) の調査結果を参考とした。この調査は、国民健康・栄養調査に準じて、季節により摂取量の変動がみられるものについて考慮し、一年間を通して実施されたものであり、各年度の 5~6 月、8~9 月、11~12 月、2~3 月に摂取量データが集められた。喫食した貝種ごとに、喫食したヒトのデータに基づいた 1 日当たりの喫食量の平均値、最大値、95 パーセンタイル値、99 パーセンタイル値 (いずれも g / 日) 等を表 16 に示した。貝を喫食したヒトにおいて、貝種ごとの 1 日当たりの喫食量の平均値が最大であった値はイガイの 72.2g、95 パーセンタイル値で最大の値はイガイの 148.0 g 及び 99 パーセンタイル値で最大の値はハマグリ 300.0 g であった。また、二枚貝の 1 日当たりの喫食量の最大値はカキ (養殖) では 360.0 g 及びホタテガイでは 297.0 g であった。

なお、同一日に同一の対象者が複数回にわたって同一の食品を喫食している場合は、その合計喫食量とされている。(参照 105)

表 16 日本における二枚貝喫食者の1日当たりの喫食量（平成17～19年度 食品別摂取量基本統計より）単位：（g）

食品名	平均値	最大値	最小値	50パーセント タイル値	95パーセント タイル値	97.5パーセント タイル値	99パーセント タイル値
あかがい	28.5	100.0	2.0	13.8	100.0	100.0	100.0
あさり	29.9	166.3	0.2	25.0	72.1	87.1	106.0
あさり佃煮	13.4	50.0	2.0	10.0	37.0	50.0	50.0
あさり水煮缶詰	14.4	66.7	0.8	10.0	33.3	50.0	50.0
あさり味付け缶詰	22.6	43.3	2.5	16.0	43.3	43.3	43.3
いがい	72.2	148.0	12.0	50.0	148.0	148.0	148.0
いたやがい養殖	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
かき養殖	68.6	360.0	5.0	56.7	150.0	224.0	250.0
水煮養殖かき	45.0	142.9	30.0	33.3	142.9	142.9	142.9
かき燻製油漬缶詰	-	-	-	-	-	-	-
しじみ	16.3	106.4	0.2	15.0	40.0	50.0	56.7
たいらがい貝柱	48.0	120.0	10.0	40.0	120.0	120.0	120.0
とりがい斧足	11.0	24.0	1.0	6.0	24.0	24.0	24.0
ばかがい	26.3	60.0	1.5	23.4	50.0	60.0	60.0
はまぐり	43.2	300.0	10.0	37.5	108.0	144.0	300.0
水煮はまぐり	-	-	-	-	-	-	-
はまぐり焼き	-	-	-	-	-	-	-
はまぐり佃煮	18.2	30.0	5.0	16.5	30.0	30.0	30.0
ちょうせんはまぐり	-	-	-	-	-	-	-
ほたてがい	49.8	297.0	3.9	39.6	126.0	148.5	225.0
ほたてがい水煮	38.1	200.0	4.5	28.6	108.0	133.3	200.0
ほたてがい貝柱	42.8	207.5	2.1	30.0	120.0	133.3	172.5
干しほたてがい貝柱	7.0	120.0	0.3	4.0	15.0	20.0	120.0
ほたてがい貝柱・ 水煮缶詰	23.2	80.0	1.5	20.0	60.0	76.6	77.3
ほっきがい	27.4	100.0	6.0	27.9	50.0	100.0	100.0
みるがい水管	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
もがい味付け缶詰	27.9	60.0	10.0	25.0	60.0	60.0	60.0

（参照 105）より引用、作成。

（3）貝の汚染実態等

①日本における貝毒モニタリング

日本では、自治体等により生産段階におけるプランクトン及び貝類中に含まれる貝毒のモニタリングが行われており、下痢性貝毒の規制値を超えた貝毒が検出された場合には、出荷自主規制の対象となる。日本における平成15年～平成24年までの下痢性貝毒による出荷自主規制報告件数の推移を図3に示した。

また、二枚貝検査とともに、生産現場で有毒プランクトンの出現及びその密度の監視も行われており、貝の毒化予察や出荷規制解除の際に重要な補助情報として利用されている。しかし、高密度な有毒プランクトンの存在下で二枚貝が毒化しない事例や、同一環境下に生息する二枚貝の種間で著しく毒力が異なる事例など、二枚貝の毒化機構については難解な点が多いとされている。（参照 13）

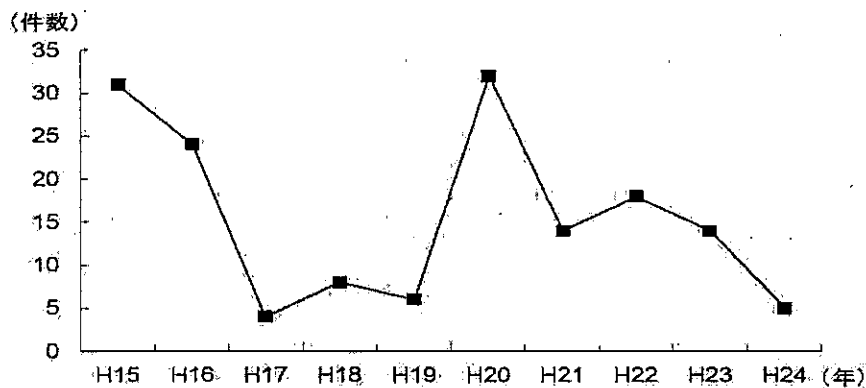


図 3 下痢性貝毒による出荷自主規制件数の推移（平成 15 年～平成 24 年）
（参照 106）

なお、FAO/IOC/WHO 2004 の評価では、二枚貝における OA 群の発生状況及び濃度のデータが充分ではないとされたが、暴露評価の目的として、貝毒の発生により閉鎖となった貝の採捕地域でみられたとされる典型的な貝中の OA 群の濃度は 0.16~1 mg / kg、報告された貝中の OA 群の最大濃度として 36 mg / kg という値が示されている。（参照 5）

②二枚貝の輸入食品違反事例等

平成 16 年度～平成 20 年度の厚生労働省による輸入食品の MBA 通知法の検査結果に基づく食品衛生法違反事例^{注12)}として、加熱後摂取冷凍食品（凍結直前未加熱）カキフライ及び活赤貝から 0.1~0.2 MU/g の貝毒が検出されたことが報告されている。

③国内産二枚貝中における貝毒の濃度及び組成等

日本において毒化が認められたイガイ、ホタテガイ^{注13)}、及びカキが三陸海岸の 4 地区から採取され、MBA により毒力が比較された。イガイの毒力が最も強く、イガイの毒力に比べるとホタテガイは約 60~86%及びカキは約 14%であった。（参照 28）

先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「現場即応型貝毒検出技術と安全な貝毒モニタリング体制の開発」^{注14)}により、2003 年度～2005 年度に日本各地で採取された貝について、貝毒が含まれていると考えられた検体を用いて LC-MS

注12) 厚生労働省 輸入食品等の食品衛生法違反事例

注13) *Patinopecten yessoensis* 及び *Chlamys nipponensis akazara*

注14) 独立行政法人 水産総合研究センター中央水産研究所提供

法による分析が実施された。中腸腺を用いた LC-MS 法による OA 及び DTX の検出限界 (LOD) は 8 ng/g 及び定量限界 (LOQ) は 26 ng/g であった。日本の公定法による MBA がそれぞれの検体について 2 回実施され、2 回の合計で一匹以上のマウスが致死となった検体は、ホタテガイ 676 検体、ムラサキイガイ 136 検体及びイガイ 36 検体 (以下「ホタテガイ検体」、「ムラサキイガイ検体」及び「イガイ検体」という。) であった。これらの検体を用いて、LC-MS により OA、DTX1、DTX3、PTX1、PTX2、PTX6、YTX 及び 45-ヒドロキシイエソトキシン (45-OH-YTX)^{註15)} が測定された (参照 107)。全ての検体からいずれかの貝毒が検出された。LC-MS 法の測定結果に基づいたホタテガイ検体、ムラサキイガイ検体及びイガイ検体における貝毒組成の平均を図 4 に示した。

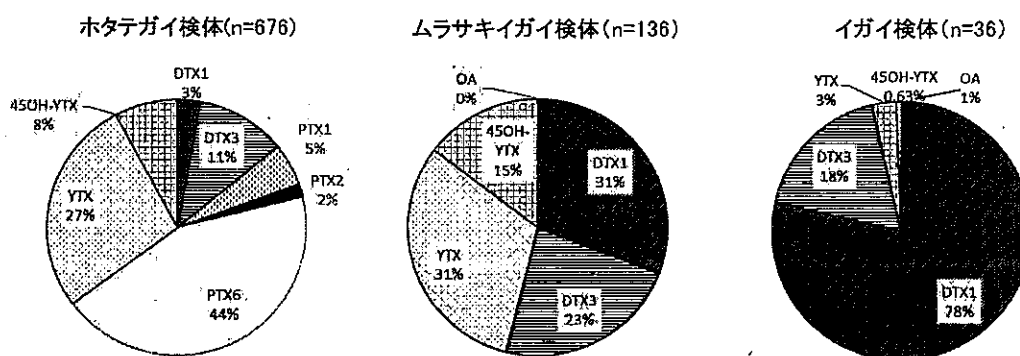


図 4 ホタテガイ、ムラサキイガイ及びイガイ検体の貝毒組成 (n: 検体数)

日本の公定法に準じた 2 回の MBA により、一匹以上のマウスが致死となったホタテガイ 676 検体、ムラサキイガイ 136 検体及びイガイ 36 検体の分析結果。

ホタテガイ検体に含まれる貝毒で最も多いのは PTX6 (44%)、次いで YTX (27%)、DTX3 (11%) であった。OA 群の割合は、14% であった。ムラサキイガイ検体では、最も多く含まれていたのが YTX (31%) で、次いで DTX1 (31%)、DTX3 (23%) であった。イガイ検体では、最も多く含まれていたのが DTX1 (78%) 次いで DTX3 (18%) であり、OA 群が全体の 97% を占めていた。

このホタテガイ検体を用いて LC-MS 分析による OA、DTX1 及び DTX3 の測定値から OA 当量を試算した。DTX3 は、7-O-パルミチン酸 DTX1 として測定し

註15) 45-OH-YTX : 45-hydroxyessotoxin. 45-OH-YTX は C45 位に OH 基が付いた YTX のアナログで、ホタテガイ及びイガイから検出される。YTX 群は貝の中で代謝されると考えられている。(別添参照 28, 参照 10)

た値を補正^{注16)}して総 DTX3 とした(参照 12, 22)。試算に用いた TEF は、OA、DTX1 及び DTX3 に対し、1:1:1 とした。限られたデータではあるが、日本国内の二枚貝における中腸腺と可食部の割合としては、ホタテガイでは、むき身重量における中腸腺重量比が 12.5%~16.3%であったとする報告(参照 108)及びムラサキイガイについては 13%としている報告(参照 109)がある。また、EFSA では主にイガイの中腸腺重量と可食部重量の割合を基に、この割合を 1:5 としている。したがって、試験試料である中腸腺から可食部当たりの毒量に換算するために、中腸腺重量と可食部重量の割合を 1:10 又は 1:5 と仮定し、以下に示したように、計 2 通りの試算を行った。

(試算 1) OA、DTX1 及び DTX3 を等価とし、中腸腺と可食部の割合を 1:10 とした場合。

(試算 2) OA、DTX1 及び DTX3 を等価とし、中腸腺と可食部の割合を 1:5 とした場合。

ホタテガイ検体の試算 1 及び試算 2 による OA 群の分布を図 5 に示した。

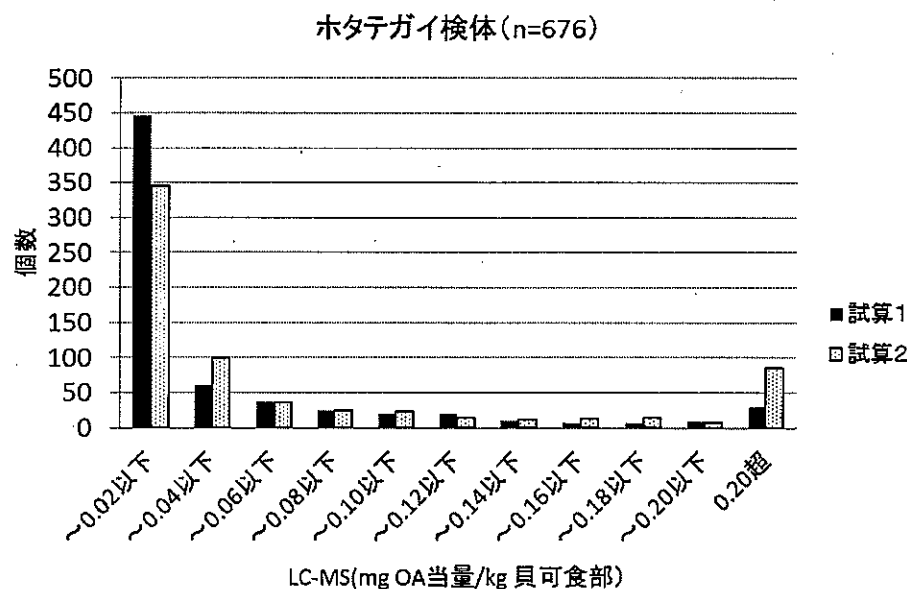


図 5 ホタテガイ検体の OA 当量の試算結果 (n: 検体数)

試算 1 では、446 検体 (66.0%) が 0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、0.16 mg/kg 貝可食部以下が 629 検体 (93.1%) であった。試算 2 では、345 検体 (51.2%)

注16) ほとんどの貝において、7-O-パルミチン酸 DTX1 の割合は、総 DTX3 のほぼ 45%であることより、LC-MS で 7-O-パルミチン酸 DTX1 を定量した値に 100/45 を掛けて総 DTX3 とした。(参照 107)

が0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、0.16 mg/kg 貝可食部以下が569検体(84.2%)であった。

なお、これらホタテガイ検体においてLC-MSによるOA当量及びMBAの結果が概ね一致することが確認されており、その関係を参考資料2に示した。

④貝毒の季節性及び地理的特性等

日本国内における貝の毒化地域は、北海道から九州に及んでいるが、東北、北海道沿岸等での毒化が最も顕著であるとされている(参照4)。貝の毒化期は初夏から秋にわたり、4月中旬～5月にかけて毒化を開始、6～7月にピークを迎え、9～10月に消失するのが一般的であるとされている(参照4)。二枚貝が毒化する季節は地域及び年によって多少異なっているが、DSP発生事例は6月～8月が多い(参照103)。

毒化したイガイ、ムラサキイガイにおけるOAの減衰について検討した結果では、およそ2週間で毒のレベルが半分程度になると報告されている。(参照110)

(4) 暴露状況のまとめ

MBA通知法を用いて生産地で貝毒モニタリングによる出荷自主規制が行われている現状において、1989年以降2010年までの20年間にDSP事例の報告が3件あるが、1995年以降の報告はない。このことは、現行のMBA通知法を用いた出荷自主規制に一定の実効性があったことを示している。

日本において貝の生産量が最も多いのはホタテガイであった。国内で毒化が認められている二枚貝における種類別のMBAによる毒力は、イガイが最も強く、次いでホタテガイ、カキの順であったことが報告されている。

OA群の暴露量の推計には、一度に大量に二枚貝を喫食する事例を想定した。日本における二枚貝喫食者の1日当たりの二枚貝喫食量推計によると、イガイの平均値は72.2g、95パーセントイル及び97.5パーセントイルの最大値は、それぞれイガイ及びホタテガイの148.0g及び148.5g、二枚貝としての1日当たりの最大値は、カキ(養殖)の360.0gであった。また、二枚貝のうち日本における生産量が最も多いホタテガイの1日当たりの喫食量推定の最大値は、297.0gであった。

日本で採取された、毒化が認められたホタテガイ676検体をLC-MSを用いて分析した結果、半分以上が0.02 mg/kg 貝可食部以下であり、全体の80～90%が0.16 mg/kg 貝可食部以下であった。なお、これらホタテガイ検体においてLC-MSによるOA当量及びMBAの結果が概ね一致することが確認された。

5. 加工・調理による減衰

OA 群は、熱安定で非水溶性であり、通常の加熱調理では除去しにくいですが、OA 群が蓄積しているのは中腸腺であるため(参照 28)、あらかじめ貝からこの部分を除去すれば DSP を防ぐことができるとされている(参照 24)。

OA 群 (OA 及び DTX2) に汚染されていたアイルランドの 2 系統のイガイサンプルを用いて、50°C~150°Cまで温度の段階を踏んで各 10 分加熱することにより貝毒の安定性を調べた結果では、OA も DTX2 も熱に安定であり、DTX2 は、100°Cより有意に分解が始まったが、OA は高温で僅かに分解されたものの 120°Cでも安定であり、130°Cになるまでは有意な分解は認められなかったとされている。(参照 111)

OA は DTX2 よりも熱安定性であり、OA は 120°C以上で分解されるが、DTX2 はおよそ 100°Cで分解され、貝組織中では、OA 群は凍結 (-20~-80°C) で数か月安定であるとされている。また、OA 及び DTX2 の温度安定性については、2007 年に評価されており、液体及び凍結乾燥品いずれの物質においても、-20°C、4°C、20°C 及び 40°Cの温度域で 8 か月間以上経過しても安定であったとされている。(参照 8, 112)

V. 食品健康影響評価

食品安全委員会は、厚生労働省からの諮問を受けて二枚貝中の下痢性貝毒に係る基準の設定について、厚生労働省から提出された資料及び国内外の文献並びに FAO/IOC/WHO (2004) 及び EFSA の評価結果を用いて審議を行い、食品健康影響評価を実施した。

DSP は、有毒プランクトンを捕食して毒化したホタテガイ、ムラサキガイ等の二枚貝の喫食を介して OA 群を摂取することにより発生する。OA 群を含んだ食品を喫食後、30 分から 4 時間までのうちに下痢等を発症するが、症状は一過性で、ほとんどが 72 時間以内に回復する。

日本における DSP に対するリスク管理は、MBA 通知法、規制値及び生産地におけるモニタリングによる自主検査により実施されている。

貝から抽出した脂溶性画分の調製液をマウスに腹腔内投与する MBA 通知法は、マウスへの致死性を指標としており、OA 群、PTX 群、YTX 群等を検出できるが、各毒群を区別して検出する方法ではない。PTX 群及び YTX 群については、MBA 通知法ではマウスに致死毒性を示すが、経口投与による下痢原性は認められず、ヒトへの健康影響も報告されていない。したがって、本評価書ではヒトでの下痢原性が認められている OA 群 (OA、DTX1、DTX2 及び DTX3) を評価の対象とした。

OA 群による DSP 事例については日本、ヨーロッパ、北米等において子供を含む千数百人の症例が報告されている。しかし、原因貝毒の種類、発症者の貝喫食量及び摂取した貝毒量等の疫学データが報告されている事例は限られている。2009 年にフランスで発生したイガイの DTX3 を原因とする DSP 事例では、11~65 歳の 45 人を含む 11 件の中毒症例が報告され、この事例では疫学調査対象となった発症者の貝毒摂取量及び体重が報告されていた。最も少ない DTX3 摂取量で発症したヒトは、殻つき貝 150 g を喫食し、イガイ可食部 36 g、約 45 µg OA 当量の貝毒を摂取したと推定された。体重が 58 kg であったことから、LOAEL は、0.8 µg OA 当量/kg 体重と推計された。1976~1977 年に日本で発生したイガイ及びホタテガイを原因とする DSP 事例では、原因となった貝毒は DTX1 であったことが示されており、発症者 164 名のうち、10~68 歳の男女 8 名についての疫学調査が報告されている。最も少ない摂取量で発症したのは一人当たり 12 MU の貝毒を摂取したと推定された 2 名であった。この値は、1 MU を OA 当量として 4.0 µg と換算すると、48 µg OA 当量と推計された。

げっ歯類を用いた OA 群の急性毒性試験では、下痢を含む消化管障害及び肝臓への影響が認められた。投与経路により毒性の程度が異なり、経口投与では腹腔内投

与と比較して毒性が低いことが示されている。OA 及び DTX1 はげっ歯類を用いた二段階発がん試験において発がんプロモーション作用があることが示されているが、長期の慢性毒性・発がん性のデータはない。遺伝毒性試験において、染色体異常試験等、一部の試験で陽性の結果が得られているが、OA を用いた Ames 試験、HPRT 試験及び *in vitro* 不定期 DNA 合成試験の結果は陰性であった。したがって、本専門調査会では、OA は遺伝毒性発がん物質ではないと判断した。

OA 群について慢性毒性のデータがないこと、二枚貝が捕食する有毒プランクトンの発生及びその密度には季節性があり、年間を通じて二枚貝に貝毒が蓄積されるわけではないこと、並びにヒトに認められている健康影響は急性毒性であり、貝毒が蓄積した二枚貝をヒトが毎日喫食する可能性は低いことから、本専門調査会は、OA 群の TDI は設定せず、ヒトにおける疫学的知見を基に ARfD を設定することとした。報告されているヒトの DSP 事例については、貝毒摂取量の推定において不確実性が伴うが、先に述べたフランスにおける事例から LOAEL を 0.8 µg OA 当量/kg 体重と設定した。これは、日本における事例から推測される LOAEL の値とほぼ一致した。この値は LOAEL であること、様々な国及び幅広い年齢の男女を含めたヒトの事例のデータに基づくこと、及びヒトにおける症状は下痢を主とする消化器症状であって、数日で回復することから、不確実係数 3 を適用し、OA 群の ARfD を 0.3 µg OA 当量/kg 体重と設定した。

なお、データが限られていたため、日本における二枚貝の喫食を介した OA 群の暴露量推計はできなかったが、ARfD を超えない二枚貝の OA 群による貝の汚染濃度を試算し、〈参考〉として記載した。

〈参考〉

平成 17～19 年度に厚生労働省が実施した喫食量推計により、日本における 1 日当たりの二枚貝の貝種ごとの喫食量推計が示された。限られたデータではあるが、平均値として最大であった値はイガイの 72.2 g であり、95 パーセンタイル値として最大であった値はイガイの 148.0 g であった。また、ホタテガイの喫食量の最大値は 297.0 g であり、二枚貝のデータにおける喫食量の最大値は養殖カキ 360.0 g であった。

これらを参考として、二枚貝の喫食量を 72 g、148 g、300 g 及び 360 g と仮定し、日本人の平均体重を 55.1kg と設定すると、ARfD (0.3 µg OA 当量/kg 体重) を超えない二枚貝の OA 群による汚染濃度はそれぞれ 229 µg /kg、111 µg/kg、56 µg/kg 及び 45 µg/kg 貝可食部と推計される。

なお、喫食量の最大値が 360 g 及び 99 パーセンタイル値としての最大が 300 g であったことから、頻度は低いながら、1 日当たりの喫食量として、貝を多く喫食する場合も考えられる。このため、貝の可食部 1 kg 当たり 0.16 mg の OA 群が含

まれている二枚貝を想定して試算すると、中腸腺を除去せずに 103 g を超えて喫食する場合には ARfD を超えることになる。しかしながら、貝毒は中腸腺に蓄積することが示されており、仮に二枚貝に貝毒が蓄積していたとしても、中腸腺を除去することにより、ヒトへの健康影響は低くなるものと考えられる。なお、現行の MBA 通知法による 0.05 MU/g 貝可食部は、24 時間以内に 3 匹中 2 匹以上が死亡する毒量である。FAO/IOC/WHO (2004) では、このような貝可食部には OA 群が OA 当量として 0.16 mg/kg を超えて存在していると推定している。

VI. 今後の課題

本評価は、国内外における DSP 事例から得られた情報並びに FAO/IOC/WHO(2004)及び EFSA のリスク評価に用いられた情報を参照しながら、新たに得られた知見を含め、限られたデータを活用して実施した。

現時点では、利用可能な毒性データ及び疫学データは限られている。今後、以下のような知見及びデータが収集されることにより、より詳細なリスク評価が可能になると考えられる。

- ・長期毒性試験を含む各種毒性試験のデータ
- ・DSP 発症者の体重、二枚貝の喫食量及び貝毒摂取量等の詳細な疫学データ
- ・貝種ごとの二枚貝の喫食量及び喫食頻度に関するデータ
- ・国内流通二枚貝全体における OA 群の濃度分布を推計するための実態調査のデータ

また、PTX 群、YTX 群及びその他の貝毒については、ヒトへの健康影響に関するデータの収集を図ることによって、より詳細なリスク評価が可能になると考えられる。

<略語一覧>

ADI	Acceptable daily intake (一日摂取許容量)
ARfD	Acute Reference Dose (急性参照用量)
CAC	Codex Alimentarius Commission (コーデックス委員会)
DSP	Diarrhetic Shellfish Poisoning (下痢性貝中毒)
DTX	Dinophysis toxin (ジノフィシストキシン)
DTX1	Dinophysis toxin-1 (ジノフィシストキシン-1)
DTX2	Dinophysis toxin-2 (ジノフィシストキシン-2)
DTX3	Dinophysis toxin-3 (ジノフィシストキシン-3)
EFSA	European Food Safety Authority (欧州食品安全機関)
EU	European Union (欧州連合)
FAO	Food and Agriculture Organization (国際連合食糧農業機関)
FDA	Food and Drug Administration (アメリカ食品医薬品局)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (高速液体クロマトグラフ)
IOC	Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO (ユネスコ政府間海洋学委員会)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (国際純正・応用化学連合)
JMPR	WHO/FAO Joint Meeting on Pesticide Residues (合同残留農薬専門会議)
LC-MS	Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer (液体クロマトグラフ質量分析計)
LC-MS/MS	Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometer (液体クロマトグラフタンデム質量分析計)
LD ₅₀	Lethal Dose ₅₀ (半数致死量)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (最小毒性量)
LOD	Limit of Detection (検出限界)
LOQ	Limit of Quantitation (定量限界)
MBA	Mouse Bioassay (マウス毒性試験)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (無毒性量)
OA	Okadaic Acid (オカダ酸)
PP1	Serine/threonine phosphatase protein phosphatase 1
PP2A	Serine/threonine phosphatase protein phosphatase 2A
PTX	Pectenotoxin (ペクテノトキシン)
PTX1	Pectenotoxin-1 (ペクテノトキシン-1)
PTX2	Pectenotoxin-2 (ペクテノトキシン-2)
TDI	Tolerable daily intake (耐容一日摂取量)
TEF	Toxicity Equivalent Factor (毒性等価係数)
WHO	World Health Organization (世界保健機関)
YTX	Yessotoxin (イエソトキシン)

<参考資料 1>

1-1. 日本におけるフグ中毒以外の動物性自然毒食中毒の原因食品別発生状況
(1972~1984年)

順位	原因食品	病因物質	患者数 (人)	死者数 (人)
1	ホタテガイ	下痢性貝毒	519	0
2	コタマガイ	下痢性貝毒	287	0
3	ムラサキイガイ	下痢性貝毒	250	0
4	アブラソコムツ	ワックス	204	0
5	イシナギ	ビタミンA	123	0
6	カンパチ	シガテラ毒	102	0
7	イガイ	下痢性貝毒	63	0
8	エゾボラモドキ	テトラミン	34	0
9	アオブダイ	水溶性麻痺毒 及び脂溶性毒	28	1
10	ドクカマス	シガテラ毒	22	0
11	ヒメエゾボラ	テトラミン	20	0
12	アサリ	下痢性貝毒	16	0

山中英明. 魚介類の自然毒による食中毒の現状. 食衛誌. 1986; 27: 343-345.

1-2. 日本におけるDSP事例 (1976年6月~1983年8月)

発生年月日	発生場所	患者数 (人)	原因食品
1976.6.22	岩手県藤沢町	24	ムラサキイガイ
1976.6.25	宮城県本吉町	2	ムラサキイガイ
1976.7.1	宮城県本吉町	9	ムラサキイガイ
1976.7.3	宮城県本吉町	2	ムラサキイガイ
1977.6.4	岩手県久慈市	3	ムラサキイガイ
1977.6.25	神奈川県横浜市	37	ホタテガイ
1977.6.28	岩手県東山町	5	ムラサキイガイ
1977.6.30	宮城県登米町	23	ムラサキイガイ
1977.7.1	宮城県中田市	2	ムラサキイガイ
1977.7.9	福島県いわき市	3	ムラサキイガイ
1978.6.19	岩手県新里村	5	ムラサキイガイ
1978.6.25	福島県いわき市	3	ホタテガイ
1978.6.27	茨城県日立市他	366	ホタテガイ
1978.6.29	東京都杉並区	7	ムラサキイガイ
1978.7.1	神奈川県横浜市	38	ムラサキイガイ
1978.7.6	東京都町田市	6	ムラサキイガイ
1978.7.19	福島県いわき市	38	ムラサキイガイ
1978.8.6	栃木県宇都宮市	3	ムラサキイガイ
1978.8.7	栃木県鹿沼市	3	ムラサキイガイ
1978.8.7	福島県いわき市	5	ムラサキイガイ
1978.8.11	茨城県那珂湊市	10	ムラサキイガイ
1981.6.18	青森県八戸市	2	ムラサキイガイ