

魚介類の斃死要因

小田達也（長大・水）

キーワード：毒素・活性酸素・粘液物質・斃死機構

【目的】近年、*Cochlodinium polykrioides* 赤潮は韓国及び我が国において大きな漁業被害を引き起こしているが、その魚毒性発現機構については未だ不明な点が残されている。これまで、*C. polykrioides* の毒性因子として、ある種の毒素を介した毒素説⁽¹⁾、粘液物質説⁽²⁾、あるいは活性酸素説⁽³⁾が提示されている。そこで、本研究では、*C. polykrioides* の魚毒性発現機構解明を目的とし、特に、活性酸素及び毒素の存在の両面から検討した。また、*C. polykrioides* 及びその他の赤潮プランクトンの毒性因子の検出法の新たな試みとして培養細胞に対するプランクトン細胞暴露実験の有効性についても検討した。さらに、最近の研究から、スズメダイが *C. polykrioides* 暴露により斃死することを見出した。スズメダイは体長数センチと小型魚種で、スモールスケールでの暴露実験が可能である。予備実験の段階ではあるが、このスズメダイを用いた暴露実験結果についても紹介したい。

【方法】活性酸素であるスーパーオキシドは 2-methyl-6(p-methoxyphenyl)-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-3-one (MCLA) をプローブとして、また、過酸化水素は 5-(and-6)-carboxy-2',7'-dichlorodihydrodihydrofluorescein diacetate, acetyl ester (CM-H₂DCFDA)を用い、化学発光法及び蛍光顕微鏡観察により調べた。プランクトン暴露後の培養細胞の生死判定及びプランクトン細胞からのアルコールあるいは水抽出物の細胞に対する毒性は常法に従い主に MTT 法により調べた。市販のスズメダイ(体長 2.5-4 cm)一群 5 匹を用い、エアレーション下で *C. polykrioides* 暴露を行い、生死を観察した。

【結果及び考察】日本近海で分離された複数の *C. polykrioides* 株について活性酸素産生について検討したが、いずれも検出限界以下であった。なお、活性酸素産生が知られている *Chattonella marina* では同条件下で常に高いレベルの活性酸素が検出された。一方、シャットネラの活性酸素産生は魚鰓由来粘液物質などの刺激によって著しく上昇することが知られている⁽⁴⁾。そこで魚鰓粘液物質やレクチン(Con A, WGA)など刺激作用が知られている物質添加時の活性酸素産

生レベルを調べた。*C. marina* では顕著な活性酸素産生の上昇が確認されたが、*C. polykrioides* では何れの刺激物質存在下においても低値のままであった。さらに、韓国近海で分離された *C. polykrioides* 株についても韓国国立水産科学院の協力を得て検討したが、低レベルの活性酸素であった。

C. polykrioides 細胞から調製した水抽出物は HeLa 細胞に対して細胞形態変化を伴う細胞毒性を示した。同様な方法で *C. marina* から得た抽出物には細胞毒性は認められなかったことから *C. polykrioides* 特異的細胞毒性物質の存在が示唆された⁽⁵⁾。さらに、ニジマス鰓由来株化細胞 W-1 を用いた *C. polykrioides* 暴露実験を試みた結果、ESM 培地単独に比べ、*C. polykrioides* 細胞浮遊液は明らかに強い細胞毒性を発現した。

スズメダイ暴露実験において、*C. polykrioides* 細胞破壊液では斃死は認められなかったことから毒性発現には生細胞である必要性が示唆された。さらに、*C. polykrioides* 生細胞暴露時に活性酸素消去酵素である SOD やカタラーゼを添加しても毒性の低下は認められなかったことから、スズメダイの斃死は活性酸素以外の毒性因子によると推定された。

以上、少なくとも本研究に用いた *C. polykrioides* 株に関しては活性酸素産生を介した毒性機構を指示する結果は得られなかった。むしろ何らかの毒性物質の可能性が示唆された。しかしながら、*C. polykrioides* は人工的環境下での培養に適応することで活性酸素産生能を消失する可能性も否定できず、今後、新たに分離された *C. polykrioides* 株をできるだけ新鮮な状態で活性酸素産生について検討する必要がある。他の毒性因子の存在の有無についても今後の課題である。

【文献】

- (1) Onoue, Y., et al. 1985. Bull. Jpn. Soc. Fish. **51**, 147.
- (2) Jenkinson, IR. 1989. Red tides: biology, environmental science, and toxicology. Elsevier, New York, pp. 435-438.
- (3) Kim, CS., et al. 1999. J. Plankton Res. **21**. 2105-2115.
- (4) Oda, T., et al. 1998. Mar. Biol. **131**, 383-390.
- (5) Kim, D., et al. 2002. Com. Biochem. Phys. **132**, 415-423.