

平成 21 年度
日本水産学会九州支部例会

シンポジウム

九州発
フグ研究と生産技術開発の最前線

平成 21 年 9 月 19 日 (土)
13:00 ~ 17:45
長崎大学水産学部
第 3 講義室

日本水産学会九州支部

平成 21 年度日本水産学会九州支部例会（シンポジウム）
「九州発 - フグ研究と生産技術開発の最前線」

日時：平成 21 年 9 月 19 日（土） 13:00～17:45

会場：長崎大学水産学部第 3 講義室

プログラム

開会挨拶（13:00～13:05）

中田英昭（九州支部長）

趣旨説明（13:05～13:10）

阪倉良孝（企画責任者）

座長：谷津明彦（西水研）

1. 概観と分類・種の同定（13:10～14:10）

（1）わが国のフグ、中国などのフグ

多部田 修（長大名誉教授）

（2）トラフグ属の分類と自然交雑個体の同定

望岡典隆（九大院農）

休憩（14:10～14:20）

座長：橘 勝康（長大水）

2. 最新の養殖技術（14:20～16:00）

（1）トラフグ養殖の現状と展望

田嶋 猛（NPO 法人 ACN）

（2）トラフグ種苗生産の現状

中田 久（長崎水試）

（3）寄生虫症対策と薬剤開発研究

鮫島 守（熊本水研セ）

（4）トラフグの閉鎖循環式養殖

菊池弘太郎（電中研）

休憩（16:00～16:10）

座長：荒川 修（長大水）

3. フグ毒に関連した最新の研究（16:10～17:25）

（1）フグ毒結合タンパク質の分子進化

大嶋雄治（九大院農）

（2）フグ体内におけるフグ毒の動態

高谷智裕（長大水）

（3）フグの行動とフグ毒

阪倉良孝（長大水）

座長：阪倉良孝（長大水）

総合討論（17:25～17:40）

閉会挨拶（17:40～17:45）

荒川 修（企画責任者）

シンポジウム開催の趣旨

企画責任者：荒川 修・阪倉良孝（長大水）

日本人は昔からフグを好み、独自のフグ食文化を築いてきた。トラフグの養殖技術も日本で開発され、発展してきた。長崎県および九州地方では、採卵技術・種苗生産・飼育技術開発の積極的な取り組みがなされ、海面の網生け簀を用いる高密度飼育の形態をとるようになった。さらに近年では、細菌の感染やウイルス、寄生虫による疾病が頻発したこともあり、高コストながら水質や水温などの管理が容易な陸上養殖も増加しつつある。また、長崎県総合水産試験場を中心としたトラフグ資源回復のプロジェクトが著しい成果を上げていることは特筆に値する。

一方、フグはフグ毒テトロドトキシン（TTX）を持ち、食中毒による被害が古来から知られている。このため、TTX に関する研究は、疫学的な調査を基盤として日本を中心に進展してきた。すなわち、フグの毒性には大きな個体差や地域差、季節変動がみられること、フグ以外の多様な生物が TTX を保有すること、フグに無毒の餌を与えて人工飼育すると無毒になるが、これに TTX を与えると蓄積すること、などが順次明らかにされ、フグの毒化は細菌から始まる食物連鎖で説明することが可能となった。一方、フグ毒の機能については、これまで主に生体防御という観点から研究が行われ、フグに対する免疫賦活作用や捕食生物に対する忌避作用などが論じられてきたが、フグは TTX 結合タンパク質や TTX 耐性遺伝子を保有することもわかっており、毒に関わる独自の生体内恒常性維持機構を備えているものと考えられるようになってきた。長崎大学ではあらためて「フグはなぜ毒を持つのか？」という課題に、生理的・行動学的な手法から取り組みを始めている。

このような状況の下、本シンポジウムでは、地域水産業の活性化、ならびに食の安全・安心やフグ食文化のさらなる向上に寄与するため、トラフグの種苗・養殖生産において全国一を誇る九州から、フグないしフグ毒研究とトラフグの生産技術に関する最新の情報発信を試みる。研究と生産技術に関する知見を同時に取り上げ、産学が一体となって議論することにより、相互の理解が深まり相乗的に発展する機会となることを期待する。

1－（１）わが国のフグ、中国などのフグ

多部田 修（長大名誉教授）

はじめに

世界のフグ食について概観すると、中国－韓国－日本の地域に大きい中心があり、ヒトとフグとの関係は縄文前期の数千年前から始まったとみられる。ここでは、わが国、中国、韓国のフグとフグ食について、種類、現状、展望等について述べ、最後に対象種トラフグ属の研究課題についてもふれる。

1. わが国のフグとフグ食について

全国各地の縄文貝塚から、フグの歯や骨が出土し、フグを選択的に食べていたと推定される。江戸時代まで、為政者は常に有毒種としてフグ食を禁じていたが、一般にはむしろフグ食を楽しんでいたようである。フグ食の解禁は、山口（明治 21、1888）に始まり、東京（明治 23）、長崎（昭和 11）、大阪（昭和 16）が続いた。谷（1945）のフグの中毒学的研究、食品衛生法の施行（1947）、厚生労働省環境衛生局長通知（1983）はフグ食の衛生確保や普及に貢献した。この通知後に新たな問題が生じている。

2. 中国におけるフグとフグ養殖、フグ食について

中国にも数千年前のフグ食の記録があり、現在では、①黄渤海域（遼寧、河北、山東省）と、②長江下流域（江蘇、折江、安徽省など）に、2つの養殖の中心がある。黄渤海域では、大型の越冬池と広大な路地池（土池、泥池）を用いる。養殖種はトラフグ類で、年間養殖量は最大で数千トンに及ぶという。長江下流域では養殖種はメフグで、わが国のトラフグ養殖との競合はなく、養殖量はやはり数千トンに達する。中国ではフグ食は禁じられ、日本、韓国へ輸出しているが、幾つかの「許可されたフグ食の試験店」があり、一部国内消費もある。黄渤海域養殖の現況についても述べる。

3. 韓国におけるフグ食の普及について

韓国では、済洲島以外でもトラフグ養殖がなされてはいるが、韓国のフグ食は輸入フグによって支えられているとみられる。インドネシアから大量に輸入された無毒のドクサバフグや、アフリカ西岸域のアンゴラフグ等は有名で、各々数年間続いた。韓国の河川にはメフグの自然分布が知られ、西岸国境線に近い臨津江（イムジン河）が有名で、ここで人工授精を行い、飼育研究が行われている。韓国のフグ食は、伝統料理のメウンタン、蒸しフグ、サシミ等で、仁川ではメフグのサシミは高価であった。最近では中国からの輸入ものが多いという。

4. トラフグ属に関する研究課題

トラフグ属魚類は、タキフグとコモンドマシを除けば、黄渤海域とその周辺海域に生息し、形態分類によると、25種が認められている。なお、黄渤海域には未知の大型トラフグ属が生息するとみられる。この属のミトコンドリア DNA の系統樹は既に示されているので、次は核 DNA による分子系統樹を構築することが期待される。

おわりに

1 - (2) トラフグ属の分類と自然交雑個体の同定

望岡典隆 (九大院農)

トラフグ属魚類は日本周辺海域、東シナ海、黄海、渤海に 25 種が認められ、これらのうち 13 種は厚生労働省に食用として許可され、価値の高い水産資源となっている。本属魚類には自然交雑個体がしばしば出現し、過去には流通していた経緯がある。一般に交雑個体は模様が純系個体とは異なるため、交雑フグか否かは外見で判断することが可能である。しかし、模様が類似する種間での雑種は純系種と同じような外見をしているものもあり、誤食による食中毒の原因となる可能性がある。特にトラフグ、マフグ、ゴマフグ間の交雑と推定されるフグ類は古くから知られ、混獲量も少なくなく、両親の可食部位は食用可とされている (厚生省 1983) が、これら交雑個体の表現型についての報告例は少ない。

ここでは、トラフグ属魚類の分類についてこれまでの知見を紹介し、交雑フグの両親種の同定法および両親の組み合わせが明らかになった交雑個体の形態的特徴と成熟について述べる。

トラフグ属の分類

近年、ミトコンドリア DNA による分子系統学検討が行われ、本属魚類は遺伝的にきわめて近縁であることが報告されている (Zhang and He 2008, Yamanoue et al., 2009)。今後さらに分子系統学検討をすすめると共に、これらの遺伝的情報に基づいて、従来の形態分類の再検討も必要である。

交雑個体の両親の種同定

両親の種を同定するためにトラフグ属 15 種について、核 DNA の嗅覚受容体 V I R 領域 314bp、mtDNA Cytochrome *b* 領域 1137bp と 16SrRNA 領域 570bp の塩基配列を決定し、データベースを作成した。クサフグ♀×トラフグ♂の人工受精卵を用い、これらの遺伝情報を用いた同定法の有効性を検証した。本法を用いて福岡県沖のフグ延縄漁で混獲された交雑フグの両親種を同定したところ、トラフグ♀・♂×マフグ♂・♀、トラフグ♀・♂×マフグ♂・♀であることがわかった。

交雑個体の形態

トラフグ×ゴマフグ交雑個体は体色、大黒斑、肛門の位置、腹縁線および臀鰭の色彩に純系個体と差異がみられた。トラフグ×マフグ交雑個体は大黒斑の縁、棘、腹縁線および臀鰭の色彩に純系個体との差異がみられた。いずれの自然交雑個体も両親種の組み合わせの違いによる表現型の明瞭な差異は認められなかった。トラフグ♀×マフグ♂と同定された交雑個体の中に通常の交雑個体と異なる表現型のものが 1 個体含まれていた。

交雑個体の成熟

トラフグ×ゴマフグおよびトラフグ×マフグ交雑個体の生殖腺は、雌雄ともに十分成熟していた。

2 - (1) トラフグ養殖の現状と展望

田嶋 猛 (NPO 法人アクアカルチャーネットワーク)

日本のトラフグ養殖

トラフグ養殖は1964年山口県水産試験場で生産された種苗を用いて開始されたが、養殖収穫量が100トンを越えるまで17年(1981年・163トン)の歳月を要した。

当初の養殖方式は、海面イケスであったが、1998年頃からヒラメ陸上養殖業からの魚種転換により陸上タンク掛け流し養殖も始まり、その後、陸上循環ろ過養殖も加わって、現在3種類の養殖形態がある。2008年の形態別の経営体数は海面イケス・269社、陸上掛け流し・22社、循環ろ過・8社(半循環ろ過も含む)であった。

2007年の養殖トラフグの生産額はブリ類、マダイに次いで第3番目であるが、魚類養殖全体の4.2%に過ぎない。内訳は生産額順にブリ類1,134.7億円(159,750トン)、マダイ554.5億円(66,663トン)、フグ類91.3億円(4,230トン)、ヒラメ73.6億円(4,592トン)であった。なお、生産量の上位3県は長崎県(2,396トン)、熊本県(601トン)、愛媛県(446トン)の順であり、1988年以降この順位に変化はない。

海外のトラフグ養殖

中国のトラフグ養殖は、福建省、浙江省沿岸で1980年代後半から台湾資本と日本人技術者により海面イケス方式で始まったと言われている。その後、これら両省沿岸海域で発展するかに見えたが、疾病等の問題で次第に終息していった。一方、渤海湾沿岸の放置されていたエビ養殖用土池では、1995年頃から粗放的養殖+越冬用屋内タンク養殖が急速に発展していった。その後、活魚輸出目的の水温馴致用海面イケスが養殖用としても利用されるようになり、この3形態を季節・用途により組み合わせる養殖している。2006年の生産量は約4,500トンと言われており、日本の養殖収穫量(4,371トン)とほぼ同量であった。フグ食禁止の中国ではこれらの大部分を日韓両国に輸出している。中国に先立って養殖技術を有していた台湾でも1995年頃に日本から輸出された受精卵や種苗(TL30mm)によるトラフグ養殖が宜蘭、基隆で行われたが、対日輸出手続きの煩雑さ等で自然消滅していった。一方、日本と同じくトラフグ消費国である韓国でも養殖への関心は高いものの、海面イケス養殖に適した本土沿岸には、冬季海水温が10℃以下となる海域が多く養殖には不適であり、水温条件の適する済州島には海面イケスを設置できる内湾が無いいためトラフグ海面養殖は発展しなかった。

今後の日本のトラフグ養殖

日本のトラフグ養殖業者の中には北京オリンピックを契機に、中国国内でのフグ食解禁を期待する声があったが、今もって許可されたレストラン以外ではフグ食禁止である。筆者は中国が輸出で利益を出している間は、フグ食解禁はないと思う。しかし、昨今の日本国内の安値には中国輸出業者も失望しているであろう。しかも、飼料、人件費、燃料代等の上昇でトラフグは中国の養殖業者や種苗業者にとって魅力の乏しい魚種となっており、国内消費可能な淡水フグ類への転換が始まっている。

日本では例年10月から本格シーズンに入るトラフグ需要だが、昨年の種苗尾数(2007年比+33%)の増加と不景気に加えて、新型インフルエンザの影響で価格の下落が予想されている。今後この傾向が続けば日本の養殖トラフグ生産量は縮小していくと思われる。しかし、その中にある陸上タンク養殖は海面イケスに比べて生残率と販売価格が高いため現状の規模を維持していくものと思われる。

中国からの養殖トラフグの輸入量は日本の価格下落のため減少するものと思われる。一方、韓国の陸上養殖場ではリーマンショック後のヒラメ需要の減少と価格下落に直面し、その結果ヒラメからトラフグへの魚種転換の流れが出始めており、その動向が気になりである。

2 - (2) トラフグ種苗生産の現状

中田 久 (長崎水試)

トラフグ *Takifugu rubripes* は、東シナ海、黄海、瀬戸内海、日本海から太平洋沿岸の各地に広く分布し、我が国ではふぐ料理の高級食材として珍重され、高価であることから延縄、一本釣り等漁業の重要な漁獲対象魚種となっている。また、西日本各地では、本種の養殖も盛んであり、2008年には全国で4,110トン(農林水産省：漁業・養殖業生産統計年報)の生産が行われている。

本講演では、養殖および放流用種苗の安定確保を目的として、当水試が九州大学との共同研究で実施した事業「養成トラフグの成熟促進と採卵技術の開発(H5-7)」の成果を中心にトラフグ種苗生産の現状について概説する。

1. 種苗生産尾数の推移

本種の種苗生産は、1985年には養殖・放流用あわせて329万尾であったものが1999年には2,605万尾まで増加し、近年では1,000-1,500万尾の生産で安定している(水産庁等：栽培漁業種苗生産、入手・放流実績(全国))。

2. 親魚の確保と飼育管理

1993年頃には、採卵可能な天然親魚の漁獲量の減少に伴い、受精卵の確保が困難となり、安定的な種苗生産に支障をきたしていた。そこで、養成親魚からの採卵を試みた結果、雌個体は3歳魚、雄個体は2歳魚から使用可能であることが明らかとなった。また、飼育管理では、餌料はモイストペレット(カ：サメ：イ：配合飼料=1:1:1:3)を週3回、サバとイカの切り身を週2回飽食量給餌し、冬季の長日処理(14L10D)と加温処理(17℃)の環境調節を行うことにより、親魚の生殖腺の発達を促進・同調させ、1-2月にホルモン投与が可能な卵巣卵を持つ個体を多数確保することができた。

3. 採卵技術

養成親魚の成熟促進のためのホルモン投与法を検討した結果、合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(LHRHa)が効果的であった。投与法はLHRHaを含むコレステロールペレット(直径2mm、長さ6mm)を作製し、背筋部に埋め込む方法であり、ホルモンの放出持続効果が長期間期待できる。ホルモンを投与する際には、予め雌親魚の成熟状態を把握しておくことが重要であり、カニキュレーション法により卵巣卵の一部を採取し、卵径を測定する。LHRHaコレステロールペレット投与時の卵径としては800μm以上で採卵が可能であるが、効率的な採卵のためには900μm以上が望ましい。LHRHaの投与量は400μg/kgが適当である。上記の方法でホルモン投与を行った場合、排卵は4-6日後に集中して起こる。人工授精卵の受精率は、卵が排卵されてからの経過時間(卵巣腔内滞留時間)に依存し、排卵後4時間以内に媒精を行えば高い受精率を示すが、その後受精率は急速に低下することが明らかとなった。即ち、個体毎の排卵時期を予測し、排卵後は速やかに人工授精を行うことが肝要である。雄親魚へは、ヒト絨毛性生殖腺刺激ホルモン(HCG)とシロザケ脳下垂体(SP)の1回投与(注射法)により、安定的に採精が可能である。

4. 仔稚魚飼育技術

受精卵のふ化管理は水温19-20℃、流水・強通気下で卵を攪拌させながら行い、ふ化は約1週間後である。仔稚魚飼育における餌料はワムシ、アルテミア、配合飼料を主体とし、全長は30日令で12mm、50日令で30mm、70日令で約70mmに成長し、生残率は60%程度である。

上記のように、トラフグの種苗生産技術はほぼ確立し、現在では各機関において計画的、安定的な種苗生産が実施されている。今後も各機関と連携し、さらなる技術の高度化を目指したい。

2 - (3) 寄生虫対策と薬剤開発研究

鮫島 守 (熊本水研セ)

【はじめに】魚類養殖にとって寄生虫対策は必要不可欠なものである。寄生虫対策とは「寄生虫を駆除すること」を主目的とするのではなく、寄生虫の影響で悪くなった「養殖魚の状態を改善するため」の方法であると思う。寄生虫対策を行う上では、寄生虫の生活史を知ることや給餌管理等の養殖手法も非常に大事なことであると思う。寄生虫の駆除は、あくまでも寄生虫対策の一つであり、駆虫剤はそのための「道具」である。「養殖魚の状態を改善するため」には、魚の状態を把握するとともに、駆虫剤の使い方やその性質を十分に知っておく必要があると思う。

【トラフグの寄生虫】トラフグはマダイやブリと異なり、鱗がないことや高速で遊泳できないこと等により、寄生虫に感染しやすい魚であると思われる。鰓虫病、やせ病、はだ虫病、白点病等の多くの寄生虫症があり、それらの原因虫が他の疾病を誘発する事例も少なくないと思われる。

【養殖と寄生虫駆除】寄生虫症対策では駆虫によって寄生虫の感染環を断ち切ることは非常に有効であるが、完全に駆虫することは非常に難しい。また駆虫により、摂餌量や遊泳力が極端に低下するような状態を引き起こすようであれば、それは適切な方法ではない。遊泳力が低下すれば、寄生虫感染の機会をむしろ増やすことにも繋がり、過度の駆虫剤使用は魚の抵抗力を低下させてしまう。一方、駆虫の程度は低いものの、摂餌量が増加する等の使い方であれば、結果的に特異免疫や非特異免疫が維持向上し、発病に至らない状態で飼育できる場合もある。「寄生虫がいること＝寄生虫症」ではない。病気の種類、病状によっては「寄生虫を駆除すること」が最適の手段でない場合もあると思われる。

【薬剤の必要性】「寄生虫と宿主」の関係のバランスが保たれている状況では、寄生虫は宿主である魚を殺すような繁殖戦略（寄生生態）を採っていないと思う。しかしながら、養殖場では天然海域とは大きく異なる状況下で魚を飼育しており、魚は寄生虫以外にも大きなストレスを受けるため、寄生虫と宿主の関係が崩れ、寄生虫が異常に「寄生」する場合も少なくない。また自然界では寄生しない若しくは寄生しにくい寄生虫が養殖環境下では「迷入」し、病気を引き起こしている場合があると考えている。このような状態に陥った場合には、寄生虫を適切に駆除する必要があり、駆虫剤はそのための大事な道具であると考えます。

【寄生虫対策と薬剤開発】熊本県では平成8年度から大学、製薬会社と共同でトラフグの寄生虫対策試験を行ってきた。ヘテロボツリウム症の経口駆虫剤マリンバンテル（明治製菓(株)）、薬浴駆虫剤マリンサワー（(株)片山化学工業研究所）はその一つである。ヘテロボツリウム症の薬剤関係の試験研究では、虫体の計数手法、無感染供試魚の飼育保持、評価方法等を確立し、多くの薬剤スクリーニングを行ってきた。スクリーニングでは駆虫効果がある薬剤を数種類見出すことができたが、その多くがトラフグに過度の副作用がある又は水域環境に対して影響が大きいと判断され、実用化には至らなかった。

【薬剤の効果と副作用、効果的な使い方】駆虫薬をより効果的に使うためには、その効能等について熟知しておく必要がある。寄生虫の感染状況、魚のサイズ・状態（病状）、水温、濃度、処方等によりその作用は異なる。薬には必ず副作用があり、それらにも十分注意する必要がある。

トラフグ養殖が維持発展するためには、既存薬剤についても更なる調査研究が必要である。

2 - (4) トラフグの閉鎖循環式養殖

菊池弘太郎（電力中央研究所・環境科学研究所）

1.はじめに

閉鎖循環式養殖とは、陸上に設置した施設を用い、飼育水を繰り返し使用しながら魚介類を生産する方式である。同じ飼育水を一定期間使うため、飼育水温や溶存酸素の制御が可能であり高い生産性を維持できる、また、台風や大雨など自然災害の影響、赤潮の発生や病原菌の被害を受け難いなどのメリットがある。さらに、飼育水を始めとした生産工程の人為的管理が可能で、トレーサビリティの高い養殖生産方式と考えられる。本方式による養殖生産は“**Packaged turkey**”方式と呼ばれており、種々の技術を用いて飼育（生産）環境を対象種の成長に最適に維持することで、生産を最大化するものである。従って、成長最適水温や適性収容密度、窒素排泄量など対象種の生理学的知見は不可欠である。我々は、トラフグを対象とした閉鎖循環式養殖システムの構築、運転に必要な基礎情報を得るとともに、小規模システムを用いた飼育試験を実施した。

2.基礎情報

以下の飼育試験では、トラフグを水槽内に設置した網イケスに収容し、市販の配合飼料を飽食給餌した。また、特に明記しない場合、水温および塩分は、それぞれ 20℃および 33 とした。

(1) 水温：初期体重 4、50、500g のトラフグを 15、20、25 および 30℃で 8 週間飼育した。何れの体重区においても 30℃で生残率が僅かに低下した。成長最適水温は、初期体重 4 および 50g では 25℃となったが、500g では 20℃前後に低下すると見積もられた。

(2) 塩分：初期体重 3g のトラフグを塩分 10、20、30、35 の飼育水で 12 週間飼育した。生残に対する塩分の影響はほとんど認められなかった。成長は塩分の低下に従って上昇し、10 では 35 に比べて有意に高くなった。一方、初期体重 170g では 30 或いは 35 で良好な成長が得られた。

(3) 収容密度：初期体重 8g では 2、4 および 8kg/m³、12g では 5、10 および 20kg/m³、100g では 2.5、5 および 10kg/m³で収容し、8 或いは 12 週間飼育した。生残に対する密度の影響は認められなかった。初期体重 8g では成長に対する収容密度の影響は認められなかったが、12 および 100g では密度の上昇につれて成長が低下する傾向にあった。

(4) 給餌回数：初期体重 4、14、180g のトラフグを対象に、給餌回数を 1~5 回/日とし、8 或いは 12 週間飼育した。体重 4、14g では、1 回/日に比べ、3 および 5 回で良好な成長が得られたが、180g では、給餌回数（1~3 回）は成長に影響を与えなかった。

3.飼育試験

飼育槽、沈澱槽、スクリーンフィルター、紫外線殺菌装置、酸素発生器と溶入塔、ブローラならびに温度調節装置などから構成される総水量 10m³ の閉鎖式養殖システムを用い、初期体重約 3g のトラフグ稚魚 1000 尾を 224 日間飼育した。飼育には砂濾過後の天然海水を用い、実験 1 では飼育水の交換を行わなかった。一方、実験 2 では、硝酸濃度が 600mg-N/L 以下になるように定期的に一部を交換した。何れも、市販の配合飼料を 2 回/日、6 日/週で飽食給餌した。飼育水温は 20~25℃に調節した。

2 回の飼育実験で、それぞれ平均体重 343g および 303g に成長し、生残率は何れも 90%以上であった。飼料効率は 87 および 72%となった。実験 1 では、硝酸濃度が 1132mg-N/L まで上昇したが、死亡は見られなかった。但し、600mg-N/L を超えたあたりから、摂餌量の直線的な低下が起こった。何れの飼育実験においても、歯きり後に摂餌が低下し、死亡する個体が見られた。以上の結果から、閉鎖循環式で 1kg のトラフグを生産する際に要する種苗、飼料および電気代は、それぞれ 557、188 および 449 円と見積もられた。今回用いたシステムでは硝化機能に問題があり、改善によってより高い生産性が期待される。

3 - (1) フグ毒結合タンパク質の分子進化

大嶋雄治 (九大院農)

ヒガンフグ *Takifugu pardalis*, は血中に tetrodotoxin (TTX) や saxitoxin (STX) と結合する pufferfish saxitoxin and tetrodotoxin binding protein (PSTBP) を持つことが報告され、¹⁾ フグの毒化に関与すると考えられたが、その起源および生理的機能は不明であった。一方我々はこれまで強力な内分泌かく乱作用を持ち水圏を汚染しているトリブチルスズ(TBT)が、魚類の血液に高濃度で蓄積することを明らかにし²⁾、その原因として、ヒラメ (*Paralichthys olivaceus*) より TBT 結合タンパク質 (TBT-bps; TBT-bp1 及び 2) を発見した。^{3,4,5)} TBT-bp 1 の性質を調べた結果、約 42% の N 型糖鎖をもつ酸性の糖タンパク質(分子量約 46.5 kDa、pI=3.0)であり、全遺伝子配列(TBT-bp1: 2.1 kbps、TBT-bp2: 2.8 kbps)、そのエキソン/イントロン構造、アミノ酸配列による二次構造および立体構造 ($1 \times \alpha$ ヘリックス + $8 \times \beta$ シート; 図 1) がリポカリンの特徴を持っていた。⁵⁾

リポカリンタンパク質は 8 本の β 鎖からなる樽 (バレル) 構造と C 末端側に α ヘリックスを持つ細胞外分泌タンパク質で、植物から無脊椎、脊椎動物にまで広く分布している。その典型として、塩基性薬物結合性や抗炎症作用を持つ $\alpha 1$ -acid glycoprotein (AGP) や、リガンド輸送の機能を持つ retinoic acid binding protein 等が知られているが、最近シデロフォア結合能による静菌作用や、 β アミロイドに対するシャペロン機能が報告されており、興味深いタンパク質群である。

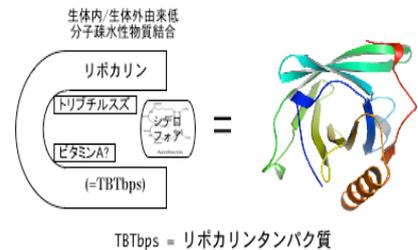


図 1. TBT-bps の予想立体構造と結合概念図

オーソログ検索の結果、8 種類の硬骨魚類で計 13 個の類似タンパク質が見つかった(図 2)。これらは TBT-bps と同様の二次構造が予測され、本タンパク質は各魚類の体内で TBT-bps と同様の機能を持つことが予想された。興味深いことに、TBT-bp 2 はヒガンフグの PSTBP と高いホモロジーを有しており、ゲノム構造を解析した結果、PSTBP は TBT-bp 2 が 2 回繰り返した構造であった。つまり TBT-bp2 は PSTBP の祖先型のタンパク質であり、TBT-bp2 が分子進化して PSTBP になったものと推測された。

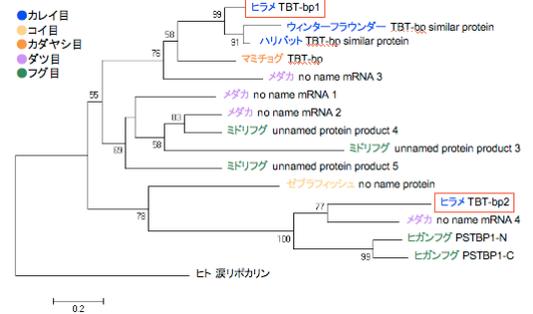


図 2. TBT-bps オーソログの分子系統樹

ヒラメ TBT-bps の生理的機能を解析したところ、TBT と血中で結合し、その複合体は体表粘液を經由して排泄されることを実験的に証明し、TBT-bps は異物結合排泄機能を持つと結論した。またトラフグ PSTBP も TBT と結合した。よって PSTBP の祖先タンパク質(TBT-bp2)は本来異物結合排泄の機能を持っていたが、遺伝子重複により PSTBP に分子進化することで TBT だけでなく TTX や PSTBP との結合能を獲得し、フグの毒化に寄与したと考えられた。

参考文献

- 1) Yotsu-Yamashita, et al. Eur. J. Biochem. 268, 5937–5946 (2001)
- 2) Oshima et al. Environ. Toxicol. Chem. 16, 1515–1517 (1997)
- 3) Shimasaki et al. Environ. Toxicol. Chem. 21, 1229–1235 (2002)
- 4) Oba et al. J. Biochem. 142, 229–238 (2007)
- 5) Satone et al. Aquat. Toxicol. 90, 292–299 (2008)

3 - (2) フグ体内におけるフグ毒の動態

高谷智裕 (長大水)・池田光壺・谷山茂人 (長大院生産)
・阪倉良孝・荒川 修 (長大水)

日本産フグの毒性は、谷による研究で知られており、フグの種類により毒保有部位や毒性が大きく異なる。また、同種のフグでもその毒性に個体差や地域差が見られたり、季節や世代によって毒が蓄積する部位が変化したりすることもあることから食品衛生上の問題となる。フグの毒性の個体差や地域差については摂取する餌によるところが大きいことが推察されるが、季節や世代による蓄積部位の変化についてはフグの毒蓄積・代謝機構との関連が疑われた。フグがもつフグ毒 (tetrodotoxin, TTX) は、外因性由来のものであり餌などから摂取して蓄積するが、フグ体内における TTX の蓄積代謝機構は未だ不明な点が多い。フグ体内には TTX と特異的に結合する TTX 結合タンパク質 (TBP) や STX および TTX と結合するタンパク質 (puffer fish STX, TTX binding protein; PSTBP) などの存在が明らかにされており、TTX の体内動態への関与が疑われている。

コモンフグは一般には筋肉の毒性が弱毒 (10~100 MU/g) とされ、食用可能なフグであるが、三陸産においては筋肉の有毒個体が多く食用とは認められていない。有明海においてもコモンフグは漁獲されるが、我々はこれまで同フグの筋肉中から高い毒性を何度も検出したことから、有明海産コモンフグにつき毒性を周年的に調べてみた。肝臓および卵巣の毒性は大きな季節変動が見られ、前者は夏から冬に、後者は初冬から春先にかけて毒性が高くなる傾向が見られた。また、皮の毒性は周年的に高いが成熟期にはゆるやかに毒性が減少した。これらのことは、性成熟期において肝臓や皮に蓄積した TTX が卵巣への移行することが示唆された。

フグ体内でのフグ毒の動態について研究を進める上で、我々は無毒の養殖トラフグを使用した飼育試験による TTX 蓄積代謝機構解明の研究を試みている。無毒の養殖トラフグに対し TTX 標品およびナシフグ卵巣から得た TTX 粗抽出液 (粗毒) を投与した場合のフグ体内での経時的な TTX の動態を見たところ、TTX 標品を投与した場合、投与した毒は短時間で主として皮へ移行し、粗毒を投与した場合と体内動態が異なる結果となった。世代の異なるトラフグに TTX を投与したところ、稚魚期と1年魚で TTX の体内動態に違いが見られ、1年魚では肝臓を主として TTX が蓄積するのに対し、稚魚では主として皮や筋肉への TTX の蓄積が見られた。また、天然トラフグ稚魚においても投与試験の結果と同様に皮や筋肉に主として TTX を蓄積する結果を得たことからトラフグは成長段階に応じて TTX の蓄積部位を変化させることが推察された。また、最近の研究でフグの脳に TTX が蓄積することが明らかになり、フグの行動との関連が疑われている。

フグがなぜ TTX を必要とし、取り込んだ TTX を各組織に移行させ、さらに季節や世代に応じて蓄積組織を変化させるのかを解明することにより、フグにおける TTX の生理機能や役割について明らかにできることが期待される。

3 - (3) フグの行動とフグ毒

阪倉良孝・高谷智裕（長大水）
山崎英樹・崎山一孝（瀬戸水研百島）

近年減少の著しいトラフグ資源回復の方策として、各地で人工種苗放流による資源添加が試みられている。最近、長崎県総合水産試験場の松村靖治氏を中心とするグループにより、トラフグの放流効果が単なる資源量添加に留まらず、放流に係る費用対効果も含めて包括的に成果が上がるまでに至った。ここで放流効果の見られたケースは、放流時の種苗の体サイズが7~10 cmと大型である。現状では、トラフグ小型種苗は放流後の減耗が大きく、放流効果を上げにくいとされているものの、人的・金銭的コストの低い小型種苗放流を望む声もまた東海3県を中心に依然として大きい。

トラフグの場合、天然水域での放流後の減耗要因の追跡調査が困難であることと、フグ類が捕食者等の刺激に対して吸水による腹部膨張という防衛反応を持つことから、放流後の人工種苗の減耗は逸散に起因するものと考えられていた。しかし我々は、天然海域を模したメソコスムを利用した放流実験により、トラフグ人工種苗の放流後の減耗要因が被食によることを初めて明らかにした。さらに、最近の三重県水産試験場の野外調査によってスズキによるトラフグの捕食が確認された。したがって、放流トラフグの種苗性向上への取り組みは、種苗に被食を受けにくい特性を付与することに集約されよう。

演者らの研究グループは、トラフグ小型放流種苗の種苗性の向上を目指し、天然種苗の行動学的な比較から人工種苗の放流魚としての適正を評価する技法を開発するとともに、放流種苗としての行動学的な種苗性を付与する方法を考案、メソコスムを用いた模擬放流実験による実証試験を行っている。この一連の研究を通じて、①稚魚期のトラフグの減耗要因が被食であること、②放流実験から、人工種苗は天然稚魚に比べて被食回避能力が有意に劣り捕食を受けやすいこと、③人工種苗と天然稚魚では新規環境に曝されたときの行動（遊泳水深、攻撃行動）が異なること、④天然トラフグ稚魚が皮膚と肝臓にフグ毒（TTX）を蓄積しているが、逃げ場所のない閉鎖環境では、捕食者は有毒フグと無毒フグを区別せずに捕食する、という4点が明らかになった。このことは、「TTXはトラフグ稚魚の被食回避に対して必ずしも直接的に機能していない」ことを示唆している。

さらに予備調査を実施したところ、⑤これまでTTXは脊椎動物の血液脳関門を通過できないとされていたが、天然トラフグの脳からTTXが検出され、⑥無毒の人工種苗にTTXを投与すると、投与方法によらずTTXが中枢神経に移行し、そして⑦TTXを無毒の人工種苗に筋肉注射すると速やかに情動反応の変化が起こる、ということが明らかになった。

以上の成果を総合し、「TTXが、トラフグ稚魚の生体防御機能のみならず、捕食者回避行動に関わる高次行動のニューロトランスマッターを修飾する分子として機能する」という仮説を立てるに至った。現在、これまでの行動学的研究を継続するとともに、トラフグ稚魚のTTXに対するセンシングと脳内での機能に関する研究として長崎大学医学部との共同研究へと展開させている。

日本水産学会九州支部



平成 20, 21 年度担当

長崎大学水産学部

〒852-8521 長崎市文教町 1-14
Tel & Fax: 095-819-2844 (庶務幹事)
e-mail: arakawa@nagasaki-u.ac.jp