

anatoxin-a の二酸化塩素処理による分解挙動及び microcystin の分解生成物の毒性に関する研究—厚生科学研究補助金・生活安全総合研究事業「水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究」報告書、(平成 11 年度)

5) 上水試験方法 1993 年版、日本水道協会、1993

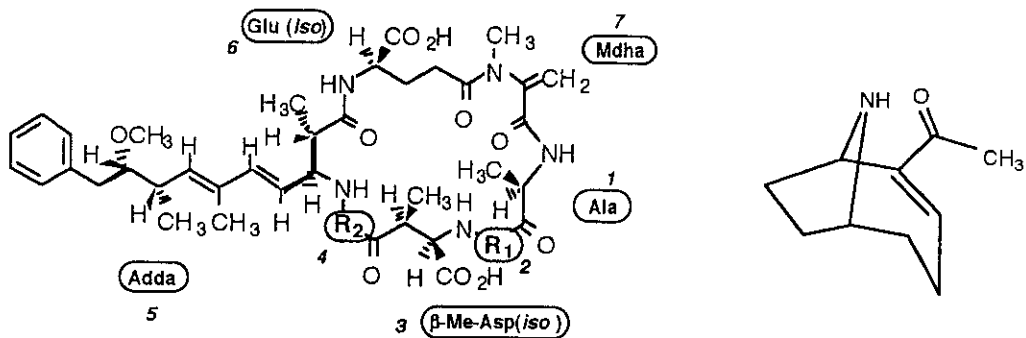
6) LD₅₀ などの推定、毒性試験データの統計解析 (毒性試験講座 14)、pp. 135-145、地人書館、1992

7) Kado, N. et al., The kinetics of mutagen excretion in the urine of cigarette smokers. *Mut. Res.*, 157, 227-233, 1985

8) Rositano, J. and Nicholson, B.C., Water treatment techniques for removal of cyanobacterial toxins from water. Australian Centre for Water Quality Research. Salisbury, South Australia, 55pp, 1994

9) Tsuji, K. et al., Stability of microcystins from cyanobacteria II. Effect of UV light on decomposition and isomerization. *Toxicon*, 33, 1619-1631, 1995

10) Harada, K.-I. et al., Liquid chromatography/mass spectrometric detection of anatoxin-a, a neurotoxin from cyanobacteria. *Tetrahedron*, 49, 9251-9260, 1993



	R1	R2	分子量
Microcystin-LR	Leu	Arg	994
Microcystin-RR	Arg	Arg	1037

図1 Microcystin-LR, -RR及びanatoxin-aの化学構造

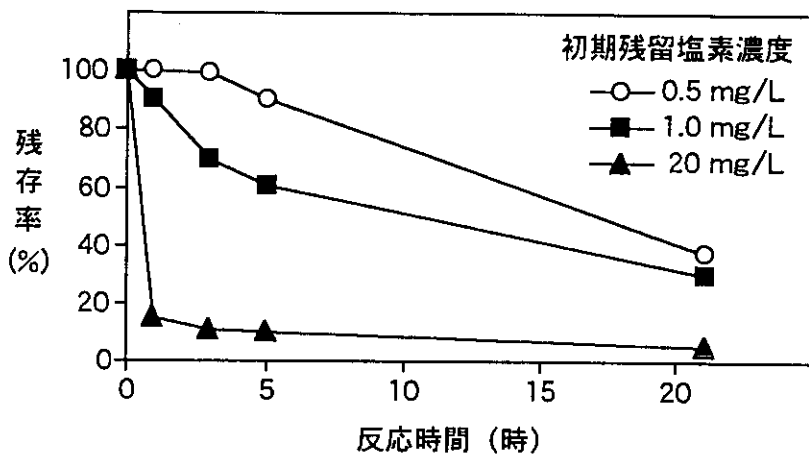


図 2-1 塩素処理によるanatoxin-a の分解—初期残留塩素濃度の影響 (1) (anatoxin-aの初期濃度 0.8 mg/L)

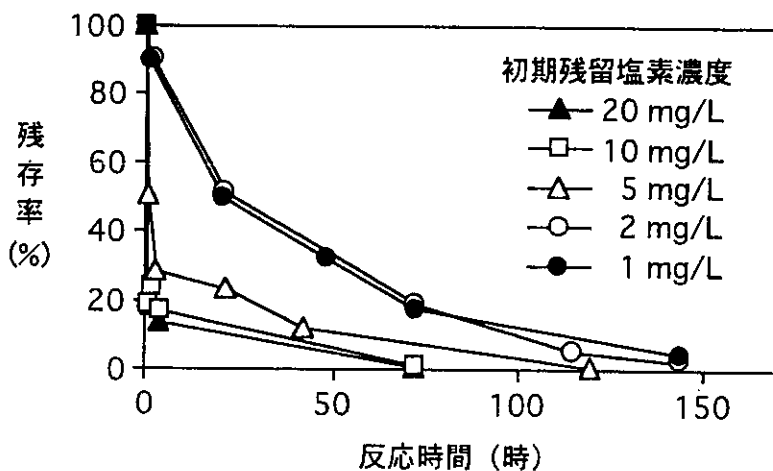


図 2-2 塩素処理によるanatoxin-a の分解—初期残留塩素濃度の影響 (2) (anatoxin-aの初期濃度 0.4 mg/L)

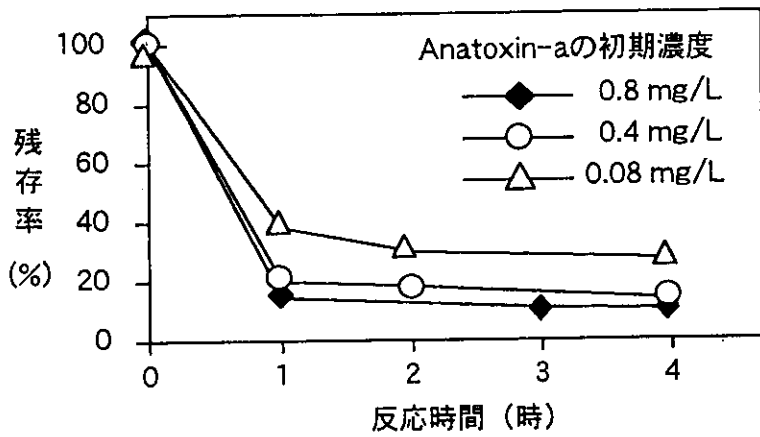


図3 高濃度塩素処理（初期残留塩素濃度 20 mg/L）による anatoxin-aの分解

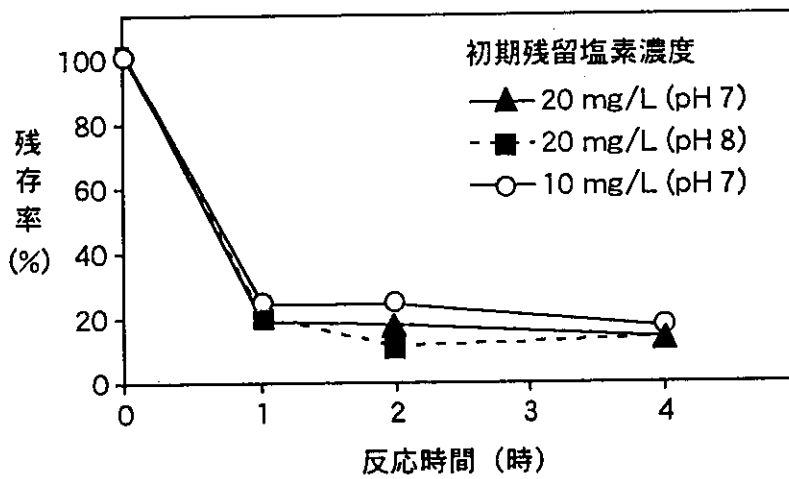


図4 高濃度塩素によるanatoxin-aの分解挙動-pHの影響 (anatoxin-aの初期濃度0.4 mg/L)

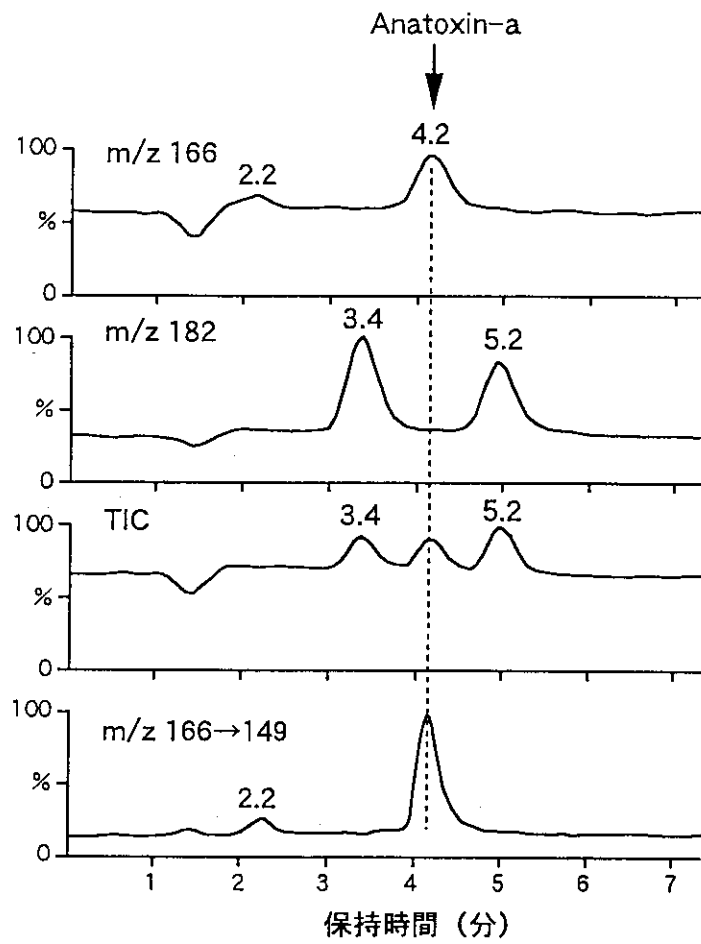


図5 Anatoxin-aの塩素処理分解生成物のESI-LC/MS分析

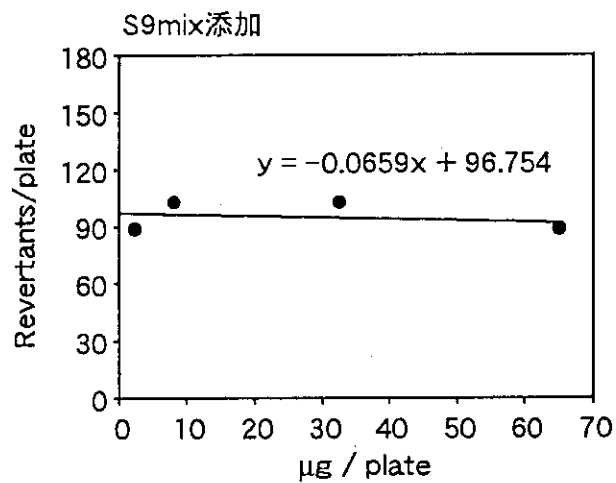
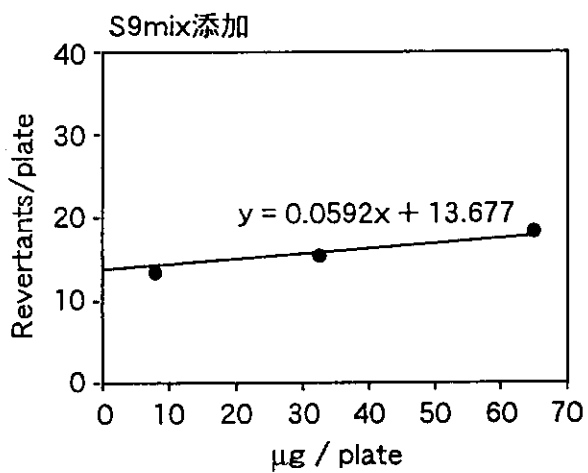
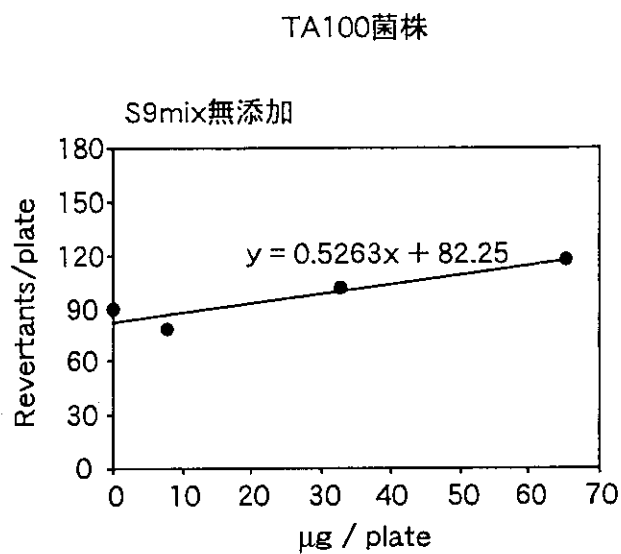
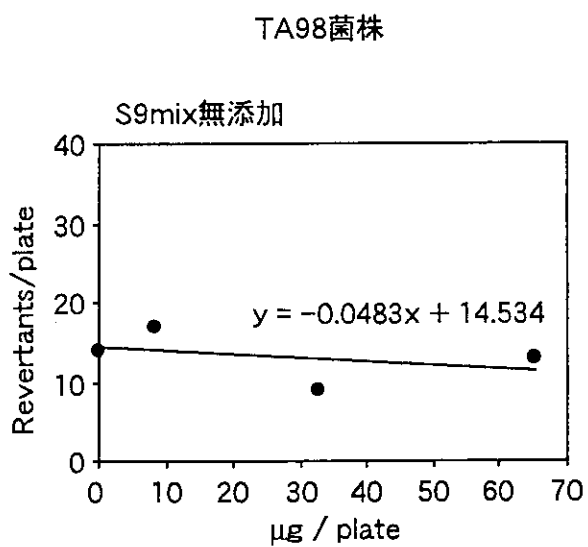


図 6-1 TA98及びTA100 菌株によるanatoxin-aの変異原性試験

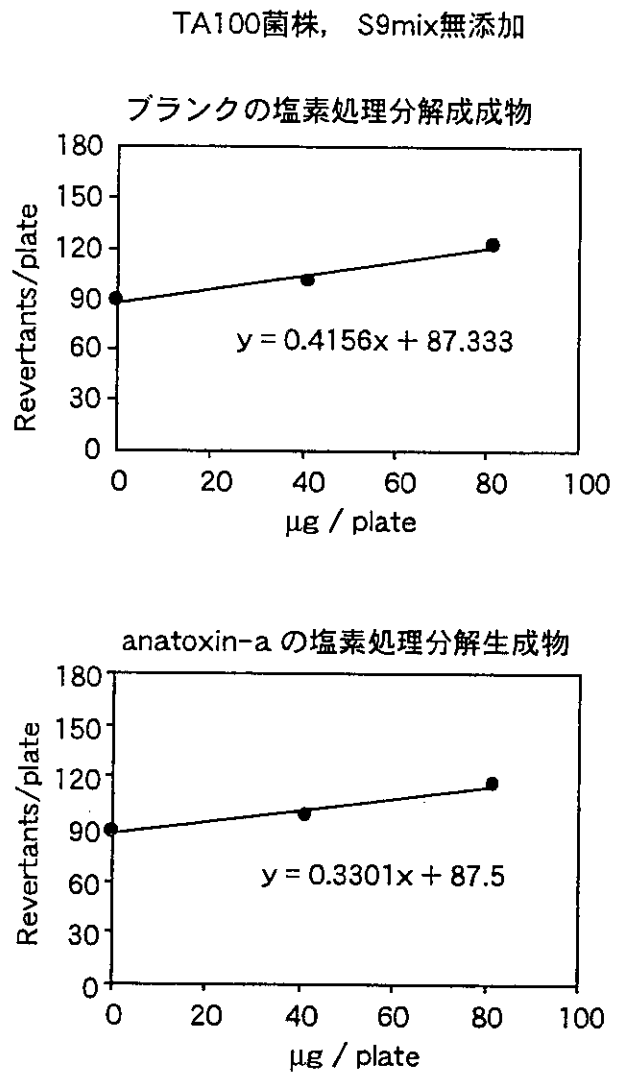
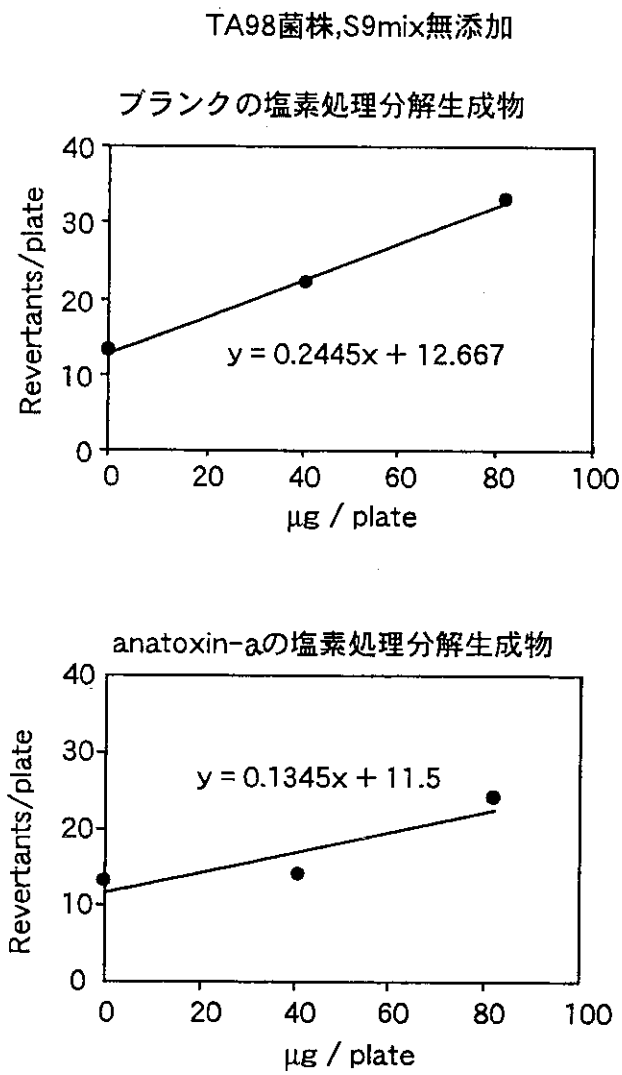


図 6-2 TA98及びTA100 菌株によるanatoxin-aの塩素処理生成物の変異原性試験

3 ラット肝細胞のシグナル伝達及び遺伝子発現に対する Microcystin-LR の影響に関する研究

神野透人、香川聡子 (国立医薬品食品衛生研究所)

3.1 研究目的

著者らは昨年度までの報告で、MCLR に曝露したラット肝細胞で Glycogen 量の減少、TNF- α の産生あるいは MAP Kinase 系の活性化等が引き起こされることを明らかにした。細胞内では多種多様なシグナル伝達において Ser/Thr のリン酸化が関与することが明らかにされており、MCLR は肝細胞の MAP Kinase 系以外のシグナル伝達も同時に攪乱する可能性が考えられる。そこで、本年度は MAP Kinase 系に加えて I κ B (NF κ B)及び STAT のリン酸化に対する MCLR の影響について検討を行った。また、MCLR によるラット肝細胞のシグナル伝達の攪乱が遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにするために、スライドガラス上に 1081 遺伝子がスポットされた Atlas Glass Rat 1.0 Microarray を用いて遺伝子発現解析を行った。

3.2 実験方法

3.2.1 ラット肝細胞の培養およびリン酸化タンパク質の検出

無血清 Williams' E 培地中で一晩培養したラット肝細胞に MCLR (20 nM あるいは 100 nM) を曝露し、一定時間 (10 分～6 時間) 経過後に肝細胞 Lysate を調製した。得られた Lysate を SDS-PAGE で分離してセミドライ法で PVDF メンブランに転写し、リン酸化タンパク質に特異的な抗体を用いる Western Blot 法により ERK1/2、SAPK/JNK、I κ B、STAT1 及び STAT3 の検出を行った。

3.2.2 cDNA Microarray によるラット肝細胞の遺伝子発現解析

20 nM MCLR に 24 時間曝露した肝細胞及び未処理肝細胞から RNeasy Mini Kit を用いて抽出した Total RNA を鋳型として逆転写反応を行い、Aminoallyl-dUTP を取り込ませた。得られた cDNA を Cy3 (MCLR 処理群) あるいは Cy5 (未処理群) で蛍光標識した後に、AtlasTM Glass Rat 1.0 Microarray 上で競合ハイブリダイゼーションを行った。蛍光シグナルの検出および定量には GenePix 4000、GenePix Pro 3.0 を使用した。

3.3 結果と考察

図 3.1 に示したように、100 nM MCLR に曝露したラット肝細胞では 60 分後から ERK1/2 リン酸化の亢進が観察された。また、20 nM の濃度でも 240 分後には ERK1/2 のリン酸化が亢進することが明らかになった。一方、SAPK/JNK では 20 nM あるいは 100 nM のいずれの濃度においても 240 分後からリン酸化の亢進が認められた (図 3.1)。MAP kinase 系は Ser/Thr

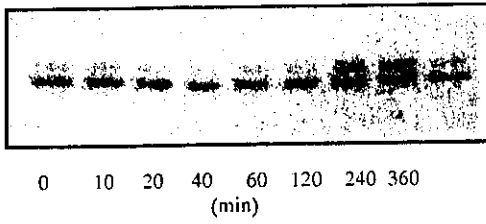
残基および Tyr 残基のリン酸化/脱リン酸化によって調節される細胞内情報伝達機構であり、細胞の増殖・分化 (ERK1/2)あるいはストレス応答 (SAPK/JNK)において重要な役割を果たすことが明らかにされている。肝細胞の ERK1/2 は EGF や HGF 等の増殖因子刺激によってリン酸化が亢進することが知られており、肝発がんプロモーターである MCLR が増殖因子と同様に ERK1/2 を活性化する事実は非常に興味深い。

MCLR は 100 nM の濃度で I κ B (図 3.2)、STAT1 および STAT3 (図 3.3)のリン酸化も亢進させることが明らかになった。I κ B のリン酸化に関しては若干不明確であるが、リン酸化 I κ B の分解を反映すると考えられる I κ B の減少も併せて観察されたことから、MCLR によって NF- κ B の関与するシグナル伝達系が活性化されることが推察される。また、MCLR はサイトカイン類のシグナル伝達に関与する STAT1 および STAT3 の Ser 残基のリン酸化も亢進させることが明らかになった。一方、20 nM の濃度では STAT1 および STAT3 のリン酸化は認められたものの、I κ B のリン酸化亢進及び I κ B の減少 (分解)は観察されなかった。

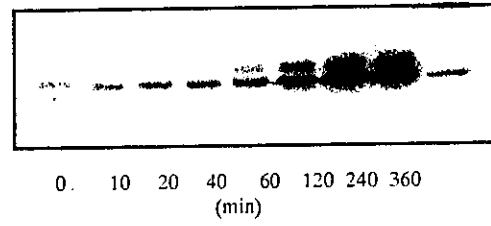
次に、このような MCLR によるラット肝細胞のシグナル伝達の攪乱が遺伝子発現に及ぼす影響を明らかにするために、スライドガラス上に 1081 遺伝子がスポットされた AtlasTM Glass Rat 1.0 Microarray を用いて遺伝子発現解析を行った。20 nM MCLR 曝露および未処理肝細胞から得られた試料について競合ハイブリダイゼーションを行った結果、図 3.4 に示した画像データが得られた。この写真の中で、緑色のスポットが MCLR 曝露によって発現量の増加した遺伝子、赤色のスポットが発現量の低下した遺伝子を示している。この画像から各スポットの蛍光強度を定量し、Global Normalization 法により正規化したデータを Scatter Plot したものが図 3.5 である。図中の橙色の線は未処理肝細胞と MCLR 処理肝細胞の間で発現量が 2 倍、赤色の線は発現量が 3 倍異なる場合に相当することを示したものである。表 3.1 および表 3.2 にまとめたように、MCLR 曝露によって 13 種類の遺伝子の発現量が 3 倍以上増加し、逆に 10 種類の遺伝子の発現量が 1/3 以下に減少することが明らかになった。今後、発がんプロモーションをはじめとする MCLR の生体影響においてこれらの遺伝子が果たす役割を明らかにすることにより、MCLR の生体影響のメカニズムを遺伝子レベルで解明することが可能になると考えられる。

Phospho-ERK1/2

20 nM MCLR

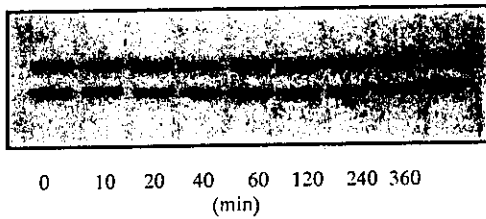


100 nM MCLR



Phospho-SAPK/JNK

20 nM MCLR



100 nM MCLR

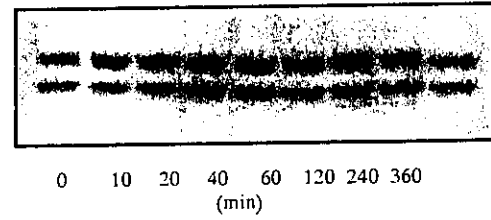
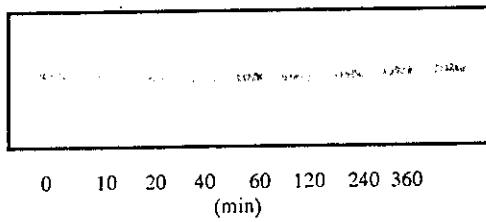


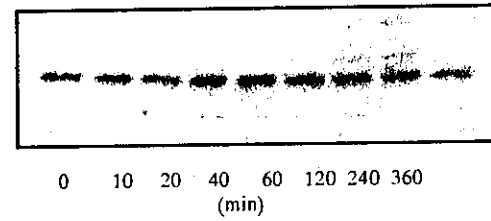
図 3.1 ラット肝細胞の ERK1/2 および SAPK/JNK シグナル伝達系に対する MCLR の影響

Phospho-IκB

20 nM MCLR

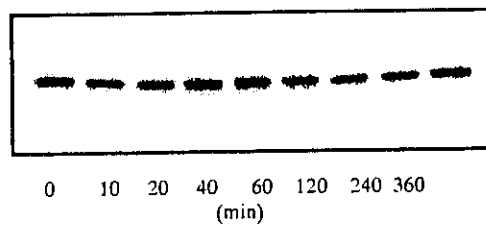


100 nM MCLR



IκB

20 nM MCLR



100 nM MCLR

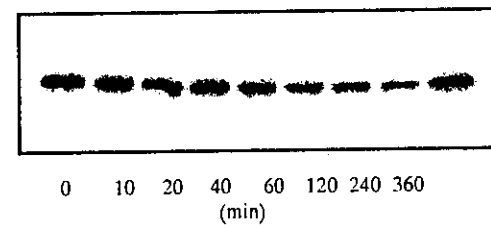


図 3.2 ラット肝細胞の IκB シグナル伝達系に対する MCLR の影響

Phospho-STAT1

20 nM MCLR



0 10 20 40 60 120 240 360
(min)

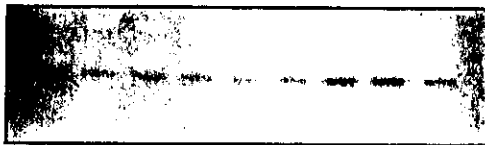
100 nM MCLR



0 10 20 40 60 120 240 360
(min)

Phospho-STAT3

20 nM MCLR



0 10 20 40 60 120 240 360
(min)

100 nM MCLR



0 10 20 40 60 120 240 360
(min)

図 3.3 ラット肝細胞の STAT シグナル伝達系に対する MCLR の影響

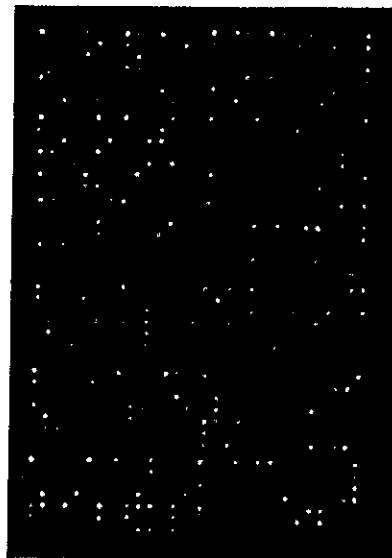


図 3.4 cDNA Microarray による MCLR (20 nM) 曝露ラット肝細胞の遺伝子発現解析

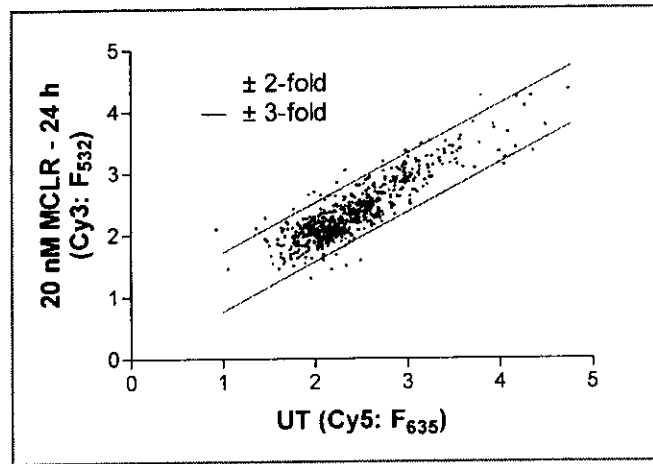


図 3.5 MCLR (20 nM)曝露ラット肝細胞で発現量に変化する遺伝子の Scatter Plot 解析

表 3.1 MCLR (20 nM)曝露によって発現量が 3 倍以上増加した遺伝子

Name	Fold
BST-1; bone marrow stromal antigen 1; lymphocyte differentiation antigen CD38; ADP-ribosyl cyclase 2	11.4
ATPase, copper-transporting, Menkes protein	5.78
Gastrin	5.61
voltage-dependent L-type calcium channel alpha 1C subunit (CACNA1); cardiac muscle L-type calcium channel alpha 1 polypeptide isoform 1 (CCHL1A1); rat brain class C (RBC); CACH2; CACN2	5.14
G protein, gamma 5 subunit	4.96
cytochrome P450 IVA8 (CYP4A8); P450-KP1; P450-PP1	4.85
tissue-type plasminogen activator (t-PA)	4.21
protein kinase C delta type (PKC-delta; PRKCD; PKCD)	4.20
SHPS-1 receptor-like protein with SH2 binding site	4.16
synaptobrevin 2 (SYB2); vesicle-associated membrane protein 2 (VAMP2)	3.85
ADP-ribosylation factor 2	3.29
multidrug resistance protein (MDR1); P-glycoprotein (PGY1)	3.11
Rgs4; regulator of G-protein signaling 4 (RGP4)	3.06

表 3.2 MCLR 曝露 (20 nM)によって発現量が 1/3 以下に減少した遺伝子

Name	Fold
cannabinoid receptor 1 (CNR1); SKR6R	0.138
gonadotropin-releasing hormone receptor (GNRHR)	0.156
interferon-induced protein	0.164
ADP ribosylation factor 5 (ARF5)	0.189
muscarinic acetylcholine receptor M2	0.190
sodium channel protein 6 (SCP6)	0.216
vasopressin V1B receptor (AVPR1B)	0.281
interleukin 18 (IL18); interferon gamma-inducing factor (IFN-gamma-inducing factor; IGIF); interleukin 1 gamma (IL1-gamma)	0.295
brain sodium channel 2	0.319
ras-related protein RAB1A	0.322

Toxic Cyanobacteria in Water 文献抄録

**A guide to their public health consequences,
Monitoring and management**

**Edited by Ingrid Chorus and Jamie Bartram
WHO, 1999**

第1章 はじめに

国立公衆衛生院 秋葉道宏

貯水池における藍藻類の異常増殖が水道に深刻な問題を引き起こす。なかでも毒素を産生する種の出現は、内湾と同様に全世界の汚染された陸水域において見受けられることから、藍藻毒、あるいは“シアノトキシン”が、ヒトの健康の関心事となった。

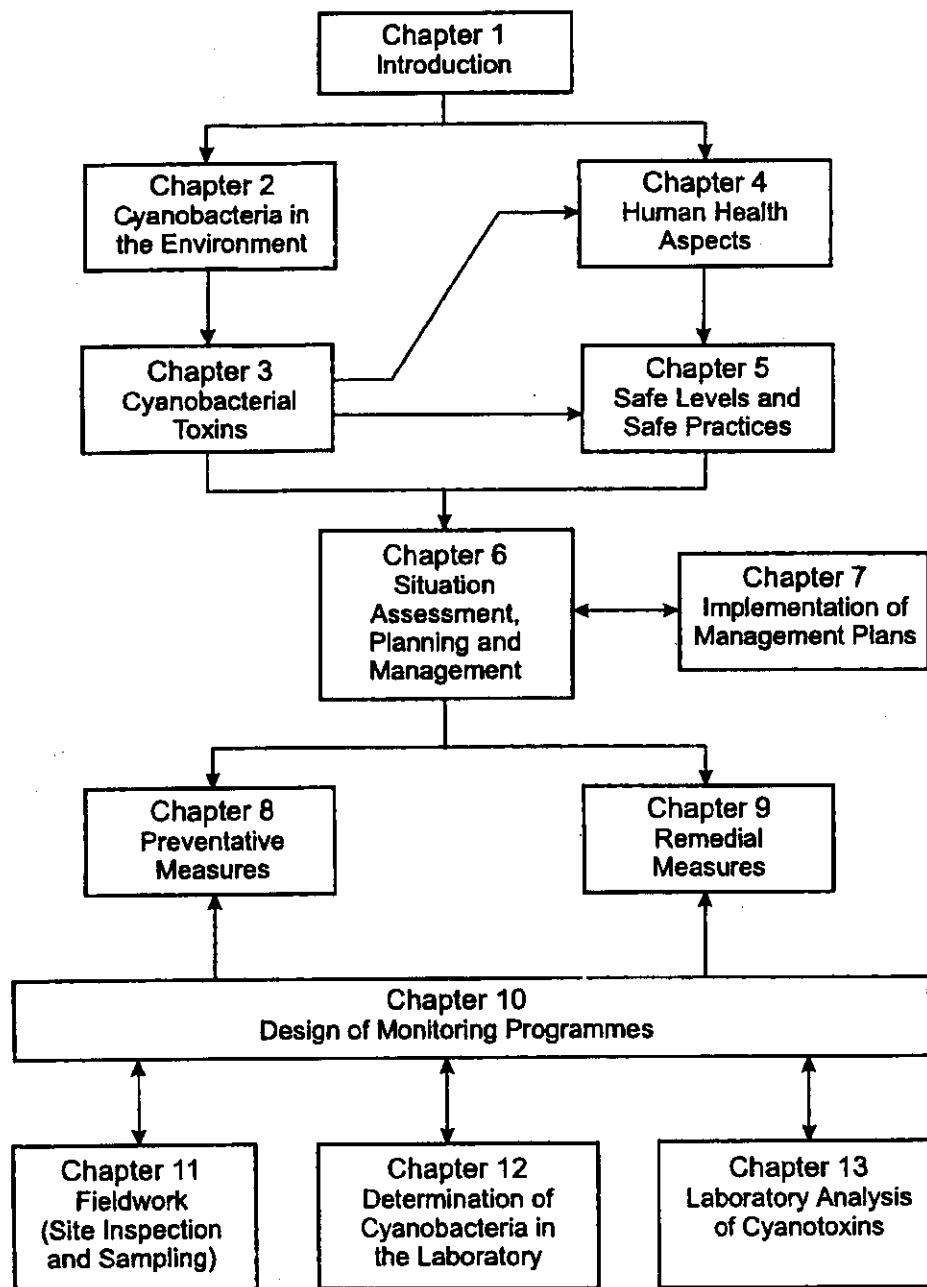


図-1.1 本書の全体構成と各章の項目との関係

藍藻毒による被害の記載は、1878年、Francisが家畜の急性中毒の被害を科学誌に発表したものが最初である。しかしそれ以前、藍藻毒による被害は逸話として広く伝えられていた。最も古い逸話の1つとして、中国の漢時代のものがある。約一千年前、Zhu Ge-Lings 将軍は、中国の南方において、軍事行動で河を渡る間に中毒により兵隊を失った。そのとき、河の水は緑色で、その水を兵隊が飲んだことによると言い伝えられた。

昨今、数人の研究者は、水面に水の華のスカムが形成されている水の対策として、沿岸の地面に穴を掘って、そこに水を通してろ過し、飲料水の水の華汚染を防止行っている中国、アフリカ、北・南アメリカ、オーストラリアの地元の人々に注目している。この試みは、“bankside filtration”技術として知られており、表層水から生物や数種の化学物質の除去するために土壌のろ過能力を利用する方法である。

本書は、藍藻毒の分野での実務的指引きとして、あるいは基礎知識の情報を与えることを目的にまとめられたものである。本書の全体構成と各章の項目との関係を図1.1に示す。第2、3章は環境のなかでの藍藻類の挙動、それらの毒素産生を理解するための基礎知識を述べている。第4章はヒトに対する健康影響に関して、公衆衛生の専門家が国内のガイドラインの制定、あるいは研究者がこの分野での研究の必要性を認識して取り組むための証拠を挙げている。第5～7章は飲料水の供給やレクリエーション地の計画・管理が確実に実施されるためのガイダンスを述べている。藍藻類の増殖の制御、あるいは浄水場でのそれらの除去に関して疑問のある読者は第8、9章が参考になる。モニタリングプログラムの計画・実施をする上でのガイダンスは、第10章で述べている。第11～13章は藍藻類の異常増殖が引き起こされる条件や毒素をモニタリングするための現場や実験室での手法について述べる。本書は、可能な限り各章で内容が完結するように書かれている。しかしながら、各章で相互参照して利用することもできる(図1.1)。特に、第10～13章は相互参照することを勧める。

第2章 環境のなかの藍藻類

国立公衆衛生院 秋葉道宏

2.1 発生的特質と多様性

2.1.1 分類

藻類学者が植物学の学名命名法に関する国際規約(ICBN)をもとに調査すると、微小藻類は真核と原核細胞型の両方に含まれる。その中で、藍藻類(blue-green algae)は原核細胞型の最も大きい群を構成している。一方で、原核と真核生物とは非常に密接な関係があることから、細菌学の学名命名法に関する国際規約(ICNB)でもとり扱われた。今日、一般的な分類学上の見解ではシアノバクテリア(cyanobacteria)の遺伝子構造の比較研究が進展することにより、分類の修正に貢献するであろう。適切な分類は、系統分類の関係(例えば、16Sあるいは23S rRNAの配列構造情報を記号化する)が可能な限り密接に反映されるべきである。表現型の統合、遺伝子型と系統情報は、polyphasic分類学として知られている分類上の同意型の判断に役立つ。“シアノバクテリア”と“藍藻類”の両方の名は根拠が確かで矛盾のない分類学上の用語である。微生物の中で、この群は光化学系IとIIに関連したクロロフィル a をもち、酸素—光合成を行う多細胞の原始核をもつ単細胞が含まれる。

2.1.2 自然界での発生

藍藻類の多くの種は、好気性—光合成無機栄養生物である。ライフプロセスでは、水、二酸化炭素、無機物質、光を必要とする。光合成は、最も重要な代謝作用である。しかし、いくつかの種は、自然環境で光が全くなくとも長い期間生息できることが知られている。

2.1.3 組織、機能と挙動

藍藻類の構造と組織は、光源と電子顕微鏡を用いて調べる。基本的な形態は単細胞、群体、多細胞の糸状体の形状を含む。藍藻類は、光合成器官で2種類の反応中枢、PS IとPS IIをもつ酸素—光合成生物である。

藍藻類は、細胞質の中に不可欠な栄養素と代謝物質をたくわえる注目に値する能力を持っている。藍藻類の多くの種はガス胞を備えている。ガス胞は、円筒状の構造であり、浮力調節を可能にする細胞質含有物である。その機能は、水柱に鉛直の位置の調節を可能にし、浮遊性の種には生態学的に重要なメカニズムを与えられている。藍藻類は、このような浮力調節によって、物理・化学的因子の鉛直勾配の中でバランスを保つことができる。

2.1.4 生物学的多様性

藍藻類は、おそらく真核生物の出現の約20億年前に生物群として発生したが、真核微小藻類より少ない分類群を構成する。しかしながら、藍藻類の種は、明確な境界線を持っていない。位置は有性生殖以外、ほとんどの生物と類似している。藍藻類の多様性は、細胞形態の構造、機能の外観及び変異、代謝、運動性、細胞分裂、発生生物学などで調べることができる。藍藻類による細胞外物質と藍藻毒の産生は、多様な自然界での他の生物との相互影響(遠隔作用など)によるとされている。

2.1.5 実地範囲

ヒトの見地から判断すると、藍藻類は有益と有害との両面性をもっている。それらの広範囲の増殖は、水を不快、有毒にする原因物質を水中に放出し、陸水の管理(水道、レクリエーション、釣りなど)のために多くの損害をもたらす。藍藻類が集積した個体群による水質問題は、ヒトの健康

と経済に様々な影響を及ぼす。その結果として、藍藻類のマイナス面は研究の注目度と社会問題化を増大させた。

2.2 ブルーム形成の影響因子

2.2.1 光強度

藍藻類 (cyanobacteria) は、藻類と同様に光合成を行うために光を吸収する主要な色素としてクロロフィルaを含んでいる。その他の色素として、アロフィコシアニン (青色)、フィコシアニン (青色)、フィコエリスリン (赤色) を含有するフィコビリ蛋白質も含まれている。これらの色素は、他の植物プランクトン種ではほとんど使用されないスペクトル (500-650nm) の一部の緑、黄、オレンジの光を吸収する。多くの藍藻類は、高い光強度の連続的な照射で感度がよい。

光強度 $180 \mu\text{Em}^2 \text{s}^{-1}$ 以上で連続照射されると、*Planktothrix agardhii* (*Oscillatoria*) の増殖が抑制される。光強度 $320 \mu\text{Em}^2 \text{s}^{-1}$ での長期間の連続照射が多くの種にとって致死的である。しかしながら、もし間欠的にこの高い光強度で照射されるなら、藍藻類は最大速度で増殖する。

2.2.2 ガス胞

多くの浮遊性藍藻類は、ガス胞を含んでいる。ガス胞の構造はガス入りの小胞が集まったもので、外部表面が親水性で、内部表面が疎水性の中空の小室である。ガス胞は水の密度の約 10 分の 1 であり、そのため藍藻類細胞を水より小さい密度に維持することができる。

2.2.3 増殖速度

藍藻類の増殖速度は、一般に他の藻類種より非常に小さい。20°C、光の連続照射の条件下での各藻類の増殖速度は、最も一般的な浮遊性藍藻類が 0.3-1.4 (d^{-1})、珪藻類が 0.8-1.9 (d^{-1})、単細胞の緑藻類が 1.3-2.3 (d^{-1}) であった。藍藻類のブルームの形成は、小さい増殖速度であるために長い滞留時間を必要とする。従って、藍藻類は短い滞留時間の水域ではブルームを形成しない。

2.2.4 リンと窒素

藍藻類のブルームが富栄養湖で頻繁に発生するには、高濃度のリンと窒素が必要であると初から仮定されていた。溶解性リン酸塩の濃度が最も低かったとき、藍藻類のブルームが頻繁に発生したが、この仮定は支持された。実験データから、藍藻類は他の多くの光合成生物より高濃度の窒素、リンが必要であることが明らかにされている。このことは、多くの藍藻類に共通した点であり、リン、窒素制限の条件下で、藍藻類が他の光合成生物と競合しないことを示唆している。

2.2.5 個体群の安定性

多くの浮遊性藻類がカイアシ類、ミジンコ類及び原虫類によって捕食されるのに対して、藍藻類は同程度には捕食されない。しかしながら、藍藻類はウイルス、細菌及び放線菌によって攻撃されることが知られている。しかし、個体群の消失に係わるこれらの天敵の重要性はよく理解されない。

通常、藍藻類の多くの種は天敵が存在しないこと、浮力調節能力が沈降を妨げることから、藍藻類個体群の消失速度は低い。藍藻類が定着し、個体群が優占種となることによって、小さな増殖速度の埋め合わせがなされる。

2.2.6 温度

藍藻類は 25°C 以上で最大増殖速度に達する。最適な温度は、緑藻類、珪藻類よりも高い。これは、北方の水域では温かな夏季に藍藻類のブルーム形成が最も多いことから説明できる。

2.3 藍藻類の"ecostrategists"

2.3.1 スカムを形成する"ecostrategists"

植物の生長期に、藍藻類は水柱で均一に分散されない球状細胞、あるいは糸状体の集合体（群体）を発生させる。この発生で見られる重要な属は *Microcystis*、*Anabaena* 及び *Aphanizomenon* である。水表面における群体の光合成速度は高く、細胞は炭水化物の多くの量を蓄える。細胞はガス泡を含有しているが、重い炭水化物はバラストとして作用し、群体内で沈下することを促す。夜間に、すべての群体は浮揚性になり、個体群のいくらかが風と共に風下の岸に沿って安定したスカムを形成し、水表面に集積される。

2.3.2 均一に分散した”ecostrategists”

この生態型は、*Planktothrix agardhii* (*Oscillatoria*) と *Limnothrix redekei* (*Oscillatoria*) のような糸状性の種が含まれる。これらの種は、高い光強度に非常に感度がよく、群体を形成しない。糸状体が非常に小さいため、浮力調節による鉛直方向への移動はあまり活発ではない。そのため、これらの種は表水層中いたるところで均一に分散される。

2.3.3 成層の”ecostrategists”

この生態型の代表者は、温度成層に分かれた湖、貯水池の中間の層（変水層）で、成層が安定した夏に個体群を発生させる。

この生物は、緑の光を吸収するため赤い色素フィコエリトリンを含有し、それはこの深度において一般的な波長である。これらの種の最も一般的なものは *Planktothrix rubescens* (*Oscillatoria*) である。しかし、他の *Planktothrix* 種も同様に変水層に個体群を形成することができる。

2.3.4 窒素固定の”ecostrategists”

大気中の窒素の固定能力を有する種 (*Anabaena*、*Aphanizomenon*、*Cylindrospermopsis*、*Nodularia*、*Nostoc*) の大量発生は、周期的な窒素制限と関係がある。その例として、水域内が深くても浅くてもこれらの種が現存する。しかしながら、これらの”ecostrategists”は、多くの場合、溶解性無機態窒素が低いレベルでも優占種となるが、その逆は必ずしも適用されない。明確な窒素制限である多くの湖でも、窒素固定の藍藻類が優占種とならない。

2.3.5 小さく、群体を形成する藍藻類の分類群

小さく、群体を形成する属 *Aphanothece* が多くの個体群の原因であると報告された。数少ない情報では、種によっては浮力調節とスカム形成を行う。いくつかの水域では、*Planktothrix rubescens* 個体群が減少のあとに *Aphanothece* が優占種となることが多い。

2.3.6 底生藍藻類

浮遊性”ecostrategists”の他に、光が底泥表面に透過できるほど透明度の高い水域では、底泥上に藍藻類が増殖することが知られている。底生種は底泥表面に密着性のマットを形成する。有毒な藍藻類のモニタリングとマネージメントを実施する場合、清澄な貧栄養湖では藍藻毒問題は一般に予想されない。このため、底生藍藻類の認識が重要である。具体例としては、有毒な底生藍藻類による動物死が報告されている。スコットランドでは、清澄な湖の岸に沿ってうち上げられたマットを食べた犬が犠牲となった。また、スイスでは有毒な底生藍藻類 *Oscillatoria limosa* の個体群を含有する清澄な山地湖水を牛が摂取したことによった。

第3章 藍藻毒素

神野透人、香川聡子 (国立医薬品食品衛生研究所)

3.1 分類

藍藻毒素はその化学構造から大まかに3種類 (環状ペプチド、アルカロイド及びリポポリサッカライド) に分類される (表-3.1)。

表-3.1 藍藻毒素の一般的な特徴

毒素の分類	主要な標的臓器	毒素を産生する藍藻属
環状ペプチド		
Microcystin 類	肝臓	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix</i> (<i>Oscillatoria</i>), <i>Nostoc</i> , <i>Hpalosiphon</i> , <i>Anabaenopsis</i>
Nodularin	肝臓	<i>Nodularia</i>
アルカロイド		
Anatoxin-a	神経シナプス	<i>Anabaena</i> , <i>Planktothrix</i> (<i>Oscillatoria</i>), <i>Aphanizomenon</i>
Anatoxin-a(S)	神経シナプス	<i>Anabaena</i>
Aplysiatoxin 類	皮膚	<i>Lyngbya</i> , <i>Schizothrix</i> , <i>Planktothrix</i> (<i>Oscillatoria</i>)
Cylindrospermopsin 類	肝臓	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Umezakia</i>
Lyngbyatoxin-a	皮膚及び胃腸管	<i>Lyngbya</i>
Saxitoxin 類	神経軸索	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i>
リポポリサッカライド		
	曝露した全ての組織 で強い刺激作用	全て

3.1.1 環状ペプチド肝毒素 - microcystin 及び nodularin

microcystin は図-3.1 (A)、nodularin は図-3.1(B)に示した構造をもつ環状ペプチドである。microcystin では7個のアミノ酸全てについて構造が異なる変種が合計で約60種類報告されているが、L-アミノ酸 (②と④)の置換及びアミノ酸 (③と⑦)の脱メチル化した変種が最も多い。一方、nodularin については2-3種類の変種が見出されているのみである。これらの変種の中で、Addaのdieneが6(E)から6(Z)に異性化したmicrocystin及びnodularinには肝毒性は認められない。

3.1.2 神経毒アルカロイド - anatoxin 及び saxitoxin

図3-2に示したように、anatoxin-aは2級アミンをもつ低分子 (MW=165)のアルカロイドである。homoanatoxin-a (MW=179)はanatoxin-aのC2のacetyl基がpropionyl基に変化した構造類自体である。

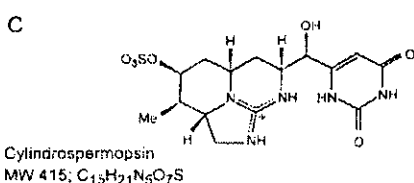
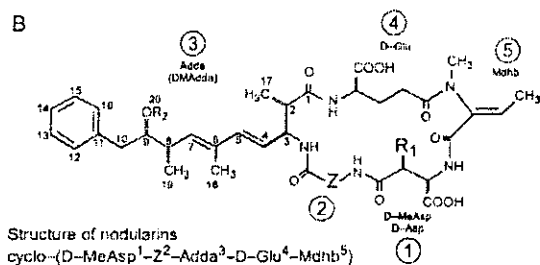
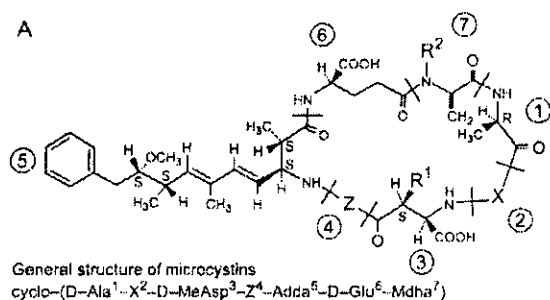


図-3.1 環状ペプチド毒素及び cylindrospermopsin の構造

- A. microcystin類の一般的な化学構造
 B. nodularin類の一般的な化学構造
 C. cylindrospermopsinの化学構造

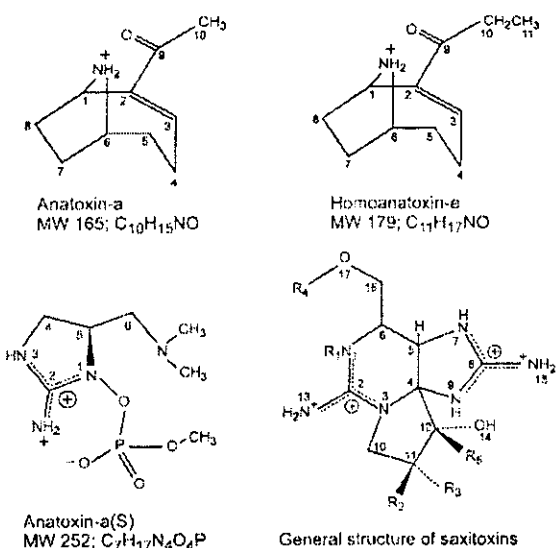


図-3.2 藍藻類が産生する神経毒 anatoxin-a、homoanatoxin-a、anatoxin-a(S)の化学構造及び saxitoxin 類の一般構造

anatoxin-a及びhomoanatoxin-aのLD₅₀は200-250 µg kg⁻¹体重である。

anatoxin-a(S)は独特な化学構造をもつ環状 N-hydroxyguanine のリン酸エステル (図-3.2)で、マウスに腹腔内投与した場合の LD₅₀ は 20 µg kg⁻¹体重である。

Saxitoxin (図-3.2)は一群の carbamate アルカロイド神経毒であり、硫酸エステルを含まないもの (saxitoxin)、1 個の硫酸エステルが存在するもの (gonyautoxin)及び 2 個存在するもの (C-toxin)がある。さらに、carbamoyl 基が脱離した変種や数個の新規毒素が同定されている。

3.1.3 細胞毒アルカロイド

cylindrospermopsin (図 -3.1(C)) は *Cylindrospermopsis raciborskii*、*Umezakia natans* 及び *Aphanizomenon ovalisporum* が産生する分子量415の環状 guanidine アルカロイドである。*Cylindrospermopsis raciborskii*の粗抽出物をマウスに経口投与すると肝臓の他に腎臓、脾臓、胸腺及び心臓でも病変が認められるが、純粋な cylindrospermopsin は主として肝臓に影響を及ぼす。マウスに腹腔内投与した場合の LD₅₀ は 2.1 mg kg⁻¹体重 (24 時間)-0.2 mg kg⁻¹体重 (5-6 日間) である。最近、Australia の *Cylindrospermopsis raciborskii* 株から demethoxy 体を含む cylindrospermopsin の新たな変種が単離された。

3.1.4 皮膚毒アルカロイド - aplysiatoxin 及び lyngbyatoxin

aplysiatoxin 及び debromoaplysiatoxin は *Lyngbya*、*Oscillatoria*、*Schizothrix* 等の附着性海洋藍藻類が産生する炎症誘発物質であり、

protein kinase C を活性化する強力な発がんプロモーターである (図-3.3)。別の *Lyngbya majuscula* 株にも皮膚及び胃腸管の炎症を起こすものがあり、その原因物質として lyngbyatoxin-a が同定されている。

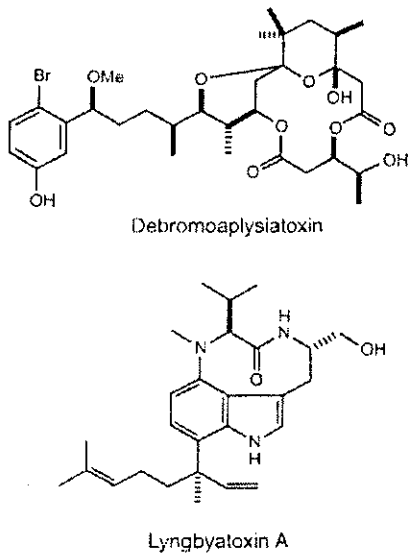


図-3.3 debromoaplysiatoxin 及び lyngbyatoxin の化学構造

3.1.5 刺激性毒素 — lipopolysaccharide

lipopolysaccharide は糖 (通常は 6 炭糖) と脂質 (C₁₄-C₁₈ の水酸化脂肪酸) が縮合したものであり、藍藻類を含むグラム陰性細菌細胞壁の構成成分である。lipopolysaccharide は人間や動物で刺激性及びアレルギー性の応答を引き起こすが、藍藻類の lipopolysaccharide は *Salmonella* 等の病原性グラム陰性細菌のものと比較するとはるかに作用が弱い。

3.1.6 その他の生理活性物質

藍藻類の中には抗がん作用や抗ウイルス作用等をもつ物質を産生するものもあり、医学的に有用な物質の資源としても興味をもたれている。

3.2 藍藻毒素の出現

3.2.1 有毒藍藻の発生

肝毒性をもつ水の華の方が神経毒性のあるものよりも世界中で普遍的に見出されており、藍藻試料の分析が行われたほとんど全ての地域、国で肝毒性をもつ水の華が報告がされている。一方、North America、Europe、Australia の幾つかの国々では神経毒のある水の華も普遍的にみられ、動物の中毒事故も発生している。Australia、日本、Israel、Hungary では cylindrospermopsin (及びこれに関連すると考えられる藍藻毒素) に起因する肝臓障害や腎臓障害を引き起こした水の華の報告もある。

3.2.2 有毒な水の華を構成する藍藻種の組成及びその変動

肝毒性をもつ水の華と最も頻繁に関連づけられる藍藻種は *Microcystis* sp. (通常は *Microcystis aeruginosa*) である。*Microcystis viridis* 及び *Microcystis botrys* も microcystin を産生することが明らかになっている。Canada、Denmark、Finland、France および Norway では microcystin を産生する *Anabaena* sp. の存在が報告されている。北半球では *Planktothrix (Oscillatoria) agardhii* 及び *Planktothrix (Oscillatoria) rubescens* も一般的な microcystin 産生種である。Swiss の山岳地域の湖沼では底質や岩に付着して増殖する *Oscillatoria limosa* が microcystin を産生する。Australia でも水の華が広範に発生するが、*Oscillatoria* による水の華は希である。未同定の *Nostoc* 株にも microcystin を産生するものがある。Australia や Hungary では *Cylindrospermopsis raciborskii* が、日本では *Umezakia natans*、Israel では *Aphanizomenon ovalisporum* が cylindrospermopsin を産生することが明らかになっている。神経毒 anatoxin-a を産生する