



技術情報

VOL.13 NO. 2 1989

淡水産有毒藍藻と毒成分について

はじめに

近年琵琶湖をはじめ全国の多くの湖沼では富栄養化が進み、淡水赤潮 (red tide)あるいは水の華 (water bloom)と呼ばれる藻類の異常増殖現象により上水障害、水産被害、景観の悪化など種々の弊害が起き大きな社会問題となっている。

このような赤潮を形成する藻類には有毒物質や不快臭を有する物質を生成する種類が報告されていて、より安全性の高い水環境の保全の面からこれらプランクトンに関する一層の研究が重要視されている。

そこで今回は、飲用水への影響が懸念される淡水産の有毒藍藻とその毒成分について紹介する。

表-1 有毒淡水産藍藻類

種名	I	II	III
<i>Anabaena catenula</i>			○
<i>A. circinalis</i>	○	○	○
<i>A. cylindrica</i>			○
<i>A. flos-aquae</i>	○	○	○
<i>A. Lemmermanni</i>	○	○	
<i>A. spiroides</i>		○	
<i>A. torulosa</i>	○	○	
<i>A. variable</i>			○
<i>A. venenosa</i>	○	○	
<i>Anacystis montana</i>			○
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	○	○	○
<i>Clyndropermopsis raciborskii</i>	○	○	
<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i>	○	○	
<i>Coelosphaerium</i> sp.			○
<i>Gloeotrichia pisum</i>	○	○	
<i>Microcystis aeruginosa</i>	○	○	○
<i>M. viridis</i>		○	○
<i>Nodularia spumigera</i>	○	○	
<i>Nostoc ellipsosporum</i>			○
<i>N. rivulare</i>	○	○	
<i>Oscillatoria agardhii</i>		○	
<i>Synechocystis</i> sp.			○

I : 動物に被害を与えたとされているもの。

II : 野外の試料で毒性が確認されているもの。

III : 培養した藻体で毒性が確認されているもの。

(注) 渡辺らに加筆

1 カビ臭

河川や湖沼を上水道水源としているわが国では、それら湖沼の富栄養化にともなって水道水のカビ臭が急増している。その被害は1,800万人以上にものぼり琵琶湖をはじめ水源貯水池の半数にも及んでいるため、各自治体ではその防除対策に多大の労苦を払っている。

愛知県でも三河湖(羽布ダム)で昭和54年より数年に一度カビ臭が発生し下流域の飲用水に被害がでているため、翌55年より調査を実施している。

このカビ臭は藍藻 *Phormidium tenue* の産生するテルペノイド化合物 2-methylisoborneol (2-MIB) (1)および *Anabaena macrospora* の geosmin (2)で、この2種の藍藻がわが国でのカビ臭の主原因プランクトンである。三河湖のカビ臭発生もこの2種によることを明らかにした。さらに近年琵琶湖では両種に加えて *Oscillatoria tenuis* (2-MIBを産生)も原因藻であることが判明した。カビ臭を産生する藍藻は多くの種類に見つかっているが、飲用水に被害の出ている藍藻はいずれも浮遊性の種類である。

2-MIB, geosmin の毒性に関しては、試験魚アカヒレを用いた実験で1~0.05mg/lという高濃度(これは通常の水域で測定されるカビ臭物質の 10^{4-6} 倍)添加でも生存が観察され、少なくとも急性毒性はないことが示された。また *Salmonella typhimurium* Strain TA100, TA1537 を用いた Ames 試験においても、変異原性は認められなかったことが明らかにされている。

しかしカビ臭は、0.01 ppb という極微量の濃度でも臭気が感知されるだけにその防除はやっかいである。緩速汚過では除去できるが現行の急速汚過ではほとんど除去できない。そのためカビ臭発生時には、上水施設では粉末活性炭投入などが行

われているが完全には除去できない。最近上水の高速処理技術の一つとして注目されているオゾン処理で分解できることが示されて、大阪市水道局ではオゾンとGAC（粒状活性炭）を組合せた日量2,000 t規模の実証プラント設備で完全に除去できることを確かめている。

その他に *Microcystis* 属の発生する不快臭が最近明らかにされた。

アオコに代表される *Microcystis* 属は、いちだんと富栄養化が進んだ湖沼などに夏から秋にかけて大発生して水の華を形成する藍藻の一種である。アオコは、景観を損なうばかりでなく異常発生時には岸辺に打ち上げられて腐敗した藻体が悪臭を放ち周辺住民に問題となっている。

都衛生研究所の土屋らは、*M. aeruginosa* および *M. wesenbergii* 培養液からメルカプタン臭を発生する isopropyl mercaptane, isopropyl disulfide などの臭気物質を明らかにした。さらに本藻の発生している水域の水試料からも isopropyl mercaptane を得ている。

2 *Microcystis* の毒

近年諏訪湖、相模湖、霞ヶ浦、琵琶湖など主要な飲料水源池にまで *Microcystis* 属の水の華が発生するようになった。

Microcystis 属の毒性については諸外国は古くから知られていて、アオコ発生時にそれを含む水を飲んだ放牧中の家畜が多数死亡する例が報告されている。

その毒成分についてはいままで単離困難と構造複雑であったため未知であったが、1984年南アフリカの Botes らによって cyanoginosin (3) と呼ばれる環状ペプチドであることが明らかにされた。この毒成分は肝毒性ペプチドで、その後の各国の研究から構成アミノ酸の違いにより少なくとも6種類あることが判明した。

わが国での本藻の毒性については、1977年都衛研の渡辺らによって諏訪湖から採取した藻によるものが最初である。

日本の湖沼では現在3種の *Microcystis* 属が水の華構成種として知られているが、これらを調査した渡辺らは、*M. wesenbergii* は無毒、*M. aeruginosa* は有毒と無毒のものがあり、*M. viridis* は有毒であることを明らかにした。

この毒性については、*M. viridis* のマウスへの投与実験で本藻の水抽出物では、半数致死量 LD₅₀ は乾燥藻重量で腹腔内投与で50mg/kg、経口投与200 mg/kg、結晶化した成分では腹腔内投与で50 μg/kgとかなり毒性が高いことが示された。さらに20日間から1年間の連続投与実験によっても肝臓に著しい病変が見られ、慢性毒性のあることも示唆されている。

また *M. aeruginosa* の水抽出液の投与で死亡したマウスでは、肝臓は著しく肥大、赤黒色化し、病理組織学的にも肝細胞の間に赤血球の充満していることが認められた。

以上のように有毒アオコが大発生する湖沼では水道水への毒成分の混入が懸念されるが、国立公害研究所での調査で *M. viridis* の毒成分のうち cyanoviridin RR (cyanoginosin RR) は、原水の浄水処理過程での前塩素殺菌処理によって無毒化されることが確認された。従って水道水への危険性は極めて小さいといえるが、安全性については一層の検討がされねばならない。

なおその後の研究から肝毒性ペプチドは、水の華を形成する藍藻に比較的ひろい種類にわたって生成されていることが明らかになり、*Microcystis* 属のほか *Oscillatoria agardhi*, *O. rubescens*, *Anabaena flos-aquae*, *Nodularia spumigena* などから見つかっている。またオーストラリアでは、*Clyndrospermopsis raciborskii* の水の華発生時の貯水池から飲用水の補給を受けている地域住民に多数の肝炎が発症したという報告もある。

3 *Aphanizomenon flos-aquae* の毒

淡水産の藍藻 *Aphanizomenon flos-aquae* は、まひ性貝毒の毒成分 saxitoxin (STX) (4) および neosaxitoxin (neoSTX) (5) を産生することが明らかにされている。

まひ性貝毒は、毒化した魚介類を食することに起因する食中毒である。これは、海産の渦鞭毛藻 *Protogonyaulax* 属の産生する STX, neoSTX, gonyautoxin₁₋₅ (GTX₁₋₅) 等が毒性物質として明らかにされている。これら貝毒については技術情報 vol. 12 (1988) に奥村が解説しているので詳しくはそれを参照されたい。

米国やカナダの湖沼で *Aphanizomenon flos-aquae* による水の華発生時に家畜や水鳥のへい死、

魚類の大量死の被害が報告されているが、わが国では現在のところ被害は出ていない。

この毒性については、水の華形成時の乾燥藻体を添加した水でグッピーやブルーギルを飼育した結果、 4×10^5 cell/ml という濃度で死亡が観察された。これは自然状態でも充分におこりうる増殖数である。またマウスではLD₁₀₀は8mg/kgで呼吸が不規則となり、けいれんを起し最後には呼吸不全で死亡する。

この毒成分は、培養藻体から、次いで水の華の状態の藻体から単離されてSTXの他にaphantoxin 1-3と命名された類似の化合物も見出されている。

4 Anabaena flos-aquaeの毒

本藻による被害は、カナダ、米国、スウェーデン、オーストラリア等で起きている。カナダでは水の華の状態の細胞を摂取した家畜、犬、水鳥などの死亡例が1940年代よりたびたび報告されている。

Gorhamらは、水の華からマウスを1、2分で殺す抽出物を得、この毒成分は外囲水中に分泌される外毒素であることを確かめている。またCarmichaelらは、本藻無菌株の大量培養によって得た乾燥藻体を子牛、ラット、マウス、アヒル、金魚などに経口投与することにより、天然の水の華と同じ症状を起し数分ないし20分くらいで呼吸まひによって死亡することを観察している。マウスの典型的な症状は、歩行困難、筋肉けいれん、呼吸困難、カモの腓腹筋を用いた実験では神経の脱分極をブロックする作用があることが判明した。

この毒については、培養液ごと濃縮した凍結乾燥試料から塩酢酸性メタノールで抽出後シリカゲル薄層クロマトグラフィーなどの操作を経て単離され、anatoxin a(6)と命名された。この毒は結晶化されX線回折でも構造が決定されて2,9-diacetyl-9-azobicyclo[4,2,1]non-2,3-eneの環状構造をもつ塩基性のアミンであることが明らかにされた。

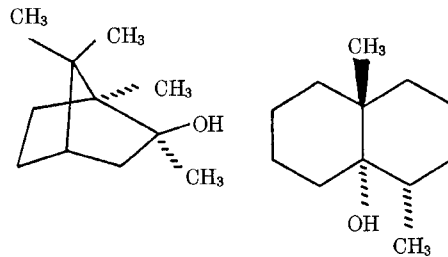
マウスに対するLD_{min}(i.p.)は、0.25mg/kgであること、また最近では株によって生存時間や症状に違いがみられることによりanatoxin aとは異なる毒(anatoxin b, c, d)の存在も予想されている。

Anabaena属の水の華はわが国でも各地で発生

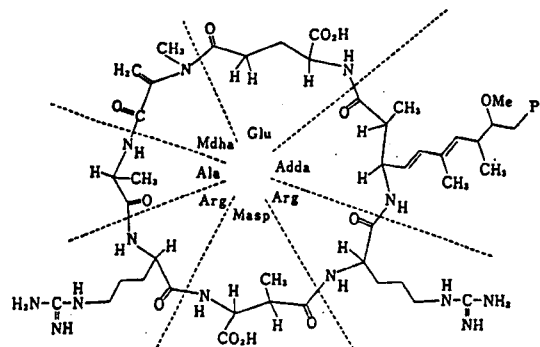
がみられることから今後一層の注意が必要である。

以上のように毒性の強い物質を産生する藻類が、飲料水原水である湖沼や貯水池に発生することはその利用上安全性の面で重大な問題であり、異常発生した場合には緊急に防除措置がとられねばならない。また富栄養化の防止とともにこれら藻類の異常増殖のメカニズムや生態学的調査、毒成分の産生機構など基礎的な研究が望まれる。

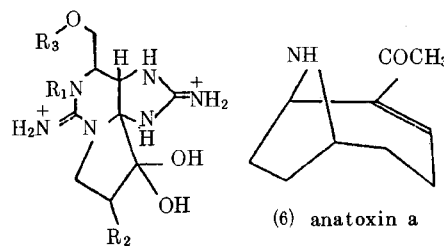
(生活環境部 山田直樹)



(1) 2-methylisoborneol (2) geosmin



(3) cyanoginosin RR
(cyanoviridin RR)



(4) STX : R₁=H R₂=H R₃=CONH₂

(5) neoSTX : R₁=OH R₂=H R₃=CONH₂

病理学のすすめ (IX)

— 病理組織標本の見方 6 —

昭和56年から技術情報に連載しておりますこのシリーズも今回で9回目になります。

保健所の食肉検査に携わる若い担当者の方々の参考にして頂くために、いろいろな病変の典型的な病理組織標本のカラーライドを年3回の病理研修会で各検査室に配布、解説をすると共に、この衛生研究所技術情報に写真を含めて病理標本の見方シリーズを連載してきております。

地味な努力ですが、本県では食肉検査のシステムが多く検査室に分かれていて他の県のように統一されていないので、研修会やこのようなテキストで勉強しあうことが大切かと考えます。

炎症-1~8(衛研技術情報 vol. 8, No. 4)、炎症-9~15(同 vol. 12, No. 4)、腫瘍-1~7(同 vol. 9, No. 1)、腫瘍-8~13(同 vol. 9, No. 3)、その他の病変-1~8(vol. 11, No. 2)の症例がこれまでに紹介されております。

今回は、腫瘍の続きを紹介いたします。

なお、症例の番号及び写真は必ずしも配布ライドのものとは一致していませんのであしからず御了承下さい。写真は出来るだけ典型的なもの、解りやすいものを選んでおります。

腫-14 腹膜中皮腫 mesothelioma

(423-58) ホルスタイン種、牝牛 7才

肉眼的に腹腔の漿膜面に数mm~2cm径の大きさの灰白色の腫瘍が一面に見られる。

組織像：脾臓の被膜外に、上皮様の性格を見せる腫瘍細胞の増殖と間葉系の細胞の増殖とが混在している。上皮様の性質を示す部分は、立方形の細胞が管腔を形成したり乳頭状の配列を示したりしている。(写真1a) 上皮様細胞と間質の紡錘形細胞との間には基底膜を持たず直接に移行している。(写真1b)

中胚葉由来の腹膜、胸膜などの組織に原発する腫瘍である。

腫-15 平滑筋肉腫 leiomyosarcoma

(463-59) 黒毛和種、牝牛 推定10才

肝臓は腫大(約40~50kg)し直径数cm~十数cm、円形~卵円形の赤褐色の柔らかい結節が肝表面および実質に密発している。剖面では肝実質との境界は明瞭である。

組織像：肝実質内に侵入して増殖している腫瘍細胞は、小型で短紡錘形の比較的均一な腫瘍細胞群からなっている。腫瘍細胞の核は淡明で、明瞭な核膜をもつが核小体は明らかでない。

細胞質は核に比してそれほど多くはない。それぞれの腫瘍細胞は一定の方向性を持って流れるように配列しており、平滑筋細胞由来を強く印象づけている。(写真2a) 核分裂像はしばしば見られ、細胞異型も見られるので、転移を伴うこととあいまって悪性腫瘍であることははっきりしている。(写真2b)

筋繊維由来の腫瘍では、核分裂像は染色体の配列が円盤状、あるいは太陽光線が放散するような格好をしていることが多い。

腫-16 卵巣癌 ovarial cancer

(423-58) (漿液性乳頭状嚢胞腺癌)

LW種、雌豚 3~4才

右側卵巣に卵円形の10cm×8cm大の腫瘍を認めた。厚い被膜に包まれ、剖面は乳白色リンパ節様で柔らかく、指で圧すと容易にくずれ被膜から剥離できる。

組織像：腫瘍の大半は、著しい乳頭状の増殖を示す腺上皮で占められているが、中には腺腔が嚢状に拡大する部分もみられる。(写真3a)

一見、肉眼的に被膜を有し異型性も少ないので良性腫瘍の段階に留まるかと思われるが、良く観察すると腺上皮細胞の多層化、細胞配列の異型が著しく、核分裂像もしばしばみられるので悪性のものであると見るべきだろう。(写真3b)

ムチンの存在の有無はH Eの段階でははっきりしないがここでは一応、漿液性嚢胞腺腫から癌化したものと考えたい。

腫-17 顆粒膜細胞腫 granulosa cell tu-

mor

卵巣の顆粒膜細胞から由来する腫瘍で、多彩な組織像を示す。

基本的には、腫瘍細胞は小円形～多角形で正常卵巣の顆粒膜細胞に類似している。核は類円形で比較的核膜、核網がはっきりしている。細胞質は比較的少ない。髄様或いは蜂巢状の配列をとるものが多いが、管腔状の形態を見るものもある。

しばしば正常の卵巣に見られるCall-Exner小体の出現を見る。

また、次の項に出てくる莢膜細胞腫と同系統の母細胞から発生すると考えられており、両者を同じ系列の腫瘍とする学者が多い。事実同じ腫瘍内に顆粒膜細胞類似の部分と莢膜細胞類似の部分を見ることが多い。

写真4～6には、顆粒膜細胞腫の様々な形のを示してある。

写真4 (666-61) 和牛牝 2才

肉眼像では左側卵巣が直径35cmの球状に腫大し、表面は厚い被膜で覆われ凹凸の隆起がある。剖面は髄様で赤褐色を呈し、出血が散在する。結合組織が樹枝状に腫瘍を分割している。

組織像：写真4に示すものは、腫瘍細胞の増殖が充実状に見られる髄様のタイプで、よく見ると細い間質結合組織で蜂巢状に区切られている。一部には索状の配列を取る部分も見られる。

写真5 (740-62) ホルスタイン牝牛 年令不明

肉眼的に右卵巣が21×17×7cmに腫大、表面は厚い被膜に覆われ凹凸不平。剖面は黄褐色充実性で厚い結合組織で大小様々に分割され、出血や嚢胞形成が見られている。

組織像：写真5は蜂巢状構造のはっきりしたタイプで、中央の部分には腺腔様の配列が見られる。

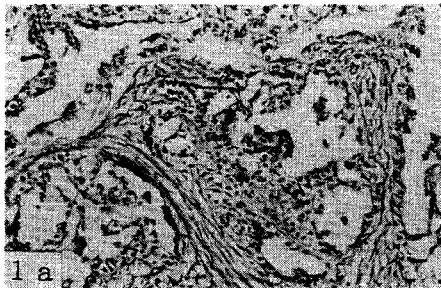


写真1a 腹膜中皮腫 (1b 同強拡大)

写真6 (599-60) ホルスタイン雑系、牝牛 4才

左子宮角に直径30cm大の球形の腫瘍があり、表面は滑沢で大小の血管が走っている。剖面は黄褐色で柔らかく弾力性に富む。

組織像：腫瘍細胞が卵胞を見るようなロゼット様、管腔様の配列をとり、その中央にはCall-Exner小体に似たエオジン好性の均質な物質が充満している。

腫-18 莢膜細胞腫 theca cell tumor

(742-62) ホルスタイン牝牛 5才

肉眼所見で左卵巣は18×20cmに腫大、剖面は黄白色～赤褐色を呈し分葉状。

組織像：短紡錘形の腫瘍細胞が流れを示して密に増殖している。繊維腫あるいは筋肉腫を思わせる像が大部分だが、所によっては顆粒膜細胞腫への移行を見せる部分があり、腫瘍細胞がロゼット様に集まっている。正常卵巣の莢膜細胞によく似ている。(写真7)

顆粒膜細胞腫と基本的には同一のものと考えられており、莢膜-顆粒膜細胞腫と呼ぶ人もある。

腫-19 精上皮腫 seminoma

(600-60) 豚、D系 雄 3才

肉眼像では精巣の白膜下に12×6×4cm大の腫瘤を認めた。腫瘤はウズラ卵～小鶏卵大の乳白色腫瘤の集合より成り、剖面は膨隆状、中央は嚢胞を形成し暗赤色泥状物を貯留している。

組織像：弱拡大では大小不揃いながら蜂巢状の構造を取っており、正常の蜂巢の組織によく似ている。(写真8a) 強拡大では、明るい胞体を持ち比較的大きさの揃った類円形～多角形の腫瘍細胞が蜂巢状に増殖している。(写真8b)

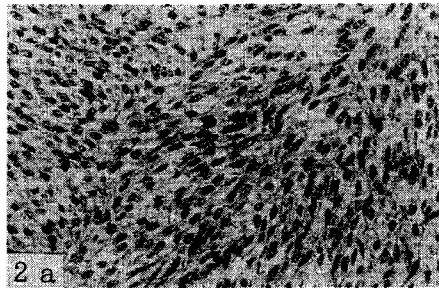


写真2a 平滑筋肉腫 (2b 同核分裂像)

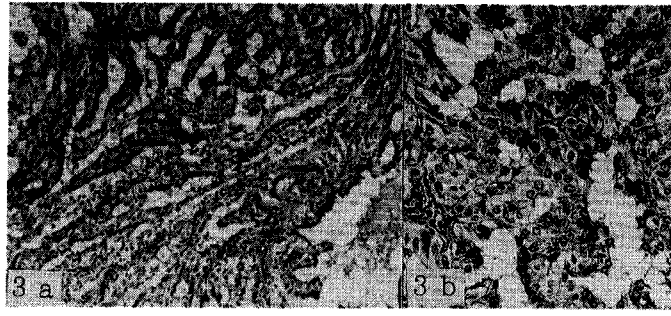
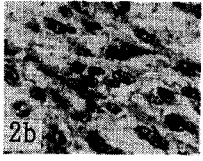
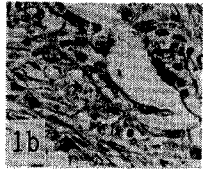


写真3a 卵巢乳頭狀腺瘤(3b 同強拡大)

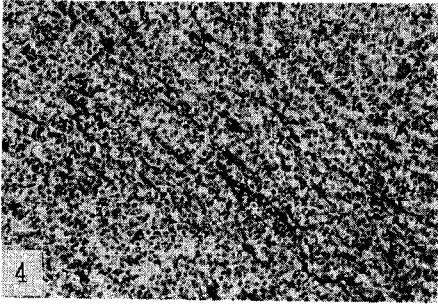


写真4 顆粒膜細胞腫(充実型)

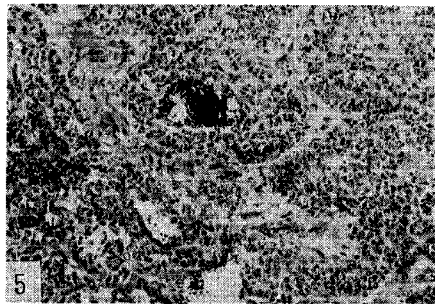


写真5 顆粒膜細胞腫(蜂巢型)

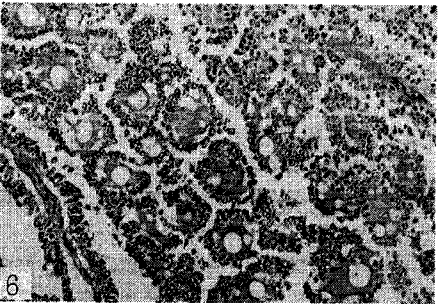


写真6 顆粒膜細胞腫(卵胞型)

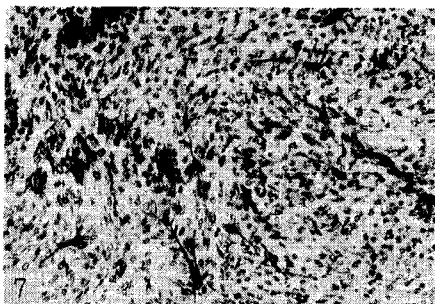


写真7 莖膜細胞腫



写真8a 精上皮腫(弱拡大)

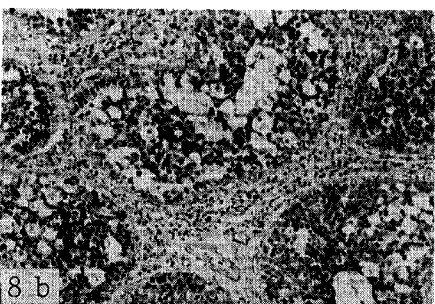


写真8b 精上皮腫(強拡大)

(研究監 伊藤正夫)