

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	船木 紘
審査委員	主査 足立 真佐雄 副査 多田 邦尚 副査 一見 和彦 副査 山口 晴生 副査 大林 由美子

### 論文名

本邦産のシガテラ中毒原因藻 *Gambierdiscus* 属の多様性と分布ならびに有毒種 *G. silvae* の生理

### 審査結果の要旨

南日本沿岸域を中心とした本邦沿岸域では、毒化した魚類を摂食することによって引き起こされるシガテラ中毒が散発的に発生し、食品衛生上の問題となっている。本中毒は、海藻附着性の渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属が産生する神経毒の1種であるシガトキシンに起因する可能性が指摘されている。従って、本邦沿岸域における本属藻類の発生種とその分布を網羅的に明らかにし、さらに発生種の毒性や増殖特性を解明することは、シガテラ中毒発生機構の解明に向けて重要な課題である。これまでに、本邦沿岸域の浅い水深(水深 < 3 m)の地点より本属藻類の細胞を単離することにより培養株が作製され、それらの分子系統解析を行うことにより、本属4種/系統型の発生が報告されている。また、近年沖縄県沿岸域の深い水深(水深 30 m)の地点にも、表層からは報告例が無かった本属種(*Gambierdiscus* cf. *silvae*)が発生することが報告されたが、深い水深における本属藻の種組成の詳細は不明である。この様に、本邦沿岸域における本属藻類の発生種の全容は未だ明らかにされていない。このような状況の下、沿岸域における本属発生種を解明する手法として、海外では試料中のDNA配列を網羅的に取得可能なメタバーコーディングが応用されているが、国内種については未検討である。また、前述した様に、我が国におけるシガテラ中毒発生機構の解明に向けて、本属発生種の全容解明に加えて、発生種の毒性や増殖特性を明らかにすることが重要である。国内の沿岸表層にて発生が報告された本属4種/系統型については、それらの検討が行われているが、国内の深い水深から発生が確認された *G. cf. silvae* については未検討である。

そこで本研究では、本邦沿岸域における本属藻類発生種の多様性とそれらの水平的かつ鉛直的な分布をメタバーコーディングにより網羅的に検討した。また、本邦産 *G. cf. silvae* 株について、その種同定を行った上で、マウス毒性ならびに環境因子がその増殖に及ぼす影響を検討した。

本研究の結果は次のように要約される。

- 1) メタバーコーディングによる本属藻類の多様性と水平的・鉛直的な分布  
沖縄県および高知県の水深 2-8 m および水深 30 m 地点から採取した海藻試料を用いて、そ

これらの 18S rDNA の V8-V9 領域の塩基配列に基づくメタバーコーディングを行った。その際、渦鞭毛藻を含む Alveolata の当該遺伝子配列を特異的に増幅するプライマーを新たに設計して、これを解析に供した。その結果、本邦沿岸域には既報の本属 5 種/系統型のみならず、本邦にて発生報告例の無い *G. caribaeus*、さらに新規な 4 系統型を見出した。これら本属 10 種/系統型のうち、4 種/系統型は亜熱帯域にのみ、1 系統型は温帯域にのみ、残りの 5 種/系統型はいずれの海域にも分布した。また、鉛直分布に関しては、5 種/系統型は浅い水深にのみ、2 系統型は深い水深にのみ、残りの 3 種/系統型はそのいずれにも分布した。従って、種/系統型により分布様式が異なることが示唆された。

## 2) *G. cf. silvae* 株の種同定

*G. cf. silvae* 株を用いて、光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡下にてその形態学的特徴を精査したところ、本株は海外産 *G. silvae* 株と同様の形態学的特徴を示した。さらに、本株の 28S rDNA の D8-D10 領域および 18S rDNA に基づく分子系統解析を行ったところ、本株は海外産 *G. silvae* と同じクレードに属した。従って本邦産株を、*G. silvae* と同定した。

## 3) *G. silvae* 株の毒性

腹腔内投与によるマウスバイオアッセイにより、本種は本邦産の本属他種の毒性と比較して 2 番目に強い毒性を示すことが判明した。さらに、経口投与によって本種は毒性を示すことが判明した。従って、本種は本邦沿岸域におけるシガテラ中毒の原因種として重要であることが示唆された。

## 4) *G. silvae* 株の増殖に及ぼす環境因子の影響

本種の発生予測に向けて、本種を様々な水温および塩分の組み合わせ条件下にて培養した。その結果、本種は 17.5-30°C、塩分 25.0-40.0 の条件下にて増殖した。さらに本種を様々な光強度条件下にて培養したところ、本種は本邦産 4 種/系統型よりも低い光条件下にて良好に増殖することが判明した。これらの増殖特性は、本邦沿岸域における本種の幅広い水平・鉛直分布と対応していると考えられる。

以上のように、本学位論文はシガテラ中毒の原因藻として重要な渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属の本邦沿岸域における発生種を網羅的に明らかにし、その水平・鉛直分布を明らかにした点で、さらにそれらの中で *G. silvae* はマウスに対して経口毒性を有すること、さらに本種の増殖至適水温・塩分・光条件を明らかにした点で、本邦におけるシガテラ中毒発生機構の一端の解明ならびにその対策への礎を築く成果を挙げたことが高く評価される。

学位論文公開審査会は令和 4 年 7 月 30 日、愛媛大学農学部において開催され、論文発表と質疑応答が行われた。引き続いて学位論文審査会を開いて慎重に審査した結果、本論文が博士（農学）の学位を授与するに値するものと審査委員全員一致で判定した。