

雪卡毒素及其产毒底栖甲藻的研究现状与展望

陈 荔^{1,2,3}, 吴佳俊^{1,2}, 王鹏斌^{4,5}

(1. 香港城市大学 海洋污染国家重点实验室, 香港 999077;

2. 香港城市大学 深圳研究院 海洋与人类健康研究中心深圳海洋生物多样性可持续利用重点实验室
深圳海洋生物多样性可持续利用重点实验室, 广东 深圳 518057;

3. 香港城市大学 生物医学系, 香港 999077;

4. 自然资源部第二海洋研究所 海洋生态系统动力学重点实验室, 浙江 杭州 310012;

5. 自然资源部第四海洋研究所 广西北部湾海洋资源环境与可持续发展重点实验室, 广西 北海 536000)

摘 要:雪卡毒素(Ciguatoxins, CTXs)是一种高度氧化的环状聚醚梯类毒素, 主要由冈比亚藻(*Gambierdiscus*)和福氏藻(*Fukuyoa*)两个属的底栖甲藻的一些产毒种类的株系产生。毒素通过海洋食物链在珊瑚礁鱼类中进行生物转化和积累, 可引起常见的非细菌性海产中毒——雪卡毒素中毒(Ciguatera Poisoning, CP), 食用被CTXs污染鱼类会引起消费者产生胃肠道、心血管、神经方面的症状甚至导致死亡, 但目前雪卡毒素中毒在全球引发的关注度与重视度不足。然而受全球气候变化和人类活动的影响, 底栖甲藻在全球扩张趋势明显, 特别是在亚洲地区, 雪卡毒素中毒事件频繁爆发, 雪卡毒素中毒对人类健康和生态系统健康构成了重大威胁。本文重点综述了产雪卡毒素底栖甲藻的种类多样性、化学多样性、生理生态学研究、以及毒素的生物合成机制与生物转化和累积方面的研究, 并探讨了亚洲地区作为雪卡毒素潜在的爆发地点未来值得研究的领域以更好地保障亚洲海域的生态安全及居民健康。

关键词:雪卡毒素中毒; 雪卡毒素; 底栖甲藻; 冈比亚藻

中图分类号: Q178

文献标志码: A

文章编号: 1671-6647(2022)04-0581-13

doi: 10.12362/j.issn.1671-6647.20220630002

引用格式:陈荔, 吴佳俊, 王鹏斌. 雪卡毒素及其产毒底栖甲藻的研究现状与展望[J]. 海洋科学进展, 2022, 40(4): 581-593. CHAN L, WU J J, WANG P B. A review on multidisciplinary research of ciguatoxin and toxin-producing benthic dinoflagellates[J]. Advances in Marine Science, 2022, 40(4): 581-593.

雪卡毒素中毒(Ciguatera Poisoning, CP)是由食用累积了雪卡毒素的珊瑚鱼引起的疾病, 是一个全球公共卫生问题, 可引起包括神经、胃肠道及心血管不适等在内的症状^[1-3]。雪卡毒素中毒是全球最普遍的非细菌性海产品相关疾病, 每年可影响超过 10% 的当地岛屿人口(约 25 000~500 000 人)^[4-5]。雪卡毒素中毒主要发生在 35°N~35°S 的热带和亚热带地区, 在太平洋、大西洋、印度洋和加勒比海等海区最为常见, 部分岛屿被认为是雪卡毒素中毒的高风险区。受全球气候变化和热带珊瑚鱼贸易等人类活动的影响, 以及温度升高导致底栖甲藻的地域性扩张, 雪卡毒素中毒事件的发生频率不断增加, 对人类健康和海洋生态系统构成重大威胁^[6-9]。近年尤其是在温带地区, 包括韩国、日本、大洋洲、新西兰、墨西哥湾北部和地中海等地也多有雪卡毒素中毒事件的报道^[3,10-15]。在香港, 自 1980 年以来已有 462 例雪卡毒素中毒病例, 平均每年高达 28 例的病例, 并分别在 1998 年和 2004 年发生了 2 起影响达 600 多人的突发中毒事件^[16]。1965 年至 2010,

收稿日期: 2022-06-30

资助项目:香港研究资助局优配研究金项目——底栖附生有毒藻类及相关微生物的生物活性潜力研究(CityU 11104821); 香港研究资助局协作研究金项目——香港海洋之下: 人类与健康风险因素-MarineGEO 在香港的应用(C7013-19G); 国家自然科学基金项目——东北亚边缘海入侵有害藻华种中韩联合监测平台建设基础调查研究(41961144013); 浙江省自然科学基金项目——浙江沿岸原甲藻多样性及产毒特研究(LY20D060004)

作者简介:陈 荔(1962—), 男, 访问副教授, 博士, 主要从事藻类的生理生态及藻毒素毒性机制方面研究. E-mail: leochan@cityu.edu.hk

(王佳实 编辑)

澳大利亚共报道了 1 400 多例病例^[17]；冲绳是日本发病率最高的地区，1997 年至 2006 年间共录得 33 例病例^[18]。意识到此毒素在全球部分区域的严重性，多个国际组织发起了关于雪卡毒素中毒国际合作计划，如全球有害藻华计划(GlobalHAB)启动了 1 个核心研究项目“底栖系统的有害藻华(HABs in Benthic Systems)”，北太平洋海洋科学组织启动了名为“雪卡(Ciguatera)”的国际合作项目。

雪卡毒素(Ciguatoxins, CTXs)是一种高度氧化的环状聚醚梯类毒素，由 13~14 个环组成，通过醚键融合成刚性梯状结构，具有较高的分子量^[19-22]。雪卡毒素主要由冈比亚藻属(*Gambierdiscus*)和福氏藻属(*Fukuyoa*)的底栖甲藻产生，它们附生在珊瑚礁生态系统中的海洋基质，如大型藻类、沙子或珊瑚碎石上^[23-24]。草食性动物偶然会摄取到这些藻类，毒素就经由食物网转移进鱼体内，从而进一步转化为更具毒性的三级代谢物^[5]。在不同营养级别的鱼体中均发现有雪卡毒素，例如海鳗、石斑鱼、鲷鱼和梭鱼等^[22]。2006—2008 年，在中国南方沿岸捕获的野生珊瑚礁鱼类中也检测到了雪卡毒素，通过小鼠生物法测定，其中 17.4% 的样本超出了毒素最大允许水平(以每千克鱼肉含 100 ng 太平洋型雪卡毒素 1 计)^[25]。在我国南方部分地区也发现有冈比亚藻属藻类，如西沙群岛^[26]、海南岛^[27]、香港^[27]、大亚湾和大鹏湾海域等^[28]。除冈比亚藻属外，其他底栖甲藻种属，包括福氏藻属(*Fukuyoa*)、库里亚藻属(*Coolia*)、蛎甲藻属(*Ostreopsis*)和原甲藻属(*Prorocentrum*)也会产生 CTXs、刺尾鱼毒素(Maitotoxins, MTXs)或其类似物，这导致了日本冲绳^[29-30]、越南^[31]、泰国^[32]、中国海南^[33]和香港^[27,34]等地也出现雪卡毒素中毒。然而，目前对于这些物种的研究并不全面，关于这些底栖甲藻的化学和生物多样性表征的研究工作仍在进行中。

1 雪卡致病甲藻的种类多样

1979 年，采自法国波利尼西亚甘比尔群岛(Gambier Islands)的 *G. toxicus* 首次被鉴定为冈比亚藻，并建立了新属^[35]。截至目前，全球分别发现冈比亚藻属 18 种，福氏藻属藻种 3 种。其中 2 种球状种 *F. yasumotoi* 和 *F. ruetzleri* 曾被归类为冈比亚藻属。此外，福氏藻属发现了 1 个新物种被描述为 *F. paulensis*。这些发现扩展了已知的可导致雪卡毒素中毒的藻种范围，但对于其他未命名的遗传进化分枝，仍有待进一步识别和分类。表 1 给出了冈比亚藻属和福氏藻属各个种类首次报道的年份和位置。

表 1 截至 2020 年冈比亚藻属和福氏藻属的物种鉴定年表

Table 1 Chronology of *Gambierdiscus* and *Fukuyo* species identifications up to 2020

种 名	报道年份	地理位置	种 名	报道年份	地理位置
<i>G. toxicus</i>	1979	法属波利尼西亚甘比尔群岛(Gambier Islands)	<i>G. excentricus</i>	2011	西班牙加那利群岛特内里费岛(Tenerife)
<i>G. yasumotoi</i> (reclassified as <i>Fukuyo yasumotoi</i> in 2015)	1998	新加坡韩都岛(Pulau Hantu Island)	<i>G. scabrosus</i>	2014	日本
<i>G. belizeanus</i>	1995	伯利兹 South Water Cay and Carrie Bow Cay	<i>F. paulensis</i>	2015	巴西乌巴图巴(Ubatuba)
<i>G. australes</i>	1999	法属波利尼西亚南方群岛赖瓦埃岛(Raivavae Island)	<i>G. cheloniae</i>	2016	库克群岛拉罗汤加岛(Rarotonga)
<i>G. pacificus</i>	1999	法属波利尼西亚土阿莫土群岛豪环礁(Hao Island)	<i>G. balechii</i>	2017	苏拉威西海(Celebes Sea)
<i>G. polynesiensis</i>	1999	法属波利尼西亚南方群岛土布艾群岛(Tubuai Island)	<i>G. honu</i>	2017	库克群岛拉罗汤加岛(Rarotonga)及新西兰克马德克群岛(Kermadec Islands)
<i>G. carpenteri</i>	2009	伯利兹 South Water Cay	<i>G. lapillus</i>	2017	澳大利亚大堡礁
<i>G. caribaeus</i>	2009	伯利兹 Carrie Bow Cay	<i>G. jejuensis</i>	2018	韩国济州岛
<i>G. carolinianus</i>	2009	美国北卡罗来纳洲大陆架，近开普菲尔(Cape Fear)	<i>G. lewisii</i>	2019	澳大利亚大堡礁
<i>G. ruetzleri</i> (reclassified as <i>F. ruetzleri</i> in 2015)	2009	伯利兹 South Water Cay	<i>G. holmesii</i>	2019	澳大利亚大堡礁
<i>G. silvae</i>	2014	西班牙加那利群岛			

近年来, 在亚洲地区也记录到了冈比亚藻属与福氏藻属物种。例如, 1995 年在大西洋首次发现了 *G. belizeanus*, 随后 2013 年在马来西亚和印度洋地区亦发现该物种^[36-38]; 2014 年首次在泰国海岸发现了 *G. caribaeus*^[32]; *G. caribaeus*、*G. australes* 和 *G. pacificus* 在中国海南岛也有记录^[26]。

2 雪卡致病甲藻毒素的化学多样性

2.1 CTXs 种类及检测方法

根据检测到的 CTXs 的化学结构骨架和来源, 可将 CTXs 分为 3 类: 太平洋型雪卡毒素 (P-CTX)、加勒比海型雪卡毒素 (C-CTX) 和印度洋型雪卡毒素 (I-CTX)。目前已报道了 30 多种不同类型的 CTXs 类似物 (表 2)^[1,20,39]。

表 2 目前已知的 CTXs 类似物^[1,20,39]
Table 2 Currently known CTXs congeners^[1,20,39]

类别	类似物	分子式	分子量	[M + NH ₄] ⁺
太平洋型	CTX4B	C ₆₀ H ₈₄ O ₁₆	1 060.575 39	1 078.609 76
	CTX4A	C ₆₀ H ₈₄ O ₁₆	1 060.575 39	1 078.609 76
	M-seco CTX4B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₇	1 078.585 95	1 096.620 33
	M-seco CTX4A	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₇	1 078.585 95	1 096.620 33
	54-deoxy CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₈	1 094.580 87	1 112.615 24
	52-epi-54-deoxy CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₈	1 094.580 87	1 112.615 24
	CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₉	1 110.575 78	1 128.610 16
	52-epi CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₉	1 110.575 78	1 128.610 16
	54-epi CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₉	1 110.575 78	1 128.610 16
	54-epi 52-epi CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₉	1 110.575 78	1 128.610 16
	54-deoxy-50-hydroxy CTX1B	C ₆₀ H ₈₆ O ₁₉	1 110.575 78	1 128.610 16
	7-oxo CTX1B	C ₆₀ H ₈₈ O ₂₀	1 126.570 70	1 144.605 07
	7-hydroxy CTX1B	C ₆₀ H ₈₈ O ₂₀	1 126.570 70	1 144.605 07
	4-hydroxy-7-oxo CTX1B	C ₆₀ H ₈₈ O ₂₁	1 144.581 26	1 162.615 63
	CTX3C	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₆	1 022.559 74	1 040.594 11
	CTX3B	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₆	1 022.559 74	1 040.594 11
	2-hydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₄ O ₁₇	1 040.570 30	1 058.604 68
	M-seco CTX3C	C ₅₇ H ₈₄ O ₁₇	1 040.570 30	1 058.604 68
	51-hydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₇	1 038.554 65	1 056.589 03
	2,3-dihydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₇	1 038.554 65	1 056.589 03
	51-hydroxy-3-oxo CTX3C	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₈	1 054.549 57	1 072.583 94
	2,3-dihydro-51-hydroxy-2-oxo CTX3C	C ₅₇ H ₈₂ O ₁₈	1 054.549 57	1 072.583 94
	2,3-dihydro-2,3-dihydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₃ O ₁₉	1 071.552 31	1 089.586 68
	M-seco CTX3C methyl acetal	C ₅₈ H ₈₆ O ₁₇	1 054.585 95	1 072.620 33
	A-seco-51-hydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₆ O ₁₇	1 042.585 95	1 060.620 33
	2,3-dihydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₄ O ₁₈	1 056.601 60	1 074.635 98
	2,3-dihydro-2,3,51-trihydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₄ O ₂₀	1 088.555 05	1 106.589 42
	A-seco-2,3-dihydro-51-hydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₈ O ₂₀	1 092.586 35	1 110.620 72
	2,3,51-trihydroxy CTX3C	C ₅₇ H ₈₄ O ₁₉	1 072.560 13	1 090.594 51

续表				
类 别	类似物	分子式	分子量	[M + NH ₄] ⁺
加勒比海型	C-CTX-1	C ₆₂ H ₉₂ O ₁₉	1 140.622 73	1 158.657 11
	C-CTX-2	C ₆₂ H ₉₂ O ₁₉	1 140.622 73	1 158.657 11
印度洋型	I-CTX-1	C ₆₂ H ₉₂ O ₁₉	1 140.622 73	1 158.657 11
	I-CTX-2	C ₆₂ H ₉₂ O ₁₉	1 140.622 73	1 158.657 11
	I-CTX-3	C ₆₂ H ₉₂ O ₂₀	1 156.617 65	1 174.652 02
	I-CTX-4	C ₆₂ H ₉₂ O ₂₀	1 156.617 65	1 174.652 02
	I-CTX-5	C ₆₂ H ₉₀ O ₁₉	1 138.607 08	1 156.641 46
	I-CTX-6	C ₆₂ H ₉₀ O ₂₀	1 154.602 00	1 172.636 37

使用 Diaion® HP20 固相吸附毒素追踪技术能提取 CTXs^[40]。液相色谱与质谱联用技术(LC-MS)已成为检测 CTXs 和其他生物毒素的主要仪器分析方法^[41], 其检测限可达 1/10⁹ 级别。小鼠生物检测法、猫鼬生物检测法和基于细胞的毒性实验, 例如小鼠神经母细胞瘤细胞检测法及溶血实验, 都是高灵敏度的毒素检测的替代方法。利用小鼠神经母细胞瘤细胞检测法检测发现不同冈比亚藻属物种的毒性差异很大, 有些藻株的毒性可比其他藻株高几个数量级(表 3)^[42]。

2.2 CTXs 对人类及鱼类的影响

人类接触到 CTXs 会引致长期的感觉迟钝, 以及一些胃肠道、神经系统与心血管系统的疾病。急性中毒的临床症状主要包括: 消化系统表现, 如恶心、呕吐、腹泻、腹痛等, 易误诊为急性胃肠炎或食物中毒; 神经系统表现, 如唇、舌、咽喉有发麻或针扎感, 2~3 d 之后身体会出现蚁爬感、疼痛、温感倒错等异常, 其中“热感颠倒”是较为独特的现象; 心血管系统表现, 如心动过速或者窦性心动过缓、休克或血压降低等。然而, 雪卡毒素中毒的严重程度和摄取的毒素量没有发现存在明显的相关性, 这可能与如何计算观察到的最低不良反应水平的值有关^[43]。

此外, 低浓度的雪卡毒素也会影响鱼类并改变生态系统^[44]。如当暴露于微量 P-CTX-1^[45] 时, 海水青鲷鱼的多项生理指标被影响, 并出现行为异常。分子生物学分析还表明, 低浓度的 P-CTX-1 会对幼鱼的发育产生负面影响^[46]。

2.3 其他类型的化合物

44-methylgambierone, 亦称作 maitotoxin-3, 最初在 *G. australes* 中发现, 是冈比亚藻属常见的化学物质, *F. ruetzleri* 也能产生这种毒素^[47-49]; Gambieroxide 在法属波利尼西亚采集的 *G. toxicus* 中分离得到^[50]; Gambierone 由 *G. belizeanus* 产生, 具有与 CTX-3C 类似的生物活性^[51]; Gambieric acid A、B、C 和 D 是从 *G. toxicus* 的培养基中分离出来的, 这些 Gambieric acid 具有很强的抗真菌活性。从 *G. toxicus* 中提取的 Gambierol 能通过电压门控钾通道的阻断作用抑制快速钾离子通道^[52-53], Gambierol 的结合机制可通过其对通道嵌合体的高亲和力和来解释^[54]。Gambierol 对不同的钾通道类型作用有差异, 对 Kv1.2、Kv1.3 和 Kv1.4 均具

表 3 基于小鼠神经母细胞瘤细胞检测法测定的 CTX 样的毒性数据

Table 3 Neuro-2a cell-based assay for measuring CTX-like toxicity

样品种类	雪卡毒素毒性
	(以平均每个藻细胞含 CTX3C 毒性当量计)/fg
<i>G. australes</i>	0.6~2.7
<i>G. excentricus</i>	1 426
<i>G. silvae</i>	10.3~12.4
<i>G. carolinianus</i>	3.3
<i>G. balechii</i>	3.4
<i>G. caribaeus</i>	1.6
<i>G. carpenteri</i>	1.4
<i>G. pacificus</i>	12.1~13.5
<i>G. scabrosus</i>	27.9
<i>Gambierdiscus</i> sp.	40.8

有抑制作用, 对 Kv1.1 和 Kv1.5 则有很强的抑制作用, 然而对 Kv1.6 没有观察到抑制作用^[55]。

冈比亚藻属产生的其他特别的代谢物仍在研究中, 包括一系列与 CTXs 相关且结构类似于虾夷扇贝毒素(Yessotoxins)的未能鉴定的聚醚类化合物^[56]。对所有已知的冈比亚藻属和福氏藻属物种的次生代谢物开展进一步研究至关重要, 因为这些信息有助于进行雪卡毒素中毒的风险评估。然而, 由于缺乏足够的可供提取纯化的材料以及合适的纯化方案, 开展这些化合物的表征工作仍很困难。此外, 许多毒素不具备结晶性质也是识别和表征新类似物的障碍^[52]。一些研究人员推测, 致病甲藻中的毒素和代谢物谱有助于揭示毒素在鱼体内的毒代动力学, 但毒代动力学又因所在地区不同或鱼种类不同而异^[3,57-58]。

3 雪卡毒素产毒甲藻的生理生态学

对冈比亚藻属物种的生理学和生态学已经进行了深入研究, 得出的最佳生长条件为: 拥有充足的附生基质(例如大型藻类和草皮状海藻); 水温在 21~31 °C, 最佳范围是 25~29 °C; 盐度高且稳定; 位于浅水(深度小于 50 m)水域; 水环境平静稳定, 水层扰动轻微, 处于低或中等水平; 营养充足等^[15]。

3.1 雪卡毒素致病藻与大型藻类基质的关系

引起雪卡毒素中毒的底栖甲藻在多种生物和非生物基质中被发现采集, 例如沙子、碎屑聚集体、死珊瑚、海草和藻类等^[59]。作为一个动态的生态系统, 珊瑚礁生态系统经常受到热带气旋、棘冠海星爆发和珊瑚白化等大规模扰动事件的影响, 使其暂时或永久地由以珊瑚为主的礁类栖息地转变为以大型藻类为主的礁类栖息地。具有红藻门、褐藻门、绿藻门等群落的以大型藻类为主的珊瑚礁栖息地, 皆是冈比亚藻属藻种的理想栖息地。一些冈比亚藻属藻种表现出对某些大型藻类基质的偏好, 这些大型藻通常具有理想的 3D 结构、良好的柔韧性和较大的表面积^[60-61]。冈比亚藻属藻种可通过黏液包膜附着在大型藻类上。研究表明, 水体流动、光照水平的变化和其他外部因素都可以使一些冈比亚藻属藻种脱离其基质并出现自由泳动的行为^[62-63]。因此, 冈比亚藻属不是固性的附生植物。大型藻类除了为附生藻类提供保护表面外, 还通过供给营养和遮荫提供有利的生长条件^[61,64]。

在珊瑚礁生态系统中, 藻类已经进化出多种防御机制, 例如快速生长、低营养价值以及化学或结构防御以抵抗草食性动物的放牧压力。有证据表明有毒底栖甲藻和大型藻类基质之间存在化感作用^[65]。此外, 由于大型藻类适口性的差异, 大型藻类宿主与甲藻的关系会影响雪卡毒素通过食物链的转移。例如, 即使附着的冈比亚藻属藻种细胞密度可能相对较低, 但具有高生长速度和良好适口性的丝状藻类是在食物链中提高雪卡毒素通量的主要途径。也就是说, 即使在低细胞密度的情况下, 被草食性动物积极消耗的大型藻类也可能导致高毒素通量, 而具有较高细胞密度但适口性较差的藻类可能对通过海洋食物网的毒素转移几乎没有贡献^[3,59]。在大型藻类宿主的适口性的背景下探索冈比亚藻属物种的组成和种群丰度还需要进一步研究。

3.2 环境因素对雪卡毒素致病甲藻生长及产毒的影响

营养物质、细菌、光照强度、温度和盐度促进了甲藻的生长和生态分布, 这些因素也会影响毒素的产生。然而, 关于环境因素对 CTXs 产生影响的研究得出的结论不一致且互相矛盾。例如, 关于营养盐浓度和组成, 夏威夷的冈比亚藻属藻的密度和营养盐浓度之间没有直接关系^[66]。然而, 在营养盐浓度最高的地方却观察到了最高的细胞密度^[29]。类似地, 除了氮磷比(N:P)为 5:1 之外, 对于 2 个藻株(大西洋藻株 MQ2 与太平洋藻株 TO4)的所有 N:P 似乎都不会影响 Na⁺的活性^[3]。相反, 不产毒的藻种在 30:1 的 N:P (磷限制)下会产生毒素, 对此现象目前无法解释^[67]。一些研究人员认为遗传因素或能解释它们对营养盐的不同反应, 同时也可解释冈比亚藻属藻种产生毒素变化的原因^[68]。对不同地理来源的藻种或藻株应当开展进一步的营养盐研究以深入了解影响其生长或产毒的原因^[67]。

早期的报道显示, 冈比亚藻属更喜欢不超过全日照 10% 的光强度^[69]。 *G. carpenter* 的毒素产量在低光强度下很高, 但当辐照度达到 $160 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时会降低 1/2^[70]。近年开展的对生长速率和辐照度之间关系的研究表明, 4 种冈比亚藻属藻种的最佳和半最佳光强度范围分别约为 200 和 $70\sim 400 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。冈比亚藻属维持生长的光强度仅约为 $10 \mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 远低于另一种有毒的底栖甲藻 *Ostreopsis* sp.^[71-72]。

长期以来, 温度一直被认为是影响冈比亚藻属种群规模和分布的关键因素^[73]。冈比亚藻属种群通常在较高温度条件下 ($25\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$) 的栖息地中更丰富。在这种情况下, 海表温度上升可能与冈比亚藻和福氏藻种群的地理范围扩大及雪卡毒素中毒爆发的次数增加有关^[74-75]。尽管有时报道的结果相互矛盾, 但多项实验室研究已经确定了温度对冈比亚藻种群生长的影响。多个藻种的最佳温度范围在 $25\sim 31\text{ }^{\circ}\text{C}$, 温度低于 $15\sim 21\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或高于 $31\sim 34\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时冈比亚藻的生长速度要慢得多^[76-77]。这基本与实地调查的结果一致^[75, 78-79]。研究人员也观察到温度对冈比亚藻属物种 (例如 *G. carpenteri*) 生长和毒素产生的负面影响, 这表明温度变化的不利影响可能影响毒素生物合成过程中 mRNA 的上调和下调^[70]。

盐度也在冈比亚藻属的生长和毒性中起关键作用。 *G. caribaeus* 在盐度为 30 时表现出最佳生长率, 但盐度为 17 时未观察到细胞增殖^[10, 80]。大多数冈比亚藻属藻种在盐度为 $28\sim 35$ 表现出相当大的适应性, 但适应性和最佳盐度因不同物种/藻株而异。 Xu 等^[81] 研究表明盐度 $30.1\sim 38.5$ 和温度 $23.8\sim 29.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是 17 株冈比亚藻的最佳生长条件。在菲律宾盐度为 30 的海域分离得到的 *G. carpenteri* 在实验室条件下对 $26\sim 41$ 的盐度范围表现出极大适应性, 在此范围内, 产 CTXs 的最佳盐度为 26, 但产毒能力在盐度 $29\sim 41$ 时下降。然而, 迄今尚不清楚盐度如何影响毒素的生物合成。一种假设认为 CTXs 可能通过作为激活剂或抑制剂作用于电压门控钠通道来影响细胞内的渗透压调节^[3, 82]。

Holmes 和 Lewis 发现 *G. toxicus* 产生的 CTXs 的浓度和类型在实验室培养期间会发生变化, 这表明微生物群落的改变可能会影响生物毒素的产生^[83]。在基里巴斯共和国马拉凯岛的一个雪卡毒素中毒热点地区发现了独特的微生物群落, 具有高丰度的不动杆菌属、弓形杆菌属、假单胞菌属、陶氏菌属和弧菌属^[84]。一些研究还表明, 细菌群落可以调节底栖甲藻的生长和毒性。冈比亚藻在无菌条件下不能很好地生长, 并且群体感应细菌被认为会产生信号分子来刺激冈比亚藻细胞增殖和生产 CTXs^[84-85]。

3.3 影响毒素产生的其他因素

冈比亚藻属的毒素谱征和毒性在不同的藻种和藻株之间差异很大。有研究使用小鼠神经母细胞瘤细胞毒性试验测试了来自 7 个不同种的 32 株冈比亚藻的毒性。种内毒株毒力相差 $2\sim 27$ 倍, 种间毒株毒力相差可达 1 740 倍^[86]。此外, 从昆士兰、夏威夷、法属波利尼西亚和澳大利亚维尔京群岛分离出的 13 株 *G. toxicus* 中, 只有部分藻株产生 CTXs^[67]。生长速率和生长阶段也会影响 CTXs 或 MTXs 的产生^[67, 87]。相对较低的生长速率和较高的胞内毒素含量可能是减少与其他共存微藻的竞争或限制草食性动物放牧的重要进化优势。

在与雪卡毒素相关的生物群落中, 冈比亚藻属和福氏藻属藻种经常被发现与其他底栖甲藻, 如库里亚藻属、蛎甲藻属、原甲藻属和前沟藻属 (*Amphidinium*) 等种类相关^[27, 29-34, 88-91]。这些类群中 CTXs 和其他代谢物的化感作用仍未被完全了解。实验室实验仍然不能完全了解引起化感作用的次级代谢物的动态变化。此外, 一些研究观察到冈比亚藻属和福氏藻属对野外同时存在的底栖甲藻或硅藻具有化感作用^[92-95]。

4 雪卡毒素生物合成机制

近几十年来, 人们致力于研究藻毒素的生物合成机制。组学技术被指是解开生物合成途径和机制的有效工具。最近, 使用转录组学和代谢组学方法阐明了拟菱形藻 (*Pseudo-nitzschia*) 产生的软骨藻酸 (Domoic

acid)的关键生物合成途径^[96]。在遗传上, 冈比亚藻的基因组大约为 30 Gbp, 例如, *G. australes* 为 32.5 Gbp, *G. belizeanus* 为 35 Gbp, 大约是人类基因组大小的 6 倍^[97-98]。由于很难对冈比亚藻的整个基因组进行测序, 因此对毒素产生的生物合成机制仍然知之甚少。

目前, 大多数研究都集中在毒素的检测和分离上, 尤其是对来自冈比亚藻属的 CTXs/MTXs, 但很少有人研究可能参与这些毒素生物合成途径的其他化合物, 例如代谢中间体。众所周知, 来自冈比亚藻属的毒素(CTXs/MTXs)属于梯状多环聚醚类结构, 它们的合成被认为与聚酮化合物合酶(Polyketide Synthase, PKS)复合物有关。根据这一假设, 研究人员在转录组水平上对冈比亚藻属藻种中毒素的生物合成机制进行了剖析。Pawlowicz 等^[99]在 *G. polynesiensis* 上使用从头转录组测序鉴定了 33 个相关序列以及与参与脂肪酸合成的 I 型聚酮化合物合酶相似的 22 个重叠群编码的结构域。Kohli 等^[98]研究了 *G. australes* 和 *G. belizeanus* 的转录组, 发现了 306 个参与 PKS 生物合成的基因, 并鉴定了 192 个编码酮脂酰合酶的转录本。来自聚酮化合物生物合成的雪卡毒素前体(多烯)经历多环氧化和随后的环氧化物环化后构成雪卡毒素。随后, 他们比较了 *G. excentricus* 和 *G. polynesiensis* 的转录组^[100], 发现有 264 个重叠群编码单域 β -酮基具有相似的 I 型聚酮合酶序列, 包括 24 个重叠群编码多结构域聚酮合酶, 其中 17 个是 β -酮合酶、酮还原酶、s-丙二酰转移酶、脱水酶和烯醇还原酶^[100]。

Wu 等^[101]使用 2 种不同的转录组学方法(包括 RNA 测序和抑制消减杂交)比较了产 CTXs 和不产 CTXs 的 *G. balechii* 藻株。发现编码 PKS 的 52 个基因在产 CTXs 的藻株中上调, 3 个在不产 CTXs 的藻株中上调, 并推测 CTXs 的生物合成可能在叶绿体中作为转运肽进行。Van Dolah 等^[102]调查了产雪卡毒藻种 *G. polynesiensis* 和非产雪卡毒藻种 *G. pacificus* 中 PKS 基因转录物的表达, 发现存在模块化和单域 PKS 转录物。此外, 单域 β -酮脂酰合酶转录物在这 2 个藻种中都得到了高度扩增, 而 *G. polynesiensis* 表达了更多的多结构域 PKS, 并且每个转录物的模块数量比非产雪卡毒的 *G. pacificus* 更多。*G. polynesiensis* 中最大的 PKS 转录物编码 10 516 个氨基酸, 7 个模块蛋白, 预计将合成部分聚醚骨架^[102]。根据这些结果推断 PKS 基因序列可能与 CTX 生物合成有关, 但仍然没有令人信服的数据支持 PKS 在聚醚化合物合成中的独特作用。

5 CTXs 在含雪卡毒鱼类中的生物转化和累积

CTXs 通常被认为是雪卡毒素中毒的主要毒素, 已在各种鱼类的组织(尤其是头部和内脏)中被发现^[103]。草食性鱼类是肉食性和杂食性捕食者的主要食物来源之一, 也是日本报道的引致雪卡毒素中毒海产品的主要来源^[18]。这些鱼通常是具有生物转化和生物积累能力的底栖类动物, 可以通过摄食当地珊瑚礁系统中的产毒藻株来积累 CTXs^[1]。迄今为止, 已发现 400 多种鱼类具有雪卡毒性, 例如海鳗、石斑鱼、鲷鱼、梭鱼、鲹鱼、鲭鱼、鲑鱼和刺尾鱼^[22,104], 其中海鳗通常被认为是毒性最强的含雪卡毒素的鱼^[105]。这些雪卡毒鱼对人类健康构成了巨大威胁, 并影响当地的旅游业和经济。事实上, 在加勒比海、澳大利亚和法属波利尼西亚都禁止捕捞、出售或食用具雪卡毒的鱼类^[106]。

因为具雪卡毒的鱼类有不同的 CTXs 积累能力, 所以有必要了解它们对 CTXs 的吸收和净化动力学以及其组成与含量。以往的研究表明, 高浓度的 CTX-3C 可显著降低鱼卵的孵化率, 并对珊瑚鱼有致命威胁^[44]。在肉食性和杂食性鱼类中也检测到比草食性鱼类更高浓度的 P-CTX-1^[22]。P-CTX-1 由于其具有亲脂性和高稳定性而在食物链中持久存在, 在高营养级食肉动物中被生物放大至高毒素水平。迄今为止, 仅对海鳗(*Lycodontis javanicus*)、红鲷(*Lutjanus bohar*)、点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)和海洋青鲈(*Oryzias melastigma*)这些鱼类开展了 CTXs 的毒代动力学研究^[45,107-108], 对绝大多数其他雪卡毒鱼种类中 CTXs 的毒代动力学仍然知之甚少, 因此需要进行更多的研究。石斑鱼是亚洲地区最常见的经济鱼类, 也经常与中毒事件有关。本文作者研究团队也专注于石斑鱼对 CTXs 的吸收和净化机制的研究^[107], 研究结果将有助于为建立评估亚洲地区 CTX 的毒性和药代动力学的标准方案提供参考。

6 结论与展望

为了更好地了解引起雪卡毒素中毒的海洋底栖甲藻和相关毒素,近年来,研究人员在底栖甲藻的生物多样性、种群分布、化学多样性、生态生理学、毒理学、毒素产生和毒代动力学等方面都开展了大量研究并取得了重大进展。近期的研究结果也为雪卡毒素中毒扩展到其他热带和亚热带地区的事件提供了证据。在亚洲地区分离出有毒的冈比亚藻属与福氏藻属物种并在珊瑚鱼中检测到CTXs的事实表明,亚太海区是未来潜在的雪卡毒素中毒爆发地点,应该更认真地考虑如何应对这种毒素综合症。但在亚洲地区,冈比亚藻属与福氏藻属的研究进展相对缓慢,还需进行更多基础研究。基于雪卡毒素的研究现状与进展,以下应是未来研究值得考虑和加强的几个方向:①从亚太相关海域分离和鉴定冈比亚藻属与福氏藻属藻种;②建立地区藻种保藏中心保存这些藻株以进行深入研究或比较研究;③筛选这些藻株的毒性并优化产生毒素的培养条件;④全面研究甲藻物种的CTXs毒素谱,尤其是大量产毒的藻种;⑤研究藻毒素在鱼体内的毒素吸收与消除情况。由于现场条件与实验室控制条件有很大不同,因此有必要进行持续、全面的现场研究和市场调查,以更好地了解雪卡毒素中毒与雪卡产毒物种分布之间的关系。最终目标是将致病海洋底栖甲藻的生态学和毒理学方面的最新进展转化为实际解决方案,以便更可靠地评估亚太地区的雪卡毒素中毒风险和实施有效的缓解计划。

参考文献 (References):

- [1] LEHANE L, LEWIS R J. Ciguatera: recent advances but the risk remains[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2000, 61(2-3): 91-125.
- [2] FRIEDMAN M A, FERNANDEZ M, BACKER L C, et al. An updated review of ciguatera fish poisoning: clinical, epidemiological, environmental, and public health management[J]. *Marine Drugs*, 2017, 15(3): 72.
- [3] CHINAIN M, GATTI C M I, DARIUS H T, et al. Ciguatera poisonings: a global review of occurrences and trends[J]. *Harmful Algae*, 2021, 102: 101873.
- [4] LEWIS R J, HOLMES M J. Origin and transfer of toxins involved in ciguatera[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, 1993, 106(3): 615-628.
- [5] RADKE E G, GRATAN L M, COOK R L, et al. Ciguatera incidence in the US Virgin Islands has not increased over a 30-year time period despite rising seawater temperatures[J]. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2013, 88(5): 908-913.
- [6] DE HARO L, POMMIER P, VALLI M. Emergence of imported ciguatera in Europe: report of 18 cases at the Poison Control Centre of Marseille[J]. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 2003, 41(7): 927-930.
- [7] MATTEI C, VETTER I, EISENBLATTER A, et al. Ciguatera fish poisoning: a first epidemic in Germany highlights an increasing risk for European countries[J]. *Toxicon*, 2014, 91: 76-83.
- [8] ZIMMERMANN K, EISENBLATTER A, VETTER I, et al. Imported tropical fish causes ciguatera fish poisoning in Germany[J]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2015, 140(2): 125-130.
- [9] LARSSON M E, LACZKA O F, HARWOOD D T, et al. Toxicology of *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) from tropical and temperate Australian waters[J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(1): 7.
- [10] PARSONS M L, ALIGIZAKI K, BOTTEIN M Y D, et al. *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology, and toxicology[J]. *Harmful Algae*, 2012, 14: 107-129.
- [11] LEVINE D Z. Ciguatera: current concepts[J]. *Journal of the American Osteopathic Association*, 1995, 95(3): 193-198.
- [12] POON-KING C M, CHEN A, POON-KING T. Ciguatera fish poisoning in industrial ship crewmembers: a retrospective study in a seaport general practice in Trinidad and Tobago[J]. *West Indian Medical Journal*, 2004, 53(4): 220-226.
- [13] RHODES L, PAPIOL GIMÉNEZ G, SMITH K, et al. *Gambierdiscus* cf. *yasumotoi* (Dinophyceae) isolated from New Zealand's sub-tropical northern coastal waters[J]. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 2014, 48(2): 303-310.
- [14] RUFF T A. Ciguatera in the Pacific: a link with military activities[J]. *Lancet*, 1989, 333(8631): 201-205.
- [15] 徐轶肖, 江涛. 雪卡毒素产毒藻(冈比亚藻)研究进展[J]. *海洋与湖沼*, 2014, 45(2): 244-252. XU Y X, JIANG T. A review on ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 45(2): 244-252.

- [16] WONG C K, HUNG P, LEE K L H, et al. Study of an outbreak of ciguatera fish poisoning in Hong Kong[J]. *Toxicon*, 2005, 46(5): 563-571.
- [17] HAMILTON B, WHITTLE N, SHAW G, et al. Human fatality associated with Pacific ciguatoxin contaminated fish[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 668-673.
- [18] OSHIRO N, YOGI K, ASATO S, et al. Ciguatera incidence and fish toxicity in Okinawa, Japan[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 656-661.
- [19] MURATA M, LEGRAND A M, ISHIBASHI Y, et al. Structures and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus* and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1990, 112(11): 4380-4386.
- [20] CAILLAUD A, DE LA IGLESIA P, DARIUS H T, et al. Update on methodologies available for ciguatoxin determination: perspectives to confront the onset of ciguatera fish poisoning in Europe[J]. *Marine Drugs*, 2010, 8(6): 1838-1907.
- [21] LITAKER R W, VANDERSEA M W, FAUST M A, et al. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 711-30.
- [22] MAK Y L, WAI T C, MURPHY M B, et al. Pacific ciguatoxins in food web components of coral reef systems in the Republic of Kiribati[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(24): 14070-14079.
- [23] HOLMES M J. *Gambierdiscus yasumotoi* sp. nov. (Dinophyceae), a toxic benthic dinoflagellate from southeastern Asia[J]. *Journal of Phycology*, 1998, 34(4): 661-668.
- [24] TESTER P A, VANDERSEA M W, BUCKEL C A, et al. *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species diversity in the flower garden banks national marine sanctuary, northern gulf of Mexico, USA[J]. *Harmful Algae*, 2013, 29: 1-9.
- [25] WU N, HUAN Q L, DU K M, et al. Ciguatera toxins in wild coral reef fish along the southern coast of China[J]. *Marine and Freshwater Research*, 2015, 66(12): 1168-1175.
- [26] ZHANG H, WU Z, CEN J Y, et al. First report of three benthic dinoflagellates, *Gambierdiscus pacificus*, *G. australes* and *G. caribaeus* (Dinophyceae), from Hainan Island, South China Sea[J]. *Phycological Research*, 2016, 64(4): 259-273.
- [27] LU S H, HODGKISS I J. Harmful algal bloom causative collected from Hong Kong waters[J]. *Hydrobiologia*, 2004, 512(1/3): 231-238.
- [28] WANG Z H, FU Y H, KANG W, et al. Germination of phytoplankton resting cells from surface sediments in two areas of the southern Chinese coastal waters[J]. *Marine Ecology-an Evolutionary Perspective*, 2013, 34(2): 218-232.
- [29] KOIKE K, SATO S, YAMAJI M, et al. Occurrence of okadaic acid-producing *Prorocentrum lima* on the Sanriku coast, northern Japan[J]. *Toxicon*, 1998, 36(12): 2039-2042.
- [30] SUZUKI T, WATANABE R, UCHIDA H, et al. LC-MS/MS analysis of novel ovatoxin isomers in several *Ostreopsis* strains collected in Japan[J]. *Harmful Algae*, 2012, 20: 81-91.
- [31] YOO J S, LEE J H, FUKUYO Y. *Prorocentrum vietnamensis* sp nov (Prorocentraceae Dinophyta): a new armored dinoflagellate from Vietnam coastal waters[J]. *Journal of Plant Biology*, 2004, 47(2): 129-132.
- [32] TAWONG W, NISHIMURA T, SAKANARI H, et al. Characterization of *Gambierdiscus* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates from Thailand based on morphology and phylogeny[J]. *Phycological Research*, 2015, 63(2): 125-133.
- [33] ZHANG H, LU S H, LI Y, et al. Morphology and molecular phylogeny of *Ostreopsis* cf. *ovata* and *O. lenticularis* (Dinophyceae) from Hainan Island, South China Sea[J]. *Phycological Research*, 2018, 66(1): 3-14.
- [34] LEUNG P T Y, YAN M, YIU S K F, et al. Molecular phylogeny and toxicity of harmful benthic dinoflagellates *Coolia* (Ostreopsidaceae, Dinophyceae) in a sub-tropical marine ecosystem: the first record from Hong Kong[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 124(2): 878-89.
- [35] ADACHI R, FUKUYO Y. Thecal structure of a marine toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* gen. et sp. nov. collected in a ciguatera-endemic area[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1979, 45(1): 67-71.
- [36] LITAKER R W, VANDERSEA M W, FAUST M A, et al. Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae)[J]. *Phycologia*, 2009, 48(5): 344-390.
- [37] LEAW C P, LIM P T, TAN T H, et al. First report of the benthic dinoflagellate, *Gambierdiscus belizeanus* (Gonyaulacales: Dinophyceae) for the east coast of Sabah, Malaysian Borneo[J]. *Phycological Research*, 2011, 59(3): 143-146.
- [38] SABUROVA M, POLIKARPOV I, AL-YAMANI F. New records of the genus *Gambierdiscus* in marginal seas of the Indian Ocean[J]. *Marine Biodiversity Records*, 2013, 6: e91.
- [39] SOLINO L, COSTA P R. Differential toxin profiles of ciguatoxins in marine organisms: chemistry, fate and global distribution[J]. *Toxicon*, 2018, 150: 124-143.
- [40] MURRAY J S, BOUNDY M J, SELWOOD A I, et al. Development of an LC-MS/MS method to simultaneously monitor maitotoxins and selected ciguatoxins in algal cultures and P-CTX-1B in fish[J]. *Harmful Algae*, 2018, 80: 80-87.
- [41] LEWIS R J, JONES A, VERNOUX J P. HPLC/tandem electrospray mass spectrometry for the determination of sub-ppb levels of Pacific and

- Caribbean ciguatoxins in crude extracts of fish[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(1): 247-250.
- [42] PISAPIA F, HOLLAND W C, HARDISON D R, et al. Toxicity screening of 13 *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays[J]. *Harmful Algae*, 2017, 63: 173-183.
- [43] HOSSEN V, SOLINO L, LEROY P, et al. Contribution to the risk characterization of ciguatoxins: LOAEL estimated from eight ciguatera fish poisoning events in Guadeloupe (French West Indies)[J]. *Environmental Research*, 2015, 143: 100-108.
- [44] YAN M, MAK M Y L, CHENG J P, et al. Effects of dietary exposure to ciguatoxin P-CTX-1 on the reproductive performance in marine medaka (*Oryzias melastigma*)[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 152: 110837.
- [45] MAK Y L, LI J, LIU C N, et al. Physiological and behavioural impacts of Pacific ciguatoxin-1 (P-CTX-1) on marine medaka (*Oryzias melastigma*)[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 321: 782-790.
- [46] YAN M, LEUNG P T Y, IP J C H, et al. Developmental toxicity and molecular responses of marine medaka (*Oryzias melastigma*) embryos to ciguatoxin P-CTX-1 exposure[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 185: 149-159.
- [47] MURRAY J S, SELWOOD A I, HARWOOD D T, et al. 44-Methylgambierone, a new gambierone analogue isolated from *Gambierdiscus australis*[J]. *Tetrahedron Letters*, 2019, 60(8): 621-625.
- [48] MURRAY J S, NISHIMURA T, FINCH S C, et al. The role of 44-methylgambierone in ciguatera fish poisoning: acute toxicity, production by marine microalgae and its potential as a biomarker for *Gambierdiscus* spp.[J]. *Harmful Algae*, 2020, 97: 101853.
- [49] LEUNG P T Y, YAN M, LAM V T T, et al. Phylogeny, morphology and toxicity of benthic dinoflagellates of the genus *Fukuyoa* (Goniomontaceae, Dinophyceae) from a subtropical reef ecosystem in the South China Sea[J]. *Harmful Algae*, 2018, 74: 78-97.
- [50] WATANABE R, UCHIDA H, SUZUKI T, et al. Gambieroxide, a novel epoxy polyether compound from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* GTP2 strain[J]. *Tetrahedron*, 2013, 69(48): 10299-10303.
- [51] RODRIGUEZ I, GENTA-JOUE G, ALFONSO C, et al. Gambierone, a ladder-shaped polyether from the dinoflagellate *Gambierdiscus belizeanus*[J]. *Organic Letters*, 2015, 17(10): 2392-2395.
- [52] MOROHASHI A, SATAKE M, YASUMOTO T. The absolute configuration of gambierol, a toxic marine polyether from the dinoflagellate, *Gambierdiscus toxicus*[J]. *Tetrahedron Letters*, 1999, 40(1): 97-100.
- [53] MOLGO J, SCHLUMBERGER S, SASAKI M, et al. Gambierol potently increases evoked quantal transmitter release and reverses pre- and post-synaptic blockade at vertebrate neuromuscular junctions[J]. *Neuroscience*, 2020, 439: 106-116.
- [54] KOPLJAR I, GROTTESI A, DE BLOCK T, et al. Voltage-sensor conformation shapes the intra-membrane drug binding site that determines gambierol affinity in Kv channels[J]. *Neuropharmacology*, 2016, 107: 160-167.
- [55] CUYPERS E, ABDEL-MOTTALEB Y, KOPLJAR I, et al. Gambierol, a toxin produced by the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*, is a potent blocker of voltage-gated potassium channels[J]. *Toxicon*, 2008, 51(6): 974-983.
- [56] RODRIGUEZ I, ALFONSO C, ALFONSO A, et al. Isolation and characterisation of new compounds from *Gambierdiscus belizeanus*[J]. *Planta Medica*, 2016, 81(S01): S1-S381.
- [57] YOGI K, OSHIRO N, INAFUKU Y, et al. Detailed LC-MS/MS analysis of ciguatoxins revealing distinct regional and species characteristics in fish and causative alga from the Pacific[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(23): 8886-8891.
- [58] IKEHARA T, KUNIYOSHI K, OSHIRO N, et al. Biooxidation of ciguatoxins leads to species-specific toxin profiles[J]. *Toxins*, 2017, 9(7): 205.
- [59] CRUZ-RIVERA E, VILLAREAL T A. Macroalgal palatability and the flux of ciguatera toxins through marine food webs[J]. *Harmful Algae*, 2006, 5(5): 497-525.
- [60] LOBEL P S, ANDERSON D M, DURAND CLEMENT M. Assessment of ciguatera dinoflagellate populations: sample variability and algal substrate selection[J]. *Biological Bulletin*, 1988, 175(1): 94-101.
- [61] BOMBER J W, RUBIO M G, NORRIS D R. Epiphytism of dinoflagellates associated with the disease ciguatera: substrate-specificity and nutrition[J]. *Phycologia*, 1989, 28(3): 360-368.
- [62] NAKAHARA H, SAKAMI T, CHINAIN M, et al. The role of macroalgae in epiphytism of the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae)[J]. *Phycological Research*, 1996, 44(2): 113-117.
- [63] RHODES L L, SMITH K F, MUNDAY R, et al. Toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from Rarotonga, Cook Islands[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 751-758.
- [64] VILLAREAL T A, MORTON S L. Use of cell-specific PAM-fluorometry to characterize host shading in the epiphytic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*[J]. *Marine Ecology*, 2002, 23(2): 127-140.
- [65] ACCORONI S, PERCOPO I, CERINO F, et al. Allelopathic interactions between the HAB dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* and macroalgae[J]. *Harmful Algae*, 2015, 49: 147-155.
- [66] PARSONS M L, PRESKITT L B. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawai'i[J]. *Harmful Algae*,

- 2007, 6(5): 658-669.
- [67] SPERR A E, DOUCHETTE G J. Variation in growth rate and ciguatera toxin production among geographically distinct isolates of *Gambierdiscus toxicus*[J]. *Harmful and Toxic Algal Blooms*, 1996: 309-312.
- [68] HOLMES M J, LEWIS R J. Purification and characterisation of large and small maitotoxins from cultured *Gambierdiscus toxicus*[J]. *Natural Toxins*, 1994, 2(2): 64-72.
- [69] MORTON S L, NORRIS D R, BOMBER J W. Effect of temperature, salinity and light-intensity on the growth and seasonality of toxic dinoflagellates associated with ciguatera[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1992, 157(1): 79-90.
- [70] VACARIZAS J, BENICO G, AUSTERO N, et al. Taxonomy and toxin production of *Gambierdiscus carpenteri* (Dinophyceae) in a tropical marine ecosystem: the first record from the Philippines[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 137: 430-443.
- [71] YOSHIMATSU T, TIE C, YAMAGUCHI H, et al. The effects of light intensity on the growth of Japanese *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae)[J]. *Harmful Algae*, 2016, 60: 107-115.
- [72] YAMAGUCHI H, TOMORI Y, TANIMOTO Y, et al. Evaluation of the effects of light intensity on growth of the benthic dinoflagellate *Ostreopsis* sp. 1 using a newly developed photoirradiation-culture system and a novel regression analytical method[J]. *Harmful Algae*, 2014, 39: 48-54.
- [73] KIBLER S R, TESTER P A, KUNKEL K E, et al. Effects of ocean warming on growth and distribution of dinoflagellates associated with ciguatera fish poisoning in the Caribbean[J]. *Ecological Modelling*, 2015, 316: 194-210.
- [74] VILLAREAL T A, HANSON S, QUALIA S, et al. Petroleum production platforms as sites for the expansion of ciguatera in the northwestern Gulf of Mexico[J]. *Harmful Algae*, 2007, 6(2): 253-259.
- [75] TESTER P A, FELDMAN R L, NAU A W, et al. Ciguatera fish poisoning and sea surface temperatures in the Caribbean Sea and the West Indies[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 698-710.
- [76] CHATEAU-DEGAT M L, CHINAIN M, CERF N, et al. Seawater temperature, *Gambierdiscus* spp. variability and incidence of ciguatera poisoning in French Polynesia[J]. *Harmful Algae*, 2005, 4(6): 1053-1062.
- [77] YOSHIMATSU T, YAMAGUCHI H, IWAMOTO H, et al. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of Japanese *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae)[J]. *Harmful Algae*, 2014, 35: 29-37.
- [78] CHINAIN M, GERMAIN M, DEPARIS X, et al. Seasonal abundance and toxicity of the dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae), the causative agent of ciguatera in Tahiti, French Polynesia[J]. *Marine Biology*, 1999, 135(2): 259-267.
- [79] FAUST M. Ciguatera-causing dinoflagellates in a coral-reef mangrove ecosystem, Belize[J]. *Atoll Research Bulletin*, 2009: 1-32.
- [80] PARSONS M L, SETTLEMIER C J, BIENFANG P K. A simple model capable of simulating the population dynamics of *Gambierdiscus*, the benthic dinoflagellate responsible for ciguatera fish poisoning[J]. *Harmful Algae*, 2010, 10(1): 71-80.
- [81] XU Y X, RICHLIN M L, LIEFER J D, et al. Influence of environmental variables on *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) growth and distribution[J]. *Plos One*, 2016, 11(4): e0153197.
- [82] USUP G, KULIS D M, ANDERSON D M. Growth and toxin production of the toxic dinoflagellate *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* in laboratory cultures[J]. *Natural Toxins*, 1994, 2(5): 254-262.
- [83] HOLMES M J, LEWIS R J, POLI M A, et al. Strain dependent production of ciguatoxin precursors (gambiertoxins) by *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) in culture[J]. *Toxicon*, 1991, 29(6): 761-775.
- [84] WANG B, YAO M M, ZHOU J, et al. Growth and toxin production of *Gambierdiscus* spp. can be regulated by quorum-sensing bacteria[J]. *Toxins*, 2018, 10(7): 257.
- [85] SAKAMI T, NAKAHARA H, CHINAIN M, et al. Effects of epiphytic bacteria on the growth of the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, 233(2): 231-246.
- [86] LITAKER R W, HOLLAND W C, HARDISON D R, et al. Ciguatoxicity of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species from the Caribbean and Gulf of Mexico[J]. *Plos One*, 2017, 12(10): e0185776.
- [87] CHINAIN M, DARIUS H T, UNG A, et al. Growth and toxin production in the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus polynesiensis* (Dinophyceae) in culture[J]. *Toxicon*, 2010, 56(5): 739-750.
- [88] TERNON E, PAVAUX A S, MARRO S, et al. Allelopathic interactions between the benthic toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* and a co-occurring diatom[J]. *Harmful Algae*, 2018, 75: 35-44.
- [89] SMITH K F, BIESSY L, ARGYLE P A, et al. Molecular identification of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* (Dinophyceae) from environmental samples[J]. *Marine Drugs*, 2017, 15(8): 243.
- [90] CHINAIN M, DARIUS H, GATTI C, et al. Update on ciguatera research in French Polynesia[J]. *SPC Fisheries Newsletter*, 2016, 150: 42-51.
- [91] YONG H L, MUSTAPA N I, LEE L K, et al. Habitat complexity affects benthic harmful dinoflagellate assemblages in the fringing reef of

- Rawa Island, Malaysia[J]. *Harmful Algae*, 2018, 78: 56-68.
- [92] CHINAIN M, FAUST M A, PAUILLAC S. Morphology and molecular analyses of three toxic species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae): *G. pacificus*, sp. nov., *G. australes*, sp. nov., and *G. polynesiensis*, sp. nov.[J]. *Journal of Phycology*, 1999, 35(6): 1282-1296.
- [93] NAKADA M, HATAYAMA Y, ISHIKAWA A, et al. Seasonal distribution of *Gambierdiscus* spp. in Wakasa Bay, the Sea of Japan, and antagonistic relationships with epiphytic pennate diatoms[J]. *Harmful Algae*, 2018, 76: 58-65.
- [94] SUGG L M, VANDOLAH F M. No evidence for an allelopathic role of okadaic acid among ciguatera-associated dinoflagellates[J]. *Journal of Phycology*, 1999, 35(1): 93-103.
- [95] SPARROW L, MOMIGLIANO P, RUSS G R, et al. Effects of temperature, salinity and composition of the dinoflagellate assemblage on the growth of *Gambierdiscus carpenteri* isolated from the Great Barrier Reef[J]. *Harmful Algae*, 2017, 65: 52-60.
- [96] BRUNSON J K, MCKINNIE S M K, CHEKAN J R, et al. Biosynthesis of the neurotoxin domoic acid in a bloom-forming diatom[J]. *Science*, 2018, 361(6409): 1356-1358.
- [97] JENKE-KODAMA H, SANDMANN A, MULLER R, et al. Evolutionary implications of bacterial polyketide synthases[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2005, 22(10): 2027-2039.
- [98] KOHLI G S, JOHN U, FIGUEROA R I, et al. Polyketide synthesis genes associated with toxin production in two species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae)[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 410.
- [99] PAWLOWIEZ R, MOREY J S, DARIUS H T, et al. Transcriptome sequencing reveals single domain Type I-like polyketide synthases in the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus polynesiensis*[J]. *Harmful Algae*, 2014, 36: 29-37.
- [100] KOHLI G S, CAMPBELL K, JOHN U, et al. Role of modular polyketide synthases in the production of polyether ladder compounds in ciguatera-toxin-producing *Gambierdiscus polynesiensis* and *G. excentricus* (Dinophyceae)[J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2017, 64(5): 691-706.
- [101] WU Z, LUO H, YU L Y, et al. Characterizing ciguatoxin (CTX)- and non-CTX-producing strains of *Gambierdiscus balechii* using comparative transcriptomics[J]. *Science of the Total Environment*, 2020: 717.
- [102] VAN DOLAH F M, MOREY J S, MILNE S, et al. Transcriptomic analysis of polyketide synthases in a highly ciguatoxic dinoflagellate, *Gambierdiscus polynesiensis* and low toxicity *Gambierdiscus pacificus*, from French Polynesia[J]. *Plos One*, 2020, 15(4): e0231400.
- [103] MORIN E, GATTI C, BAMBRIDGE T, et al. Ciguatera fish poisoning: incidence, health costs and risk perception on Moorea Island (Society archipelago, French Polynesia)[J]. *Harmful Algae*, 2016, 60: 1-10.
- [104] WU J J, MAK Y L, MURPHY M B, et al. Validation of an accelerated solvent extraction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for Pacific ciguatoxin-1 in fish flesh and comparison with the mouse neuroblastoma assay[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, 400(9): 3165-3175.
- [105] CHAN W H, MAK Y L, WU J J, et al. Spatial distribution of ciguateric fish in the Republic of Kiribati[J]. *Chemosphere*, 2011, 84(1): 117-123.
- [106] EDMUNDS J S G, MCCARTHY R A, RAMSDELL J S. Ciguatoxin reduces larval survivability in finfish[J]. *Toxicon*, 1999, 37(12): 1827-1832.
- [107] LI J, MAK Y L, CHANG Y H, et al. Uptake and depuration kinetics of Pacific ciguatoxins in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(7): 4475-4483.
- [108] BANNER A H, HELFRICH P, PIYAKARNCHANA T. Retention of ciguatera toxin by the red snapper, *Lutjanus bohar*[J]. *Copeia*, 1966, 1966(2): 297-301.

A Review on Multidisciplinary Research of Ciguatoxin and Toxin-Producing Benthic Dinoflagellates

CHAN Lai^{1,2,3}, WU Jia-jun^{1,2}, WANG Peng-bin^{4,5}

(1. State Key Laboratory of Marine Pollution, City University of Hong Kong, Hong Kong 999077 ;

2. Shenzhen Key Laboratory for the Sustainable Use of Marine Biodiversity, Research Centre for the Oceans and Human Health, City University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen 518057;

3. Department of Biomedical Sciences, City University of Hong Kong, Hong Kong 999077 ;

4. Key Laboratory of Marine Ecosystem Dynamics, Second Institute of Oceanography, MNR, Hangzhou 310012, China;

5. Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Resources, Environment and Sustainable Development, Fourth Institute of Oceanography, MNR, Beihai 536000, China)

Abstract: Ciguatoxins (CTXs), a family of highly oxygenated transfused cyclic polyether ladder toxins, are produced by some toxigenic phenotypes of benthic dinoflagellates in the genera *Gambierdiscus* and *Fukuyoa*. The toxins are biotransformed and accumulated in coral reef fishes via the marine food chain, resulting in the most frequent non-bacterial seafood poisoning syndrome-termed ciguatera poisoning. Consumption of fish contaminated by CTXs has caused gastrointestinal, cardiovascular and neurological symptoms and occasionally death in human consumers. Ciguatera poisoning is currently considered a globally neglected disease. Affected by global climate change and human activities, the geographic expansion of benthic dinoflagellates is obvious, frequent ciguatera poisoning events especially in Asian regions, has posed a significant threat to human health and ecosystem health. This article reviews the research on key issues and scientific achievements on CTX-producing benthic microalgae, focusing on the species diversity, chemical diversity, physiological and ecological study of the ciguatera causative dinoflagellates and the mechanisms of biosynthesis, biotransformation and accumulation of CTXs. This review also highlights areas that deserve special research focus going forward in Asia regions which is the potential ciguatera outbreak areas to better protect the ecological safety and resident health.

Key words: ciguatera poisoning; ciguatoxin; benthic dinoflagellates; *Gambierdiscus*

Received: June 30, 2022