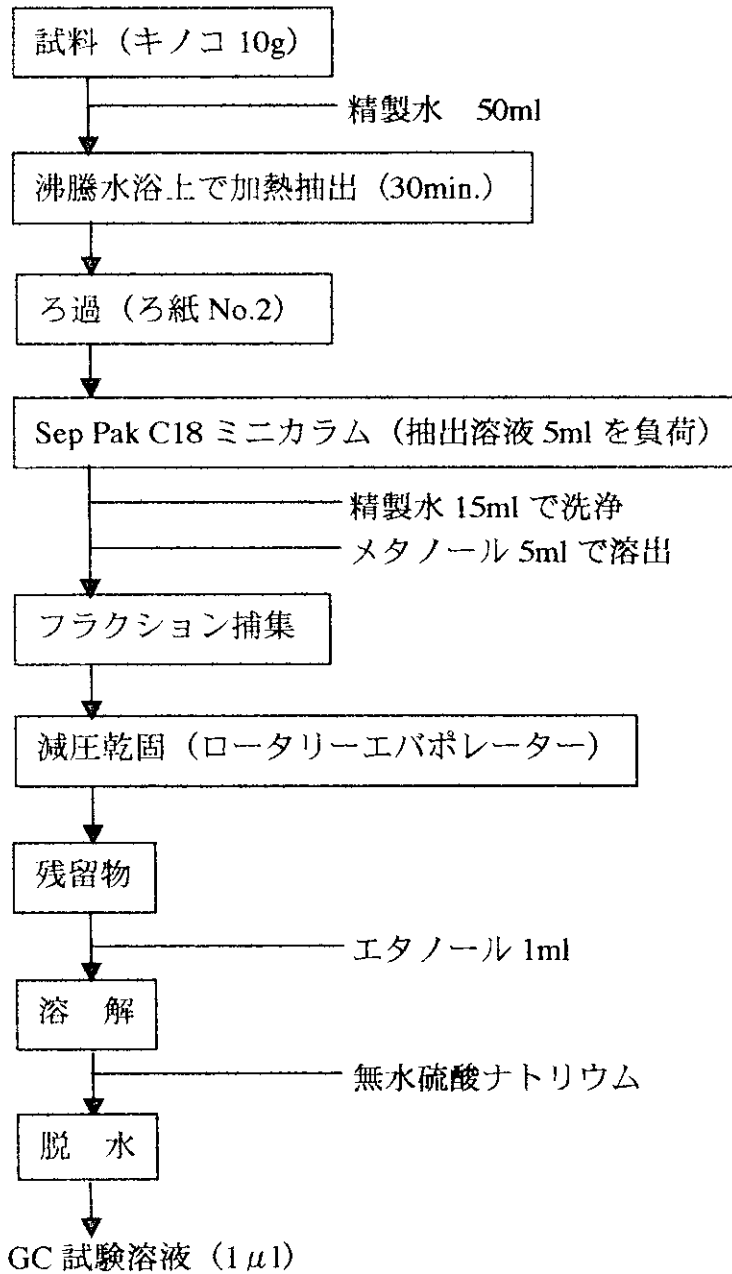
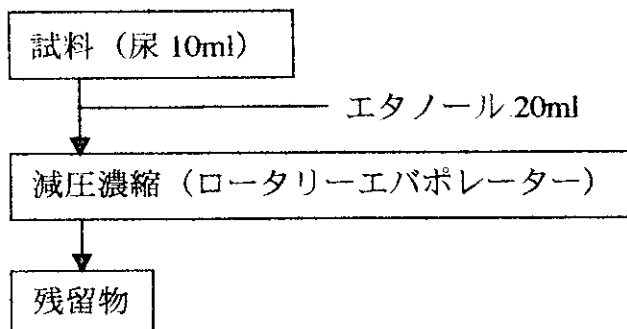


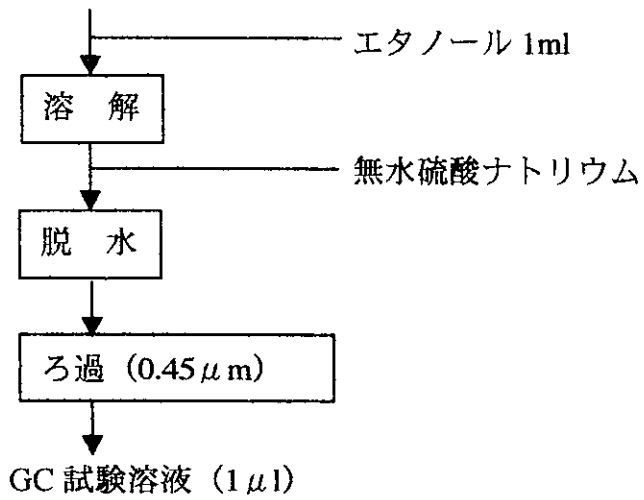
7. 操作法のフローチャート

(1)キノコからの試験溶液の調整

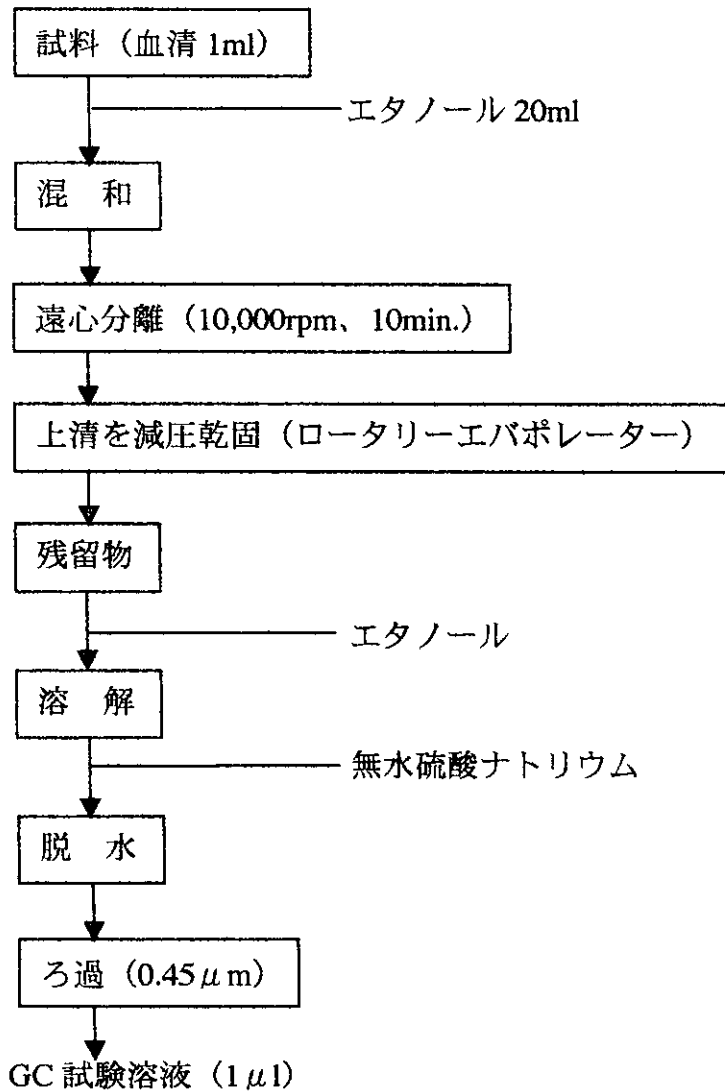


(2)-a 尿からの試験溶液の調整

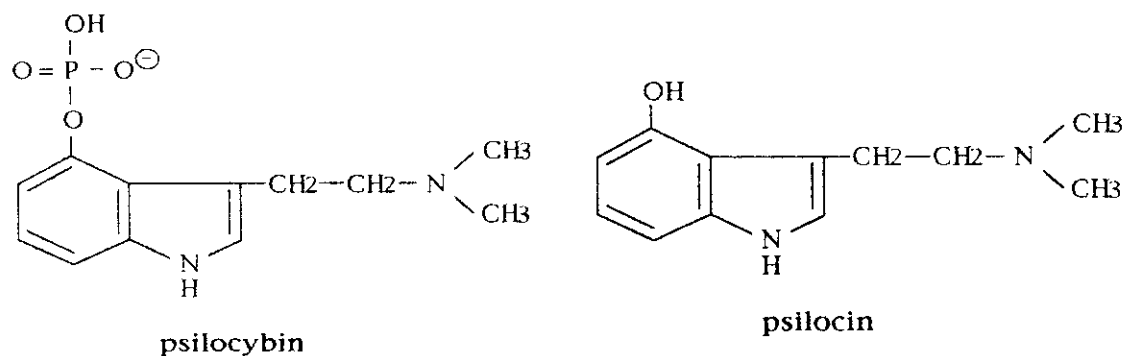




(2) -b 血清からの試験溶液の調整



プシロシピンおよびプシロシン試験法



1. 器具・装置

高速液体クロマトグラフ（フォトダイオードアレイ検出器）

上皿天秤：0.01 桁が表示できるもの

超音波発生装置

ロータリーエバポレーター

2. 試薬・試液

メタノール（高速液体クロマトグラフ用）

酢酸アンモニウム（試薬特級）

アンモニア水（試薬特級）

3. 標準品

プシロシンのみ市販されているが、輸入規制対象品のため入手困難。ただし、プシロシンの標準溶液（100 μ g/ml）が入手可能（要輸出承認）。

4. 試験溶液の調整

凍結乾燥したキノコを乳鉢で粉碎し、250 μ m のふるいを通す。これを約 20mg 量り取り、2ml のメタノールを加え、超音波発生装置で 15 分間抽出する。抽出液をろ過（ろ紙 No.2）し、約 400 μ l にまで減圧濃縮する。必要であればこの濃縮液を 0.2 μ m のメンブランフィルターでろ過し、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

下記操作条件で、高速液体クロマトグラフィーを行い、試験溶液のクロマトグラムのピーク検出時間と標準品（プシロシンのみ）のピーク検出時間を比較する。フォトダイオードアレイ検出器を用いた場合は、さらにピークのスペクトルを比較する。

操作条件

カラム 内径 4.6mm、長さ 250mm のステンレス管に粒径 5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲルを充填したもの（Spherisorb 5- μ m ODS-1（ウォーターズ）と同等

品)

カラム温度 室温

検出器 フォトダイオードアレイ検出器 (測定波長 230-350nm、モニター波長 269nm)

移動相 A液 0.3M 酢酸アンモニウム溶液 (アンモニア水で pH8 に調整)

B液 0.3M 酢酸アンモニウム添加メタノール

グラジエント条件 0-2分 (A液 100%) → 2-14分 (A液 100% → 5%)

移動相流量 2.0ml/分

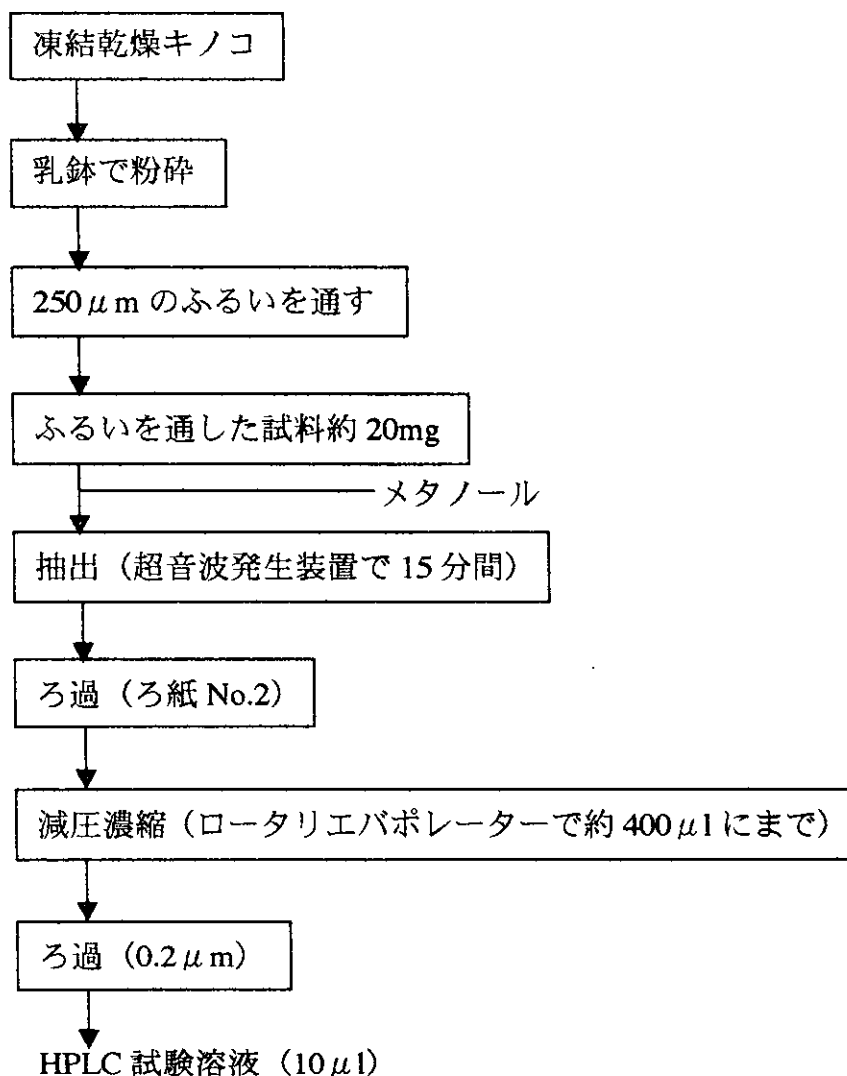
b 定量試験 (プシロシンのみ)

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高またはピーク面積法により定量を行う。

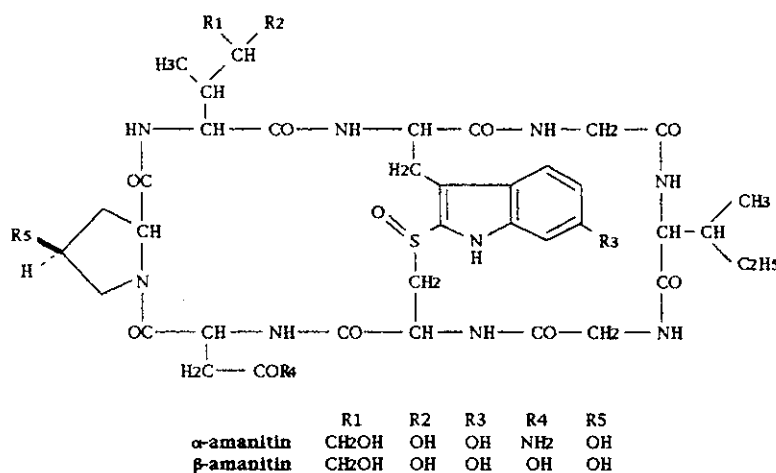
6. 出典

Borner, S. and Brenneisen, R., *J. Chromatogr.* 408, 402-408 (1987).

7. 操作のフローチャート



β-アマニチン



中毒量 0.4mg/Kg (マウス,ip)

中毒症状

	接種後の発現時間 (hr)	症 状	生化学的所見
第I期 (潜伏期)	6-12 (ときに48)	無症状	低血糖
第II期 (消化器障害期)	24-36	激しい嘔吐、胃痙攣、水様便、脱水症状、頻尿、電解質酸塩基異常、胃腸出血、DIC、黄疸	血液の凝固系異常、プロトロンビン時間短縮
第III期 (症状好転様期)	36- (12-24hr継続する)	症状の軽快 (回復と間違えやすい)	GOT、GPT急上昇、ビリルビン急上昇
第IV期 (腎不全期)	5-8日 (それ以上の例もある)	肝不全、脳疾患、乏尿、尿閉、腎不全、内出血、合併症、昏睡、死	血中クレアチニン上昇、血中リン酸塩低下

治療

胃腸の洗浄および活性炭の投与
利尿剤投与および血液透析によるアマトキシンの除去 (?)
早期にペニシリン、シメチジンなどの投与 (?)

この毒成分を含有する主なキノコ

ドクツルタケ、シロタマゴテングタケ、タマゴテングタケ

中毒発生状況

昭和63年から平成9年までの10年間に発生件数14件、患者数45名 (うち死者13名)

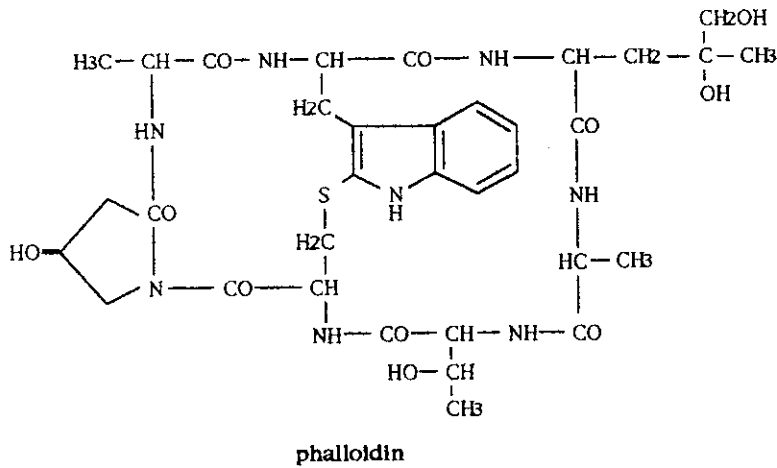
標準品

有り

分析法

HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器)
アマトキシンの(α-, β-アマニチン) およびファロトキシンの(ファロイジン) 一斉分析

ファロイジン



中毒量 2.0mg/Kg (マウス,ip)

中毒症状

	接種後の発現時間 (hr)	症 状	生化学的所見
第I期 (潜伏期)	6-12 (ときに48)	無症状	低血糖
第II期 (消化器障害期)	24-36	激しい嘔吐、胃痙攣、水様便、脱水症状、頻尿、電解質酸塩基異常、胃腸出血、DIC、黄疸	血液の凝固系異常、プロトロンビン時間短縮
第III期 (症状好転様期)	36- (12-24hr継続する)	症状の軽快 (回復と間違えやすい)	GOT、GPT急上昇、ビリルビン急上昇
第IV期 (腎不全期)	5-8日 (それ以上の例もある)	肝不全、脳疾患、乏尿、尿閉、腎不全、内出血、合併症、昏睡、死	血中クレアチニン上昇、血中磷酸塩低下

治療

胃腸の洗浄および活性炭の投与
利尿剤投与および血液透析によるアマトキシンの除去 (?)
早期にペニシリン、シメチジンなどの投与 (?)

この毒成分を含有する主なキノコ

ドクツルタケ、シロタマゴテングタケ、タマゴテングタケ

中毒発生状況

昭和63年から平成9年までの10年間に発生件数14件、患者数45名 (うち死者13名)

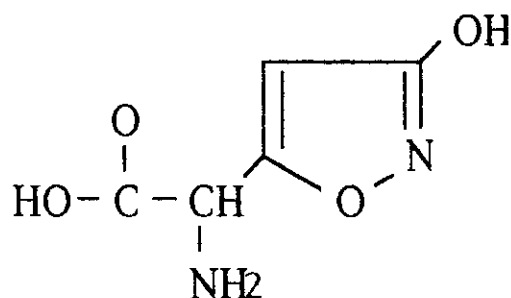
標準品

有り

分析法

HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器)
アマトキシンの(α-, β-アマニチン) およびファロトキシンの(ファロイジン) 一斉分析

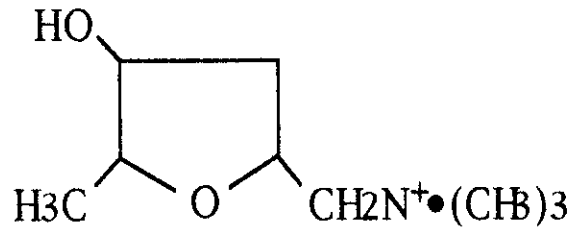
イボテン酸



ibotenic acid

中毒量	42mg/Kg (ラット, im) 129mg/Kg (ラット, po)
中毒症状	抗コリン様症状、すなわち異常な興奮、流涎、筋線維性痙攣などが現れる。しかしながら、イボテン酸自体の毒性は非常に弱く、その分解物であるムシモールの5～10分の1である。
治療	フィゾスチグミンの投与が効果的
この毒成分を含有する主なキノコ	ベニテングタケ、テングタケ
中毒発生状況	ベニテングタケおよびテングタケによる食中毒事例は、昭和63年から平成9年までの10年間に15件（患者数32名）発生している。
標準品	有り
分析法	HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器) ムシモールと同時分析

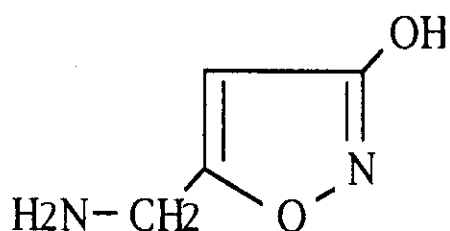
ムスカリン



muscarine

中毒量	500mg/Kg (ヒト, po) 5.0mg/Kg (マウス, ip) 0.23mg/Kg (マウス, iv)
中毒症状	副交感神経を興奮させ、症状として発汗、よだれ、血圧低下、縮瞳、呼吸困難など。ただし、クサウラベニタケの症状（嘔吐、下痢、腹痛）のうち嘔吐以外は、ムスカリン以外の毒成分であるといわれている。
治療	アトロピンなどの副交感神経遮断薬の投与が効果的
この毒成分を含有する主なキノコ	クサウラベニタケ、オオキヌハダトマヤタケ、シロトマヤタケ、コカブイヌシメジ、シロヒメカヤタケ
中毒発生状況	ムスカリンおよびその関連物質を含むキノコ（クサウラベニタケ、オオキヌハダトマヤタケ、シロトマヤタケ、コカブイヌシメジ）による食中毒事例は多く、昭和63年から平成9年までの10年間に発生件数119件、患者数595名を数える。
標準品	有り
分析法	GC (NPD)

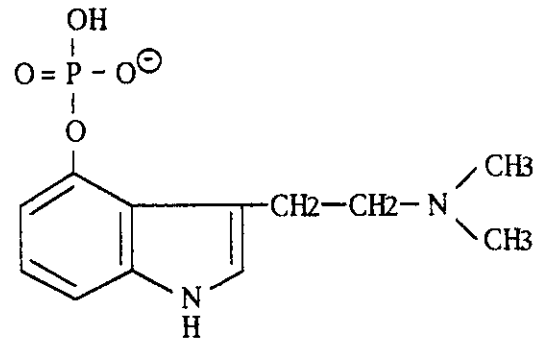
ムシモール



muscimol

中毒量	4.5mg/Kg (ラット, iv) 45mg/Kg (ラット, po) 17mg/Kg (マウス, po) 2.5mg/Kg (マウス, ip) 3.8mg/Kg (マウス, sc) 5.6mg/Kg (マウス, iv)
中毒症状	抗コリン様症状、すなわち異常な興奮、流涎、筋線維性痙攣などが現れる。ムシモールはイボテン酸の分解物で、中枢神経系における抑制性伝達物質の一つであるGABA (γ-アミノ酪酸) に作動性の物質である。その毒性は、イボテン酸の5~10倍。
治療	フィゾスチグミンの投与が効果的
この毒成分を含有する主なキノコ	ベニテングタケ、テングタケ
中毒発生状況	ベニテングタケおよびテングタケによる食中毒事例は、昭和63年から平成9年までの10年間に15件(患者数32名)発生している。
標準品	有り
分析法	HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器) イボテン酸と同時分析

プシロシビン



psilocybin

中毒量 280mg/Kg (ラット, iv)
420mg/Kg (マウス, ip)
275mg/Kg (マウス, iv)
12.5mg/Kg (ウサギ, iv)

中毒症状 プシロシビンは加水分解を受け、リン酸基がはずれプシロシンに変化する。そのプシロシンが中枢神経系の伝達物質セロトニンと拮抗的に作用して、幻覚（幻視、幻聴）および精神錯乱などの症状が発現する。

治療 摂食直後であれば胃・腸洗浄

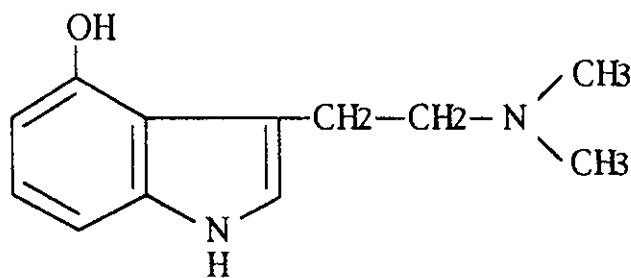
この毒成分を含有する主なキノコ ヒカゲシビレタケ、ワライタケ、シビレタケ、オオシビレタケ

中毒発生状況 プシロシビンを含むキノコ（ヒカゲシビレタケ、ワライタケ、シビレタケ、オオシビレタケ）による食中毒事例は、昭和63年から平成9年までの10年間に件数14件、患者数44名報告されている。

標準品 なし

分析法 HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器)
プシロシンと同時分析

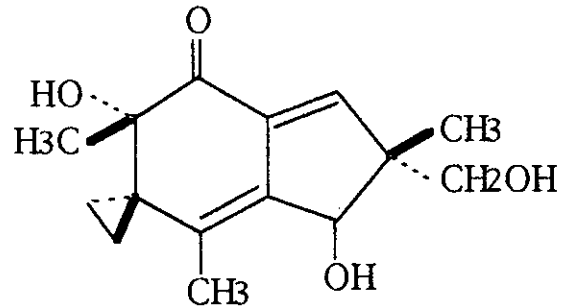
プシロシン



psilocin

中毒量	75mg/Kg (ラット, iv) 196mg/Kg (マウス, ip) 74mg/Kg (マウス, iv) 7mg/Kg (ウサギ, iv)
中毒症状	プシロシンは中枢神経系の伝達物質セロトニンと拮抗的に作用して、幻覚（幻視、幻聴）および精神錯乱などの症状が発現させる。プシロシンは、プシロシピンが加水分解を受け、リン酸基がはずれ変化したものの。
治療	摂食直後であれば胃・腸洗浄
この毒成分を含有する主なキノコ	ヒカゲシビレタケ、ワライタケ、シビレタケ、オオシビレタケ
中毒発生状況	プシロシピンを含むキノコ（ヒカゲシビレタケ、ワライタケ、シビレタケ、オオシビレタケ）による食中毒事例は、昭和63年から平成9年までの10年間に件数14件、患者数44名報告されている。
標準品	なし（輸入規制対象品で入手不可） ただし標準溶液（100μg/ml）は入手可能（要輸出承認）
分析法	HPLC（UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器） プシロシピンと同時分析

イルージンS (ランプトロール)



illudin S

中毒量 30mg/Kg (マウス, iv)

中毒症状 主に胃腸系中毒症状を呈し、初期には胃の不快感・無気力感など、後期には嘔吐・下痢が3～7日ほど続くことがある。ツキヨタケの毒性は強く、ほとんどの人が医師の手当を必要とする。

治療 摂食直後であれば胃・腸洗浄

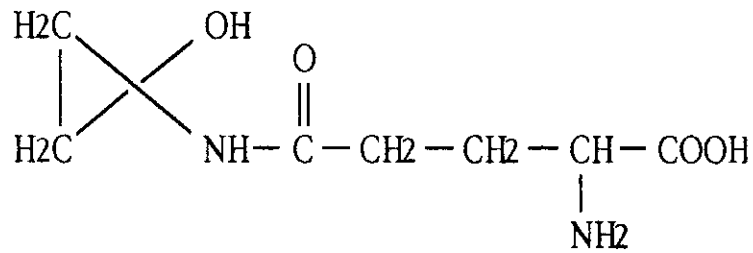
この毒成分を
含有する主な
キノコ ツキヨタケ

中毒発生状況 ツキヨタケによる食中毒事例は昭和63年から平成9年までの10年間で最も多く、発生件数128件、患者数629名で死者(2名)も報告されている。

標準品 なし

分析法 HPLC (UVあるいはフォトダイオードアレイ検出器)

コプリン



coprine

中毒量	報告なし
中毒症状	コプリンは加水分解を受けてアミノシクロプロパノールに変化し、アセトアルデヒド脱水素酵素を阻害する。従って、酒と一緒に摂取すると顔面・頸部・胸部等の紅潮、頭痛、心悸亢進といった悪酔い状態になる。
治療	摂食直後であれば胃・腸洗浄
この毒成分を含有する主なキノコ	ヒトヨタケ、ホテイシメジ
中毒発生状況	ホテイシメジによる食中毒事例は、昭和63年から平成9年までの10年間に件数2件、患者数2名報告されている。
標準品	なし
分析法	TLC

食中毒に関する魚介毒の種類とその分析法

研究協力者：塩見一雄
東京水産大学

食中毒に関与する魚介毒の種類とその分析法
塩見一雄（東京水産大学食品生産学科）

A. 研究目的

魚介毒による食中毒は、日本における全食中毒の中で発生件数は数%、患者数は1%以下とわずかであるが、フグ中毒のように死亡率が高いものがあり、死者数では60%以上も占めている。魚介毒による食中毒の予防ならびに食中毒発生の際の原因究明のためには、魚介毒に関するこれまでの知見の整理と分析法の確立が望まれる。本研究では、各都道府県の衛生研究所や保健所関係者の便宜のために、食中毒に関与する魚介毒に関するこれまでの知見のカード化ならびに分析法のヴィジュアル化（フローチャート化）を目的とした。

B. 研究方法

食中毒に関与する魚介毒として、フグ毒、シガテラ毒、魚卵毒、コイ毒、クルベオトキシシン、アオブダイ毒、ビタミンA、異常脂質、麻痺性貝毒、下痢性貝毒、記憶喪失性貝毒、神経性貝毒、アザスピロ酸、巻貝唾液腺毒、バイ毒、アワビ毒、オゴノリ毒およびヒスタミンの18種を選択した。ビタミンAや異常脂質は厳密な意味では自然毒とはいえないかも知れないが、厚生省の食中毒統計では自然毒として処理されているので取り上げた。また、ヒスタミンは微生物作用を受けて生成する物質で、厚生省の統計でもヒスタミンによる中毒は化学性食中毒として扱われているが、便宜のために加えた。各魚介毒について7つの項目（中毒原因種、中毒症状、中毒例、中毒原因毒、中毒量、中毒対策、分析法）を設定し、魚介毒に関する成書¹⁻⁴⁾のほか、魚介毒全般に関する総説⁵⁻⁹⁾あるいは個々の魚介毒に関する総説、学術論文などの各種文献を調査した。分析法については、毒性を直接確認できることからマウスを用いた生物試験法

が主流であり、わが国でもフグ毒、シガテラ毒、麻痺性貝毒および下痢性貝毒に対してはマウス試験法が公定法になっている¹⁰⁾。しかし、マウス試験法は精度が悪い、検出感度が低い、特異性に欠けるといった欠点があるばかりでなく、動物愛護の観点からも大きな問題を抱えている。将来的にはマウス試験法は毒性の最終チェックという目的に限って用いられることになると予想されるので、本研究ではマウス試験法に代わる分析法を調査した。なお、研究目的としてはLC/MSやアイソトープを用いた分析法は有用であるが、ここでは一般的な研究室でも分析ができることを念頭に置き、特殊装置や特殊設備を必要としないHPLC法を中心としたできるだけ簡便な方法に限定することとした。

C. 研究結果

18種魚介毒について設定した7項目の調査結果は、各魚介毒別に文献も加えて別添のようにまとめた。各魚介毒についてすべての項目が満たされたわけではないが、食中毒に関与する魚介毒のこれまでの知見のカード化の基礎資料はできたと考える。一方、分析法については一部魚介毒での調査にとどまったばかりでなく、ヴィジュアル化の目的も達成できなかった。この点については今後の調査で補充していきたい。

文献

- 1) 橋本芳郎: 魚貝類の毒, 学会出版センター, 東京, 1977.
- 2) 白井祥平: 有毒有害海中動物図鑑, マリン企画, 東京, 1984.
- 3) 野口玉雄: フグはなぜ毒をもつのか, 日本放送

出版協会, 東京, 1996.

4) 塩見一雄, 長島裕三: 海洋動物の毒ーフグからイソギンチャクまでー. 成山堂, 東京, 1997.

5) 安元 健: 海産毒の分析と応用. 化学と生物 27, 401-406 (1989).

6) 野口玉雄: マリントキシンの最近の研究動向. 衛生化学 39, 81-93 (1993).

7) Yasumoto T, Fukui M, Sasaki K, Sugiyama K: Determination of marine toxins in food. J AOAC Int 78, 574-582 (1995).

8) Scoging AC: Marine biotoxins. J Appl Microbiol 84, 41S-50S (1998).

9) 塩見一雄: 海洋動物の毒. 日救急医学会誌, 10, 4-27 (1999).

10) 安元 健: 動物毒. 食品衛生検査指針理化学編 (厚生省生活衛生局監修), 日本食品衛生協会, 東京, 1991, pp 296-313.

1. フグ毒

中毒原因種：フグ目魚類のなかのフグ科魚類に限られ、ウチワフグ科、ハコフグ科、ハリセンボン科のフグによる中毒の心配はない。フグ科でも、カワフグ、クマサカフグ、サバフグのようにすべての組織が無毒のものもいる。有毒種でも毒性には著しい種類差、個体差、組織差、季節差がみられる。組織別にみると一般的には卵巣と肝臓の毒性がとくに高く筋肉は無毒であるが、サバフグと類似したドクサバフグのように筋肉の毒性が中毒を起こすほど高い種類もいる。なおフグ毒は、両生類のカリフォルニアイモリ¹⁾、*Atelopus* 属のカエル²⁾、魚類のツムギハゼ³⁾、棘皮動物のモミジガイ類⁴⁾、節足動物のオウギガニ類⁵⁾、カブトガニ⁶⁾、軟体動物のヒョウモンダコ⁷⁾、ボウシュウボラ⁸⁾、バイ⁹⁾、扁形動物のツノヒラムシ類¹⁰⁾、紐形動物のヒモムシ類¹¹⁾、紅藻ヒメモサズキ類¹³⁾、¹⁴⁾ など、フグ類のほかにも自然界に広く分布することが知られており、このうち食用種であるバイやボウシュウボラは中毒原因となる。

中毒症状：中毒症状は食後 20 分から 3 時間で現れ、まず唇、舌先のしびれ、次いで指先のしびれが続く。頭痛、腹痛、腕痛などを伴うこともある。歩行はしだいに千鳥足となり、激しい嘔吐が続く、その後まもなく運動不能となる。知覚麻痺、言語障害も著明になり、血圧降下、呼吸困難、チアノーゼを伴って意識が混濁し、意識消失後に死に至る。致死時間は 4~6 時間と早い。

中毒例：中毒例は非常に多く、魚介毒による食中毒の発生件数の 80% 以上、死者数の 95% 以上に達し、さらに全食中毒死者の約 60% を占めている。中毒死者数は最近減少し、毎年数人になっているが、それでも中毒発生件数は年間 30 件前後、患者数は 40~50 人と横ばい状態である。都道府県別にみると中毒は兵庫県、福岡県、大阪府、広島県など西日本の瀬戸内海沿岸で多発し、季節別にはフグの旬である冬季が最も多い。フグ以外では、ボウシュウボ

ラ⁸⁾ やバイ⁹⁾、¹⁰⁾ が餌からフグ毒を取り込んで毒化し、中毒を引き起こした例もある。

中毒原因物質：主要な毒成分はテトロドトキシン (TTX) で、4-エピ TTX、6-エピ TTX、4,9-アンヒドロ TTX などの関連毒も微量ではあるが検出されることが多い (図 1-1)。TTX は神経や骨格筋のナトリウムチャンネルをブロックする神経毒で、細胞外から細胞内へのナトリウムイオンの流入を阻止し、結果として麻痺を引き起こす。

中毒量：TTX のヒトに対する致死量は約 10,000MU (1MU は体重 20g の ddY 系雄マウスを 30 分で死亡させる毒量と定義されている) と推定されている。ちなみに、1MU は TTX 0.2 μ g に相当し、青酸カリの 1,000 倍以上の毒性である。

中毒対策：10MU/g 未満の毒性 (1,000g までなら食べても死亡しない毒性) であれば無毒とされている。昭和 58 年 12 月に厚生省は、これまでのデータを考慮してフグ食用のガイドライン (処理などにより人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類および部位) を作成し、中毒防止に努めている。

分析方法：フグ毒の HPLC 分析法は Nagashima et al.¹⁵⁾ や Yotsu et al.¹⁶⁾ によって開発され、すでに確立した方法として広く利用されている。分析装置の概略を図 1-2 に示す。原理としては検液をまず ODS カラム (例えば Merck の LichroCart Superspher 100RP-18(e) や野村化学の Develosil ODS) に注入し、移動相にヘプタンスルホン酸などのイオンペア試薬を加えたイオンペア法で TTX およびその関連毒を分離する。次いでカラムからの溶出液を強アルカリと混合し、反応槽で一定時間加熱してフグ毒から生じた蛍光物質を蛍光検出するというものである。試料からの抽出方法はマウス試験法の場合と同様で、試料に 2~4 倍量の 0.1% 酢酸を加えて沸騰湯浴中で 10 分間加熱し、冷却後遠心分離する。得られた上清をモルカット

10,000 や 3,000 の限外ろ過フィルター（例えば Millipore 社のウルトラフリー C3 シリーズ）でろ過して検液とし、カラムに注入する。

Nagashima et al.¹⁵⁾ の方法に準じて分析したときの典型的なクロマトグラムを図 1-3 に示すが、TTX、4-エピ TTX、4,9-アンヒドロ TTX が良好に分離されている。通常の試料ではこれら 3 成分が分析できればよいが、南方産のフグなどではほかの同族体の含量もある程度高く、しかも 6-エピ TTX は TTX と保持時間が同じであるばかりでなく、TTX と比べてモルあたりの蛍光強度が 8 倍も強いので大きな誤差の原因となる。各種同族体の分離がさらに必要な場合は、分析時間が多少長くなるが溶媒系、反応温度などを改良した Yotsu et al.¹⁶⁾ の方法が適している。

HPLC 分析にとって必要な TTX 標品は市販品を購入できる。TTX 同族体は市販されていないが、図 1-3 のクロマトグラムを参考にすれば見当がつくと思われる。HPLC での TTX の定量限界は約 10ng (0.05MU に相当する) で、食用の可否の目安となる 10MU/g の毒性を測定するには十分である。

HPLC 法以外に、感度の高い方法としてマウス神経芽細胞を用いる生物試験法が報告されている¹⁷⁻²²⁾。神経芽細胞をベラトリジン（ナトリウムチャンネル活性化剤）とウワバイン（Na⁺/K⁺ ATPase 阻害剤）とともに培養すると、ナトリウムイオンが細胞内に過剰流入して細胞は膨張して死亡するが、ここに TTX のようなナトリウムチャンネルブロッカーが存在するとベラトリジンの作用が抑制され細胞は生存する。TTX 濃度と生細胞数との間には相関が認められ、生細胞数から TTX 濃度を測定できる。当初は生細胞数を顕微鏡下で計測していたが¹⁷⁾、細胞の生死を染色で判定し、染色の程度を比色定量することによって測定する方法に改善され、マイクロプレートリーダーによる自動計測が可能になっている¹⁸⁻²²⁾。染色試薬にテトラゾリウム塩を用いる方法では、TTX の検出限界はわずか 20pg で、マウス試験法の約 10,000 倍の感度である²²⁾。なお、本方法に準じた測定キットがカナダ

の Jellott Biotek 社から MIST (Maritime in vitro shellfish test) kit という商品名で市販されている。kit の名称からもわかるように、本法は TTX に特異的というわけではなく、麻痺性貝毒のようなほかのナトリウムチャンネルブロッカーと識別できないことが難点である。

文献

- 1) Mosher HS, Fuhrman FA, Buchwald HD, Fisher HG: Tetrodotoxin-tetrodotoxin: a potent neurotoxin. *Science* 144, 1100-1110 (1964).
- 2) Kim YH, Brown GB, Mosher HS, Fuhrman FA: Tetrodotoxin: occurrence in atelopid frogs of Costa Rica. *Science* 189, 1151-1152 (1975).
- 3) Noguchi T, Hashimoto Y: Isolation of tetrodotoxin from a goby *Gobius criniger*. *Toxicon* 11, 305-307 (1973).
- 4) Noguchi T, Narita H, Maruyama J, Hashimoto K: Tetrodotoxin in the starfish *Asteropecten polyacanthus*, in association with toxication of a trumpet shell "Boshubora" *Charonia sauliae*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 48, 1173-1177 (1982).
- 5) Noguchi T, Uzu A, Koyama K, Hashimoto K: Occurrence of tetrodotoxin as the major toxin in xanthid crab *Atergatis floridus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 49, 1887-1892 (1983).
- 6) Kungsuwan A, Nagashima Y, Noguchi T, Shida Y, Suvapeeraporn S, Suwansakornkul P, Hashimoto K: Tetrodotoxin in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* inhabiting Thailand. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53, 261-266 (1987).
- 7) Scheumack DD, Howden MEH, Spence I, Quinn RJ: Maculotoxin: a neurotoxin from the venom glands of the octopus *Hapalochlaena maculosa* identified as tetrodotoxin. *Science* 199, 188-189 (1978).
- 8) Narita H, Noguchi T, Maruyama J, Ueda Y, Hashimoto K, Watanabe Y, Hida K: Occurrence

- of tetrodotoxin in a trumpet shell "Boshubora" *Charonia sauliac*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47, 935-941 (1981).
- 9) Noguchi T, Maruyama J, Ueda Y, Hashimoto K, Harada T: Occurrence of tetrodotoxin in the Japanese ivory shell *Babylonia japonica*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47, 909-913 (1981).
- 10) Yasumoto T, Oshima Y, Hosaka M, Miyakoshi S: Occurrence of tetrodotoxin in the ivory shell *Babylonia japonica* from Wakasa Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi* 47, 929-934 (1981).
- 11) Miyazawa K, Jeon JK, Maruyama J, Noguchi T, Ito K, Hashimoto K: Occurrence of tetrodotoxin in the flatworm *Planocera multitentaculata*. *Toxicon* 24, 645-650 (1986).
- 12) Miyazawa K, Higashiyama M, Ito K, Noguchi T, Arakawa O, Shida Y, Hashimoto K: Tetrodotoxin in two species of ribbon worm (Nemertini), *Lineus fuscoviridis* and *Tubulanus punctatus*. *Toxicon* 26, 867-874 (1988).
- 13) Yasumoto T, Yasumura D, Yotsu M, Michishita T, Endo A, Kotaki Y: Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin. *Agric Biol Chem* 50, 793-795 (1986).
- 14) Yasumoto T, Nagai H, Yasumura D, Michishita T, Endo A, Yotsu M, Kotaki Y: Interspecies distribution and possible origin of tetrodotoxin. *Ann NY Acad Sci* 479, 44-51 (1986).
- 15) Nagashima Y, Maruyama J, Noguchi T, Hashimoto K: Analysis of paralytic shellfish poison and tetrodotoxin by ion-pairing high performance liquid chromatography. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 819-823 (1987).
- 16) Yotsu M, Endo A, Yasumoto T: An improved tetrodotoxin analyzer. *Agric Biol Chem* 53, 893-895 (1989).
- 17) Kogure K, Tamplin M, Simidu U, Colwell RR: A tissue culture assay for tetrodotoxin, saxitoxin and related toxins. *Toxicon* 26, 194-197 (1988).
- 18) Gallacher S, Birkbeck TH: A tissue culture assay for direct determination of sodium channel blocking toxins in bacterial culture supernates. *FEMS Microbiol Lett* 92, 101-108 (1992).
- 19) Jellett JE, Marks LJ, Stewart EJ, Dorey ML, Watson-Wright W, Lawrence JE: Paralytic shellfish poison (saxitoxin family) bioassays: automated endpoint determination and standardization of the in vitro tissue culture bioassay, and comparison with the standard mouse bioassay. *Toxicon* 30, 1143-1156 (1992).
- 20) Manger RL, Leja LS, Lee SY, Hungerford JM, Wekell MM: Tetrazolium-based cell bioassay for neurotoxins active on voltage-sensitive sodium channels: semiautomated assay for saxitoxins, brevetoxins, and ciguatoxins. *Anal Biochem* 214, 190-194 (1993).
- 21) Hamasaki K, Kogure K, Ohwada K: A biological method for the quantitative measurement of tetrodotoxin (TTX): tissue culture bioassay in combination with a water-soluble tetrazolium salt. *Toxicon* 34, 490-495 (1996).
- 22) Hamasaki K, Kogure K, Ohwada K: An improved method of tissue culture bioassay for tetrodotoxin. *Fisheries Sci* 62, 825-829 (1996).

2. シガテラ毒

中毒原因種：熱帯から亜熱帯海域、とくにサンゴ礁海域に生息する多くの魚が中毒原因となり、その数は数百種に及ぶといわれている。中でも問題となる魚種はウツボ科のドクウツボ、カマス科のドクカマス（オニカマス）、スズキ科のマダラハタ、バラ