

Scarus ovifrons. *Toxicon* **42**, 29-33 (2003)

Yasumoto, T., Murata, M. Marine toxins. *Chem. Rev.* **93**, 1897-1909 (1993).

G. 研究発表

1. 論文発表

相良剛史, 西堀尚良, 橋本多美子, 西尾幸郎. 徳島県産ニホンイモリの毒性について. *四国大学紀要*. **B-23**, 65-68 (2006).

西尾幸郎, 相良剛史, 黒田智久, 橋本多美子, 西堀尚良. 徳島県浅川湾産スベスベマンジュウガニの毒の性状. *四国大学紀要*. **B-23**, 59-64 (2006).

Nishibori, N., Kondo, R., Sagara, T., Nishio, S., Cyclin Box Sequence in *Skeletonema costatum*. *Bull. Shikoku Univ.* **B-23**, 65-66 (2006).

2. 学会発表

Nishio, S., Sagara, T., Nishibori, N. Study on LC-MS analysis of all PSP components by anion exchange and reversephase two column system. 7th Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial Toxin Cebu, October 25-29 (2005).

Sagara, T., Nishio, S., Nishibori, N., Taniyama, S., Takatani, T., Arakawa, O., Noguchi, T. Toxin profiles of xanthid crabs in the southwest Islands of Japan. 7th Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial Toxin Cebu, October 25-29

(2005).

Taniyama, S., Asakawa, M., Arakawa, O., Takatani, T., Kuroki, R., Sagara, T., Nishio, S., Miyazawa, K., Noguchi, T. Occurrence of four food poisoning incidents by palytoxin from Ostraciid fish in Japan. 7th Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial Toxin Cebu, October 25-29 (2005).

西尾幸郎, 相良剛史, 西堀尚良. 2004年播磨灘南東部に発生した *Alexandrium tamiyavanichii* について. 2005年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

西堀尚良, 相良剛史, 西尾幸郎. 渦鞭毛藻類の増殖にともなう細胞内ポリアミン含量の変化. 2005年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

谷山茂人, 浅川 学, 黒木亮一, 西尾幸郎, 相良剛史, 高谷智裕, 荒川 修, 宮澤啓輔, 野口玉雄. ハコフグ中毒に関連して-ハコフグ科魚類の毒性スクリーニング-. 2005年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

相良剛史, 西尾幸郎, 橋本多美子, 西堀尚良, 荒川修, 野口玉雄. 2004年10月四国東部沿岸におけるマガキ、ムラサキイガイの *Alexandrium tamiyavanichii* による毒化. 第89回日本食品衛生学会学術講演会, 東京, 5月19日-5月20日 (2005).

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

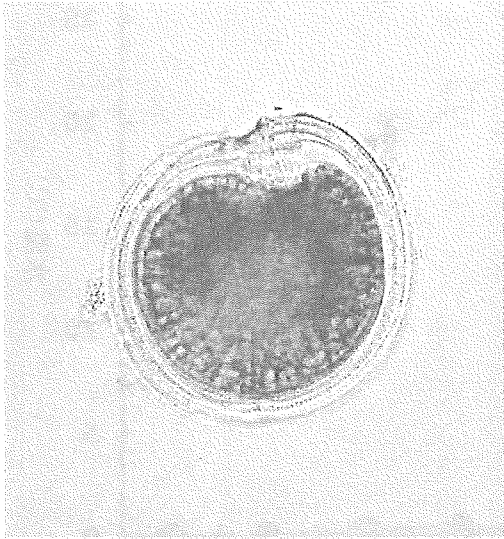
3. その他

なし

表2 培養条件

培地 :	ESM培地	
	Seawater	1000 ml
	Soil extract	30 ml
	Tris-aminomethane	1 g
	NaNO ₃	120 mg
	K ₂ HPO ₄	5 µg
	EDTA-Mn	330 µg
	EDTA-Fe	260 µg
	Vitamin B ₁	100 µg
	Vitamin B ₁₂	10 µg
	Biotin	1 µg
	pH	7.8~8.0
光強度 :	40 µmol photon/ m ² /s	
明暗周期 :	L:D=12 h:12 h	
培養温度 :	20°C	

(A)



(B)

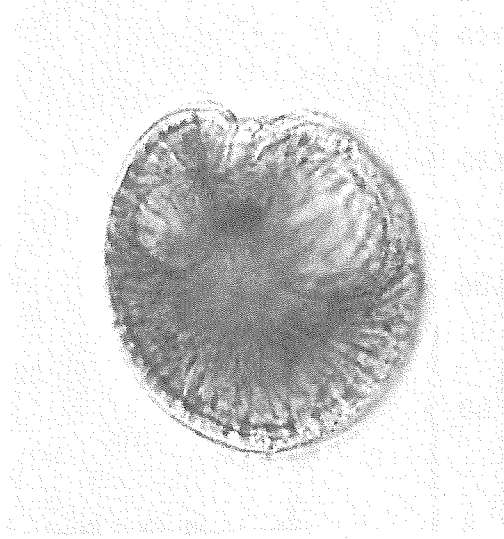


図 12 *Gambierdiscus* 属
(A: 高知県産; B: 徳島県産)

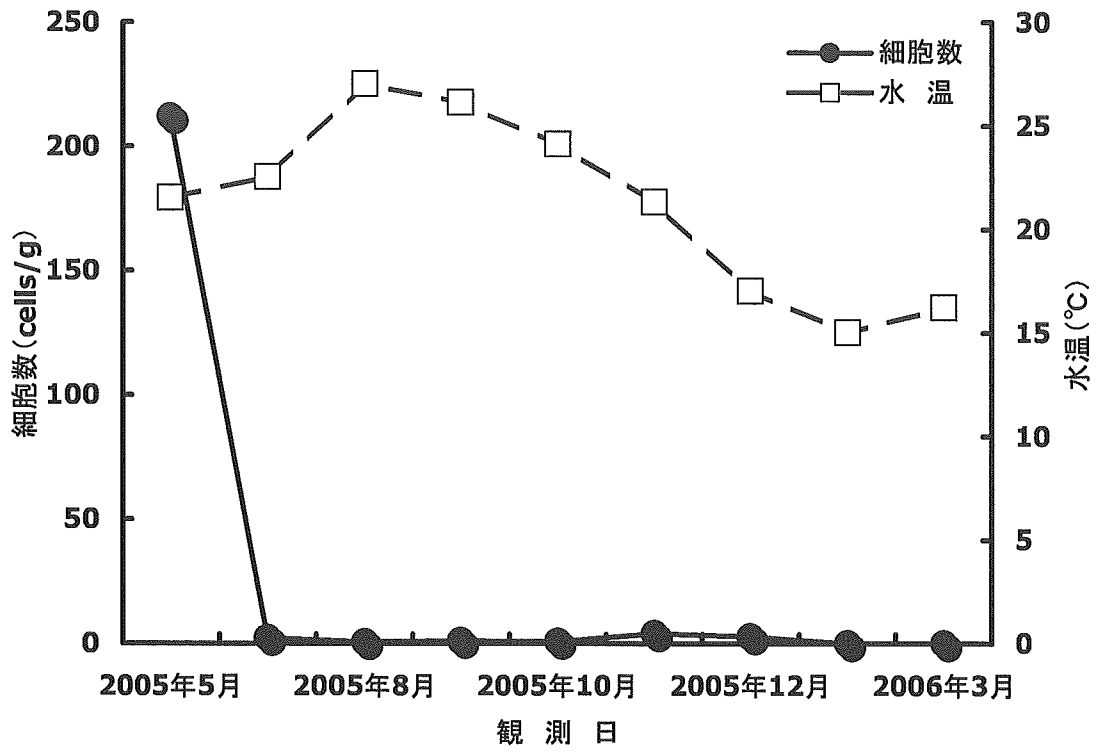


図13 高知県における *Gambierdiscus* 属の出現の推移

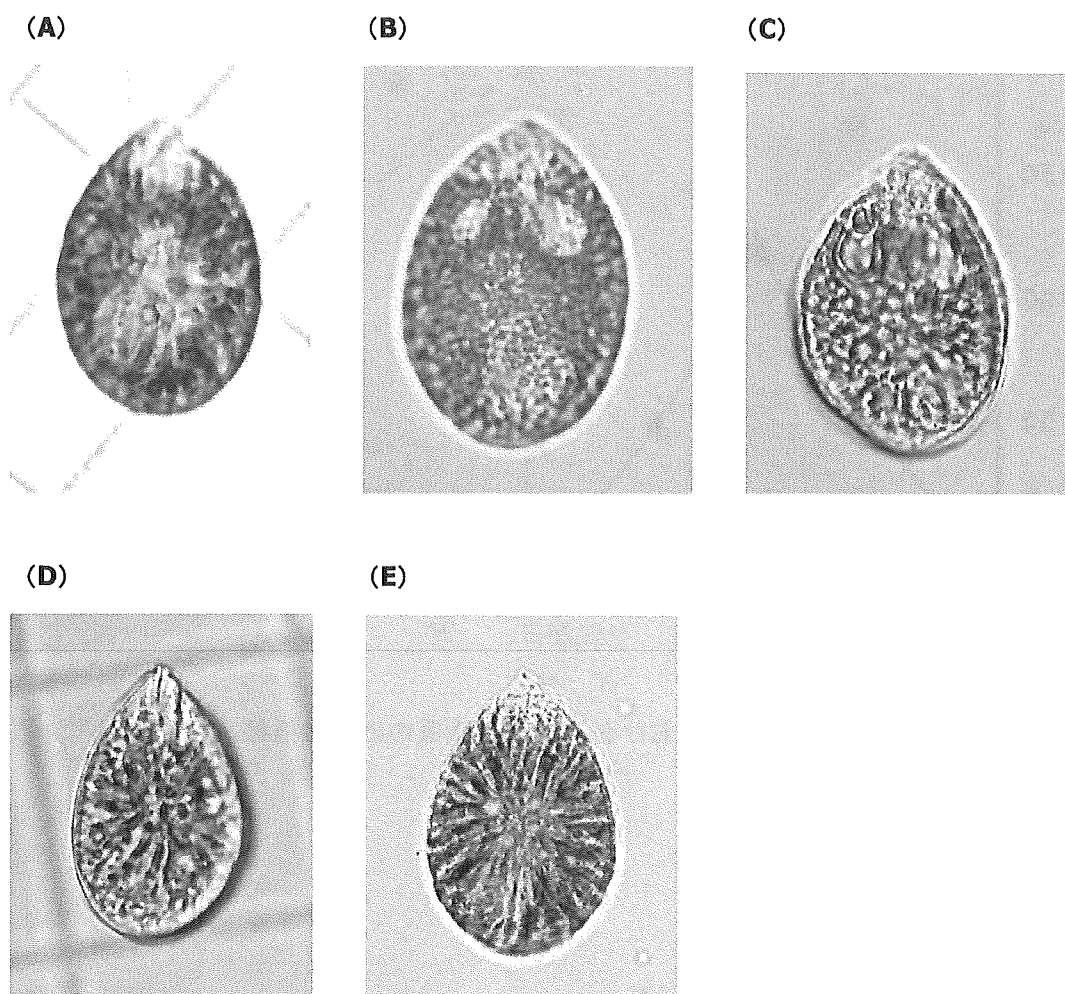


图 14 *Ostreopsis* 属

(A: 高知県産; B: 徳島県産; C: 長崎県産; D: 千葉県産; E: 宮崎県産)

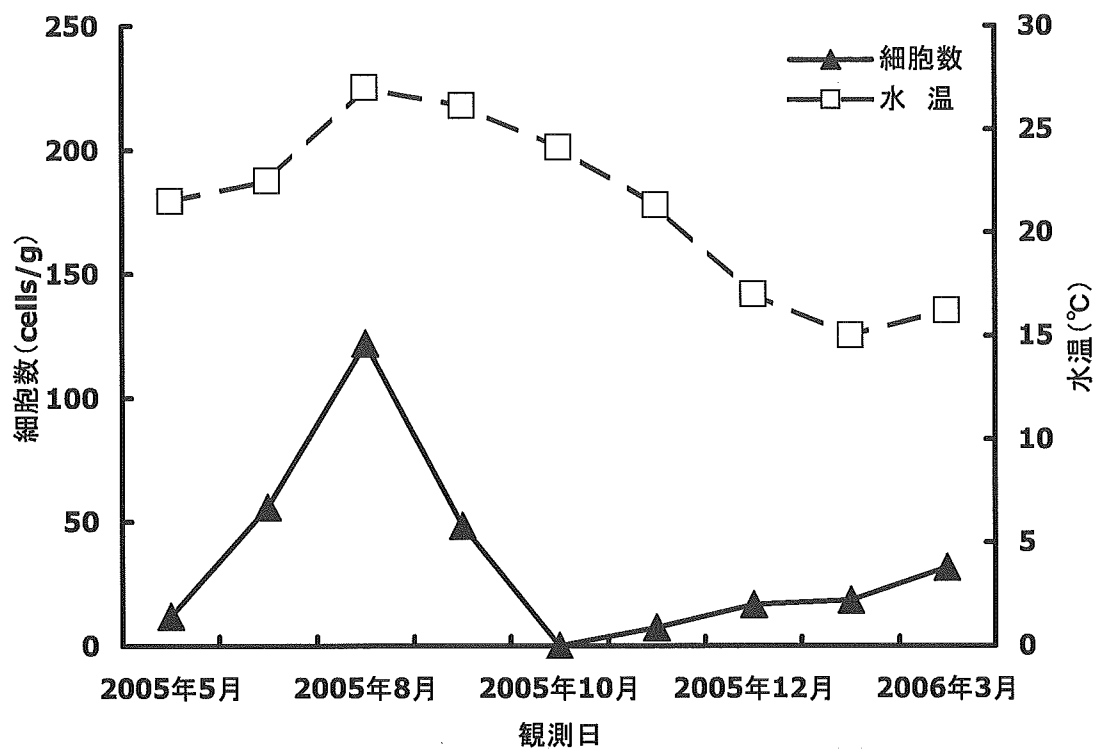


図15 高知県における *Ostreopsis* 属の出現の推移

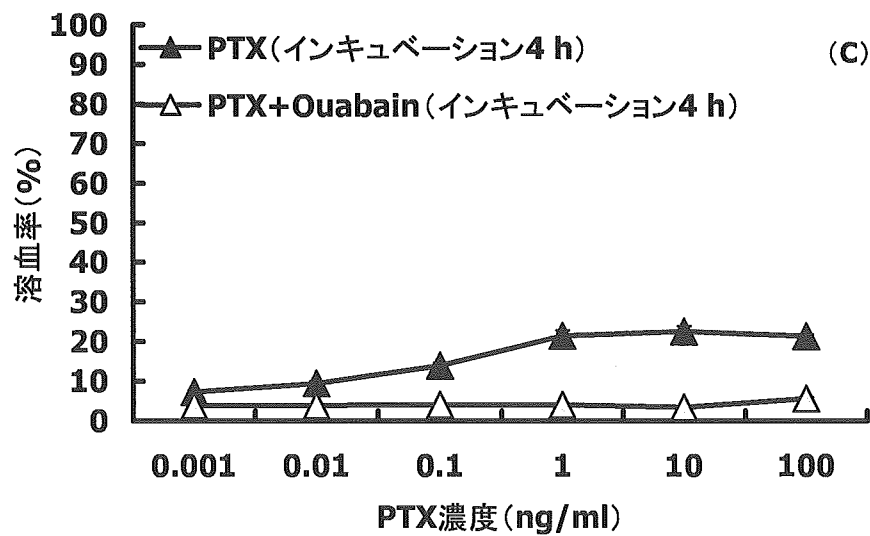
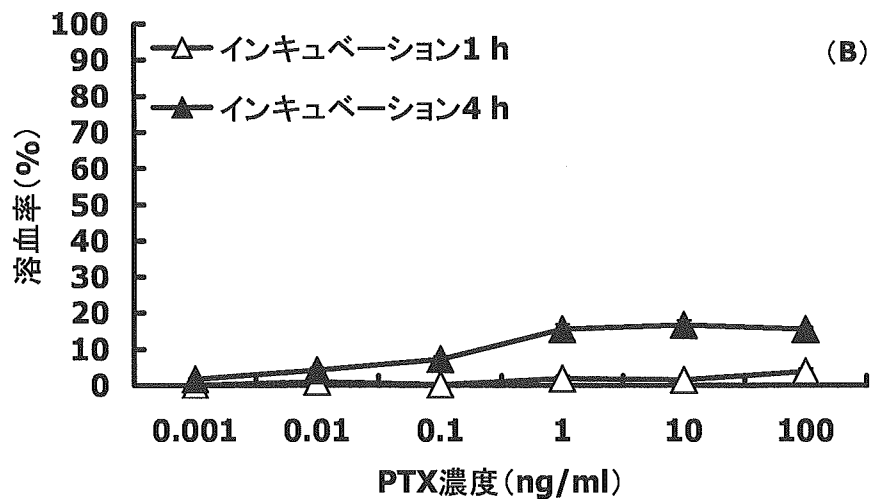
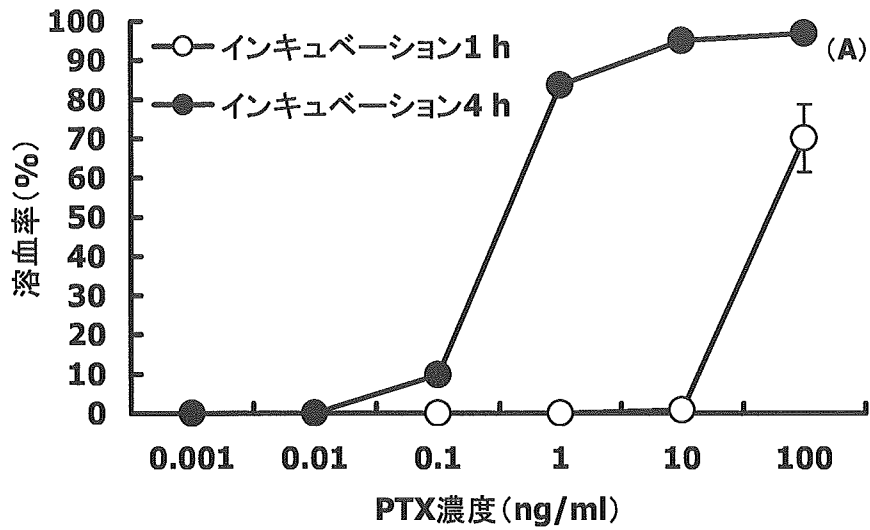


図16 PTX標準品のマウス(A)およびヒト(B)赤血球に対する溶血活性とウアバインによるヒト赤血球に対する活性の抑制(C)

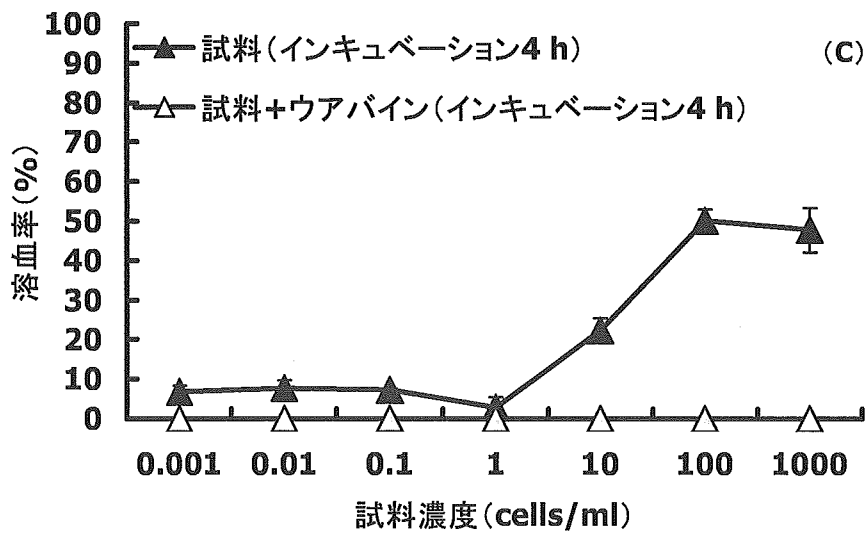
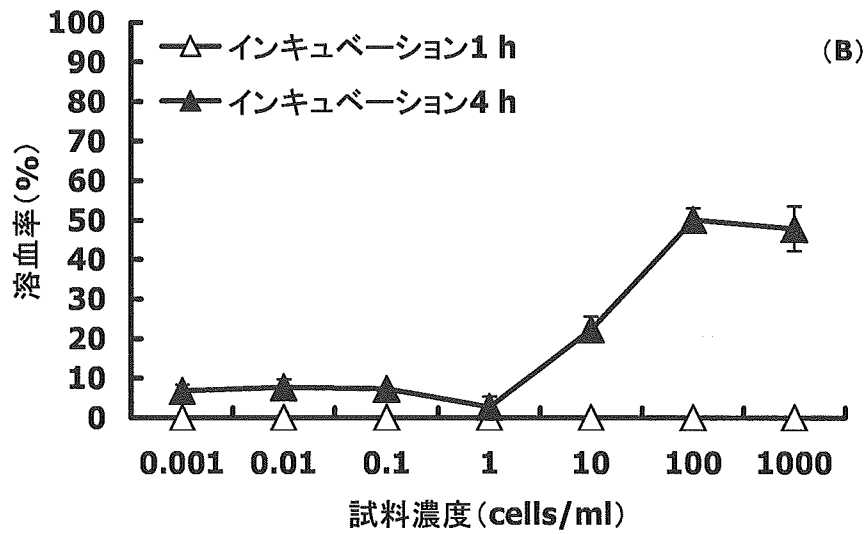
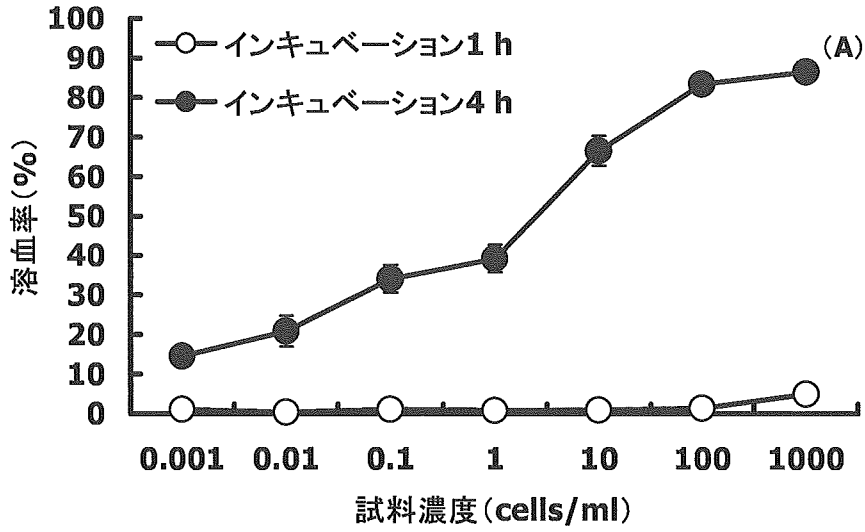


図17 長崎県産*Ostreopsis*属培養藻体のマウス(A)およびヒト(B)赤血球に対する溶血活性とウアバインによるヒト赤血球に対する活性の抑制(C)

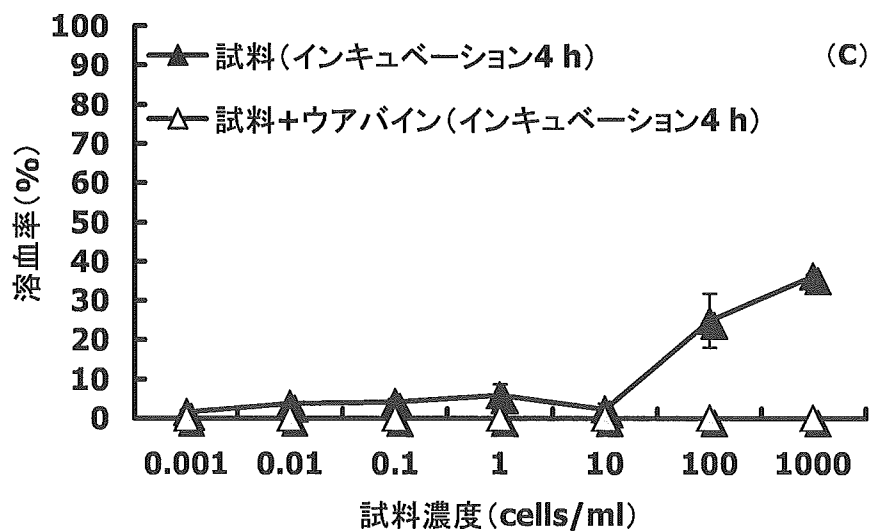
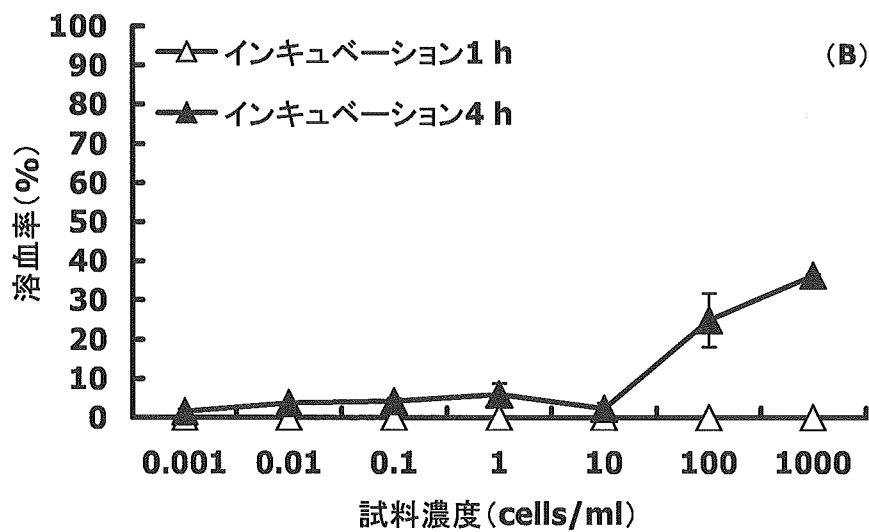
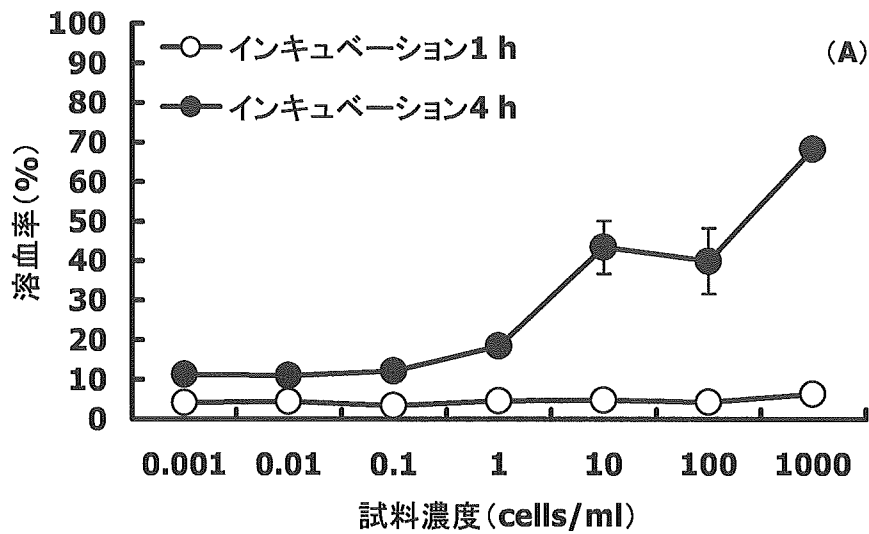


図18 長崎県産*Ostreopsis*属培養藻体のマウス(A)およびヒト(B)赤血球に対する溶血活性とウアバインによるヒト赤血球に対する活性の抑制(C)

分担研究報告書

魚介類に含まれる食中毒原因物質の分析法に関する研究

分担研究者 浅川 学 広島大学大学院生物圏科学研究科 助教授

研究要旨

当該研究事業では魚介類の食品としての安全性を確保し、国民の健康保護を図ることを目指して CTX 類および PTX 類を対象として、高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS）や飛行時間型質量分析計（TOF-MS）などの分析機器を用いた化学的手法による高感度で迅速、かつ簡便な「新規 CTX 類または PTX 類分析法」の開発を大目的とする。そこで、本分担研究ではその一環として国内外の食用魚介類につき毒性スクリーニングを実施し、その毒性の再評価を行った。

まず、国産魚類 19 検体、わが国に輸入が禁止されている外国産魚類 26 検体につき、シガトキシン(CTX)を対象として公定法であるマウス毒性試験に供した。また、同試料を用いて CTX 簡易検出キット Cigua-Check による試験も合わせて行った。次いで、国産アオブダイ 3 検体、ハコフグ 15 検体およびウミスズメ 9 検体を試料とし、パリトキシン(PTX)を対象としてマウスに対する致死活性ならびにマウスおよびヒト赤血球に対する溶血活性について調べた。他方、フィリピン国内に流通している魚類を入手し、同様に毒性や毒の性状について同様に検討を加えた。

外国産魚類 26 検体中アカマダラハタ 1 検体、アマダレドクハタ 1 検体、ユカタハタ 1 検体から Cigua-Check で陽性反応を示し、かつ脂溶性のマウス毒性が検出された。また、国産アオブダイ 1 検体、ハコフグ 6 検体、ウミスズメ 3 検体に PTX または PTX 様物質が含まれていると推察された。一方、フィリピン産魚類 10 検体（ゴマモンガラ、ブチブダイ、スジアラ属の魚類、その他未同定魚類）から脂溶性のマウス毒性が、同魚類 10 検体（ブチブダイ、イロブダイ、ヒブダイ、その他未同定魚類）から水溶性のマウス毒性が検出され、そのうち 5 検体は両者の毒性が含まれていることが示唆された。

従って、わが国では食用としての輸入や販売が禁止されている魚類が誤って輸入され、それらの一部は実際に CTX を保有していると考えられた。また、食用として九州などで汎用されているハコフグまたはその近縁種であるウミスズメもアオブダイと同様に PTX または PTX 様物質により毒化する可能性が明らかとなった。他方、フィリピン産魚類の特に干物は脂溶性の CTX と水溶性の毒性因子が複数存在していることが示され、これまで不明な点が多かったそれら魚類の毒性に新たな知見が見出された。

以上、国内外で流通または流通しうる魚類の毒性の再評価を行った。

A. 研究目的

熱帯や亜熱帯海域の主にサンゴ礁の周辺に生息する毒魚によって起こる死亡率の低い食中毒としてシガテラ中毒が知られている(橋本, 1979)。わが国では、奄美諸島や南西諸島を中心に発生し、これまで300名以上が中毒しているが、死者は出ていない。本中毒の潜伏時間は1~8時間と比較的早く、重症な場合、神経症状が著しくなり、特徴的な症状である温度感覚の異常(ドライアイスセンセーション)を伴う(野口ら, 1997)。回復は非常に遅く、完全回復には数ヶ月から数年を要することもある。シガテラ中毒の主因となる原因物質はシガトキシン(CTX)であり、その蓄積機構は有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* を起点とする食物連鎖であることが明らかとなっている(Scheuerら, 1967; Yasumoto と Murata, 1993; Badenら, 1995)。シガテラ中毒の原因となりうる有毒魚類は400種以上知られているが、実際に中毒を起こす種類は数十種で、このうちいくつかのものは食用として一般に食べられている。これは有毒渦鞭毛藻 *G. toxicus* の分布と魚類の生息海域が密接に関係していると考えられる。

1998年4月に宮崎県沿岸で釣ったイシガキダイ *Oplegnathus punctatus* の刺身等の喫食により10名が中毒し、そのうち9名はドライアイスセンセーションを呈していた。さらに、その残品(筋肉)から公定法により0.025 MU/gの毒性が検出されるとともに、S-EIA (stick enzyme immunoassay) ベースの簡易検出キット Cigua-Check™ (Oceanit Test System) において抗CTX抗体と顕著な陽性反応を示した。よって、本中毒は宮崎県産イシガキダイを原因魚とするシガテラ中毒であると考えられた。また、1998年11月には千葉県でも地場のイシガキダイによる同様のシガテラ中毒が発生してい

る。宮崎県および千葉県の本州沿岸は熱帯や亜熱帯海域から外れた温帯海域であり、これまでわが国の温帯海域に生息する魚類によるシガテラ中毒の報告例はなかった。従って、*G. toxicus* などのCTX産生能を有する有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属の分布が温帯海域である本州沿岸にまで拡大し、同海域の魚類が毒化する可能性が懸念されている。

他方、わが国ではこれまで西日本を中心にアオブダイ *Scarus ovifrons* を原因魚類とするフグ中毒やシガテラ中毒とは異なる特異な中毒が散発的に発生している。本中毒はアオブダイの筋肉や肝臓を喫食後、数時間から十数時間で横紋筋融解に由来する筋肉痛(横紋筋融解症)、呼吸困難、麻痺、痙攣などを呈し、しばしば筋肉崩壊と関連してミオグロビン尿(黒褐色の排尿)症を伴う(野口ら, 1997)。また、発症後数日で中毒患者の血清クレアチンホスオキナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼおよび乳酸脱水素酵素が異常に高いレベルを示し、最悪の場合、十数時間から数日で死に至る(野口ら, 1997)。本中毒はこれまで西日本を中心に少なくとも21件発生しており、77名が中毒し、そのうち6名が死亡している。本中毒の原因物質はNoguchiら(1987)によって猛毒パリトキシン(PTX)もしくはその類縁体であることが明らかにされており、その起源は有毒渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属であることが報告されている(Taniyamaら, 2003)。これまでわが国でのPTX様物質による食中毒は有毒なアオブダイのみが引き起こすと考えられていた。しかしながら、2000年10月~11月に高知県沿岸で採捕されたハタ科魚類を喫食した33名中11名が中毒し、患者らの主症状はアオブダイ中毒に酷似していた。さらに、その残品

(筋肉)からマウスに対する遅延性致死活性(0.5 MU/g)が検出されるとともに、マウスおよびヒト赤血球に対して抗 PTX 抗体もしくはウアバインにより特異的に抑制される遅延性溶血活性も認められたことから、本中毒の原因物質は PTX 様物質であると考えられた(Taniyamaら, 2002)。また、2001年1月に三重県でブダイ *Calotomus japonicus*(推定)により1件、2001年~2004年に三重県、宮崎県および長崎県でハコブグ科魚類により4件の同様の食中毒が相次いで発生した(谷山ら, 2003; 楠原ら, 2005)。このように、わが国における PTX 様物質による食中毒は多様化しており、今後もさらに進展する恐れがある。

従って国民の食用魚介類の安全性に対する不安は大きく、それを解消すべく、CTX や PTX 様物質に関する検査体制の徹底、また食用魚介類の毒性の再評価が求められている。現在、わが国では食用魚介類中の CTX の定量は中毒検体などを対象に公定法であるマウス毒性試験により不定期に実施されている。一方、PTX 様物質の検査法もマウス毒性試験が採用されているが、本法による毒性スクリーニングなど実施例はほとんどないのが現状である。これは1検体当たりの検査に多量の試料と労力、多くのマウスを要するにもかかわらず検出感度が低く特異性がないため、その管理や動物愛護の点からも問題の声が挙がっている。また、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)などを用いた化学的手法による CTX 類や PTX 類の分析に関する報告例も散見されるが、多方面で種々の改良が行われているにもかかわらず煩雑な操作や熟練を要し、なお且つ、いずれの毒も検出感度は悪く、未だ発展途上の段階である。

このような状況の下、当該研究事業では、魚

介類の食品としての安全性を確保し、国民の健康保護を図ることを目指して CTX 類および PTX 類を対象として、高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)や飛行時間型質量分析計(TOF-MS)などの分析機器を用いた化学的手法による高感度で迅速、かつ簡便な「新規 CTX 類または PTX 類分析法」の開発を大目的とする。そこで、本分担研究ではその一環としてとして国内外の食用魚介類につき毒性スクリーニングを実施し、その毒性の再評価を行った。

B. 研究方法

1) 試料

国産試料として1999年~2005年に漁獲されたバラフェダイ *Lutjanus bohar* 13検体、ソウシハギ *Aluterus scriptus* 3検体、バラハタ *Variola louti* 2検体、ヒメフェダイ *Lutjanus gibbus* 1検体(いずれも東京都市場衛生検査所より供与)を用いた(試料A群; 図13~16)。

また、わが国に輸入された外国産魚類のうち、食品衛生法により輸入や販売の禁止されている魚類であるミャンマー産アカマダラハタ *Epinephelus fuscoguttatus* 2検体、マダラハタ *E. polyphkadion* 3検体、インドネシア産アマダレドクハタ *Plectropomus oligacanthus* 3検体、リビア産ダスキーグルパー *E. marginatus* 1検体、リビア産ゴールデングルーパー *E. costae* 1検体、スリランカ産バラフェダイ *L. bohar* 1検体、また原産国が不明のスジアラ属 *P. pessuliferus* 3検体、アマダレドクハタ *P. oligacanthus* 2検体、コクハンアラ *P. laevis* 2検体、オオスジハタ *E. latifasciatus* 2検体、ヤイトハタ *E. salmonoides* 2検体、チャイロマルハタ *E.*

coioides 2 検体、ユカタハタ *Cephalopholis miniata* 1 検体、アカマダラハタ *E. fuscoguttatus* 1 検体を試料とした（いずれも関西空港検疫所または東京都市場衛生検査所より供与）（試料 B 群；図 17~26）。

次いで、1981 年、2004 年~2005 年に国内で採捕されたアオブダイ *S. ovifrons* 2 検体、ハコフグ *Ostracion cubicus* 15 検体、ウミスズメ *Lactoria diaphana* 9 検体を試料として用いた（試料 C 群；図 27~29）。

一方、2005 年にフィリピン国内の水産市場で購入したマダラハタ *E. polyphkadion* 2 検体、ゴマモンガラ *Balistoides viridescens* 1 検体、ブチブダイ *S. niger* 3 検体、イロブダイ *Bolbometopon bicolor* 1 検体、ヒブダイ *S. ghobban* 4 検体（そのうち 3 検体は合一）、アカテンモチノウオ *Cheilinus chlorourus* 2 検体、スジアラ属の魚類 *Plectropomus* sp. 2 検体、未同定魚類 5 検体を試料とした（試料 D 群；図 30~35）。ただし、フィリピン産魚類のうち、ブチブダイ *S. niger* 1 検体、イロブダイ *B. bicolor* 1 検体、ヒブダイ *S. ghobban* 4 検体、アカテンモチノウオ *C. chlorourus* 2 検体、スジアラ属の魚類 *Plectropomus* sp. 2 検体および未同定魚類 5 検体は干物であった。その他の供試魚類は鮮魚またはその凍結魚類であった。

試料 A 群と B 群については CTX を、試料 C 群は PTX を、試料 D 群は両者を対象として以下の試験に供した。

試料は入手後、直ちに凍結し、広島大学大学院生物圏科学研究科海洋生物資源化学研究室へ送付または持ち帰り、試験液の調製に供するまで -20℃ で保存し、供試の際、流水中で急速解凍した。

2) CTX を対象とした毒性試験

・マウス毒性試験

まず、食品衛生検査指針理化学編（厚生省環境衛生局監修，1991）シガテラ検査法に準拠して試験液を調製した。各試料 240 g にアセトン 700 ml を加えて 3 分間ホモジナイズし、減圧ろ過してろ液を抽出液とした。残渣については、同様の操作を 2 回繰り返してろ液を合一した。抽出液を減圧濃縮後、蒸留水：ジエチルエーテル（1：2）による溶媒分画に付し、ジエチルエーテル画分を減圧濃縮して 90%メタノール：n-ヘキサン（1：2）で脱脂した。次にメタノール画分を減圧濃縮して 1%Tween 生理食塩水 6 ml で溶解し、脂溶性画分の試験原液（40 g 試料相当量/ml）とした。

マウス毒性試験には ddY 系の雄で体重が 17~20 g のマウスを用いた。1 投与量に対しては 1 群 3 尾のマウスを用い、投与してから 24 時間後のマウスの生死を観察し、3 尾ともあるいは 3 尾中少なくとも 2 尾のマウスが死亡する最小濃度を求めた。毒力の表示は検体 1 g に含まれる毒力 (MU/g) で行った。ただし、本試験の 1 MU (マウス単位) は、供試マウス 1 尾を 24 時間で死亡させる毒量と定義される。

・Cigua-Check による試験

本試験は、Toxitec 社製 (USA) Fish Poison Test Kit である Cigua-Check を用いて、そのマニュアルに準拠して行った。まず、各試料から米粒大の筋肉または内臓を分取し、付属の試験片とともにメタノール中に 10 分間浸漬させた。次いで、試験片を 20 分間風乾し、抗 CTX 抗体と 10 分間反応後、試験片の呈色反応を観察した。

3) PTX を対象とした毒性試験

・マウス毒性試験

試験液の調製は Noguchi ら (1987) の方法に準拠した。まず、試料 (20 g) を筋肉、肝臓、消化管または肝臓と消化管を含む内臓に腑分け後、得られた各部位につき、3倍量の酢酸酸性 75%エタノール (pH 3.5) を加えて 5 分間ホモジナイズし、5000g で 15 分間遠心分離して上清を抽出液とした。残渣については、同様の操作を 2 回繰り返して上清を合一した。抽出液を減圧濃縮後、同量のジエチルエーテルで 2 回脱脂して得られた水面分を蒸留水 10 ml で定容して水溶性画分の試験原液 (2 g 試料相当量/ml) とした。

マウス試験には ddY 系の雄で体重が 17~20 g のマウスを用いた。1 投与量に対しては 1 群 3 尾のマウスを用い、投与してから 48 時間観察し、3 尾中 2 もしくは 3 尾のマウスが死亡する最小濃度を求めた。毒力の表示は CTX と同様に検体 1 g に含まれる毒力 (MU/g) で行った。ただし、本試験における 1 MU は供試マウス 1 尾を約 48 時間で死亡させる毒力と定義した。

・溶血活性試験

本試験では PTX を対象としたマウス毒性試験で調製した試験原液 (2 g 試料相当量/ml) を用いた。また、PTX 標準品 (和光純薬工業株式会社, 大阪) につき、2000 ng/ml、200 ng/ml、20 ng/ml、2 ng/ml、0.2 ng/ml、0.02 ng/ml に濃度調製し、本試験に供した。

本試験は既報の方法 (Habermann ら, 1981; Gleibs ら, 1995) に準拠した。まず、0.5 mM ホウ酸および 1.0 mM 塩化カルシウムを含むダルベッコリン酸緩衝液 (D-PBS) (Gibco BRL) で 2 回洗浄したマウス (ddY 系、雄、

体重 17~20 g) もしくは健康な成人男性から得られたヒトの血液に D-PBS を加え、0.5%マウスまたはヒト赤血球懸濁液とした。各試験液 50 μ l に 0.5%赤血球懸濁液 950 μ l をそれぞれ添加し、37°C で 1 または 4 時間インキュベーション後、900 g で 10 分間遠心分離し、得られた上清につき 405 nm で吸光度を測定した。また、1%サポニン溶液 50 μ l に 0.5%マウス赤血球懸濁液 950 μ l を添加し、インキュベーション 30 分後の溶血を完全溶血 100%として吸光度の比率から各試験液の溶血率を求めた。

C. 研究結果

1) CTX を対象とした毒性

試料 A 群からはマウス毒性を有する検体は得られなかったが、沖縄県産ヒメフエダイ 1 検体の筋肉と内臓は Cigua-Check による試験で陽性反応を示した (表 3)。

試料 B 群 26 検体中ミャンマー産アカマダラハタ 1 検体の筋肉から 0.025 MU/g、原産国不明のアマダレドクハタ 1 検体の筋肉から 0.025 MU/g、ユカタハタ 1 検体の筋肉から 0.05 MU/g のマウス毒性が検出され、いずれも Cigua-Check においても陽性であった (表 4)。一方、マウス毒性は検出されなかったが、ミャンマー産アカマダラハタ 1 検体の筋肉、同国産マダラハタ 1 検体の筋肉、また原産国不明のスジアラ属の魚類 3 検体、同アマダレドクハタ 1 検体、同コクテンアラ 2 検体、同オオスジハタ 2 検体、同ヤイトハタ 2 検体、同チャイロマルハタ 2 検体、同アカマダラハタ 1 検体のそれぞれ筋肉が Cigua-Check で陽性または弱陽性反応を示した (表 4)。

他方、試料 D 群 18 検体中、ゴマモンガラ

1 検体（鮮魚）、ブチブダイ 2 検体（それぞれ鮮魚と干物）、イロブダイ 1 検体（干物）、スジアラ属の魚類 2 検体（いずれも干物）、未同定魚類 4 検体のそれぞれ筋肉のマウス毒性 (0.025~0.05 MU/g) が検出され、Cigua-Check に対しても陽性または弱陽性であった（表 5）。それらの他に、マダラハタ 1 検体の筋肉と内臓、マダラハタ 1 検体（鮮魚）の筋肉、ゴマモンガラ 1 検体（鮮魚）の内臓、ブチブダイ 2 検体（いずれも鮮魚）の内臓、ヒブダイ 4 検体（いずれも干物）の筋肉、アカテンモチノウオ 2 検体（いずれも干物）の筋肉、未同定魚類 1 検体（干物）の筋肉も Cigua-Check 反応は陽性または弱陽性であった（表 5）。

3) PTX を対象とした毒性

試料 C 群 27 検体のうち徳島県産アオブダイ 1 検体の肝臓からマウス毒性 0.5 MU/g が検出された（表 6）。長崎県産ハコフグ 2 検体の筋肉、肝臓および消化管、同 1 検体の肝臓と消化管、同 2 検体の消化管、宮崎県産ハコフグ 1 検体の筋肉、および宮崎県産ウミスズメ 3 検体の消化管もマウスに対する致死活性 (0.25~1.0 MU/g) を示した（表 6）。また、試料 D 群のブチブダイ 1 検体、イロブダイ 1 検体、ヒブダイ 1 検体とその 3 検体の合一試料、アカテンモチノウオ 2 検体、未同定魚類 4 検体（いずれも干物）の筋肉からも 0.5~2.0 MU/g の毒性が検出された（表 5）。

一方、PTX 標準品はインキュベーション 4 時間において、マウス赤血球に対して濃度 0.1 ng/ml 以上で、ヒト赤血球に対しては濃度 0.01 ng/ml 以上で溶血活性を示した（図 24）。よって PTX 標準品はマウスおよびヒ

ト赤血球に対してインキュベーション 4 時間で遅延性の溶血活性を有し、同濃度であっても後者の溶血率は前者より特異的に低くなることが確認された（図 36）。よってマウスおよびヒト赤血球に対する溶血活性を指標として試料 C 群の有毒試料の毒の性状を調べた。全ての部位が有毒であった長崎県産ハコフグ 2 検体は、いずれの部位もそれぞれ濃度 0.1 g 試料相当量/ml において、インキュベーション 4 時間でマウス赤血球に対する遅延性溶血活性が認められ、特に両者とも消化管はほぼ 100% の溶血率であった（図 37、図 38）。さらに、そのうち 1 検体の肝臓および 1 検体の筋肉と消化管（いずれも濃度 0.1 g 試料相当量/ml）は、インキュベーション 4 時間でヒト赤血球に対してもマウス赤血球を用いた場合よりも弱い遅延性溶血活性を示した（図 37、38）。また、有毒な宮崎県産ハコフグとウミスズメの筋肉または消化管（いずれも濃度 0.1 g 試料相当量/ml）もマウスまたはヒト赤血球に対して同様の活性を示し、そのうちウミスズメ 2 検体の消化管のマウス赤血球に対する溶血率は 80% 以上であった（図 39）。

他方、試料 D 群の有毒魚類はいずれも干物であったが、このうちブチブダイ 1 検体およびヒブダイ 1 検体（いずれも筋肉で濃度 0.1 g 試料相当量/ml）からインキュベーション 4 時間でマウス赤血球に対する弱い溶血活性（それぞれ 19.7% と 27.4% の溶血率）が、未同定魚類 1 検体（濃度 0.1 g 試料相当量/ml）から強い溶血活性（ほぼ 100% の溶血率）が認められた（図 40）。さらに、その未同定魚類 1 検体（濃度 0.1 g 試料相当量/ml）はインキュベーション 4 時間でヒト赤血球に対する溶血活性も得られたが、そ

の溶血率はほぼ 100%であった (図 40)。

D. 考察

CTX を対象とした毒性スクリーニングにおいて、試料 B 群の 3 検体から公定法により食用不適切とされる 0.025 MU/g の毒性が検出された。これらは食品衛生法に基づき、輸入が禁止されている有毒な魚類であったが、今回の試料 B 群の供試検体数に対する有毒種の出現率は約 10%であった。また、これらの有毒魚類が国内の市場に流通した場合、ヒトが中毒する可能性を十分に含んでいると推察された。

一方、試料 C 群のハコフグの一部に PTX もしくは PTX 様物質が含まれていることが示唆された。現在、わが国では谷 (1945) の国産ハコフグと国産ウミスズメの皮、筋肉、肝臓、生殖腺、腸は無毒であるという報告に基づき、厚生省 (現 厚生労働省) 環境衛生局長通知の「フグの衛生確保について」(厚生省, 1983) においてハコフグの筋肉および精巢は可食部位とされている。実際にハコフグは長崎県や宮崎県で郷土料理として親しまれ、重要な観光資源ともなっている。しかしながら、最近、西日本でハコフグ科魚類による食中毒が相次いで発生していることに加え、本研究結果からそれらのより詳細な毒の分布、毒性、毒の性状などを早急に調べ、食品の安全性評価の明確化が望まれる。

他方、フィリピン国内で一般に流通している魚類である試料 D 群の毒性スクリーニングにおいて、特に干物 13 検体中 8 検体の脂溶性画分ならびに同 10 検体の水溶性画分にマウス毒性が認められた。いずれの毒も干物の供試検体数に対して 60%以上の割

合で出現していた。脂溶性の毒性は公定法と Cigua-Check の結果より CTX であると示唆された。しかしながら、水溶性の毒性はマウスの症状や各種赤血球に対する毒の性状に PTX との若干の相違があったことから、PTX やその類縁体とは異なる他の毒性物質である可能性も示唆された。いずれにせよフィリピン国内におけるこれらの食品としての安全性への対策が急務であると考えられた。また、これら有毒な魚類の干物がわが国に輸入された場合、有毒種やその毒性に関する知見がほとんどないため、現行の体制では全てを水際で防ぐことは困難であると思われる。従って、フィリピン産魚類の毒性や毒の性状についてもさらなる検討が必要である。

なお、本研究の成果から、CTX を対象としたマウス毒性試験において毒性の認められた検体は全て Cigua-Check でも陽性反応を示し、毒性のなかった検体は全て Cigua-Check では陰性であった。従って、試料の採取現場や予備的な毒性スクリーニングにおいて、Cigua-Check は“簡易的な”CTX 検査法のひとつとして有用であると示唆された。

以上、国内外で流通または流通しうる魚類の毒性の再評価を行った。

今後は、本研究結果より得られた有毒試料を当該研究事業により開発される「新規 CTX 類または PTX 類分析法」に適用し、その応用を試みる。

E. 結論

試料 B 群 26 検体中ミャンマー産アカマダラハタ 1 検体、原産国不明のアマダレドクハタ 1 検体、同ユカタハタ 1 検体は有毒で

その主たる毒は CTX であると示唆された。徳島県産アオブダイ 1 検体、長崎県産ハコフグ 5 検体、宮崎県産ハコフグ 1 検体、宮崎県産ウミスズメ 3 検体には PTX または PTX 様物質が含まれていると推察された。フィリピン国内に流通しているゴマモンガラ (鮮魚) 1 検体、ブチブダイ (鮮魚) 1 検体、8 検体 (ブチブダイ 1 検体、イロブダイ 1 検体、スジアラ属の魚類 2 検体未同定魚類 4 検体) 干物から CTX と示唆される毒性が、10 検体 (ブチブダイ 1 検体、イロブダイ 1 検体、ヒブダイ 1 検体とその 3 検体の合一試料、アカテンモチノウオ 2 検体、未同定魚類 4 検体) の干物からに水溶性の毒性物質が検出された。有毒な干物のうちブチブダイ 1 検体、イロブダイ 1 検体、未同定魚類 3 検体には両者の毒が含まれていると推察された。

F. 参考文献

Baden, D. G., Fleming, L. E., Bean, J. A. Marine toxins. In: *Handbook of clinical neurology* (ed. by Vinken, P. J., Bruyn, G. W.), Elsevier, Amsterdam, pp. 141-175 (1995).

厚生省生活衛生局監修. 4. シガテラ. 食品衛生検査指針理化学編, 日本食品衛生協会, 東京, pp. 309-312 (1991).

橋本芳郎. 魚介類の毒. 学会出版センター, 東京, p. 369 (1979).

楠原健一, 西浦亮介, 谷山茂人, 矢澤省吾, 工藤隆志, 山本展誉, 野口玉雄. “ハコフグ”喫食により発症した横紋筋融解症の一例. *日本内科学会雑誌* **94**, 144-146 (2005).

Noguchi, T., Hwang, D. F., Arakawa, O., Daigo, K., Sato, S., Ozaki, H., Kawai, N., Ito, M., and Hashimoto, K. Palytoxin as the causative agent in the parrotfish poisoning. In: *Progress in Venom and Toxin Research* (ed. by Gopalakrishnakone, P. and Tan, C. K.), National University of Singapore, Kent Ridge, Singapore, pp. 325-335 (1987).

野口玉雄, 阿部宗明, 橋本周久. 有毒魚介類携帯図鑑. 緑書房, 東京. p. 191 (1997).

Scheuer, P. J., Takahashi, W., Tsutsumi, J., Yoshida, T. Ciguatera: Isolation and chemical nature. *Science* **155**, 1267-1268 (1967).

Taniyama, S., Mahmud, Y., Terada, M., Takatani, T., Arakawa, O., Noguchi, T. Occurrence of a food poisoning incident by palytoxin from a serranid *Epinephelus* sp. in Japan. *J. of Natural Toxins* **11**, 277-282 (2002).

谷山茂人, 荒川 修, 高谷智裕, 野口玉雄. アオブダイ中毒様食中毒. *New Food Industry* **45**, 55-61 (2003).

Taniyama, S., Arakawa, O., Terada, M., Nishio, S., Takatani, T., Mahmud, Y., Noguchi, T. *Ostreopsis* sp., a possible origin of palytoxin (PTX) in parrotfish *Scarus ovifrons*. *Toxicon* **42**, 29-33 (2003)

Yasumoto, T., Murata, M. Marine toxins. *Chem. Rev.* **93**, 1897-1909 (1993).

G. 研究発表

1. 論文発表

Asakawa, M., Takayama, H., Beppu, R., Miyazawa, K. Occurrence of paralytic shellfish poison (PSP)-producing dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. during 1993-2004 and its PSP profiles. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **46**, 246-250 (2005).

Asakawa, M., Beppu, R., Tsubota, Ito, K., Takatama, H., Miyazawa, K. Paralytic shellfish poison (PSP) profiles and toxification of short-necked clams fed with the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **46**, 251-255 (2005).

2. 学会発表

Asakawa, M., Quilangtang, M. B., Shimomura, M., Matsuda, S., Pangatt, E. B., Olympia, M. S., D., Delan, G. G., Taniyama, S., Miyazawa, K. Occurrence of food poisoning due to ingestion of grapsid crab *Metopograpsus latifrons* in the Philippines. 7th Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial Toxin, Cebu, October 25-29 (2005).

Taniyama, S., Asakawa, M., Arakawa, O., Takatani, T., Kuroki, R., Sagara, T., Nishio, S., Miyazawa, K., Noguchi, T.

Occurrence of four food poisoning incidents by palytoxin from ostraciid fish in Japan. 7th Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial Toxin, Cebu, October 25-29 (2005).

浅川 学, 伊藤克敏, マーシーキラントン, 松田周平, 谷山茂人, 下村通誉, 宮澤啓輔. フィリピンで発生したカニの喫食による食中毒について(I). 2005 年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

別府理英子, 浅川 学, 野島佳菜子, 山口菜穂子, 谷山茂人, 高辻英之, 宮澤啓輔. 平成16年広島湾麻痺性貝毒産生プランクトンについて. 2005 年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

谷山茂人, 浅川 学, 黒木亮一, 西尾幸郎, 相良剛史, 高谷智裕, 荒川 修, 宮澤啓輔, 野口玉雄. ハコフグ中毒に関連して-ハコフグ科魚類の毒性スクリーニング-. 2005 年度日本水産学会大会, 東京, 3月31日-4月4日 (2005).

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表3 国産魚類(試料A群)のCigua-Check反応と脂溶性画分の毒性

No.	試料名	採取場所	筋肉		内臓	
			Cigua-Check 反応	毒性 (MU/g)	Cigua-Check 反応	毒性 (MU/g)
1	バラフエダイ <i>Lutjanus bohar</i>	沖縄県	-	<0.025	-	<0.025
2			-	<0.025	-	<0.025
3			-	<0.025	-	<0.025
4			-	<0.025	-	<0.025
5			-	<0.025	-	<0.025
6			-	<0.025	-	<0.025
7			-	<0.025	-	<0.025
8			-	<0.025	-	<0.025
9			-	<0.025	-	<0.025
10			-	<0.025	-	<0.025
11			-	<0.025	-	<0.025
12		東京都	-	NA	-	NA
13		和歌山県	-	NA	-	NA
14	ソウシハギ <i>Aluterus scriptus</i>	千葉県	-	NA	-	NA
15			NA	NA	-	NA
16		三重県	-	NA	-	NA
17	バラハタ <i>Variola louti</i>	大分県	-	NA	NA	NA
18			-	NA	-	NA
19	ヒメフエダイ <i>L. gibbus</i>	沖縄県	+	NA	+	NA

+: 陽性; -: 陰性; NA: 未試験