

養も成し得、PTX 類の大量確保をもたらした。

F. 参考文献

Asakawa, M., Miyazawa, K., Takayama, H., Noguchi, T. Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* as the source of paralytic shellfish poison (PSP) contained in bivalves from Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxicon* **33**, 691-697 (1995).

Fukuyo, Y. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* **47**, 967-978 (1981).

Hashimoto, T., Matsuoka, S., Yoshimatsu, S., Miki, K., Nishibori, N., Nishio, S., Noguchi, T. First paralytic shellfish poison (PSP) infestation of bivalves due to toxic dinoflagellate *Alexandrium tamiyavanichii*, in the southeast coasts of the Seto Inland Sea, Japan. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **43**, 1-5 (2002).

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).

Lenoir, S., Ten-Hage, L., Turquet, J., Quod, J., Bernard, C., Hennion, M. First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (Dinophyceae) benthic bloom in southwestern Indian Ocean. *Journal of Phycology* **40**, 1042-

1051 (2004).

Moore, R. E., Scheuer, R. J. Palytoxin: a new marine toxin from a coelenterate. *Science* **172**, 495-498 (1971).

Moore, R. E., Bartolini, G. Structure of palytoxin. *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 2491-2494 (1981).

Murata, M., Legrand, A. M., Ishibashi, Y., Fukui, M., Yasumoto, T. Structure and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus*, and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 4380-4386 (1990).

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).

Noguchi, T., Asakawa, M., Fukuyo, Y., Nishio, S., Takano, K., Hashimoto. First occurrence of *Alexandrium catenella* in Funka Bay, Hokkaido, along with its unique toxin composition. In: *Toxic phytoplankton*, pp. 493-498 (1990).

岡市友利, 西尾幸郎, 今富幸也. 2. 有毒

プランクトン研究法 - 試料の採集と培養. 有毒プランクトン - 発生・作用機構・毒成分. 恒星社厚生閣, 東京. pp. 22-34 (1982).

Oshima, Y., Sugino, K., Itakura, H., Hirota, M., Yasumoto, T. Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellates and bivalves. In: *Toxic phytoplankton*, pp. 391-396 (1990).

Pottier, I., Hamilton, B., Jones, A., Lewis, R. J., Vernoux, J. P. Identification of slow and fast-acting toxins in a highly ciguatoxic barracuda (*Sphyraena barracuda*) by HPLC/MS and radiolabelled ligand binding. *Toxicon*, **42**, 663-672 (2003).

Scheuer, P. J., Takahashi, W., Tsutsumi, J., Yoshida, T. Ciguatoxin: 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).

Uemura, D., Ueda, K., Hirata, Y. Further studies on palytoxin. II. Structure of palytoxin. *Tetrahedron Lett.* **22**, 2781-2784 (1981).

Watanabe, M. M., Miroki, M., Shimizu, A., Erata, M., Mori, F., Sakurai, Y. NIES-collection. *List of Strains, Fifth Edition, Microalgae and Protozoa*. National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, p. 140. (1997)

Yasumoto, T., Nakajima, I., Bagnis, R., Adachi, R. Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *Bull. Jpn. Soc. Fish.* **43**, 1021-1025 (1977).

G. 研究発表

1. 論文発表

相良剛史, 谷山茂人, 江戸 梢, 橋本多美子, 西堀尚良, 浅川 学, 西尾幸郎. 高速液体クロマトグラフィーによるパリトキシンの微量分析. *四国大学紀要自然科学編* (印刷中).

相良剛史, 谷山茂人, 江戸 梢, 橋本多美子, 西堀尚良, 浅川 学, 西尾幸郎. 軟体動物ウミフクロウの毒性について. *四国大学紀要自然科学編* (印刷中).

2. 学会発表

1) 国際学会

Nishio, S., Sagara, T., Taniyama, S., Hashimoto, T., Nishibori, N., Asakawa, M. LC-MS analysis of all PSP toxins using anion exchange and reverse phase columns connected in series. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

Taniyama, S., Sagara, T., Kuroki, R., Takamoto, S., Tsuruda, S., Delan, G. G., Nishio, S., Asakawa, M. Toxicity of edible dried fish in the Philippines. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

Sagara, T., Taniyama, S., Arakawa, O., Hashimoto, T., Nishibori, N., Asakawa, M., Nishio, S. Toxicity of *Gambierdiscus* sp. and *Ostreopsis* sp. collected from the coasts of western Japan. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

2) 国内学会

相良剛史, 谷山茂人, 黒木亮一, 西堀尚良, 橋本多美子, 荒川 修, 浅川 学, 西尾幸郎. 西日本に生息する有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属、*Ostreopsis* 属のシガテラ毒、パリトキシン様物質産生能について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月

29 日 - 4 月 2 日.

西尾幸郎, 相良剛史, 西堀尚良, 橋本多美子, 谷山茂人, 浅川 学. PSP 全成分のイオン交換 - 逆相系カラムによる一括 HPLC 分析法について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

谷山茂人, 黒木亮一, 相良剛史, 高本聡, 持原舞子, 鶴田慎太郎, 西尾幸郎, 浅川 学. フィリピン産魚介類の毒性スクリーニング. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

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

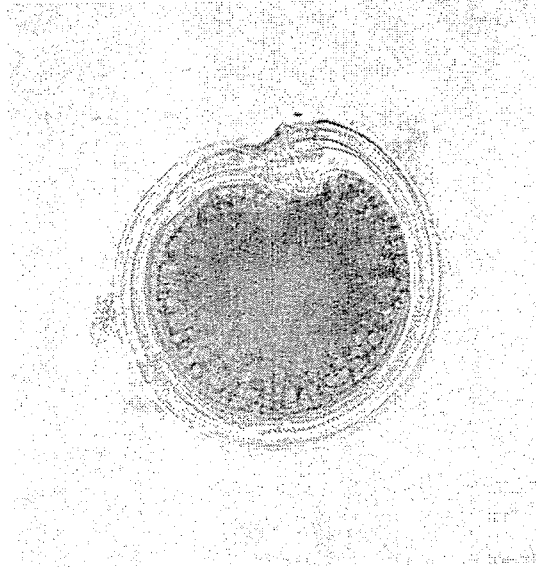


図 1 高知県産 *Gambierdiscus* 属渦鞭毛藻

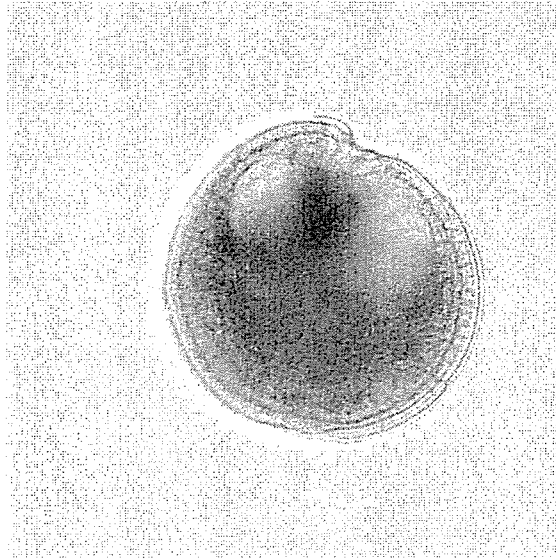


図2 フィリピン産 *Gambierdiscus* 属渦鞭毛藻

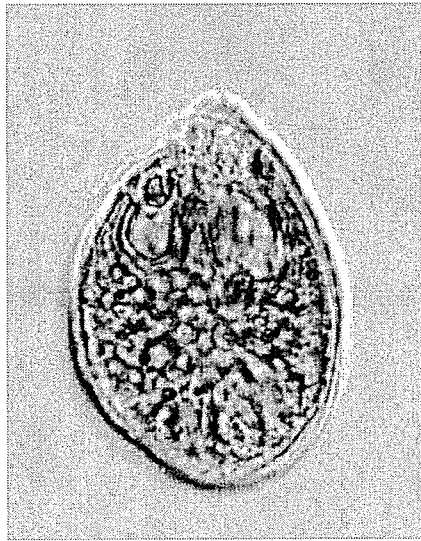


图3 長崎県産 *Ostreopsis* 渦鞭毛藻

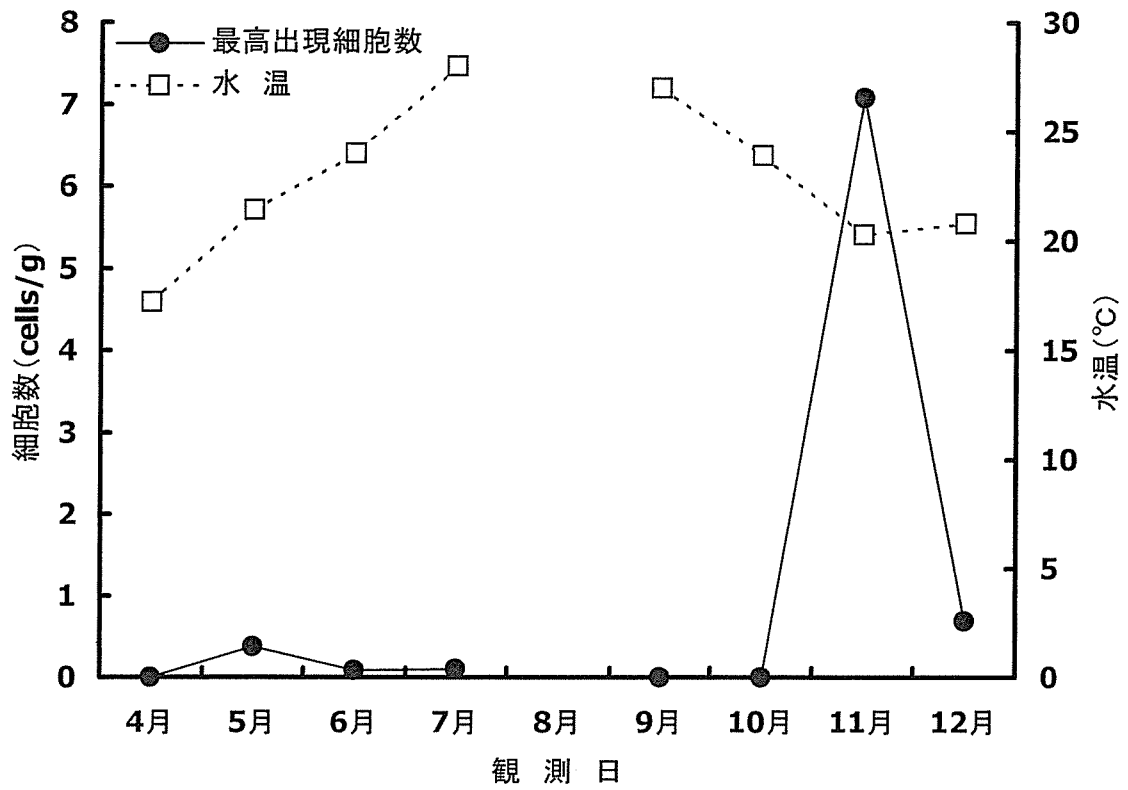


図4 高知県における *Gambierdiscus* 属渦鞭毛藻の出現の推移(2006年)

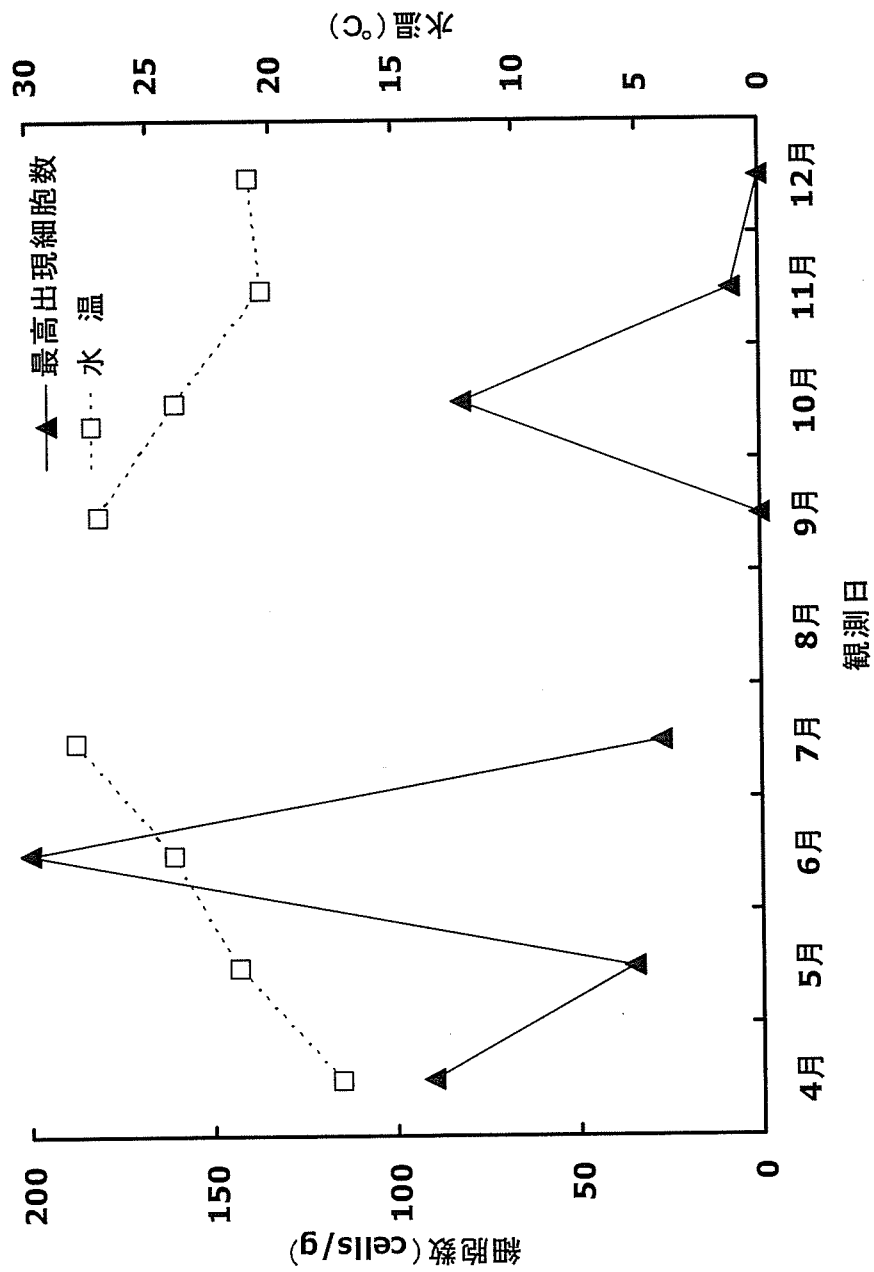


図5 高知県における*Ostreopsis*属渦鞭毛藻の出現の推移(2006年)

表1 培養条件

培地：	ESM培地	
	ろ過海水	1000 ml
	土壌抽出液	30 ml
	トリアミノメタン	1 g
	硝酸ナトリウム	120 mg
	リン酸水素二カリウム	5 µg
	EDTA-Mn	330 µg
	EDTA-Fe	260 µg
	ビタミンB ₁	100 µg
	ビタミンB ₁₂	10 µg
	ビオチン	1 µg
	pH	7.8~8.0
光強度：	40 µmol m ⁻² s ⁻¹	
明暗周期：	L:D=12 h:12 h	
培養温度：	20°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、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、その毒性評価を行った。

まず、沖縄県産魚類 5 検体、輸入魚類のうち食品衛生法違反となった外国産魚類 5 検体、フィリピン・ビサヤス諸島産食用魚類の干物 25 検体につき、シガトキシン (CTX) 簡易検出キット Cigua-Check を用いた予備的な毒性スクリーニングを行った。次いで、これら試料を本邦の公定法に基づき、CTX を対象としたマウス毒性試験に供した。一方、西日本産ハコフグ 94 検体を試料として水溶性画分の毒性を調べた。また、ビサヤス諸島産試料の水溶性画分についても、同様に検討を加えた。

沖縄県産バラフエダイ 2 検体とイッテンフエダイ 3 検体は Cigua-Check において、抗 CTX 抗体と陽性または弱陽性反応を示し、バラフエダイ 1 検体から脂溶性毒も検出された。オーストラリア産バラハタ 2 検体とコクハンハタ 2 検体、原産国不明の外国産スジアラ 1 検体も Cigua-Check から有毒であると判定された。ビサヤス諸島産試料は Cigua-Check において全て有毒で、セブ島産 2 検体は脂溶性毒性を示した。また、同試料 22 検体の脂溶性画分にマウスに対する致死活性が認められ、有毒画分の半数近くは PTX と類似した遅延性溶血活性を示した。さらに、一部の試料には CTX 類と水溶性の毒因子が複数含まれているものと推察された。一方、長崎県産ハコフグ 6 検体、徳島県産同試料 4 検体および山口県産同試料 27 検体から水溶性毒が検出された。その有毒部位の出現率は肝臓を除く内臓で最も高い 29.8%を示し、次いで筋肉 11.7%、肝臓 4.2%であった。

従って、有毒種とされる石垣島産魚類および輸入魚類に、実際に CTX 類の存在が示唆された。また、ビサヤス諸島産魚類の干物の多くは CTX 類により汚染されており、大半の試料には複数の毒因子が存在するものと推察された。他方、供した西日本産ハコフグの約 40%は有毒で、PTX または PTX 様物質が含まれている可能性が見出された。

以上、本邦およびフィリピンで流通する食用魚類の毒性評価を行った。

A. 研究目的

動物性自然毒による食中毒は、ほとんどが海洋性魚介類の摂食が原因で、特にシガテラ中毒は古くから世界的規模で多発しており、1年間の罹患者は数万人にも上るといわれている(橋本, 1979; 野口ら, 1997)。シガテラ中毒の主たる原因物質は有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* が産生するシガトキシン (ciguatoxin: CTX) またはその関連物質で (Murata ら, 1990; Yasumoto と Murata, 1993)、自然毒のなかでは最強の部類に属する。本中毒の潜伏時間は1~8時間と比較的早く、主症状としては、まず嘔吐、吐気、下痢などの消化器障害が起こり、重篤になると温度感覚の異常 (ドライアイスセンセーション) といった神経症状が激しくなるのが特徴である (橋本, 1979; 野口ら, 1997)。回復は一般に非常に遅く、完治には数ヶ月ないし数年を要することもある。これまでに知られている有毒魚種は400種以上といわれているが、実際に中毒を引き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 (Halstead, 1967; 橋本, 1979; 野口ら, 1997)。太平洋におけるシガテラ中毒の原因魚類の多くはバラフェダイ *Lutjanus bohar*、ドクウツボ *Gymnothorax javanicus*、バラハタ *Variola louti*、マダラハタ *Epinephelus polyphemadion*、アカマダラハタ *E. fuscoguttatus*、オニカマス (ドクカマス) *Sphyrna barracuda* などである (橋本, 1979; 野口ら, 1997)。一方、本邦では南西諸島を中心にバラフェダイ、バラハタ、アカマダラハタ、イッテンフェダイ *L. monostigma* が毒化し (野口ら, 1997)、これらを原因とするシガテラ中毒の発生が後を絶たない。一

方、最近、宮崎県ならびに千葉県では地元で採捕されたイシガキダイ *Oplegnathus punctatus* による同中毒が発生し、有毒種の分布が温帯海域である本州沿岸に拡大していることが懸念されている。

また、本邦に輸入される食用魚介類については、食品衛生法第4条第2号に基づき、バラフェダイ、バラハタ、マダラハタ、アカマダラハタ、オニカマス、アマダレドクハタ *Plectropomus oligacanthus*、ヒメフェダイ (フェドクタミル) *L. gibbus*、アオノメハタ *Cephalopholis argus*、オジロバラハタ *Variola albimarginata*、オオメカマス *Sphyrna forsteri* 等の有毒種を対象に、厚生労働省検疫所による徹底した輸入防止がなされている。しかしながら、ハタ科魚類等の輸入魚類の種類や輸出国は増加傾向にあるうえ、それらの毒性に関する知見はほとんどない。

他方、本邦では特異な動物性自然毒による食中毒としてアオブダイ (*Scarus ovifrons*) 中毒が知られている (天野ら, 1975; Noguchi ら, 1987; Okano ら, 1998; 吉嶺ら, 2001; Taniyama ら, 2003)。患者らは、おおむね数時間から十数時間で発症するが、時に24時間以上の事例もあり、その主症状は横紋筋融解症で、血清クレアチンホスホキナーゼ値の急激な上昇やミオグロビン尿症を伴う (野口ら, 1997)。本中毒の原因物質はパリトキシン (PTX) または同類縁体で、その毒蓄積機構は有毒な *Ostreopsis* 属渦鞭毛藻を起源生物とする食物連鎖であることが報告されている (Noguchi ら, 1987; Taniyama ら, 2003)。一方、近年、西日本を中心に *Epinephelus* 属のハタ科やブダイ *Calotomus japonicus* (推定)、ハコフグ科魚

類による同様の食中毒が相次いで発生している (Taniyama ら, 2002; 谷山ら, 2003; 楠原ら, 2005)。これまで本邦では、ハタ科魚類によるシガテラ中毒の報告例は多く知られている (Hashimoto, 1969; 橋本, 1979; 山中, 1986; 塩見, 1997)。また、日本産ハコフグ科魚類のうち、ハコフグ *Ostracion cubicus* とウミスズメ *Lactoria diaphana* の毒性について、谷 (1945) は皮、筋肉、肝臓、生殖腺、腸は無毒であるとし、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) においてもハコフグの筋肉と精巢は可食部とされている。しかしながら、これらハタ科魚類やハコフグ科魚類による PTX 中毒の発生は、これまでにほとんどなく、その保有生物の分布が多様化していることが示唆された。

このような状況の下、本分担研究では、平成 17 年度当該研究事業の研究成果を踏まえ、魚介類の食品としての安全性確保と国民の健康保護を目指し、「新規 CTX 類または PTX 類分析法」の開発の一環として、国内外に流通する食用魚介類の毒性評価を継続して行った。

B. 研究方法

1) 試料

試料 A 群: 試料は 2006 年 6 月に沖縄県西表島で採捕したバラフエダイ 2 検体とイッテンフエダイ 3 検体 (図 1)、厚生労働省関西空港検疫所より供与されたオーストラリア産バラハタ 2 検体とコクハンハタ 2 検体および原産国不明のスジアラ 1 検体を用いた (図 2)。

試料 B 群: 2006 年 9 月にフィリピン・ビ

サヤス諸島で購入したネグロス島産未同定魚類 3 検体 (図 3)、セブ島産未同定魚類 5 検体 (図 4)、パナイ島産未同定魚類 17 検体を試料として用いた (図 5)。なお、試料 B 群は全て干物試料であった。

試料 C 群: 2003 年冬期~2006 年夏期に長崎県、徳島県および山口県沿岸で採捕されたハコフグ 94 検体を試料とした (図 6~8)。

いずれも試料は入手後、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。

2-1) Cigua-Check

試料 A 群と B 群につき、予備的な毒性スクリーニングとして、Toxitec 社製 Fish Poison Test Kit (CTX 簡易検出キット) である Cigua-Check に供した。まず、試料から米粒大の筋肉を分取し、付属の試験片とともにメタノールに 20 分間浸した。次いで、風乾後 (20 分間)、抗 CTX 抗体を含む溶液に 10 分間浸して呈色反応 (青色) を肉眼で観察した。本試験において呈色反応が観察された場合、食用不適切と判断される。

2-2) 試験液 (脂溶性画分) の調製

脂溶性画分の試験液の調製は厚生省生活環境衛生局監修 (1991) 食品衛生検査指針理化学編 4. シガテラに準拠して行った。

試料 A 群と B 群につき、それぞれの筋肉 (240 または 120 g) にアセトン 700 または 350 ml を加えてホモジナイズ後、吸引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 回繰り返す、ろ液を合一した。次に、抽出液を減圧濃縮後、蒸留水:

ジエチルエーテル (1 : 1) による溶媒分配に付し、ジエチルエーテル画分につき、90%メタノール : n-ヘキサン (1 : 2) による脱脂を行った。さらに、90%メタノール画分を濃縮乾固させ、1%-ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート (Tween60) 生理食塩水 6 または 3 ml に溶解して脂溶性画分の試験液とした。

2-3) 試験液 (水溶性画分) の調製

水溶性画分の試験液は Noguchi ら (1987) の方法に準じて調製した。

試料 B 群の筋肉、または試料 C 群の筋肉、肝臓、肝臓を除く内臓 (それぞれ 20 g) を破砕し、3 倍量の 75 %酢酸酸性エタノール (pH 3.5) を加えてホモジナイズ後、遠心分離し (3000 rpm、20 分間、3°C)、上清を得た。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、粗抽出液とした。次に、粗抽出液を濃縮乾固し、等量のジエチルエーテルで 2 回脱脂後、蒸留水で調製して水溶性画分の試験液 (10 ml) とした。

2-4) 脂溶性画分のマウス毒性試験

本試験は、厚生省生活環境衛生局監修 (1991) 食品衛生検査指針理化学編 4. シガテラに準拠して行った。試験には ddY 系の 4 週齢の雄で体重が 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 (CTX 換算) の表示は、検体 1 g に含まれる毒力 (MU/g) で行った。ただし、CTX 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。

2-5) 水溶性画分のマウス毒性試験

試験には ddY 系の 4 週齢の雄で体重が 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、本研究において、水溶性画分の毒性の 1 MU とは供試マウス 1 尾を約 48 時間で死亡させる毒力と定義した。

2-6) 溶血活性試験

既報の方法 (Gleibs ら, 1995; Taniyama ら, 2003) の方法に準拠した。

試料 B 群と C 群から調製した試験原液とそれを蒸留水で 0.2、0.02、0.002 g/ml に調製したものを試験液とした。一方、0.5 mM ホウ酸および 1.0 mM 塩化カルシウム (CaCl₂) を含むダルベッコリン酸緩衝液 (D-PBS) で 3 回洗浄したマウス (ddY 系、4 週齢、♂) の血液に D-PBS を加え、0.5% 赤血球懸濁液とした。次いで、各試験液 50 μl に 0.5% 赤血球懸濁液 950 μl をそれぞれ添加し、37°C で 1 および 4 時間インキュベーションし、遠心分離して (6200 rpm、1 分間、室温)、得られた上清につき 405 nm で吸光度を測定した。他方、1% サポニン溶液 50 μl に 0.5% 赤血球懸濁液 950 μl を添加し、インキュベーション 30 分後における吸光度を完全溶血 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) 試料 A 群の毒性

Cigua-Check において、西表島産バラフエダイ 2 検体、イッテンフエダイ 2 検体、オーストラリア産バラハタ 1 検体とコクハンハタ 2 検体、原産国不明のスジアラ 1 検体の筋肉は抗 CTX 抗体に対して陽性反応を、西表島産イッテンフエダイ 1 検体とオーストラリア産バラハタ 1 検体の筋肉は弱陽性反応を示した (表 1)。このうち、西表島産バラフエダイ 1 検体からマウス毒性が検出され、その毒性は CTX 換算で 0.025 MU/g であった (表 1)。

2) 試料 B 群の毒性

まず、ビサヤス諸島産未同定魚類 20 検体 (ネグロス島産 3 検体、セブ島産 3 検体、パナイ島産 14 検体) は抗 CTX 抗体に対して陽性反応を、同 5 検体は弱陽性反応を示した (表 2)。次いで、セブ島産未同定魚類 2 検体の脂溶性画分にマウス毒性 (いずれも CTX 換算で 0.025 MU/g) が検出され (表 2)、有毒画分を投与されたマウスは共通して歩行困難、嗜眠、衰弱などを呈した後に死亡し、CTX による症状と一致していた。

他方、マウス毒性試験に供した水溶性画分の全て (22 検体) にマウスに対する遅延性致死活性が認められ、それらの毒性は 0.5~4.0 MU/g であった (表 2)。これら有毒画分を投与されたマウスは痙攣や歩行困難を呈し、飛び跳ねた後に嗜眠ないし衰弱状態に陥り、おおむね 24 時間以内に死亡した。一方、未同定魚類 Nb は、インキュベーション 1 時間において試料濃度 0.1 g/ml で 41.4±0.362% であった溶血率が、インキュベ

ーション 4 時間では 84.6±1.32% まで上昇し、PTX と同様の溶血率のパターン (遅延性溶血活性) を示した (図 9)。未同定魚類 Pa、Pd、Pe および Pf も同様に顕著な遅延性溶血活性を示し、試料濃度 0.1 g/ml、インキュベーション 4 時間における溶血率は、いずれも 80% 以上の高い値であった (図 11-1)。また、未同定魚類 Na、Pb、Pc、Pj および Pn も、やや弱い同様の活性を示した (図 9、図 11-1~11-3)。さらに、未同定魚類 Nc、Ca、Cb、Cc、Ce、Pg、Ph および Pi も試料濃度 0.1 g/ml で 90% 以上の極めて高い溶血率を示したが、そのパターンは PTX とは異なっていた (図 9、図 10、図 11-2)。

3) 試料 C 群の毒性

供試したハコフグのうち長崎県産 6 検体 (表 3)、徳島県産 4 検体 (表 4) および山口県産 27 検体 (表 5-1、表 5-2) が有毒で、それらの毒性は 0.5~1.0 MU/g であった。長崎県産 3 検体 (試料 No. 36、37、41) の筋肉、徳島県産 2 検体 (試料 No. 52、53) の肝臓を除く内臓、および山口県産 4 検体 (試料 No. 87、88、91、102) の筋肉、同 3 検体 (試料 No. 105、109、122)、同 8 検体 (試料 No. 87、91、94、95、97、107、109、113) の肝臓を除く内臓から調製した試験液は、マウスに対して痙攣や嗜睡、衰弱を誘起し、その致死時間はおおむね 18~36 時間であった。一方、その他の有毒な試験液は、マウスを比較的短時間で死亡させる急性毒性を示した。

次に、有毒な試験液につき、試料濃度 0.1 g/ml におけるインキュベーション 1 時間と 4 時間の溶血率を図 12、図 13、図 14-1~14-6 に示す。長崎県産 4 検体 (試料 No. 36、38、

41、42) の筋肉および長崎県産 1 検体 (試料 No. 43) の肝臓を除く内臓は、インキュベーション 1 時間では全て 15%未満の低い溶血率であったが、インキュベーション 4 時間ではいずれも 75%以上の高い溶血率を示し、PTX の遅延性溶血活性と類似していた。また、長崎県産 1 検体 (試料 No. 37) の筋肉もインキュベーション 4 時間で約 30%の低い溶血率を示し、弱い遅延性溶血活性が確認された。有毒な徳島県産ハコフグは、インキュベーション時間 4 時間でいずれもほぼ 100%の高い溶血率であったが、同検体はインキュベーション 1 時間でも 80%以上の高い溶血率を示し、遅延性溶血活性との相違がみられた。また、山口県産 4 検体 (試料 No. 91、102、104、107) の筋肉、同 1 検体 (試料 No. 122) の肝臓、同 2 検体 (試料 No. 97、113) の肝臓を除く内臓は顕著な遅延性溶血活性を、同 1 検体 (試料 No. 87) の筋肉と同 1 検体 (試料 No. 70) の肝臓を除く内臓は弱い同活性を示した。一方、山口県産 19 検体 (試料 No. 69、71、74、80、87~91、93~95、100、101、109、110、112、118、120) の肝臓を除く内臓もインキュベーション 4 時間で 95%以上の高い溶血率を示したが、インキュベーション 4 時間の値を比較すると、遅延性溶血活性とは一致しなかった。さらに、山口県産 1 検体 (試料 No. 88) の筋肉と同 2 検体 (試料 No. 95、109) の肝臓はインキュベーション 4 時間でも 20%未満の低い溶血率であった。

D. 考察

沖縄県ではバラフェダイやイッテンフェ

ダイは地方名“アカナー”と呼ばれ、有毒種として広く地域住民に知られている。しかしながら、西表島では一部の住民、特にシガテラ中毒の経験のない住民がこれらを“毒のない魚”として実際に食していると言われている。一方、本研究成果により、西表島産バラフェダイとイッテンフェダイは全て抗 CTX 抗体に対して陽性または弱陽性反応を示し、バラフェダイ 1 検体からはわが国の公定法で食用不適切と判断される毒性も検出された。従って、少なくとも本研究で用いた西表島産バラフェダイとイッテンフェダイはヒトに食中毒を引きこす可能性が示唆され、現地での有毒種としての周知が改めて重要であると考えられた。また、輸入違反魚類バラハタ、コクハンハタ、スジアラからは公定法による毒性は検出されなかったものの、抗 CTX 抗体に対して陽性ないし弱陽性反応で有毒であると判定された。食品衛生法に基づき、違反食品 (魚類) として取り扱われた魚類が実際に有毒であったことから、今後も輸入違反魚類の毒性を慎重にモニターする必要があると考えられた。

一方、平成 17 年度における当該研究事業の成果より、フィリピンの水産市場ではマダラハタなどの有毒種が高級魚として流通しており、一部の魚類からは抗 CTX 抗体に対して陽性または弱陽反応を示す毒性も検出された。平成 17 年度ならびに平成 18 年度の当該研究事業の成果を合わせ、マウス毒性を指標にビサヤス諸島産試料、特に干物試料の毒性を比較すると、セブ島産試料の 61.5%が、ネグロス島産試料の 33.3%が有毒であったが、パナイ島産試料には毒性は認められなかった。従って、ビサヤス諸

島産魚類（干物）の毒性には地域差があると考えられた。また、同試料の水溶性画分は全て有毒で、パナイ島産試料はネグロス島およびセブ島産試料（それぞれ平均 1.1 MU/g、平均 1.4 MU/g）よりもやや高い毒性（平均 1.8 MU/g）を示し、最高値は 4.0 MU/g であった。これら、有毒な水溶性画分につき、マウス赤血球に対する溶血活性を検討したところ、約 40%の画分が PTX と類似した遅延性の溶血率のパターンを示したが、半数以上が異なる性状であった。従って、これら水溶性画分には PTX または PTX 様物質とともに、他の毒因子も存在している可能性が推察された。従って、ビサヤス諸島産試料には CTX 類または水溶性の毒因子が、あるいは両者が同時に含まれていることが示唆された。今後、これら毒因子のヒト健康に対する影響評価を早急に行う必要があると考えられた。

他方、本邦では九州を中心に“ハコフグ”料理は郷土料理として、また重要な観光資源として半世紀以上にわたって食されてきた。これまで、日本産ハコフグの皮、筋肉、肝臓、生殖腺、腸は無毒であると報告され（谷, 1945）、その筋肉と精巢は可食部となっている（厚生省, 1983）。しかしながら、最近、西日本を中心にハコフグ科魚類による食中毒が相次ぎ（谷山ら, 2003; 楠原ら, 2005）、その毒性評価の見直しが求められていた。当該研究事業により、供試した西日本産ハコフグの 39.4%が有毒であることが示された。有毒部位の出現率は、肝臓を除く内臓で最も高い 29.8%を示し、次いで筋肉 11.7%、肝臓 4.2%であった。特に、ハコフグの消費が多いうえ、過去に食中毒事例のある長崎県産ハコフグについては、

供試した同県産試料の 45.5%に当たる筋肉が有毒であった。一方、これら有毒試料の多くは PTX と類似した性状を示し、その毒因子は既報（谷山ら, 2003）と同様に PTX 様物質である可能性が見出された。今後も、本邦に生息するハコフグ科魚類の毒性を詳細に検討し、毒本体を明らかにすることが急務であると考えられた。

E. 結論

西表島産バラフエダイ 1 検体は抗 CTX 抗体に陽性で、かつ脂溶性毒も検出された。同島産バラフエダイ 1 検体とイッテンフエダイ 3 検体には毒性が認められなかったが、Cigua-Check から有毒であると判定された。

ビサヤス諸島産干物試料 25 検体は全て抗 CTX 抗体に対して陽性または弱陽性反応を示し、セブ島産 2 検体の脂溶性画分からはマウス毒性も検出された。また、ネグロス島産試料 3 検体、セブ島産試料 4 検体およびパナイ島産試料 15 検体の水溶性画分にマウスに対する遅延性致死活性が認められ、半数近い試料は PTX と同様にマウス赤血球に対して遅延性溶血活性を示した。

一方、長崎県、徳島県および山口県産ハコフグ、それぞれ 6 検体、4 検体、27 検体の水溶性画分から毒性が検出され、特に長崎県産ハコフグは可食部である筋肉の有毒率が高かった。

F. 参考文献

天野昌彦, 今村諒道, 川西令子, 横野浩一, 菊池 悟, 水野信彦, 佐伯 進, 花

房英機, 日下孝明, 老耨宗忠, 大江 勝, 馬場茂明, 鹿住 敏, 藤田 博, 松木幸夫. アオブダイ肝臓によると思われる集団食中毒. 内科 36, 662-666 (1975).

Gleibs, S., Mebs, D., Werding, B. Studies on the origin and distribution of palytoxin in a Caribbean coral reef. *Toxicon* 33, 1531-1537 (1995).

Halstead B. W. *Poisonous and Venomous Marine Animals of the World, Vol. 2*. U. S. Government Printing Office, Washington, DC, pp. 17-27. (1967).

厚生省環境衛生局長通知. フグの衛生確保について. 昭和 58 年 12 月 2 日, 環乳 59 号 (1983).

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).

Hashimoto, Y., Konosu, S., Yasumoto, T. Ciguatera in the Ryukyu and Amami Island. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 35, 316-326 (1969).

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).

Murata, M., Legrand, A. M., Ishibashi, Y., Fukui, M., Yasumoto, T. Structure and configurations of ciguatoxin from the moray eel *Gymnothorax javanicus*, and its likely precursor from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J. Am. Chem. Soc.* 112, 4380-4386 (1990).

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).

Okano, H., Masuoka, H., Kamei, S., Seko, T., Koyabu, S., Tsunemoto, K., Tamiya, T., Ueda, K., Nakazawa, S., Sugawa, M., Suzuki, H., Watanabe, M., Yatani, R., Nakano, T. Rhabdomyolysis and myocardial damage induced by palytoxin, a toxin of blue humphead parrotfish. *Internal Medicine* 37, 330-333 (1998).

塩見一雄. 日本における魚貝毒による被害状況. 海洋と生物 105 28, 284-288 (1997).

谷 巖. 日本産フグの中毒学的研究. 帝

国図書, 東京 (1945).

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).

山中英明. 魚介類の自然毒による食中毒の現状. *日本食品衛生学雑誌* **27**, 343-353 (1986).

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

吉嶺厚生, 折田 悟, 岡田俊一, 園田健, 窪田一之, 米澤藤士. アオブダイによる食中毒の 2 例. *日本内科学会雑誌* **90**, 157-159 (2001).

G. 研究発表

1. 論文発表

Ito, K., Okabe, S., Asakawa, M., Bessho,

K., Taniyama, S., Shida, Y., Ohtsuka, S. Detection of tetrodotoxin (TTX) from two copepods infecting the grass puffer *Takifuguniphobes*: TTX attracting the parasites? *Toxicon* **48**, 620-626 (2006).

相良剛史, 谷山茂人, 江戸 梢, 橋本多美子, 西堀尚良, 浅川 学, 西尾幸郎. 高速液体クロマトグラフィーによるパリトキシンの微量分析. *四国大学紀要自然科学編* (印刷中).

相良剛史, 谷山茂人, 江戸 梢, 橋本多美子, 西堀尚良, 浅川 学, 西尾幸郎. 軟体動物ウミフクロウの毒性について. *四国大学紀要自然科学編* (印刷中).

2. 学会発表

1) 国際学会

Nishio, S., Sagara, T., Taniyama, S., Hashimoto, T., Nishibori, N., Asakawa, M. LC-MS analysis of all PSP toxins using anion exchange and reverse phase columns connected in series. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

Asakawa, M., Matsuda, S., Tsuruda, S., Kajihara, H., Taniyama, S. Paralytic toxicity in a ribbon worm *Cephalothrix* species (Nemertean) adherent to cultured oysters in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

Taniyama, S., Sagara, T., Kuroki, R., Takamoto, S., Tsuruda, S., Delan, G. G., Nishio, S., Asakawa, M. Toxicity of edible dried fish in the Philippines. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

Sagara, T., Taniyama, S., Arakawa, O., Hashimoto, T., Nishibori, N., Asakawa, M., Nishio, S. Toxicity of *Gambierdiscus* sp. and *Ostreopsis* sp. collected from the coasts of western Japan. 15th World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins, Glasgow, Scotland, July 23-28, 2006.

2) 国内学会

相良剛史, 谷山茂人, 黒木亮一, 西堀尚良, 橋本多美子, 荒川 修, 浅川 学, 西尾幸郎. 西日本に生息する有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属、*Ostreopsis* 属のシガテラ毒、パリトキシン様物質産生能について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

浅川 学, 別府理英子, 谷山茂人, 宮澤啓輔, 宮原典子, 野口玉雄, 高山晴義, 高辻英之. 1993 年から 2004 年における広島県呉湾における有毒プランクトン *Alexandrium tamarense* の発生状況について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

別府理英子, 谷山茂人, 宮原典子, 高山晴義, 高辻英之, 浅川 学. 近年の広島県における麻痺性貝毒産生プランクトンの分布について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

西尾幸郎, 相良剛史, 西堀尚良, 橋本多美子, 谷山茂人, 浅川 学. PSP 全成分のイオン交換 - 逆相系カラムによる一括 HPLC 分析法について. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

松田周平, 谷山茂人, 川中朋子, 後藤繭子, 宮原典子, 志田保夫, 藤田俊彦, 浅川 学. 広島湾産クモヒトデの毒性. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

谷山茂人, 黒木亮一, 相良剛史, 高本聡, 持原舞子, 鶴田慎太郎, 西尾幸郎, 浅川 学. フィリピン産魚介類の毒性スクリーニング. 平成 18 年度日本水産学会大会, 高知大学 (高知市), 2006 年 3 月 29 日 - 4 月 2 日.

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