

図3 熊本県宮野河内湾産キンシバイの毒力と TTX 量の比較

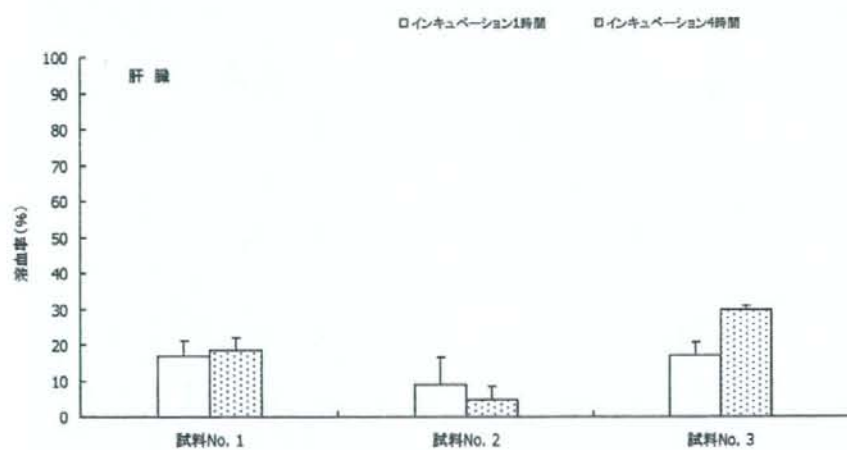
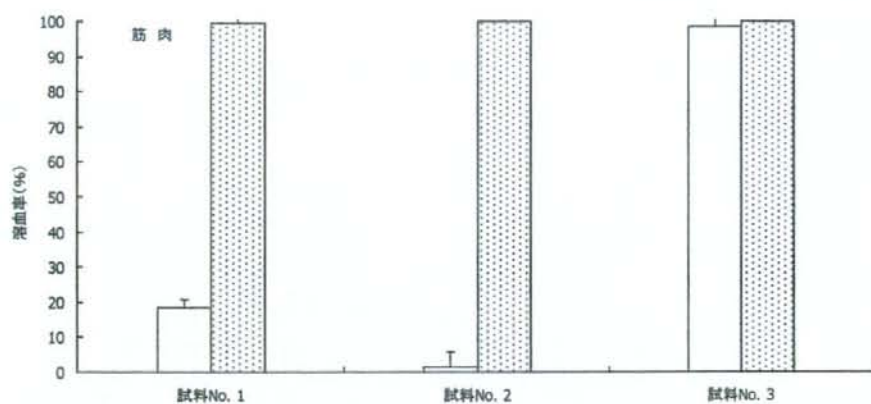


図4 ハコフグ中毒残品のマウス赤血球に対する溶血活性

表1 長崎県橋本産キンシバイの毒力

採集年月	試料No.	殻長 (mm)	殻幅 (mm)	筋 肉				内 臓				
				重量 (g)	重量 (g)	毒力 (MU/g)	総毒力* (MU/個体)	重量 (g)	毒力 (MU/g)	総毒力 (MU/個体)	総毒力 (MU/個体)	
2007年9月	1	44	20	9.8	3.9	360	1,420	1.6	5,580	9,150		
	2	41	16	7.9	4.2	1,470	6,150	0.8	73	57		
	3	40	21	6.7	3.1	494	1,540	1.4	36	50		
	4	45	23	8.5	3.6	491	1,770	1.8	1,880	3,380		
	5	43	21	8.8	4.8	591	2,860	1.4	1,980	2,830		
	6	42	22	6.6	2.7	1,200	3,230	1.1	4,300	4,730		
	7	42	17	8.1	4.0	1,970	7,880	1.4	285	410		
	8	43	24	7.3	3.1	542	1,660	1.5	10,200	15,100		
	9	40	21	7.7	4.2	2,370	9,860	1.1	119	133		
	10	35	13	5.0	2.2	589	1,300	1.1	41	44		
平均±標準偏差				43±2.8	20±3.4	7.6±1.4	3.6±0.80	1,010±711	3,770±3,090	1.3±0.30	2,450±3,350	3,590±4,500
2007年10月	11	38	20	6.4	2.8	1,260	3,520	1.2	53	62		
	12	38	21	6.5	2.8	48	132	1.4	154	216		
	13	41	22	8.5	3.6	862	3,070	1.6	3,850	6,120		
	14	35	20	5.3	3.0	245	725	0.8	72	57		
	15	37	21	6.1	2.2	307	682	0.8	1,910	1,430		
	16	36	22	6.0	2.7	416	1,130	1.1	61	68		
平均±標準偏差				38±1.9	21±0.89	6.5±1.1	2.8±0.43	523±451	1,540±1,400	1.1±0.33	1,020±1,570	1,330±2,410
2007年11月	17	38	23	7.0	3.2	1,250	3,980	1.4	28	38		
	18	47	23	7.3	3.1	1,360	4,180	1.0	102	98		
	19	41	23	8.4	3.7	288	1,070	1.6	1,890	3,080		
	20	39	21	7.0	3.3	394	1,310	1.3	16	21		
平均±標準偏差				41±4.0	23±1.0	7.4±0.66	3.3±0.28	823±560	2,640±1,670	1.3±0.28	509±921	809±1,510
2008年1月	21	46	24	9.1	4.5	216	976	1.5	113	165		
	22	41	22	8.1	3.9	336	1,320	1.3	17	22		
	平均	44	23	8.6	4.2	276	1,150	1.4	65	94		

\*: 太文字で記した数値は内臓よりも筋肉の総毒力が高いことを示す

表2 熊本県宮野河内湾産キンシバイの毒力

採集年月	試料No.	縦長 (mm)	横幅 (mm)	重量 (g)	筋肉			内臓					
					重量 (g)	毒力 (MU/g)	総毒力* (MU/個体)	重量 (g)	毒力 (MU/g)	総毒力 (MU/個体)			
2008年9月	1	4.1	2.1	7.0	3.1	452	1,410	1.4	14	19			
	2	3.8	2.1	7.0	3.4	473	1,590	1.7	17	28			
	3	3.9	2.1	6.1	2.4	479	1,160	1.3	30	40			
	4	3.8	2.0	5.9	2.0	559	1,100	1.1	64	73			
	5	4.1	2.2	8.3	3.4	704	2,400	1.2	10,800	13,000			
	6	3.2	1.7	3.9	1.6	1,600	2,490	1.8	561	993			
	7	4.0	1.8	5.3	2.2	2,310	5,120	1.0	2,900	3,010			
	8	3.4	1.8	5.4	2.2	1,180	2,600	0.9	1,610	1,400			
	9	3.4	2.2	4.4	1.9	2,600	5,020	0.8	343	281			
平均±標準偏差					3.7±0.33	2.0±0.19	5.9±1.4	2.5±0.67	1,150±836	2,540±1,540	1.2±0.33	1,810±3,510	2,090±4,190
2008年10月	10	3.8	2.1	6.0	2.3	1,420	3,280	1.1	33	36			
	11	3.9	2.2	6.2	2.4	1,600	3,800	1.1	77	85			
	12	3.7	1.8	5.0	2.0	290	574	0.7	1,344	6,120			
	13	3.9	2.0	6.2	2.5	1,190	2,940	0.9	35	31			
平均±標準偏差					3.8±0.10	2.0±0.17	5.8±0.59	2.3±0.21	1,120±581	2,640±1,420	0.94±0.19	515±937	372.2±648.2
2009年1月	14	3.8	2.3	8.40	3.3	37	123	1.4	1,150	1,550			
	15	3.0	1.6	4.6	2.1	191	405	0.8	46	38			
	16	3.8	2.1	7.0	3.1	112	344	1.0	9	9			
	17	3.8	1.9	8.7	3.8	73	274	1.6	836	1,340			
	18	3.8	1.9	6.5	2.9	169	493	1.0	20	21			
	19	4.1	2.2	8.9	3.2	129	408	1.4	10	14			
平均±標準偏差					3.7±0.37	2.0±0.25	7.3±1.7	3.1±0.54	119±57.7	341±129	1.2±0.30	345±511	495±738

\*: 太文字で記した数値は内臓よりも筋肉の総毒力が高いことを示す

テトラミン中毒患者の血中テトラミン濃度

研究分担者 塩見一雄 東京海洋大学食品生産科学科

研究要旨

ヒメエゾボラの摂食によりテトラミン中毒を発症した患者の血液試料（血清および血漿）を入手したので、テトラミン濃度の測定を Kawashima et al. の LC/ESI-MS 法 (Toxicol, 44, 185-191, 2004) に準じて試みた。血液試料を凍結乾燥後、メタノール抽出、n-ヘキサン脱脂により LC/ESI-MS 分析用試料を調製した。来院直後の患者血液試料のテトラミン濃度は約 2 µg/ml で、病院での血液吸着治療、血液透析治療により減少傾向を示した。なお、添加回収実験では血液試料へ添加したテトラミンのほぼ 100% が回収され、LC/ESI-MS 法による血中テトラミン濃度の測定値は信頼性が高いと判断された。以上より、原因食品が残っていない場合でも、テトラミン中毒は患者の血中テトラミン濃度の測定により特定できることが示唆された。

A. 研究目的

肉食性巻貝、特にエゾバイ科エゾボラ属の仲間の中には唾液腺にテトラミンを高濃度に含むものが多く、しばしば食中毒を引き起こしている。テトラミン中毒では原因食品が残されていないことも多いが、そのような場合は中毒患者の血中テトラミン濃度を測定することによりテトラミン中毒の特定ができると予想される。本研究では、テトラミン中毒患者の血液試料をたまたま入手することができたので、そのテトラミン濃度を測定した。

B. 研究方法

1) テトラミン中毒患者の血漿および血清

テトラミン中毒患者の血液検体（血清および血漿）は山形大学医学部第一内科の高崎 聡博士から送られてきたものを用いた。患者はツブ貝（東京海洋大学の土屋光太郎準教授によりヒメエゾボラと同定）を 8 個食べた後、複視、脱力などの症状を呈し、7-8 時間後も中毒症状が続いたので山形大学医学部付属病院を訪れた。本患者は慢性腎不全の持病を持っている。血液検体は来院直後に採血したもの、直接血液吸着療法（活性炭を充填したカラムに血液を通し、血液中の種々の成分

を吸着し解毒などを行う）を行った後に採血したもの、血漿吸着療法後にさらに血液透析（血液を透析膜に通し老廃物などを除去する）を行った後に採血したものである。

2) LC/ESI-MS 分析用試料の調製

患者血清および血漿 200 µl を凍結乾燥し、1 ml のメタノールを加えて超音波で 5 min 磨砕した後、3500×g、15 min で遠心分離し上清を回収した。残った残渣に同様の操作を 2 回行い、集めた上清をエバポレーターで乾固した。乾固した試料を 3 ml の MilliQ 水に懸濁し、3 ml の n-ヘキサンで 3 度洗浄し、脱脂した。得られた水相を凍結乾燥し、400 µl の MilliQ 水に溶かして 10 µl を LC/ESI-MS に供した。

3) テトラミン添加回収実験

来院時の患者血清および健康者の血清 200 µl を凍結乾燥し、100 µg/ml の標準品テトラミン溶液を 20 µl（テトラミンとして 2 µg）加えた後、上述の方法で LC/ESI-MS 測定用試料液を調製した。

4) LC/ESI-MS

LC/ESI-MS によるテトラミンの定量は LC 装置には 2695 separation module liquid chromatograph (Waters, Milford, MA, USA) を、ESI-MS 装置

には ZQ4000 single quadrupole MS (Waters) を用い、Kawashima et al. の方法 (Toxicol, 44, 185-191, 2004) に準じて行った。LC 条件および ESI-MS 条件は表 1 に示した。検量線作成にはテトラミン標準品 (東京化成工業、日本) を 0, 0.1, 10, 30, 60 ng/10  $\mu$ l の濃度になるように調製し、フィルター過後、それぞれ 10  $\mu$ l を LC/ESI-MS で分析に供した。測定は 3 回ずつ行い、m/z 74 でのテトラミンピークのエリア面積の平均値から検量線を作成した。

#### (倫理面への配慮)

本研究ではテトラミン中毒患者の血液を使用した。血液試料を実験に使用することについては担当医が患者の了解を得ていると聞いている。

### C. 研究結果

LC/ESI-MS による血中テトラミン分析の代表例として、来院直後の患者血清試料で得られたマスキンググラムを図 1 に示す。テトラミンの分子イオン (m/z 74) およびフラグメントイオン (m/z 58) が保持時間 8 分付近に認められる。分子イオンのピーク面積から算出した血清および血漿中のテトラミン濃度を表 2 に示した。患者血清および健常者血清を用いて添加回収実験を行ったところ、回収率はいずれもほぼ 100% となり (表 3)、LC/ESI-MS による血液試料中のテトラミン濃度の測定結果は信頼性が高いことが裏付けられた。表 2 の測定結果から、患者の血中テトラミン濃度は、来院時がもっとも高く、血液吸着療法、血液透析を行うことにより減少傾向を示しており、治療によりテトラミンの体外排泄が促進されたと考えられる。

### D. 考察

血中テトラミンは LC/ESI-MS 法で定量可能なことが明らかになった。中毒患者の血中テトラミン測定が可能になったことは、中毒原因食品が残っていないような場合でもテトラミン中毒を判定できることを意味しており、食品衛生上きわめて有意義である。ただし、本研究で血液試料を得た患者は糖尿病を患っており、テトラミン中毒での回復時間が通常よりかなり長い傾向がみられた。今後、健常者がテトラミン中毒にかかった場合にもテトラミンの血中濃度を経時的に調べる必要があると考えられる。

### E. 結論

テトラミン中毒の場合、中毒原因食品が残っていても患者の血中テトラミン濃度の測定により中毒の特定が可能である。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) M. Yoshida, S. Sone, K. Shiomi: Purification and characterization of a proteinaceous toxin from the serum of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Protein J.* 27, 450-454 (2008)
- 2) A. Ueda, H. Nagai, M. Ishida, Y. Nagashima, K. Shiomi: Purification and molecular cloning of SE-cephalotoxin, a novel proteinaceous toxin from the posterior salivary gland of cuttlefish *Sepia esculenta*. *Toxicol* 52, 574-581 (2008)

#### 2. 学会発表

特になし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

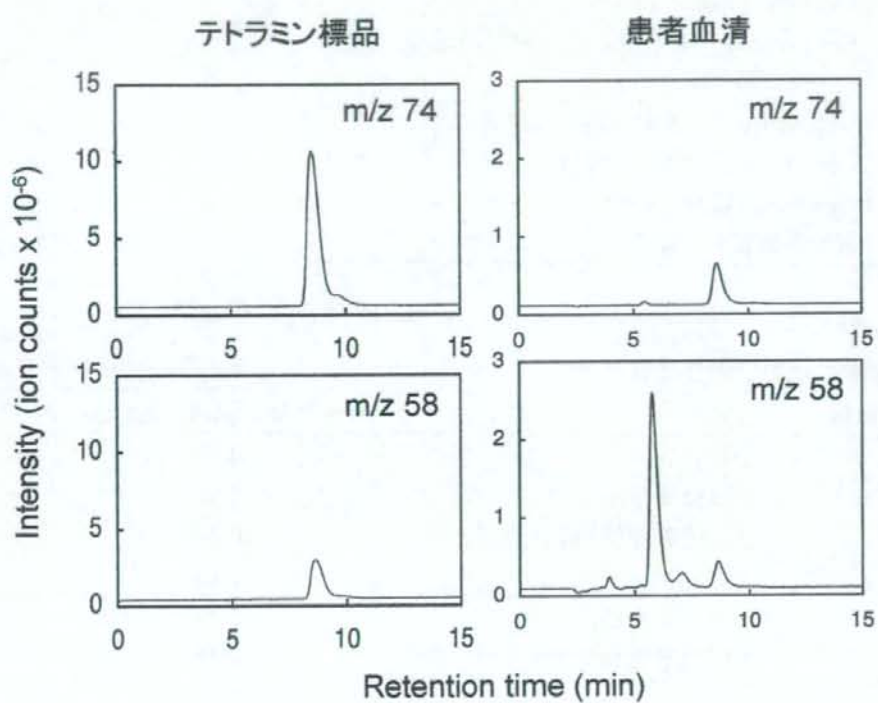


図1 LC/ESI-MSによる患者血清中のテトラミン分析

表1 LC/ESI-MS の測定条件

LC	装置 : 2695 separation module liquid chromatograph (Waters, Milford, MA, USA) カラム : Nucleosil 100-10SA (0.46 x 25 cm; Macherey-Nagel, Düren, Germany) 溶媒 : 20%を含む 0.03 M ピリジン-ギ酸緩衝液 (pH 3.1) 流速 : 1 ml/min 注入量 : 10 $\mu$ l
ESI-MS	装置 : ZQ4000 single quadrupole MS (Waters) Capillary voltage : 3.2 kV Cone voltage : 30 V (m/z 74)、70 V (m/z 58) モード : 陽イオン Desolvation ガス流量 (N <sub>2</sub> ) : 250 l/h Cone ガス流量 (N <sub>2</sub> ) : 60 l/h Desolvation 温度 : 150°C イオン源温度 : 60°C

表2 患者の血中テトラミン濃度

血液試料	処置	テトラミン濃度 ( $\mu$ g/ml)
血清	なし	2.38
	血液吸着療法	0.89
	血液吸着療法+血液透析	0.74
血漿	なし	2.15
	血液吸着療法	1.11
	血液吸着療法+血液透析	0.38

表3 血液試料へのテトラミンの添加回収実験

血液試料	テトラミンの添加量	LC/ESI-MS による測定値	回収率 (%)
	( $\mu$ g/ml)	( $\mu$ g/ml)	
患者血清	0	2.38	
	5	7.44	101.2
	5	7.40	100.4
健常者血清	0	0	
	5	4.99	99.8
	5	4.97	99.4
	5	4.98	99.6



### スギヒラタケキノコ中の毒性成分検索

研究分担者 近藤一成 国立医薬品食品衛生研究所

#### 研究要旨

スギヒラタケ中の毒性物質を検索するため、スギヒラタケ抽出物を神経細胞株(PC12, SH-SY5Y, NG108-15)を用いて細胞障害性を指標に分画精製を繰り返して行い、脂溶性分画から毒性を示す共役トリエン型脂肪酸を単離同定した。この脂肪酸は、HPLCによりスギヒラタケに特有で、産地を問わず含有されていた。さらに、細胞への影響を検討したところ、低濃度(IC<sub>50</sub>=1 µg/mL)で神経細胞をアポトーシスさせることが分かった。また、構造の類似した不飽和脂肪酸(非共役型)の神経細胞への影響は認められず、共役型不飽和脂肪酸特異的な毒性と考えられた。

#### A. 研究目的

従来、毒キノコとは考えられておらず、現在まで普通に採取、摂取されていたキノコはその成分もほとんど研究されていないことが多い。そのことは、摂取量が通常より極端に増加した場合の安全性が検討されていないことを意味する。スギヒラタケ (*Pleurocybella porrigens*)は、キシメジ科スギヒラタケ属のキノコであり、2004年～2005年にかけて急性脳症による被害が報告されるまで食用に供されており、有毒成分を持つとは考えられていなかった。健康被害防止の観点からも、その原因特定が望まれるところであるが、これまでにスギヒラタケ急性脳症の原因物質は特定されていない。スギヒラタケによる健康被害の原因究明を通じて、今後他のキノコが原因で起きる健康被害が発生した場合の原因特定につながる具体的検討方法を考えることは、健康被害防止の観点から極めて重要である。

今回は、スギヒラタケキノコを例として、その毒性物質を網羅的に検索し、特定することを目的に種々の実験を行った。

#### B. 研究方法

鍋や味噌汁として食べられているという食習

慣を考慮して、2004、2005年に国内各地から入手したスギヒラタケを1時間熱水抽出した。自然冷却し、ろ過後エバポレーターで減圧濃縮した。残渣を凍結乾燥し、総画分を得た。今回、試料を十分量確保できた新潟産スギヒラタケについては、総画分作成後、溶媒分配(ヘキサン、酢酸エチル、ブタノール、水)を行い、同様に減圧濃縮し、ヘキサン、酢酸エチル、ブタノールおよび水の各画分を作成した。

得られた総画分および溶媒分画後の各分画について神経細胞株(PC12, SH-SY5Y, NG108-15)を用いて細胞傷害性(細胞死)を指標にして、*in vitro* アッセイを行った。細胞死が認められた活性画分はさらに分画精製、アッセイを繰り返した。

培養細胞を用いた実験は以下の通り行った。培養細胞には、PC12 (Rat adrenal pheochromocytoma cell) を主に用いた。その他 SH-SY5Y (human neuroblastoma cell), NG108-15 (mouse neuroblastoma × rat glioma hybrid cell) 細胞も用いた。PC12 細胞は、ポリリジンコートした培養プレート上で血清 24 時間枯渇後 NGF により 3 日間分化誘導した。分化誘導した細胞に総画分および各画分を培地に添加し、細胞毒性を WST-8 アッセイにより、またアポトーシスの観察には細

胞を免疫染色 (TUNEL 法および Hoechst33342 による核染色) した後に蛍光顕微鏡を用いて行った。細胞は、 $0.5 \times 10^5$  cells/mL/well になるようにポリリジンコートした 24 well 培養フラスコに播き、WST-8 アッセイした。

免疫染色は、細胞を  $0.5 \times 10^5$  cells/mL/well になるようにポリリジンコートした 8 well ガラススライドチャンパーに播き、サンプル処理後パラホルムアルデヒドで固定した後、Triton X-100 で細胞膜透過性処理した。これを、2%BSA でブロッキングした後、各抗体および TUNEL または Hoechst で核染色した。染色後、PBS, Milli Q で洗浄した後、Prolong gold でマウントしたものを顕微鏡で観察した。

a-, b-eleostearic acid の分析は、LC-MS での検出感度が極めて低く、イオン化阻害も強く受けることが分かった。そこで、特徴的な UV スペクトルを持つことを利用して、フォトダイオードアレイ検出器付き HPLC (逆相カラム使用) を用いて行った。しかしながら、分析法検討に十分な試料がなく、a-, b-eleostearic acid の定量値については、添加回収実験ができなかったため参考値とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、倫理面へ配慮する内容を含んでいない。

### C. 研究結果

新潟産スギヒラタケ (2007年産) は熱水抽出後、溶媒分配し、総画分およびヘキサシ、酢酸エチル、ブタノール、水の4つの各画分を得た(図1)。

総画分および4各画分について、PC12細胞を用いて細胞死および形態変化を指標に毒性成分をくまなく検索した。その結果、ヘキサシおよび酢酸エチル画分に毒性成分の存在が認められた(図2)。すなわち、これら両画分を添加した細胞では、NGFにより分化誘導して形成した神経様突起がなくなり、細胞内空胞が観察された。また、死細胞核染色に用いられるPI(propidium iodide)で

染色したところ、20時間培養でほとんど細胞が赤く染色され、多くの細胞死が確認された。ブタノールおよび水の両画分では最大濃度1mg/mLにおいても細胞毒性は認められなかった。そこで、細胞死を誘導することが分かったヘキサシおよび酢酸エチル両画分についてさらに検討するため、カラムクロマトグラフィー(順相カラム、逆相HPLC)とアッセイを繰り返し行った。この時、ヘキサシおよび酢酸エチルの両画分はTLC分析の結果、共通のスポットが多く、重複する成分が多いと考えられたため、両画分を合わせて最初の順相カラムクロマトグラフィーを行った。クロロホルム:メタノール:水系の溶媒を用いて、順次分画し、分画した画分を細胞に添加しアッセイを繰り返した結果、FR-3で処理した細胞に細胞死と明らかな形態学的変化が認められた(図3)。活性があったFR-3を逆相HPLCで精製を行ったところ、FR-3-3、-3-4としたフラクションに毒性成分があることが集中していることが分かった。このフラクションはさらに精製、単離して高分解能MS分析、NMR測定、UVスペクトル比較などより、天倉らによりすでに報告されている

a-, b-eleostearic acidであると判明した。この脂肪酸は、他のキノコにはなくスギヒラタケに特有である。次に、他の産地からのスギヒラタケにこの脂肪酸が含まれているか分析したところ、すべてのスギヒラタケから検出された。また、含有量はTable1に示す通り産地にばらつきがあった。さらに、宮城、島根、東京、山形、福島、石川、岩手より入手したこれらスギヒラタケ抽出物について、NGFにより神経様に分化させたPC12細胞に添加したところ、いずれのサンプルも

神経様突起の消失、細胞萎縮、核の凝集が見られ、スギヒラタケ中の成分がアポトーシスを誘導することが示唆された。SH-SY5Y、NG108-15細胞でも同様の結果であった。また、他の既知の脂肪酸にはこのような作用は認められなかった。さらに、神経系以外の細胞には同様の濃度で毒性を示

さなかった。

最後に、これらの脂肪酸以外にはスギヒラタケ中には、神経細胞を用いたアッセイでは細胞毒性成分は見つからなかった。

#### D. 考察

今回、スギヒラタケキノコ中の毒性成分について in vitro 実験を行い、神経細胞死を指標に網羅的に検索した。神経系細胞は、毒性物質に対する感受性が高いため、毒性評価には適切であると考えられる。本研究で神経細胞死を誘導する成分として共役トリエン型脂肪酸を単離した。この結果は、スギヒラタケキノコ中には細胞に影響を与える可能性のある毒性成分は共役トリエン型脂肪酸以外には無いが有っても影響レベル以下であると考えられる。また、共役トリエン型脂肪酸は、天然の非共役型トリエン脂肪酸は全く毒性を示さなかったことから類似した脂肪酸構造をとっているにも関わらず、毒性発現という点では全く異なることが分かった。

#### E. 結論

スギヒラタケキノコ中の毒性成分の検索を、神経培養細胞を用いて検索した。その結果、唯一の毒性成分として共役トリエン型脂肪酸を単離同定した。また、神経細胞を用いた毒性評価は有用な方法であることが分かった。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) K. Kondo, A. Watanabe, H. Akiyama, T. Maitani: The metabolisms of agaritine, a mushroom hydrazine in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 854-862 (2008)

##### 2. 学会発表

- 1) 近藤一成, 太田小夜香, 穂山浩, 手島玲子: 各産地からのスギヒラタケ中の毒性物質につ

いて、第45回全国衛生化学技術協議会年会、佐賀、2008年10月

- 2) K. Kondo, S. Ohta, R. Teshima: Detection of reactive oxygen species in cells using a fluorescent probe - application and limitation. 35th FACSS meeting (Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies), USA, Sept. 28 - Oct. 2, 2008

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

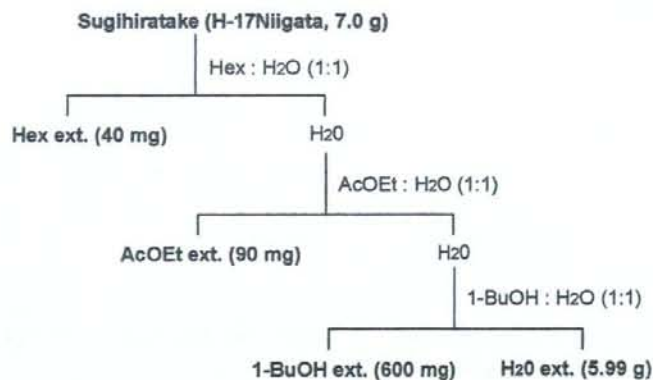


Fig.1 *Pleurocybella porrigens* were fractionated into Hex, AcOEt, BuOH, and H<sub>2</sub>O extracts.

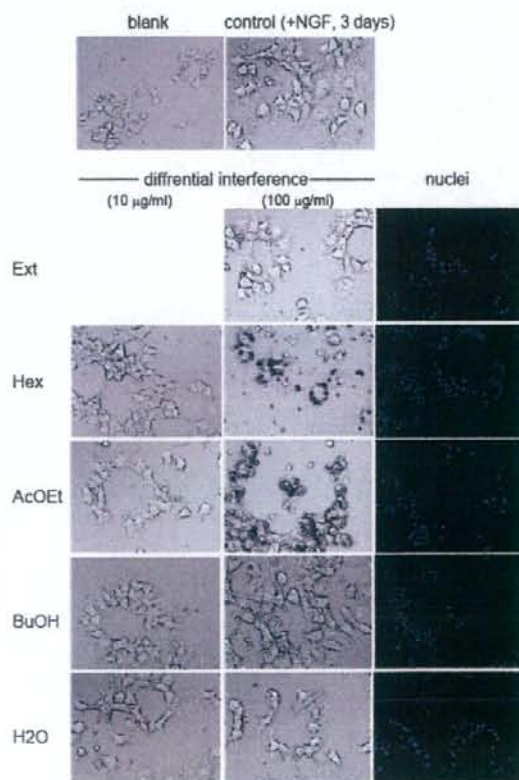


Fig.2 Effect of *Pleurocybella porrigens* extracts on PC12 cells. Nuclei were stained with Hoechst in blue and TUNEL in red.

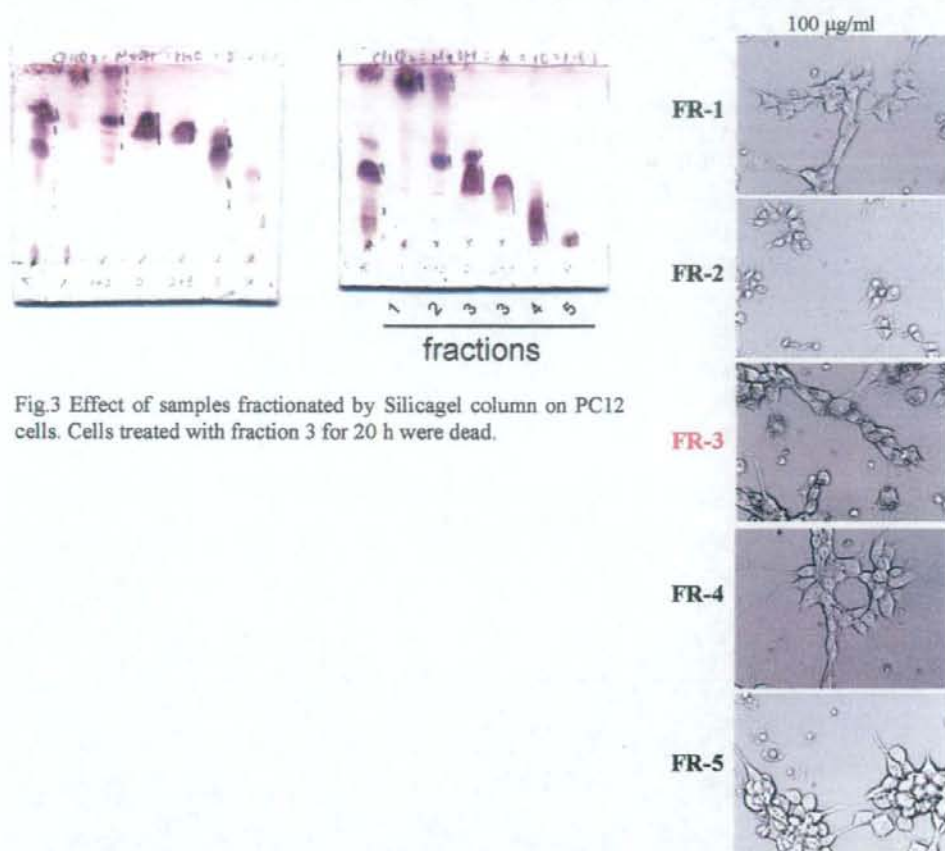


Fig.3 Effect of samples fractionated by Silicagel column on PC12 cells. Cells treated with fraction 3 for 20 h were dead.

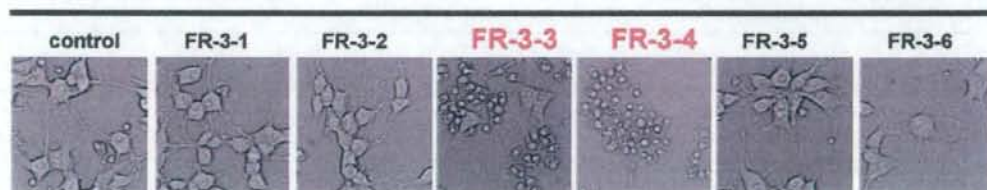
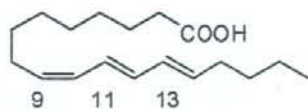


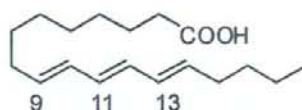
Fig.4 Effect of samples fractionated by HPLC on PC12 cells. Cells treated with fractions 3-3 and 3-4 for 20 h were dead and their nuclei were condensed.

Table 1. ESA contents in *Pleurocybella porrigens*

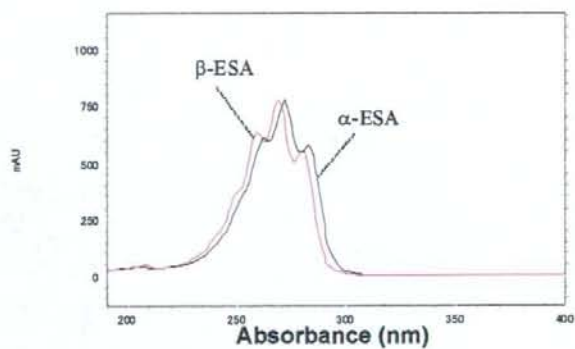
area	$\alpha$ -ESA ( $\mu\text{g/g dry}$ )
Miyagi	67
shimane	36
Tokyo	77
Yamagata	7.8
Fukushima	18
Ishikawa	172
Iwate	19



$\alpha$ -eleostearic acid  
(9Z, 11E, 13E-18:3)  
 **$\alpha$ -ESA**



$\beta$ -eleostearic acid  
(9E, 11E, 13E-18:3)  
 **$\beta$ -ESA**



アジサイ属植物の食中毒に関する調査・研究

研究分担者 佐竹元吉 富山大学和漢医薬学総合研究所

研究協力者 紺野勝弘 富山大学和漢医薬学総合研究所

研究要旨

2008年6月、茨城県と大阪府で、相次いでアジサイの葉による食中毒が発生した。新聞報道では、原因は青酸配糖体とされたが、その後の調査で、青酸配糖体は検出されないという情報がある。そこで、アジサイを始め、アジサイ属植物を広範に採集し、それらに食中毒を引き起こすような毒成分が含まれているかどうか、含まれているとすれば、どのような化合物なのかを特定すべく、調査・研究を開始した。

A. 研究目的

アジサイを始めとするアジサイ属植物に、食中毒を引き起こすような毒成分が含まれているかどうか、含まれているとすれば、どのような化合物なのかを特定する。

B. 研究方法・結果

1) 文献調査

アジサイには青酸配糖体が含まれるという記述が、文献にはよく見られ（たとえば、「写真で見える家畜の有毒植物と中毒」畜産技術協会編）、なかば常識となっている。これは、1920年アメリカでのアジサイによる馬・牛の中毒報告が根拠になっている。しかしその後、1963年になって、そのような含窒素化合物の存在は否定されている。一方、ジョウザンアジサイ・アジサイには、強い嘔吐を引き起こすアルカロイド化合物 *febrifugine* が含まれているという報告がある。

2) アジサイ属植物の採集

中田政司氏（富山県中央植物園）、藤野廣春氏（富山大附属薬用植物園）の協力を得て、以下10種のアジサイ属植物を採集した。

1. アジサイ *Hydrangea macrophylla*
2. ガクアジサイ *H. macrophylla* f. *normalis*
3. カシワバアジサイ *H. quercifolia*
4. ヤマアジサイ *H. serrata*
5. エゾアジサイ *H. serrata* var. *megacarpa*
6. ノリウツギ *H. paniculata*
7. アメリカノリノキ *H. arborescens*
8. アマチャ *H. macrophylla* var. *thunbergii*

9. アマギアマチャ *H. macrophylla* var. *amagiana*

10. ベニガク *H. macrophylla* forma *rosalba*

（倫理面への配慮）

本研究は、倫理面へ配慮する内容を含んでいない。

C. 考察

文献調査によれば、アジサイに青酸配糖体が含まれることには疑義があり、嘔吐性のアルカロイドの可能性もある。10種のアジサイ属植物を採集できたので、今後はこれらについて、毒成分の有無を調べていく予定である。なお、青酸の検出には、異なったいくつかの手法があり、それぞれ特徴があるので注意を要する。

D. 結論

アジサイを始めとするアジサイ属植物の食中毒、またその原因化合物の特定は未だ明確ではなく、次年度の課題である。そのため、国内の薬用植物・植物毒の専門家を組織し、研究会を発足した。

E. 研究発表

特になし

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究」

分担研究報告書

自然毒のリスクプロファイルの作成

研究分担者	塩見一雄	東京海洋大学食品生産科学科
研究分担者	長島裕二	東京海洋大学食品生産科学科
研究分担者	荒川 修	長崎大学水産学部
研究分担者	近藤一成	国立医薬品食品衛生研究所
研究分担者	佐竹元吉	富山大学和漢医薬学総合研究所
研究協力者	紺野勝弘	富山大学和漢医薬学総合研究所
研究協力者	来待幹生	島根県保健環境科学研究所
研究協力者	富川康之	島根県中山間地域研究センター

研究要旨

自然毒に関するリスクプロファイルの様式を検討し、有毒生物別に中毒発生状況、中毒症状、原因毒の本体とその毒性・化学的性状・分析方法、中毒対策などの項目に沿って整理することを決定した。また、一般消費者向けのリスクプロファイルの概要版も作成し、厚生労働省のホームページに掲載する方針も決定した。これらの方針を受けて、データが蓄積されていると思われる自然毒を中心に国内外の文献調査を実施し、フグ毒、麻痺性貝毒、下痢性貝毒、巻貝唾液腺毒および8種キノコ毒（ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴテングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ）についてはリスクプロファイル（案）を作成した。また、ハコフグ毒、小型巻貝毒および6種キノコ毒（ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、ドクササコ、ドクツルタケ）については概要版（案）も作成した。

A. 研究目的

自然毒に関するリスクプロファイルの様式を決めるとともに、いくつかの重要な自然毒については国内外の文献調査に基づいてリスクプロファイル案を作成することを目的とした。

B. 研究方法

第1回班会議（平成20年5月23日）において、リスクプロファイルは有毒生物別に作成することとした。次いで、フグ毒、巻貝唾液腺毒、数種キノコ毒についてリスクプロファイルのたたき台を作成し、記載するべき必要項目を第2回班会議（11月17日）で検討した。その結果、中毒発生状況、中毒症状、原因毒の本体とその毒性・化学的性状・分析方法、中毒対策などの記載するべき必須項目を決めるとともに、すべての自然毒に

ついて様式を統一することは難しいかもしれないが、少なくとも魚貝毒、キノコ毒、植物毒のそれぞれにおいてはできるだけ統一することとした。

以上の検討を踏まえ、知見が蓄積されていると思われる自然毒を中心に国内外の文献を調査し、いくつかの重要な自然毒についてはリスクプロファイル（案）および概要版（案）を作成した。（倫理面への配慮）

本研究は文献調査とその整理であり、倫理面への配慮する内容を含んでいない。

C. 研究結果、考察、結論

フグ毒、麻痺性貝毒、下痢性貝毒、巻貝唾液腺毒および8種キノコ毒（ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴ



テングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ)についてはリスクプロファイル(案)を作成した。このうち、6種キノコ毒(ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、ドクササコ、ドクツルタケ)については概要版(案)も作成した。また、ハコフグ毒および小型巻貝毒については研究が進行中であるが、現時点でのリスクプロファイルの概要版(案)を作成した。次ページ以降に、フグ毒のリスクプロファイル(案)、ハコフグ毒の概要版(案)、麻痺性貝毒および下痢性貝毒のリスクプロファイル(案)、小型巻貝毒の概要版(案)、巻貝唾液腺毒のリスクプロファイル(案)、8種キノコ毒(ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴテングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ)のリスクプロファイル(案)、6種キノコ毒(ツキヨタケ、クサウラベニタケ、ニガクリタケ、カキシメジ、ドクササコ、ドクツルタケ)の概要版(案)の順で添付した。

リスクプロファイル(案)あるいは概要版(案)は、魚貝毒とキノコ毒では様式がやや異なっているが、それぞれの毒についてはほぼ統一されていると考える。次年度には他の自然毒についてもリスクプロファイルとその概要版を作成するので、様式についてはできるだけ早い時期に検討して最終結論を出したい。

#### D. 健康危険情報

特になし

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

リスクプロファイル

フグ毒

1	有毒種	<p>主としてフグ科魚類（個別のフグの毒力については別紙を参照）。別表に示すように、わが国では食用可能なフグの種類と部位が定められているので、それに従えばフグ中毒を起こすことはまずない。しかし、フグの内臓、とくに肝臓や卵巣には高濃度の毒素が蓄積されているので、これらを食べた場合にフグ中毒になることが多い。</p>																																
2	中毒発生状況	<p>我が国では年間に約 30 件のフグ中毒が発生し、患者数は約 50 名で数名が死亡している。2001～2007 年の中毒発生状況を表 1 に示す。</p> <p style="text-align: center;">表 1 フグによる食中毒発生状況（2001～2007 年）</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>年次</th> <th>発生件数（件）</th> <th>患者数（人）</th> <th>死者数（人）</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2001</td> <td>31</td> <td>52</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>2002</td> <td>37</td> <td>56</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>2003</td> <td>38</td> <td>50</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>2004</td> <td>44</td> <td>61</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>2005</td> <td>48</td> <td>75</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>2006</td> <td>26</td> <td>33</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>2007</td> <td>29</td> <td>44</td> <td>3</td> </tr> </tbody> </table>	年次	発生件数（件）	患者数（人）	死者数（人）	2001	31	52	3	2002	37	56	6	2003	38	50	3	2004	44	61	2	2005	48	75	2	2006	26	33	1	2007	29	44	3
年次	発生件数（件）	患者数（人）	死者数（人）																															
2001	31	52	3																															
2002	37	56	6																															
2003	38	50	3																															
2004	44	61	2																															
2005	48	75	2																															
2006	26	33	1																															
2007	29	44	3																															
3	中毒症状	<p>1. 中毒症状</p> <p>フグ毒による中毒症状は食後 20 分から 3 時間程度の短時間で現れる。重症の場合には呼吸困難で死亡することがある。中毒症状は臨床的に 4 段階に分けられる。</p> <p>第 1 段階：口唇部および舌端に軽い痺れが現れ、指先に痺れが起こり、歩行はおぼつかなくなる。頭痛や腹痛を伴うことがある。</p> <p>第 2 段階：不完全運動麻痺が起こり、嘔吐後まもなく運動不能になり、知覚麻痺、言語障害も顕著になる。呼吸困難を感じるようになり、血圧降下が起こる。</p> <p>第 3 段階：全身の完全麻痺が現れ、骨格筋は弛緩し、発声はできるが言葉にならない。血圧が著しく低下し、呼吸困難となる。</p> <p>第 4 段階：意識消失がみられ呼吸が停止する。呼吸停止後心臓はしばらく拍動を続けるが、やがて停止し死亡する。</p>																																
4	毒成分																																	
	名称および化学構造	テトロドトキシン																																



	R1	R2	R3	R4
テトロドトキシシン	H	OH	OH	CH <sub>2</sub> OH
4-エピテトロドトキシシン	OH	H	OH	CH <sub>2</sub> OH
6-エピテトロドトキシシン	H	OH	CH <sub>2</sub> OH	OH
11-デオキシテトロドトキシシン	H	OH	OH	CH <sub>3</sub>
11-ノルテトロドトキシシン-6(R)-オール	H	OH	H	OH
11-ノルテトロドトキシシン-6(S)-オール	H	OH	OH	H
11-ノルテトロドトキシシン-6,6'-ジオール	H	OH	OH	OH
11-オキソテトロドトキシシン	H	OH	OH	CH(OH) <sub>2</sub>

図1 テトロドトキシシンおよび同族体の構造

化学的性状 テトロドトキシシンの結晶は有機溶媒や水に不溶だが、含水アルコールや酸性溶液には可溶である。弱酸性溶液中では加熱に対して安定だが、中性溶液での加熱やアルカリや強酸性溶液中では不安定である。

毒性 マウスに対する LD<sub>50</sub> 値は、静脈投与で 8.7 μg/kg、腹腔内投与で 10 μg/kg である。

中毒量 ヒトの致死量はテトロドトキシシンに換算して 1~2mg と推定される。

作用機構 骨格筋や神経の膜電位依存性 Na<sup>+</sup>チャンネルに結合し、チャンネル内への Na<sup>+</sup>の流入を阻害して神経伝達を遮断する神経毒である。

分析方法 フグ毒の検査、定量は「食品衛生検査指針、理化学編」[1]に従い、マウス毒性試験法で行うことが、我が国の公定法とされている。フグ組織試料から酢酸で加熱抽出した試験液をマウスに腹腔内投与し、マウスの致死時間からマウス単ユニットに換算して毒量を測定する。フグ毒の場合、体重 20g のマウスを 30 分間で死亡させる毒量を 1 マウスユニット (MU) と定義する。組織 1g 当たり 10 マウスユニットを超えるものは食用不適と判断する。毒成分の分析には HPLC-蛍光検出法[2]や LC-MS[3, 4]または LC-MS/MS[3, 5]が汎用される。

5 中毒対策 フグ毒中毒の予防は、別表の『処理等により人の健康を損うおそれがないと認められるフグの種類および部位』で許可された種類のフグの、決められた部位を食べることである。魚種によって食用可能な部位が異なるので、魚種の鑑別はフグ毒中毒予防にはとても重要である。また、フグの名称は地方によって異なるので、魚種の鑑別は図鑑や専門書[6, 7]をもとに慎重に行わなければならない。フグ毒は一般的な調理加熱では分解しない。フグ毒中毒は釣り人や素人による家庭料理が原因になることが多いので、都道府県の条例で定めたフグの取扱資格を有した専門店で購入、摂食することが確実な予防法である。

6	文献	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 厚生労働省監修：食品衛生検査指針 理化学編，日本食品衛生協会（2005）。</li> <li>2. Nagashima Y., Maruyama J., Noguchi T., Hashimoto K.: Analysis of paralytic shellfish poison and tetrodotoxin by ion-pairing high performance liquid chromatography. <i>Nippon Suisan Gakkaishi</i>, 53, 819-823 (1987).</li> <li>3. Shoji Y., Yotsu-Yamashita M., Miyazawa T., Yasumoto T.: Electrospray ionization mass spectrometry of tetrodotoxin and its analogs: liquid chromatography/mass spectrometry, tandem mass spectrometry, and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. <i>Anl. Biochem.</i>, 290, 10-17 (2001).</li> <li>4. 堀江正一，石井里枝，小林 進，中澤裕之：LC/MS によるフグ毒テトロドキシンの分析. <i>食品衛生学雑誌</i>, 43, 234-238 (2002).</li> <li>5. 赤木浩一畑野和広：LC/MS/MS によるフグ組織およびヒト血清・尿中のテトロドキシンの分析. <i>食品衛生学雑誌</i>, 47, 46-50 (2006).</li> <li>6. 野口玉雄，阿部宗明，橋本周久：有毒魚介類携帯図鑑，緑書房（1997）。</li> <li>7. 厚生省生活衛生局乳肉衛生課編：改訂日本近海産フグ種の鑑別と毒性，中央法規出版（1994）。</li> </ol>
7	参考図書	<ul style="list-style-type: none"> <li>・塩見一雄，長島裕二：新訂版 海洋動物の毒. 成山堂書店（2006）。</li> <li>・日本食品衛生協会：第2版 食中毒予防必携. 日本食品衛生協会（2007）。</li> </ul>