

200939033A

別添 1

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

平成 21 年度 総括・分担研究報告書
(H20-食品-一般-015)

研究代表者 塩見 一雄

平成 22 (2010) 年 5 月

別添 2

目 次

I. 総括研究報告書

自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究

塩見一雄	1
------	---

II. 分担研究報告書

1. 日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

長島裕二	10
------	----

2. 小型巻貝とハコフグの毒性調査

荒川 修	15
------	----

3. 巻貝唾液腺の毒性およびテトラミン含量

塩見一雄	21
------	----

4. スギヒラタケキノコ由来の脂肪酸の培養神経細胞に与える影響

近藤一成	25
------	----

5. 有毒植物による食中毒に関する調査・研究

佐竹元吉	28
------	----

6. 自然毒のリスクプロファイルの作成

塩見一雄、長島裕二、荒川 修、近藤一成、佐竹元吉	31
--------------------------	----

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

	59
--	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷

	60
--	----

別添3

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」

総括研究報告書

研究代表者 塩見一雄 東京海洋大学海洋科学部 教授

研究要旨

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性：日本沿岸で漁獲されるフグ類の毒性を再評価することを目的に、2009年度はフグ科サバフグ属のドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグ属ヨリトフグの3種について毒性を測定した。ドクサバフグとヨリトフグは「日本産フグの最高毒力表」に記載されている毒力レベルであったが、「無毒」とされているカナフグの消化管と卵巣から毒性が検出されたため、これらについては毒性評価を改めるべきと考える。フグの正確な魚種鑑別を行うため、形態的特徴からドクサバフグと判定された個体の筋肉から抽出したミトコンドリア16SrRNAの部分塩基配列を解析した結果、一部の個体でシロサバフグの配列と一致したものがあり、これらは毒性が低かった。食中毒防止の観点から、正確な魚種鑑別を行うため遺伝子解析を併用することが望まれる。小型巻貝の毒性と毒成分：2009年1～6月に沖縄県の沖縄本島および石垣島沿岸で採集した小型巻貝15種89個体につき、マウス試験で毒性を調べたところ、キンシバイ、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイが有毒であった。これらのうち、キンシバイの毒力が最も高く、筋肉で39.5～460 MU/g（平均毒力±標準偏差：195±186 MU/g）、内臓で79～187 MU/g（平均毒力：133 MU/g）であった。サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの毒力は平均的に概ね10 MU/gを示し、キンシバイを含めていずれの貝も毒の主成分はテトロドトキシンであった。一方、同時期同海域で採取したその他の巻貝については、毒性は全く認められなかった。ハコフグの毒性：2008年12月に長崎県上五島沿岸で採捕したハコフグ3個体の筋肉、肝臓、その他の内臓、および2008年9～11月に上五島で身欠きしたハコフグの肝臓10ロット（42個体）の毒性をマウス試験で調べたところ、肝臓3ロットから0.5 MU/gないし0.7 MU/gの毒性が検出された。巻貝唾液腺の毒性およびテトラミン含量：オキニシ科1種（ミヤコボラ）、エゾバイ科7種（イソニナ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラ、エゾバイ、シライトマキバイ、モスソガイ）の合計8種巻貝の唾液腺から調製した抽出液をマウスに静脈投与したところ、ミヤコボラを除く7種で致死活性が認められた。抽出液を加熱したところ、エゾボラ属の3種（フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラ）では致死活性は変化しなかったが、その他の4種では完全に失活した。次に、イソニナとエゾバイを除く6種巻貝の唾液腺のテトラミン含量をLC/ESI-MS法で測定したところ、エゾボラ属の3種にのみ高濃度のテトラミンが検出された。これら3種巻貝のマウス致死活性は、耐熱性のテトラミンによると判断された。スギヒラタケキノコ由来の脂肪酸の培養神経細胞に与える影響：スギヒラタケより単離した細胞毒性を示す脂肪酸 α -eleostearic acid (α -ESA)のオリゴデンドロサイト細胞に与える影響について

検討した。その結果、 α -ESA は低濃度 (1-2 $\mu\text{g/ml}$) でオリゴデンドロサイト細胞をアポトーシスの細胞死へと誘導することが分かった。有毒植物による食中毒に関する調査・研究：前年度採集したアジサイ属植物のシアン化合物含有について検討した。シアンテストワコーを用いたシアン検出試験により、エゾアジサイ・ベニガクアジサイ・アマチャに少量のシアンが検出されたが、ヒトに被害を及ぼすほどの量ではなかった。アジサイからはまったく検出できなかった。全国の薬用植物・植物毒の専門家に呼びかけて植物毒研究会を組織し、国内の有毒植物による食中毒情報を広く収集・調査した。リスクプロファイルの作成：国内外の文献調査ならびに近年問題になっている自然毒に関して得られた科学的知見に基づき、動物性自然毒 (=魚介類の毒) については魚類、二枚貝および巻貝に大別して毒成分ごとに、植物性自然毒 (キノコ毒、高等植物毒) については植物ごとに (アイウエオ順に)、リスクプロファイルの概要版と詳細版を作成した。概要版については平成 22 年 4 月に厚生労働省のホームページに掲載した。また、詳細版についても、平成 22 年 6 月に厚生労働省のホームページに掲載する予定である。

研究分担者

長島裕二	東京海洋大学海洋科学部 教授
荒川 修	長崎大学水産学部教授
近藤一成	国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
佐竹元吉	富山大学和漢医薬学総合研究所 特任教授

A. 研究目的

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

フグの毒性評価は 1945 年に谷が著した「日本産フグの中毒学的研究」が基となっており、現在でも大方はこれに従う。しかし、ときどきこの基準を超える例がある。さらに、2008 年には南方産と思われていたドクサバフグが九州や四国沿岸で釣り上げられ、ドクサバフグによる食中毒を起こす事例も発生した。本研究はこうした背景のもと、日本沿岸で漁獲されるフグの毒性を再評価することを目的に、各種フグを集め毒性試験を行った。

小型巻貝とハコフグの毒性調査

2007 年 7 月に長崎県でムシロガイ科の腐肉食性小型巻貝キンシバイ *Nassarius (Alectrion) glans* による極めて重篤な食中毒が発生した。この食中毒を契機として、昨年度は、長崎県橘湾ならびに熊本県宮野河内湾産キンシバイの毒性や毒成分を調査し、本巻貝は中腸腺のみならず筋肉にも‘猛毒’に相当するテトロドトキシン (TTX) を

保有し、食品衛生上極めて危険な種であることを明らかにした。

一方、日本では近年、ハコフグ類により、横紋筋融解症を主徴とし、TTX 中毒やシガテラとは異なる特異な中毒 (以下、ハコフグ中毒とする) が散発している。昨年度の調査では、これまでに 9 件の中毒事例があることが判明した。患者総数は 13 名で、うち 1 名が死亡している。9 事例中 2 事例において、原因魚種がハコフグ *Ostracion immaculatus* と同定されており、加えてウミスズメ *Lactoria diaphan* やハマフグ *Kentrocapros aculeatus* も原因魚種となる可能性が示唆された。

このような状況の下、本年度は自然毒のリスクプロファイル作成に資するため、沖縄県産小型巻貝類と長崎県五島列島産ハコフグの毒性調査を実施した。

巻貝唾液腺の毒性およびテトラミン含量

肉食性巻貝の中には、餌動物の麻痺のために唾液腺に毒成分をもつものが知られている。古くから有名な毒成分はエゾバイ科エゾボラ属 *Neptunea* の仲間の唾液腺に高濃度に含まれているテトラミンで、しばしば食中毒を引き起こしている。エゾバイ科エゾボラ属以外にも、エゾバイ科エゾバイ属のスルガバイ、フジツガイ科のアヤボラ、テングニシ科のテングニシの唾液腺に高濃度のテトラミンが検出されているし、アヤボラでは中毒例もある。これまでに調べられていない肉食性巻貝の中には唾液腺に高濃度のテトラミンを含んでいる可能性があるため、テトラミン中毒の防止のために、各種海産肉食性巻貝の唾液腺に

ついてテトラミン含量を明らかにすることが求められる。そこで本研究では、入手できた巻貝の唾液腺について、まず毒性（マウス致死活性）を調べ、次いでテトラミン含量を測定した。

スギヒラタケキノコ由来の脂肪酸の培養神経細胞に与える影響

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、ごく少量の毒性物質が含まれている可能性もあり、また、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。

前年度において、スギヒラタケキノコの毒性物質について培養神経細胞を用いて検索し、細胞毒性のある脂肪酸として α -eleostearic acid (α -ESA) を分離し、培養神経細胞をアポトーシスの細胞死へ導くことを明らかにした。そこで、今回は神経細胞の機能維持に不可欠なグリア細胞の一つ、オリゴデンドロサイト細胞に与える影響について検討した。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

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のかどうか、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。また、有毒植物による食中毒情報を収集・調査し、中毒防止のための対策を検討する。

自然毒のリスクプロファイルの作成

国内外の文献調査ならびに近年問題になっている自然毒に関して得られた科学的知見に基づき、自然毒に関するリスクプロファイルとして概要版および詳細版の2種類を作成し、厚生労働省のホームページに掲載することを目的とした。

B. 研究方法

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

1) 試料

試料には、フグ科サバフグ属のドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグ属ヨリトフグの3種を用いた。試料は鮮魚または貯蔵状態の良好な冷凍品で入手した。鮮魚の場合は直ちに、凍結された試料の場合は、フグをビニル袋に入れて流水で半解凍後、解剖して各組織に分けた。

2) 毒性試験

フグの毒性は食品衛生検査指針理化学編に記載のフグ毒検査法に従い、マウス試験法で測定した。フグの毒性はマウスユニット (MU) で表示し、1 MU は組織抽出液あるいはその希釈液 1 ml を ddY 系雄、体重 20g のマウスに腹腔内投与したとき、マウスを 30 分間で死亡させるのに必要な毒量と定義される。

3) 毒成分分析

マウス試験で毒性を示したドクサバフグ (No. 3) 筋肉の酢酸抽出液を遠心限外ろ過 (分画分子量 5000) に供し、得られたろ液を LC/ESI-MS で毒成分分析した。

4) 魚種鑑別

ドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグは形態に基づき判別した。ドクサバフグについては、背部の棘が頭部後方から背びれ付け根まで広範囲に分布していることを確認した。さらに、石崎が開発した「遺伝子解析法に基づいた魚類加工品のフグ種鑑別検査法」(食安輸発第 0330003 号 輸入魚類加工品のフグ種鑑別法) について、厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課、平成 21 年 3 月 30 日) の DNA 直接塩基配列決定法に従って魚種鑑別を行った。

小型巻貝とハコフグの毒性調査

1) 小型巻貝の毒力の測定方法

試料には、2009 年 1～6 月に沖縄県の沖縄本島および石垣島沿岸で採集したキンシバイ 6 個体、サツマビナ *Oliva annulata* 8 個体、ヘコミマクラ *Oliva concavospira* 2 個体、イボヨフバイ *Nassarius coronatus* 5 個体、カゲロウヨフバイ *Zeuxis* sp. 6 個体、アワムシロ *Niotha albescens* 17 個体、コブムシロ *Pliarcularia globosus* 3 個体、ウスイロバイ *Balyllonia kirana* 9 個体、ガンゼキボラ *Chicoreus brunneus* 3 個体、イトマキボラ *Pleuroploca trapezium paeteli* 1 個体、サツマボラ *Cymatium aquatile* 6 個体、シノマキガイ *Cymatium pileare* 6

個体、ニシキノキバフデ *Mitra stictica* 1 個体、ジユドウマクラ *Oliva miniacea* 3 個体、ハマヅド *Costellaria exasperata* 13 個体の計 15 種 89 個体を用いた。イボヨフバイとカゲロウヨフバイを除く試料について、それぞれ筋肉と内臓に分け、公定法（食品衛生検査指針理化学編フグ毒検査法）に準拠して試験液を調製後、マウス毒性試験により毒力を求めた。イボヨフバイでは個体ごとに筋肉と内臓を、カゲロウヨフバイでは 6 個体の筋肉と内臓を合一したものの毒力を求めた。

2) 小型巻貝の毒成分の分析方法

前項で調製した試験液を試料とした。各試料を LC/MS に供して TTX およびその関連成分を分析した。

3) ハコフグの毒力の測定方法

試料には、2008 年 12 月に長崎県上五島沿岸で採捕したハコフグ 3 個体、2008 年 9~11 月に上五島で身欠きしたハコフグの肝臓 10 ロット（42 個体）を用いた。前者の試料は筋肉、肝臓、その他の内臓に分けた後に各部位から、後者についてはロットごとに 3~4 個体の試料を合一し、粗抽出液を調製した。各粗抽出液をマウス毒性試験に供し、毒力を求めた。

巻貝唾液腺の毒性およびテトラミン含量

1) 試料

マウス毒性試験用には、オキニシ科 1 種（ミヤコボラ *Bufo nana*）、エゾバイ科 7 種（イソニナ *Japeuthria ferrea*、フジイロエゾボラ *Neptunea intersculpta*、ヒメエゾボラ *Neptunea arthritica*、エゾボラ *Neptunea polycostata*、エゾバイ *Buccinum middendorffi*、シライトマキバイ *Buccinum isaotakii*、モスソガイ *Volutharpa ampullacea perryi*）の合計 8 種巻貝を、テトラミン測定用にはイソニナとエゾバイを除く 6 種巻貝を用いた。

2) マウス毒性試験

唾液腺試料を 4 倍量の 0.01 M リン酸緩衝液（pH 7.0）で抽出し、粗抽出液とした。粗抽出液（またはその段階的 2 倍希釈液）を 1 群 2 尾の ddY 系雄マウス（4 週令、体重約 20 g）に静脈投与し、最大 24 hr 観察した。投与液量は体重 1 g あたり 10 μ l に設定した。1 群 2 尾のマウスが両方とも死亡した時を致死活性陽性とし、陽性と判断された最高希釈倍率の逆数を titer で表示した。粗抽出液の毒性が陽性であった場合は、加熱処理（100 $^{\circ}$ C、10 min）後の致死活性も調べた。

3) テトラミン含量の測定

テトラミン測定用試料の調製および LC/ESI-MS によるテトラミンの定量は Kawashima et al. の方法（Toxicol, 44, 185-191, 2004）に準じて次のように行った。唾液腺試料を 10 倍量のメタノールで 2 回抽出した。抽出液を乾固後、用いた唾液腺重量の 10 倍量の水に懸濁し、水と等量の n-ヘキサンを用いて 3 回脱脂した。水相をエバポレーターで乾固後、用いた唾液腺と等量の重さに相当する水に溶解し、LC/ESI-MS 測定用試料とした。

スギヒラタケキノコ由来の脂肪酸の培養神経細胞に与える影響

スギヒラタケから単離した α -ESA は、既知物質であったため、標準品を入手し、両者ともに同じ細胞毒性を示すこと確認した。そこで、以後の実験は高純度の市販 α -ESA を用いて行った。

細胞には、p53 ノックアウトマウス脳より樹立されたオリゴデンドロサイトの前駆細胞 FBD-102b（国立生育医療センター 山内淳司博士より供与）を、血清枯渇下にポリリジンコートされたディッシュ状に播種し、3 日以上培養することで成熟オリゴデンドロサイトへと分化させた細胞を実験に用いた。また、細胞毒性は 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核染色（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、 0.25×10^5 cells/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 アッセイを行った。免疫染色は、細胞を 0.5×10^5 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、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 Hoechst で染色した。染色後、PBS、Milli Q で洗浄した後、Prolong gold でマウントしたものを蛍光顕微鏡で観察した。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

1) アジサイ属植物葉抽出物のシアンテスト

昨年度採集したアジサイ属植物の葉抽出物について、シアン化合物含量をシアンテストワコー（和光純薬）を用いて調べた。青酸配糖体の場合、酵素の作用でシアン化水素が発生し、毒性を発揮する。そこで、 β -グルコシダーゼ処理と無処理の二通りの方法で行った。

2) 有毒植物による食中毒調査

有毒植物による食中毒の実態を把握するため、国内の薬用植物・植物毒の専門家に呼びかけ「植物毒研究会」を組織し、メーリングリストによって日常的に情報交換しながら、中毒情報の収集・調査に努めた。構成員、以下の通り。

吉田尚利（北海道医療大薬草園）
磯田 進（昭和大薬用植物園）
中根孝久（昭和大薬大天然物化学）
洲野裕之（医薬基盤研薬用植物資源）
御影雅幸（金沢大薬）
酒井英二（岐阜薬大薬草園）
藤野廣春（富山大薬用植物園）
数馬恒平（富山大和漢研）
権守邦夫（浜松医大法医学）
後藤勝実（京都薬大薬用植物園）
月岡淳子（京都薬大薬用植物園）
神田博史（広島大薬用植物園）
奈女良 昭（広島大法医学）
関田節子（徳島文理大香川薬）
矢原正治（熊本大薬用植物園）

自然毒のリスクプロファイルの作成

国内外の文献調査ならびに近年問題になっている自然毒に関する科学的知見の集積は前年度から継続し、その成果に基づいてリスクプロファイル（概要版および詳細版）を作成した。リスクプロファイルの様式および作成スケジュール（厚生労働省のホームページ掲載スケジュールを含む）については、2回の研究班会議（第1回：平成21年7月11日、第2回：平成21年12月17日）を開催して検討した。

（倫理面への配慮）

本研究では実験動物としてマウスを使用した。マウス毒性試験やマウスの保管にあたっては「動物の愛護及び管理に関する法律」（法律第68号、平成17年6月22日）および「実験動物の飼育保管等に関する法律」（総理府告示第6号、昭和55年3月27日）に記載されている指針を遵守し、動物愛護に努めた。

C. 研究結果、考察、結論

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

1) ドクサバフグの毒性と毒成分

今年度入手したドクサバフグ1個体（No. 1）は、筋肉、皮、肝臓、消化管、卵巣すべてが無毒（5 MU/g 未満）であった。昨年度は3個体（No.

2~4）調べ、いずれも毒性が検出され、そのうち2個体（No. 3 と No. 4）は筋肉にも毒性があり、No. 3 は 109 MU/g と「強毒」レベルを示し、卵巣は 1,810 MU/g と「猛毒」レベルを示した。

次に、有毒個体 No. 3 の筋肉の毒成分を LC/ESI-MS で調べた。その結果、テトロドトキシンの他脱水体やデオキシ体も検出され、ドクサバフグ筋肉の毒成分はテトロドトキシンを主とするフグ毒であることがわかった。なお、麻痺性貝毒は検出されなかった。

毒性試験に供したドクサバフグはいずれも背部の棘が背びれ付け根まで分布していたため、形態からドクサバフグと判断した。しかしながら、ミトコンドリア 16SrRNA の部分塩基配列（615 bp）を解析したところ、すべての組織が有毒だった No. 3 と No. 4 はドクサバフグと、すべての部位が無毒であった No. 1 と卵巣だけが毒性を示した No. 2 はシロサバフグと鑑別された。フグは天然での交雑種が多いこと、今回分析に用いたミトコンドリア DNA は母系遺伝するため、No. 1 と No. 2 はドクサバフグ（父系）とシロサバフグ（母系）のハイブリッドであったのかもしれない。これを明らかにするためには、核ゲノム DNA を調べる必要がある。

フグは種によって毒の強さや有毒部位が異なるため、食中毒防止の観点から魚種鑑別は重要で、現場では形態に基づいて鑑別している。しかし、フグは形態がよく似ているため鑑別は難しく、また、今回遭遇したように形態からは明らかにドクサバフグと鑑別されるものでも、遺伝子解析で別種と判定された。危険なのは今回とは逆の例が起こった場合で、形態は無毒種のシロサバフグでありながら有毒種のドクサバフグの特性をもち有毒な場合である。このため、フグ中毒を未然に防ぐにはフグ類の魚種判鑑別は形態だけでなく遺伝子を用いた正確な鑑別法を併用することが必要となろう。

2) カナフグの毒性

今回調べた7個体のうち5個体が有毒（10 MU/g 以上）であった。食用が認められている筋肉、皮、精巣には毒性は認められなかった（5 MU/g 未満）。部位別に比較すると肝臓の毒力（199 MU/g、No. 1）が高く、次いで、腎臓（59.5 MU/g、No. 4）、消化管（43.6 MU/g、No. 1）であった。消化管は「日本産フグの最高毒力表」で「無毒」とされている。同様に、卵巣も「無毒」とされて

いるが、1個体から10.0 MU/gの毒性が検出された。したがってカナフグの消化管と卵巣は、「無毒」から「弱毒」へ改める必要がある。さらに、腎臓、胆のう、脾臓については「日本産フグの最高毒力表」で毒力「不明」とされていたが、腎臓は5個体中3個体が有毒(21.4~59.5 MU/g)で最高値59.5 MU/gを示した。胆のうは2個体とも弱いながらも有毒(10.2~14.4 MU/g)で、脾臓も4個体中3個体が有毒(10.0~17.2 MU/g)であった。カナフグの部位別毒性に関しては、今後ともサンプリングを行い、継続してデータを集積することが望まれる。

3) ヨリトフグの毒性

今回入手した8個体について、筋肉、皮、肝臓、消化管、腎臓、生殖巣(卵巣、精巣)の6部位に分離して毒性試験を行ったが、いずれの個体のいずれの組織からも毒性は認められなかった(5 MU/g未滿)。本研究結果はこれまでの報告と一致し、今のところヨリトフグの毒性に関して問題はないと考えられる。

小型巻貝とハコフグの毒性調査

1) 小型巻貝の毒性および毒成分

供試した15種の巻貝のうち、キンシバイ、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの5種からマウス毒性が検出された。これらのうち、キンシバイは供試した6個体のすべてが有毒で、筋肉で39.5~460 MU/g(平均毒力±標準偏差: 195±186 MU/g)、内臓で79~187 MU/g(平均毒力: 133 MU/g)という強い毒力を示した。ただし、長崎県産キンシバイの場合、最高毒力は筋肉で2,370 MU/g、内臓で10,200 MU/g、平均毒力は筋肉で755 MU/g、内臓で1,490 MU/gに達しているため、今回供したキンシバイの毒力はやや低かった。

その他の4種(サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイ)の毒力は平均的に概ね10 MU/gであった。本研究に用いた試料を採集した沖縄県に近い台湾では、食中毒を引き起こす巻貝14種が報告されている。このなかにキンシバイは含まれているが、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの報告はない。逆に、台湾ではジュドウマクラは有毒種とされているが、今回供した本種(n=3)は無毒であった。

LC/MS分析により、有毒巻貝の総毒力のうち約5割をTTXが占めることが明らかとなった。

日本に生息するキンシバイ、ハナムシロガイ、アラレガイの毒成分はTTXまたはその関連物質であることが知られているが、台湾では同種巻貝はTTXに加え、副成分として麻痺性貝毒(PSP)成分であるゴニオトキシン1~4およびネオサキシトキシンを保有するという。今後、沖縄県産有毒巻貝について、TTX関連成分ならびにPSP成分を精査する必要がある。

2) ハコフグ類の毒成分

2008年12月に上五島沿岸で採捕したハコフグ3個体の筋肉、肝臓、その他の内臓にマウス毒性は認められなかった(いずれも0.5 MU/g未滿)。一方、2008年10月と11月に身欠きした肝臓の3ロットから、0.5 MU/gないし0.7 MU/gの毒力が検出された。

長崎県では、古くからハコフグ類の食習慣がある。一方で、同地域ではこれまで少なくとも4件のハコフグ中毒の記録がある。本中毒は横紋筋融解症を主徴とし、アオブダイ中毒に酷似しており、原因物質はパリトキシン(PTX)様毒と推定されている。ハコフグ中毒の患者のほとんどは、筋肉と肝臓を併せて喫食しており原因物質が特定の部位に局在しているのかどうかは明らかでない。今回検出された3ロットの毒力は0.5 MU/gないし0.7 MU/gで、既報のアオブダイ中毒における中毒検体の毒力(0.6~0.9 MU/g)と同レベルであった。このことから、今回の毒力が食中毒を引き起こす可能性は否定できない。一方、西日本沿岸に生息するハコフグならびにウミスズメの約4割が有毒で、両種ともに肝臓を除く内臓、筋肉、肝臓の順に有毒個体の出現が高い。いずれにしても、今後はハコフグ類の毒性に関する本格的な再評価と有毒物質の特定が急務と考えられる。

巻貝唾液腺の毒性およびテトラミン含量

ミヤコボラを除く7種巻貝(イソニナ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラ、エゾバイ、シライトマキバイ、モスソガイ)の唾液腺抽出液はマウス致死活性を示した。フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラおよびエゾバイについては、唾液腺が有毒であることはすでに報告されているが、その他の3種巻貝唾液腺の毒性は、本研究で初めて明らかになったものである。

有毒試料の抽出液を加熱したところ、マウス致死活性はエゾボラ属3種(フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラ)では変化はみられなかつ

た。これら3種の唾液腺にはテトラミンが高濃度(980-4240 µg/g)に含まれており、マウス致死活性は耐熱性のテトラミンで説明できると考えられる。また、これら巻貝1個のテトラミン量は7-17 mgであったので、テトラミン中毒量はおおよそ数十 mgといわれていることを考えると、数個体分の唾液腺を摂食すれば中毒を引き起こす可能性があるといえる。

一方、その他の4種では、抽出液を加熱するとマウス致死活性は完全に失活したので、毒成分はタンパク質性であると考えられる。少なくとも3種巻貝(ミヤコボラ、シライトマキバイ、モスソガイ)については唾液腺のテトラミン含量は非常に低く(10-64 µg/g)、また唾液腺が小さいため1個体あたりの総量も1-20 µgとわずかであった。したがってこれら巻貝は、食品衛生上の問題は無いと考えられる。

スギヒラタケキノコ由来の脂肪酸の培養神経細胞に与える影響

これまでに、スギヒラタケより細胞毒性を示す脂肪酸として α -、 β -ESAを単離した。本物質が既知物質であったため、その標準品を入手して細胞毒性を比較したところ、全く同じであったため、スギヒラタケより細胞毒性を示す脂肪酸はESAであると結論づけた。そこで、今回は高純度の市販品 α -ESAを用いて、グリア細胞の一種であるオリゴデンドロサイトへの影響について検討した。

オリゴデンドロサイト前駆細胞であるFBD-102bを血清枯渇下で3-4日間培養し、成熟細胞へと分化させたFBD-102b細胞に対して、 α -ESAを各濃度で添加し、さらに一晚培養したものについて細胞死を判定したところ、濃度依存的に強い細胞死が誘導されることが分かった。顕微鏡下で調べたところ、1 µg/mlの濃度でも細胞にかなりのダメージが観察され、その濃度は、培養神経細胞のそれよりも低濃度で起きることが分かった。 α -ESAは、両者が共存する脳内では、神経を保護しているグリア細胞にまず細胞死を導き、結果神経細胞が死滅させることが示唆された。

脂肪酸のような簡単な構造の化合物でも細胞毒性の強いものが存在することは、これまでになかった新知見である。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

- 1) アジサイ属植物葉抽出物のシアンテスト
 β -グルコシダーゼ無処理ではすべてのアジサイ

イ類でシアン化水素は検出されず、酵素処理では3種(エゾアジサイ、ベニガクアジサイ、アマチャ)に検出された。検出量はエゾアジサイとベニガクアジサイで25 ng/g程度、アマチャでは約6 ng/gであり、ヒトに中毒を引き起こすほどではないというのが、法医学の専門家の見解である。なお、アジサイからは、まったくシアンが検出されなかった。

2) 有毒植物による食中毒調査

今年度、以下5件の食中毒情報を得た。

1. アマチャ、2009年4月16日、岐阜県岐南町
花祭りでアマチャを飲んだ幼稚園児119人中28人が嘔吐症状を訴えた。いずれも軽症で、同日中に回復した。
2. マムシグサ、2009年6月10日、富山市
園外保育で、道ばたに生えていたマムシグサ(テンナンショウ類)の若い実をトウモロコシと誤ってかじった。やがて、口から腫れが四肢に広がったので、小児科を受診。3日後にはほぼ回復した。
3. ジャガイモ、2009年7月16日、奈良市
小学児童らが、校内で栽培・収穫したジャガイモを食べ、6年生23人中17人が、吐き気や腹痛を訴え、病院に搬送された。重傷者はいなかった。市保健所の調査では、原因となったジャガイモには、市販品の数倍-10倍程度のソラニンが含まれていた。
4. ヒョウタン、2009年8月15日、東京新宿
会食料理中のヒョウタンを食べ、8名が嘔吐・腹痛などを訴えた。
5. チョウセンアサガオ、2009年9月10日、岡山県井原市
女性が自宅の裏庭に自生していたチョウセンアサガオの花を食べ、手足の弛緩や意識障害などの食中毒症状を起こした。入院したが、数日以内に快方に向かった。

自然毒のリスクプロファイルの作成

動物性自然毒(=魚介類の毒)については魚類、二枚貝および巻貝と大別して毒成分ごとに、植物性自然毒(キノコ毒、高等植物毒)については植物ごとに(アイウエオ順に)、リスクプロファイルの概要版と詳細版を作成することとした。概要版は平成22年2月上旬までに作成し、4月上旬に厚生労働省のホームページに掲載した。詳細版については、概要版を作成した自然毒のほとんどすべてをすでに作成し、平成22年6月に厚生労働

働省のホームページに掲載するべく準備中である。

自然毒のリスクプロファイルを作成して厚生労働省のホームページに掲載するという本研究(自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究)の最大の目的は達成した。一般消費者、行政担当者、研究者など多くの人に有益な情報を提供し、自然毒による健康危害の防止に貢献できると考えている。しかし、リスクプロファイルの内容には気がつかない誤りがあるかもしれないし、また知見が十分でないためあいまいな記載にとどまった箇所もある。こうした点については、随時修正していく必要がある。

D. 健康危険情報

特になし

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長島裕二, 松本拓也: 魚類の毒 (1): フグ毒. 食品衛生研究, 59 (7), 43-51 (2009)
- 2) O. Arakawa, D. F. Hwang, S. Taniyama, T. Takatani: Toxins of pufferfish that cause human intoxications. In: A. Ishimatsu, H. J. Lie (eds), Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea, Nagasaki University/TERRAPUB, Tokyo, pp. 227-244 (2010)
- 3) K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, J. J. Wang, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Maturation-associated changes in toxicity of the pufferfish *Takifugu poecilonotus*. Toxicon, 55, 289-297 (2010)
- 4) 荒川 修, 塩見一雄: 巻貝の毒: テトラミンおよびテトロドトキシン. 食品衛生研究, 60 (2), 15-25 (2010)
- 5) 谷山茂人, 相良剛史, 西尾幸郎, 黒木亮一, 浅川 学, 野口玉雄, 山崎脩平, 高谷智裕, 荒川 修: ハコフグ類の喫食による食中毒の実態と同魚類の毒性調査. 食衛誌, 50, 270-277 (2009)
- 6) 相良剛史, 谷山茂人, 高谷智裕, 西堀尚良, 西尾幸郎, 野口玉雄, 荒川 修: トカラ列島中之島産オウギガニ科カニ類の毒性と毒成分. 食衛誌, 50, 237-242 (2009)
- 7) 谷山茂人, 高谷智裕: 魚類の毒 (2): パリトキシン様毒. 食品衛生研究, 59 (8), 45-51 (2009).
- 8) S. Takasaki, T. Konta, K. Shiomi, I. Kubota: Neurologic symptoms in a dialysis patient after ingesting seafood. Am. J. Kidney Dis., 54, A37-A39 (2009)

2. 学会発表

- 1) Nagashima Y., Matsumoto T., Kadayama K., Ishizaki S., Terayama M.: Toxicity and molecular identification of *Lagocephalus lunaris* collected in Japanese coasts. International Symposium on Seafood Processing Technology and Safety Control System (中国青島市, 2009年11月)
- 2) 辰野竜平, 池田光彦, 識名美和子, 谷山茂人, 高谷智裕, 荒川 修: ツムギハゼにおける部位別テトロドトキシン量の季節変動と同毒の組織内微細分布. 平成 22 年度日本水産学会春季大会 (藤沢, 2009年3月)
- 3) 辰野竜平, 識名美和子, 谷山茂人, 高谷智裕, 荒川 修: 南西諸島産オキナワフグにおける体内毒分布と性成熟. 平成 21 年度日本水産学会九州支部大会 (長崎, 2009年1月)
- 4) O. Arakawa, K. Ikeda, Y. Murakami, Y. Emoto, R. Tatsuno, J. Yamashita, L. Ngy, M. Yagi, S. Taniyama, T. Takatani: Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin and paralytic shellfish poison to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 5) S. Taniyama, Y. Isami, S. Mori, T. Matsumoto, Y. Nagashima, T. Takatani, O. Arakawa: Occurrence of tetrodotoxin in the scavenging gastropod *Nassarius glans* from the coastal water of Nagasaki and Kumamoto Prefectures, Japan. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 6) J. J. Wang, K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, L. Ngy, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Seasonal variation in toxicity of the female specimens of the pufferfish *Takifugu poecilonotus* collected from the Ariake Sea, Japan. 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 7) R. Tatsuno, K. Ikeda, M. Shikina, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Toxin storage and intra-tissue distribution in the goby *Yongeichthys criniger*. 7th International Workshop on the

Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)

- 8) S. Yamasaki, S. Taniyama, G. N. Nishihara, R. Haraguchi, J. D. Rimer, T. Takatani, O. Arakawa: Toxicity of *Palythoa tuberculosa* in the Nansei Islands of Japan. 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 9) J. J. Wang, K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, L. Ngy, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Maturation-associated change in toxicity of the female specimens of the pufferfish *Takifugu poecilonotus*. The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 10) S. Yamasaki, S. Taniyama, R. Hraguchi, J. D. Rimer, T. Takatani, O. Arakawa: Toxicity of the zoanthid genus *Palythoa* collected from the Yaeyama Islands, Okinawa Prefecture, Japan. The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 11) R. Tatsuno, M. Shikina, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Does maturation affect the internal distribution of tetrodotoxin in the pufferfish *Chelonodon patoca*? The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 12) O. Arakawa: Marine toxins that cause food poisonings in Japan – As a special reference to tetrodotoxin and palytoxin-like toxin, International Symposium on Quality Control and Hygiene Management on Food Stuffs (Taipei, Oct. 2009)
- 13) 近藤一成, 小櫃冨未, 太田小夜香, 手島玲子: 共役型トリエン, テトラエン脂肪酸によるカスパーゼ非依存性の神経細胞死. 第 82 回日本生化学学会 (神戸、2009 年 10 月)
- 14) 小櫃冨未, 近藤一成, 手島玲子: PARP-1 と Caspase の活性化を伴わない、AIF の核移行を介した神経細胞死. 第 32 回日本分子生物学会 (横浜、2009 年 12 月)

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

別添 4

厚生労働省科学研究費補助金（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

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

研究分担者 長島 裕二 東京海洋大学海洋科学部食品生産科学科
研究協力者 石崎松一郎 東京海洋大学海洋科学部食品生産科学科

研究要旨

日本沿岸で漁獲されるフグ類の毒性を再評価することを目的に、2009 年度はフグ科サバフグ属のドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグ属ヨリトフグの 3 種について毒性を測定した。ドクサバフグとヨリトフグは「日本産フグの最高毒力表」に記載されている毒力レベルであったが、「無毒」とされているカナフグの消化管と卵巣から毒性が検出されたため、これらについては毒性評価を改めるべきと考える。フグの正確な魚種鑑別を行うため、形態的特徴からドクサバフグと判定された個体の筋肉から抽出したミトコンドリア 16SrRNA の部分塩基配列を解析した結果、一部の個体でシロサバフグの配列と一致したものがあり、これらは毒性が低かった。食中毒防止の観点から、正確な魚種鑑別を行うため遺伝子解析を併用することが望まれる。

A. 研究目的

わが国では、フグ食の安全を確保するため、1983 年厚生省(当時)環境衛生局長通知「フグの衛生確保について」により、「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と部位」を定め、それに指定されているフグの種類と部位以外は食用が禁止された。さらに、フグを取り扱うためには都道府県条例等により特別な資格を必要とするなど、フグの安全確保への方策がとられている。それにもかかわらず、毎年フグ中毒が発生し数名が命を落としているのが現状である。また、フグに関する新たな問題が生じ、それは地球温暖化の影響のためか、南方に生息し筋肉にも毒をもつドクサバフグがわが国沿岸に出現し、2008 年には釣り人が釣ったドクサバフグが原因でフグ中毒が発生した。有毒種のドクサバフグは形態が無毒種のシロサバフグによく似ているため、釣り人や一般の人々が両者を区別するのは難しく、さらに北上したドクサバフグが日本沿岸に定着するようであればとても危険な状態といえる。

これとは別に、2008 年にカナフグによるフグ中毒が起り、食中毒の残品（肝臓）から「猛毒」レベル（1,230 マウスユニット MU/g）の毒力が検出され、毒成分はテトロドトキシンと同定された（長崎大学 荒川教授 私信）。カナフグ肝臓の毒力は「日本産フグの最高毒力表」によれば「強

毒」レベル（100～999 MU/g）であり、1,000 MU/g を超えることはなかったため、本事例はそれを上回る過去最高の値を示したことになる。

また、アメリカ合衆国フロリダ州で漁獲されたヨリトフグ属 *Sphoeroides* sp. の摂食により食中毒が発生し、この原因毒素はフグ毒テトロドトキシンではなく、麻痺性貝毒サキシトキシンであった。

このような背景のもと、本研究はフグ中毒防止のため、日本沿岸で漁獲されるフグ科魚類の毒性を再評価することを目的とした。本年度は、最近問題になっているドクサバフグ、カナフグ、ヨリトフグについて毒性試験を行い、ドクサバフグについては毒成分分析を行うとともに、ドクサバフグは他のサバフグと形態がよく似ており判別が難しいので、ミトコンドリア DNA による魚種鑑別を試みた。

B. 研究方法

試料

試料には、フグ科サバフグ属のドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグ属ヨリトフグの 3 種を用いた。試料は鮮魚または貯蔵状態の良好な冷凍品で入手した。鮮魚の場合は直ちに、凍結された試料の場合は、フグをビニル袋に入れて流水で半解凍後、解剖して各組織に分けた。

毒性試験

フグの毒性は食品衛生検査指針理化学編に記

載のフグ毒検査法に従い、マウス試験法で測定した。フグの毒性はマウスユニット (MU) で表示し、1 MU は組織抽出液あるいはその希釈液 1ml を ddY 系雄、体重 20g のマウスに腹腔内投与したとき、マウスを 30 分間で死亡させるのに必要な毒量と定義される。

毒成分分析

マウス試験で毒性を示したドクサバフグ (表 1 の No. 3) 筋肉の酢酸抽出液を遠心限外ろ過 (分画分子量 5000) に供し、得られたろ液を LC/ESI-MS で毒成分分析した。

魚種鑑別

ドクサバフグ、カナフグおよびヨリトフグは形態に基づき判別した。ドクサバフグについては、背部の棘が頭部後方から背びれ付け根まで広範囲に分布していることを確認した。さらに、石崎が開発した「遺伝子解析法に基づいた魚類加工品のフグ種鑑別検査法」(食安輸発第 0330003 号 輸入魚類加工品のフグ種鑑別法について。厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課、平成 21 年 3 月 30 日) の DNA 直接塩基配列決定法に従って魚種鑑別を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では実験動物としてマウスを使用した。マウス毒性試験やマウスの保管にあたっては「動物の愛護及び管理に関する法律」(法律第 68 号、平成 17 年 6 月 22 日) および「実験動物の飼育保管等に関する法律」(総理府告示第 6 号、昭和 55 年 3 月 27 日) に掲載されている指針を遵守し、動物愛護に努めた。

C. 研究結果

ドクサバフグの毒性と毒成分

ドクサバフグの組織別毒性を表 1 に示す。今年度はドクサバフグが 1 個体 (No. 1) しか入手できず、これは筋肉、皮、肝臓、消化管、卵巣すべてが無毒 (5 MU/g 未満) であった。

昨年度は 3 個体 (No. 2~4) 調べ、いずれも毒性が検出され、そのうち 2 個体 (No. 3 と No. 4) は筋肉にも毒性があり、No. 3 は 109 MU/g と「強毒」レベルを示し、卵巣は 1,810 MU/g と「猛毒」レベルを示した。

次に、有毒個体 No. 3 の筋肉の毒成分を LC/ESI-MS で調べた。その結果、テトロドキシンの他脱水体やデオキシ体も検出され (図 1)、ドクサバフグ筋肉の毒成分はテトロドトキシ

を主とするフグ毒であることがわかった。なお、麻痺性貝毒は検出されなかった。

ドクサバフグの種判別

毒性試験に供したドクサバフグはいずれも背部の棘が背びれ付け根まで分布していたため、形態からドクサバフグと判断した。そして、表 1 の No. 1~4 についてミトコンドリア 16SrRNA の部分塩基配列 (615 bp) を解析した。その結果、No.3 と No.4 はドクサバフグの配列と完全に一致したが、No.1 と No.2 はシロサバフグの塩基配列と一致した (図示せず)。

カナフグの毒性

カナフグの組織別毒性を表 2 に示す。今回調べた 7 個体のうち 5 個体が有毒 (10 MU/g 以上) で、2 個体 (No. 5 と No. 6) が無毒 (10 MU/g 未満) であった。しかし、No. 6 は肝臓と腎臓からそれぞれ 9.7 および 9.6 MU/g と「有毒」の基準となる 10 MU/g に近い毒性がみられた。部位別に比較すると肝臓の毒力 (199 MU/g, No. 1) が高く、次いで、腎臓 (59.5 MU/g, No. 4)、消化管 (43.6 MU/g, No. 1) であった。消化管は「日本産フグの最高毒力表」で「無毒」とされている。同様に、卵巣も「無毒」とされているが、1 個体から 10.0 MU/g の毒性が検出された。

腎臓、胆のう、脾臓については「日本産フグの最高毒力表」で毒力「不明」とされていたが、腎臓は 5 個体中 3 個体が有毒 (21.4~59.5 MU/g) で最高値 59.5 MU/g を示した。胆のうは 2 個体とも弱いながらも有毒 (10.2~14.4 MU/g) で、脾臓も 4 個体中 3 個体が有毒 (10.0~17.2 MU/g) であった。食用が認められている筋肉、皮、精巣からは毒性は認められなかった (5 MU/g 未満)。

ヨリトフグの毒性

ヨリトフグの組織別毒性を表 3 に示す。今回 8 個体について、筋肉、皮、肝臓、消化管、腎臓、生殖巣 (卵巣、精巣) の 6 部位に分離して毒性試験を行ったが、いずれの個体のいずれの組織からも毒性は認められなかった (5 MU/g 未満)。

D. 考察

日本沿岸で漁獲されるフグ科魚類の毒性を再評価するため、最近問題となっているドクサバフグ、カナフグ、ヨリトフグの 3 種について毒性を調べた。とくに、ドクサバフグは本来南方海域に生息する種であるのに、2008 年に日本沿岸で獲れたドクサバフグで食中毒が立て続けに起こっ

たため、サンプリングを強化して日本沿岸における分布や出現頻度と毒性との関連を調べようとした。しかしながら1個体しか収集できず、その試料は毒性を示さず、形態学的にはドクサバフグと判断されたにもかかわらず、ミトコンドリア16SrRNA領域における部分塩基配列の結果ではシロサバフグと一致してしまった。

そこで、昨年毒性試験したサンプル(表1のNo.2~4)についてDNA解析を行ったところ、すべての組織が有毒だったNo.3とNo.4はドクサバフグと鑑別されたのに対し、卵巣だけが毒性を示したNo.2はシロサバフグと鑑別された。フグは天然での交雑種が多いこと、今回分析に用いたミトコンドリアDNAは母系遺伝するため、No.1とNo.2はドクサバフグ(父系)とシロサバフグ(母系)のハイブリッドであったのかもしれない。これを明らかにするためには、核ゲノムDNAを調べる必要がある。

フグは種によって毒の強さや有毒部位が異なるため、食中毒防止の観点から魚種鑑別は重要で、現場では形態に基づいて鑑別している。しかし、フグは形態がよく似ているため鑑別は難しく、また、今回遭遇したように形態からは明らかにドクサバフグと鑑別されるものでも、遺伝子解析で別種と判定された。危険なのは今回とは逆の例が起こった場合で、形態は無毒種のシロサバフグでありながら有毒種のドクサバフグの特性をもち有毒な場合である。このため、フグ中毒を未然に防ぐにはフグ類の魚種判鑑別は形態だけでなく遺伝子を用いた正確な鑑別法を併用することが必要となろう。また、フグが毒を蓄積するメカニズムについても早急に解明することが望まれる。

カナフグについては、今回貴重な結果が得られた。2008年に起こったカナフグ中毒で肝臓から、従来の評価を超える高い毒力が検出されたため、7個体の毒性を調べたところ、「日本産フグの最高毒力表」で「無毒」とされている消化管と卵巣から毒性が検出され、これらは「有毒」部位として取り扱われなければならないことがわかった。さらに、これまで毒性に関するデータのなかった腎臓、胆のう、脾臓からいずれも「弱毒」レベルの毒性も検出された。従って、今後ともサンプリングを行い、継続してデータの集積に努める必要がある。

ヨリトフグについては、すべての個体のすべての組織から毒性は検出されず、これまでの報告と

一致し、今のところ毒性に関して問題はないと考えられる。

E. 結論

フグのリスク評価のもととなっている「日本産フグの最高毒力表」を見直すことを目的に、ドクサバフグ、カナフグ、ヨリトフグの3種について毒性を調べた。その結果、概ね表に記載の毒力レベルにとどまったが、カナフグの消化管と卵巣から毒性が検出され、これらについては「無毒」から「弱毒」へと改める必要があり、今後、有毒個体の出現率や最高毒力を調べるためサンプル数を増やして毒性試験の再調査が必要である。

また、フグの種鑑別をより正確に行うためには、形態的な特徴だけでなく、遺伝子解析による鑑別法を併用することが望ましい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 長島裕二, 松本拓也: 魚類の毒(1) フグ毒. 食品衛生研究, 59(7), 43-51 (2009)

2. 学会発表

1) Nagashima Y., Matsumoto T., Kadayama K., Ishizaki S., Terayama M.: Toxicity and molecular identification of *Lagocephalus lunaris* collected in Japanese coasts. International Symposium on Seafood Processing Technology and Safety Control System (中国青島市, 2009年11月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ドクサバフグの組織別毒性

試料	漁獲年月	毒性値 (マウスユニット/g組織)					精巢
		筋肉	皮	肝臓	消化管	卵巣	
No. 1	2010年 1月	<5	<5	<5	<5	<5	
No. 2	2009年 2月	<5	<5	<5	<5	29	
No. 3	2008年11月	109	79	341	72	1810	
No. 4	2008年11月	15	26	143	7	302	
No. 5	2001年 3月	135	41	110	62	362	
No. 6	2001年 3月	8.2	15	35	14		<5

表2 カナフグの組織別毒性

試料	毒性値 (マウスユニット/g組織)								
	筋肉	皮	肝臓	消化管	腎臓	胆のう	脾臓	卵巣	精巢
No. 1	<5	<5	199	43.6	21.4	10.2		8.0	
No. 2	<5	<5	11.8	7.0		14.4	10.0		
No. 3	<5	<5	40.3	8.6	29.1		12.3		<5
No. 4	<5	<5	16.5	<5	59.5		17.2	10.0	
No. 5	<5	<5	<5	<5	<5				
No. 6	<5	<5	9.7	<5	9.6		5.7		<5
No. 7	<5	<5	49.5	8.3				7.8	
本研究	無毒	無毒	強毒	弱毒	弱毒	弱毒	弱毒	弱毒	無毒
谷の表	無毒	無毒	強毒	無毒	不明	不明	不明	無毒	無毒

表3 ヨリトフグの組織別毒性

試料	毒性値 (マウスユニット/g組織)						
	筋肉	皮	肝臓	消化管	腎臓	卵巣	精巢
No. 1	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 2	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 3	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 4	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 5	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 6	<5	<5	<5	<5	<5		<5
No. 7	<5	<5	<5	<5	<5	<5	
No. 8	<5	<5	<5	<5	<5	<5	

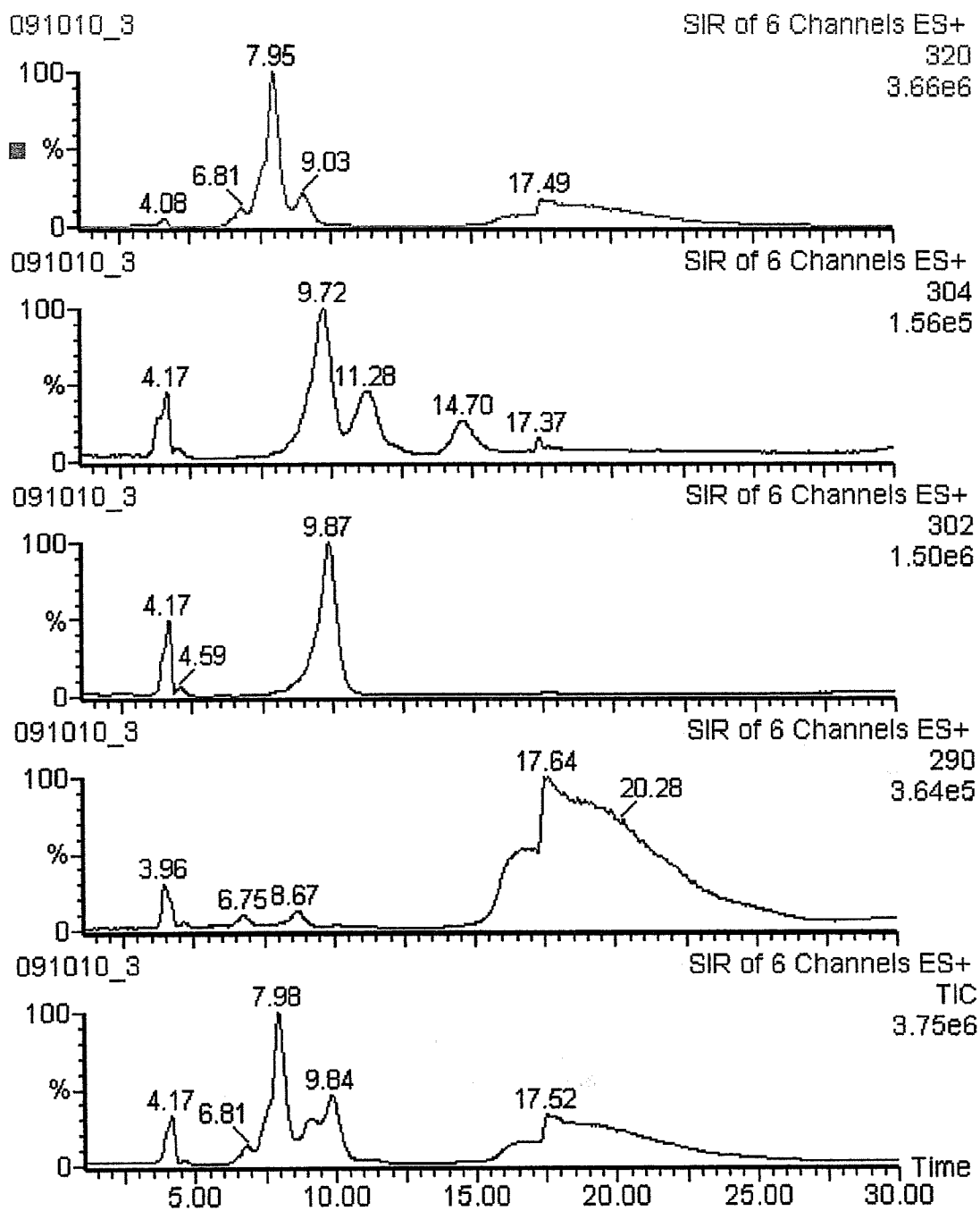


図1 ドクサバフグ (No. 3) 筋肉抽出液の LC/MS

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

小型巻貝とハコフグの毒性調査

研究分担者	荒川 修	長崎大学水産学部
研究協力者	高谷智裕	長崎大学水産学部
研究協力者	谷山茂人	長崎大学水産学部

研究要旨

小型巻貝の毒性と毒成分：2009年1～6月に沖縄県の沖縄本島および石垣島沿岸で採集した小型巻貝15種89個体につき、マウス試験で毒性を調べたところ、キンシバイ、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイが有毒であった。これらのうち、キンシバイの毒力が最も高く、筋肉で39.5～460 MU/g（平均毒力±標準偏差：195±186 MU/g）、内臓で79～187 MU/g（平均毒力：133 MU/g）であった。サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの毒力は平均的に概ね10 MU/gを示し、キンシバイを含めていずれの貝も毒の主成分はテトロドトキシンであった。一方、同時期同海域で採取したその他の巻貝については、毒性は全く認められなかった。ハコフグの毒性：2008年12月に長崎県上五島沿岸で採捕したハコフグ3個体の筋肉、肝臓、その他の内臓、および2008年9～11月に上五島で身欠きしたハコフグの肝臓10ロット（42個体）の毒性をマウス試験で調べたところ、肝臓3ロットから0.5 MU/gないし0.7 MU/gの毒性が検出された。

A. 研究目的

2007年7月に長崎県でムシロガイ科の腐肉食性小型巻貝キンシバイ *Nassarius (Alectrion) glans* による極めて重篤な食中毒が発生した。この食中毒を契機として、昨年度は、長崎県橘湾ならびに熊本県宮野河内湾産キンシバイの毒性や毒成分を調査し、本巻貝は中腸腺のみならず筋肉にも‘猛毒’に相当するテトロドトキシン (TTX) を保有し、食品衛生上極めて危険な種であることを明らかにした。

一方、日本では近年、ハコフグ類により、横紋筋融解症を主徴とし、TTX中毒やシガテラとは異なる特異な中毒（以下、ハコフグ中毒とする）が散発している。昨年度の調査では、これまでに9件の中毒事例があることが判明した。患者総数は13名で、うち1名が死亡している。9事例中2事例において、原因魚種がハコフグ *Ostracion immaculatus* と同定されており、加えてウミスズ

メ *Lactoria diaphan* やハマフグ *Kentrocopros aculeatus* も原因魚種となる可能性が示唆された。

このような状況の下、本年度は自然毒のリスクプロファイル作成に資するため、沖縄県産小型巻貝類と長崎県五島列島産ハコフグの毒性調査を実施した。

B. 研究方法

小型巻貝の毒力の測定方法

試料には、2009年1～6月に沖縄県の沖縄本島および石垣島沿岸で採集したキンシバイ6個体、サツマビナ *Oliva annulata* 8個体、ヘコミマクラ *Oliva concavospira* 2個体、イボヨフバイ *Nassarius coronatus* 5個体、カゲロウヨフバイ *Zeuxis* sp. 6個体、アワムシロ *Niotha albescens* 17個体、コブムシロ *Pliarcularia globosus* 3個体、ウスイロバイ *Balytonia kirana* 9個体、ガンゼキボラ *Chicoreus brunneus* 3個体、イトマキボラ *Pleuroploca*

trapezium paeteli 1 個体、サツマボラ *Cymatium aquatile* 6 個体、シノマキガイ *Cymatium pileare* 6 個体、ニシキノキバフデ *Mitra stictica* 1 個体、ジユドウマクラ *Oliva miniacea* 3 個体、ハマヅド *Costellaria exaspartata* 13 個体の計 15 種 89 個体 (表 1) を用いた。イボヨフバイとカゲロウヨフバイを除く試料について、それぞれ筋肉と内臓に分け、公定法 (食品衛生検査指針理化学編フグ毒検査法) に準拠して試験液を調製後、マウス毒性試験により毒力を求めた。イボヨフバイでは個体ごとに筋肉と内臓を、カゲロウヨフバイでは 6 個体の筋肉と内臓を合一したものの毒力を求めた。

小型巻貝の毒成分の分析方法

前項で調製した試験液を試料とした。各試料を LC/MS に供して TTX およびその関連成分を分析した。

ハコフグの毒力の測定方法

試料には、2008 年 12 月に長崎県上五島沿岸で採捕したハコフグ 3 個体、2008 年 9~11 月に上五島で身欠きしたハコフグの肝臓 10 ロット (42 個体) を用いた。前者の試料は筋肉、肝臓、その他の内臓に分けた後に各部位から、後者についてはロットごとに 3~4 個体の試料を合一し、粗抽出液を調製した。各粗抽出液をマウス毒性試験に供し、毒力を求めた。

(倫理面への配慮)

本研究では実験動物としてマウスを使用した。マウス毒性試験やマウスの保管にあたっては「動物の愛護及び管理に関する法律」(法律第 68 号、平成 17 年 6 月 22 日) および「実験動物の飼育保管等に関する法律」(総理府告示第 6 号、昭和 55 年 3 月 27 日) に掲載されている指針を遵守し、動物愛護に努めた。

C. 研究結果

小型巻貝の毒性

供試した 15 種の巻貝のうち、5 種からマウス毒性が検出された (表 2)。

キンシバイは供試した 6 個体の全てが有毒であった。筋肉の毒力は 39.5~460 MU/g (平均毒力±標準偏差: 195±186 MU/g)、内臓は 79~187 MU/g (平均毒力: 133 MU/g) であった。供試個

体の半数において、筋肉と内臓のどちらか一方、または両方が食品衛生上「強毒」となる 100 MU/g を上回っていた。

他方、サツマビナにおいて 8 個体中 1 個体の内臓 (10.7 MU/g)、ヘコミマクラでは 2 個体中 1 個体の筋肉 (6.01 MU/g) から毒力が検出された。また、イボヨフバイでは 5 個体のうち 2 個体が有毒で、その毒力は 5.66~11.1 MU/g (平均毒力: 8.38 MU/g) であった。カゲロウヨフバイも 12.7 MU/g の毒力を示した。

一方、同時期同海域で採取したその他の巻貝については、毒性は全く認められなかった。

小型巻貝の毒成分

前項でマウス毒性が認められた巻貝の試験液 (n=13) につき、LC/MS にて毒成分を分析したところ、*m/z* 320 のクロマトグラムにおいて全ての個体から TTX 標品 ($[M+H]^+=320$) と保持時間の一致するピークが検出された。

そこで、「LC/MS 分析から算出された TTX の毒力」と「公定法で測定された TTX 量」の相関について検討したところ、相関係数が 0.9301 となり、良好な正の相関を示すことがわかった (図 1)。その回帰直線は、 $y=0.5435x-13.24$ で、平均的には総毒力の約 54% を TTX が占めると判断された。

ハコフグ類の毒成分

2008 年 12 月に上五島沿岸で採捕したハコフグ 3 個体の筋肉、肝臓、その他の内臓にマウス毒性は認められなかった (いずれも 0.5 MU/g 未満)。

一方、2008 年 10 月と 11 月に身欠きした肝臓の 3 ロットから、0.5 MU/g ないし 0.7 MU/g の毒力が検出された (表 3)

D. 考察

小型巻貝の毒性

今回キンシバイに加え、新たにサツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイが有毒であることが明らかとなった。本研究に用いた試料を採集した沖縄県に近い台湾では、食中毒を引き起こす巻貝 14 種が報告されている。このなかにキンシバイは含まれているが、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの報告はない。逆に、台湾ではジユドウマクラは

有毒種とされているが、今回供した本種 (n=3) は無毒であった。また本研究において、サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの毒力は概ね 10 MU/g と、キンシバイの平均毒力と比較して低かった。

一方、これまで報告のある有毒巻貝のなかでも、キンシバイの毒力は際立って高い。例えば長崎県産キンシバイの場合、最高毒力は筋肉で 2,370 MU/g、内臓で 10,200 MU/g、平均毒力は筋肉で 755 MU/g、内臓で 1,490 MU/g に達する。これらと比較すると、今回供したキンシバイの毒力は低かった。

小型巻貝の毒成分

LC/MS 分析により、有毒巻貝の総毒力のうち約 5 割を TTX が占めることが明らかとなった。日本に生息するキンシバイ、ハナムシログイ、アラレガイの毒成分は TTX またはその関連物質であることが知られているが、台湾では同種巻貝は TTX に加え、副成分として麻痺性貝毒 (PSP) 成分であるゴニオトキシン 1~4 およびネオサキシトキシンを保有するという。今後、沖縄県産有毒巻貝について、TTX 関連成分ならびに PSP 成分を精査する必要がある。

ハコフグの毒性

上五島産ハコフグの身欠きした肝臓 10 ロット中 3 ロットにマウス毒性が検出された。長崎県では、古くからハコフグ類の食習慣がある。一方で、同地域ではこれまで少なくとも 4 件のハコフグ中毒の記録がある。本中毒は横紋筋融解症を主徴とし、アオブダイ中毒に酷似しており、原因物質はパリトキシン (PTX) 様毒と推定されている。ハコフグ中毒の患者のほとんどは、筋肉と肝臓を併せて喫食しており原因物質が特定の部位に局在しているのかどうかは明らかでない。今回検出された 3 ロットの毒力は 0.5 MU/g ないし 0.7 MU/g で、既報のアオブダイ中毒における中毒検体の毒力 (0.6~0.9 MU/g) と同レベルであった。このことから、今回の毒力が食中毒を引き起こす可能性は否定できない。一方、西日本沿岸に生息するハコフグならびにウミスズメの約 4 割が有毒で、両種ともに肝臓を除く内臓、筋肉、肝臓の順に有毒個体の出現が高い。いずれにしても、今後はハコフグ類の毒性に関する本格的な再評価

と有毒物質の特定が急務と考えられる。

E. 結論

沖縄県沿岸に生息する小型巻貝 5 種が有毒で、特にキンシバイは‘強毒’に相当する TTX を保有し、食品衛生上危険な種であった。一方、有毒なサツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイは平均的には 10 MU/g 程度の TTX を保有していた。中国や台湾では、キンシバイを含む十数種の小型巻貝から相当レベルの TTX が検出されており、これらによる食中毒も多発している。今後さらに小型巻貝の毒性あるいは毒化機構に関するデータ・情報を蓄積するとともに、それらを広く一般に周知する必要がある。

他方、長崎県産ハコフグは食中毒の原因となる可能性があり、食品衛生上警戒すべき種であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) O. Arakawa, D. F. Hwang, S. Taniyama, T. Takatani: Toxins of pufferfish that cause human intoxications. In: A. Ishimatsu, H. J. Lie (eds), Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea, Nagasaki University/TERRAPUB, Tokyo, pp. 227-244 (2010)
- 2) K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, J. J. Wang, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Maturation-associated changes in toxicity of the pufferfish *Takifugu poecilonotus*. *Toxicon* 55, 289-297 (2010)
- 3) 荒川 修, 塩見一雄: 巻貝の毒: テトラミンおよびテトロドトキシン. *食品衛生研究*, 60 (2), 15-25 (2010)
- 4) 谷山茂人, 相良剛史, 西尾幸郎, 黒木亮一, 浅川 学, 野口玉雄, 山崎脩平, 高谷智裕, 荒川 修: ハコフグ類の喫食による食中毒の実態と同魚類の毒性調査. *食衛誌*, 50, 270-277 (2009)
- 5) 相良剛史, 谷山茂人, 高谷智裕, 西堀尚良, 西尾幸郎, 野口玉雄, 荒川 修: トカラ列島中之島産オウギガニ科カニ類の毒性と毒成分. *食*

衛誌, 50, 237-242 (2009)

- 6) 谷山茂人, 高谷智裕: 魚類の毒 (2): パリトキシン様毒. 食品衛生研究, 59 (8), 59-25 (2009).

2. 学会発表

- 1) 辰野竜平, 池田光彦, 識名美和子, 谷山茂人, 高谷智裕, 荒川 修: ツムギハゼにおける部位別テトロドトキシン量の季節変動と同毒の組織内微細分布. 平成 22 年度日本水産学会春季大会 (藤沢, 2009 年 3 月)
- 2) 辰野竜平, 識名美和子, 谷山茂人, 高谷智裕, 荒川 修: 南西諸島産オキナワフグにおける体内毒分布と性成熟. 平成 21 年度日本水産学会九州支部大会 (長崎, 2009 年 1 月)
- 3) O. Arakawa, K. Ikeda, Y. Murakami, Y. Emoto, R. Tatsuno, J. Yamashita, L. Ngy, M. Yagi, S. Taniyama, T. Takatani: Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin and paralytic shellfish poison to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 4) S. Taniyama, Y. Isami, S. Mori, T. Matsumoto, Y. Nagashima, T. Takatani, O. Arakawa: Occurrence of tetrodotoxin in the scavenging gastropod *Nassarius glans* from the coastal water of Nagasaki and Kumamoto Prefectures, Japan. The 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 5) J. J. Wang, K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, L. Ngy, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Seasonal variation in toxicity of the female specimens of the pufferfish *Takifugu poecilonotus* collected from the Ariake Sea, Japan. 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 6) R. Tatsuno, K. Ikeda, M. Shikina, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Toxin storage and intra-tissue distribution in the goby *Yongeichthys criniger*. 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 7) S. Yamasaki, S. Taniyama, G. N. Nishihara, R. Haraguchi, J. D. Rimer, T. Takatani, O. Arakawa: Toxicity of *Palythoa tuberculosa* in the Nansei Islands of Japan. 7th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea (Shanghai, Dec. 2009)
- 8) J. J. Wang, K. Ikeda, Y. Emoto, R. Tatsuno, L. Ngy, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Maturation-associated change in toxicity of the female specimens of the pufferfish *Takifugu poecilonotus*. The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 9) S. Yamasaki, S. Taniyama, R. Hraguchi, J. D. Rimer, T. Takatani, O. Arakawa: Toxicity of the zoanthid genus *Palythoa* collected from the Yaeyama Islands, Okinawa Prefecture, Japan. The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 10) R. Tatsuno, M. Shikina, S. Taniyama, T. Takatani, O. Arakawa: Does maturation affect the internal distribution of tetrodotoxin in the pufferfish *Chelonodon patoca*? The 10th Joint International Workshop Symposium between Pukyong National University and Nagasaki University (Busan, Oct. 2009)
- 11) O. Arakawa: Marine toxins that cause food poisonings in Japan – As a special reference to tetrodotoxin and palytoxin-like toxin, International Symposium on Quality Control and Hygiene Management on Food Stuffs (Taipei, Oct. 2009)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし