

- Fukuyo, Y. 1981. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 47: 967–978.
- Fusetani, N., H. Endo, K. Hashimoto and M. Kodama. 1983. Occurrence and properties of toxins in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda*. *Toxicon* 21: 165–168.
- Geffeney, S.L., E. Fujimoto, E.D. III Brodie, E.D. Brodie, Jr and P.C. Ruben. 2005. Evolutionary diversification of TTX-resistant sodium channels in a predator-prey interaction. *Nature* 434: 759–763.
- Goto, T., S. Takahashi, Y. Kishi and Y. Hirata. 1965. Tetrodotoxin. *Tetrahedron* 21: 2059–2088.
- Hashimoto, K., T. Noguchi and S. Watabe. 1990. New aspect of tetrodotoxin. In: *Microbial Toxins in Foods and Feeds*, A.E. Pohland *et al.* (Eds.), Plenum Press, New York, pp. 159–172.
- Honda, S., O. Arakawa, T. Takatani, K. Tachibana, M. Yagi, A. Tanigawa and T. Noguchi. 2005a. Toxicification of cultured puffer fish *Takifugu rubripes* by feeding on tetrodotoxin-containing diet. *Nippon Suisan Gakkaishi* 71: 815–820.
- Honda, S., T. Ichibu, O. Arakawa, T. Takatani, K. Tachibana, M. Yagi, A. Tanigawa and T. Noguchi. 2005b. Antibody productivity against sheep red blood cells and splenocyte proliferation reaction of tiger puffer (*Takifugu rubripes*) fed with tetrodotoxin-containing diets. *Aquaculture Sci.* 53: 205–210.
- Hsieh, Y.W., Y.C. Shiu, C.A. Cheng, S.K. Chen and D.F. Hwang. 2002. Identification of toxin and fish species in cooked fish liver implicated in food poisoning. *Journal of Food Science* 67: 948–952.
- Hsieh, Y.W., P.A. Hwang, H.H. Pan, J.B. Chen and D.F. Hwang. 2003. Identification of tetrodotoxin and fish species in an adulterated dried mullet roe implicated in food poisoning. *Journal of Food Science* 68: 142–146.
- Hwang, D.F. and T. Noguchi. 2007. Tetrodotoxin poisoning. *Adv. Food Nut. Res.* 52: 141–236.
- Hwang, D.F., C.H. Cheuh and S.S. Jeng. 1990a. Tetrodotoxin secretion from the lined moon shell *Natica lineata* in response to external stimulation. *Toxicon* 28: 1133–1136.
- Hwang, D.F., C.H. Cheuh and S.S. Jeng. 1990b. Susceptibility of fish and shellfish to tetrodotoxin and paralytic shellfish poison. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 337–343.
- Hwang, D.F., C.Y. Cao, H.C. Yang, S.S. Jeng, T. Noguchi and K. Hashimoto. 1992a. Toxicity of puffer in Taiwan. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 1541–1547.
- Hwang, D.F., L.C. Lin and S.S. Jeng. 1992b. Variation and secretion of toxin in gastropod mollusk *Niotha clathrata*. *Toxicon* 30: 1189–1194.
- Hwang, D.F., C.A. Cheng, H.T. Tsai, D.Y.C. Shih, H.C. Ko, R.Z. Yang and S.S. Jeng. 1995. Identification of tetrodotoxin and paralytic shellfish toxins in marine gastropods implicated in food poisoning. *Fisheries Science* 61: 657–679.
- Hwang, D.F., P.A. Hwang, Y.H. Tsai and Y.H. Lu. 2002a. Identification of tetrodotoxin and fish species in dried dressed fish fillets implicated in food poisoning. *Journal of Food Protection* 65: 389–392.
- Hwang, D.F., Y.C. Shiu, P.A. Hwang and Y.H. Lu. 2002b. Tetrodotoxin in gastropod (snails) implicated in food poisoning in northern Taiwan. *Journal of Food Protection* 65: 1341–1344.
- Hwang, P.A., Y.H. Tsai, Y.H. Lu and D.F. Hwang. 2003. Paralytic toxins in three new gastropod (Olividae) species implicated in food poisoning in southern Taiwan. *Toxicon* 41: 529–533.
- Hwang, P.A., T. Noguchi and D.F. Hwang. 2004. Neurotoxin tetrodotoxin as attractant for toxic snails. *Fisheries Science* 70: 1106–1112.
- Hwang, P.A., Y.H. Tsai, J.F. Deng, C.A. Cheng, P.H. Ho and D.F. Hwang. 2005. Identification of tetrodotoxin in a marine gastropod (*Nassarius glans*) responsible for human morbidity and mortality in Taiwan. *Journal of Food Protection* 68: 1696–1701.
- Hwang, P.A., Y.H. Tsai, S. J. Lin and D.F. Hwang. 2007. The gastropod possessing TTX and/or PSP. *Food Reviews International* 23: 321–340.
- Ikeda, K., Y. Murakami, L. Ngy, S. Taniyama, M. Yagi, T. Takatani and O. Arakawa. 2009. Transfer profile of intramuscularly administered tetrodotoxin to non-toxic cultured specimens of the pufferfish *Takifugu rubripes*. *Toxicon* 53: 99–103.
- Ikeda, K., Y. Emoto, R. Tatsuno, J.J. Wang, L. Ngy, S. Taniyama, T. Takatani and O. Arakawa. 2010. Maturation-associated change in toxicity of the pufferfish *Takifugu poecilonotus*. *Toxicon* 55: 289–297.

- Ishizaki, S., Y. Yokoyama, N. Oshiro, N. Teruya, Y. Nagashima, K. Shiomi and S. Watabe. 2005. Molecular identification of pufferfish species using PCR amplification and restriction analysis of a segment of the 16S rRNA gene. *CBP Part D* 1: 139–144.
- Kaneko, Y., G. Matsumoto and Y. Hanyu. 1997. TTX resistivity of Na⁺ channel in newt retinal neuron. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 240: 651–656.
- Kawatsu, K., Y. Hamano, T. Yoda, Y. Terano and T. Shibata. 1997. Rapid and highly sensitive enzyme immunoassay for quantitative determination of tetrodotoxin. *Japanese Journal of Medical Science & Biology* 50: 133–150.
- Kawatsu, K., T. Shibata and Y. Hamano. 1999. Application of immunoaffinity chromatography for detection of tetrodotoxin from urine samples of poisoned patients. *Toxicon* 37: 325–333.
- Kodama, M., T. Ogata and S. Sato. 1985. External secretion of tetrodotoxin from puffer fishes stimulated by electric shock. *Marine Biol.* 87: 199–202.
- Kono, M., T. Matsui, K. Furukawa, M. Yotsu-Yamashita and K. Yamamori. 2008. Accumulation of tetrodotoxin and 4,9-anhydrotetrodotoxin in cultured juvenile kusahugu *Fugu niphobles* by dietary administration of natural toxic komonfugu *Fugu poecilonotus* liver. *Toxicon* 51: 1269–1273.
- Koyama, K., T. Noguchi, A. Uzu and K. Hashimoto. 1983. Resistibility of toxic and nontoxic crabs against paralytic shellfish poison and tetrodotoxin. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 49: 485–489.
- Kungsuwan, A., Y. Nagashima, T. Noguchi, Y. Shida, S. Suvapeepan, P. Suwansakornkul and K. Hashimoto. 1987. Tetrodotoxin in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* inhabiting Thailand. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 261–266.
- Kungsuwan, A., O. Arakawa, M. Promdet and Y. Onoue. 1997. Occurrence of paralytic shellfish poisons in Thai freshwater puffers. *Toxicon* 35: 1341–1346.
- Kurono, S., H. Hattori, O. Suzuki, T. Yamada and H. Seno. 2001. Sensitive analysis of tetrodotoxin in human plasma by solid-phase extractions and gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical Letters* 34, 2439–2446.
- Landsberg, J.H., S. Hall, J.N. Johannessen, K.D. White and S.M. Conrad. 2006. Saxitoxin puffer fish poisoning in the United States, with the first report of *Pyrodinium bahamense* as the putative toxin source. *Environmental Health Perspectives* 114: 1502–1507.
- Lin, S.J., C.A. Cheng, Y.H. Tsai, C.H. Sa, J.F. Deng and D.F. Hwang. 1996. Food poisoning due to ingestion of goby *Yongeichthys nebulosus* Forsskal. *Journal of Food and Drug Analysis* 4: 359–364.
- Lin, S.J., J.B. Chen, K.T. Hsu and D.F. Hwang. 1999. Acute goby poisoning in Southern Taiwan. *Journal of Natural Toxins* 8: 141–147.
- Lin, S.J., D.F. Hwang, K.T. Shao and S.S. Jeng. 2000. Toxicity of Taiwanese gobies. *Fisheries Science* 66: 547–552.
- Mahmud, Y., K. Yamamori and T. Noguchi. 1999a. Occurrence of TTX in a brackishwater puffer “midorifugu” *Tetraodon nigroviridis*, collected from Thailand. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 40: 363–367.
- Mahmud, Y., K. Yamamori and T. Noguchi. 1999b. Toxicity and tetrodotoxin as the toxic principle of a brackishwater puffer *Tetraodon steindachneri*, collected from Thailand. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 40: 391–395.
- Mahmud, Y., M.B. Tanu and T. Noguchi. 1999c. First occurrence of a food poisoning incident due to ingestion of *Takifugu oblongus*, along with a toxicological report on three marine puffer species in Bangladesh. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 40: 473–480.
- Mahmud, Y., O. Arakawa and T. Noguchi. 2000. An epidemic survey on freshwater puffer poisoning in Bangladesh. *J. Natural Toxins* 9: 319–326.
- Mahmud, Y., K. Okada, T. Takatani, K. Kawatsu, Y. Hamano, O. Arakawa and T. Noguchi. 2003a. Intra-tissue distribution of tetrodotoxin in two marine puffers *Takifugu vermicularis* and *Chelonodon patoca*. *Toxicon* 41: 13–18.
- Mahmud, Y., O. Arakawa, A. Ichinose, M.B. Tanu, T. Takatani, K. Tsuruda, K. Kawatsu, Y. Hamano and T. Noguchi. 2003b. Intracellular visualization of tetrodotoxin (TTX) in the skin of a puffer *Tetraodon nigroviridis* by immunoenzymatic technique. *Toxicon* 41: 605–611.
- Maruta, S., K. Yamaoka and M. Yotsu-Yamashita. 2008. Two critical residues in p-loop regions of puffer fish Na⁺ channels on TTX-sensitivity. *Toxicon* 51: 381–387.

- Maruyama, J., T. Noguchi, J.K. Jeon, K. Yamazaki and K. Hashimoto. 1983. Another occurrence of tetrodotoxin in a trumpet shell *Charonia sauliae*. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* **24**: 465–468.
- Matsui, T., S. Hamada and S. Konosu. 1981. Difference in accumulation of puffer fish toxin and crystalline tetrodotoxin in the puffer fish, *Fugu rubripes rubripes*. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* **47**: 535–537.
- Matsui, T., H. Sato, S. Hamada and C. Shimizu. 1982. Comparison of toxicity of the cultured and wild puffer fish *Fugu niphobles*. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* **48**: 253.
- Matsui, T., K. Yamamori, K. Furukawa and M. Kono. 2000. Purification and some properties of a tetrodotoxin binding protein from the blood plasma of kusahugu, *Takifugu niphobles*. *Toxicon* **38**: 463–468.
- Matsumoto, T., Y. Nagashima, K. Takayama, K. Shimakura and K. Shiomi. 2005. Difference between tetrodotoxin and saxitoxin in accumulation in puffer fish *Takifugu rubripes* liver tissue slices. *Fish Physiology and Biochemistry* **31**: 95–100.
- Matsumoto, T., Y. Nagashima, H. Kusuhara, Y. Sugiyama, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi. 2007. Involvement of carrier-mediated transport system in uptake of tetrodotoxin into liver tissue slices of puffer fish *Takifugu rubripes*. *Toxicon* **50**: 173–179.
- Matsumoto, T., Y. Nagashima, H. Kusuhara, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi. 2008a. Pharmacokinetics of tetrodotoxin in puffer fish *Takifugu rubripes* by a single administration technique. *Toxicon* **51**: 1051–1059.
- Matsumoto, T., Y. Nagashima, H. Kusuhara, S. Ishizaki, K. Shimakura and K. Shiomi. 2008b. Evaluation of hepatic uptake clearance of tetrodotoxin in the puffer fish *Takifugu rubripes*. *Toxicon* **52**: 369–374.
- Matsumura, K. 1995. Tetrodotoxin as a pheromone. *Nature* **378**: 563–564.
- Miyazawa, K. and T. Noguchi. 2001. Distribution and origin of tetrodotoxin. *J. Toxicol.-Toxin Reviews* **20**: 11–33.
- Mosher, H.S., G.J. Fuhrman, F.A. Fuhrman and H.G. Fischer. 1965. Tarichatoxin-tetrodotoxin, a potent neurotoxin. *Science* **144**: 1100–1110.
- Nagashima, Y., M. Toyoda, M. Hasobe, K. Shimakura and K. Shiomi. 2003. *In vitro* accumulation of tetrodotoxin in pufferfish liver tissue slices. *Toxicon* **41**: 569–574.
- Nakashima, K., O. Arakawa, S. Taniyama, M. Nonaka, T. Takatani, K. Yamamori, Y. Fuchi and T. Noguchi. 2004. Occurrence of saxitoxins as a major toxin in the ovary of a marine puffer *Arothron firmamentum*. *Toxicon* **43**: 207–212.
- Narashahi, T. 2001. Pharmacology of tetrodotoxin. *J. Toxicol.-Toxin Reviews* **20**: 67–84.
- Narita, H., T. Noguchi, J. Maruyama, Y. Ueda, K. Hashimoto, Y. Watanabe and K. Hida. 1981. Occurrence of tetrodotoxin in a trumpet shell, “boshubora” *Charonia sauliae*. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* **47**: 935–941.
- Narita, H., S. Matsubara, N. Miwa, S. Akahane, M. Murakami, T. Goto, M. Nara, T. Noguchi, T. Saito, Y. Shida and K. Hashimoto. 1987. *Vibrio alginolyticus*, a TTX-producing bacterium isolated from the starfish *Astropecten polyacanthus*. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* **47**: 935–941.
- Ngy, L., C.F. Yu, T. Takatani and O. Arakawa. 2007. Toxicity assessment for the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* collected from Cambodia. *Toxicon* **49**: 843–847.
- Ngy, L., S. Taniyama, K. Shibano, C.F. Yu, T. Takatani and O. Arakawa. 2008a. Distribution of tetrodotoxin in pufferfish collected from coastal water of Sihanouk Ville, Cambodia. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* **49**: 361–365.
- Ngy, L., K. Tada, C.F. Yu, T. Takatani and O. Arakawa. 2008b. Occurrence of paralytic shellfish toxins in Cambodian Mekong pufferfish *Tetraodon turgidus*: Selective toxin accumulation in the skin. *Toxicon* **51**: 280–288.
- Ngy, L., C.F. Yu, S. Taniyama, T. Takatani and O. Arakawa. 2009. Co-occurrence of tetrodotoxin and saxitoxin in Cambodian marine pufferfish *Takifugu oblongus*. *African Journal of Marine Science* **31**: 349–354.
- Noguchi, T. and Y. Hashimoto. 1973. Isolation of tetrodotoxin from a goby *Gobius criniger*. *Toxicon* **11**: 305–307.
- Noguchi, T., D.F. Hwang, O. Arakawa, K. Daigo, S. Sato, H. Ozaki, N. Kawai, M. Ito and K. Hashimoto.

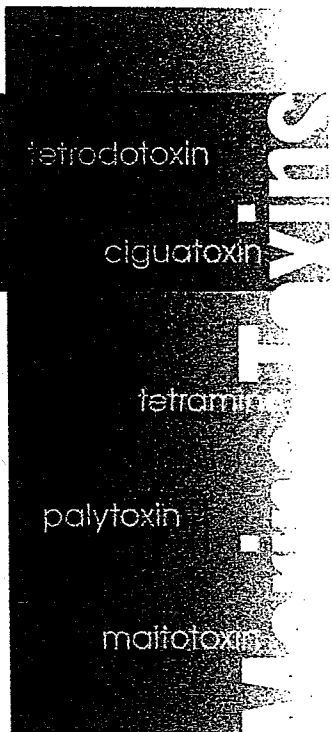
1987. Palytoxin as the causative agent in the parrotfish poisoning. In: *Progress in Venom and Toxin Research*, P. Gopalakrishnakone and C.K. Tan (Eds.), National University of Singapore, Kent Ridge, Singapore, pp. 325–335.
- Hashimoto, K., T. Noguchi and S. Watabe. 1990. New aspect of tetrodotoxin. In: *Microbial Toxins in Foods and Feeds*, A.E. Pohland et al. (Eds.), Plenum Press, New York, pp. 159–172.
- Noguchi, T. and J.S.M. Ebesu. 2001. Puffer poisoning: epidemiology and treatment. *J. Toxicol.-Toxin Reviews* 20: 1–10.
- Noguchi, T. and O. Arakawa. 2008. Tetrodotoxin—distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication. *Marine Drugs* 6: 220–242.
- Noguchi, T., H. Narita, J. Maruyama and K. Hashimoto. 1982. Tetrodotoxin in the starfish *Astropecten polyacanthus*, in association with toxicification of a trumpet shell, “boshubora”, *Charonia sauliae*. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 48: 1173–1177.
- Noguchi, T., J.K. Jeon, O. Arakawa, H. Sugita, Y. Deguchi, Y. Shida and K. Hashimoto. 1986. Occurrence of tetrodotoxin in *Vibrio* sp. isolated from intestines of xanthid crab, *Atergatis floridus*. *J. Biochem.* 99: 311–314.
- Noguchi, T., T. Takatani and O. Arakawa. 2004. Toxicity of puffer fish cultured in netcages. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 45: 146–149.
- Noguchi, T., O. Arakawa and T. Takatani. 2006a. TTX accumulation in pufferfish. *CBP Part D* 1: 145–152.
- Noguchi, T., O. Arakawa and T. Takatani. 2006b. Toxicity of pufferfish *Takifugu rubripes* cultured in netcages at sea or aquaria on land. *Comperative Biochemistry and Physiology Part D* 1: 153–157.
- O’Leary, M.A., J.J. Schneider and G.K. Isbister. 2004. Use of high performance liquid chromatography to measure tetrodotoxin in serum and urine of poisoned patients. *Toxicon* 44: 549–553.
- Sagara, T. 2008. Profiles of palytoxin-like compounds from the dinoflagellate *Ostreopsis* sp. isolated from the areas where poisonous fishes were collected. *Nippon Suisan Gakkaishi* 74: 913–914.
- Saito, T., J. Maruyama, S. Kanoh, J.K. Jeon, T. Noguchi, T. Harada, O. Murata and K. Hashimoto. 1984. Toxicity of the cultured pufferfish *Fugu rubripes rubripes* along with their resistibility against tetrodotoxin. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 50: 1573–1575.
- Saito, T., T. Noguchi, T. Harada, O. Murata and K. Hashimoto. 1985a. Tetrodotoxin as a biological defense agent for puffers. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 51: 1175–1180.
- Saito, T., T. Noguchi, T. Harada, O. Murata, T. Abe and K. Hashimoto. 1985b. Resistibility of toxic and nontoxic pufferfish against tetrodotoxin. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 51: 1371.
- Sato, S., M. Kodama, T. Ogata, K. Saitanu, M. Furuya, K. Hirayama and K. Kakinuma. 1997. Saxitoxin as toxic principle of a freshwater puffer, *Tetraodon fangi*, in Thailand. *Toxicon* 35: 137–140.
- Sato, S., T. Ogata, V. Borja, C. Gonzales, Y. Fukuyo and M. Kodama. 2000. Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. *Toxicon* 38: 1101–1109.
- Sheumack, D.D. and M.E.H. Howden. 1978. Maculotoxin: a neurotoxin from the venom glands of the octopus *Hapalochlaena maculosa* identified as tetrodotoxin. *Science* 199: 188–189.
- Shiu, Y.C., Y.H. Lu, Y. Tsai, S.K. Chen and D.F. Hwang. 2003. Occurrence of tetrodotoxin in the causative gastropod *Polinices didyma* and another gastropod *Natica lineate* collected from western Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* 11: 159–163.
- Simidu, U., T. Noguchi, D.F. Hwang Y. Shida and K. Hashimoto. 1987. Marine bacteria which produce tetrodotoxin. *Applied Environmental Microbiology* 53: 1714–1715.
- Sui, L.M., K. Chen, P.A. Hwang and D.F. Hwang. 2002. Identification of tetrodotoxin in marine gastropods implicated in food poisoning. *Journal of Natural Toxins* 11: 213–220.
- Sui, L.M., K. Chen, J.Y. Wang, H.Z. Mei, A.Z. Wang, Y.H. Lu and D.F. Hwang. 2003. Tetrodotoxin-associated snail poisoning in Zhoushan: A 25-year retrospective analysis. *Journal of Food Protection* 66: 110–114.
- Takatani, T., O. Arakawa and T. Noguchi. 2005. Food poisonings due to small gastropods occurring in China. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 46: J-208–J-209.
- Taniyama, S., Y. Mahmud, M.B. Tanu, T. Takatani, O. Arakawa and T. Noguchi. 2001. Delayed haemolytic activity by the freshwater puffer *Tetraodon* sp. *Toxicon* 39: 725–827.

- Taniyama, S., O. Arakawa, T. Takatani and T. Noguchi. 2003a. Parrotfish poisoning-like food poisonings. *New Food Industry* 45: 55–61.
- Taniyama, S., O. Arakawa, M. Terada, S. Nishio, T. Takatani, Y. Mahmud and T. Noguchi. 2003b. *Ostreopsis* sp., a possible origin of palytoxin (PTX) in parrotfish *Scarus oviifrons*. *Toxicon* 42: 29–33.
- Taniyama, S., Y. Isami, T. Matusmoto, Y. Nagashima, T. Takatani and O. Arakawa. 2009a. Toxicity and toxin profile of tetrodotoxin detected in the scavenging gastropod *Nassarius (Alectrion) glans* “kinshibai”. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 50: 22–28.
- Taniyama, S., T. Sagara, S. Nishio, R. Kuroki, M. Asakawa, K. Miyazawa, T. Noguchi, S. Yamasaki, T. Takatani and O. Arakawa. 2009b. Survey of food poisoning incidents due to ingestion of marine boxfish, along with their toxicity in Japan. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 50: 270–277.
- Tanu, M.B. and T. Noguchi. 1999. Tetrodotoxin as a toxin principle in the horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* collected from Bangladesh. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 40: 426–431.
- Tanu, M.B., Y. Mahmud, T. Takatani, K. Kawatsu, Y. Hamano, O. Arakawa and T. Noguchi. 2002. Localization of tetrodotoxin in the skin of a brackishwater puffer *Tetraodon steindachneri* on the basis of immunohistological study. *Toxicon* 40: 103–106.
- Tanu, M.B., Y. Mahmud, O. Arakawa, T. Takatani, H. Kajihara, K. Kawatsu, Y. Hamano, M. Asakawa, K. Miyazawa and T. Noguchi. 2004. Immunoenzymatic visualization of tetrodotoxin (TTX) in Cephalothrix species (Nemertea: Anopla: Palaeonemertea: Cephalotrichidae) and *Planocera reticulata* (Platyhelminthes: Turbellaria: Polycladida: Planoceridae). *Toxicon* 44: 515–520.
- Tsai, Y.H., D.F. Hwang, C.A. Cheng, C.C. Hwang and J.F. Deng. 2006. Determination of tetrodotoxin in human urine and blood using C18 cartridge column, ultrafiltration and LC-MS. *Journal of Chromatography B* 832: 75–80.
- Tsuda, K., S. Ikuma, M. Kawamura, R. Tachikawa, K. Sakai, C. Tamura and D. Amakasu. 1964. Tetrodotoxin. VII. On the structures of tetrodotoxin and its derivatives. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 12: 1357–1374.
- Tsuruda, K., O. Arakawa, K. Kawatsu, Y. Hamano, T. Takatani and T. Noguchi. 2002. Secretory glands of tetrodotoxin in the skin of a Japanese newt *Cynops pyrrhogaster*. *Toxicon* 40: 131–136.
- Venkatesh, B., S.Q. Lu, N. Dandona, S.L. See, S. Benner and T.W. Soong. 2005. Genetic basis of tetrodotoxin resistance in pufferfishes. *Current Biology* 15: 2069–2072.
- Woodward, R.B. 1964. The structure of tetrodotoxin. *Pure Appl. Chem.* 9: 49–74.
- Yamamori, K., M. Kono, K. Furukawa and T. Matsui. 2004. The toxification of juvenile cultured kusafugu *Takifugu niphobles* by oral administration of crystalline tetrodotoxin. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 45: 73–75.
- Yasumoto, T., D. Yasumura, M. Yotsu, T. Michishita, A. Endo and Y. Kotaki. 1986. Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin. *Agricultural and Biological Chemistry* 50: 793–795.
- Yotsu-Yamashita, M. 2001. Chemistry of puffer fish toxin. *J. Toxicol.-Toxin Reviews* 20: 51–66.
- Yotsu-Yamashita, M., K. Nishimori, Y. Nitanaï, M. Isemura, A. Sugimoto and T. Yasumoto. 2000. Binding properties of ³H-PbTx-3 and ³H-saxitoxin to brain membranes and to skeletal muscle membranes of puffer fish *Fugu pardalis* and the primary structure of a voltage-gated Na⁺ channel α -subunit (fMNa1) from skeletal muscle of *F. pardalis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 267: 403–412.
- Yotsu-Yamashita, M., A. Sugimoto, T. Terakawa, Y. Shoji, T. Miyazawa and T. Yasumoto. 2001. Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel soluble saxitoxin and tetrodotoxin binding protein from plasma of the puffer fish, *Fugu pardalis*. *European Journal of Biochemistry* 268: 5937–5946.
- Zaman, L., O. Arakawa, A. Shimosu and Y. Onoue. 1997. Occurrence of paralytic shellfish poison in Bangladeshi freshwater puffers. *Toxicon* 35: 423–431.

O. Arakawa (e-mail: arakawa@nagasaki-u.ac.jp), D.-F. Hwang, S. Taniyama and T. Takatani

連載

マリントキシンをめぐる動向



魚類の毒(1)：フグ毒

Puffer Fish Toxin

東京海洋大学食品生産科学科 *教授
長島裕二*, 松本拓也

Tokyo University of Marine Science and Technology
Yuji NAGASHIMA, Takuya MATSUMOTO

I はじめに

今年(2009年)は田原良純博士によってフグの毒素がテトロドトキシン(tetrodotoxin)と命名されてからちょうど100年になる。この間に、フグ毒に関する研究は日本人研究者によって精力的に行われ大きく進展した。しかし、フグ毒テトロドトキシンは誰がどこでつくっているのか(フグ毒の生合成)、フグはどのようにしてフグ毒を取り込み蓄積するのか(フグの毒化機構)、フグは一体何のために高濃度のテトロドトキシンをもっているのか(フグ毒の存在意義)、フグの生態や生理に有利な働きをしているのか(フグ毒の生理生態的意義)など、根本的な疑問に対しては不明な点が多い。

フグは日本の食文化を代表するものの1つであるが、強力な毒素をもつため食品衛生法に従えば原則的には食用できない。しかし、長年の経験により適切な処理を施せば安全に食用となることがわかっているので、例外的に食用が許可されてい

る稀有な食品である。フグを安全に食するには細心の注意と正しい知識、確かな技術が必要で、取扱いを間違えると事故になり命をも失う。今年1月に山形県の飲食店で無資格者が、フグ(ヒガンフグ精巢)を提供して7名が中毒した。2月には、大分県でフグ取扱資格をもたない鮮魚店従業員がマフグ卵巣を販売してしまい、2名が中毒した。いずれも一命は取りとめたが、場合によっては大事に至る事件であった。

また、日本沿岸におけるフグの分布も変化しているようで、2008年にドクサバフグによる食中毒事件が4件発生した。ドクサバフグは元来南方海域に生息するフグで、筋肉に多量のフグ毒を含むため過去に大規模なフグ毒中毒を起こしたことがあり、危険なフグとしてマークされている。今回特に注意したいのは、釣り人が沿岸でドクサバフグを釣り、それが原因となって食中毒になったことである。これは、ドクサバフグが北上し日本沿岸にも出現していること、そして、そのドクサバフグは人を中毒させるほど多量のフグ毒をもつ

ことを示しており、シガテラ原因藻の日本沿岸での定着が報告されていることも考え合わせると、事態は深刻かもしれない。

こうした状況を踏まえ、本稿ではフグ食用の安全を確保するため、フグとフグ毒についての基礎知識を整理し、合わせてフグの毒化機構に関する最近の研究の一端を紹介する。

II フグ毒中毒と対処法

厚生労働省の食中毒統計によれば、2001～07年の7年間にフグ毒中毒事件が253件発生し、371名が中毒し20名が死亡した。全食中毒事件に占めるフグ毒中毒の件数と患者数の割合は、それぞれ2%および0.2%とごくわずかだが、死者の割合は約40%と高く、フグは食中毒による死亡事例最大の原因食品となっている。

フグ毒中毒は急性で、食後20分から3時間程度

表1 フグ毒による中毒症状

段階	中毒症状
1	口唇部、舌端に軽い痺れ／指先に痺れが起こり歩行困難
2	不完全な運動麻痺／嘔吐後まもなく運動不能／知覚麻痺／言語障害
3	全身が完全麻痺し骨格筋弛緩／血圧が著しく低下／呼吸困難
4	意識消失／呼吸停止により死亡

の短時間で中毒症状が現れ、症状の進行が速く重篤な状態に陥る。中毒症状は臨床的に4段階に分けられ(表1)、最悪の場合呼吸停止で死亡する。

現在のところ、フグ毒中毒に対する効果的な治療法や解毒剤はない。フグ毒中毒による死亡原因は呼吸停止なので、初期症状の段階から人工呼吸などで呼吸を確保することが有効で確実な対処法

改訂 食品の安全を創るHACCP HACCPプラン作成ガイド

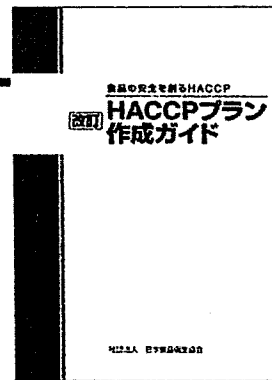
「HACCP 責任者養成研修」テキスト〈応用編〉

本書は、すでに「HACCP 責任者養成研修」用のテキストとして発行している「食品の安全を創る HACCP」の姉妹編として、編纂しました。

「食品の安全を創る HACCP」が基礎編であり、本書が応用編となります。実務に携わる方々が、さらに HACCP を実践していくうえで、自らが HACCP プランガイドを作るための道標となるガイドブックです。ぜひ2冊一緒にご活用ください。

【収録内容】

- | | |
|------------------------|--------------------|
| 1. HACCPプラン作成にあたって | 5. 危害リストの作り方 |
| 2. 製品説明書の作り方 | 6. HACCPプランの作り方 |
| 3. 製造工程図の作り方 | 7. 点検記録表の作り方 |
| 4. 衛生標準作業手順書(SSOP)の作り方 | 8. HACCPプランの運用と見直し |

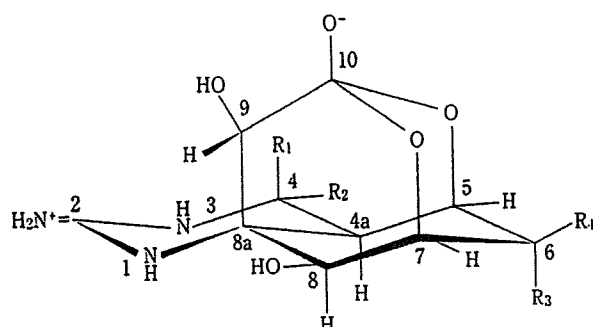


- 著者／里見弘治、伊藤蓮太郎、山本茂貴、小久保彌太郎
- 体裁／B5判 104ページ
- 定価／2,500円(本体価格+税)
- 送料／実費

TEL 03-3403-2114

FAX 03-3403-2384

社団法人 日本食品衛生協会 出版部普及課



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
テトロドトキシン	H	OH	OH	CH ₂ OH
4-エピテトロドトキシン	OH	H	OH	CH ₂ OH
6-エピテトロドトキシン	H	OH	CH ₂ OH	OH
11-デオキシテトロドトキシン	H	OH	OH	CH ₃
11-ノルテトロドトキシン-6(R)-オール	H	OH	H	OH
11-ノルテトロドトキシン-6(S)-オール	H	OH	OH	H
11-ノルテトロドトキシン-6,6-ジオール	H	OH	OH	OH
11-オキソテトロドトキシン	H	OH	OH	CH(OH) ₂

図1 テトロドトキシンおよび同族体の構造

といえる。ヒト体内ではフグ毒の排出が速いので、中毒症状を呈しても、8時間ほど生命を維持できれば回復に向かい後遺症はない。万一フグ毒中毒に罹った場合にはすぐに医療機関等に連絡し、適切な救急治療が施されれば、フグ毒中毒は必ず救命できることを指摘しておきたい。

Ⅲ フグ毒テトロドトキシンの構造と性状

フグ毒テトロドトキシンは非タンパク質性の毒素で、現在まで30以上のテトロドトキシン同族体が単離精製され、構造が決定されている¹⁾。代表的な毒成分を図1に示す。

テトロドトキ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。市販されているテトロドトキシン試薬は凍結乾燥品で塩になっているものが多く、それらは水

に易溶である。テトロドトキシンは弱酸性溶液中では加熱に対して安定だが、中性溶液での加熱ならびにアルカリや強酸溶液中では不安定である。一般的な加熱調理では毒素の分解は起こらず、毒力の低下はないと考えたほうがよい。

テトロドトキシンは強力な神経毒で、Naイオンチャンネルに特異的に作用してNaイオンの透過を妨げるため、筋肉の末梢神経および中枢神経を麻痺させる。ヒトの中毒症状は前述のとおりで、致死量はテトロドトキシン1~2mgと推定される。テトロドトキシンのマウスに対する半数致死量(LD₅₀)は静脈投与で8.7μg/kg、腹腔内投与で10μg/kgである。この値は化学兵器に指定されている麻痺性貝毒サキトキシン(saxitoxin: LD₅₀値10μg/kg、マウス腹腔内投与)に匹敵する強さである。テトロドトキシンは神経を麻痺させるため過去において鎮痛剤として利用されたこともあ

表2 日本産フグ科魚類の組織別毒力

種 類	卵巣	精巣	肝臓	腸	皮	筋肉	種 類	卵巣	精巣	肝臓	腸	皮	筋肉
キタマクラ	無	—	弱	弱	強	無	シマフグ	強	無	強	弱	無	無
ヨリトフグ	無	無	無	無	無	無	ゴマフグ	Ⓜ	無	Ⓜ	無	Ⓜ	無
ヒガンフグ	強	Ⓜ	強	強	強	無	サンサイフグ	強	弱	強	強	弱	無
アカメフグ	強	無	Ⓜ	弱	強	無	クサフグ	強	弱	強	強	強	弱
ショウサイフグ	強	Ⓜ	強	強	強	弱	トラフグ	強	無	強	弱	無	無
ナシフグ	強	弱	強	弱	強	弱	カラス	強	—	強	—	—	—
メフグ	強	無	強	強	強	無	カナフグ	無	無	強	Ⓜ	無	無
マフグ	強	無	強	強	強	無	センニンフグ	強	—	強	強	弱	弱
コモンフグ	強	強	強	強	強	弱	シロサバフグ	無	無	無	無	無	無

—：測定データなし

(注)1 日本産フグの組織別毒力³⁾にその後の研究結果を加えた。○印で囲ったものは谷の研究³⁾の後、毒性評価が変わったことを示す。

2 フグの毒力はマウスに対する致死毒性で評価するため、慣例的にマウスユニット(Mouse Unit: MU)で表示する。1MUとは、試料抽出液1mlを4週令、体重20gのddY系雄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、テトロドトキシン0.2μgに相当する。

3 フグの毒性は「猛毒」「強毒」「弱毒」「無毒」の4段階で評価され、猛毒は試料の毒力が1,000MU/g以上、強毒は100～999MU/g、弱毒は10～99MU/g、無毒は10MU/g未満であることを表す。

るが、薬として効果を表す量と毒として作用する中毒量が近接しているため、「さじ加減」が難しく現在では使われていない。最近、テトロドキシンの筋肉注射は重度の難治性がん関連疼痛の治療に有効であるという報告が発表された²⁾。

IV フグの毒性

フグの毒力はフグの種類によって異なり、同一種でも漁獲海域、漁獲時期、個体によって大きく異なる点の特徴である。これは1945年、谷巖博士によって発表された「日本産フグの中毒学的研究」³⁾で明らかにされた。表2の「日本産フグ科魚類の組織別毒力」は、谷博士の結果をもとにその後の研究結果を加えてまとめたもので、これまでに測定された試料魚種のなかで最も高い毒力を表しており、すべての個体はそのレベルの毒力をもつわけではない。これは食品の安全性を考える場合とても重要である。なぜなら、フグの毒力が個体によって大きく異なるため、なかに1つでも危

険なものがあればほかのものでもそれと同じことが起こる可能性があると考えからである。

フグ食用の安全を確保するため、厚生労働省が中心となって広範囲にフグの毒性調査を行い、1983年に「フグの衛生確保について」の通知を出した⁴⁾。「処理等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、決められた海域で漁獲された、決められた種類のフグの、決められた部位の食用だけを認めた(表3, 4)。毒力の強い肝臓や卵巣は、すべてのフグで食用は認められない。表3, 4のガイドラインに従えば、フグによる食中毒は発生しないはずだが、フグの種類が多く、素人には魚種の判別は難しい。さらに、フグによって食用できる部位が異なることは一般に理解されていない。例えば、トラフグの精巣(白子)は食用可であるため、有毒のヒガンフグやコモンフグの精巣も食べられると勘違いして中毒する例が後をたたない。

中毒事故にはなっていないが、^{ウレ}鰭がまれに問題

表3 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(1983年通知より)

科名	種類(種名)	部位			科名	種類(種名)	部位		
		筋肉	皮	精巢			筋肉	皮	精巢
フグ科	クサフグ	○	—	—	フグ科	カナフグ	○	○	○
	コモンフグ	○	—	—		シロサバフグ	○	○	○
	ヒガンフグ	○	—	—		クロサバフグ	○	○	○
	ショウサイフグ	○	—	○		ヨリトフグ	○	○	○
	マフグ	○	—	○		サンサイフグ	○	—	—
	メフグ	○	—	○	ハリセンボン科	イシガキフグ	○	○	○
	アカメフグ	○	—	○		ハリセンボン	○	○	○
	トラフグ	○	○	○		ヒトヅラハリセンボン	○	○	○
	カラス	○	○	○		ネズミフグ	○	○	○
	シマフグ	○	○	○	ハコフグ科	ハコフグ	○	—	○
ゴマフグ	○	—	○						

- (注) 1 本表は、有毒魚介類に関する検討委員会における検討結果に基づき作成したものであり、ここに掲載されていないフグであっても、今後、鑑別法および毒性が明らかになれば追加することもある。
- 2 本表は、日本の沿岸域、日本海、渤海、黄海および東シナ海で漁獲されるフグに適用する。ただし、岩手県越喜来湾および釜石湾ならびに宮城県雄勝湾で漁獲されるコモンフグおよびヒガンフグについては適用しない。
- 3 ○は可食部位
- 4 まれに、いわゆる両性フグといわれる雌雄同体のフグが見られることがあり、この場合の生殖巣はすべて有毒部位とする。
- 5 筋肉には骨を、皮にはヒレを含む。
- 6 フグは、トラフグとカラスの中間種のような個体が出現することがあるので、これらのフグについては、両種とも○の部位のみを可食部位とする。

表4 海域が限定されているもの(1983年、2000年通知より)

科名	種類(種名)	海域	可食部位
フグ科	ナシフグ	有明海、橘湾、香川県および岡山県の瀬戸内海域で漁獲されたものに限る	筋肉(骨を含む)
		有明海、橘湾で漁獲され、長崎県が定める要領に基づき処理されたものに限る	精巢

になることがある。皮と鰭は形態学的には別組織だが、鰭の毒性について詳しい調査が行われていないため、フグの取扱い上便宜的に鰭の毒性は皮に準ずることとし、皮を食用できるフグに限って鰭を利用することができる⁴⁾。フグ鰭の利用方法としては、これを乾燥させ炭火などで焙り、日本酒に入れて味わう「鰭酒」が珍重される。また、むき身にした場合、外観から魚種を判別することが困難なため、魚種を特定できるよう鰭がついたま

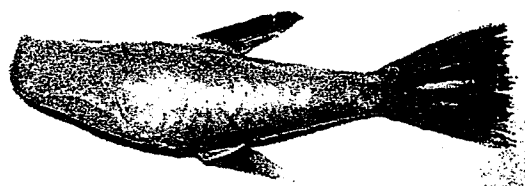


図2 フグのむき身

ま販売されることがあり(図2)、皮の食用が認められていないコモフグ、ショウサイフグ、ヒガンフグなど(表3)では、鱭がついていることが有毒部位の残存にあたるとしてときどき問題になる。

そこでわれわれは、ショウサイフグを用いて皮と鱭の毒性を調査した⁵⁾。調べた13検体中11検体が皮と鱭ともに有毒で、鱭の毒力はほぼ皮の毒力と一致した(図3)。皮の毒力が著しく高いナシフグについても測定したところ、鱭の毒力は皮ほど高くはなかったものの毒性が認められ、毒の主成分は皮と同様テトロドトキシンであった。これらの結果から、皮が有毒な魚種については鱭の食用は適さないことが確かめられた。

V フグの毒化

フグの毒化については、フグ毒保有動物が一部にしか見つかっていなかった当初は、毒を保有する動物自身がテトロドトキシンを生合成するのであろうという「内因説」が考えられていた。しかし、有毒種とされるフグでも毒力に著しい個体差と地域差が見られ、さらに、人工飼育されたクサフグやトラフグは毒性を示さないこと、そして、人工飼育された無毒のクサフグやトラフグにテトロドトキシンを含む餌を投与すると、フグはテトロドトキシンを蓄積することが明らかにされた。さらに、フグの餌となる巻貝やヒトデなどからもテトロドトキシンが検出されたことから、フグは食物連鎖を介して毒化するという「外因説」が有力な毒化経路と考えられている。フグ毒保有動物のフグ、スベスベマンジュウガニ、トゲモミジガイ(ヒトデの仲間)などの消化管や、ヒョウモンダコ唾液腺から単離した細菌および *Vibrio alginolyticus* などの海洋細菌からフグ毒が検出されたことから、細菌が毒化に関与している可能性も考えられる^{6,7)}。

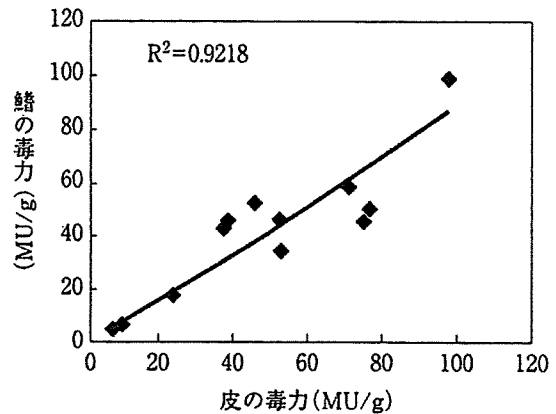


図3 ショウサイフグの皮と鱭の毒力

フグが食物連鎖によって毒化されるなら、ほかの魚にテトロドトキシンを含む餌を与えた場合にも魚は毒化するのだろうか。トラフグの毒化実験と同様に、マダイ、イシダイ、ボラおよびマアジにも有毒フグの卵巣を餌に添加して投与したところ、トラフグでは飼育日数に伴い毒力が増加したのに対し、対照とした一般魚には毒の蓄積は見られなかった⁷⁾。

この現象は、肝臓組織切片を用いた培養実験でも確認された。トラフグ、ヒガンフグ、イシダイ、アイナメ、カワハギ、ウマヅラハギの肝臓組織切片をテトロドトキシンを含む培養液中で培養したところ、トラフグとヒガンフグの肝臓組織切片は培養時間とともにテトロドトキシン量が増加したが、イシダイ、アイナメ、カワハギ、ウマヅラハギの肝臓組織切片ではそのような増加傾向は見られず、組織レベルでもフグだけがテトロドトキシンを蓄積することが確認された⁸⁾。さらに、トラフグの肝臓組織切片を麻痺性貝毒添加培養液中で培養しても、テトロドトキシンのように毒の蓄積は見られず、対照に用いたイシダイやアイナメと差がなかった⁹⁾。これらの結果から、少なくともトラフグ肝臓はテトロドトキシンと麻痺性貝毒を区別し、テトロドトキシンを選択的に取り込む特

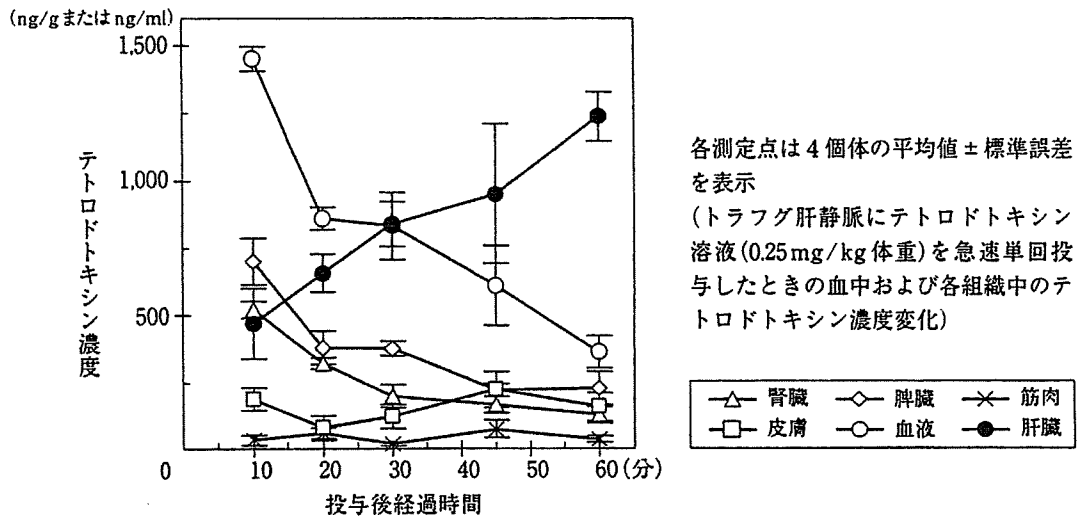


図4 血中および各組織中のテトロドトキシン濃度変化

別なメカニズムがあることが示唆される。

VI フグにおけるテトロドトキシンの体内動態

前述のように、フグの毒化はおもに餌を介した生物濃縮であり、経口的に取り込んだテトロドトキシンは肝臓に蓄積される。また、フグはほかの魚に比べてテトロドトキシンに対して高い抵抗性を示すものの、フグもテトロドトキシン投与により死亡するという実験結果から、われわれは次のような仮説を考えた。

- ① フグに対してテトロドトキシンは外来異物である。
- ② フグに摂取されたテトロドトキシンは外来異物としての体内動態の支配に従う。

すなわち、経口的に摂取されたテトロドトキシンは消化管で吸収され、血液を介して運搬され、肝臓など特定の組織に取り込まれ濃縮される、というものである。これは給餌実験が裏付けているが、その過程を証明した研究はない。われわれは薬物動態学的手法と解析方法を用いてフグの毒化機構を明らかにしようと試みており、興味ある知

見が得られたので紹介したい。

まず、トラフグ体内におけるテトロドトキシンの動態を調べるため、トラフグ肝静脈内にテトロドトキシン溶液(0.25mg/kg体重)を投与して、血液および各組織中のテトロドトキシン濃度を測定した(図4)。血中のテトロドトキシン濃度は経時的に低下し、腎臓および脾臓中のテトロドトキシン濃度も血中テトロドトキシン濃度変化に伴って低下した。筋肉および皮膚では、60分間の観察中テトロドトキシン濃度に有意な増減は認められず、両組織ともに低いレベルで推移した。一方、肝臓中テトロドトキシン濃度は血中テトロドトキシン濃度の減少に反して増加する傾向を示し、投与60分後には投与量の約60%が肝臓に蓄積した^{10, 11)}。

この結果から、テトロドトキシンの体内動態に関してトラフグの組織を3つのコンパートメント(同じ挙動を示す組織を1つの区画と考える)に分けることができる(図5)。すなわち、血中濃度と同じ挙動を示す体循環コンパートメント(腎臓、脾臓)、血中からテトロドトキシンを濃縮して特異的に蓄積する末梢コンパートメントA(肝臓)、

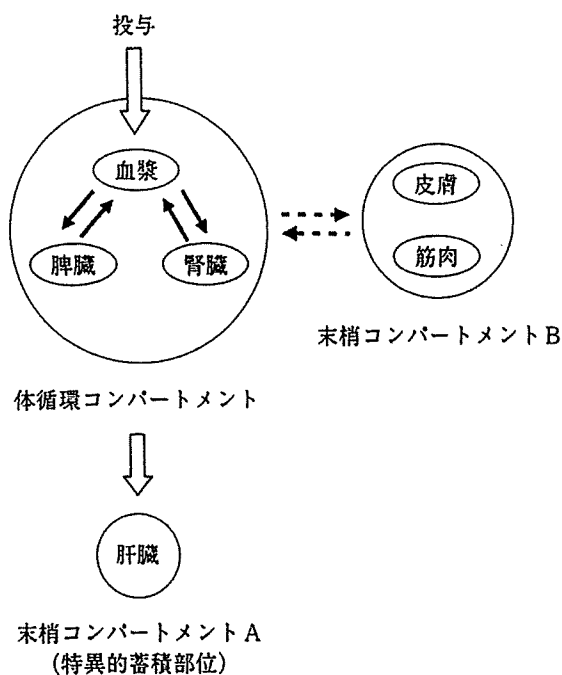


図5 トラフグにおけるテトロドトキシンのコンパートメントモデル

(図4の結果から推測した、トラフグ肝静脈にテトロドトキシソ溶液(0.25mg/kg体重)を急速単回投与したときの状態)

血中濃度に影響されない末梢コンパートメントB(筋肉、皮膚)である。

テトロドトキシソ溶液を消化管や筋肉に投与した場合にも、ほとんどのテトロドトキシソが短時間で肝臓に移行することから、テトロドトキシソは速やかに効率よく吸収されて全身に循環すること、そして、毒化の初期段階としてテトロドトキシソは肝臓へ蓄積されることが明らかとなり、トラフグの肝臓は主要な毒蓄積部位であることが裏

付けられた。しかし、テトロドトキシソはどうやって血液から肝臓に取り込まれるのだろうか。肝臓の細胞膜は二重脂質膜で構成されているので、極性物質のテトロドトキシソは細胞膜を自由に透過できるとは考えにくい。

そこで、テトロドトキシソの肝細胞膜における透過を調べるため、トラフグの肝臓組織切片をテトロドトキシソを含む培養液で培養し、テトロドトキシソの取込み速度を測定した¹²⁾。

肝臓組織切片の取込み速度は、テトロドトキシソ濃度の増加に伴い上昇し飽和性が見られた。さらに、培養液中のNaイオンをコリンに置換した場合および培養温度を20℃から5℃に低下した場合、テトロドトキシソ取込み活性は、それぞれ対照区の60%と40%に低下した。これに対し、ウマヅラハギ肝臓組織切片ではテトロドトキシソ取込み活性は著しく低く、飽和性や温度依存性は見られなかった。以上のことから、トラフグ肝臓にはテトロドトキシソを積極的に細胞内へ取込む機構が存在し、その機構にはNaイオンに依存性を示す輸送担体トランスポーターが関与することが示唆された。

今後は、トラフグ肝臓へのテトロドトキシソ取込みを担うトランスポーターの本体を明らかにすることが緊急の課題で、これを制御することができればトラフグはテトロドトキシソを肝臓に取り込めないので毒の蓄積が起こらず、フグ毒をもたない安全なフグの生産が可能になるものと期待される。

参 考 文 献

- 1) Yotsu-Yamashita M.: Chemistry of pufferfish toxin. J. Toxicol. Toxin Review, 20, 51-66(2001)
- 2) Hagen N. A., Fisher K. M., Lapointe B., Souich P. du, Chary S., Moulin D., Sellers E., Ngoc A. H.: An open-label, multi-dose efficacy and safety study of intramuscular tetrodotoxin in patients with severe cancer-related pain, J. Pain Symp. Manag., 34, 171-182(2007)

- 3) 谷 巖：日本産フグの中毒学的研究， 帝国書院， p1-103(1945)
- 4) 厚生省環境衛生局長通知， フグの衛生確保について(環乳第59号昭和58年12月2日， 生衛発1821号平成12年12月19日)
- 5) 本田俊一， 市丸俊一， 荒川 修， 高谷智裕， 野口玉雄， 石崎松一郎， 長島裕二：フグ鱈の毒性， 食品衛生学雑誌， 48， 159-162(2007)
- 6) 塩見一雄， 長島裕二：新訂版 海洋動物の毒， 成山堂書店， p1-15(2006)
- 7) Noguchi T., Arakawa O., Takatani T.: TTX accumulation in pufferfish, *Comp. Biochem. Physiol.* D., 1, 145-152(2006)
- 8) Nagashima Y., Toyoda M., Hasobe M., Shimakura K., Shiomi K.: In vitro accumulation of tetrodotoxin in pufferfish liver tissue slices, *Toxicon*, 41, 569-574(2003)
- 9) Matsumoto T., Nagashima Y., Takayama K., Shimakura K., Shiomi K.: Difference between tetrodotoxin and saxitoxins in accumulation in puffer fish *Takifugu rubripes* liver tissue slices, *Fish Physiol. Biochem.*, 31, 95-100(2005)
- 10) Matsumoto T., Nagashima Y., Kusuhara H., Ishizaki S., Shimakura K., Shiomi K.: Pharmacokinetics of tetrodotoxin in puffer fish *Takifugu rubripes* by a single administration technique, *Toxicon*, 51, 1051-1059(2008)
- 11) Matsumoto T., Nagashima Y., Kusuhara H., Ishizaki S., Shimakura K., Shiomi K.: Evaluation of hepatic uptake clearance of tetrodotoxin in the puffer fish *Takifugu rubripes*, *Toxicon*, 52, 369-374(2008)
- 12) Matsumoto T., Nagashima Y., Kusuhara H., Sugiyama Y., Ishizaki S., Shimakura K., Shiomi K.: Involvement of carrier-mediated transport system in uptake of tetrodotoxin into liver tissue slices of puffer fish *Takifugu rubripes*, *Toxicon*, 50, 173-179(2007)

食品衛生教育シリーズ

防ごう!! 食品の異物混入

異物混入を防ぐための衛生管理や事例の写真等を収載。苦情のデータ、混入の原因をイラストを使用し、わかりやすくまとめました。



A5判 24ページ・定価300円(本体価格286円+税)

社団法人 日本食品衛生協会

連載

マリトキシンをめぐる動向



魚類の毒(2)：パリトキシン様毒

Palytoxin-like Toxin

長崎大学大学院生産科学研究科 助教

谷山 茂人

長崎大学水産学部 准教授

高谷 智裕

Graduate School of Science and Technology, Nagasaki University
Shigeto TANIYAMA

Faculty of Fisheries, Nagasaki University
Tomohiro TAKATANI

I はじめに

日本沿岸に生息するアオブダイ *Scarus ovifrons* (図1)は時として毒化し、フグ毒(テトロドトキシン: TTX)中毒やシガテラとは異なる特異な中毒を起こしてきた。その原因物質はパリトキシン(PTX)と性状が酷似した毒(以下、PTX様毒とする)で、以前はアオブダイのみが保有すると考えられていた。ところが1990年以來、アオブダイとは異なる海洋性魚類でもアオブダイ中毒と類似した中毒症状を示す事例が立て続けに報告され、最近では死亡事例も発生したことから、食品衛生上の問題となっている。



図1 アオブダイ *Scarus ovifrons*

本稿では、アオブダイなどの喫食によるPTX様毒中毒の事例、その毒の性状や毒の起源生物について概説する。

II 中毒事例

これまでに日本で発生したPTX様毒中毒の事例を表1に示す。

1953年から2009年にかけて、少なくとも35件の記録があり、患者総数は115名で、そのうち6名が死亡している。発生場所は長崎県が11件と最も多く、次いで高知県と宮崎県で各6件、三重県で4件、兵庫県と鹿児島県で各3件、愛知県と大阪府で各1件となっている。

PTX様毒中毒の原因魚類のうち7割はアオブダイであるが、35件中11件はアオブダイ以外の魚類、特にハコフグ類による事例(以下、ハコフグ中毒とする)が9件を占めている。そこで著者ら^{1,2)}は、ハコフグ中毒に関する調査を行ったところ、事例28および33の原因魚類は、中毒検体の形態学的特徴からハコフグ(*Ostracion immaculatus*, 図2)

tetrodotoxin

ciguatera

telic

palytoxin

maitotoxin

表1 日本におけるPTX様毒中毒事例

事例No.	発生年月	発生場所	原因魚種	喫食部位	患者数	死亡者数
1	1953.5	長崎県	アオブダイ	不明	10	1
2	1962.5	長崎県	アオブダイ	不明	3	1
3	1963.5	長崎県	アオブダイ	不明	7	0
4	1963.5	長崎県	アオブダイ	不明	2	0
5	1963.5	長崎県	アオブダイ	不明	1	1
6	1972.10	兵庫県	アオブダイ	肝臓	5	0
7	1972.11	兵庫県	アオブダイ	筋肉・肝臓	5	0
8	1981.2	兵庫県	アオブダイ	筋肉・肝臓	8	0
9	1983.2	三重県	アオブダイ	肝臓	2	1
10	1983.4	高知県	アオブダイ	肝臓	8	0
11	1986.11	愛知県	アオブダイ	筋肉・肝臓	2	1
12	1987.12	高知県	アオブダイ	肝臓	3	0
13	1988.12	高知県	アオブダイ	不明	1	0
14	1989.12	宮崎県	アオブダイ	肝臓	3	0
15	1989.12	高知県	アオブダイ	不明	2	0
16	1990.10	鹿児島県	ハコフグ(推定)	不明	1	0
17	1993.3	長崎県	ハマフグ(推定)	不明	1	0
18	1993.4	高知県	アオブダイ	筋肉・肝臓	1	0
19	1993.10	長崎県	アオブダイ	筋肉・肝臓	2	0
20	1995.9	三重県	アオブダイ	筋肉・肝臓	1	0
21	1997.9	大阪府	アオブダイ	筋肉・肝臓	11	0
22	1999.4	鹿児島県	アオブダイ	筋肉・肝臓	2	0
23	1999.12	宮崎県	ハコフグ(推定)	筋肉・肝臓	1	0
24	2000.10	高知県	ハタ類	筋肉・内臓	11	0
25	2001.1	三重県	ブダイ	消化管を除くすべて	1	0
26	2001.11	三重県	ハコフグ類	内臓	1	0
27	2003.2	宮崎県	ウミスズメ(推定)	筋肉・肝臓	1	0
28	2003.10	宮崎県	ハコフグ	筋肉・肝臓	2	0
29	2004.4	宮崎県	アオブダイ	筋肉・肝臓	2	0
30	2004.10	長崎県	ハコフグ(推定)	筋肉・肝臓	3	0
31	2007.4	長崎県	アオブダイ	筋肉・肝臓	2	0
32	2007.8	長崎県	ウミスズメ(推定)	筋肉・肝臓	2	1
33	2008.10	長崎県	ハコフグ	筋肉・肝臓	1	0
34	2009.3	宮崎県	アオブダイ	肝臓	2	0
35	2009.3	鹿児島県	アオブダイ	不明	5	0

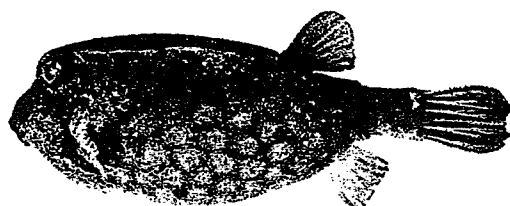


図2 ハコフグ *Ostracion immaculatus*

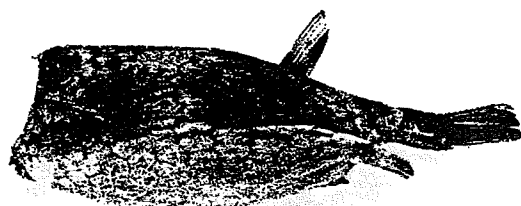


図3 ウミスズメ *Lactoria diaphana*

であることが判明した。また患者らに対する聴取調査から、事例27および32はウミスズメ (*Lactoria diaphana*, 図3)、事例30ではハコフグが原因魚類と推定された。さらに、既報^{3~5)}の症例報告において、事例16および23ではハコフグ、事例17ではハマフグ (*Tetrosomus concatenatus*) の喫食が原因であったと示唆されている。一方、ハタ類による中毒(事例24: 以下、ハタ中毒とする)では当初、通称「クエ」と呼ばれる大型のハタ類が原因魚類とされた。しかしながら、中毒検体(筋肉)の筋形質タンパクの等電点電気泳動分析における泳動パターンはクエ (*Epinephelus bruneus*) とは酷似しているものの完全には一致せず、その原因魚類はクエとは異なるハタ科魚類であると推察された⁶⁾。また、地方名「イガミ」による中毒(事例25)では販売店舗より入手した原因魚類と同一ロットの2個体の魚類がブダイ (*Calotomus japonicus*) であったことから、原因魚類をブダイと推定した¹⁾(以下、本中毒をブダイ中毒とする)。他方、患者の喫食した部位を見ると、筋肉、肝臓または内臓となっており、原因物質はこれらのいずれかの部位またはすべてに含まれていたと考えられる。

一方、日本以外でも魚類によるPTX様毒中毒の報告がある。バングラデシュでは時折淡水フグ (*Tetraodon* sp.) によるPTX様毒中毒が発生している^{7, 8)}。Mahmudら⁷⁾によれば1988年から1996年に少なくとも10件の事例があり、患者総数は55名で、うち死亡者数は21名で致死率はきわめて高いという。他方、ニューカレドニア、ハワイ、フィリピン、ジャマイカなどの熱帯地域では、イワシ類 (*Clupeidae*) がクルベオトキシズムと呼ばれる中毒を起こしてきた⁹⁾。本中毒は突発的で、非常に高い致死率を示すことからシガテラとは区別され、PTXまたはその類縁化合物が原因であることが示されている¹⁰⁾。その他の魚類では、ミクロネシアでクロモンガラ (*Melichthys*

vidua) による同様の中毒が知られている¹¹⁾。

Ⅲ 中毒症状と治療

PTX様毒中毒の潜伏時間はおおむね12~24時間と比較的長く、横紋筋の融解に由来する激しい筋肉痛(横紋筋融解症)が主症状で、しばしば黒褐色の排尿(ミオグロビン尿症)を伴う。また、患者は呼吸困難、歩行困難、胸部の圧迫、麻痺、けいれんなどを呈することもあり、初期症状の発症から数日で血清クレアチンホスホキナーゼ(CPK)値の急激な上昇が見られ、重篤な場合には死に至る。回復には数日から数週間かかり、また致死時間は十数時間から数日間と広範囲である。一方、バングラデシュでの淡水フグ中毒では、麻痺など一般的なTTX中毒に特有な症状も一部には見られるが、主症状が筋肉痛やミオグロビン尿症である点、回復・致死時間が長い点などが特徴的で⁷⁾、日本でのPTX様毒中毒と酷似している。またクルベオトキシズムは、患者が喫食直後に不快な金属味を感じるのが特徴で、吐気、嘔吐、腹痛、下痢、悪寒、筋肉痛、血圧低下などの症状を呈し、重篤の場合は顔面蒼白となり、早くて15分程度で虚脱死すると言われていた⁹⁾、PTX様毒中毒では吐気や嘔吐、下痢はほとんど見られないこと、致死時間は比較的長いこと等で異なる。

他方、ハコフグ中毒(事例27)において、中毒患者に持続的血液ろ過透析(CHDF)を用いた血液浄化法を処したところ、患者のCPK値は速やかに低下し、筋肉痛も著明に軽減した¹²⁾。このことからCHDFがPTX様毒中毒の病態改善に有効である可能性が見出されたが、その症例報告は1例しかなく、さらなる検討が必要である。現在のところ、PTX様毒中毒に対しては横紋筋融解症に起因する二次的な腎不全の発症を防ぎ、初期段階での呼吸循環不全を乗り切ることが重要といえる。

IV PTX様毒の性状

前述したように、アオブダイの毒はPTXに性状が酷似する¹³⁾。すなわち、ウサギ平滑筋に対し、PTXの特異的阻害薬である強心配糖体シマリンにより完全抑制される収縮作用があり、イセエビ神経-筋標本では筋肉の膜電位を不可逆的に脱分極させるとともにシナプス後膜電位を抑制する。また、本毒のUV吸収スペクトルはPTX標品と同様に233nm付近にショルダーを示し、263nm付近で極大となる。

しかしながら、マウスに対する致死活性は相対的に低く、死者を伴ったアオブダイ中毒(事例11)の中毒検体(筋肉、肝臓と思われるもの、肝臓以外の内臓、筋肉や肝臓の煮込み汁)ですら0.6~0.9MU/gの毒力であったと報告されている¹³⁾。著者ら¹⁴⁾も1997年9月に大阪府で発生したアオブダイ中毒(事例21)に関連して、中毒検体が採捕された徳島県牟岐町沖から同時期に6個体のアオブダイを入手し、それらの毒性を調べたところ、すべての筋肉と肝臓が有毒であったが、毒力は総じて低く0.5~2.0MU/gを示した。またハタ中毒(事例24)における中毒検体の毒力は0.5MU/gであった⁶⁾。これらのデータから、PTX様毒は0.5MU/g程度でヒトに中毒症状を発症させるものと考えられる。

前述のように、PTX様毒に対するマウスの感受性は非常に低く、特異的症狀もないため、これを指標に本毒を追跡することは困難である。そこで著者ら¹⁴⁾は、PTX標品が極低濃度でマウスならびにヒト赤血球に対して遅延性溶血活性(時間をかけて徐々に溶血を起こす活性)を示す点に着目し、本活性を指標とするPTX様毒の検出法を開発した。図4および5にその一例を示す。まずPTX標品は、0.1ng/ml以上の濃度でマウスならびにヒト赤血球に対し、遅延性溶血活性を示すことが確

認され、前者は抗PTXモノクローナル抗体、後者は強心配糖体g-ストロンファンチン(ウワバイン)の存在下で特異的に抑制された。アオブダイから調製したPTX様毒も0.1g試料相当量/mlの濃度で抗PTX抗体またはウワバインによって抑制される遅延性溶血活性を示した。次いで、ハタ中毒(事例24)とハコフグ中毒(事例26)の中毒検体、ブダイ中毒(事例25)では中毒検体と同一ロットのブダイおよびハコフグ中毒(事例27)の患者の血清を用い、同様の試験を行ったところ、いずれも前述の遅延性溶血活性を示し、事例24~27の原因物質をPTX様毒と結論することができた^{1,6)}。したがって、この溶血活性試験法はPTX様毒の特定が可能であると判断された。また、アオブダイから抽出したPTX様毒の非致死量をマウスに投与し、血清クレアチンホスホキナーゼ(CPK)値を経時的に調べたところ、基準値(23~160IU/l)に対して投与後2時間で300~1,100IU/l、4時間で430~2,400IU/lと著しく上昇し、6時間後に最大値1,500~3,700IU/lに達したのち、24時間後には160~240IU/lと基準値近くまで復帰することが見出された¹⁴⁾。PTX様毒中毒では、横紋筋の融解が起こると、骨格筋のCPKが血液中に流出し、血清CPK値が急激、かつ顕著に上昇する。マウスにおけるPTX様毒の血清CPK上昇活性は、ヒトの中毒での横紋筋融解症を裏付けるもので、本毒と中毒症状の因果関係がより明確となった。

一方、バングラデシュでの淡水フグ中毒においては、*Tetraodon* sp.が麻痺性貝毒(PSP)とPTX様毒の2種の毒性因子を保有していることが報告されている⁷⁾。PSPの毒力は1.7~5.9MU/gとわずかで、これだけではヒトの中毒を十分に説明できない点と、PTX様毒の毒力が0.5MU/gと相対的には低いものの、前述の中毒患者の症状などと照らし合わせると、中毒原因の主要毒はPTX様毒であると推察された。

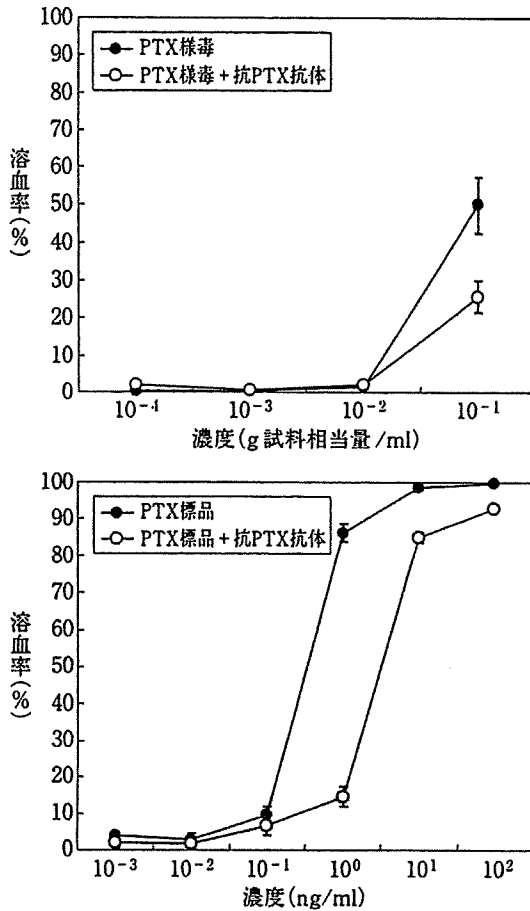


図4 PTX様毒(上)とPTX標品(下)のマウス赤血球に対する遅延性溶血活性の抗PTX抗体による抑制

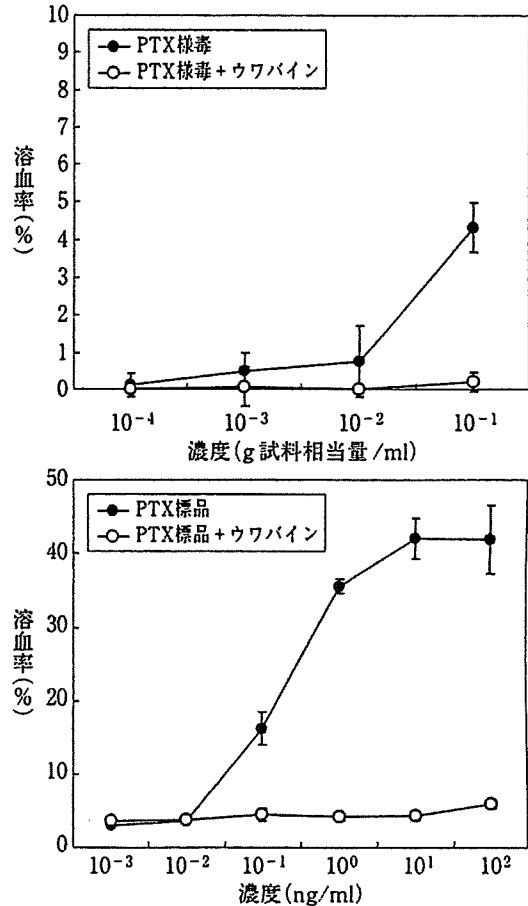


図5 PTX様毒(上)とPTX標品(下)のヒト赤血球に対する遅延性溶血活性のウワバインによる抑制

V アオブダイの毒化機構

前述のアオブダイ中毒(事例21)の際、著者ら¹⁴⁾は、同魚類の毒化機構についても検討を加えた。まず、中毒発生直後に原因魚類が採捕された徳島県牟岐町沖産の有毒アオブダイの消化管内容物を検索したところ、砂やサンゴの破片とともに渦鞭毛藻の付着基質となる数種の海藻が見出された。他方、牟岐町沖では、中毒が発生する直前の1997年8月に底生性渦鞭毛藻が大量発生し、海藻1g当たり最大15,000細胞もの藻体の付着が認められていた。その優先種は *Ostreopsis* 属で、アオブダイは海藻とともに多量の本属藻体を摂食し

ていたと推察された。元来、*Ostreopsis* 属渦鞭毛藻は熱帯や亜熱帯海域に分布し、そのうち *O. siamensis* はPTX誘導体であるオストレオシン-Dを産生するとの報告がある^{15, 16)}。そこで、アオブダイの毒化に本属の関与が疑われたため、同年10月に牟岐町沖にて採取、分離した *Ostreopsis* sp. (図6)の培養藻体につき、マウス毒性を調べたところ、血清CPK上昇活性を示



図6 徳島県牟岐町沖で単離された *Ostreopsis* sp.

す毒(1細胞当たり 1.0×10^{-4} MU)が検出された。さらに、この毒は抗PTX抗体ないしウワバインで特異的に抑制される遅延性溶血活性を示し、アオブダイの毒の性状とほぼ一致した。その後、牟岐町沖では*Ostreopsis*属の出現は減少し、アオブダイは毒化していない。したがって、同海域では有毒な*Ostreopsis*属渦鞭毛藻を起源生物とし、食物連鎖を介して通常は無毒のアオブダイが毒化したものと結論した。一方、有毒アオブダイの出現海域である長崎県五島列島や宮崎県沿岸でも低密度ながら*Ostreopsis*属の分布が確認され、いずれの培養藻体も有毒で、牟岐町沖産*Ostreopsis* sp.と同様の毒力と毒の性状を示した。近年、立て続けに発生しているハコフグ中毒の原因魚類も五島列島ならびに宮崎県沿岸で採捕されており、同海域では有毒な*Ostreopsis*属によって潜在的にアオブダイやハコフグ類が毒化する可能性が高いと考えられた。

VI おわりに

日本でのPTX様毒中毒は、以前はアオブダイのみが引き起こす特殊な中毒であり、同種魚類を食用としないことで防止できるものと考えられて

きた。現在、アオブダイは1997年9月の大阪府での中毒(事例21)発生直後に出された厚生省(現厚生労働省)通知¹⁷⁾に基づき、その販売や消費が自粛されている。しかしながら、いまだ自家消費等によるアオブダイ中毒は後を絶たず、加えて近年ではハコフグによるPTX様毒中毒も続発している。ハコフグは長崎県五島列島などで古くから食習慣があるものの、最近まで中毒に関する知見はほとんどなかった。一方、有毒な*Ostreopsis*属は海水温の上昇など海洋環境の変化に伴い、熱帯や亜熱帯海域のみならず温帯海域である日本沿岸にも広く分布するようになり、その大量発生が原因でアオブダイだけでなくハコフグなどの魚類までもPTX様毒により汚染され、その被害が拡大している、とも考えられる。PTX様毒中毒の確定診断は困難な場合もあり、ここ数年は医療機関等からわれわれの研究グループへの問い合わせも多く、過去に同様の中毒が発生していたとしても原因不明の事例として処理されていた可能性がある。今後もPTX様毒による毒化魚類の多様化が進展することが懸念されるなか、*Ostreopsis*属の分布状況や魚類の毒化状況の把握に努め、PTX様毒中毒に関して広く啓発する必要がある。

参 考 文 献

- 1) 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, ニューフードインダストリー, 45, 55-61(2003)
- 2) 谷山茂人: 本州で発生したパリトキシン様中毒とシガテラ, 日本水産学会誌, 74, 917-918(2008)
- 3) 上山達典, 内田義男, 山口洋司, 松田雅彦, 有村孝子, 福本まゆみ, 山下 互, 原田隆二: ハコフグ中毒によるものと思われる急性腎不全の1症例, 日本臨床内科医会会報, 7, 281-283(1992)
- 4) 虎島保男: 遅発性フグ中毒, 長崎県医師会報, 619, 57-58(1997)
- 5) 矢澤省吾, 川崎渉一郎, 田中 充, 佐々木 規: ハコフグ摂食に続発したと考えられる急性横紋筋融解症の1例, 宮崎医学会誌, 24, 128-131(2000)
- 6) 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. Natural Toxins, 11, 277-282(2002)
- 7) Mahmud Y., Arakawa O., Noguchi T.: An epidemic survey on the freshwater puffer poisoning in