

200939033B

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20年度～21年度 総合研究報告書
(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. 総合研究報告書

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. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 52

III. 研究成果の刊行物・別刷…………… 53

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」

総合研究報告書

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の毒性を再評価することを目的に、フグ科トラフグ属 11 種（シマフグ、トラフグ、カラス、クサフグ、ショウサイフグ、ナシフグ、マフグ、コモンフグ、ムシフグ、ヒガンフグ、アカメフグ）、モヨウフグ属 2 種（サザナミフグ、スジモヨウフグ）、サバフグ属 4 種（シロサバフグ、クロサバフグ、ドクサバフグ、カナフグ）、ヨリトフグ属（ヨリトフグ）の合計 18 種についてマウス試験法で毒性を測定した。ほとんどは「日本産フグの最高毒力表」に記載の毒力レベルを超えるものはなかったが、アカメフグ卵巣は「強毒」よりも強い「猛毒」レベルの毒性を示し、カナフグ消化管と卵巣から毒性が検出されたため「無毒」ではなく「弱毒」レベルに毒性評価を改めるべきと考える。ショウサイフグ精巣から毒性が検出されたことがあるので、食用フグの毒性を再調査することが必要である。また、南方産とされていたドクサバフグが日本沿岸でも出現し食中毒事件も発生した。また、宮崎県沿岸のフグ延縄でドクサバフグが漁獲され、筋肉から「強毒」レベルの毒性が検出されたことから、日本沿岸におけるドクサバフグの分布と毒性を調査する必要がある。ドクサバフグ筋肉ミトコンドリア 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、これらは交雑種である可能性が考えられ、食中毒防止の観点から正確な魚種鑑別を行うためには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：2007 年 9 月～2009 年 6 月に長崎県橋湾、熊本県宮野河内湾、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 21 種 174 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、およびカゲロウヨフバイが有毒であった。キンシバイの毒力は総じて高く、多くの個体で筋肉と内臓のどちらか一方、または両方が 1,000 MU/g を上回った。いずれの種も毒の主成分はテトロドトキシン（TTX）で、キンシバイではこれに加えて 11-oxoTTX の存在が示唆された。ハコフグの毒性：2008 年 10 月に長崎県で発生したハコフグ中毒につき、残品（未調理ハコフグ 3 個体の筋肉と肝臓）の毒性を調べたところ、いずれもマウスに対して遅延性致死活性を、供試 3 個体 2 個体の筋肉が遅延性溶血活性を示した。一方、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、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。巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度：エゾバイ科巻貝 7 種（イソヒナ、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に致死活性を示した。LC/ESI-MS 法により、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）にのみ高濃度のテトラミンを検出した。その他の 4 種の毒成分は易熱性のタンパク質と考えられた。LC/ESI-MS 法によるテトラミン定量はヒトの血液試料にも適用できることを確認し、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にテトラミンを検出した。この結果から、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。スギヒラタケキノコ中の毒性成分と培養神経細胞に与える影響：スギヒラタケ中の毒性物質を検索し、培養神経細胞へ与える影響について検討するため、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行い、脂溶性分画から毒性を示す精製を行い、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。

本脂肪酸は、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。細胞への影響を検討したところ、培養神経細胞に対しては低濃度（1-2 µg/mL）でアポトーシスを誘導することが分かった。培養オリゴデンドロサイト細胞に与える影響についても検討した。その結果、本脂肪酸は低濃度（1-2 µg/ml）でオリゴデンドロサイト細胞をアポトーシス性の細胞死へと誘導することが分かった。今回単離した共役トリエン脂肪酸は培養神経およびオリゴデンドロサイトの両細胞に対して細胞死を誘導した。有毒植物による食中毒に関する調査・研究：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。その原因物質解明を目指し、調査・研究を行った。当初青酸配糖体が原因とされたが、文献調査および実験とも、シアン化合物の含有を示す結果は得られなかった。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：自然毒に関するリスクプロファイルの様式を検討し、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、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、概要版と詳細版の2種類を作成し、厚生労働省のホームページに掲載する方針も決定した。これらの方針を受けて、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、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済みであり、詳細版についても掲載に向けて準備中である。

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

フグ科魚類は体内に強力な神経毒テトロドトキシン（tetrodotoxin、以下 TTX と略記）をもつため、これを食して食中毒を起こすことがある。わが国では、毎年約30件のフグ中毒が発生し、約50人が中毒し、数名が死亡している。フグ中毒件数と患者数は食中毒全体の中では少なく1%以下であるが、死亡者数は食中毒全体の40%を占める。このように、フグ中毒は致命率（患者数に対する死者数の割合）が高いのが特徴で、フグ中毒が危険なゆえんである。

わが国では、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ている。さらに、フグを取り扱うためには都道府県条例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。

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、フグの毒力はフグ食中毒防止の基礎データとなるので、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。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。

小型巻貝とハコフグの毒性調査および関連の文献検索

2007年7月に長崎県長崎市で、2008年7月には熊本県天草市で、ムシロガイ科の腐肉食性小型巻貝キンシバイによる極めて重篤な食中毒が発生した。長崎市の事件発生直後に、残品としてキンシバイを含む4種の巻貝を入手し、毒性を調べたところ、キンシバイの筋肉と内臓から最高4,200 MU/gに達するテトロドトキシン (TTX) が検出された。中国・台湾では以前より腐肉食性小型巻貝による中毒が頻発しており、ムシロガイ科巻貝9種に高濃度のTTXの存在が報告されている。しかしながら、日本で毒性が調査されている小型巻貝の種類は限られており、ハナムシロガイならびにアラレガイからTTXの検出例があるものの、いずれも毒力は低い。

一方、これまでハコフグ、ウミスズメ等日本近海産のハコフグ科魚類は食品衛生上無毒種として扱われてきたが、近年、長崎県などでは同魚類の喫食によりTTX中毒やシガテラとは異なる特異な食中毒が散発し、死者も出ている。本中毒発症の時間経過や患者の主症状は、アオブダイ中毒に酷似している。すなわち、原因物質としてパリトキシン (PTX) 様毒が疑われ、ハコフグ類の毒性を再評価する必要がでてきた。

このような状況の下、本研究では自然毒のリスクプロファイル作成に資するため、小型巻貝とハコフグ類の毒性調査を実施するとともに、関連の文献検索を行った。

巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度

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唾液腺に高濃度のテトラミンが検出されている巻貝は知られているし、中毒例もあるが、巻貝におけるテトラミンの分布は十分には明らかにされていない。一方、テトラミン中毒の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。そこで本研究では、入手できた巻貝の唾液腺について、マウス致死活性及びテトラミン含量を測定する

とともに、たまたま入手することができたテトラミン中毒患者の血液試料のテトラミン濃度を測定した。

スギヒラタケキノコ中の毒性成分と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。

本研究では、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。スギヒラタケキノコ中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 -、 β -eleostearic acid (α -、 β -ESA)を分離した。さらに、スギヒラタケ中毒患者の病理所見から脱髄現象が観察されるとの報告が合ったことから、脳内で神経細胞の軸索に巻き付いて髄鞘を形成するグリア細胞である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

自然毒 (魚貝毒、キノコ毒、植物毒) による食中毒は発生件数や患者数は少ないが、フグ毒やキノコ毒のように致命率が高いものが多く、中毒死者は全食中毒死者の過半数に達している。食品衛

生上きわめて重要な自然毒による健康被害の防止に資するために、自然毒のリスクプロファイルを作成し、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、フグ科トラフグ属 11 種(シマフグ、トラフグ、カラス、クサフグ、ショウサイフグ、ナシフグ、マフグ、コモンフグ、ムシフグ、ヒガンフグ、アカメフグ)、モヨウフグ属 2 種(サザナミフグ、スジモヨウフグ)、サバフグ属 4 種(シロサバフグ、クロサバフグ、ドクサバフグ、カナフグ)、ヨリトフグ属(ヨリトフグ)の合計 18 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あった。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し、皮、筋肉、肝臓、消化管、生殖巣などに分離した。

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 20 g 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(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。

4) 魚種鑑別

フグの魚種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および関連の文献検索

1) 小型巻貝の毒力の測定方法

試料には、2007 年 9 月～2009 年 6 月に長崎県橘湾、熊本県宮野河内湾、沖縄県沖縄本島および石垣島沿岸で採集したキンシバイ 47 個体、ミヤコボラ *Bufo rana* 11 個体、ピワガイ *Ficus subintermedia* 10 個体、キヌガサガイ *Stellaria (Onustus) exutus* 8 個体、ヤツシロガイ *Tonna luteostoma* 7 個体、テングニシ *Hemifusus tuba* 4 個体、ウラシマガイ *Semicassis bisulcata persimilis* 4 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、ジウドウマクラ *Oliva miniacea* 3 個体、ハマヅド *Costellaria exasperata* 13 個体の計 21 種 174 個体(表 3～5)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は、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合一したもの、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について、同様に毒力を求めた。

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。橘湾および宮野河内湾産巻貝については HPLC による麻痺性貝毒 (PSP) 成分の分析を併せて行った。

3) ハコフグの毒力の測定方法

試料には、2008 年 10 月に長崎市で発生した食中毒の残品である未調理のハコフグ(中毒検体) 3 個体、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。

4) 中毒検体と患者血清の溶血活性試験の方法

試料には、前項で調製した中毒検体の試験液および前項の中毒患者の血清を用いた。まず、各試料から得た分画分子量 10,000 以下の画分を 0.5% マウス赤血球懸濁液に添加し、37°C で 1 時間および 4 時間インキュベーションした。次に、遠心分離後の上清につき、405 nm における吸光度を測定した。1% サポニン溶液の 37°C、インキュベーション 30 分後の溶血率を完全溶血 (100%) とし、吸光度との比率から試料の溶血率を求めた。

5) 小型巻貝の中毒と毒性に関する文献検索方法

長崎大学附属図書館の蔵書・文献検索システムを用いて、腐肉食性巻貝 (scavenging gastropod) キンシバイ (*Nassarius glans* もしくは *Alectrion glans*)、フグ毒中毒 (pufferfish toxin poisoning)、フグ毒 (pufferfish toxin)、テトロドトキシン (tetrodotoxin)、11-オキシテトロドトキシン (11-oxotetrodotoxin) をキーワードとする文献検索を行った。

6) ハコフグの中毒と毒性に関する文献検索方法

キーワードをハコフグ (*Ostracion cubicus* もしくは *boxfish*)、ウミスズメ (*Lactoria diaphana*)、ハコフグ毒中毒 (boxfish toxin poisoning)、ハコフグ毒 (boxfish toxin)、パリトキシン (palytoxin)、横紋筋融解症 (rhabdomyolysis) とし、前項と同様の方法で文献検索を行った。

巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度

1) 巻貝試料

マウス毒性試験用には、オキニシ科 1 種 (ミヤコボラ *Bufo rana*)、エゾバイ科 7 種 (イソナ *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 ampullaceal perryi*) の合計 8 種巻貝を、テトラミン測定用にはイソ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 °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。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 μ l の濃度になるように調製し、フィルターろ過後、それぞれ 10 μ 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。

4) テトラミン中毒患者の血漿および血清試料

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 聡博士から検査依頼をされ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准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、血漿吸着療法の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。

5) 血中テトラミンの LC/ESI-MS 分析

患者血清および血漿 200 μ l 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 \times g、15 min で遠心分離し上清を回収した。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 μ l の水に溶かして 10 μ l を LC/ESI-MS に供した。

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

スギヒラタケキノコ中の毒性成分と培養神経細胞に与える影響

スギヒラタケ成分の抽出は、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 \times 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。

グリア細胞には、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、3-4 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。

いずれの細胞も 0.5×10^5 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。

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。

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バーに播き、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。

α -、 β -eleostearic acid の分析は、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。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

1) アジサイ毒に関する文献調査

アジサイ毒に関する既往の文献を調査した。

2) アジサイ属植物葉抽出物のシアンテスト

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、アジサイ属植物 14 種を採集し、青酸配糖体の有無を検討した。シアン化合物を検出・定量する方法はいくつかあるが、シアンテストワコー (和光純薬) を用いるのが最も簡便で、比較的精度も良い。また、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調べた。

3) 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)
- 淵野裕之 (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

平成 20 年度に 2 回（第 1 回：平成 20 年 5 月 23 日、第 2 回：平成 11 月 17 日）、平成 21 年度に 2 回（第 1 回：平成 21 年 7 月 11 日、第 2 回：平成 21 年 12 月 17 日）の研究班会議を開催し、リスクプロファイルの様式を検討した。その結果、記載すべき必須項目（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）を決めるとともに、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、厚生労働省のホームページに掲載することとした。これらの方針を受け、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、リスクプロファイルを作成した。

（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

日本沿岸で漁獲されたフグ科魚類の毒性

1) フグ科魚類の毒性

筋肉の毒性は、ドクサバフグ以外すべて無毒（10 MU/g 未満）であった（ドクサバフグの毒性については後述する）。谷の「日本産フグの中毒学的研究」に基づく日本産フグの最高毒力の表を上回る毒性を示したのは、アカメフグ卵巣で、これまで「強毒」とされていたが、1360 MU/g という「猛毒」レベルの毒性が検出された。そして、「無毒」とされているカナフグ消化管から 44 MU/g の「弱毒」レベルの毒性が検出された。同様に、卵巣も「無毒」とされているが、10 MU/g の毒性が検出された。

そして、これまで報告がなかったカナフグの胆嚢、腎臓、脾臓からそれぞれ 14 MU/g、59 MU/g、17 MU/g の「弱毒」レベルの毒性が検出され、ムシフグの消化管から「弱毒」レベルの毒性（21

MU/g）がみられた。

これまでの「日本産フグの最高毒力表」に本研究でそれを上回る毒力が検出されたものを付け加えた（表 1）。

2) ドクサバフグの毒性と毒成分

本研究で測定したドクサバフグ 4 検体と 2001 年に測定したドクサバフグ 2 検体の毒性値を表 2 にまとめた。これらはいずれも宮崎県で漁獲されたものである。6 検体中 3 検体は筋肉が有毒（10 MU/g 以上）で、最高毒性値は 135 MU/g に達し、これは「強毒」レベルに相当する。肝臓では 5 検体中 4 検体が有毒で最高毒性値は 341 MU/g、卵巣は 4 検体が有毒で最高毒性値は 1810 MU/g となった。

次に、有毒個体 No. 3 の筋肉の毒成分を調べた。その結果、テトロドトキシンおよび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の主成分はフグ毒テトロドトキシン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。

3) 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 2 の No. 1~4 についてミトコンドリア 16SrRNA の部分配列（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）。

小型巻貝とハコフグの毒性調査および関連の文献検索

1) 小型巻貝の毒性

供試した 21 種の巻貝のうち、5 種からマウス毒性が検出された。特に、キンシバイは全個体の筋肉と内臓、または筋肉に毒性が認められ、それらの毒力は総じて高かった。

橋湾産キンシバイの部位別毒力を表 6 に示す。筋肉の毒力は 48~2,370 MU/g（平均毒力±標準偏差: 775±615 MU/g、以下同様）、内臓は 16~10,200 MU/g（1,490±2,530 MU/g）であった。特に 2007 年 9 月には供試 10 個体中 8 個体において、筋肉と内臓のどちらか一方、または両方が食品衛生上「猛毒」となる 1,000 MU/g を上回り、最高毒力は筋肉で 2,370 MU/g、内臓で 10,200 MU/g に達した。また、同時期における筋肉の平均毒力は 1,010 MU/g で採集期間を通じて最も高い値とな

り、その後は徐々に減少し、2008年1月に276 MU/gにまで低下した。一方、内臓の平均毒力は2007年9月に最高値2,450 MU/gを示した後、急激に減少し、2008年1月には65 MU/gとなった。同時期に橋湾で採集したミヤコボラ、ピワガイ、キヌガサガイ、ヤツシロガイ、テングニシ、ウラシマガイは全て無毒であった(5 MU/g未滿)。

宮野河内湾産キンシバイは、筋肉で37~2,600 MU/g (819±779 MU/g)、内臓で9~10,800 MU/g (1,090±2,480 MU/g)の毒力であった(表7)。橋湾産キンシバイと同様に、供試19個体中10個体において、筋肉と内臓、またはそのいずれかが1,000 MU/g以上を示した。筋肉の平均毒力は、2008年9月と10月では概ね1,100 MU/gと極めて高かったが、2009年1月には119 MU/gと著しく低下した。一方、内臓の平均毒力は2008年9月に最高値1,810 MU/gに達した後、同年10月に515 MU/gと急激に減少し、2009年1月には345 MU/gとなった。

沖縄本島産キンシバイの筋肉の毒力は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(表8)。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(表6)。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(表8)。一方、同時期沖縄本島ならびに石垣島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。

2) 小型巻貝の毒成分

まず、キンシバイの筋肉と内臓につき、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(図示せず)。一方、供試した橋湾ならびに宮野河内湾産キンシバイ41個体のいずれからもPSP成分は検出されなかった。

次いで、橋湾産キンシバイにつき、‘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毒力’の相関について検討したところ、筋肉と内臓における相関係数がそれぞれ0.8354

および0.9587となり、ともに良好な正の相関を示すことがわかった(図2)。両者の回帰直線は、それぞれ $y=0.6478x-93.45$ と $y=0.5955x+147.4$ で、平均的には筋肉で総毒力の約65%、内臓では約60%をTTXが占めると判断された。また、宮野河内湾産キンシバイも同様に、平均的には筋肉で総毒力の約61%、内臓では約23%がTTXであった。

一方、マウス毒性が検出された沖縄本島産サツマビナ、ヘコミマクラ、イボヨフバイ、カゲロウヨフバイの試験液($n=5$)からもキンシバイと同様に、LC/MS分析にて 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、沖縄本島産キンシバイを含めた有毒巻貝($n=13$)の‘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3)。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。

3) ハコフグの毒性

中毒検体の筋肉および肝臓の粗抽出液は、いずれもマウスに対して2 g試料相当量/ml以上の用量で毒性を示した。すなわち、痙攣や嗜眠、衰弱を誘起し、24時間ないし48時間でマウスを死亡させた。一方、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)。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9)。

4) 中毒検体と患者血清の溶血活性

中毒検体3個体のうち、2個体の筋肉の粗抽出液(0.1 g試料相当量/ml)は、インキュベーション1時間において、マウス赤血球に対する溶血率がそれぞれ18.5%および1.38%であったが、インキュベーション4時間ではともにほぼ100%を示し、遅延性溶血活性が確認された(図4)。また、1個体の筋肉の粗抽出液も同様にインキュベーション4時間でほぼ完全溶血したものの、インキュベーション1時間でも96.8%と高い値を示した。他方、肝臓の粗抽出液の溶血率はインキュベーション4時間においても最高で約30%と低かった(図4)。一方、中毒患者の血清では、濃度

2.5 µl 血清/ml における溶血率は、インキュベーション1時間および4時間ともに2%未満であった。

5) 小型巻貝の中毒と毒性に関する文献
以下の12報の文献が見出された。

1. H. C. Jen, S. J. Lin, S. Y. Lin, Y. W. Huang, I. C. Liao, O. Arakawa, D. F. Hwang. Occurrence of tetrodotoxin and paralytic shellfish poisons in a gastropod implicated in food poisoning in southern Taiwan. *Food Add. Contam.* **24**, 902-909 (2007).
2. P. A. Hwang, Y. H. Tsai, S. J. Lin, D. F. Hwang. The gastropod possessing TTX and/or PSP. *Food Reviews International* **23**, 321-340 (2007).
3. P. A. Hwang, Y. H. Tsai, J. F. Deng, C. A. Cheng, P. H. Ho, D. F. Hwang. Identification of tetrodotoxin in a marine gastropod (*Nassarius glans*) responsible for human morbidity and mortality in Taiwan. *J. Food Prot.* **68**, 1696-1701 (2005).
4. 高谷智裕, 荒川 修, 野口玉雄. 中国で頻発している小型巻貝による食中毒について. *食衛誌* **46**, J-208-J-209 (2005).
5. F. M. Liu, Y. M. Fu, D. Y. C. Shih. Occurrence of tetrodotoxin poisoning in *Nassarius papillosus* Alectrion and *Nassarius gruneri* Niotha. *J. Food Drug Analysis* **12**, 189-192 (2004).
6. P. A. Hwang, Y. H. Tsai, Y. H. Lu, D. F. Hwang. Paralytic toxins in three new gastropod (Olividae) species implicated in food poisoning in southern Taiwan. *Toxicon* **41**, 529-533 (2003).
7. Y. C. Shiu, Y. H. Lu, Y. Tsai, S. K. Chen, D. F. Hwang. Occurrence of tetrodotoxin in the causative gastropod *Polinices didyma* and another gastropod *Natica lineate* collected from western Taiwan. *J. Food Drug Analysis* **11**, 159-163 (2003).
8. D. F. Hwang, Y. C. Shiu, P. A. Hwang, Y. H. Lu. Tetrodotoxin in gastropod (snails) implicated in food poisoning in northern Taiwan. *J. Food Prot.* **65**, 1341-1344 (2002).
9. L. M. Sui, K. Chen, P. A. Hwang, D. F. Hwang. Identification of tetrodotoxin in marine gastropods implicated in food poisoning. *J. Nat.*

Toxins **11**, 213-220 (2002).

10. D. F. Hwang, C. A. Cheng, H. T. Tsai, D. Y. C. Shih, H. C. Ko, R. Z. Yang, S. S. Jeng. Identification of tetrodotoxin and paralytic shellfish toxins in marine gastropods implicated in food poisoning. *Fish. Sci.* **61**, 657-679 (1995).
11. C. C. Yong, K. C. Han, T. J. Lin, W. J. Tsai, J. F. Deng. An outbreak of tetrodotoxin poisoning following gastropod mollusc consumption. *Human and Experimental Toxicology* **14**, 446-450 (1995).

6) ハコフグの中毒と毒性に関する文献
以下の7報の文献が見出された。

1. 相良剛史. 中毒発生海域より分離した *Ostreopsis* sp. のパリトキシン様物質産生能. *日本水産学会誌* **74**, 913-914 (2008).
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. 楠原健一, 西浦亮介, 谷山茂人, 矢澤省吾, 工藤隆志, 山本展誉, 野口玉雄. “ハコフグ”喫食により発症した横紋筋融解症の1例. *日本内科学会雑誌* **94**, 750-752 (2005).
4. 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).
5. J. B. Chen, H. H. Pan, D. F. Hwang. Myoglobinuric acute renal failure following cardioversion in a boxfish poisoning patient. *Nephrol Dial Transplant* **16**, 1700-1701 (2001).
6. 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症例. *宮崎医学会誌* **24**, 128-131 (2000).
7. 虎島保男. 遅発性フグ中毒. *長崎県医師会報* **619**, 57-58 (1997).

巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度

1) 巻貝唾液腺抽出液のマウス致死活性

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(表10)。これらの抽出液を加熱したところ、マウス致死活性はフジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラでは変化はみられなかったが、その他の4種では完全に失活

した。

イソナ、エゾバイ、シライトマキパイおよびモスソガイ抽出液をマウスに投与すると、10 min 以内に歩行にふらつきが見られ、その後うずくまって麻痺し、呼吸困難で 10min から 1 日の間で死亡した。イソナ、エゾバイ、モスソガイの抽出液を最小致死量の半量程度をマウスに投与すると、致死量と同じ症状がみられるが数時間で回復し、1 日後に耳や尾に内出血が現れその後壊死した。一方、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラおよびエゾボラの唾液腺抽出液をマウスに投与すると、5 min 以内にうずくまり、その後呼吸が速くなって痙攣し 15 min 以内に死亡した。

2) 巻貝唾液腺のテトラミン含量

6 種巻貝（ミヤコボラ、フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラ、エゾボラ、シライトマキパイ、モスソガイ）の唾液腺のテトラミン含量を表 11 に示した。このうちフジイロエゾボラ、ヒメエゾボラおよびエゾボラの 3 種はエゾバイ属に属し、唾液腺のテトラミン含量が高いことはすでに報告されていたが、本研究でも高含量（980～4240 $\mu\text{g/g}$ ）であることが再確認された。その他の 3 種巻貝については、唾液腺のテトラミン含量は非常に低く（10～64 $\mu\text{g/g}$ ）、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。

3) 中毒患者の血中テトラミン濃度

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ロマトグラムを図 5 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 12 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 13）、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 12 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。

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、血中テトラミン濃度を LC/ESI-MS で高感度に測定できることが判明した。中毒患者

の血中テトラミン濃度は、来院時がもっとも高く（約 2 $\mu\text{g/ml}$ ）、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た。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。いずれにしても本研究により、テトラミン中毒患者の血中テトラミン濃度を LC/ESI-MS 法で分析できることが示されたので、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特定できるといえる。

スギヒラタケキノコ中の毒性成分と培養神経細胞に与える影響

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 6）。

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 7）。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 1 mg/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（図 8）、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。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（図 9）。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 α -、 β -ESA 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、含有量は表 14 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、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。

次に、 α -ESA のオリゴデンドロサイト細胞へ与える影響について検討した。オリゴデンドロサイト前駆細胞を 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、さらに一晩培養した後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 $\mu\text{g/ml}$ 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 (図 10, 11)。

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 (表 15、図 12)。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

思っにかじった。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

添付資料 1 (厚生労働省の「自然毒のリスクプロファイル」のトップページ) のように、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 (魚類では、フグ毒、シガテラ毒など 8 種、二枚貝では麻痺性貝毒、下痢性貝毒など 5 種、巻貝では唾液腺毒など 3 種)、植物性自然毒 (キノコ毒、高等植物毒) については個々の植物ごとに (キノコ毒は 18 種、高等植物毒は 21 種)、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。概要版については、添付資料 1 に掲げてある自然毒すべてを平成 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。詳細版についても、添付資料 1 に掲げてある自然毒のすべてをすでに作成し、厚生労働省のホームページに掲載するべく準備中である (平成 22 年 6 月に掲載予定である)。

リスクプロファイル (概要版、詳細版) の全文は膨大であるので、厚生労働省のホームページ (<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/index.html>) にアクセスしていただくとして、ここでは動物性自然毒、キノコ毒、高等植物毒のそれぞれの代表として、フグ毒の概要版 (添付資料 2) と詳細版 (添付資料 3)、ツキヨタケ毒の概要版 (添付資料 4) と詳細版 (添付資料 5)、バイケイソウ毒の概要版 (添付資料 6) と詳細版 (添付資

料7)を示しておく。自然毒全体では様式を統一することは困難であったが、動物性自然毒、キノコ毒、高等植物毒のそれぞれの分野ではほぼ統一されている。

D. 考察

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たフグ科魚類18種の毒性を測定した結果、アカメフグ卵巣から1360 MU/gの毒性が検出され、毒力レベルは「猛毒」と認識される。また、「無毒」とされているカナフグ消化管から44 MU/gの「弱毒」レベルの毒性が検出された。これまで報告例のなかったカナフグの胆嚢、腎臓、脾臓およびムシフグの消化管からそれぞれ「弱毒」レベルの毒性が検出されたことから、今後さらに強い毒性が検出される可能性も考えられ、継続してデータの集積に努める必要がある。

以前、われわれは東京湾で漁獲したシヨウサイフグの精巣から「弱毒」レベル(39 MU/g)の毒性を検出した。「日本産フグの最高毒力表」でシヨウサイフグ精巣は「無毒」とされ、食用可能な部位に指定されているので、この点について精査する必要がある。

また、数は少ないものの宮崎県沿岸で行われたフグ延縄漁業でドクサバフグが漁獲され、筋肉に100 MU/gを超える「強毒」レベルの毒性をもつことがわかった。ドクサバフグによるフグ中毒防止のため、宮崎県以外でもドクサバフグの分布調査と毒性試験を行う必要がある。そして、有毒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い。そこで、正確な魚種鑑別を行うため、筋肉のミトコンドリア16S rRNAの部分配列(615 bp)を解析したところ、一部の個体ではシロサバフグと一致した。シロサバフグは無毒であるが、ここでシロサバフグと判定された個体は卵巣が有毒であった。このことから、本結果は実験的に誤って解析されたものではなく、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可能性が考えられる。

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る。沿岸漁業者や釣り人に対してドクサバフグ食用の禁止を周知徹底させなければならない。

小型巻貝とハコフグの毒性調査および関連の文献検索

1) 小型巻貝の毒性

キンシバイ1個体当たりの総毒力をみると、47個体中30個体で筋肉が内臓よりも1.7~110倍高い値を示した(表6~7)。すなわち、これらの個体では毒の63~99%が筋肉に偏在していたことになる。日本ではこれまでTTXを保有する巻貝はいずれも中腸腺に毒が局在していたが、台湾産マサメダマでは筋肉の毒力(最高毒力720 MU/g)が中腸腺(同12 MU/g)やその他の部位(同28 MU/g)より高く、台湾産キンシバイでは85%の個体で筋肉の毒力が中腸腺より1.7~8.3倍高いことが報告されている。日本産キンシバイの毒蓄積パターンは、これら台湾産巻貝類と酷似していた。一方、今回キンシバイ以外に、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。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。また、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概ね10 MU/gと、キンシバイの毒力と比較して低かった。

2) 小型巻貝の毒成分

LC/MS分析により、橘湾産キンシバイでは総毒力の6~7割、宮野河内湾産では2~6割をTTXが占めることが明らかとなった。日本に生息するハナムシロガイや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。そこで、PSP

を対象としたキンシバイの HPLC 蛍光分析を行ったが、同成分は未検出であった。台湾産キンシバイも毒の主体は TTX であり、PSP 成分は保有しない。一方、橋湾産キンシバイから m/z 336 の LC/MS クロマトグラムにおいて、既報の TTX に対する相対的な溶出位置から、11-oxoTTX ($[M+H]^+=336$) と推定されるピークが検出された。本成分につき、マウスに対する比毒性が TTX の 2 倍で、かつ LC/MS 分析における単位量当たりのイオン強度が TTX と同等と仮定して毒力を算出し、‘当該毒力と TTX の毒力の和’ と ‘公定法で測定された毒力’ の相関について検討したところ、筋肉、内臓ともに極めて良好な正の相関が認められ（相関係数はそれぞれ 0.9073 および 0.9763）、回帰直線はそれぞれ $y=1.060x+75.97$ および $y=0.9664x+176.8$ となった。従って、前述の仮定が正しければ、TTX と 11-oxoTTX ではほぼ 100% 橋湾産キンシバイのマウス毒性を説明できることになる。いずれにしても、この点を明らかにするためには、11-oxoTTX を分離・同定・定量する必要がある。

一方、沖縄本島産有毒巻貝では、総毒力の約 5 割を TTX が占めることが明らかとなった。しかしながら、宮野河内湾産キンシバイと沖縄本島産有毒巻貝の残余毒に関する検討には至らなかった。今後、それら残余毒について精査する必要がある。

3) ハコフグの毒性と溶血活性

中毒検体の粗抽出液は、いずれもマウスに対して遅延性致死活性を示した。その症状ならびに致死時間は TTX あるいは PSP といった麻痺性の毒とは明らかに異なり、パリトキシン (PTX) と類似していた。また、筋肉 2 個体の粗抽出液は、マウス赤血球に対して PTX と同様の遅延性溶血活性を呈した。これらの結果は、ハコフグがアオブダイ同様 PTX 様毒を保有することを示唆するものである。

また、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 件の中毒事例の記録がある。それらの中毒患者のほとんどは、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、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。本研究事業の先行事業 (平成 17 年度~18 年度厚生労働科学研究費補助金「魚介類に含まれる食中毒原因物質の分析法に関する研究」) では、西日本産ハコフグの約 40% が有毒との結果も得られている。従って、今後は本種の毒性に関する本格的な再評価と有毒物質の特定が必要不可欠であると考えられる。

4) ハコフグ中毒患者血清の溶血活性

PTX は濃度 1 ng/ml 以上でマウス赤血球に対して遅延性溶血活性を呈すること、アオブダイなどが保有する PTX 様毒も同様の活性をもつことが知られているが、患者由来の血清はこのような溶血活性を示さなかった。TTX 中毒患者についても、体調や採血時期により血清からの TTX 検出は困難な場合が多い。今回の患者にはアオブダイ中毒に特徴的な激しい筋肉痛、ミオグロビン尿、ならびに血清 CPK 値の著しい上昇がみられており、原因物質が PTX 様毒であった可能性は高い。現行の PTX 検出法 (マウス毒性試験や溶血活性試験、LC/MS などの機器分析法) は、特異性、感受性、検出感度などの面で未だ発展途上の段階にある。今後はこれらの点を大きく改善し、簡便で迅速、かつ高感度な PTX ないし PTX 様毒の検出・定量法を開発することが強く望まれる。

5) 小型巻貝の中毒と毒性に関する文献

台湾では 1994 年から 2006 年に、小型巻貝による食中毒が少なくとも 9 件発生している (患者数は 46 名で、うち 3 名が死亡)。特に、2004 年には、キンシバイによる深刻な事例が発生し、患者 6 名中 2 名が喫食後 30 分で死亡している。関連の調査では、中毒検体と同じ海域で採集したキンシバイから、筋肉で $1,170\pm 557$ MU/g (最高 2,990 MU/g)、中腸腺で 538 ± 608 MU/g (最高 2,050 MU/g) と極めて高い毒力が検出された。台湾では 13 種の巻貝 (ムシロガイ科 9 種、タマガイ科 1 種およびマクライガイ科 3 種) が有毒種とされているが、この中でもキンシバイの毒力は際だって高い。他方、中国大陸でもオオハナムシロなどのムシロガイ科巻貝による食中毒が頻発している。近年では、2001 年に *Z. samiplicutus* により 31 名が中毒しており、中毒検体の可食部から 307 ± 192 MU/g (最高 688 MU/g)、中腸腺から 370 ± 118 MU/g (最高 532 MU/g) の高い毒力が検

出されたと報告されている。

一方、日本では、1979年に発生した肉食性大型巻貝ボウシュウボラによる食中毒を契機として、オオナルトボラ、ハナムシロガイ、アラレガイにTTXの存在が明らかとなった。ハナムシロガイとアラレガイは、キンシバイと同じ腐肉食性の小型巻貝であるが、それらの毒力は低く（それぞれ可食部で3.4 MU/g、4~35 MU/g）、日本での食中毒事例はない。しかしながら、2007年7月に長崎市で、2008年7月には天草市でキンシバイによる食中毒が発生し、前者の中毒検体からは高濃度のTTXが検出された。これまで同地域ではキンシバイの食習慣はなかったものの、近年、その混獲が目立ち、水揚量も多かったことから、自家消費されていたという。今後、キンシバイによる食中毒の未然防止のため、これらの情報を広範囲に周知する必要がある。

6) ハコフグの中毒と毒性に関する文献

1993年から2008年に、ハコフグ類の喫食による食中毒が少なくとも9件発生し、死者1名を含む13名が中毒していることが判明した。平均発症時間は約10時間で、患者13名中12名は共通して血清クレアチンホスホキナーゼ（CPK）値の急激な上昇を伴う横紋筋融解症（激しい筋肉痛）を、半数以上の患者がミオグロビン尿症を呈した。患者11名の回復時間は数週間から数ヶ月で、1名の患者は約2週間後に死亡した。これらの食中毒はいずれも疫学的特徴がアオブダイ中毒と酷似しており、原因物質としてPTX様毒が疑われているが、特定には至っていない。また、9事例中2事例において、原因魚種がハコフグ *Ostracion immaculatus* と同定されている。また、ウミスズメ *Lactoria diaphana* とハマフグ *Kentrocapros aculeatus* も原因魚種となる可能性が示唆されている。ハコフグ類による食中毒は散発的かつ局地的であるが、近年発生頻度は増加傾向にあり、食品衛生上大きな問題に発展することが懸念される。従って、これら食中毒の実態を早急に把握し、原因物質を特定することが急務であろう。

巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度

入手できた肉食性巻貝8種について、マウス致死活性を指標として唾液腺の毒性を検索したところ、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）もの多くに活性が認められた。

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、それ他の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。

エゾボラ属3種（フジイロエゾボラ、ヒメエゾボラおよびエゾボラ）の唾液腺抽出液のマウス致死活性は、加熱によっても変化しなかった。これら巻貝の唾液腺にはテトラミンが高濃度に含まれていたが、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。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、イソニナ、エゾバイ、シライトマキバイおよびモスソガイの唾液腺抽出液の致死活性は、加熱によって完全に失活した。これら巻貝の唾液腺毒は、タンパク質性であると推定される。また、少なくともシライトマキバイおよびモスソガイの2種については、唾液腺のテトラミン含量は非常に低いことも判明した。イソニナを除く3種巻貝は市場に流通しているが、毒成分は易熱性であるので食品衛生上の危険性はないと思われる。

血中テトラミンはLC/ESI-MS法で定量可能になった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。

スギヒラタケキノコ中の毒性成分と培養神経細胞に与える影響

本研究において、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。その結果、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である α -, β -eleostearic acid を単離した。今回の毒性物質検索ではこれ以外に毒性物質は見いだせなかった。しかしながら、この脂肪酸は非常に低濃度で

培養神経およびオリゴデンドロサイトへ細胞をアポトーシス性細胞死へと誘導することが明らかにになった。

また、リノレン酸など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、 α -、 β -eleostearic acid のような共役トリエン型脂肪酸は、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。

神経細胞よりもグリア細胞の一種であるオリゴデンドロサイトの方が低濃度で細胞にダメージが起きることが示唆された。 α -、 β -eleostearic acid の脳内への移行について興味を持たれるが今後検討する必要があると考えられる。

α -、 β -eleostearic acid のスギヒラタケ中の含有量を考慮すると、一個ないしは数個の生のスギヒラタケ中の摂取で α -、 β -eleostearic acid を数 100 μ g 摂取することが考えられ、細胞に障害を与えるのに十分な量であると推定される。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

1) アジサイ属植物の有毒成分

アジサイには青酸配糖体が含まれていると古くから言われていたが、文献調査ではそのような論文が見つからず、疑義を持たれた。2009年、京都薬大の吉川らは、中国四川省産のアジサイから新規青酸配糖体を分離・構造決定したが、これらは京都産のアジサイには含まれず、品種・生育地によって成分変異が大きいとの見解を示している。実際、各地から寄せられたアジサイのシアン検出結果は、陽性・陰性さまざまであった（私信による）。今回の富山で採集したアジサイ属植物 14 種での試験でも、アジサイからはまったく検出されず、エゾアジサイ・ベニガクアジサイ・アマチャのグルコシダーゼ処理抽出液に、少量のシアンが検出された。しかし、これはヒトに被害を及ぼすほどではないと考えられる。アジサイ属植物には、生薬ジョウザン（ジョウザンアジサイ）に含まれる嘔吐性アルカロイド febrifugine が含まれるとの報告があり、これがアジサイ中毒成分との指摘もある。今後、その可能性も含めて、さらに毒性成分を検索していく必要がある。

2) 有毒植物による食中毒調査

今回の調査によって、身近なところでさまざまな植物食中毒が起こっていることがわかった。

アマチャは、アジサイと近縁で、古くから薬用にされ、日本薬局方にも収載されている。アジサイ

イ中毒との関連も考えられるので、注意深く中毒原因を探っていかなければならない。

ジャガイモ・ヒョウタンは、通常安全な食品であることは言うまでもない。しかし、ソラニンやクルビタシンが十分除去されていないと、今回のような中毒を起こすことが知られている。リスクプロファイルなどを通じて、より一層の注意喚起・啓蒙の必要がある。

マムシグサをはじめとするテンナンショウ類は、都市近郊の野山に自生し、その実が熟すとよく目立つ。特に、子供にとっては注意が必要である。

チョウセンアサガオなど、園芸植物にも有毒植物は少なからずあることは、一般にはあまり知られていないようである。また、外国から新しい園芸植物・品種も次々移入されているとも聞く。その調査と啓蒙が今後の課題のひとつと考えられる。

自然毒に関するリスクプロファイルの作成

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。すべての自然毒について統一的な様式でリスクプロファイルを作成することは困難であったが、少なくとも動物性自然毒、キノコ毒、高等植物毒のそれぞれの分野では統一できているので、ホームページにアクセスしてくる読者に混乱を招くことはないと考ええる。

作成したリスクプロファイルは、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、作成者が見落としの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、随時修正していく予定である。

E. 結論

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、フグ科魚類 18 種の毒性試験を行った。ほとんどは表に記載の毒力を超えるものはなかったが、アカメフグ卵巣は「強毒」から「猛毒」へ、カナフグ消化管は「無毒」から「弱毒」へ改められるべきで

ある。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。

2008年に鹿児島県、宮崎県、高知県でそれぞれドクサバフグによるフグ食中毒が発生したが、その後数は少ないものの宮崎県沿岸で漁獲されたシロサバフグの中にドクサバフグが混獲され、その筋肉は「強毒」レベルの毒性を示したことから、日本沿岸でもドクサバフグの出現し、人を中毒させるのに十分な毒力をもつことが明らかになった。

小型巻貝とハコフグの毒性調査および関連の文献検索

腐肉食性小型巻貝キンシバイは中腸腺のみならず筋肉にも「猛毒」に相当するTTXを保有し、食品衛生上極めて危険な種であることが明らかとなった。中国や台湾では、本種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。

一方、ハコフグ中毒は、主症状や原因食品の喫食から発症、回復（もしくは致死）までの時間経過がアオブダイ中毒と酷似しており、原因物質は同中毒同様PTX様毒と推定される。近年、本中毒の発生頻度は増加傾向にあり、原因毒の特定、検出・定量法の確立、ハコフグの毒化状況や毒化機構の把握が急がれる。

巻貝唾液腺のテトラミン含量および中毒患者の血中テトラミン濃度

テトラミン中毒の場合、中毒原因食品が残っていないなく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。

肉食性巻貝の唾液腺には、テトラミンのほかにも種々のタイプの毒成分が存在すると判断された。今後の食中毒の防止のためにも、さらに多くの肉食性巻貝の唾液腺について毒成分を検索するとともに、テトラミン含量を測定する必要がある。

スギヒラタケキノコ中の毒性成分と培養神経細胞に与える影響

スギヒラタケキノコ中の毒性成分の検索を、培養神経およびオリゴデンドロサイト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 α -、 β -eleostearic acidを単

離同定した。これらは、低濃度で細胞死を誘導した。

有毒植物による食中毒に関する調査・研究

アジサイ属植物の有毒成分は、未だ特定には至っていない。幅広い観点から、さらに継続して研究していかなければならない。また、身の回りの身近な野草や園芸植物にも少なからず有毒植物があるとの認識を、広く一般に深めていく必要がある。

自然毒に関するリスクプロファイルの作成

自然毒に関するリスクプロファイル(概要版と詳細版)を作成し、概要版はすでに厚生労働省のホームページに掲載済みであり、詳細版についても掲載に向けて準備中である(平成22年6月に掲載予定である)。自然毒による国民の健康被害を防止するためには、今後、内容の一層の充実を図っていく必要がある。

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) 荒川 修, 野口玉雄: フグ毒による食中毒. 化学療法の領域 24, 92-101 (2008)
- 3) T. Noguchi, O. Arakawa: Tetrodotoxin-distribution and accumulation in aquatic organisms, and cases of human intoxication. Marine Drugs 6, 220-242 (2008)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 谷山茂人, 高谷智裕: 魚類の毒 (2): パリトキシシン様毒. 食品衛生研究, 59 (8), 45-51 (2009)
- 10) 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)
- 11) K. Kondo, A. Watanabe, H. Akiyama, T. Maitani: The metabolisms of agaritine, a mushroom hydrazine in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 46, 854-862 (2008)
- ## 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, 池田光孝, 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) Kondo K, Ohta S, Teshima R. 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)
- 14) 近藤一成, 太田小夜香, 穂山浩, 手島玲子.
(各産地からに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
- 15) 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)
- 16) 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)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし