

都道府県に基づき集計した。

キノコの食毒にかかわる迷信については、都道府県、保健所設置市、特別区（以下、「自治体」という）の食品衛生担当部局（計136か所）を対象にアンケート調査を実施した。

結果と考察

1. 自然毒による食中毒の概要

平成元年～22年の22年間に都道府県より厚生労働省へ報告された食中毒の総数、植物性自然毒および動物性自然毒による食中毒の発生件数の経年変化をFig. 1、各自然毒による食中毒の発生件数の経年変化をFig. 2に示した。過去22年間の自然毒による食中毒は計2,351件であり、食中毒総数に占める自然毒（動物性および植物性）の割合は例年低いものの（4～14%）、動物性および植物性ともに例年必ず報告されていた。フグによる事例は多少の増減はあるがほぼ横ばい、キノコによる事例は年によって大きな増減があり、高等植物による事例はわずかであるが年々増加傾向が見られた。

各自然毒による食中毒の発生件数、発症率および死亡率

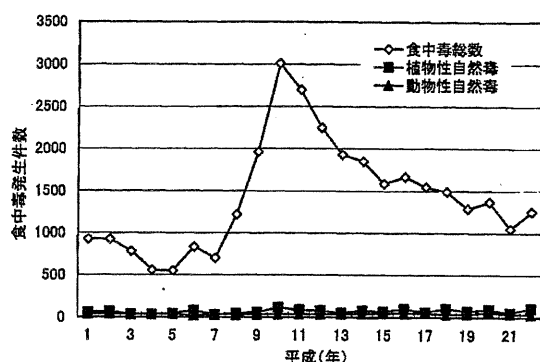


Fig. 1. 平成元年～22年のわが国における食中毒事例の発生件数

をTable 1に示した。発生件数ではキノコが1,172件と最大で、次いでフグおよび高等植物で多くの発生が見られた。発症率ではキノコ、テトラミンおよび高等植物が高く、死亡率ではフグが3.4%と他の自然毒に比べて最も高かった。死者数と病因物質の関係をFig. 3に示した。22年間に報告された食中毒の全死者数144名のうち95名（66%）は自然毒によるものであり、その内訳で多かったのはフグ（56名；59%）およびキノコ（30名；32%）であった。死亡事例の原因施設はFig. 4に示すように、全体的に家庭での発生が多く、フグについてはほかに飲食店（13%）および販売店（9%）の事例もあった。

2. 動物性自然毒

フグによる食中毒事例

わが国では、過去22年間にフグによる食中毒が651件（患者数976名）報告された（Table 1）。月別の発生件数

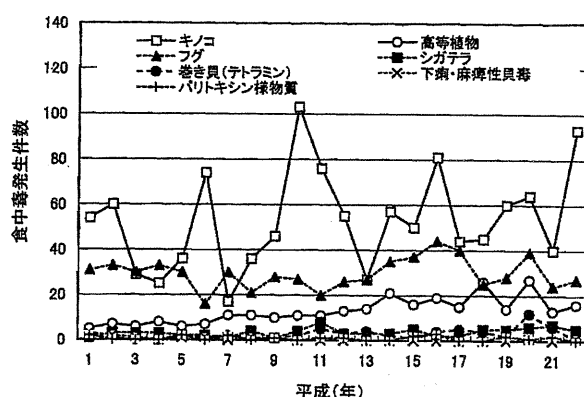


Fig. 2. 平成元年～22年のわが国における各自然毒による食中毒の発生件数の経年変化（実線：植物性自然毒、点線：動物性自然毒）

注：平成18年に発生した白インゲン豆の不適切な調理法による中毒事例は、テレビ放送がダイエット法の1つとして紹介したことが原因とされる特殊事例のため「高等植物」の事例には含めていない。

Table 1. 平成元年～22年のわが国における自然毒による食中毒事例の発生件数、発症率および死亡率

分類	原因	食中毒発生件数 ^{注1}	摂食者数	患者数	発症率(%)	死者数	死亡率(%)
動物性	フグ ^{注2}	651	1,644	976	59.4	56	3.4
	シガテラ	78	493	284	57.6	0	0.0
	テトラミン	60	183	144	78.7	0	0.0
	パリトキシン様物質	19	119	65	54.6	1	0.8
	下痢・麻痺性貝毒	12	136	57	41.9	1	0.7
	その他 ^{注3}	18	96	52	—	0	—
植物性	キノコ	1,172	5,075	4,291	84.6	30	0.6
	高等植物 ^{注4}	287	2,129	1,546	72.6	7	0.3
	その他 ^{注5}	54	134	128	—	0	—

注1 推定事例も含めた。また参考資料で原因が確認できなかった事例は「その他」に無記載として含めた。

注2 パリトキシン様物質が病因物質と推定されたハコフグ科の事例およびテトロドトキシンが原因物質とされたキンシバイの事例は含まない。

注3 発生件数18件の原因内訳は次のとおり。アブラソコムツ1件、イシナギ2件、キンシバイ2件、ナガヅカ1件、ウミガメ1件、無記載11件

注4 平成18年に発生した白インゲン豆の不適切な調理法による中毒事例は、テレビ放送がダイエット法の1つとして紹介したことが原因とされる特殊事例のため「その他」に含めた。

注5 発生件数54件の原因内訳は次のとおり。白インゲン豆30件、無記載24件

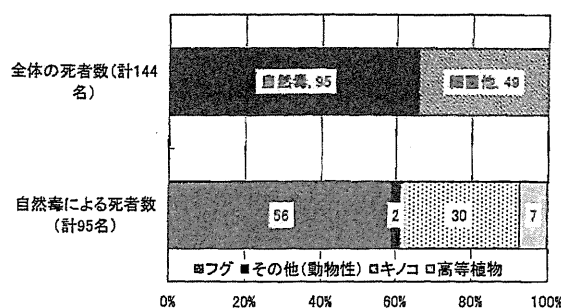


Fig. 3. 平成元年～22年のわが国における食中毒事例の死者数と原因

注:「その他（動物性）」の死亡事例2件の原因内訳は、バリトキシン様物質1件および麻痺性貝毒1件。

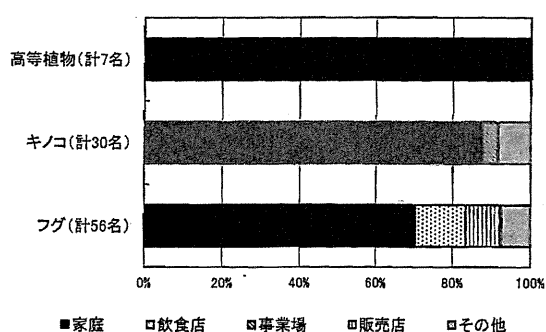


Fig. 4. 平成元年～22年のわが国における自然毒による食中毒死亡事例の原因施設

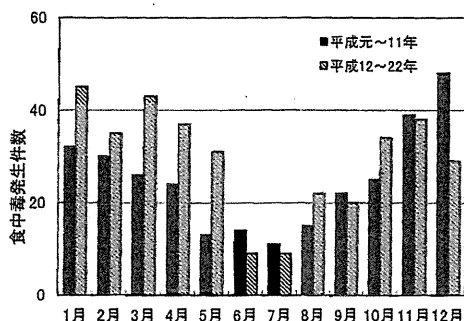


Fig. 5. 平成元年～22年のわが国におけるフグによる食中毒事例の月別の発生件数

を11年ごとに比較したのがFig. 5である。平成元年～11年では7月が最も少なく12月にピークとなった。平成12～22年でも同様に7月が最も発生が少なかったが、ピークは1月で、前の11年間よりも3～5月の発生が多い傾向が見られた。

報告した都道府県等に基づく地域別の発生件数をFig. 6に示した。報告件数が最も多かったのは広島県（71件）で、次いで兵庫県（62件）、山口県（58件）、福岡県（52件）であり、瀬戸内海沿岸に集中していた。

フグによる食中毒の死亡事例はTable 2に示すように22年間で53件報告された。そのうち原因のフグの種類が「不明」と記載されていた事例または無記載の事例は21件あり、原因のフグの種類が記載されていた事例ではコモン

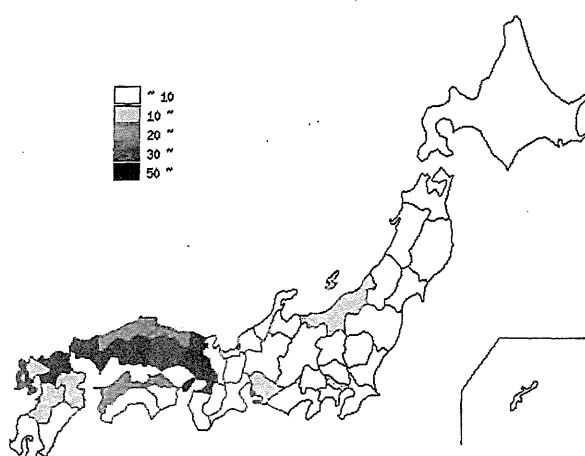


Table 3. 平成元年～22年のわが国におけるフグによる食中毒事例の魚種（ただし計651事例のうち魚種の名前が報告されていたのは318事例（49%））

原因魚種（推定の事例を含む） ^{注1}	発生件数
アカメフグ	2
オキナワフグ	1
カナフグ	1
クサフグ	45
クサフグ, ショウサイフグ	3
クサフグ, トラフグ	1
クサフグ, ヒガンフグ	1
クサフグ又はコモフグ	1
クロサバフグ	1
ゴマフグ	4
コモフグ	59
コモフグ, ショウサイフグ	1
コモフグ, ヒガンフグ	1
コモフグ, ヒガンフグ, マフグ	1
コモフグ又はコモンドマシフグ	1
サバフグ	3
サンカクフグ	1
シマフグ	14
ショウサイフグ	35
ショウサフグ, ナシフグ, ヒガンフグのうち1種	1
シロサバフグ	1
センニンフグ	3
ドクサバフグ	6
トラフグ	38
トラフグ, キンフグ（推定：カナフグ）	1
ナゴヤフグ（標準和名は不明）	3
ナシフグ	8
ナシフグほか	1
ハコフグ ^{注2}	1
ヒガンフグ	38
マフグ	40
モヨウフグ	1
魚種不明	51
無記載	282
計	651

注1 全国食中毒事件録等の参考資料に記載された海洋フグの種類をそのまま記載した。

注2 ハコフグはテトロドトキシンを持たないとされているが、食衛誌、42, J-300（2001）の食中毒事件例において病因物質が「テトロドトキシン（推定）」とされていた。

Table 4. 平成元年～22年のわが国におけるフグによる食中毒事例の原因施設

原因施設	発生件数	%
家庭	453	69.6
飲食店	103	15.8
販売店	48	7.4
事業場	11	1.7
製造所	2	0.3
仕出屋	1	0.2
旅館	1	0.2
その他	24	3.7
不明	8	1.2
計	651	100.0

よる事例は沖縄県および鹿児島県でしか報告されず、他の地域からは報告されていなかった。取り扱いが認められている一部のサバフグ類と外見上よく似ているが筋肉に毒があり魚体すべてが有毒なドクサバフグの生息海域はインド洋、台湾以南の南シナ海および東シナ海など南方の海域とされてきたが、最近では日本沿岸での分布がさらに北上している可能性が懸念されている²⁾。本調査で確認されたドクサバフグによる事例6件のうち3件は鹿児島県、1件は宮崎県、残りの2件は高知県からの報告であった。高知県の事例は県内の須崎市で自ら捕獲したフグの喫食により発生していた。また食中毒の発生件数の月別比較では、トラフグは2月、マフグは1月の発生件数が顕著に多かった。コモフグは6月に発生件数が最低となり、ピークとなる12月へ向けて徐々に増加し4月まで継続的に発生が多い傾向が見られた。

フグによる食中毒事例の原因施設はTable 4に示したとおり家庭が453件（69.6%）と圧倒的に多く、自ら捕獲したあるいは他人から譲り受けたフグによる事例が頻発していることが分かる。次いで飲食店103件（15.8%）と販売店48件（7.4%）が多かった。飲食店ではフグの取り扱い資格がなく知識が十分でない調理者や無登録施設による有毒部位（肝臓や卵巣など）の提供、販売店では素人への丸フグや有毒部位の販売が主な原因となっていた。ほかに、フグの喫食可能部位を間違え、フグの取り扱いに慣れていない飲食店へ客が丸フグを持ち込み無理に調理してもらい、飲食店で客が有毒部位の肝臓の提供を無理強いする、有毒部位でも水煮や加熱、血抜きをすると毒がなくなるといった科学的根拠のない話を調理者が信じていたことなどが原因として報告されていた。

フグの取り扱いについては厚生労働省から通知「フグの衛生確保について」が出されており、食中毒事例が比較的多かったフグのうちトラフグ以外の5種類のフグは皮を、クサフグ、コモフグおよびヒガンフグについては皮に加えて精巣も有毒であるとして食用として認めていない³⁾。

シガテラによる食中毒事例

シガテラによる食中毒は22年間に78件報告された（Table 1）。この発生件数は動物性自然毒の中ではフグに次い

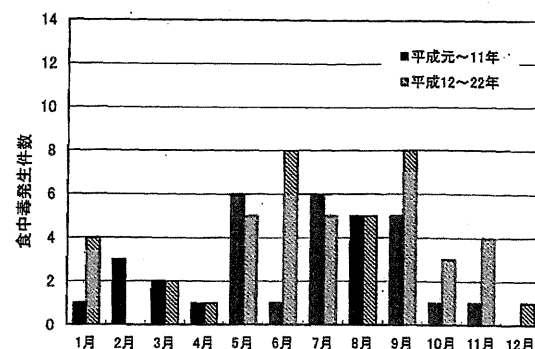


Fig. 7. 平成元年～22年のわが国におけるシガテラによる食中毒事例の月別の発生件数

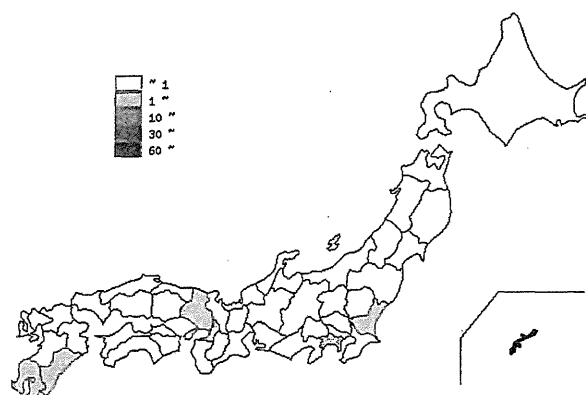


Fig. 8. 平成元年～22年のわが国におけるシガテラによる食中毒事例の地域別の発生件数

で第2位であり、毎年1～8件の範囲で必ず報告されていた。調査期間を11年間で前後に分けて月別の発生件数を比較したところ、調査期間を通じて5～9月に他の月よりも比較的発生が多くなる傾向が認められたが、6月のみは前半の11年間のほうが後半の11年間に比べて極端に発生が少なかった（Fig. 7）。その原因は不明である。地域別の発生件数の比較では、合計78件のうち70件は沖縄県から、次いで3件は鹿児島県から報告されていた（Fig. 8）。沖縄および九州地方以外からは、兵庫県（平成21年）、大阪府（平成19年）、神奈川県（平成13年）および茨城県（平成18年）からそれぞれ1件が報告され、最北の茨城県の事例の原因魚は遠洋延縄漁船が南鳥島沖で捕獲したバラフエダイと推定されていた⁴⁾。神奈川県の事例は沖縄の知人から譲り受けたバラハタ、兵庫県の事例は鹿児島県喜界島近海で患者の1名が釣り上げたイッテンフエダイによる事例であり、いずれも沖縄および九州地方で捕獲された魚による事例であった⁵⁾。一方、大阪府の事例は和歌山県ささみ町で釣り上げたイシガキダイによる事例であり、千葉県からは平成11年に勝浦産イシガキダイによる疑い事例（残品がなく原因物質の特定には至らなかったとして全国食中毒事件録では原因不明として取り扱われてため本報告では集計には入れていない）も報告されるなど、沖縄および九州地方以外の海域での魚の毒化の可能性が懸念される。

魚種別では、バラハタ、イッテンフエダイおよびバラフエダイの事例が多く報告されていた（Table 5）。沖縄県沿岸で捕獲されたシガテラ中毒の主な原因魚について毒化割合を調査した大城らの報告によると、毒化割合が高かったのは順にイッテンフエダイ（32.8%）、アカマダラハタ（20.8%）、バラハタ（14.3%）、バラフエダイ（11.9%）であり、食中毒の事例が多かった魚と毒化割合が高い魚がほぼ一致していることが分かる⁶⁾。

原因施設は家庭が78%を占め、次いで販売店、飲食店が多かった（Table 6）。

シガテラ毒魚については、輸入食品監視指導計画でシガテラ毒魚等の有毒魚（南方産ハタ、ブダイ、カマスなど）

Table 5. 平成元年～22年のわが国におけるシガテラによる食中毒事例の魚種

原因魚種（推定の事例も含む） ^{注1,2}	発生件数
アオノメハタ	1
アカマダラハタ	4
アジの一種（ロウニンアジと推定）	1
アズキハタ	2
イシガキダイ	6
イッテンフエダイ	12
ウツボ	4
オオアオノメアラ	1
オジロバラハタ	2
カンムリブダイ	1
コクハンアラ	1
ゴマウツボ	1
ゴマフエダイ	1
ニセクロホシフエダイ	1
ハギの一種	1
ハタ類	2
バラハタ	16
バラハタ、ヒムフエダイ （バラフエダイの可能性も否定できず）	1
バラフエダイ	11
ホシフエダイ	1
マダラハタ	1
不明/無記載 ^{注3}	7
計	78

注1 全国食中毒事件録等の参考資料に記載された魚種をそのまま記載した。

注2 推定事例も含み合算した。

注3 全国食中毒事件録等の参考資料で「魚種不明」または無記載だった事例。

Table 6. 平成元年～22年のわが国におけるシガテラによる食中毒事例の原因施設

原因施設	発生件数	%
家庭	61	78.2
販売店	6	7.7
飲食店	5	6.4
採取場所	1	1.3
製造所	1	1.3
その他	1	1.3
不明	3	3.8
総計	78	100.0

が混入しないよう指導されているが、厚生労働省の通知（厚生省通知：昭和28年6月22日衛環発第20号）で食品衛生法第6条違反となる対象魚種として販売が禁止されているのはオニカマスのみである。東京都では東京都市場衛生検査所で指導対象魚^{*1}を決めて販売自粛を指導するなど、一部の都道府県では独自に指導を行っているが、食品衛生法第6条第2号に基づいた全国的な一定基準があるわ

*1 東京都市場衛生検査所 百貝万魚 市場の水産物情報 有毒魚 (<http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/itiba/suisanbutu/dokugyo/index.html>)

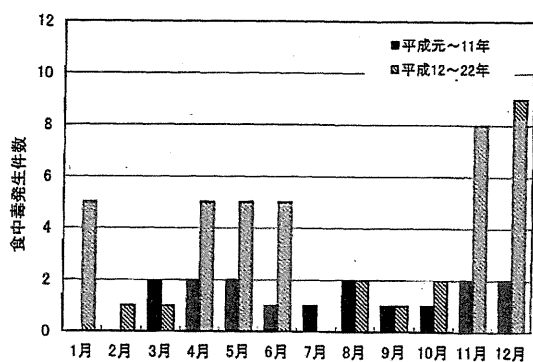


Fig. 9. 平成元年～22年のわが国におけるテトラミンによる食中毒事例の月別の発生件数

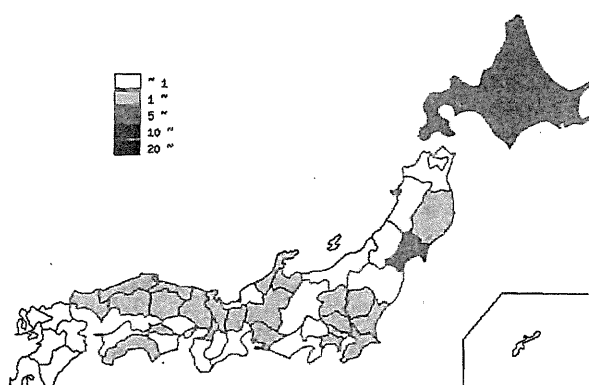


Fig. 10. 平成元年～22年のわが国におけるテトラミンによる食中毒事例の地域別の発生件数

けではない。地球温暖化による海水温上昇に伴う原因プランクトンの生息海域の拡大の可能性を考えると、今後、沖縄以外の地域でも適切な魚種鑑別の知識と能力を有する者による鑑別および有毒魚の排除が必要であり、監視の強化が求められる。

テトラミンによる食中毒事例

テトラミンによる食中毒は過去22年間に60件の報告があるが、死亡事例は報告なかった (Table 1)。Fig. 9のように調査期間を11年間で前後に分けて発生件数を比較したところ、平成20年に12件という例年よりも大規模な発生があったことも影響しているが、前半の11年間よりも後半の11年間のほうが全体的に発生件数は多く、特に11、12、1月で食中毒事例の増加が見られた。

地域別では、北海道 (7件) および宮城県 (6件) が他の地域に比べて比較的多かった (Fig. 10)。テトラミンを含み食中毒の主な原因となる巻貝は寒海に生息するため、食中毒の発生も北海道や東北地方が多かったが、近年は流通の技術向上や地域拡大のために食中毒の発生地が広域化が懸念されている^{7), 8)}。Fig. 10に示したように、発生件数は北海道および東北地方で多く九州地方では報告がないが、関東全域だけでなく西は山口県まで発生が報告されていた。テトラミン食中毒の原因となった主な巻貝は、エゾ

Table 7. 平成元年～22年のわが国におけるテトラミンによる食中毒事例の巻き貝の種類

原因巻貝 (推定事例を含む) ^{注1, 2}	発生件数
アツエゾボラ	1
アヤボラ	1
エゾボラ	2
エゾボラモドキ	23
クリイロエゾボラ	2
チヂミエゾボラ	6
チヂミエゾボラ又はマルエゾボラ	1
チョウセンボラ	2
ヒメエゾボラ	11
スルガバイ	1
その他 (記載名: エゾバイ科, エゾボラ属, ツブ貝, バイ貝, 巻き貝)	10
計	60

注1 全国食中毒事件録等の参考資料に記載された巻貝の種類をそのまま記載した。

注2 推定事例も含み合算した。

Table 8. 平成元年～22年のわが国におけるテトラミンによる食中毒事例の原因施設

原因施設	発生件数	%
家庭	54	90.0
飲食店	3	5.0
販売店	3	5.0
総計	60	100.0

ボラモドキ、ヒメエゾボラおよびチヂミエゾボラといったエゾバイ科エゾボラ属であった (Table 7)。ほかに、フジツガイ科のアヤボラ (平成19年; 岩手県) およびエゾバイ科エゾバイ属のスルガバイ (平成10年; 島根県) の事例が1件ずつ報告された。

テトラミンによる食中毒事例の原因施設は家庭が全体の90%を占めた (Table 8)。テトラミンは巻貝の唾液腺に含まれるので当該部分を除去してから喫食すれば食中毒にはならないが、一般の消費者が唾液腺の除去が必要なことを知らず家庭での発生割合が高くなったと推測された。

バリトキシン様毒による食中毒

全国食中毒事件録等で確認できたバリトキシン様毒による食中毒事例は、過去22年間に19件が報告されていた (Table 1)。月別の発生件数は19件のうち5件が10月、4件が4月の発生であった (Fig. 11)。地域別の発生件数は宮崎県が8件、長崎県が5件で、最北は三重県からの報告であった (Fig. 12)。魚種は、Table 9に示したように全国食中毒事件録等で確認された19件のうちアオブダイが12件で最も多く、ナンヨウブダイの例も魚種の同定についての記録がないためアオブダイの可能性も否定できいとされていた。次いで多かったのはハコフグであった。谷山らの報告によると、ハコフグは長崎県や宮崎県の伝統料

理として従前から食されてきたものの食中毒に関する知見はなかったことから、近年ハコフグによる事例が続発していることを受けて今後の発生の増加が懸念されている⁹⁾。食中毒が続発している原因については、海水温の上昇などの海洋環境の変化、またハコフグ科魚類の毒化への関与が示唆されている *Ostreopsis* 属渦鞭毛藻の分布がこれまで確認されていた南西諸島から本州沿岸へ拡大していることが一因ではないかと言われている^{9),10)}。

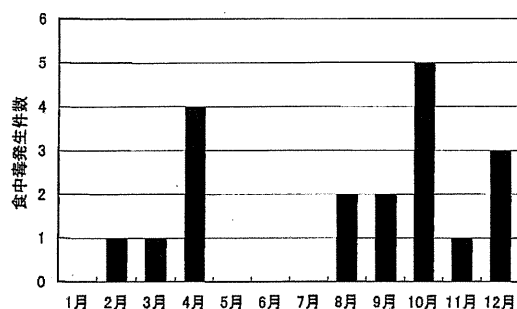


Fig. 11. 平成元年～22年のわが国におけるパリトキシシ様毒による食中毒事例の月別の発生件数

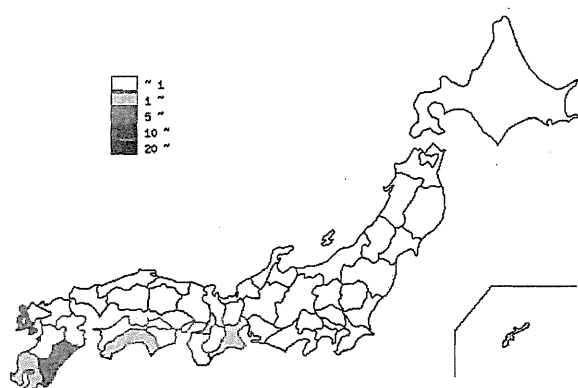


Fig. 12. 平成元年～22年のわが国におけるパリトキシシ様毒による食中毒事例の地域別の発生件数

パリトキシシ様毒による食中毒事例の原因施設では、家庭が最も多く13件、次いで飲食店で3件発生していた (Table 10)。

下痢性または麻痺性貝毒による食中毒

過去22年間に報告された下痢性および麻痺性貝毒を Table 11 に示した。下痢性貝毒は3件、麻痺性貝毒は8件が報告された。ほかに貝毒による食中毒として1件報告されていた。この残り1件の事例は平成2年6月に宮城県産

Table 9. 平成元年～22年のわが国におけるパリトキシシ様毒による食中毒事例の魚種

原因魚類（推定の事例を含む） ^{注1,2}	発生件数
アオブダイ	12
ハコフグ	3
ウミスズメ	1
ナンヨウアオブダイ ^{注3}	1
ハコフグ科 ^{注4}	1
ハタ科	1
総計	19

注1 全国食中毒事件録等の参考資料に記載された魚種をそのまま記載した。

注2 推定事例も含み合算した。

注3 同定についての記録がないため、アオブダイの可能性も否定できないとされている。

注4 谷山ら [食品衛生研究, 59(8), 45-51 2009] によると、ウミスズメ（推定）と報告されている。

Table 10. 平成元年～22年のわが国におけるパリトキシシ様毒による食中毒事例の原因施設

原因施設	発生件数	%
家庭	13	68.4
飲食店	3	15.8
採取場所	1	5.3
販売店	1	5.3
不明	1	5.3
総計	19	100.0

Table 11. 平成元～22年にわが国で発生した下痢性および麻痺性貝毒の食中毒事例

貝毒	平成 (年)	都道府県 ^{注1}	発生月	原因魚介名	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
下痢性	2	宮城県 ^{注2}	6	ホタテガイ	販売店	21	1	0
	5	大阪府	8	ムラサキイガイ	家庭	3	1	0
	6	青森県 ^{注3}	7	ホタテガイ	販売店	8	5	0
麻痺性	1	岩手県	4	ホタテガイ	不明	19	5	0
	1	青森県	7	ムラサキイガイ	家庭	14	6	1
	1	岩手県	4	ムラサキイガイ	不明	5	1	0
	3	北海道	5	ホタテガイ	家庭	18	1	0
	8	宮城県	4	ムラサキイガイ	採取場所	4	2	0
	9	長崎県	3	カキ	家庭	不明	26	0
	20	大阪府	4	ムラサキイガイ	家庭	8	3	0
	22	鳥取県	6	ハボウキガイ	採取場所	4	1	0

注1 全国食中毒事件録において当該食中毒を報告した都道府県。

注2 食中毒の発生場所は千葉県。

注3 食中毒の発生場所は埼玉県。

Table 12. 平成元～22年におけるわが国の動物性自然毒によるまれな食中毒事例

平成(年)	都道府県 ^{注1}	発生月	原因魚介名	原因毒	原因施設	摂食者数	患者数	死者数
2	宮城県 ^{注2}	6	アブラソコムツ	ワックス	製造所	36	11	0
2	福岡県	4	イシナギ	ビタミンA	販売店	4	4	0
19	富山県	2	イシナギ	ビタミンA	飲食店	不明	14	0
15	沖縄県	6	ウミガメ(推定)	不明	家庭	2	1	0
15	北海道	3	ナガツカ	ジノグネリン	家庭	14	4	0
19	長崎県	7	キンシバイ(巻貝)	テトロドトキシン	販売店	2	1	0
20	熊本県	7	キンシバイ(巻貝)	テトロドトキシン	家庭	4	1	0

注1 全国食中毒事件録において当該食中毒を報告した都道府県。

注2 食中毒の発生場所は栃木県。

の出荷自粛規制中のホタテガイによる発生のため、Table 11に示した同時期の事例と同様に下痢性貝毒によると推定されたが、補足資料でも貝毒の種類が確認できなかったためTable 11には加えなかった。

主な発生原因は、出荷自粛規制中の出荷や知人から譲り受けた二枚貝の摂取であった。

貝毒による食中毒対策において今後問題になると考えられるのは、わが国での規制対象外の貝毒による食中毒の発生と試験法である。わが国では麻痺性貝毒と下痢性貝毒の2種類を規制対象とし、公定法としてマウス毒性試験を用いている。しかし国際的な観点からすれば、特異性が低いこと、結果のばらつきが大きいことおよび動物愛護(倫理上の問題)などを理由に、機器分析による代替試験法についての検討が進められている。EUでは他国に先んじて2011年に脂溶性貝毒(オカダ酸群、ベクテノトキシン群、イエットトキシン群、アザスピロ酸群)を測定するための公定法をマウス試験法からマウスを使用しない代替法へ変更しており^{*2}、国際的な動向に基づく、わが国でも貝毒試験の機器分析への移行が今後必要になると考えられる。

その他の動物性自然毒による食中毒

動物性自然毒による食中毒のまれな事例をTable 12に示した。アブラソコムツは筋肉中の脂質として含まれる難消化性のワックスエステル(高級アルコールと脂肪酸のエステル)、イシナギは肝臓に含まれる過剰ビタミンA、ナガツカは魚卵に含まれるジノグネリン、腐肉食性巻貝のキンシバイは筋肉や内臓に含まれるテトロドトキシンが食中毒の原因毒であった¹¹⁾。ウミガメ(推定)の明確な原因については不明とされていた。

動物性ではないが、ほかに海洋性のものとして平成5年にオゴノリを原因食品とする食中毒が横浜市で1件(患者数2名、死者数1名)報告されている。オゴノリが多量に産生したプロスタグランジン類が原因であると推定されていたが、これはあくまで科学的推定であるとして病因物質

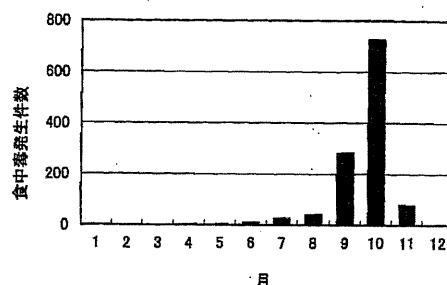


Fig. 13. 平成元年～22年のわが国におけるキノコによる食中毒事例の月別の発生件数

は不明とされていた^{12), 13)}。

3. 植物性自然毒

キノコによる食中毒

キノコによる食中毒事例は、過去22年間に確認できただけでも1,172件(患者数4,291名)が報告されていた(Table 1)。平成16年に秋田県や新潟県でスギヒラタケが原因と推定される急性脳症が多発したが、この事例は原因が確定されず食中毒として取り扱われていないため本研究での集計には含んでいない。

月別の発生件数を比較すると、全発生件数の62%は10月に発生し、9月の発生件数と合算すると、この2か月間で86%が発生していた(Fig. 13)。

地域別の発生件数の比較で多かったのは新潟県の143件であり、次いで福島県の93件、山形県および長野県の91件、北海道の87件であった(Fig. 14)。2010年は例年よりもキノコによる食中毒の発生が多く報告されたが、その中で福島県は19件と全国で最も報告件数が多かった。

原因施設の88%は家庭であり(Table 13)、自らが採取または知人から譲り受けたキノコによる事例が大部分を占めた。販売店を原因施設とする事例が31件あり、直売所等での監視・指導が必要と考えられた。

キノコの種類別の食中毒発生件数および患者数の比較をTable 14に示した。原因となったキノコの種類は推定事例も含み、本研究で参考にした資料での記載と同じように記載した。過去22年間に食中毒発生件数が最も多かったのはツキヨタケで、次いでクサウラベニタケ、カキシメジであった。発生件数および患者数はツキヨタケとクサウラベニタケで全体の半数を超え、この2種類の食中毒の発生

*2 COMMISSION REGULATION (EU) No 15/2011 of 10 January 2011 amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards recognised testing methods for detecting marine biotoxins in live bivalve molluscs (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:006:0003:0006:EN:PDF>)

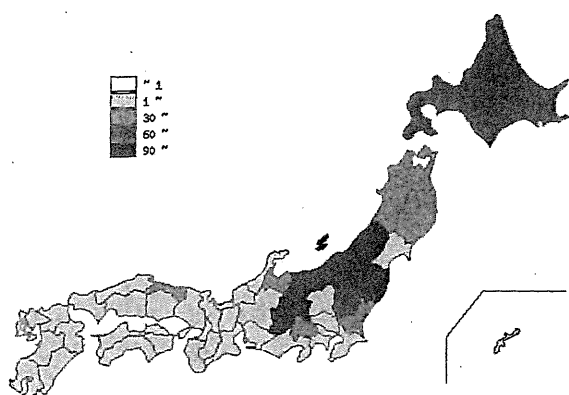


Fig. 14. 平成元年～22年のわが国におけるキノコによる食中毒事例の地域別の発生件数

Table 13. 平成元年～22年のわが国におけるキノコによる食中毒事例の原因施設

原因施設	発生件数	%
家庭	1,036	88.4
事業場	31	2.6
販売店	31	2.6
飲食店	15	1.3
旅館	9	0.8
採取場所	7	0.6
学校	2	0.2
その他	39	3.3
不明	2	0.2
計	1,172	100.0

Table 14. 平成元年～22年のわが国におけるキノコの種類別の食中毒発生件数および患者数

原因植物（推定の事例を含む）	計		原因植物（推定の事例を含む）	計	
	発生件数	患者数		発生件数	患者数
アイセンボンダケ	1	2	スギタケ属の一種	1	1
アセタケ	1	2	タマゴタケモドキ	1	1
イッポンシメジ	19	69	タマゴテングダケ	1	4
イッポンシメジ, クサウラベニタケ	2	10	タマゴテングダケ, ドクツルタケ	1	2
イッポンシメジ科	7	26	タマゴテングダケモドキ類	1	1
イッポンシメジ又はクサウラベニタケ	2	3	チチアワタケ	1	2
イボテングダケ	3	4	ツキヨタケ	393	1,719
ウスキテングダケ	1	1	ツチスギタケ	8	14
ウスムラサキシメジ	1	1	テングタケ	39	60
オオキヌハダトマヤタケ	6	16	テングタケ科	4	8
オオキヌハダトマヤタケ, キヌハダニセトマヤタケ	1	5	ドクカラカサタケ	6	23
オオシビレタケ	3	5	ドクササコ	50	109
オオシロカラカサタケ	14	27	ドクツルタケ	16	52
オオシロカラカサタケ, ドクカラカサタケ	1	2	ドクツルタケ又はシロタマゴテングダケ	1	2
オオワライタケ	6	9	ドクヤマドリタケ, ドクヤマドリ	20	72
オシロイシメジ	1	3	ナカグロモリノカサ	1	3
カエンタケ	4	11	ナラタケ	1	1
カオリツムタケ	2	14	ナラタケモドキ	1	2
カキシメジ	86	347	ニガクリタケ	10	19
カキシメジ, ハナホウキタケ	1	2	ニガクリタケ, カキシメジ	1	3
カブラアセタケ	1	1	ニセクロハツ	3	9
カヤタケ属	12	23	ニセショウロ	2	3
キツチスギタケ	1	1	ネズミシメジ	4	14
クサウラベニタケ	258	1,041	ハイイロシメジ	8	18
クサウラベニタケ, カキシメジ	2	9	ハナホウキタケ	1	2
クサウラベニタケ, 近縁種	1	13	ヒカゲシビレタケ	20	60
クサウラベニタケ, ハナホウキタケ	1	2	ヒメアジロガサタケ	1	2
クロハツモドキ	1	6	ヒメアジロガサモドキ	1	10
コウタケ	1	3	ヒメカタショウロ	1	2
コガネタケ	2	5	フクロツルタケ	1	4
コカブイヌシメジ	1	1	ベニテングタケ	4	8
コクサウラベニタケ	2	5	ホテイシメジ	1	1
コテングタケモドキ	1	3	モリノカレバタケ属	1	4
コレラタケ	2	5	ワライタケ	1	3
シビレタケ	2	8	種類不明/無記載	98	330
シビレタケ属	4	7	総計	1,172	4,291
シロタマゴテングタケ	7	20			
シロタマゴテングダケ, ツルタケダマシ	1	2			
シロテングタケ	2	3			
シロトマヤタケ	1	2			
シロヒメカヤタケ	1	1			

Table 15. 平成元年～22年のわが国におけるキノコによる食中毒の死亡事例

キノコ種類 (推定の事例も含む)	発生件数	死亡者数
ドクツルタケ	9	11
シロタマゴテングタケ	3	4
ニセクロハツ	3	4
カエントケ	2	2
ツキヨタケ	1	2
タマゴタケモドキ	1	1
タマゴテングタケ, ドクツルタケ	1	1
ニガクリタケ	1	1
無記載	3	4
計	24	30

を低減するだけでも対策としては十分に効果があり優先的に進める必要がある。

死亡事例は24件、30名が報告された (Table 15)。原因のキノコはドクツルタケが最も多かった。ドクツルタケの毒成分は強毒性のアマニトキシシンとされるが、ほかのシロタマゴテングタケ、タマゴタケモドキ、タマゴテングタケも同様の毒成分を含んでおり、死亡事例の大部分はこの毒成分を含むキノコによると考えられる。

食中毒発生件数が上位6位のキノコについて、月別および地域別の食中毒の発生件数を比較した (Fig. 15)。月別比較では、ツキヨタケ、カキシメジおよびドクササコは10月の発生件数が特に多く、クサウラベニタケ、テングタケおよびヒカゲシビレタケは9、10月の2か月間にわたり発生していた。地域別では、ツキヨタケおよびドクササコは新潟県、クサウラベニタケおよびカキシメジは福島県および長野県、テングタケは北海道で他の都道府県よりも食中毒報告件数が多い傾向が見られた。ただし、テングタケの食中毒については北海道では主に8、9月に発生しており、クサウラベニタケについては発生件数が多かった地域のうち北海道、青森県および秋田県では主に9月、福島県、山形県および新潟県では9、10月の2か月間、茨城県および長野県を含む関東より西方地域では主に10月に食中毒の発生が集中していた。

キノコによる食中毒の主な原因は、食べられると勘違いして有毒なキノコを自ら採取することである。そのため、過去22年間の食中毒事例について、中毒者が採取しようとしたキノコと食中毒の原因キノコを Table 16 に示した。キノコの鑑別は長年の経験に基づく知識を必要とするが、そのような知識を持つ人が年々減少していると懸念されており、今後のキノコによる中毒の予防対策には、行政機関、研究機関および教育機関の連携に加えて、経験的な知識を持つ人たちが集まる全国各地のキノコ同好会の協力を得ることが必要だと指摘されている¹⁴⁾。

過去のキノコによる食中毒事例の中には、根拠のない言い伝え (迷信) を信じたために食中毒となった事例が報告されている。そのため、キノコについてどのような迷信があるのか全国自治体を対象にアンケート調査を実施した。

キノコについては計208例の回答 (複数回答可) が得られ、「地味な色のキノコは食べられる」、「塩漬けにすれば (毒キノコ) でも食べられる」、「ナスと一緒に料理すれば食べられる」、「虫食い跡のあるキノコは食べられる」といった迷信を挙げた自治体が特に多かった (Table 17)。自治体の中にはすでに迷信についても注意を喚起しているところもあるが、今後は、有毒なキノコの特徴や誤認しやすいキノコの情報に加えて、これら迷信についても科学的な根拠の裏づけがないことを消費者へ広く周知することが望まれる。

高等植物による食中毒

高等植物による食中毒は、過去22年間に287件の発生事例、1,546名の患者が報告されていた (Table 1)。食中毒事例の月別の発生件数を比較すると、発生は年間を通して見られるが、特に新芽が出てくる4、5月に著しい増加が見られた (Fig. 16)。地域別の比較では、287件中30件は北海道、23件は山形県からの報告であった (Fig. 17)。

原因施設は、全体の約74%は家庭、約7%は学校であった (Fig. 18)。家庭で発生する原因は、山菜採りなどに行きつて自ら採取したり、採取した植物を知人から譲り受けたりするケースが多かった。一方、学校で発生した事例の大部分 (82%) はジャガイモによる事例で、ほかにスイセン、タマスダレ、マレインによる事例が報告されていた。

死亡者は、トリカブト、イヌサフランおよびグロリオサによる事例が報告されていた (Table 18)。過去22年間に報告された高等植物による食中毒の原因植物を Table 19 に示した。発生件数ではバイケイソウ類 (バイケイソウ、コバイケイソウ、オオバイケイソウ) が最も多く、次いでチョウセンアサガオ類 (チョウセンアサガオ、キダチチョウセンアサガオ)、トリカブトであった。

食中毒事例の発生件数が上位の高等植物について11年ごとに比較すると、スイセン、ジャガイモ、イヌサフランは先の11年間に比べて後の11年間では増加が見られ、トリカブトおよびハシリドコロでは減少が見られた。

患者数が15名を超える集団食中毒の事例では、学校での授業で収穫および調理されたジャガイモによる事例が最も多かった。ジャガイモによる食中毒事例は平成元年～9年には報告がなく、平成10年以降は平成14および20年を除き毎年報告されていた。つまり、ジャガイモの有害作用については以前から知られていたが、学校でのジャガイモによる食中毒事例は比較的最近になってから報告数が増加している。ジャガイモには、多量に摂取すると中毒を起こすグリコアルカロイドのソラニン類 (α -ソラニンや α -チャコニン) が含まれ、特に光があたった皮、芽の部分または未成熟なものに多い。授業で収穫したジャガイモは十分に注意しないと未熟で小さいものと一緒に収穫したり、収穫後の保管状態が悪い場合もある。山形県衛生研究所の阿彦らは、最近のジャガイモによる食中毒の発生を受けて、教育・食育担当者の自然毒への認識不足を懸念して「学校の授業や食育事業を通じた啓発」が今後必要だと指

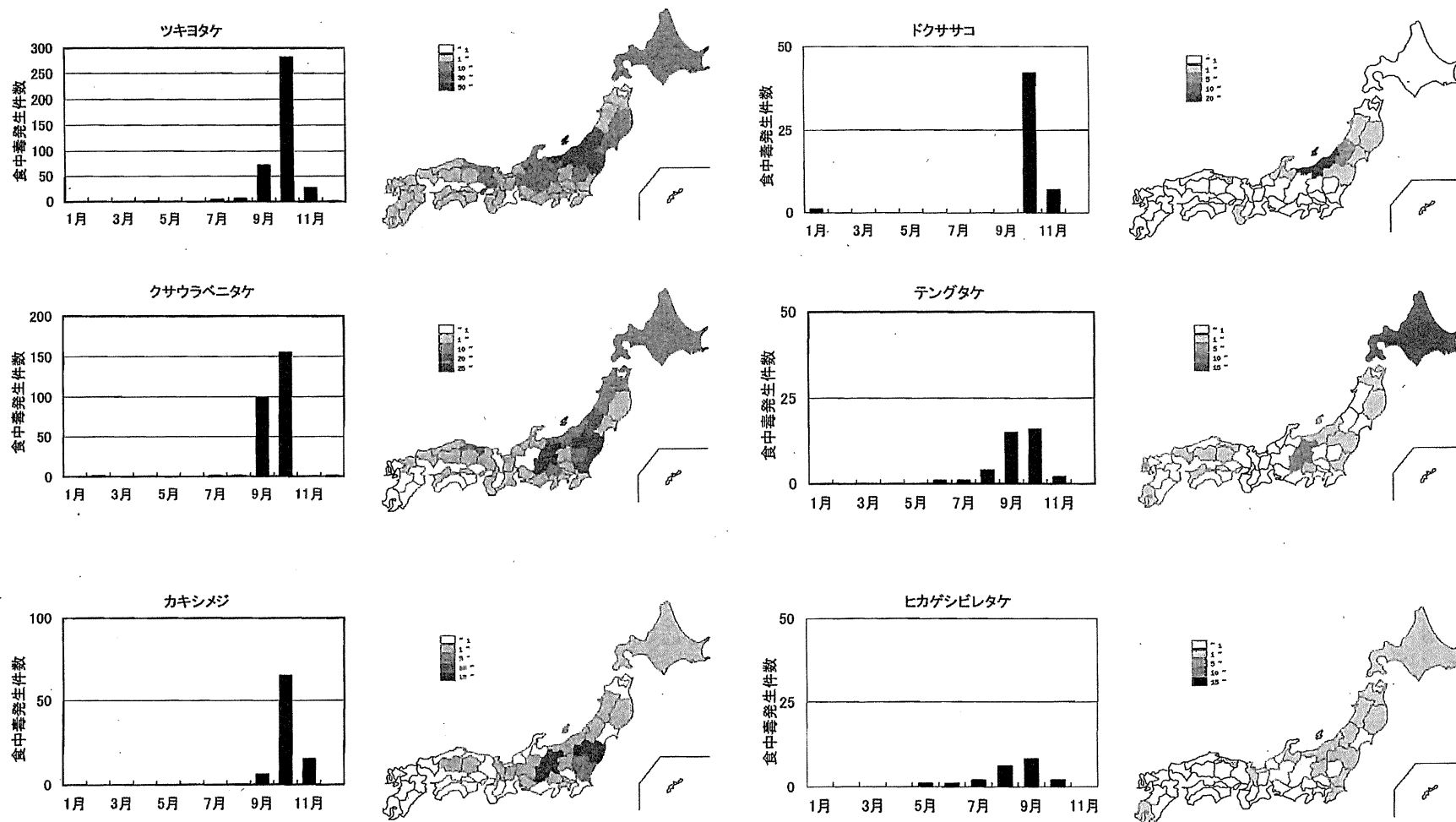


Fig. 15. 平成元年～22年のわが国におけるキノコによる食中毒事例の発生件数上位6位の月別および地域別の発生件数

Table 16. 平成元年～22年のキノコによる食中毒事例において、採取しようとしたキノコと食中毒の原因キノコ（括弧内は事例件数；採取しようとしたキノコが確認できた272事例中）

原因キノコ（推定の事例を含む）	採取しようとしたキノコ
イッポンシメジ	ウラベニホテイシメジ, シメジ
イッポンシメジ科	ウラベニホテイシメジ
オオキヌハダトマヤタケ	ナラタケ
オオシビレタケ	ナラタケ
オオワライタケ	コガネタケ (2), シメジ
カエンタケ	ベニナギナタタケ
カオリツムタケ	ナラタケ, ナラタケモドキ, クリタケ
カキシメジ	クリタケ (2), クリフウセンタケ (4; ニセアブラシメジ含む), シメジ (7), ツチナメコ, ハナイグチ (2), マツタケ, ムラサキシメジ
カヤタケ属	シメジ (2), ナラタケ, ハタケシメジ (2), ムラサキシメジ
キツチスギタケ	スギタケ
クサウラベニタケ	ウラベニホテイシメジ (24), ウラベニホテイシメジ又はサクラシメジ, クロシメジ, シイタケ, シメジ (13), ナラタケ (4), ハタケシメジ (9), ヒラタケ, ホテイシメジ (2), ホンシメジ (7), ミネシメジ
コクサウラベニタケ	ホンシメジ
シロタマゴテングタケ	シロマツタケ, シロマツタケモドキ, スギモダシ
シロテングタケ	サワマツタケ (2)
タマゴテングタケ・ドクツルタケ	ツチスギタケ
ツキヨタケ	キキタケ, シイタケ (38), ナラタケ (4), ヒラタケ (53), プナシメジ, プナハリタケ, ムキタケ (21), ムキタケまたはヒラタケ (2)
テングタケ	カラカサタケ, ガンタケ, シメジ (2), ハツタケ, マツタケ
ドクササコ	シメジ, ナラタケ (13; モタセ含む)
ドクツルタケ	オトメノカサ, シロマツタケモドキ (2), ツルタケ
ドクヤマドリタケ, ドクヤマドリ	ヤマドリタケ (3), ヤマドリタケモドキ (2)
ニガクリタケ	クリタケ (5), ナラタケ
ニガクリタケ, カキシメジ	クリタケ
ニセクロハツ	クロハツ
ネズミシメジ	シモフリシメジ
ハイイロシメジ	シロシメジ (2)
ヒカゲシビレタケ	エノキダケ, ナラタケ (2), ハタケシメジ (2)
ヒメアジロガサタケ	ナラタケ
ヒメアジロガサモドキ	ナラタケ
フクロツルタケ	ツルタケ

摘している¹⁵⁾。

食中毒事例の発生件数が上位の高等植物について、月別および地域別の発生件数を比較した (Fig. 19)。バイケイソウ類、トリカブトおよびスイセンによる食中毒事例は主に4～5月に、チョウセンアサガオ類による食中毒事例は年間を通じて報告されていた。地域別では、バイケイソウ類は東北地方南部から中部地方、トリカブトは北海道から東北地方で食中毒の発生件数が多く、チョウセンアサガオ類およびスイセンによる食中毒は北海道や東北地方で比較的多いものの全国的に発生していた。気候の影響と考えられるが、北海道ではトリカブトによる食中毒が7、8月と比較的遅い時期にも発生し、スイセンによる食中毒の発生は5月に集中していた。一方、スイセンによる11月～2月の発生は関東より西方地域であった。

また採取しようとした植物をTable 20に示した（採取しようとした植物が確認できたのは144事例）。食中毒発生件数が多いバイケイソウおよびコバイケイソウはギボウシ属およびギョウジャニンニクと、チョウセンアサガオは根がゴボウ、つばみがオクラ、種子がゴマおよび葉がモロヘイヤなどと、トリカブトは新芽がニリンソウおよびモミ

ジガサと、スイセンは葉がニラ、球根がタマネギなどと誤認した事例が報告されていた。高等植物による食中毒は季節に応じて注意すべき植物の種類や部位が異なり、注意喚起する内容も季節毎に変化させる方がより効果的な対策になると考えられる。

4. ま と め

過去22年間に報告された自然毒による食中毒事例のデータによると、自然毒による食中毒は例年必ず発生し、22年間を通じて発生件数に減少の傾向は見られない。そのため、今後も自然毒による食中毒の発生を低減するために予防について継続的な取り組みが必要であると考えられる。特に食中毒発生件数および死者数に基づくと、優先的に対策が必要なのはフグとキノコを原因とする食中毒である。さらに近年の傾向として、シガテラおよび高等植物による食中毒の発生件数が少しずつ増加しており、今後継続的に注意していく必要がある。しかも、いずれの自然毒でも食中毒の原因施設の大部分は「家庭」で、その多くは自ら捕獲あるいは採取したものの喫食による発生である。「家庭」での自然毒による食中毒発生を予防するためには、自然毒による健康リスクが高いことや十分な知識を持たず

Table 17. 自然毒食中毒に関連するキノコの迷信

分類	キノコ迷信内容（合計208例：複数回答可）	回答自治体数
色	色が鮮やか（派手、綺麗、毒々しい）なキノコは有毒、地味な色のキノコは食べられる	36
	茶色いきのこは食べられる	1
	ねずみ色のキノコは安全	1
	紫色のキノコは食べられる	1
香り 味	臭いが良ければ食べられる	8
	毒キノコは美味しい	1
	美味しいキノコは食べられる	2
	かじってみて変な（嫌な）味がしないものは大丈夫	2
	苦いキノコには毒がある	1
	ぬめりのあるキノコは食べられる	1
加工・調理	油で炒めて調理すれば食べられる（毒が抜ける）	5
	火を通せば食べられる（毒が抜ける）	2
	干して乾燥すれば食べられる（毒が抜ける）	7
	塩漬けにすれば毒がぬける	29
	（他に、塩漬けにし水洗いすれば食べられる）	
	ナスと一緒に料理（他に煮る、炒める、焼く）すれば食べられる	33
生育場所	キノコ汁に大根おろしを入れると中毒にならない	1
	木（または枯木）に生えているものは食べられる	3
	群生していれば食べられる	1
その他	毒のあるキノコと毒のないキノコはそれぞれ生育場所が決まっている	1
	茎（柄）が縦に裂けるキノコは食べられる	12
	傘の裏がスポンジ状のきのこは食べられる	8
	虫食い跡のあるキノコは食べられる	39
	煮汁に銀のスプーンを入れ黒変したら毒キノコ	8
	しめじの仲間には食べられる	1
	つばがあるキノコは食べられる	2
	野生動物が食べているものは安全	1
	猫に食べさせ中毒しなければ食べられる	1

注1 都道府県、保健所設置市および特別区の食品安全担当者（計136か所）へのアンケート調査において、「自然毒に関連する食品について、ご存知の「根拠のない言い伝え（迷信）」がありましたら、お教えてください」との質問に対する回答である。複数回答可とし、計208例の回答が得られた。

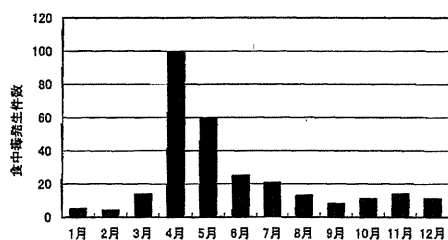


Fig. 16. 平成元年～22年のわが国における高等植物による食中毒事例の月別の発生件数

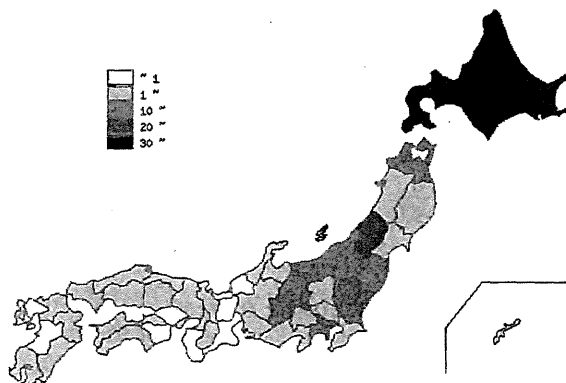


Fig. 17. 平成元年～22年のわが国における高等植物による食中毒事例の地域別の発生件数

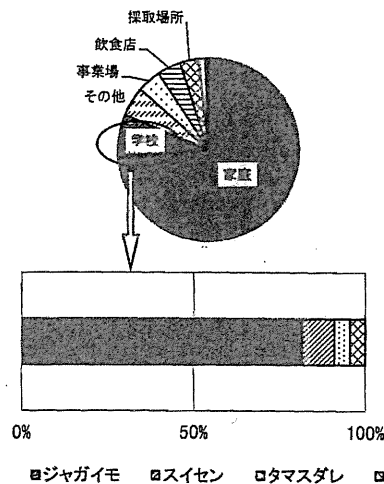


Fig. 18. 平成元年～22年のわが国における高等植物による食中毒事例の原因施設および学校事例の原因内訳

Table 18. 平成元年～22年のわが国における高等植物による食中毒の死亡事例

種類	発生件数	死者数
イヌサフラン	2	2
グロリオサ	2	2
トリカブト	3	3
計	7	7

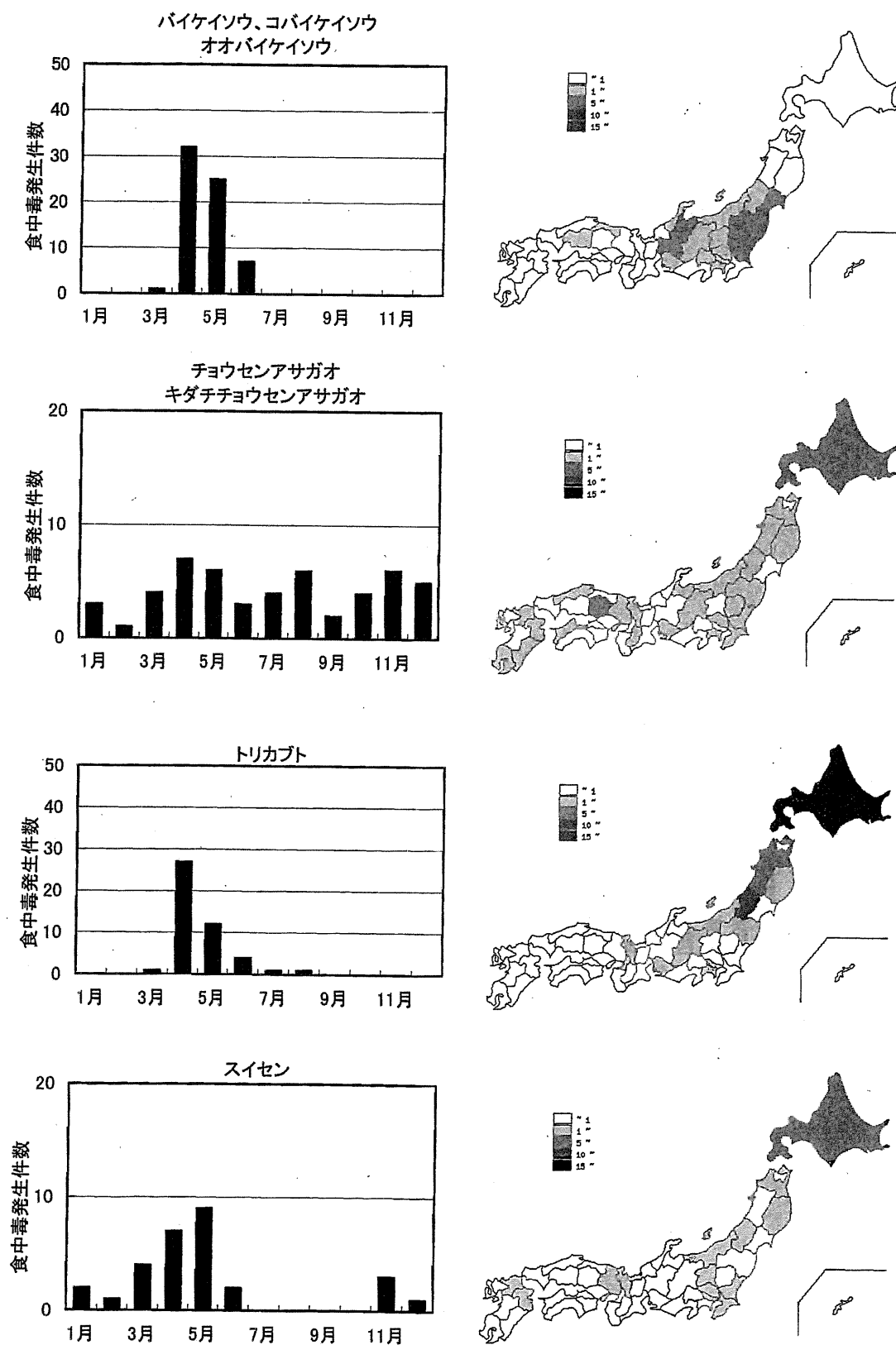


Fig. 19. 平成元年～22年のわが国における高等植物による食中毒事例の発生件数上位の月別および地域別の発生件数

Table 19. 平成元年～22年のわが国の高等植物による食中毒事例の原因植物

原因植物 ^{注1}	発生件数
バイケイソウ・コバイケイソウ・オオバイケイソウ	65
チョウセンアサガオ・キダチチョウセンアサガオ	51
トリカブト	46
スイセン	29
ジャガイモ	18
クワズイモ、ハシリドコロ	14
ヨウシュヤマゴボウ	7
イヌサフラン	6
ドクゼリ、ユウガオ、テンナンショウ類	3
グロリオサ、ジギタリス、シキミの実、ドクニンジン、ヤマゴボウ、アジサイ、アブラギリ、ヒョウタン	2
カラー、カロライナジャスミン、キダチタバコ、キルタンサス、ザゼンソウ、シャクナゲ、シュロソウ、タバコ、タマスダレ、ドクウツギ、マレイン、ヤハズエンドウ	1

注1 原因が確認できた事例（推定事例含む）のみ記載した。ただし、平成18年に発生した白インゲン豆の不適切な調理法による中毒事例は、テレビ放送がダイエツ法の1つとして紹介したことが原因とされる特殊事例のため含めていない。白インゲン豆については、厚生労働省発表では平成18年5月22日の時点で38自治体から158名の患者が報告されたとしている。

Table 20. 平成元年～22年の高等植物による食中毒事例において、採取しようとした植物と食中毒の原因植物（括弧内は事例件数；採取しようとした植物が確認できた144事例中）

原因植物	採取しようとした植物
アブラギリ	クルミ
イヌサフラン	オオアマドコロ、イモ、ギョウジャニンニク、タマネギ
カロライナジャスミン	ジャスミン
キダチタバコ	カラシ（カラシダネ）
グロリオサ	ヤマイモ(2)
クワズイモ	サトイモ茎(2)、ハスイモ
コバイケイソウ	ギボウシ属（オオバギボウシ、ウルイ；11）、ギョウジャニンニク(2)
ザゼンソウ	ウバユリ
シキミの実	シイの実、松の実
スイセン	ニラ(15)、タマネギ、ノビル、べんり菜
チョウセンアサガオ	ゴボウ(17)、オクラ(3)、モロヘイヤ(3)、アシタバ、アマランサス、ゴマ、バジル
テンナンショウ類	タラの芽
ドクウツギ	ヤマモモ
ドクゼリ	ワサビ
ドクニンジン	シャク(2)
トリカブト	ニリンソウ（フクベラ、コモチグサ；12）、モミジガサ（シドケ；9）、アズキナ、ウワバミソウ、ショウガ、フキノトウ、フクベラ、ミツバ、ヨモギ
バイケイソウ	ギボウシ属（オオバギボウシ、ウルイ；24）、ギョウジャニンニク
ハシリドコロ	タラの芽(2)、サワアザミ、ツリガネニンジン、フキノトウ、シオデ、イタドリ、ウド
マレイン	コンフリー
ヨウシュヤマゴボウ	ヤマゴボウ(2)、ヤマイモ、西洋ワサビ、ヤマゴボウ

に自らの判断で摂取することが非常に危険であることについて消費者へ広く啓蒙・広報を行うことが重要と考えられるが、実際は情報を十分に行き届かせる困難さも指摘されている。例えば、平成20年に大阪府と茨城県でアジサイの葉による食中毒が発生し、厚生労働省から注意喚起の通知が出され全国の自治体が注意を呼びかけるとともに、メディアでもニュースとして広く報じられた。しかしながら、公的機関だけでなくメディアを介して広く広報されたとしても、平成23年7月には秋田県で弁当の付け合わせとして入れられたアジサイの葉によって5名が嘔吐などの症状を呈するという食中毒が再発している。これは情報を消費者へ徹底して伝えることがいかに難しいかを示す事例

であった。

消費者への情報伝達の困難さのほかにも自然毒食中毒の対策が抱える問題は多く、例えば熟練した鑑識眼や知識を持つ人が少なくなっていること、汚染が散発的に発生すること、自然毒を含む魚介類の生息地やキノコおよび高等植物の発生地には地域性があり全国一律の対策では不十分になること、原因物質が特定されていないものもあるためモニタリングや検査態勢が十分ではないこと、原因物質が特定されても検査のための標準品の入手が困難なことなどがある。これらの問題は、動物性や植物性に限らず、自然毒全体の問題である。今後はこれらの問題を解決または解決を支援するための研究を進展させるとともに、流通の拡大

に伴いこれまで国内で食中毒が発生していない自然毒への監視, 消費者の知識向上, 消費者への注意喚起などを効果的に行う方法について行政機関, 研究者, 民間団体などが協力的に検討していくことが必要である。

謝 辞

本研究の成果は, 平成22年度厚生労働科学研究費補助金「食品の安全確保推進事業」の一環として実施したものである。また, 食品中の自然毒のリスク管理に関するアンケート調査にご協力いただいた全国の食品衛生担当部局の皆様から感謝申し上げます。

文 献

- 1) 改訂 日本近海産フグ類の鑑別と毒性. 厚生省生活衛生局乳肉衛生課編. 東京, 中央法規出版, 1994.
- 2) Nagashima, Y., Matsumoto, T. Puffer fish toxin. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **59** (7), 43-51 (2009).
- 3) 厚生労働省 (当時, 厚生省) 通知「フグの衛生確保について」. 昭和58年12月2日環乳第59号: 最終改正 平成22年9月10日消食表第326号.
- 4) Ciguatera doku ni yoru shokuchudoku. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **48** (2), J198-J199 (2007).
- 5) Ciguatera doku ni yoru shokuchudoku. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **51** (5), J379-J380 (2010).
- 6) Oshiro, N., Yogi, K., Asato, S., Sasaki, T., Tamanaha, K., Hirama, M., Yasumoto, T., Inafuku, Y. Ciguatera incidence and fish toxicity in Okinawa, Japan. *Toxicon*, **56**, 656-661 (2010).
- 7) Hamano, Y. Current topics and prospects of marine-biotoxins food poisoning. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (Food Hyg. Saf. Sci.), **51**, 302-310 (2010).
- 8) Arakawa, O., Shiomi, K. Marine gastropod toxins: Tetramine and tetrodotoxin. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **60** (2), 15-25 (2010).
- 9) Taniyama, S., Sagara, T., Nishio, S., Kuroki, R., Asakawa, M., Noguchi, T., Yamasaki, S., Takatani, T., Arakawa, O. Survey of food poisoning incidents in Japan due to ingestion of marine boxfish, along with their toxicity. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (Food Hyg. Saf. Sci.), **50**, 270-277 (2009).
- 10) Taniyama, S., Takatani, T. Palytoxin-like toxin. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **59** (8), 45-51 (2009).
- 11) Asakawa, M. Toxins in fish: carp toxin and others. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **59** (9), 35-40 (2009).
- 12) Noguchi, T., Matsui, T., Miyazawa, K., Asakawa, M., Iijima, N., Shida, Y., Fuse, M., Hosaka, Y., Kirigaya, C. Poisoning by the red 'algaogonori' (*Gracilaria verucosa*) on the Nojima coast of Yokohama, Kanagawa prefecture, Japan. *Toxicon*, **32**, 1533-1538 (1994).
- 13) Ogonori ni yoru shokuchudoku. *Shokuhin Eisei Kenkyu* (Food Sanitation Research), **35** (5), 570-571 (1994).
- 14) Yamaura, Y. Mushroom poisoning in Japan—Recent trends and future considerations—. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (Food Hyg. Saf. Sci.), **51**, 319-324 (2010).
- 15) Ahiko, T., Kasahara, Y. Shizendoku shokuchudoku no boushi to kouteki sekinin. *Koshu Eisei* (Journal of Public Health Practice), **73**, 353-356 (2009).

シンポジウム記録 フグ研究とトラフグ生産技術開発の最前線

Ⅲ-1. フグ毒の体内動態

長島裕二

東京海洋大学海洋科学部

III-1. Pharmacokinetics of tetrodotoxin in
tiger puffer fish *Takifugu rubripes*

YUJI NAGASHIMA

Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

はじめに

フグの主な毒化経路は、微生物を毒の起源とする生物濃縮を伴う食物連鎖によると考えられている。給餌飼育実験において、フグ毒テトロドトキシン (TTX) をもたない養殖トラフグとクサフグに TTX 含有餌料を投与すると、TTX は肝臓などに蓄積した。すなわち、フグは経口的に摂取した TTX を腸管で吸収し、血液による運搬を経て、肝臓など特定の組織に蓄積するという一連の体内動態が成立していることになる。そこで、これを検証するため、麻酔下の養殖トラフグに TTX 溶液を単回投与して、同一個体から経時的に採血する *in vivo* 実験モデルを構築し、TTX の体内動態を薬物動態学的に評価した。

1. TTX 単回投与後のトラフグにおける TTX 体内動態解析

トラフグの消化管に TTX 溶液 (0.25 mg TTX/kg 体重) を単回投与すると、投与 3 分後には血中から TTX が検出され、投与 30 分後に血中 TTX 濃度は最大 (0.46 ± 0.10 ng TTX/ μ L) となり、その後漸減した (図 1)。TTX 投与量 0.50 および 1.0 mg TTX/kg 体重でも同様の吸収曲線を示したが、最大血中濃度は投与 150 分後に遅延した (図 1)。各 TTX 投与時の血中 TTX 濃度曲線下面積 (AUC) と肝静脈投与時の AUC から、TTX の経口投与バイオアベイラビリティはそれぞれ 62, 84, 42% と見積もられ、TTX 投与量 0.50 mg/kg 体重以上で消化管における TTX 吸収に飽和が示唆された。また、腸管内に投与された TTX の過半は投与 300 分後に肝臓から検出された。これらの結果から、TTX は消化管で吸収され、血液で運搬され、比較的短時間で肝臓に移行することが定量的に評価された。

次に、TTX 溶液 (0.25 mg TTX/kg 体重) を肝静脈内に単回投与し、組織中 TTX 濃度を測定した。血中 TTX 濃度は経時的に減少し、腎臓および脾臓中 TTX 濃度は血中 TTX 濃度に平行して低下した。筋肉および皮膚では 60 分間の観察中、TTX 濃度に有意な増減は

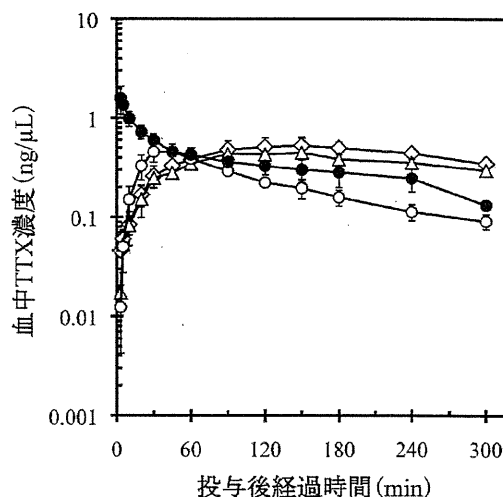


図 1 トラフグ消化管投与後の血中 TTX 濃度変化
○; 消化管投与 0.25 mg TTX/kg 体重, △; 消化管投与 0.50 mg TTX/kg 体重, ◇; 消化管投与 1.0 mg TTX/kg 体重, ●; 肝静脈投与 0.25 mg TTX/kg 体重 ($n=3$, 平均値 $\pm$ 標準誤差)

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 TTX 濃度は、血中 TTX 濃度の減少に反して経時的に増加する傾向を示し、投与 60 分後の肝臓 TTX 量は投与量の $63 \pm 5\%$ を示した。この結果から、TTX 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に分けることができる。①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)、②血中から TTX を濃縮して蓄積する抹消コンパートメント (肝臓)、③血中 TTX 濃度と瞬間的な分布平衡が成立しない抹消コンパートメント (筋肉、皮) である。

2. トラフグ肝臓における TTX 取込みクリアランス

トラフグは TTX を比較的短時間で肝臓へ優先的に蓄積されることが確認されたので、組織への薬物移行効率評価に有効なパラメーターである TTX の肝臓取込みクリアランス (CL_{uptake}) を測定した。積分プロットの傾きから、 CL_{uptake} は 3.1 mL/min/kg 体重と見積もられた。超音波血流計で測定したトラフグ肝門脈の血液流量は 36.0 ± 0.9 mL/min/体重だったので、 CL_{uptake} は血液流量の 9% に相当し、血液流量と肝臓取込みクリアランス CL_{uptake} の比で表される TTX の肝抽出率は著しく低いという予想外の結果を得た。このことから、トラフグ肝臓における TTX の取込み過程は、血液流量には依存せず (血流律速でない)、肝臓の細胞膜透過過程が律速であることが示唆された。



Differential gene expression profile in the liver of the marine puffer fish *Takifugu rubripes* induced by intramuscular administration of tetrodotoxin

Takuya Matsumoto, Shoichiro Ishizaki, Yuji Nagashima*

Department of Food Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, 4-5-7 Konan, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 July 2010

Received in revised form 6 December 2010

Accepted 10 December 2010

Available online 21 December 2010

Keywords:

Tetrodotoxin

Marine puffer fish *Takifugu rubripes*

Suppression subtractive hybridization

Gene expression

Hepcidin

Intramuscular administration

ABSTRACT

Marine puffer fish accumulate a high level of tetrodotoxin (TTX) in the liver and ovary, but the underlying mechanism of this toxification is unclear. To elucidate the genes related to toxification of the marine puffer fish, we examined the hepatic gene expression profile of the marine puffer fish *Takifugu rubripes* by suppression subtractive hybridization in response to the intramuscular administration of 0.50 mg TTX/kg body weight into the caudal muscle. The accumulation of TTX in the liver reached $68 \pm 4\%$ that of the administered dose within 12 h of administration. A total of 1048 clones from the subtracted cDNA libraries were successfully sequenced. The nucleotide sequence of 92 of the 1048 clones was identified as a hepcidin precursor. Reverse transcription-polymerase chain reaction experiments revealed that hepcidin precursors were highly expressed in the TTX-administered group. In addition, complement C3 (31 clones), serotransferrin (30 clones), apolipoprotein A-1 (14 clones), high temperature adaptation protein Wap65-2 (14 clones), complement C7 (12 clones), fibrinogen beta chain (12 clones), and 70 kDa heat-shock protein 4 (11 clones) were obtained. This study confirmed that the intramuscular administration of TTX increases the gene expression of the acute-phase response proteins in the liver of puffer fish *T. rubripes*.

© 2010 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Marine puffer fish of the family Tetraodontidae generally accumulate tetrodotoxin (TTX), which binds with very high affinity to the α -subunit of voltage-gated sodium channels (Nav), at high levels in specific tissues, such as liver, ovary, and skin (Halstead, 1988; Lee and Ruben, 2008). Puffer fish likely do not actually produce TTX, but instead acquire the toxin through the food chain (Yasumoto and Yotsu-Yamashita, 1996; Noguchi and Arakawa, 2008), because cultured puffer fish are non-toxic and non-toxic cultured puffer fish become toxic when fed artificial TTX-containing diets (Matsui et al., 1981; Yamamori et al., 2004; Honda et al., 2005a; Kono et al., 2008).

Marine puffer fish must therefore have special mechanisms to protect their bodies against a large accumulation of TTX and to resist the toxin. Saito et al. (1985) examined the minimum lethal dose (MLD) of TTX in some fish species by injecting fish intraperitoneally with TTX and demonstrated that *Takifugu rubripes*, *Takifugu pardalis*, and *Takifugu niphobles* have the highest resistance to TTX with MLD scores ranging from 3.0 to 7.5 mg TTX/kg body weight, while non-toxic fish, such as largescale blackfish *Girella punctata*, parrot bass *Oplegnathus fasciatus*, and spiny goby *Acanthogobius flavimanus*, are sensitive to TTX with MLD scores ranging from 3 to 42 μ g TTX/kg body weight. The TTX resistance of puffer fish is partly attributable to the insensitivity of Nav to the toxin. Yotsu-Yamashita et al. (2000) reported a substitution of a non-aromatic amino acid (Asn) for an aromatic amino acid (Tyr or Phe) at amino acid 401 in the domain I pore loop regions of skeletal

* Corresponding author. Tel./fax: +81 3 5463 0604.

E-mail address: yujicd@kaiyodai.ac.jp (Y. Nagashima).

muscle Nav_v (fMNav_v1.4a) of *T. pardalis*. A similar mutation of Asn or Cys also occurs in the Nav_v1.4a of *T. rubripes*, *Tetraodon nigroviridis*, and *Arothron nigroviridis* (Jost et al., 2008). Venkatesh et al. (2005) used patch clamp experiments to determine that these mutant channels are approximately 2000-fold less sensitive to TTX than the wild-type channels.

Binding of TTX to biologic components might be associated with the accumulation of TTX in puffer fish, which might also alleviate its toxicity. Kodama et al. (1983) found TTX in a non-toxic high-molecular fraction obtained from the toxic liver of *Takifugu poecilonotus* by RNase T₂ digestion. Nagashima et al. (1993) reported that high molecular-weight substances prepared from the toxic liver of *Takifugu snyderi* release the TTX-related compound when treated with protease or acid hydrolysis. On the other hand, the blood plasma of *T. niphobles* and *T. pardalis* has a unique protein that binds to both TTX and saxitoxin, a paralytic shellfish-poisoning toxin, suggesting the involvement of the protein in toxin-transportation in the circulating blood of puffer fish (Matsui et al., 2000; Yotsu-Yamashita et al., 2001). It is unlikely, however, that the puffer fish saxitoxin- and tetrodotoxin-binding protein (PSTBP) has an important role in the TTX disposition of puffer fish, because our recent study using the equilibrium dialysis method demonstrated that TTX binds non-specifically to plasma proteins, including bovine serum albumin and bovine α -1 acid glycoprotein, with low affinity and TTX exists predominantly in its unbound form in the circulating blood of *T. rubripes* (Matsumoto et al., 2010).

Honda et al. (2005b) examined the immunopotentiating effect of TTX administration on the cultured puffer fish *T. rubripes*. Feeding experiments with TTX-containing diets were performed for 60 days. The blood serum of puffer fish in the toxic diet group exhibited higher hemagglutination activity than that in the non-toxic diet group. Furthermore, the splenocytes from the toxic diet group had significantly higher proliferation rates than those from the non-toxic diet group when stimulated with mitogens such as pokeweed mitogen, concanavalin A, or lipopolysaccharide.

Lee et al. (2007) investigated the genes related to hepatic toxicity by comparing the mRNA expression patterns in the wild marine puffer fish *Takifugu chrysops* and *T. niphobles*, which have different concentrations of TTX in the liver. mRNA arbitrarily-primed RT-PCR provided a cDNA comprising at least three fibrinogen-like protein (*flp*) genes, *flp-1*, *flp-2*, and *flp-3*, from the liver of *T. chrysops* and *T. niphobles* containing high concentrations of TTX, and the relative mRNA levels of these genes showed a linear correlation with the TTX levels in the liver of the two species. In addition, *flp-1* in the liver of *T. niphobles* located in scaffold 628 of the Fugu Genome database, and the amino acid sequence in a C-terminal region of *flp-3* in *T. chrysops* liver had homology with those of proteins homologous to hepcidin precursors of the spotted green puffer fish *Tetraodon nigroviridis*, European sea bass *Dicentrarchus labrax*, mouse, and human. It is unclear, however, whether the transcripts of these genes are involved in the TTX disposition and how they function in the puffer fish body.

In this article, we used genetic engineering procedures to evaluate the biochemical significance of the accumulation of

TTX in the body of puffer fish, and examined the hepatic gene expression profile of the marine puffer fish *T. rubripes* using suppression subtractive hybridization (SSH) in response to intramuscular administration of TTX into the caudal muscle.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Marine puffer fish *T. rubripes* (approximately 1 kg body weight) were obtained live from the Tokyo central wholesale fish market and transported to our laboratory. TTX for the administration was purified from the ovaries of *T. pardalis* by a combination of ultrafiltration and a series of column chromatographic separations, as reported previously (Matsumoto et al., 2007). Crystalline TTX (Wako Pure Chemicals Industries, Osaka, Japan) was used as a standard for the liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry (LC/ESI-MS) analysis. All other chemicals were reagent grade.

2.2. Time-course of the blood concentration of TTX after intramuscular administration

We examined the effect of intramuscular administration of TTX into the caudal muscle of puffer fish. Prior to a single injection of TTX, the puffer fish *T. rubripes* specimen was anesthetized with the artificial seawater containing 0.03% 2-phenoxyethanol and placed on the experimental workbench. Breathing of the fish was maintained by gill ventilation using the perfusion technique with artificial seawater at 20 °C. After the fish was laparotomized, the hepatic vein was cannulated with a PE50 polyethylene tube (Clay Adams, Parsippany, NJ) for blood collection. TTX solution (0.50 mg TTX/500 μ L/kg body weight) was prepared with modified Hank's balanced salt solution (pH 7.4), and administered in a single injection into the caudal muscle using a 1-mL disposable syringe (Terumo, Tokyo, Japan). Blood samples were obtained from the hepatic vein cannula at various time points after the injection. TTX was extracted from the blood sample with methanol/acetic acid and purified by ultrafiltration (MWCO 5000). TTX in the liver tissue sample was extracted with 0.1% acetic acid by heating in a boiling water bath for 10 min after ultrasonication for 1 min following the standard assay procedures for TTX (Kodama and Sato, 2005). TTX quantitation was performed by LC/ESI-MS analysis according to the previously reported method (Matsumoto et al., 2008).

2.3. Treatment of puffer fish and RNA preparation

Three puffer fish (1.04 ± 0.04 kg body weight) of the TTX-administration group were given an intramuscular injection of 0.50 mg TTX/500 μ L/kg body weight into the caudal muscle and maintained in a tank of 100 L artificial seawater for 12 h at 20 °C. At 12 h after the administration, the fish were anesthetized in ice-chilled seawater and dissected. The liver was cut into 5-mm pieces, immediately frozen in liquid nitrogen, and stored at -80 °C until use. For the control group, three puffer fish (1.04 ± 0.07 kg body

weight) were given an intramuscular injection of buffer (500 µL/kg body weight) that did not contain TTX, and the liver samples were prepared as described above. Total RNA was extracted from the puffer fish liver of each group. Briefly, 1 g of liver was homogenized with 20 mL of ISOGEN reagent (Nippon Gene, Tokyo, Japan) and the total RNA was extracted following the manufacturer's instructions. mRNA was purified from the total RNA using an Oligotex™-dT30 < Super > mRNA Purification kit (TaKaRa Bio, Shiga, Japan).

2.4. Construction of subtracted cDNA library and cDNA cloning

Aliquots (1 µg) of the mRNAs from the TTX-administered group (tester) and the non-TTX-administered group (driver) were applied to a Clontech PCR-Select™ cDNA subtraction kit (Clontech Laboratories, Mountain View, CA). The subtracted cDNAs, enriched in over-expressed genes from the TTX-administered group, were amplified by PCR using Advantage® cDNA PCR kit (Clontech Laboratories), and the amplified products were checked by agarose gel electrophoresis. The nested PCR products of the subtracted cDNA library were purified using ChargeSwitch®-Pro PCR Clean-up kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) and subcloned into pT7Blue T-Vector (Novagen, Madison, WI) using *Escherichia coli* strain JM109 as the competent cell. Plasmid DNAs were prepared using the illustra plasmidPrep Mini Spin kit (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). Sequencing was performed using a BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA) with the forward primer R-20mer primer (5'-ATGACCATGATTACGCCAAG-3') and the reverse primer U-19mer primer (5'-GTTTTCCAGTCACGACGT-3'), ABI Veriti® 200 thermal cycler (Applied Biosystems), and ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The nucleotide sequences were analyzed for similarity with the fourth Fugu genome assembly (<http://www.fugu-sg.org/>), Ensemble Fugu genome browser (http://www.ensembl.org/Takifugu_rubripes/Info/Index), and the other animals by nucleotide BLAST search (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

2.5. Reverse transcription (RT)-PCR

Differences in the expression of hepcidin precursors between the livers of the TTX-administered group and non-TTX-administered group were evaluated by RT-PCR. First-strand cDNAs were synthesized with oligo-dT primers from 6 µg of total RNA using a PrimeScript® II High Fidelity RT-PCR kit (TaKaRa Bio) following the manufacturer's protocol. The first-strand cDNAs were combined from three

TTX-administered fish as testers and three non-TTX-administered fish as drivers. The sequences of specific primers for the hepcidin precursor (hepcidin A) located in scaffolds 145, 456, 511, 3526, 5143, and 8479, hepcidin precursor (hepcidin B) located in scaffold 35, and β-actin (GenBank No. U37499) are listed in Table 1. PCR was performed in a 20-µL reaction mixture containing 1 µL of the cDNA template, 0.2 µM forward and reverse specific primers, 1× Ex Taq buffer (TaKaRa Bio), 200 µM dNTP mixture, and 0.5 U TaKaRa Ex Taq DNA polymerase (TaKaRa Bio). The reaction was performed for 20 cycles at 98 °C for 10 s, 58 °C for 15 s, and 72 °C for 1 min. RT-PCR products were separated by electrophoresis on a 2.0% agarose gel and stained with SYBR Safe (Invitrogen).

2.6. Statistics

Data are expressed as mean ± standard error (SE), and Students' *t*-test was used to analyze the significance of differences among the means at the 5% significance level.

3. Results

The puffer fish *T. rubripes* used in this study initially contained no detectable amounts of TTX (<0.01 ng TTX/µL blood and <10 ng TTX/g liver).

3.1. Time-course of the TTX blood concentration after intramuscular administration

Prior to the SSH study, we investigated the time-course of the blood concentration of TTX after an intramuscular administration of 0.50 mg TTX/500 µL/kg body weight into the caudal muscle of a puffer fish (Fig. 1). The blood levels of TTX were detectable (0.07 ng TTX/µL) at 10 min after the administration, and sharply increased to 1.52 ng TTX/µL at 90 min and thereafter gradually decreased to 0.27 ng TTX/µL at 600 min after the administration. The amount of TTX in the liver accounted for 44% of the administered dose within 600 min of administration. The result demonstrated that caudal intramuscular administration produces relatively high blood levels of TTX for at least 10 h. Based on these data, we set the dosing condition of TTX for the SSH study as described in the *Materials and methods* section.

3.2. Cloning of the subtracted cDNA library

The hematocrit level of the TTX-administered group (28 ± 2%) was not significantly different from that of the control group (27 ± 1%; *p* > 0.05). The accumulation of TTX

Table 1
Oligonucleotide primers used for RT-PCR analysis.

Gene	Location	Oligonucleotide sequence	Amplicon (bp)
Hepcidin precursor A	Scaffolds 145, 456, 511, 3526, 5143 and 8479	5'-GGAACCACTTGAGCAGTTC-3' 5'-ATCAGAACCTGCAGCAGACAC-3'	300
Hepcidin precursor B	Scaffold 35	5'-CTGGTCTGACACCCATGAGA-3' 5'-GCGACAGGACTCCTCAGAAC-3'	373
β-Actin	GenBank No. U37499	5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3' 5'-GCTGGAAGGTGGACAGAGAG-3'	348

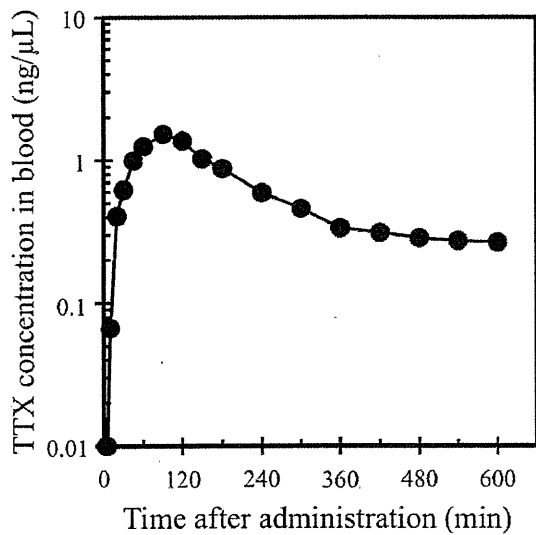


Fig. 1. Time-course of the blood concentration of TTX in *Takifugu rubripes* after the intramuscular administration of TTX solution (0.50 mg TTX/500 μ L/kg body weight) into the caudal muscle. Each point represents the value of an experiment performed in triplicate measurement.

in the liver reached $68 \pm 4\%$ that of the administered dose within 12 h of administration.

To identify the differentially expressed genes in the liver of the marine puffer fish *T. rubripes* in response to intramuscularly administered TTX, a subtracted cDNA library was constructed. The amount of total RNA extracted from the liver of the TTX-administered group was 1159 ± 48 μ g/g liver, while that of the control group was 1534 ± 169 μ g/g liver. The amount of total RNA was not significantly different between the two groups ($p > 0.05$). An SSH study was performed with mRNAs from the livers of the TTX-administered group as the tester sample, and those of the control group as the driver sample. There was a clear difference in the expression pattern between subtracted and unsubtracted cDNAs based on nested suppression PCR (Fig. 2).

In this study, 1136 bacterial clones were isolated, 1048 of which were successfully sequenced and each contained insert cDNA located in the fourth Fugu genome database. The major clones are summarized in Table 2. The greatest number of clones were hepcidin precursors (92 clones), and 75 of these 92 clones were located in scaffolds 145, 456, 511, 3526, 5143, and 8479, and the other clones were located in scaffold 35 in the Fugu genome database. These clones had strong homology with hepcidin precursors of marine puffer fish *Takifugu obscurus* (Accession No. EU178862) and large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* (Accession No. AM748024), and with the hepcidin-like precursor of red seabream *Pagrus major* (Accession No. AY557619). Analysis of hepcidin precursor expression by RT-PCR indicated that the levels of hepcidin precursor amplification products were relatively higher in the tester samples (Fig. 3). The second greatest number of clones corresponded to complement C3 (31 clones) located in scaffolds 26, 189, 194, 206, 364, 2218, 3729, and 3840 in the Fugu genome database. Other complement components, 4 clones of C1r (Scaffold 205), 6 clones of C4 (Scaffold 48), 4 clones of C5 (Scaffold 114), 1 clone of C6 (Scaffold 128), 12

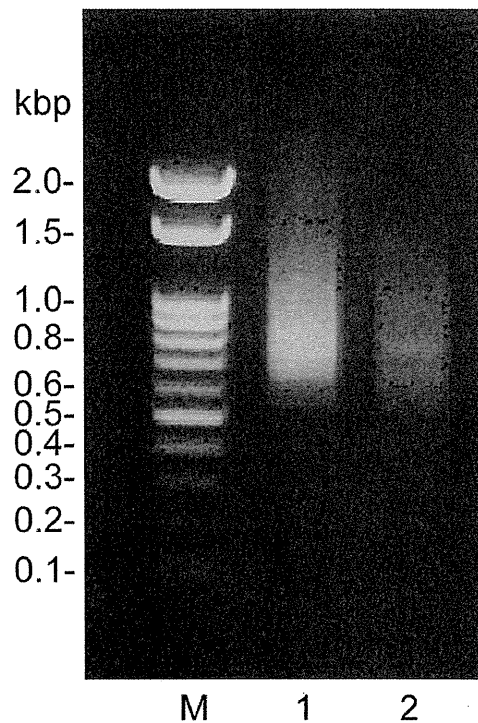


Fig. 2. Confirmation of the subtraction efficiency by suppression PCR of the subtracted and unsubtracted cDNA pools. Nested PCR was performed on the subtracted or unsubtracted primary PCR products with the nested PCR primers included in the kit. PCR products were separated by electrophoresis on a 2.0% agarose gel and stained with SYBR Safe. Lane M: marker; lane 1: nested PCR products of the unsubtracted cDNAs; lane 2: nested PCR products of subtracted cDNAs.

clones of C7 (Scaffold 128), 1 clone of C8 (Scaffold 367), and 4 clones of C9 (Scaffolds 49 and 65) were also observed. The third highest number of clones related to serotransferrin (30 clones) and located in scaffolds 334 and 417.

The clones obtained from the subtracted cDNA library were assigned to seven major biologic functions of the putative translated proteins based on their sequence identities with the gene ontology database (<http://www.geneontology.org/>) and the fourth Fugu genome database (Fig. 4). All of the clones were located in the Fugu genome database, except 33.9% of the clones had no gene ontology information in the database (Fig. 4). This classification of gene function shows that 15.7% of the clones were associated with the immune response, including the hepcidin precursors and complement components. Genes involved in metabolism constituted 13.7% of the clones, in which the breakdown was as follows: single clone (80 sets), pair of clones (34 sets), trio clones (21 sets), and quartet clones (2 sets). The third most common category comprised genes involved in transcription and translation, such as ribosomal proteins and transcription factors, and constituted 11.0% of the clones. Genes involved in transport and binding, such as serotransferrin and apolipoprotein A-I, constituted 10.7% of the clones. Only two clones located in scaffolds 533 and 3348 had a strong homology with the *T. pardalis* PSTBP1 mRNA (Accession No. AB055707). Genes involved in signal transduction, including hormones, regulator proteins, and signaling cascade proteins, constituted 10.4% of the clones.