

グラジエント : 78% B (0 min) → 88% B
(10 min) → 88% B (14 min)
流速 : 0.4 mL/min
試験液注入量 : 5 µL
イオン源 : ESI + Agilent Jet Stream、
Positive
ドライガス : 300°C、10 L/min
ネブライザー : 50 psi
シーガス : 400°C、11 L/min
キャピラリー電圧 : 5000 V
ノズル電圧 : 1000 V
フラグメンター電圧 : 350 V
コリジョンエネルギー : (CTXs) 40 eV、
(gambierol) 24 eV、(GAs) 65 eV
MRMトランジション : [M + Na]⁺ → [M +
Na]⁺
検出下限値 : 0.25 pg
定量下限値 : 1 pg

標準品は現有するシガトキシン類13成分
および関連成分のガンビエロール、ガンビ
エル酸A、Bを適宜調整し使用した。(図1
～3)

C. 研究結果

有毒率あるいは毒量が高いとされる大型
個体を中心に、以下のとおり蒐集した。

- ・バラフエダイ 18個体 (118.1 kg)
- ・バラハタ 13個体 (33.9 kg)
- ・アカマダラハタ 6個体 (70.5 kg)
- ・コクハンアラ 5個体 (41.4 kg)
- ・その他 12個体 (70.5 kg)

全魚種総個体数54個体、総重量334.4 kgの

シガテラ毒魚を入手した。

蒐集した魚のうち45個体について、筋肉
部位各5 gからCTXsを抽出・簡易精製し、
LC-MS/MSによる分析を行った。その結果、
CTXsが検出されたシガテラ魚は40個体中
37個体 (92.5%) であった。魚種別では、
バラフエダイでは14個体中13個体
(92.9%) にCTXsを検出した。また、バラ
ハタ 13個体中12個体 (92.3%)、アカマ
ダラハタ 6個体中6個体 (100%)、コクハ
ンアラ 5個体中5個体 (100%)、およびイ
ッテンフエダイ1個体からそれぞれCTXs
を検出した。いずれも沖縄産シガテラ魚の
主要成分⁵⁾であるCTX1B、
52-*epi*-54-deoxyCTX1B、54-deoxyCTX1B
を確認した(図5)。表1～4に各魚種の
毒含量測定結果を示す。

また、毒性が不明なクロホシフエダイに
ついては、5個体すべてでCTXsは検出下限
値未満であった。

D. 考察

シガテラの原因毒であるシガトキシン類
は食物連鎖により魚体内に蓄積されるため、
魚種、個体、地域などで毒の有無が大きく
異なる^{1), 2)}。今回蒐集対象としたシガテラ魚
は大型個体を中心としたが、そのほとんどの
個体がCTXsを蓄積していることが明らか
となった。

マウス毒性試験法⁶⁾は現行の公定法に準
ずる試験法で、陽性 (0.025 MU/g以上) は
食用不適となる。CTX1Bは7 ng/MUである
ので^{1), 2)}、今回の結果はCTX1Bに関してみ
ると、バラフエダイでは少なくとも8個体

(57.1%) にマウス毒性試験で陽性に達する毒量が含まれていることになる。また、バラハタ、アカマダラハタでは、それぞれ8個体(61.5%)、4個体(66.7%)にマウス毒性試験で陽性を示すと推定される量のCTX1Bを認めた。これらシガテラ魚種の特徴に大型個体は、高率で健康被害をもたらす可能性が推定される。一方、コクハンアラについては、他の魚種とは異なりCTX1B含量が少なく、54-deoxyCTX1Bを主成分としている。しかし、54-deoxyCTX1Bの毒性の詳細は不明であり、現有する標準品も僅かであるため、今後、標準毒の確保と毒性評価が必要な成分である。

イッテンフエダイはシガテラの原因食となっていることが多く、また、これまでの沖縄産試料の研究では有毒率および毒性が高いことが示されている^{3),4)}。今回蒐集した魚の中に、イッテンフエダイに外部形態がよく似るクロホシフエダイ5個体が含まれていた。クロホシフエダイについては、シガテラの原因となるか不明である。今回のCTXs分析結果は、いずれの個体もCTXsは検出下限値未満であり、他の魚種に比べるとシガテラの原因となる可能性は低いことが示唆されるが、今後も調査が必要であろう。食品の安全性確保のためには、このようにシガテラが疑われる魚種などについても毒保有状況を把握していくことが重要である。また、CTXs分析に併せて魚種の同定も重要な課題になってくるであろう。

一方で、今回の毒組成および毒含量の分析結果は、CTXs標準試料作製の基礎資料となり、有毒個体出現率の高さから、原料を効率的に蒐集できたといえる。

E. 結論

沖縄沿岸で漁獲されたシガテラ魚の毒組成および毒含量を明らかにした。主要シガテラ魚種の大型個体では、そのほとんどにCTXsが蓄積されており、健康被害をもたらす毒量を持つ個体もあった。魚種によって含有するCTXs成分比率が異なることから、54-deoxyCTX1Bなど毒性評価が必要な成分も今後の課題となった。また、CTXs分析と併せて魚種同定の重要性も再確認した。

一方、シガテラ魚の蒐集に際し魚種・サイズを限定したことで、CTXs標準毒混合試料を作製するための原材料を効率よく確保することが出来た。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 與儀健太郎, 大城直雅, 佐久川さつき, 平間正博, 安元健. 「標準毒の作出・使用による国内シガテラ魚の精密分析と魚種・地域特性の解明」第53回天然有機化合物討論会講演要旨集 pp.445-450 (2011)

2. 学会発表

- 1) 佐久川さつき, 與儀健太郎, 大城直雅, 池原強, 玉那覇康二, 平間正博, 安元健 「LC-MS/MSによるシガトキシン類の分析とシガテラ魚の毒組成について」 第102回日本食品衛生学会 2011.9.30 (秋田)

2) 與儀健太郎、池原強、佐久川さつき、
大城直雅、平間正博、安元健 「沖縄産
シガテラ魚の毒組成と標準試料作製の
検討」平成24年度日本水産学会春季
大会 2012.3.29 (東京)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

(参考文献)

- 1) Yasumoto, T. Chemistry, etiology, and food chain dynamics of marine toxins. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B*, 2005, 81, 43–51.
- 2) Yasumoto, T. The chemistry and biological function of natural marine toxins. *Chem. Rec.* 2001, 1, 228–242.
- 3) Oshiro, N.; Yogi, K.; Asato, S.; Sasaki, T.; Tamanaha, K.; Hiramata, M.; Yasumoto, T.; Inafuku, Y. Ciguatera incidence and fish toxicity in Okinawa, Japan. *Toxicon* 2010, 56, 656–661.

4) 大城直雅. 魚類の毒 (4) : シガテラ毒.
食品衛生研究, 2010, 60, 37–45.

5) Yogi, K.; Oshiro, N.; Inafuku, Y.; Hiramata, M.; Yasumoto, T. Detailed LC-MS/MS analysis of ciguatoxins revealing distinct regional and species characteristics in fish and causative alga from the Pacific. *Anal. Chem.* 2011, 83, 8886–8891.

6) 佐竹真幸. “シガテラ”. 食品衛生検査指針理化学編. 厚生労働省監修. 東京, (社)日本食品衛生協会, 2005, pp. 691–695.

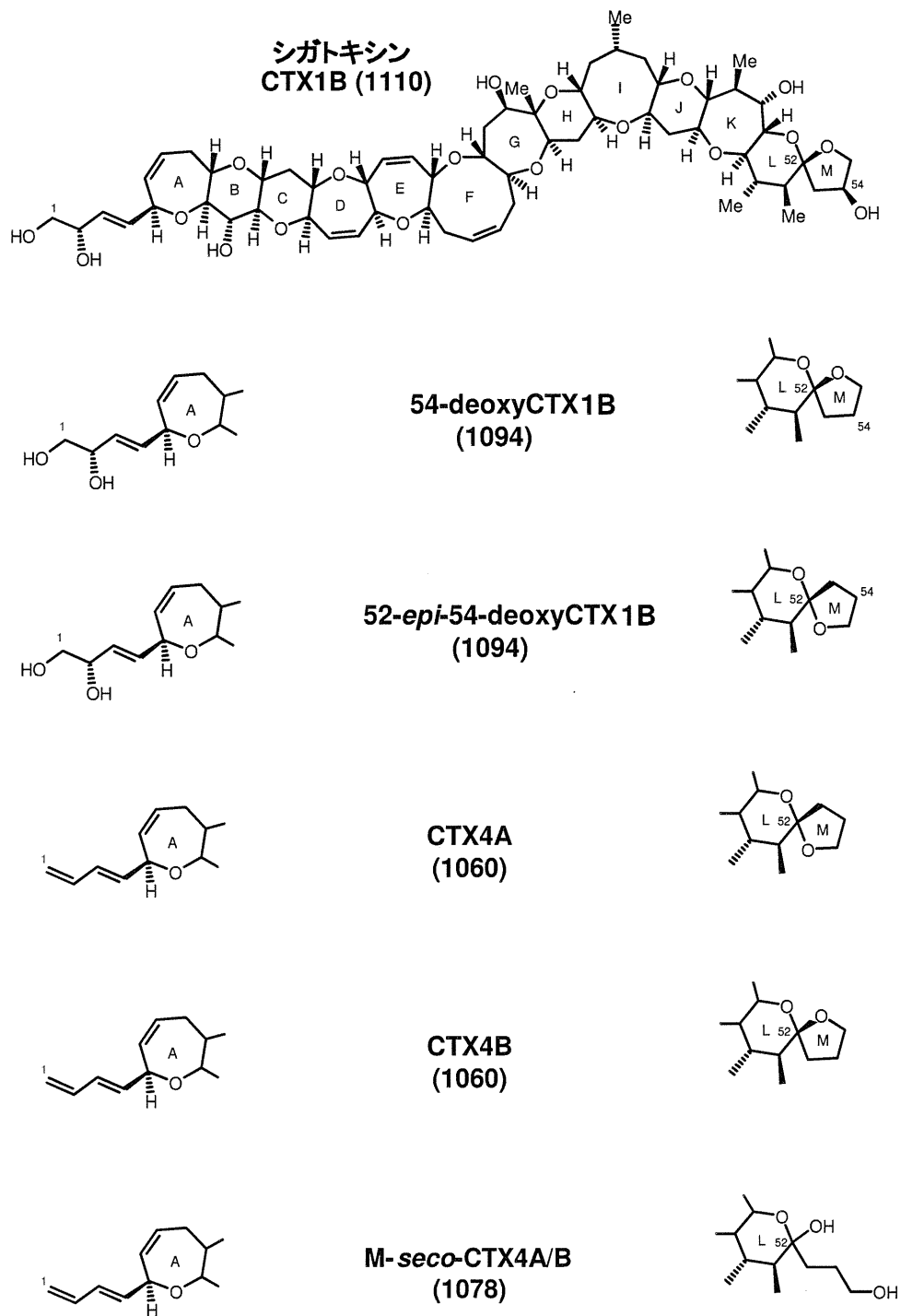


図1. シガトキシン類の構造 (CTX1B 同族体)

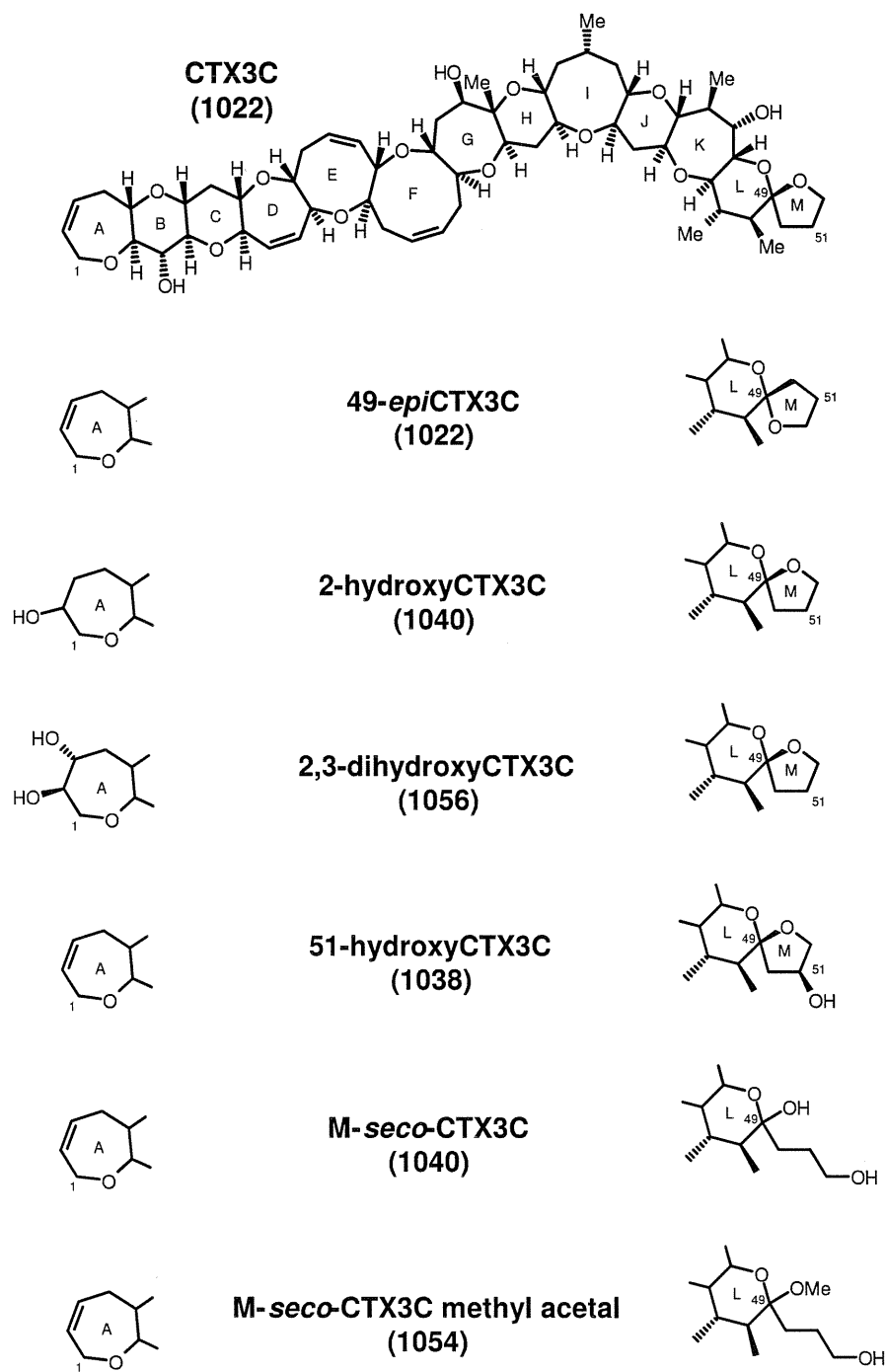
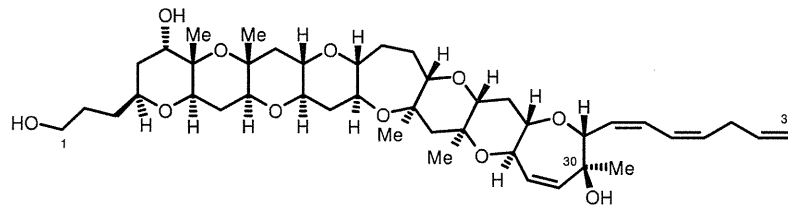
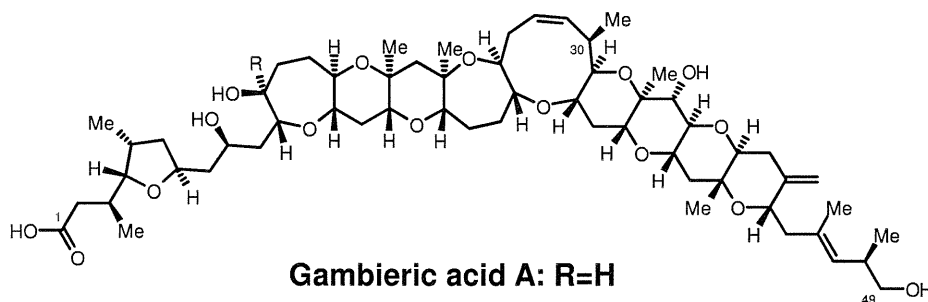


図2. シガトキシン類の構造 (CTX3C 同族体)



Gambierol



Gambieric acid A: R=H

Gambieric acid B: R=Me

図 3. ガンビエロールおよびガンビエル酸 A、B の構造

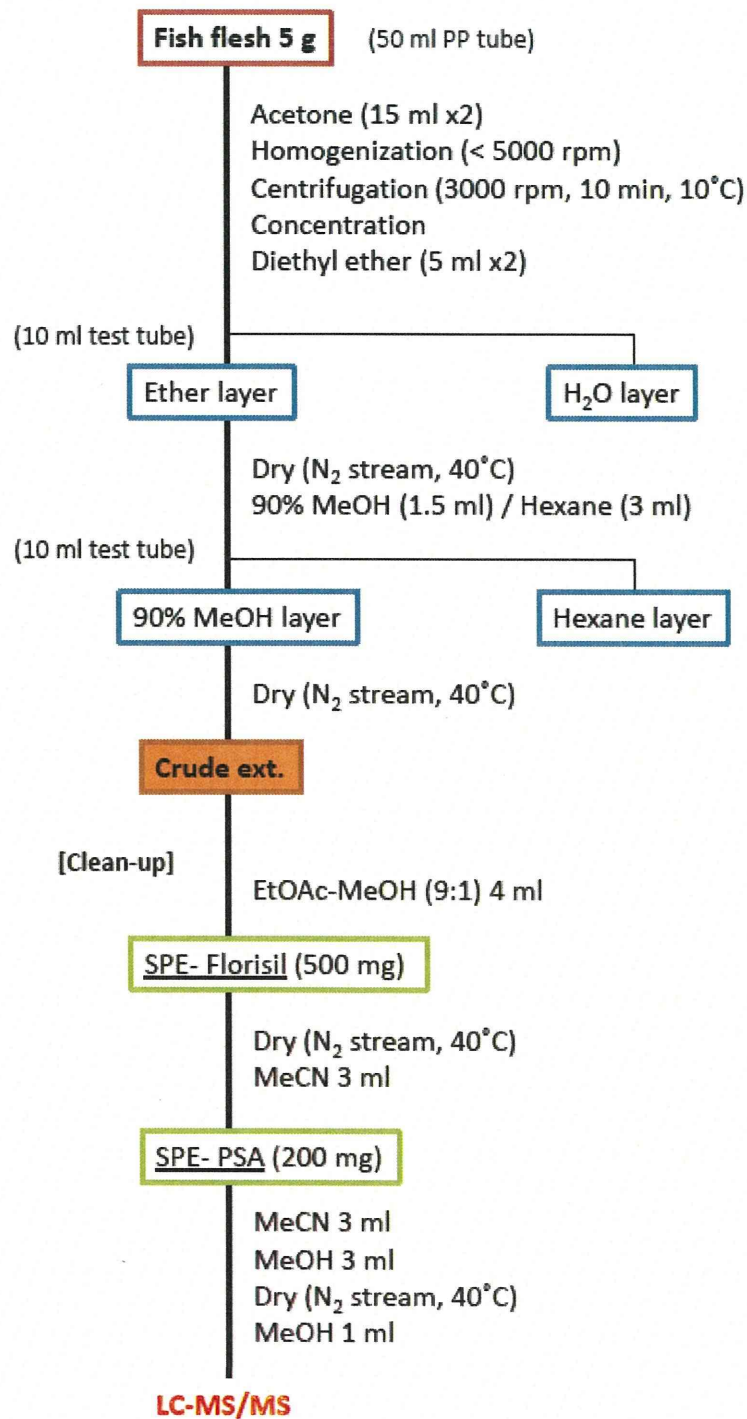


図 4. 魚肉試料の抽出および分析用試験液調製スキーム

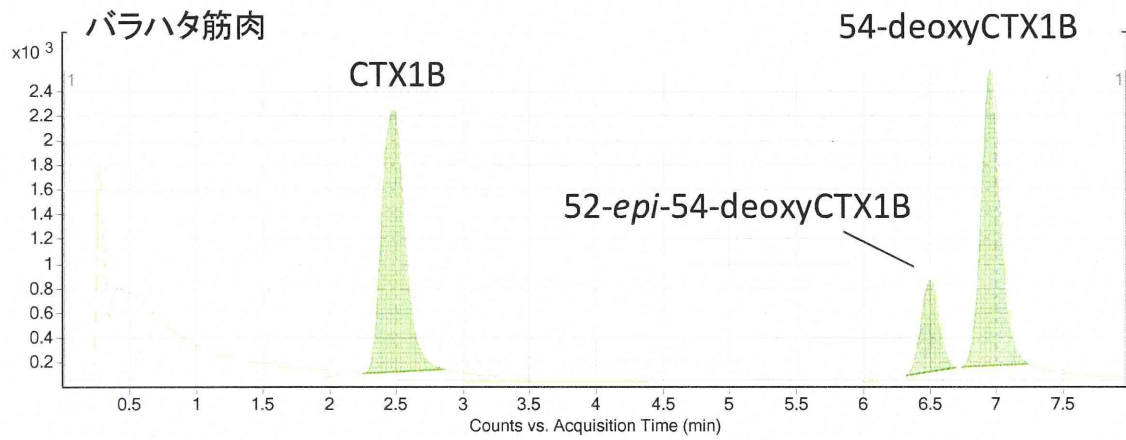
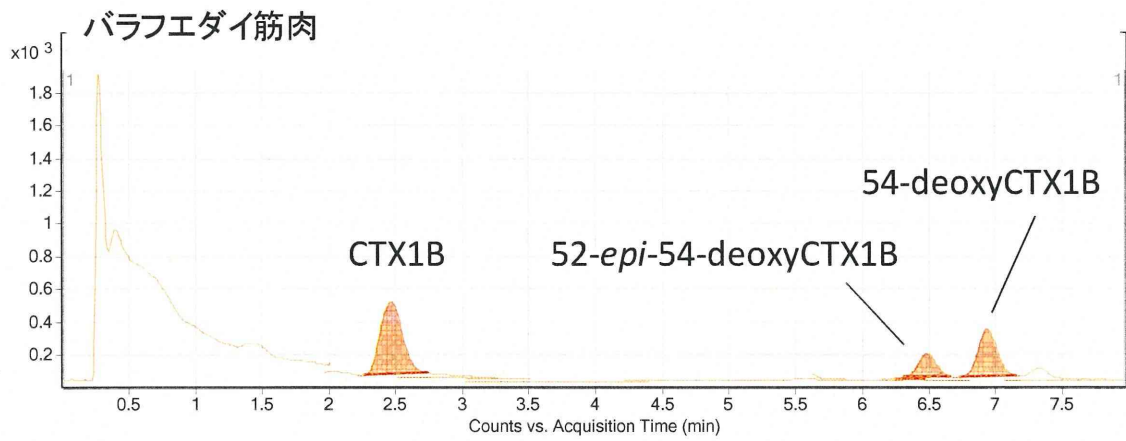


図5. 沖縄産シガテラ魚肉試料のLC-MS/MSクロマトグラムの一例

表1. バラフェダイ (*Lutjanus bohar*) 試料筋肉中のシガトキシン類含量

試料番号	重量 (kg)	CTX1B (ng/g)	52- <i>epi</i> -54- deoxyCTX1B (ng/g)	54- deoxyCTX1B* (ng/g)	その他の CTX1B同族体 (ng/g)	CTX3C同族体 (ng/g)	ガンビエロール・ ガンビエル酸類 (ng/g)
Sample-049	4.7	0.05	0.01	0.02	ND	ND	ND
Sample-042	4.8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sample-047	5.3	0.09	0.02	0.03	ND	ND	ND
Sample-010	5.7	1.02	0.20	0.45	ND	ND	ND
Sample-045	5.9	0.05	0.01	0.02	ND	ND	ND
Sample-039	6	1.92	0.35	1.14	ND	ND	ND
Sample-046	7	0.19	0.01	0.06	ND	ND	ND
Sample-043	7.5	0.32	0.07	0.13	ND	ND	ND
Sample-009	8.4	0.52	0.07	0.29	ND	ND	ND
Sample-044	8.4	1.84	0.15	0.47	ND	ND	ND
Sample-048	8.4	0.11	0.01	0.03	ND	ND	ND
Sample-041	8.5	0.31	0.03	0.09	ND	ND	ND
Sample-033	9.2	0.04	ND	0.01	ND	ND	ND
Sample-011	10.6	0.51	0.02	0.11	ND	ND	ND

ND: not detected

*54-deoxyCTX1B含量については、定量可能な52-エピマー標準品との比較により推定した

表2. バラハタ (*Variola louti*) 試料筋肉中のシガトキシン類含量

試料番号	重量 (kg)	CTX1B (ng/g)	52- <i>epi</i> -54- deoxyCTX1B (ng/g)	54- deoxyCTX1B* (ng/g)	その他の CTX1B同族体 (ng/g)	CTX3C同族体 (ng/g)	ガンビエロール・ ガンビエル酸類 (ng/g)
Sample-012	2.0	0.04	0.01	0.04	ND	ND	ND
Sample-003	2.2	0.36	0.16	0.48	ND	ND	ND
Sample-005	2.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sample-004	2.4	0.09	0.04	0.10	ND	ND	ND
Sample-024	2.4	0.36	0.19	0.63	ND	ND	ND
Sample-006	2.5	0.42	0.12	0.46	ND	ND	ND
Sample-023	2.5	0.05	0.00	0.02	ND	ND	ND
Sample-022	2.6	0.97	0.51	1.62	ND	ND	ND
Sample-025	2.8	0.34	0.08	0.31	ND	ND	ND
Sample-008	3.0	1.27	0.31	1.38	ND	ND	ND
Sample-021	3.0	0.11	0.03	0.15	ND	ND	ND
Sample-026	4.1	5.73	1.00	3.95	ND	ND	ND
Sample-007	4.2	1.33	0.26	1.41	ND	ND	ND

ND: not detected

*54-deoxyCTX1B含量については、定量可能な52-エピマー標準品との比較により推定した

表3. アカマダラハタ(*Epinephelus fuscoguttatus*) 試料筋肉中のシガトキシン類含量

試料番号	重量 (kg)	CTX1B (ng/g)	52- <i>epi</i> -54- deoxyCTX1B (ng/g)	54- deoxyCTX1B* (ng/g)	その他の CTX1B同族体 (ng/g)	CTX3C同族体 (ng/g)	ガンビエロール・ ガンビエル酸類 (ng/g)
Sample-054	5.0	0.03	0.02	0.04	ND	ND	ND
Sample-001	11.5	0.20	0.08	0.35	ND	ND	ND
Sample-002	13.0	1.68	0.18	0.53	ND	ND	ND
Sample-055	13.0	0.96	0.12	0.44	ND	ND	ND
Sample-034	13.9	0.09	0.03	0.17	ND	ND	ND
Sample-035	14.1	0.29	0.05	0.17	ND	ND	ND

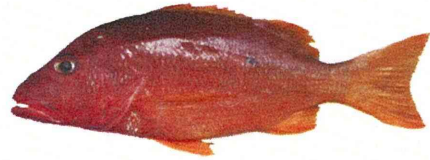
表4. コクハンアラ(*Plectropomus laevis*) 試料筋肉中のシガトキシン類含量

試料番号	重量 (kg)	CTX1B (ng/g)	52- <i>epi</i> -54- deoxyCTX1B (ng/g)	54- deoxyCTX1B* (ng/g)	その他の CTX1B同族体 (ng/g)	CTX3C同族体 (ng/g)	ガンビエロール・ ガンビエル酸類 (ng/g)
Sample-014	5.8	0.02	0.02	0.05	ND	ND	ND
Sample-016	5.9	0.05	0.05	0.35	ND	ND	ND
Sample-015	6.6	0.02	0.03	0.15	ND	ND	ND
Sample-017	8.7	0.06	0.07	0.35	ND	ND	ND
Sample-037	9.6	0.09	0.02	0.14	ND	ND	ND

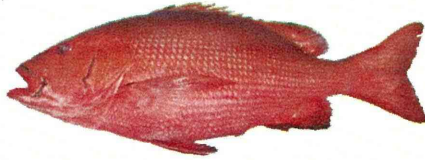
ND: not detected

*54-deoxyCTX1B含量については、定量可能な52-エピマー標準品との比較により推定した

☆☆ 魚を買います ☆☆



イッテンフエダイ
方言名: ヒシヤマトビー
買い上げ魚体:
体重 1kg 以上
価格 1kg あたり 500 円



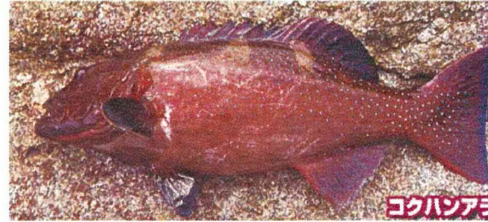
バラフエダイ
方言名: アカナー
買い上げ魚体:
体重 4kg 以上
価格 1kg あたり 500 円



バラハダ
方言名:
ナガジューミーバイ
買い上げ魚体:
体重 2kg 以上
価格 1kg あたり 2,000 円



アカマダラハダ
方言名: アカアーラ
買い上げ魚体:
体重 10kg 以上
価格 1kg あたり 2,000 円



コクハンアラ
方言名:
クロバニアカジン
買い上げ魚体:
体重 5kg 以上
価格 1kg あたり 2,000 円

特徴: 体表に青色小斑点があり、胸びれが黒い。スジアラと似ているが、スジアラより青色小斑点の数が少ないことと、胸びれの色で区別できる。



イシガキダイ
方言名: ガラサー
買い上げ魚体:
体重 3kg 以上
価格 1kg あたり 2,000 円



ドカウツボ
体重 5kg 以上
価格 1kg あたり 500 円

特徴: 体表に 3~4 列のやや不規則に並ぶ黒褐色と多数の小黒褐色点がある。えら孔は黒色である。

(参考資料 1)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
與儀健太郎、大城直雅、佐久川さつき、平間正博、安元健	標準毒の作出・使用による国内シガテラ魚の精密分析と魚種・地域特性の解明	第53回天然有機化合物討論会講演要旨集	53	445-450	2011

P-59 標準毒の作出・使用による国内シガテラ魚の
精密分析と魚種・地域特性の解明

(TTC^a、沖縄衛環研^b、東北大院理^c、食品分析セ^d)

○興儀健太郎^{a,b}、大城直雅^b、佐久川さつき^b、平間正博^c、安元健^d

はじめに

シガテラ (CFP: Ciguatera Fish Poisoning) は自然毒による食中毒としては世界最大の規模を有し、国内でも南西諸島を中心に毎年発生している。原因毒であるシガトキシン類 (CTXs) は、渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* により産生され、食物連鎖を介し肉食魚へと生物濃縮される¹⁾。これまで仏領ポリネシア産試料から確認された CTXs には 20 以上の同族体があり、基本骨格の環構成の違いから CTX1B タイプと CTX3C タイプに大別できる (図 1)²⁾。しかし、これまで国内 CFP の原因成分は未解明であった。

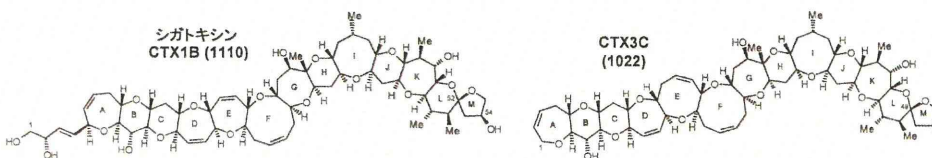


図 1. 仏領ポリネシア産魚類の代表的シガトキシン 2 成分の構造³⁾

シガテラ分析の公定法であるマウス毒性試験 (MBA) は、結果のばらつきが大きく、迅速性や特異性に欠け、動物愛護の観点からも問題とされている。また、MBA では多量の試料 (筋肉 240 g) を必要とするので、魚肉中に極微量しか含まれない CTXs に対応する高感度分析法が望まれた。しかし、機器分析に必要な標準毒や ELISA 分析適用に必要な毒組成情報は得られていなかった。本研究では、高感度かつ選択性に優れた LC-MS/MS による CTXs 一斉分析法の開発と、国内シガテラ魚の毒組成解明を目的とした。

1. シガトキシン類一斉分析法の確立

LC-MS/MS による CTXs 分析について検討したところ、MRM 分析においてプリカーサイオン/プロダクトイオン共に CTXs に特異的・安定的な $[M+Na]^+$ を選択することで、感度良く分析することが可能であった。一斉分析における CTXs 標準品は、化学合成による CTX1B、CTX3C、51-hydroxyCTX3C⁴⁾、天然試料の精製によって得られた 52-*epi*-54-deoxyCTX1B、54-deoxyCTX1B、CTX4A、CTX4B、2-hydroxyCTX3C、2,3-dihydroxyCTX3C、49-*epi*CTX3C、*M*-*seco*-CTX3C、*M*-*seco*-CTX4A/B、*M*-*seco*-CTX3C methyl acetal^{2),5)}、および CTXs と同じく *G. toxicus* によって産生される類似ポリエーテル成分のガンビエロール、ガンビエル酸 A、B⁶⁾ を使用した。一部、正確な秤量を行っていない成分については定性分析用標準品とした。一斉分析クロマトグラムを図 2 に示す。移動相は酢酸アンモニウム緩衝液とメタノールのグラジエント分析を行い、計 16 成分の分析時間は 14 分とした。検出下限値 ($S/N > 3$)、定量下限値 ($S/N > 10$) はそれぞれ、0.25 pg、1 pg であった。

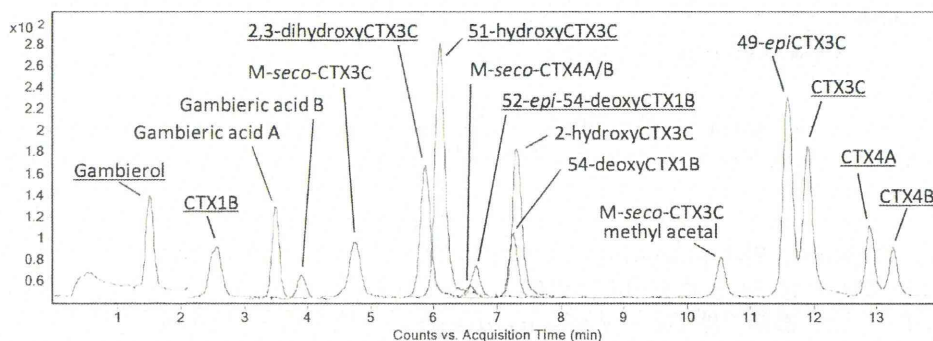


図2. 標準毒の一斉分析 MRM クロマトグラム (下線の成分は 1 ng/ml)

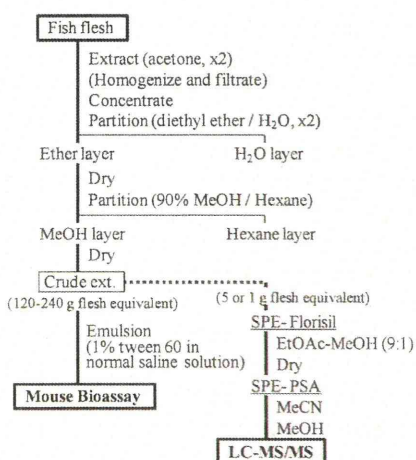


図3. MBA 抽出工程と LC-MS/MS 分析の前処理

魚肉の抽出は、シガテラ公定法であるマウス毒性試験法⁷⁾に準じて行い、得られた粗抽出物について、固相抽出による前処理法の検討を行った。その結果、1-5 g 相当量の魚肉抽出物について、フロリジルおよび PSA カートリッジカラムによる簡易処理により LC-MS/MS 分析用試験液を調製できることがわかった (図3)。これにより、MBA で陰性とされた魚肉試料でも 20 pg/g 程度の CTX1B が検出可能であった (図4)。

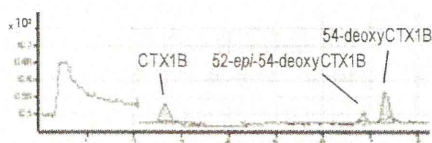


図4. MBA 毒性非検出魚肉でも微量 CTXs を検出した (5 g/ml)

2. 国内で発生したシガテラ原因魚の毒組成

沖縄、宮崎、茨城で発生した CFP の原因食品について分析した。

沖縄で近年発生した CFP⁸⁾の原因食品の魚 6 種全てから、CTX1B とその同族体の 4 成分を検出した (図5)。CTX1B は 1 種を除いて主成分であった。一方、CTX3C とその同族体は確認されなかった。

宮崎で発生した CFP の原因魚イシガキダイについては、PSA による前処理が適用できなかったため、ODS カートリッジカラムで簡易精製を行い試験液とした。沖縄の食中毒検体とは対照的に、宮崎 CFP 検体からは CTX3C とその同族体のみが検出された。さらには、茨城で食中毒の原因となった南鳥島産バラフエダイからは、CTX1B および CTX3C 両タイプの同族体 8 成分を検出した (図6)。

従来は、*G. toxicus* からのみ検出され、毒の生合成前駆体と見なされていた M-seco 体が、多数の魚肉試料から初めて検出された。M 環は酸性条件下で容易に環化するので、その存在に興味を持たれる。

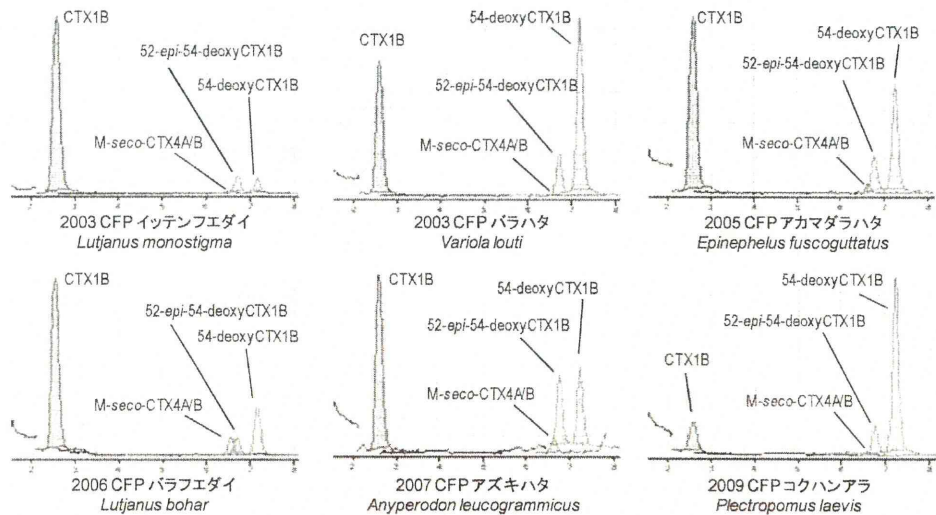


図5. 沖縄で発生したシガテラ原因魚の毒組成

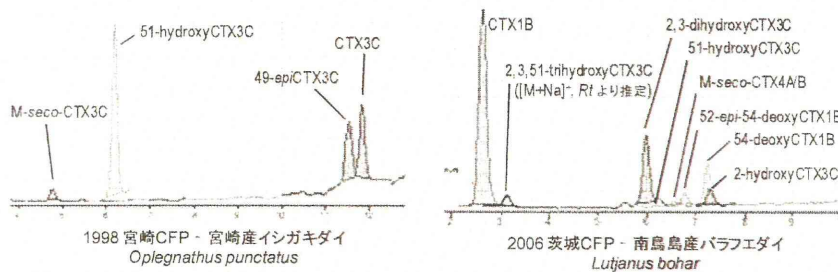


図6. 宮崎および茨城で発生したシガテラ原因魚の毒組成

3. 沖縄の代表的シガテラ魚の毒成分比率

沖縄近海の各地で漁獲されたシガテラ魚⁸⁾の筋肉毒組成について、種特異性、地域変異および個体変異を検討した。図7に示すように、毒成分比率には大きな種内あるいは地域変動は無く、毒組成の種特異性を支持した。

54-deoxyCTX1Bはハタ類に比較的多く検出され、特にコクハンアラでは主成分であった。CTXsは酸化により毒性が増す傾向があるが、図7は魚体内蓄積過程におけるC54位の酸化に関する魚種間の差を示し、興味深い。

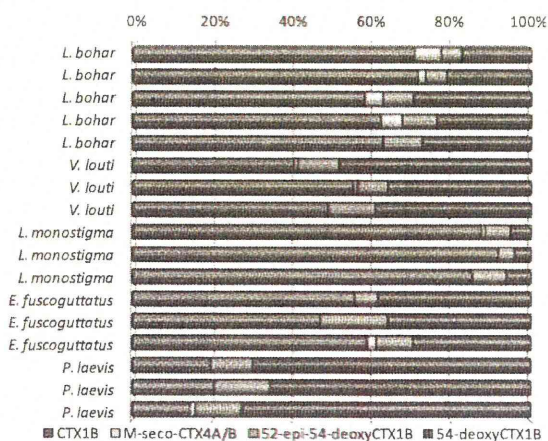


図7. 沖縄産シガテラ魚筋肉のCTXs比率

4. LC-MS/MS 定量値とマウス毒性との比較

LC-MS/MS 定量値を毒性換算し、MBA 結果と比較した。比毒性は、CTX1B: 7 ng/MU、52-*epi*-54-deoxyCTX1B: 14 ng/MU とした。54-deoxyCTX1B および M-*seco*-CTX4A/B については、毒性データが無いため除いた。図5に示した沖縄 CFP 検体に、0.05~0.4 MU/g のマウス毒性を確認したが、LC-MS/MS 分析結果と良好な相関を示した(図8)。また、沖縄近海で漁獲されたパラフェダイについても、LC-MS/MS 定量値はマウス毒性と矛盾しないことを確認した(図9)。

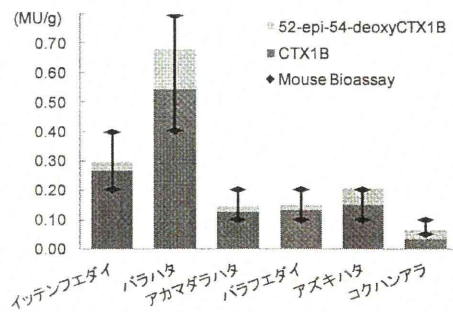


図8. 沖縄 CFP 原因魚の LC-MS/MS - マウス毒性相関

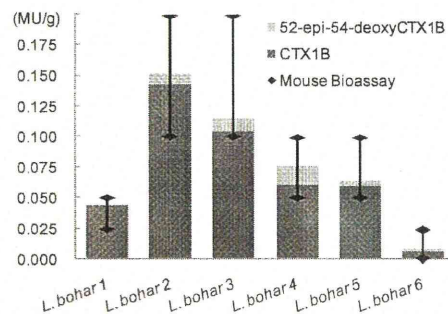


図9. 沖縄産パラフェダイの LC-MS/MS - マウス毒性相関

5. 渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* の毒組成

CTXs の起源生物である *G. toxicus* は日本沿岸でも広く分布しているが、これまでに国内で CTXs を産生する株は確認されていない。そこで、過去にランギロア環礁で採取され東北大で培養された株 (RGI-1) の抽出物を分析に供した。ODS カラムにより分画し、95% MeOH フラクションに CTXs を認めた。これまで確認されていた CTX3C や CTX4A、CTX4B などの低極性 CTXs などに加え、微量であるが酸化型の CTXs も複数の試料から検出した (図10)。

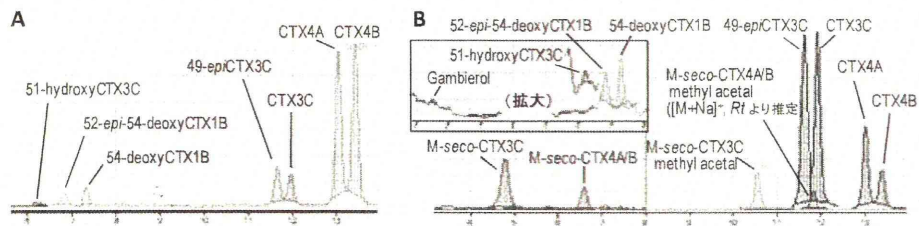


図10. *G. toxicus* (RGI-1 strain) 2 試料の毒組成と酸化型 CTXs の検出

まとめ

LC-MS/MS による CTXs 一斉分析法の確立により、国内で発生した CFP の毒組

成を解明し、CTXs 組成に地域差および魚種差があることを認めた。また、微量ではあるが魚肉中に M-*seco*-CTXs を、*G. toxicus* 抽出物中に酸化型の CTXs をそれぞれ初めて確認した。これらは、食物連鎖および代謝機構を知る上で重要な情報であり、その解明に向けて本分析法が有力なツールとなる。

また、今回明らかにされた国産魚の毒組成は、MBA 以外の分析法 (ELISA、LC-MS/MS) の適用について重要な情報を提供するものである。

謝辞

本研究の推進にご協力頂いた沖縄県衛生環境研究所の稲福恭雄元所長、玉城宏幸氏、玉那覇康二氏、(株)トロピカルテクノセンターの池原強博士、廣瀬美奈博士、吉野敦博士に深謝いたします。本研究は、文部科学省地域イノベーションクラスタープログラム・都市エリア型「マリンバイオ産業創出事業」、および一部、厚生労働科学研究費 (食品の安全確保推進研究事業) により実施した。

References

- 1) Yasumoto, T. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B* **2005**, *81*, 43–51.
- 2) Yasumoto, T.; Igarashi, T.; Legrand, A.M.; Cruchet, P.; Chinain, M.; Fujita, T.; Naoki, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4988–4989.
- 3) (a) Murata, M.; Legrand, A.M.; Ishibashi, Y.; Yasumoto, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8929–8931. (b) Satake, M.; Morohashi, A.; Oguri, H.; Oishi, T.; Hiram, M.; Harada, N.; Yasumoto, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11325–11326. (c) Satake, M.; Murata, M.; Yasumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1975–1978.
- 4) (a) Hiram, M.; Oishi, T.; Uehara, H.; Inoue, M.; Maruyama, M.; Oguri, H.; Satake, M. *Science* **2001**, *294*, 1904–1907. (b) Inoue, M.; Miyazaki, K.; Uehara, H.; Maruyama, M.; Hiram, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 12013–12018. (c) Inoue, M.; Miyazaki, K.; Ishihara, Y.; Tatami, A.; Ohnuma, Y.; Kawada, Y.; Komano, K.; Yamashita, S.; Lee, N.; Hiram, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9352–9354.
- 5) (a) Satake, M.; Ishibashi, Y.; Legrand, A. M.; Yasumoto, T. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1997**, *60*, 2103–2105. (b) Satake, M.; Fukui, M.; Legrand, A. M.; Cruchet, P.; Yasumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1197–1198.
- 6) (a) Satake, M.; Murata, M.; Yasumoto, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 361–362. (b) Nagai, H.; Torigoe, K.; Satake, M.; Murata, M.; Yasumoto, T.; Hirota, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1102–1103. (c) Fuwa, H.; Goto, T.; Sasaki, M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2211–2214.
- 7) 佐竹真幸. “シガテラ”. 食品衛生検査指針理化学編. 厚生労働省監修. 東京, (社) 日本食品衛生協会, **2005**, pp. 691–695.
- 8) Oshiro, N.; Yogi, K.; Asato, S.; Sasaki, T.; Tamanaha, K.; Hiram, M.; Yasumoto, T.; Inafuku, Y. *Toxicol* **2010**, *56*, 656–661.

Toxin Profiles of Ciguateric Fish in Japan

Kentaro Yogi^{a,b}, Naomasa Oshiro^b, Satsuki Sakugawa^b,

Masahiro Hirama^c, Takeshi Yasumoto^d

(^aTropical Technology Center, ^bOkinawa Prefectural Institute of Health and Environment, ^cGraduate School of Science, Tohoku University, ^dJapan Food Research Laboratories)

Ciguatera (CFP: ciguatera fish poisoning) is a food poisoning of worldwide occurrence. We developed a sensitive determination method for the causative toxins employing the high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The use of 16 reference toxins prepared either by chemical synthesis or isolation from natural sources enabled to perform the accurate and simultaneous analysis. The method clarified toxin profiles in fish from different place in Japan for the first time. A good agreement was observed between the LC-MS/MS and mouse bioassay results. Detailed toxin analysis of fish and the causative alga, *Gambierdiscus toxicus*, from French Polynesia newly revealed the occurrence of M-*seco* toxins in fish flesh and oxidized toxins in *G. toxicus*. The new LC-MS/MS method is a promising tool not only for food safety but also to study the toxin dynamics during the food chain transmission.

