

Short-PCR 法的设计

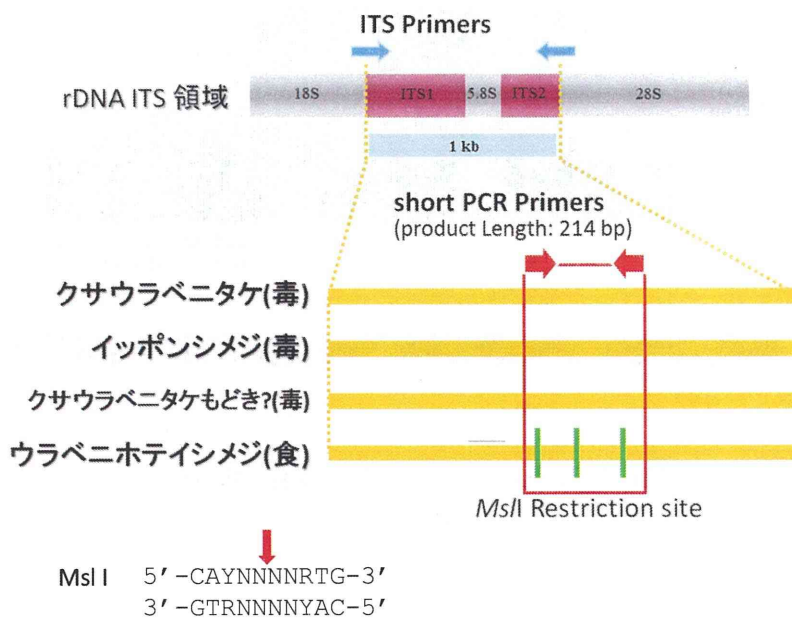


Fig.3. クサウラベニタケとその近縁種の加熱調理試料への PCR-RFLP 法適用 (short-PCR)

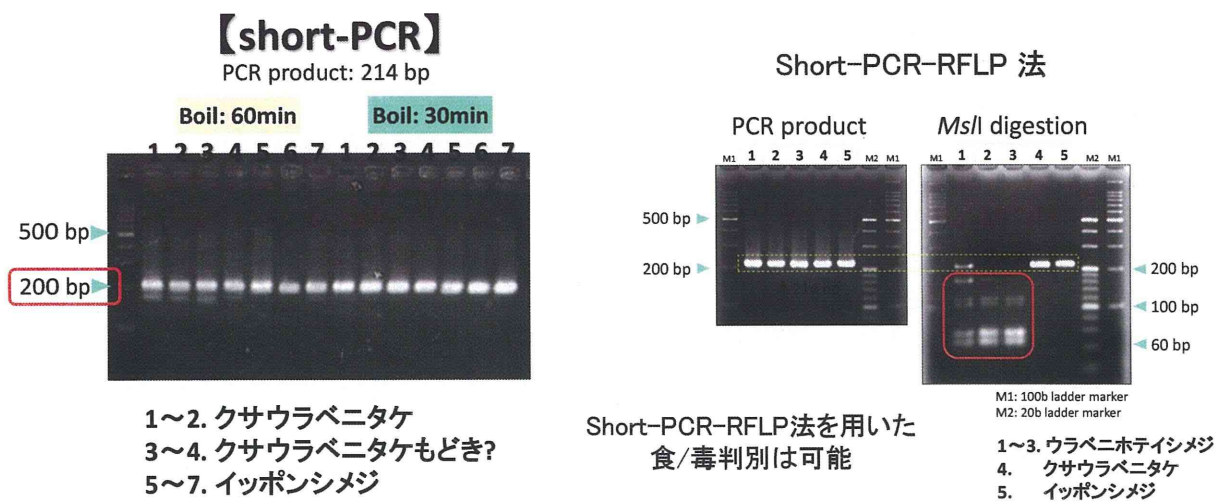


Fig.4. Short-PCR-RFLP 法を用いた結果

Short-PCR-RFLP 法の混合きのこ試料への適用

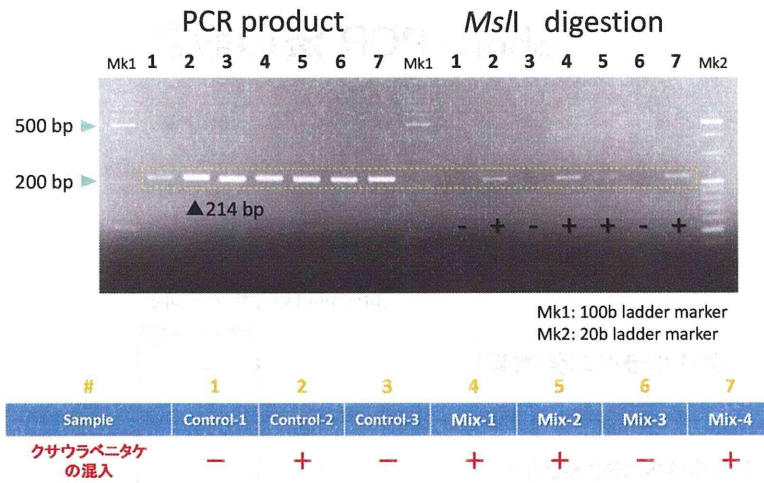
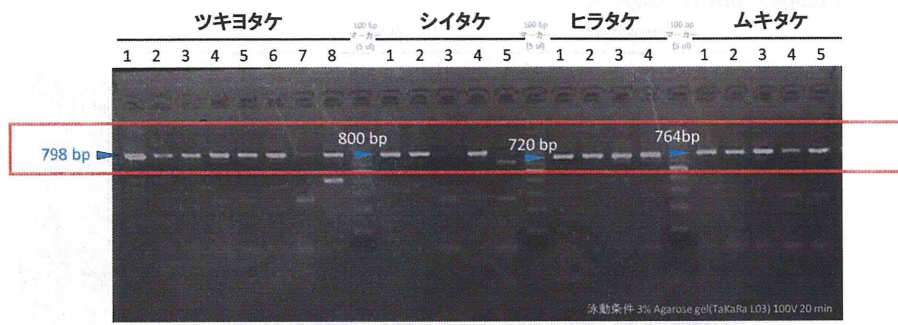


Fig.5 市販きのこを用いた疑似試料中のクサウラベニタケの検出



FastDigest **Sau96I** digestion

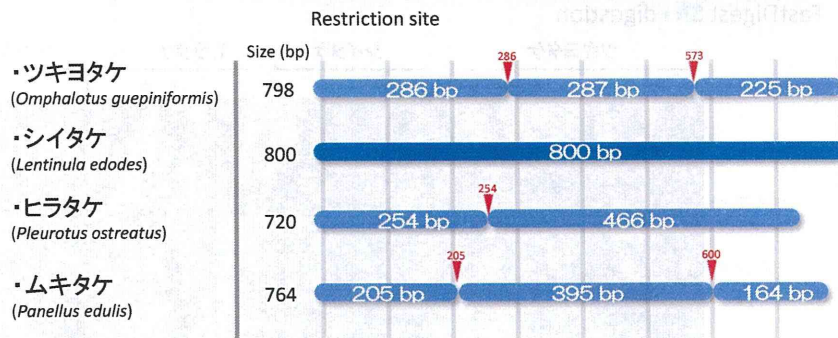


Fig.6 ツキヨタケ、シイタケ、ムキタケ、ヒラタケの ITS1-5.8S-ITS2 領域の増幅(上)と PCR-RFLP 法 *Sau96I* 切断パターン (continued)

FastDigest **Bpu10I** digestion



Bpu10I

Restriction site

5' -CCTNAGC-3'

5' -CCTAAGC-3' ・ツキヨタケ
(*Omphalotus guepiniformis*)

5' -TCTAACC-3' ・シイタケ
(*Lentinula edodes*)

5' -TCCCAGC-3' ・ヒラタケ
(*Pleurotus ostreatus*)

5' -CCGCAAC-3' ・ムキタケ
(*Panellus edulis*)



FastDigest **Sfcl** digestion



Sfcl

Restriction site

5' -CTRYAG-3'

5' -CTGTAG-3' ・ツキヨタケ
(*Omphalotus guepiniformis*)

5' -TTGTAG-3' ・シイタケ
(*Lentinula edodes*)

5' -GAGTGA-3' ・ヒラタケ
(*Pleurotus ostreatus*)

5' -GGGTGA-3' ・ムキタケ
(*Panellus edulis*)

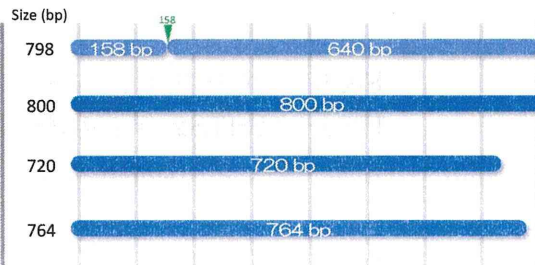
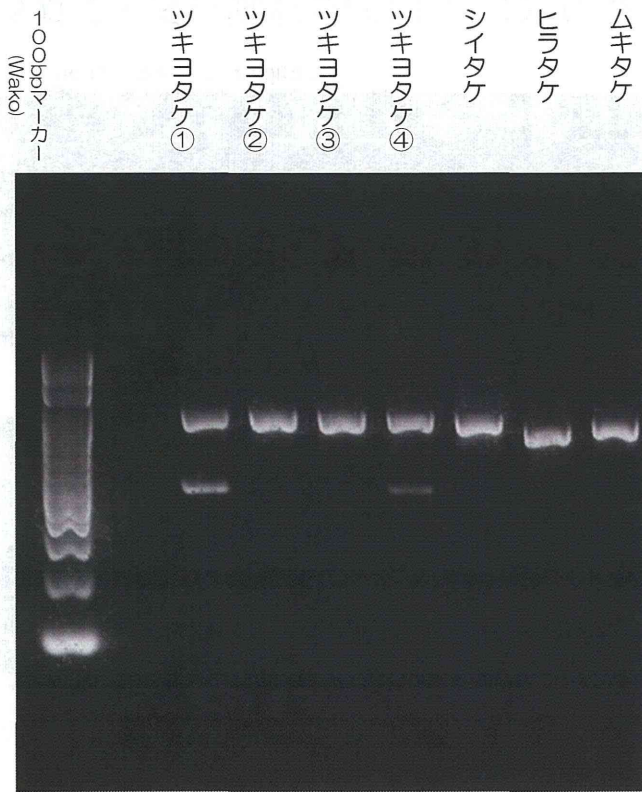


Fig.7 ツキヨタケ、シイタケ、ムキタケ、ヒラタケの PCR-RFLP 法 *Bpu10I* (上) および *Sfcl* (下) 切断パターン

● No digestion



● *DrdI*(GACNNNN|NNGTC) & *HincII*(GTY|CAC)

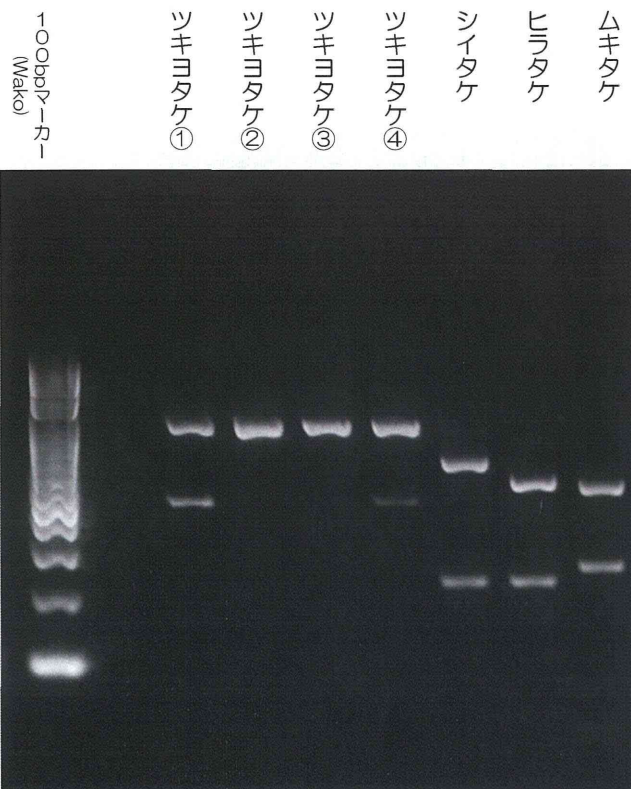


Fig.8 ツキヨタケ、シイタケ、ムキタケ、ヒラタケの PCR-RFLP 法未処理 (上) および *DrdI* & *HincII* (下) 切断パターン

市販食用きのことのPCR-RFLP法泳動パターン比較

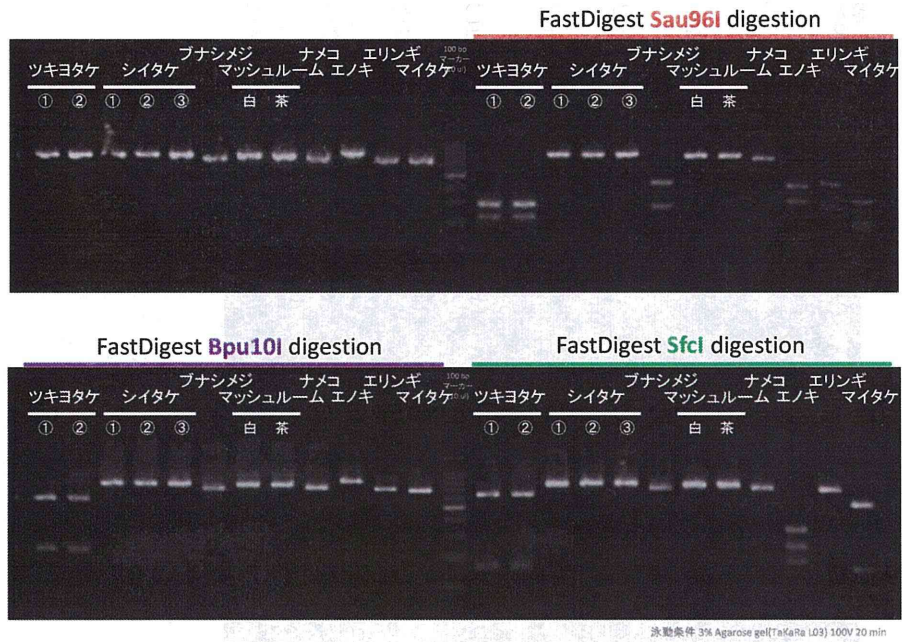
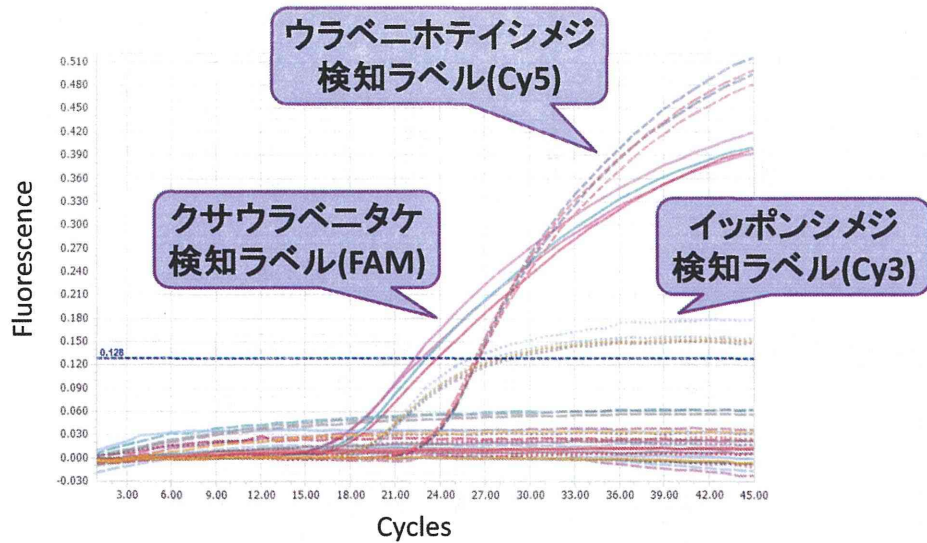


Fig.9 ツキヨタケ、シイタケ、ムキタケ、ヒラタケおよびのPCR-RFLP法 *Bpu10I* (上) および *SfiI* (下) 切断パターン

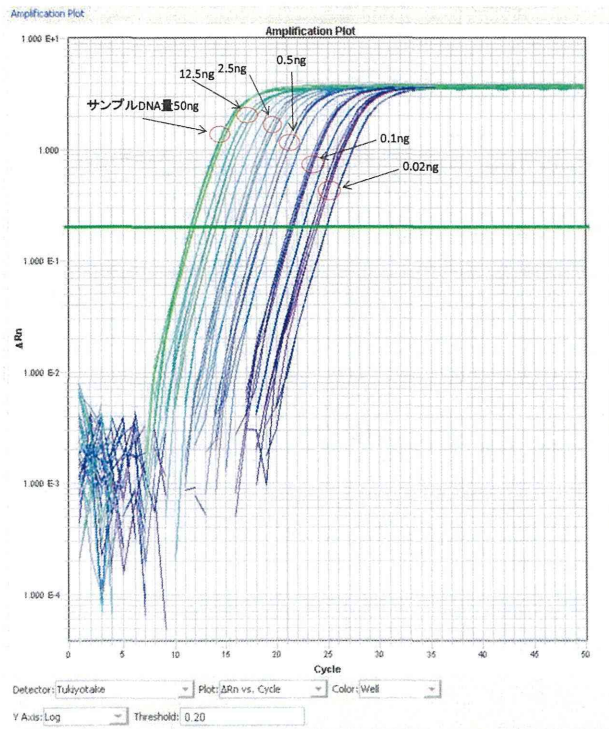
Multiplex Real-time PCRによる確認試験法



機器 : Roche LightCycler® 96

Fig.10 クサウラベニタケとその近縁種の Multiplex リアルタイム PCR を用いた同定

ツキヨタケ



シイタケ、ムキタケ、ヒラタケ

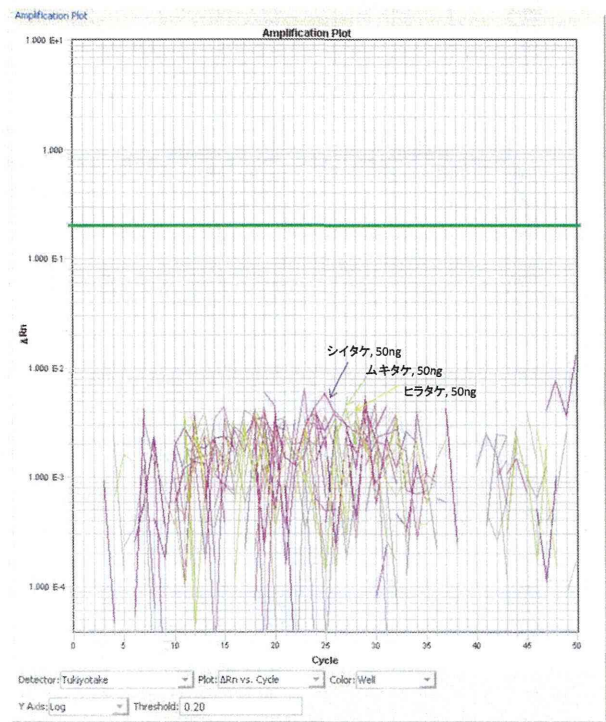


Fig.11 ツキヨタケ特異的定性リアルタイム PCR を用いた同定

/年度	きのこ/キノコ				クサウラベニタケ				ツキヨタケ				以下のきのこ			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012	20	60	54	0	7	21	18	0	23	85	74	0	3	6	6	0
2011	10	26	20	0	1	2	2	0	13	46	49	0	11	22	20	0
2010	38	112	105	0	19	102	66	0	18	64	62	0	16	31	29	0
2009	12	40	39	0	2	13	11	0	19	67	61	0	7	15	15	0
2008	13	39	35	0	7	29	26	0	19	78	70	0	22	66	46	0
2007	16	61	51	2	8	31	30	0	15	63	59	0	15	41	37	0
2006	11	50	43	0	6	15	15	0	17	65	61	0	9	24	22	2
2005	13	34	31	0	5	17	13	0	15	70	63	0	9	25	22	3
2004	28	125	99	1	16	42	41	0	16	53	52	0	20	58	44	0
2003	14	53	49	1	4	71	48	0	11	39	36	0	19	59	45	0
2002	17	78	77	0	8	25	24	0	19	110	91	0	12	36	32	0
2001	7	30	23	1	2	8	8	0	3	45	45	0	4	9	9	0
2000	28	110	101	0	3	10	8	0	13	61	67	0	10	34	29	1

/年度	イボテングタケ			テンゲタケ			ドクサソコ			ドクツルタケ				ベニテングタケ		
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012	1	2	2	0					1	2	2	0				
2011	3	4	3	0	2	7	7	0	1	1	1	0				
2010					1	1	1	0	2	3	2	0				
2009					1	2	2	0								
2008	2	3	3	0	3	7	6	0	3	12	4	0			1	1
2007					1	1	1	0	1	2	1	0				
2006					1	2	1	0	1	4	3	0				
2005					1	3	3	0	2	5	3	0	1	2	2	1
2004					5	9	9	0	3	9	7	0				
2003					3	4	4	0	4	17	7	0	1	2	2	0
2002					1	2	1	0	4	8	6	0			1	1
2001																
2000					1	3	2	0	1	2	1	0	1	4	4	0

/年度	タマゴタケモドキ				タマゴテングタケモドキ				タマゴタケ			シロタマゴテングタケ				ヒカゲシロタケ				
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																	1	2	2	0
2011																				
2010																	1	1	1	0
2009																				
2008																				
2007													1	1	1	0				
2006	1	1	1	1													1	5	5	0
2005																	1	2	2	0
2004																	1	2	2	0
2003																	1	4	4	0
2002																	1	2	2	0
2001																				
2000					1	1	1	0									1	2	2	0

/年度	クロハツモドキ				ニセクロハツ				ドクヤマドリ			カキシメジ				ニガクリタケ				
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																				
2011													1	4	4	0				
2010													1	1	1	0	2	2	2	0
2009													1	2	2	0				
2008													1	4	3	0				
2007	1	6	6	0					1	5	5	0								
2006					1	1	1	1					1	5	5	0				
2005					1	2	2	2					2	8	7	0				
2004									1	16	8	0	2	7	7	0				
2003									2	5	4	0	1	7	4	0				
2002									1	6	5	0	4	27	17	0				
2001													2	6	6	0				
2000													1	10	8	0	1	3	3	0

/年度	ハイロンシメジ			イッポンシメジ			ヒメアジロガサ			ニセショウロ			ヒメカタショウロ			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																
2011					1	1	1	0								
2010																
2009																
2008													1	2	1	0
2007	2	5	5	0									1	2	2	0
2006									1	2	2	0				
2005																
2004																
2003	1	1	1	0												
2002	1	2	2	0												
2001																
2000					1	4	4	0								

Table I 過去 13 年間の食中毒きのこ事例のまとめ (continued)

/年度	ネズミシメジ				カエンタケ				オオキヌハダトヤマタケ				オオシロカサカサタケ				オオウライタケ			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																				
2011													1	1	1	0	1	1	1	0
2010									1	1	1	0	2	3	3	0				
2009													3	5	5	0				
2008													3	7	7	0				
2007																				
2006					1	3	3	0												
2005													1	3	3	0				
2004													2	2	2	0	2	2	2	0
2003	2	10	10	0													1	1	1	0
2002																				
2001													2	3	3	0				
2000					1	2	2	1	1	3	2	0								

/年度	オシロイシメジ				キツチスギタケ				ツチスギタケ				オオシドレタケ				コクサウラベニタケ			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																				
2011																				
2010																				
2009													1	3	3	0				
2008																				
2007													1	2	1	0	1	1	1	0
2006																				
2005																				
2004					1	2	1	0	1	1	1	0								
2003									1	1	1	0								
2002																				
2001																				
2000																				

/年度	ウスキテングタケ				カオリツムタケ				カブラアセタケ				コカブイヌシメジ				コウタケ			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																				
2011													1	3	2	0				
2010																	1	3	3	0
2009																				
2008					1	5	4	0												
2007	1	1	1	0																
2006									1	1	1	0								
2005																				
2004																				
2003																				
2002																				
2001																				
2000																				

/年度	コテングタケモドキ				コレラタケ				カヤタケ属				シビレタケ属				モリノカレバタケ属			
	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数
2012																				
2011																				
2010	1	3	3	0					1	1	1	0					1	5	4	0
2009					1	3	3	0												
2008									1	3	3	0								
2007									1	5	5	0	1	3	1	0				
2006																				
2005																				
2004									1	3	1	0								
2003													1	6	6	0				
2002																				
2001																				
2000																				

Table I 過去 13 年間の食中毒きのこ事例のまとめ

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクに関する研究」
分担研究報告書

植物毒の毒性評価と毒成分分析

分担研究者 紺野勝弘 富山大学和漢医薬学総合研究所
研究協力者 佐竹元吉 お茶の水女子大学生生活環境教育研究センター
研究協力者 篠崎淳一 昭和薬科大学天然物化学研究室

研究要旨

有毒植物の誤食による食中毒では、原因植物の迅速かつ正確な同定が求められる。しかし、通常の聞き取り調査や化学分析では、しばしば時間がかかりすぎるのが問題となっている。そこで、PCR-RFLP法を利用した遺伝子鑑別による迅速・簡便な有毒植物同定法を開発し、その分析条件を確立した。本法では、特に高価な機器を必要とせず、簡便な操作および短時間で、容易に植物種を同定できる。また、調理済みの試料にも適用可能である。

A. 研究目的

有毒植物による食中毒が発生した場合、中毒原因植物の迅速かつ正確な同定は、初期対応・治療のためにも必要不可欠である。通常、患者や関係者への聞き取り調査、形態学的鑑定、および化学分析による有毒成分の同定によって行われているが、しばしば結論に至るまで時間がかかりすぎるのが問題となっている。そこで、PCR-RFLP法を利用した遺伝子鑑別法を用いて、有毒植物の迅速・簡便な同定法の開発を検討する。

B. 研究方法

1. 食中毒事例の多い植物の PCR-RFLP 法を利用した鑑別法の開発

1) 試料

日本各地（東京、北海道、青森、福島）で採集あるいは購入した植物を以下の実験に供した。用いた植物は以下のとおり：

バイケイソウ（3 個体）

チョウセンアサガオ（1 個体）

トリカブト（4 個体）

スイセン（1 個体）

ギョウジャニンニク（2 個体）

ゴボウ（1 個体）

ニリンソウ（2 個体）

ニラ（1 個体）

2) DNA 抽出

試料（約 0.1g）は蒸留水でよく洗浄後、液体窒素下、乳棒・乳棒を用いてホモジナイズし、1.5 mL チューブに移した。その後の操作は DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて、プロトコールに従いゲノム DNA（100 μ L, 8~90 μ g/mL）を抽出した。

3) PCR 条件

PCR 用反応液は 50 μ L として調製した。DNA 抽出液約 50 ng を鋳型として Ex Taq HS を用い標準的な条件にて PCR 反応を行っ

た(プライマーは表 1 参照)。PCR 産物(5 µL)は 1%アガロースゲル電気泳動し、UV 照射下バンドを検出した。

4) 制限酵素処理

バイケイソウ・ギョウジャニンニクおよびチョウセンアサガオ・ゴボウ識別用として *Bg*II、トリカブト・ニリンソウ識別用として *Eco*RV、スイセン・ニラ識別用として *Nco*I を用いた。制限酵素反応は PCR 産物 2 µL を用い全量 50 µL として行った。37°C で 5 分反応後、反応液 (10 µL) を 3%アガロースゲル電気泳動し、UV 照射下バンドを検出した。

2. 模擬調理サンプルからの direct PCR

バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセンを 10 分間煮沸した後、約 5 mm² を 1.5 mL チューブに移した。そこに、Lysis Buffer (TaKaRa) 100 µL を加え、ペレットミキサーで組織を破碎し、Proteinase K 1 µL を加えた。この破碎液を 65°C で 5 分反応後、98°C で 2 分加熱し酵素を失活させた上清を PCR 反応の鋳型とした。

PCR 用反応液は 50 µL として調製した。上清 2.5 µL を鋳型として、Tks Gflex DNA Polymerase を用いた標準的な条件にて PCR 反応を行った。PCR 産物 (5 µL) は 1%アガロースゲル電気泳動し、UV 照射下バンドを検出した。

3. *trnH-psbA* intergenic spacer 領域の塩基配列長の比較による食中毒原因植物の推定

平成元年~22年に日本で食中毒原因植物と同定された植物を比較した。比較領域はプライマー対 *trnH* (GUG) および *psbA* (Vijayan and Tsou, *Curr. Sci.*, vol. 99, 1530–1541, 2010) で増幅される領域を比較した。対象塩基配列は DNA データベースを検索し、塩基配列長を確認した。当該領域の塩基配列がデータベースに登録されていない植物については、入手可能な植物から順次 PCR で増幅後、塩基配列を決定した。

C. 研究結果

1. 食中毒事例の多い植物の PCR-RFLP 法を利用した鑑別法の開発

登田らの報告 (食衛誌, 53, 105–120, 2012) によると、有毒植物の誤食による食中毒には以下の特徴がある；

- 1) 発生件数別の原因植物上位 4 種で全体の約 80%を占める
- 2) 採取しようとした植物 (食用) と誤認する食中毒原因植物との組合せがかなり固定されている。

この様な傾向から、発生件数の多いバイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセンの迅速・簡便な鑑別法を構築することとした。

そこで、バイケイソウとギョウジャニンニク、チョウセンアサガオとゴボウ、トリカブトとニリンソウ、スイセンとニラとを識別するための PCR-RFLP 法を構築した (図 1)。本法を適用するために選択した DNA 領域は *rbcl* または *matK* の一部とした。両領域は中程度の識別能を有する領域として知られている。よって、同一種間の個体差による相違は検出されず、比較する植物とは明確に識別できることが期待される。

また、制限酵素に New England Biolabs 社の Time-Saver™品質の酵素を選択することにより、反応時間を短縮させる (通常 1 時間のところ 5 分で同等の結果が得られる) ことが可能であることを確認した。

2. 模擬調理サンプルからの direct PCR

食中毒事例の原因食品は調理されたものが想定される。そのため、調理された試料に対しても DNA 分析を適用することが可能であるかを検討した。バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセンに対して模擬調理 (10 分間の煮沸) を行った後、DNA の粗抽出および増幅を試みた (図 2)。その結果、模擬調理サンプルから抽出した DNA が、

新鮮材料を用いて抽出した DNA と遜色なく PCR の鋳型として適用可能であることを確認した。

3. *trnH-psbA* intergenic spacer 領域の塩基配列長の比較による食中毒原因植物の推定

調理済みの食中毒原因食品は植物の形態学的な特徴を欠くことが想定される。そのため、迅速な原因植物の推定が、適切な治療を早期に開始することにつながる。

葉緑体ゲノム上の *trnH-psbA* intergenic spacer 領域は種により塩基配列長の変化が顕著にあらわれる領域として知られている。そこで、平成元年～22年に日本で食中毒原因植物と同定された植物の当該領域を比較した。現時点で入手可能なデータに関しては、塩基配列長は 162 bp から 611 bp にわたっている。食中毒発生時期や地域などの情報と合わせて利用することにより、食中毒原因植物の推定をすることが可能になるとと思われる。

D. 考察

有毒植物の誤食による食中毒はウイルスや細菌の汚染による食中毒と比較して、発生件数や患者数は少ないものの致死率が高いため、医療現場における初期対応がより重要となる。食中毒原因植物の同定は患者などによる聞き取り調査や原因成分の化学分析が行われているが、結論に至るまでに時間がかかることが問題となっている。

そこで我々は、迅速・簡便な食中毒原因植物の同定法を開発することを目的に研究を行った。はじめに、誤食例の多い有毒植物 4 種の PCR-RFLP 法を利用した鑑別法を開発した。さらに、上記 4 種を含め過去に誤食例のあった有毒植物の推定においても PCR 法が適用可能であることを示した。

今回開発した鑑別法の特徴は、1) 必要な機器が比較的安価であること、2) 操作が簡便であるため高度な実験手技を必要としないこと、

3) 分析時間が短い (90 分以内) こと、4) 結果 (電気泳動像) の解釈が容易であることが挙げられる。よって、本分析法は保健所や医療機関などの現場において、食中毒患者への初期対応と平行して行えるものと考えている。

E. 結論

PCR-RFLP 法を利用した遺伝子鑑別法により、迅速・簡便な有毒植物鑑別法を確立した。本法は、高価な機器や高度な実験手技を必要とせず、簡便な操作および短時間で、容易に植物種を同定できるので、食中毒患者への初期対応にも有用と考えられる。また、調理済みサンプルにも適用可能なので、従来の形態学的鑑定や化学分析と比較して有用性が高いと思われる。

F. 研究発表

1. 数馬恒平, 佐竹元吉, 紺野勝弘: 重症トリカブト中毒事例とその食品衛生的背景. 食品衛生学雑誌, 2013, 54 (6), 419-425.

G. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

【資料】

表 1. PCR-RFLP 用プライマー

対象植物	Primer	Sequence (5' → 3')
バイケイソウ	BG-rF1	GTCTTGATCGTTACAAAGGACG
ギョウジャニンニク	BG-rR2	CATTACGATAGGAACTCCCAATTC
チョウセンアサガオ	CG-rF12	AGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCC
ゴボウ	CG-rR13	CATTCATAAACAGCTCTACCGTAG
トリカブト	TN-mF3	CCTATCCATCTGGAACCTATTGGTTC
ニリンソウ	TN-mR4	TGAATTTTCTAACATTTGACTCCTTAC
スイセン	SN-rF5	ACTGTGTGGACTGATGGACTTACCA
ニラ	SN-rR6	GCTCTACCGTAGTTTTTTTGCGGATA

表 2. 食中毒原因植物の *trnH-psbA* intergenic spacer 領域の塩基配列長

食中毒原因植物	塩基配列長 (bp)
ニホンスイセン	611 (GQ923940)
タマスダレ	604 (KC704256)
クワズイモ	590
ヨウシュヤマゴボウ	516 (DQ006209)
タバコ	510 (NC_001879)
チョウセンアサガオ	497
イヌサフラン	477 (JF934069)
アジサイ	394 (HE983395)
ジギタリス	393
オクトリカブト	346
コバイケイソウ	281 (JF807783)
バイケイソウ	266 (JF807759)
ドクニンジン	243 (DQ006135)
ヒョウタン	162 (GQ248323)

塩基数の後のカッコは accession number。

Accession number のないデータは今回決定した。

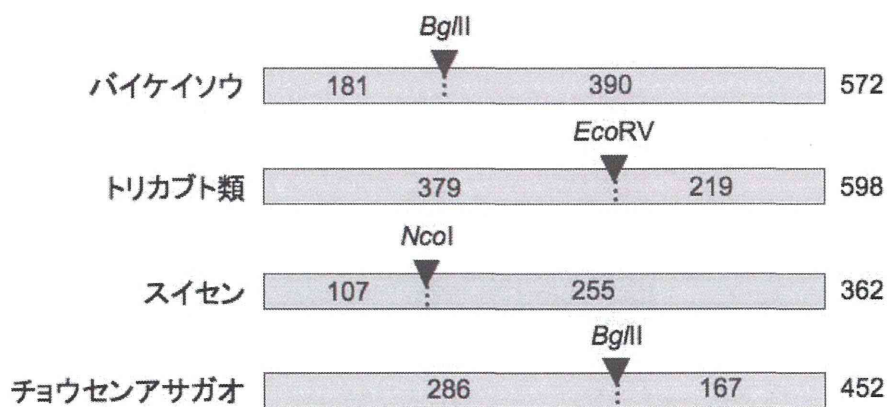
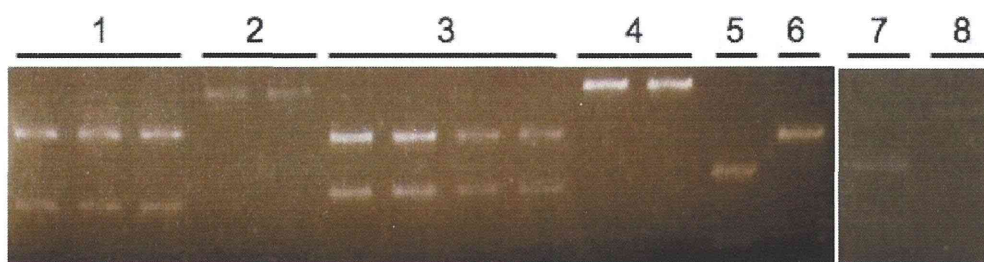


図 1. PCR-RFLP 分析のアガロースゲル電気泳動像.

有毒植物 (1、 3、 5、 7) は制限酵素処理により DNA が切断される。1: バイケイソウ、 2: ギョウジャニンニク、 3: トリカブト、 4: ニリンソウ、 5: スイセン、 6: ニラ、 7: チョウセンアサガオ、 8: ゴボウ



図 2. 模擬調理サンプルからの direct PCR.

レーン 1~3 は 3%アガロースゲル、レーン 4 は 1%アガロースゲルで電気泳動を行った。 1: バイケイソウ、 2: トリカブト、 3: スイセン、 4: チョウセンアサガオ

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクに関する研究」
分担研究報告書

自然毒関連の食品安全情報の収集解析

分担研究者 登田美桜 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 畝山智香子 国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者 與那覇ひとみ 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

自然毒による食中毒の発生を低減するためには、消費者への注意喚起及び自然毒の危険性の周知が有効であるとされている。従って、今後、より効果的に消費者へ自然毒に関する情報を提供できるようにするための資料として、消費者が自然毒についてどの程度の知識を持ち、どのように考えているかを調査した。その結果、消費者は、実際にリスクが高い自然毒よりも、行政的に管理されリスクも低い残留農薬や輸入食品の方を不安に感じていることが確認された。また、自然毒関連用語については、比較的身近なテトロドトキシンや貝毒、テングタケ、ニコチン、トリカブトなどはよく知られていたが、他については全体的に認知度が低かった。今回の調査結果によると、自然毒に関して消費者が広く、そして正しく認識しているとは言えず、食中毒発生の予防対策が十分ではないと考えられた。現在も国や自治体が様々なかたちで情報提供を行っているが、今後は、自然毒に関する消費者の認知度が依然として低いことを認識し、その内容と提供方法をより一層工夫することが求められる。

A. 研究目的

自然毒による食中毒の大部分は動物性・植物性ともに「家庭」で発生しており、消費者の自然毒についての知識不足が原因である場合が多い。以前、国内の自然毒による食中毒に関するリスク管理の現状を把握するために、自治体（都道府県、保健所設置市、特別区）の食品安全担当者を対象としたアンケート調査を実施した。その調査結果によると、多くの自治体が、自然毒による食中毒の発生を低減するには、消費者への注意喚起及び自然毒の危険性の周知が有効であるとした。そのような認識のためか、自治体による取り組みとしては、ウェブサイトでの情報提供、広報誌・冊子・ポスターの配布・展示が多かった。ただし、提供されている情報

の内容（自然毒の種類、詳しさの度合い、等）は自治体によって様々であり、何らかの自然毒による食中毒が発生した時に注意喚起の一環としてその自然毒に関する情報を提供している場合もある。自然毒の種類は非常に多く、全てに関して情報提供をするのは難しい。地域によって問題となる自然毒の種類も異なる。また、自然毒の中でも、フグ毒のように消費者の認知度が高いと考えられるものもあれば、一般的にはほとんど知られていないものもある。このような背景から、焦点を絞って、より効果的に消費者へ自然毒に関する情報提供を行うためには、まずバックグラウンド情報として消費者の自然毒に関する認知度を知る必要がある。従っ

て、本研究では、消費者の自然毒に関する認知度を知るためのアンケート調査を実施した。

B. 研究方法

消費者が自然毒をどのように捉えているか、またどの程度知っているかを理解できるようにするためのアンケート調査表（添付1）を作成した。2013年10～12月、山口県で開催された事業者・大学生・教職員向け講習会の出席者、宮城県の大学生・教職員・公務員向け講習会、神奈川県及び群馬県の一般向け講習会に参加した計370名を対象にアンケート調査表を配布し、調査を実施した。講習会の内容は主に食品関連（ただし、自然毒との関連性はない）のものであった。

回収されたアンケート調査の回答をもとに、自然毒に関する消費者の考えや認知度について検討した。

C. 研究結果及び考察

1. 食品に関する問題の不安について

食品に関する代表的な問題（残留農薬、食品添加物、輸入食品、遺伝子組換え食品、微生物による食中毒、BSE）と自然毒に関して、消費者がどの程度の不安を感じているかを4段階で調査した（図1）。その結果、微生物による食中毒（75%）、輸入食品（69%）及び残留農薬（66%）については、「とても不安」「やや不安」と回答した人が6割を超えていた。一方、自然毒については56%のみで、不安を感じていない人が半数近くいることが確認された。

健康リスクの観点からすると、発生件数・患者数がともに多い微生物による食中毒については、不安を感じる人の割合が多くなるのは妥当である。しかしながら、行政的に管理されて

おりリスクも低い輸入食品及び残留農薬よりも、毎年食中毒が発生し死者も出ている自然毒の方が不安を感じる人の割合が低いのは問題である。よって、自然毒の危険性の周知は不十分な状況であり、今後さらなる取り組みが必要だと考えられる。

2. 自然毒による食中毒に関する知識について

関連分野の研究者や自治体の食品安全担当者であれば当然知っていることでも、消費者が知らないことはよくある。そのため、提供する情報の内容を検討するにあたり、消費者が自然毒についてどのような知識を持っているか知っておくのは有用である。今回、自然毒による食中毒の発生状況や発生要因に関連する基本的な内容について、消費者が正しい知識を持っているか、またどのように考えているか調査した。

1年間の食中毒の発生件数はキノコ毒を原因とする事例が最も多く、そのことを89%の回答者は正しく認識していた（図2）。食中毒の発生場所の多くはフグ毒・キノコ毒ともに家庭であるが、回答者は、キノコ毒についてはそのことを認識しているものの（図4）、フグ毒については家庭と答えた人は約半数で、残りは飲食店又は宿泊施設と回答していた（図3）。また、フグ毒が過去の死亡事例の最も多い原因であることを知っていたのはわずか8%のみであった（図5）。食用にできるフグ種が決まっていることを知らないと回答した人が30%（図6）、フグの肝臓は毒性が高く食べてはいけないことを知らないと回答した人が12%いることがわかった（図7）。フグについては取扱いに関して厚生省環境衛生局長通知「ふぐの衛生確保について」（昭和58年、環乳第59号）が出

されており、フグが毒を持つことはよく知られているため、他の自然毒に比べて認知度は高いものと推定していた。しかしながら、以上の回答を考慮すると、食用にできるフグ種が決められていること、肝臓は毒性が高くて食べてはいけないことについて、必ずしも周知できているとは言えない状況であることが確認された。今後は、まずは現在のフグの取扱いについてどのような通知内容になっているか、食中毒の主な原因となっている自ら捕獲した魚を食べること、特に肝臓等の内臓を食べることのリスクについて周知徹底する必要がある。

キノコ毒による食中毒の多くは、食べられるキノコと外観がよく似ている毒キノコを誤認してしまうことが主な原因である。しかも、キノコの採集者が親戚や隣人に譲り渡すことにより、被害が拡大したケースも少なくない。今回のアンケート調査結果によると、キノコ採りでたくさん採れても知り合いには分けないと答えた回答者は60%であったが、反対に分けると回答した人は12%であった(図8)。また、図鑑があれば食べられるキノコと毒キノコを見分けられるかとの問いに対し、そう思わないと答えた人は77%で大半を占めたが、その一方で14%の人は分からないと回答し、5%の人は見分けられると思うと回答していた(図9)。キノコは、個体差が大きく、同じキノコ種でも色、大きさ、形が異なることがよくある。図鑑に掲載された写真は最も典型的な外観や特徴を示したものであり、それだけでは目の前のキノコの種類を特定するのは難しい。そのため、約2割の人は図鑑があれば見分けられる、あるいは分からないと回答していることを考慮すると、キノコの判別の難しさを消費者により強く伝えていくことが重要だと考えられる。

キノコや高等植物による食中毒事例の中には、偶然に見つけたものを食べて中毒を発症した事例がある。しかしながら、美味しそうに見えるキノコ(図10)や木の実(図11)を見つけたら採集して食べると答えた人はいずれも数%のみで、その点については注意が向けられているものと考えられる。

高等植物による食中毒の発生状況の最近の特徴の一つに、ジャガイモによる食中毒が毎年発生しているということがある。そのほとんどが小学校の授業の一環でジャガイモを栽培し、それを喫食した事例である。これは、栽培に不慣れな教師や生徒が育てるために、栽培や保管が不適切となり、未成熟化や光に当たって有毒成分のソラニン類が多い状態のイモを食することが主な原因である。幸いにも、授業の一環なので喫食量はそれほど多くなく、重症例はない。しかしながら、毎年発生してその都度注意喚起がなされているにも関わらず、発生が決してなくならないというのが問題である。そこで、消費者がジャガイモによる食中毒についてどの程度知っているかを調査した。ジャガイモによる食中毒が毎年発生していることを知っていたのは回答者のうち44%のみであり、52%は知らなかったと回答した(図12)。また、ジャガイモによる食中毒はどこで発生していると思うかとの問いに対しては、74%の人が家庭と回答し、正しく学校と回答したのはたったの13%であった(図13)。これらの結果から、ジャガイモによる食中毒について正しく認識している人は少ないことが確認され、今後は教育現場や子どもがいる家庭を対象に重点的に注意喚起を行う必要がある。

3. 自然毒に関連する用語について

消費者が自然毒に関してどの程度知っているかを確認するため、関連用語の認知度を調査した。ただし、23名の回答者が全ての問いに対して無回答であったため、それらは集計に入れなかった。

3-1. マリントキシン等

食中毒の原因となり得る魚類やマリントキシン等の用語（8つ）について、聞いたことがある又は自然毒と関連することを知っているか質問した。8つの用語のうち回答者の半数以上に認知されていたのは、テトロドトキシン（71%）、ヒスタミン（61%）、麻痺性貝毒（55%）及び下痢性貝毒（50%）であり、他は半数に満たなかった（図14）。認知度が高かったものについては、アンケートを実施した平成23年に食中毒の発生や汚染製品の回収等に関する報道がなされたため、そのことが影響した可能性が考えられた。シガテラ（20%）、テトラミン（19%）及びアブラソコムツ（14%）は、20%以下で認知度が非常に低かった。

3-2. 毒キノコの種類

食中毒の原因となる主な毒キノコの名前について、聞いたことがある又は自然毒と関連することを知っているか質問した。キノコによる食中毒の発生件数及び患者数ともに多いのがクサウラベニタケとツキヨタケである。これら2種でこれまで国内で発生したキノコによる食中毒事例の半分を占めるため、その食中毒予防がリスク管理上有効といえる。しかしながら、それらの認知度を調べてみると、ツキヨタケは回答者の40%、クサウラベニタケは20%と低いことが確認され、依然としてこれらの毒キノコの名前及び危険性について周知できていないことがわかった（図15）。一方、昔から毒キノコとして有名なテングタケについては7割

以上の回答者が知っていると答えた。また、強毒性で症状が重篤化しやすいドクツルタケやカエンタケについても認知度が低かった。

3-3. 有毒な高等植物の種類及び成分

食中毒の原因となる主な高等植物及びその成分について、聞いたことがある又は自然毒と関連することを知っているか質問した。最もよく知られていたのはトリカブトとニコチンであった（図16）。他に、回答者の半数以上に認知されていたのは、ギンナン、ヒガンバナ、青梅、ワラビ及びソラニンであった。逆に認知度が低かったのは、グロリオサ（3%）、イヌサフラン（10%）とその有毒成分であるコルヒチン（13%）であった。平成23年にイヌサフランによる食中毒が2件発生しており、厚生労働省からも注意喚起の通知が出された。コルヒチンは毒性が強く、過去には死亡例も報告されている。しかも、最近ではイヌサフランやグロリオサを園芸植物として見かけることも多くなり身近になっていることを考慮すると、もう少し認知度を上げた方が良いと考えられる。ただし、トリカブトのように食用山菜との誤認による食中毒の発生だけでなく自殺目的に意図的に摂取する可能性があることを考慮すると、強毒性の植物の場合は注意喚起の内容や方法を慎重に検討する必要がある。他に認知度が低かったのがバイケイソウとクワズイモである。平成元年～22年の食中毒統計によると、高等植物による食中毒の中でバイケイソウ類（バイケイソウ・コバイケイソウ・オオバイケイソウ）による事例が最も発生件数が多いのにもかかわらず、バイケイソウの認知度は6%のみであった。クワズイモの認知度は10%であった。バイケイソウ類の次に食中毒の発生件数が多いチョウセンアサガオの認知度は34%であった。

4. 行政による情報提供の仕方について

消費者に対して行政がいくら情報提供をしようとしても、それが消費者まで届かないのであれば意味がない。そこで、どのような方法で情報提供すれば効果的であるのか、消費者の視点から調査することにした。ただし、アンケート調査票作成者が思いつく範囲で選択型の質問形式にしたので、内容についてはバイアスがある。結果は、行政が消費者に対して自然毒に関する情報提供をする場合にどのような方法が効果的だと思うかとの問いに対し(複数回答可)、「テレビによる広報」、「小中学校での教育」及び「新聞による広報」と回答した人が多かった(表1)。国の行政機関や各自治体などの公的機関が情報伝達の方法として利用していることが多いHPでの情報公開、広報誌、講習会は、新聞やテレビなどのメディアや学校教育に比べると回答者は少なかった。また、「講習会は、ある程度興味のある方しか来られないと思うので、あまり効果的でないと思う」「ホームページを見ないような層にも、積極的な情報提供が必要」といった意見も寄せられ、現在の情報提供の方法に加えて何らかの工夫が必要であることが示唆された。

研究目的の項で記した以前のアンケート調査において、自治体から国への要望として、啓発用リーフレット等の資料の作成・配布を行って欲しいという回答が特徴的であった。そのため、本研究では、作成した資料をどのような場所に配布等をするか効果的であるか調査することにした。パンフレットについては、「スーパーマーケット」「小中学校」で配布するのが効果的だとする回答者が多く、次いで「都道府県や市町村の役所・公民館」「保健所」などの

公的施設、「飲食店」が多かった(表2)。ポスターの展示場所についての回答も、パンフレットとほぼ同様の傾向であった(表3)。しかしながら、「スーパーマーケットに有毒魚のポスターが貼ってあると、お店に並んでいる魚がすべて有毒に見えてしまう」といった意見も寄せられ、食品を取り扱っているスーパーマーケットでの配布・展示については、消費者が目にする機会は多いかもしれないが、消費者心理に留意して営業妨害にならないようにしなければならない。また、他の意見として「自然毒についてはあまりPRされていません。ニュースや新聞でPRしなくては市民に知識が全くない」というものがあり、先の効果的な情報提供の方法に関する質問の回答結果も踏まえると、メディアを介した情報提供や注意喚起が最も有効なようである。さらに、いずれの質問についても小中学校での教育が上位にきていることから、自然毒について学べる環境作りが重要だと認識されていることが示唆された。

5. 回答者について

本研究の回答者370名の性別、年齢、職業については図17~19、アンケートを実施した都道府県については図20、釣り・キノコ狩り・山菜採りに行く回数については図21~23に結果を示した。アンケートを実施した地域が限定されたため、そのことが自然毒の関連用語の認知についてはバイアスになっている可能性がある。

D. 結論

自然毒による食中毒の発生を低減するためには、消費者への注意喚起及び自然毒の危険性の周知が有効であるとされている。従って、今

後の取り組みのためのバックグラウンド情報として、消費者が自然毒についてどの程度の知識を持ち、どのように考えているかを調査した。その結果、消費者は、行政的に管理されリスクも低い残留農薬や輸入食品の方が、実際にリスクが高い自然毒よりも不安に感じていることが確認された。また、フグの肝臓は毒性が高く食べてはいけないこと、毎年食中毒が発生しているキノコの名前、小学校で毎年ジャガイモによる食中毒が発生していることなど、消費者に知っておいて欲しい基本的なことでさえ認知度が低いことも確認された。自然毒関連用語については、比較的身近なテトロドトキシンや貝毒、テングタケ、ニコチン、トリカブトなどはよく知られていたが、他は全体的に認知度が低かった。自然毒による食中毒の多くは自ら捕獲又は採集したものの喫食であることから、消費者に、自然毒にはどのようなものがあり、どのような危険性があるのか知って貰うだけでも予防としての効果がある。しかしながら、今回の調査結果によると、自然毒に関して消費者が広く、そして正しく認識しているとは言えず、食中毒発生の予防対策が十分ではないと考えられた。消費者側からすると、メディアでの情報提供、小中学校での教育が効果的だと考えられている。現在も国や自治体が様々なかたちで情報提供を行っているが、今後は、自然毒に関する消費者の認知度が低いことを認識し、その内容と情報提供の方法をより一層工夫することが求められる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 登田美桜：CODEX INFORMATION
FAO/WHO 合同食品規格計画 第7回汚染

物質部会．食品衛生研究，63(9)，47-62
(2013)

- 2) 登田美桜，畝山智香子，春日文子：過去50年間のわが国の高等植物による食中毒事例の傾向．食品衛生学雑誌，55(1)，55-63
(2014)

2. 学会発表

- 1) Toda M, Uneyama C, Kasuga F : Trends of food poisonings caused by poisonous plants in Japan, 1989-2010. 第13回国際トキシコロジー学会，2013年7月，韓国ソウル.
- 2) 登田美桜，畝山智香子，春日文子：わが国における動物性自然毒による食中毒の傾向．第106回日本食品衛生学会学術講演会，2013年11月，宜野湾市.
- 3) 登田美桜：日本国内で発生する自然毒による食中毒．第50回全国衛生化学技術協議会年会，2013年11月，富山市.
- 4) 登田美桜，畝山智香子，春日文子：昭和36年～平成22年に報告された高等植物による食中毒事例の傾向．第28回日本中毒学会東日本地方会，2014年1月，東京都.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 謝辞

消費者の自然毒に関する認識に関するアンケート調査にご協力いただいた皆様に心から感謝申し上げます。