

201327037A

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

フグ等の安全性確保に関する総括的研究

平成25年度 総括・分担研究報告書  
(H25-食品-一般-013)

研究代表者 長島裕二

平成26 (2014) 年5月

別添 1

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

フグ等の安全性確保に関する総括的研究

平成25年度 総括・分担研究報告書  
(H25-食品-一般-013)

研究代表者 長島裕二

平成26 (2014) 年5月

別添2

目 次

I. 総括研究報告 フグ等の安全性確保に関する総括的研究 1 長島裕二	
II. 分担研究報告	
1. 日本沿岸産フグ類の毒性と麻痺性貝毒蓄積能 荒川 修	7
2. フグの毒性試験と毒化能の検討 長島裕二	14
3. フグの毒成分の同定と定量 佐藤 繁	20
4. 亜熱帯産フグ等の毒性試および調査 大城直雅	24
5. フグ類の形態に基づく分類 松浦啓一	33
6. フグの分類に関する研究 (遺伝子解析) 石崎松一郎	37
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	42
IV. 研究成果の刊行物・別刷	44

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）  
「フグ等の安全性確保に関する総括的研究」  
総括研究報告書

研究代表者 長島裕二 東京海洋大学大学院 海洋科学系

研究要旨

フグ等の安全性確保のため、Ⅰ. フグの毒性に関する調査研究とⅡ. フグの分類に関する研究を行った。

Ⅰ. フグの毒性に関する調査研究

まず、これまで公表してきた各種フグ類の毒性データを整理し、谷の「日本産フグの毒力表」の毒性データと比較した。3種のフグ（トラフグ、マフグ、コモフグ）で、一部の部位の最高毒性が「日本産フグの毒力表」を上回るような既得毒性データ例があることがわかり、コモフグでは“強毒”（100～1000 MU/g）の皮から最高 2397 MU/g の毒性が検出された例がみられた。また、シロサバフグでは、“無毒”の範疇ながら肝臓から 2.2～7.9 MU/g の毒性が検出された。

フグの毒性実態調査として、2012年～2013年に三重県沿岸で漁獲されたフグ類3属13種26検体、2009年と2013年に岩手県釜石魚市場にそれぞれ水揚げされたコモフグ50検体とシロサバフグ46検体、さらに沖縄産クロサバフグ50検体、センニンフグ35検体およびヨリトフグ6検体の合計3属16種213検体の個体別、組織別毒性を測定した。その結果、各地域における各種フグ類の毒性は概ねこれまでの報告と一致していたが、ショウサイフグ精巢で11 MU/gの毒性が1例検出された。

各地におけるフグ食中毒の特徴を明らかにするため、平成22～23年度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「食品中の自然毒のリスク管理に関する研究」の成果として得られた、昭和35年～平成22年に発生した食中毒事件例のリストを用いて、各自治体別のフグによる食中毒事件一覧を作成した。

Ⅱ. フグの分類に関する研究

日本近海で漁獲される自然交雑フグの種判別を正確に行うため、日本産フグ類を形態学的に再検討するとともに、遺伝子による種判別法の開発に取り組んだ。形態分類では、サバフグ属の分類学的研究とトラフグ属の交雑種個体の研究に重点を置いた。その結果、クロサバフグ *Lagocephalus gloveri* はニュージーランドとオーストラリア東岸から知られていた *Lagocephalus cheesemani* と同一であったため、クロサバフグの学名を変更すべきことが明らかとなった。トラフグ属の交雑種個体を検討した結果、ショウサイフグ、トラフグおよびマフグが関与していることが判明した。

これとは別の交雑フグ種10個体につき、ミトコンドリアDNA塩基配列に基づく雌親種の同定を行った結果、8個体は形態学的鑑別法による推定と一致したが、2個体（ショウサイフグ×コモフグおよびコモフグ×ムシフグ各1個体）については形態学的鑑別法による推定と異なり、外部形態から両親種を推定することが困難なもの、あるいは過去の類似事例の知見が適用できないものが存在することが明らかとなった。したがって、報告や事例の蓄積が十分とは言えない交雑種に関しては、外部形態のみで両親種を判別することには注意が必要である。核DNAマイクロサテライト領域を対象にした父系魚種の同定に関しては、トラフグ属、サバフグ属で個別の領域設定が必要であることがわかり、マーカーとして有効と考えられる V1R、MC1R、MC4R、POMC、ITS1 および ITS2 領域のクローニングを個々の個体で確認中である。

#### 研究分担者

荒川 修 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科・教授  
佐藤 繁 北里大学海洋生命科学部・准教授  
大城 直雅 国立医薬品食品衛生研究所・室長  
松浦 啓一 国立科学博物館・特任研究員  
石崎松一郎 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・准教授

#### A. 研究目的

フグ食中毒の発生件数と患者数は食中毒全体の2%以下だが、死者数は全体の1/3を占め、致死率が高い極めて危険な食中毒である。フグ食中毒防止のため、わが国では厚生労働省通知で食用可能なフグの種類、部位、漁獲地域を定め、都道府県条例等でフグ取扱いの場所と人を制限してフグの安全性確保を担保している。通知に基づく食用可能なフグの種類と部位は、1945年に谷が報告した西日本および東シナ海で漁獲したフグ類の毒性調査がもとになっているが、その後、谷の「日本産フグの毒力表」を上回る毒力を示す例が散見され、フグ毒以外にも麻痺性貝毒やパリトキシン様毒によるフグ食中毒が発生している。また、平成19～20年にはキンシバイによるフグ毒中毒が続発した。このようにフグ食中毒およびフグ毒中毒は複雑化しており、フグ等の安全性確保における新たな問題点となっている。

フグの毒性は種によって著しく異なるため、フグの種判別は食中毒防止の重要管理項目である。しかしながら、フグは形態が酷似しており種を正確に判別することは難しい。これがフグ食中毒の一因となっている。その上、近年温暖化のためか南方産フグの出現や自然交雑フグが各地で確認されるようになり、正確なフグの判別が必要になっている。特に、トラフグとマフグの交雑と推定されるフグは古くから知られ、混獲量も少なくない。交雑フグについては、前記の通知の中で「両親種ともに食べてもよい部位のみを可食部位とする」と定めているが、実際の毒性に関する報告例は少なく、この規定が妥当かどうか明らかでない。このような状況の下、本研究では、フグ食の安全性確保を目的として、Ⅰ.フグの毒性に関する調査研究とⅡ.フグの分類に関する研究を行った。

「Ⅰ.フグの毒性に関する調査研究」では、既得毒性データを整理するとともに、各種フグ類の

毒性実態調査を実施した。また、各地におけるフグ食中毒の特徴を明らかにするため、食中毒事件として届出のあったフグによる食中毒事例を自治体別にまとめた。

「Ⅱ.フグの分類に関する研究」では、日本産フグ類を形態学的に再検討するとともに、DNAによる交雑種フグの種判別法の開発に取り組んだ。

#### B. 研究方法

##### Ⅰ. フグの毒性に関する調査研究

##### 1) 各種フグの既得毒性データ

研究分担者(荒川)が関わった論文の毒性データと未発表データを整理し、谷の「日本産フグの毒力表」の毒性データと比較した。

##### 2) フグの毒性実態調査

フグの毒性は同種のフグであっても漁獲海域によって異なるので、海域を定め、3つの地区で漁獲された各種フグの個体別、組織別毒性を詳細に調べた。

試料には、2012年6月～2013年4月に三重県沿岸で漁獲されたフグ科3属13種26検体(トラフグ属ヒガンフグ4個体、アカメフグ1個体、ショウサイフグ7個体、ナシフグ2個体、マフグ1個体、コモンフグ3個体、シマフグ1個体、ムシフグ1個体、クサフグ2個体、トラフグ1個体、モウヨフグ属ホシフグ1個体、サバフグ属クマサカフグ1個体、センニンフグ1個体)を用いた。毒性試験は、食品衛生検査指針のフグ毒検査法に従い、マウス試験法で行った。

東北地方太平洋沿岸の一部海域で漁獲されるヒガンフグやコモンフグでは、筋肉に高濃度の毒性が検出されることがある。そこで、2009年7月に岩手県釜石魚市場に水揚げされたトラフグ属コモンフグ50個体および同市場で2013年6月に水揚げされたサバフグ属シロサバフグ46個体を試料とした。これらについては、HPLC-蛍光検出法で分析し、テトロドトキシン(TTX)、4-*epi*-TTX、4,9-anhydroTTXを定量した。

前述の谷の「日本産フグの毒力表」には、奄美・沖縄を含めた熱帯・亜熱帯域のフグ種についてほとんど記載がない。また、九州地方では熱帯性のドクサバフグの水揚げと食中毒が発生していることから、熱帯・亜熱帯域のフグの毒性を調べるため、沖縄県衛生環境研究所にて採集・保管されて

いたサバフグ属クロサバフグ 50 個体、センニンフグ 35 個体およびヨリトフグ属ヨリトフグ 6 個体の筋肉について、LC-MS/MS 法で TTX を分析した。

### 3) 自治体によるフグの毒性検査結果等の収集

各地におけるフグ食中毒の特徴を明らかにするため、平成 22～23 年度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「食品中の自然毒のリスク管理に関する研究」(代表 長島裕二)の成果として得られた、昭和 35 年～平成 22 年に発生した食中毒事件例のリストを用いて、各自治体別のフグによる食中毒事件一覧を作成した。

## II. フグの分類に関する研究

### 1) 形態に基づく分類

国内外の自然史系博物館や大学に保管されている日本産フグ類を調査した。また、北海道、神奈川県、京都府、高知県、長崎県、沖縄県でフィールド調査も行った。新鮮な標本が得られた場合には、カラー写真を撮影して、分類学的な研究に使用した。形態性質を調査するため、入手した標本は 10%ホルマリンで固定後、70%アルコールに保存して、形態学的調査を行った。

### 2) 遺伝子による種判別

試料には日本各地から採集し外観からの形態学的判定で交雑フグ種と判断された 7 種(トラフグ×クサフグ、トラフグ×マフグ、トラフグ×シマフグ、ショウサイフグ×コモンフグ、コモンフグ×ムシフグ、ショウサイフグ×ゴマフグおよびショウサイフグ×マフグ) 10 個体を用い、これらの筋肉から全ゲノム DNA を抽出、精製した。次に、全ゲノム DNA を用いてミトコンドリア DNA 中の 16S rRNA およびシトクローム *b* 領域の各々約 620bp および 390bp を含む部分領域を PCR 増幅した。PCR 産物の塩基配列を決定し、公的データベースおよび研究室で新たに構築したフグ種専用データベースから雌親種の同定を行った。

また、サバフグ属交雑種の判別に資することを目的に、これまでミトコンドリア DNA 塩基配列情報が得られていなかったカイユウセンニンフグ *Lagocephalus suezensis* のミトコンドリア DNA 全塩基配列を、プライマーウォーキング法により決定した。

## C. 研究結果

## I. フグの毒性に関する調査研究

### 1) 各種フグの既得毒性データ

3 種のフグで、一部の部位の最高毒力が「日本産フグの毒力表」を上回っていた。トラフグでは毒力表で“無毒”(<10 マウスユニット (MU) /g) とされている皮と精巣で、それぞれ最高 14 および 20 MU/g の毒性を示す個体がみられた。同様に、マフグでは“無毒”の筋肉と精巣から、ともに最高 60 MU/g、コモンフグでは“強毒”(100～1000 MU/g) の皮から最高 2397 MU/g の毒性が検出された例がみられた。また、シロサバフグでは、“無毒”の範疇ながら肝臓から 2.2～7.9 MU/g の毒性が検出された。

### 2) フグの毒性試験

2012～2013 年に三重県沿岸で漁獲されたフグ 26 検体中 18 検体が有毒 (10 MU/g 以上) であった。このうち、毒性が最も高かったのは、マフグ卵巣の 1220 MU/g で、次いでショウサイフグ卵巣が 1120 MU/g を示し、これらは“猛毒”レベル (1000 MU/g 以上) であった。魚種別に最高毒性値を比較すると、マフグ、ショウサイフグ以下、クサフグ (卵巣 748 MU/g)、ナシフグ (皮 379 MU/g)、ムシフグ (卵巣 337 MU/g)、コモンフグ (皮 263 MU/g)、ヒガンフグ (卵巣 157 MU/g)、シマフグ (卵巣 50 MU/g) の順で、ナシフグとコモンフグ以外は卵巣が最高毒性部位であった。

2009 年 7 月に釜石魚市場に水揚げされたコモンフグの大部分の個体で、筋肉に 10 MU/g を超える TTX 群がみられた。一方、2013 年 6 月に釜石魚市場に水揚げされたシロサバフグの筋肉、皮、肝臓および生殖腺には 10 MU/g を超える TTX 群は確認されず、消化管の 2 個体のみ 20 MU/g 程度の TTX 群が検出された。

沖縄近海産のクロサバフグ 50 個体、センニンフグ 35 個体およびヨリトフグ 6 個体の筋肉について、LC-MS/MS で TTX を分析した結果、クロサバフグは全個体が検出限界 (0.11MU/g) 未満、ヨリトフグ筋肉は 1 個体だけ検出限界以上定量限界 (0.45MU/g) 未満の TTX が検出された。これに対し、筋肉が有毒とされているセンニンフグは 9 検体 (25%) が有毒 (10 MU/g 以上) で、毒性レベルは“弱毒” (10～99 MU/g) であった。

### 3) 自治体によるフグの毒性検査結果等の収集

各自治体において実施したフグの毒性調査を収

集するための基礎資料を作成した。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「食品中の自然毒のリスク管理に関する研究」の成果として得られた、昭和 35 年～平成 22 年に発生した食中毒事件例のリスト（総数 2,401 件）をもとに、自治体別の食中毒事件を調べたところ、群馬県を除く 46 都道府県で発生があり、自治体数としては 58 におよんだ。最も件数が多かったのが広島県（256 件）で、山口県（200 件）、兵庫県（198 件）、愛媛県（169 件）、岡山県（151 件）と続いた。

## II. フグの分類に関する研究

### 1) 形態に基づく分類

今年度はサバフグ属の分類学的研究とトラフグ属の交雑種個体の研究に重点を置いた。

サバフグ属の標本は国立科学博物館、北海道大学総合博物館、神奈川県立生命の星・地球博物館、京都大学総合博物館、高知大学理学部、西海区水産研究所および鹿児島大学総合研究博物館において行った。その結果、日本には以下の 7 種が出現することが明らかとなった：クロサバフグ *L. cheesemanii*、カナフグ *Lagocephalus inermis*、クマサカフグ *L. lagocephalus*、ドクサバフグ *L. lunaris*、シロサバフグ *L. spadiceus*、センニンフグ *L. scleratus*、カイユウセンニンフグ *L. suezensis*。Abe and Tabeta (1982)によって静岡県等から得られた標本に基づいて新種 *Lagocephalus gloveri*として発表されたクロサバフグのタイプ標本は、オーストラリア博物館とニュージーランド博物館から借用した *L. cheesemanii* の標本と形態学的に相違がないことが明らかとなった。さらに、オーストラリア博物館と CSIRO から *L. cheesemanii* の組織サンプルを入手して日本産のクロサバフグと遺伝子を比較したところまったく差が見られなかった。したがって、Abe and Tabeta (1982)が新種として発表した *L. gloveri* は *L. cheesemanii* のシノニムであり、クロサバフグの学名には *L. cheesemanii* を適用することとなる。

トラフグ属の交雑種 8 個体を調査した。8 個体のうち、体色からショウサイフグの雑種と判断されるものが 5 個体あった。他の 1 個体 (No. 6 と仮称) はマフグの若魚に似た色彩をもつが、マフグに見られる胸鰭後方の大黒斑がない。別の 1 個体 (No. 7 と仮称) は背鰭前方の体背部と腹面に小棘をもつこと、胸鰭後方の大黒斑を含む体全体の色

彩によってトラフグの雑種と判断される。1 個体 (No. 8 と仮称) は胸鰭後方に大黒斑に白い縁取りがあり、トラフグに似ているが、体の腹側に 1 本の黄色縦線が走り、臀鰭が黄色であり、トラフグとは異なる。

### 2) 遺伝子による種判別

今回採集した交雑フグ種 7 種 10 個体につき、ミトコンドリア DNA 塩基配列に基づく雌親種の同定を行った結果、形態学的鑑別法による推定どおりの結果であったものは 5 種 8 個体であり、2 種 (ショウサイフグ×コモンフグの 1 個体およびコモンフグ×ムシフグの 1 個体) については形態学的鑑別法による推定と異なった。

カイユウセンニンフグのミトコンドリア DNA 全塩基配列を、すでに解析されている他のサバフグ種と比較した結果、ミトコンドリア DNA の塩基組成は他のサバフグ種と大きな差異は認められなかった。しかし、分子系統樹の結果から、サバフグ属フグ類はセンニンフグ、カイユウセンニンフグのグループとその他のグループで大きく分岐し、さらに、その後カイユウセンニンフグがある時点でセンニンフグから分岐したことがわかった。

## D. 考察

### I. フグの毒性に関する調査研究

#### 1) 各種フグの既得毒性データ

トラフグでは皮と精巣で“弱毒” (10~100 MU/g) を示す個体がみられた。本種は成長段階によって毒の体内動態が異なり、肝臓が未発達天然稚魚では、しばしば皮から微量の TTX が検出される。しかしながら、毒投与実験において肝臓が発達した個体では皮への移行毒量が僅少となること、皮は湯がいて食するため、その過程で毒が (もしあっても) かなり減少すると考えられること、1 回の摂食量も筋肉よりはるかに少ないこと、これまでにトラフグの皮による中毒例がないこと、などから、現時点で問題視する必要はないものとする。

一方、精巣が“弱毒”であった個体は、雌雄同体で、卵精巣と精巣を取り違えた可能性がある。他方、マフグでは、筋肉と精巣から“弱毒”が検出されたが、本種は皮が“強毒”、肝臓と卵巣が“猛毒” (> 1000 MU/g) であるため、凍結・解凍により、これらの部位から毒が筋肉や精巣に移行した可能性がある。

## 2) フグの毒性実態調査

三重県沿岸で漁獲されたフグ類 3 属 13 種 26 検体の毒性は概ね「日本産フグ類の毒力表」の範囲にとどまっていた。しかし、精巢は、10 個体中 1 個体（ショウサイフグ）から 11MU/g の毒性が検出された。ショウサイフグの精巢は食用可とされているので、フグ食の安全性確保のために、今後調査する必要がある。筋肉については 2 個体（ナシフグとムシフグ各 1 個体）から 10~11 MU/g の毒性が検出された。しかし、ナシフグは皮の毒性が高いため、凍結・解凍によってフグ毒が無毒の筋肉部に移行することが実験的に確かめられているので、その影響によるものと考えられる。ムシフグについても毒の移行が原因と推測されるが、ムシフグの毒性に関するデータが少ないため、筋肉が有毒か否かは不明である。したがって、安全性が確保できていないため食用が認められていない。

岩手県釜石魚市場に水揚げされたコモンフグのうち、筋肉の 28%が“無毒”、62%が“弱毒”、10%が“強毒”であり、毒性レベルの傾向は Kodama et al. (1984) の結果とほとんど変わっていないことが明らかとなった。シロサバフグは、消化管のみが有毒で他の部位には 10 MU/g を超える TTX 群は検出されなかった。

沖縄産のクロサバフグとヨリトフグの筋肉から TTX はほとんど検出されず、本研究においても、クロサバフグとヨリトフグの筋肉は、通知による「処理等によりヒトの健康を損なう恐れがないと認められる」ことが再検証された。これに対し、センニンフグはリストへの掲載もなく、「食用不可」である。全体の 60%が“無毒”であるため、無毒種との誤認がおきる可能性がある。また、沖縄では、センニンフグの形態が一般的なフグとは異なるため、フグとの認識が無いまま食したことによる食中毒の記録がある。

## 3) 自治体によるフグの毒性検査結果等の収集

各自治体において実施したフグの毒性検査結果等を収集するための基礎データとして、自治体ごとの食中毒発件数を調べた。本結果をもとに各地方衛研等へのアンケートを実施するための準備を行っている。特に件数の多い自治体等については、重点的に調査を進めたい。

## II. フグの分類に関する研究

### 1) 形態に基づく分類

サバフグ属の分類学的検討を通じて日本産フグ類の分類には再検討すべき点があることが明らかとなった。サバフグ類はインド・西太平洋に広く分布する種が多いため、今後、外国産の標本との比較を行い、サバフグ属全体の分類を確立する必要がある。

トラフグ属の交雑種と思われる標本を検討したところ、ショウサイフグ、マフグおよびトラフグが関与した雑種であると判断できた。標本調査を広げれば他の地域からも得られる可能性が高い。

### 2) 遺伝子による種判別

本研究で鑑別した交雑種のうち、トラフグとマフグの雑種やトラフグとシマフグの雑種のように、従来から存在が知られ、両親種の中間的な特徴を明瞭に示すものは、外部形態による両親種の推定が可能であり、mtDNA 解析法によってその推定が支持されたが、ゴマフグとショウサイフグの雑種のような両親種の中間的な特徴を示さないものや、外部形態から両親種を推定することが困難なもの、あるいは過去の類似事例の知見が適用できないものが存在することが明らかとなった。したがって、報告や事例の蓄積が十分とは言えない交雑種に関しては、外部形態のみで両親種を判別することには注意が必要であると思われる。

## E. 結論

### I. フグの毒性調査

既得の毒性データを整理したところ、3 種のフグで、一部の部位の最高毒力が「日本産フグの毒力表」を上回るような既得毒性データ例があることがわかった。

フグの毒性実態調査として、2012 年~2013 年に三重県沿岸で漁獲されたフグ類 3 属 13 種 26 検体、2009 年と 2013 年に岩手県釜石魚市場にそれぞれ水揚げされたコモンフグ 50 検体とシロサバフグ 46 検体、さらに沖縄産サバフグ属クロサバフグ 50 検体、センニンフグ 35 検体およびヨリトフグ属ヨリトフグ 6 検体の個体別、組織別毒性を測定した。その結果、各地域における各種フグ類の毒性は概ねこれまでの報告と一致していたが、ショウサイフグ精巢で 11 MU/g の毒性が 1 例検出されたため、今後調査が必要である。

食中毒統計から、フグ食中毒は西日本で多く発生していることがわかった。これら自治体におけるフグの毒性データと照合することにより、地域



におけるフグ中毒の特徴を明らかにする。

## II. フグの分類に関する研究

サバフグ属の分類学的研究を行った結果、クロサバフグ *Lagocephalus gloveri* は、ニュージーランドとオーストラリア東岸から知られていた *Lagocephalus cheesemanii* と同一であったため、クロサバフグの学名を変更すべきことが明らかとなった。

トラフグ属の雑種個体を検討した結果、ショウサイフグ、トラフグおよびマフグが関与していることが判明した。交雑フグ種の親種判別に関しては、外部形態のみで両親種を判別することには注意が必要であり、遺伝子による判別法を併用して慎重に判定する必要がある。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) H. Feroudj, T. Matsumoto, Y. Kurosu, G. Kaneko, H. Ushio, K. Suzuki, H. Kondo, I. Hirono, Y. Nagashima, S. Akimoto, K. Usui, S. Kinoshita, S. Asakawa, M. Kodama, S. Watabe: DNA microarray analysis on gene candidates possibly related to tetrodotoxin accumulation in pufferfish. *Toxicon*, 77 巻, 68-72 (2014).
- 2) S. Sato, Y. Takata, S. Kondo, A. Kotoda, N. Hongo, M. Kodama: Quantitative ELISA kit for paralytic shellfish toxins coupled with sample pretreatment. *J. AOAC Int.*, 97 巻, in press (2013).
- 3) 荒川 修: フグ類が保有する毒の分布, 蓄積機構, および生理機能. *日本水産学会誌*, 79 巻, 311-314 (2013).
- 4) 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花, 王 俊杰, 辰野竜平, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修, 野口玉雄: 天然トラフグ肝臓の毒性分布. *食品衛生雑誌*, 54 巻, 277-281 (2013).
- 5) 與儀健太郎, 大城直雅, 松田聖子, 佐久川さつき, 松尾敏明, 安元 健: 奄美大島・加計呂麻島におけるシガテラ原因魚の毒組成解析. *食品衛生学雑誌*, 54 巻, 385-391 (2013).
- 6) 長島裕二: 食品中の魚毒(フグ毒)による食中毒とその予防. *食品衛生研究*, 63 巻 2 号, 21-30 (2013).
- 7) 長島裕二, 松本拓也: フグ毒化機構解明に向けた最近の研究. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, 218 巻, 266-275 (2013).

## 2. 書籍

- 1) 齋藤昌義, 濱田友貴, 荒川 修: 第 7 章 食の安全を追求する科学, “農学の魅力”, 安田弘法, 中村宗一郎, 太田寛行, 橘 勝康, 生源寺眞一 編, 養賢堂, 東京, pp. 169-195 (2013).
- 2) 長島裕二: コラム 5 魚介毒の化学成分と薬理作用. “フィールドベスト図鑑 vol. 17 危険・有毒生物”, 篠永 哲, 野口玉雄, 今泉忠明, 小川賢一 監修, 学研, 東京, p. 236 (2013).
- 3) 荒川 修: コラム 7 動物界におけるフグ毒の分布. “フィールドベスト図鑑 vol. 17 危険・有毒生物”, 篠永 哲, 野口玉雄, 今泉忠明, 小川賢一 監修, 学研, 東京, p. 238 (2013).

## 2. 学会発表

- 1) R. Tatsuno, T. Mine, Y. Yamanaka, T. Takatani, O. Arakawa: Growth-associated changes in internal tetrodotoxin distribution and skin structure in three species of pufferfish, 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea, Keelung, Sep. 2013.
- 2) 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花, 王 俊杰, 辰野竜平, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修, 野口玉雄: 天然トラフグ肝臓の毒性分布. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
- 3) 辰野竜平, 反町太樹, 谷山茂人, 大城直雅, 久保弘文, 高谷智裕, 荒川 修: テトロドトキシンを給餌した腐肉食性小型巻貝 2 種の毒性. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
- 4) 山中祐二, 新名真也, 山下洋平, 辰野竜平, 高谷智裕, 荒川 修: 天然ヒガンフグの麻痺性貝毒蓄積能. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
- 5) 辰野竜平, 井樋洗太郎, 沖田光玄, 山中祐二, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修: トラフグに筋肉内投与した TTX の動態 -肝臓と皮の毒蓄積様式の相違-. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
- 6) 岩下裕子, 山下洋平, 市川 航, 荒川 修, 高谷智裕: 異なる波長の照射光下で培養した *Alexandrium catenella* の麻痺性貝毒産生. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3

月

- 7) 沖田光玄, 平野 雪, 木下滋晴, 小島大輔, 山崎英樹, 崎山一孝, 高谷智裕, 荒川 修, 阪倉良孝: トラフグ稚魚のフグ毒感知, 摂取, および脳内蓄積に関連する遺伝子の発現. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
- 8) 糸井史朗, 吉川沙織, 朝比奈潔, 鈴木美和, 石塚健人, 瀧本成美, 光岡涼子, 横山直人, 出竹歩美, 高柳智江, 江口美帆, 小久保翔太, 高梨志保里, 三浦 愛, 河根三雄, 水藤勝喜, 辰野竜平, 高谷智裕, 荒川 修, 阪倉良孝, 杉田治男: フグの仔魚は母親由来の TTX によって守られている. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
- 9) 長島裕二, 佐藤康介: トラフグ体表粘液のプロテアーゼインヒビター. 第 27 回海洋生物生理活性談話会. 2013 年 5 月, 東京都港区.
- 10) 桐明 絢, 長島裕二, 塩見一雄: カサゴ目魚類刺毒の性状および一次構造. 第 27 回海洋生物生理活性談話会. 2013 年 5 月, 東京都港区.
- 11) 尹 顕哲, 石崎松一郎, 長島裕二: LC-MS によるフグ毒関連物質の検出. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 12) 尹 顕哲, 石崎松一郎, 長島裕二: ヒガンフグ卵巣におけるフグ毒の化学形態. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 13) 桐明 絢, 鈴木靖子, 長島裕二, 塩見一雄: アイゴ刺毒の一次構造およびカサゴ目魚類刺毒との構造比較. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 14) 太田 晶, 須賀恵美, 石崎松一郎, 土井啓行, 石橋敏章, 松本拓也, 長島裕二: 食用フグの肝臓におけるテトロドトキシンおよび麻痺性貝毒の蓄積. 106 回食品衛生学会学術講演会. 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
- 15) 桐明 絢, 石崎松一郎, 長島裕二: ミトコンドリア DNA を用いたテトラミン食中毒原因巻貝の種判別法. 106 回食品衛生学会学術講演会. 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
- 16) 長島裕二: 海洋動物の毒. 第 28 回日本中毒学会東日本地方会. 2014 年 1 月, 東京都港区.
- 17) 松本拓也, 桐明 絢, 渡部終五, 長島裕二: トラフグ幼魚におけるフグ毒テトロドトキシンの胆汁中排泄機構の検討. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 2014 年 3 月, 北海道函館市.
- 18) 與儀健太郎, 佐久川さつき, 大城直雅, 村田 龍,

- 池原 強, 安元 健: 魚類食中毒シガテラの原因物質シガトキシン類の LC-MS/MS 分析. 2013 年 7 月, 大阪府大阪市.
- 19) 與儀健太郎, 佐久川さつき, 村田 龍, 大城直雅, 池原 強, 安元 健: LC-MS/MS によるシガトキシン類分析の検討. 第 50 回全国衛生化学協議会年会, 2013 年 11 月, 富山県富山市.
  - 20) 白石一陽, 村田 龍, 照屋菜津子, 佐久川さつき, 小島 尚, 大城直雅: HILIC-LC/MS による亜熱帯産フグの毒性分析. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
  - 21) 村田 龍, 大城直雅: HILIC-LC/MS による麻痺性貝毒の一斉分析. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
  - 22) 内田秀明, 平良洋介, 大城直雅, 安元 健: 渦鞭毛藻由来パリトキシン関連新奇化合物の LC/MS による探索と構造研究. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
  - 23) 大城直雅, 佐久川さつき, 円谷 健, 藤井郁雄, 平間正博, 安元 健: 本州沿岸産の大型イシガキダイによるシガテラが疑われる 3 事例. 第 4 回日本中毒学会九州地方会, 2014 年 1 月, 沖縄県西原.
  - 24) 村田 龍, 大城直雅: LC-MS/MS による下痢貝毒分析の検討. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月, 北海道函館市.
  - 25) 松浦啓一: シッポウフグ属の分類学的検討と奄美大島の海底にミステリーサークルを作るシッポウフグ属の 1 未記載種. 2013 年度日本魚類学会年会, 2013 年 10 月, 宮崎県宮崎市.
  - 26) Acar Caner, 石崎松一郎, 長島裕二: Complete mtDNA sequences of common Turkish puffer fish species and comparison among species. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 2014 年 3 月, 北海道函館市.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) エビ類検出用プライマーセット, 特許第 5483173 号, 2014 年 2 月 28 日.

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）

「フグ等の安全性確保に関する総括的研究」

平成 25 年度分担研究報告書

### 日本沿岸産フグ類の毒性と麻痺性貝毒蓄積能

研究分担者 荒川 修 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

研究協力者 高谷智裕 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

研究協力者 辰野竜平 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

#### 研究要旨

フグ食の安全性確保に資することを目的とし、各種海産フグおよび交雑種フグの既得毒性データ、ならびにトラフグとヒガンフグの PSP 蓄積能について検討した。研究分担者が関わった既報および未発表の毒性データを整理し、谷博士の「日本産フグの毒力表」と比較したところ、3種のフグおよび2タイプの交雑種フグで、一部の部位の最高毒力が「日本産フグの毒力表」、もしくはそこに記載された両親種の毒力を上回っていることがわかった。一方、海産フグの PSP 蓄積能把握に資するため、トラフグおよび成熟段階が異なるヒガンフグへの PSP 投与実験を行った。その結果、トラフグの場合、毒投与 48 時間後にいずれの部位からも PSP は検出されず、少なくとも未成熟のトラフグには PSP 蓄積能はほとんどないものと推察された。ヒガンフグでは、未成熟群と成熟群で PSP の取り込みや部位間移行に違いがみられたが、総じて PSP 蓄積能は低く、卵巣以外の部位には PSP をほとんど蓄積しないことが示唆された。

#### A. 研究目的

古くから日本人はフグを貴重な食材として扱ってきた。しかしながら、フグは猛毒テトロドトキシン (TTX) をもつため、これを原因とした食中毒が起きている。フグ食中毒は、発生件数と患者数では食中毒全体の数%にも満たないが、死者数では最も多く、致死率が高いきわめて危険な食中毒である。その防止のため、わが国では「フグの衛生確保について」(厚生省環境衛生局長通知環乳第 59 号 昭和 58 年 12 月 2 日)で、食用可能なフグの種類と部位、漁獲海域を定めるとともに、都道府県条例等でフグを取り扱うことができる場所と人を制限し、その安全性を確保している。前述の国の通知は、谷博士が西日本および東シナ海で漁獲したフグ類の毒性調査をまとめて 1945 年に発表した「日本産フグの毒力表」に基づいて策定されたものであるが、近年、同表を上回る毒力を示すフグの例が散見されている。

一方、近年の温暖化のためか、種の異なるフグが交配した自然交雑種フグが各地で確認されるようになってきている。特にトラフグとマフグの交雑と推定されるフグは古くから知られ、混獲量も少

くない。交雑種フグについては、前記の通知の中で「両親種ともに食べてもよい部位のみを可食部位とする」と定めているが、実際の毒性に関する報告例は少なく、この規定が妥当かどうか明らかでない。

他方、淡水産のフグは、二枚貝の毒化に関わる麻痺性貝毒 (PSP) を保有するが、近年数種の海産フグからも PSP の検出例が報告されている。フグ食のリスク管理は、これまでフグの毒が TTX であることを前提として行われてきたが、食用可能なフグにおける PSP の蓄積状況や蓄積能に関する基礎的な知見は少なく、通知で定められたフグを中心に、この点の見直しが急務である。

このような状況の下、フグ類の毒性を見直し、フグ食の安全性確保に資するため、今年度は、まず各種海産フグ、ならびに日本各地で採取された交雑種フグについて既得毒性データを整理するとともに、トラフグとヒガンフグを用いて PSP 投与実験を行い、両種の PSP 蓄積能について検討した。

#### B. 研究方法

### 1) 各種フグおよび交雑種フグの既得毒性データ

研究分担者が関わった以下の論文の毒性データと未発表データを整理し、各種フグの既得毒性データとしてまとめた。

- 1) Itoi et al., *Toxicon* 60, 1000-1004 (2012)
- 2) Ikeda et al., *Toxicon* 55, 289-297 (2010)
- 3) 谷山ら, 長崎大学水産学部研究報告 91, 1-3 (2010)
- 4) Ngy et al., *Afr. J. Mar. Sci.* 31, 349-354 (2009)
- 5) Ngy et al., *J. Food Hyg. Soc. Japan* 49, 361-365 (2008)
- 6) Nakashima et al., *Toxicon* 43, 207-212 (2004)
- 7) Mahmud et al., *Toxicon* 41, 13-18 (2003)
- 8) Mahmud et al., *J. Natural Toxins* 10, 69-74 (2001)
- 9) 淵ら, 食衛誌 40, 80-89 (1999)
- 10) 淵, 長崎大学博士論文 (1999)

また、日本各地で採取し、DNA 塩基配列に基づいて両親種を同定した交雑種フグの未発表毒性データについても同様に整理した。これらの既得毒性データについて、谷博士の「日本産フグの毒力表」の毒性データと比較した。

### 2) 海産フグ2種へのPSP投与実験

まず、養殖トラフグ(体長 $19.3 \pm 0.7$  cm、体重 $216 \pm 16.4$  g)につき、PSP投与区(n=3)およびTTX投与区(n=3)を設け、それぞれPSP(毒力%: neoSTX 76%、dcSTX 8%、STX 16%)およびTTX添加飼料を420 MU/尾の用量で経口経管投与した。両区ともに毒投与48時間後に取り上げ、蛍光HPLC分析にて各部位のPSP量を、LC-MS分析にて同TTX量を測定した。

次に、予めPSPが検出されないことを確認した長崎県大村湾産ヒガンフグ未成熟群(体長 $7.3 \pm 1.0$  cm、体重 $15.0 \pm 4.4$  g、生殖腺体指数 $0.35 \pm 0.13$ 、雌雄判別不能)および成熟群( $14.1 \pm 1.6$  cm、 $105.8 \pm 28.8$  g、 $12.41 \pm 4.93$ 、すべて雌)につき、PSP(前記と同一組成)添加飼料をそれぞれ65および550 MU/尾の用量で経口経管投与し、4、8、12時間後に各群5尾ずつ取り上げ、蛍光HPLC分析にて各部位のPSP量を測定した。

## C. 研究結果

### 1) 各種フグおよび交雑種フグの既得毒性データ

各種海産フグの既得毒性データを表1に示す。3種のフグで、一部の部位の最高毒力が「日本産

フグの毒力表」を上回っていた。まず、トラフグでは毒力表で「無毒」( $< 10$  MU/g)とされている皮と精巢で、それぞれ最高14および20 MU/gの毒力を示す個体がみられた。同様に、マフグでは「無毒」の筋肉と精巢から、ともに最高60 MU/g、コモフグでは「強毒」(100-1000 MU/g)の皮から最高2397 MU/gの毒力が検出された例がみられた。また、シロサバフグでは、「無毒」の範疇ながら肝臓から2.2-7.9 MU/gの毒力が検出された。

次に、交雑種フグの既得毒性データを表2に示す。2タイプの交雑種フグで、一部の部位の毒力が「日本産フグの毒力表」に記載された両親種の毒力を上回っていた。すなわち、シマフグ×トラフグ(母系×父系; 以下同様)では、両親種ともに「無毒」の皮で最高25 MU/g、マフグ×ゴマフグでは、同様に筋肉で最高20 MU/gの毒が検出された。マフグ×トラフグおよびトラフグ×マフグでは、「無毒」の範疇ながら最高2 MU/gの毒が筋肉から検出された。

### 2) 海産フグ2種へのPSP投与実験

養殖トラフグの場合、毒投与48時間後の両区の毒蓄積状況に顕著な差がみられた(図1)。すなわち、TTX投与区では、投与した毒の29%が肝臓、17%が皮、1%が生殖腺に蓄積していたのに対し、PSP投与区では、いずれの個体のいずれの部位からもPSPは検出されなかった。

天然ヒガンフグでは、未成熟群と成熟群の毒残存状況に顕著な差がみられた(図2)。未成熟群の場合、投与4時間後では投与した毒の82.1%が体内に残存していたが、そのほとんどを、内容物(有毒飼料)を含む消化管が占め、皮と生殖腺の毒量は投与毒量の2%未満であった。その後、体内残存毒量は顕著に減少し、投与8時間後以降20%未満となったが、その際も毒量の大部分を消化管が占めていた。一方、成熟群では、毒投与4時間後に28.3%のPSPが残存しており、その5割を肝臓、1~2割を卵巣と皮が占めた。その後、残存毒量は減少し、毒投与12時間後では体内に残存したPSPのほとんどが卵巣に移行していた。また、残存PSPの組成は部位により異なり(データ未記載)、成分によって取り込みないし排泄効率に差があるものと推察された。

## D. 考察

## 1) 各種フグおよび交雑種フグの既得毒性データ

前述のとおり、トラフグでは皮と精巣で‘弱毒’ (10-100 MU/g) を示す個体がみられた。本種は成長段階によって毒の体内動態が異なり、肝臓が未発達天然稚魚では、しばしば皮から微量の TTX が検出される。しかしながら、毒投与実験において肝臓が発達した個体では皮への移行毒量が僅少となること、皮は湯がいて食するため、その過程で毒が (もしあっても) かなり減少すると考えられること、1回の摂食量も筋肉よりはるかに少ないこと、これまでにトラフグの皮による中毒例がないこと、などから、現時点で問題視する必要はないものとする。一方、精巣が‘弱毒’であった個体は、雌雄同体で、卵精巣と精巣を取り違えた可能性がある。他方、マフグでは、筋肉と精巣から‘弱毒’が検出された。本種は皮が‘強毒’、肝臓と卵巣が‘猛毒’ (> 1000 MU/g) であるため、凍結・解凍により、これらの部位から毒が筋肉や精巣に移行した可能性がある。今後、そのような毒の部位間移行についても検討する必要がある。シロサバフグでは、肝臓から微量の毒が検出された。サバフグ類は形態が酷似しているため、今後は遺伝子型の確認を行った上で毒性を調査する必要があるかもしれない。

交雑種フグでは、シマフグ×トラフグの皮から‘弱毒’が検出された。前述のとおり、トラフグは皮に微量の毒をもつ場合があり、それを反映したものと推察される。一方、マフグ×ゴマフグ、マフグ×トラフグおよびトラフグ×マフグでは、筋肉から毒が検出された。今回の試料はいずれも冷凍保存されていたものであり、マフグの場合同様、凍結・解凍による毒の部位間移行について検討する必要がある。

## 2) 海産フグ2種へのPSP投与実験

トラフグへの毒投与実験において、TTX 投与区では投与した毒の 50%程度を体内に蓄積したのに対し、PSP 投与区ではいずれの部位からも PSP は検出されなかった。これまでに天然トラフグから PSP が検出された例はなく、少なくとも未成熟のトラフグには PSP 蓄積能はほとんどないものと推察された。

ヒガンフグの場合、未成熟群では実験期間を通して投与した PSP の大半が消化管に残存しており、PSP をほとんど体内に取り込まないことが示唆された。一方、成熟群では、PSP の一部を一旦

体内、特に肝臓に取り込むが、短時間で排泄もしくは分解し、卵巣以外の部位にはほとんど蓄積しないものと推察された。また、肝臓や卵巣に取り込まれた毒のほとんどは STX であり、成分による取り込みの選択性が存在する可能性がある。

## E. 結論

以上、本研究により、3種のフグおよび2タイプの交雑種フグで、一部の部位の最高毒力が「日本産フグの毒力表」、もしくはそこに記載された両親種の毒力を上回るような既得毒性データ例があることがわかった。未発表データの場合、卵巣と精巣を取り違えた可能性、あるいは凍結・解凍により高毒力部位から他の部位に毒が移行した可能性のあるケースもあり、さらなる検証が必要と思われる。一方、トラフグとヒガンフグへの PSP 投与実験では、トラフグ属フグの PSP 蓄積能は、種や成熟段階により異なるものの、総じて TTX 蓄積能より低いことが示唆された。他種のフグの PSP 蓄積能や卵巣への PSP 蓄積について、引き続き検討する必要がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 荒川 修: フグ類が保有する毒の分布、蓄積機構、および生理機能. 日水誌, 79, 311-314 (2013).
- 2) 荒川 修: コラム 7 動物界におけるフグ毒の分布, “フィールドベスト図鑑 vol. 17 危険・有毒生物”, 篠永 哲, 野口玉雄, 今泉忠明, 小川賢一 監修, 学研, 東京, p. 238 (2013).
- 3) 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花, 王 俊杰, 辰野竜平, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修, 野口玉雄: 天然トラフグ肝臓の毒性分布. 食衛誌, 54, 277-281 (2013).
- 4) 齋藤昌義, 濱田友貴, 荒川 修: 第7章 食の安全を追求する科学, “農学の魅力”, 安田弘法, 中村宗一郎, 太田寛行, 橘 勝康, 生源寺眞一 編, 養賢堂, 東京, pp. 169-195 (2013).

### 2. 学会発表

- 1) R. Tatsuno, T. Mine, Y. Yamanaka, T. Takatani and O. Arakawa: Growth-associated changes in internal tetrodotoxin distribution and skin

- structure in three species of pufferfish, 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea, Keelung, Sep. 2013.
- 2) 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花, 王 俊杰, 辰野竜平, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修, 野口玉雄: 天然トラフグ肝臓の毒性分布. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
  - 3) 辰野竜平, 反町太樹, 谷山茂人, 大城直雅, 久保弘文, 高谷智裕, 荒川 修: テトロドトキシンを給餌した腐肉食性小型巻貝 2 種の毒性. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
  - 4) 山中祐二, 新名真也, 山下洋平, 辰野竜平, 高谷智裕, 荒川 修: 天然ヒガンフグの麻痺性貝毒蓄積能. 第 106 回日本食品衛生学会学術講演会, 那覇, 2013 年 11 月
  - 5) 辰野竜平, 井樋洸太郎, 沖田光玄, 山中祐二, 阪倉良孝, 高谷智裕, 荒川 修: トラフグに筋肉内投与した TTX の動態 -肝臓と皮の毒蓄積様式の相違-. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
  - 6) 岩下裕子, 山下洋平, 市川 航, 荒川 修, 高谷智裕: 異なる波長の照射光下で培養した *Alexandrium catenella* の麻痺性貝毒産生. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
  - 7) 沖田光玄, 平野 雪, 木下滋晴, 小島大輔, 山崎英樹, 崎山一孝, 高谷智裕, 荒川 修, 阪倉良孝: トラフグ稚魚のフグ毒感知, 摂取, および脳内蓄積に関連する遺伝子の発現. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月
  - 8) 糸井史朗, 吉川沙織, 朝比奈潔, 鈴木美和, 石塚健人, 瀧本成美, 光岡涼子, 横山直人, 出竹歩美, 高柳智江, 江口美帆, 小久保翔太, 高梨志保里, 三浦 愛, 河根三雄, 水藤勝喜, 辰野竜平, 高谷智裕, 荒川 修, 阪倉良孝, 杉田治男: フグの仔魚は母親由来の TTX によって守られている. 平成 26 年度日本水産学会春季大会, 函館, 2013 年 3 月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 各種海産フグの既得毒性データ

種	毒力 (MU/g)				
	皮	筋肉	肝臓	精巣	卵巣
トラフグ	弱毒： <3-14	無毒： <3	強毒： <3-180	弱毒： <3-20	強毒： <3-250
マフグ	強毒： 10-310	弱毒： <3-60	猛毒： 110-3530	弱毒： 3-60	猛毒： 50-2530
ヒガンフグ	強毒： <3-500	強毒： <3-55	猛毒： <3-2200	強毒： <3-280	猛毒： <3-1300
ナシフグ	弱毒： 23-39	無毒： <2	無毒： 3-5	無毒： <2	強毒： 240-250
コモンフグ	猛毒： 3-2397	弱毒： <3-84	猛毒： 3-10749	強毒： <3-331	猛毒： 2-2093
クサフグ	強毒： 3-235	無毒： 0.5-8.3	猛毒： 0-1706	無毒： 0-0.6	猛毒： 72-3514
シロサバフグ	無毒： <2	無毒： <2	無毒： 2.2-7.9	無毒： <2	無毒： <2
タキフグ	無毒： <2-6	無毒： <2-5	弱毒： <2-17	無毒： <2-3	強毒： 10-132
オキナワフグ	猛毒： 608-11810	強毒： 2-390	強毒： 5-380	強毒： 45-550	強毒： 25-450
ホシフグ	弱毒： <3-30	無毒： <3	無毒： <3	無毒： <3	強毒： <3-740

表 2 交雑種フグの既得毒性データ

母系	父系	毒力 (MU/g)				
		皮	筋肉	肝臓	精巣	卵巣
シマフグ	トラフグ	弱毒： <2-25	無毒： <2	強毒： <2-620	無毒： <2	強毒： <2-820
マフグ	ゴマフグ	強毒： 5-130	弱毒： <2-20	猛毒： 4-2200	無毒： <2	猛毒： 280-1600
マフグ	トラフグ	弱毒： <2-35	無毒： <2-2	猛毒： <2-1400	無毒： <2	猛毒： <2-1000
トラフグ	ゴマフグ	無毒： <2-3	無毒： <2	弱毒： <2-50	無毒： <2	
トラフグ	マフグ	弱毒： 4-30	無毒： <2-2	猛毒： 70-1200	無毒： <2	猛毒： 1300

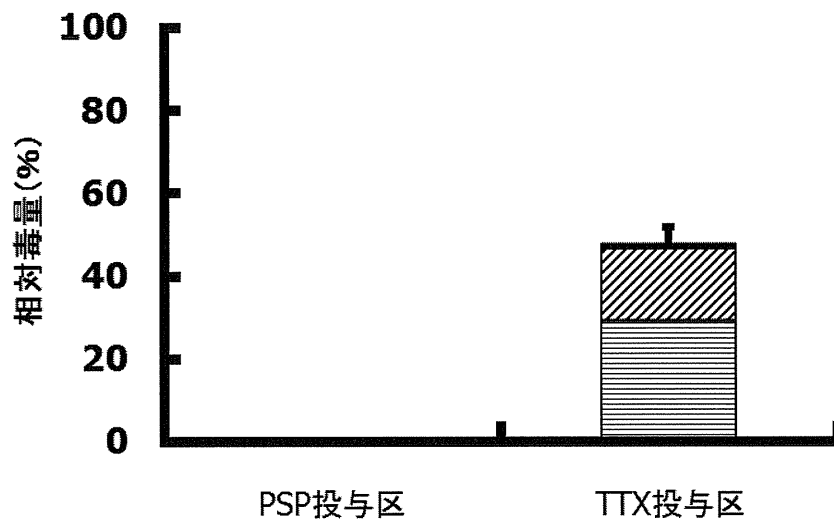


図1 トラフグにおける毒投与 48 時間後の各区の毒蓄積状況

■ 皮   ■ 肝臓   ■ 生殖腺   □ 筋肉

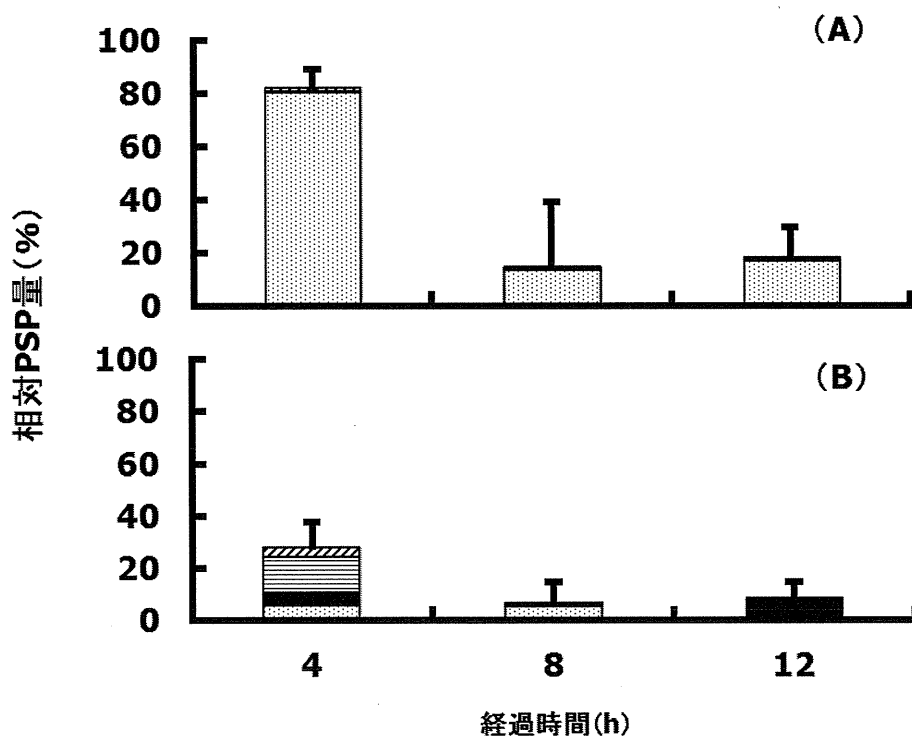


図2 ヒガングにおける体内残存毒量の経時的推移

(A) : 未成熟群、(B) : 成熟群

■ 皮   ■ 肝臓   ■ 生殖腺   ■ 消化管



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）

「フグ等の安全性確保に関する総括的研究」

平成 25 年度分担研究報告書

フグの毒性試験と毒化能の検討

研究分担者 長島裕二 東京海洋大学大学院 海洋科学系

研究要旨

フグの安全性確保のため、フグの毒性調査とフグ肝臓の TTX 蓄積能について検討した。フグの毒性調査は、2012～2013 年に三重県沿岸で漁獲されたフグ科 3 属 13 種 26 検体を用いて個別別、部位別に毒性を測定した。調べた各種フグの毒性はこれまで分類されていた毒性レベルであったが、ショウサイフグ精巢で 11MU/g、ナシフグ筋肉で 11MU/g、ムシフグ筋肉で 10MU/g の毒性が検出された。ショウサイフグの精巢については、安全性確認のため、今後試験検体数を増やして毒性の実態調査をする必要がある。肝組織培養法によるフグ肝臓の TTX 蓄積能試験では、“無毒”種といわれているクロサバフグとシロサバフグの肝組織は、トラフグと同等の TTX 蓄積を示したことから、両種の肝臓は潜在的な TTX 蓄積能をもつことが明らかになり、クロサバフグとシロサバフグ肝臓食用は不適と判断された。一方、ハコフグとハリセンボン科のイシガキフグ、ハリセンボン、ヒトヅラハリセンボン、ネズミフグの肝組織は TTX を蓄積しなかったことから、これらの肝臓は TTX による毒化は起こりにくいと考えられた。

A. 研究目的

フグの毒性は種によって大きく異なり、同一種であっても漁獲される海域、時期、個体によって著しく変動するため、これがフグ食中毒のなくなる一因となっている。これまで永年の毒性調査によって、日本沿岸で漁獲される主要なフグについては、有毒な種と部位が明らかにされている。その毒性調査結果に基づいて、昭和 58（1983）年 12 月に厚生省（当時）通知「フグの衛生確保について」（環乳第 59 号）により食用可能なフグの漁獲海域、種類、部位が定められ、それ以外のフグの食用は禁止された。さらに、フグの取扱いについては、各自治体の条例等により、フグの取扱者と施設に免許を与えてフグの安全性を確保している。

しかしながら、近年、これまでの報告を上回る毒性をもつフグが出現したり、これまで日本沿岸ではみられなかった南方産の有毒フグがみられ、西日本でドクサバフグによる中毒が発生した。こうした背景のもと、フグの安全性確保に資することを目的として、本研究では、フグの毒性試験と毒化能の検討を行った。前述のように、フグの毒性は漁獲海域によって異なるので、海域を定め、

そこで漁獲された各種フグの個別別、部位別毒性を詳細に調べた。また、フグの毒化機構解明のため、研究分担者らが構築した *in vitro* 組織培養法で、フグ毒テトロドトキシシン（TTX）をもたないと言われている“無毒”種フグのクロサバフグ、シロサバフグ、ハコフグおよびハリセンボン類の肝組織における TTX 蓄積能を検討した。

B. 研究方法

1) フグの毒性試験

試料には、2012 年 6 月～2013 年 4 月に三重県沿岸で漁獲されたトラフグ属ヒガンフグ 4 個体、アカメフグ 1 個体、ショウサイフグ 7 個体、ナシフグ 2 個体、マフグ 1 個体、コモンフグ 3 個体、シマフグ 1 個体、ムシフグ 1 個体、クサフグ 2 個体、トラフグ 1 個体、モウヨウフグ属ホシフグ 1 個体、サバフグ属クマサカフグ 1 個体、センニンフグ 1 個体の 26 検体を用いた。

試料は、漁獲後直ちにラウンドで冷凍され、毒性試験に供するまで凍結保存した。凍結試料をビニール袋に入れ、流水で半解凍後、皮、筋肉、肝臓、消化管、腎臓、脾臓、生殖巣を分離した。各

組織から2gとり、これに0.1%酢酸8mLを添加して、ホモジナイズした後、沸騰水浴中で10分間加熱してフグ毒を抽出した。組織重量が2gに満たない場合は、組織重量の4倍または9倍量に相当する容量の0.1%酢酸を添加した。1gに満たない場合は重量によらず0.1%酢酸3mLを添加して、フグ毒を抽出した。毒性試験は食品衛生検査指針のフグ毒検査法に従い、マウス試験法で行った。

## 2) 肝組織培養法によるフグ肝臓のTTX蓄積

試料にはフグ科のトラフグ(養殖)、シロサバフグ、クロサバフグ、ハコフグ科ハコフグ、ハリセンボン科のイシガキフグ、ハリセボン、ヒトヅラハリセンボン、ネズミフグの3科8種のフグを用いた。それぞれ氷冷麻酔した試料魚から肝臓を摘出し、予め冷却したperfusion bufferで灌流後、スライサーと生検トレパンを用いて肝組織切片(φ8mm x 厚さ1mm)を調製した。肝組織切片をカルチャープレート(24ウェル)の各ウェルに入れ、50μM TTXを含むtransport buffer 1mL中で混合ガス(95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub>)をバブリングしながら、20°Cで8時間培養した。経時的に肝組織切片を取り出し、氷冷したtransport bufferに1分間浸漬して肝組織切片表面を洗浄した後、キムタオルで水分を拭き取った。肝組織切片に0.1%酢酸を加えて、ホモジナイズし、一部はタンパク質定量に用い、残りは沸騰水浴中で10分間加熱してTTXを抽出した。TTX定量はLC-MSまたはLC-MS/MS法で、タンパク質定量はLowry法で行った。実験に先立ち、試料のフグ肝臓にはTTXは検出されないことをLC-MSまたはLC-MS/MS分析で確認した。

## C. 研究結果

### 1) フグの毒性試験

フグ26検体の毒性試験結果を表1にまとめた。26検体中18検体が有毒(10マウスユニット(MU)/g以上)であった。このうち、毒性が最も高かったのは、マフグ卵巣の1220MU/gで、次いでシヨウサイフグ卵巣が1120MU/gを示し、これらは“猛毒”レベル(1000MU/g以上)であった。

魚種別に最高毒性値を比較すると、マフグ、シヨウサイフグ以下、クサフグ(卵巣748MU/g)、ナシフグ(皮379MU/g)、ムシフグ(卵巣337MU/g)、コモンフグ(皮263MU/g)、ヒガンフグ(卵巣157MU/g)、シマフグ(卵巣50MU/g)の順で、ナシフグとコモンフグ以外は卵巣が最高毒性部位

であった。

ヒガンフグは、4個体中1個体しか毒性がみられず、有毒部位は卵巣(157MU/g)と肝臓(18MU/g)だけだった。

シヨウサイフグは試験した7検体すべてが有毒であった。しかし、筋肉からは毒性はみられなかった。

ナシフグは、皮と卵巣の毒性がそれぞれ379MU/gおよび356MU/gと高く、筋肉(11MU/g)から毒性が検出された点が注意を要する。これについては、「D. 考察」で言及する。

マフグは、卵巣が1220MU/gと“猛毒”レベルを示し、消化管(935MU/g)、脾臓(447MU/g)、肝臓(349MU/g)、皮(127MU/g)はいずれも“強毒”レベルであったが、腎臓と筋肉は“無毒”(＜10MU/g)であった。

コモンフグは、他と違った毒性分布を示し、皮の毒性が99~263MU/gと高く、肝臓(＜10~35MU/g)、消化管(＜10~20MU/g)から毒性が検出された。

シマフグは、卵巣(50MU/g)と消化管(11MU/g)が毒性を示した。

ムシフグは、卵巣(337MU/g)の毒性が強く、皮(64MU/g)、消化管(27MU/g)、脾臓(17MU/g)、肝臓(13MU/g)、筋肉(10MU/g)から“弱毒”レベルの毒性が検出された。

クサフグは、卵巣(748MU/g)、肝臓(79MU/g)、皮(47MU/g)、消化管(11MU/g)が有毒であった。

1個体ずつではあるが、今回毒性試験したアカメフグ、トラフグ、ホシフグ、クマサカフグおよびセンニンフグから毒性はみられなかった。

### 2) 肝組織培養法によるフグ肝臓のTTX蓄積

トラフグ肝組織切片を50μM TTXを含むtransport bufferで培養したところ、インキュベーター2時間後にTTXが検出され、TTX蓄積量(平均値±標準偏差)は104±39 ng TTX/mg proteinであった(図1)。TTX蓄積量はインキュベーター時間に伴い増加し、8時間後には482±40 ng TTX/mg proteinに達した。クロサバフグとシロサバフグはトラフグと同様の増加傾向を示し、8時間後のTTX量はクロサバフグ457±159 ng TTX/mg protein、シロサバフグ343±114 ng TTX/mg proteinであった。これに対し、ハコフグとハリセンボン科フグ類の肝組織切片では、培養中TTX量に経時的な増加はみられず、2~8時間まで10~50 ng

TTX/ mg protein 程度であった。

## D. 考察

### 1) フグの毒性試験

毒性を調べた3属13種26検体のフグについて、魚種によらず、部位別の最高毒性値を比較すると(表2)、卵巣が1220MU/g(マフグ)と最も高く、試験した卵巣14個体中12個体が有毒(>10MU/g)で、有毒個体出現率は85.7%、毒性分布は29~1220MU/gとなり、毒性レベルで分けると、猛毒(>1000MU/g)2個体、強毒(100~999MU/g)7個体、弱毒(10~99MU/g)3個体、無毒(<10MU/g)2個体であった。

卵巣に次いで、最高毒性値が高かったのが消化管で、マフグが935MU/gの毒性を示し、ショウサイフグの1検体が120MU/gの“強毒”レベルを示したが、ナシフグ、コモンフグ、シマフグ、ムシフグ、クサフグの有毒個体は11~27MU/gと“弱毒”レベルが多かった。半数以上(53.8%)が有毒であった。

肝臓の有毒個体出現率も50%を超えたが、最高毒性値は500MU/g(ショウサイフグ)で、“強毒”レベルは3個体(マフグ349MU/g、140MU/g)に留まった。

皮も半数が有毒であり、最高毒性値は379MU/g(ナシフグ)で、“強毒”レベルがコモンフグ(263MU/g)、ショウサイフグ(159MU/g)、マフグ(127MU/g)でもみられた。

これまで報告例が少ない脾臓については、試験した個体の1/3以上、26個体中9個体が有毒で、最高毒性値も447MU/g(マフグ)に達した。これ以外にもショウサイフグ2個体が129MU/gと153MU/gの“強毒”レベルであった。なお、これらショウサイフグ試料では脾臓が部位の中で最高毒性値を示した点が注目される。

腎臓は、ショウサイフグ、ナイフグ、コモンフグの3個体が有毒で、有毒個体出現率は11.5%、最高毒性値は17MU/gであった。

精巣は、10個体中1個体(ショウサイフグ)から11MU/gの毒性が検出されたものの、概ね“無毒”と判断できるが、ショウサイフグの精巣は食用可とされているので、フグ食の安全確保のために、今後とも調査する必要がある。

最後に、筋肉について述べる。2個体(ナシフグとムシフグ各1個体)から10~11MU/gの毒性が検出された。しかし、ナシフグは皮の毒性が高

いため、凍結・解凍によってフグ毒が無毒の筋肉部に移行することが実験的に確かめられているので、その影響によるものと考えられる。ムシフグについても毒の移行が原因と推測されるが、ムシフグの毒性に関するデータが少ないため、筋肉が有毒か否かは不明である。したがって、安全性が確保できていないため食用が認められていない。

### 2) 肝組織培養法によるフグ肝臓のTTX蓄積

TTXで毒化するトラフグは、*in vitro*培養実験においても肝組織切片のTTX蓄積量が培養時間に伴って増加することが改めて確認された。フグ科サバフグ属のクロサバフグとシロサバフグは“無毒”種と言われているにもかかわらず、*in vitro*培養実験において、トラフグ肝臓と同程度にTTXを蓄積したことから、クロサバフグとシロサバフグの肝臓は潜在的にTTXを毒化する能力をもつことが初めて明らかになった。

一方、フグ科以外のハコフグ科ハコフグやハリセンボン科のイシガキフグ、ハリセボン、ヒトヅラハリセンボン、ネズミフグでは、*in vitro*培養実験でも肝組織切片にTTXの蓄積はみられず、これらはTTXによる毒化は起こりにくいと考えられた。

## E. 結論

フグの毒性実態調査として、2012年~2013年に三重県沿岸で漁獲されたフグ類3属13種26検体の毒性を個体別、部位別に毒性試験した。その結果は概ね既報の毒性レベルであったが、食用が認められているショウサイフグの精巣で11MU/gと、基準値(10MU/g)を超える例があった。また、ナシフグとムシフグ各1個体の筋肉で11MU/gおよび10MU/gの毒性がみられたが、これは皮からの毒の移行が影響しているものと推測された。

次年度に計画していたフグ毒蓄積能評価を一部先行して行い、*in vitro*培養実験において、“無毒”種と言われているクロサバフグとシロサバフグの肝臓はトラフグに匹敵するほどのTTXを蓄積する能力がもつことがわかり、クロサバフグとシロサバフグの肝臓は食用不適と判断された。一方、ハコフグ科とハリセンボン科のフグの肝臓はTTXを蓄積する能力が低いか欠いていると示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) H. Feroudj, T. Matsumoto, Y. Kurosu, G. Kaneko, H. Ushio, K. Suzuki, H. Kondo, I. Hirono, Y. Nagashima, S. Akimoto, K. Usui, S. Kinoshita, S. Asakawa, M. Kodama, S. Watabe: DNA microarray analysis on gene candidates possibly related to tetrodotoxin accumulation in pufferfish. *Toxicon*, 77 巻, 68-72 (2014).
- 2) 長島裕二：食品中の魚毒（フグ毒）による食中毒とその予防. *食品衛生研究*, 63 巻 2 号, 21-30 (2013).
- 3) 長島裕二, 松本拓也：フグ毒化機構解明に向けた最近の研究. *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, 218 巻, 266-275 (2013).

### 2. 書籍

- 1) 長島裕二：コラム 5 魚介毒の化学成分と薬理作用. 「フィールドベスト図鑑 Vol.17 危険・有毒生物」(篠永 哲, 野口玉雄, 今泉忠明, 小川賢一監修), 学研, 東京, 2013. p. 236.

### 3. 学会発表

- 1) 長島裕二, 佐藤康介：トラフグ体表粘液のプロテアーゼインヒビター. 第 27 回海洋生物生理活性談話会. 2013 年 5 月, 東京都港区.
- 2) 桐明 絢, 長島裕二, 塩見一雄：カサゴ目魚類刺毒の性状および一次構造. 第 27 回海洋生物生理活性談話会. 2013 年 5 月, 東京都港区.
- 3) 尹 顕哲, 石崎松一郎, 長島裕二：LC-MS によるフグ毒関連物質の検出. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 4) 尹 顕哲, 石崎松一郎, 長島裕二：ヒガンフグ卵巣におけるフグ毒の化学形態. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 5) 桐明 絢, 鈴木靖子, 長島裕二, 塩見一雄：アイゴ刺毒の一次構造およびカサゴ目魚類刺毒との構造比較. 平成 25 年度日本水産学会秋季大会. 2013 年 9 月, 三重県津市.
- 6) 太田 晶, 須賀恵美, 石崎松一郎, 土井啓行, 石橋敏章, 松本拓也, 長島裕二：食用フグの肝臓におけるテトロドトキシンおよび麻痺性貝毒の蓄積. 106 回食品衛生学会学術講演会. 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.
- 7) 桐明 絢, 石崎松一郎, 長島裕二：ミトコンド

リア DNA を用いたテトラミン食中毒原因巻貝の種判別法. 106 回食品衛生学会学術講演会. 2013 年 11 月, 沖縄県宜野湾市.

8) 長島裕二：海洋動物の毒. 第 28 回日本中毒学会東日本地方会. 2014 年 1 月, 東京都港区.

9) 松本拓也, 桐明 絢, 渡部終五, 長島裕二：トラフグ幼魚におけるフグ毒テトロドトキシンの胆汁中排泄機構の検討. 平成 26 年度日本水産学会春季大会. 2014 年 3 月, 北海道函館市.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし