

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

フグの毒成分の同定と定量

研究分担者 佐藤 繁 北里大学海洋生命科学部応用生物化学講座

研究要旨

フグ類の消費は従来、西日本などに限られていたが、近年は全国的に消費されるようになってきた。これまでフグ類を利用していなかった北日本沿岸部などでも、特産品として天然フグ類を商品化しようとする動きがある。一方、Kodama et al.(1984)は、三陸沿岸で漁獲されるコモフグやヒガンフグの肉が高い毒性を示すことを報告している。この報告に基づき現在、岩手県釜石湾、同越喜来湾ならびに宮城県雄勝湾産の上記 2 種のフグは、食用としての取り扱いが禁止されている。このようにフグ類の毒性は同種のものであっても産地によっても大きく異なることから、食用可能とされてきたフグ類についても産地ごとに毒性を調べるのが急務となっている。本年度本研究では、これまでフグ類を利用していなかった三陸沿岸で漁獲されるフグ類につき調査を実施し、コモフグの肉に高い頻度で基準値を大幅に超えるフグ毒が含まれることを確認した。これまでフグ類の毒性分析には、食品衛生検査指針(1995)に記載の抽出法に従って調製した検液が使用されてきた。大学等の研究機関では最近、同法より操作が簡便で定量性が高いと考えられる簡易抽出法により検液を分析に供する報告例が多い。これら 2 種の抽出法による毒の回収量の異同についてあわせて検討したところ、前者に対して後者によるフグ毒の回収量が 30%程度上回る傾向にあることを確認した。

A. 研究目的

谷(1945)は、フグ食を伝統とする西日本各地の沿岸を中心に、朝鮮半島や台湾を含む海域で漁獲されるフグ類の毒性を精力的に調査し、これら海域で多獲されるトラフグ属 *Taki fugu* sp. やサバフグ属 *Lagocephalus* sp. の大部分では、肝臓や卵巣などの内臓部分が高い毒性を示すのに対して、肉はほぼ無毒であることを報告している。フグの毒性には大きな個体差があるため、谷(1945)は魚種ごとに多数の検体数を確保して個体別に毒含量を調べ、皮や肉などの食用部位で g あたり 200 単位(現在の 10 MU/g に相当)を超える個体が認められない場合には、喫食によりヒトの健康を損なうおそれがないものと推定し、これを食用可否の基準値として提案している。現在、食品衛生法ならびに「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)により食用可能なフグの種類と部位が定められているが、これは主として谷(1945)の調査結果に基づくものである。

河端(1978)は、フグ毒テトロドトキシン(TTX)の投与量と試験動物として用いるマウスの致死時間を検討し、毒の用量致死時間曲線を作製すると同時に、谷(1945)による試料の抽出法を改良した。これによりそれまで半定量的にしか表示できなかった毒含量が、マウス毒性で定量的に算出することが可能となった。河端(1978)の方法に従って 1980 年代に、各県の衛生研究所や大学等の研究機関が日本産フグ類の毒性の再調査を実施したところ、本州中部以南の沿岸域で漁獲されるフグ類の毒性は、おおむね谷(1945)の調査結果に合致するものの、東北太平洋沿岸の一部海域で漁獲されたヒガンフグ *T. pardalis* やコモフグ *T. poecilonotus* では、肉に基準値である 10 MU/g を大幅に超える個体が高頻度で出現することが明らかとなった(Kodama et al. 1984)。この結果は、谷(1945)により食用可能とされていたフグであっても、産地によっては食用不適なレベルまで高毒化していることを意味する。今年度本研究では、Kodama et al. により毒性が高いことが示

唆されている東北地方沿岸産のフグ類について、その毒性を部位ごとに調べることにした。

河端(1978)の方法では、皮や肉などの部位を2.5倍量(v/w)の希酢酸で熱浸抽出し、ろ過で得られた抽出液に、ろ紙上の残滓を再度希酢酸で洗浄して得た洗液を合わせ、原試料に対して5倍量の抽出液を調製し、これを分析用検液とする。同法では残滓中の毒が全て洗液に回収されることを前提としており、検液1 mLに原試料0.2 gに相当する毒が含まれるものとして原試料の毒性(MU/g)が算出されている。近年、大学等の研究機関では定量性の確保と操作の簡易化を図るべく、試料に対して5倍量の希酢酸熱浸ホモジネートを調製し、これから直接ろ液を調製し、検液として分析する例が多い(Brillantes et al. 2003ほか)。本研究では上記2通りの抽出法による毒の抽出効率の異同についても、合わせて検討した。

B. 研究方法

1) 河端法と簡易法による毒抽出量の比較

ベトナム北部Catba周辺で2011年8月に採取したドクサバフグ *L. lunaris* 23個体(BW 57 ± 13 g, TL 141 ± 11 mm)を試料とした。凍結試料を解剖して皮と肉を取り出し、それぞれ部位ごとに合してホモジナイズした。まず河端(1978)の方法に従って、肉のホモジネート10gに25mLの0.1%酢酸を加えて混合し、沸騰浴中で5分間加熱した。氷冷後、ホモジネートをろ紙上ろ過し、ろ液を得た。ろ紙上の残滓に0.1%酢酸を加えて洗浄し、上記のろ液と洗液と合わせて50mLの抽出液を得た(河端法による抽出液)。これとは別に肉のホモジネート10gに0.1%酢酸30mLを混合して5分間加熱し、ホモジネートを氷冷後50mLに定容して攪拌し、ろ紙上濾過して抽出液を作製した(簡易法による抽出液)。これらの検液をSepPak C18 plusカートリッジで処理した後、Yotsu et al.(1989)に従ってHPLC蛍光法で分析し、抽出液中のTTX濃度を求めた。皮も同様に、河端法と簡易法の二通りで抽出し、HPLC蛍光法で分析した。肉と皮につき、それぞれ同一のホモジネートから河端法による抽出液と簡易法による抽出液を4つずつ調製して分析し、結果を比較した。抽出液の一部を東京海洋大学長島裕二教授に送付し、マウス試験による毒性分析をあわせて実施した。

2) 三陸産フグ類の毒含量

岩手県釜石魚市場で2009年7月に水揚げされたコモンフグ *T. poecilonotus* 50個体(BW 121 ± 31 g, TL 187 ± 15 mm)および同市場で2013年6月に水揚げされたシロサバフグ *L. spadiceus* 46個体(BW 50 ± 14 g, TL 149 ± 15 mm)を試料とした。これらフグ試料をそれぞれ個体別に密封して-20℃で凍結し、使用するまで凍結状態で保存した。魚体を半解凍状態で解剖し、個体ごとに皮、肉、肝臓、消化管および生殖腺に分け、それぞれ前述の簡易抽出法で検液を調製した。SepPak C18 plusカートリッジで処理した検液をYotsu et al.(1989)に従ってHPLC蛍光法で分析し、含まれるTTX、4epi-TTX、4,9anh-TTXを定量した。試料抽出液の一部を、ELISAキット(SKIt, 新日本検定協会製)で分析し、PSP含量を求めた。

C. 研究結果

1) 河端法と簡易法による毒抽出量の比較

表1にドクサバフグの肉および皮のホモジネート、それぞれ河端法と簡易法で処理して得た検液中のTTX含量およびマウス毒性を示す。HPLC蛍光法で分析した肉のTTX含量を除き、簡易法で得た抽出液のTTX含量と毒性は、河端法で得た抽出液のそれらとは有意に異なり、前者が後者を30%程度上回っていることを確認した。

2) 三陸産フグ類の毒含量

表2に示すように、2009年7月に釜石魚市場で採取したコモンフグの大部分の個体で、肉に基準値(10 MU/g)を超える毒性が認められた。一方、2013年6月に釜石魚市場で採取したシロサバフグの肉、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個体だけに20 MU/g程度のTTX群が検出された(表3)。これら抽出液の一部を筆者らが開発したPSP分析用のELISAに付したところ、コモンフグの皮や消化管で1gあたり5 nmolを超えるPSP成分が高頻度で検出された。

D. 考察

1) 河端法と簡易法による毒抽出量の比較

河端(1978)の抽出法では、試料の熱浸ホモジネートをろ過してろ液と残滓に分け、ろ紙上の残滓を再度希酢酸で洗浄して得られる洗液とろ液を合わせて試料重量に対して5倍容量の抽出液を調製し、これを毒分析用の検液として使用する。

検液 1 mL には原試料 0.2 g に相当する毒が含まれるものとして試料の毒性が算出される。前述のように、簡易法で調製した抽出検液の毒含量は河端法のそれを有意に上回っているが、この結果は河端法の洗浄工程では、残滓にかなりの毒が残存し、検液に回収しきれないことを意味する。処理の容易さ、ならびに定量性を考え合わせると、5 倍量の熱浸ホモジネートから直接検液を調製する簡易法がフグ毒の抽出法としてより適切であると考えられる。

2) 三陸産フグ類の毒含量

Kodama et al. (1984) は三陸産コモング 57 個体について毒性を調べ、肉の 29%が無毒(10 MU/g 未満)、63%が弱毒(10~100 MU/g)、8%が強毒(100 MU/g 以上)であることを報告している。今回用いたコモング試料は上記の調査から 25 年を経過した 2009 年に採取したものであるが、肉の 28%が無毒、62%が弱毒、10%が強毒であり、毒の強弱の傾向は 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。これに対してシロサバフグは、消化管のみが有毒で他の部位には基準値(10MU/g)を超える TTX は検出されなかった。このことは、シロサバフグが他のフグに比べ、体内に TTX を蓄積しにくいことを示すものなのかも知れない。シロサバフグ試料中の PSP の有無については、現在検討中である。

フグ類における毒の蓄積機構はまだ不明の点が多く残されている。フグの毒性には、同種のものであっても季節差や地域差があり、生息海域の何らかの環境条件が毒の蓄積に大きく影響しているものと考えられる。東日本大震災の津波に伴って、三陸沿岸の底泥が大きく攪乱されたことから、フグ類の毒性にも何らかの影響が生じている可能性がある。今後、コモングを中心に三陸沿岸でのフグ類の毒性を継続して調べていく必要がある。

E. 結論

フグ類の安全性の確保に資することを目的に、まず毒性分析用検液の調製法を検討した。その結果、肉や皮から定量的に毒を抽出するには、Brillantes et al. (2003) 等、研究機関で採用されている簡易法が、河端(1978)による従来法よりも適当であることを明らかにした。ついで 2009

年に釜石近海で漁獲されたコモングの部位別毒性を調べたところ、1984 年の Kodama et al. による調査と同様に、同種の肉や皮が高頻度で高い毒性を示すことを確認した。これに対して 2011 年 6 月に釜石魚市場に水揚げされたシロサバフグの肉や皮などの可食部には、規制値を超える毒性は確認されなかった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Sato S., Y. Takata, S. Kondo, A. Kotoda, N. Hongo and M. Kodama (2013) Quantitative ELISA kit for paralytic shellfish toxins coupled with sample pretreatment. *J. AOAC Int.*, 97 (2) in press.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし