

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」  
平成 24～26 年度総合分担研究報告書

食中毒事例が多いきのこの分子系統樹解析と検査法確立

研究分担者 近藤一成 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部  
研究協力者 坂田こずえ 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部  
研究協力者 菅野陽平 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部  
研究協力者 中村公亮 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部  
研究協力者 野口秋雄 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部  
研究協力者 福田のぞみ 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部

研究要旨

きのこによる食中毒は、毒きのこを食用きのここと間違えて摂取することが主な原因である。毒きのこの判別は、形態学的な判別で行われていたが、確実な判別は容易ではなかった。そのため、遺伝子の特定領域を標的とした判定法が望まれている。迅速に判別可能な遺伝子検査法を開発するために研究を行った。まず、標的配列の多様性を明らかにするために、日本国内で中毒被害が多いクサウラベニタケ、ツキヨタケ、カキシメジ、ニガクリタケのうち、特に近縁種が多く、かつ形態学的な判別が困難なクサウラベニタケ、およびツキヨタケについて、国内より広くサンプリングし、誤食対象の食用きのことともにリボソーム RNA 遺伝子の ITS 領域の塩基配列を解析した。この結果をもとに分子系統所解析を行ったところ、クサウラベニタケについて、日本国内では 3 つの系統に分類されることを明らかにした。ツキヨタケは、地域による差異は見られなかった。

本分子系統樹解析結果をもとに、クサウラベニタケとその近縁種、および、ツキヨタケについて、数時間で判別・同定可能な PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) を開発し、食毒の判別やクサウラベニタケ近縁種の判別が容易に行うことができた。本法は、特別な機器を必要としないことから広く検査を行うことが可能となる。また、より特異性が高い確定検査法として、リアルタイム PCR 法を同時に開発した。これらの方法は、広く用いられることで自然毒による食中毒被害を低減させることができると期待される。

A. 研究目的

日本国内では植物性自然毒（高等植物ときのこ）による食中毒被害が毎年発生する。その中で、きのこによる食中毒被害は、多くの野生きのこが発生する 9 月から 11 月に集中している。

夏の終わりから秋にかけて、野生のきのこが発生時期に重なり、多くの人がきのこ採取を行い、多くの場合、採取したきのこの鑑定を行わずにそのまま自宅に持ち帰り、摂取し中毒に至る事例が多い。国内で中毒事例が多いきのこについて

て過去 10 年以上のデータを解析すると、クサウラベニタケとツキヨタケの 2 つのきのこであることが判明している。また、きのこによる中毒被害事例の中で、原因きのこが特定できない場合も多く存在する。これは、きのこの判別や同定が経験者の形態学的判別により行われているためで、その鑑定能力には大きな個人差があること、形態をとどめていない細分化されたものや調理された場合、さらには、摂取後吐瀉物の場合には同定不可能になる。これらの事実を踏まえて、植物性自然毒の中で、きのこによる食中毒被害を低減するための施策として重要なことは次のように考えられる。1 つは、きのこ採取者に対する一層の情報提供と注意喚起であり、もう一つは迅速にかつ信頼性の高い検査方法の確立と整備であると考えられる。日本国内で食中毒被害が多く発生する、クサウラベニタケとツキヨタケのうち、クサウラベニタケ (*Entoloma rhodopolium* と現在考えられている) は、一般には複合種と言われ複数の種を含むと考えられており、分類学的にも整理されていない。文献および遺伝子データベース情報から、ヨーロッパにおける *Entoloma rhodopolium* として公開されているものと同かどうかを含めて、現在まで詳しく検討されたことはなかった。そこで、本研究班においてクサウラベニタケとその近縁種、および、ツキヨタケについて全国からサンプルを収集して遺伝子配列を解析行い、系統樹解析を行った。その結果を用いて、生のきのこの判別に有効な PCR-RFLP 法を、また、本方法を改良して加熱調理食品残渣からでも検査可能にした。さらに、特異性、感度に優れた確定法としてリアルタイム PCR 法を確立した。

## B. 研究方法

### ITS 領域の解析

#### (1) 試料

日本各地(東京、北海道、山形、島根、鳥取、富山、新潟)で採取したクサウラベニタケおよび福島、茨城、鳥取で採取したウラベニホテイシメジを試料として用いた。

ツキヨタケは、島根県、長野県、新潟県で採取した。ムキタケ、ヒラタケは新潟県、北海道などで採取したものをを用いた

#### (2) DNA 抽出

試料をよく洗浄し、そのまま、または液体窒素で凍結粉碎後、DNeasy plant mini kit または CTAB 法で抽出を行った。

#### (3) 分子系統樹解析

ユニバーサルプライマー (ITS-1F, ITS-4B) を用いて ITS 全領域を PCR 増幅し、精製後アガロース電気泳動で得られたバンドを切り出して精製したものをシーケンス解析した。シーケンス解析で得た塩基配列は GENETYX ver12 および CLC Genomic workbench ver6.5 を使用して MUSCLE アライメント解析および最尤法 (Maximum likelihood) を用いて分子系統樹作成を行った。

#### (4) PCR-RFLP 法

#### クサウラベニタケとその近縁種、ウラベニホテイシメジの検査法

国内から広く集めた毒きのこであるクサウラベニタケと食用ウラベニホテイシメジのシーケンス解析の結果をもとに、食毒判別が可能な制限酵素部位と種類を、Web ソフト (In silico simulation of molecular biology

experiments (<http://insilico.ehu.es>)および遺伝子解析ソフト Genetyx を用いて行った。

DNA 抽出は、簡便にするために PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent を用いて行った。前述したユニバーサルプライマーで約 1 kb を PCR 増幅後、この PCR 産物をアガロース電気泳動で泳動して、そのパターンから、毒きのこであるクサウラベニタケの 3 系統と食用のウラベニホテイシメジの計 4 系統を判別同定した。DNA 分解がみられる食品残渣試料にも適用するために、約 200 bp の短い領域を標的とした PCR 反応を行い、同様に泳動パターンで食毒判別を行った。疑似食品残渣試料は、加熱後人工消化液処理したものを用いた。

定性リアルタイム PCR 法は、クサウラベニタケ 3 系統とウラベニホテイシメジの合計 4 系統を同時に判別するために、マルチプレックス PCR とした。4 チャンネル検出のために、検出にはロッシュの LightCycler96 を用いた。毒のクサウラベニタケ 3 系統を区別しないのであれば、食用ウラベニホテイシメジと合わせて 2 チャンネル検出で、汎用されているアプライドバイオシステムの 7900 で測定可能である。

#### ツキヨタケの検査法

国内から集めた毒きのこであるツキヨタケおよび食用であるシイタケ（栽培、野生）、ヒラタケ、ムキタケのシークセンス解析の結果をもとに、系統判別および食毒判別が可能な制限酵素部位と種類を、遺伝子解析ソフト Genetyx を用いて行った。

DNA 抽出は、簡便にするために PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent を用いて同様に行った。

PCR-RFLP 法は、クサウラベニタケと同様に手法により行った。食品残渣試料からも可能な方法として開発を行った。

定性リアルタイム PCR 法は、ツキヨタケを特異的に検出するプライマー・プローブを用いてアプライドバイオシステムの 7900 で行った。

また、クサウラベニタケとツキヨタケの検査法が、他の市販きのこに交差反応しないかどうか、市販の食用きのこ 6 種（シイタケ、マイタケ、ブナシメジ、エノキタケ、マッシュルーム、なめこ）も用いて検討した。また、陽性コントロールとして、陽性対照プラスミドを構築した。

### C. 研究結果と考察

#### 1. 分子系統樹解析

毒のクサウラベニタケ (*E. rhodopolium*) は、形態的には多様性が報告されているものの、これまで遺伝子配列に基づいた分類解析は行われていなかった。今回、全国から集めた試料の ITS 領域解析結果から、日本におけるクサウラベニタケは 3 系統に分けられ、いずれも食用のウラベニホテイシメジとも異なることが判明した。

#### 2. PCR-RFLP 法

系統樹解析の結果をもとに、迅速で簡便な判別法として、電気泳動の泳動パターンで判別する PCR-RFLP 法を開発するために、それぞれの系統に特異的な制限酵素を決定して解析した。クサウラベニタケ近縁種とウラベニホテイ

シメジの判別は、食用と毒を判別する目的のほか、3種の制限酵素を用いることで食毒判別に加えて、毒のクサウラベニタケ3系統をも区別することが可能であった。同様の手法をツキヨタケ判別にも応用した。制限酵素を3種類用いることで、食毒判別のほかに、間違えやすい食用のシイタケ、ムキタケ、ヒラタケも判別可能であった。本法は、主に生のきのこなどDNA分解があまりない試料に適用でき、食毒判別と系統分類が数時間（3-4時間程度）で可能である。

また、DNAがある程度分解されていると考えられる、調理加工された食品残渣や吐瀉物からも検査可能にする目的で、短い標的配列（200 bp程度）を用いたshort-PCR-RFLP法も構築した。毒のクサウラベニタケ近縁種やツキヨタケを、他の食用きのこを判別することができた。本法は、系統分類まではできないが、市販のきのこ（エリンギ、マイタケなど）には交差反応することなく食毒判定を短時間（2-3時間程度）で可能であった。

### 3. 定性リアルタイムPCR法

(1) クサウラベニタケとその近縁種3系統およびウラベニホテイシメジ1系統を同時に同定するために、マルチプレックスリアルタイムPCR法を検討した結果、検出限界20コピー付近まで検出可能であり、条件によっては一部非常に弱い交差反応がみられることがあるものの、4系統を特異的に高感度で検出することができた。本方法は、迅速法であるPCR-RFLP法で判別不能で、確定検査が必要とされるときの確認検査に用いることができると考えられる。

(2) ツキヨタケは、国内では地域による遺伝的な多様性はほとんどないものの、諸外国では類似のきのこがいくつか報告されている。ツキヨタケを広く、かつ特異的に検出するために特異的な配列を選定し検討した結果、これまでに採取したツキヨタケを特異的に検出でき、他のきのこには交差反応せず、特異性の高い検出方法である。

### D. 考察

植物性自然毒の中でも、きのこ毒について原因物質が特定されているものは多くはない。また、ツキヨタケやカキシメジのように原因物質が明らかになっているものも存在するが、LC/MSなどで分析しようと考えても標準品が存在しない、あるいは分解のため分析時に試料中に存在しないという重要な問題に直面する。さらに、野生きのこの場合には、その成分含量は非常に大きく変動し（数十から数百倍）、ある毒きのこを検出する場合、ある地域からの試料は検出下限以下になることも想定される。また、きのこ毒の原因物質には類縁体が多く存在し、かつ毒性を示す成分も複数あることが多いため、化学的成分分析のみに依存すると、リスク管理上問題となることが考えられる。

そこで、本研究班では食中毒被害事例が多いきのこについて、採取時期や採取地域、測定までの保存時間と状態により、化学成分（低分子有機化合物やペプチド、タンパク質）のように変動しない検査対象として、きのこ自身が持つ遺伝子塩基配列を用いた信頼性の高い、かつ迅速で簡便な試験検査法を確立し、これまで中毒被害防止と中毒発生時の原因きのこ特定のため

めの、健康危機管理に必要な必要な試験法を整備することが極めて重要である。

本研究において、形態判別が難しい毒きのクサウラベニタケと食用ウラベニホテイシメジ、および、毒きのこツキヨタケと食用シイタケ、ムキタケ、ヒラタケなど、を迅速に判別可能な検査法を開発した。本法で確実な結果が得られない場合には、今回同時に検討した定性リアルタイムPCR法を用いることで確定可能である。

今後は全国の検査可能なところに普及して現場で使っていくことが必要であると考えられた。

## E. 結論

1. クサウラベニタケは、日本国内では近縁種が3種存在することが明らかになった。これら毒性を持つ3種の簡便迅速な検査法としてPCR-RFLP法を加熱調理サンプルまで適用可能な方法として確立した。さらに、確定法として4系統同時分析のための4色マルチプレックス定性リアルタイムPCR法を開発した。
2. ツキヨタケについて、誤食原因であるシイタケ、ムキタケ、ヒラタケに対する簡便迅速な検査法としてPCR-RFLP法を加熱調理サンプルまで適用可能な方法として確立した。さらに、確定法としてマルチプレックス定性リアルタイムPCR法を開発した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Obitsu S, Sakata K, Teshima R, Kondo K, Eleostearic acid induces RIP1-mediated atypical apoptosis in a kinase independent manner via ERK phosphorylation, ROS generation and mitochondrial dysfunction. *Cell Death and Disease*, doi: 10.1038/cddis. 2013.188.

### 2. 学会発表

1. 近藤一成, 小林友子, 中村公亮, 小櫃冴未, 野口秋雄, 長澤栄史, 手島玲子 「クサウラベニタケおよび近縁種の rDNA ITS 領域の解析」第 104 回日本食品衛生学会学術講演会 (2012. 9, 岡山)
2. 小櫃冴未, 近藤一成, 中村公亮, 小林友子, 野口秋雄, 坂田こずえ, 手島玲子 「クサウラベニタケおよび近縁種の PCR-RFLP 法を用いた迅速同定法の検討」第 104 回日本食品衛生学会学術講演会 (2012. 9, 岡山)
3. 近藤一成, 小櫃冴未, 小林友子, 中村公亮, 坂田こずえ, 野口秋雄, 手島玲子 「PCR-RFLP 法を用いたクサウラベニタケの迅速同定法」日本薬学会第 133 回年会 (2013. 3 横浜)
4. 近藤一成, 小櫃冴未, 手島玲子 「エレオステアリン酸刺激による細胞死における RIP1 の役割」第 35 回日本分子生物学会年会 (2012.12 福岡)
5. 坂田こずえ, 小櫃冴未, 中村公亮, 小林友子, 野口秋雄, 福田のぞみ, 最上(西巻)知子, 手島玲子, 近藤一成 「クサウラベニタケおよび近縁種の PCR-RFLP を用いた迅速同定法(第 2 報): 加熱、消化処理サンプルへの適用」第 106 回日本食品衛生学会学術講演会 (2013.11)
6. 菅野陽平, 坂田こずえ, 野口秋雄, 中村公

亮, 小林友子, 福田のぞみ, 佐藤正幸, 最上 (西巻)知子, 手島玲子, 長澤栄史 近藤一成 「ツキヨタケおよび近縁種の PCR-RFLP を用いた迅速同定法の検討」

第 106 回日本食品衛生学会学術講演会 (2013.11)

7. 近藤一成, 中村公亮, 野口秋雄, 坂田こずえ, 小林友子, 福田のぞみ, 手島玲子, 最上 (西巻)知子「毒きのこドラフトゲノムシーケンス」第 106 回日本食品衛生学会学術講演会 (2013.11)

8. 坂田こずえ, 近藤一成, 中村公亮, 野口秋雄, 小林友子, 福田のぞみ, 最上 (西巻) 知子: 「Multiplex real-time PCR を用いたクサウラベニタケとその近縁種の同定」第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014.12)

9. 坂田こずえ, 近藤一成, 中村公亮, 野口秋雄, 小林友子, 福田のぞみ, 最上 (西巻) 知子「RFLP および Real-time PCR 法を用いたクサウラベニタケ複合種の分析法」第 51 回全国衛生化学技術協議会年会 (2014.11)

#### H.知的財産権の出願・登録状況

(1)本研究で得られたクサウラベニタケとその近縁種の分子系統樹解析および PCR-RFPL 法の結果を、特許出願した。

出願番号：特願 2013-005113

「キノコの同定方法、及び、同定キット」

出願日：平成 25 年 1 月 16 日

発明者：近藤 一成 様、小櫃 冴未 様

(2) 出願番号 : 特願 2014-006142

出願人:公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団 様

発明の名称:キノコの同定方法、及び、同定キット

出願日：平成 26 年 1 月 16 日

発明者：近藤 一成 様、小櫃 冴未 様、坂田 こずえ 様

弊所整理番号：26H006

(3) ツキヨタケとシイタケ、ムキタケヒラタケに対する PCR-RFLP 法およびリアルタイム PCR 法に関して出願した。

出願番号：特願 2014-103555

出願日：平成 26 年 5 月 19 日

発明の名称：きのこの同定方法および同定キット

出願人：公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団 様

発明者：近藤 一成 様 (国立医薬食品衛生研究所)

弊所整理番号：26H105

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」  
平成 24～26 年度総合分担研究報告書

植物毒の毒性評価と毒成分分析

研究分担者 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

I. 我々は、植物毒による食中毒を未然に防ぐ事を目的に、「自然毒のリスクプロファイル」を作成し、厚労省ホームページに掲載して、啓蒙活動を進めている。今回、これまでに報告されていなかった植物種（スノーフレック、ヒメザゼンソウ）による食中毒が発生したので、「自然毒のリスクプロファイル」に追加掲載し、注意喚起を図った。また、「自然毒のリスクプロファイル」は作成・掲載から約 5 年が経過したので、全面的に改訂した。

II. 中毒が発生した場合、現地に出発し関係者と接触することで、現地でしか得られない情報を得、事故の詳細を明らかにすることにより、今後の中毒防止対策の一助とするため、現地調査を行っている。その一環として、2012 年 4 月北海道函館市において発生したトリカブトによる食中毒について現地調査を行い、事故の詳細の調査、原因植物の入手、有毒成分の定量分析等を行った。

III. 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。

I. 「自然毒のリスクプロファイル」の改訂

A. 研究目的

「自然毒のリスクプロファイル」は、植物毒による食中毒に対する注意喚起を目的に、平成 21 年度（2009 年）に作成し、厚労省ホームページに掲載した。過去数年間に中毒事故が発生した 20 種を選び、植物の

特徴、間違えやすい類似種、毒成分の分析法などを、種毎にまとめたものである。以来、アクセス数は多いものでは数万回を数え、また各自治体からのリンクも貼られ、かなり活用されている。しかし、この 5 年間に一部データは古くなり、また新規に発生した中毒事例も出てきたので、ここで全

面的に改訂することにした。

## B.研究方法・結果

国内の薬用植物・植物毒の専門家 23 名に呼びかけ「植物毒研究会」を組織し、改正点を検討した。その結果、以下の点を改正することになった。

- ・新項目として、「スノーフレーク」、「ヒメザゼンソウ」、「シャクナゲ」の 3 種を加える。
- ・「バイケイソウ」、「コバイケイソウ」は、一項目にまとめて、「バイケイソウ類」とする。
- ・「チョウセンアサガオ」は「チョウセンアサガオ類 1」に、「キダチチョウセンアサガオ」は、「チョウセンアサガオ類 2」に、それぞれ名称変更する。
- ・「患者数」の項には、最新のデータ（過去 5～10 年間、2004～2014 年）を掲載する。

## C.考察と結論

「自然毒のリスクプロファイル」は、全国の自治体からのリンクも貼られ、かなり活用されている。特に、中毒が発生した場合には、「自然毒のリスクプロファイル」の情報が参考にされ、新聞・テレビのニュースに転用されることもある。したがって、内容をより充実し、改正していくことは、重要である。実際、毎年中毒は発生し、その中には、これまでに報告されていなかった植物種もある。今後も、数年毎に見直し、改訂版を掲載して最新の情報を提供し、継続的に有毒植物への注意喚起を図って行く必要がある。

## D.健康危険情報

特になし

## E.研究発表

特になし

## F.知的財産権の出願・登録状況

特になし

## II.トリカブト食中毒の現地調査

### A.研究目的

中毒事故の発生した現地に赴き、関係者と接触することで現地でしか得られない情報を得、事故の詳細を明らかにすることにより、今後の中毒防止対策の一助とする。

### B.研究方法・結果

#### 1) 事故の経過

函館保健所の個別聞き取り調査資料及び新聞報道資料より事故の詳細な経過が明らかになった。2012年4月初旬、家族3名（A: 71歳、男性、B: 42歳、男性、C: 41歳、男性）が、Bがニリンソウとして採取してきた野草をおひたしにして、夕食のおかずとして食べた。食後、1.5～2時間後から、全員食中毒症状（吐き気、倦怠感、胸のもやもやなど）を呈した。3時間後、救急車で病院へ搬送。Bは、到着時に心肺停止状態、食後約5時間後に死亡を確認。Aは、5時間後に心肺停止、翌日死亡が確認された。Cは、応急処置の後入院、数日後回復して退院した。

#### 2) 採取植物の同定

患者の死亡に際し、病院は道警（北海道警察）へ検視依頼している。道警は、検視のため遺体を引き取ると同時に、患者自宅への立ち入りと、残されていた野草の全量、



採取者Bが使っていた山菜図鑑,携帯電話などを収集した。採取された野草は、北海道衛生研究所によりトリカブトと鑑定された。救急隊員は、当初からトリカブト中毒を疑っていたという。道警が収集しトリカブトと鑑定された野草は、後に函館保健所に譲渡され同保健所内の冷蔵庫で保管されていた。我々はこの野草を譲り受け観察したところ、すべてトリカブトで、採集したとされるニリンソウやその他の植物種は全く入っていなかった。

### 3) 有毒アルカロイドの定量および患者のアルカロイド摂取量

トリカブトには、全草に猛毒のアルカロイド（アコニチン、ヒパコニチン、メサコニチン、ジェサコニチン）が含まれ、アコニチンアルカロイドまたはジェステルアルカロイドと総称される。これら4種のアルカロイドを、LC-MSを用いて定量分析した。

分析はESI-FT-MSを検出に用いたLCMSシステム（ThermoFisher LTQ-Orbitrap XL）を用いて行った。HPLCは、逆相C18カラムを用いたグラジエント条件、観測質量範囲m/z 600-700、サンプルは各10 mLを注入した。アルカロイド標品は和光純薬市販品を用い、添付文書に基づき標準溶液を調整し検量線を作成した。

譲り受けたトリカブトについて乾燥重量1 g当りのジェステルアルカロイド類の含有量を定量したところ、アコニチン 0.43 mg、メサコニチンは 0.55 mg、ヒパコニチンは 0.04 mg、ジェサコニチン 0.89 mgで、これらの和（ブシジェステルアルカロイド量）は、1.9 mgであった。

この結果から推計すると、患者の摂取した総アルカロイド量は 14.4 mgと考えられ

る。すなわち、一人当たり5 mg程度摂取したことになる。アコニチンの致死量については、およそ3-6 mgという値が知られているので、この摂取量は、致死量を十分含んでいたことになる。なお、後日道警は、死亡した2名の血中からトリカブトに特徴的なアコニチンなどの3成分が検出されたと発表した（表 敏弘ら：重症トリカブト中毒の3名同時搬入例，中毒研究 25: 332, 2012）。

### 4) 採取地の植物相観察

誤認するに至った現場の植物相を検証するため、聞き取り調査で得られた情報をもとに、採取地と考えられる函館市郊外の山林の植物相を調査した。

トリカブトは林道基点近くの沢筋に小群落を1つ見つけたのみで、その近辺及び上流部には全く見つける事はできなかった。トリカブトのすぐ近くにはニリンソウがまばらに生えていた。ニリンソウは、林道の基点から終点まで林道沿いの林床に群生していたが、尾根筋となる林道終点以北には観察されなかった。その他、川沿いの植林された針葉樹の林床には、アキタブキ、マイヅルソウ、バイケイソウ、モミジガサ、チゴユリ、ミツバ、エゾニュウ、オニシモツケ、ドクニンジン、ウマノミツバ、広葉樹林の林床には、バイケイソウ、エンレイソウ、オニシモツケ、モミジガサ、オオウバユリ、タンポポなどが観察された。

## C. 考察

今回の事故では、採取者が「ニリンソウを取ってきた」と家族に話していることから、ニリンソウとトリカブトの誤認と考えられる。残存していた植物の観察、および

その成分の化学分析からも、トリカブトであることが裏付けられた。最近20年余の日本国内における高等植物による食中毒事例の統計調査によれば、トリカブトによる食中毒に関して、誤認した植物としてはニリンソウが最多で、ついでモミジガサが多いと報告されている（登田ら，食衛誌，2012：53, 105.）。野草を採取したとされる現地の植物相調査でも、トリカブトの周辺にニリンソウ，モミジガサが生育していた。以上のことから，トリカブト中毒を未然に防止するには，まず原植物の正確な鑑定，あるいは似た植物との適切な見分け方が如何に重要かがわかる。これに関して，北海道のアイヌの伝承に学ぶべきことが多々ある。かつてニリンソウは，アイヌにとって重要な食料のひとつであり，毎年春には大量のニリンソウを採取し，冬の保存食料としていた。採集に関するいくつかの資料には，若葉のうちトリカブトの葉によく似ているので，花が咲いてから採るのが良いとされている。ニリンソウの花が咲くころには，トリカブトは大きくなっており確実に区別できることが示されている。現在出版されている多くの山菜図鑑も，ニリンソウは花やつぼみのついているものを採るのが安全だと指摘している。

#### D. 結論

植物毒による食中毒は，細菌やきのこほど多くはないものの，毎年少なからず発生する。春の山菜の時期に特に多く，山菜とよく似た有毒植物を採取し，誤って食べて中毒する例が後を絶たない。ニリンソウなどと誤認してのトリカブト中毒は，死に至ることも多いので，特に注意が必要である。

今回のトリカブト中毒現地調査により，植物の誤認を防ぐことが如何に重要であるかが示された。個々の植物によって，特徴や見分け方が違うので，それぞれに応じたけきめ細かい注意喚起，啓蒙活動が必要と考えられる。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

原著論文

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学的背景．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

### III. 遺伝子鑑別による迅速・簡便な有毒植物同定法の開発

#### 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 mL，8~90 mg/mL）を抽出した。

3) PCR 条件

PCR 用反応液は 50  $\mu$ 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 mL）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 *Bgl*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 mL を用い全量 50 mL として行った。37°C で 5 分反応後、反応液（10 mL）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 mm<sup>2</sup> を 1.5 mL チューブに移した。そこに、Lysis Buffer (TaKaRa) 100 mL を加え、ペレットミキサーで組織を破碎し、Proteinase K 1 mL 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  $\mu$ L として調製した。上清 2.5 mL 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 mL）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思われる。

### 4. 原因植物の DNA 分析による同定

2014 年 5 月，青森県八戸市で発生したチョウセンアサガオの誤食による食中毒の現地調査を行い，原因植物と思われる植物サンプルを入手した。そこで，DNA 鑑別による植物種の同定法を適用し，本原因植物の種同定を試みた。

食中毒原因植物のゲノム DNA を鋳型として，*rbcL*（部分断片），*matK*（部分断片）および *trnH-psbA* intergenic spacer 領域

を PCR にて増幅後、DNA シークエンサーを用いて塩基配列を決定した。得られた塩基配列をクエリーとし、DNA データベース (BOLD Systems, GenBank/DDBJ/EMBL) の検索機能を用いてクエリーに最も近い配列を同定した。

塩基配列を決定した *rbcL* (670 bp) を BOLD System の BOLD Identification Systems にて植物種を推定したところ、食中毒原因植物はナス科植物 (ヨウシュチョウセンアサガオ) であると推定された。また、*matK* (848 bp), *trnH-psbA* intergenic spacer 領域 (550 bp) の配列を GenBank の BLAST 検索を行ったところ、同様の結果が得られた。この結果により、本遺伝子鑑別法が、実際の中毒原因植物にも有効に適用できることが確認できた。

### C. 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。

### D. 結論

PCR-RFLP 法を利用した遺伝子鑑別法により、迅速・簡便な有毒植物鑑定法を確立した。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、治療のため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ため、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。

### E. 健康危険情報

特になし

### F. 研究発表

特になし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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」  
平成 24～26 年度総合分担研究報告書

自然毒関連の食品安全情報の収集解析

研究分担者	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

1. 海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について（平成 24 年度、平成 26 年度）

海外から侵入する可能性がある自然毒ハザードに対する監視の必要性はあるが、従業者の労力やコストは限られており、効率よく効果的に監視を行うためには対象のハザード及び食品の優先順位付けを行わなければならない。本研究では、海外において、健康リスクの観点から食品への混入・使用が懸念されている、あるいは使用が禁止されている高等植物及びきのこを調査し、リスト化して特に注意を向けるべきものを特定し、優先順位をつけた。さらに、海外での有毒な高等植物・きのこの食品への混入事例、規制や注意喚起などの対応状況を調査した結果、ビターアプリコットカーネルのアミグダリン、穀類や豆類へのトロパンアルカロイド含有植物の混入、ハーブティー等へのピロリジジンアルカロイド含有植物の使用、蜂蜜中のグラヤノトキシンについては複数国で対応がとられていた。他に、豆類中のレクチン、ジャガイモ中のグリコアルカロイド類についても複数国が注意喚起や情報提供を行っていた。

2. 消費者アンケート調査（平成 25 年度）

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ことから、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、食中毒の原因となる自然毒に関して消費者が正しく認識しているとは言えず、現状の情報提供では予防効果が十分ではないと考えられた。情報提供の方法について消費者は、メディアを利用した情報提供、小中学校での教育が効果的だと考えていた。現在も国や地方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。

A. 研究目的

1. 海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について（平成 24 年度、平成 26 年度）

海外から侵入する可能性がある自然毒ハザードに対し監視する必要はある。しかし

ながら、監視業務従事者の労力やコストは限られており、効率よく効果的に監視を行うためには、対象のハザード及び食品の優先順位付けが必要となる。本研究では、ハザードとして食中毒の原因となり得る植物性自然毒、それらを含む高等植物及びきのこ

こを選択した上で、監視対象の優先順位付けに有用な基礎資料とすることを目的に、海外において、健康リスクの観点から食品への混入や使用が懸念されている、あるいは食品への使用が禁止されている高等植物及びきのこについて調査・検討した。さらに、有毒成分を含む植物性の食品、あるいは有毒な高等植物・きのこの食品への混入に関する事例、規制や注意喚起等など各国の対応状況を調査した上で、我が国への輸入食品において注意を向けておくべき植物性自然毒関連の問題を特定した。ただし、かび毒及び菌類が産生する有毒物質（例：麦角アルカロイド）は対象外とした。

## 2. 消費者アンケート調査（平成 25 年度）

自然毒による食中毒の大部分は「家庭」で発生し、消費者の知識不足が原因であることが多いことから、予防対策として行政機関による消費者への注意喚起及び自然毒の危険性の周知が行われている。しかしながら、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という課題がある。地域によって問題となる自然毒の種類が異なるだけでなく、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向けに情報提供を行うための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らするためのアンケート調査の実施を目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について（平成 24 年度、平成 26 年度）

海外で健康リスクの観点から食品への混入が懸念されている、あるいは使用が禁止されている高等植物及びきのこに関する情報の有無について、米国、カナダ、欧州各国、豪州、ニュージーランド等の公的機関の公表資料を中心に調査した結果、参考となる資料として、次に示す①及び②を入手した。この 2 つの資料と日本で自生又は栽培されている可能性のある有毒な高等植物リスト（③）を比較し、今後我が国でも注意を向けるべき高等植物及びきのこについて検討した。

① Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements; *EFSA Journal* 2012;10(5):2663 [60 pp.] (31 May 2012) ; <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2663.htm>

欧州食品安全機関（EFSA）が、欧州機関（欧州理事会、欧州医薬品庁等）、欧州各国（21ヶ国）及び世界保健機構（WHO）等の公表資料（規制を含む）と EFSA が収集した文献資料をもとに、食品及びフードサプリメントへ使用した場合にヒトの健康影響への懸念がある成分を含む高等植物・きのこ等をまとめたリストである。特に、フードサプリメントの原材料の安全性評価におけるハザード特定を支援することに重点が置かれている。

② Australia New Zealand Food Standards Code 1.4.4 -PROHIBITED AND RESTRICTED

## PLANTS AND FUNGI-

豪州及びニュージーランドの食品基準 (Australia New Zealand Food Standards Code) の1つとして、食品へ意図的に添加、あるいは食品として販売してはならない高等植物・きのこ類及びその成分のリストである。  
③佐竹元吉 監修; 学研フィールドベスト図鑑 16 日本の有毒植物と食中毒

日本における有毒植物として、野生種及び栽培種の約180種について、標準和名、学名、分類上の科名、有毒部位、毒性、特徴、間違えやすい植物、毒性成分、中毒事例・死亡事例の有無などを紹介している。

さらに、EUの食品及び飼料に関する緊急警告システム (RASFF: the Rapid Alert System for Food and Feed) のデータ (2014年12月25日までの通知) を対象に、食品中の自然毒 (原料成分) が問題になった事例、並びに有毒な植物・きのこが実際に食品へ混入した事例を調査した。

また、食品中に含まれる又は混入する可能性がある自然毒に関する規制、消費者への注意喚起等について、各国政府の食品安全担当機関などの公的機関の公表資料を中心に調査した。

### 2. 消費者アンケート調査 (平成25年度)

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。講習会は主に食品関連の内容 (ただし自然毒との関連性はない) で開催されたものであった。

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. 海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について (平成24年度、平成26年度)

ハザードとして植物性自然毒に着目し、食品に混入する可能性がある有毒な高等植物及びきのこに関する海外の資料を調査した。

調査の結果、有用な資料として「B. 研究方法」の項で示した資料①、②が確認できた。これらの資料は、欧州各国及び豪州・ニュージーランドにおいて、食品及びフードサプリメントに使用又は混入する可能性があり、健康への有害影響が懸念されている高等植物及びきのこのリストである。さらに、我が国で自生又は栽培されている可能性がある有毒な高等植物のリストとして資料③を使用した。これらの資料 (①~③) を比較することにより、食品への混入を懸念すべき高等植物が特定できただけでなく、優先順位をつけることもできた。結果として、資料①~③のうち2つ以上の資料に記載されていた高等植物は「特に注意すべき高等植物」であると考えられた。さらに、3つの資料全てに記載されていた高等植物については、我が国で従前から有毒であると認識されていただけでなく、海外でも有害影響が懸念されているものであり、優先的



に注意を向けておくべきものであると判断した。資料③には記載がなく、資料①、②に記載されていたものについては、海外では監視対象になっているが、我が国ではあまり警戒されていない、或いは自生・栽培されていない高等植物と言える。きのこについては資料①及び②を比較したところ、両資料に記載されているきのこは重複しているものが多く、海外において食品及びフードサプリメントへ混入する可能性があり健康への有害影響が懸念されているきのこ（特に属として）は類似していることが分かった。特に幻覚性きのこは一致していた。（詳細は、平成 24 年度分担報告書を参照）

EU RASFF は、規則 EC/178/2002 のもとで設置され、EC (European Commission) が運営しているシステムである。RASFF メンバー国が健康リスクのある食品や飼料を確認した場合には、RASFF を利用して EC へただちに通知しなければならない。もし当該製品が第三国へ輸出されていた場合には、その国にも通知される。本研究では、海外において食品中の植物性自然毒（原料成分として含まれる）が問題になった事例、有毒な高等植物・きのこが食品へ混入した事例について EU RASFF データベースの情報をもとに調査し、どのような自然毒や食品が問題になりやすいのかを特定した。関連する事例は、1982～2014 年 12 月 25 日の通知として 157 件が確認できた。通知された主なものは、シキミ（有毒成分：アニサチン）、トロパンアルカロイド含有植物、青酸配糖体含有植物、イヌサフラン（コルヒチン）、ピロリジジンアルカロイド含有植物、イヌホウズキ（グリコアルカロイド）、

高濃度のクマリン、トウゴマ（リシン）、松の実による味覚異常（通称パインマウス）などであり、件数ではトロパンアルカロイド含有植物、青酸配糖体含有植物、高濃度のクマリン、松の実による味覚異常に関する通知が他に比べて特に多かった。

次に、各国政府の食品安全担当機関等の公表資料を対象に、食品に含まれる可能性のある自然毒に関する規制や注意喚起があるかを調査した。基準値が設定されていた、あるいは植物性自然毒に関する専用ウェブサイトが公開されていた主な各国機関は次の通りであった。各々の詳細は平成 26 年度分担報告書にまとめた。3ヶ国以上の専用ウェブサイト等に記載されていたのは、red kidney beans 等のレクチン、ジャガイモ中のグリコアルカロイド、青酸配糖体であった。

- 米国食品医薬品局 (FDA) : 食品中の病原微生物と天然毒素についてのハンドブック (Bad Bug Book) (食品由来疾患の原因となる要因に関する情報を包括的にまとめたハンドブック)
- FDA : Compliance Policy Guide Sec. 550.050 Canned Ackee, Frozen Ackee, and Other Ackee Products - Hypoglycin A Toxin
- 英国食品基準庁 (FSA) : Fact sheet Natural toxins (食品中の自然毒に関するファクトシートを PDF で公開。ただし、現在は公開されていない)
- カナダ食品検査庁 (CFIA) : Natural toxins in fresh fruit and vegetables (果実・野菜中の自然毒に関する専用ウェブサイトを開設)

- CFIA : Imported and Manufactured Food Program Inspection Manual (輸入及び加工食品の検査マニュアルにおいて、化学ハザードの一つとして自然毒を記載)
- ヘルスカナダ : Canadian Standards (Maximum Levels) for Various Chemical Contaminants in Foods
- ヘルスカナダ : Natural Toxins (食品中の自然毒に関する専用ウェブサイトを開設)
- 香港政府 : Natural Toxins in Food Plants (食品中の植物性自然毒の情報を PDF で公開)
- 香港政府 : Food Safety Topics (食品安全に関して簡単にまとめた資料に自然毒の記載あり)
- ニュージーランド一次産業庁 (MPI) : Specific foods & natural toxins (食品中の自然毒に関する専用ウェブサイトを開設)
- オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) : Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants

また、食品の国際基準・規格を設定しているコーデックス委員会では、次の個別食品規格において、当該食品に混入すべきでない植物種子として、*Crotalaria*

(*Crotalaria* spp. : マメ科タヌキマメ属)、*Corn cockle* (*Agrostemma githago* L. : ナデシコ科ムギセンノウ属)、*Castor bean* (*Ricinus communis* L. : トウダイグサ科トウゴマ属)、*Jismon weed*

(*Datura* spp. : ナス科チョウセンアサガオ属)、及び一般的に健康に有害と認められる他の種子、を指定している。

- ・ sorghum grains (CODEX STAN 172-1989)
- ・ maize (corn) (CODEX STAN 153-1985)
- ・ wheat and durum wheat (CODEX STAN 199-1995)
- ・ oats (CODEX STAN 201-1995)

さらに各国機関は、食品中自然毒に関する専用ウェブサイトの公開だけでなく、何か問題になった場合には個別に注意喚起等を公表している。直近 10 年間に各国で公表された植物性自然毒に関する代表的な評価書や注意喚起等をまとめた結果、複数の国で対応が取られたものとしては、野生きのこ（主に中国産）中のニコチン、蜂蜜中のグラヤノトキシン、ビターアプリコットカーネル中のアミグダリン、穀類や豆類へのトロパンアルカロイド含有植物の混入、ハーブティーへのピロリジジナルカロイド含有植物の使用、松の実による味覚異常の問題があった。きのこシーズンには各国で誤って毒きのこを採取しないようにとの注意喚起が例年公表されていた。(詳細は、平成 26 年度分担報告書を参照)

## 2. 消費者アンケート調査 (平成 25 年度)

消費者の「食品に関する問題の不安」についての情報として、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。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、行政的に管理され推定されるリスクも低い輸入食品や残留農薬よりも、毎年食中毒が発生し死者も出ている自然毒の方が不安に感じる人の割合が低いのは問題であると考えられた。

「自然毒による食中毒に関する知識」の情報として、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を調査した。得られた結果で特徴的だった主なことは、次の通りである。

- ・食用にできるフグ種が決められていること、フグの肝臓は毒性が高く食用にできないことについて、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できた。
- ・きのこのこの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きのこの種類を特定するのは難しい。しかし、回答者の5%はきのこのこの図鑑があれば見分けられると回答したことから、消費者にきのこのこの判別の難しさをより強く伝えていく必要がある。
- ・高等植物による食中毒の最近の発生状況の特徴の一つに、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。その多くは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。しかしながら、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、発生場所

を正しく学校と回答したのはたったの13%であった。このように、ジャガイモによる食中毒のことを正しく認識している人は少ないことが明らかとなり、今後は教育現場や子どものいる家庭を対象に重点的に注意喚起を行う必要があることが示された。

「行政による情報提供の仕方」について、消費者の視点から、行政機関がどのような方法で消費者に向けて情報提供すれば効果的であるのかを調査した。質問の回答様式は複数項目からの選択型にして、他に自由記載用の欄を設けた。選択用の項目をアンケート調査票の作成者が思いつく範囲で示したことのバイアスはあるものの、得られた回答によると、メディアを利用した情報提供や注意喚起が最も有効のようであった。さらに、小中学校での教育が効果的であるとの回答も多く、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。(詳細は、平成25年度分担報告書を参照)

## D. 結論

### 1. 海外でリスクが懸念されている食品中の植物性自然毒について

欧州及びFSANZの公表資料・規制の情報をもとに、食品への混入・使用を懸念すべき高等植物・きのこをリスト化して特に注意を向けるべきものを特定した。

さらに、海外での食品への有毒な高等植物・きのこの混入事例、規制、消費者への注意喚起等に関して調査したところ、海外の複数国で注意喚起がなされ、我が国でも食品安全上の対策として注意を向けるべきと考えられたのは、ビターアプ

リコトカーネルのアミグダリン、穀類や豆類へのトロパンアルカロイド含有植物の混入、ハーブティー等へのピロリジンアルカロイド含有植物の使用であった。他に、症例報告等で中毒が報告されている蜂蜜中のグラヤノトキシンについても健康被害を生じる懸念があり注意が必要であると考えられた。

また、海外ではフードサプリメントへの有毒な高等植物の使用・混入について特に懸念していることに鑑み、販売前に十分な調査もされずに有毒な高等植物がフードサプリメントに利用されることのないよう我が国でも何らかの対策が必要であると考えられた。

## 2. 消費者アンケート調査

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、食中毒の原因となる自然毒に関して消費者が正しく認識しているとは言えず、現状の情報提供では食中毒発生の予防効果が十分ではないと考えられた。情報提供の方法としては、消費者は、メディアを利用した情報提供、小中学校での教育が効果的だと考えていた。現在も国や地方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。

以上のように、食品に含まれる可能性のある自然毒に関する海外での対応状況を調査し、今後我が国の食品安全対策（特に輸入食品監視）の一環として注意を向けていくべき植物性自然毒及びそれらを含む高等植物・きのこを特定した。また、消費者への注意喚起等における今後の課題を特定した。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表等

- 1) 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) 登田美桜: 管理栄養士・栄養士のための食品安全・衛生学, 3.7 自然毒食中毒, 日佐和夫, 仲尾玲子編著, (株) 学文社 (2014) pp.64-71
- 3) 登田美桜: 食品危害要因 その実態と検出法, 第Ⅱ編第1章第4節有毒な高等植物, 後藤哲久, 佐藤吉朗, 吉田充監修, テクノシステム(2014) pp. 171-177
- 4) 畝山智香子, 登田美桜: 10年間の食品安全情報で収集した「いわゆる健康食品」についての海外情報の傾向について, 日本食品安全協会会報 (2014) 9(3), 32-35

### 2. 学会発表

- 1) 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について: 日本薬学会第 133 年会, 2013 年, 横浜市.
- 2) Toda M, Uneyama C, Kasuga F: Trends of food poisonings caused by