

201426026A

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26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27 (2015) 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26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27 (2015) 年5月

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 長島裕二	1
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	10
2. フグの毒性試験と毒化能の検討 長島裕二	16
3. フグの毒成分の同定と定量 佐藤 繁	25
4. 亜熱帯産フグ等の毒性試および調査 大城直雅	29
5. フグ類の形態に基づく分類 松浦啓一	39
6. 遺伝子によるフグ類の種判別 石崎松一郎	43
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	49
IV. 研究成果の刊行物・別刷	52

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. フグの毒性調査

筋肉が高毒化しているフグ（コモンフグ、ヒガンフグ）が漁獲されることがある東北地区と、亜熱帯海域フグが生息する沖縄地区のフグの毒性を重点的に調査した。さらに、これまで実態がよくわかっていなかった天然交雑種フグの毒性実態調査を実施した。

2009年と2014年に三陸海域で漁獲されたコモンフグ、および2014年に三陸海域で漁獲されたヒガンフグの部位別毒性を調べたところ、1984年の調査と同様に、これら2種の筋肉や皮が高頻度で高い毒性を示すことを確認し、高毒化が続いていることが明らかになった

亜熱帯産モヨウフグ属7種およびオキナワフグの合計8種141個体の筋肉の毒性を調べた。調査したフグはいずれも通知のリストには掲載されていないが、コクテンフグとオキナワフグで「強毒」個体が認められ、オキナワフグはすべての個体からテトロドトキシン（TTX）が検出された。モヨウフグ、ケショウフグ、ホシフグおよびアラレフグの4種は調べた個体はすべて「無毒」であった。

外部形態がトラフグと類似するものの交雑種と判断されたフグ119個体の毒性を調べた。10個体から毒性が検出されたが、毒性はトラフグと同程度またはそれ以下のものがほとんどであった。しかし、一部でトラフグでは食用可能とされている精巢（32.6 MU/g）と皮から毒性が検出された（最高毒性値220 MU/g）。交雑種フグの毒性および食用適否の判定を下すには、今後両親種を判別した上で、この毒性評価結果と合わせて考察する必要がある。

昭和35年（1960年）～平成22年（2010年）に発生したフグによる食中毒事件2,401件のうち、地方衛生研究所21機関から、原因食品の残品または未調理品124事例（個体）、223検体の検査情報を入手することができた。今後、これらのデータを精査し、リスク管理およびリスク評価に資する科学的根拠データの作成を検討し、食中毒発生時に取得すべきデータについて、リスク管理およびリスク評価の視点から整理して行く必要がある。

Ⅱ. フグの分類に関する研究

日本の沿岸と排他的経済水域に7属54種のフグ類が分布することが明らかになった。各属は体表面の側線の数や走り方、鼻器官の形態、体表面の小棘の分布、鰭条数および色彩によって識別できる。サバフグ属の分類学的研究を行った結果、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。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* はクロサバフグと同一であるため、今後、クロサバフグにはこの学名を適用すべきである。奄美大島から得られた標本に基づいてシッポウフグ属の新種アマミホシゾラフグ *Torquigener albomaculosus* Matsuura, 2014 を発表した。

交雑種フグの父系種を同定するため、核DNAマイクロサテライトマーカー（AGAT repeat）解析を行ったところ、反復回数がトラフグおよびマフグでそれぞれ30-40回および35回であり、種間差が明瞭ではなかった。一方、GAAAG repeat 解析ではトラフグおよびマフグで顕著な差が確認できたことから、父系種同定に使用可能であると判断された。

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・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・名誉研究員
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。

B. 研究方法

Ⅰ. フグの毒性に関する調査研究

1) 東北地区のフグの毒性調査

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50個体および同市場で2013年6月に水揚げされたシロサバフグ46個体、2014年9月に入手した秋田県産シヨウサイフグ24個体、2014年10月に岩手県大船渡魚市場と釜石魚市場で入手した三陸産シヨウサイフグそれぞれ13個体、2014年10月～12月に大船渡魚市場と釜石魚市場で入手した三陸産コモンフグ計40個体、2014年10月～12月に大船渡魚市場と釜石魚市場で入手した三陸産ヒガンフグ計12個体の合計4種198個体を試料とした。

試料から各組織を取り出し、0.1%酢酸を加えてホモジナイズした後、沸騰浴中で加熱して毒を抽出した。フグ毒の分析はHPLC-蛍光検出法で行い、抽出液中の麻痺性貝毒(PSPs)含量をELISA(SKIt, 新日本検定協会製)で分析した。

2) 沖縄地区のフグの毒性調査

沖縄県衛生環境研究所にて採集・保管されていた、モヨウフグ属のサザナミフグ42個体、モヨウフグ27個体、スジモヨウフグ9個体、ケシヨウフグ12個体、コクテンフグ24個体、ホシフグ4個体、アラレフグ3個体および、オキナワフグ属のオキナワフグ20個体の合計8種141個体を試料とした。

各試料から筋肉を取り、0.1%酢酸を加えてホモジナイズし、沸騰水浴中で加熱抽出した。フグ毒の分析はLC-MS/MS法で行った。

3) 交雑種フグの毒性調査

試料には、2013年4月に瀬戸内海で採取した天然交雑種フグ27個体と2012年10月～12月に山口県沿岸で漁獲された92個体を用いた。

試料魚から各組織を取り出し、0.1%酢酸で加熱して抽出液を調製した。フグ毒の定量はLC-MS分析またはマウス試験法で行った。マウス試験は、東京海洋大学動物実験委員会の承認を受け、東京海洋大学動物実験等取扱規則などを順守して実施した。

4) フグ食中毒事例の調査

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(1960年)～平成22年(2010年)に発生した食中毒事例のリストを基に、全国の地方衛生研究所へ調査票を送付し、検査の実施状況を調査した。

なお、本調査は、地方衛生研究所全国協議会理化学部会（委員長：平田輝昭 福岡県保健環境研究所長）の協力により実施した。

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標本を調査すると同時に新たな標本を得るために鹿児島県奄美大島や高知県においてフィールド調査も行った。国内外のフグ類の標本約 300 個体を調査した。

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。形態形質を調査するため、入手した標本は 10%ホルマリンで固定した後、70%アルコールに保存して、形態学的調査を行った。

鱗条数の計数や体表面の小棘の観察は双眼実態顕微鏡を用いて行った。内部骨格の観察が必要な場合には、軟 X 線撮影装置を用いて骨格系を撮影した。

2) 遺伝子による種判別

試料には人工交配フグ種（トラフグ（♀）×マフグ（♂）3 個体およびトラフグ（♂）×マフグ（♀）3 個体）ならびに、研究室保管のトラフグ、マフグ、カラスを用い、これらの筋肉から D 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、390bp を含む部分領域を PCR 増幅した。PCR 終了後、PCR 断片を template として、得られた 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母系種の同定を行った。

一方、父系種同定に関しては、父系種同定に使用可能なマイクロサテライトマーカーの選別を目的に、まずトラフグにおいて NCBI データベースに登録されている 244 個のマイクロサテライト遺伝子座のうち、トラフグ内で比較的多様性が低いと想定される遺伝子座を 2 種選択した。それらのマイクロサテライト領域を含むプライマーを設計し、トラフグ属 3 種および人工交配フグ個体の DNA を鋳型として PCR を行った。PCR 産物を 4%アガロースゲル電気泳動により検出することで、多型の存否を確認した。最終的に、塩基配列を決定し、マイクロサテライトの反復回数を測定した。

C. 研究結果

I. フグの毒性に関する調査研究

1) 東北地区のフグの毒性

2009 年に採取した三陸産コモンフグの毒の主成分は TTXs であるが、5 MU/g を超える比較的高濃度の PSPs が高頻度で検出された。2014 年に採取した三陸産コモンフグ 40 個体の筋肉の大部分に、基準値を超える TTXs が認められ、顕著な濃度の PSPs (3.6 + 7.4 MU/g, max 52.8 MU/g) も検出された。皮、肝臓、消化管、生殖腺には、TTXs および PSPs からなる高い毒性が検出された。

2014 年に採取した三陸産ヒガンフグ 12 個体の筋肉の大部分に、10 MU/g を超える TTXs が認められた。皮、肝臓、消化管、生殖腺にはいずれも TTXs を主体とする高い毒性が確認された。

2014 年に採取した秋田県産ショウサイフグは、皮、肝臓、消化管、生殖腺から毒性が検出されたが、筋肉に 10 MU/g を超える検体は認められなかった。一方、釜石魚市場ならびに大船渡魚市場で 2014 年に採取したショウサイフグ計 13 個体中 5 個体の筋肉が、10 MU/g を上回る毒性を示した。皮、肝臓、消化管および生殖腺は TTXs を主体とする高い毒性を示し、PSPs も検出された。

2013 年 6 月に釜石魚市場で採取し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 個体のみに 20 MU/g 程度の TTX 群が検出された。

2) 沖縄地区のフグの毒性

サザナミフグ 42 個体中 3 個体の筋肉が 10 MU/g (2.2 μgTTX/g) を超え、その毒力は 11~17 MU/g の「弱毒」レベルであった。スジモヨウフグは 9 個体中 1 個体が有毒で、毒力は 37 MU/g (8.14 μgTTX/g) であった。コクテンフグは 24 検体のうち、10 MU/g (2.2 μgTTX/g) 未満の「無毒」が 9 個体、「弱毒」が 12 個体 (15~89 MU/g)、「強毒」が 3 個体 (106~141 MU/g) であった。オキナワフグ 20 個体すべてから TTX が検出され、10 MU/g (2.2 μgTTX/g) 未満の「無毒」が 4 個体 (1.3~8.6 MU/g)、「弱毒」が 12 個体 (12~85 MU/g)、「強毒」が 2 個体 (110、139 MU/g) であった。

これに対し、今回調査したモヨウフグ 27 個体中、ケショウフグ 12 個体、ホシフグは 4 個体、アラレフグ 3 個体はすべて「無毒」(10 MU/g 未満)であった。

3) 交雑種フグの毒性

2013 年 4 月に瀬戸内海で採取した天然交雑種フ

グ 27 個体中 26 個体については、いずれの部位からも TTX が検出されなかった。外観的特徴から、これらはいずれもトラフグ×マフグまたはコモングと推定された。残り 1 個体に関しては、皮、筋肉、肝臓、消化管および生殖腺から、それぞれ 43、5、449、264 および 273 MU/g の TTX が検出された。本個体は、マフグ×トラフグ、もしくはショウサイフグ×トラフグまたはマフグと推定され、前記の 26 個体とは異なる交雑種と推測された。

2012 年 10 月～12 月に山口県沿岸で漁獲されたトラフグと外部形態が類似しているものの、トラフグにはみられない腹部の黄色い線と黄色い尻鰭をもつフグ 92 個体の毒性を調べたところ、9 個体から毒性が検出された。組織別の有毒個体出現率と最高毒性値をみると、肝臓の有毒個体出現率は 7.6% (試料 92 個体中 7 個体が有毒。以下、7/92 と記す) で、最高毒性値は 689 MU/g であった。消化管では、20 個体中 1 個体が有毒で、有毒個体出現率は 5.0% (1/20) で、その毒性値は 1070 MU/g で、「猛毒」レベルに達した。精巣では、1 個体が 32.6 MU/g の「弱毒」を示したが、他の 54 個体では、毒性は検出されず、有毒個体出現率は 1.8% であった。卵巣は、有毒個体出現率が 15.2% (5/33) で、最高毒性値は 465 MU/g であった。胆嚢では、25 個体中 5 個体が有毒であり、有毒個体出現率は 20.0% で、最高毒性値は 552 MU/g であった。脾臓では、18 個体中 2 個体が有毒であり、有毒個体出現率は 11.1% で、最高毒性値は 595 MU/g であった。皮は、有毒個体出現率が 5.4% (5/92) で、最高毒性値は 220 MU/g となった。毒性が検出された有毒個体の筋肉試料から、毒性は検出されなかった (5 MU/g 未満)。

4) フグ食中毒事例の調査

昭和 35 年 (1960 年) ～平成 22 年 (2010 年) に発生したフグによる食中毒事件 2,401 件の一覧を各自治体別にリストを作成し、検査に係る情報の提供を依頼したところ、該当する情報が確認できた地方衛生研究所 21 機関から、原因食品の残品または未調理品 124 事例 (個体)、223 検体の検査情報を入手することができた。

魚種 (推定や疑いも含む) で多かったのはマフグ 19 個体 29 検体、コモング 15 個体 33 検体、ヒガンフグ 11 個体 24 検体、ショウサイフグ 5 個体 12 検体、トラフグ 3 個体 6 検体、シロサバフグ 6 個体 7 検体、ドクサバフグ 3 個体 8 検体で、魚種不明が 41 個体 65 検体あった。部位別では、筋

肉 79 検体、肝臓 38 検体、皮と卵巣が各 22 検体であった。

原因食品に含まれていた、もしくは未調理品のフグ試料の毒力は、不検出～「強毒」まで幅があった。フグ毒 (マウス毒性試験) もしくは TTX (機器分析) が検出されなかったのは 57 検体、10 MU/g 未満の「無毒」が 24 検体、「弱毒」が 71 検体、「強毒」が 52 検体、「猛毒」が 14 検体であった。

II. フグの分類に関する研究

1) 形態に基づく分類

日本産フグ類の多数の標本を国内の博物館、大学および水産研究所において形態学的に精査した結果、日本の沿岸と排他的経済水域に 7 属 54 種が分布することが明らかになった。各属は体表面の側線の数や走り方、鼻器官の形態、体表面の小棘の分布、鰭条数および色彩によって識別できるが、フグ科魚類の分類形質としては、色彩が最も有力であり、鰭条数は限られた種の識別にのみ有効であることが明らかになった。

サバフグ属は体の側面腹方が銀白色を呈するのでフグ科の他属から容易に識別できるが、サバフグ属内の種は互いに類似しているため、分類が困難な場合も多い。多数の標本を調査した結果、体背面の小棘の分布、尾鰭や胸鰭の形態、体側面と背面の色彩および胸鰭と尾鰭の色彩によってサバフグ属の種を識別できることが明らかになった。

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. cheesemani*、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*。

日本にはシッポウフグ *Torquigener brevipinnis* とナミダフグ *T. hypselogeneion* が分布することが知られていたが、奄美大島におけるフィールド調査により新種を発見し、*Torquigener albomaculosus* (和名: アマミホシフグ) という学名をつけて Ichthyological Research (2015) に発表した。本種はシッポウフグ属の他種から色彩によって識別される。

2) 遺伝子による種判別

人工交配フグ種 (トラフグ (♀) ×マフグ (♂) 3 個体およびトラフグ (♂) ×マフグ (♀) 3 個体) につき、ミトコンドリア DNA 中の 16S rRNA およびシトクローム *b* 領域の塩基配列に基づいて母系種

の同定を行った結果、すべての個体で交配通りに母系種を同定することができた。

一方、父系種の同定に用いることができるマイクロサテライトマーカーの選抜を行った結果、GAAAG 反復配列の解析で、トラフグおよびマフグ間で電気泳動距離が異なる反復配列を示すことが認められた。そこで、人工交配フグ種を対象に、GAAAG 反復回数の普遍性を確認したところ、両親種（トラフグとマフグ）の分子量の各位置に複数のバンドが見られた。

D. 考察

I. フグの毒性に関する調査研究

1) 東北地区のフグの毒性

本研究では、Kodama et al. (1984)の調査から 25 年が経過した 2009 年に採取した三陸産のコモンフグが依然として高い毒性を有していることを明らかにした。加えて、2014 年に三陸沿岸で採取したコモンフグとヒガンフグならびにショウサイフグの 3 種の毒含量を調べ、高い頻度で筋肉の毒性が基準値を大幅に超過していることを確認した。すなわち、2011 年の東日本大震災後も、これらフグ類の毒性は食用不可の高いレベルにとどまっており、大津波による海域の攪乱が、フグ類の毒性には変化をもたらしていないことが明らかとなった。

2) 沖縄地区のフグの毒性

今年度調査したモヨウフグ属およびオキナワフグはいずれの種も通知の「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フグの種類と部位」の表には記載されておらず、いずれの部位も食品衛生法上は有毒として取り扱われる。オキナワフグ (70%) とコクテンフグ (63%) は有毒個体出現率が高く、「強毒」個体も確認された。また、「無毒」の個体からも TTX が検出されているため、注意が必要である。一方で、モヨウフグ、ケショウフグ、ホシフグおよびアラレフグは、全個体が「無毒」であった。これらに関しては、今後の調査研究により食用魚としての位置づけの可能性もありうる。

3) 交雑種フグの毒性

2013 年 4 月に瀬戸内海で採取した天然交雑種フグでは、1 個体のみで毒が検出され、26 個体はいずれの部位も検出限界未満であった。有毒個体は、外見的特徴からマフグ、トラフグ、ショウサイフグのうちのいずれか 2 種が両親種である可能性が高い。いずれの部位の毒性も、これらのフグの範

疇を超えることはなかったが、「無毒」ではあるものの筋肉から 5 MU/g の毒が検出されている点は注意すべきである。しかし、これらは冷凍保存した試料であったことから、凍結・解凍による毒の移行について検討する必要がある。

2012 年 10 月～12 月に山口県沿岸で漁獲された天然交雑種フグにおいて、外部形態からトラフグとマフグとの交雑種と推定された 9 個体中の 4 個体と、トラフグと何かのフグとの交雑種と推定される 1 個体の皮から毒性が検出された。トラフグの皮は「無毒」とされているが、上記 5 個体はマフグのような皮に毒をもつ個体との交雑種である可能性が考えられる。また、精巣から毒性 (32.6 MU/g) が検出されたが、トラフグとマフグはともに精巣は「無毒」とされている。昨年の本研究事業において、研究分担者の荒川は、トラフグの精巣から「弱毒」レベル (20 MU/g) の毒性を報告していることから、トラフグあるいはその交雑種フグの精巣の毒性については今後精査する必要がある。

今回の交雑種の親魚は外部形態による推定であり、種の判別は正確ではないため、遺伝子鑑別法を用いて両親魚を明確にした上で、毒性試験結果を評価する必要がある。

4) フグ食中毒事例の調査

データ数の多かった魚種のうち、マフグは筋肉と精巣、コモンフグおよびヒガンフグは筋肉、トラフグおよびシロサバフグは筋肉、皮、精巣が食用可能な部位とされている。これらの魚種と部位の中には検査結果で有毒と報告されているものもあった。今回得られたデータをもとに、食中毒事件発生時に収集すべきデータについて、リスク管理およびリスク評価の視点から整理していく必要がある。特に、海域限定で適用除外されているコモンフグとヒガンフグ、逆に海域限定で食用可とされているナシフグについては、今後詳細な調査が必要である。

II. フグの分類に関する研究

1) 形態に基づく分類

日本産フグ類の分類学的再検討によって、日本周辺に 7 属 54 種が分布することが明らかになった。しかし、シッポウフグ属から新種が発見されたように、日本産フグ類の全容が明らかにされたわけではない。サバフグ属の分類学的再検討を通じて、クロサバフグが南半球にも分布することが明らかになり、本種の学名には南半球の種に使用されていた *Lagocephalus cheesemani* を適用すべきこと

が明らかになった。

2) 遺伝子による種判別

人工交配フグ種（トラフグ（♀）×マフグ（♂）およびトラフグ（♂）×マフグ（♀））のミトコンドリア DNA 解析法により、トラフグ（♀）×マフグ（♂）個体およびトラフグ（♂）×マフグ（♀）個体の母系種はそれぞれトラフグおよびマフグと同定されたことから、形態学的鑑別法によるしゅの推定は主として母系種の特徴が大きく反映されている可能性が示唆された。

一方、父系種同定に用いることができる核 DNA マイクロサテライト領域の探索を行ったところ、トラフグおよびマフグ間の交雑種を対象にした場合において、GAAAG 反復配列の回数の差から父系種同定が可能である可能性が示唆された。他のトラフグ属あるいはサバフグ属においても GAAAG がマーカーとして有効であるかどうかを検証することが必要であると考えられる。

E. 結論

I. フグの毒性に関する調査研究

筋肉が高毒化しているフグ（コモンフグ、ヒガンフグ）が漁獲されることがある東北地区と、亜熱帯海域フグが生息する沖縄地区のフグの毒性を重点的に調査した。さらに、これまで実態がよくわかっていなかった天然交雑種フグの毒性を明らかにすることを目的として交雑種フグの毒性実態調査を実施した。

2009 年と 2014 年に三陸海域で漁獲されたコモンフグ、および 2014 年に三陸海域で漁獲されたヒガンフグの部位別毒性を調べたところ、1984 年の調査と同様に、これら 2 種の筋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 2013 年 9 月に釜石魚市場に水揚げされたシロサバフグの筋肉や皮、2014 年に秋田県で水揚げされたショウサイフグの筋肉には、いずれも規制値を超える毒性は確認されなかった。

亜熱帯産モヨウフグ属およびオキナワフグ 8 種 141 個体の筋肉の毒性分析を実施した結果、いずれの種も通知のリストには掲載されていないが、モヨウフグ、ケショウフグ、ホシフグおよび、アラレフグの 4 種は全個体が「無毒」であった。「強毒」個体が認められたのはコクテンフグとオキナワフグで、特にオキナワフグはすべての個体から TTX が検出された。

外部形態がトラフグと類似するものの、他種フ

グとの天然交雑種と判断されたフグ 119 個体の毒性を調べた。その結果、10 個体から毒性が検出されたが、毒性はトラフグと同程度またはそれ以下のものがほとんどであった。しかし、一部で、トラフグでは食用可能とされている精巣から 32.6 MU/g の毒性が検出され、皮からも 1 個体で 220 MU/g と「強毒」レベルの毒性、4 個体で「弱毒」レベルの毒性が検出された。さらに、1 個体の消化管から過去に報告されている最強毒力「強毒」レベルを上回る 1070 MU/g の「猛毒」レベルの毒性が検出された。交雑種フグの毒性および食用適否を判定するには、今後両親種を判別した上で、この毒性評価結果と合わせ、交配による可食部位への影響を考察する必要がある。

昭和 35 年（1960 年）～平成 22 年（2010 年）に発生したフグによる食中毒事件 2,401 件のうち、地方衛生研究所 21 機関から、原因食品の残品または未調理品 124 事例（個体）、223 検体の検査情報を入手することができた。今後、これらのデータを精査し、リスク管理およびリスク評価に資する科学的根拠データの作成を検討し、食中毒発生時に取得すべきデータについて、リスク管理およびリスク評価の視点から整理して行く必要がある。

II. フグの分類に関する研究

日本の沿岸と排他的経済水域に 7 属 54 種のフグ類が分布することが明らかになった各属は体表面の側線の数や走り方、鼻器官の形態、体表面の小棘の分布、鱗条数および色彩によって識別できる。

サバフグ属の分類学的研究を行った結果、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。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* はクロサバフグと同一であるため、今後、クロサバフグにはこの学名を適用すべきである。

奄美大島から得られた標本に基づいてシッポウフグ属の新種アマミホシゾラフグ *Torquigener albomaculosus* Matsuura, 2014 を発表した。

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。母系種においては、今回確立したミトコンドリア DNA 法によって確実に同定できることが確認された。一方、父系種に関しては、トラフグおよびマフグからなる交雑種においては GAAAG 反復配列から推定できる可能性が示唆されたが、

他のマイクロサテライト領域も含め、さらなる追試が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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, 339-344 (2014).
- 2) T. Matsumoto, H. Feroudj, R. Kikuchi, Y. Kawana, H. Kondo, I. Hirono, T. Mochizuki, Y. Nagashima, G. Kaneko, H. Ushio, M. Kodama, S. Watabe: DNA microarray analysis on the genes differentially expressed in the liver of the pufferfish *Takifugu rubripes*, following an intramuscular administration of tetrodotoxin. *Microarrays* 3 巻, 226-244 (2014).
- 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: 腐肉食性小型巻貝 2 種に対するフグ毒給餌実験. *食品衛生学雑誌*, 55 巻, 152-156 (2014).
- 4) K. Matsuura: Taxonomy and systematics of tetraodontiform fishes: a review focusing primarily on progress in the period from 1980 to 2014. *Ichthyol. Res.*, 62 巻, 72-113 (2015).
- 5) K. Matsuura: A new pufferfish of the genus *Torquigener* that builds "mystery circles" on sandy bottoms in the Ryukyu Islands, Japan (Actinopterygii: Tetraodontiformes: Tetraodontidae). *Ichthyol. Res.*, 62 巻, 207-212 (2015).
- 6) T. Matsumoto, A. Kiriake, S. Ishizaki, S. Watabe, Y. Nagashima: Biliary excretion of tetrodotoxin in the cultured pufferfish *Takifugu rubripes* juvenile after intramuscular administration. *Toxicon* 93 巻, 98-102 (2015).
- 7) 佐藤 繁, 児玉正昭: フグを知って中毒防止. シロサバフグ・ドクサバフグ. *食と健康* 通巻 693 号, 26-27 (2014).
- 8) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. ヒガンフグ・アカメフグ. *食と健康* 通巻 694 号, 42-43 (2014).
- 9) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. ショウサイフグ・ナンフグ. *食と健康* 通巻 695 号, 30-31 (2014).
- 10) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. コモンフグ・クサフグ. *食と健康* 通巻 696 号,

28-29 (2014).

- 11) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. トラフグ・カラス. *食と健康* 通巻 697 号, 52-53 (2015).
- 12) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. マフグ・ゴマフグ. *食と健康* 通巻 698 号, 52-53 (2015).
- 13) 佐藤 繁, 松浦啓一: フグを知って中毒防止. シマフグ・オキナワフグ. *食と健康* 通巻 699 号, 28-29 (2015).
- 14) 松浦啓一: 「魚類分類学は人命を救う: フグ類の分類と毒性」, *PEN* 5 巻 7 号: 3-8 (2015).

2. 書籍・総説

- 1) 長島裕二, 松本拓也: フグ毒. 「別冊日本臨牀新領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 (第 2 版) V」. 日本臨牀社, 大阪, 2014, pp. 680-683.
- 2) 大城直雅, 仲里信彦: シガテラ魚類食中毒. 「別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 (第 2 版) V」. 日本臨牀社, 大阪, 2014, pp. 684-687.
- 3) 大城直雅: パリトキシン様毒とパリトキシン. 「別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 (第 2 版) V」. 日本臨牀社, 大阪, 2014, pp. 688-691.
- 4) 佐藤 繁: 貝毒. 「別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 (第 2 版) V」. 日本臨牀社, 大阪, 2014, pp. 692-695.
- 5) 佐藤 繁, 児玉正昭: フグ毒. *食品衛生検査指針・理化学編*. 日本食品衛生協会, 東京, 2015, pp. 813-820.
- 6) 大城直雅: 下痢性貝毒. *食品衛生検査指針理化学編*. 日本食品衛生協会, 東京, 2015, pp. 835-841.
- 7) 大城直雅: シガテラ毒. *食品衛生検査指針理化学編*. 日本食品衛生協会, 東京, 2015, pp. 842-848.
- 8) 松浦啓一・長島裕二 (編著): 「毒魚の自然史—毒の謎を追う」, 北海道大学出版会, 札幌, 2015. 312 pp.
- 9) 松浦啓一: 第 1 章 フグ類の分類と生態. 「毒魚の自然史—毒の謎を追う」, 北海道大学出版会, 札幌, 2015. pp. 3-32.
- 10) 長島裕二, 荒川 修, 佐藤 繁: 第 2 章 フグ毒. 「毒魚の自然史」(松浦啓一, 長島裕二 編著). 北海道大学出版会, 北海道, 2015. pp. 33-103.
- 11) 松浦啓一: 第 3 章 シガテラ毒をもつ魚類の分

類と生態. 「毒魚の自然史—毒の謎を追う」(松浦啓一, 長島裕二 編著), 北海道大学出版会, 札幌, 2015. pp. 107-112.

12) 大城直雅: 第4章 シガテラ毒. 「毒魚の自然史」(松浦啓一, 長島裕二 編著). 北海道大学出版会, 北海道, 2015. pp. 113-134.

13) 松浦啓一: 第5章 パリトキシンもしくはパリトキシン様毒をもつ魚類の分類と生態. 「毒魚の自然史—毒の謎を追う」(松浦啓一, 長島裕二 編著), 北海道大学出版会, 札幌, 2015. pp. 137-142.

3. 学会発表

1) N. Oshiro, Y. Yogi, S. Sakugawa, M. Toda, T. Yasumoto: Occurrence of ciguatera fish poisonings and development of ciguatoxins analysis methods in Japan, Ninth WESTPAC International Scientific Symposium, April 2014, Nha Trang, Vietnam.

2) S. Itoi, S. Yoshikawa, K. Asahina, M. Suzuki, K. Ishizuka, N. Takimoto, R. Mitsuoka, N. Yokoyama, A. Detake, C. Takayanagi, M. Eguchi, R. Tatsuno, M. Kawane, S. Kokubo, S. Takanashi, A. Miura, K. Suitoh, T. Takatani, O. Arakawa, Y. Sakakura, H. Sugita: Maternal TTX in the pufferfish babies contribute to beneficial strategies for increasing the survival of egg and larvae. The 10th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference. May 2014, Taipei, Taiwan.

3) S. Sato: A novel ELISA system to quantitate paralytic shellfish poisoning toxins. Programs & Abstracts in: China-Japan-Korea and southeast Asia Joint Symposium on “Advanced Processing Safety Control of Aquatic Products”. May 2014, Qingdao, China.

4) 辰野竜平, 上田慎也, 高谷智裕, 荒川 修: オキナワフグにおける体内毒分布の変化と毒分泌腺の分化. 第51回沖縄生物学会, 2014年5月, 沖縄県那覇市.

5) 與儀健太郎, 佐久川さつき, 大城直雅, 安元健: 沖縄産シガテラ魚におけるシガトキシン類組成. 日本動物学会九州支部(第67回), 九州沖縄植物学会(第64回), 日本生態学会九州地区会(第59回), 沖縄生物学会(第51回)合同沖縄大会, 2014年5月, 沖縄県西原町.

6) 辰野竜平, 山口健一, 池田光彦, 高谷智裕, 荒川 修: フグにおけるフグ毒(TTX)の体内動態とTTX結合性タンパク質の発現状況. 平成26年度日本水産学会秋季大会シンポジウム「魚類における新しいタンパク質 Calycin 研究の新展開: α 1-酸性糖タンパク質, フグ毒結合タンパク質, ウナギ蛍光タンパク質», 2014年9月, 福岡県福岡市.

7) 長島裕二: フグ肝臓と卵巣におけるフグ毒蓄積タンパク質. 平成26年度日本水産学会秋季大会シンポジウム 魚類における新しいタンパク質 Calycin 研究の最前線. 2014年9月, 福岡県福岡市.

8) 太田 晶, 石崎松一郎, 長島裕二: 組織培養したトラフグ肝臓におけるフグ毒の分布と存在形態. 平成26年度日本水産学会秋季大会. 2014年9月, 福岡県福岡市.

9) 桐明 絢, 松本拓也, 石崎松一郎, 長島裕二: 養殖トラフグ稚魚と成魚の肝臓発現遺伝子の比較. 平成26年度日本水産学会秋季大会. 2014年9月, 福岡県福岡市.

10) 林田宜之, 大城直雅, 立原一憲: シガテラ毒魚バラフエダイの年齢と成長, 成熟. 平成26年度日本水産学会秋季大会, 福岡県福岡市, 2014年9月.

11) N. Sato, T. Miyanishi, O. Arakawa, T. Takatani: Cytotoxic effects of palytoxin on rat skeletal muscle cells in culture. Joint International Symposium between Jeju National University and Nagasaki University, Oct. 2014, Jeju, Korea.

12) F. Soumiya, R. Tatsuno, K. Ibi, T. Takatani, O. Arakawa: Transfer/accumulation profile of TTX intramuscularly administered at different doses to the pufferfish *Takifugu rubripes*. Joint International Symposium between Jeju National University and Nagasaki University, Oct. 2014, Jeju, Korea.

13) 松浦啓一, 金子篤史, 片山英里: 腹部膜状部を開閉するフグ目の稀種ウチワフグの鱗に見られる特殊な構造. 2014年度日本魚類学会年会, 2014年11月, 神奈川県小田原市.

14) 園山貴之, 土井啓行, 石橋敏章, 松浦啓一: シッポウフグ属2種の育成. 2014年度日本魚類学会年会, 2014年11月, 神奈川県小田原市.

15) 岡山桜子, 太田 晶, 石崎松一郎, 長島裕二: ゴマフグ卵巣と卵巣糠漬けのフグ毒成分分析. 第108回日本食品衛生学会学術講演会. 2014年12月, 石川県金沢市.

- 16) 風間美保, 村田龍, 林田宜之, 佐久川さつき, 久高潤, 立原一憲, 小島尚, 安元健, 大城直雅: 沖縄産バラフェダイおよびゴマフェダイの LC-MS/MS 法によるシガトキシン類分析. 第 108 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014 年 12 月, 石川県金沢市.
- 17) 渡辺美遥, 村田龍, 西村美桜, 佐久川さつき, 久高潤, 立原一憲, 石崎直人, 小西良子, 安元健, 大城直雅: 沖縄産バラハタおよびオジロバラハタの LC-MS/MS 法によるシガトキシン類分析. 第 108 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014 年 12 月, 石川県金沢市.
- 18) 白石一陽, 斉藤真里佳, 村田龍, 照屋菜津子, 佐久川さつき, 小島尚, 大城直雅: 沖縄産フグの LC-MS/MS による毒性分析. 第 108 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014 年 12 月, 石川県金沢市.
- 19) 村田龍, 大城直雅, 小根澤遥: 下痢性貝毒 (OA・DTX 群) の LC/MS/MS 分析法の検討. 第 108 回日本食品衛生学会学術講演会, 2014 年 12 月, 石川県金沢市.
- 20) 長島裕二: フグの安全性. 平成 26 年度神奈川県ふぐ包丁師衛生講習会. 2015 年 3 月, 神奈川県横浜市.
- 21) 尹顯哲, 桐明 絢, 太田 晶, 石崎松一郎, 長島裕二: ヒガンフグ卵巣から単離したフグ毒結合タンパク質の同定. 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月, 東京都港区.
- 22) 永井 慎, 長島裕二: トラフグ肝臓におけるテトロドトキシン投与後の三次元分布に関する研究. 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月, 東京都港区.
- 23) 白井芽衣, 徐 超香, 石崎松一郎, 長島裕二: ショウサイフグの交雑種と推測されるフグの種判別と毒性. 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月, 東京都港区.
- 24) Acar Caner, 石崎松一郎, 長島裕二: Analysis of three Lessepsian puffers' complete mitochondrial genomes with phylogenetic consideration. 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 2015 年 3 月, 東京都港区.
- 25) 桐明 絢, 布施 遥, 石崎松一郎, 長島裕二: 16S rRNA 領域におけるテトラミン食中毒原因巻貝の種判別. 平成 27 年度日本水産学会春季大会. 2015 年 3 月, 東京都港区.
- 26) 村田龍, 小根澤遥, 大城直雅: 下痢性貝毒 (OA 群) の LC/MS/MS 分析法の検討. 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 2015 年 3 月, 東京都港区.

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 26 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、南伊豆沿岸産アカメフグおよび瀬戸内海産交雑種フグの毒性を調査するとともに、人工交雑種フグの毒蓄積能について検討した。天然フグの毒性調査の結果、アカメフグでは、筋肉、消化管、および精巢の最高毒力が「日本産フグの毒力表」を上回っていることがわかった。また、交雑種フグの場合、27 尾中 1 尾のみが有毒であったが、いずれの部位も推定両親種の最高毒力を超えることはなかった。一方、交雑種フグの毒蓄積能把握に資するため、マトラ〔マフグ（♀）とトラフグ（♂）から作出した人工交雑種フグ〕へのテトロドトキシン（TTX）投与実験を行った。その結果、2 ヶ月齢魚では、投与 24 時間後以降でも筋肉に毒の残存がみられたこと、8 ヶ月齢魚では同月齢のトラマ〔トラフグ（♀）とマフグ（♂）から作出した人工交雑種フグ〕に比べて、肝臓への TTX 蓄積が限定的であったこと、などから、両親種が入れ替わった交雑フグ間では毒蓄積能が異なる可能性のあることが示唆された。

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。

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、今年度はアカメフグと天然交雑種フグの毒性を調査するとともに、人工交雑種フグに対する TTX 投与実験を行い、それらの毒蓄積能について検討した。

B. 研究方法

1) アカメフグおよび天然交雑種フグの毒性調査

2007～2008 年に南伊豆沿岸で採取したアカメフグ 6 個体（体長 20.4 ± 0.7 cm、体重 498 ± 83.4 g）、ならびに 2013 年 4 月に瀬戸内海で採取した天然交雑種フグ 27 個体（全長 27.9 ± 53 cm、体重 469 ± 254 g）を試料とした。いずれも、皮、筋肉、肝臓、消化管、および生殖腺に腑分け後、公定法に準じて TTX を抽出し、LC-MS 分析にて TTX 量を測定した。交雑種フグについては、外見的特徴から両親種の推定も行った。各部位の TTX 量

を毒力 (MU) に換算し、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) 人工交雑種フグへのTTX投与実験

マフグ (♀) とトラフグ (♂) を人工交配させて作出した人工交雑種フグ (マトラ) 2ヶ月齢魚 (体長 4.2 ± 0.5 cm、体重 2.4 ± 0.8 g)、および8ヶ月齢魚 (15.1 ± 0.8 cm、 48.5 ± 7.8 g) に対して TTX を投与して、それらの毒蓄積能を調査した。まず、2ヶ月齢魚 35尾に対して背部筋肉内への TTX 溶液 (20 MU/尾) の注射投与を行った。投与 1、8、24、72、96、および 120 時間後に 5尾ずつ取り上げ、皮、筋肉、肝臓、およびその他内臓に腑分け後、公定法に準じて TTX を抽出し、LC-MS 分析にて TTX を定量した。一方、8ヶ月齢魚 12尾に対しては、TTX 添加飼料 (200 MU/尾) を経口経管投与した。投与 8、24、72、および 120 時間後に 3尾ずつ取り上げ、皮、筋肉、肝臓、および消化管 (内容物を除く) に腑分け後、2ヶ月齢魚と同様に TTX 量を測定した。

C. 研究結果

1) アカメフグおよび天然交雑種フグの毒性調査

アカメフグの毒性データを表 1 に示す。まず、一般的にフグ類で強い毒性を示す皮と肝臓では、それぞれ 14-84 MU/g、17-515 MU/g の TTX が検出され、最高値は「弱毒」(10-99 MU/g)、および「強毒」(100-999 MU/g) の範疇であった。また、卵巣の TTX 量は、最高 668 MU/g で、4尾全てが「強毒」に相当した。一方、「無毒」(<10 MU/g) とされる筋肉と精巣では、それぞれ 6尾中4尾、2尾中2尾から「弱毒」に相当する量の TTX が検出された。

次に、天然交雑種フグの毒性データを表 2 に示す。27尾中26尾については、いずれの部位からも TTX が検出されなかった。外観的特徴から、これらはいずれもトラフグ×マフグまたはコモンフグと推定された。残り1尾に関しては、皮、筋肉、肝臓、消化管、および生殖腺から、それぞれ 43、5、449、264、および 273 MU/g の TTX が検出された。本個体は、マフグ×トラフグ、もしくはショウサイフグ×トラフグまたはマフグで、前記 26個体とは異なる交雑種と推定された。

2) 人工交雑種フグへのTTX投与実験

マトラ2ヶ月齢魚における投与120時間後までの TTX 蓄積率の推移を図 1 に示す。投与1時間

後では全体の蓄積率は 14.2% であり、その半分程度 (6.9%) は肝臓に蓄積されていた。肝臓の蓄積率はその後減少し、投与 24 時間後以降 TTX は検出されなかった。一方、皮では投与 1 時間後から TTX の蓄積が認められ、試験終了まで次第に増加し、投与 120 時間後では皮のみに蓄積が認められた。他方、筋肉には投与 1、24、および 96 時間後に毒の残存がみられた。

マトラ8ヶ月齢魚における投与120時間後までの TTX 蓄積率の推移を図 2 に示す。投与 8 時間後では全体の蓄積率が 17.6% であり、その大半は肝臓に蓄積していた。しかし、投与 24 時間後では肝臓から毒は検出されなくなり、全体の蓄積率は 5.7% まで減少した。その後、皮の蓄積率の増加に伴い全体の蓄積率も上昇し、投与 120 時間後には 53.2% に達した。一方、前述の 2ヶ月齢魚の結果とは異なり、いずれの取り上げ時間においても筋肉への毒の蓄積は認められなかった。

D. 考察

1) アカメフグおよび天然交雑種フグの毒性調査

前述のとおり、本実験に供したアカメフグは肝臓、消化管、および卵巣が「強毒」、皮、筋肉、および精巣が「弱毒」の範疇であった。「日本産フグの毒力表」と比較すると、筋肉、消化管、および精巣の毒量が同毒力表を上回っており、特に「無毒」とされていた筋肉と精巣から「弱毒」に相当する毒が検出された点は注視に値する。今回の試料は、実験に用いるまで数年間凍結保存されていたこと、また肝臓や卵巣が「強毒」を示したことから、凍結・解凍により毒が高毒性部位から筋肉や精巣に移行した可能性がある。今後、この点についても検討する必要がある。

天然交雑種フグでは、1尾のみで毒が検出され、26尾はいずれの部位も検出限界未満であった。有毒個体は、外見的特徴からマフグ、トラフグ、ショウサイフグのうちのいずれか 2 種が両親種である可能性が高い。いずれの部位の毒性も、これらのフグの範疇を超えることはなかったが、「無毒」ではあるものの筋肉から 5 MU/g の毒が検出されている点には注意すべきであろう。天然交雑種フグも、アカメフグ同様、冷凍保存した試料であることから、凍結・解凍による毒の移行について検討する必要がある。

2) 人工交雑種フグへのTTX投与実験

マトラ 2 ヶ月齢魚への TTX 注射投与実験において、試験魚は最高でも投与した毒の 20%程度しか毒を蓄積していなかったにもかかわらず、投与 24 および 96 時間後に筋肉から毒が検出された。先行研究において、トラフグ 4 ヶ月齢魚への TTX 注射投与試験では、投与 4 時間後以降に筋肉から毒は検出されていない。また、マトラとは両親種の組み合わせが異なる人工交雑種フグ、トラマ 8 ヶ月齢魚への TTX 注射投与試験においても、投与 24 時間以降、筋肉に毒は検出されなかった。一方、天然マフグの筋肉に毒性が認められた例（未発表）もあり、マフグやマフグ交雑種フグの筋肉の毒蓄積能については、今後も検討していく必要がある。

マトラ 8 ヶ月齢魚への TTX 経口経管投与実験では、試験魚は最終的に投与した毒の約 50%を蓄積した。毒の移行については、トラフグ等への投与実験と同様に、肝臓の蓄積率が減少するのに伴って、皮の蓄積率が増加した。一方、先行研究で行ったトラマ 8 ヶ月齢魚への TTX 経口経管投与実験では、投与 120 時間後まで肝臓の蓄積率が 25%を下らず、また皮での蓄積が認められたのは投与 72 時間後からであった。すなわち、両親種が入れ替わった交雑フグの間では、毒の体内動態や各部位の毒蓄積能が異なる可能性がある。他方、トラフグにおいて、成長段階の違いが体内における毒の分布に影響することが報告されている。実験に供したマトラと先行研究のトラマはいずれも 8 ヶ月齢ではあるものの、それぞれ 48.5 ± 7.8 g、 231 ± 28 g と体格に大きな相違がみられ、成長段階（あるいは成熟段階）が異なっていた可能性がある。今後はこの点についても考慮する必要がある。

E. 結論

以上、アカメフグにおいて一部の部位の最高毒力が「日本産フグの毒力表」を上回ることがわかった。また、有毒交雑種フグ 1 個体の筋肉から、‘無毒’の範疇ではあるものの、5 MU/g 程度の毒が検出された。これらの結果については、凍結・解凍による毒の部位間移行が影響した可能性も考えられ、さらなる検証が必要と思われる。

一方、マトラへの TTX 投与実験では、2 ヶ月齢魚において筋肉で長時間の毒の残存がみられるなど、両親種が入れ替わることで TTX 蓄積能に差異が生じる可能性のあることが示唆された。

交雑種フグの毒性に関しては、依然として不明の部分が多く、各部位の TTX 蓄積能につき、引き続き検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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: 腐肉食性小型巻貝 2 種に対するフグ毒給餌実験. 食衛誌, 55, 152-156 (2014).

2. 書籍等

- 1) 長島裕二, 荒川 修, 佐藤 繁: 第 2 章 フグ毒, 「毒魚の自然史」, 松浦啓一, 長島裕二 編著, 北海道大学出版会, 札幌, pp. 33-103 (2015).

2. 学会発表

- 1) S. Itoi, S. Yoshikawa, K. Asahina, M. Suzuki, K. Ishizuka, N. Takimoto, R. Mitsuoka, N. Yokoyama, A. Detake, C. Takayanagi, M. Eguchi, R. Tatsuno, M. Kawane, S. Kokubo, S. Takanashi, A. Miura, K. Suitoh, T. Takatani, O. Arakawa, Y. Sakakura, H. Sugita: Maternal TTX in the pufferfish babies contribute to beneficial strategies for increasing the survival of egg and larvae. The 10th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference. Taipei, Taiwan, May 2014.
- 2) 辰野竜平, 上田慎也, 高谷智裕, 荒川 修: オキナワフグにおける体内毒分布の変化と毒分泌腺の分化. 第 51 回沖縄生物学会, 那覇, 2014 年 5 月
- 3) 辰野竜平, 山口健一, 池田光彦, 高谷智裕, 荒川 修: フグにおけるフグ毒 (TTX) の体内動態と TTX 結合性タンパク質の発現状況. 平成 26 年度日本水産学会秋季大会シンポジウム「魚類における新しいタンパク質 Calycin 研究の新展開: α 1-酸性糖タンパク質, フグ毒結合タンパク質, ウナギ蛍光タンパク質」, 福岡, 2014 年 9 月
- 4) N. Sato, T. Miyanishi, O. Arakawa, T. Takatani: Cytotoxic effects of palytoxin on rat skeletal muscle cells in culture. Joint International Symposium between Jeju National University and Nagasaki University, Jeju, Oct. 2014.
- 5) F. Soumiya, R. Tatsuno, K. Ibi, T. Takatani, O.

Arakawa: Transfer/accumulation profile of TTX intramuscularly administered at different doses to the pufferfish *Takifugu rubripes*. Joint International Symposium between Jeju National University and Nagasaki University, Jeju, Oct.

2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表1 アカメフグの毒性データ

	TTX 量 (MU/g)				
	皮	筋肉	肝臓	消化管	生殖腺
♂	41-84	4-10	62-217	9-78	13-28
♀	14-62	4-37	17-515	24-143	164-668

表2 天然交雑種フグの毒性データ

TTX 量 (MU/g)				
皮	筋肉	肝臓	消化管	生殖腺
43	5	449	264	273

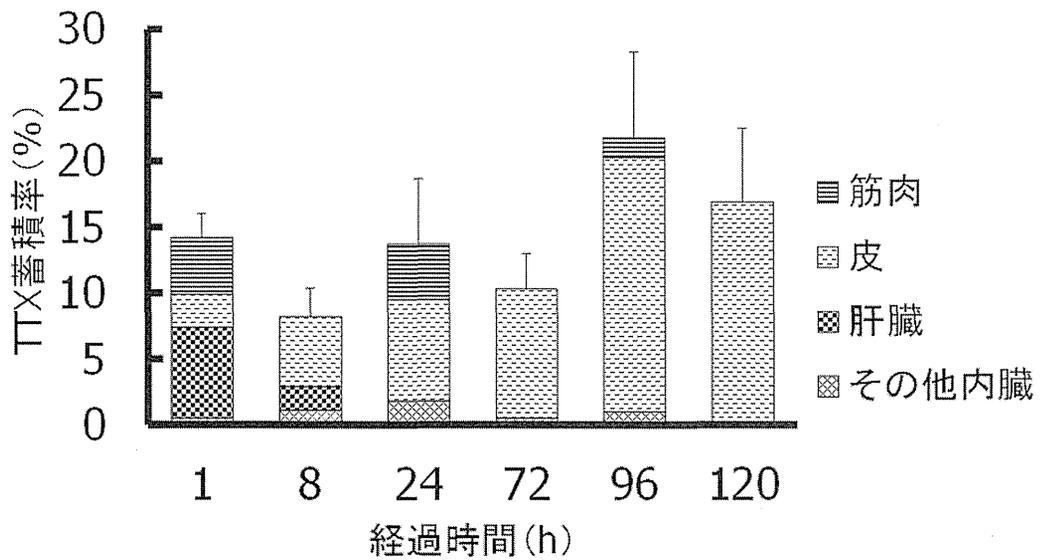


図1 マトラ2ヶ月齢魚における TTX 蓄積率の推移

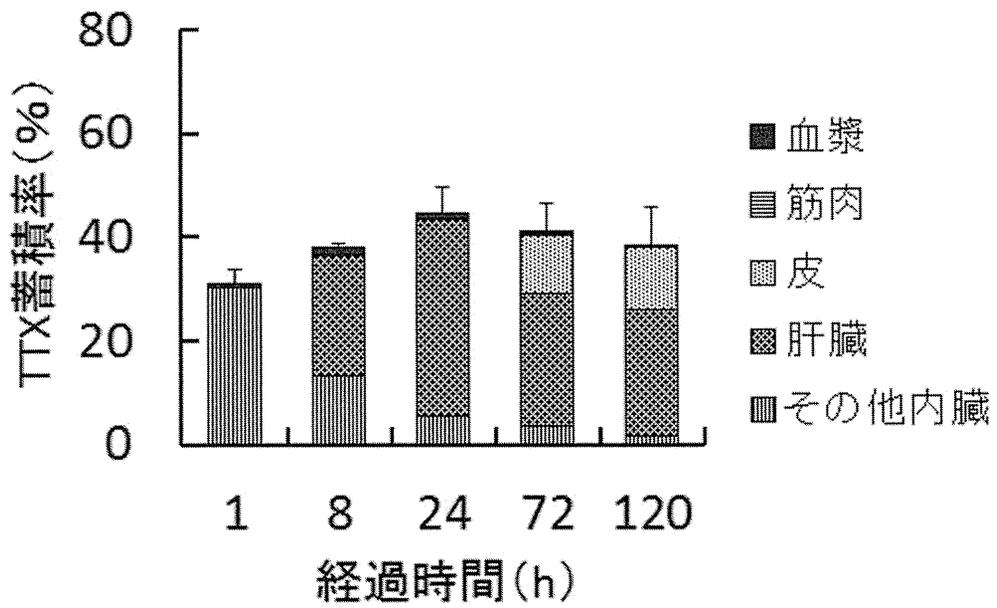
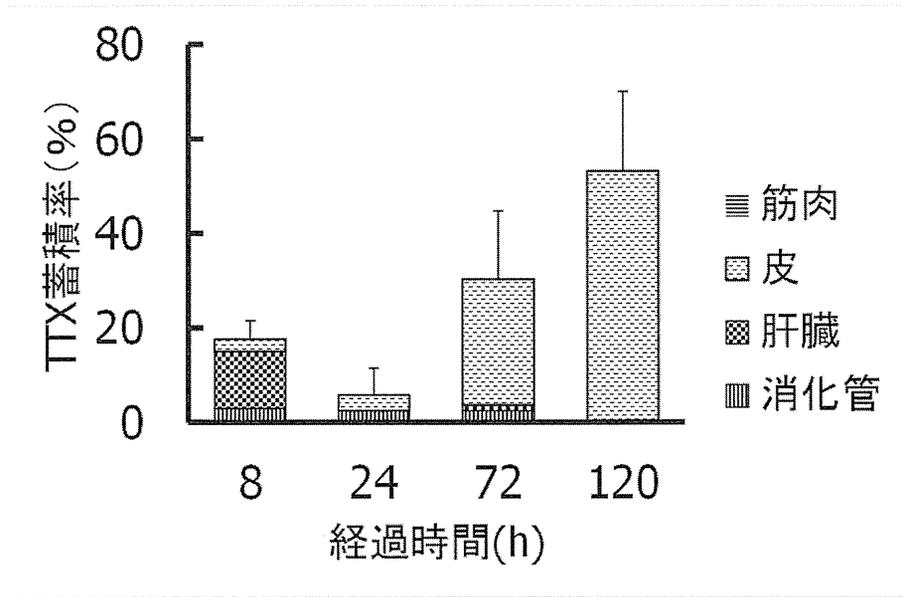


図2 マトラおよびトラマ8ヶ月齢魚における TTX 蓄積率の推移
上：マトラ、下：トラマ (Wang et al., 2012)

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 26 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 食品生産科学部門

研究要旨

フグの安全性確保のため、これまで実態がわかっていなかった自然交雑種フグの毒性ならびに毒成分を明らかにすることを目的として、外部形態からトラフグ類似フグと判断された 92 個体について毒性試験と毒成分分析を行った。供試したトラフグ類似フグは、山口県沿岸で漁獲されたもので、全体的な外部形態はトラフグに似ているものの、トラフグにはみられない腹部の黄色い線と黄色い尻鰭をもつことから交雑種フグと判断した。毒性試験により、92 個体中 9 個体から毒性が検出され、毒性はトラフグと同程度またはそれ以下のものがほとんどであったが、トラフグでは食用可能とされている精巣から 32.6 MU/g の毒性が、皮から「強毒」レベル (220 MU/g) の毒性が検出された。さらに、1 個体の消化管から過去に報告されている最高毒力の「強毒」レベルを上回る 1070 MU/g の「猛毒」レベルの毒性が検出された。LC-MS での毒成分分析において、有毒サンプルからテトロドトキシン (TTX) と TTX 類縁体が検出され、主成分は TTX と trideoxyTTX であった。本研究で、トラフグ類似フグの毒性と毒成分を調べたが、交雑種フグの食用適否の判定を下すには、今後、両親種を判別した上で、この毒性評価結果と合わせ、交配による可食部位への影響を考察する必要がある。

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。今年度は、山口県沿岸で漁獲されたトラフグに類似した交雑種フグについて個体別、組織別に毒性を測定し、一部の有毒試料について、毒成分分析を行った。

B. 研究方法

1) フグの毒性試験

試料は、2012 年 10 月～2013 年 12 月に山口県沿岸で漁獲されたトラフグと外部形態が類似しているものの、トラフグにはみられない腹部の黄色い線と黄色い尻鰭をもつフグ (以下“トラフグ類似フグ”と仮称) (図 1) 92 個体を用いた。これらは、すべて山口県水産研究センターが入手し、外部形態観察でトラフグ類似フグと判断されたもので、同センターから恵与されたものである。

試料は、漁獲後冷凍され、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、胆嚢、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。マウス試験は、東京海洋大学動物実験委員会の承認を受け、東京海洋大学動物実験等取扱規則などを順守して実施した。

本実験では、測定検体数が多いため、毒性が高いことが知られている肝臓と生殖巣 (卵巣)、交雑種フグの親魚と推定されるトラフグでは「無毒」とされているのに対し、マフグでは有毒で「強毒」とされている皮、ならびに食用するうえで最

も重要な筋肉については、すべての個体で毒性試験を行い、毒性が検出された個体についてその他の組織に対して毒性を測定した。

2) フグ毒成分分析

試料には上記1)の毒性試験で毒性が検出されたトラフグ類似フグ9個体を用いた。

LC-MS分析に先立ち、フグ組織抽出液をジクロロメタンで脱脂し、遠心限外濾過(分画分子量3000, Ultrafree-0.5, Millipore) (12000×g, 15min)で得られた濾液を分析用試料とした。

フグ毒の分析は、LC/ESI (Electrospray ionization) -MS法で行った。分析カラムはTSKgelAmide-80 (2.0 mm I.D.×15 cm, 3 μm particle size, 東ソー)を用い、移動相は16 mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 5.5):アセトニトリル(4:6, v/v)を用いて、流速0.2 mL/minで分析を行った。TTXおよびその類縁体の検出はSIR (Single Ion Recording)モードを採用し、oxoTTX(*m/z* 366)、TTXおよびepiTTX(*m/z* 320)、deoxyTTX (*m/z* 304)、anhydroTTX (*m/z* 302)、nor-TTX (*m/z* 290)、dideoxyTTX (*m/z* 288)、trideoxyTTX (*m/z* 272)をモニターした。TTX標準品との比較とYotsu-Yamashitaら(2013)の報告から予測される出現順番から毒成分を推定した。

C. 研究結果

1) トラフグ類似フグの毒性

毒性試験の結果を表1に示す。有毒の個体はその毒性値を、無毒のものは<5 MU/gのように組織を酢酸抽出した際の希釈倍率未満として示した。試験した92個体中9個体から毒性が検出され、有毒個体出現率は9.8%であった。

組織別の有毒個体出現率と最高毒性値を表2に示す。肝臓では、全体としての有毒個体出現率は7.6%(試料92個体中7個体が有毒。以下、7/92と記す)であった。雌雄別の同出現率では、雄が5.5%(3/55)、雌が9.1%(3/33)で、雌の方が高い傾向を示した。最高毒性値は雄が689 MU/g(試料No. 90)、雌が550 MU/g(試料No. 28)で、共に「強毒」であり、雌雄間で顕著な差は認められなかった。

消化管では、調査した20個体中1個体(試料No. 28)が有毒であり、有毒個体出現率は5.0%で、その毒性値は1070 MU/gで、「猛毒」レベルに達した。

精巣では、1個体(試料No. 21)が32.6 MU/gの「弱毒」を示したが、他の54個体では、毒性は検出されなかった。

卵巣は、有毒個体出現率が15.2%(5/33)であ

った。その内、「強毒」のものが2個体(試料No. 28、88)、「弱毒」のものが3個体(試料No. 18、24、89)で、最高毒性値は465 MU/g(試料No. 28)であった。

胆嚢では、調査した25個体中5個体が有毒であり、有毒個体出現率は20.0%で、最高毒性値は552 MU/g(試料No. 90)であった。胆嚢の毒性が高い試料個体は肝臓の毒性も高く、両組織の間には正の相関がみられた(相関係数 $r=0.967$)。

脾臓では、調査した18個体中2個体(試料No. 4、28)が有毒であり、有毒個体出現率は11.1%で、最高毒性値は595 MU/g(試料No. 28)であった。

皮は、有毒個体出現率が5.4%(5/92)であった。雌雄別の有毒個体出現率では、雄が3.6%(2/55)、雌が6.1%(2/33)で、最高毒性値は、雄で69.0 MU/g(試料No. 90)、雌で220 MU/g(試料No. 28)となった。

毒性が検出された有毒個体(9検体)を含めすべての筋肉試料から、毒性は検出されなかった(5 MU/g未満)。

2) トラフグ類似フグの毒成分

トラフグ類似フグで毒性を示した試料について毒成分分析を行った。毒性試験した中で、最も高い毒性を示した試料No. 90の肝臓(689 MU/g)、胆嚢(552 MU/g)および皮(69.0 MU/g)の毒成分を調べた結果、肝臓では、TTX(保持時間13.63分、以下時間のみ示す)、trideoxyTTX(6.44分)、anhydroTTX(10.60分)の他にdideoxyTTX(7.29分)、norTTX(11.58分)が検出された(図2)。これらを合一したTotal Ion Chromatogram(以下TICとする)にすると、肝臓のフグ毒成分は、trideoxyTTXとTTXが主成分であった(図3)。同様に、胆嚢と皮もtrideoxyTTXとTTXをフグ毒の主成分とすることがわかった(図3)。

次に、毒性がみられたトラフグ類似フグの肝臓(No. 21、28、84、88)の毒成分を個体別に比較した(図4)。このうち、毒性値が「強毒」レベル(100~999 MU/g)を示したNo. 28(550 MU/g)、84(292 MU/g)、88(460 MU/g)はTTXとtrideoxyTTXが主成分であった(図4)。ただし、No. 88はTTXとtrideoxyTTXに加えnorTTXと推定される成分も著量検出された(図4)。毒性値が低かったNo. 21(11.9 MU/g)では全体的にピークが小さく、毒成分の同定には至らなかった(図4)。図には示していないが、トラフグ類似フグの卵巣(No. 18、24、28、88、89)と皮(No. 28、84)では、いずれの個体においてもtrideoxyTTXとTTXが検出された。