

植物毒分析法開発と毒性評価  
（植物毒の毒性評価と毒成分分析・植物の遺伝子判別法開発）

分担研究者 紺野勝弘 富山大学和漢医薬学総合研究所  
研究協力者 佐竹元吉 お茶の水女子大学生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

- 1) 有毒植物による食中毒が、例年より多く発生し、中でもイヌサフランで 2 名、スイセンで一名の死亡例が特記される。
- 2) 有毒植物の遺伝子鑑別法の実験条件を、イヌサフランについても構築した。
- 3) 有毒植物の遺伝子鑑別法を実際の中毒原因植物試料(イヌサフラン)に適用し、本鑑別法が有効であることを確認した。

I. 有毒植物による食中毒情報収集

A. 研究目的

中毒事故の情報を収集し、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。特に、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や原因植物試料の入手も可能となる。

B. 研究方法

1. 中毒情報の収集

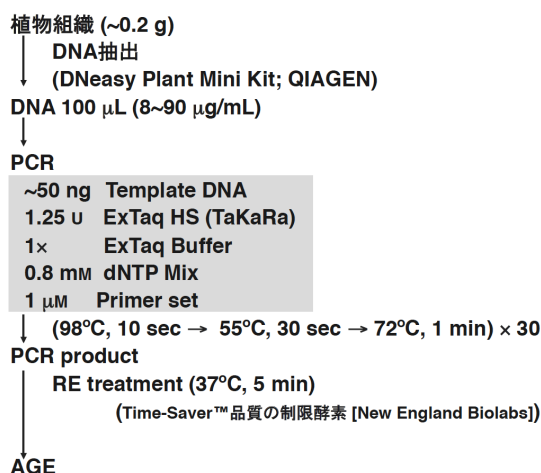
新聞などのメディア報道から現地の担当保健所を探し出し、連絡をとり、聞き取り調査を行う。必要に応じて、現地調査を行い、より詳細な聞き取り調査、発生現場の視察、原因植物の試料入手を検討する。試料が得られた場合は、毒成分分析や遺伝子鑑別によって植物種を同定する。

2. 中毒原因植物の DNA 分析による同定

(1) PCR-RFLP 法を利用した鑑別 (図 1)

入手した植物 (約 5 mm<sup>2</sup>) および Lysis Buffer (TaKaRa) 200 μL を 1.5 mL チューブに入れ、ペレットミキサーで組織を破碎した。組織破碎液 100 μL を新しいチューブに移し、Proteinase K 1 μL を加え、65°C で 5 分間反応後、98°C で 2 分間加熱し酵素を失活させた上清を PCR 反応の鋳型とした。

図 1. PCR-RFLP 法の実験概要



PCR 反応液は 50 μL として調製した: 鋳型 DNA (上記の上清) 2.5 μL, プライマー対 (10 μM; BG-rF1, BG-rR2) (プライマーの配列は表 1 参照) 各 1.25 μL, 2 × Gflex PCR Buffer 25 μL, Tks Gflex DNA Polymerase (TaKaRa) 1 μL, dH<sub>2</sub>O 19 μL. PCR 反応条件は、94°C で 1 分間加熱後、98°C で 10 秒、55°C で 15 秒、68°C で 30 秒を 30 サイクル行った。

PCR 反応終了後、反応液の一部を制限酵素処理した。制限酵素反応の組成は以下の通り: PCR 産物 2 μL, BgII 5 μL, NEBuffer3 5 μL, dH<sub>2</sub>O 38 μL. これを 37°C で 5 分間反応後、反応液の一部 (15 μL) を 3%アガロースゲル電気泳動し、UV 照射下バンドを検出した。

C. 研究結果

1. 中毒情報の収集

平成 28 年度に報告された有毒植物による中毒事例を表 1 に示した。

表 1. 平成 28 年度に報告された有毒植物による中毒事例

月日	場所	原因種	摂食者数	患者数	死者数
3月6日	石川県	スイセン	4	4	0
3月9日	兵庫県	スイセン	11	10	0
3月30日	山形県	スイセン	1	1	0
4月6日	福島県	バイケイソウ	1	1	0
4月8日	宮城県	バイケイソウ	2	2	0
4月10日	山形県	スイセン	2	2	0
4月10日	岐阜県	ハシリドコロ	2	2	0
4月21日	北海道	イヌサフラン	1	1	1
4月23日	秋田県	トリカブト	1	1	0
5月1日	長野県	イヌサフラン	1	1	0
5月2日	長野県	バイケイソウ	2	2	0
5月6日	長野県	スイセン	12	11	0
5月14日	宮城県	イヌサフラン	1	1	1
5月29日	北海道	スイセン	1	1	1
11月9日	兵庫県	チョウセンアサガオ	1	1	0

例年に比べ発生事例が多く、イヌサフランで 2 件 2 名、スイセンで 1 件 1 名の死亡例が発生したのは特記される。イヌサフランによる中毒事例は、近年多く、死亡例も多い。平成 25 年(2013 年)以降 4 年間で 9 件発生し、うち 5 件 5 名が死亡している。スイセンによる死亡事例は、初めて発生した。いずれも、身近に豊富にあるので、今後さらなる注意が必要である。

## 2. 中毒原因植物の DNA 分析による同定

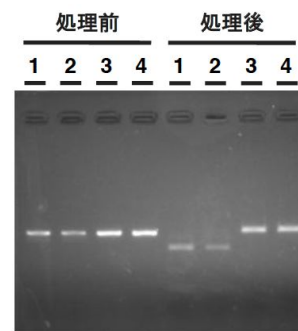
平成 24~25 年度において、DNA 鑑別による迅速・簡便な植物種の同定法を開発した。本法は、高価な機器を必要とせず、操作が簡便であるため高度な実験手技を必要としないこと、また分析時間が短く(90 分以内)、結果(電気泳動像)の解釈が容易であることなどの特徴があり、保健所や医療機関などの現場において、食中毒患

者への初期対応と平行して行えるものと考えている。

### (1) PCR-RFLP 法を利用したイヌサフランの鑑別

これまで実験条件を構築したのは、中毒例の多い 4 種(バイケイソウ類、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセン)についてであったが、昨今の事例、特に、死亡例の多いことに鑑み、イヌサフランについても実験条件を構築した。DNA 領域として *rbcL*、制限酵素として *PstI* を用いることにより、イヌサフランは切断されて 2 本のバンドに、対象のギョウジャニンニクは切断されずに一本のバンドしか見えず、明確に区別することができた(図 2)。

図 2. PCR-RFLP 法によるイヌサフランの鑑別



1. イヌサフラン; 2. イヌサフラン;  
3. ギョウジャニンニク; 4. ギョウジャニンニク

### (2) PCR-RFLP 法を利用した中毒原因植物の鑑別

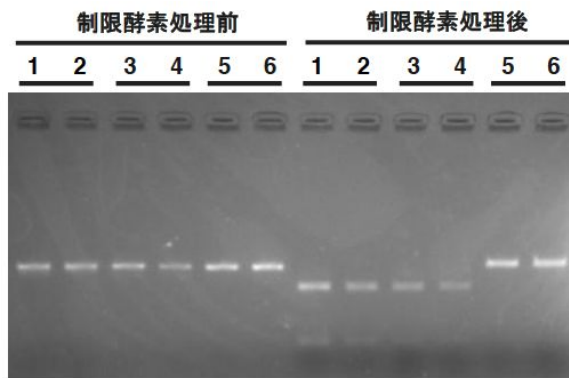
実際中毒を引き起こした原因植物を入手し、本法を適用して、植物種の同定を試みた。

入手した中毒原因植物は形態学的な鑑定の結果、イヌサフランであると推定された。そこで、今回構築した DNA 鑑別法(イヌサフランとギョウジャニンニクを識別する PCR-RFLP 法)を適用した。

入手した植物の DNA を鋳型として PCR を行い、*rbcL* の部分断片を増幅した。PCR 増幅産物を制限酵素 *PstI* で消化し、アガロースゲル電気泳動で分離した(図 3)。その結果、入手した植物由来の PCR 増幅産物は制限酵素により消化され、バイケイソウ由来の PCR 増幅産物と同様の泳動パターンを示すことが確認できた(図 3)。

図 3. PCR-RFLP 法を利用した中毒原因植物(イヌサフラン)

ン)の鑑別



1. 食中毒サンプル 1; 2. 食中毒サンプル 2;
3. イヌサフラン; 4. イヌサフラン;
5. ギョウジャニンニク; 6. ギョウジャニンニク

### III. 考察

中毒情報の収集は、食中毒の実態を把握し、注意喚起や啓蒙など、中毒防止対策を立てるためにも重要である。今後とも日常的に情報収集に努め、その結果を中毒対策につなげたい。特に、最近事例が多く、しかも死亡例も多いイヌサフランは、さらに注意して、啓蒙などに努める。

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、専門家による形態学的鑑定や原因成分の化学分析が行われているが、しばしば結論に至るまで時間がかかり、問題となっている。

そこで我々は、遺伝子鑑別を活用した、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てきた。その結果、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。この鑑別法の特徴は、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。これまでに、中毒例の多い4種(バイケイソウ類、チョウセンアサガオ、トリカブト、スイセン)について実験条件を構築したが、今回さらに、最近特に中毒例、死亡例のおおいイヌサフランについても、実験条件を確立した。本法を実際食中毒を起こした調理済みのサンプルで検討し、調理済みサンプルにも適用可能なことを確認した。したがって、本鑑別法は、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、原因種の推定・特定に有用なものと考えられる。

### IV. 結論

有毒植物による食中毒情報を収集し、イヌサフラン、スイセンによる死亡例を確認した。

PCR-RFLP法を利用したイヌサフランの遺伝子鑑別法を構築し、実際食中毒を起こした調理済みのサンプルにも適用可能なことを確認した。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ので、従来 of 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。

### V. 健康危険情報

特になし

### VI. 研究発表

特になし

### VII. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

