

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）

「マリントキシンのリスク管理に関する研究」

平成 28 年度分担研究報告書

コモフグの毒性試験調査

研究分担者	大城 直雅	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	國吉 杏子	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	杉田 典子	明治薬科大学
研究協力者	山田 拓磨	明治薬科大学
研究協力者	山元 繁秀	明治薬科大学
協力研究者	中島 安基江	広島県立総合技術研究所保健環境センター
協力研究者	安西 洋一	広島市健康福祉局保健部食品保健課
協力研究者	松浦 啓一	国立科学博物館

研究要旨

コモフグ筋肉は食用部位とされているが、三陸の 3 海域については有毒個体があることが確認されており、食用不可となっている。その他の海域におけるコモフグの毒性を調査し、現行のリスク管理が適切であるか評価することを目的とした。瀬戸内海および九州産コモフグ 97 個体の筋肉試料について LC-MS/MS により TTX を分析した結果、6 個体が弱毒(12MU/g)であった。これらの試料は鮮度が悪いものや(1 個体)凍結融解後に腑分けをしたもの(3 個体)であったが、残り 2 個体は凍結融解前に腑分けをして-30 で保管していたが皮が猛毒であった。また、筋肉の表皮側と内臓側の毒性を比較したところ、表皮側が高くなる傾向が認められた。

これらのことより、コモフグの筋肉による食中毒のリスクを低減するために、鮮度の良いうちに有毒部位の皮を除去し、身欠きで流通することが重要と思われる。なお、除毒処理が適切になされない場合には、コモフグの筋肉による食中毒が発生する可能性が示唆されるため、適切な工程管理法の構築と徹底が必要である。

A. 研究目的

フグによる食中毒の未然防止対策については、昭和 58 年(1983 年)に厚生省環境衛生局長(当時)が発出した「フグの衛生確保について」(環乳第 59 号, 昭和 58 年 12 月 2 日)の通知(以下通知とする)の別表 1「処理などにより人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類及び部位」によってリスク管理がなされている。この別表 1 にはただし書きがあり、「岩手県越喜来湾及び釜石湾並びに宮城県雄勝湾で漁獲されるコモフグ及びヒガンフグについては適用しない」と記されており、これらの海域のコモフグとヒガンフグは食用不可となっている。他の海域においても、コモフグは筋肉だけが食用可能で、その他の部位(皮、精巢、卵巣および、肝臓)

は有毒部位として食用不可である。

フグによる食中毒事件の報告において、原因魚種が記載されていたものは約半数であるが、そのうち最も発生件数が多いのがコモフグであった(登田ら, 2012)。多くの事例において、コモフグの有毒部位を喫食していると推定されるが、上記 3 海域以外で採取されたコモフグ(疑)の筋肉だけを喫食したことによる食中毒事例が発生した。そのため、コモフグの毒性評価について緊急に対応する必要があるため、コモフグの毒性調査を実施した。昨年度の調査で、蒐集したコモフグ 102 個体のうち 49 個体の筋肉試料について LC-MS/MS による TTX 分析を実施した結果、45 個体が無毒(10 MU/g 未満)であったが、4 個体が弱毒(13~34 MU/g)であった。これらの試

料は鮮度が落ちていたものや、凍結融解後に腑分けを行ったもので、皮からの移行が考えられた。今年度は引き続きコモンフグ筋肉に加えて、皮の分析を行い、筋肉の毒化機構について検討した。

B. 研究方法

1) 供試試料

昨年度、蒐集した瀬戸内海および九州産コモンフグ試料 97 個体の筋肉および皮を対象とした。

筋肉の毒性

腑分け後、-30 で保存されていた昨年度分析できなかった 48 個体について、任意の 3 か所から各 2 g を採取して分析に供した。

表皮側と内臓側の筋肉の毒性

腑分け後、-30 で保存されていた筋肉の半身を皮に近い部分(外側)と内臓に近い部分(内側)に分け、それぞれ均質化した後に分析に供した。

皮の毒性

腑分け後、-30 で保存されていた皮をハサミで細切したものを試料とした。

2) TTX の LC-MS/MS 分析

筋肉および皮試料について、食品衛生検査指針記載の抽出法を一部改変して試料調製を行い、分析に供した。すなわち、試料 2 g に 0.1 % 酢酸 8 mL を加え、ホモジナイズ (11,000 rpm、1 秒 × 10 回) をした後に沸騰水浴中で 10 分間加熱した。放冷後、遠心分離 (13,400 × g、15 分) し、上清を回収し、抽出液 (5 mL) とした。この 0.1 mL に 0.1% 酢酸 0.9 mL を加え攪拌した後に、その 0.5 mL を限外ろ過 (10 kDa) した。ろ液に、アセトニトリルの終濃度が 50% になるようにアセトニトリルを加え攪拌後に PVDF 膜 (孔径 0.2 μm) でろ過したものを測定溶液とし、以下の条件で LC-MS/MS 分析した。

【LC 部】

装置 : Agilent 1290 Infinity、分析カラム : InertSustain-Amide (75×2.1 mm、3 μm) 移動相 A : 水 (5mM ギ酸アンモニウム、0.5 mM ギ酸) 移動相 B : 90% MeCN (5mM ギ酸アンモニウム、0.5 mM ギ酸) アイソクラティック分析 A/B (29 : 71) 測定時間 : 10 分間、カラム温度 : 45 、流速 : 0.5 mL/min、注入量 : 5 μL。

【MS 部】

装置 : Agilent 6460 Triple Quad LC/MS、イオン化 : ESI(AJS、Positive)、ドライガス : N₂ (280 、12 L/min) シースガス : N₂ (350 、11 L/min)

キャピラリー電圧 : 3500 V、ノズル電圧 : 500 V、ネブライザー : N₂ (55 psi) フラグメンター電圧 : 135 V、コリジョンエネルギー : 35 eV、コリジョンガス : N₂、プリカーサーイオン : m/z 320.2、プロダクトイオン (定量用) : m/z 162.1、プロダクトイオン (確認用) : m/z 302。

定量分析の結果から得られた TTX 濃度に対し、TTX の毒性を 0.22 μg / MU として毒性換算し、以下のとおり評価した。

10 MU/g 未満 :	無毒
10 MU/g 以上、100 MU/g 未満 :	弱毒
100 MU/g 以上、1000 MU/g 未満 :	強毒
1000 MU/g 以上 :	猛毒

3) TTX のリスク管理に関する情報収集

EU の情報収集

スペイン・バイヨナ (Baiona) で開催された First Workshop on Emerging Marine Biotoxins (第 1 回新興海産生物毒に関する学術集会) に参加し、わが国におけるリスク管理に関する情報提供を行うとともに、ヨーロッパをはじめとする各国の情報収集および意見交換を行った。

C. 研究結果

1) コモンフグ筋肉の毒性

昨年度実施した 49 個体を合せた供試試料 97 個体中、有毒なのは 6 個体で、すべて弱毒であった (表 1)。測定試料 (n=3) の最大値は 36 MU/g、各個体の平均値の最大は 33 MU/g であり、n=3 での分析値にばらつきが認められた (表 2)。これらのうち、1 個体は搬入時に鮮度が悪い個体、3 個体は凍結融解後に腑分けを行った個体であったが、残り 2 個体は鮮度も良好で、搬入後速やかに腑分けを行ったものであった。

表 1 コモンフグ筋肉の毒性 (n=3)

漁獲日	海域	試料数	有毒	備考
2015/10/30	A	6	0	
2015/11/05	B	8	0	
2015/11/17	C	15	1	痛んだ個体
2015/12/01	D	15	3	凍結保存
2015/12/07	E	6	0	
2015/12/15	F	30	0	
2016/01/20	G	17	2	
合計		97	6	

表2 有毒個体の分析結果

個体番号	n1	n2	n3	平均	標準偏差	c.v.
040	32	30	36	33	2.5	0.08
051	9.0	23	16	16	5.7	0.36
052	6.9	20	12	13	5.4	0.42
054	6.0	9.7	26	14	8.7	0.63
091	4.1	6.3	33	14	13	0.91
097	8.0	13	15	12	2.8	0.24

2) 表皮側と内臓側の筋肉の毒性

有毒個体において、分析結果にばらつきがあったため、各個体の筋肉を内臓側と表皮側に分け、それぞれ分析に供した結果、表皮側の毒性が高くなる傾向が認められた。また、個体ごとの平均値（n=3）が無毒であった個体中に表皮側が弱毒のものが認められた（表3）。

表3 表皮側と内臓側の筋肉の毒性

個体番号	試料区分	内臓側	表皮側
040	有毒	24	57
051	有毒	26	53
052	有毒	17	39
054	有毒	29	40
091	有毒	15	38
097	有毒	17	46
087	> 7.5 MU/g	7.3	7.3
094	> 7.5 MU/g	9.5	8.9
096	> 7.5 MU/g	4.2	8.4
098	> 7.5 MU/g	2.0	16
049	冷凍保存	0	3
053	冷凍保存	8	22
076	冷凍保存	1	2
078	冷凍保存	1	1
079	冷凍保存	0	0
080	冷凍保存	0	0
081	冷凍保存	0	1
083	冷凍保存	1	2
084	冷凍保存	1	1
085	冷凍保存	2	2
099	小型個体	3.4	7.9
100	小型個体	0.20	2.3
101	小型個体	0.60	2.2
102	小型個体	0.60	2.3

3) 皮の毒性

コモンフグ 95 個体の皮はすべて有毒であった。そのうち、猛毒のものが 18 個体あった。鮮度が良い状態で腑分けをしていたにもかかわらず筋肉が有毒であった 2 個体はいずれも猛毒であった。

4) TTX のリスク管理に関する情報収集

平成 28 年 9 月 5 日~7 日にスペインのバイヨナで開催された First Workshop on Emerging Toxins に出席した。本会議には会議にはヨーロッパ諸国、米国、ニュージーランド、日本から参加があり、テトロドトキシン、神経性貝毒（プレトキシシン）およびシガトキシンに対する各国の現状と取組について講演され、今後取り組むべき課題について全体で討議された。大城は最終日に日本における動物性自然毒の発生状況と、厚労省がとるリスク管理措置について講演した。フグ毒に関しては各国の関心が高く、わが国での食中毒症例における LOAEL や規制値設定について科学的根拠づくりが求められた。シガテラについては、輸入時に食衛法第 6 条第 2 号に該当するとした魚種のリストや、食中毒症例における LOAEL 等の算出を求められた。今回、欧米諸国を中心に、日本とニュージーランドを含めた各国の研究者が共同で新興の海産生物毒について調査・研究に取り組むことを確認した。

フグ食中毒調査票による食中毒事例の情報収集については、各自治体の食品衛生担当部局への配布方法について調整が取れなかったため、実施することができなかった。来年度は方法を変更し、各自治体に対し調査への協力を呼びかけ、協力が得られる自治体を対象にして調査を実施したい。

D. 考察

コモンフグ 97 個体中、筋肉が有毒であったのは 6 個体で、そのうち 1 個体は鮮度の低下、3 個体は腑分け前の凍結融解であった。残り 2 個体は凍結融解前に腑分けをして -30 で保管していたが、皮が猛毒であった。また、半身を表皮側と内臓側に分けて TTX を分析したところ、表皮側の毒性が高くなる傾向があり、皮からの移行が示唆された。

コモンフグ皮はすべて有毒であり、中には 7,000 MU/g もの猛毒を持つものが確認された。また、皮の毒性が高い個体においては、目視で鮮度がよく、腑分け前に凍結融解していない場合でも筋肉への移行があった。

コモンフグの筋肉による食中毒のリスクを低減するために、鮮度の良いうちに有毒部位の皮を除去し、身欠きで流通することが重要と思われる。なお、除毒処理が適切になされない場合には、コモンフグの筋肉による食中毒が発生する可能性が示唆されるため、適切な工程管理法の構築と徹底が必要である。

E. 結論

瀬戸内海および九州産コモンフグ 102 個体を蒐集し、筋肉および皮について、LC-MS/MS 法による TTX の定量分析を実施した。ほとんどの筋肉が無毒であったが、6 個体が弱毒であった。これらについては、皮からの移行の可能性が示唆された。コモンフグ筋肉による食中毒のリスクを低減するために、工程管理法の構築と徹底が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 大城直雅，國吉杏子，堀田彩乃，鈴木貴文，杉田典子，松浦啓一，中島安基江，安西洋一：コモンフグの毒性分析．第 53 回全国衛生化学技術協議会年会，青森県青森市，2016 年 11 月．
- 2) 大城直雅：コモンフグの毒性評価．第 33 回マリントキシン研究会，東京都港区，2017 年 3 月．

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし