

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

瀬戸内海産コモフグの毒性調査

研究分担者 大城 直雅 国立医薬品食品衛生研究所
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 安部 かおり 広島県立総合技術研究所保健環境センター

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。平成 28 年度に蒐集したコモフグ 49 個体について、外部形態による同定後、筋肉および皮の各試料について LC-QTOF/MS による TTX 分析を実施した。その結果、筋肉においては無毒が 48 個体、弱毒が 1 個体(10MU/g)、皮においては弱毒が 29 個体(25～94MU/g)、強毒が 19 個体(120～890MU/g)および猛毒(1,100MU/g)が 1 個体であった。

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、精巣、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、平成 27 年度よりコモフグの毒性調査を実施した。平成 28 年度は引き続き瀬戸内海産試料について調査を実施し、季節変動や年変動の有

無について検討した。

B. 研究方法

1) 供試試料

瀬戸内海産コモフグ試料 49 個体について仲買業者を通じて蒐集した。試料は冷蔵・氷詰めで搬入され、試料搬入後、各個体の側面、背面をデジタルカメラで撮影し外部形態による同定を行った。画像撮影した試料は、速やかに、皮、筋肉、その他内臓に腑分けし、分析に供するまで-30 で保管した。また、重量の大きい個体については半身を皮付きのまま-30 で凍結保存した。

2) TTX の LC-QTOF/MS 分析

筋肉及び皮試料について、食品衛生検査指針記載の抽出法に準じて試料調製した。すなわち、細切粉碎した試料 5g に 0.1%酢酸 25mL を加え、ホモジナイズした後に沸騰水浴中で 10 分間加熱した。放冷後、遠心分離(13,000 × g, 15 分間)し、上清を回収し、0.1%酢酸で 25mL に定容し、抽出液とした。抽出液を 0.1%酢酸:アセトニトリル(1:1)で適宜希釈し、その 0.5mL を限外ろ過(10 kDa)し、さらに PVDF 膜(孔径 0.22 μm)でろ過したものを測定溶液とし、以下の条件で LC-QTOF/MS により TTX を分析した。

[LC 部]

装置: Agilent 1200 Series LC, 分析カラム:

Inertsil Amide (3 μ m, 2.1 x 100 mm, GL Sciences 社), 移動相 A:0.1%ギ酸水溶液, 移動相 B:0.1%ギ酸含有アセトニトリル, A:B=5:95 (0.1min 保持) - 6min, 60:40 (1min 保持) - 10min, 15:85 (3min 保持) - 20min, 5:95, カラム温度: 40, 流速: 0.2mL/min, 注入量: 1 μ L.

[MS 部]

装置: Agilent 6540MS Q-TOF, イオン化: ESI (Positive), ドライガス: N₂ (350, 10 L/min), キャピラリー電圧: 3500 V, ネブライザー: N₂ (50 psi), フラグメンター電圧: 200 V, スキャン範囲: m/z 50-950, リファレンスマス: m/z 121.050873 および 933.009798, 観測イオン: [M+H]⁺ (m/z 320.1088 \pm 0.005).

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 μ g / 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, 1,000 MU/g 未満:	強毒
1,000 MU/g 以上:	猛毒

C. 研究結果

1) コモンフグの毒性試験

蒐集したフグ試料は49個体で, 画像を基に確認した外部形態はすべてコモンフグの特徴を示していた(図1)。

蒐集したコモンフグ試料すべての個体について筋肉および皮の TTX 分析を実施した。標準溶液, 筋肉および皮の試料溶液の代表的な LC-QTOF/MS クロマトグラムおよびスペクトルを示した(図 2, 3, 4)。その結果, 筋肉においては無毒が 48 個体, 弱毒が 1 個体(10 MU/g), 皮においては弱毒が 29 個体(25 ~ 94 MU/g), 強毒が 19 個体(120 ~ 890 MU/g)および猛毒(1,100 MU/g)が 1 個体であった(表 1, 2)。

D. 考察

1) コモンフグの毒性試験

フグ試料を入手し, 比較的鮮度の良い状態で速やかに腑分けを行い TTX の分析を行った。

今回分析を行った瀬戸内海産コモンフグ 49 個体の筋肉は, ほとんどが無毒であった。しかしながら, 無毒である個体のうち, 5 MU/g 以上は 8 個体(17%)であった(表 3)。

今回入手したフグ試料のうち, 重量の大きい個体について半身を皮付きのまま凍結保存した。この凍結試料について, TTX 含有量の高い皮から筋肉への移行の可能性を検討する予定である。さらに, コモンフグの毒性について, 季節変動等の検討を引き続き行う予定である。

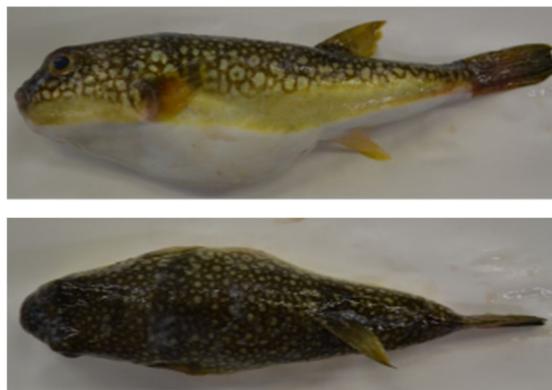


図1. 分析に供したコモンフグ(20161222-19)

E. 結論

瀬戸内海産コモンフグ 49 個体を蒐集し, すべての個体について, LC-QTOF/MS により筋肉及び皮の TTX 分析を実施した。筋肉においてはほとんどの個体が無毒であったが, 1 個体が弱毒であった。今後, コモンフグの毒性について, TTX 含有量の高い皮から筋肉への移行の可能性, 季節変動, 水揚げ海域等の要因について引き続き検討を行う予定である。

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: 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

表1 瀬戸内海産コモングの毒性(筋肉)

漁獲日	試料数	無毒	弱毒	強毒	猛毒
2016/12/22	19	18	1	0	0
2017/1/12	30	30	0	0	0
合計	49	48	1	0	0

表2 瀬戸内海産コモングの毒性(皮)

漁獲日	試料数	無毒	弱毒	強毒	猛毒
2016/12/22	19	0	5	13	1
2017/1/12	30	0	24	6	0
合計	49	0	29	19	1

表3 無毒個体(筋肉)の毒性

漁獲日	試料数	MU/g		
		1未満	1以上5未満	5以上
2016/12/22	18	0	12	6
2017/1/12	30	3	25	2
合計	48	3	37	8

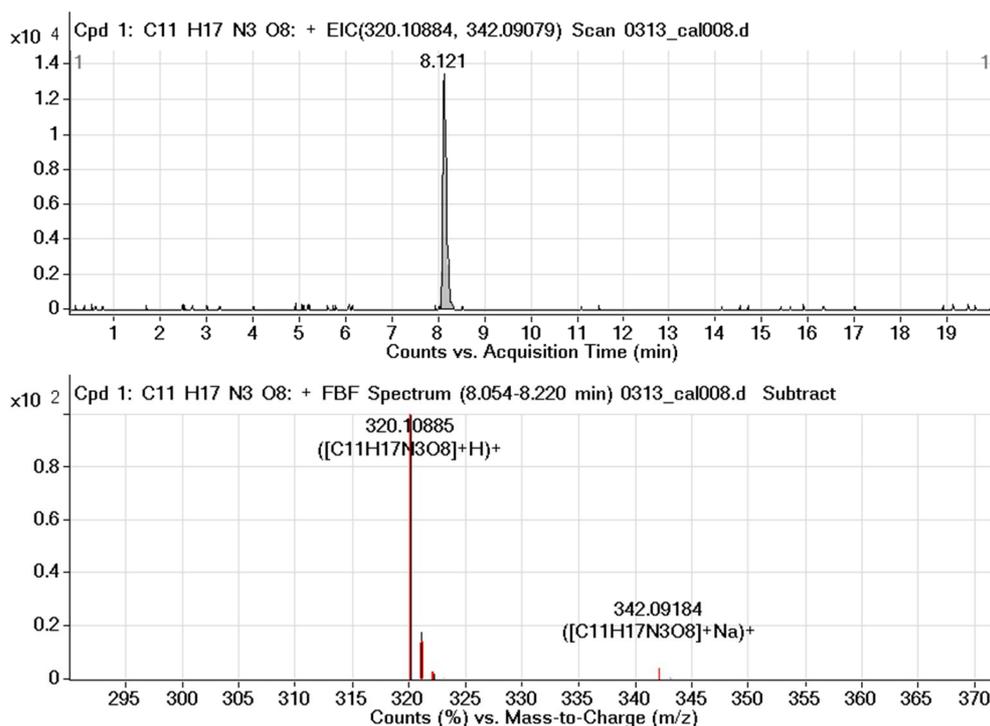


図2 . TTX 標準溶液(50ng/mL)の LC-QTOF/MS クロマトグラム(上)およびマススペクトル(下)

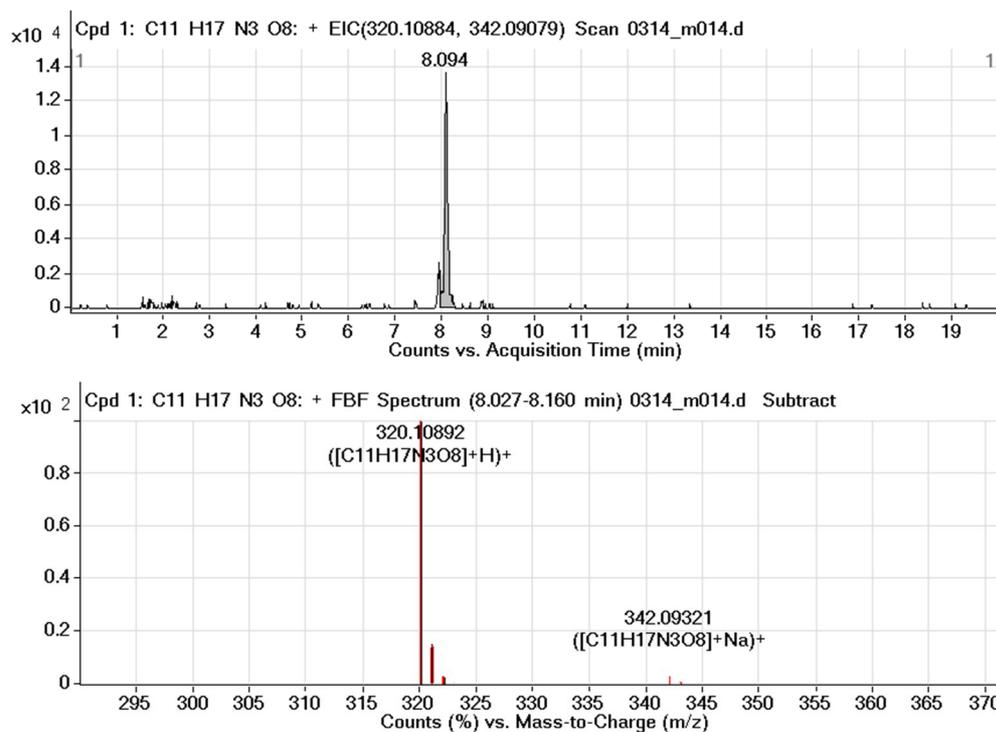


図 3 . 試料溶液 (筋肉 : 20161222-12 , 10 倍希釈) の LC-QTOF/MS クロマトグラム (上) およびマススペクトル (下)

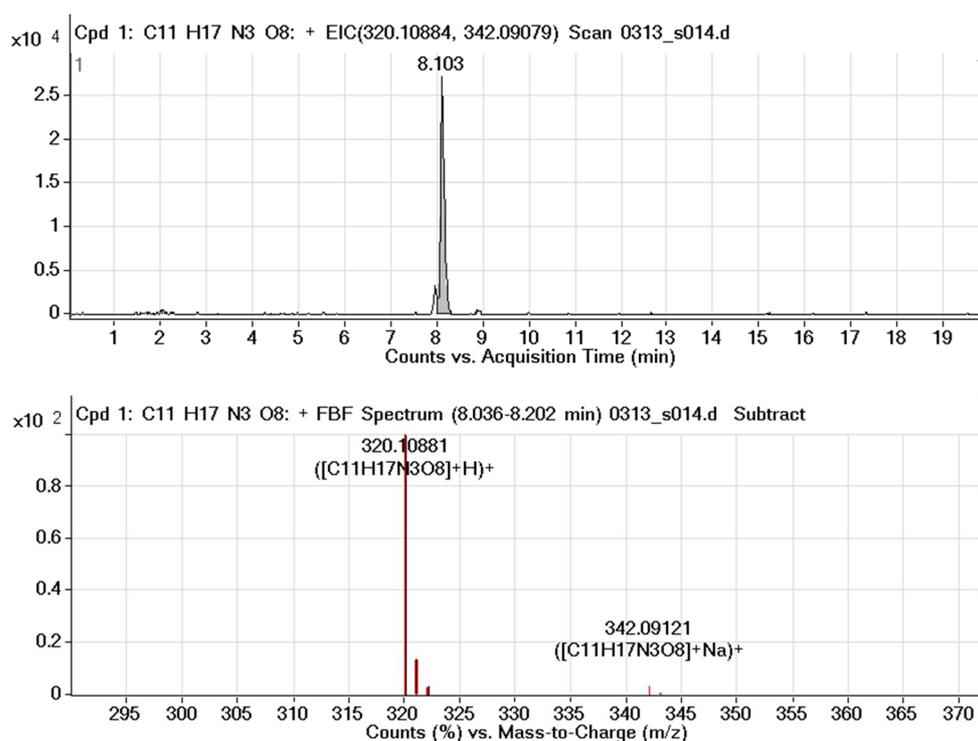


図 4 . 試料溶液 (皮 : 20161222-12 , 200 倍希釈) の LC-QTOF/MS クロマトグラム (上) およびマススペクトル (下)