

I. 総括研究報告

植物性自然毒による食中毒対策の
基盤整備のための研究

登田美桜

植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究

総括研究報告書

研究代表者	登田美桜	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部 第三室長
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 部長
研究分担者	南谷臣昭	岐阜県保健環境研究所 食品安全検査センター 専門研究員

研究概要

厚生労働省に届出された食中毒事件において、全体の発生件数及び患者数に占める割合は数%と少ないが、重篤化しやすく死亡事例の主な原因とされるのが「自然毒」である。本厚生労働科学研究では、自然毒のうち「植物性自然毒」による食中毒に焦点をあて、その発生予防と、発生時の原因究明に役立つ研究成果を出すことを目的に、下記 3 つの研究課題を設定した。

- ・研究課題 1. 植物性自然毒の多成分同時分析法の開発
- ・研究課題 2. 食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発
- ・研究課題 3. 植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究

研究課題 1 及び 2 は、食中毒の発生時に植物性自然毒が原因として疑われた場合に、中毒残品に含まれる植物種/毒成分を迅速に同定するための分析法の開発に関する研究である。研究課題 3 は、植物性自然毒による食中毒の発生状況や発生要因、中毒症状の傾向を解析し、今後の食中毒の重点的な予防策の検討に資する情報研究である。

A. 研究目的

厚生労働省に届出された食中毒事件において、全体の発生件数及び患者数に占める割合が数%と少ないもの、症状が重篤化しやすく死亡者が報告されているのが「自然毒」を原因とする食中毒である。本研究では、自然毒

のうち「植物性自然毒」に焦点をあて、それを原因とする食中毒事件の発生予防と原因究明に役立てることを目的として、次のような 2 つのアプローチで研究を計画した。

食中毒事件の発生時に植物性自然毒が疑われた場合には、当該地域の地

方衛生研究所（以下、地研）が中毒残品の化学的分析と遺伝子解析により原因となった植物種/毒成分の同定を行う。しかし現状では分析・解析法が十分に整備されておらず、病因植物種/毒性成分が多様なこともあり、同定が困難あるいは同定までに長時間を要したという状況が全国の地研から報告されている。そのようなことから、食中毒の迅速な原因究明につなげるため、全国の地研に設置されている分析機器を考慮し、**研究課題 1「植物性自然毒の多成分同時分析法の開発」**においては化学分析として液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）による有毒成分の定量分析法を、**研究課題 2「食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発」**では遺伝子解析リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法や Loop-Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法を応用した植物種の同定法の開発研究を行うことにした。

一方、食中毒の予防策を講じるには、過去に発生した植物性自然毒による食中毒事件を調査し、病因植物の摂取に至った経緯などの詳しい情報を入手し傾向を知ることが有用である。厚生労働省の食中毒統計資料で公開されているのは簡単な概要データのみであり、発生要因などは別途調査する必要がある。食中毒発生時の地方自治

体の報道発表資料や学術的に個々の事件報告も発表されているが、それらは散在していて整理されていないのが現状である。そのため、**研究課題 3「植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究」**では、植物性自然毒を原因とする食中毒事件に関する既存情報を調査・集約して解析し、重点的に予防すべきことを助言するとともに、今後の食中毒事件の調査方法及び情報の蓄積、消費者への注意喚起のやり方について検討することにした。

B. 研究方法／結果及び考察

各研究課題の分担報告書から研究要旨を以下に抜粋する。詳しい研究方法及び結果、並びに考察については、それぞれの分担報告書を必ず確認していただきたい。

研究課題 1「植物性自然毒の多成分同時分析法の開発」要旨より

食中毒事件の発生時に、植物性自然毒が原因と疑われる場合は、地方衛生研究所（地研）が中毒残品（患者が喫食したものの残品）の化学的分析や遺伝子解析を行い、病因植物種や毒成分の同定を行っている。中毒事例の対応を通して開発された種々の試験法は、これまで地研のネットワークにより情報共有されてきた。その中で試験法の改良や分析精度の向上が図られてきた

が、植物種や調理形態が多様な植物性自然毒中毒全般に対応する上で未だ課題が残されている。

本研究では、植物性自然毒の中毒における病因植物種を網羅的に同定するため、わが国において過去に発生した中毒事例の傾向をもとに、中毒事例の発生頻度や症状の重篤度などから、分析対象化合物とすべき毒成分を選定し、地研が広く利用でき、調理済み中毒残品にも適用可能な標準的化学分析手法の確立を目指した。

平成30年度は、わが国における中毒事例の傾向及び市販の標準品の入手可能性をもとに分析対象化合物として高等植物の44成分と毒キノコの12成分を選定した。さらにこれら成分の定量分析法として、逆相クロマトグラフィー（RPLC）と親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）の2モードのコアシェルカラムを用いて4種の分離条件を設定し、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計（LC-MS/MS）により対象化合物を系統的に多成分同時分析する方法を開発した。いずれの条件も分析時間は20分/1検体であり、全ての対象化合物で定量限界が10 ng/mL以下となった。本法は、迅速かつ正確な分析結果が求められる中毒の原因究明の現場にとって有効であると考えられる。

研究課題2「食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発—有毒植物のリアルタイムPCR法を用いた検出法開発と妥当性確認—」要旨より

植物性自然毒においては、簡便な分析法での喫食前検査による中毒防止、および、中毒発生時の原因特定が重要である。原因植物種同定のための、微量食品残渣から分析可能な鑑別法が検査現場から強く求められている。平成29年度までに食中毒時における原因植物の迅速な特定を目的として、スイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトに対して、植物バーコーディング領域 *rbcL*、*matK*、*psbA-trnH* 内の特異的配列を用いた特異性の高いリアルタイムPCR法開発を行い、本検知法の妥当性確認が必要になっていた。そこで、本研究では、次の2つの研究項目について検討を行った。

（1）有毒植物リアルタイムPCR法の外部機関による妥当性確認試験

有毒植物リアルタイムPCR法の妥当性確認は、外部機関として東京都健康安全研究センター、北海道立衛生研究所、大阪健康安全基盤研究所、兵庫県立健康科学研究所の4機関で、通常使用している方法・分析装置を用いて行った。その結果、予め求めた検出限界付近濃度の標準プラスミドおよび抽出DNA試料においてすべての機関で検出された。また、

食中毒事例から回収された食品残渣(茹でものーバイケイソウ、卵とじースイセン)は抽出操作から行い、いずれも全機関検出でき、良好な結果が得られたことから、本法は有毒植物同定に優れた方法として活用可能と考えられた。

(2) 簡便法としての、有毒植物 LAMP 法の開発

LAMP 法開発では、各有毒植物からゲノム配列解析用に DNA を抽出して植物バーコーディング領域周辺の塩基配列解析を検討した。今後は、各有毒植物特異的な LAMP 法用のプライマーを設計していく。

研究課題 3 「植物性自然毒による食中毒事件に関する情報研究」要旨より

本研究課題では有毒植物に着目し、その摂取を原因とする食中毒の発生予防と原因究明に役立てるため、国内で発生した関連の食中毒事件に関する情報を調査した。対象は、厚生労働省監修(平成 10 年以前は厚生省監修)の「全国食中毒事件録(昭和 30 年～平成 11 年版)」及び厚生労働省ホームページの食中毒統計資料で公表された食中毒事件のうち、「有毒植物(注:公式には高等植物であるが、一般的に理解しやすいよう本分担報告では有毒植物と呼ぶことにした)」を原因とする事件とした。昭和 34 年～63 年、平成元年～30 年の各 30 年

間、並びに直近として平成 26 年～30 年の 5 年間に報告された食中毒事件をまとめ、傾向を比較した。過去に比べると直近 5 年間ではスイセンを原因とする食中毒事件が急増し、イヌサフランが上位に浮上している。イヌサフランの誤食による食中毒は摂取量によっては致死的になるほど重篤な症状を呈し、ここ数年は毎年発生が報告されていることから今後特に注意を向けるべきである。さらに、食中毒事件の発生要因を原因植物ごとにまとめるとともに、スイセンの葉、バイケイソウ類(バイケイソウ又はコバイケイソウ)及びハシリドコロの摂取が原因となった食中毒事件については、報告された症状及び患者数に関する情報を調査し、植物ごとに各症状の患者数及び発症率をまとめた。

有毒植物による食中毒の発生予防には消費者への知識普及や注意喚起に効果があるが、他の食品安全の課題と同じように広く周知することが難しい。本研究課題では、過去に発生した食中毒事件に関する情報の研究を継続的に行うとともに、消費者への情報提供のあり方についても検討していく。

D. 結論

植物性自然毒による食中毒について、発生時の迅速な原因究明に役立つ病因植物種/毒成分の同定法の開発研究(研究課題 1、2)及び発生の予防策の検討に資する情報研究(研究課題 3)を計画

し、開始した。最終的に、地研で広く利用可能な病因植物種/毒成分をマルチに同定できる標準法が確立されれば、散發的に発生するため対応に混乱を生じやすい植物性自然毒による食中毒に対して、地研の検査技術を一定の水準に保つことができ、発生時の迅速な原因究明につながることを期待される。さらに食中毒事件の情報研究は、今後の予防策の検討に有用な科学的根拠を提供でき、予防策の内容を焦点が絞られた効果的なものにできると期待される。本年度は3年計画の1年目であるため本研究報告は途中段階での報告であるが、各課題が目指す目的に向かって着実に結果を出しつつある。次年度も同じ方向性で研究を継続する予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takabatake, R., Kagiya, Y., Minegishi, Y., Futo, S., Soga, K., Nakamura, K., Kondo, K., Mano, J., Kitta, K. Rapid screening detection of genetically modified crops by loop-mediated isothermal amplification with a lateral flow dipstick. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66**, 7839-7845, 2018.
- 2) Soga, K., Nakamura, K., Kishine, M., Takashima, Y., Miyahara, T., Kimata, S., Mano, J., Takabatake, R., Ozeki, Y., Kitta, K., Kondo, K. Studies on the detection of maize genomic DNAs in cornflakes using real-time PCR. *Bulletin of*

National Institute of Health Sciences, **136**, 31-39, 2018

邦文 (リアルタイム PCR を用いたコーンフレーク中のトウモロコシゲノム DNA 検出について: 曾我慶介、中村公亮、岸根雅宏、高嶋康晴、宮原平、木俣真弥、真野潤一、高畠令王奈、小関良宏、橘田和美、近藤一成)

- 3) 南谷臣昭、登田美桜、大城直雅: 質量分析による自然毒食中毒の理解課題と展望, *質量分析*, **67**, 71-77, 2019

2. 学会発表

- 1) Kondo, K., Kato, R., Sakata, K., Nakamura, K. Mitochondria-resident non-releasable AIF mutant may regulate gene expressions related to cell differentiation and proliferation, 2018 ASCB EMBO Meeting, San Diego, CA, USA, 2018年12月
- 2) Nakamura, K., Kimata, S., Soga, K., Ohmori, K., Kishine, M., Mano, J., Takabatake, R., Kitta, K., Kondo, K. Effect of food additives in processed foods on endogenous gene detection, 132nd AOAC Annual Meeting & Exposition, Toronto, Canada, 2018年8月
- 3) 曾我慶介、中村公亮、岸根雅宏、高嶋康晴、宮原平、木俣真弥、真野潤一、高畠令王奈、小関良宏、橘田和美、近藤一成: リアルタイム PCR を用いたコーンフレーク中のトウモロコシゲノム DNA 検出法の検討、第54回全国衛生化学技術協議会年会、神奈川、2018年11月
- 4) 菅野陽平、青塚圭二、坂田こずえ、中村公亮、鈴木智宏、近藤一成:

- LAMP 法を用いた有毒キノコ迅速判別法の構築-ツキヨタケとクサウラベニタケの同時検出に関する検討-
- 、日本食品化学学会 第 24 回 総会・学術大会、東京、2018 年 5 月
 - 5) 木俣真弥、中村公亮、石垣拓実、曾我慶介、岸根雅宏、高畠令王奈、橘田和美、近藤一成：ダイズにおけるゲノム DNA の位置に依存した DNA 分解度の違い、日本食品化学学会 第 24 回 総会・学術大会、東京、2018 年 5 月
 - 6) 坂田こずえ、木村圭介、後藤操、菅野陽平、野村千枝、加藤怜子、近藤一成：リアルタイム PCR を用いた有毒植物検査法の妥当性確認、日本食品衛生学会 第 114 回学術講演会、広島、2018 年 11 月
 - 7) 加藤怜子、坂田こずえ、近藤一成：Apoptosis-inducing factor の L101/103G 変異体は細胞増殖と神経突起形成を阻害する、第 41 回日本分子生物学会年会、横浜、2018 年 11 月
 - 8) 南谷臣昭、谷口賢、登田美桜：高等植物による食中毒事例に対応するための一斉試験法の検討、平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会、岐阜、2019 年 1 月
 - 9) 登田美桜：自然毒食中毒に関する最近の話題、平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会、神戸、2018 年 11 月

3. 市民向け発表会

- 1) 登田美桜：「有毒植物による食中毒について」、平成 30 年度長崎県食品の安全・安心リスクコミュニケーション、2018 年 10 月、長崎県食品安全・消費生活課

- 2) 登田美桜：「有毒植物による食中毒について」、平成 30 年度長崎県食品の安全・安心リスクコミュニケーション、2018 年 11 月、長崎県食品安全・消費生活課
- 3) 南谷臣昭、登田美桜：「野草や山菜などの自然毒について」、平成 31 年 3 月食品安全セミナー、2019 年 3 月東海農政局消費・安全部消費生活課

4. 行政関係者向け説明会

- 1) 登田美桜：「有毒植物による食中毒の最近の傾向」、平成 30 年度食品安全にかかると科学セミナー、2018 年 10 月、農林水産省消費・安全局

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし