

厚生労働科学研究費補助金（食の安全確保推進研究事業）
（分担）研究報告書

自然毒等のリスク管理のための研究
－雑種ふぐの発生状況及びふぐの流通状況の把握－

研究分担者	渡邊龍一	水産技術研究所	主任研究員
	小澤真由	水産技術研究所	研究員
	内田 肇	水産技術研究所	研究員
	松嶋良次	水産技術研究所	安全管理グループ長
	鈴木敏之	水産技術研究所	環境・応用部門長
研究協力者	沼野 聡	水産技術研究所	任期付研究員

要旨：フグおよび雑種フグの各組織に含まれるテトロドトキシン（TTX）とその類縁体については、正確にその含量を把握し、それら組織が可食に適するかどうか調べる必要がある。当事業の前年度までの成果において、各組織における TTX の抽出法の最適化を行い、確立した抽出法を用いて、日本各地で採取されたフグおよび雑種フグの各組織（皮、筋肉、肝臓、卵巣もしくは精巣）の TTX とその類縁体の分析を行ってきた。本年度は、前年度に引き続き、親水性相互作用カラムを用いた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（HILIC-MS/MS）を用いて分析を行った。分析した 69 検体の部位別分析では、特に皮において雑種フグ特有の結果が得られた。すなわち、昭和 58 年の通知「フグの衛生確保について」において、トラフグの皮が可食部位、マフグの皮部位が非可食部位とされているが、トラフグとマフグの雑種で 10 MU/g を超過した。このことは、長島（食品衛生学雑誌, 2023）や前年度の事業においても確認されており、辰野らが報告（Fisheries Science, 2019）している皮組織が持つ毒性の顕性遺伝（優性遺伝）を裏付ける結果であった。また、従前から全てのフグ類において喫食不可とされる肝臓や卵巣は、雑種フグにおいても可食部位として不適切であった、一方で、精巣は全ての個体で 10 MU/g 以下であった。更に、本年度は純種や雑種に加えて、戻し交雑種についても重点的に分析および解析を行ったが、交雑相手における部位の有毒性が強く継承されることが示唆された。雑種フグの出現については、本事業で対象としなかった地域や別種も含めて、継続的に調査していく必要があると考えられた。

A. 研究目的

近年、日本近海において、フグ従来種に限らず、雑種フグの存在が話題である。従来種の外観的特徴に加えて、別種の特徴を持つ個体の存在も報告されている。

純種と同じような外観を持つ雑種フグの出現は、誤食による食中毒の原因となる可能性がある。

フグに関する通知は、昭和 58 年に「フグの衛生確保」が発出されており、「処

理等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」が定められている。ここでは、従来種の種類ごとに可食部位が定められている。例えば、トラフグは皮、筋肉、精巣が可食部位として認められている。一方、マフグは、筋肉と精巣のみが可食部位として認められており、皮は有毒部位として処理される。有毒部位の異なる二種のトラフグ属魚類が天然で交雑した場合の有毒部位については、辰野らの報告（2019）において、両方で可食部位として認められている筋肉と精巣については無毒ないし低毒力である一方、皮についてはその部位（皮）に毒を蓄積しやすいマフグの特性を有し有毒（調べた 10 個体中、最大で 17.4 $\mu\text{g/g}$, 79.1 MU/g 相当）であったと報告している。このように、交雑相手の片方の部位が有毒であった場合、子である雑種フグに毒が継承されていく可能性が示唆される。

そこで、本研究では、本事業の調査で収集したフグおよび雑種フグについて各部位（皮、筋肉、肝臓、卵巣もしくは精巣）に含まれるテトロドトキシン（TTX）とその類縁体を、親水性相互作用カラムを用いた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（HILIC-MS/MS）で精密かつ正確に測定することにより、TTX 群の部位別分布を解明することを最終目的としている。前年度までに、雑種フグに適した抽出法や前処理方法、HILIC-MS/MS の分析条件の確立、雑種フグの分析を行った。そこで、本年度は、前年度に引き続いて、日本各地で採取されたフグおよび雑種フグの

各組織（皮、筋肉、肝臓、卵巣もしくは精巣）の TTX とその類縁体の分析を HILIC-MS/MS で行った。

B. 方法

北海道、青森県、宮城県、千葉県、神奈川県、石川県、愛媛県、長崎県で採取され、遺伝子解析によって種同定されたフグおよび雑種フグ計 107 検体のうち、69 検体について各個体を組織ごと（皮、筋肉、肝臓、卵巣もしくは精巣）に腑分けした。本事業で分析した雑種フグの種類については、第一世代の雑種（F1 世代）として、トラフグ×マフグ、ゴマフグ×ショウサイフグ、ゴマフグ×マフグ、コモンフグ×ショウサイフグ、雑種と純種との雑種（戻し交雑個体、Backcross）として、（トラフグ×マフグの雑種）×トラフグ、（ゴマフグ×マフグの雑種）×マフグ、（ゴマフグ×ショウサイフグの雑種）×ショウサイフグであった。

各組織からの毒抽出方法は、前年度までに実施した添加回収試験を基に確立した方法を用いた。すなわち、フグおよび雑種フグの皮、筋肉、精巣、肝臓については、組織 2.0 g に対し、0.1% 酢酸溶液 8 ml を添加し、ホモジナイズした。それを沸騰湯浴中で加温し、放冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を回収し、適宜希釈して、機器分析に供した。卵巣組織については、組織 2.0 g に対し、0.1% 酢酸溶液 9 ml を添加し、ホモジナイズした。それを 95 $^{\circ}\text{C}$ 以上の湯浴中で加温し、氷冷して室温程度まで冷却後、遠心分離して上清を 20 ml メスフラスコに回収した。遠心分離で生

じた残渣に 0.1 % 酢酸溶液 9 ml をもう一度添加し、懸濁後、遠心分離して上清を先ほどと同様のメスフラスコに回収し、20 ml に定容した。それらを希釈して、HILIC-MS/MS 分析に供した。得られた分析結果から TTX 群の含量を算出した。TTX の定量には、先の事業で調製し、定量 NMR にて値付けした TTX 標準物質を用いた。そのほかの 5,6,11-trideoxyTTX や 5-deoxyTTX、5,11-dideoxyTTX などの TTX 類縁体は、東北大学山下まり教授より恵与いただいたコモンフグ卵巣の活性炭処理液に含まれる成分を指標として定量した。

C. 研究結果と考察

HILIC-MS/MS による分析の結果、フグおよび雑種フグの組織ごとに TTX 類の蓄積特性が明らかになった (Table 1)。

皮については、ほぼ全ての種で、10 MU/g を上回る個体が複数認められた。全検体での最大毒力は、コモンフグ×シヨウサイウフグで 231 MU/g であった。通知において、トラフグの皮は喫食可能、マフグの皮は喫食不可とされているが、トラフグ×マフグの交雑で 10 MU/g を超える個体が認められた。このことは、既に望塚 (2017)、辰野 (2019)、長島 (2023) らが既に報告しており、一方の有毒部位の性質が雑種フグに継承されていることを示唆するものである。1 検体のみ入手となり、判断が保留となったが、マフグ×シマフグでは 6 MU/g であった。通知においてシマフグの皮は喫食可能、マフグの皮は喫食不可となっているため、マフグ×トラフグのように、

10 MU/g を上回る個体の出現が危惧される。個体差を考慮し、今後もマフグ×シマフグにおけるデータ拡充が望まれる。

筋肉については、全ての個体で 10 MU/g を下回った。前年度の検体および既報において、筋肉から 10 MU/g を超過する結果を得られた場合があるが、データを精査すると腑分け前に冷凍していることに起因して、解凍時に毒の移行が起きているものと推察された。大城ら (2017) は、コモンフグの凍結融解前後を比較し、筋肉の皮側で TTX 含量が上昇することを確認している。したがって、フグ分析においては、検体の取り扱いによる汚染を防ぐことが、正しい結果を得るために重要と考えられる。通知においても、解凍時に有毒部位の毒が筋肉部に移行することがないように流水等を用いて迅速に行うことが記載されており、通知を支持する結果となっている。

精巣については、全ての個体で 10 MU/g を超える検体は認められなかった。ただし、前年度の本事業において 1 検体のみ分析となっていたコモンフグ×シヨウサイフグの雑種フグは、今年度入手した個体がすべて雌であったため、可食の判断が保留となった。コモンフグの精巣は喫食不可と定められており、皮のように有毒部位の性質が雑種フグに継承される可能性があるため、今後も精査が必要である。

卵巣については、ほぼ全ての種で 10 MU/g を上回る個体を認めた。全検体での最大値は、ゴマフグ×シヨウサイフグで 575 MU/g であった。既報において、

三陸沿岸のフグで高い毒値を持つ個体がいることが報告されているが、(ゴマ×ショウサイ) ×ショウサイフグで、三陸産の個体よりも関東近辺で採取された個体のほうで毒値が上回っていた。

(ゴマフグ×マフグ) ×マフグは、1 検体の分析となったが、9.3 MU/g となり、10 MU/g を下回っていた。同地域で採取されたゴマフグ×マフグで 253 MU/g であったため、別個体で 10 MU/g を上回る可能性もある。

肝臓については、(トラフグ×マフグ) ×トラフグ、(ゴマフグ×ショウサイフグ) ×ゴマフグ、コモンフグ×ショウサイフグを除く雑種フグで、10 MU/g をはるかに上回る毒力が検出されたため、従前の通知どおり喫食不可と判断するのが適切と考えられる。

TTX の類縁体については、個体差や種差があるものの、各サンプルから検出された。TTX のほか、検出された類縁体は、4-*epi*TTX、4,9-anhydroTTX、11-nor-TTX-6(S)-ol、5-deoxyTTX、11-deoxyTTX、5,6,11-trideoxyTTX、4-*epi*-5,6,11-trideoxyTTX、5,11-dideoxyTTX、6,11-dideoxyTTX、4,9-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX、4,4a-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX であった。各類縁体は、TTX の毒性を 1 とした時の毒性等価係数 (TEF, Toxicity equivalency factor) が 0.01~0.17 と考えられる。よって、定量した各類縁体に対して、TEF を乗じ、毒力組成に換算すると、TTX が全体の 8 割以上を占めていた。このことから、毒力を把握する際には、TTX のみで十分にモニタングできることが示唆された。

また、戻し交雑種については、本年度分析した 69 検体に加えて、前年度分析個体を加えた計 129 検体を解析したところ、交雑の第一世代と毒力が大きく変わることはなく、交雑相手における部位の有毒性が強く継承されることが示唆された。

D. 結論

HILIC-MS/MS を用いて、フグおよび雑種フグの TTX 群の部位別分布を調査した結果、昭和 58 年の通知別表を支持する結果が得られた。トラフグ×マフグの交雑では、本研究でも先行研究と同じように皮部位で 10 MU/g を超える個体が認められた。このことは、雑種フグでは交雑相手の有毒部位の性質が継承され、可食に適さなくなることを示しており、食中毒防止のために注意が必要である。

交雑フグの毒性調査については、これまで特定の種や TTX のみを対象として行われてきたが、本研究で様々な組み合わせの雑種フグ、類縁体を含めた TTX 分析を行った。雑種フグの出現については、フグを食文化として取り入れている我が国において、食品衛生上で注視すべきことであり、本事業で対象としなかった地域や別種も含めて、継続的に調査していく必要があると考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 学会発表

沼野 聡、糸田将太、渡邊龍一、内田 肇、
小澤眞由、松嶋良次、辰野竜平、刀禰一幸、
高橋 洋、山下 まり、鈴木敏之、雑種フグに
おける TTX および TTX 類縁体の分析、令
和 6 年度日本水産学会春季大会、2024 年 3
月、東京

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

Table.1 雑種フグにおける各部位の毒力

皮 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	1.6-14.8	0.9-72.9			0.5	0.0-41.7
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		1.7			0.0-0.8	0.0-5.0
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		57.6				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		2.9	2.1-125.5	0.2-5.0	9.4-45.6	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.1-85.2		14.3	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			5.6-27.7			
ゴマフグ×マフグ	2	23.2	35.0				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	33.2					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			3.8-231.6			
コモンフグ	2			9.4		320.8	
マフグ	10	1.0-21.4	9.0				14.4-31.6
ショウサイフグ	6		2.6	6.9-32.2			
ゴマフグ	3		0.7-0.9				
トラフグ	5			4.4		0.2-1.1	
筋肉 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	0.0-3.9	0.2-4.6			0.4	0.0-10.6
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		0.1			0.0-0.3	0.0-0.7
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		1.1				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		2.0	0.0-6.6	0.2	2.2-12.7	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.0-6.9		2.6	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			0.0			
ゴマフグ×マフグ	2	6.0	0.3				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	0.0					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			0.0-0.9			
コモンフグ	2			0.0		71.7	
マフグ	10	0.0-3.0	0.7				1.8-7.8
ショウサイフグ	6		1.0	0.0-7.1			
ゴマフグ	3		0.0-0.2				
トラフグ	5			0.0		0.0-0.4	
精巢 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	19	0.0-2.7	0.2-3.6			1.7	0.0-5.3
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	10		0.1			0.0	0.0-2.1
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	0						
ゴマフグ×ショウサイフグ	17			0.0-4.0	0.5	3.1	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	4			0.0-6.4		4.0	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			0.0			
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	0.1					
コモンフグ×ショウサイフグ	1			0.0			
マフグ	8	0.0-0.4					0.0-1.1
ショウサイフグ	3			0.0-0.2			
ゴマフグ	2		0.0-0.8				
トラフグ	3					0.0	
卵巣 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	7	914.9	459.5				143.7-674.6
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	7					0.3-4.8	7.2-372.6
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		433.6				
ゴマフグ×ショウサイフグ	24		121.1	6.1-575.2	16.9	282.7-1119.2	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	5			24.1-176.5			
ゴマフグ×マフグ	2	252.8	146.7				
コモンフグ×ショウサイフグ	3			39.6-223.9			
コモンフグ	2			144.6		539.2	
マフグ	2		136.9				533.9
ショウサイフグ	3		93.6	0-76.5			
ゴマフグ	1		7.4				
トラフグ	1					175.9	
肝臓 (MU/g)	検体数	北海道	秋田県	宮城県	茨城県	千葉県	神奈川県
トラフグ×マフグ	26	1.2-921.8	0.3-1333.2			2.1	0.0-342.1
BC:(トラフグ×マフグ)×トラフグ	17		1.0			0.0-0.2	0.0-13.93
BC:(トラフグ×ゴマフグ)×トラフグ	1		3527.7				
ゴマフグ×ショウサイフグ	41		3.2	0.0-363.6	0.3-3.5	13.9-91.0	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ショウサイ	9			0.5-81.6		29.8	
BC:(ゴマ×ショウサイ)×ゴマフグ	2			8.3-41.1			
ゴマフグ×マフグ	2	20.7	81.9				
BC:(ゴマ×マフグ)×マフグ	1	9.3					
コモンフグ×ショウサイフグ	4			2.3-5.0			
コモンフグ	2			4.7		1538.8	
マフグ	10	0.1-10.8	61.0				8.9-196.1
ショウサイフグ	6		0.6	7.2-53.0			
ゴマフグ	3		0.1-2.2				
トラフグ	5			0.0		0.0-2.4	