

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

食品中の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 高橋 洋 水産大学校 教授  
辰野竜平 水産大学校 准教授

研究要旨：ふぐをはじめとする海洋生物毒を有する魚介類の喫食による食中毒事例は毎年報告されており、死亡者も発生している。また、近年、温暖化による海水温の上昇の影響により、ふぐの漁獲海域の変化や雑種ふぐの発生による食中毒も懸念されている。また、しらす加工品に混入するふぐ仔稚魚については、その種構成や毒性の評価を通じて、適正な取り扱いが望まれている。本分担研究では、国内の主要な天然ふぐ水揚げ地において、水揚げされた天然ふぐにおける雑種ふぐの混獲率および流通先における流通状況の調査を実施し、それらの知見を得ること、またしらす加工品に混入するふぐ仔稚魚については、外部形態による種同定形質に乏しいトラフグ属魚類およびサバフグ属魚類の仔稚魚について、少量の試料から正確・迅速・簡便に種・雑種判別が可能な DNA マーカーを開発し、その種構成や種ごとの毒性評価が行える技術開発を目的とした。今年度は、宮城県気仙沼市および神奈川県横須賀市で雑種ふぐの現地調査を行い、各水揚げ地において 519～2871 個体を調査した結果、雑種混獲率は 2.1～14.7% だった。また、しらすに混入したふぐ仔稚魚 965 個体を調査した結果、3 種が見いだされた。これら種・雑種判別済み検体について、その一部を毒性評価用に水産技術研究所に送付した。

A. 研究目的

国内の主要な天然ふぐ水揚げ地において、雑種ふぐの混獲率および流通先における流通状況を把握すること、また、しらす加工品に混入するふぐ仔稚魚について、その種構成や毒性を把握することは、ふぐ食の安全を確保する上で極めて重要である。そこで本研究では、国内の主要な天然ふぐ水揚げ地における雑種ふぐの発生・流通状況を明らかにし、見いだされた雑種ふぐの毒性評価を行うこと、またしらす混入ふぐの種・雑種判別技術を開発し、その種構成や毒性評価を行うことを通じて、ふぐによる中毒被害を未然に防ぐための効果的な対策に資する知見を得ることを目的とした。

B. 研究方法

調査地において水揚げされた選別前の天然フグについて外部形態に基づき種・雑種鑑別を行い、種組成および雑種と思われる種類不明フグの個体数を数える。種類不明フグの一部については、生鮮状態で毒性試験用に皮、筋肉、肝臓、および生殖腺に腑分けし、各組織の重量を測定した後、冷凍で実験室まで持ち帰る。また、水揚げ地市場からふぐを購入した水産加工業者等において聞き取り調査を行い、また購入したふぐの鑑別が可能であれば鑑別を行い、雑種フグの流

通状況を調査する。

実験室において、雑種と思われる種類不明フグの DNA 試料（右胸鰭もしくは筋肉のエタノール固定試料）よりゲノム DNA を磁性ビーズまたはアルカリ法を用いた精製法により抽出する。抽出したゲノム DNA を鋳型として、日本産トラフグ属魚類 11 種の種特異的遺伝マーカーの一塩基多型 (SNPs) を TaqMan アッセイにより遺伝子型決定し、種・雑種判別を行う。種・雑種判別結果に基づき、現地調査における種類不明フグの個体数などから雑種の混獲率を推計する。また、各雑種個体から腑分けされた 4 部位（皮、筋肉、肝臓、生殖腺）の冷凍試料から、食品衛生検査指針理化学編(2015)に準じた方法で毒の抽出を行い、得られた抽出液を毒性評価用に水産技術研究所に送付する。

しらす加工品に混入していたふぐ仔稚魚について顕微鏡下で種鑑別を行い、魚体の一部から微量の DNA 試料を得る。DNA 試料からアルカリ法によってゲノム DNA を抽出した後、トラフグ属魚類については前述の TaqMan アッセイ、サバフグ属魚類についてはミトコンドリア DNA の COI 領域の塩基配列に基づき種・雑種判別を行い、残りの魚体を毒性評価用に水産技術研究所に送付する。また、国内で漁獲されるサバフグ属魚類

全7種について、それぞれの種の形態学的特徴を典型的にもつ個体よりゲノムDNAを抽出し、トラフグ属魚類における高橋ら(2023)の方法に従い、種特異的SNPsマーカーを得る。

#### C. 研究結果

宮城県気仙沼市および神奈川県横須賀市において漁獲された計9種2871個体および2種519個体を調査した結果、雑種混獲率はそれぞれ14.7%および2.1%だった。また、しらす加工品に混入するふぐ仔稚魚について、漁獲海域7地点から965個体を形態学的に調査し、そのうち108個体についてDNAマーカーによる種判別を行った結果、3種(シロサバフグ64個体、ナシフグ32個体、シマフグ12個体)に分けられた。以上より、種・雑種判別された個体の一部を、毒性評価用の検体として水産技術研究所に送付した。

自然毒等のリスク管理のための研究(21KA1005)」で開発したトラフグ属魚類の種・雑種判別用TaqManアッセイに引き続き、サバフグ属魚類でも同様のアッセイを開発するために、日本産サバフグ属魚類全7種のDNA試料を採集し、そのゲノムDNAから次世代シーケンス解析用ライブラリを作成した後に、NovaSeq X plus型シーケンサーによる次世代シーケンス解析に供した。その結果、各種に特異的なSNPsマーカーが、4495座位検出された。最も少ない種はシロサバフグで240座位、最も多い種はドクサバフグで1291座位だった。無毒とされる3種(シロサバフグ、クロサバフグ、クマサカフグ)は互いに近縁で、マーカー座位数が少なかった。

#### D. 考察

今年度実施された2地点のうち、宮城県気仙沼市は、前年度まで実施された自然毒等のリスク管理のための研究(21KA1005)において、他の海域に比べて雑種混獲率が極めて高い海域だった(13.35~16.50%)。今年度の調査でも、雑種混獲率は引き続き14.7%と高く、継続的な現地調査の必要性が示された。なお、この海域における雑種の多くは、シウサイフグとゴマフグ間の雑種である。一方、前年度まで実施された自然毒等のリスク管理のための研究(21KA1005)において、トラフグを主な対象とする漁業の漁獲物に、比較的多くの雑種が含まれている可能性が示唆されていた神奈川県横須賀市における雑種混獲率は2.1%と前年度の7.9%から大幅

に減少した。なお、この海域では、トラフグとマフグ間の雑種のみが見られた。以上のように、昨年度および今年度の調査により、天然フグの主な水揚げ地のうち、雑種混獲率の高い海域における雑種フグの混獲率が明らかになった。

しらす加工品に混入するふぐ仔稚魚の調査では、トラフグ属魚類およびサバフグ属魚類の仔稚魚は外部形態による種同定形質に乏しく、外部形態に基づく種鑑別は困難で時間がかかった。一方、両属の鑑別は、サバフグ属において体側下部に銀白色の帯が縦走することから容易だった。トラフグ属魚類については、自然毒等のリスク管理のための研究(21KA1005)」で種・雑種判別用TaqManアッセイが開発されているため、DNA分析による種・雑種鑑別は迅速かつ簡便に実施可能である。一方、サバフグ属魚類はそのような種・雑種判別用アッセイが開発されておらず、しらす混入ふぐの多くがサバフグ属魚類のシロサバフグであることを考えると、同様のアッセイをサバフグ属魚類においても開発する必要があると考えられる。

#### E. 結論

雑種ふぐの水揚げ状況は、宮城県においては引き続き多く混獲されており、神奈川県においては昨年度から大幅に減少していた。しらす加工品に混入するふぐ仔稚魚の多くはシロサバフグであり、海域によりそれらにナシフグやシマフグが混じっていた。サバフグ属魚類においても、トラフグ属魚類で開発されたものと同様の種・雑種判別用アッセイの開発が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yasuyuki Hashiguchi, Teppei Mishina, Hirohiko Takeshima, Kouji Nakayama, Hideaki Tanoue, Naohiko Takeshita, Hiroshi Takahashi. Draft genome of akame (*Lates japonicus*) reveals possible genetic mechanisms for long-term persistence and adaptive evolution with low genetic diversity. *Genome Biol. Evol.* 2024. evael174. DOI: 10.1093/gbe/evael174.
- 2) Akane Matsumoto, Muneo Kobayashi, Hiroshi Takahashi, Masakazu Kondo, Shinya Yasumoto. The susceptibility of larvae and juvenile koi carp to carp edema virus. *Fish Pathol.* 2024. 59: 9-16.

##### 2. 学会発表

- 1) 2024年度日本魚類学会年会、2024年

9月8日(日)、福岡工業大学、演題：自然下でのトラフグ属2種ペア間の交雑ダイナミクス、講演者：高橋 洋・熊谷英紀・沖村未和子・永野 惇・武藤望生・柿岡 諒

- 2) 13th International Symposium on Toxic Microorganisms “Approaches for risk analysis and food safety”, 2024年9月17日(火)、星稜会館、演題：TTX accumulation in hybrid pufferfish caught off the coast of Japan、講演者：Ryohei Tatsuno, Yumi Miyata, Hiroyuki Yoshikawa, Yasuko Ino, Tsubasa Fukuda, Manabu Furushita, Hiroshi Takahashi
- 3) 第120回日本食品衛生学会学術講演会、2024年11月8日(金)、愛知県(中部大学春日井キャンパス)、演題：フグおよび雑種フグの卵巣に含まれるテトロドトキシンおよびその類縁体の組成と毒力の比較解析、講演者：渡邊龍一・沼野 聡・糸田将太・辰野竜平・小澤眞由・内田 肇・松嶋良次・山下まり・高橋 洋・鈴木敏之
- 4) 第61回全国衛生化学技術協議会年会、2024年11月22日(金)、大阪府(フェニーチェ堺)、演題：山形県沖雑種フグの両親種判別および部位別テトロドトキシン含有量、講演者：太田康介・真田拓生・高橋 洋・沼野 聡・長岡由香
- 5) International Conference on Food Safety and 39th KoSFoS Annual Meeting, 2024年11月22日(金)、Haevichi Hotel & Resort Jeju (韓国)、演題：Recent distributional shifts and natural hybridization in pufferfish (Takifugu spp.) in Japan、講演者：Hiroshi Takahashi (招待講演)

### 3. 著書

- 1) 高橋 洋. 2024. 解説：雑種フグの危険性、監修：「ふぐ処理者」のためのフグ図鑑. 柴田書店(編), pp. 102-105, 116-153. 最新ふぐ調理大全. 株式会社柴田書店, 東京.

### 4. その他

- 1) 令和6年度食品安全行政講習会、2024年6月12日(水)、三田共用会議所講堂、合計約200名、厚生労働省、「気候変動による雑種フグの増加とその対策—気候変動下でふぐ食の安全・安心をどのように確保するのか?—」という演題で講演した。講演者：高橋 洋
- 2) 令和6年度トラフグ全国協議会、2024年度12月12日(木)、ホテルチューリッヒ別館、約30名、水産研究・教育機構水産資源研究所、「東京湾におけるトラ

フグとマフグの交雑現象について」という演題で講演した。講演者：高橋 洋

- 3) 令和6年度第3回三重県食品衛生監視員研修会、2025年1月17日(金)、三重県勤労者福祉会館5階第2教室、合計約50名、三重県医療保健部、「気候変動による雑種フグの増加とその対策(伊勢湾近海の分布状況)について」という演題で講演する予定。講演者：高橋 洋

### G. 知的財産の出願・登録状況 なし