

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）

（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	渡邊龍一	水産技術研究所	安全管理グループ長
	沼野聡	水産技術研究所	任期付き研究員
	小澤眞由	水産技術研究所	研究員
	内田肇	水産技術研究所	主任研究員
	松嶋良次	水産技術研究所	主幹研究員
	鈴木敏之	北里大学	海洋生命科学部 教授

要旨：フグおよびその稚魚、雑種フグ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、稚魚にあつてはその個体として、成魚であるフグおよび雑種フグにあつてはそれら組織が食用に適するかどうか調べる必要がある。前事業の成果において、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た。本年度も引き続き、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、同様に分析を行った。フグおよび雑種フグの分析では、北海道で水揚げされた雑種フグ：トラフグ×マフグの雄個体の精巣において、10 MU/g を超える毒性が検出された。両親ともに精巣は可食部位となっており、これまで報告されている顕性遺伝とは異なる結果を得た。これまで、他地域を含めた同雑種フグを分析してきたが同じような事例は見られなかった。1 個体しか入手できなかったため、今後は個体数を増やして、その毒性を明らかにしていく必要がある。その他地域で入手した個体で珍しいのは、ヒガンフグとクサフグの個体であったが、卵巣の毒力が高く (> 10 MU/g)、その他部位は 10 MU/g 以下と低かった。個体数を増やして安全性を調べる必要があると思われる。フグ稚魚については、TTX の添加回収試験で 70% 以上と良好な回収率を示した。また、フグ稚魚によって毒性が異なることが明らかとなった。ただし、シロサバフグと分類されても低毒力の TTX が検出される事例が散見された。シマフグ稚魚は有毒個体が多く、食品上安全とされる 10 MU/g を超える個体も見られた。本年度は 108 個体を調べたが、次年度以降も検体数と地域を増やして、地域差や種類の影響などを評価していく必要があると考えられる。

## A. 研究目的

ヒトを死に至らしめることのある神経毒のテトロドトキシン (TTX) を有するフグの販売等を規制する法律や通知等の代表的なものは、食品衛生法第 6 条の 2 号「有毒な若しくは有害な物質が含まれ、若しくは付着し、またはこれら疑いのあるもの。」や昭和 58 年 12 月環乳第 59 号厚生省環境衛生局長通知における「フグの衛生確保について」である。これらの中では、除毒処理によりヒトの健康を損なう恐れがないと認められる場合に限り販売等が可能となる。また、フグの種類や部位について通知別表 1 に示されており、筋肉と皮、精巢のすべて、または一部が可食部位となっている。こうした従来の概念や規制に当てはまらない、雑種フグが各地で散見されている。トラフグ属魚類については、トラフグとマフグの天然交雑種について、辰野ら (2019) が報告している。トラフグは一般に、皮、筋肉、精巢が可食部位として認められている。一方、マフグは、筋肉と精巢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点が前者と大きく異なる。このように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調べた報告 (辰野ら, 2019) では、両方で可食部位として認められている筋肉と精巢は無毒あるいは低毒力である一方、違いのあった皮については有毒 (調べた 10 個体中、最大で 17.4 mg/g, 79.1 MU/g 相当) であることが判明し、有毒部位として判定される可能性が高いことが分かっている。このように、有毒部位は交雑した場合に継承される可能性があることが示唆されている。

また、しらす加工品に混入するフグ稚魚についても先述の法令や通知が適用され、丸のまま市場に流通するため、出荷停止や自主回収が行われるほか、保健所による注意喚起が行われている。

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、生殖腺など) に含まれる 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 類の部位別分布を解明することを最終目的としている。本年度は、昨年度確立した雑種フグに適した抽出法および、HILIC-MS/MS に適した前処理法を使い、フグおよび雑種フグに含まれる TTX およびその類縁体を正確に定量し、食用可能な部位を見極めることを目的とする。加えて、しらす加工品に含まれるフグ稚魚についても雑種フグと同様に、抽出・前処理・分析法を検討し、各地から集められたフグ稚魚を分析し、その毒性を調べることで、行政的な施策への反映を目的とする。

## B. 研究方法

### (1) 雑種フグ中の TTX 分析

北海道、青森県、宮城県、福島県、千葉県、神奈川県、石川県、長崎県で採取されたフグおよび雑種フグ 39 検体について、皮、筋肉、精巢、肝臓、卵巣といった各組織に腑分けした。腑分け前にほぼすべての個体については、冷凍したものをを用いた。フグおよび雑種フグの皮、筋肉、精巢、肝臓については、組織 2.00 g に対し、0.1 % 酢酸溶液 8 ml を添加して、ホモジナイズ

した。それを 95 °C 以上の湯浴中で 10 分間加温し、放冷によっ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。

卵巣組織はその重量 2.00 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 °C 以上の湯浴中で 10 分間加温し、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。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、0.1 % 酢酸溶液にて 20 ml に定容した。それらを適宜希釈して、HILIC-MS/MS 分析に供した。得られた分析結果から TTX 類の含量を算出した。

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。そのほかの類縁体については、東北大学山下教授より恵与して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に定量した。

毒力計算に際し、EFSA の論文にまとめられている細胞毒性値を使って、TTX を 1 とした時の相対毒力値(Relative potency)として用いた。すなわち、TTX:1, 4-epiTTX:

0.16, 4,9-anhydroTTX: 0.02, 11-nor-TTX-6-ol: 0.17, 11-deoxyTTX:0.14, 5-deoxyTTX: 0.03, 6, 11-dideoxyTTX: 0.02, 5,11-dideoxyTTX: 0.02, 4-epi-5,6,11-trideoxyTTX: 0.01, 5,6,11-trideoxyTTX: 0.01, 4,9-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX: 0.01,

4,4a-anhydro-5,6,11-trideoxyTTX: 0.01, 11-oxo-TTX:1 とした。

HILIC-MS/MS の分析条件は、麻痺性貝毒用に調製した BEH Amide カラムを用いて

行った。この時、カラムの劣化程度にもよるが、TTX は 6-7 分程度に検出された。

## (2) しらす加工品に混入するフグ稚魚の TTX 分析

しらす加工品に混入するフグ稚魚の分析に関しては、選別されたフグ稚魚の半乾燥重量に応じて、抽出溶媒の量を変えて、次の通り実施した。

フグ稚魚の重量を測定後、はさみで細かく切った。抽出溶媒である 0.1%酢酸溶液は、個体重量が 100mg 以下の場合は 0.5ml、100-200mg の場合は 1ml、200-400mg の場合は 2ml、400mg 以上は 3ml とした。良く攪拌後、沸騰湯浴中で 10 分間加熱した。氷冷ののち、遠心分離し、上清を 0.45 μm コスモスピンフィルターに移し遠心濾過によって、ろ液を得た。そのろ液を分析用バイアルに分注し、HILIC-MS/MS で分析した。

## C. 研究結果と考察

### (1) 雑種フグ中の TTX 分析

雑種フグにおける各組織が可食かどうかの判断をするため、各組織に含まれる TTX 含量を調べた。地域別に分析結果を説明する。北海道では、トラフグとマフグの交雑種 1 個体を組織別に分析した。その結果、肝臓で 40 MU/g、皮で 6.4 MU/g、筋肉で 1.9 MU/g であった。精巣では 10.7 MU/g と食品上安全とされる 10 MU/g をわずかに超えた。これまでの調査では、精巣で 10 MU/g を超える検体は見つけられず、本分析によって初めて明らかとなった。トラフグもマフグも精巣は可食部位となっている

が、交雑種では、その安全性について検討する必要がある。

青森県でも、トラフグとマフグの交雑種 1 個体を組織別に分析した。卵巣、皮、筋肉、肝臓の順に、578.4、9.8、5.4、92.9 MU/g であった。皮はわずかに 10 MU/g を下回ったが、トラフグとマフグの場合、毒性部位が顕性遺伝することが知られている。これまでの分析で 10 MU/g を超えるものがあり、本交雑種の皮については、その安全性について検討する必要がある。宮城県では、ゴマフグとショウサイフグの交雑種 (2 個体)、クサフグとヒガンフグの交雑種、クサフグの計 4 個体を分析した。ゴマフグとショウサイフグの交雑種 (2 個体) は、いずれも各組織が 10MU/g 以下であった。他雑種フグに比べて、検体の入手が困難であるクサフグとヒガンフグの交雑種は、卵巣が 89.1 MU/g、皮と筋肉、肝臓はいずれも 10 MU/g 以下であった。

福島県では、トラフグとマフグの交雑種 (3 個体)、(トラフグとマフグの交雑種) × トラフグの戻り交雑 (2 個体) の計 5 個体を分析した。トラフグとマフグの交雑種では、卵巣が 300 MU/g 以上と高く、皮も 5.6-21.3 MU/g であり、顕性遺伝が認められた。(トラフグとマフグの交雑種) × トラフグの戻り交雑 (2 個体) では、卵巣が 39、129 MU/g と高かったが、皮や筋肉、肝臓には 10 MU/g 以下の毒性しか認められなかった。

千葉県では、ゴマフグとショウサイフグの交雑種、トラフグとマフグの交雑種 (5 個体)、マフグ、ショウサイフグ、トラフグ (5 個体)、カナフグの計 14 個体を分析した。ゴマフグとショウサイフグの交雑種で

は、卵巣が 101 MU/g と高かったが、その他組織は、2 MU/g 以下ととても低かった。トラフグとマフグの交雑種ではいずれの組織も 10 MU/g を超えなかった。

神奈川県では、トラフグとマフグの交雑種 (10 個体) を分析した。生殖巣で 0.0-179 MU/g と幅はあったが、その他組織では、肝臓で 19MU/g (1 個体)、皮で 10.4 MU/g (1 個体) と 10MU/g を超える検体が散見された。

石川県ではトラフグとマフグの交雑種 (1 個体) を分析した。いずれの組織も 1 MU/g 以下であった。

長崎県では、トラフグ (2 個体) を分析した。いずれの組織も 3 MU/g 以下であった。

## (2) しらす加工品に混入するフグ稚魚の TTX 分析

しらす加工品に含まれるフグ稚魚について、それに含まれる TTX が効率よく回収できているかの試験はこれまでに実施されていない。そこで、形態的にシロサバフグと思われるフグ稚魚 (10 mg 程度) に TTX を 1 ng/ml, 2 ng/ml となるように添加し、残渣を取り除いた後、抽出液を適宜希釈して HILIC-MS/MS で分析した。その結果、どちらの濃度も 70%程度の回収率で TTX を検出できることが分かった。これから求められる TTX の検出限界は、50 ng/g フグ稚魚であり、1 MU (マウスユニット) = 220 ng とすると、0.23 MU/g であった。フグの可食部位として安全と認められる値は 10 MU/g であり、これを検出するには十分な検出感度を有していると考えられる。

しらす加工品の製造中に選別されたフグ稚魚の毒性についてシロサバフグ、ナシフグ、シマフグの計 108 検体について調べた。産地は国内 7 地点 (A~G) とした。産地 A~D で採取されたシロサバフグとナシフグからは TTX が検出されなかった。産地 E で採取されたシマフグ 12 検体全てから TTX が検出され、陽性であった。そのうちの 3 個体が 10 MU/g を超えていた。産地 F で採取されたシロサバフグとナシフグにおいては、シロサバフグ 1 個体から微量 (<0.5 MU/g) であるが、TTX が検出された。シロサバフグ稚魚から TTX が検出される事例は初めてであるが、本事業では、ミトコンドリア DNA のみを用いており、さらに精度の高い方法で検出し、判別を確定させる必要があることが分かった。産地 G においては、シロサバフグ稚魚 1 個体から微量 (<0.5 MU/g) であるが、TTX が検出された。ナシフグ稚魚 1 個体からも TTX が同様に微量 (<1.5 MU/g) 検出された。

#### D. 結論

トラフグの皮は可食部位であるが、他の雑種、特に皮が非可食部位のフグと交雑すると、顕性遺伝により雑種の皮は有毒部位となる。これまでの知見通りに、分析した交雑種の有毒部位は、片親が有毒部位である場合には有毒であった。しかし、例外も一例だけ見られた。それは、北海道で採取されたトラフグとマフグの交雑種の精巣において 10 MU/g を超える毒性が認められたことである。その他地域で採取されたトラフグとマフグの交雑種の精巣からは毒性がほとんど検出されなかった。地域の影響を受

けている可能性も考えられるが、検体数が少ないため、正しく判断するのは難しい。現状のデータをそのまま用いれば、トラフグとマフグの交雑種の精巣についてはその安全性については検討が必要である。

しらす加工品に混入するフグ稚魚についても HILIC-MS/MS にて TTX を分析し、その個体が持つ毒量を算出した。シロサバフグで TTX が検出された 2 個体についてはさらなる遺伝子解析が必要であることが判明した。ナシフグについては、全ての個体ではないが、TTX を有する個体が存在することが判明した。ただし、分析した個体数は少ないものの、2 MU/g 以下と毒力が低いため、リスクは少ないと思われる。

一方、シマフグは検査した 12 個体全てが陽性であり、そのうちの 3 個体が 10 MU/g を超えていた。ただし、個体の持つ毒量とすると、最大でも 0.4 MU であり、非常に含量は少ない。成魚とは異なり、稚魚であるため、魚体重が非常に小さいことや保有している毒量も少なく、フグ稚魚の個体全てを摂食したとしても、リスクは低いと思われるが、その取扱いについては今後の検討が必要である。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

渡邊龍一ら、「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とその類縁体の毒組成比と毒力の比較解析」ポスター発表、第 120 回日本食品衛生学会学術講演会、2024 年 11 月 7 日 - 8 日、中部大学にて開催。要旨集 p132

G. 学会発表  
なし

H. 知的財産の出願・登録状況  
なし