

# かび毒・自然毒等専門調査会

## 第43回会合議事録

1. 日時 平成28年11月10日（木）14：00～16：22

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

- (1) 「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」に係る食品健康影響評価について
- (2) その他

4. 出席者

（専門委員）

宮崎座長、川原専門委員、久米田専門委員、合田専門委員、佐藤専門委員、渋谷専門委員、杉山専門委員、鈴木専門委員、渡辺専門委員

（専門参考人）

大島専門参考人、佐藤専門参考人

（食品安全委員会委員）

熊谷委員、山添委員

（事務局）

川島事務局長、東條事務局次長、鋤柄評価第二課長、橘評価調整官、田中課長補佐、大谷評価専門職、神津係員、小山技術参与、水谷技術参与

5. 配布資料

- |         |  |
|---------|--|
| 資料1     | フグに関する提案及びこれまでの意見等                                     |
| 資料2     | 食品健康影響評価に係る補足資料の提出について<br>(厚生労働省生食監発1108第3号平成28年11月8日) |
| 参考資料1   | 諮問の経緯及び提案の内容   |
| 参考資料2   | フグから分離された主なTTX産生細菌一覧                                   |
| 参考資料3   | HPLC法とMBAの相関データ  |
| 参考資料4-1 | 天然トラフグ肝臓の毒性分布（16個体の毒性分布）                               |
| 参考資料4-2 | 天然トラフグ肝臓の毒性分布（全体版）                                     |
| 参考資料5-1 | 類縁体の急性毒性について   |

参考資料5-2 TTX類縁体一覧

参考資料6 食品健康影響評価について

「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」

(厚生労働省発生食0428第3号平成28年4月28日)

参考資料7 食品健康影響評価に係る補足資料の提出について

(厚生労働省生食監第0830第1号平成28年8月30日)

参考資料8 食品健康影響評価に係る補足資料の提出依頼について

(府食第620号平成28年9月30日)

参考資料9 平成17年1月11日付け「佐賀県及び佐賀県嬉野町が構造改革特別区域法

(平成14年法律第189号)に基づき提案した方法により養殖されるトラフグの肝」に係る食品健康影響評価について

参考資料10 「フグの衛生確保について」(昭和58年12月2日付け環乳第59号)

## 6. 議事内容

○宮崎座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第43回「かび毒・自然毒等専門調査会」を開催いたします。

本日は9名の専門委員が御出席でございます。欠席の専門委員は、荒川専門委員、小西専門委員、豊福専門委員、長島専門委員、矢部専門委員、吉成専門委員の6名でございます。

本日は専門参考人として、2名の先生に御出席いただいております。

東北大学大学院名誉教授の大島泰克専門参考人です。よろしくお願ひします。

北里大学海洋生命科学部教授の佐藤繁専門参考人です。よろしくお願ひします。

さらに本日は食品安全委員会から2名の委員の御出席をいただいております。

本日の会議全体のスケジュールにつきましては、お手元の資料でございます「第43回かび毒・自然毒等専門調査会議事次第」を御覧いただきたいと思ひます。

それでは、議事に入ります前に、事務局から本日の資料の確認をお願ひします。

○田中課長補佐 それでは、配布資料の確認をさせていただきます。

本日の配布資料は、議事次第、座席表、専門委員名簿のほかに資料が14点ございます。議事次第の裏の資料1～資料10まで準備をさせていただきます。不足の資料はございませんでしょうか。

なお、これまでの評価書及び今回の評価に係る参照文献は、既に先生方にはお送りしておりますが、お席の机上のファイル及び一部はタブレットで御用意しておりますので、必要に応じ適宜御覧いただきますようお願いいたします。

また、傍聴の方に申し上げますが、専門委員のお手元にある資料につきましては、著作権の関係と大部になりますことなどから、傍聴の方にはお配りしていないものがございま

す。調査審議中に引用されたもののうち閲覧可能なものにつきましては、調査会終了後、事務局で閲覧できるようにしておりますので、傍聴の方で必要とされる場合は、この会議終了後に事務局までお申し出いただければと思います。

以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

それでは、事務局から、平成15年10月2日食品安全委員会決定の「食品安全委員会における調査審議方法等について」に基づいて必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について報告をお願いします。

○田中課長補佐 それでは、本日の議事に関する専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告します。本日の議事である厚生労働省からの諮問案件、「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」について、これまでの専門調査会においても御確認いただきましたが、荒川専門委員は本申請資料の作成に関与しており、また、長島専門委員及び豊福専門委員は本案件を評価するために佐賀県が設置した第三者評価委員会の委員または関係者であり、今般の申請資料内の第三者評価委員会が作成した資料の作成に関与しております。このため、平成15年10月2日委員会決定の2の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当しております。

それ以外の専門委員の先生方から御提出いただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいません。

以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

専門委員の皆様、御提出いただきました確認書につきまして、相違はございませんでしょうか。よろしいでしょうか。

（「はい」と声あり）

○宮崎座長 ありがとうございます。

ただいまの事務局からの報告を踏まえますと、これまでの専門調査会においても御確認いただいたとおり、荒川専門委員、豊福専門委員、長島専門委員におかれましては、本諮問案件について、同委員会決定2の（1）に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由のうち、④の「特定企業からの依頼により当該調査審議等の対象品目の申請資料等の作成に協力した場合」等に該当すると認められます。そのため、荒川専門委員、豊福専門委員、長島専門委員におかれては、「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」の調査審議に参加しないということになります。

それでは、本日の審議に入る前に、前回の専門調査会での審議内容について、おさらいをしておきたいと思います。前回の専門調査会では、かび毒フモニシンの食品健康影響評

価について、事務局から、生殖発生毒性、神経毒性、免疫毒性、ベンチマークドーズ法及びヒトにおける知見について説明を受け、それぞれの項目について審議を行いました。その結果、前回の御審議において御指摘があった点については事務局において修正を行うこととなりました。また、フモニシンに係る毒性試験の知見が一通り出そろったことから、今後は毒性の機序と毒性のまとめを整理することとされました。さらにベンチマークドーズ法も用いてTDIの設定について検討することとなりました。

以上が前回のおさらいでございます。

それでは、早速議事（1）に入りたいと思います。まず、審議に入る前に、9月12日に開催されました第41回の専門調査会での審議内容について振り返りたいと思います。「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」に係る食品健康影響評価については、厚生労働省から提出された補足資料について事務局から説明が行われ、本評価を進めるに当たって、さらに必要なデータ等について御議論をいただきました。皆様から御質問のあった事項について、厚生労働省に対して9月30日付で補足資料の提出を依頼したところ、11月8日付で厚生労働省から補足資料が提出されたところです。

最初に、この11月8日付で厚生労働省から提出された補足資料について、事務局から説明をお願いします。

○田中課長補佐 それでは、資料2を御覧いただければと思います。11月8日付で厚生労働省から、食品健康影響評価に係る補足資料の提出ということで回答がございましたので、そちらについて説明をさせていただきます。

質問内容といたしまして、1ページめくっていただきまして、1ページ目でございます。

1. の平成28年8月30日付の佐賀県及び厚労省からの回答になりますけれども、こちらの提出資料1の養殖トラフグ（陸上養殖）の部位別毒性の表において、肝臓の毒性の結果が2 MU/gより低い、または8 MU/gより低いと記載されている。また、提出資料8においても3.0 MU/gより低いというような記載がされている。これらの値については、マウス試験法の検出下限値であると考えてよいか。また、それぞれどのような試験方法により行われたのか、詳細な手順について御教示いただきたいとの追加資料の要求をしていたところでございます。

ここでタブレットを御覧いただければと思いますけれども、こちらの<2 MU/gまたは<8 MU/gというところにつきましては、タブレットを開いていただきまして、iBookを開いていただきまして、ふぐ佐賀資料1という資料がございます。ふぐ佐賀資料1を開いていただきまして、2ページ目になりますけれども、養殖トラフグ（陸上養殖）の部位別毒性ということで、2001年度～2015年度までの部位別のデータ、トラフグの検査結果が示されておりまして、こちらの毒性で肝臓部分の検査結果が2 MU/g未満であったり、8 MU/g未満であったりということで、こちらの2とか8の数字についてはどのような試験法で行われたのかを確認したというものになります。

回答といたしまして、以下にございます。これらの値につきましては、マウス試験法による検出下限値ということであり、今、御確認いただきました2001年度～2015年度までの結果につきましては、どのような試験で行われたかということについては試験手順について、以下に記載されております。

2001年度～2006年度の肝臓試料（約300 g/個体）について、凍結状態の肝臓は、流水中で解凍後、冷蔵状態の肝臓は、そのまま用いた。試料については、個体別にそれぞれ計5カ所から均一に2 gずつ、計10 gをはさみで秤取した。その後、フグ毒試験法（食品衛生検査指針II）に従って、等量（10 mL）の0.1 %酢酸水溶液とともに三角フラスコに入れて均一化し、10 分間加熱したものを吸引ろ過して得たる液を試験液としました。試料全てについて上記のように試験液をそれぞれ調製し、以下のマウス毒性試験を行った。上記より得た各試験液につき、1 mLずつ各2匹のddY系マウスの腹腔内に投与し、30分経過観察をしたが、全て死亡しなかった。この結果から、全ての試料の毒性を、 $< 2 \text{ MU/g}$ と判定したということです。

本試験では、AOACの麻痺性貝毒の試験法に記載された検出限界（ $2 \text{ MU/g}$ ）に倣い、TTXの検出限界を低くするために試験液をそのまま用いたということです。

また、2007年度以降につきましては、原則として、試料総数の1割を上記のように個体別に検査したが、いずれも $< 2 \text{ MU/g}$ であった。そのため、残りの試料につきましては、4個体の試料につき、上記のように2 gずつ計10 gを取って、それら計40 gを合一して十分に均一化した後、そこから10 gを取って、1つの試料として上記同様に試験液を調整して、毒性試験を実施した。得られた全ての試験液につき、1 mLずつ各2匹のddY系マウスに投与した結果、死亡しなかったため、全ての合一試料の毒性を $< 8 \text{ MU/g}$ 、個別試験の結果を $< 2 \text{ MU/g}$ と判定したということでございます。

なお、一部の試験液につきましては、マウス毒性試験より検出限界が1/20低いLC/MSでも毒性を分析し、以下のとおり無毒を確認したということございまして、下に検査結果が記されております。すみません、ここで訂正がございます。2007年とございますけれども、こちらは2007年度ということでございますので、年度と修正をいただければと思います。

次のページにまいりまして、「検査指針に準じた方法」についてということで、この試験が検査指針に準じた方法と記載されているので、それはなぜかということについて御説明をいただいております。

食品衛生検査指針IIのフグ毒試験法に従って、0.1 %酢酸で加熱抽出したが、試験液の調製についてはAOACのPSP試験法の考え方に準じて行った。検査指針に記載されているマウス検定法（参考法）は、試料中のTTXを試料の2.5倍量の0.1 %酢酸へ加熱抽出し、試料を除いた抽出液と資料残渣の洗液を組み合わせ、分取した試料の5倍量に定容する方法である。一方、AOAC法は、試料中のPSPを、0.1 M塩酸を加えた混合試料全体へ加熱抽出し、試料を含めて定容する方法である。ここでPSPをTTX、0.1 M塩酸を0.1 %酢酸と読み

かえれば、「試料中のTTXを、0.1%酢酸を加えた混合試料全体へ加熱抽出し、試料を含めて定容する方法」ということになるということでございます。

また、毒の検出限界を可能な限り低くするため、AOAC法と同様に抽出比2（試料：0.1%酢酸＝1：1）としました。ただし、加熱後の定容は行わず、混合試料20gから得た試験液1mLは、試料0.5gに相当するとみなした。また、検査指針は個体別試験で記載されているが、2007年度以降は、試料数が多いので、無毒を確認するだけでなく、試験液の数を減らす方向で4個体を合一して試験した。以上の点が検査指針とは異なっていることから、公定法に準じたと表現したということでございます。

次に＜提出資料8：TTX分布データ＞ということで、提出資料8に記載の3.0MU未満(<3.0MU/g)、4.0(<4.0MU/g)、5.0(<5.0MU/g)及び6.0(<6.0MU/g)につきまして確認したのになりますけれども、こちらはマウス試験法の検出下限値であるということです。

タブレットに戻っていただきまして、ふぐ佐賀資料8になります。こちらの中でR1～L5までの部位別の毒性分布を示されたデータになりますけれども、こちらのデータの中で3.0MU未満、4.0MU未満という結果があったので、そのことを確認したということになります。

その回答が2ページ目にごございますけれども、詳細な手順については以下のとおりということで、1.各部位をホモジナイズ後、試験管にホモジネート4gまたは5gをとりまして、ホモジネート量が4gに満たない場合はホモジネート全量をはかりました。

2.ホモジネートの2倍量の0.1%酢酸を加えて加熱抽出して、一旦冷却した後、ホモジネートを含め3倍量に0.1%酢酸で定容した。これが抽出比3ということです。ただ、ホモジネート量が少ない場合、マウス試験に必要な試験液量を確保するため、3、4または5倍量の0.1%酢酸を加えて加熱抽出した。冷却した後、ホモジネートを含め4、5または6倍量に定容した。これはそれぞれの抽出比は4、5または6ということでございます。

3.遠心分離後、上層に分離した脂質を取り除き、上清を分取して試験液とした。

4.食品衛生検査指針理化学編フグ毒試験法より、1MUとは体重20gのマウスを30分で死亡させる毒量と定義され、得られたMUに抽出比と希釈倍率を乗じて、試料1g当たりのMUを求めるとされている。これにより、抽出比3、4、5及び6の試料において不検出であった場合は、1MUに抽出比を乗じて、それぞれ3.0、4.0、5.0及び6.0MU/g未満とした。なお、この時の希釈倍率は1であったということです。

この試験法について、検査指針に準じた方法としている理由といたしましては、試験液につきましては、検査指針の方法に従って、試料に0.1%酢酸を加えて加熱抽出することで調製した。ただし、定容についてはAOACのPSP試験法に基づいて行ったため、「検査指針に準じた方法」とした。検出限界を低くするため、試料を含めて3倍量に定容したが、第三者評価委員会の指示に従い、提案書のフグ毒検査においては抽出比5へ変更するということです。

抽出効率につきまして、データを提出いただいております。天然のトラフグの肝臓の4

個体を試料として、それぞれの個体を全量ホモジナイズして均一化して、参考法とAOAC法を参考にした方法（改良法）で試験液を調製した。今こちらの上で説明した試験法の方法で試験液を調製して、HPLC-FL（高速液体クロマトグラフ蛍光検出法）でTTXを測定した。その結果を別表（提出資料2）に示されております。参考法と比較して、改良法の抽出効率は同等以上であることを確認したというものでございます。

こちらは非公開資料になりますので、委員の先生のみお配りしているものになりますけれども、提出資料2に表としまして、結果の比較というものがございます。参考法が食品衛生検査指針に記載されている方法で行ったもので、改良法の抽出比2、3、5、これが提出資料8に記載されている方法で行ったということになりますけれども、それで検査結果を比べたところ、抽出効率は同等以上であることが確認されたということでございます。

また、こちらのただいま説明した資料につきましては、ろ過ではなく遠心分離を行っていることにつきましては、食品衛生検査指針で、肝臓の抽出液のろ過は著しく困難なことが多いので、加熱抽出した磨砕物を冷却後、遠心分離で抽出液をとる。その残渣を0.1%酢酸溶液で洗い、再度遠心分離を行って、50 mLに定容するという記載がされているので、これに従って、ろ過のかわりに遠心分離を採用したという回答をいただいております。

また、補足といたしまして、「天然トラフグ肝臓の毒性分布」、これは試験法の話とは別になりますけれども、そちらのR4の部位の毒性が最も高いということについての根拠につきまして、統計分析を行っているということが記載されております。これは既に提出されているデータで、また後ほど改めて別の資料の説明の際に説明をさせていただきたいと思っております。

提出された回答についての説明は以上になります。

○宮崎座長 ありがとうございます。

ただいま事務局から11月8日付で厚生労働省から提出されました補足資料の内容について説明をいただきました。提出された補足資料に対してお気づきの点などがございましたら、よろしく申し上げます。いかがでしょうか。

1つは、バイオアッセイのところですね。それから、HPLC蛍光法で分析したところについての分析法の詳細の提出がありましたけれども、いかがでしょうか。

鈴木先生、お願いします。

○鈴木専門委員 テトロドトキシンのバイオアッセイのところなのですが、麻痺性貝毒のAOAC法に準じて1:1で抽出しているということで、それによって濃縮されているので感度を上げているというお話だったのですが、一般的にマウス試験の場合には、特に麻痺性貝毒などでは大島先生も明らかにされていることであるのですが、マウス毒力を緩和する生体由来の緩衝剤が入ってきますので、毒力が低いところになればなるほど、緩衝能を持ったものの影響が出てきて、それが毒をある意味、過小評価をするということがあります。そういう意味では、ここで単純に濃縮をすれば、感度も2倍になるという話ではないような気がします。私はそこが気になりました。

○宮崎座長 ありがとうございます。鈴木先生、その緩衝剤というのは、フグの肝臓のホモジネート中に毒性を弱めるような物質が、既知なのか未知なのかはわかりませんが、そういうものがあるので、単純に濃縮するとテトロドトキシンの部分も濃縮されるだろうけれども、それを阻害するようなものも濃縮されるのでということですね。

○鈴木専門委員 はい。これは麻痺性貝毒の試験では一般的に知られていることで、当然フグ毒も同じ作用機序ですので、テトロドトキシンの検査法でも同じと言えると思います。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、鈴木先生からバイオアッセイのところについて問題点ということで御意見をいただきましたけれども、このことに関してはいかがでしょうか。大島先生、何か補足していただくことはございますか。

○大島専門参考人 麻痺性貝毒のAOAC法に準じたバイオアッセイということなのですが、これによる抽出効率が旧来法と変わっていないというデータはどの程度とられているのでしょうか。その方法論、基準となる方法がある意味では変更しているわけですし、それがもとになり、どの程度は変わらないというか、それでいいのだという実験データをそろえた上で、それを採用されているかどうかということが気になるところです。

○宮崎座長 ありがとうございます。

そのほか、この点についてはいかがでしょうか。久米田先生。

○久米田専門委員 同じことかもしれないのですが、我々検査をやっている者としては、検査法を少し変えても、その検査法の結果が今までの検査法の結果と同じかどうかを確かめる妥当性試験をするのが普通になっています。そこをきちんと確認したという試験結果があるのかどうかということをお聞きしたいのですが。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、久米田専門委員から御指摘がありましたように、公定法と表現していいのでしょうか、基本となるマウスバイオアッセイ法をモディファイした方法を使うときには、当然その妥当性を確認したデータが必要であるので、その存在については再度お願いということになるのでしょうか。もう一度その辺のデータについて、あるのかないのか確認を事務局、お願いします。

○田中課長補佐 もしかするとお答えではないのかもしれませんが、先ほど説明させていただいた提出資料2の結果の比較というものにつきまして、これが参考法と比較して、その値がどうかという、参考法と改良した方法と比較して値がどうかということを妥当性と言うのでしょうか、それを確認したデータということで提出されているものになります。

ただ、それは提出資料8のほうのデータということで提出はされておまして、その提出資料1の2 MU未満 (<2 MU/g) の試験法のデータそのものを参考法と確認したデータは出てきてはいないのですが、厚労省のほうに確認したところ、その表のうちの抽出比2という、この方法が提出資料1の方法として抽出比2のデータを準用できるとは聞いて



いるところでございます。

方法が全く提出資料1と同じかどうかと言いますと若干、抽出比2の方法は基本的に提出資料8の方法でやっているの、同量の0.1%酢酸を加えて加熱抽出して冷却してホモジネートして2倍量に定量する。ざっくり言うと、そういった方法でやっているということになりますので、提出資料1は定容は行ってないとは思いますが、その辺の違いはあるそうですが、この抽出比2のデータが使えるとは聞いております。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、事務局から提出資料2についての再確認がありましたけれども、確かにテトロドトキシシンというもののHPLC蛍光法での分析値という意味では、提出資料にありますような回収率であるということはあるのかもしれないと思っておりますけれども、先ほど鈴木先生から御指摘があったように、バイオアッセイに対する妨害物質とか緩衝物質の存在というのは、これでははかれないわけですので、バイオアッセイのときに本当にモディファイした方法できちんと濃縮したことになるのかどうかという、その確認は必要だと思っておりますが、この辺についてはいかがでしょうか。

合田先生、お願いします。

○合田専門委員 そのバイオアッセイのときに影響を与えるということについて、大島先生がもともと発表されたとかいう話ですけれども、具体的に何倍くらいの影響があるとか、大まかに見るために。要するに10倍影響があるのだったら、すごく影響があるし、2倍以内だったら、数字がそのくらいの範囲の安全係数を見ればいいたらと思うのですが、その辺を教えてください。

○大島専門参考人 私がやったのは麻痺性貝毒、サキシトキシシンの二枚貝の抽出液です。マウスバイオアッセイは開発された当初から、食塩などがマウスの致死時間を延命させる、過小評価する原因になるということが知られている方法です。それを知った上で、麻痺性貝毒に関しては規定の方法として使うということになっていたのですが、HPLCで測るようになりますと、規制値ぎりぎりとか、テトロドトキシシンと並べて言っているかどうかはわかりませんが、4 MU/gあるいはマウスバイオアッセイの定量限界の2 MU/gくらいのところだと、マウスアッセイではネガティブなのに、HPLCでは毒性がちゃんと検出されるということがあります。数値は非常に分散していましたが、大きいところは2~3倍というところだと思います。HPLCの値とマウスアッセイの値はそれくらい違ってきます。

特にその抽出液を無希釈で投与するような、低毒性のところはその影響を大きく受け、逆に高毒性になって10倍くらい希釈してマウスの致死時間をそろえて打つてくると、ぴったり合ってくる。明確にマトリクス効果とか、食塩やアミノ酸など、毒がチャンネルにくっつくときに遅らせる、妨害するものが普通にあるということです。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、大島先生、鈴木専門委員から御指摘がありましたような経緯もありますので、いわ

ゆる準ずる方法を検出限界を高めるために濃縮した状態、濃縮というか抽出の際に溶媒の加える量を少なくして定容も省いた方法の妥当性について、バイオアッセイとしての妥当性についての確認のデータがあるかどうかというのはもう一度、厚生労働省のほうに確認をする必要があると思います。そういうことでよろしいでしょうか。

ありがとうございます。それでは、バイオアッセイのほうについての提出資料については御確認をいただきましたけれども、もう一つ、テトロドトキシンの分析のほうですね。提出資料8についての補足資料で今、話題になりました提出資料2も含めて、この辺について、テトロドトキシンのHPLCによる分析という部分での抽出効率というところについてはいかがでしょうか。資料2の最後のページです。

鈴木先生、お願いします。

○鈴木専門委員 これも質問ですけれども、ここでは200 MUという高い値で抽出効率を調べているのですが、実際にここで重要なのはマウス毒力として2 MUとか、低いところだと思うのです。単純に抽出というところだと考えると、濃度が高くなればなるほど抽出効率は高くなりますので、これが本当に検出限界付近での抽出効率を示しているかというのはまた別の話になりますので、そういうデータをお持ちかどうか、それも確認をしていただきたいと思います。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、鈴木専門委員から、もっと毒性が低い部分での抽出効率についてのデータがあるのかどうか確認が必要であるという御意見でしたけれども、いかがでしょうか。

○合田専門委員 そのとおりだと思います。

○宮崎座長 それでは、皆様の御異議がなければ、この点についても改めて厚生労働省に確認していただくことにしたいと思います。今回追加で補足資料の提出をお願いしたことについては、若干情報不足ということで再度確認ということですが、現時点でこの情報はなかなか、マウスバイオアッセイを準ずる方法、マウスバイオアッセイ、HPLCによるテトロドトキシンの分布データの測定法について、補足資料で出していた部分では、大まかな概要はわかったけれども、その妥当性等について、さらに確認をする必要があると。この部分についてはそういう結論になるかと思いますが、いかがでしょうか。

では、また再度の確認ということになりますけれども、今、先生方から御指摘があったバイオアッセイの部分とHPLCの部分のそれぞれについて、再度、厚生労働省に確認していただければと思います。そのほかに一昨日に提出されました今回の補足資料について、何か御意見や御質問はございますか。よろしいでしょうか。

それでは、委員の先生から御指摘いただいた点については事務局から厚生労働省に確認していただくとして、これまでに提出された関連知見等を踏まえ、「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から提供まで管理された方法により取り扱われる養殖トラフグの肝臓」の食品健康影響評価についての審議を進めたいと思います。

まず、これまで先生方からいただいた御意見を踏まえ、事務局において、その御意見をまとめさせていただきまして、事務局から資料をつくっていただきました。説明をよろしくをお願いします。

○田中課長補佐 資料1を御覧いただければと思います。今般、厚生労働省から諮問されました内容につきましては、陸上養殖されたトラフグの肝臓について個別検査を行い、検出下限以下の場合、提供を行うということを事業者が一貫して行うという提案について評価依頼が行われているところです。

これまで厚生労働省と提案者である佐賀県等から直接提案内容について説明をいただいた上で、追加資料要求なども通じまして、提案の管理体制であるとか関連知見についてのデータを提出していただいているところです。これまでの調査会でも、それら知見を説明させていただいて、御議論をいただいたところですが、これまで出た御意見につきまして整理しましたのが、資料1となっておりまいます。御意見に加えて、さらにその御意見に関連する知見についても整理させていただいております。

項目につきましては、まず基本的な内容といたしまして、「1. 諮問の経緯」と「2. 提案の内容」について整理しております。

次に、御意見をいただいたポイントを大きく整理いたしますと、「II. フグの毒化機構及び養殖方法における危害要因及び制御ポイント」の部分。

あとは提案されている分析方法ということで、HPLC法によるTTXの測定ということが提案されておりますけれども、この中でR4部位についての妥当性であるとか、類縁体の毒性などについても、これまで御意見があったところがございます。そういった部分を整理しております。

また、「IV. その他安全性確保のための管理体制」ということで、検査の精度管理など管理全般。こちらにつきましては、一義的にはリスク管理機関や事業者が責任を持って検討を行う部分ではあるとは思いますが、これまでも御意見をいただいておりますので、その御意見について整理をしているところがございます。

こちらが今回の資料1の全体の構図になります。以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

事務局から、今、御説明がありましたけれども、これまでいただいた御意見を踏まえ、論点となりそうな項目を整理していただきました。今回はこれらの項目それぞれに関する知見を整理していただいておりますので、まずその項目ごとに関連知見について事務局から説明いただいて、それで項目の追加など全体的な御意見については各項目の内容を説明していただいた後に御議論をいただきたいと思いますが、そういう進め方でよろしいでしょうか。

それでは、引き続き、事務局から説明をお願いします。

○田中課長補佐 それでは、資料1を1ページめくっていただきまして、まず「I. 諮問の経緯及び提案の内容」になります。こちらにつきましては、参考資料1に整理をさせてい

ただいております。

簡単に説明をさせていただきますと、「1. 諮問の経緯」でございます。これは厚生労働省などから説明いただいたフグの規制の話、または今般のこれまでの諮問の経緯などについて記載をしているものでございます。

6行目からになります。フグは、食品衛生法第6条第2号に規定する「有毒な、若しくは有害な物質が含まれ、若しくは付着し、又はこれらの疑いがある」食品に当たるため、販売等を行ってはならないということとされております。一方、同号ただし書きにおきましては、「ただし、人の健康を損なうおそれがない場合として厚生労働大臣が定める場合においては、この限りではない」と規定がされております。

「人の健康を損なうおそれがない場合」ということにつきましては、食品衛生法施行規則におきまして、「有毒な又は有害な物質であっても、自然に食品又は添加物に含まれ又は附着しているものであって、その程度又は処理により一般に人の健康を損なうおそれがないと認められる場合」とされております。

フグにつきましては、昭和58年に「フグの衛生確保について」という通知を当時の厚生省が発出しております。こちらの内容につきましては、ただし書きの運用を全国統一する観点から、地方自治体に対して有毒部位の除去などの処理によって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や部位等が規定されているというものになっております。ここまでがフグの現行の規制ということになります。

21行目からは食品安全基本法になりますけれども、食品安全基本法第24条第1項第1号により、関係大臣は、食品衛生法第6条第2号ただし書きに規定する「人の健康を損なうおそれがない場合」を定めようとするときは、食品安全委員会の意見を聞かなければならないとされております。

25行目からは、過去の2005年に一度、トラフグの肝臓につきまして評価を行ったことがございますので、その内容について記載をしております。2005年1月に食品安全委員会は佐賀県が提案した方法により養殖されるトラフグの肝を「処理等により人の健康を損なう恐れがないと認められるフグの部位」に追加することについて、食品健康影響評価を依頼されました。

次のページの5行目になりますけれども、トラフグの肝臓は先ほど説明しました第59号の厚生労働省の通知において不可食部位とされております。2005年の評価依頼におきましては、提案者のほうからは、「テトロドトキシン（以下、「TTX」という。）はトラフグ自らが体内で産生するのではなく、*Vibrio alginolyticus*等の海中の細菌が産生し、食物連鎖によりフグの体内に蓄積するとしている。それに基づき、長崎大学により研究されてきた、毒性のないトラフグの養殖技術とされる囲い養殖法を応用し、トラフグの餌となる有毒生物を遮断して養殖されたトラフグの肝は無毒である」と主張しておりました。

評価の結果、「2005年評価書」におきましては、「現在までの知見において、TTXによるトラフグの毒化機構は十分に明らかとは言えない」、「フグの毒化機構が十分に解明されて

いない以上、養殖方法における危害要因及び制御すべきポイントを特定することが不可能である」、「提案された養殖方法について安全性確認のための実験データが現時点では十分と言えないため、本養殖方法が恒常的にトラフグの無毒化に有効であるかどうかの判断が難しい」ことから、「現時点において、提案された方法により養殖されたトラフグの肝について、食品としての安全性が確保されていることを確認することはできない。」との結論が取りまとめられました。

その後、2016年2月に、佐賀県及び佐賀県内事業者から厚生労働省に対し、「個別の毒性検査によって有毒でないことを確認した養殖トラフグの肝臓を料理として提供する」ことにより、トラフグの肝臓の販売等を行う提案書が提出されました。

同年4月、厚生労働省から食品安全委員会へ、今般の提案、こちらが食品衛生法第6条第2号ただし書きに規定する「人の健康を損なうおそれがない場合」として、この提案を追加することについて、食品健康影響評価が依頼されているという経緯となっております。

3ページ、「2. 今回の提案の内容」になります。こちらにつきましては、5月の調査会の際に厚生労働省や佐賀県から御説明いただいた内容になります。

今回の提案は、佐賀県内事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグについて、個体ごとに肝臓の一部を高速液体クロマトグラフィー蛍光法（以下、HPLC・FLという。）により検査を行い、検出下限以下の場合、当該事業者の飲食店でのみ提供する方法を、一事業者において一貫して行うという提案であります。

陸上養殖に使用する水は、沖合約50m、水深約10 mの海底に設置している架台に、パイプを取りつけて、海水を採取して使用する。取水された海水は浄水システムにより、ろ過・殺菌され、陸上の養殖場において当該海水を用いてトラフグを養殖するという事です。

トラフグの肝臓の検査の対象とすべき毒の種類は、TTXのみの検査を行うということです。

検査部位につきましては、提出されております「天然トラフグ肝臓の毒性分布」から、トラフグの肝臓中のTTXについては、同論文におけるR4部位（肝臓右側中央下寄りの部位）が有意に高い毒性を示すと言えることから、R4部位を採取して検査を行うということです。

手順といたしましては、トラフグの肝臓のR4部位について、検査用にホモジネートを行う。当該検査用肝臓ホモジネートに0.1%酢酸を添加し、加熱抽出、クリーンアップ、ろ過によりHPLC分析試料を調製し、HPLC-FLによるTTX分析を行い、検出下限以下の場合、提供可といたします。なお、検査使用以外の肝臓ホモジネートは、30日を限度として冷凍保管するという事です。

検査の結果、R4部位が検出下限以下であったトラフグ肝臓については、R4部位以外の肝臓の部位を「毒性検査合格品」として佐賀県事業者の定められた飲食店へ移動させます。当該飲食店では、天然のトラフグは使用しないこと、店舗ではフグの解体を行わないこと、客に提供した肝臓を把握できるよう使用記録を作成することを規則としております。

最後のページにまいりまして、分析結果の評価フローといたしましては、全ての肝臓が

基準以下であった場合は飲食店で提供を行えますが、いずれかの肝が基準を超過した場合、当該肝について再分析を行い、全て基準以下である場合は飲食店で提供を行います。さらに再分析の結果、なお基準を超える肝が出てきた場合は全肝不合格とし、提供を停止し、基準超過の肝について外部機関にて分析を行うということで、3段階の評価フローがございます。外部機関における分析において、全ての肝臓についてTTXが不検出であった場合、提供を再開するという事です。

なお、検査方法の適正さ確保のため、実施時期を設定した上で、年2回は、食品衛生法上の登録検査機関によるマウス検定法での相互チェックを行い、分析機器については精度の確認をはじめとしたバリデーションを実施いたします。また、測定試料の保存及び調整方法、測定機器の機種及び取扱方法、測定結果の解析方法などの妥当性について、年1～2回は専門的な知識を有する外部機関の確認を受けます。これらの具体的な実施規定は今後作成される予定でございます。

その他、検査対象とする肝臓は生の肝臓としますが、冷凍が必要な場合には、生の肝臓を分析後に問題のないことを確認された肝臓のみを冷凍します。

さらに、検査された個体と未検査の個体が混同しないよう、管理システムを整備する計画としております。分析機器を導入した後、養殖トラフグの肝臓の提供を開始する前に、管理システムの運用について、専門的な知識を有する外部機関の確認を受けるということでございます。

説明は以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

ただいま事務局から、諮問の経緯及び提案の内容について改めて御説明いただきましたけれども、この部分について御確認あるいは質問するようなことはございますか。この部分は再確認ということによろしいでしょうか。

それでは、この部分は再確認されましたので、次の項目について、事務局から御説明をお願いします。

○田中課長補佐 それでは、資料1に戻っていただきまして、2ページの「II. フグの毒化機構並びに養殖方法における危害要因及び制御ポイント」になります。

まず「1. 2005年評価」について記載しております。先ほども諮問の経緯で御説明しましたとおり、評価結果につきましては一番下のポツになりますけれども、現在までの知見においてテトロドトキシンによるトラフグの毒化機構は十分明らかとは言えず、フグの毒化機構が十分解明されていない以上、養殖方法における危害要因及び制御するポイントを特定することは難しいとされております。

「2. 2005年評価以降の知見を中心としたフグの毒化機構等に係る知見」を整理しております。

「(1) 養殖トラフグ肝臓のMBAによる試験結果」になります。

前回評価時に提出された試験結果に加えて、今般、合計5,999個体について、マウスバ

イオアッセイで毒性試験を実施し、いずれも2 MU/g未満または8 MU/g未満であったという事です。これは先ほどの回答の試験方法で測定されたデータということになります。

次のページにまいりまして、説明していますように、こちらはマウスバイオアッセイで検査されているものですので、今回提案されているHPLCにより得られた結果ではないということでございます。

「(2) 食物連鎖によって毒化することを示唆する知見」ということでございます。

2005年以降のフグの毒化機構に関する科学的知見につきまして、御提出いただいたデータを記載しております。こちらはクサフグについて、消化管内からヒガンフグの卵が確認された卵摂食群と、確認できなかった卵非摂食群において、LC-MS/MSで消化管内容物の総TTX量を測定したところ、雌の摂食群では $4,139 \pm 6,023$ ng、非摂食群では $216 \pm 374$ ngであったと言う結果が得られているということです。また、卵摂食群のクサフグ個体全体になりますけれども、こちらをLCMS/MSで測定した総TTX量は、雌個体が $2,803 \pm 10,361$ MU、雄個体が $1,901 \pm 1,856$ MUであったということでございます。こちらがクサフグが食物連鎖によって毒化することを示した報告ということでございます。

次に「(3) フグ体内のTTXの動態又は蓄積に係る知見」について記載されております。

まず1つは、養殖トラフグにTTXを添加した飼料を投与いたしまして、それぞれの部位を測定した結果が示されております。その結果、TTXは、低用量では主として皮に少量の毒を、高用量では肝臓及び卵巣に多量の毒を蓄積することが示唆されたということで、下に試験結果がございます。

TTXを0.1 MU/g体重/日、0.2、1.0と用量を振りまして、60日間飼育して、その間、15日、30日、45日、60日でそれぞれTTXの蓄積を測定したところの結果が示されております。一番高用量である1.0 MU/g体重/日相当量添加した飼料を投与して、60日間飼育した結果は、いずれの部位にも飼育期間を通じてTTXの蓄積が認められ、特に肝臓では、60日目では20~40 MU/gのTTXが検出されたということでございます。

④といたしまして、TTXを添加しない飼料を投与した結果、トラフグはTTXを蓄積していなかったということでございます。

4ページ、次にトラフグとマフグを人工的にかき合わせた *Torama* に400 MU/個体の用量でTTXを含む飼料を単回経口投与し、継時的にTTXの体内分布を測定した結果、消化管内のTTX量は速やかに減少した。肝臓のTTX量は、投与後は増加いたしまして、24時間後に最大6.1 MU/g、その後、次第に減少したということでございます。筋肉にはTTXは検出されなかったということで、TTXを含む飼料を摂取した後、フグ体内では、まず肝臓にTTXが蓄積し、その後、血液を介して皮へ移行することが示唆された。筋肉内にTTXを投与した実験群でも同様の傾向が認められたということでございます。

無毒とされた養殖トラフグに、TTXを40 MU/20g体重相当を含む飼料を6か月齢のトラフグと15か月齢のトラフグに経口投与した結果、投与24時間後では、①では皮及び肝臓はほとんど低いレベルで変わらないということでしたけれども、②の15か月齢では肝臓のみ

が有意に高く3.3 µg/gのTTXが検出された。6か月齢では、投与量の31%が魚に残存し、そのうちの71%が皮に存在したとされ、15か月齢では、投与量の84%が魚に残存し、そのうちの83%が肝臓に存在したということです。この結果から、肝臓が未発達な若い魚は、主に皮に毒が移行するが、魚が成長し、肝臓も発達すると、大部分の毒は肝臓に蓄積することが示唆されております。

TTXがどのようにトラフグの肝臓に取り込まれるのかを調べるために、トラフグやヒガンフグの肝臓組織切片を用いて、TTXを添加した培養液中でのTTX蓄積を継時的に測定しております。対照として、フグ毒非保有魚であるインダイやアイナメ等を用いました。その結果、トラフグ、ヒガンフグの肝臓組織切片は継時的にTTXの蓄積が見られ、TTXを添加した培養液から、次はTTXを含まない培養液に切りかえた後もTTXは検出されたということです。対照群では、継時的なTTXの蓄積が見られなかったということで、これらの結果から、TTXは*in vitro*でフグの肝細胞膜を透過し、肝臓に蓄積されることが示唆されたこととされております。

5ページにまいりまして、フグ体内のTTXの動態につきましては、TTXを肝静脈、門脈、消化管に投与したところ、肝静脈では投与量の84%程度、門脈では70%程度、消化管では49%程度のTTXが肝臓で検出されて、TTXは消化管から循環系に入り、最終的には、300分以内に肝臓に蓄積することが示唆された報告がございます。

「(4) TTX産生細菌についての知見」になります。

TTX産生細菌については、1983年にカニやサザエから分離された細菌である*Pseudomonas*属を培養、抽出した毒からTTX及びanhydroTTXが検出されたことが初めて報告されております。

その後、代表的な海洋細菌について、TTX産生性の有無を検討した結果では、こちらに記載されているような細菌において、明らかなanhydroTTX産生能を示したということとございます。*V. alginolyticus* ATCC 17749株を24時間培養した培養液から調製した毒を腹腔内投与した結果、マウス5匹が致死となったということとございます。

フグからは、多様なTTX産生細菌が分離されていることが報告されております。こちらは参考資料2に確認できた報告されているTTX産生細菌一覧をお示ししております。

その他の知見といたしまして、TTX産生細菌を利用しました養殖フグの毒化についての報告がございます。

クサフグの腸から分離された*Shewanella putrefaciens*は、TTX産生能が確認されたため、養殖トラフグにこの細菌を経口投与して、毒化させることができるかどうかについて検討したということで、投与を行ったトラフグ10尾中1個体の肝臓について機器分析で測定したところ、肝臓全体で1.4 MU相当のTTXが検出されたということです。なお、この個体以外のそのほかの個体には、全ての検体でTTX及びTTX類縁体は検出されなかったということとございます。

このような上述の知見を含む、多様なTTX産生細菌がTTX保有生物等から分離されてお



りますけれども、TTX生合成経路及び関連する遺伝子の特定には至っていないという状況でございます。

こちらにつきましては、これまでも御意見をいただいております、フグの毒化メカニズムについては、前回評価以降、リスク要因が特定できるような新たな知見は蓄積されていないのではないか。また、毒化のメカニズムがわかっていないので、検査後フグ検体を保管中に、共生細菌等により検体の毒が増加するリスクは残るのではないかというような御指摘をいただいております。

以上になります。

○宮崎座長 ありがとうございます。

ただいま事務局のほうから「II. フグの毒化機構並びに養殖方法における危害要因及び制御ポイント」の部分について御説明をいただきました。ただいまの説明に関して御質問、御意見等がありましたらよろしく申し上げます。いかがでしょうか。

2005年の評価におけるそのときの状況、2005年以降の若干の知見、資料1の3ページから「(2) 食物連鎖によって毒化することを示唆する知見」、「(3) フグ体内のTTXの動態又は蓄積に係る知見」、「(4) TTX産生細菌についての知見」等が列記されております。こういったことを踏まえて、前回の2005年の評価以降、6ページの赤字になっています、これまで委員の皆様あるいは専門参考人の先生方からいただいた御意見としては、若干の蓄積はあるけれども、リスク要因が特定できるような知見の蓄積はないのではないかというような御指摘をいただいておりますが、このことについて、改めて御意見等をいただければと思いますが、いかがでしょうか。

○熊谷委員 この参考文献はどこで見られるのですか。この中のどこにあるのですか。

○神津係員 iPadに今回入れさせていただきます。

○熊谷委員 例えば、5ページの11番という文献はこの中のどれになるのですか。

○神津係員 iPadのiBookの中の一番下のほうに、資料1の参照というものが何文献か入っているのですけれども、その参照1の11のSimiduらのものになります。

○熊谷委員 わかりました。

○宮崎座長 合田先生、お願いします。

○合田専門委員 参考文献の論文の7番はどこにありますか。

○神津係員 論文の7番につきましては、今度はドッジファイルの赤く取扱嚴重注意というものが入っているかと思うのですけれども、こちらの6番目のものになります。

○合田専門委員 ありがとうございます。

○宮崎座長 原著論文を確認していただくところもありますけれども、もう一度確認ですが、資料1の3ページにありますように、食物連鎖について毒化することについては、クサフグがヒガンフグの卵が食べていたものとそうでなかったものということで、テトロドトキシンの量が違うという食物連鎖によって毒化することを示唆する知見の報告があるということ。それから、フグの体内のテトロドトキシンの動態または蓄積については、テ

トロドトキシンを添加した試料をトラフグに投与して、その分布を見た試験があるということです。今の7番の論文というのは、ヒガンフグの肝臓のスライスを使って *in vitro* での実験で細胞膜を通して、テトロドトキシンが肝細胞に蓄積するのではないかという知見が報告されているということでございます。こういった新たな知見を踏まえて何が言えるのか、また、何がわからないのかというところを御指摘いただければと思いますけれども、いかがでしょうか。

あとはもう一つ、産生細菌というものが大分確認されているのですけれども、その細菌がどういう代謝経路でテトロドトキシンを生合成するのかが不明であるというようなところはまだ残っているとは思いますが、いかがでしょうか。

久米田先生、お願いします。

○久米田専門委員 確認なのですが、2005年以降で産生細菌の新しい知見は文献13と14と考えるとよろしいのですか。それだけということですか。

○神津係員 お配りした資料1の参照文献を見ていただきまして、こちらの番号がついているかと思うのですけれども、13番、14番が提出いただいた資料で2005年以降の文献になります。また、参考資料2のフグから分離された主なTTX産生細菌一覧では、11～15番で、2005年以降で幾つかTTX産生細菌の文献があるようです。こちらは大もとがYu VC-H氏の2011年の文献でまとめられているものですが、こちらについて詳しく見てみると、11、12、13、14、15といった内容がそれぞれ文献としても公表されているようです。この一覧表のもととなる文献は、iPadの中にも入れさせていただいております。iPadの下の方になるのですけれども、参考資料2のYu 2011 TTX産生細菌という題名のものがこちらの表のもととなっている文献となっております。

○宮崎座長 久米田先生、よろしいでしょうか。

○久米田専門委員 はい。

○宮崎座長 今、直接御確認いただいている部分もございますけれども、提出された資料で2005年以降の知見というものを踏まえて、毒化機構がどの程度わかってきたのか。あるいはまだ何がわかっていないのかというようなことについて、御指摘いただければと思いますけれども、大島先生、佐藤先生、何かコメントはございますか。

○佐藤専門参考人 ポイントが外れてくるかもしれないのですけれども、バクテリアのテトロドトキシン産生に関して、まずバクテリアがテトロドトキシンをつくるかというレベルでそれがものすごく明確に出ているような、NMRとか実際にテトロドトキシンの単体を単離して確認したという論文は今のところはないはずで。ということは、今、御指摘のあった文献のYuのものも非常に解像度の低いLC/MSで見えていまして、320という分子量の存在をもってテトロドトキシンと言っているわけですが、そういうレベルでのお話で、今の時代はかなりハイレゾリューションのマスマスペクトルなり何なりの分析が進んでいますけれども、その段階に至って論文が出ていないというところで、本当にこのアイソレーションされたバクテリアが必ず全部どこをつくっているのかなというところは、

専門でやっていて申しわけないのですけれども、私はいまだに疑問を抱いています。

バクテリア生産については以上です。明確な証拠がまだ出ていないのではないかと  
ことです。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、佐藤先生からコメントをいただきましたけれども、参考資料2にありますような、  
この15の論文発表がございますが、これらの菌がそもそもテトロドトキシンを確実につく  
るのかもわかっていないということと、あとは資料1にまとめていただいています  
けれども、6ページの上のほうで、そもそもこの細菌がどういう生合成経路でテトロドト  
キシンを生合成するのか。あるいはそこにどういう遺伝子が関与しているかというよう  
なことはわかっていないという状況だろうと思います。

熊谷先生、お願いします。

○熊谷委員 資料1には、培養液から調製した毒をマウスに投与したら5匹が死亡したとあ  
りますけれども、このたぐいの実験はあまりないのですか。もう一つは、微生物を捉えて  
培養できるわけですので、例えば、アイソトープで<sup>14</sup>Cとか取り込まれそうなものを使っ  
て、そのでき上がったものを調べるといふ、そういう仕事もないのでしょうか。

○大島専門参考人 バクテリアのテトロドトキシン産生の論文に関しまして、極めて生産  
能が低いものしか見つかっていないと思います。ですから、ケミカルに取り出して明らか  
にテトロドトキシンだと最新の方法で確認することができないくらいで、それこそHPLC  
でピークが出たのをテトロドトキシンと判断するとか、あるいはアルカリで分解してテト  
ロドトキシンから出てくるC9-baseという化合物があったからというようなものがほとん  
どで、先ほど言いましたハイレゾリューションのLC-MS/MSでさえ、多分データとしては  
まだないと思います。

ですから、いくらアイソトープで食わせても、テトロドトキシンそのものが、あるいは  
それと想定されるものはちゃんと取り出していないとか、分析対象とされていないレ  
ベルなので、極めて難しい状態であるだろうと思います。

○宮崎座長 先生、それはこれらの菌を培養する、要するに培養条件が影響しているとい  
う理解ですか。

○大島専門参考人 わかりません。本来、大もとのものはカルチャブル (culturable) で  
あるのかもわかりませんし、スクリーニングをかけたときに一応かかってくるもの  
はいずれも低レベルでしかないということで、それを研究している人たちは生産能を上げ  
ようと思って努力をされているのだろうと思いますけれども、それが成功したという論文  
はないと思います。

毒化機構の2005年以降の知見の蓄積ということに関しましては、2005年でこの会議でも  
提出されておりますように、天然のトラフグの毒性を分析すれば、無毒から非常に毒性の  
高いものまで分布するわけですがけれども、それを説明するメカニズムに関しては、やはり  
何も出ていないと思います。この間、いろいろな研究が発表されていますけれども、細か

いところでのテトロドトキシンの動態というか、いろいろな肝臓内の取り込みだとか、そういうところのことは少しずつわかっていますけれども、極めて本質的な、なぜ天然のフグにあれだけの高濃度のものが出現するのかということに関しては、先ほどの説明された資料では、情報は全く蓄積されていないということだろうと思います。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、大島先生からコメントをいただきましたけれども、毒化機構について2005年以降も断片的な情報はありますが、本質的なところは残念ながら解明されていないということ。産生細菌についても参考資料2に整理していただきました15の論文があるようですけれども、2005年以降も5つの報告がふえておりますが、いずれにしても、これらの細菌が本当にテトロドトキシンの産生にどの程度関与しているのか。生合成経路というようなこともまだ明らかになっていないということだろうと思います。

そういうことを踏まえますと、2005年以降も多少その新しい知見というものが増えておりますけれども、フグの毒化機構が十分には解明されていないということになろうかと思っておりますが、この部分のまとめの方向としてはそういうことになろうかと思っておりますけれども、そういうまとめ方で進めていくということによろしいでしょうか。ありがとうございます。

それでは、続いて、「III. 個別の毒性検査による管理」について、事務局から説明をお願いします。

○田中課長補佐 それでは、資料1の6ページになります。今回の提案では、陸上養殖のトラフグの肝臓をHPLCにより検査を行い、個別の毒性検査により検出下限以下の肝臓について提供を行うという提案でございます。

この提案に関連しまして、使用予定のHPLC法につきまして、測定方法の詳細であるとか、具体的な実施規定の手順であるとか、あとは検出下限値がいくつになるのかということにつきまして、以前確認をしたところではございますけれども、回答におきましては、提案が認可された後に萬坊に実際に導入された機器を用いて予備的に分析を行った後に、実施規定や基準、検出下限を策定予定ということでございました。

同じく回答の中では、これまでは外部の機器を使用してデータを取得してきたということでありまして、外部の機器を使用して取得したデータでは、1.2 MU/gの検出は可能と捉え、現時点での検出下限の目安としているという回答でございました。

また、今回提案されている方法で、いわゆる陸上養殖のトラフグの肝臓のR4部位について、HPLC法で測定を行ったデータについて提出をお願いしたところ、回答といたしましては、食提供を目的とした検査部位であるR4部位を検査した試験的モニタリングは実施していないということで、今般の提案である陸上養殖のトラフグの肝臓のR4部位をHPLCで測定した検査結果はないということでございます。

ただ、R4部位ではないのですけれども、陸上養殖のトラフグの肝臓につきましては、HPLC法で測定した検出データがあるということで、こちらではTTX検出位置にピークは

検出されなかったということでデータを提出いただいております。

こちらがiPadの中にございますけれども、ふぐ佐賀資料7で養殖トラフグ肝臓のHPLC-FL分析概要というデータを提出いただいております。この中で分析試料といたしましては、萬坊の養殖場よりトラフグの肝臓10検体を入手し、うちいくつかについて検査を行ったことが示されております。

その結果につきましては、その次のページ3で、トラフグ肝臓抽出液の調製のフロースキームについても記載がされております。肝臓を切り取って、すりつぶして10 gをとって酢酸溶液を20 mL入れて加熱して、というような工程でHPLC-FL試料を調製した結果が出ています。また、そのさらに次のページ4で、HPLCクロマトグラムというものも提出いただいております。こちらのうち、8検体分のクロマトが示されておまして、Figureの2、4、5、6、7、8、9、11のクロマト、下に養殖無毒トラフグ肝臓と書いてあります。そちらが今般、養殖トラフグ肝臓のクロマトグラムということになります。

手書きですけれども、矢印でNDと書いてあります。これがTTXの検出位置ということでございまして、Figureの1につきまして、標準溶液をはかったものがございますので、こちらからTTX検出位置を矢印で示しておまして、いずれもピークが検出されていないということで、この8検体についてはTTXが検出されていないという結果が得られております。これが複数、11までございます。

養殖トラフグをHPLCで測定したデータは、今の時点ではこれだけ確認できていますが、これまでいただいた御意見といたしましては、マウスバイオアッセイによるデータはたくさんあるけれども、今回の提案はHPLC-FLで行うものということなので、そのデータは8検体ということで、ちょっと少ないのではないかという御指摘であるとか、ただいまごらんいただきました分析概要の抽出から予備精製の方法が詳細には書かれていない、との御指摘。

あとは今御覧いただいたクロマトの中で標準溶液の部分でTTXのピークの後に類縁体なのか、ピークがございます。これが使用した標準品に入っていたのか、溶液と保存中に異性化等で生じたのか、精度管理の対象にする必要があるのではないかという御指摘がございます。

最初の提案の内容のところの説明をしまして、今般の提案におきましては、陽性が確認された場合は一旦使用を停止して、また再度分析をしてというような3段階の分析を実施して確認をするという手順になっております。ただ、偽陰性の対応につきましては以前確認をしまして、事前に装置が正常に稼働していることを確認するため、これまでの検査において偽陰性が生じたことはないという回答をいただいております。

ただ、そういったことに対しましては、偽陰性について想定せず、確認する手順がないのは精度管理上、不十分ではないかということで、陸上養殖のトラフグの肝臓を検査したHPLC-FLの結果のピークを見ると、TTXが不検出とされている検体において、TTXの保持時間にはピークは検出されないが、その他の部分でピークが少し見られているという点に

についてはどのように考えるのかというような御指摘もございました。

保持時間の安定性もデータを蓄積したほうがよいのではないかと御指摘もいただいております。

ここまでが検査法HPLCの関連になります。

8ページにまいりまして、マウス単位とTTX量の相関になります。今回の検査はHPLCで行うということで、その相関を確認したデータについてですけれども、こちらについては参考資料3をごらんいただければと思います。「HPLCとMBAの相関」ということで、トラフグ肝臓などを用いまして、HPLCとMBAとの測定値の比較を行いました。その結果、いずれの試料でも両方の測定値はよく一致しておりますという結果が得られております。なお、食品衛生検査指針上は、1 MUは220 ngのTTXに相当するということが記載がされているところでございます。

表面の1はトラフグの肝臓4検体について相関を見たものになります。裏面につきましては天然トラフグの肝臓23検体をHPLCとMBAで測定してTTXの濃度の相関を確認しております。その測定値はほぼ一致したということでございます。これはマウスバイオアッセイで不検出となったものはHPLC法では分析しなかったということになりますので、実質、相関を見たのはn=16ということでございます。相関につきましては、こういったデータが提出されております。

相関につきましては、高用量だけでなく低用量についても高用量と同じように正確な相関関係が成り立つのかどうかということについて御指摘を以前いただいたところでございます。

次に「4. 検査部位（R4部位）の妥当性」ということで、今般、提案者からはR4部位を測定することが提案として挙がってきているところでございます。この提案の根拠といたしましては、取扱注意の諮問参考資料をごらんいただきたいのですが、根拠の1つとして示されているものがこちらの中の95ページ、天然トラフグ肝臓の毒性分布になります。96ページを見ますと、肝臓を10個に分割して、それぞれの部位を測定したという論文になります。

98ページの上に3の毒性分布とございまして、全部位にマウス毒性が認められた肝臓16個体について、個体別に平均毒力を1として各部位の相対毒力を求め、それらを部位ごとに平均して低くしたところ、おおむね中央部の毒性が低く、両端の毒性が低いといったところが見られたということで、少し下に行きまして、本研究ではR4、すなわち肝臓右側中央下寄りの部位が有意に高い毒性を示すことがわかったということが示されております。

こちらの16検体と全ての部位が検出されていないけれども、測定した10部位を全て合わせて42検体のデータにつきましては、前回御提出をいただいております。それが参考資料4-1と4-2になります。今ごらんいただいた論文の各部位のR1～L5まで、冷蔵の肝臓は生肝臓としていますが、それと凍結肝臓がございまして、基本的に生肝臓のデータを御提出いただいているところになります。

横紙のほうは、10部位全てがマウス毒性を示した16個体の毒性分布ということで、R4部位は二重枠で囲ってありまして、色のついているものは、その部位で最も高かった部位と最も低かった部位を示しております。また、これが全部位ではなく、それ以外に検出下限の結果もございます。それも全部合わせて42個体のデータがこちらに示されているところでございます。

こちらの結果につきましては、論文の中でも検定などを行っております、99ページのまとめの少し上になりますけれども、生の肝臓ではR4部位が10 MU未満であった場合、当該個体の平均毒力が15.6 MU/g、部位別毒力が23.3 MU/gを超える確率は事実上ゼロとみなせることになるというような検定なども行って、そういった結論を出しているところです。

さらに提案者のほうでは、この16個体だけではなくて、42個体を使いまして、解析を行っております。それが提案者の中の152ページになります。参考文献3、トラフグ肝臓の食品安全性評価について。こちらではトービット回帰モデルを用いて全42個体のトラフグ肝臓データの解析について検証するというで行われた解析ということでございます。その結果でございますけれども、R4部位の毒力測定値のレベルを検出下限以下とした場合、個体の最大毒力が10 MU/g以下であることの確率が示されているのが155ページの上になります。

R4部位の毒量が3.85 MU/gの場合、個体の最大毒力が10 MU/g以下である確率は99.9999%であることが示されたということで、こういったことが今回R4部位をサンプルして、R4部位を検査部位とすることについての根拠ということを示されているものになります。こちらについても御意見はこれまでもいろいろといただいているところでございます。R4部位とR4部位以外の毒の量にどれくらい差があるのか、そういったことを確認するのに一定の量のデータが必要ではないかというような御指摘などがございます。

「(2) トラフグ肝臓内のTTXの毒性の分布を示したその他の知見」といたしまして、今度はiPadのほうになるのですが、iPadの佐賀提出資料の9になります。こちらは学位論文になるのですが、「西日本産フグの毒性に関する研究」ということで、トラフグの肝臓の部位別に毒の分布を見ているというものになります。

その結果が資料を開いていただきまして、81ページ、82ページにそれぞれ分布が掲載されているところですが、Liver AからLiver Fまででございます。それがトラフグの肝臓の分布ということになります。こちらで特に82ページのLiver Dが、肝臓の下端の部分が3 MU/g未満であるのに対し、上の部分は170 MU/gというようなデータが示されているというところではございます。以上のとおり、毒の分布のデータがこれまで提出されているところでございます。

次に10ページにまいりまして、「3. TTX類縁体と麻痺性貝毒 (PSP)」になります。今回の検査では測定するものはTTXのみということでございましたけれども、TTX類縁体がいくつか報告がございまして、これまでトラフグの肝臓で検出された類縁体につきましては、

4-*epi*-TTX、anhydroTTX、テトロドン酸が報告されております。TTX類縁体はTTXに比べて毒性が低いという報告がございます。

それが参考資料5-1になりますけれども、類縁体の急性毒性について一覧で示しております。一番上がTTXになりまして、それぞれ腹腔内投与、経口投与、静脈内投与でLD<sub>50</sub>～LD<sub>100</sub>まで確認できたデータを入れてきております。これらを見ますと、例えば4-*epi*-TTXであれば、急性毒性（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重）は64ということで、腹腔内投与でLD<sub>50</sub>はTTXでは8.5になるということで、TTXに比べると低いのかなと。また、同じくトラフグで確認されているanhydroTTXにつきましても、LD<sub>50</sub>は490というようなデータがございます。

一方で、TTXより毒性が高い可能性が示唆されている類縁体がございます、それが11-oxo-TTXで、TTXの次に記載されているものになります。こちらの類縁体はLD<sub>99</sub>は16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重ということでございます。ただ、これはトラフグからはこれまで検出されたという報告はないそうです。この11-oxo-TTXがなぜTTXよりも毒性が強いと示唆されるのかということにつきまして、参考資料5-2がございます。ここで11-oxo-TTXがなぜ強いと言われるのかにつきましては、ナトリウムチャンネル阻害作用を、TTXと11-oxo-TTXで比較したところ、11-oxo-TTXのほうがTTXより低い濃度で作用が出ているという報告がいくつかございます。こういったところから阻害作用はTTXより高いのではないかというような報告があるところでございます。

最後になりましたが、麻痺性貝毒につきましては、2005年の評価においても麻痺性貝毒を蓄積するフグも存在するため、テトロドトキシンだけでなく麻痺性貝毒についても考慮すべきとされております。日本沿岸部で採取されたトラフグ属（ヒガンフグ、コモンフグ、ナシフグ）からはサキシトキシンが検出されております。一方でトラフグ肝臓切片を用いた試験では、肝臓から検出されたTTXは、12時間培養では21に対して、48時間培養では55とふえていったのに対し、PSPは12時間培養で6.3  $\mu\text{g}/\text{g}$ 肝臓が検出された後プラトーに達したというような結果も得られているところでございます。

説明については以上になります。

○宮崎座長 ありがとうございます。

ただいま事務局から「III. 個別の毒性検査による管理」の部分について御説明いただきましたけれども、大分いろいろな点を御説明いただきましたので、順を追って皆様から御意見をいただきたいと思っております。

まず最初に6ページに書いてあります「3. HPLC-FLによるTTXの測定」の部分について、御意見、御質問等がありましたらお願いします。

合田先生。

○合田専門委員 今回初めてクロマトまで細かく見たのですけれども、ふぐ佐賀資料7でクロマトはNDとなっているのがありますよね。一方この標品でのクロマトを見ていると、0.5分くらいは有意に時間が動いているのです。多分これは反応させて検出させる系だから、いろいろなことが影響して動くのかもしれないのですけれども、時間の経過を見ていて、



どちらかと言うと、どんどん保持時間が短くなる方向に動いているのかなと思うのです。そうするとNDと書いたものが本当にNDなのかなというのがちょっと気持ち悪いです。本当はこのくらいの検出レベルだとMSでたたいて、具体的に対応する数値がそこにないないのを見ないと非検出かどうかわからないですよ。実際は、このくらいの分析のレベルなのだなと思いました。

その前の例のいくつかのフグの内臓の中からとってきた菌の分析を見ても、そこにある分子量のところだけで見えていますけれども、見たら猛烈に感度が低いところで見えて、見た目の数値はそうになっていますが、実際にはすごくぎりぎりのところなので、これは多分MS/MSを見ないと、この数字であるかないかというレベルは多分言えないかなというレベルですね。

もともとテトロドトキシンの分析は非常に難しいので、その時その時でベストなことをされているのだらうと思いますけれども。蛍光分析でやると、現在示されているデータの状況では、NDと言い切れるかどうかの正確さがないレベル。そうすると、そういうクロマトで前後に0.5分くらいのところでピークが出てきたときに、そのものは対象ピークでないのかということについて、何で確認するのですかというシステムがこの蛍光の分析をやろうと思ったときに多分要りますよね。それがないと、NDと言い切るだけの決定打はここには出されていないなど、今、初めて思いました。

ですから、どうしてもこういう分析でやると、多分感覚としては0.5分くらいのところで見たときに、対象物はなさそうだなという気もしますけれども、研究者のレベルで見た時には、私だったら、これはないとは言いきれないです。その付近の前後0.5分の範囲にピークがありますね。そうすると、どのクロマトも保持時間が多分0.5分くらい動くとなると、データの精度に対するバリデーションがどのくらいとられているかというのがわからないと思いました。

それで、この検査法そのものが安全性の最後の砦なのですが、こういう蛍光分析でやられる部分についての要するに真度、出されたクロマトと違って今の機械だったらもう少し感度は上がっているのかもしれないですけれども、どのくらいの真度があるのでしょうか。同定は、保持時間でしか結局見ないですね。蛍光試薬で発色させて保持時間でしか見ないのだから、そのことに関して本当にどのくらいの真度があるのかということです。それが出てこないと余り判断できないなという気がしました。

以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、合田専門委員から、この測定法自体の妥当性確認といえますか、そういうところの必要性を御指摘いただきました。

○合田専門委員 特に低濃度のところで、低濃度でもこれは結構影響がある数字が出てきました。そのところで本当に大丈夫なのかというデータは必要です。そういうものを基本的な最初のスクリーニングに使われて、ある一定のところであれば、もっと別の分析に回

すということが必要です。先ほど言われましたが、フォルスポジティブばかり考えてくるけれども、フォルスネガティブである可能性がありますよね。ですから、その部分が必要かなと思いました。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今の御指摘は、その分析の妥当性確認と精度管理といいますか、QCの部分ですね。フォルスネガティブのときに可能性について、どの程度チェックをするかというところですね。分析法自体についての御指摘がありましたけれども、そういう点が今後の評価の議論のポイントになるだろうということでございます。

そのプラス、7ページに赤字で書いていただいていますけれども、そのほかに分析法については専門委員、専門参考人から御意見をいただいております。養殖トラフグの肝臓についてのデータはHPLC蛍光法でのデータは余りないというようなところ。今、合田専門委員からも御指摘がありましたけれども、分析法自体の妥当性確認のところについての類似した指摘だと思いますが、赤字でございます。下のほうに、偽陽性に対しては3段階の分析を実施して確認するとなっているのが、偽陰性については想定していないというようなところ、保持時間の安定性。こういったところを既に御指摘いただいていますけれども、こういったところが評価のポイントになるだろうと思いますが、そのほかの委員の先生はいかがでしょうか。

久米田先生。

○久米田専門委員 その証拠というか、1つの実例なのですが、参考資料3の2ページ目です。HPLC蛍光法とマウス毒性法を比べた資料のNo.14ですけれども、これではマウス毒性試験では3.8 MUですが、HPLC蛍光法では多分これは検出限界値ということだと思いますが、1.3MU以下になっています。ここではマウス法で検出されなかったものについてはHPLC蛍光法をやっていないので非常に残念な、そのデータがあれば非常によかったのと思う結果ですが、こういうこともあるので、確かめることは必要だと思います。

○宮崎座長 ありがとうございます。

そのほか、この検査手法そのものについてポイントとすべき点、お気づきの点はございませんでしょうか。

それでは、次に8ページの一番上になります。このHPLC蛍光法と今も話題になりましたけれども、参考資料3にあるマウスのバイオアッセイの結果との相関についての資料が提出されています。これについてもこれまで委員の先生方からいただいている御意見では、HPLC法の数値がどの程度の精度のものかということと、特にそれとバイオアッセイと相関するかどうかということで、特に低用量の毒性域についても高用量の毒性域と同じように正確な相関関係が成り立つのかという御指摘をいただいておりますけれども、今回提案されているHPLCによる分析とマウスバイオアッセイの相関について、そのほかにお気づきの点はございますか。よろしいでしょうか。そういったような視点から評価をしていくということだろうと思います。

また、お気づきの点は後でさかのぼっても結構ですので、次に「4. 検査部位（R4部位）の妥当性」について統計解析も含めて資料が提出されていますけれども、それに対する委員の先生方の御意見としては、9ページに赤字でまとめていただいております。データが十分な数がないのではないかとというようなところで、低用量の毒性を持つトラフグの肝臓についても相対毒性を比較する必要がある。

局在、毒化のメカニズムと関連することですけれども、R4部位が一番高いという今回の提案者からのデータから統計学的に解析して、R4部位が高いという結論になっていますが、その判断の妥当性ということについて、学位論文ではありますけれども、先ほども事務局から説明があったように、かなりその部位によって濃度が違うというデータも提出されているということと、そもそもその毒化機構がわかっていなくて、肝臓の中で毒の局在があるのかないのか。局在があるとしたら、どういうメカニズムで局在するのかということもわかっていないということがございますけれども、そういったところが論点になるかと思えます。そのほかに皆様のお気づきの点がありましたらお願いします。

統計解析の部分については、提案者から提出していただいておりますトービット回帰モデルで、今回そのトービット回帰モデルに用いたデータに限って見れば、R4の毒量が3.85 MU/gの場合、そのほかの部位の最大毒力が10 MU/g以下である確率は非常に高く99.9999%であるということが解析結果として示されていますけれども、それが毒化メカニズムがわかっていない中で、そのほかの肝臓についても当てはまるのかどうかという、その辺が議論のポイントになるかと思えます。いかがでしょうか。

すみません、学位論文のものは佐賀県から提出していただいた何番でしたか。

○神津係長 佐賀資料の9番になります。

○宮崎座長 これでは部位によって、かなり大きな開きがあるわけですがけれども、これも原著論文にはなっていないということで、どの程度の信頼性があるのかという議論もあろうかと思いますが、特に御意見はございませんでしょうか。

鈴木先生。

○鈴木専門委員 先ほど事務局から指摘があったのですけれども、このDの肝臓ですが、これを見るとR4が3 MU以下であっても一番上のところが170 MUになっているわけですので、そういう意味では先ほどの統計解析の結果と全く違う結果が、このデータで見るとあり得るということだと思います。もちろん学位論文であるということで、どう読むかというのはあるのですけれども、ただ、99.9999%と言っても、これで見ると非常に危険な可能性もあるということがわかります。

○合田専門委員 4分割だったら、もっと数字が大きくなるかもしれないですがけれども、3以下というのは左下の一番下のところだけです。この図を信じれば、面積的にそのちょっと上くらいまで、多分90とか書いているところも入ります。数倍というか10倍以内くらいの差はあるかなという感じです。絶対にそこより大きなところは存在しないとは言い切れないと私も思いますけれども、3以下と170というくらいだと2桁の差が出ますから、それ

よりは少ないかなという感じで、安全係数が10倍くらいは最低でも見ておかないとまずいかなと、このデータからは思います。これの右側もそうですよね。これはトラフグではなくて、クサフグだから参考にしてはいけないのかな。

○宮崎座長 そのほかにかがででしょうか。検査部位について、R4部位の妥当性、今ありました学位論文を含めたその他の知見ということも含めて、今、確認させていただいたようなことが評価のポイントになっていくだろうということによろしいでしょうか。学位論文については、どういう扱いにするかというのは悩ましいところがあるかもしれませんけれども。

○合田専門委員 参考資料4-2とかは学位論文ですか。これは今回提出されたものですよね。4-1と4-2のデータはレビューとされているものですか。

○田中課長補佐 参考資料4-1、4-2は今般、提案者から提出されたものです。

○合田専門委員 今般出されたもので、これは要するに論文になっているわけではないのですよね。

○田中課長補佐 論文自体は提案者のほうにございます。

○合田専門委員 食品衛生学雑誌のものですよね。

○田中課長補佐 そうです。そのもとのデータになります。

○合田専門委員 それだとおかしいのではないですか。これだとR4より大きいものもありますよね。食品衛生学雑誌の論文は何番でしたか。

○神津係員 iPadにも入っております、iPadの下のほうにあります資料1の参照の谷口氏のもので。提案書内谷口R4というものです。

○合田専門委員 これと違いますよね。これのデータがこの参考資料のデータのものでしょうか。

○田中課長補佐 そう聞いております。

○宮崎座長 例えば、Table1のShizuoka prefectureの1番というのが、参考資料4-1の1になるのではないのでしょうか。

○田中課長補佐 そうです。個別番号はこちらのTable1にある个体番号と一致しているかと思えます。

○宮崎座長 佐賀県から提出された資料については論文も含めて、その後、さらに同じデータを使ってトービット回帰モデルをして、さらに確認しているというデータについては、それは多分そのサンプル、この参考資料4-1と4-2のデータを用いた統計解析ということでは、そういう結果でそうなのだろうと思いますけれども、一方では、さらに局在を疑うようなデータも出ているということだろうと思います。その辺は今回の提出された資料に基づいて、R4部位の検査の妥当性ということを8～9ページの赤字に書かれているような観点を議論しつつ、取りまとめていくということにしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

すみません、予定した時間も超過しておりますので、また、お気づきの点がありましたら、さかのぼってでも結構ですから御指摘いただいて、資料1の10ページになります。今

回、提案者はテトロドトキシンのみを分析するというを提案しているわけですがけれども、テトロドトキシンの類縁体、麻痺性貝毒の蓄積の可能性ということも含めて、まだ毒化機構がわかっていないということにさかのぼりますけれども、そういうことがあるので、これをどう判断するかということでございます。

類縁体については、特に毒性が強い可能性があるという11-oxo-TTXというものについて示唆されているけれども、トラフグについては実際にこれを分析したデータはどうもないようだということがございます。先ほどのクロマトグラムのところに戻りますけれども、委員の御指摘では、類縁体の共存を疑うピークが見られているということで、類縁体の確認についても必要なのではないかというようなこと。あとは今回のこの説明で、類縁体がどの程度分析できるのか、感度がどうなのかというようなことについても御指摘をいただいております。

麻痺性貝毒については、11ページの上にありますけれども、フグにおける麻痺性貝毒による毒化機構が不明であるということと、このマウスバイオアッセイについては、そもそもその抽出法も含めて、テトロドトキシンを対象とした抽出法であって、麻痺性貝毒の場合には抽出液も0.1%酢酸ではなくて、0.1M塩酸でしたか。違うというようなこともあるので、ここまで十分確認できているのかどうかはわからないというようなご指摘ですね。そういうことも含めて機器分析による麻痺性貝毒の検査も必要ではないかというような御指摘をいただいておりますけれども、この辺について、テトロドトキシン以外のテトロドトキシン類縁体、麻痺性貝毒について御意見、御質問はございますか。

佐藤先生。

○佐藤専門参考人 麻痺性貝毒が一般的にアレキサンドリウム属ですとか、そういう確かに有毒渦鞭毛藻もそれで貝が毒化すると、そういう現象として捉えられていますけれども、いろいろな生き物が渦鞭毛藻と無関係だと思われる状況で毒化することがありますので、あるいは淡水藻の藍藻とか海水の藍藻とか、そういうことまで含めると、麻痺性貝毒はサキシトキシンの誘導体なのですけれども、ここに書かれているとおりで、その麻痺性貝毒による生物の毒化機序がよくわかっていないという現状でありますと、そうすると、やはりいくら、ろ過をしてプランクトンを排除しているという環境でも、全く毒化しないよという可能性は捨て切れないということが、まず第1点。

これは長島先生のお仕事でおもしろい仕事なのですけれども、フグの肝臓を切り出しておいて、組織のテトロドトキシンが入っていくか、麻痺性貝毒が入っていくか。明らかにテトロドトキシンのほうが肝臓に染み込みやすいという実験をやられていますけれども、これだけをもってしても、実際に生きている *in vivo* の状態のフグが麻痺性貝毒をためないかということの答えになっていないと思いますので、可能性としては、やはり麻痺性貝毒の危険性は排除できないと思います。100%は無理なのですけれども、できるだけ安全性を高めるのであれば、やはり麻痺性貝毒というのは無視できない。測定は無視できないかと考えています。

以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

そのほかに先生方、この点についてはいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、テトロドトキシン類縁体、麻痺性貝毒については10ページ、11ページに赤字で書かれていますような専門委員、専門参考人の御意見を踏まえて評価をしていくということを進めていきたいと思えます。

ここまでが事務局で御説明いただいた「III. 個別の毒性検査による管理」のところでございます。今、私が申しましたような方向で評価を進めていくということによろしいでしょうか。

それでは、「IV. その他安全性確保のための管理体制」について、事務局から説明をお願いします。

○田中課長補佐 11ページの「IV. その他安全性確保のための管理体制」としておりますけれども、管理体制につきましては、提案者からの回答においても精度管理の手順や体制については今後調整予定であるということが回答されております。また、TTXの認証標準物質がまだないのではないかと御指摘がありまして、検査室の要件はどういったものになるのかということについても、その点については厚労省において、今後検討予定という御回答があったところです。

こういった提案された管理体制について、これまでいただいた御意見としましては、「①個別検査を行うこと及び製造工程管理について」ということで、伝統食品であるフグの卵巣塩蔵品がございます。こちらはおおむね10 MU/gを超えないということで管理されておりますけれども、生鮮のフグで10 MU/gでそういった管理をしている事例はないということで、食経験のある食品に対して適用されている、そういった管理基準値を毒化メカニズムがわかっていない食経験のない新しい食品とみなされるフグの肝臓に同様に適用することについてはどうなのであろうかという御指摘をいただいております。

TTXは非常に毒性が強いものであり、このようなものの安全性は基本的には最終的な製品管理だけではなくて、製造工程管理というものが本質的に安全を確保するためには重要ではないかというような御意見。

12ページ目にまいりまして、「②検査手法又は検査体制について」は、TTXはオカダ酸群のような下痢性貝毒と比較して致死毒性が極めて高い。ですので、二枚貝同様、フグ肝臓はさまざまな夾雑物が含まれているため、分析法の妥当性確認については、下痢性貝毒の事例と同様に十分な検討が必要ではないか。

マウスバイオアッセイからHPLCに変更し、毒性検査をする場合、どのような資格を有するどのような人が実施したものなのかが、分析の精度管理上、重要であるというような御指摘。

認可された後に装置の設置を待って実施規定や検出下限などの基準を策定するということとでございますけれども、それだと試験が正確かつ安定的に行われるかどうかは評価でき

ないのではないかと。ですので、装置が入る前でも規程は作成できるはずであって、HPLCによるTTX分析についてのSOPの提示等、提案の段階で、実際の検査方法について適切に実施されることを示す科学的知見及び根拠が必要であるという御指摘。

「③標準品について」は、TTXについてはさまざまな純度の標準品があることから、CRM、認証標準物質を指定することが望ましいので慎重に御検討いただきたい。これまで管理の部分について、こういった御指摘がございます。

管理については最初にも申し上げましたとおり、一義的にはリスク管理機関または事業者において検討されるものではあるかと思えますけれども、前提という部分もございましたので、今般意見を整理させていただきました。

以上です。

○宮崎座長 ありがとうございます。

今、事務局から説明がありましたように、この管理体制の部分については、リスク評価というよりは、実際にリスク管理機関あるいは事業者がリスク評価を踏まえて、適切に講ずるものでありますので、評価書の中でどういうふうに記載するかというところはございますけれども、今、事務局から説明をいただきましたように、資料1の11ページの中ごろから12ページにかけて、この管理法、たびたび問題になってきますけれども、分析の妥当性確認、精度管理、あるいは検査室の第三者認証というのも当然絡んでくると思いますが、そういったことについてとか、いろいろと御指摘をいただいております。

こういったことについて、この評価書の中でどういう表現にするかという御議論はあると思えますけれども、その重要性、これが重要なのだというような形で評価書に記載してリスク管理機関に伝えていくということにしたらどうかと思えますけれども、この点についてはいかがでしょうか。

今回提出された資料では、この辺について確認できる部分はかなり少ないものですし、実際に非常に毒性が強いものを食用に供するということですので、この部分については非常に厳密にやる必要があると思えますので、そういったところを評価書の中で取りまとめて、リスク管理機関へ伝えていくというような形。表現については、また皆様と御相談をすることになりますけれども、そういった形で評価書を取りまとめていくということではよろしいでしょうか。11～12ページに赤字で御指摘をいただいておりますけれども、お気づきの点があれば、お知らせいただきたいと思えます。

合田先生。

○合田専門委員 言葉の問題ですけれども、12ページの2つ目のボツのところ、「どのような資格を有するどのような人が実施したものなのかが、分析の精度管理上重要である」。これも精度管理上、重要なのですか。これは考え方としては工程管理とか、資格者が必要とかいうのはもっと全体的な視点ですね。どうしてもこれは食品なので、分析の精度管理という言葉が使われるのかなと思っております。結局こういうのは製造工程管理全体としてシステムを構築することが大事だと思います。そういうシステム全体というのは、

そのシステムの中に一つにどういう立場の人がいて、その人はどういう責任があって、その人に要求される資格は何で、その人に対して誰が具体的に命令権を持っているか。その人がなすべき動きが正しく書かれているか、行った行為の記録をどうするか。そういう部分を全部システムとしてつくるのが大事だと思います。単純に精度管理だけではないと思います。

だから、その次のところも「(内部精度管理、外部精度管理)」と書かれているのだけでも、確かに精度管理でもあるのだけれども、精度管理より上位の管理そのものがありますよね。それがその前のページの下側に関係すると思いますけれども、文章をつくる時にはその辺を考えてつくっていただいたほうがいいかなと思います。

○宮崎座長 御指摘をありがとうございました。

この部分については表現が必ずしも適切でないところがあるかもしれませんが、先ほど私も申し上げましたように、その表現については皆さんに御確認いただきながら、いずれにしても基本としては、この管理の部分については、妥当性が確認された分析法を使って、内部精度管理、外部精度管理をきちんとやっていくということと、そのシステムということについては第三者認証というのが当然必要になってくるかと思えますけれども、そういったことも含めて、そのトータルなシステムとして、全体のシステムとして、きちんと確実に検査がされて、さらに実際にその先、物の取り違いがいかとか、最後に人の口に入るまでのトータルな管理がシステムとしてどうされているかということが非常に重要であるというところをリスク管理機関へ伝えるような適切な表現というものを皆さんと考えていきたいと思えます。

そういった形で、「IV. その他安全性確保のための管理体制」という部分で評価書の中で取りまとめていくという方向でよろしいでしょうか。ありがとうございました。

それでは、済みません、私の不手際で超過してしまいましたけれども、今、個別にIVまで御議論をいただきましたが、もう一度振り返って、追加すべき点等、お気づきのところがありましたら、御指摘をいただきたいと思えますけれども、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、資料1に赤字で記載してあります、これまで皆様からいただいた御指摘、今日さらに追加していただいた御指摘等を踏まえて、今般の審議内容について、関連知見のさらなる整理を進めて、評価書案のたたき台を事務局に作成していただきたいと思えますが、そういう進め方でよろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○宮崎座長 ありがとうございます。

それでは、事務局の評価書案のたたき台の作成に当たっては、これからも専門委員の先生方に適宜お問い合わせをさせていただいて、整理させていただきたいと思えますので、どうぞよろしくお願いたします。

それでは、今日予定されていた議事については一通り御議論をいただきましたが、その



ほかに事務局から何かありますでしょうか。

○田中課長補佐 最初の方に戻ってしまうのですが、厚労省からの追加資料要求の件で再度確認する必要があるとって御指摘をされた点です。御確認なのですが、提出資料1のほうの妥当性の確認のデータということが1つと、提出資料8のほうはHPLCによる検査結果が出ているけれども、それについてMBAによる生物試験法による結果で比較したものも必要であるという、その2点ということでしたでしょうか。

○宮崎座長 提出資料1のほうについては、標準法からこの準ずる方法に変えて濃縮した状態、濃縮というか、希釈されていない状態で感度を上げようということをやっている方法の妥当性を確認したという情報を提出していただきたいということだと思います。

2番目のHPLCのほうは、提出資料2で4サンプルが参考法と改良法で比較されているのですが、MUとして、かなり高いものだけなので、もっと毒性が低い点で抽出効率等を調べたデータがあるのかどうか。それを教えていただきたいということだったと思えますけれども、鈴木先生、そういうことですよ。

○鈴木専門委員 はい。

○神津係員 事前に確認した内容として、最初の1ページ目の提出資料1の試験法については、妥当性確認等を行っているデータは特にないと聞いています。主張として伺っているのは、試料10gと0.1%酢酸10mlを混合すると容量がほぼ20mlとなること、また遠心分離もろ過も不溶物を取り除くのが目的で、抽出効率にはほとんど影響を与えないと考えていることから、ここでは妥当性確認のデータを行っていないそうなのですが、提出資料2の表で出てきていたものの抽出比の2のデータを準用できると考えているという答えは事前にもらっています。

ただ、提出資料1の試験法について、いろいろと通常の方法と異なる点があったり、緩衝液の影響があるということでしたので、そちらについては確認をするということでしょうか。

○鈴木専門委員 はい。

○神津係員 ありがとうございます。

○宮崎座長 すみません、私が厚労省に確認するところのまとめを忘れてしまいましたけれども、その2点については厚労省に改めて確認していただければと思います。

そのほかに皆様から、お気づきの点はございますか。よろしいでしょうか。

それでは、改めて事務局から、さらに追加のことはございますか。

○田中課長補佐 特にございません。

○宮崎座長 ありがとうございます。

それでは、私の不手際で超過してしまいましたけれども、本日の審議は以上とさせていただきます。

次回につきましては、改めて日程調整の上お知らせしますので、よろしくお祈いします。

本日はどうもありがとうございました。

