

1	<b>目次</b>
2	<b>I. 諮問の経緯及び提案の内容</b>
3	1. 諮問の経緯
4	2. 今回の提案の内容
5	<b>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</b>
6	1. 2005 年の食品健康影響評価
7	(1) TTX の産生について
8	(2) 毒化機構について
9	(3) 麻痺性貝毒について
10	(4) 提案された養殖方法の妥当性について
11	(5) 結論
12	2. 2005 年の食品健康影響評価以降の知見を中心としたフグの毒化機構に
13	係る知見
14	(1) マウス試験法による陸上養殖トラフグの肝臓の検査結果
15	(2) フグの毒化及び TTX の動態に関する知見
16	① 有毒フグ卵摂取によるフグの毒化について
17	② 生体フグへの TTX 投与実験について
18	③ フグ肝臓組織における TTX の取り込みについて
19	(3) TTX を産生すると報告された細菌についての知見
20	<b>III. 個別の毒性検査による管理</b>
21	1. HPLC-FL 法による TTX の測定
22	(1) HPLC-FL 法による検査
23	(2) HPLC-FL 法の妥当性
24	① マウス試験法と HPLC-FL 法の相関性
25	② 検出下限値について (添加回収試験)
26	2. 検査部位 (R4 部位) の妥当性
27	3. TTX 類縁体及び麻痺性貝毒
28	(1) TTX 類縁体
29	(2) 麻痺性貝毒
30	<b>IV. 食品健康影響評価</b>
31	1. 評価結果
32	(1) フグの毒化機構等
33	(2) 個別の毒性検査による管理
34	(3) まとめ
35	2. 安全性の確保のための管理体制
36	
37	<b>&lt;別添資料 1～6&gt; &lt;略語一覧&gt; &lt;参考文献&gt;</b>

## 1 I. 諮問の経緯及び提案の内容

### 2 1. 諮問の経緯

3 フグによる食中毒はフグの体内に含まれるテトロドトキシン（以下、  
4 「TTX」と言う。）が主な原因であり、日本においてはほぼ毎年、フグによ  
5 る食中毒が発生し、死亡例も報告されている。（別添資料 1 参照）

6 フグは、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第六条第 2 号に規定す  
7 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  
8 の疑いがある」食品にあたるため、「これを販売し（不特定又は多数の者に  
9 授与する販売以外の場合を含む。以下同じ。）、又は販売の用に供するた  
10 めに、採取し、製造し、輸入し、加工し、使用し、調理し、貯蔵し、若しく  
11 は陳列してはならない」とされている。一方、このような「有毒な、若し  
12 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  
13 品については、同号ただし書において、「ただし、人の健康を損なうおそれ  
14 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  
15 い」と規定されている。

16 「人の健康を損なうおそれがない場合」としては、食品衛生法施行規則  
17 （昭和 23 年厚生省令第 23 号）第一条第 1 号において「有毒な又は有害な  
18 物質であつても、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  
19 あつて、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  
20 認められる場合」とされている。フグについては、「フグの衛生確保につ  
21 いて」（昭和 58 年 12 月 2 日付け環乳第 59 号厚生省環境衛生局長通知）（以  
22 下、「第 59 号通知」と言う。）において、処理等により人の健康を損なう  
23 おそれがないと認められるフグの種類及び可食部位が定められている。第  
24 59 号通知の発出前と発出後を比較すると、フグの食中毒による死者数は  
25 減少傾向にある。（別添資料 1 参照）

26  
27 食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第二十四条第 1 項第 1 号によ  
28 り、関係大臣は、食品衛生法第六条第 2 号ただし書に規定する「人の健康  
29 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  
30 意見を聴かなければならないとされている。

31  
32 2005 年 1 月、食品安全委員会は、厚生労働省より食品安全基本法に基  
33 づき、「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  
34 部位」として「構造改革特別区域法（平成 14 年法律第 189 号）に基づき  
35 実施された第 5 次提案募集において佐賀県及び佐賀県嬉野町が提案した方  
36 法により養殖されるトラフグの肝」を追加することに係る食品健康影響評  
37 価について意見を求められ#154[1]、同年 8 月、「佐賀県及び佐賀県嬉野町

1 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  
2 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」以下、  
3 「2005 年評価書」と言う。#218[2]）を厚生労働省へ通知した。

4 トラフグの肝臓は第 59 号通知において不可食部位とされているが、  
5 2005 年、佐賀県及び佐賀県嬉野町（以下、「2005 年提案者」と言う。）の  
6 提案では、「TTX はトラフグ自らが体内で産生するのではなく、*Vibrio*  
7 *alginolyticus* (*V. alginolyticus*) 等の海中の細菌が産生し、食物連鎖によ  
8 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  
9 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、  
10 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  
11 である」と主張した。2005 年評価書[2]においては、「現在までの知見にお  
12 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  
13 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  
14 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  
15 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  
16 い難いため、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  
17 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  
18 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  
19 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た。

20 2016 年 2 月、佐賀県及び佐賀県内の特定の事業者（以下、「当該事業者」  
21 とする。）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  
22 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、管  
23 理された方法により陸上養殖されたトラフグの肝臓の販売等を行う提案  
24 書が提出された。

25 同年 4 月、食品安全委員会は厚生労働省より、食品衛生法第六条第 2 号  
26 ただし書の規定に基づき、同号ただし書に規定する「人の健康を損なうお  
27 それがない場合」として、「佐賀県及び佐賀県内事業者が提案する養殖から  
28 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」を追加  
29 することに係る食品健康影響評価について意見が求められた。

## 30 31 2. 今回の提案の内容

32 2016 年 4 月に佐賀県及び当該事業者により提出された「養殖トラフグ  
33 肝臓の可食化に関する提案書」（佐賀県及び株式会社萬坊#38[3]）（以下、  
34 「提案書」とする。）によると、今回の提案は、当該事業者が、当該事業者  
35 の管理下で陸上養殖したトラフグについて、個体ごとに肝臓の一部を高速  
36 液体クロマトグラフィー蛍光検出法（以下、「HPLC<sup>1</sup>-FL 法」とする。）に

---

<sup>1</sup> HPLC：高速液体クロマトグラフィー（High performance liquid

1 より TTX の検査を行い、検出下限値以下（以下、「社内合格基準以下」と  
2 言う。）の場合、当該事業者の定められた飲食店（以下「当該飲食店」と言  
3 う。）でのみ提供する方法により、陸上養殖トラフグの肝臓の販売等を一貫  
4 して行うというものである。提案の管理及び安全性確認の方法は以下のと  
5 おりとされている。

- 6
- 7 ・ 提案の陸上養殖に使用する水は、沖合約 50 m、水深約 10 m の海底  
8 に設置している架台に、6 本のパイプを取り付け、海水を採取して使  
9 用する。取水場所は海底から約 1 m のところにあり、6 本のパイプの  
10 先端はゴミ除けのカバーが取り付けられている。取水された海水は、  
11 浄水システムによりろ過・殺菌され、陸上の養殖場では当該海水を用  
12 いてトラフグを養殖する。
  - 13 ・ 検査対象物質は、当該事業者の管理下で提案された方法で陸上養殖さ  
14 れたトラフグの生の肝臓に含まれる TTX とする。
  - 15 ・ 検査部位は、「天然トラフグ肝臓の毒性分布」（食品衛生学雑誌 2013  
16 年 8 月号掲載（谷口他. 2013 #39）[4]）によると、トラフグの肝臓中  
17 の TTX は、R4 部位<sup>2</sup>（肝臓右側中央下寄りの部位）が有意に高い毒  
18 性を示すことから、陸上養殖トラフグの R4 部位を採取して検査を行  
19 う。
  - 20 ・ 検査手順としては、陸上養殖トラフグの肝臓の R4 部位を採取し、ホ  
21 モジナイズ（細片化）を行う。調製したホモジネートの一部を分取し、  
22 0.1%酢酸溶液を添加して加熱抽出し、抽出液から夾雑物を除去（クリ  
23 ーンアップ）した後にろ過したものを検査試料とする。HPLC-FL 法  
24 を用いて試料中の TTX を測定する。検査の結果が検出下限値以下（社  
25 内合格基準以下）の場合、食品として提供可とする。なお、検査に使  
26 用しなかった残りの R4 部位のホモジネートは、再検査用として 30  
27 日を限度として冷凍保管する。
  - 28 ・ 検査の結果、R4 部位が検出下限値以下であった陸上養殖トラフグの  
29 R4 部位以外の肝臓部位は、毒性検査合格品として当該飲食店へ移動

---

chromatography)。液体の移動相をポンプなどによって加圧してカラムを通過させ、分析種を固定相及び移動相との相互作用（吸着、分配、イオン交換、サイズ排除など）の差を利用して高性能に分離して検出する方法（JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則）。

<sup>2</sup> R4 部位：トラフグの肝臓を、滑らかな面を表側、消化管との隣接面を裏側、肝門脈との結合部を上部として左右に 2 分割及び上下の全長を均等に 5 分割して 10 部位（L1～L5、R1～R5）（別添資料 2 参照）に分け、各部位の相対毒量を求めて部位ごとに平均して比較した結果、肝臓右側中央下寄りの部位（R4 部位）が有意に高い毒性を示したと報告された（谷口 他、「天然トラフグ肝臓の毒性分布」食品衛生学雑誌 2013. Vol. 54, No.4, p. 277-281）。

1 させる。

- 2 ・ 当該飲食店では、天然のトラフグの提供は行わないこと、店舗内では
- 3 フグの解体を行わないこと、客に提供した肝臓を提供個体ごとに把握
- 4 できるよう使用記録を作成することを規則とする。
- 5 ・ 検査の評価フローは、以下のとおりとする。検査を行う日に取り上げ
- 6 た全ての肝臓が、検査の結果、社内合格基準以下の場合は当該飲食店
- 7 で提供を行い、同日に取り上げた肝臓のいずれかが社内合格基準を超
- 8 過した場合は、同日に取り上げた全ての肝臓の判定を保留とする（第
- 9 一段階）。社内合格基準を超過した全ての肝臓について、第一段階で
- 10 用いた R4 部位のホモジネートを用いて再検査を行う。再検査の結果、
- 11 社内合格基準以下である場合は同日に取り上げた全ての肝臓につい
- 12 て、当該飲食店で提供を行い、再度社内合格基準を超過した肝臓があ
- 13 った場合は、同日に取り上げた全ての肝臓を不合格として当該飲食店
- 14 での提供を停止する。（第二段階）。再度社内合格基準を超過した肝臓
- 15 については外部機関にて分析を行い、外部機関の分析によって、全て
- 16 の不合格の肝臓で TTX が不検出であった場合は、同日に取り上げた
- 17 肝臓について、不合格を取り消し、毒性検査合格品として当該飲食店
- 18 において肝臓を提供する（第三段階）。
- 19 ・ 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
- 20 回は、食品衛生法上の登録検査機関によるマウス検定法を実施する。
- 21 分析に使用する機器については精度の確認をはじめとしたバリデー
- 22 ションを実施する。また、分析試料の保存及び調製方法、分析機器の
- 23 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、
- 24 2 回は専門的な知識を有する外部機関の確認を受ける。具体的な実施
- 25 規定は今後作成される予定である。
- 26 ・ 検査を通過した肝臓と未検査の肝臓とが、混同しないよう、管理シス
- 27 テムを整備する計画があるとしている。
- 28 ・ 現時点では分析機器は導入していないが、機器を導入した際は、陸上
- 29 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
- 30 いて、専門的な知識を有する外部機関の確認を受ける。

## 31 32 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

### 33 1 2005 年の食品健康影響評価

34 2005 年の食品健康影響評価（以下、「2005 年評価」と言う。）では、「TTX  
35 は、トラフグ自らが体内で産生するのではなく、*V. alginolyticus* 等の海中  
36 の細菌が産生し、食物連鎖によりフグの体内に蓄積」される、また、網生け  
37 簀養殖及び陸上養殖を行い、5,000 個体のトラフグの毒性について調べた結

1 果、全ての養殖トラフグの肝臓について毒性が認められず、提案の養殖方  
2 法による無毒化が実証できたとする 2005 年提案者の主張について、かび  
3 毒・自然毒等専門調査会において、審議がなされ、以下のことが結論として  
4 取りまとめられた。

#### 6 (1) TTX の産生について

7 提案では、TTX は *V. alginolyticus* を始めとする細菌によって産生され  
8 るとしているが、2005 年時点においてその生合成機構の詳細は不明であ  
9 る。また、提案の中で *V. alginolyticus* を中心とした細菌については検討  
10 が行われているが、全ての毒素産生菌については調査が行われていない可  
11 能性がある。TTX を産生することで知られている *V. alginolyticus* 以外の  
12 細菌についても考慮すべきである。

#### 14 (2) 毒化機構について

15 フグの毒化機構については食物連鎖説が提唱されているが、細菌からど  
16 のようにフグに毒が移行するのかいまだ不明な点が多く、本提案の養殖ト  
17 ラフグの肝臓の安全性について健康影響評価を行うにあたり、フグの毒化  
18 機構が十分に解明されているとは言い難い。

#### 20 (3) 麻痺性貝毒について

21 麻痺性貝毒を蓄積するフグも存在するため、TTX だけでなく麻痺性貝  
22 毒についても考慮すべきである。

#### 24 (4) 提案された養殖方法の妥当性について

25 フグの毒化機構が解明されていない以上、どこを制御すべきかの判断  
26 が難しい。また、2005 年評価の対象となる養殖方法は陸上養殖であるが、  
27 2005 年提案者から提出された実験データは網生け簀養殖トラフグと陸上  
28 養殖トラフグの合計 5,000 個体の実験データであり、実験としての条件  
29 が揃っていない。また、養殖を予定している施設でのデータを含め、実験  
30 データが少ない。さらに、稚魚を得るための卵は天然トラフグを用いてい  
31 るが、卵は無毒ではなくトラフグの毒化に及ぼす影響が不明である。

#### 33 (5) 結論

34 2005 年評価時点の知見において、TTX によるトラフグの毒化機構は十  
35 分に明らかとは言えない。

36 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  
37 要因及び制御すべきポイントを特定することは不可能である。また、そ

1 のことに鑑み、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  
2 タが現時点（2005 年）では十分とは言い難いため、提案の養殖方法が恒常  
3 的にトラフグの肝臓の無毒化に有効であるかどうかの判断が難しい。

4 以上の問題により、現時点（2005 年）において、「提案された方法によ  
5 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  
6 いることを確認することはできない。

7 （2005 年評価書#218）[2]

## 8 9 **2 2005 年の食品健康影響評価以降の知見を中心としたフグの毒化機構** 10 **に係る知見**

### 11 **（1）マウス試験法による陸上養殖トラフグの肝臓の検査結果**

12 今回の諮問では、2001 年から 2015 年の 15 年間にわたるマウス試験法  
13 <sup>3</sup>による陸上養殖トラフグの試験結果が提出された。提案の養殖に用いられ  
14 る陸上養殖水槽において無毒とされた餌で養殖された 1 歳齢から 2 歳齢の  
15 陸上養殖トラフグ 5,999 個体（2005 年評価時に提出された陸上養殖トラ  
16 フグ 1,049 個体の試験結果に加え、新たに陸上養殖水槽において養殖され  
17 た合計 4,950 個体）の肝臓を採取し、TTX の毒性が調べられた。個体ごと  
18 に調製した試料の毒性は < 2 MU /g、4 個体の肝臓を合一して調製した試  
19 料（以下、「4 個体合一試料」と言う。）は < 8 MU /g としており、この 2  
20 MU /g 及び 8 MU /g という値は、試験で用いられた方法（9 ページに後述）  
21 では、検出下限値とされている。その結果、全 5,999 個体のうち、1,169 個  
22 体の試料の毒性は 2 MU /g 未満（< 2 MU /g）、4,830 個体から調製した  
23 合一試料の毒性は 8 MU /g 未満（< 8 MU /g）であった。また、2004 年、  
24 2009 年及び 2010 年には、陸上養殖トラフグ 139 個体の卵巣についてもマ  
25 ウス試験法により TTX の毒性が調べられている。その結果、14 個体の卵  
26 巣の毒性は < 2 MU /g、125 個体の卵巣の毒性は < 8 MU /g であった。さら  
27 に、2007 年度、2008 年度及び 2009 年度には、試験の一部について、液体  
28 クロマトグラフ(LC)と質量分析計(MS)を連結させた LC-MS 法を併用して、  
29 各年度の個体別試料又は 4 個体合一試料の各 1 検体についても毒性が調べ  
30 られた。この時の個体別試料及び 4 個体合一試料の LC-MS 法の検出感度  
31 は 0.1 MU /g 及び 0.4 MU /g とされ、いずれの試料からも TTX は検出さ  
32 れなかったとされている。

33 （厚生労働省・生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知

---

<sup>3</sup> マウスの腹腔内に投与した毒量とマウスの死亡時間に一定の関係があることを利用  
した検査法。

1 平成 28 年 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号：以下、「0830 回答」と  
2 言う。) #150 [5] (第 41 回-提 1 提案者提出資料 1. 「1981-2015 年度：毒  
3 性試験数 (萬坊陸上養殖ほか)」 #91) [6] (第 41 回-提 16. 大貫 他 2009  
4 #123) [7]

5 提出された文献によると、陸上養殖トラフグは主に魚粉から製造された  
6 市販の固形飼料を給餌して養殖しており、2006 年 11 月から 2007 年 2 月  
7 までの期間に養殖に使用された飼料について、マウス試験法を用いて毒性  
8 を調べたところ、養殖に用いられた固形飼料に毒性は認められなかった  
9 (均一化して調製、 $< 8 \text{ MU/g}$ ) とされている。(第 41 回-提 16. 大貫 他  
10 2009 #123) [7]

11 なお、従来実施されているフグ毒の検定では、食品衛生検査指針 理化学編 (2005) (厚生労働省監修. 社団法人 日本食品衛生協会. 「食品衛生検査指針 (理化学編)」 2005 #225) [8] で示されている「フグ毒マウス検定法 (参考法) 4」 (以下、「参考法」と言う。) が用いられるが、上述の試験で用いられたマウス試験法では、マウスに投与する試験液の作製方法が参考法から一部変更されている。

17 今回の諮問で提出された、2001 年から 2015 年の 15 年間にわたる陸上

---

4 フグ毒のマウス検定法 (参考法) : 食品衛生検査指針 (理化学編, 2005 #225) に掲載されている参考法におけるマウスに投与する試験液の作製方法の概要を以下に示す。採取した試料をはさみで細切後、乳鉢でよくすりつぶした磨砕物 10 g をビーカーに入れ、0.1% 酢酸溶液 25 ml を加え、沸騰浴中で時々攪拌しながら 10 分間加熱し、冷却後、減圧ろ過する。ろ紙上の残渣を 0.1% 酢酸溶液で反復洗浄し、ろ液と洗液を合わせて 50 ml に定容する。本抽出液 1 ml は原臓器、組織の 0.2 g に相当する。本抽出液 1 ml を生後 4 週の健康な ddY 系雄マウス (体重 19~21 g) の腹腔内に投与する。試料が皮、肝臓、卵巣の場合、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沈管に移し、遠心分離で抽出液を採る。遠沈管の残渣を 0.1 % 酢酸溶液で洗い、再度遠心分離を行って、抽出液と洗液を合わせて 50 ml に定容する。その際に、遠心分離の表層に分離したゼラチン様物質や脂質は抽出液に含めない。また、低毒力の試料の測定のために、洗液の量を減ずること及び抽出液を濃縮することは、精度の低下を招くので、好ましくないとされている。1 MU とは、体重 20 g のマウスを 30 分で死亡させる毒量と定義され、TTX  $0.22 \mu\text{g}$  に相当するとされている。得られた MU に希釈倍率を乗じ、原検体 1 g あたりの MU を求める。なお、本試験法では、 $5 \text{ MU/g}$  以下の検体を測定することはできないとされている。



1 養殖トラフグの毒性を調べた際に用いられたマウス試験法における試験  
2 液の作製方法の概要を以下に示す。

3 2001 年度から 2006 年度の試験に用いられた陸上養殖トラフグの肝臓  
4 試料は、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  
5 いた。個体別に肝臓の各 5 か所（門脈を上にした状態で上部、中心部、下  
6 部それぞれ 1 か所及び裏内部 2 か所）から均一に 2 g ずつ計 10 g の肝臓  
7 片をはさみで細切し、秤取及び採材した肝臓と等量（10 ml）の 0.1 % 酢  
8 酸水溶液とともに三角フラスコ（栓付）に入れて均一化し、10 分間加熱し  
9 たものを吸引ろ過して得たる液を試験液とした。各試験液 1 ml ずつを各  
10 2 匹の ddY 系雄マウス（体重 18～21 g）の腹腔内に投与し、30 分間経過  
11 観察をした結果、死亡した個体はなかったため、毒性を < 2 MU /g と判定  
12 した。2007 年度以降は、試料総数の 1 割については 2001 年度から 2006  
13 年度の試験と同様に個体別に試験したところ、毒性は全ての検体で < 2 MU  
14 /g であった。残りの検体については、4 個体分、計 40g（1 検体当たり 10g）  
15 の肝臓片を合一して十分に均一化した後、そこから 10 g を秤取して合一  
16 試料として試験したところ、合一試料の毒性は全て < 8 MU /g であった。

17 以上のように、提出された試験法の手順では、マウスに投与する試験液  
18 中に占める原臓器の割合が参考法よりも高く、また、抽出物のろ過残渣の  
19 洗浄操作が省略されているが、トラフグの肝臓からの有毒成分の抽出効率  
20 が参考法と同等であるかについて確認されたデータはない（厚生労働省・  
21 生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知 平成 28 年 11 月 8  
22 日付け 生食監発 1108 第 3 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提  
23 出について」#151[9]）、（厚生労働省・生活衛生局 生活衛生・食品安全  
24 部監視安全課長通知 平成 28 年 11 月 30 日付け 生食監発 1130 第 3 号  
25 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」#152[10]）。

26 また、2005 年評価では、養殖トラフグの稚魚を得るための卵は天然トラ  
27 フグを親魚とした種苗であったが、今回の諮問で提出された種苗生産履歴  
28 書（2014 年（平成 26 年）出荷分）によると、陸上養殖トラフグの稚魚は、  
29 養殖場で成育したトラフグを親魚として自家採卵を行った種苗であった  
30 とされている（第 41 回-提 17. 種苗生産履歴書#124） [11]。

## 31 32 (2) フグの毒化及び TTX の動態に関する知見

### 33 ①有毒フグ卵摂取によるフグの毒化について

34 食物連鎖によってフグが毒化することを示唆する 2005 年評価以降の新  
35 たな知見として、2012 年から 2015 年に捕獲・採集した天然のクサフグの  
36 消化管内から見つかった卵から TTX が検出された。これらの卵の遺伝子  
37 がクサフグとは別種のフグであるヒガンフグと高い相同性を示したこと

1 から、クサフグが食物連鎖によって毒化することを示唆するとした Itoi ら  
2 の研究報告が提出された。

3 このうち 2015 年に採集したクサフグについて、消化管内からヒガンフ  
4 グの卵が確認されたとする卵摂食群（18 個体）と、ヒガンフグの卵が確認  
5 できなかったとする卵非摂食群（29 個体）において、LC-MS/MS（液体ク  
6 ロマトグラフタンデム質量分析計）法で測定した消化管内容物中の TTX 総  
7 量は、卵摂食群で  $4,139 \pm 6,023$  ng、卵非摂食群で  $216 \pm 374$  ng であ  
8 った。卵摂食群のクサフグ個体の皮、肝臓、生殖器官、腸及びその他の組  
9 織（whole-body toxicity）を LC-MS/MS 法で測定した TTX 総量（1 MU  
10 は  $0.22 \mu\text{g}$  TTX 相当量として換算）は、雌個体群が  $2,803 \pm 10,361$  MU  
11 ( $617 \pm 2,279 \mu\text{g}$ )、雄個体群が  $1,901 \pm 1,856$  MU ( $418 \pm 408 \mu\text{g}$ ) であ  
12 った。なお、卵非摂食群の個体の TTX 総量のデータは記載されていない。  
13 （第 39 回-36. Itoi et al. 2015 #36, #36-2 (suppl.)） [12]

14 また、この Itoi らの研究では、トラフグ稚魚に TTX を含有する毒化し  
15 た天然のトラフグの卵（以下、「有毒フグ卵」と言う。TTX 量不明、toxic  
16 egg とのみ記載）を与え飼育することにより、毒化の有無を確認する実験  
17 も行われている。無毒（無毒の定義については記載されていない。）とさ  
18 れた養殖トラフグの稚魚 52 個体（体重  $3.1 \sim 49.6$  g、平均±標準偏差： $19.0$   
19  $\pm 12.7$  g）に対し、市販の無毒とされた飼料と共に有毒フグ卵を与え、 $20^\circ\text{C}$   
20 の循環式水槽で飼育した。有毒フグ卵を与えて 2 日以上経過後（more than  
21 two days：予備的試験として、有毒卵を与えて飼育後 2、4、9 日の時点で  
22 各稚魚の個体全体の毒量を比較したところ、有意な差は認められなかった  
23 としており、トラフグでは有毒フグ卵を摂取後の体内の毒レベルがしばら  
24 くの間維持されていることが示唆されたとしている。））、稚魚から肝臓、  
25 皮膚、筋肉などを採取し、フグ毒を抽出後、LC-MS/MS 法により TTX 量  
26 を測定した。その結果、稚魚の体重に依存して毒化が認められることが示  
27 唆され、31 個体（31 個体 / 52 個体、31 個体の体重の範囲： $3.1 \sim 49.6$  g、  
28 体重の平均±標準偏差： $21.9 \pm 12.8$  g）から TTX が検出され、毒化が認め  
29 られたが、残りの 21 個体（21 個体 / 52 個体、21 個体の体重の範囲： $3.1 \sim$   
30  $42.0$  g、体重の平均±標準偏差： $14.7 \pm 11.1$  g）からは TTX が検出されず、  
31 毒化が認められなかった。有毒フグ卵を与えられた稚魚体内における TTX  
32 の分布については、皮では  $47.5 \pm 38.1 \mu\text{g/g}$ 、肝臓では  $31.8 \pm 31.6 \mu\text{g/g}$ 、  
33 消化管（腸）では  $19.9 \pm 29.0 \mu\text{g/g}$  の TTX が検出された。なお、市販の固  
34 形飼料のみを与えた対照群 38 個体（体重  $3.1 \sim 57.9$  g、平均±標準偏差：  
35  $15.6 \pm 15.6$  g）からは TTX は検出されず、毒化は認められなかった。（第  
36 39 回-36. Itoi et al. 2015 #36, #36-2 (suppl.)） [12]

37

## ②生体フグへの TTX 投与実験について

生体フグへの TTX 給与実験として、飼料に TTX を添加して養殖トラフグ（孵化仔魚から飼育した養殖トラフグ当歳魚<sup>5</sup>（体重 61.2 ±8.6 g））50 個体ずつに給与した結果が報告されており、その詳細について、以下に示す。

UV 照射ろ過海水を満たした屋内の容積 1,000 L の掛け流し水槽において、各濃度の TTX（ナシフグ由来の TTX 粗抽出液を 0.1、0.2 又は 1.0 MU / g 体重/日 相当量、並びに純度 95%の精製 TTX を 0.2 MU / g 体重/日 相当量）を含むように添加、調製した飼料を養殖トラフグに給与した。TTX を添加しない飼料を給与した群を対照群とした。各濃度の飼料を 60 日間給与し、15 日ごとに各投与群 5～10 個体の TTX の毒性を調べた。養殖トラフグの各部位（本試験では、毒性試験を行う採材部位として、筋肉、皮、肝臓及びその他の内臓として、腑分けしている。）の毒性を参考法に準じた方法で測定したところ、以下の a ～e のような結果となった。この結果から、低濃度の TTX 添加飼料給与群では主として皮に少量の TTX が、高濃度の TTX 添加飼料給与群では肝臓及び卵巣に多量の TTX が蓄積されることが示唆された。

a. TTX 粗抽出液を 0.1 MU / g 体重/日 相当量添加した飼料給与群では、30 日目まではいずれの部位においても TTX の蓄積が認められず（<2 MU / g）、45 日目以降では皮の毒性は <2.0 ～2.4 MU / g であった。

b. TTX 粗抽出液を 0.2 MU / g 体重/日 相当量添加した飼料給与群では、30 日目以降は皮及び肝臓の毒性は <2.0 ～4.2 MU / g、60 日目ではその他の内臓の毒性は <2.0 ～4.2 MU / g であった。

c. 純度 95%の精製 TTX を 0.2 MU / g 体重/日 相当量添加した飼料給与群では、30 日目以降に皮及び肝臓の <2.0 ～6.7 MU / g の TTX が検出された。

d. TTX 粗抽出液を 1.0 MU / g 体重/日 相当量添加した飼料給与群では、少なくとも 15 日目以降では、全ての部位で飼育期間を通じて TTX の蓄積が認められた。特に肝臓では時間の経過とともに蓄積量が増え、60 日目には 20 ～40 MU / g の TTX が検出された。

e. 対照群では、毒性は確認されなかった（いずれの部位も <2 MU / g）。（第 39 回-8. 本田 他 2005 #8） [13]

別の研究では、トラフグ及びマフグを人工的に掛け合わせた *Torama* に 1 個体あたり～400 MU の TTX を添加した飼料ホモジネートを単回強制経

<sup>5</sup> 当歳魚：受精後 1 年目までの魚の呼び方

1 口投与 (oral gavage) し、参考法により継時的に TTX の体内分布を測定し  
2 た結果が報告されている。消化管の TTX 量 (MU/g 組織) は投与後速やかに  
3 減少した。肝臓の TTX 量は投与 1 時間後から 24 時間後まで増加し (24  
4 時間後に最大 6.1 MU/g)、投与 24 時間後から 120 時間後まで次第に減少  
5 した。皮からは投与後 72 時間目で 1.4 MU/g の TTX が検出された。筋肉  
6 からは TTX が検出されなかった。この結果から、フグでは、TTX を含む  
7 飼料を摂取した後、まず肝臓に TTX が蓄積し、その後血液を介して皮へ移  
8 行することが示唆された。また、筋肉内に TTX を単回投与した実験群でも  
9 同様の傾向が認められた。(第 39 回-15. Wang et al. 2012 #15) [14]

10  
11 その他の研究として、TTX を含む飼料の 40 MU (8.8 µg) /20 g 体重相  
12 当量は無毒とされた養殖トラフグ (6 か月齢及び 15 か月齢) に強制経口  
13 投与 (oral gavage) した結果が報告されている。TTX 投与後の養殖トラフ  
14 グの皮及び肝臓中の TTX 量は、LC-MS 法により測定した。TTX 投与後 24  
15 時間では、6 か月齢の養殖トラフグでは皮及び肝臓から TTX 量として 0.37  
16 ~ 0.79 µg/g 検出され、これは消化管における TTX 量の 0.39 µg/g とほぼ  
17 同じレベルであった。投与した TTX 量の 31% が養殖トラフグの体内に存  
18 在し、そのうちの 71% が皮に存在した。15 か月齢の養殖トラフグでは肝臓  
19 から検出された TTX 量が有意に高く、3.3 µg/g であった。投与した TTX  
20 量の 84% が養殖トラフグの体内に存在し、そのうちの 83% が肝臓に存在し  
21 ていた。この結果から、肝臓が未発達な若いトラフグでは、主に皮に TTX  
22 が移行するが、成長して肝臓が発達すると、大部分の TTX は肝臓に蓄積す  
23 ることが示唆された。(第 39 回-16. Tatsuno et al. 2013 #16) [15]

24  
25 フグ体内の TTX の動態に関する研究において、0.25 mg/kg 体重の TTX  
26 をトラフグの肝静脈、門脈又は消化管に投与してから、投与 300 分後まで  
27 の血中 TTX 濃度を継時的に測定するとともに、投与 300 分後に肝臓の TTX  
28 含量を測定した。各経路の投与後の肝臓中に、肝静脈投与では投与量の 84  
29 ±6%、門脈投与では 70±9%、消化管投与では 49±17% の TTX が検出さ  
30 れた。投与 300 分後までの血中 TTX 濃度の結果も合わせて、著者らは、  
31 TTX は消化管から循環系に入り、300 分以内に肝臓に蓄積することが示唆  
32 されたとした (第 39 回-10. Matsumoto et al. 2008 #10) [16]。

### 33 ③フグ肝臓組織における TTX の取り込みについて

34 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、フ  
35 グ毒保有魚であるトラフグ (8 個体)、ヒガンフグ (6 個体) の肝臓組織  
36 切片を、対照としてフグ毒非保有魚であるイシダイ (3 検体)、アイナメ  
37

1 (2 検体)、ウマヅラハギ (6 検体) の肝臓組織切片を用い、TTX を添加  
2 した培養液 (25  $\mu\text{g}$  TTX/ml) 中で培養し、組織中の TTX 量を継時的に  
3 HPLC-FL 法で測定した報告がある。以下に詳細を示す。

4 肝臓組織切片は、2 mm 厚  $\times$  10 mm 径の丸型スライスとした。実験に  
5 使用した肝臓組織切片について、実験前に TTX 量を測定したところ、い  
6 ずれも TTX は検出されなかった (0.3  $\mu\text{g}$  未満)。12 穴の培養プレートに  
7 肝臓切片を入れ、ヒガンフグの卵巣から抽出した TTX を添加した培養液  
8 Minimum Essential Medium (MEM) 中で 20°C で培養し、肝臓組織切片  
9 中の TTX 量を継時的に確認した。その結果、トラフグでは、25  $\mu\text{g}$  TTX  
10 /ml を培養液に添加培養後 1 時間では TTX は検出されなかったが、2 時間  
11 では 3.9  $\mu\text{g}$  /g 組織、24 時間では 12.1  $\mu\text{g}$  /g 組織、48 時間では 15  $\mu\text{g}$  /g  
12 組織の TTX が検出された。48 時間の時点で、一度培養液を交換し、一方  
13 には引き続き 25  $\mu\text{g}$  TTX/ml の培養液を、もう一方には TTX を含まない  
14 培養液を加えて 96 時間まで培養したところ、TTX 添加群では 18.9  $\mu\text{g}$  /g  
15 組織の TTX が検出され、TTX 非添加群においても、12.9  $\mu\text{g}$  /g 組織の TTX  
16 が検出された。ヒガンフグでもトラフグと同様の傾向が認められたが、ヒ  
17 ガンフグの方がより高濃度の TTX が検出された (ヒガンフグの肝臓組織  
18 切片に 25  $\mu\text{g}$  TTX/ml を添加培養後 48 時間で 36.4  $\mu\text{g}$  /g 組織、96 時間で  
19 37.0  $\mu\text{g}$  /g 組織の TTX が検出された)。対照のフグ毒非保有魚の肝臓組  
20 織切片に 25  $\mu\text{g}$  TTX/ml を添加培養したところ、トラフグよりも早く、0.5  
21 時間の時点で TTX が検出された (それぞれ 3.9  $\mu\text{g}$  /g 組織、4.3  $\mu\text{g}$  /g 組  
22 織、2.7  $\mu\text{g}$  /g 組織) が、それ以降はわずかな変動が観察される程度で、48  
23 時間の時点においても、0.5 時間の時点の TTX 量と有意な変化は認められ  
24 なかった。これらの結果から、TTX は *in vitro* で細胞膜を透過し、フグの  
25 肝臓組織に蓄積されることが示唆された。(第 39 回-6. Nagashima et al.  
26 2003 #6) [17]。

### 27 28 (3) TTX を産生すると報告された細菌についての知見

29 TTX を産生すると報告された細菌については、1983 年に沖縄で採集さ  
30 れたカニ (スベスベマンジュウガニ及びヒメイワオウギガニ)、サザエの内  
31 臓及び中腸腺から分離された *Pseudomonas* 属細菌 (Kotaki et al. 1985  
32 #206) [18] の培養から HPLC-FL 法により TTX 及びアンヒドロテトロド  
33 トキシン (anhydroTTX。毒性はわずかであるが、容易に TTX に変換する  
34 とされている。) が検出されたことが、1986 年に初めて報告された  
35 (Yasumoto et al. 1986 #205) [19]。その後も TTX を産生すると報告さ  
36 れた細菌は、ヒトデのような TTX 保有生物の腸内容物中 (Narita et al.  
37 1987 #207) [20] 及び海底堆積物 (Kogure et al. 1988 #210) [21] 等にも

1 広く分布していることが報告されている。また、フグからも、別添資料 2  
2 に示したように、TTX を産生すると報告された多様な細菌が分離されたと  
3 している (Yu et al. 2011 #204) [22]。

4  
5 また、市販の標準菌株 (ATCC: American Type Culture Collection 及び  
6 NCMB: National Collection of Marine Bacteria) の中で、代表的な海洋細  
7 菌について、TTX 産生能の有無を HPLC 法により確認したところ、*V.*  
8 *alginolyticus*、*V. parahaemolyticus*、*V. anguillarum*、*Photobacterium*  
9 *phosphoreum* において TTX の類縁体である anhydroTTX の産生を示す結  
10 果が得られた。*V. alginolyticus* ATCC 17749 株については、同株を 24 時  
11 間培養した培養液 400 ml から調製した粗毒抽出液を河端らの 1978 年の  
12 マウス試験法 (第 41 回-厚 3. 河端 他 1981#47[23]) に基づいてマウスに  
13 腹腔内投与した結果、マウス 5 匹が死亡した。なお、試験に供した  
14 *Alteromonas* 属菌並びに大腸菌 *E. coli* からは、TTX 及び anhydroTTX は  
15 検出されなかった。(Simidu et al. 1987 #209) [24]

16 また、TTX を産生すると報告された細菌を用いた養殖フグの毒化を試み  
17 た実験も行われている。

18 クサフグの腸から分離された *Shewanella putrefaciens* (*S.*  
19 *putrefaciens*) について、TTX 産生能の有無を HPLC-FL 法により確認し  
20 たところ、TTX 及び anhydroTTX の産生を示す結果が得られた (Matsui  
21 et al. 1989 #217)。このため、無毒であるとされた養殖のトラフグ及びク  
22 サフグに同菌株 *S. putrefaciens* を市販の飼料に添加・混合し、経口投与す  
23 ることによりフグの毒化の有無を調査した。*S. putrefaciens* を添加した飼  
24 料を 1 か月間投与したトラフグ 10 個体の肝臓について、HPLC-FL 法によ  
25 り毒化の有無を確認したところ、1 個体のみ、肝臓全体の毒量として 1.4  
26 MU 相当の TTX と考えられるピークが検出された。この 1 個体を除き、  
27 皮、腸及び肝臓を含む全ての検体で TTX 及び TTX 類縁体は検出されな  
28 かった。(Matsui et al. 1990 #212) [25]

29 2005 年評価後、今回の諮問において、TTX を産生すると報告された細  
30 菌に関する文献として、Chau らの 2011 年及び 2013 年の論文が提出され  
31 ている。これによると、2013 年の時点において、TTX を産生すると報告  
32 された細菌として 23 の細菌属に関する報告があるとしている。TTX 保有  
33 生物等から分離されている多様な細菌 (*Vibrio* 属、*Bacillus* 属、  
34 *Pseudomonas* 属等) が TTX を産生するとされているものの、TTX 保有生  
35 物から高レベルの TTX が検出されることと比較し、研究室で培養された  
36 TTX を産生すると報告された細菌から検出される TTX の量は、通常はか  
37 なり少ないとされている。また、本文献の公表された 2013 年現時点にお

1 いて TTX 生合成機構及び関連する遺伝子の特定には至っていないとして  
2 いる。(第 39 回-32. Chau et al. 2011 #32 [26], 第 39 回-33. Chau et al.  
3 2013 #33) [27], 「0830 回答」#150 [5])

4

### 5 Ⅲ. 個別の毒性検査による管理

#### 6 1. HPLC-FL 法による TTX の測定

##### 7 (1) HPLC-FL 法による検査

8 HPLC-FL 法は、フグやフグ毒を保有するその他の生物に存在する TTX  
9 の類縁体を精度よく分離、定量することができるとされている(社団法人  
10 日本食品衛生協会 2005 #225、Yasumoto, Michisita. 1985 #30、Yotsu et  
11 al. 1989 #224) [3, 8, 28, 29]。

12 当該事業者は、陸上養殖トラフグの肝臓を用いた具体的な検査の作業手  
13 順、精度管理の実施規定及び社内合格基準等については、今回の提案が認  
14 められた後、分析機器を導入し、予備的に分析を行った後に策定する予定  
15 としている(佐賀県及び株式会社萬坊 2016 #38[3]、「0830 回答」#150 [5])。  
16 また、HPLC-FL 法に使用する TTX の標準品については、最近まで認証標  
17 準物質<sup>6</sup>は開発されておらず、わが国で入手することは困難であった。最近、  
18 海外で認証標準物質が開発されたが、世界的に広く普及しているわけでは  
19 ない。

20 今までに当該事業者らが実施した HPLC-FL 法で TTX を定量するため  
21 の検討試験における試料の調製法の概要を以下に記す。陸上養殖トラフグ  
22 各個体の肝臓の一部分(特定の部位ではない)を採取し、ホモジナイズ後、  
23 10 g を秤量し、20 ml の 0.1%酢酸溶液を加え、加熱抽出後に同溶液で定容  
24 し、遠心分離を行い、上層の油分を除去後、肝臓抽出液を採取する(以下、  
25 「肝臓抽出試料溶液」と言う。抽出比は 3)。C18 ミニカラムを用いて肝臓  
26 抽出試料溶液をクリーンアップし、ろ過したろ液(以下、「試料溶液」と言  
27 う。)を試料として HPLC-FL 法(株式会社萬坊 2011#37) [30]により、TTX  
28 を定量した。

29 陸上養殖トラフグ 9 個体の肝臓から調製した試料溶液を HPLC-FL 法で  
30 分析した結果、TTX 検出位置にピークはみられなかった(株式会社萬  
31 坊,2011 #37、株式会社萬坊#97) [30, 31]。

32

##### 33 (2) HPLC-FL 法の妥当性

34 当該事業者が使用している HPLC-FL 法について、フグの有毒部

---

<sup>6</sup> 十分均質かつ安定で、計量学的に妥当な手順によって値付けされ、認証値やその不  
確かさ、並びに計量学的トレーサビリティを記載した認証書が付随した標準物質。

<sup>7</sup> 食品衛生検査指針、理化学編 2005 年、フグ毒マウス検定法(参考法)の試料の  
調製方法が記載のとおり一部変更されているマウスを用いた毒性試験法。

1 位の TTX を測定し、食品の安全性を確認する試験法としての妥当性は確認  
2 されていない。しかし、HPLC-FL 法とマウス試験法<sup>7</sup>との相関性、及び個  
3 別検査の検出下限値について検討されているので、その結果を以下に示す。

4  
5 ① マウス試験法と HPLC-FL 法の相関性

6 天然トラフグの肝臓 23 検体（部位不明）について、以下の a 及び b の  
7 試験が実施された。ただし、マウス試験法で毒力が検出されなかった 7 検  
8 体の肝臓については、HPLC-FL 法による TTX の定量は実施されなかつ  
9 た。

10 a. マウス試験法：(1) の方法で調製された肝臓抽出試料溶液をマウス  
11 に腹腔内注射し、参考法に基づいて毒力を算出する。

12 b. HPLC-FL 法：(1) の方法で調製された試料溶液中の TTX を HPLC-  
13 FL 法で定量する。

14 マウス試験法で毒性が検出された 16 検体の毒力と、HPLC-FL 法の定  
15 量値を、1MU が 0.22 µg の TTX に相当する<sup>8</sup>として MU/g に換算した値  
16 はほぼ一致し、相関関数が原点を通ると仮定したときの相関係数は 0.994  
17 であった。この結果の中で、1 検体について、マウス試験法では 3.8MU/g  
18 が検出されたが、HPLC-FL 法で定量したところ、<1.3MU/g との結果が  
19 得られている。（株式会社萬坊, 2011 #92） [32]

20  
21 ② 検出下限値について（添加回収試験）

22 社内合格基準値である検出下限値は、分析機器導入後に設定予定であり、  
23 現時点では設定していない。今までに、検討された標準添加法により、  
24 HPLC-FL 法における陸上養殖トラフグ肝臓の TTX 分析下限値の結果を  
25 以下に示す。

26 TTX 標準品（詳細不明）を 0.1%酢酸溶液で希釈し、TTX 毒力が 0.972  
27 ~3.89 MU/ml である 3 点の TTX 標準溶液を用いて検量線を作成した結  
28 果、相関係数は 0.999、定量下限は 0.08 MU/ml (S (Signal)/N (Noise)=10)、  
29 検出下限は 0.03 MU/ml (S/N=3) であった。陸上養殖トラフグの肝臓 10  
30 g から試料溶液約 30 ml（抽出比 3）を調製し、TTX 標準品を添加して、  
31 0.389~2.37 MU/ml（肝臓中 TTX1.17~7.02 MU/g に相当）の範囲で TTX  
32 を含む 4 点の試料を添加回収試験に用いた。最小用量 0.389 MU/ml（肝

<sup>7</sup> 食品衛生検査指針、理化学編 2005 年、フグ毒マウス検定法（参考法）の試料の調製方法が記載のとおり一部変更されているマウスを用いた毒性試験法。

<sup>8</sup> 公益社団法人 日本食品衛生協会．食品衛生検査指針 理化学編．厚生労働省監修 2005 年及び食品衛生検査指針Ⅱ 厚生省環境衛生局監修 1978 年：232-240 に

「MU と毒量（µg）を関係づける変換係数（CF value）は、0.22 µg/MU である」との記載あり。



1 臓中 TTX 1.17 MU/g に相当) の TTX を添加した試料からも TTX の検出  
2 は可能であった。(株式会社萬坊, 2011 #37、株式会社萬坊, 2011 #94) [30,  
3 33]

## 5 2. 検査部位 (R4 部位) の妥当性

6 提案では、陸上養殖トラフグの肝臓の検査において、R4 部位を採取して  
7 検査を実施し、その毒力が検出限界以下を社内合格基準とするとされてい  
8 る。その根拠として、以下の①、②の 2 点が示されている。

9  
10 ① 2012 年に日本近海で漁獲された天然トラフグ 58 個体の肝臓 (冷蔵  
11 した肝臓。以下、「生肝臓」と言う。) を試料とし、生肝臓を左右 5 部位  
12 ずつ計 10 部位 (L1~L5、R1~R5) に分け、それぞれの部位の毒力をマ  
13 ウス試験法により調べ、比較した。生肝臓 58 検体のうち 38 検体につ  
14 いて、10 部位全ての毒力を調べた結果、16 検体は 10 部位全てに毒力  
15 が認められ、22 検体は全ての部位で毒力が未検出であった。残りの 20  
16 検体のうち、4 検体は一部の部位に毒力が認められ、16 検体は 1 部位  
17 のみのマウス試験法に基づき無毒とした。10 部位すべてをマウス試験  
18 法により調べた 42 検体について、肝臓全体の総毒力を肝臓の重量 (g)  
19 で割って求めた最高平均毒力は 709 MU / g であり、100~999 MU / g  
20 が 10 個体、10~99 MU / g が 5 検体、10 MU / g 未満が 27 検体であっ  
21 た。このうち、肝臓の 10 部位全てに毒力が認められた 16 検体のデー  
22 タを用いて、各部位の相対毒力を比較すると、肝臓の R4 部位の毒力が  
23 他の部位に比べて有意に高い値となった (別添資料 3、4 参照)。(谷口  
24 他. 2013 #39) [4]

25 ② ①で得られた、42 個体の天然トラフグの肝臓のデータ (別添資料 5  
26 参照) を用いてトービット回帰モデルを用いて解析した結果、毒力の  
27 分布については R4 部位の相対毒力が高いことが確認された。更に、R4  
28 部位の毒力から肝臓全体の毒力を推計した。R4 の毒力が検出限界以下  
29 (注: 当該事業者らは検出限界値を 3 MU/g としている) の試料につい  
30 て、その毒力が 0~3 MU/g の間をとる一様乱数と仮定すると、肝臓全  
31 体の最大毒力が 10 MU/g 以下であることが確率 99%で保障される R4  
32 部位の毒力の中央値は、6.23 MU/g、最小値が 5.91 MU/g 最大値が 6.50  
33 MU/g と推計された。さらに、R4 部位の毒力が検出限界 (3.85 MU)  
34 以下であれば、99.9999%の確率で個体の最大毒力が 10 MU / g 以下と  
35 なることを示しているとされた。(株式会社萬坊, 2016、#38、佐賀県に  
36 おけるトラフグ肝の可食化に関する第三者評価委員会資料, 2016 #40)  
37 [3, 34]

1  
2       このように、天然トラフグ 42 個体の肝臓を用いた解析の結果、トラフグ  
3 肝臓の R4 部位が、相対的な毒性が統計的に有意に高いとの結果が得られて  
4 いる（谷口 他. 2013 #39） [4]。しかし、R4 部位の毒性が高いことを示す解  
5 剖学的及び組織化学的なデータは報告されておらず（「0830 回答」#150[5]）、  
6 前述の II. で示したように、フグの TTX 蓄積の動態も十分に明らかになっ  
7 ていない。

8       トラフグ 6 個体の肝臓の毒性分布について調べられた別の報告がある。  
9 肝臓重量 161-189 g の 3 個体のトラフグの肝臓内で毒の分布変動がみられ  
10 たが、生物学的測定法を用いていることを考慮すると測定誤差の範囲内と  
11 考えられた。しかし、肝臓重量 246-827 g の 3 個体のトラフグ肝臓では、  
12 （注：上記①のトラフグの部位分けとは異なる分け方により試料を採取し  
13 ている。）下端部では < 3 MU/g であるのに対し、他の部分では、159~170  
14 MU/g と、変動差が大きかったとしている。（淵. 1998 #99） [35]。

### 15 16 3. TTX 類縁体及び麻痺性貝毒

#### 17 （1）TTX 類縁体

18       フグの主な毒は TTX であるが、トラフグの肝臓等から、HPLC-FL 法を  
19 用いた解析により、4-*epi*-TTX、アンヒドロテトロドトキシシン（4,9-anhydro  
20 TTX）、テトロドン酸等の類縁体もわずかに検出される。TTX は、中性水溶  
21 液中で長時間加熱すると徐々に構造が変化し、4-*epi* TTX、4,9-anhydro  
22 TTX を経て毒性の極めて低いテトロドン酸となることが報告されている  
23 （淵 他. 1988 #31、長島裕二. 2015 #5、Nakamura, Yasumoto. 1985 #70）  
24 [36-38]。

25       *Takifugu* 属のフグでは、ヒガンフグ、コモンフグ、クサフグから、4-*epi*  
26 TTX、4,9-anhydro TTX、6-*epi* TTX、4-Cys TTX、5-deoxy TTX、6-deoxy  
27 TTX、11-deoxy TTX、5, 11-dideoxy TTX、6, 11-dideoxy TTX、5,6,11-  
28 trideoxy TTX、11-nor TTX-6(*S*)-ol、11-nor TTX-6(*R*)-ol、11-oxo TTX と  
29 いった類縁体が検出された報告がある。

30       マウスを用いた毒性試験の結果から、TTX の毒性が最も強いと考えられ  
31 ること、TTX より量は少ないが、トラフグ属で比較的多く検出される類縁  
32 体である 4,9-anhydro TTX、6, 11-dideoxy TTX 及び 5,6,11-trideoxy TTX  
33 は類縁体の中でも毒性が弱いため、これら TTX 類縁体が、全体の毒力に寄  
34 与する割合は極めて低いとされている。報告されている類縁体の毒性を別  
35 添資料 6 に示す（株式会社萬坊, 2016 #101、Yasumoto, Michishita. 1985  
36 #30、淵 他. 1988 #31） [28, 36, 39]。

37

1 11-oxo TTX は TTX と比較し、*in vitro* 試験により Na チャンネル阻害作  
2 用が同等～5 倍高いことが報告されており、類縁体のなかでも毒性が高い  
3 ことが示唆されている (Wu et al. 1996 #117, Saruhashi et al. 2016 #201)  
4 [40, 41]。

5 長崎県、熊本県等では、小型巻貝のキンシバイによる TTX 中毒が報告さ  
6 れている。(厚生労働省「平成 20 年 (2008 年) 及び平成 19 年 (2007 年)  
7 食中毒発生事例」) 長崎県で採集したキンシバイを用いて、LC/MS 法により  
8 有毒成分を調べた結果、TTX 及び 11-oxo TTX が検出された。マウス毒性  
9 試験によるキンシバイの総毒力は 6～7 割を TTX が占めており、マウスに  
10 対する 11-oxo TTX の比毒性を TTX の 2 倍と仮定すると、残りの毒力が説  
11 明できるとする報告がある (谷山 他. 2009 #203) [42]。

12 コモンフグの卵巣で 11-oxo TTX がごく微量検出されたが、ヒガンフグで  
13 は、11-oxo TTX は卵巣からは検出されなかったとの報告がある (Kudo et  
14 al. 2014 #104) [43]。また、ヒガンフグの肝臓及び卵巣では、11-oxo TTX  
15 は検出限界未満であったとの報告がある (Yotsu-Yamashita et al. 2013  
16 #105) [44]。

## 17 (2) 麻痺性貝毒

18 麻痺性貝毒 (PSP)<sup>9</sup>は、主に有毒渦鞭毛藻が産生する神経毒で、主なも  
19 のに PSP (サキシトキシン; STX) がある。

20 トラフグ属では、日本沿岸部で採取されたヒガンフグ、コモンフグ、ナシ  
21 フグから STX が検出されている。ヒガンフグからは、STX 並びに  
22 decarbamoyl STX (dc STX) が検出された報告がある (Jang, Yotsu-  
23 Yamashita. 2006 #103[45])。コモンフグ及びナシフグの肝臓から TTX、  
24 STX 及び未知の毒が検出されているが、毒力を比較すると、TTX の毒力は  
25 STX 又は未知の毒力の数百倍であったとの報告がある (Nakamura et al.  
26 1984 #120) [46]。

27 肝臓組織切片を用いて、*in vitro* で TTX 又は PSP の蓄積が調べられた。  
28 0.13 mM の TTX 又は 0.13 mM の PSP を含む培養液中でインキュベート  
29 すると、12 時間後に、 $21.5 \pm 7.3 \mu\text{g/g}$  肝臓重量、48 時間後に  $55.3 \pm 8.2$   
30  $\mu\text{g/g}$  肝臓重量の TTX が検出された。PSP は 12 時間後に  $6.3 \pm 0.9 \mu\text{g/g}$   
31 肝臓重量で検出され、飽和状態に達した。著者らは、トラフグの肝臓では  
32 TTX を特異的に蓄積するものと考察している (Matsumoto et al. 2005 #7)  
33 [47]。  
34  
35

36 <sup>9</sup> 日本における麻痺性貝毒の規制値は 4 MU/g が設定されている。WHO/FAO で  
は、0.8 mg STX 等量 (eq) / kg (4 MU/g に相当) が設定されている。

## 1 IV. 食品健康影響評価

### 2 1. 評価結果

3 佐賀県内の特定の事業者（以下、「当該事業者」と言う。）の管理下で陸  
4 上養殖されたトラフグについて、当該事業者が個体ごとに肝臓の一部を  
5 HPLC-FL 法により検査を行い、検出下限値以下の場合、当該事業者の定  
6 められた飲食店（以下「当該飲食店」と言う。）でのみ提供する方法により、  
7 陸上養殖トラフグの肝臓の販売等を行うことが提案された。

8 トラフグの肝臓は、不可食部位として、食品衛生法（昭和 22 年法律第  
9 233 号）第六条第 2 号に基づき、流通販売が禁止されている。しかしなが  
10 ら、フグの不可食部位の喫食による食中毒が散発的に発生しており、死亡  
11 する事例が現在でも報告されている。

#### 12 (1) フグの毒化機構等

13 2005 年の食品健康影響評価（以下、「2005 年評価」と言う。）では、テ  
14 トロドトキシシン（以下、「TTX」と言う。）はトラフグ自らが体内で産生す  
15 るのではなく、*Vibrio alginolyticus* 等の海中の細菌が産生し、食物連鎖に  
16 よりフグの体内に蓄積するという提案者の主張について、2005 年時点ま  
17 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いえ  
18 ないとされた。

19 陸上養殖トラフグの肝臓に含まれる TTX の毒性については、今回、2005  
20 年評価時に提出された陸上養殖トラフグ 1,049 個体の試験結果に加え、新  
21 たに陸上養殖トラフグ 4,950 個体の試験結果を含めた、2001 年から 2015  
22 年までの計 5,999 個体の肝臓について、前述の参考法を一部変更したマウ  
23 ス試験法による試験結果が提出された。これによると、いずれの陸上養殖  
24 トラフグの肝臓も毒性は < 2 MU/g 又は < 8 MU/g であったと報告されて  
25 いる。この試験で実施されたマウス試験法は、マウスの腹腔内に投与する  
26 試料を調製する際、参考法を一部変更した方法が用いられたが、その変更  
27 の妥当性を確認した試験データはない。

28 フグの毒化機構に係る知見については、TTX が添加された飼料を養殖ト  
29 ラフグに 60 日間投与した結果、添加した TTX 量が高濃度であるほどトラ  
30 フグの肝臓に多量の TTX の蓄積が認められた一方、TTX が添加されてい  
31 ない飼料を投与された養殖トラフグの体内からは TTX は検出されなかつ  
32 た。この結果は経口摂取された TTX がトラフグの肝臓に蓄積することを  
33 示唆しているものの、トラフグの毒化機構が TTX の経口摂取以外に存在  
34 しないのかについては不明である。また、天然トラフグに高濃度の TTX が  
35 蓄積するメカニズムも不明であり、トラフグ体内で TTX が肝臓に選択的  
36 に蓄積される機構についてもいまだ明らかになっていない。さらに、TTX  
37

1 を產生するとされる菌株が複数報告されているが、TTX の同定は極微量の  
2 TTX を HPLC 法等により同定した報告例にとどまる。TTX 産生菌を培養  
3 し、単離された生産物の化学構造を、核磁気共鳴法等の、より高精度な同  
4 定法を用いて決定し、TTX であると確定した報告はない。また、TTX を産  
5 生すると報告された細菌における TTX の生合成経路、TTX を產生すると  
6 報告された細菌からトラフグ体内に TTX が蓄積されるまでの経路、TTX  
7 を產生すると報告された細菌のトラフグ体内における分布を含めた生息  
8 域について等、不明な点が多い。

9 以上の毒化機構に関する未解明な点を考慮すると、現時点において、提  
10 案された方法により陸上養殖されたトラフグの肝臓について、食品として  
11 の安全性が確保されていると確認することはできない。

## 12 13 (2) 個別の毒性検査による管理

14 陸上養殖トラフグの肝臓については、今回の提案によると、TTX 蓄積量  
15 が相対的に高いとされる肝臓の R4 部位の TTX 濃度を HPLC-FL 法を用  
16 いて測定し、検出下限値以下である場合に、当該飲食店において提供す  
17 るとしている。

18 今回提案された HPLC-FL 法は、これまでフグの有毒部位の TTX を測  
19 定し、食品の安全性を確認する試験法として、その妥当性の確認が行われ  
20 たことはない。

21 今回の提案においては、当該事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグ  
22 の肝臓を検査する際の具体的な手順は示されておらず、検査で用いる分析  
23 機器は今回の提案が認められた後に導入する予定であり、提案された検査  
24 法の妥当性及び検査の精度管理については、今後検討することとしてい  
25 る。さらに、当該事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグの肝臓の R4  
26 部位を、提案された HPLC-FL 法で用いる分析機器で測定したデータはな  
27 い。このため、提案された個別の毒性検査の方法が、当該事業者の管理下  
28 で陸上養殖されたトラフグの肝臓の食品としての安全性を確保するため  
29 に十分な方法であるかについて、今回提出された資料から判断することは  
30 できない。

31  
32 トラフグの肝臓の R4 部位の毒力が相対的に高いことについて、当該事  
33 業者から、以下の根拠が示された。

34 マウス試験法により天然トラフグの肝臓を部位別 (L1~L5 及び R1~  
35 R5) に測定し、肝臓の 10 部位全てで毒性が検出された合計 16 個体につ  
36 いて、肝臓の部位別毒力の測定データを用い、各部位の相対毒力を比較す  
37 ると、R4 部位に比べて R4 以外の部位が高い毒力を示す個体もあるが、統

1 計的に R4 部位の毒力が、他の部位に比べて有意に高い値となつたとされ  
2 ている。

3 さらに、当該事業者からは、毒力が検出されなかった個体の肝臓を含む  
4 合計 42 個体の部位別毒力の測定データを用い、トービット回帰モデルに  
5 よる統計解析を行った結果が示された。その結果において、R4 部位の相  
6 対毒力が他の部位に比べて高いこと、また、R4 部位の毒力の値が検出下  
7 限 (3.85 MU) 以下の場合、99.9999%の確率で個体の最大毒力が 10MU/  
8 g 以下であることが保証されるとしている。

9 しかしながら、トラフグ肝臓内の毒性分布のデータは 42 検体と少なく、  
10 R4 部位の毒力が相対的に高いことについては、解剖学的、組織学的に説  
11 明可能な知見は報告されていない。また、トラフグ肝臓内の毒力の分布に  
12 大きなばらつきがあるとする報告もある。

13 よって、今回提出された資料をもって、R4 部位を HPLC-FL 法を用い  
14 て検査することにより、提案の方法で陸上養殖されたトラフグの肝臓全体  
15 の安全性を保証できると判断することはできない。

16  
17 今回の提案では、陸上養殖トラフグの肝臓の一部を、提案された検査法  
18 により個別に検査する際の測定対象物質は TTX のみとしている。

19 TTX には様々な類縁体が報告されている。トラフグの肝臓においては、  
20 TTX の他、4-*epi*-TTX、4,9-anhydroTTX、テトロドン酸等の類縁体が検出  
21 されたとの報告がある。しかしながら、トラフグの肝臓に蓄積される類縁  
22 体の種類及び類縁体の蓄積量について網羅的に測定したデータは報告さ  
23 れていない。また、TTX と比較して類縁体の毒性は低いとされているが、  
24 TTX より高い毒性を示唆する 11-oxo TTX 等の類縁体の報告もある。した  
25 がって、陸上養殖トラフグの肝臓に、TTX に匹敵する高い毒性を持つ類縁  
26 体が含まれる可能性を否定することはできない。

27 麻痺性貝毒については、2005 年評価において、「麻痺性貝毒を蓄積する  
28 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  
29 考慮すべき」とされている。麻痺性貝毒については、現時点ではトラフグ  
30 の肝臓で検出された報告はないものの、他の種類のフグでは食中毒の原因  
31 になるほど高濃度の存在が報告されている。麻痺性貝毒によるフグの毒化  
32 機構についても不明な点が多く残されており、陸上養殖トラフグの肝臓に  
33 麻痺性貝毒が蓄積する可能性を否定することはできない。

34 これらのことから、検査対象を TTX のみとすることが、陸上養殖トラ  
35 フグの肝臓の安全性を確保するうえで妥当であるかについて判断するこ  
36 とはできない。

### 1 (3) まとめ

2 以上のことから、現時点において、提案された方法により陸上養殖され  
3 たトラフグの肝臓について、個別の毒性検査を行うことにより、食品とし  
4 ての安全性が確保されると確認することはできない。

5  
6 厚生労働省は、第 59 号通知により、処理等により人の健康を損なうおそ  
7 れがないと認められるフグの種類及び可食部位を定め、それら以外の種類  
8 や部位を食用とすることを禁止することにより、フグの安全性を確保して  
9 きた。第 59 号通知の発出前と発出後を比較すると、フグの食中毒による  
10 死者数は減少傾向にある。。また、フグの伝統食については、過去の食経験  
11 を前提に、食品衛生法第六条第 2 号ただし書に規定する「人の健康を損な  
12 うおそれがない場合」として、製造方法等による管理と併せて、その毒力  
13 がおおむね 10 MU/g を超えないことを確認する管理が行われている。こ  
14 のような伝統食以外に、これまで可食部位ではないとして販売・流通が禁  
15 止されてきたフグの部位について、個別検査を行うということで流通が認  
16 められた事例はない。今回の提案は、従来、可食部位ではなかった部位の  
17 一部分を機器分析により個別検査し、TTX 濃度が検出下限以下であれば販  
18 売等を認めるという、新たな管理体制への移行を求めるものである。この  
19 ような管理方法の変更については、下痢性貝毒の管理方法の変更の際と同  
20 様、まずは、機器分析のデータを十分に蓄積する必要がある。その上で、  
21 致死以外の影響も含め、詳細な毒性データに基づいて人への健康影響につ  
22 いて検討を行う必要があると考える。

### 24 2. 安全性の確保のための管理体制

25 食品の安全性の確保については、一義的には食品関連事業者が必要な措  
26 置を適切に講じる責務を有し、その管理体制については、リスク管理機関  
27 において検討されるべきものであるが、今回の提案については一連の審議  
28 の中で、管理体制に関する以下の議論があった。食品関連事業者及びリス  
29 ク管理機関は、フグの管理体制の変更について検討を行う場合は、これら  
30 についても具体的に検討する必要があると考える。

- 31 ・ TTX は毒性が非常に強い物質であるため、当該事業者の管理下で陸上養  
32 殖されたトラフグの肝臓の食品としての安全の確保については、最終製  
33 品の検査だけに頼るのではなく、生産から流通に至る工程全体において、  
34 例えば有毒物質の混入を防ぐといった食品防御の観点なども含めて、厳  
35 格な管理体制が重要である。
- 36 ・ 検査法の妥当性の確認については、過去にマウス試験法から機器分析へ  
37 移行した下痢性貝毒と同様に、リスク管理機関における十分な検討が必

- 1 要である。この場合、認証標準物質についても、適切に指定する必要が  
2 ある。
- 3 ・検査の実施手順や精度管理の実施規定等については、検査が安定的かつ  
4 正確に行われていることを確認する上で非常に重要であり、検査実施者  
5 においては、規定等をあらかじめ整備し、安定的に運用できることを確  
6 認する必要がある。また、信頼性確保業務は検査等の業務から独立させ、  
7 客観的に検査及び検査体制の妥当性を確認する必要がある。
- 8



1 <別添資料 1> フグによる食中毒発生状況

	総数		
	件数	患者数	死者数
昭和38年	108	164	82
昭和39年	100	148	79
昭和40年	106	152	88
昭和41年	113	198	86
昭和42年	123	191	83
昭和43年	83	133	62
昭和44年	69	105	43
昭和45年	46	73	33
昭和46年	39	70	22
昭和47年	39	72	22
昭和48年	51	102	27
昭和49年	72	139	36
昭和50年	52	75	30
昭和51年	36	55	14
昭和52年	41	71	22
昭和53年	39	60	26
昭和54年	30	43	10
昭和55年	46	90	15
昭和56年	30	46	12
昭和57年	26	33	8
昭和58年	18	34	6
昭和59年	23	41	6
昭和60年	30	41	9
昭和61年	22	38	6
昭和62年	35	52	4
昭和63年	26	46	5
平成元年	31	45	5
平成2年	32	52	1
平成3年	29	45	3
平成4年	33	57	4
平成5年	28	44	4
平成6年	16	23	1
平成7年	30	42	2
平成8年	21	34	3
平成9年	28	44	6
平成10年	27	39	4
平成11年	20	34	2
平成12年	29	40	0
平成13年	31	52	3
平成14年	37	56	6
平成15年	38	50	3
平成16年	44	61	2
平成17年	40	49	2
平成18年	26	33	1
平成19年	29	44	3
平成20年	40	56	3
平成21年	24	50	0
平成22年	27	34	0
平成23年	17	21	1
平成24年	14	18	0
平成25年	16	21	0
平成26年	27	33	1
平成27年	29	46	1
計	2166	3395	897

昭和 38 年～昭和 55 年：  
 食中毒事件録より作成

昭和 56 年～平成 15 年：  
 食中毒統計により作成

1  
2 <別添資料 2> フグから分離された TTX を産生すると報告された細菌  
3 (1987-2011 年)

4

年	TTX を産生すると報告された細菌	起源
1987	<i>Pseudomonas</i> 属	コモnfグの皮
1987	<i>Vibrio alginolyticus</i>	ナシフグの腸
1989	<i>Shewanella putrefaciens</i>	クサフグの腸
2000	<i>Vibrio</i> 属	ナシフグの腸
2004	<i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i>	クサフグの卵巣
2004	<i>Serratia marcescens</i>	オキナワフグの皮
2004	<i>Vibrio alginolyticus</i>	コモfダマシの腸
2005	<i>Actinomyces</i> 属	トラフグの卵巣
2005	<i>Bacillus</i> 属	トラフグの卵巣、肝臓及び腸
2005	<i>Nocardiosis dassonillei</i>	トラフグの卵巣
2007	<i>Proteobacteria</i> , CFB group*, <i>Spirochaetales</i>	メフグの皮、腸、卵巣及び肝臓
2010	<i>Aeromonas</i> 属	メフグの卵巣
2010	<i>Bacillus</i> 属	メフグの卵巣
2010	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	メフグの肝臓
2011	<i>Raoultella terrigena</i>	クサフグの腸

5 \*CFB group: Cytophage-Flavobacterium-Bacteroidetes

6 (Yu et al. 2011 #204) [22]より引用、作成。

7  
8

1 <別添資料 3> 検査部位 (R4 部位) の妥当性について

2

3 2012 年に日本近海で漁獲された天然トラフグの肝臓 71 検体を試料とし  
4 て (うち 58 検体は冷蔵 (生肝臓)、13 検体は採取後直ちに凍結)、肝臓の滑  
5 らかな面を表側、消化管との隣接面を裏側、肝門脈との結合部を上部とし  
6 て左右に 2 分割し、さらに上下の全長を均等に 5 分割して 10 部位 (L1~  
7 L5 及び R1~R5) に分けた (図 1)。

8

9

10

11

12

13

14

15

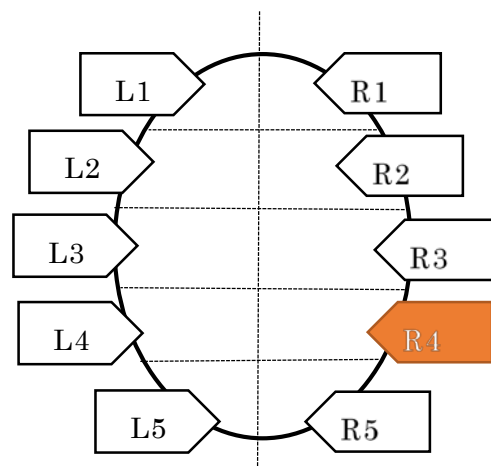
16

17

18

19

20



※消化管との隣接面が裏側、肝門脈との結合部を上部とする

21

図 1. 谷口 他. 2013 #39 [4] 図 1 を引用、改変して作図

22

23 食品衛生検査指針 理化学編フグ毒検査法 (参考法) に準じ、各部位をホ  
24 モジナイズ後、通常は 2 倍量又は試料量が少ない場合は、3~5 倍量の 0.1%  
25 酢酸溶液を加えて加熱抽出し、それぞれ 2 倍量又は 3、4、5 倍量に定容し  
26 た後、遠心分離し、上清を試験液とし、必要に応じて適宜希釈のうえ、ddY  
27 系雄マウス (体重 19 ~21g) の腹腔内に投与し、マウスの致死時間から 1  
28 g 当たりの毒力を算出した<sup>10</sup>。

29 その結果、生肝臓 58 検体のうち、16 検体は 10 部位全てがマウスに毒性  
30 を示し、22 検体はいずれも毒性を示さなかった。4 検体は一部の部位で毒  
31 性が認められ<sup>11</sup>、残り 16 検体は 1 部位のみの毒性試験に基づき無毒とされ  
32 た。生肝臓の平均毒力は、最高値が 709 MU / g であり、100~999 MU / g  
33 が 10 検体、10~99 MU / g が 5 検体、10 MU / g 未満が 43 検体であった。

34

<sup>10</sup> 2、3、4 又は 5 倍量の定容により、検出限界はそれぞれ 3、4、5 又は 6 MU/g としている。

<sup>11</sup> 一部の部位で毒性が認められた生肝臓 4 個体 (No.39~42) の場合、重量が足りず検出下限値が 4 又は 5MU/g となった部位もあるが、有毒部位の毒力はいずれも 4 MU / g 未満であり、突出して毒性が高い部位は認められなかった。

1 全 10 部位にマウス毒性が認められた生肝臓 (n=16 (検体番号 No.1～  
2 14、32、33)) について、個体別に平均毒力を 1 とし各部位の相対毒力  
3 を求め、それらを部位ごとに平均して比較したところ、おおむね中央部の  
4 毒性が高く、両端の毒性が低い傾向がみられた。各部位の相対毒力につい  
5 て、左右と上下の 2 要因に分けて二元配置分散分析により解析したところ、  
6 有意水準 5 % で要因間の交互作用は認められなかった ( $p=0.054$ )。そこで、  
7 要因ごとに評価したところ、左右では右の方の相対毒力が大きく  
8 ( $p=0.0007$ )、上下では中央の部位 4 の毒力が他の部位よりも小さかった  
9 ( $p=0.00005$ )。また、R4 の毒力を 1 とすると他の部位の相対毒力の平均  
10 ( $\pm$ 標準偏差) は  $0.88 \pm 0.21$ 、最大値は L1 部位の 1.7 であった。

1 <別添資料 4> 天然トラフグ 16 個体肝臓の毒性分布

2

肝臓重量 (g)	平均毒力 (MU/g)*	毒量 (MU/g)										MAX/R4	MAX/MIN
		R1	R2	R3	R4	R5	L1	L2	L3	L4	L5		
101.28	709.050	824.850	829.035	703.950	830.250	602.370	385.920	650.100	707.655	685.020	744.000	1.000	2.151
68.18	540.721	467.325	477.240	577.830	581.400	426.420	455.070	518.565	609.000	622.425	391.400	1.071	1.590
79.32	384.328	373.500	404.363	441.330	437.580	424.778	325.177	307.988	365.670	298.350	293.760	1.009	1.502
74.42	346.902	506.625	429.345	386.325	419.738	366.030	360.000	267.900	285.158	239.828	258.825	1.207	2.112
140.23	283.443	294.201	296.676	297.198	336.474	212.040	233.376	278.883	279.450	226.575	201.960	1.000	1.666
72.03	236.555	226.908	248.220	231.240	264.216	197.600	248.352	230.346	237.510	216.788	221.760	1.000	1.337
136.86	214.569	189.090	254.363	271.961	219.555	215.678	163.875	189.360	185.895	212.726	172.328	1.239	1.660
61.27	194.664	175.224	221.160	223.440	218.400	163.800	158.148	168.192	174.420	209.898	185.250	1.023	1.413
64.05	135.791	128.115	122.304	179.046	144.750	159.705	86.658	132.696	143.820	146.250	88.140	1.237	2.066
99.28	97.304	94.620	84.390	91.542	121.191	67.053	80.850	92.316	100.800	118.656	89.388	1.000	1.807
71.72	78.839	119.808	100.464	82.416	88.128	55.224	51.216	54.506	67.704	74.970	77.805	1.359	2.339
71.04	34.224	37.572	33.233	33.316	38.025	9.686	21.645	38.894	40.689	29.997	41.688	1.096	4.304
73.24	11.593	11.172	12.043	12.418	12.106	7.644	9.850	11.567	11.052	12.778	10.388	1.056	1.672
71.26	10.346	13.317	7.081	8.767	8.550	10.138	14.625	11.464	12.168	11.290	9.552	1.711	2.065
697.42	642.164	347.400	479.200	820.500	672.600	586.200	316.900	637.900	740.000	695.000	644.400	1.220	2.589
152.78	8.859	8.583	10.654	9.747	10.231	6.577	8.613	9.727	6.832	8.309	7.391	1.041	1.620

3

\* 平均毒力 (MU/g) : 肝臓の個々の部位の毒力を足しあげた総毒量を、肝臓重量で割って算出する。

4

5

6

提出資料をもとに作成

7

第 44 回かび毒・自然毒等専門調査会  
評価書案たたき台

1

2 <別添資料 5> 天然トラフグ 42 個体肝臓の毒性分布

個体番号	生/凍結	肝臓重量 (g)	平均毒力 (MU/g)*	毒量 (MU/g)										MAX/R4
				R1	R2	R3	R4	R5	L1	L2	L3	L4	L5	
1	生	101.28	709.050	824.850	829.035	703.950	830.250	602.370	385.920	650.100	707.655	685.020	744.000	1.000
2	生	68.18	540.721	467.325	477.240	577.830	581.400	426.420	455.070	518.565	609.000	622.425	391.400	1.071
3	生	79.32	384.328	373.500	404.363	441.330	437.580	424.778	325.177	307.988	365.670	298.350	293.760	1.009
4	生	74.42	346.902	506.625	429.345	386.325	419.738	366.030	360.000	267.900	285.158	239.828	258.825	1.207
5	生	140.23	283.443	294.201	296.676	297.198	336.474	212.040	233.376	278.883	279.450	226.575	201.960	1.000
6	生	72.03	236.555	226.908	248.220	231.240	264.216	197.600	248.352	230.346	237.510	216.788	221.760	1.000
7	生	136.86	214.569	189.090	254.363	271.961	219.555	215.678	163.875	189.360	185.895	212.726	172.328	1.239
8	生	61.27	194.664	175.224	221.160	223.440	218.400	163.800	158.148	168.192	174.420	209.898	185.250	1.023
9	生	64.05	135.791	128.115	122.304	179.046	144.750	159.705	86.658	132.696	143.820	146.250	88.140	1.237
10	生	99.28	97.304	94.620	84.390	91.542	121.191	67.053	80.850	92.316	100.800	118.656	89.388	1.000
11	生	71.72	78.839	119.808	100.464	82.416	88.128	55.224	51.216	54.506	67.704	74.970	77.805	1.359
12	生	71.04	34.224	37.572	33.233	33.316	38.025	9.686	21.645	38.894	40.689	29.997	41.688	1.096
13	生	73.24	11.593	11.172	12.043	12.418	12.106	7.644	9.850	11.567	11.052	12.778	10.388	1.056
14	生	71.26	10.346	13.317	7.081	8.767	8.550	10.138	14.625	11.464	12.168	11.290	9.552	1.711
15	生	106.76	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
16	生	79.90	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
17	生	102.50	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	-
18	生	88.48	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	-
19	生	72.05	n.d.	<3.0	<3.0	<4.0	<3.0	<3.0	<4.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	-
20	生	70.68	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	-
21	生	56.15	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	-
22	生	63.55	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	-
23	生	92.73	n.d.	<4.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	-
24	生	98.11	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
25	生	111.23	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
26	生	93.65	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	-
27	生	60.35	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<6.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	-
28	生	144.80	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
29	生	135.92	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
30	生	161.28	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
31	生	176.58	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
32	生	697.42	642.164	347.400	479.200	820.500	672.600	586.200	316.900	637.900	740.000	695.000	644.400	1.220
33	生	152.78	8.859	8.583	10.654	9.747	10.231	6.577	8.613	9.727	6.832	8.309	7.391	1.041
34	生	532.40	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
35	生	113.59	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
36	生	104.10	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
37	生	158.30	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
38	生	88.41	n.d.	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
39	生	71.41	n.d.	3.558	<3.0	<3.0	<3.0	<4.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
40	生	109.17	n.d.	3.069	<3.0	<3.0	<3.0	<5.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	-
41	生	304.36	n.d.	3.2130	<3.0	<3.0	3.3465	3.6414	3.3915	3.1968	3.7926	3.7149	3.6456	1.133
42	生	120.70	n.d.	<3.0	<3.0	3.499	3.690	3.107	<3.0	<3.0	3.475	3.272	3.276	1.000

3

\* 平均毒力 (MU/g) : 肝臓の個々の部位の毒力を足しあげた総毒量を、肝臓重量で割って算出する。

4

5

6

提出資料をもとに作成

7

1 <別添資料 6> TTX 類縁体の毒性

2

TTX 又は類縁体	試験方法	毒性	用量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	マウスの系統
TTX	腹腔内投与	MLD	8	CF1 マウス
		LD <sub>50</sub>	8.5	ddY マウス
		LD <sub>50</sub>	10.7	Kunming マウス
LD <sub>100</sub>		12	CF1 マウス	
	経口投与	LD <sub>50</sub>	332	ddY マウス
		LD <sub>50</sub>	532	Kunming マウス
		LD <sub>100</sub>	600	BALB/c マウス
	静脈内投与	LD <sub>50</sub>	8.2	詳細記載なし
11-oxo-TTX	腹腔内投与	LD <sub>99</sub>	16	ddY マウス
4- <i>epi</i> -TTX	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	64*	ddY マウス
6- <i>epi</i> -TTX	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	60	ddY マウス
5-Deoxy-TTX	腹腔内投与	MLD	>320	ddY マウス
11-Deoxy-TTX	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	71	詳細記載なし
6,11-Dideoxy-TTX	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	~420	ddY マウス
8,11-Dideoxy-TTX	腹腔内投与	MLD	>700	ddY マウス
5,6,11-Trideoxy-TTX	腹腔内投与	MLD	750	詳細記載なし
4,9-Anhydro-TTX	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	490*	ddY マウス
11-nor-TTX-6( <i>S</i> )-ol	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	54	詳細記載なし
11-nor-TTX-6( <i>R</i> )-ol	腹腔内投与	LD <sub>99</sub>	70	詳細記載なし
Chiriquitoxin	腹腔内投与	LD <sub>50</sub>	14*	ddY マウス
4- <i>S</i> -Cysteinyl-TTX	腹腔内投与	MLD	>140	ddY マウス
4- <i>S</i> -Glutathionyl-TTX	腹腔内投与	MLD	>860	ddY マウス

3

第 41 回-厚 20: Botana 2014 #64[48]から引用、作成。

1 MLD：最小致死量, LD50：50%致死量, LD99：99%致死量, LD100：100%致死量

2 \*：本文献の表中に引用されている参照文献では、MU で報告されている。

3

4 類縁体の中で、テトロドン酸の毒性については、マウスの静脈内投与試験において、  
5 300 mg / kg の投与量でも致死とならなかったことから、テトロドン酸の MLD の値  
6 は、300 mg / kg よりも大きいとされている(第 41 回-厚 20-622. Tsuda et al. 1964  
7 #85 [49] )。

8



1  
2  
3

＜略語一覧＞

略称	名称
FAO	国際連合食糧農業機関 (Food and Agriculture Organization)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography)
HPLC-FL	高速液体クロマトグラフィー蛍光検出
LC-MS	液体クロマトグラフ質量分析計 (Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer)
LC-MS/MS	液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometer)
LD <sub>50</sub>	半数致死量 (Lethal Dose 50)
MLD	最小致死量 (Minimum Lethal Dose)
MU	マウスユニット (Mouse Unit)
PSP	麻痺性貝毒 (Paralytic Shellfish Poison)
STX	サキシトキシン (Saxitoxin)
TTX	テトロドドキシシン (Tetrodotoxin)
WHO	世界保健機構 (World Health Organization)

4

1 <参考文献>

- 2
- 3 1. 厚生労働大臣通知，平成 17 年 1 月 11 日付け 厚生労働省発食安第  
4 0111001 号 「食品健康影響評価について」
- 5 2. 食品安全委員会．「佐賀県及び佐賀県嬉野町が構造改革特別区域法  
6 (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  
7 トラフグの肝」に係る食品健康影響評価について．2005
- 8 3. 佐賀県，株式会社萬坊．養殖トラフグ肝臓の可食化に関する提案書．  
9 (非公開資料)
- 10 4. 谷口香織，高尾秀樹，新名真也，山中祐二，岡田幸長，中島梨花，王  
11 俊杰，辰野竜平，阪倉良孝，高谷智裕，荒川 修，野口玉雄．天然トラ  
12 フグ肝臓の毒性分布．食品衛生学雑誌，2013; 54(4): 95-99
- 13 5. 厚生労働省・生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知．平  
14 成 28 年 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価  
15 に係る補足資料の提出について」
- 16 6. 提案者提出資料．1981－2015 年度：毒性試験数（萬坊陸上養殖ほか）
- 17 7. 大貫和恵，野口玉雄，荒川修．開放系循環水槽において養殖されたト  
18 ラフグ 肝臓の無毒確認とその脂質中の機能性成分．日食化誌．2009;  
19 16:157-162.
- 20 8. 社団法人 日本食品衛生協会．食品衛生検査指針 理化学編．2005
- 21 9. 厚生労働省・生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知．平  
22 成 28 年 11 月 8 日付け 生食監発 1108 第 3 号 「食品健康影響評価  
23 に係る補足資料の提出について」
- 24 10. 厚生労働省・生活衛生局 生活衛生・食品安全部監視安全課長通知．平  
25 成 28 年 11 月 30 日付け 生食監発 1130 第 3 号 「食品健康影響評価  
26 に係る補足資料の提出について」
- 27 11. 提案者提出資料．種苗生産履歴書 H26．平成 26 年 8 月 18 日
- 28 12. Itoi S, Kozaki A, Komori K, Tsunashima T, Noguchi S, Kawane M,  
29 Sugita H: Toxic *Takifugu pardalis* eggs found in *Takifugu niphobles*  
30 gut : Implications for TTX accumulation in the pufferfish. *Toxicon*,  
31 2015; 108: 141-146 and supplement
- 32 13. 本田俊一，荒川 修，高谷智裕，橘 勝康，八木基明，谷川昭夫，野口  
33 玉雄．テトロドトキシン添加飼料投与による養殖トラフグ *Takifugu*  
34 *rubripes* の毒化．日本水産学会誌，2005; 71: 815-820
- 35 14. Wang J, Araki T, Tatsuno R, Nina S, Ikeda K, Takatani T, Arakawa  
36 O. Transfer profile of orally and intramuscularly administered  
37 tetrodotoxin to artificial hybrid specimens of pufferfish, *Takifugu*

- 1           *rubripes* and *Takifugu porphyreus*. Food Hyg. Saf. Sci, 2012; 53: 33-  
2           38
- 3 15. Tatsuno R, Shikina M, Shirai Y, Wang J, Soyano K, Nishihara GN,  
4           Takatani T, Arakawa O. Change in the transfer profile of orally  
5           administered tetrodotoxin to non-toxic cultured pufferfish *Takifugu*  
6           *rubripes* depending of its development stage. Toxicon, 2013; 65: 76-  
7           80
- 8 16. Matsumoto T, Nagashima Y, Kusahara H, Ishizaki S, Shimakura K,  
9           Shiomi K. Pharmacokinetics of tetrodotoxin in puffer fish *Takifugu*  
10           *rubripes* by a single administration technique. Toxicon, 2008; 51:  
11           1051-1059
- 12 17. Nagashima Y, Toyoda M, Hasobe M, Shimakura K, Shiomi K. *In*  
13           *vitro* accumulation of tetrodotoxin in pufferfish liver tissue slices.  
14           Toxicon, 2003; 41: 569-574
- 15 18. Kotaki Y, Oshima Y, Yasumoto T. Bacterial transformation of  
16           paralytic shellfish toxins in coral reef crabs and a marine snail.  
17           Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1985; 51(6):  
18           1009-1013
- 19 19. Yasumoto T, Yasumura D, Yotsu M, Michishita T, Endo A, Kotaki Y.  
20           Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin.  
21           Agric. Biol. Chem, 1986; 50: 793-795
- 22 20. Narita H, Matsubara S, Miwa N, Akabane S, Murakami M, Goto T,  
23           Nara M, Noguchi T, Shida T, Hashimoto K. *Vibrio alginolyticus*, a  
24           TTX-producing bacterium isolated from the starfish *Astropecten*  
25           *polyacanthus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 1987; 53: 617-621
- 26 21. Kogure K, Do HK, Thuesen EV, Nanba K, Ohwada U, Shimidu U.  
27           Accumulation of tetrodotoxin in marine sediment. Marine Ecol.  
28           Prog. Ser, 1988; 45: 303-305
- 29 22. Yu V C-H, Yu P H-F, Ho K-C, Lee F W-F. Isolation and identification  
30           of a new tetrodotoxin-producing bacterial species, *Raoultella*  
31           *terrigena*, from Hong Kong marine puffer fish *Takifugu niphobles*.  
32           Mar Drugs, 2011; 9: 2384-2396
- 33 23. 河端俊治, 戸田敦夫, 松本恵子, 原田禎顕. 食品衛生研究「輸入魚類乾  
34           製品からのフグ毒の検出事例」. 食品衛生協会, 1981: 827-837
- 35 24. Simidu U, Noguchi T, Huang D-F, Shida Y, Hashimoto K, Marine  
36           bacteria which produce tetrodotoxin. Appl. Environm. Microbiol,  
37           1987; 55: 1714-1715

- 1 25. Matsui T, Taketsugu S, Sato S, Yamamori H, Kodama K, Ishii A,  
2 Hirose H, Shimizu C. Toxication of cultured puffer fish by the  
3 administration of tetrodotoxin producing bacteria. Bull. Jap. Soc.  
4 Sci. Fish, 1990; 56(4): 705
- 5 26. Chau R, Kalaitzis JA, Neilan BA. On the origins and biosynthesis  
6 of tetrodotoxin. Aquatic Toxicology, 2011; 104: 61-72
- 7 27. Chau R, Kalaitzis JA, Wood SA, Neilan BA. Diversity and  
8 Biosynthetic Potential of Culturable Microbes Associated with  
9 Toxic Marine Animals. Mar. Drugs, 2013; 11: 2695-2712
- 10 28. Yasumoto T, Michishita T. Fluorometric determination of  
11 tetrodotoxin by high performance liquid chromatography. Agr. Biol.  
12 Chem, 1985; 49: 3077-3080
- 13 29. Yotsu M, E.A., Yasumoto T, An Improved Tetrodotoxin Analyzer.  
14 Agricultural and Biological Chemistry, 1989. 53(3): p. 893-895
- 15 30. 株式会社 萬坊. 高速液体クロマトグラフィー蛍光分析法によるトラ  
16 フグ肝臓中のテトロドトキシシン分析下限値. 2011
- 17 31. 提案者提出資料, 養殖トラフグ肝臓の HPLC-FL 分析概要
- 18 32. 株式会社 萬坊. 高速液体クロマトグラフィー蛍光法とマウス毒性試  
19 験による天然トラフグ 中のテトロドトキシシン測定値の相関. 2011
- 20 33. 提案者提出資料, HPLC クロマトグラム (TTX 分析下限値)
- 21 34. 佐賀県におけるトラフグ肝の可食化に関する第三者評価委員会. トラ  
22 フグ肝臓の食品安全性評価について
- 23 35. 渕 祐一. 西日本産フグの毒性に関する研究 (抜粋) 1998
- 24 36. 渕 祐一, 森崎澄江, 長田 忠, 嶋崎晃次, 野口玉雄, 大友信也, 橋本  
25 周久. 高速液体クロマトグラフィーによる魚貝類中のテトロドトキシ  
26 シンの定量. 食品衛生学雑誌, 1988; 29: 306-312
- 27 37. 長島裕二, 荒川 修, 佐藤 繁. 松浦啓一, 長島裕二 編. 第2章 フグ  
28 毒, “毒魚の自然史”. 北海道大学出版会, 2015: 33-103
- 29 38. Nakamura M, Yasumoto T. Tetrodotoxin derivatives in puffer fish.  
30 Toxicol, 1985; 23(2): 271-276
- 31 39. 提案者提出資料. TTX 類縁体について
- 32 40. Wu BQ, Yang L, Kao CY, Levinson SR, Yotsu-Yamashita M,  
33 Yasumoto T. 11-oxo tetrodotoxin and a specifically labelled <sup>3</sup>H-  
34 tetrodotoxin. Toxicol, 1996; 34: 407-416
- 35 41. Saruhashi S, Konoki K, Yotsu-Yamashita M. The voltage-gated  
36 sodium ion channel inhibitory activities of a new tetrodotoxin  
37 analogue, 4,4a-anhydrotetrodotoxin, and three other analogues

- 1 evaluated by colorimetric cell-based assay. *Toxicon*, 2016; 119: 72-  
2 76
- 3 42. 谷山茂人, 諫見悠太, 松本拓也, 長島裕二, 高谷智裕, 荒川 修. 腐肉  
4 食性巻貝キンシバイ *Nassarius (Alectrion) glans* に認められたフグ毒  
5 の毒性と毒成分. *食品衛生学雑誌*, 2009; 50(1): 22-28
- 6 43. Kudo Y, Finn J, Fukushima K, Sakugawa S, Cho Y, Konoki K, Yotsu-  
7 Yamashita M. Isolation of 6-deoxytetrodotoxin from the pufferfish,  
8 *Takifugu pardalis*, and a comparison of the effects of the C-6 and C-  
9 11 hydroxy groups of tetrodotoxin on its activity. *J Nat Prod*, 2014;  
10 77: 1000-1004
- 11 44. Yotsu-Yamashita M, Abe Y, Kudo Y, Ritson-Williams R, Paul VJ,  
12 Konoki K, Cho Y, Adachi M, Inazu T, Nishikawa T, Isobe M. First  
13 identification of 5,11-dideoxytetrodotoxin in marine animals, and  
14 characterization of major fragment ions of tetrodotoxin and its  
15 analogs by high resolution ESI-MS/MS. *Mar Drugs*, 2013; 11: 2799-  
16 2813
- 17 45. Jang J, Yotsu-Yamashita M. Distribution of tetrodotoxin, saxitoxin,  
18 and their analogs among tissues of the puffer fish *Fugu pardalis*.  
19 *Toxicon*, 2006; 48: 980-987
- 20 46. Nakamura M, Oshima Y, Yasumoto T. Occurrence of saxitoxin in  
21 puffer fish. *Toxicon*, 1984; 22: 381-385
- 22 47. Matsumoto T, Nagashima Y, Takayama K, Shimakura K, Shiomi K.  
23 Difference between tetrodotoxin and saxitoxins in accumulation in  
24 puffer fish *Takifugu rubripes* liver tissue slices. *Fish Physiol.*  
25 *Biochem*, 2005; 31: 95-100
- 26 48. Botana LM. SEAFOOD and FRESHWATER TOXINS.  
27 PHARMACOLOGY, PHYSIOLOGY, and DETECTION, Third  
28 Edition, CRC Press, 2014: 248-253
- 29 49. Tsuda K, Ikuma S, Kawamura M, Tachikawa R, Sakai K, Tamura  
30 C, Amakasu O. Tetrodotoxin. VII. On the structures of  
31 tetrodotoxin and its derivatives. *Chem Pharm Bull*, 1964; 12 (11):  
32 1357-1374  
33  
34  
35