

かび毒・自然毒等専門調査会における審議結果について

1. 審議結果

厚生労働大臣から食品安全委員会に求められた「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（平成 28 年 4 月 28 日付け厚生労働省発生食 0428 第 3 号）については、第 39 回（平成 28 年 5 月 20 日）、第 41 回（平成 28 年 9 月 12 日）、第 43 回（平成 28 年 11 月 10 日）、第 44 回（平成 28 年 12 月 7 日）において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

審議結果（案）については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. 「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の意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成 29 年 1 月 31 日（火）開催の食品安全委員会（第 636 回会合）の翌日の平成 29 年 2 月 1 日（水）から平成 29 年 3 月 2 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、かび毒・自然毒等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)
自然毒評価書

「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

2017年1月

食品安全委員会

かび毒・自然毒等専門調査会

目次	頁
目次.....	1
＜審議の経緯＞	3
＜食品安全委員会委員名簿＞	3
＜食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿＞	3
＜かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞	4
要約.....	5
I. 諮問の経緯及び提案の内容	7
1. 諮問の経緯.....	7
2. 今回の提案の内容.....	8
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.....	11
1. 2005 年評価書における評価	11
(1) TTX の産生について	11
(2) 毒化機構について.....	11
(3) 麻痺性貝毒について.....	11
(4) 提案された養殖方法の妥当性について.....	11
(5) 結論	11
2. 2005 年評価書における評価以降の知見を中心としたフグの毒化機構に係る知見	12
(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
(2) フグの毒化及び TTX の動態に関する知見.....	14
① 有毒フグ卵摂取によるフグの毒化について.....	14
② 生体フグへの TTX 投与実験について.....	15
③ フグ肝臓組織における TTX の取り込みについて.....	17
④ フグの成長過程における TTX 量の変化.....	18
(3) TTX を産生すると報告された細菌についての知見	19
III. 個別の毒性検査による管理	22
1. HPLC-FL 法による TTX の分析	22
(1) HPLC-FL 法による分析	22
(2) HPLC-FL 法の妥当性	22
① マウス試験法と HPLC-FL 法の相関性.....	23
② 検出下限値について	23
2. 検査部位（R4 部位）の妥当性	23

3. TTX 類縁体及び麻痺性貝毒 (PSP)	25
(1) TTX 類縁体	25
(2) 麻痺性貝毒 (PSP)	26
IV. 食品健康影響評価	28
1. 評価結果	28
(1) フグの毒化機構等	28
(2) 個別の毒性検査による管理	29
① HPLC-FL 法による TTX の分析	29
② 検査部位 (R4 部位) の妥当性	29
③ TTX 類縁体及び麻痺性貝毒 (PSP)	30
(3) まとめ	30
2. 安全性の確保のための管理体制	31
＜略語一覧＞	32
＜参照＞	33
＜別添資料 1＞ フグによる食中毒発生状況	39
＜別添資料 2＞ フグから分離されたテトロドトキシンを産生すると報告された細菌 (1987-2011 年)	40
＜別添資料 3＞ 検査部位 (R4 部位) の妥当性について	41
＜別添資料 4＞ 天然トラフグ肝臓における毒力の分布 (16 個体)	43
＜別添資料 5＞ 天然トラフグ肝臓における毒力の分布 (42 個体)	44
＜別添資料 6＞ テトロドトキシン類縁体の毒性	45

<審議の経緯>

- 2016 年 4 月 28 日 厚生労働大臣から「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要請、関係書類の接受
- 2016 年 5 月 10 日 第 605 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016 年 5 月 20 日 第 39 回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2016 年 9 月 12 日 第 41 回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2016 年 11 月 10 日 第 43 回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2016 年 12 月 7 日 第 44 回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2017 年 1 月 31 日 第 636 回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

（2016 年 1 月 6 日まで）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

（2017 年 1 月 7 日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿>

宮崎 茂（座長）

合田 幸広（座長代理）

川原 信夫

久米田裕子

小西 良子

佐藤 順子

渋谷 淳

杉山 圭一

鈴木 敏之

矢部希見子

吉成 知也

渡辺麻衣子

荒川 修 *

豊福 肇 *

長島 裕二*

*：「食品安全委員会における調査審議方法等について」（平成 15 年 10 月 2 日食品安全委員会決定）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として、調査審議等には参加していない。

＜かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

＜第 39 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

大島 泰克

山下 まり

佐藤 繁

＜第 41 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

大島 泰克

山下 まり

＜第 43 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

大島 泰克

佐藤 繁

＜第 44 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

大島 泰克

佐藤 繁

要約

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「TTX」という。）が主な原因であり、日本においてはほぼ毎年、フグによる食中毒が発生し、死亡例も報告されている。フグは、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）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、販売等が禁止されている。一方、同号ただし書において、「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」と規定されており、フグについては、「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 号厚生省環境衛生局長通知）において、処理等により人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類及び可食部位が定められている。トラフグの肝臓は、不可食部位として、食品衛生法第 6 条第 2 号に基づき、販売等が禁止されている。

食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会は、厚生労働省から意見を求められたことから、食品衛生法第 6 条第 2 号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」を追加することに係る食品健康影響評価を実施した。評価においては、厚生労働省から提出された佐賀県及び佐賀県内の特定の事業者（以下「特定事業者」という。）による「養殖トラフグ肝臓の可食化に関する提案書」（以下「提案書」という。）、特定事業者による提出資料、公表されている各種参考文献等を用いて審議を行った。

特定事業者により提案された方法は、特定事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグについて、特定事業者が個体ごとに肝臓の一部（R4 部位）の TTX 濃度を HPLC-FL 法により分析し、検出下限値以下（社内合格基準値以下）の場合、特定事業者経営の飲食店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行うというものである。

かび毒・自然毒等専門調査会では、主に、①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、②HPLC-FL 法による TTX の分析の妥当性、③検査部位（R4 部位）の妥当性、及び④分析対象物質を TTX のみとすることの妥当性の観点から評価を行った。

①については、毒化機構に関する未解明な点を考慮すると、提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、その危害要因及び制御するべき点を特定することができず、現時点においては、食品としての安全性が確保され

ていると確認することはできない。

②については、今回提案された **HPLC-FL** 法は、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たことはない。

さらに、特定事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグの肝臓の **R4** 部位を、提案された **HPLC-FL** 法を用いる機器分析で分析したデータはない。

このため、提案された個別の毒性検査の方法が、特定事業者の管理下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できない。

③については、提案書において検査部位である **R4** 部位の毒力が相対的に強いとされたが、解剖学的、生理学的に説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大きなばらつきがあるとする報告もある。

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の安全性を保証できると判断することはできない。

④については、今回の提案では、分析対象物質は **TTX** のみとしているが、陸上養殖トラフグの肝臓に、**TTX** に匹敵する強い毒性を持つ類縁体が含まれる可能性を否定することはできない。また、麻痺性貝毒（以下「**PSP**」という。）によるフグの毒化機構についても不明な点が多く、陸上養殖トラフグの肝臓に **PSP** が蓄積する可能性を否定することはできない。

これらのことから、分析対象物質を **TTX** のみとすることが、陸上養殖トラフグの肝臓の安全性を確保する上で妥当であるかについて判断することはできない。

以上のことから、現時点の知見及び提出された試験・検討結果からは、提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、個別の毒性検査を行うことにより、食品としての安全性が確保されると確認することはできない。今回の提案は、従来、可食部位ではなかった部位の一部分を機器分析により個別検査し、**TTX** 濃度が検出下限値以下であれば販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。このような管理体制の変更については、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、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いて検討を行う必要があると考える。

I. 諮問の経緯及び提案の内容

1. 諮問の経緯

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「TTX」という。）が主な原因であり、日本においてはほぼ毎年、フグによる食中毒が発生し、死亡例も報告されている（別添資料 1 参照）。

フグは、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）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、「これを販売し（不特定又は多数の者に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」食品であっても、同号ただし書において、「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」と規定されている。

「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（昭和 23 年厚生省令第 23 号）第 1 条第 1 号において「有毒な又は有害な物質であつても、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。以下「第 59 号通知」という。）において、処理等により人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類及び可食部位が定められている。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死者数は減少傾向にある。（別添資料 1 参照）

厚生労働大臣が食品衛生法第 6 条第 2 号ただし書に規定する「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、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号に基づき、食品安全委員会の意見を聴かなければならないとされている。

2005 年 1 月、食品安全委員会は厚生労働省から、食品安全基本法の規定に基づき、食品衛生法第 6 条第 2 号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それがない場合」として定めている「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価について意見を求められ（参照 1）、同年 8 月、「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」(以下「2005 年評価書」という。)(参照 2)を厚生労働省へ通知した。

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、佐賀県及び佐賀県嬉野町(以下「2005 年提案者」という。)は、その提案の中で、「テトロドトキシン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」と主張した。2005 年評価書(参照 2)においては、「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はいえないため、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た。

2016 年 2 月、佐賀県及び佐賀県内の特定の事業者(以下「特定事業者」という。)から厚生労働省に対し、特定事業者の管理下で陸上養殖したトラフグについて、「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た。

同年 4 月、食品安全委員会は厚生労働省から、食品安全基本法の規定に基づき、食品衛生法第 6 条第 2 号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」を追加することに係る食品健康影響評価について意見を求められた。

2. 今回の提案の内容

2016 年 4 月に厚生労働省から提出された佐賀県及び特定事業者による「養殖トラフグ肝臓の可食化に関する提案書」(以下「提案書」という。)(参照 3)によると、今回の提案は、特定事業者が、特定事業者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液体クロマトグラフ蛍光検出法(以

下「HPLC¹-FL 法」という。) により TTX の分析を行い、検出下限値以下（社内合格基準値以下）の場合、特定事業者が経営する特定の飲食店（以下「特定飲食店」という。）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して行うというものである。提案書及び提出された資料に記載されていた方法を以下に示す。（参照 3、4）

- ・ 陸上養殖に使用する水は、沖合約 50 m、水深約 10 m の海底に設置している架台に、6 本のパイプを取り付け、海水を取水して使用する。取水場所は海底から約 1 m 上のところにあり、6 本のパイプの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、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いてトラフグを養殖する。
- ・ 検査対象物質は、特定事業者の管理下で提案された方法で陸上養殖されたトラフグの生の肝臓に含まれる TTX とする。
- ・ 検査部位は、「天然トラフグ肝臓の毒性分布」（参照 5）によると、トラフグの肝臓中の R4 部位²（肝臓右側中央下寄りの部位）が有意に強い毒性を示すことから、陸上養殖トラフグの R4 部位を採取して検査を行う。
- ・ 検査手順は、陸上養殖トラフグの肝臓の R4 部位を採取し、ホモジナイズ（破碎・均質化）を行い、調製したホモジネート（懸濁液）の一部を分取し、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（クリーンアップ）したものを検査試料とする。HPLC-FL 法を用いて試料中の TTX を分析する。検査の結果が検出下限値以下（社内合格基準値以下）の場合、食品として提供可とする。なお、検査に使用しなかった残りの R4 部

¹ HPLC：高速液体クロマトグラフ（High performance liquid 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。（JIS K0124:2011 高速液体クロマトグラフィー通則）。

HPLC-FL：TTX はアルカリとの短時間の加熱では強い蛍光をもつ分解物を生成する。この蛍光化反応を利用した蛍光 - 高速液体クロマトグラフィー（HPLC-FL）が開発されている。（社団法人 日本食品衛生協会・厚生労働省監修・食品衛生検査指針 理化学編, 2005；661-666, Yotsu M et al. Agr. Biol. Chem, 1989; 53 (3) : 893-895）ここに示す HPLC-FL 法とは、研究者によりカラム、移動相、反応条件等が多少異なるが、原理的には逆相分配型カラムを用いるイオンペア法によって TTX 及びその類縁体を分離し、溶出液に連続的に高濃度の水酸化ナトリウム溶液を混合後、高温で加熱することにより蛍光物質に変換した TTX 及びその類縁体を検出する方法である。（Yasumoto T and Michishita T. Agr. Biol. Chem, 1985; 49: 3077-3080）

² 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）に分け（別添資料 3 参照）、各部位の相対毒力をマウス試験法で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）が有意に強い毒性を示したと報告された（谷口香織 他、食品衛生学雑誌, 2013; 54(4): 277-281）。

位のホモジネートは、再検査用として 30 日を限度として冷凍保管する。

- 分析の結果、R4 部位が検出下限値以下（社内合格基準値以下）であった陸上養殖トラフグの R4 部位以外の肝臓部位は、毒性検査合格品として特定飲食店へ移動させる。
- 特定飲食店では、天然のトラフグの提供は行わないこと、店舗内ではフグの解体を行わないこと、及び客に提供した肝臓を提供個体ごとに把握できるよう使用記録を作成することを規則とする。
- 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た全ての肝臓が、分析の結果、検出下限値以下（社内合格基準値以下）の場合は、特定飲食店で提供を行う。同日に取り上げた肝臓のいずれかが社内合格基準値を超過した場合は、同日に取り上げた全ての肝臓の判定を保留とする（第一段階）。社内合格基準値を超過した全ての肝臓について、第一段階で用いた R4 部位のホモジネートを用いて再分析を行う。再分析の結果、検出下限値以下（社内合格基準値以下）である場合は、同日に取り上げた全ての肝臓について、特定飲食店で提供を行い、再度社内合格基準値を超過した肝臓があった場合は、同日に取り上げた全ての肝臓を不合格として特定飲食店での提供を停止する（第二段階）。再度社内合格基準値を超過した肝臓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、同日に取り上げた肝臓について、不合格を取り消し、毒性検査合格品として特定飲食店において肝臓を提供する（第三段階）。
- 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を実施する。分析に使用する機器については精度の確認を始めとしたバリデーションを実施する。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る。具体的な実施規定は今後作成される予定である。
- 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、管理システムを整備する計画がある。
- 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。

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

1．2005 年評価書における評価

2005 年評価書における評価では、「TTX 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」される、また、「網生け簀養殖及び陸上養殖を行い、5,000 匹のトラフグの毒性について調べた結果、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 年提案者の主張に対し、以下の内容が取りまとめられた。

(1) TTX の産生について

2005 年提案者は、TTX は *Vibrio alginolyticus* を始めとする細菌によって産生されるとしているが、その生合成機構などについて、詳細は不明である。また、*Vibrio alginolyticus* を中心とした細菌については検討が行われているが、全ての毒素産生菌について調査が行われていない可能性がある。TTX を産生することが知られている他の細菌についても考慮すべきである。

(2) 毒化機構について

フグの毒化機構については食物連鎖説が唱えられているが、細菌からどのようにフグに毒が移行するのか未だ不明な点が多く、本提案の安全性の評価を行うにあたり、フグの毒化機構が十分に解明されているとは言い難い。

(3) 麻痺性貝毒について

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毒についても考慮すべきである。

(4) 提案された養殖方法の妥当性について

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が難しい。また、評価の対象となる本案件の養殖方法は陸上養殖であるが、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養殖トラフグによる合計 5,000 匹の実験データであり、実験の条件が揃っていない。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おり、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。

(5) 結論

現時点（2005 年）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。また、そのことに鑑み、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タが現時点（2005 年）では十分とはいえないため、本養殖方法が恒常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。

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。（参照 2）

2. 2005 年評価書における評価以降の知見を中心としたフグの毒化機構に係る知見

（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

今回の諮問では、2001 年度から 2015 年度までの 15 年間にわたるマウス試験法³による陸上養殖トラフグの試験結果が厚生労働省へ提出された。特定事業者による提出資料及び参考文献に記載されていた内容について、以下に示す。

提案の養殖に用いられ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 歳齢までの陸上養殖トラフグ 5,999 個体（2005 年評価書における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、新たに陸上養殖水槽において養殖された合計 4,950 個体）の肝臓を採取し、その毒性が調べられた。個体ごとに調製した肝臓試料の毒力⁴は 2 MU⁵/g 未満（<2 MU/g）、4 個体の肝臓を合一して調製した試料は 8 MU/g 未満（<8 MU/g）としており、この 2 MU/g 及び 8 MU/g という値は、試験で用いられた方法（Ⅲ 1.（2）①参照）において、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 個体の肝臓試料の毒力は<2 MU/g、4,830 個体⁶を用いて、4 個体の肝臓を合一して調製した試料の毒力は<8 MU/g であった。また、2004 年度、2009 年度及び 2010 年度には、陸上養殖トラフグ 139 個体の卵巣についてもマウス試験法によりその毒性が調べられた。その結果、個体ごとに調製した 14 個体の卵巣試料の毒力は<2 MU/g、125 個体⁷を用いて 4 個体の卵巣を合一して調製した試料の毒力は<8 MU/g であった。

³ 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。

⁴ 本評価書において用いられている「毒力」とは、単位量当たりの毒性を示し、この毒性は、マウスに対する毒性を指標としている。

⁵ 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 µg に相当するとされている。

⁶ 4 個体の肝臓を合一して試料を調製する際に、重複して試料として用いた個体も含まれている。

⁷ 4 個体の卵巣を合一して試料を調製する際に、重複して試料として用いた個体も含まれて

さらに、2007 年度、2008 年度及び 2009 年度には、LC-MS（液体クロマトグラフ質量分析計）を使用して、各年度の個体ごとに調製した肝臓試料又は 4 個体の肝臓を合一して調製した試料の各 1 検体中の TTX の分析が行われた。LC-MS 法の検出感度は個体ごとに調製した肝臓試料では 0.1 MU/g、4 個体の肝臓を合一して調製した試料では 0.4 MU/g と算出され、いずれの試料からでも TTX は検出されなかった。（参照 4、6、7、8）

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市販の固形飼料を給与して養殖しており、2006 年 11 月から 2007 年 2 月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力を調べたところ、養殖に用いられた固形飼料に毒力は認められなかった（<8 MU/g）（参照 7）。

上述の試験で用いられたマウス試験法は、2005 年に発行された厚生労働省監修の食品衛生検査指針 理化学編（参照 9）で示されている「フグ毒マウス検定法（参考法）⁸」（以下「参考法」という。）に準じているが、マウスに投与する試験液の作製方法が参考法とは一部異なる。用いられたマウス試験法における試験液の作製方法の概要を以下に示す。

2001 年度から 2006 年度までの試験に用いられた陸上養殖トラフグの肝臓

いる。

⁸ フグ毒のマウス検定法（参考法）：社団法人 日本食品衛生協会、厚生労働省監修、食品衛生検査指針 理化学編 2005；661-666）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、遠心分離液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 µg に相当するとされており、得られた MU に希釈倍率を乗じ、原検体 1 g 当たりの MU を求める。なお、本試験法では、5 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。

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 の肝臓片をはさみで細切し、秤取した。等量（10 ml）の 0.1 % 酢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 分間加熱したものを吸引ろ過して得たろ液を試験液とした。各試験液 1 ml ずつを各 2 匹の ddY 系雄マウス（体重 18～21 g）の腹腔内に投与し、30 分間経過観察をした結果、死亡した個体はなかったため、毒力を <2 MU/g と判定した。2007 年度以降は、試料総数の 1 割については 2001 年度から 2006 年度までの試験と同様に個体別に試験したところ、毒力は全ての検体で <2 MU/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）の肝臓片を合一して十分に均一化した後、そこから 10 g を秤取して合一試料として試験したところ、合一試料の毒力は全て <8 MU/g であった。（参照 8）

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（参照 8、10）。

また、2005 年評価書における評価では、養殖トラフグの稚魚を得るための卵は天然トラフグを親魚とした種苗であったが、今回の諮問では特定事業者の種苗生産履歴書（2014 年出荷分）によると、陸上養殖トラフグの稚魚を得るための卵は、養殖場で育成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とされている（参照 11）。

（2）フグの毒化及び TTX の動態に関する知見

① 有毒フグ卵摂取によるフグの毒化について

2005 年評価書における評価以降、食物連鎖によってフグが毒化することを示唆する新たな知見として、2012 年から 2015 年までに捕獲・採集した天然のクサフグの消化管内から見つかった卵から TTX が検出され、これらの卵の遺伝子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参考文献が提出された。

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（液体クロマトグラフトアンデム質量分析計）法で分析した消化管内容物中の TTX 総量は、卵摂食群で $4,139 \pm 6,023$ ng、卵非摂食群で 216 ± 374 ng であった。卵摂食群のクサフグ個体の皮、肝臓、生殖器官、腸及びその他の組織を LC-MS/MS 法

で分析した TTX 総量（1 MU は 0.22 μg TTX 相当量として換算）は、雌個体群が $2,803 \pm 10,361$ MU（TTX: $617 \pm 2,279$ μg ）、雄個体群が $1,901 \pm 1,856$ MU（TTX: 418 ± 408 μg ）であった。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。（参照 12）

また、この研究では、トラフグ稚魚に有毒の天然トラフグの卵⁹（以下「有毒フグ卵」という。）を給与して飼育することにより、毒化の有無を確認する実験も行われている。無毒¹⁰とされた養殖トラフグの稚魚 52 個体（体重の範囲：3.1～49.6 g、平均±標準偏差： 19.0 ± 12.7 g）に対し、市販の無毒¹¹とされた飼料と共に有毒フグ卵を給与し、20℃の循環式水槽で飼育した。有毒フグ卵を給与して 2 日以上経過後（more than two days）¹²、稚魚から肝臓、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 量を分析した。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唆され、52 個体中 31 個体（体重の範囲：3.1～49.6 g、体重の平均±標準偏差： 21.9 ± 12.8 g）から TTX が検出され、毒化が認められたが、残りの 21 個体（体重の範囲：3.1～42.0 g、体重の平均±標準偏差： 14.7 ± 11.1 g）からは TTX が検出されず、毒化が認められなかった。有毒フグ卵を給与されて毒化が認められた稚魚体内においては、皮では 47.5 ± 38.1 $\mu\text{g/g}$ 、肝臓では 31.8 ± 31.6 $\mu\text{g/g}$ 、消化管（腸）では 19.9 ± 29.0 $\mu\text{g/g}$ の TTX が検出された。なお、市販の固形飼料のみを給与した対照群 38 個体（体重の範囲：3.1～57.9 g、体重の平均±標準偏差： 15.6 ± 15.6 g）からは TTX は検出されず、毒化は認められなかった。（参照 12）

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 を添加して各実験群で養殖トラフグ（孵化した後に飼育した養殖トラフグ当歳魚¹³（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、その詳細を以下に示す。

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 を含むように添加、調製した飼料（ナシフグ由来の TTX 粗抽出液を 0.1、0.2 若しくは 1.0 MU/g 体重/日、又は純度 95%の精製 TTX を 0.2 MU/g 体重/日の用量となるように調整）を養殖トラフグに給与した。

⁹ TTX 量不明、toxic egg とのみ記載。

¹⁰ 無毒の定義については記載されていない。

¹¹ 無毒の定義については記載されていない。

¹² 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くの間維持されていることが示唆されたとしている。

¹³ 当歳魚：受精後 1 年目までの魚の呼び方。

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 個体の各部位（筋肉、皮、肝臓及びその他の内臓）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 の結果であった。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毒力が認められなかった（<2 MU/g）。45 日目以降では皮の毒力は <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 日目以降では皮及び肝臓の毒力は <2.0 ~4.2 MU/g、60 日目ではその他の内臓の毒力は <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 日目以降では皮及び肝臓の毒力は <2.0 ~6.7 MU/g であった。
- 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毒力が認められた。特に肝臓では時間の経過とともに毒力が強くなり、60 日目の毒力は 20 ~40 MU/g であった。
- e. 対照群では、毒力はいずれの部位も <2 MU/g であった。（参照 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 個体当たり 400 MU までの TTX を添加した飼料ホモジネートを単回強制経口投与（oral gavage）し、毒性を参考法により継時的に測定した結果が報告されている。消化管の毒力（MU/g 組織）は投与後速やかに減少した。肝臓の毒力は投与 1 時間後から 24 時間後まで増加し（24 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した。皮からは投与後 72 時間目で 1.4 MU/g の毒力が検出された。筋肉からは毒力が認められなかった。この結果から、フグでは、TTX を含む飼料を摂取した後、まず肝臓に毒性物質が蓄積し、その後血液を介して皮へ移行することが示唆された。また、筋肉内に TTX を単回投与した実験群でも同様の傾向が認められた。（参照 14）

その他の研究として、TTX を含む飼料を無毒¹⁴とされた養殖トラフグ（6 か月齢及び 15 か月齢）に 40 MU （8.8 µg）/20 g 体重の TTX 用量で単回強制経口投与（oral gavage）し、皮及び肝臓中の TTX 量を LC-MS 法により分析した結果が報告されている。TTX 投与後 24 時間では、6 か月齢の養殖トラフ

¹⁴ 無毒の定義については記載されていない。

グでは皮及び肝臓から TTX 量として 0.37 ～ 0.79 $\mu\text{g/g}$ 検出され、これは消化管における TTX 量の 0.39 $\mu\text{g/g}$ とほぼ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から検出された TTX 量が有意に高く、3.3 $\mu\text{g/g}$ であった。投与した TTX 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 が移行するが、成長して肝臓が発達すると、大部分の TTX は肝臓に蓄積することが示唆された。(参照 15)

このほか、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 をトラフグの肝静脈、門脈又は消化管に単回投与してから、投与 300 分後までの血中 TTX 濃度を継時的に LC/MS 法で分析するとともに、投与 300 分後に肝臓の TTX 濃度を分析した結果が報告されている。各経路の投与後の肝臓中に、肝静脈投与では投与量の $84 \pm 6\%$ 、門脈投与では $70 \pm 9\%$ 、消化管投与では $49 \pm 17\%$ の TTX が検出された。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、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されたとした。(参照 16)

③ フグ肝臓組織における TTX の取り込みについて

TTX がどのようにトラフグの肝臓に取り込まれるのかを *in vitro* で調べるため、フグ毒保有魚であるトラフグ (8 個体) 及びヒガンフグ (6 個体)、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 (2 検体) 及びウマヅラハギ (6 検体) の肝臓組織切片を用い、それぞれを、ヒガンフグの卵巣から抽出した TTX を 25 $\mu\text{g TTX/ml}$ の濃度で添加した培養液中で 20℃ で培養し、組織中の TTX 量を HPLC-FL 法により継時的に分析した結果が報告されている。その詳細を以下に示す。

肝臓組織切片は、2 mm 厚 $\times$ 10 mm 径の丸型スライスとした。実験に使用した肝臓組織切片について、実験前に TTX 量を分析したところ、いずれも TTX は検出されなかった ($< 0.3 \mu\text{g/g}$)。12 穴の培養プレートを用いて、肝臓組織切片を入れた培養液中に TTX を添加し、肝臓組織切片中の TTX 量を継時的に分析した。その結果、トラフグでは、TTX を添加後 1 時間目では TTX は検出されなかったが、2 時間目には 3.9 $\mu\text{g/g}$ 組織、24 時間目には 12.1 $\mu\text{g/g}$ 組織、48 時間目には 15 $\mu\text{g/g}$ 組織の TTX が検出された。48 時間目に培養液を交換し、一部には引き続き 25 $\mu\text{g TTX/ml}$ の培養液 (TTX 添加群) を、残りには TTX を含まない培養液 (TTX 非添加群) を加えて 96 時間まで培養したところ、TTX 添加群では 18.9 $\mu\text{g/g}$ 組織の TTX が検出され、TTX 非添加群で 12.9 $\mu\text{g/g}$ 組織の TTX が検出された。ヒガンフグではより高濃度の

TTX が検出され、TTX を添加後 48 時間目に 36.4 $\mu\text{g/g}$ 組織、96 時間目に 37.0 $\mu\text{g/g}$ 組織の TTX が検出された。対照として用いたフグ毒非保有魚の肝臓組織切片では、トラフグよりも早く、TTX 添加後 0.5 時間目の時点で TTX が検出された（イシダイ：3.9 $\mu\text{g/g}$ 組織、アイナメ：4.3 $\mu\text{g/g}$ 組織、ウマヅラハギ：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 時間目においても、0.5 時間目の TTX 量と有意な変化は認められなかった。これらの結果から、TTX は *in vitro* で細胞膜を透過し、フグの肝臓組織に蓄積されることが示唆された。（参照 17）

④ フグの成長過程における TTX 量の変化

国内で捕獲した天然のトラフグ 2 個体（親魚）から得たそれぞれの卵を人工授精させた受精卵（第 1 群及び第 2 群）を用いて、孵化後のトラフグの成長過程における TTX 量の変化を調べた参考文献がある。

受精卵から孵化したトラフグ幼生を、砂ろ過した海水を利用した屋内のタンク（9 m × 5 m × 1.5 m）で 50 日間飼育した。その後成長したトラフグの稚魚を海上の網生け簀（5 m × 5 m × 5 m）で約 50 日間飼育した。飼料は、孵化後 2～30 日にはワムシを、12～40 日にはブラインシュリンプを、25～50 日には市販のオキアミ、フィッシュミール及び squid meal（イカ粉）を、50 日からは市販の固形飼料をそれぞれ給与した。これらの飼料中 TTX 含量を HPLC-FL 法により分析したが、TTX は検出されなかった（< 0.04 $\mu\text{g TTX/g}$ ）。

第 1 群及び第 2 群の成長過程における TTX 量の変化を HPLC-FL 法により分析した結果を表 1 及び表 2 に示す。

表 1. 「第 1 群」の TTX 量

飼育日数	検体数	個体当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/個体}$)	体重当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/g 体重}$)
受精卵	549	0.016	13.0*
幼生			
3 日目	204	0.025	64.5
4 日目	141	0.030	67.6
5 日目	94	0.006	19.9
9 日目	98	0.008	15.0
10 日目	141	0.012	12.0
12 日目	73	0.014	8.38
16 日目	73	0.019	6.58
30 日目	41	0.029	0.74

40 日目	5	0.650	1.17
50 日目	3	0.632	0.64
稚魚			
70 日目	3	1.77	0.44
80 日目	3	2.84	0.40
98 日目	3	4.80	0.28

*受精卵については、体重当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/g}$ 卵重量) を示す。

(参照 18 から引用、作成)

表 2. 「第 2 群」の TTX 量

飼育日数	検体数	個体当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/個体}$)	体重当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/g}$ 体重)
受精卵	639	0.005	4.72*
幼生			
3 日目	60	0.006	16.0
4 日目	121	0.003	7.04
5 日目	119	0.001	2.42
8 日目	122	0.001	1.00
20 日目	71	0.003	0.52
50 日目	3	0.526	0.69
61 日目	3	1.07	0.46
稚魚			
71 日目	3	1.13	0.27
81 日目	3	1.42	0.24
88 日目	3	3.04	0.25

*受精卵については、体重当たりの TTX 量 ($\mu\text{g TTX/g}$ 卵重量) を示す。

(参照 18 から引用、作成)

この結果、孵化した幼生及び稚魚が成長する過程で、体重当たりの TTX 量は減少することが示された一方で、個体当たりの TTX 総量は、トラフグの幼生後期の孵化後 40 日目又は 50 日目から増加し始めることが示された。孵化後 50 日目まではろ過した海水を用いて室内で養殖したにもかかわらず、個体当たりの TTX 総量が増加しているが、この機構については、不明であるとしている。(参照 18)

(3) TTX を産生すると報告された細菌についての知見

TTX を産生する細菌を各種の試料から分離したとの報告がある。沖縄で採

集されたカニ（スベスベマンジュウガニ及びヒメイワオウギガニ）並びにサザエの内臓及び中腸腺から分離された *Pseudomonas* 属細菌（参照 19）を培養すると、HPLC-FL 法により細菌の培養液から TTX 及びアンヒドロテトロドトキシン（anhydroTTX）¹⁵が検出されたことが、1986 年に初めて報告された（参照 20）。その後もヒトデ腸内容物中から TTX を産生するとされた細菌が分離されたとの報告（参照 21）、海底堆積物等に TTX を産生するとされた細菌が分布しているとの報告（参照 22）がある。また、フグからも、TTX を産生するとされた多様な細菌が分離されたとの報告がある（別添資料 2、参照 23）。

代表的な海洋細菌 24 菌株について、培養後に HPLC 法で TTX を分析したところ、*V. alginolyticus*、*V. parahaemolyticus*、*V. anguillarum* 又は *Photobacterium phosphoreum* から TTX の類縁体である anhydroTTX が検出されたとの報告がある。*V. alginolyticus*¹⁶を 24 時間培養した培養液 400 ml から調製した粗毒抽出液を 1978 年のマウス試験法（参照 24）に基づいてマウスに腹腔内投与した結果、マウス 5 匹が死亡したとの報告がある。なお、*Alteromonas* 属菌及び大腸菌 *Escherichia coli* からは、TTX 及び anhydroTTX は検出されなかった。（参照 25）

また、TTX を産生すると報告された細菌を養殖のフグに経口投与する実験も行われている。クサフグの腸から分離された *Shewanella putrefaciens* を、HPLC-FL 法により確認し、TTX 及び anhydroTTX の産生を示す結果が得られた（参照 26）。このため、*S. putrefaciens* を市販の飼料に添加・混合し、無毒¹⁷であるとされた養殖のトラフグ及びクサフグに経口投与することによりフグの毒化の有無を調べた。*S. putrefaciens* を添加した飼料を 1 か月間給与したトラフグ 10 個体の肝臓が毒化しているかについて、HPLC-FL 法により TTX を分析したところ、1 個体のみ TTX と考えられるピークが検出され、肝臓全体の毒量として 1.4 MU 相当と算出された。この 1 個体を除いた他の個体では、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かった。（参照 27）

今回の諮問では、2005 年評価書における評価後に TTX を産生すると報告された細菌に関する新たな知見として、2011 年及び 2013 年に公表された参考文献が提出された。これらの報告によると、2013 年の時点において、TTX

¹⁵ 本評価書内における「anhydroTTX」については、原著の記載のままとしているが、「4,9-anhydroTTX」と同一の TTX 類縁体とされている。本類縁体は、化合物そのものの毒性は弱いが、容易に TTX に変換するとされている（松居 隆，酒井 浄．医学のあゆみ，1980;112（13）：852-860）。

¹⁶ マウス試験に使用した *V. alginolyticus* は ATCC 17749 株とされている。

¹⁷ 無毒の定義については記載されていない。

を産生すると報告された細菌として 23 の細菌属があるとしている。TTX 保有生物等から分離されている多様な細菌（*Vibrio* 属、*Bacillus* 属、*Pseudomonas* 属等）が TTX を産生するとされているものの、TTX 保有生物から高レベルの TTX が検出されることと比較し、実験室で培養されたこれらの細菌の培養液から検出される TTX の量はかなり少ない。また、本文献が公表された 2013 年時点において、これらの細菌での TTX の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いる。（参照 4、28、29）

Ⅲ．個別の毒性検査による管理

1．HPLC-FL 法による TTX の分析

(1) HPLC-FL 法による分析

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 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(参照 9、30、31)。

特定事業者は、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順、精度管理の実施規定及び社内合格基準値等については、今回の提案が認められた後、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であるとしている(参照 3、5)。また、HPLC-FL 法に使用する TTX の認証標準物質¹⁸は最近、海外で供給されるようになったが、世界的に広く普及しているわけではない。

今までに特定事業者が実施した、HPLC-FL 法で TTX を分析するための検討試験における試料の調製法の概要を以下に示す。

陸上養殖トラフグ各個体の肝臓の一部分¹⁹を採取し、ホモジナイズ後、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し、遠心分離を行い、上層の油分を除去後、肝臓抽出液(抽出比は 3。以下「肝臓抽出試料溶液」という。)を採取する。C18 ミニカラムを用いて肝臓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」という。)を試料として HPLC-FL 法(参照 32)により、TTX を分析した。

特定事業者が、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 法で分析した結果、TTX の溶出位置にピークはみられなかった(参照 32、33)。

(2) HPLC-FL 法の妥当性

特定事業者が使用している HPLC-FL 法については、フグの有毒部位の TTX を分析することにより、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たことはない。しかし、HPLC-FL 法とマウス試験法²⁰との相関性、及び個別検査の検出下限値について特定事業者により検討されているので、その結果を以下に示す。

¹⁸ 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、及び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。

¹⁹ 特定の部位ではない。

²⁰ 社団法人 日本食品衛生協会．厚生労働省監修．食品衛生検査指針 理化学編 2005 年版、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 マウス試験法と HPLC-FL 法の相関性

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 の試験が特定事業者により実施された。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った。

- 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に腹腔内注射し、参考法に基づいて毒力を算出する。
- b. HPLC-FL 法：(1) の方法で調製された試料溶液中の TTX を HPLC-FL 法で定量する。

マウス試験法で毒性が検出された 16 検体の毒力は、HPLC-FL 法による TTX 定量値を、 $0.22 \mu\text{g}$ の TTX が 1 MU に相当する²¹として MU/g に換算した値とほぼ一致し、その相関係数は 0.994 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 3.8 MU/g が検出されたが、HPLC-FL 法で定量したところ、 $<1.3 \text{ MU/g}$ との結果が得られている。（参照 34）

② 検出下限値について

社内合格基準とされる検出下限値は、分析機器導入後に設定予定であり、現時点では設定されていない。今までに特定事業者によって検討された 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以下に示す。

TTX 標準品（詳細不明）を 0.1%酢酸溶液で希釈し、TTX 毒力が 0.972～3.89 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果、相関係数は 0.999、定量下限値は 0.08 MU/ml (S (Signal) / N (Noise) = 10)、検出下限値は 0.03 MU/ml ($S/N=3$) であった。陸上養殖トラフグの肝臓 10 g から試料溶液約 30 ml (抽出比 3) を調製し、この試料溶液に TTX 標準品を添加して、0.389～2.37 MU/ml (肝臓中 TTX 1.17～7.02 MU/g に相当) の範囲で TTX を含む 4 点の試料を試験に用いた。最小濃度 0.389 MU/ml (肝臓中 TTX 1.17 MU/g に相当) の TTX を添加した試料からも TTX の検出は可能であった。（参照 32、34、35）

2. 検査部位（R4 部位）の妥当性

今回の提案では、陸上養殖トラフグの肝臓の検査において、R4 部位を採取

²¹ 社団法人 日本食品衛生協会．厚生労働省監修．食品衛生検査指針 理化学編，2005 年版、663 ページ及び厚生省環境衛生局監修 食品衛生検査指針Ⅱ 1978 年版、232-240 ページに「MU と毒量 (μg) を関係づける変換係数 (CF value) は、 $0.22 \mu\text{g}/\text{MU}$ である」と記載されている。

して検査を実施し、その毒力が検出下限値以下であることを社内合格基準とするとされている。その根拠として、提案書、提出された資料及び参考文献から以下の2点が示されている。

- 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（冷蔵されたもの。以下「生肝臓」という。）を試料とし、生肝臓を左右5部位ずつ計10部位（L1～L5、R1～R5）に分け、それぞれの部位の毒力をマウス試験法により調べ、比較した。58個体の生肝臓のうち42個体について、10部位全ての毒力を調べた結果、16個体は10部位全てに毒力が認められ、22個体は全ての部位で毒力が不検出であった。4個体は一部の部位に毒力が認められた。10部位全てをマウス試験法により調べた42個体について、肝臓全体の総毒力を肝臓の重量（g）で割って求めた最高平均毒力は709 MU/gであり、100～999 MU/gが10個体、10～99 MU/gが5個体、10 MU/g未満が27個体であった。このうち、肝臓の10部位全てに毒力が認められた16個体のデータを用いて、各部位の相対毒力を比較すると、肝臓のR4部位の毒力が他の部位に比べて有意に強い値となった（別添資料3、4参照）。なお、58個体の生肝臓のうち、これらの42個体を除いた残りの16個体については、1部位のみのマウス試験法に基づき無毒とした。（参照5）
- 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、毒力の分布についてはR4部位の相対毒力が強いことが確認された。さらに、R4部位の毒力から肝臓全体の毒力を推計した。R4部位の毒力が検出下限値以下²²の試料について、その毒力が0～3 MU/gの間をとる一様乱数と仮定すると、肝臓全体の最大毒力が10 MU/g以下であることが確率99%で保証されるR4部位の毒力の中央値は6.23 MU/g、最小値は5.91 MU/g、最大値は6.50 MU/gと推計された。さらに、R4部位の毒力が検出下限値（3.85 MU/g）以下の場合、99.9999%の確率で個体の最大毒力が10 MU/g以下となることを示している。（参照3、4、5、36）

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、トラフグ肝臓のR4部位が、相対的な毒力が統計的に有意に強いとの結果が得られている（参照5）。しかし、R4部位の毒力が強いことを示す解剖学的及び生理学的なデータは報告されておらず（参照4）、「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」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ていない。

²² 特定事業者らは検出下限値を3 MU/gとしている。

トラフグ 6 個体の肝臓の毒力分布について調べられた別の研究結果（1999 年の博士論文の研究（参照 37））がある。肝臓重量 161～189 g の 3 個体のトラフグの肝臓内で毒力の分布変動がみられたが、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している。しかし、肝臓重量 246～827 g の 3 個体のトラフグ肝臓²³では、消化管側と反対の下端部位では<3 MU/g であるのに対し、他の部分では、159～170 MU/g と、肝臓内での毒力の分布に大きな変動があったとしている。（参照 37）。

3. TTX 類縁体及び麻痺性貝毒（PSP）

（1）TTX 類縁体

フグの有毒部位に含まれる主要な毒性物質は TTX であるが、HPLC-FL 法を用いた分析により、トラフグの肝臓等から 4-*epi* TTX、アンヒドロテトロドトキシン（4,9-anhydro TTX）、テトロドン酸等の類縁体もわずかに検出されている。TTX は、中性水溶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-anhydroTTX を経て毒性の極めて弱いテトロドン酸となることが報告されている。（参照 38、39、40）

Takifugu 属のフグでは、ヒガンフグ、コモンフグ及びクサフグから、4-*epi* TTX、4,9-anhydroTTX、6-*epi* TTX、4-CysTTX、5-deoxyTTX、6-deoxyTTX、11-deoxyTTX、5,11-dideoxyTTX、6,11-dideoxyTTX、5,6,11-trideoxyTTX、11-norTTX-6 (*S*)-ol、11-norTTX-6 (*R*)-ol 及び 11-oxoTTX といった類縁体が検出されたとの報告がある（参照 41、42、43、44、45）。

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、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体である 4,9-anhydroTTX、6,11-dideoxyTTX 及び 5,6,11-trideoxyTTX は類縁体の中でも毒性が弱いとされている。これらの TTX 類縁体が全体の毒力に寄与する割合は極めて低いとされている。このほかにも、TTX 類縁体の毒性が報告されている。（別添資料 6、参照 30、38、46）

一方、11-oxoTTX は、TTX と比較し、*in vitro* 試験により Na チャネル阻害作用が同等～5 倍強いことが報告されており、類縁体のなかでも毒性が強いことが示唆されている（参照 47、48）。

また、コモンフグの卵巣で 11-oxoTTX がごく微量検出されたが、ヒガンフグの肝臓及び卵巣では、11-oxoTTX は検出下限値未満であったとの報告がある（参照 42、43）。

長崎県、熊本県等では、小型巻貝のキンシバイによる TTX 中毒が報告されて

²³ 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ている。

いる（厚生労働省「平成 20 年（2008 年）及び平成 19 年（2007 年）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 により有毒成分を分析した結果、TTX 及び 11-oxo TTX と推定される成分が検出された。マウス毒性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、マウスに対する 11-oxoTTX の比毒性を TTX の 2 倍と仮定すると、残りの毒力が説明できるとする報告がある（参照 49）。

（2）麻痺性貝毒（PSP）

麻痺性貝毒（以下「PSP」という。）は、主に有毒渦鞭毛藻が産生する神経毒で、サキシトキシン（以下「STX」という。）とその類縁体群からなる。PSP は神経-筋細胞上にある TTX が結合する受容体と同じ受容体に結合して毒性を発現する。（参照 50）

PSP は、フグにも存在することが報告されている。トラフグ属では、日本沿岸部で採取されたヒガンフグ、コモンフグ及びナシフグから STX が検出されている。フグから PSP が初めて検出されたのは、ヒガンフグの肝臓から TTX と共存して 0.01 %程度の STX が検出されたとする報告である（参照 51）。また、ほぼ同時期に、コモンフグ及びナシフグの肝臓からも、TTX と共存して 1 %以下の STX が検出され、さらに、「未知の毒」とされる毒も検出されたと報告されている（参照 52）。ヒガンフグについては、2006 年にも STX 及び decarbamoyl STX²⁴（以下「dcSTX」という。）が検出されたとの報告がある（参照 41）。

さらに、HPLC 法によりホシフグの卵巣の TTX 及び PSP を分析した結果、検出された毒素の 84～100%が PSP（STX 及び dcSTX）であった例（参照 53）、及びキタマクラの皮から 1～2.8 MU/g 相当の STX 及び dcSTX が検出された例が報告されている（参照 54）。また、沖縄産サザナミフグの皮からは、LC-MS 法で、STX 及び dcSTX（3.46 µg STX 当量（equivalent（eq.））/g）が検出されている（参照 55）。

海外では、フィリピンにおいてケショウフグ、サザナミフグ、モヨウフグ及びワモンフグの肝臓から STX 及び neoSTX²⁵が主要な毒成分（全体の 80～100%）として検出された。また、スジモヨウフグ及びコクテンフグでは TTX と PSP がほぼ同比率で含まれ、オキナワフグでは TTX が主要成分である等、フグの種類によって毒の組成が異なるとされている。（参照 56）

²⁴ dcSTX（decarbamoyl-saxitoxin）：STX 類縁体群のうち脱カルバモイル毒群の 1 つ。比毒性は STX の 50～60%の強さとされている。（社団法人 日本食品衛生協会、厚生労働省監修、食品衛生検査指針 理化学編（社団法人日本食品衛生協会、2005；678-679）

²⁵ neoSTX（neosaxitoxin）：STX 類縁体群のうち STX と同じカルバメート毒群の 1 つ。比毒性はほぼ STX に等しいとされている。（社団法人 日本食品衛生協会、厚生労働省監修、食品衛生検査指針 理化学編（社団法人日本食品衛生協会、2005；678-679）

また、海外では、フグに含まれる PSP による食中毒も発生している。2002 年から 2004 年まで、アメリカ東海岸でフグによる食中毒が多発し、その原因がフロリダ州の限定された海域で捕獲されたヨリトフグ属の 1 種 *Sphoeroides nephelus* であることが明らかになった。本種は筋肉に高濃度の PSP (STX を主成分、dcSTX、GTX5²⁶を微量成分とする) を含み、TTX は極微量であったとされている。同海域から採取された他 2 種 *S. testudineus* 及び *S. spengleri* にも *S. nephelus* より低濃度ではあるが STX が検出されている。同じ毒成分を含むことから同海域に発生していた有毒渦鞭毛藻 *Pyrodinium bahamense* が起源であると推定されている。この中毒については、一般の TTX によるものと区別して「STX フグ中毒 (saxitoxin puffer fish poisoning)」と呼ぶことが提唱されている。(参照 50、57、58)

フグ類は淡水に生息する種類も多い。東南アジア (タイ、バングラデシュ及びカンボジア) 及びブラジルの淡水フグの多くが PSP をその毒性の主成分として含むとされているおり、食中毒の原因となることもある。報告された全ての種が STX を含んでいるが、他の STX 類縁体を含む複雑な毒組成を示すものも多いとされている (参照 59、60、61、62、63、64)。

トラフグの肝臓については、現時点では、国内外で PSP が検出された例は報告されていない。*in vitro* の試験としては、肝臓組織切片を用いて TTX 又は PSP の蓄積が調べられたものがある。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すると、TTX は 12 時間後に $21.5 \pm 7.3 \mu\text{g} / \text{g}$ 肝臓重量、48 時間後に $55.3 \pm 8.2 \mu\text{g} / \text{g}$ 肝臓重量 検出されたのに対し、PSP は 12 時間後に $6.3 \pm 0.9 \mu\text{g} / \text{g}$ 肝臓重量で検出されたものの、その後増加しなかったことから、著者らは、トラフグの肝臓では TTX を特異的に蓄積するものと考察している。(参照 65)

²⁶ GTX5 (Gonyautoxin) 5 : STX 類縁体群のうち側鎖カルバモイル基がスルホン化された N-スルホカルバモイル毒群の 1 つ。比毒性はカルバメート型毒の数分の 1 から十数分の 1 と極めて低いとされている。(社団法人 日本食品衛生協会、厚生労働省監修、食品衛生検査指針 理化学編 (社団法人日本食品衛生協会、2005; 678-679)

IV. 食品健康影響評価

1. 評価結果

特定事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグについて、特定事業者が個体ごとに肝臓の一部を HPLC-FL 法により分析を行い、検出下限値以下（社内合格基準値以下）の場合、特定飲食店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行うことが提案された。

トラフグの肝臓は、不可食部位として、食品衛生法第 6 条第 2 号に基づき、販売等が禁止されている。しかしながら、第 59 号通知において認められているフグの種類及び可食部位以外の喫食による食中毒が散発的に発生しており、死亡する事例が現在でも報告されている。

(1) フグの毒化機構等

2005 年評価書では、フグ毒の主体である TTX は「トラフグ自らが体内で產生するのではなく、*Vibrio alginolyticus* 等の海中の細菌が產生し、食物連鎖によりフグの体内に蓄積する」という 2005 年提案者の主張について、2005 年時点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いえないとされた。

陸上養殖トラフグ肝臓の毒性については、今回、2005 年評価書における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 年度から 2015 年度までの計 5,999 個体の肝臓について、参考法を一部変更したマウス試験法による試験結果が提出された。これによると、いずれの陸上養殖トラフグの肝臓も毒力は <2 MU/g 又は <8 MU/g であったと報告されている。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、その変更の妥当性を確認した試験データはない。

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ラフグに 60 日間給与した結果、添加した TTX 量が高濃度であるほどトラフグの肝臓から強い毒力が検出された一方、TTX が添加されていない飼料を給与された養殖トラフグの体内からは毒力は検出されなかったとの報告がある。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示唆しているものの、2005 年評価書における評価以降の知見からもトラフグの毒化機構が TTX の経口摂取以外に存在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 が蓄積する機構も不明であり、トラフグ体内で TTX が肝臓に選択的に蓄積される機構についても未だ明らかになっていない。さらに、TTX を產生するとされる菌株が複数報告されているが、産生物の同定は HPLC 法によるものがほとんどで、また検出された TTX も極めて微量である。単離された産生物の化学構造を、核磁気共鳴法等の、より高精度な同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 を産生すると報告された細菌における TTX の生合成経路、TTX を産生すると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 を産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域等、不明な点が多い。

以上の毒化機構に関する未解明な点を考慮すると、提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、その危害要因及び制御すべき点を特定することができず、現時点においては、食品としての安全性が確保されていると確認することはできない。

(2) 個別の毒性検査による管理

① HPLC-FL 法による TTX の分析

今回の提案によると、陸上養殖トラフグの肝臓について、部位別の毒力が相対的に強いとされる肝臓の R4 部位の TTX 濃度を HPLC-FL 法を用いて分析し、検出下限値以下（社内合格基準値以下）である場合に、特定飲食店において提供するとしている。

しかし、今回提案された HPLC-FL 法は、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たことはない。

また、今回の提案においては、特定事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグの肝臓を検査する際の具体的な手順は示されておらず、分析に用いる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、提案された検査法の妥当性及び分析の精度管理については、今後検討することとしている。

さらに、特定事業者の管理下で陸上養殖されたトラフグの肝臓の R4 部位を、提案された HPLC-FL 法を用いる機器分析で分析したデータはない。

このため、提案された個別の毒性検査の方法が、特定事業者の管理下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できない。

② 検査部位（R4 部位）の妥当性

トラフグの肝臓の R4 部位の毒力が相対的に強いことについて、特定事業者から、以下の 2 点の根拠が示された。

- ・ 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～R5）に測定し、肝臓の 10 部位全てで毒力が検出された合計 16 個体について、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ると、R4 部位に比べて R4 以外の部位が強い毒力を示す個体もあるが、統計的に R4 部位の毒力が、他の部位に比べて有意に強い結果となった。
- ・ さらに、毒力が不検出とされた個体の肝臓を含む合計 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よる統計解析を行った結

果、R4 部位の相対毒力が他の部位に比べて強いこと、また、R4 部位の毒力の値が検出下限（3.85 MU/g）以下の場合は、99.9999%の確率で個体の最大毒力が 10 MU/g 以下となることを示している。

しかしながら、R4 部位の毒力が相対的に強いことについては、解剖学的、生理学的に説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大きなばらつきがあるとする報告もある。

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の安全性を保証できると判断することはできない。

③ TTX 類縁体及び麻痺性貝毒（PSP）

今回の提案では、陸上養殖トラフグの肝臓の一部を、提案された検査法により個別に分析する際の分析対象物質は TTX のみとしている。

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、TTX のほか、4-*epi* TTX、4,9-anhydro TTX、テトロドン酸等の類縁体が検出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体の種類及び蓄積量について網羅的に分析したデータは報告されていない。また、TTX と比較して類縁体の毒性は弱いとされているが、11-oxo TTX については TTX より毒性が強いことを示唆する報告もある。したがって、陸上養殖トラフグの肝臓に、TTX に匹敵する強い毒性を持つ類縁体が含まれる可能性を否定することはできない。

PSP については、2005 年評価書において、「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」とされている。現時点ではトラフグの肝臓から PSP を検出した報告はないものの、他の種類のフグでは食中毒の原因になるほど高濃度の存在が報告されている。PSP によるフグの毒化機構についても不明な点が多く、陸上養殖トラフグの肝臓に PSP が蓄積する可能性を否定することはできない。

これらのことから、分析対象物質を TTX のみとすることが、陸上養殖トラフグの肝臓の安全性を確保する上で妥当であるかについて判断することはできない。

（３）まとめ

以上のことから、現時点の知見及び提出された試験・検討結果からは、提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、個別の毒性検査を行うことにより、食品としての安全性が確保されると確認することはできない。

厚生労働省は第 59 号通知において、処理等により人の健康を損なうおそれがないと認められるフグの種類及び可食部位を定め、それら以外の種類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きた。第 59 号通知の発出前と発出後と比較すると、フグの食中毒による死者数は減少傾向にある。また、フグの伝統食については、過去の食経験を前提に、食品衛生法第 6 条第 2 号ただし書に規定する「人の健康を損な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等が禁止されてきたフグの部位について、個別検査を行うことで販売等が認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一部分を機器分析により個別検査し、TTX 濃度が検出下限値以下であれば販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。このような管理体制の変更については、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、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いて検討を行う必要があると考える。

2. 安全性の確保のための管理体制

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、これらについても具体的に検討する必要があると考える。

- ・ TTX は毒性が非常に強い物質であるため、特定事業者の管理下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の確保については、最終製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、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、厳格な管理体制が重要である。
- ・ 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ある。
- ・ 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認する必要がある。また、検査の信頼性を確保する業務は、検査等の業務から独立させ、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。

<略語一覧>

略称	名称
GTX	ゴニオトキシン (Gonyautoxin)
HPLC	高速液体クロマトグラフ (High Performance Liquid Chromatography)
HPLC-FL	高速液体クロマトグラフ蛍光検出
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 ₅₀	半数致死量 (Lethal Dose 50)
LD ₉₉	99%致死量 (Lethal Dose 99)
LD ₁₀₀	100%致死量 (Lethal Dose 100)
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	テトロドトキシン (Tetrodotoxin)

< 参照 >

- 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 0111001 号 「食品健康影響評価について」
- 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（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. 2005
- 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. （非公開資料）
- 4 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」
- 5 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花 他. 天然トラフグ肝臓の毒性分布. 食品衛生学雑誌, 2013; 54(4): 277-281
- 6 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」内 提出資料「1981－2015 年度：毒性試験数（萬坊陸上養殖ほか）」
- 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; 16: 157-162
- 8 厚生労働省 医薬・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 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出について」
- 9 社団法人 日本食品衛生協会. 厚生労働省 監修. 食品衛生検査指針 理化学編, 2005: 661-666
- 10 厚生労働省 医薬・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 30 日付け 生食監発 1130 第 3 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」
- 11 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」内 提出資料「種苗生産履歴書 H26. 平成 26 年 8 月 18 日」
- 12 Itoi S, Kozaki A, Komori K, Tsunashima T, Noguchi S, Kawane M et al. Toxic *Takifugu pardalis* eggs found in *Takifugu niphobles* gut : Implications for TTX accumulation in the pufferfish. Toxicon, 2015; 108: 141-146 and Appendix A (supplementary data)
- 13 本田俊一, 荒川 修, 高谷智裕, 橘 勝康, 八木基明, 谷川昭夫 他. テトロ

- ドトキシン添加飼料投与による養殖トラフグ *Takifugu rubripes* の毒化.
日本水産学会誌, 2005; 71: 815-820
- 14 Wang J, Araki T, Tatsuno R, Nina S, Ikeda K, Takatani T et al. Transfer profile of orally and intramuscularly administered tetrodotoxin to artificial hybrid specimens of pufferfish, *Takifugu rubripes* and *Takifugu porphyreus*. Food Hyg. Saf. Sci, 2012; 53: 33-38
 - 15 Tatsuno R, Shikina M, Shirai Y, Wang J, Soyano K, Nishihara GN et al. Change in the transfer profile of orally administered tetrodotoxin to non-toxic cultured pufferfish *Takifugu rubripes* depending of its development stage. Toxicon, 2013; 65: 76-80
 - 16 Matsumoto T, Nagashima Y, Kusuhara H, Ishizaki S, Shimakura K, Shiomi K. Pharmacokinetics of tetrodotoxin in puffer fish *Takifugu rubripes* by a single administration technique. Toxicon, 2008; 51: 1051-1059
 - 17 Nagashima Y, Toyoda M, Hasobe M, Shimakura K, Shiomi K. *In vitro* accumulation of tetrodotoxin in pufferfish liver tissue slices. Toxicon, 2003; 41: 569-574
 - 18 Nagashima Y, Mataka I, Toyoda M, Nakajima H, Tsumoto K, Shimakura K et al. Change in tetrodotoxin content of puffer fish *Takifugu rubripes* during seed production from fertilized eggs to juveniles. FoodHyg Saf Sci, 2010; 51: 48-51
 - 19 Kotaki Y, Oshima Y, Yasumoto T. Bacterial transformation of paralytic shellfish toxins in coral reef crabs and a marine snail. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1985; 51(6): 1009-1013
 - 20 Yasumoto T, Yasumura D, Yotsu M, Michishita T, Endo A, Kotaki Y. Bacterial production of tetrodotoxin and anhydrotetrodotoxin. Agr. Biol. Chem, 1986; 50: 793-795
 - 21 Narita H, Matsubara S, Miwa N, Akabane S, Murakami M, Goto T et al. *Vibrio alginolyticus*, a TTX-producing bacterium isolated from the starfish *Astropecten polyacanthus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 1987; 53: 617-621
 - 22 Kogure K, Do HK, Thuesen EV, Nanba K, Ohwada U, Shimidu U. Accumulation of tetrodotoxin in marine sediment. Marine Ecol. Prog. Ser, 1988; 45: 303-305
 - 23 Yu V C-H, Yu P H-F, Ho K-C, Lee F W-F. Isolation and identification of a new tetrodotoxin-producing bacterial species, *Raoultella terrigena*, from Hong Kong marine puffer fish *Takifugu niphobles*. Mar Drugs, 2011; 9:

2384-2396

- 24 厚生省環境衛生局監修. 食品衛生検査指針. 1978: 232-240
- 25 Simidu U, Noguchi T, Huang D-F, Shida Y, Hashimoto K. Marine bacteria which produce tetrodotoxin. Appl. Environm. Microbiol, 1987; 55: 1714-1715
- 26 Matsui T, Taketsugu S, Kodama K, Ishii A, Yamamori K, Shimizu C. Production of tetrodotoxin by the intestinal bacteria of a puffer fish *Takifugu niphobles*. Nippon Suisan Gakkaishi, 1989; 55(12): 2199-2203
- 27 Matsui T, Taketsugu S, Sato S, Yamamori H, Kodama K, Ishii A et al. Toxicification of cultured puffer fish by the administration of tetrodotoxin producing bacteria. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 1990; 56(4): 705
- 28 Chau R, Kalaitzis JA, Neilan BA. On the origins and biosynthesis of tetrodotoxin. Aquatic Toxicology, 2011; 104: 61-72
- 29 Chau R, Kalaitzis JA, Wood SA, Neilan BA. Diversity and Biosynthetic Potential of Culturable Microbes Associated with Toxic Marine Animals. Mar. Drugs, 2013; 11: 2695-2712
- 30 Yasumoto T, Michishita T. Fluorometric determination of tetrodotoxin by high performance liquid chromatography. Agr. Biol. Chem, 1985; 49: 3077-3080
- 31 Yotsu M, Endo A, Yasumoto T. An Improved Tetrodotoxin Analyzer. Agricultural and Biological Chemistry, 1989. 53(3): 893-895
- 32 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フグ肝臓中のテトロドトキシン分析下限値. 2011
- 33 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」内 提出資料「養殖トラフグ肝臓の HPLC-FL 分析概要」
- 34 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験による天然トラフグ中のテトロドトキシン測定値の相関. 2011
- 35 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」内 提出資料「HPLC クロマトグラム (TTX 分析下限値)」
- 36 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. トラフグ肝臓の食品安全性評価について
- 37 渕 祐一. 西日本産フグの毒性に関する研究. 1998 年 12 月. 長崎大学学術研究成果リポジトリ (1999-0331) : 1-151

- 38 渕 祐一, 森崎澄江, 長田 忠, 嶋崎晃次, 野口玉雄, 大友信也 他. 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ンの定量. 食品衛生学雑誌, 1988; 29(5): 306-312
- 39 長島裕二, 荒川 修, 佐藤 繁, 松浦啓一, 長島裕二 編. 第 2 章 フグ毒, “毒魚の自然史”. 北海道大学出版会, 2015: 33-103
- 40 Nakamura M, Yasumoto T. Tetrodotoxin derivatives in puffer fish. *Toxicon*, 1985; 23(2): 271-276
- 41 Jang J, Yotsu-Yamashita M. Distribution of tetrodotoxin, saxitoxin, and their analogs among tissues of the puffer fish *Fugu pardalis*. *Toxicon*, 2006; 48: 980-987
- 42 Kudo Y, Finn J, Fukushima K, Sakugawa S, Cho Y, Konoki K et al. Isolation of 6-deoxytetrodotoxin from the pufferfish, *Takifugu pardalis*, and a comparison of the effects of the C-6 and C-11 hydroxy groups of tetrodotoxin on its activity. *J Nat Prod*, 2014; 77: 1000-1004
- 43 Yotsu-Yamashita M, Abe Y, Kudo Y, Ritson-Williams R, Paul VJ, Konoki K et al. First identification of 5,11-dideoxytetrodotoxin in marine animals, and characterization of major fragment ions of tetrodotoxin and its analogs by high resolution ESI-MS/MS. *Mar Drugs*, 2013; 11: 2799-2813
- 44 Jang JH, Lee JS, Yotsu-Yamashita M. LC/MS analysis of tetrodotoxin and its deoxy analogs in the marine puffer fish *Fugu niphobles* from the southern coast of Korea, and in the brackishwater puffer fishes *Tetraodon nigroviridis* and *Tetraodon biocellatus* from Southeast Asia. *Mar Drugs*, 2010; 8: 1049-1058
- 45 Endo A, Khora SS, Murata M, Naoki H, Yasumoto T. Isolation of 11-Nor tetrodotoxin-6(*R*)-ol and other tetrodotoxin derivatives from the puffer *Fugu Niphobles*. *Tetrahedron Letters*, 1988; 29(33): 4127-4128
- 46 厚生労働省 医薬・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 8 月 30 日付け 生食監発 0830 第 1 号 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」内 提出資料「TTX 類縁体について」
- 47 Wu BQ, Yang L, Kao CY, Levinson SR, Yotsu-Yamashita M, Yasumoto T. 11-oxo tetrodotoxin and a specifically labelled ³H-tetrodotoxin. *Toxicon*, 1996; 34(4): 407-416
- 48 Saruhashi S, Konoki K, Yotsu-Yamashita M. The voltage-gated sodium ion channel inhibitory activities of a new tetrodotoxin analogue, 4,4a-anhydrotetrodotoxin, and three other analogues evaluated by colorimetric cell-based assay. *Toxicon*, 2016; 119: 72-76

- 49 谷山茂人, 諫見悠太, 松本拓也, 長島裕二, 高谷智裕, 荒川 修. 腐肉食性巻貝キンシバイ *Nassarius (Alectrion) glans* に認められたフグ毒の毒性と毒成分. 食品衛生学雑誌, 2009; 50(1): 22-28
- 50 Landsberg JH, Hall S, Johannessen JN, White KD, Conrad SM, Abbott JP et al. Saxitoxin Puffer Fish Poisoning in the United States, with the First Report of Pyrodinium bahamense as the Putative Toxin Source. Environmental Health Perspectives, 2006; 114(10): 1502-1507
- 51 Kodama Y, Ogata T, Noguchi T, Maruyama J, Hashimoto K. Occurrence of saxitoxin and other toxins in the liver of the pufferfish *Takifugu pardalis*. Toxicon, 1983; 21(6): 897-900
- 52 Nakamura M, Oshima Y, Yasumoto T. Occurrence of saxitoxin in puffer fish. Toxicon, 1984; 22(3): 381-385
- 53 Nakashima K, Arakawa O, Taniyama S, Nonaka M, Takatani T, Yamamori K et al. Occurrence of saxitoxins as a major toxin in the ovary of a marine puffer *Arothron firmamentum*. Toxicon, 2004; 43: 207-212
- 54 仲谷 正, 清水 充, 山野哲夫. キタマクラ (*Canthigaster rivulata*) 中のテトロドトキシン (TTX), および麻痺性貝毒 (PSTs) の含有量と組成について. 食品衛生学雑誌, 2016; 57(2): 51-56
- 55 Puilingi CG, Kudo Y, Cho Y, Konoki K, Yotsu-Yamashita M. Tetrodotoxin and Its Analogues in the Pufferfish *Arothron hispidus* and *A. nigropunctatus* from the Solomon Islands: A Comparison of Their Toxin Profiles with the Same Species from Okinawa, Japan. Toxins, 2015; 7: 3436-3454
- 56 Sato S, Ogata T, Borja V, Gonzales C, Fukuyo Y, Kodama M. Frequent occurrence of paralytic shellfish poisoning toxins as dominant toxins in marine puffer from tropical water. Toxicon, 2000; 38: 1101-1109
- 57 Quilliam M, Wechsler D, Marcus S, Ruck B, Wekell M, Timothy Hawryluk T. Detection and identification of paralytic shellfish poisoning toxins in Florida pufferfish responsible for incidents of neurologic illness. in "Harmful Algae 2002" (Proceedings of Xth International Conference, St. Pete Beach, Florida, USA, October 21-25, 2002), Eds. Steidinger KA, Landsberg JH, Tomas CR, Vargo GA, IOC of UNESCO), 2004: 116-118
- 58 Deeds JR, White KD, Etheridge SM, Landsberg JH. Concentrations of saxitoxin and tetrodotoxin in three species of puffers from the Indian River Lagoon, Florida, the location for multiple cases of saxitoxin puffer poisoning from 2002-2004. Transactions of the American Fisheries Society, 2008; 137: 1317-1326

- 59 Sato S, Kodama M, Ogata T, Saitanu K, Furuya M, Hirayama K et al. Saxitoxin as a toxic principle of a freshwater puffer, *Tetraodon fangi*, in Thailand. *Toxicon*, 1997; 35(1): 137-140
- 60 Zaman L, Arakawa O, Shimosu A, Shida Y, Onoue Y. Occurrence of paralytic shellfish poison in Bangladeshi freshwater puffers *Toxicon*, 1997; 35(3): 423-431
- 61 Kungsuwan A, Arakawa O, Promdet M, Onoue Y. Occurrence of paralytic shellfish poisons in Thai freshwater puffers. *Toxicon*, 1997; 35(8): 1341-1346
- 62 Ahmed MS, Jaime E, Reichelt M, Luckas B. Paralytic shellfish poison in freshwater puffer fish (*Tetraodon cutcutia*) from the River Burigonga, Bangladesh. in "Harmful Algal Bloom 2000" (Proceedings of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms, Hobart, Australia, 7-11 February 2000) eds. Hallegraeff GM, Blackburn SI, Bolch CJ, Lewis RJ, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 2001: 19-21
- 63 Oliveira JS, Rego Fernandes SC, Schwartz CA, Bloch C, Taquita Melo JA, Pires OR et al. Toxicity and toxin identification in *Colomesus asellus*, an Amazonian (Brazil) freshwater puffer fish. *Toxicon*, 2006; 48: 55-63
- 64 Ngy L, Tada K, Yu CF, Takatani T, Arakawa O. Occurrence of paralytic shellfish toxins in Cambodian Mekong pufferfish *Tetraodon turgidus*: selective toxin accumulation in the skin. *Toxicon*, 2008; 51: 280-288
- 65 Matsumoto T, Nagashima Y, Takayama K, Shimakura K, Shiomi K. Difference between tetrodotoxin and saxitoxins in accumulation in puffer fish *Takifugu rubripes* liver tissue slices. *Fish Physiol. Biochem*, 2005; 31: 95-100

＜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：
厚生省 食中毒事件録から
引用、作成

昭和 56 年～平成 27 年：
厚生労働省 食中毒統計か
ら引用、作成

＜別添資料 2＞ フグから分離されたテトロドトキシンを産生すると報告された細菌（1987-2011 年）

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fグの腸
1989	<i>Shewanella putrefaciens</i>	クサfグの腸
2000	<i>Vibrio</i> 属	ナシfグの腸
2004	<i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i>	クサfグの卵巣
2004	<i>Serratia marcescens</i>	オキナワfグの皮
2004	<i>Vibrio alginolyticus</i>	コモnfダマシの腸
2005	<i>Actinomyces</i> 属	トラfグの卵巣
2005	<i>Bacillus</i> 属	トラfグの卵巣、肝臓及び腸
2005	<i>Nocardiosis dassonillei</i>	トラfグの卵巣
2007	<i>Proteobacteria</i> , CFB group*, <i>Spirochaetales</i>	メfグの皮、腸、卵巣及び肝臓
2010	<i>Aeromonas</i> 属	メfグの卵巣
2010	<i>Bacillus</i> 属	メfグの卵巣
2010	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	メfグの肝臓
2011	<i>Raoultella terrigena</i>	クサfグの腸

*CFB group: Cytophage-Flavobacterium-Bacteroidetes

（別添資料 2 参照 1）から引用、作成

＜別添資料 2 参照＞

1. Yu V C-H, Yu P H-F, Ho K-C, Lee F W-F. Isolation and identification of a new tetrodotoxin-producing bacterial species, *Raoultella terrigena*, from Hong Kong marine puffer fish *Takifugu niphobles*. *Mar Drugs*, 2011; 9: 2384-2396

＜別添資料 3＞ 検査部位（R4 部位）の妥当性について

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 分割し、更に上下の全長を均等に 5 分割して 10 部位（L1～L5 及び R1～R5）に分けた（図 1）。

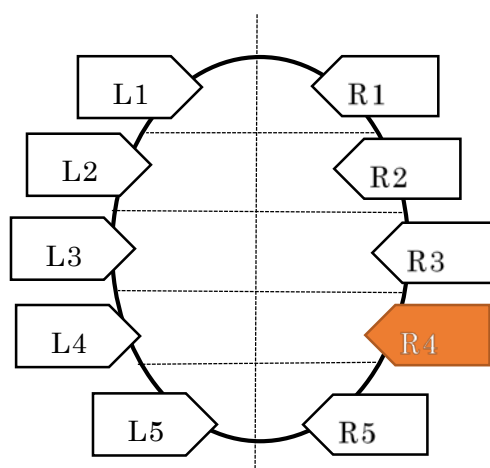


図 1. 肝臓の検査部位概要：消化管との隣接面が裏側、肝門脈との結合部を上部とする
（別添資料 3 参照 1 の図 1 を引用、改変して作図）

厚生労働省監修 食品衛生検査指針 理化学編 フグ毒マウス検査法（参考法）
27 （別添資料 3 参照 2）に準じ、各部位をホモジナイズ後、通常はホモジネート（懸濁液）の 2 倍量又は試料量が少ない場合は 3～5 倍量の 0.1% 酢酸溶液を加えて加熱抽出し、それぞれホモジネートを含め、4、5 又は 6 倍量に定容した後、遠心分離し、上清を試験液とし、必要に応じて適宜希釈の上、ddY 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 g 当たりの毒力を算出した²⁸。

その結果、生肝臓 58 個体のうち、16 個体は 10 部位全てがマウスに毒性を示し、22 個体は全ての部位で毒力が未検出であった。4 個体は一部の部位で毒力が認められ、残り 16 個体は 1 部位のみのマウス試験法に基づき無毒とされた。

全 10 部位にマウス毒力が認められた生肝臓（n=16（検体番号 No.1～14、32、

²⁷ 社団法人 日本食品衛生協会．厚生労働省監修．食品衛生検査指針 理化学編， 2005； 661-666。

²⁸ 3、4、5 又は 6 倍量の定容により、検出下限値はそれぞれ 3、4、5 又は 6 MU/g としている。

33) 別添資料 4 参照) 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比較したところ、おおむね中央部の毒力が強く、両端の毒力が弱い傾向がみられた。各部位の相対毒力について、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、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、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強く ($p=0.0007$)、上下では中央の部位 4 の毒力が他の部位よりも強かった ($p=0.00005$)。また、R4 の毒力を 1 とすると他の部位の相対毒力の平均 (±標準偏差) は 0.88 ± 0.21 、最大値は 1 個体における L1 部位の 1.7 であった。

<別添資料 3 参照>

1. 谷口香織, 高尾秀樹, 新名真也, 山中祐二, 岡田幸長, 中島梨花 他. 天然トラフグ肝臓の毒性分布. 食品衛生学雑誌, 2013; 54(4): 277-281
2. 社団法人 日本食品衛生協会. 厚生労働省 監修. 食品衛生検査指針 理化学編. 2005: 661-666

<別添資料 4> 天然トラフグ肝臓における毒力の分布（16 個体）

個体 番号	生/ 凍結	肝臓重量 (g)	平均毒力 (MU/g)*	部位別毒力 (MU/g)										最大値 /R4	最大値 /最小値
				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	2.151
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	1.590
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	1.502
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	2.112
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	1.666
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	1.337
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	1.660
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	1.413
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	2.066
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	1.807
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	2.339
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	4.304
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	1.672
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	2.065
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	2.589
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	1.620

* 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。

提案者から提出された資料を基に作成

＜別添資料 5＞ 天然トラフグ肝臓における毒力の分布（42 個体）

個体番号	生/凍結	肝臓重量 (g)	平均毒力 (MU/g)*	部位別毒力 (MU/g)										最大値 /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	<3.0	-
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
43	凍結	674.6	392	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	凍結	537.4	202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	凍結	430.1	183	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	凍結	514.6	153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	凍結	361.6	148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	凍結	541.7	125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	凍結	404.6	115	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	凍結	264.6	82.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	凍結	373.3	25.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	凍結	348.9	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	凍結	242.5	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	凍結	127.7	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	凍結	241.1	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* 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。

** マウスに投与する試験液の作製方法により検出下限値が異なる場合がある。

提案者から提出された資料を基に作成

＜別添資料 6＞ テトロドトキシン類縁体の毒性

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 ₅₀	8.5	ddY マウス
		LD ₅₀	10.7	Kunming マウス
		LD ₁₀₀	12	CF1 マウス
	経口投与	LD ₅₀	332	ddY マウス
		LD ₅₀	532	Kunming マウス
		LD ₁₀₀	600	BALB/c マウス
	静脈内投与	LD ₅₀	8.2	詳細記載なし
11-oxo-TTX	腹腔内投与	LD ₉₉	16	ddY マウス
4- <i>epi</i> -TTX	腹腔内投与	LD ₅₀	64*	ddY マウス
6- <i>epi</i> -TTX	腹腔内投与	LD ₅₀	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 ₅₀	71	詳細記載なし
6,11-Dideoxy-TTX	腹腔内投与	LD ₅₀	~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 ₅₀	490*	ddY マウス
11-nor-TTX-6(<i>S</i>)-ol	腹腔内投与	LD ₅₀	54	詳細記載なし
11-nor-TTX-6(<i>R</i>)-ol	腹腔内投与	LD ₉₉	70	詳細記載なし
Chiriquitoxin	腹腔内投与	LD ₅₀	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

(別添資料 6 参照 1) から引用、作成

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

*：本文献の表中に引用されている参考文献では、MUで報告されている。

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、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 の値は、300 mg / kg よりも大きいとされている(別添資料 6 参照 2)。

<別添資料 6 参照>

1. Botana LM. SEAFOOD and FRESHWATER TOXINS. PHARMACOLOGY, PHYSIOLOGY, and DETECTION, Third Edition, CRC Press, 2014: 248-253
2. Tsuda K, Ikuma S, Kawamura M, Tachikawa R, Sakai K, Tamura C et al. Tetrodotoxin. VII. On the structures of tetrodotoxin and its derivatives. Chem Pharm Bull, 1964; 12 (11): 1357-1374