

シガトキシン類に関する最近の動向について



国立医薬品食品衛生研究所
大城 直雅

有毒魚のバラハタ 中華料理店で提供 食べた6人、症状なし

東京都は十三日、築地市場（中央区）で十二日朝に販売された有毒魚のバラハタを中央区内の中華料理店が購入していたと発表した。店が十二日、夕食用に二グループ六人に蒸し魚にして提供したが、体調不良者は出ていないという。

都は十二日、販売自粛を求めているバラハタ一匹が市場に出回ったと把握し、購入者を調べていた。

都によると、十三日午後、ネットニュースを見た料理店から都に連絡があった。体調については店が二グループの代表に確認した。

バラハタによる食中毒は手足が痛むことがあるが、発症までの時間が一～八時間と短いことから、都は食中毒の可能性は低いとみている。

【東京新聞2016年4月14日付朝刊】

シガテラ (Ciguatera Fish Poisoning: CFP)

- 主に熱帯・亜熱帯のサンゴ礁域に生息する魚に起因する食中毒
- 自然毒によるものとしては**世界最大規模**で、**毎年2～6万人**が罹患
- 原因物質は**渦鞭毛藻** (*Gambierdiscus* spp.) が産生する**シガトキシン**類
- 日本では南西諸島を中心に**毎年発生**
- 症 状
 - 消化器系： 嘔吐、下痢、吐き気、腹痛など
 - 神経系： **温度感覚異常***、知覚異常、関節痛、筋肉痛、掻痒など
 - 循環器系： **徐脈、低血圧**など
- 死亡例は極めてまれで、通常数日で回復
- 重症化した場合、**数週間～数年間継続**することもある。

* ドライアイスセンセーション

シガテラの発生頻度(件/1万人/年)

地域名	発生頻度	出典
仏領ポリネシア	36	Chateau-Degat <i>et al.</i> 2007
Austral	197	
Marquesas	251	
Tuamotu	165	
Society	10	
仏領レユニオン島	0.78	Quod and Turquet 1996
クイーンズランド沿岸	3.6	Gillespie <i>et al.</i> 1986
米領バージン諸島	7.6	Morris <i>et al.</i> 1982
Dade County	5	Lawrence <i>et al.</i> 1980
ハワイ	0.87	Anderson <i>et al.</i> 1983
沖縄	0.024	Oshiro <i>et al.</i> 2009
鹿児島県加計呂麻島	10	大城ら 2011

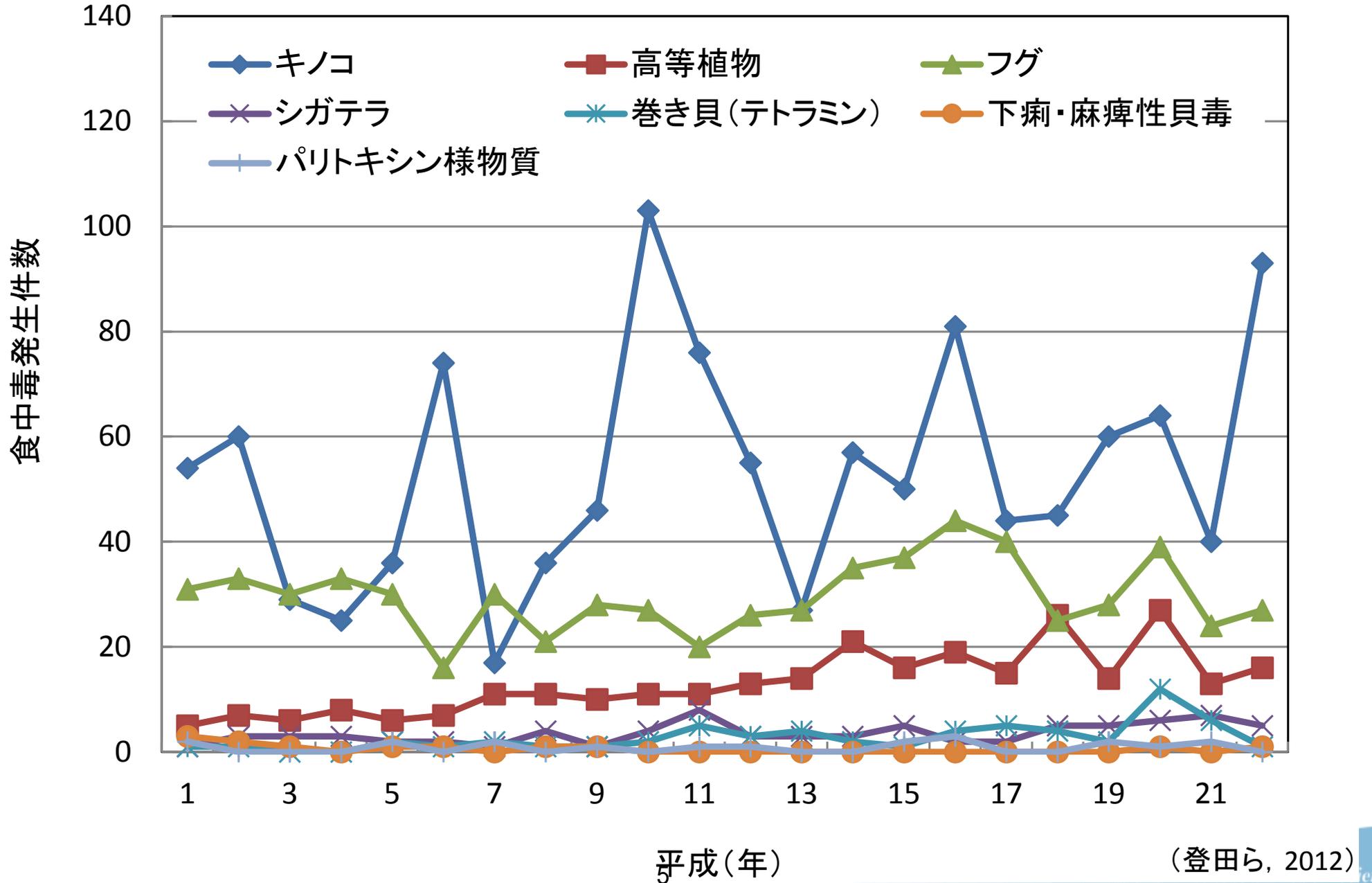
加計呂麻島(人口約1,500人)の発生頻度は
沖縄やハワイなどと比較して格段に高率で、
南太平洋の発生地域と同レベル



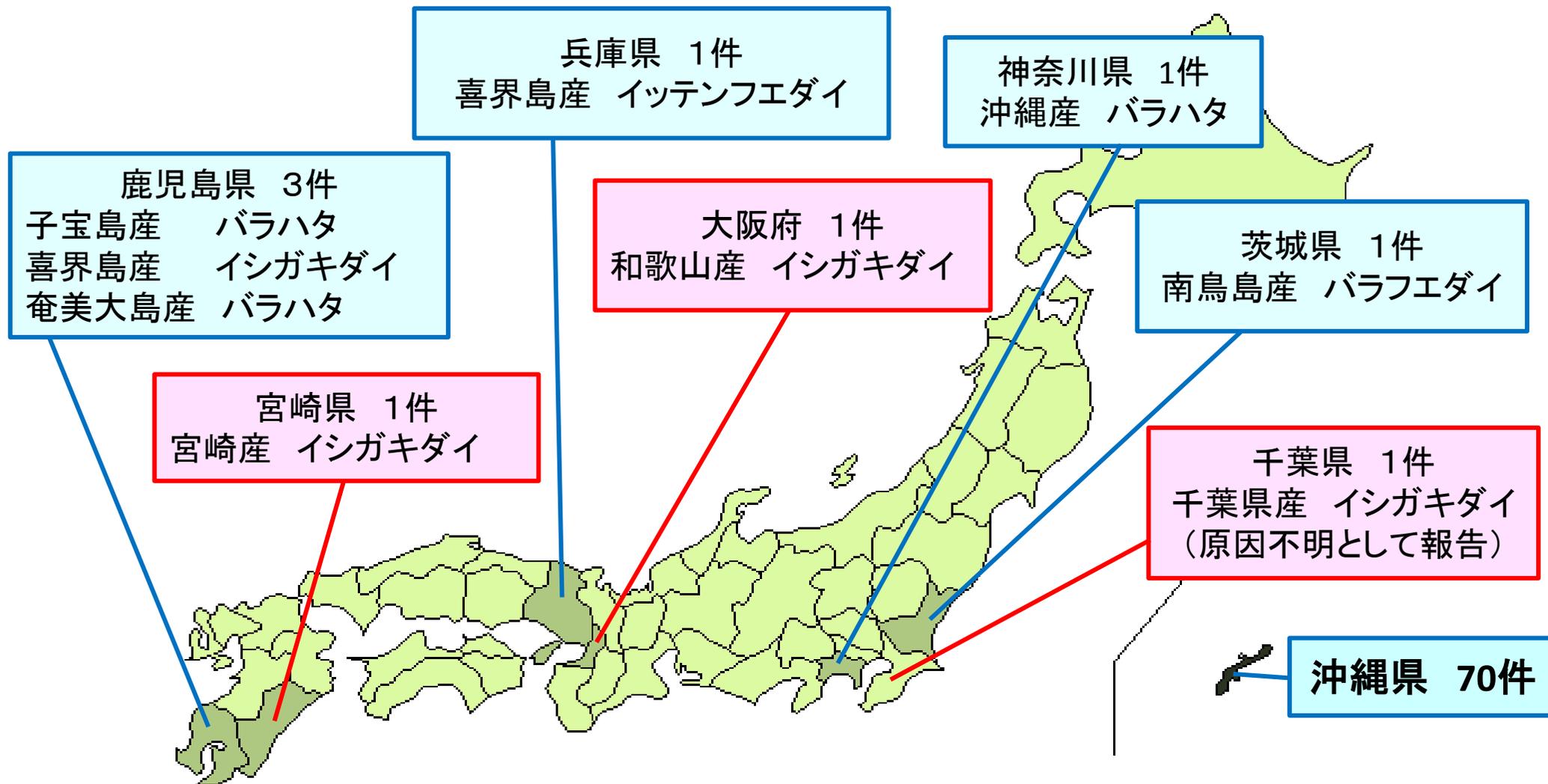
他地域でも
高頻度に発生している可能性



自然毒食中毒の発生状況



シガテラの食中毒事件発生状況(1988~2010年) 計78件(原因不明1件)

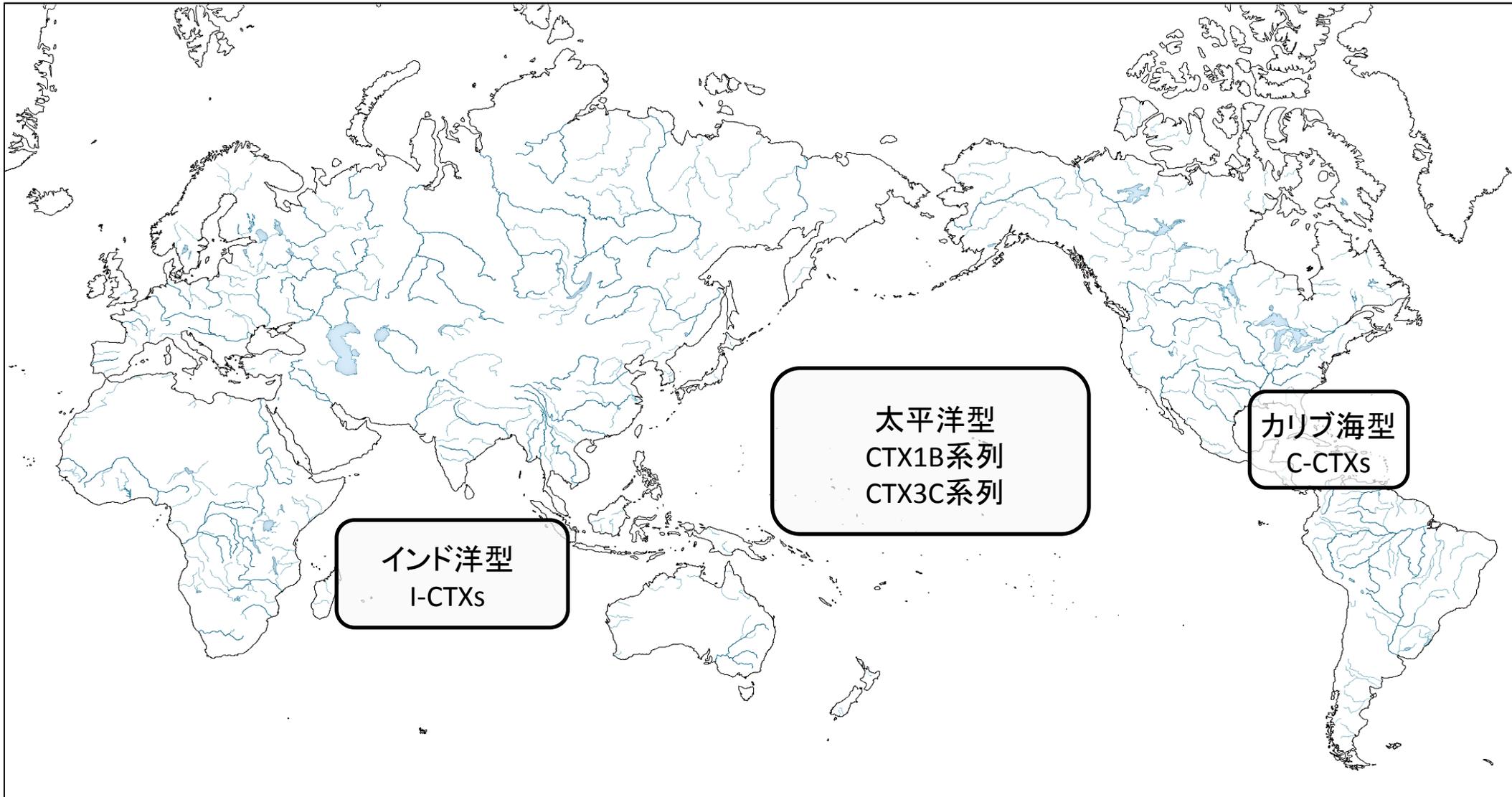


シガテラ毒魚

- Halsted は400種以上が毒化の可能性があると報告

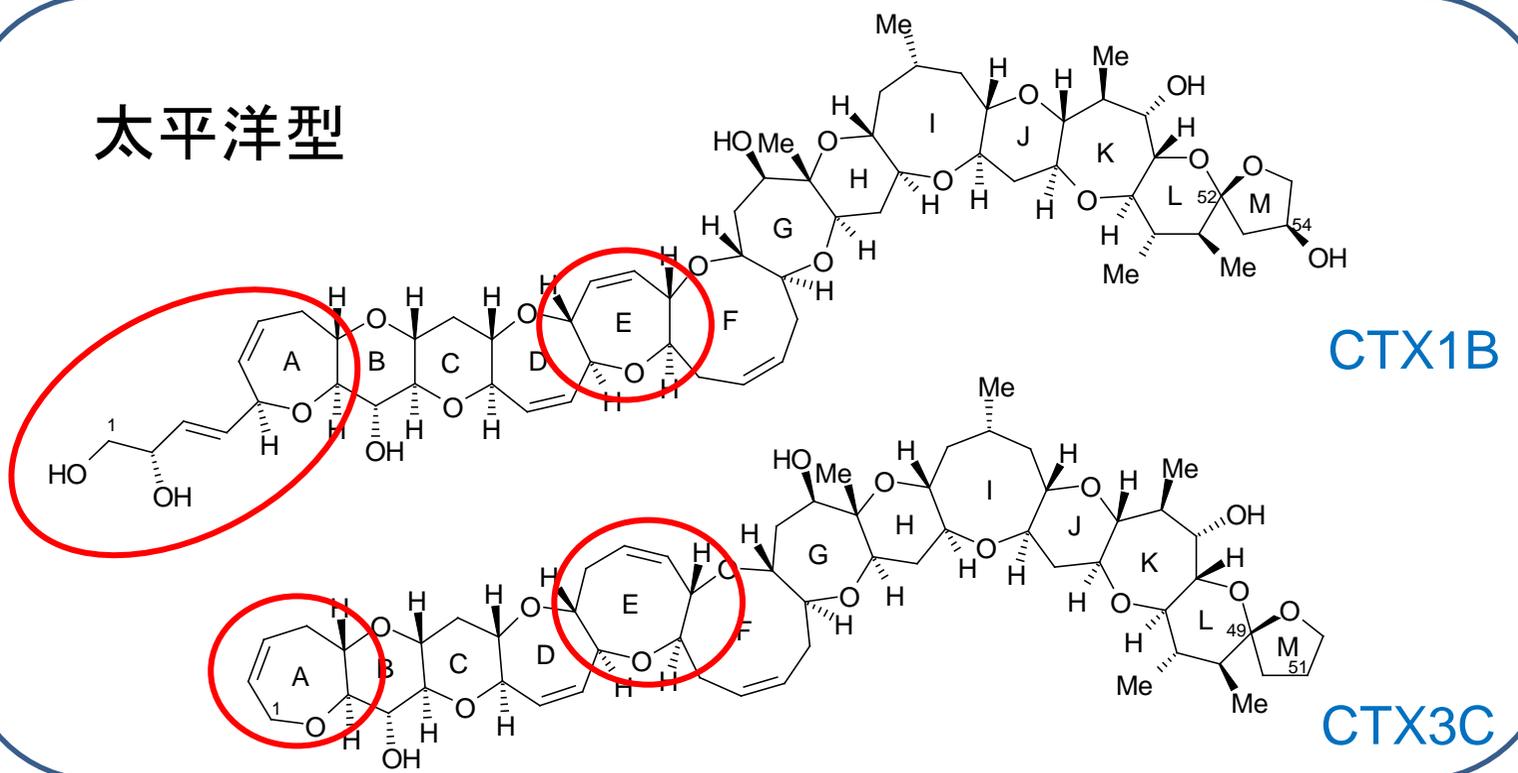
	学名	和名		学名	和名	
フエダイ	<i>Lutjanus bohar</i>	バラフエダイ	ニザダイ	<i>Ctenochaetus striatus</i>	サザナミハギ	
	<i>L. monostigma</i>	イッテンフエダイ		<i>C. strigogus</i>	キリンサザナミハギ	
	<i>L. rivulatus</i>	ナミフエダイ		<i>Naso lituratus</i>	ミヤコテングハギ	
	<i>L. fluviflamma</i>	ニセクロホシフエダイ		<i>Zebrazoma veliferum</i>	ヒレナガハギ	
	<i>L. gibbus</i>	ヒメフエダイ		ブダイ	<i>Scarus gibbus</i>	
	<i>L. sebae</i>	センネンダイ			<i>S. ghobban</i>	ヒブダイ
	<i>Symphorus nematophorus</i>	イトヒキフエダイ			<i>S. harid</i>	
フエフキダイ	<i>Lethrinus miniatus</i>	アマミフエフキ	ベラ	<i>Cheilinus undulatus</i>	メガネモチノウオ	
	<i>L. atkinsoni</i>	イソフエフキ		<i>C. trilobatus</i>	ミツバチモチノウオ	
ハタ	<i>Epinephelus polyphemus</i>	マダラハタ	カマス	<i>Sphyraena barracuda</i>	オニカマス	
	<i>E. fuscoguttatus</i>	アカマダラハタ		<i>S. picuda</i>		
	<i>E. lanceolatus</i>	タマカイ		<i>S. jello</i>		
	<i>Cephalopholis argus</i>	アオノメハタ	ウツボ その他	<i>Gymnothorax javanicus</i>	ドクウツボ	
	<i>Plectropomus leopardus</i>	スジアラ		<i>Seriola lalandi</i>	ヒラマサ	
	<i>P. areolatus</i>	オオアオノメアラ		<i>S. dumerili</i>	カンパチ	
	<i>Variola louti</i>	バラハタ		<i>S. zonata</i>		
	<i>Anyperodon leucogrammicus</i>	アズキハタ	<i>Oplegnathus punctatus</i>	イシガキダイ		
アジ	<i>Caranx ignobilis</i>	ロウニンアジ	<i>Scomberomorus commerson</i>	ヨコシマサワラ		
	<i>C. lituratus</i>		<i>Scomberoides commersonianu</i>	オオクチイケカツオ		

各海域におけるシガトキシンのタイプ

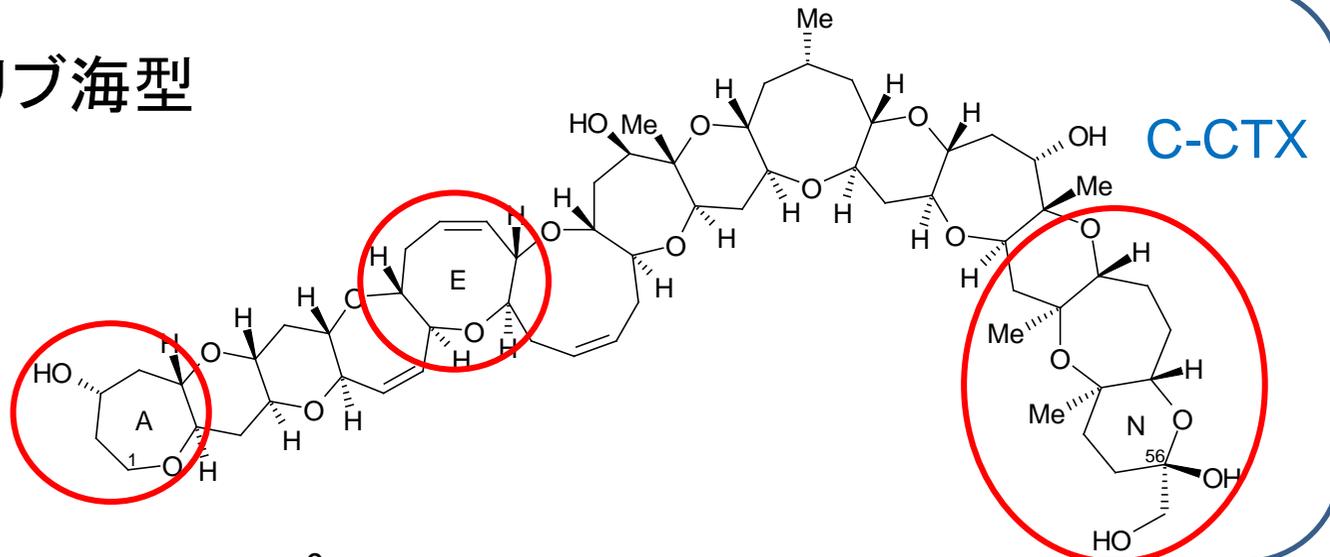


シガトキシンの 3タイプ

太平洋型



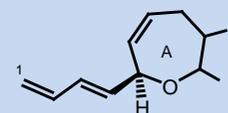
カリブ海型



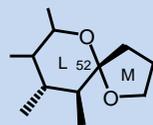
インド洋型は
構造が明らかでない

太平洋域における主要なCTXs

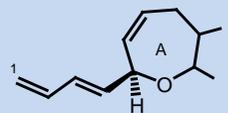
CTX1B 同族体



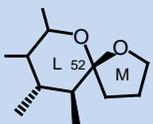
CTX4A



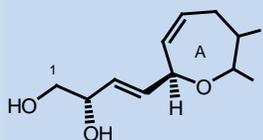
CTX4B



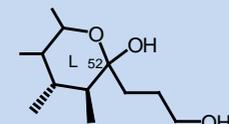
M-seco-CTX4/B



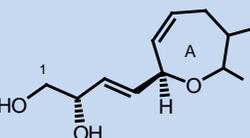
54-deoxyCTX1B



52-epi-54-deoxyCTX1B

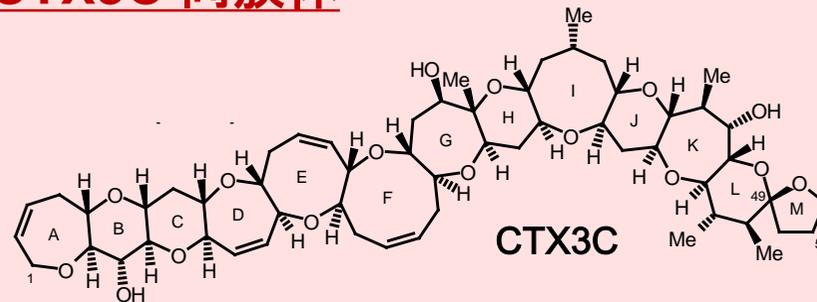


CTX1B

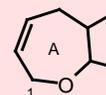


CTX3C

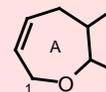
CTX3C 同族体



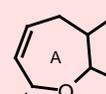
49-epi CTX3C



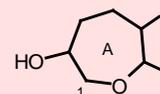
M-seco-CTX3C



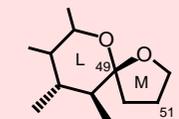
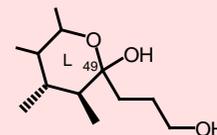
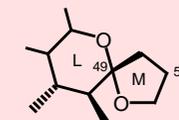
51-hydroxy CTX3C



2-hydroxy CTX3C



2,3-dihydroxy CTX3C



症状が多彩なのは多くの物質が関与しているから？

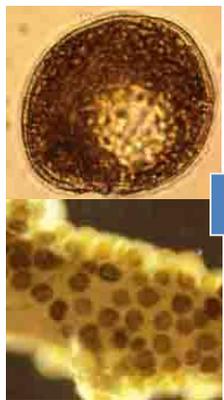
Yasumoto *et al.* (2000)

シガトキシン類の名称

- CTX1B (ciguatoxin-1B)
 - CTX (Scheuer が命名, impure), P-CTX-1 (Pacific ciguatoxin-1)
- 52-*epi*-54-deoxyCTX1B
 - P-CTX2
- 54-deoxyCTX1B
 - P-CTX3
- CTX4A
 - GTX4A (gambiertoxin-4A), P-CTX4A, scaritoxin*
- CTX4B
 - GTX4B, P-CTX4B, scaritoxin*
- CTX3C
 - P-CTX3C

* scaritoxin: CTX4AとCTX4Bの混合物

シガトキシンの伝搬・蓄積



渦鞭毛藻

G. toxicus



藻食動物



肉食魚



ドライアイス
センセーション

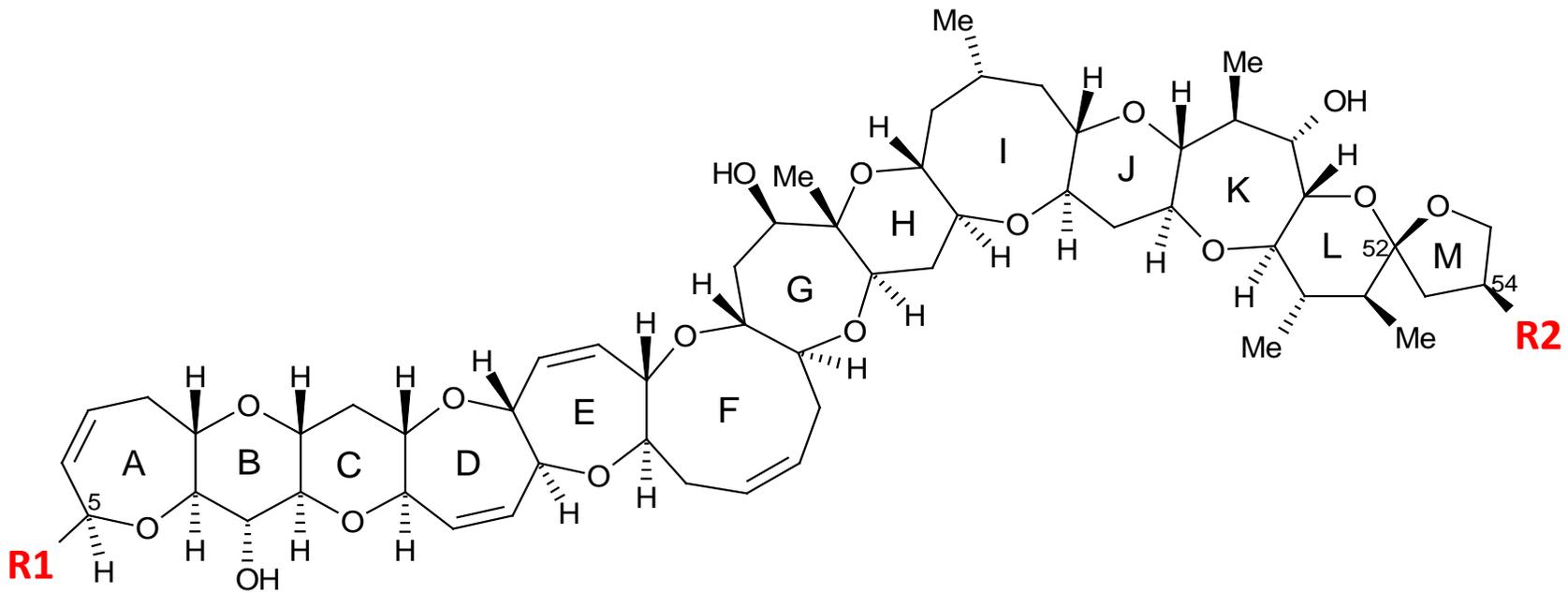
Mouse Lethality

- CTX1B
 - 0.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- 52-*epi*-54-deoxyCTX1B
 - 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- 54-deoxyCTX1B
 - 2.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- CTX4A
 - 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- CTX4B
 - 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- CTX3C
 - 1.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- 51-hydroxyCTX3C
 - 0.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- 2,3-dihydroxyCTX3C
 - 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- C-CTX-1
 - 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- C-CTX-2
 - ~ 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$

CTX1B: 1 MU* \doteq 7 ng

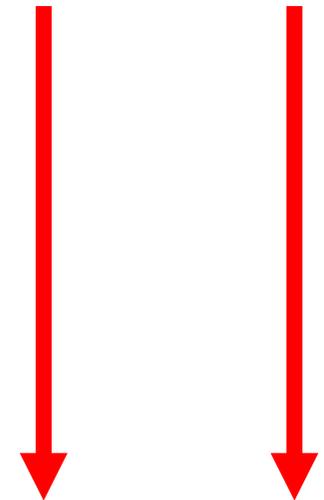
*1 MU: マウス(体重20 g, ddY, オス)を24時間で死亡させる毒力

ヒトの発症量: 10 MU (\doteq 70 ng CTX1B) 程度と推定 (安元, 1980)



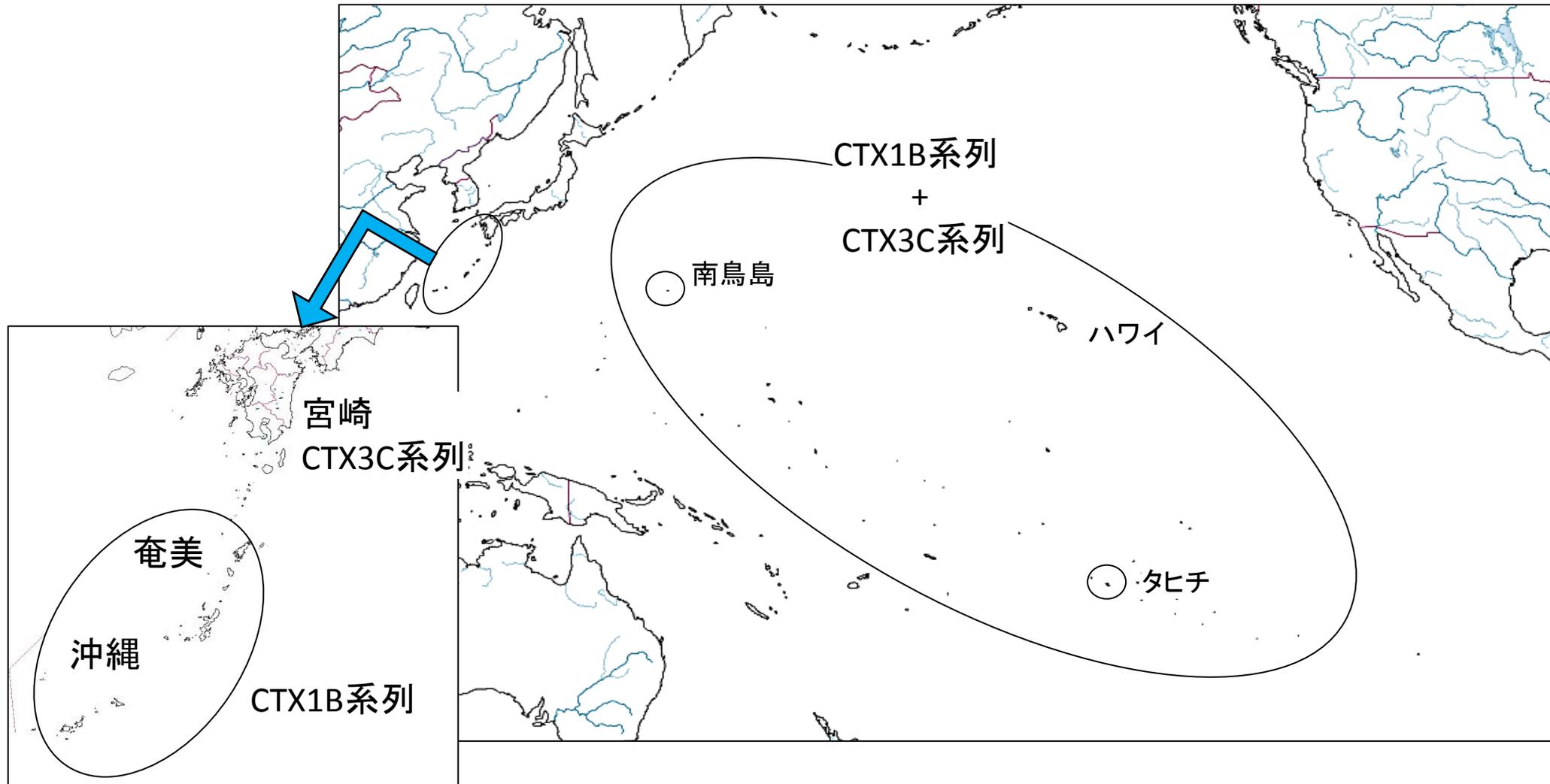
	R1	R2	由来	マウス毒性
CTX4B		H	<i>G. toxicus</i> 藻食魚	4 μg/kg
CTX4A (52- <i>epi</i> -CTX4B)		H	<i>G. toxicus</i> 藻食魚	2 μg/kg
54-deoxyCTX1B		H	肉食魚	0.9 μg/kg
CTX1B		OH	肉食魚	0.35 μg/kg

食物連鎖 毒性



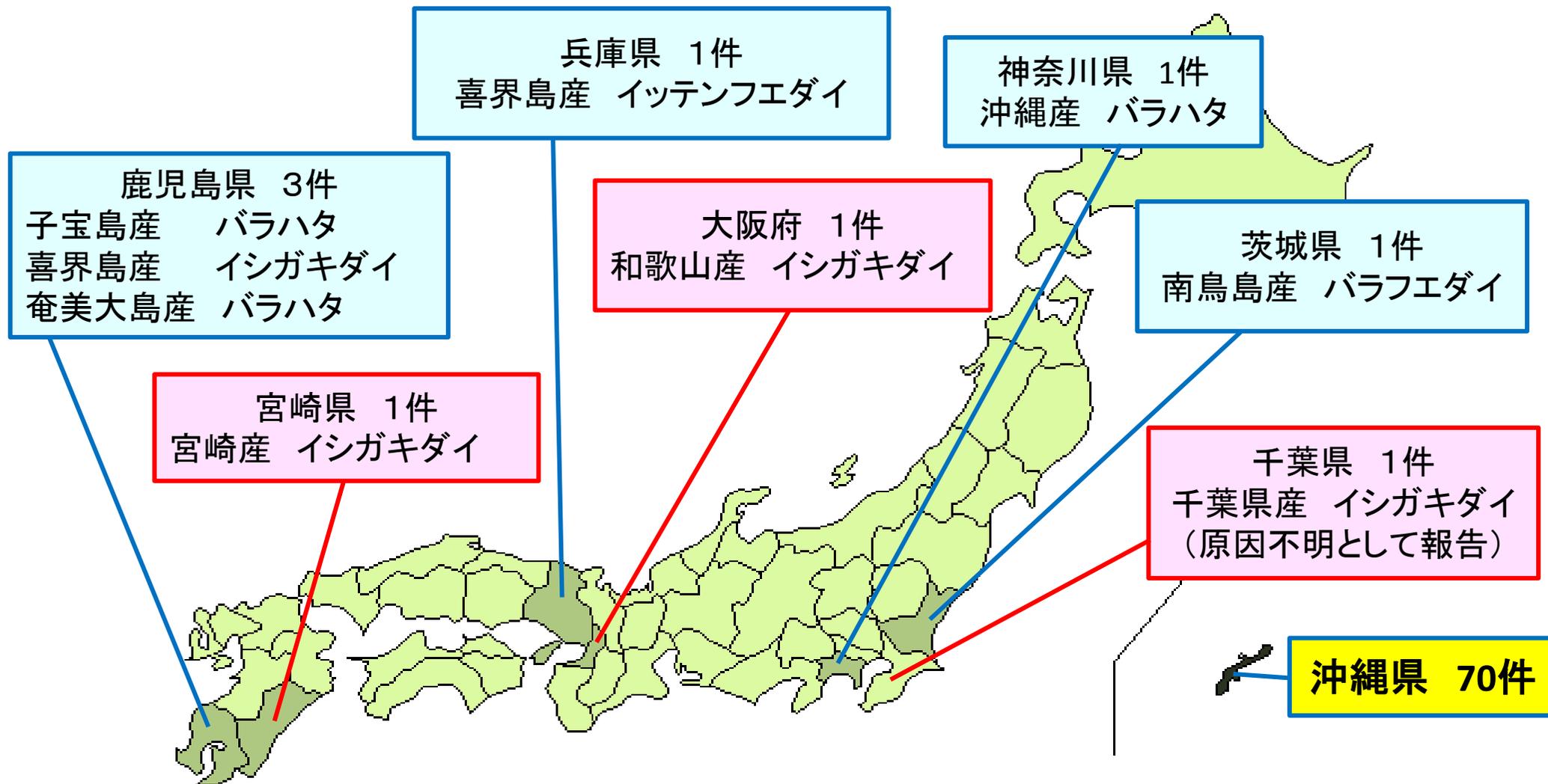
酸化に伴い強毒化

海域によるシガトキシン組成の違い

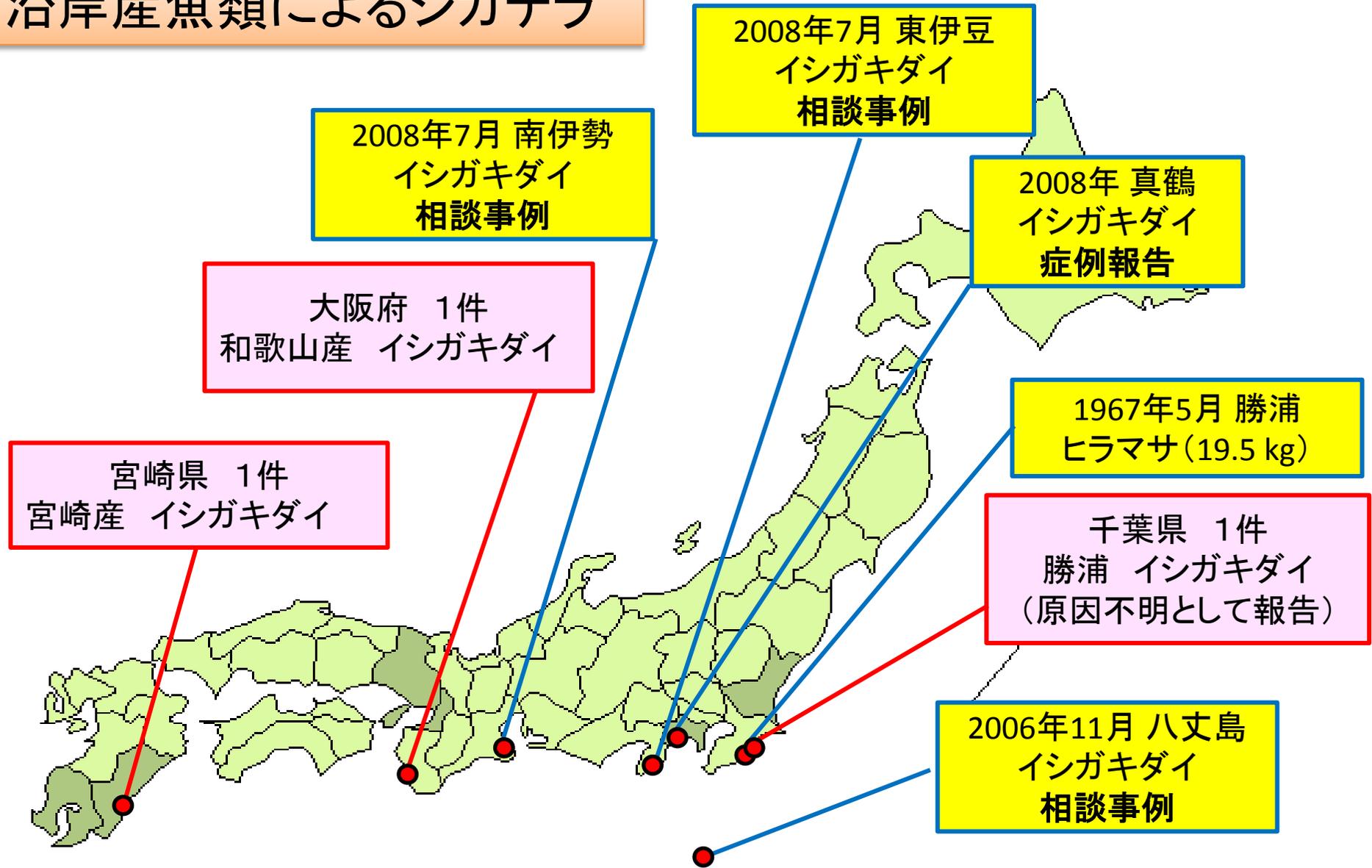


CTXsを産生する渦鞭毛藻の系統が異なる？

シガテラの食中毒事件発生状況(1988~2010年) 計78件(原因不明1件)



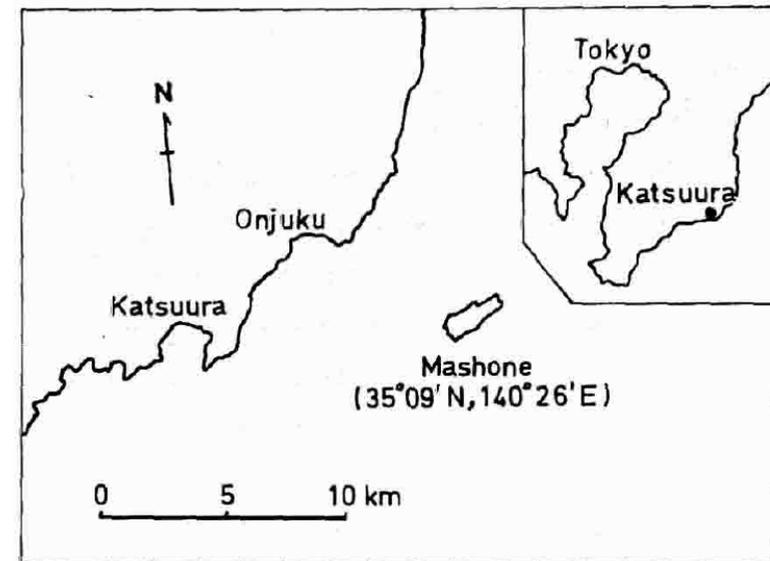
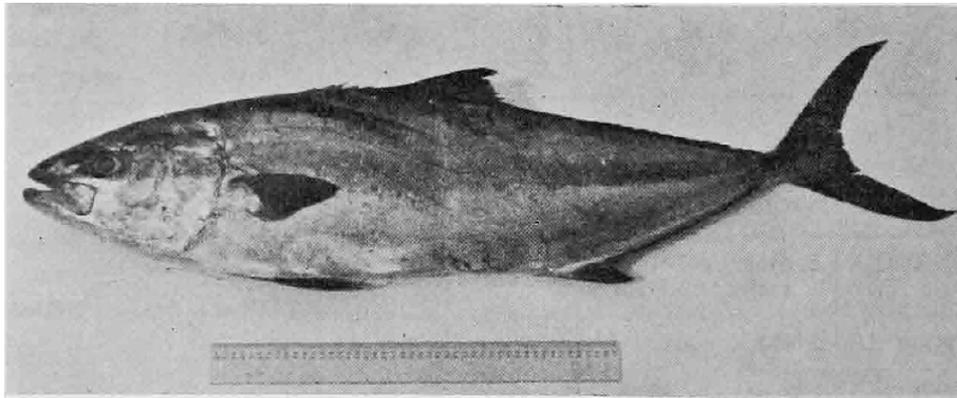
本州沿岸産魚類によるシガテラ



本州にもシガテラが潜在する!?

A Preliminary Report on the Toxicity of an Amberjack, *Seriola aureovittata**

Yoshiro HASHIMOTO and Nobuhiro FUSETANI**



1967年に勝浦で発生した食中毒
症状はシガテラによく似ているが、若干の違いがある
マショウネと呼ばれる場所で漁獲されたヒラマサは有毒個体が多く
大きいものほど毒性が強い

「二枚貝中のオカダ酸群」の食品健康影響評価について

食品安全委員会は、厚生労働省からの要請を受け、「二枚貝中のオカダ酸群」について食品健康影響評価（リスク評価）を行いました。



内閣府 食品安全委員会

COLUMN

本評価の今後の課題

本評価を行うにあたり、利用可能な毒性データ及び疫学データが限られていました。今後、次のような知見、データが収集されることにより、より詳細な食品健康影響評価が可能になると考えています。

- 長期毒性試験を含む各種毒性試験のデータ
- 下痢性貝中毒発症者の体重、二枚貝の喫食量及び貝毒摂取量等の詳細な疫学データ
- 貝種ごとの二枚貝の喫食量及び喫食頻度に関するデータ
- 国内流通二枚貝全体におけるオカダ酸群の濃度分布を推計するための実態調査データ

自然毒リスク評価に必要なこと

動物実験による毒性評価

食中毒発生時の

- 発症者の体重
- 喫食量
- 原因物質の摂取量

食品中の

- 自然毒含有量調査

標準品が必要!!

平成26～27年度食品健康影響評価技術研究

【課題番号：1403】

熱帯性魚類食中毒シガテラの
リスク評価のための研究

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所

大城 直雅

研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

1 過去の食中毒事例のまとめ

期間：昭和62年～平成25年

事例：①当所に検査依頼されたシガテラ事例

②保健所作成の食中毒調査票等

事例29件、有症者113名、無症者27名、不明1名

方法：①全患者の症状のまとめ

②シガトキシン類の摂取量推定

(刺身摂食数量の記録がある患者22名)

①症状と発症率

症状	件数	発症率 ^{※1}
神経系	216	-
ドライアイスセンセーション ^{※2}	74	65.5%
関節痛	40	35.4%
しびれ	29	25.7%
かゆみ	26	23.0%
麻痺 ^{※3}	18	15.9%
痛み	14	12.4%
筋肉痛	12	10.6%
知覚異常	2	1.8%
けいれん ^{※3}	1	0.9%
消化器系	216	-
下痢 ^{※3}	71	62.8%
吐き気 ^{※3}	47	41.6%
腹痛 ^{※3}	42	37.2%
嘔吐 ^{※3}	39	34.5%
しぶりばら ^{※3}	12	10.6%
げっぷ ^{※3}	3	2.7%
悪心、吐血	各1	0.9%
循環器系	12	-
血圧低下	5	4.4%
徐脈	5	4.4%
脈拍低下	2	1.8%

循環系症状の発症率は低い？

症状	件数	発症率 ^{※1}
その他	232	-
倦怠感 ^{※3}	56	49.6%
脱力感 ^{※3}	49	43.4%
臥床 ^{※3}	33	29.2%
悪寒 ^{※3}	25	22.1%
だるさ	15	13.3%
頭痛	14	12.4%
ふるえ ^{※3}	10	8.8%
発熱 ^{※3}	6	5.3%
発汗	6	5.3%
気分不良	3	2.7%
腹痛 ^{※3}	2	1.8%
めまい、運動失調	各2	1.8%
胸痛、歩行困難、瞳孔散乱、 体のほてり、目のかすみ、発 疹によるかゆみ、不眠症、ふ らつき、身動きできないほど の痛み	各1	各0.9%

※1 発症率は有症者113名に対する割合とした。

※2 口唇から喉のかゆみ、しびれ等はドライアイスセンセーションとして計上。

※3 食中毒調査票に予め項目化されている症状

②初発症状

症状	件数	割合
消化器系	41	52.6%
水様性下痢	17	21.8%
腹痛	13	16.7%
下痢	6	7.7%
吐き気	3	3.8%
しぶりばら、粘液下痢	各1	1.3%
神経系	16	20.5%
麻痺	5	6.4%
ドライアイスセンセーション	4	5.1%
しびれ	3	3.8%
かゆみ、痛み、筋肉痛、関節痛	各1	各1.3%
その他	21	26.9%
倦怠感	5	6.4%
脱力感、頭痛	各4	各5.1%
頭痛	4	5.1%
悪寒	3	3.8%
気分不良	2	2.6%
ふるえ、だるさ、ふらつき	各1	各1.3%
総計	78	

症状の経過がわかる(順番が記載)有症者 78名

③原因魚種別の患者数と症状(1)

原因魚の種類※1	患者数	症状の件数※2				計
		神経系	消化器系	循環器系	その他	
フエダイ科						
イッテンフエダイ	28	32 20.1%	64 40.3%	4 2.5%	59 37.1%	159
バラフエダイ	12	17 19.8%	34 39.5%	3 3.5%	32 37.2%	86
ゴマフエダイ	7	15 39.5%	13 34.2%	1 2.6%	9 23.7%	38
ヤマトビー※3	3	3 33.3%	6 66.7%			9
小計	50	67 22.9%	117 40.1%	8 2.7%	100 34.2%	292
ハタ科						
バラハタ	17	53 47.7%	22 19.8%	4 3.6%	31 27.9%	110
アーラミーバイ※4	9	16 44.4%	9 25.0%		11 30.6%	36
マダラハタ	7	25 30.5%	23 28.0%		34 41.5%	82
アズキハタ	4	8 53.3%	6 40.0%		1 6.7%	15
バラハタまたはオジロバラハタ	3	1 20.0%	3 60.0%		1 20.0%	5
オジロバラハタ	2	8 42.1%	1 5.3%		10 52.6%	19
小計	42	111 41.6%	64 24.0%	4 1.5%	88 33.0%	267



フエダイ科
 神経系 22.9%
 消化器系 40.1%

ハタ科
 神経系 41.6%
 消化器系 24.0%



③原因魚種別の患者数と症状(2)

原因魚の種類※1	患者数	症状の件数※2			
		神経系	消化器系	循環器系	その他
イシダイ科					
イシガキダ	8	15 23.8%	20 31.7%	28 44.4%	63
ウツボ科					
ウツボ類	7	15 44.1%	11 32.4%	8 23.5%	34
ブダイ科					
イラブチャー	2	4 40.0%	2 20.0%	4 40.0%	10
ニザダイ科					
トカジャー※	1	1 20.0%	2 40.0%	2 40.0%	5
魚種不明	3	3 75.0%		1 25.0%	4

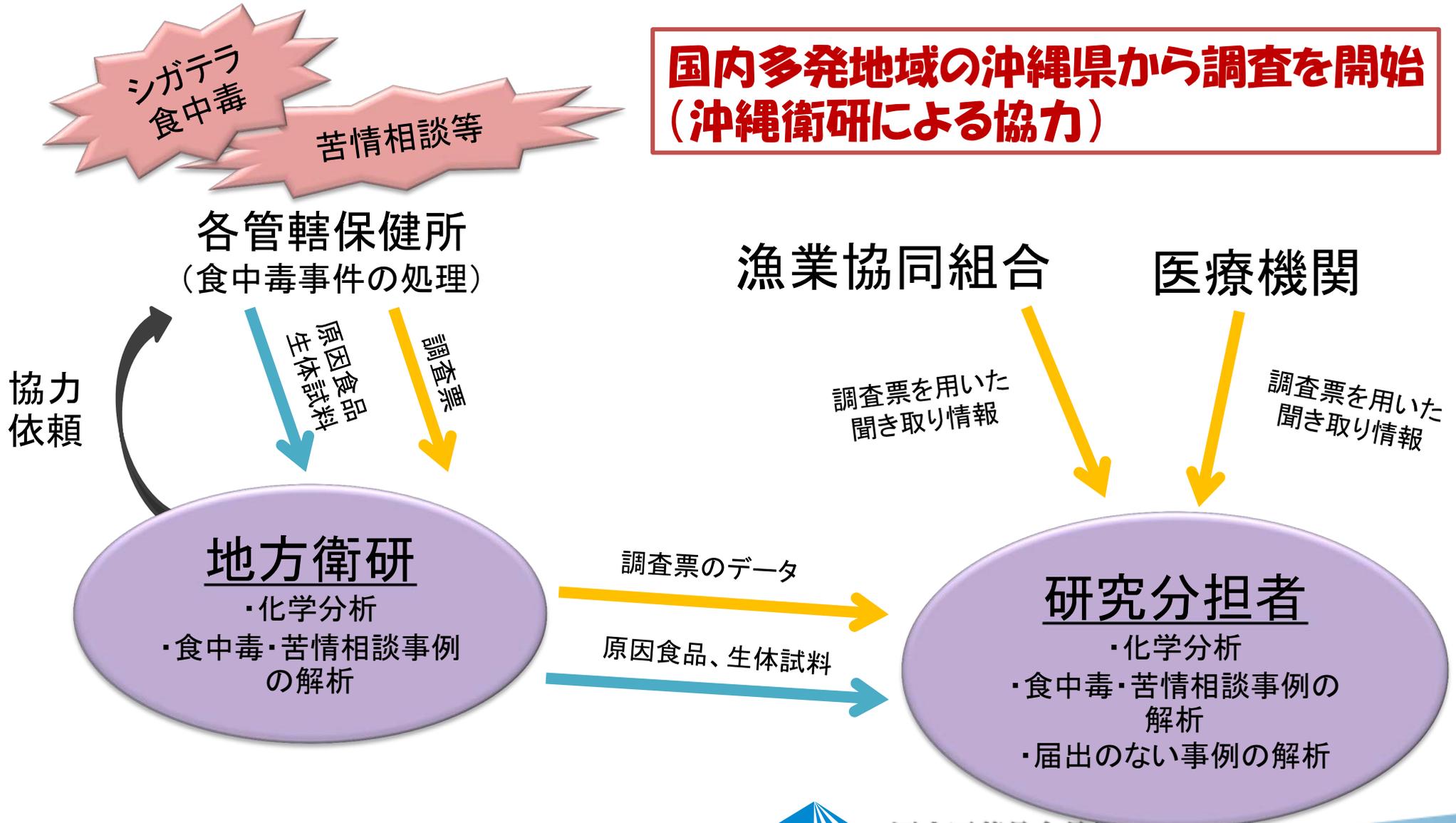
シガテラ調査票

- ① 調査記録が1枚で可能。
- ② 項目の明記(取りこぼしが無い)
 - ・ **症状**(ドライアイスセンセーション、
 血圧、心拍、症状の継続性など)
 - ・ **シガテラの認識と経験**
 - ・ **原因食品摂取量の数値の記入**
 刺身(枚数)
 煮付(魚肉の大きさを提示)
 汁物(飲食容器の大きさを提示)
 - ・ **患者の身長、体重**
 - ・ **摂食時の飲酒の有無**

調査担当者、患者本人も記入しやすい。

シガテラ調査票									
都道府県 市町村					調査票番号				
性別	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 女	年齢(歳)		調査日	年	月	日	
喫食日時	年	月	日	時	分	身長(cm)		体重(kg)	
発症日時	年	月	日	時	分	喫食時の飲酒		<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無	
初発症状					現病歴	<input type="checkbox"/> 糖尿病 <input type="checkbox"/> 高血圧 <input type="checkbox"/> 心疾患 <input type="checkbox"/> その他 ()			
入院	<input type="checkbox"/> 有		日数:	日	<input type="checkbox"/> 無		シガテラを 知っていたか		<input type="checkbox"/> 知っていた <input type="checkbox"/> 知らなかった
症状の継続期間	日数:		日		シガテラ罹患歴		回数: 回		
継続症状					心拍数		瞳孔		<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
心拍数					血圧		/		
● 症状について									
症状						発症の有無		発症の順番	
1. 水に触れた時に焼けるような感じや痛み						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
2. 水を口に含んだ時に刺すような感じ						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
3. 四肢のチクチクする感じやしびれ						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
4. 味覚異常						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
5. 排尿困難や排尿痛						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
6. 皮膚のかゆみや発赤						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
7. 呼吸困難						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
8. 歩行困難						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
9. 言語障害						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
10. 眼症状						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
11. 唾液分泌過剰						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
12. 発汗						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
13. 腹痛						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
14. 下痢						「あり」と答えた場合: <input type="checkbox"/> 水様 <input type="checkbox"/> 粘液 <input type="checkbox"/> 混血		<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	
15. 吐気						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
16. 嘔吐						「あり」と答えた場合: 1日 _____ 回		<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	
17. 発熱						「あり」と答えた場合: 最大 _____ °C		<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし	
18. 頭痛						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
19. 関節痛						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
20. 筋けいれん						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
21. その他「あり」と答えた場合: ()						<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし			
● 原因食品について									
食品	(種類)	<input type="checkbox"/> 魚 ()		<input type="checkbox"/> エビ・カニ ()					
		<input type="checkbox"/> 巻貝 ()		<input type="checkbox"/> イカ・タコ ()					
	(大きさ)		<input type="checkbox"/> 二枚貝 ()		<input type="checkbox"/> その他 ()		<input type="checkbox"/> 不明		
		体長	cm	体重	g				
捕獲場所	伊平屋一文字								
入手方法	<input type="checkbox"/> 購入 <input type="checkbox"/> 自ら釣った <input type="checkbox"/> 知人が釣った魚をもらった <input type="checkbox"/> 知人が買った魚をもらった								
喫食場所									
喫食量 (g、数量等)	g		刺身の場合		煮付等の肉		汁物の場合		
			切れ	個	半身の1枚の	杯	杯		
残品	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無								
喫食部位 (複数可)	<input type="checkbox"/> 頭部 <input type="checkbox"/> 身 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> 肝臓 <input type="checkbox"/> 卵								
原材料の保存方法 (複数可)	<input type="checkbox"/> 生 <input type="checkbox"/> 冷凍 <input type="checkbox"/> 塩蔵 <input type="checkbox"/> 乾物 <input type="checkbox"/> 燻製 <input type="checkbox"/> 酢漬け								
喫食方法 (複数可)	生		<input type="checkbox"/> 刺身 <input type="checkbox"/> マリネ <input type="checkbox"/> その他 ()						
	加熱		<input type="checkbox"/> 焼 <input type="checkbox"/> 煮 <input type="checkbox"/> 茹 <input type="checkbox"/> 蒸 <input type="checkbox"/> 揚 <input type="checkbox"/> その他 ()						

2) シガテラ事例の調査：概要図



3. 平成26年～平成27年の食中毒事例

食中毒事例① 発生日：平成26年7月20日

原因食品 バラハタ(7月19日～20日、患者甥が伊江島で釣った魚。
魚種は、図鑑確認と半身の皮の色、斑点などから推定。)
2尾(体長60cm、体長80cm)の刺身と魚汁

摂食者数11名、患者数5名

7月20日の夜に、親戚との会食で喫食した。1名は22日夕食で食べた。

検体：半身



マウス毒性試験	0.05 MU/g
LC-MS/MS結果換算	0.12 MU/g

検体：魚汁残飯



マウス毒性試験	0.2 MU/g
LC-MS/MS結果換算	0.13 MU/g

研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

シガトキシン類の解析手法開発

国立医薬品食品衛生研究所 大城直雅

個別課題1:シガトキシン分析法の検討

- LC-MS/MS法、細胞毒性試験法、ELISA法等について検討し、各分析法を比較検討。
- 妥当性評価に向けて、各種試料における抽出法・前処理法の検討。

個別課題2:シガトキシン類の標準試料等の調製

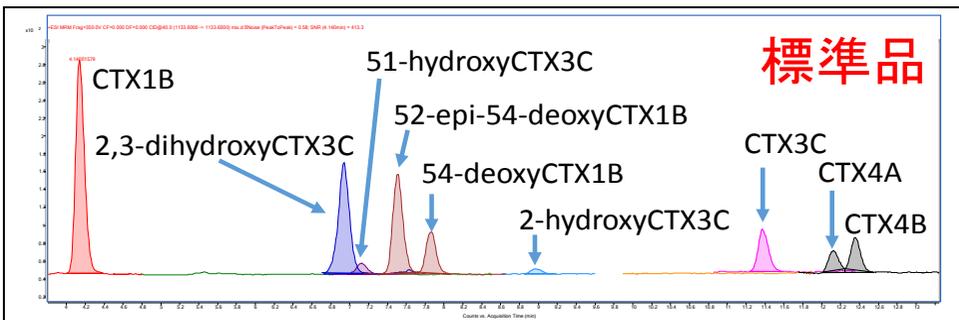
- 有毒試料等を探索し、標準品及び標準試料調製のための材料確保。
- これらの材料を基にした標準品の調製法等について検討。

個別課題3:シガトキシン類の汚染度調査

- 食中毒原因食品や各種海産生物試料について汚染度調査の手法を確立。

個別課題1： シガトキシン分析法の検討

LC-MS/MS法



定量限界：

~0.025 ng/mL ⇒ ~0.005 ng/g

検出限界：

~0.01 ng/mL ⇒ ~0.005 ng/g

EUおよび、FDAのガイドライン値：

0.01 ppb CTX1B当量

抽出物

Florisil (500mg)

酢酸エチル：メタノール(9:1) 7mL

溶媒除去 (N₂吹付、40°C)

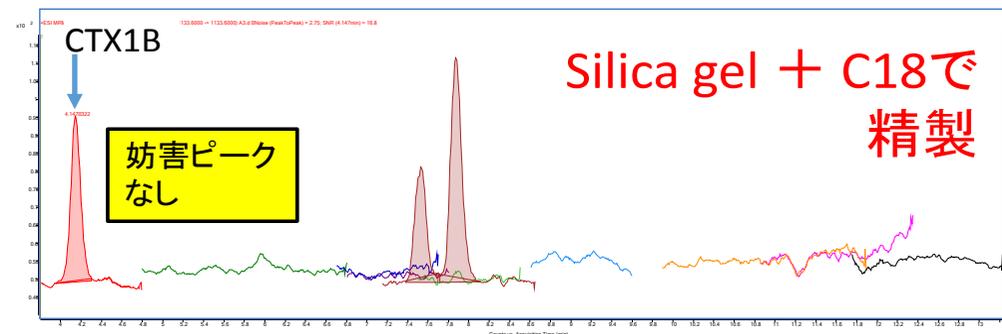
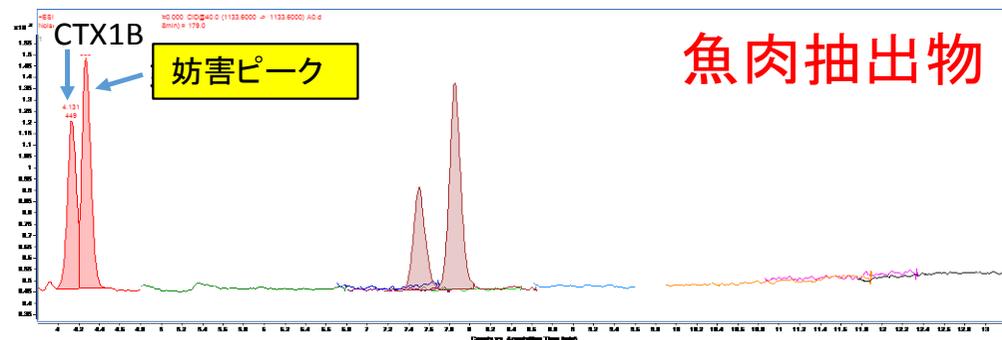
PSA (200mg)

アセトニトリル 7mL

メタノール 3mL

LC-MS/MS

精製の追加

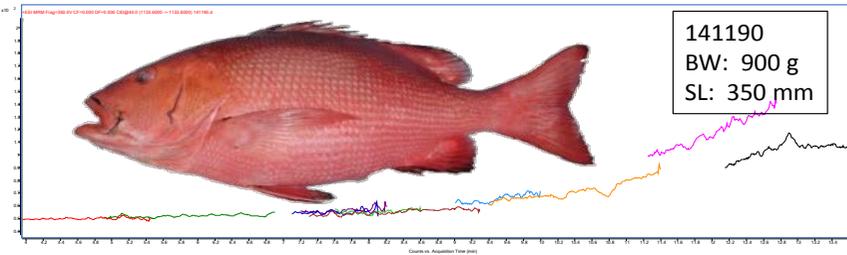


添加標準品を調製後に妥当性を確認

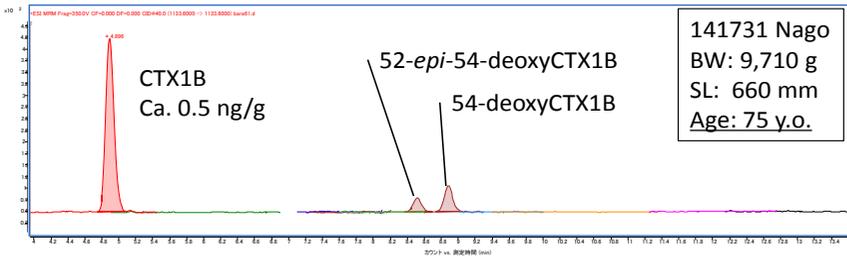
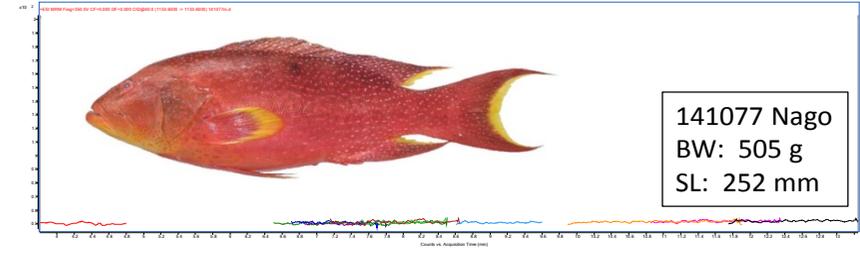
医薬品食品衛生研究所

National Institute of Health Sciences

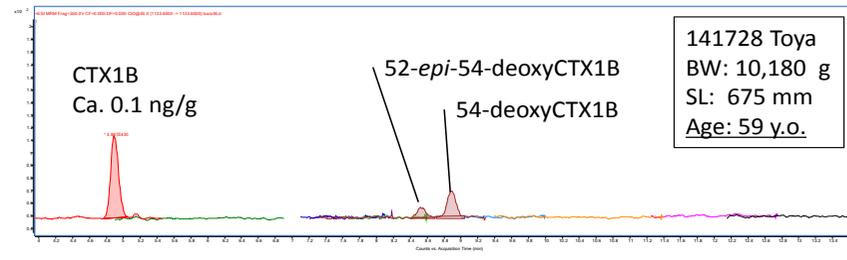
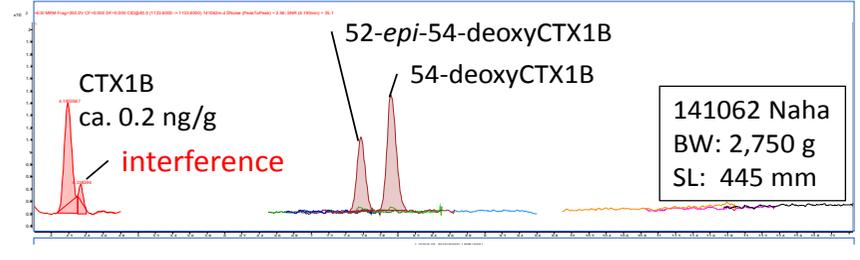
個別課題2: シガトキシン類の標準試料等の調製



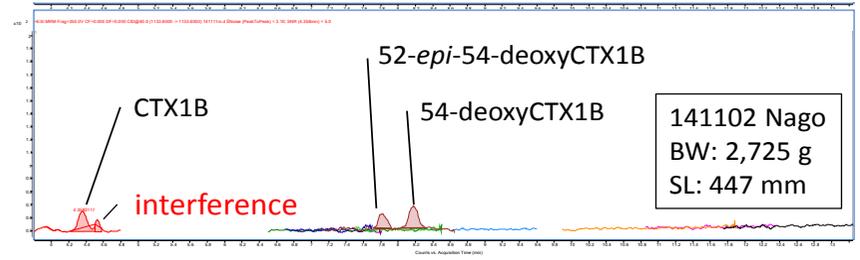
空白試料



魚肉標準試料

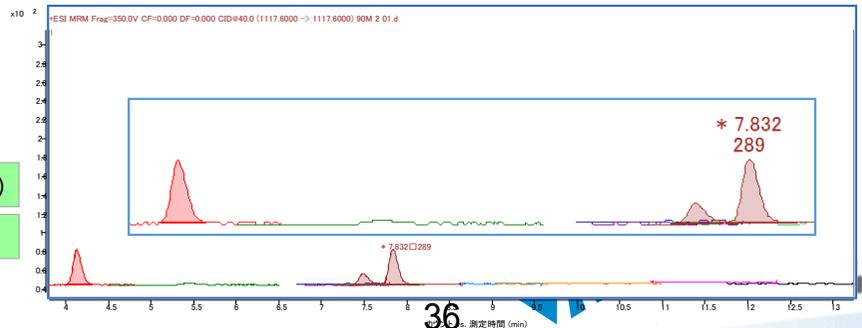


CTXs 精製用



CTXs 精製例

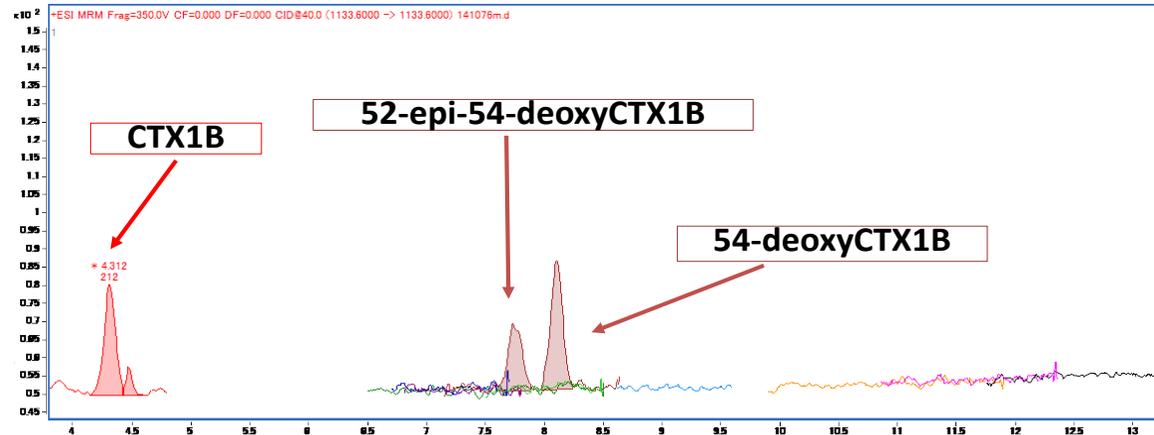
- 魚肉 120g
- 粗抽出物
- SPE- Florisil (10 g)
- SPE- C₁₈ (500 mg)
- Fr. 1 ~ 4



試料収集
精製法の検討を継続

安元健 名誉教授との
連携で値付けを検討

CTX類精製の操作



予備試験液残品

HPLC分取①

ODSカラム (3.5 μ m 4.6 \times 100mm)

40%MeOH \rightarrow 75%MeOH \rightarrow 90%MeOH (グラジエント)

LC-MS/MSで測定

CTX1B

HPLC分取②

ODSカラム (3.5 μ m 4.6 \times 100mm)

80%MeOH

LC-MS/MSで測定

I

54-deoxyCTX1B
52-epi-54-deoxyCTX1B

HPLC分取③

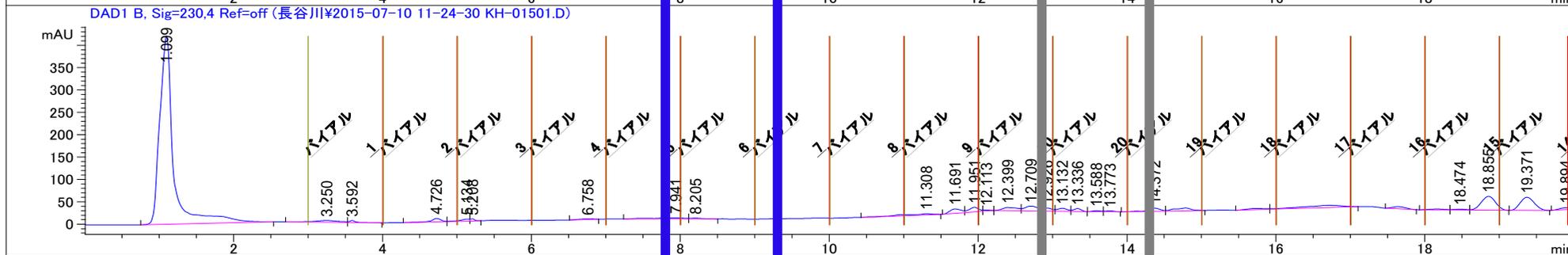
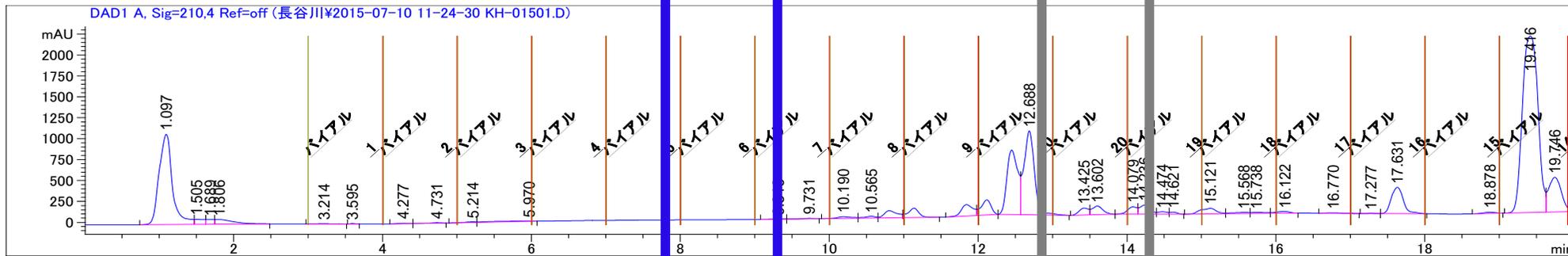
ODSカラム (3.5 μ m 4.6 \times 100mm)

80%MeOH

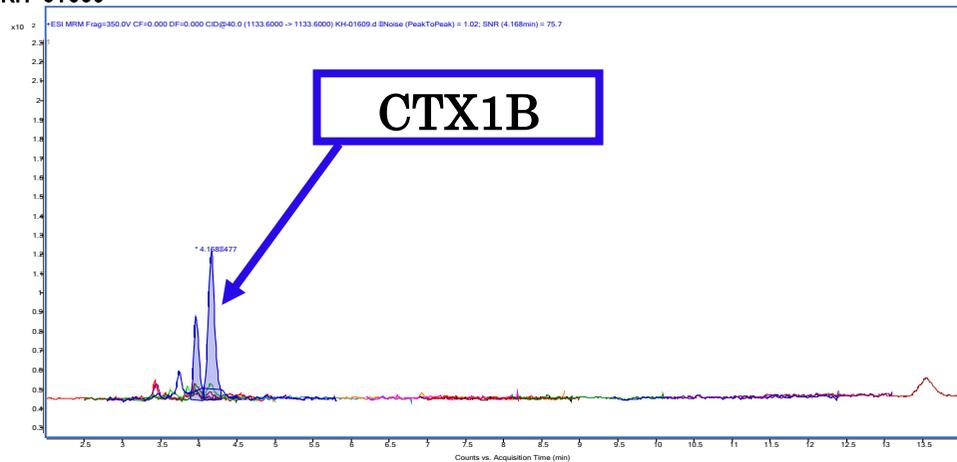
LC-MS/MSで測定

II

III



KH-01609

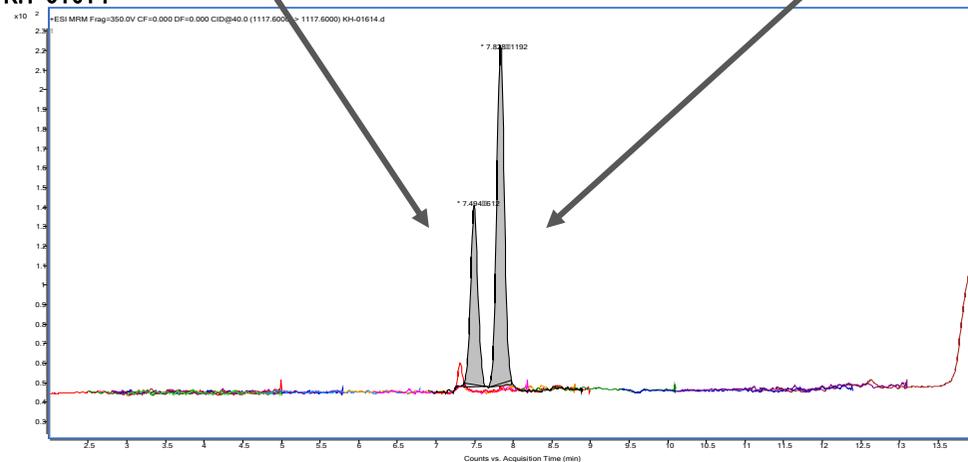


RT	3.96	4.168
Area	215	477
SNR	42.4	75.7

52-epi-54-deoxyCTX1B

54-deoxyCTX1B

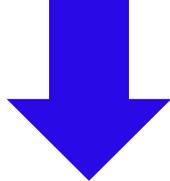
KH-01614



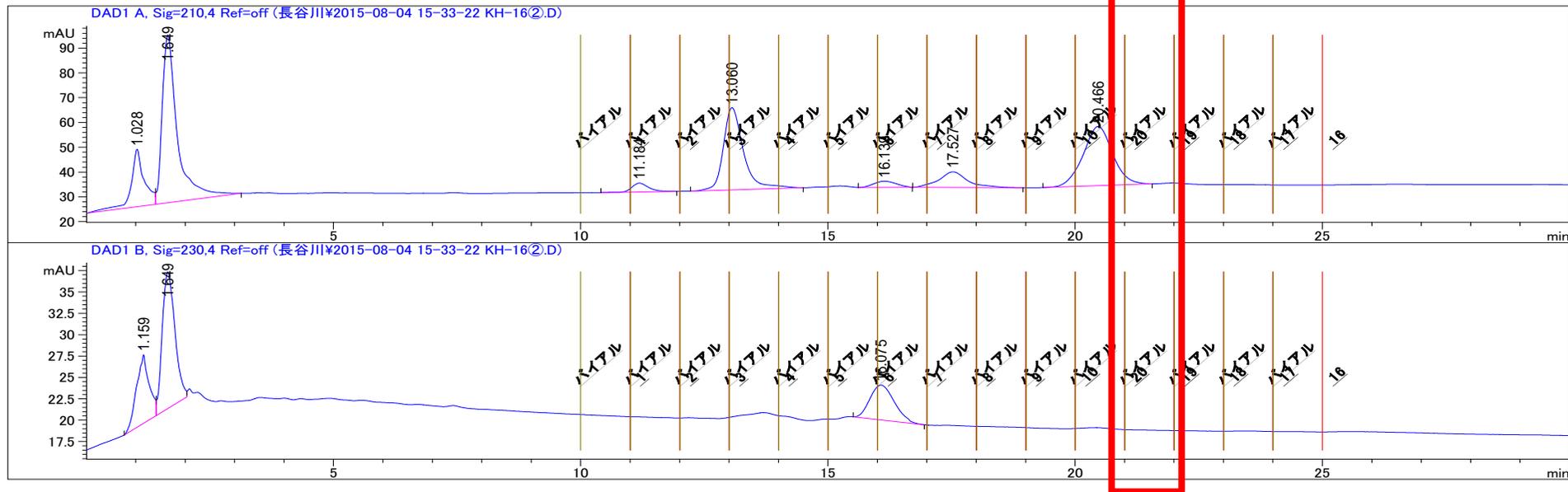
RT	7.494	7.828
Area	612	1192
SNR	116.3	218.5

38

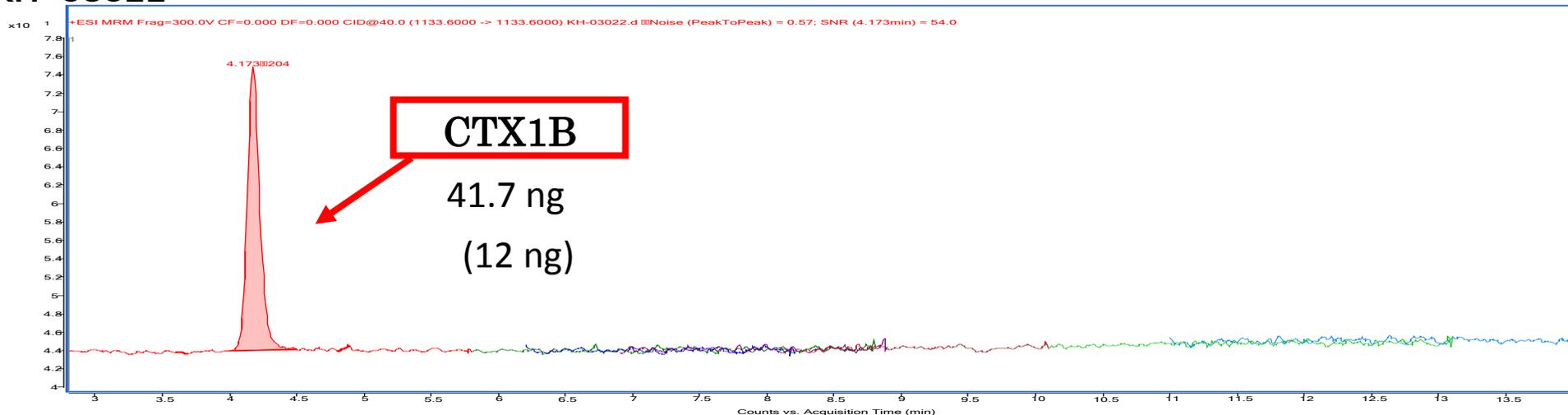
CTX1Bの精製



HPLCで分取



KH-03022



CTX1B

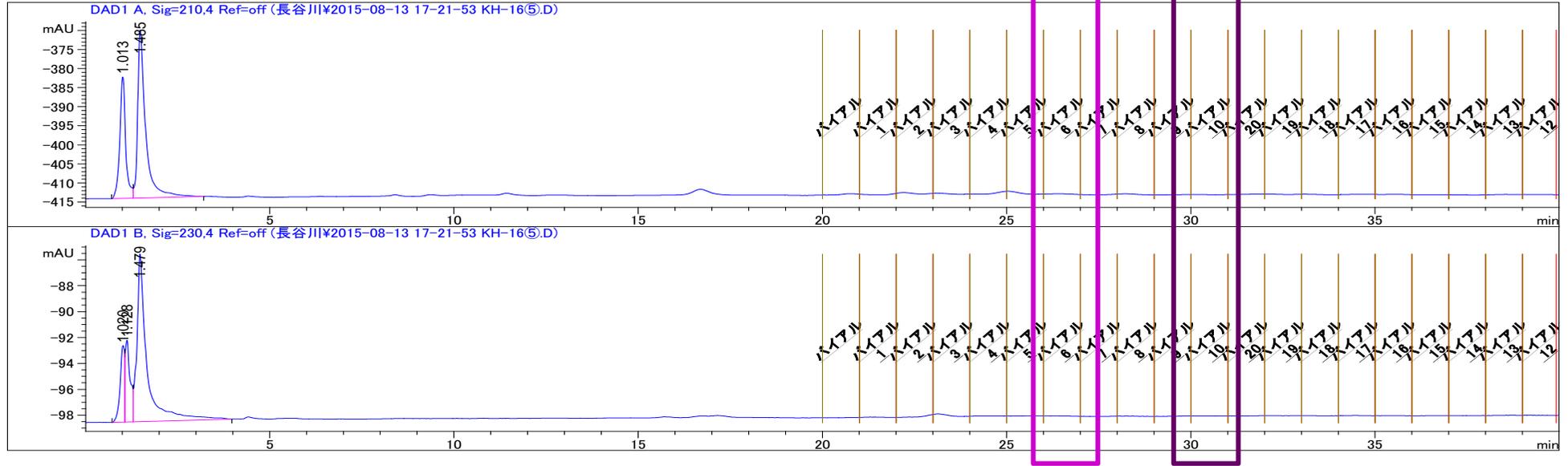
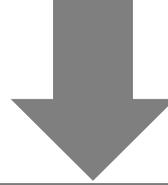
41.7 ng

(12 ng)

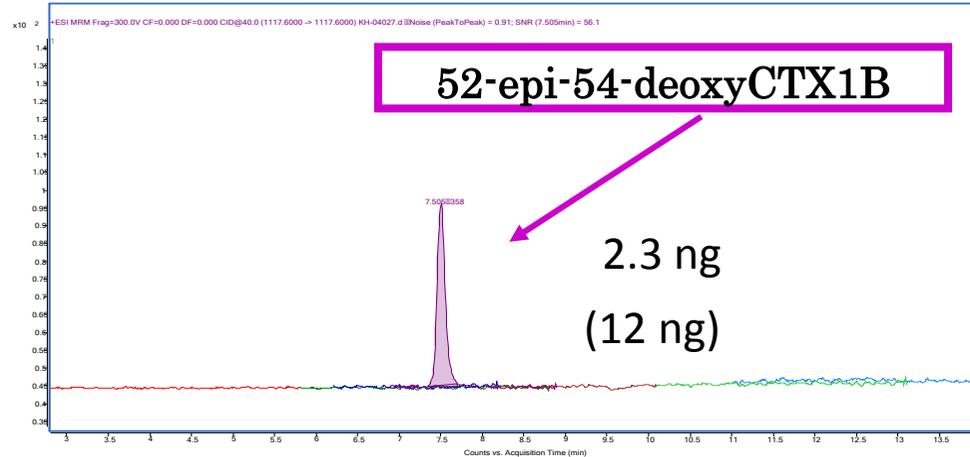
RT 4.17
Area 204
SNR 54

deoxy CTX1Bの精製

HPLCで分取



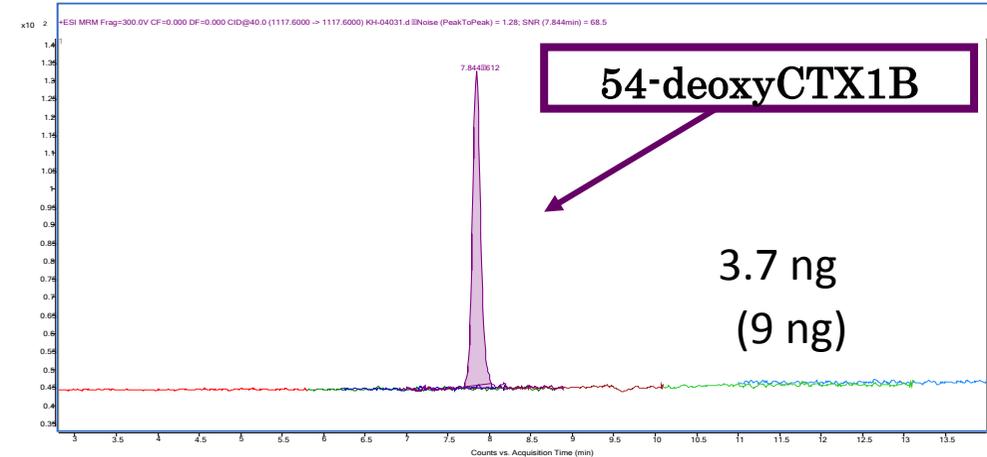
KH-040 27



RT
Area
SNR

7.505
358
56.1

KH-040 31



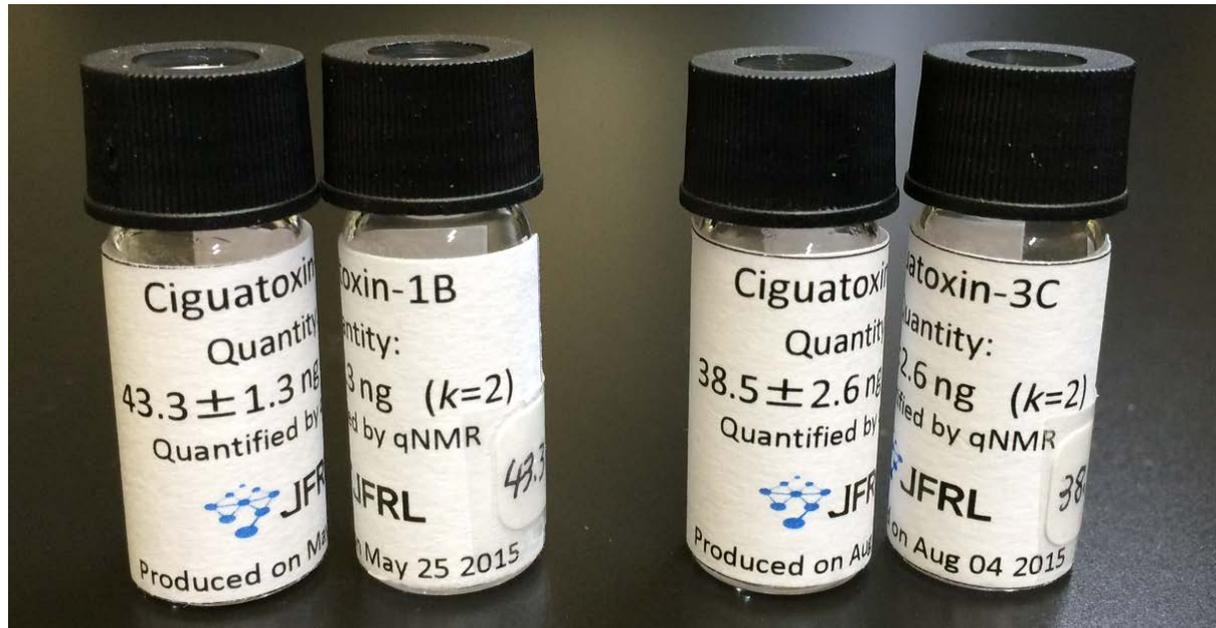
RT
Area
SNR

7.84
612
68.5

Reference Material

(一財) 日本食品分析センター

世界初！！

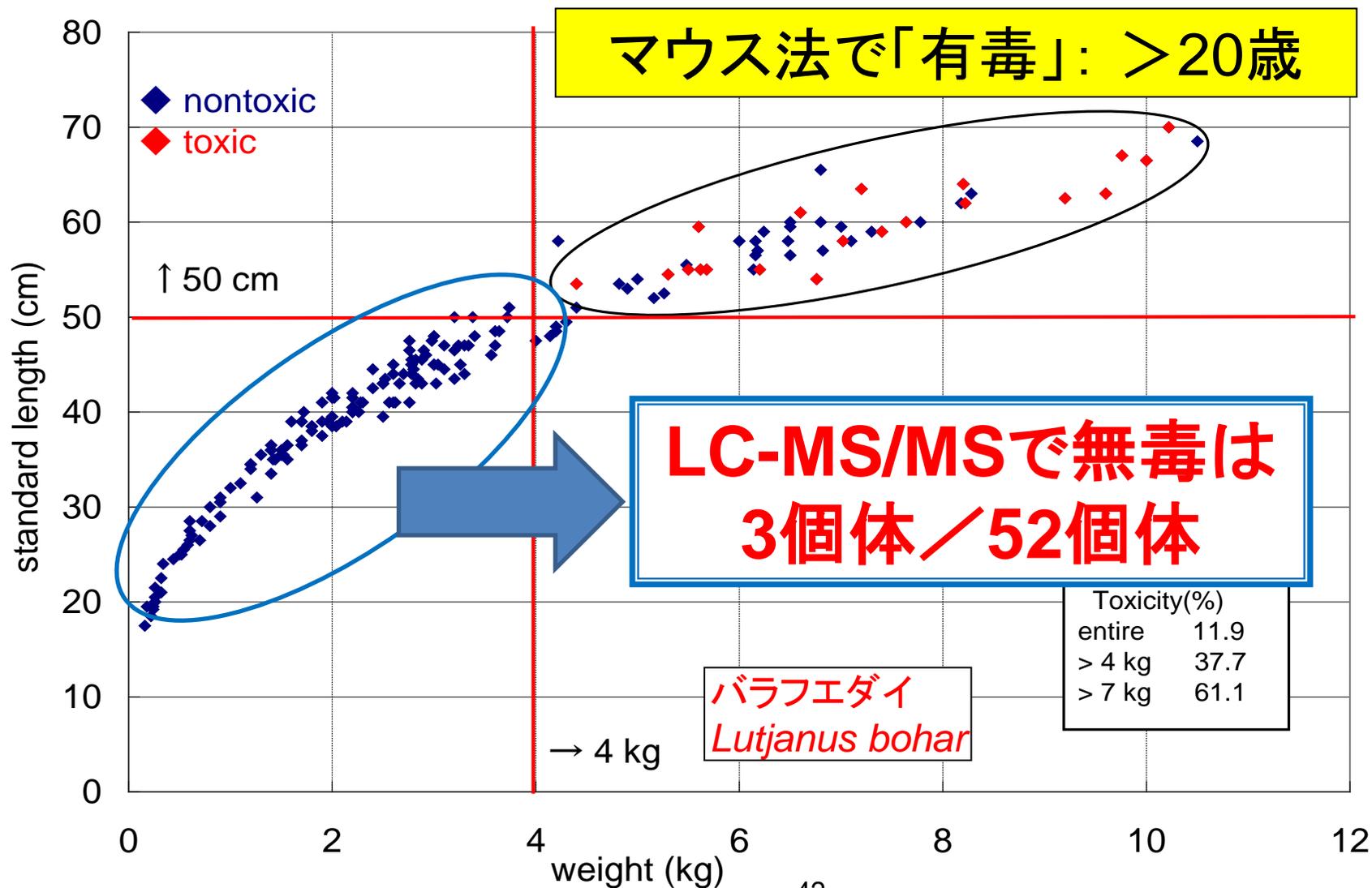


Ciguatoxin-1B
43.3 ± 1.3 ng

Ciguatoxin-3C
38.5 ± 2.6 ng

これを使って二次標品を調製

個別課題3: シガトキシン類の汚染度調査



試料採集の継続

妥当性確認



適応性確認

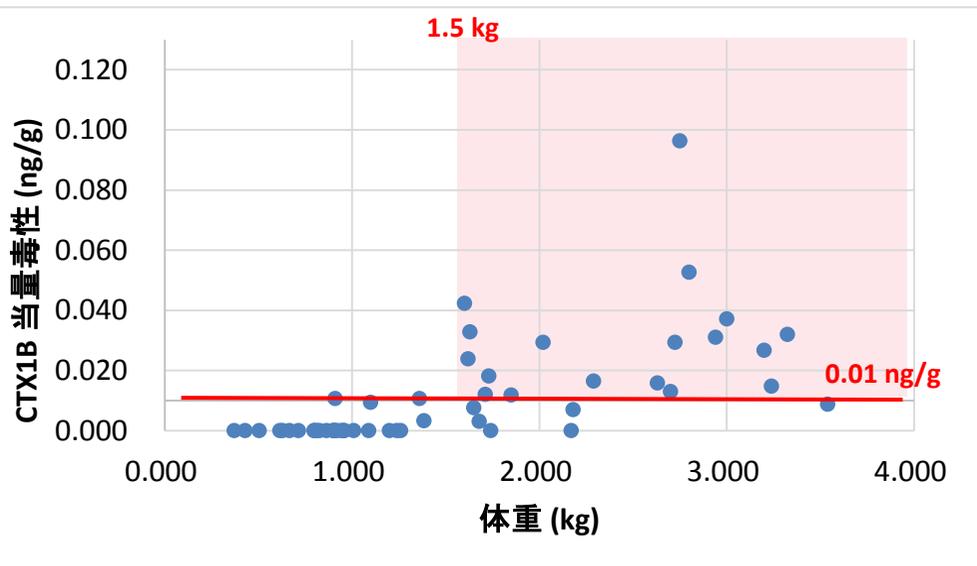


試料分析

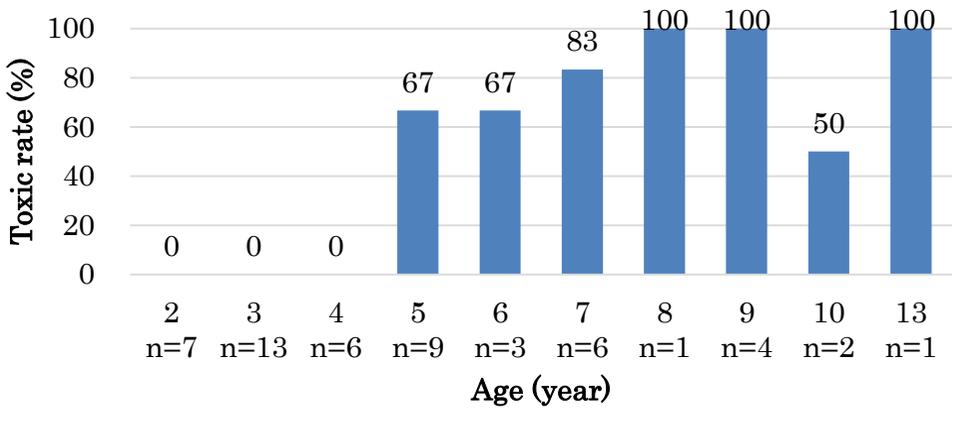
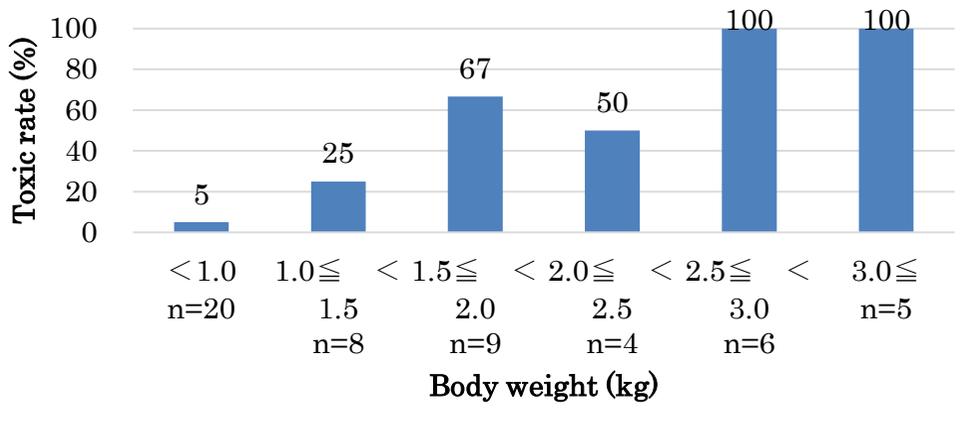
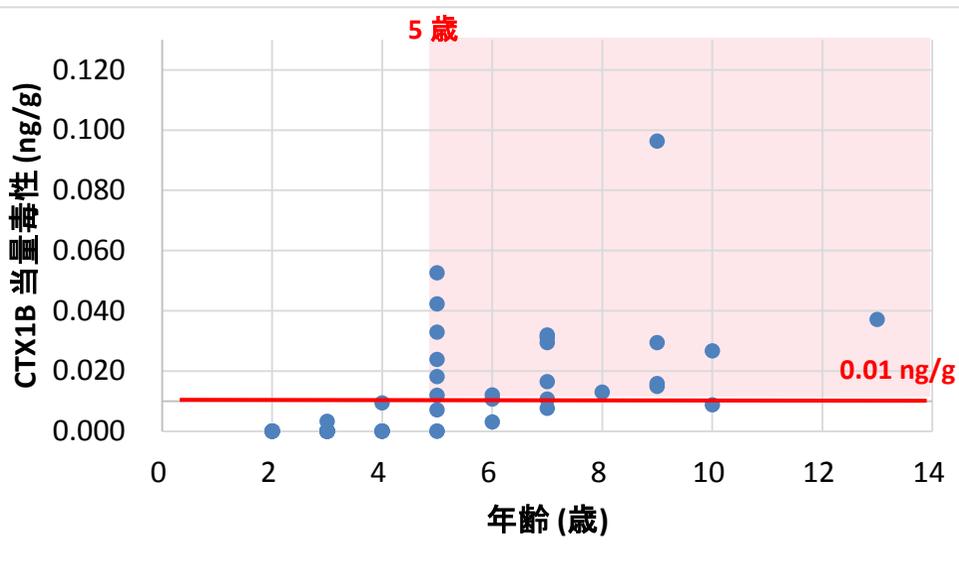
生物学的データを加味した解析

生態学的データと毒性の関係性

体重と毒性 n = 52



年齢と毒性 n = 52

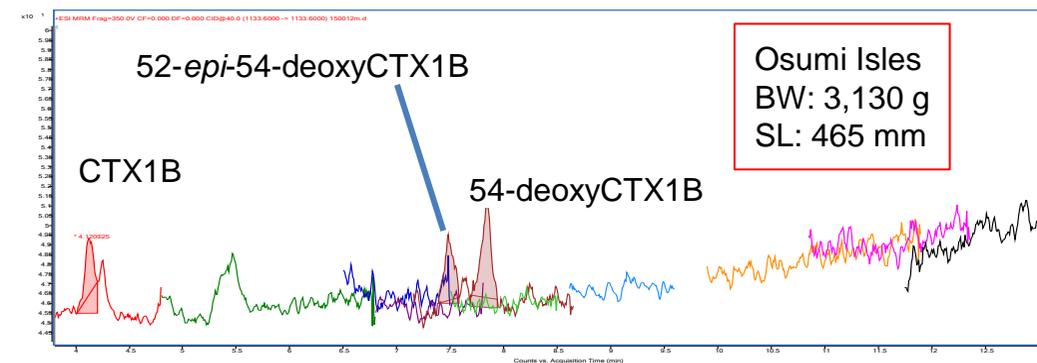
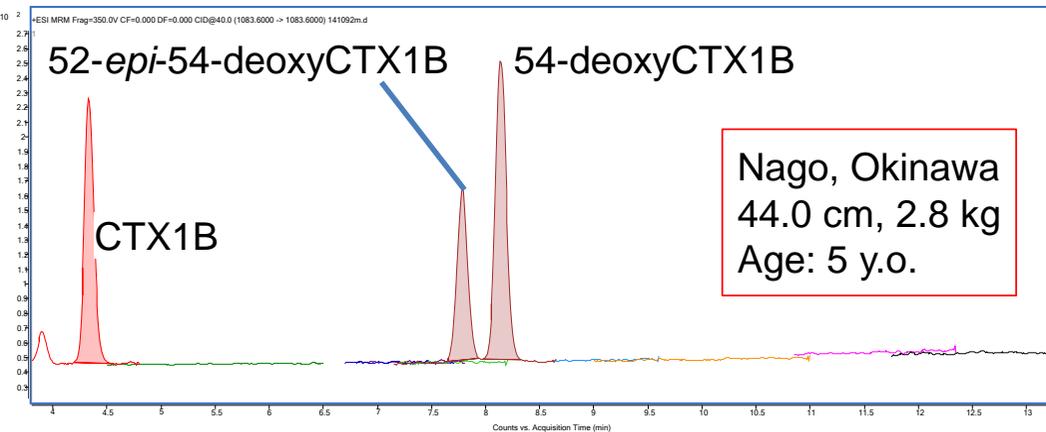
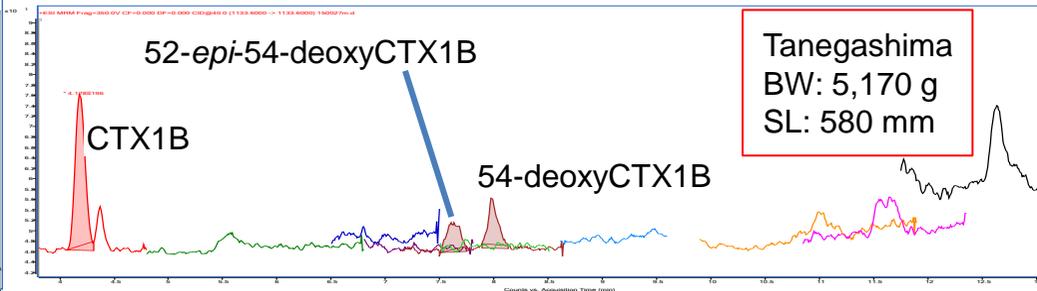
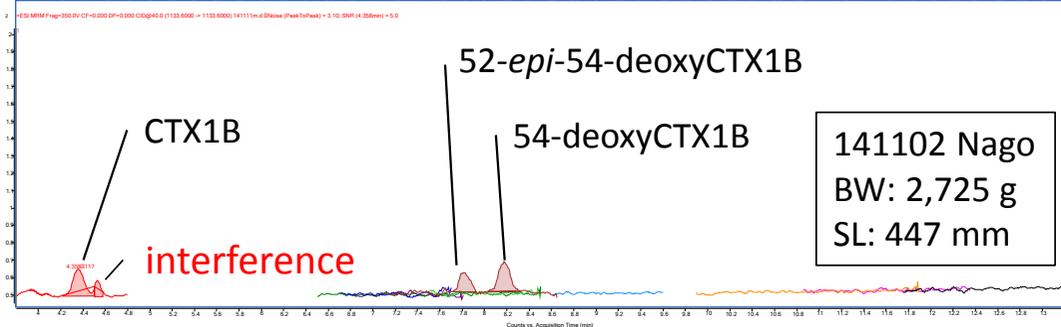
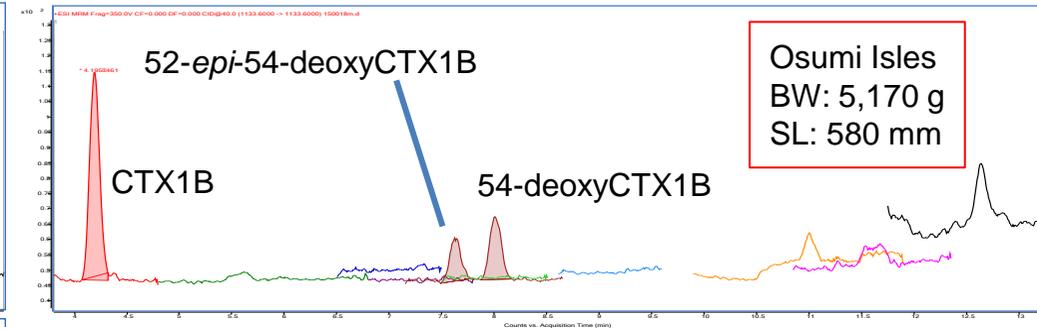
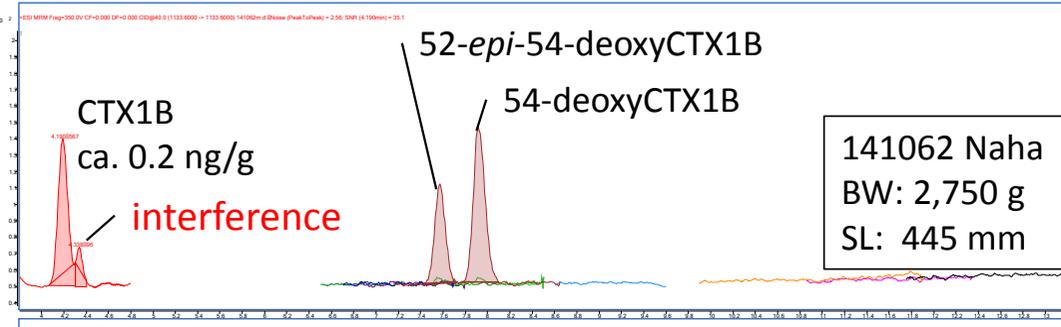


体重、標準体長、年齢が増加すると毒性も増加する傾向が見られた

↳ リスク評価を行う際の重要な知見となる

Okinawa

Kagoshima



No low polar nor CTX3C congeners were detect.

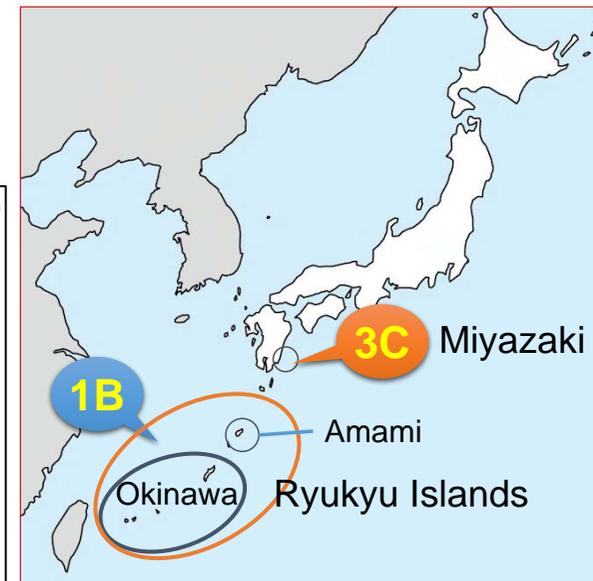
CTXs Profiles of Islands in Kagoshima are similar

Toxicity of *V. louti* collected from Okinawa and Kagoshima.



Toxicity (CTX1B eq./g)	Okinawa	Kagoshima	Remarks
0.2 ng/g ~	0 (0%)	0 (0%)	MBA Positive
0.01 ~ 0.2 ng/g	17 (31%)	2 (29%)	
~0.01 ng/g	23 (43%)	1 (14%)	FAD Action Level
<LOD	14 (26%)	4 (57%)	
total	54	7	

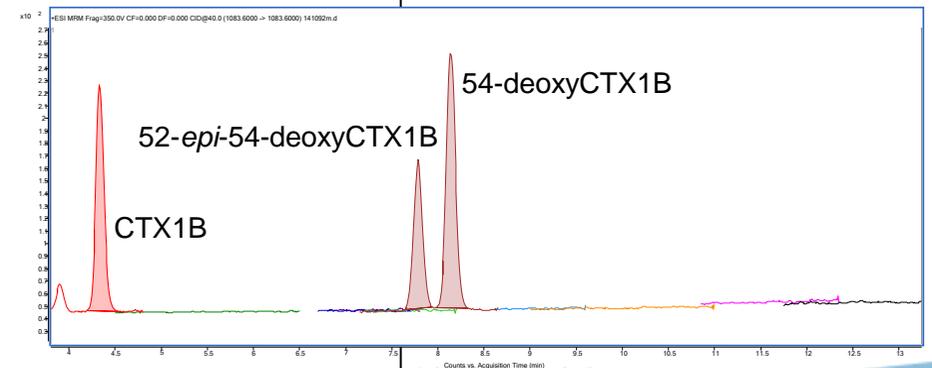
Variola louti



1B

Kagoshima Tanegashima
Yakushima

Okinawa



研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

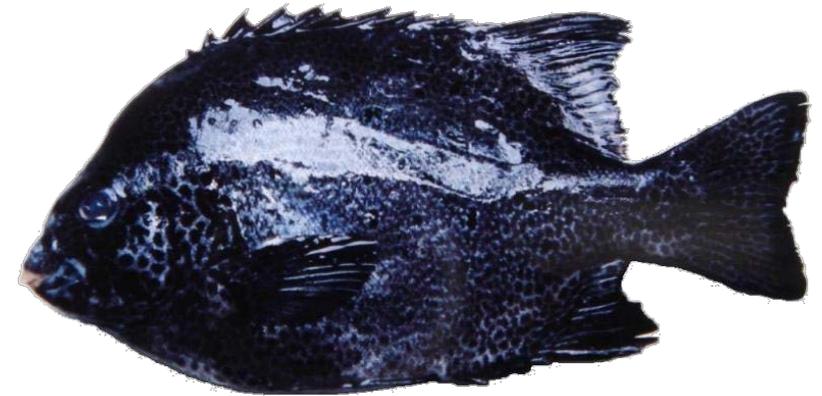
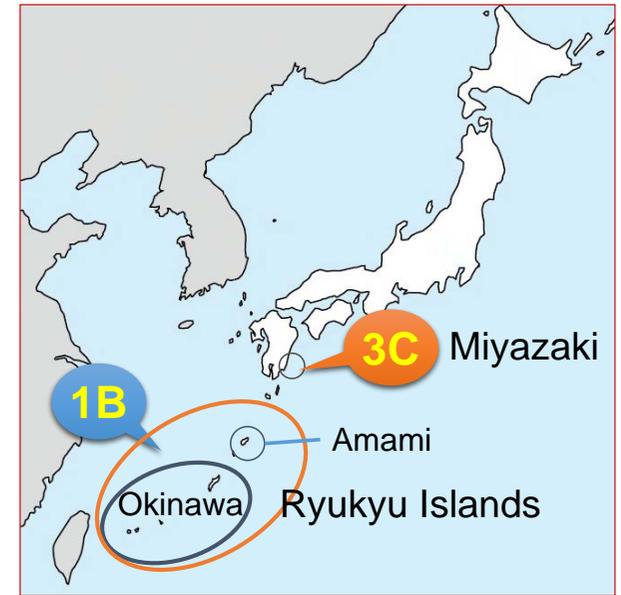
- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

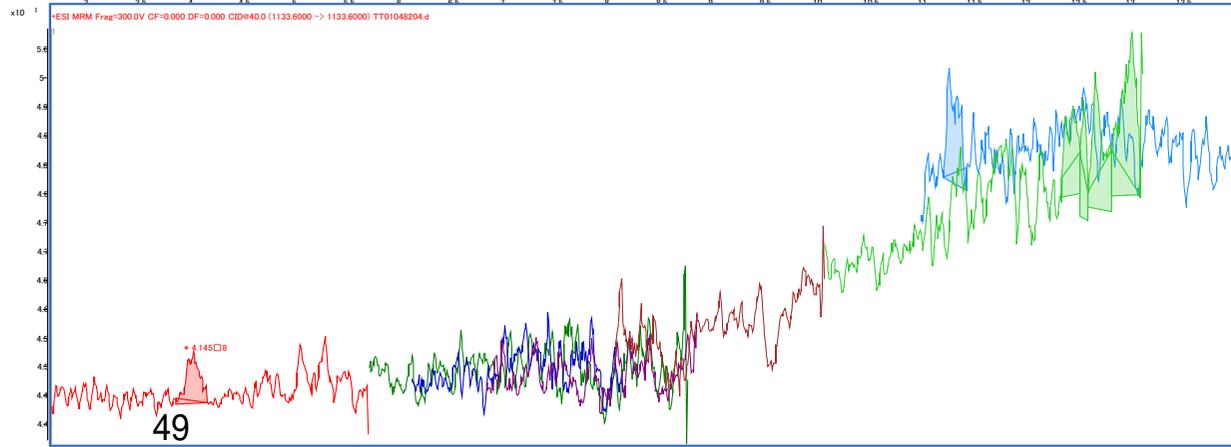
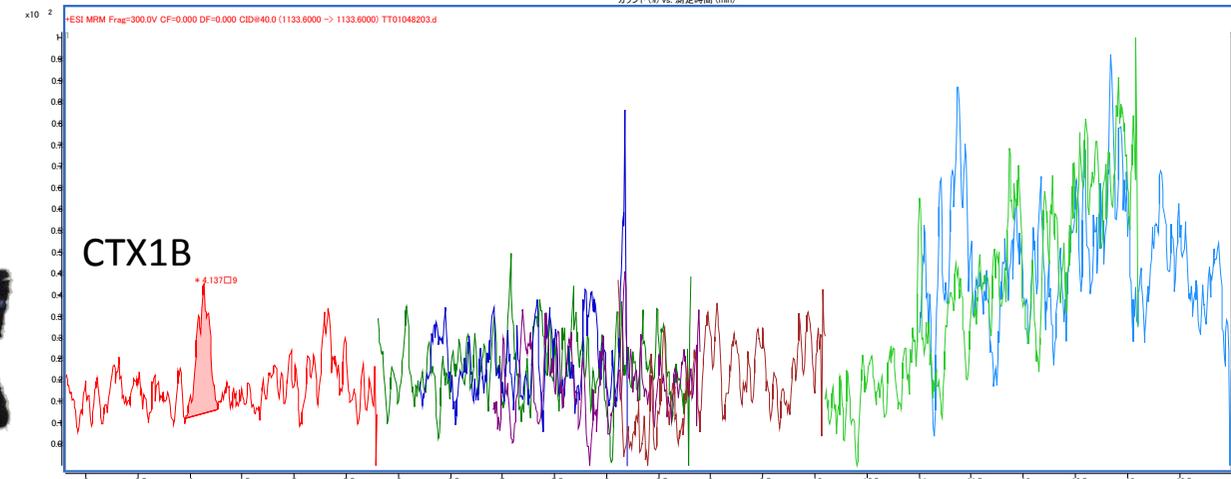
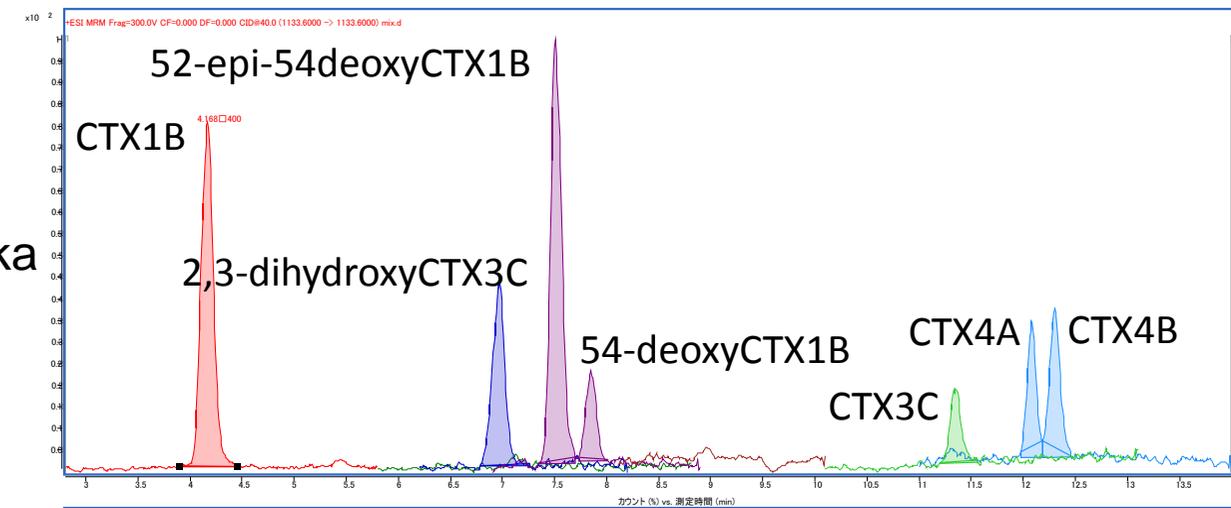
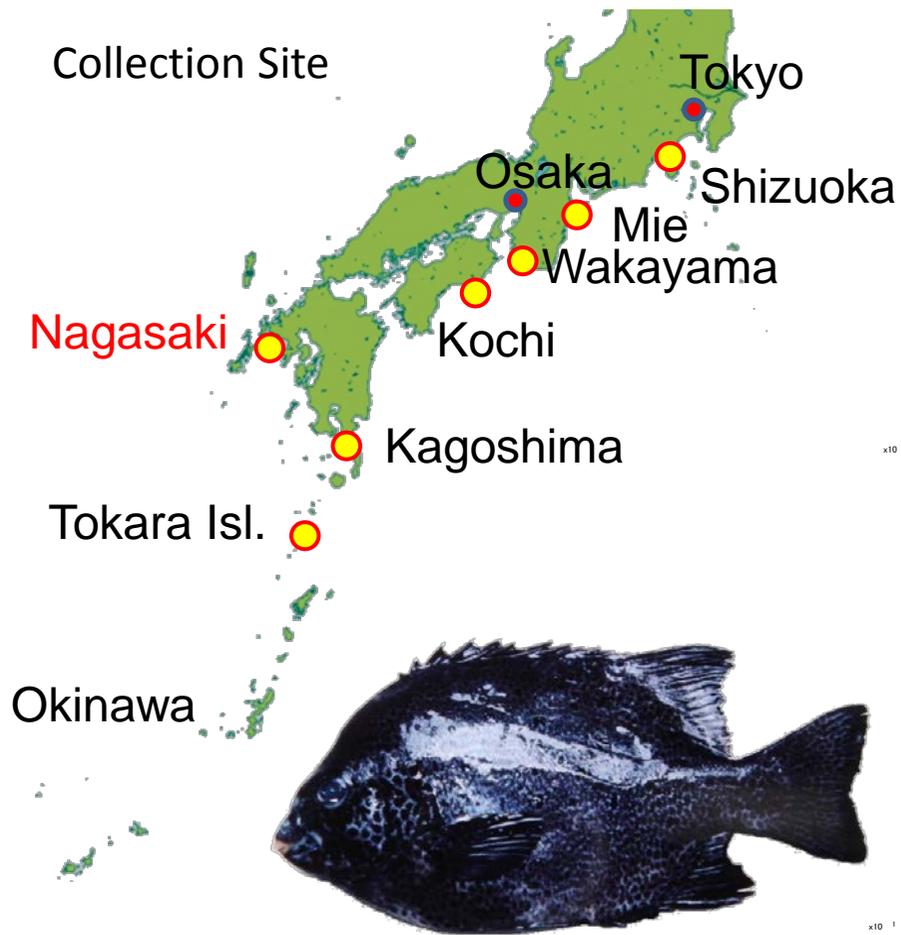
リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

Oplegnathus punctatus





シガテラに関するデータを集積するために

- 諸外国との連携
- シガテラ多発地帯からの検体入手
- シガテラ多発地帯からの症例入手

海外からの検体等の入手は容易ではないが、
委託期間にこだわらず長期的視野で進める

試料の採取地



No.	種	採取地
151001	カマス属	フィリピン
151002	シモフリフェフキ	フィリピン
151003	ミゾレブダイ	フィリピン
151004	ヒメアイゴ	フィリピン
151005	ヒメアイゴ	フィリピン
151006	モヨウハタ	フィリピン
151007	オジロバラハタ	フィリピン
151008	クラカケヒラアジ	トリニダードトバゴ
151009	アオハタモドキ	トリニダードトバゴ
151010	オオサワラ	トリニダードトバゴ
151011	海産ナマズの種類	トリニダードトバゴ
151012	バラハタ	台湾

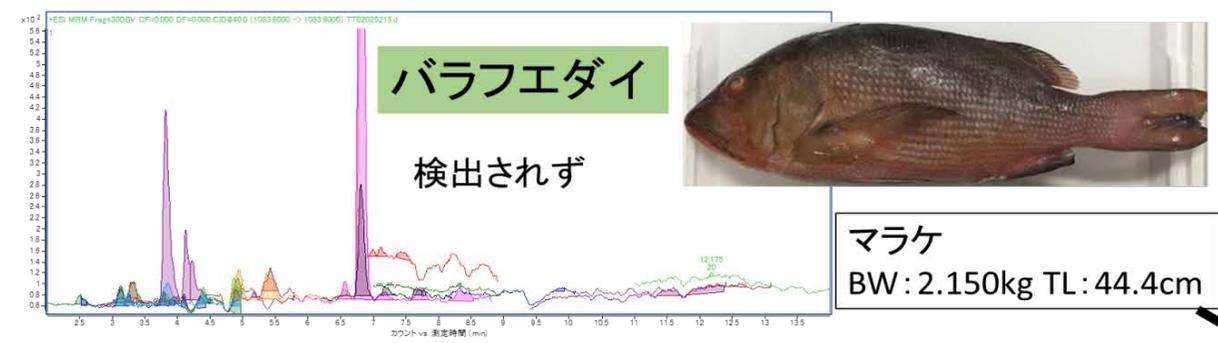
No.	種	採取地
151013	バラハタ	台湾
151014	オジロバラハタ	台湾
151015	オジロバラハタ	台湾
151016	アカマダラハタ	台湾
151017	クロホシフエダイ	タイ
151018	クロホシフエダイ	タイ
151019	コクテンヒレハタ	タイ
151020	オオモンハタ	タイ
151021	コクテンヒレハタ	タイ
151022	ミナミフエダイ	タイ
151023	チャイロマルハタor アオハタ	タイ
151024	ヨコシマサワラ	タイ

No.	種	採取地
151025	ヨコシマサワラ	タイ
151026	ミナミフエダイ	タイ
151027	フエダイor ナミフエダイ	台湾
151028	ゴマフエダイ	フィジー
151029	イッテンフエダイ	フィジー
151030	スジアラ	フィジー
151031	スジアラ	フィジー
151032	スジアラ	フィジー
151033	ヨコフエダイor ヒメフエダイ	フィジー
151034	アズキハタ	フィジー
151035	バラハタ	フィジー

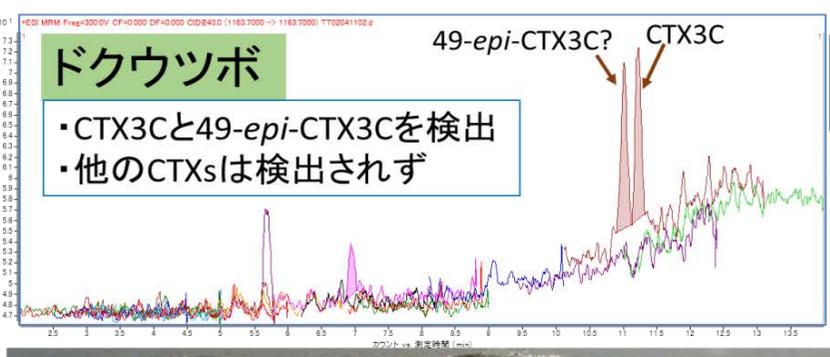
No.	種	採取地
151036	コハクヒメジor ミナミヒメジ	フィジー
151037	チョウチョウコショウダイ	フィジー
151038	スジアラ	フィジー
151039	スジアラ	フィジー
151040	バラハタ	フィジー
151041	ニセクロホシフエダイ	フィジー
151042	ニセクロホシフエダイ	フィジー
151043	ニセクロホシフエダイ	フィジー
151044	バラフエダイ	フィジー
151045	アカマダラハタ	フィジー
151046	ドクウツボ	フィジー



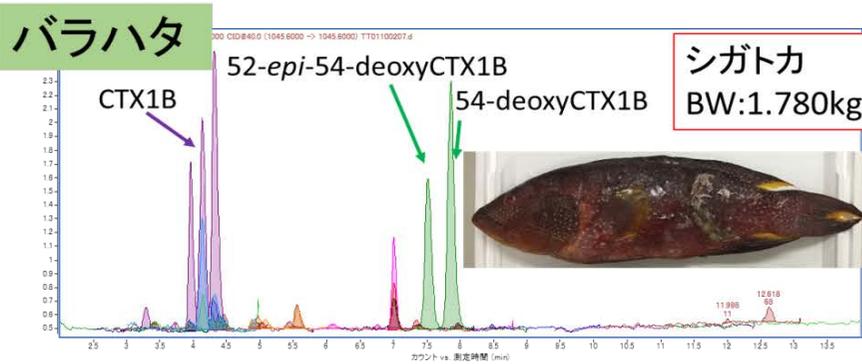
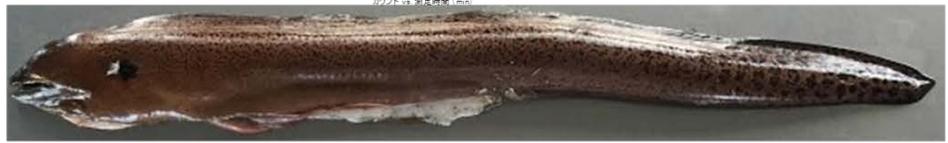
◇フィジー



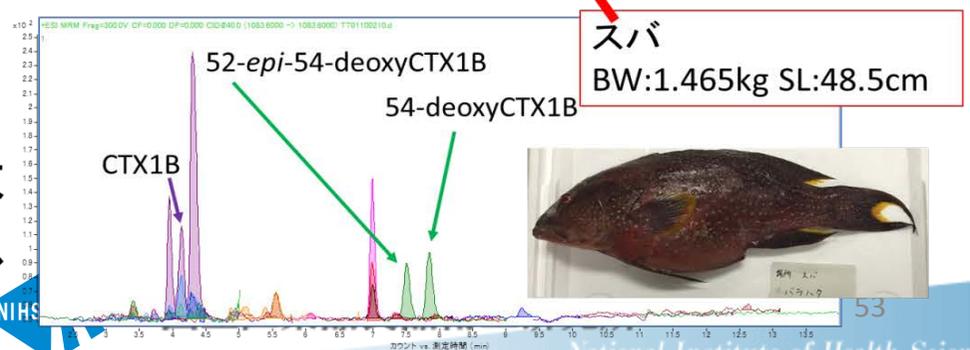
マラケ
BW: 2.150kg TL: 44.4cm

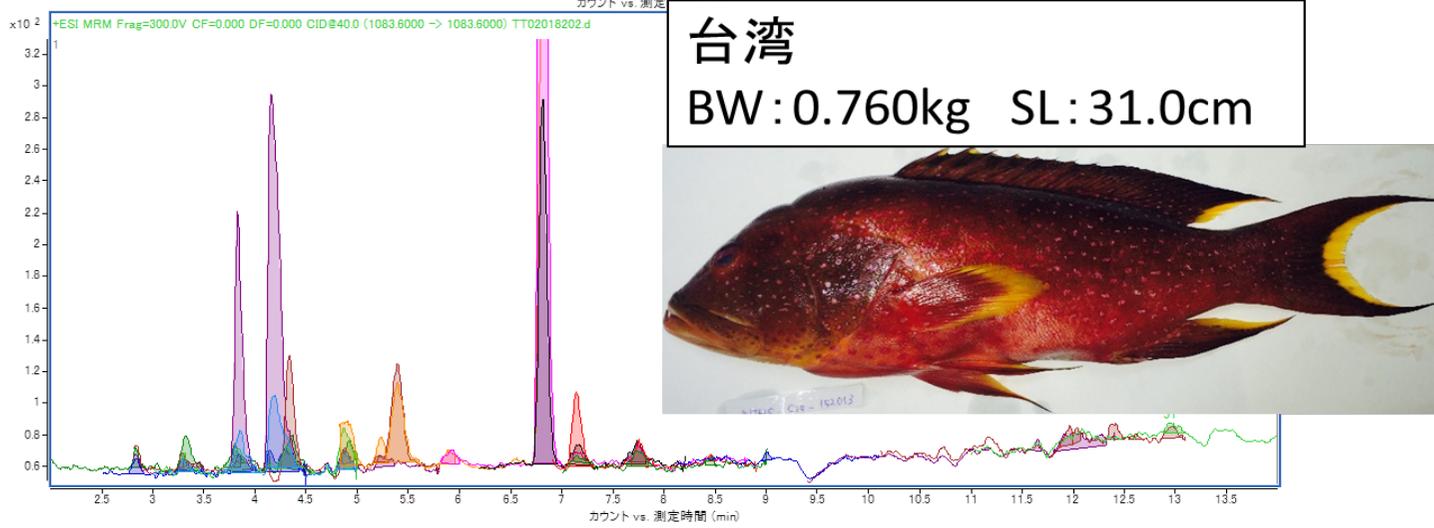
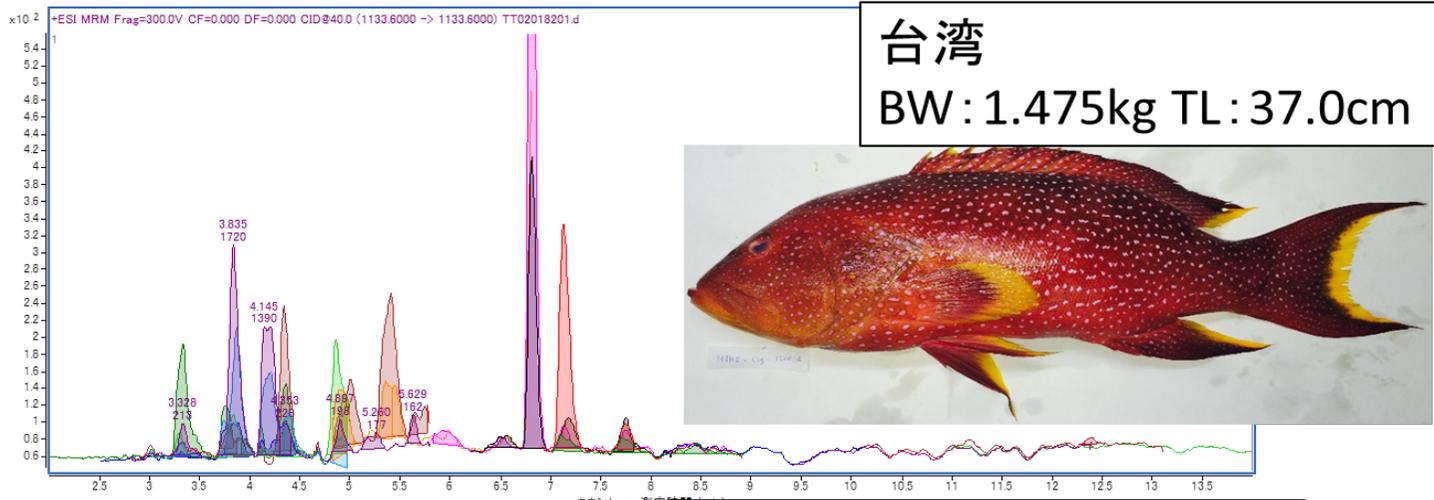


ラウトカ
BL: 1.845kg TL: 87.5cm



CTX組成は
沖縄と同じ





台湾でCFPの報告が少ないのはCTXsを含まないため？

2) シガテラ原因魚採捕海域における生物汚染調査

[採集・購入した藻食動物]

これらについては季節的に試料確保

採集場所: 志摩市、南伊勢町、尾鷲市



ガンガゼ



ウニ



アワビ



サザエ

いずれの試料からも検出されなかった。



環境が渦鞭毛藻の生育に適していない？

研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

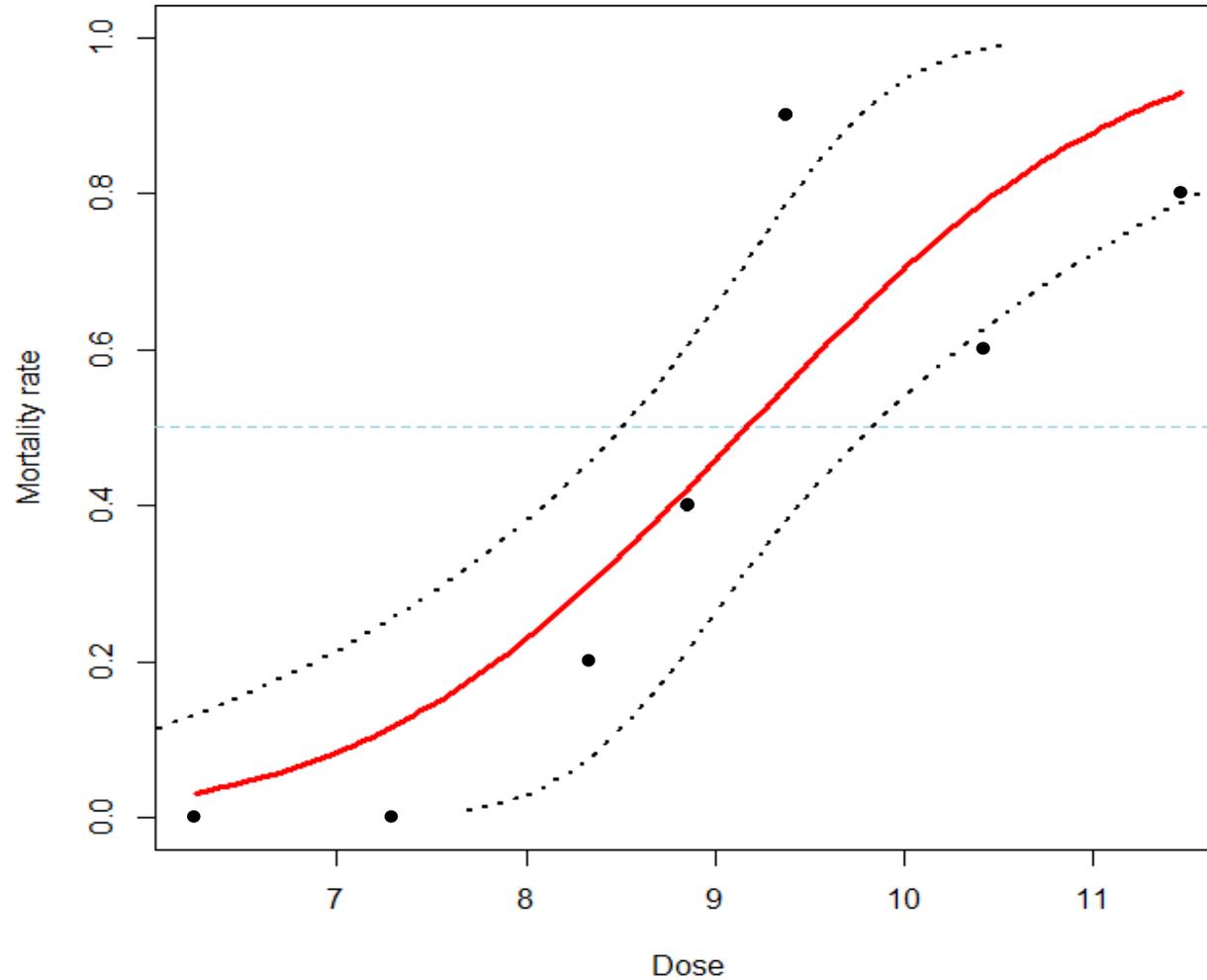
- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

CTX1Bのi.p.投与のLD₅₀値



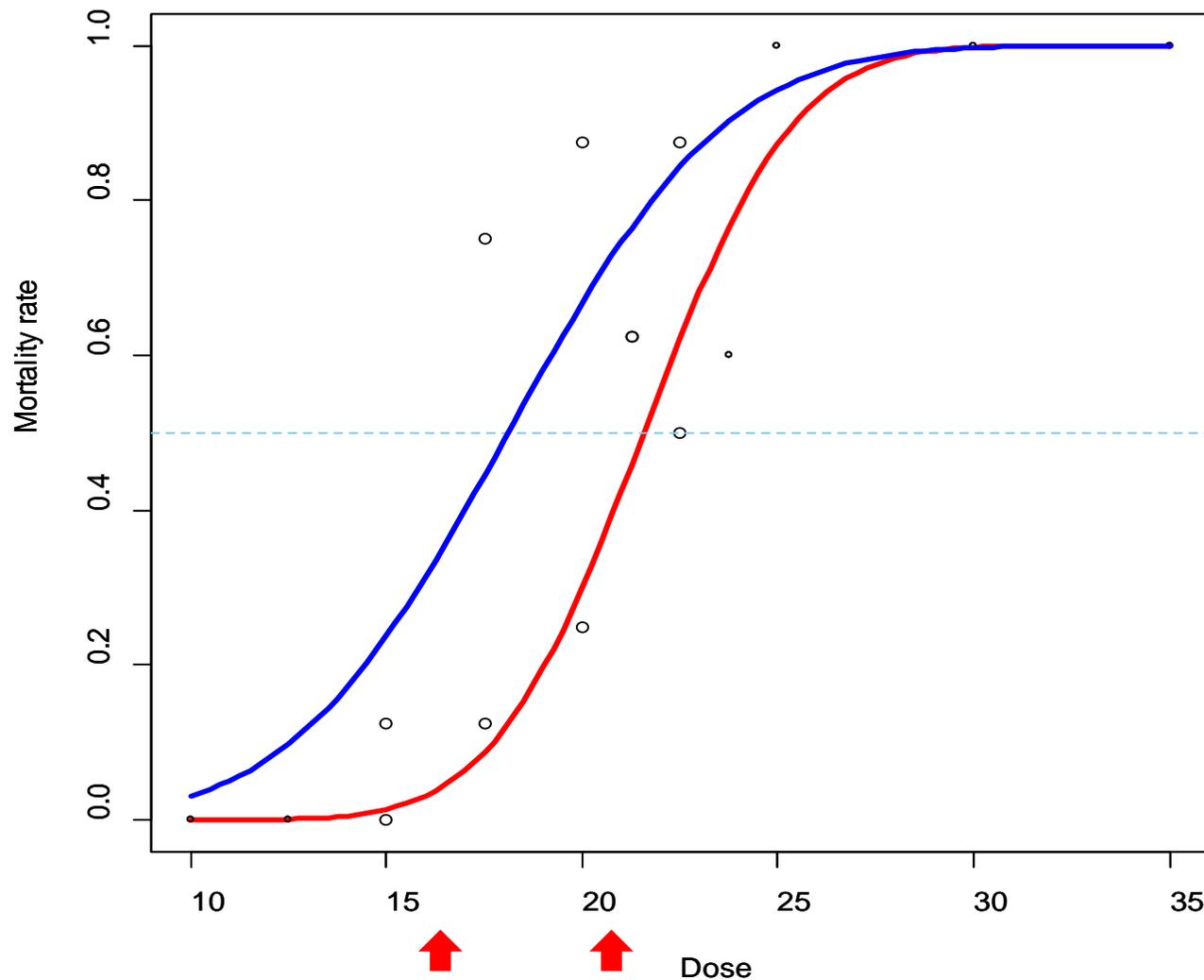
CTX1B, CTX3CのLD₅₀値

CTX1B	i.p.	p.o.
LD ₅₀ (ng/mouse)	9.16	14.75
95%信頼区間	8.51 – 9.82	13.56 – 15.95
LD ₅₀ (μg/kg)	0.472	0.764
95%信頼区間	0.438 – 0.506	0.702 – 0.826

CTX3C	i.p.	p.o.
LD ₅₀ (ng/mouse)	21.49	30.65
95%信頼区間	20.14 – 22.83	28.17 – 33.13
LD ₅₀ (μg/kg)	1.135	1.631
95%信頼区間	1.063 – 1.205	1.499 – 1.763

・腹腔内投与と経口投与による毒性の差が小さい。

CTX3Cの腹腔内投与によるLD₅₀ (~1週間後)



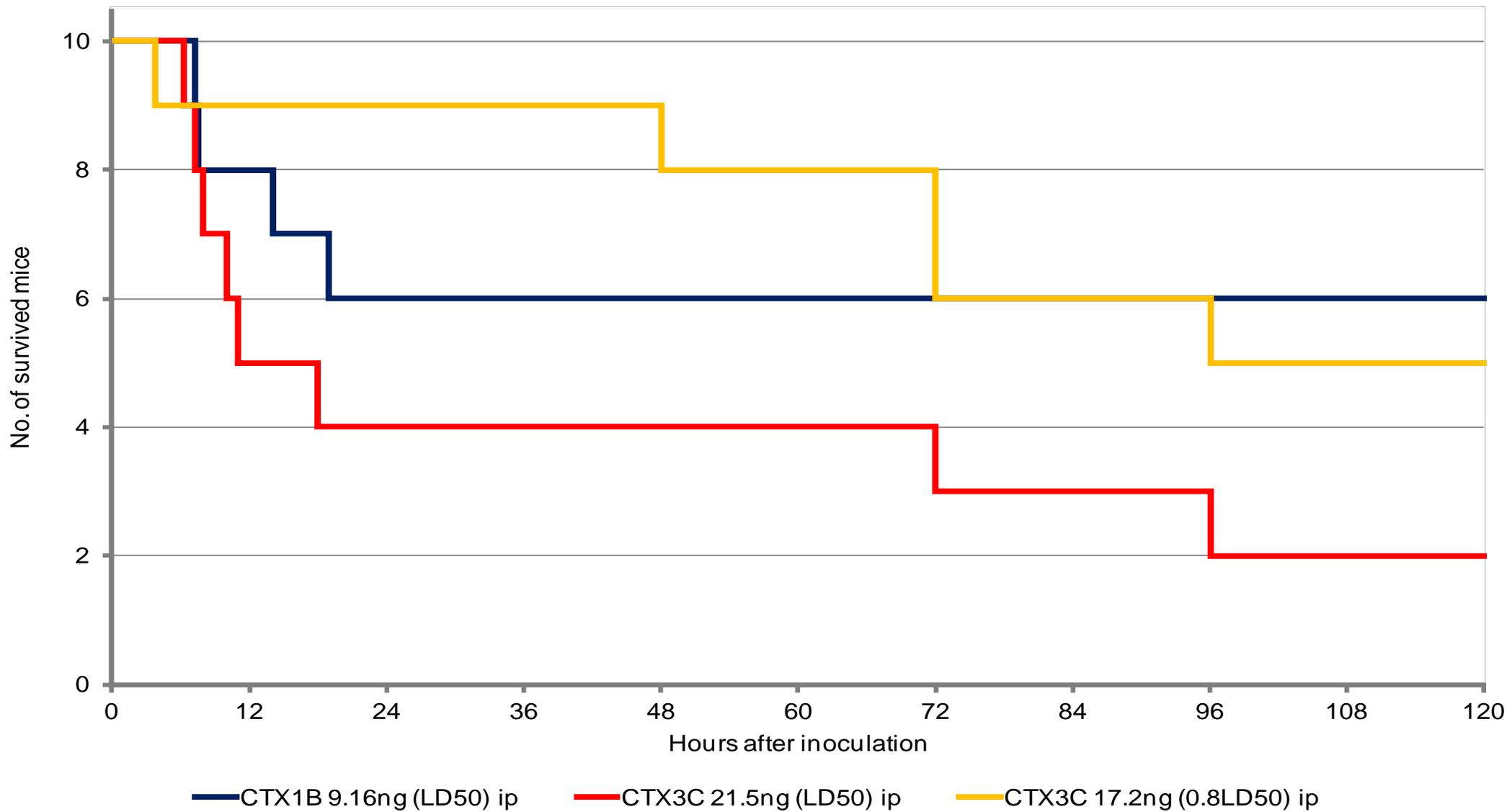
LD₅₀ (24h) = 21.57ng

LD₅₀ (1W) = 18.11ng

/ 17~20g mouse

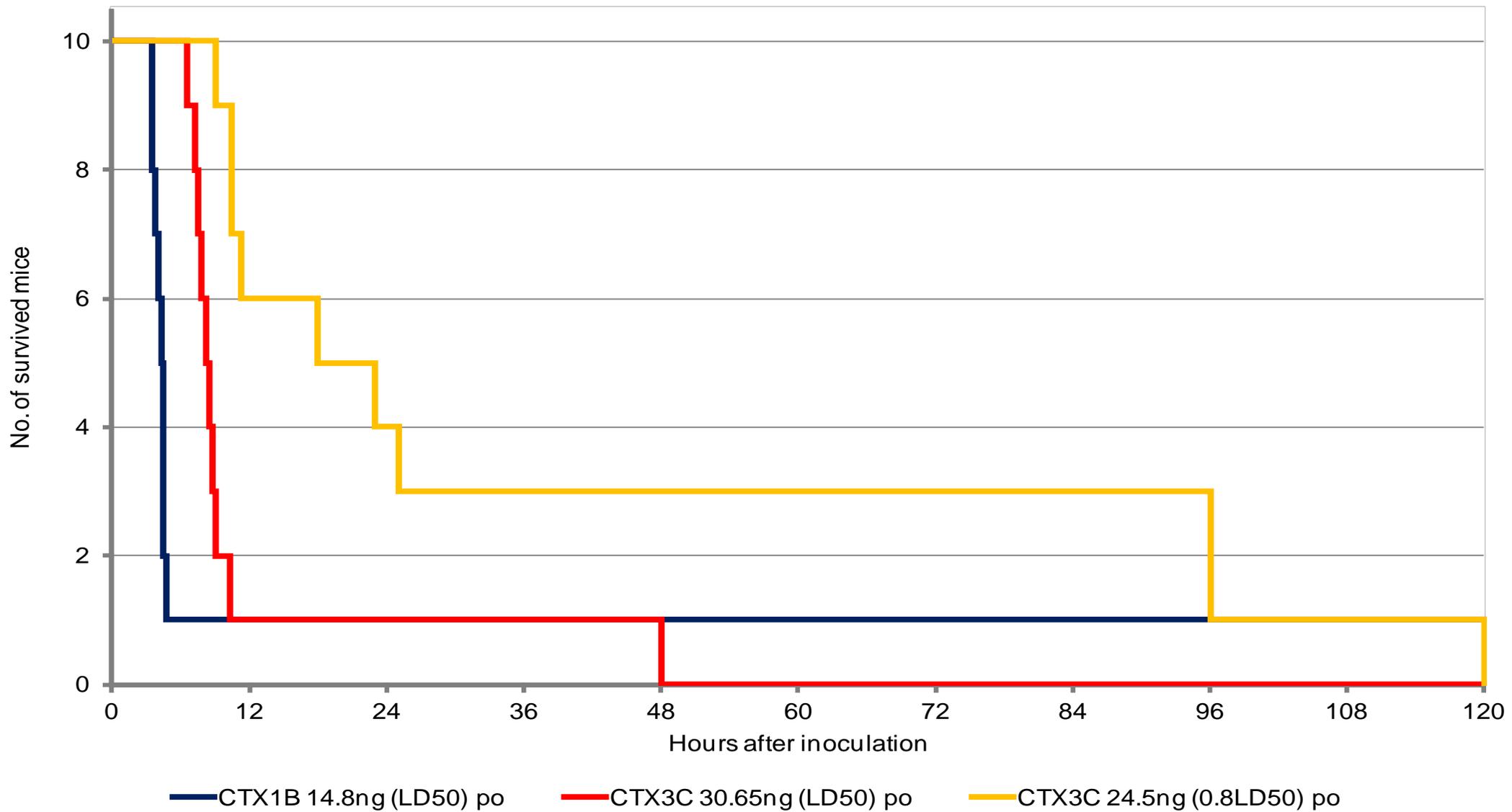


Fig. 1 Survival curves of CTX i.p.



CTX3Cでは、投与後24時間以降もマウスが死亡する。

Fig. 2 Survival curves of CTX p.o.



CTX3Cでは、投与後24時間以降もマウスが死亡する。

CTX1B, CTX3CのLD₅₀値

CTX1B		i.p.	p.o.
LD ₅₀ (μg/kg)	24h	0.472	0.764
95%信頼区間		0.438 – 0.506	0.702 – 0.826

CTX3C		i.p.	p.o.
LD ₅₀ (μg/kg)	24h	1.142	1.608
95%信頼区間		1.077 – 1.209	1.469 – 1.749
LD ₅₀ (μg/kg)	1W	0.959	1.166
95%信頼区間		0.870 – 1.048	1.035 – 1.297

- ・今までの報告では、腹腔内投与によるLD₅₀は
CTX1Bは0.35 μg/kg、CTX3Cは1.3 μg/kgとされ、
CTX3Cの毒性は弱いとされていた。

研究分担者と役割

臨床疫学班 『シガテラ発生実態の解析』

登田美桜(国立医薬品食品衛生研究所)

- 食中毒事件、届出外事例、臨床像の解析

分析班 『シガトキシンの解析手法開発』

大城直雅(国立医薬品食品衛生研究所)

- LC-MS/MS分析、細胞毒性試験、免疫学的試験

生物班 『沿岸海域の生物における汚染実態の解明』

石川 輝(三重大学大学院)

- シガトキシン類の産生生物(渦鞭毛藻)と、ベクター(魚類、底生生物)

毒性班 『シガトキシン類の毒性評価』

鈴木穂高(国立医薬品食品衛生研究所)

- CTXs類縁体ごとの毒性評価、投与経路による毒性評価

リスク評価班 『シガトキシン類のリスク評価、リスク管理アプローチの検討』

豊福 肇(山口大学)

- リスク推定、データギャップの特定、海外のリスク評価およびリスク管理措置の情報収集

EFSA (2010)

- CTXsの毒性学的データベースは限られている, ほとんどが急性毒性試験
- CTXsの急性参照用量(ARfD)の設定を検討(CONTAM Panel)データが非常に限られているため設定は不可能
- 数か月経過後の再暴露で蓄積効果がありえる
⇒ ARfD では適切にヒトの健康を守るとは限らない
- 魚料理を1回摂取したときの、感受性のある人に影響を及ぼさないと予測される濃度は、 $0.01\mu\text{gP-CTX-1}$ 当量/kg魚類とみられる。(中毒症例に基づく)

米国食品医薬品庁 (FDA)

シガトキシンの対策レベル(Action Level)

- 太平洋産魚類 : 0.01ppb P-CTX-1当量
(注 P-CTX-1:CTX1B)
- カリブ海産魚類:0.1ppb C-CTX-1当量
(注 C-CTX-1:カリビアンシガトキシン-1)

主なリスク管理措置の例

FDA

- 管理基準: シガテラ毒に関して州から警告が出されている地域及び科学的知見によってシガテラ毒に関して問題があると指摘されている地域で漁獲された魚類でないこと。
- モニタリング: 受領した従業員が、漁獲地域をロットごとに漁獲した漁師に尋ねる。
- 改善措置: 漁獲地域を変更したことの証拠を得るまで、(管理基準を満たしていない魚を)供給した業者の供給品の使用を拒否する。

EU

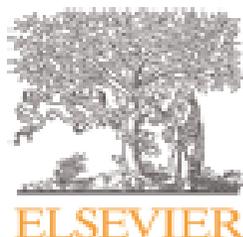
- 現在、EUにはCTXsに対する規格基準は存在しない。
- EU 規則のもとで、シガトキシンまたは筋肉を麻痺させる毒素等を含む魚の製品を市場で販売は禁止されている。(Regulation 853/2004/EC; Regulation 854/2004/EC).

フランス領ポリネシア

以下の魚類の販売は違法。

- ・ハタ科: スジアラ、マダラハタ
- ・フエダイ科: バラフエダイ、イッテンフエダイ、ナミフエダイ
- ・ベラ科: メガネモチノウオ
- ・カマス科: オニカマス(ドクカマス)
- ・ニザダイ科: サザナミハギ
- ・ウツボ科: 全てのウツボ
- ・モンガラカワハギ科 全てのモンガラカワハギ

フランスチームの評価



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envres



Contribution to the risk characterization of ciguatoxins: LOAEL estimated from eight ciguatera fish poisoning events in Guadeloupe (French West Indies)

Virginie Hossen^a, Lucia Soliño^b, Patricia Leroy^a, Eric David^c, Pierre Velge^d, Sylviane Dragacci^{a,*}, Sophie Krys^a, Harold Flores Quintana^e, Jorge Diogène^b

^a Université Paris-Est, ANSES-Laboratory for Food Safety, National Reference Laboratory for the Control of Marine biotoxins, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94701 Maisons-Alfort, France

^b Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Ctra. Poble Nou km 5.5, Sant Carles de la Rapita, Spain

^c Ministry of Agriculture, Direction de l'Alimentation de l'Agriculture et de la Forêt de Guadeloupe, Abymes, France

^d Ministry of Agriculture, General Directorate for Food, Paris, France

^e U.S. Food and Drug Administration (FDA), Division of Seafood Science and Technology, Gulf Coast Seafood Laboratory, 1 Iberville Drive, Dauphin Island, AL 36528, USA

疫学情報

- すべてグルドグループ海域で採れた魚を喫食
- 詳細な調査ができたのは12中毒、41名の患者 (Table1)
- 患者年齢: 3から71歳
- 症状: 感覚異常 (72%)、四肢の知覚異常 (64%)、下痢 (67%)、腹部痙攣 (64%)、嘔吐 (56%)、脱力感 (44%)、吐き気 (22%)、腫脹 (28%)、掻痒 (19%)。
- 喫食量: 患者の50%は100~200 gを喫食
- 魚種: Lutjanus (8 例), Caranx (3 例), Mycteroperca (1 例)。
- 潜伏期間: 魚喫食後 2~9.5 時間。
- 調査を強化: 魚の喫食量、残品の分析
- 質問票: 患者数、発症日、特定された症状、症状の重篤性、回復するまでの時間、可能なら喫食魚量、患者の個人情報 (年齢、性別、体重)

LOAEL

LOAEL: 48.4pgP-CTX-1eq/.kg 体重
4.2 ng P-CTX-1 eq./人

52歳 (男性)

体 重 : 87 kg

喫食量 : 100 g

CTXs濃度 : 0.0421 μ g P-CTX-1eq/kg

64.2 pg P-CTX-1eq./kg bwで発症

LOAELは、FDA guidance levels

(0.01 mg P-CTX-1eq/kg fishとも整合性あり)

沖縄データからのLOAEL計算

No.	魚種	食品	性別	年齢	喫食量	毒性	摂取量		体重 ²⁾	摂取量 ／体重	発症時間 (時間)
					(g)	(MU/g)	(MU)	(ng) ¹⁾	(Kg)	(ng/kg)	
1	イシガキダイ	生(刺身)	F	21	240	0.3	72	504	51	9.88	3
			F	46	360	0.3	108	756	53	14.3	2.5
2	バラハタ	生(刺身)	M	31	156	0.1	16	109	68	1.61	18
			F	31	120	0.1	12	84	51	1.65	22
			F	38	144	0.1	14	101	52	1.94	15
3	バラフェダイ	生(刺身)	M	72	240-360	0.2	48-72	336	62	5.42	5
4	イッテン フェダイ	バター焼き	M	51	230	0.8	184	1288	68	18.9	8.5

1) 1 MU = 7 ngとして換算

2) 文科省H21年度体力・運動能力調査結果の平均体重を適用

「二枚貝中のオカダ酸群」の食品健康影響評価について

食品安全委員会は、厚生労働省からの要請を受け、「二枚貝中のオカダ酸群」について食品健康影響評価（リスク評価）を行いました。



内閣府 食品安全委員会

COLUMN

本評価の今後の課題

本評価を行うにあたり、利用可能な毒性データ及び疫学データが限られていました。今後、次のような知見、データが収集されることにより、より詳細な食品健康影響評価が可能になると考えています。

- 長期毒性試験を含む各種毒性試験のデータ
- 下痢性貝中毒発症者の体重、二枚貝の喫食量及び貝毒摂取量等の詳細な疫学データ
- 貝種ごとの二枚貝の喫食量及び喫食頻度に関するデータ
- 国内流通二枚貝全体におけるオカダ酸群の濃度分布を推計するための実態調査データ

自然毒リスク評価に必要なこと

動物実験による毒性評価

食中毒発生時の

- 発症者の体重
- 喫食量
- 原因物質の摂取量

食品中の

- 自然毒含有量調査

標準品が必要!!

**MATTERS OF INTEREST ARISING FROM FAO AND WHO (including JECFA) – (Agenda Item 3)⁵****FAO/WHO work on ciguatoxins**

The Representative of FAO introduced FAO's and WHO's work on ciguatera fish poisoning and current challenges. He noted that CFP was one of the most common food-borne illnesses related to finfish consumption. While its true incidence was not known, it was estimated that 10,000–50,000 people per year suffer from this food borne illness, making it **one of the most common types of marine food-borne poisoning worldwide**.

The Representative introduced the work of FAO and WHO on ciguatoxin that has been undertaken so far and highlighted that **analytical methods for detection and quantification of ciguatera to-date are not harmonized and it was unclear** which, if any, of the available methods of detection would be suitable as routine methods of analysis.

The Representative invited the Committee to consider **requesting FAO/WHO for scientific advice**, in particular to carry out a **risk assessment of ciguatera toxins** and based on this provide **guidance for the development of risk management options**; and **to review existing analytical methods for ciguatoxin detection and quantification**, with a view to recommending those useful for routine analysis and surveillance.

There was general support for the proposal to request scientific advice from FAO/WHO to allow the Committee to develop appropriate risk management options. Delegations pointed out the importance of this matter to their countries, noting that due to **climate change** the traditional occurrence **areas were changing** and that consideration of ciguatoxins should not be limited to C-CTX-1 and P-CTX-1, **but also to I-CTX**. A delegation noted that their **country does not** currently **recommend routine surveillance** and **sampling** to meet specified **MLs as risk management measure**, but uses **guidelines for outbreak management**.

The European Union informed the Committee of the **EuroCigua** Project, four-year project, co-funded by **EFSA** and coordinated by Spanish Food Safety Agency (**AECOSAN**) to **determine incidence** in Europe of ciguatera fish poisoning and **epidemiological incidence cases**, assess presence of **ciguatoxins in food** and **environment** in Europe, and **validate the methods** for detection, quantification and confirmation that could contribute to future work on ciguatoxins.

Conclusion

The Committee:

- agreed to **request** scientific advice from **FAO/WHO** to allow the Committee to **develop** appropriate **risk management options**;
- noted that the in-session WG on **the priority list of contaminants and naturally occurring toxicants** for evaluation by **JECFA** would consider this matter further (see Agenda Item 14).

PRIORITY LIST OF CONTAMINANTS AND NATURALLY OCCURRING TOXICANTS PROPOSED FOR EVALUATION BY JECFA (Agenda Item 14)²⁶

The Committee:

- accepted the recommendations of the in-session WG and endorsed the priority list of contaminants and naturally occurring toxicants for JECFA evaluation as amended (Appendix XII) and agreed to re-convene the in-session WG at its next session;
- agreed to continue to request comments and/or information on the priority list for consideration by CCCF12;
- agreed not to include mycotoxin in spices in the priority list.

APPENDIX XII

PRIORITY LIST OF CONTAMINANTS AND NATURALLY OCCURRING TOXICANTS FOR EVALUATION BY JECFA

Contaminants and Naturally Occurring Toxicants	Background and Question(s) to be Answered	Data Availability (When, What)	Proposed By
Ciguatoxins ³	Full evaluation (toxicological assessment and exposure assessment), including geographic distribution and rate of illness; congeners; methods of detection	India (CRD37) EU: Eurocigua project, RASFF EFSA (2010) US: occurrence data (outbreak management) Australia: illness data	CCCF

Elements of Strategy

- 1. Improve organism detection, monitoring and risk forecasting**
- 2. Improve toxin detection in cells and fish**
 - Outreach, risk assessment and management**
 - Standards and reference materials**
 - Detection methods**
- 3. Improve epidemiological data collection, reporting and assessments**

御清聴ありがとうございました