

沖縄県における化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例 (2019 年度)

佐久川さつき・大城聡子・仲眞弘樹・當間一晃・古謝あゆ子
Food Poisoning and Consumer Complaint Cases Caused by
Chemicals and Natural Toxins in Okinawa Prefecture in FY 2019

Satsuki SAKUGAWA, Akiko OSHIRO, Hiroki NAKAMA, Kazuki TOMA, and Ayuko KOJA

要旨: 沖縄県において、2019 年度に発生した化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例のうち、当所に検査依頼のあった魚によるシガテラ 5 事例、シイラフライによるヒスタミン食中毒疑い、ヘチマの有症苦情についてまとめた。

Key words: シガテラ. CTX1B. 52-*epi*-54-deoxyCTX1B. 54-deoxyCTX1B. シイラフライ. ヒスタミン. ヘチマ. ククルピタシン

I はじめに

化学物質または自然毒による食中毒および苦情事例の調査について、理化学的試験または生物学的試験が必要な場合、管轄保健所長から検査依頼を受けて、当所が原因物質の検索を実施している。2019 年度は 7 事例に関する検査依頼があったので、その概要を報告する。

II 方法と結果

検査依頼のあった保健所による調査報告書と当研究所の検査報告書からまとめた。

1. 魚の刺身およびアラ汁によるシガテラ疑い

(1) 概要

発生日 2019 年 6 月 22 日

発生場所 南部保健所管内 (家庭)

喫食者数 1 人

患者数 1 人

死亡者数 0 人

原因食品 バラハタ (推定) の刺身およびアラ汁

原因物質 シガトキシン類 (CTXs)

原因施設 家庭

症状 下痢, 足の筋肉痛, 口腔内のしびれ

患者は、友人からミーバイをもらい、刺身とアラ汁に調理して喫食し、約 8 時間後から発症した。患者は喫食した魚を当初はスジアラと認識していた。

(2) 検体

検体として、刺身柵 (233.2 g) およびアラ汁残品 (399.2 g) が搬入された。アラ汁残品を肉 (91.7 g)、皮 (14.2 g)、汁 (262.9 g)、骨に分けた。皮の色は黄色、赤色、濃い赤紫色であり、濃い赤紫色の部分に小型の桃色斑点の痕

跡が確認できた (図 1)。

刺身柵、アラ汁の汁、肉を用いて原因物質の検索を行い、アラ汁中の皮、刺身柵の一部を用いて魚種推定のための遺伝子解析を行った。



図 1. アラ汁の皮の拡大図。

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

シガトキシン類 (CTXs) の検出を目的に、刺身柵、アラ汁の肉はそれぞれ均一化した後、5 g ずつ 3 検体を採取し、與儀らによる LC-MS/MS 分析法¹⁾に準じて検体の前処理を行った。汁は、静置した後に上清を 50 g 採取し、與儀らの LC-MS/MS 分析法¹⁾のうち、アセトン抽出を省略して前処理を行った。

標準品は東北大学、一般財団法人日本食品分析センターにおいて天然物から単離精製し、各種スペクトル解析により同定された CTX1B. 52-*epi*-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B の 3 物質を使用した。CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の標準品は値付けされていることから、検体の CTXs 含量 (ng/g) をそれぞれマウス毒性値 (MU/g) に換算し、その合計値を求めた。刺身柵、アラ

汁の肉は試験数3の平均値を各CTXs含量とした。

2) 分析条件

装置 Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS

カラム ZORBAX Eclipse Plus C18(2.1×50 mm. 1.8 μm)

ガードカラム UHPLC Guard(ZORBAX Eclipse Plus C18. 2.1×5 mm. 1.8 μm)

流速 0.4 mL/min

注入量 5 μL

移動相 A 液 5 mM ギ酸アンモニウム-0.1%ギ酸

B 液 メタノール

グラジエント 78%B (0 min) →88%B (10 min) →88%B (14 min)

イオン化モード ESI . positive (Agilent Jet Stream electrospray ionization)

ドライガス流速および温度 10 L/min. 300 °C

ネブライザーガス圧力 50 psi

シースガス流速および温度 11 L/min. 380 °C

フラグメンター電圧 300 V

コリジョンエネルギー 40 eV

モニターイオン [M+Na]⁺ → [M+Na]⁺

3) 結果

刺身柵, アラ汁の肉から CTX1B, 52-*epi*-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B の3物質が検出され, 汁からはすべて検出されなかった。刺身柵, アラ汁の肉の CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の含量等を表1に示す。

表1. 各検体のCTXs含量. マウス毒性換算値.

試験品名	CTX1B		52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B		マウス毒性換算値の合計 (MU/g)
	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※1}	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※2}	
アラ汁の肉	0.33	0.05	0.32	0.02	0.07
刺身柵	0.19	0.03	0.17	0.01	0.04

※1.マウス毒性値1 MU/gはCTX1B 7 ngに相当する。

※2.マウス毒性値1 MU/gは52-*epi*-54-deoxyCTX1B 14 ngに相当する。

CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の定量下限値は, 刺身柵およびアラ汁の肉では 0.025 ng/g で, 汁のみでは 2.5 pg/g であった。

(4) 原因魚種推定のための遺伝子検査

1) 検査方法

アラ汁中の皮, 刺身柵の各々の一部から DNA 抽出し, 16S rRNA 遺伝子領域を PCR により増幅させた。PCR 条件は, Emerald Amp PCR Master Mix (TaKaRa Bio) を用いて, 98°C 60 秒で加熱し, 熱変性 98°C 10 秒, アニールリング 53°C 30 秒, 伸長反応 72°C 60 秒を1サイクルとし, 35 サイクル行った後, 最終伸長反応 72°C 10 分を行った。得られた PCR 増副産物を精製し, ABI PRISM 3130

DNA Analyzer で塩基配列の解析を行った。

MEGA7²⁾により各塩基配列の波形を確認し, 相補する塩基配列の確認と決定を行った。決定した塩基配列はアメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) が公開している BLAST³⁾を用いて GenBank⁴⁾に登録されている塩基配列と相同性検索を行った。また, 当研究所のシガテラ関連魚の同領域と相同性検索も実施した。その魚種は, 患者の魚の認識, 検体の外観 (皮の色が赤色等) 等の情報から, 条件に合う代表的なシガテラ関連の魚種としてバラハタ, オジロバラハタ及びスジアラとした。

2) 結果

16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列の決定は, アラ汁中の皮ではプライマー部分を除いた全長 576 塩基のうち 575 塩基について配列を決定したが, 刺身柵においては波形が測定されていなかったため, 配列の決定ができなかった。

アラ汁中の皮の 16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列を BLAST 検索した結果, 一致率はバラハタが高く (表2), 当研究所のバラハタ標本との相同性検索においても, 一致率はバラハタが最も高く, スジアラは3魚種の中で最も低い結果となった (表3)。

遺伝子解析の結果から検体はバラハタであると推定した。

表2. GenBank 登録配列に対する相同性検索結果.

魚種	一致率 (%)	Accession No.
バラハタ	99.65	KT921353.1
バラハタ	99.65	DQ067319.1
オジロバラハタ	96.53	EF213708.1
オジロバラハタ	96.36	KM077994.1

表3. 当研究所の魚標本に対する相同性検索結果.

魚種	一致率 (%)	魚標本名 (採取地)
バラハタ	99.65	17-054_Variola_louti (YORON_isl)
バラハタ	99.65	17-023_Variola_louti (OKINAWA_Kin-Ginoza)
オジロバラハタ	96.36	17-034_Variola_albimarginata (ZAMAMI_isl)
オジロバラハタ	96.36	17-035_Variola_albimarginata (OKINOERABU_isl)
スジアラ	87.78	2_Plectropomus_leopardus (IE_isl)
スジアラ	87.78	3_Plectropomus_leopardus (IE_isl)

(5) 考察

食品衛生検査指針によると, マウス毒性値が 0.025 MU/g 以上の魚肉は食用不適⁵⁾とされており, 本事例の刺身柵, アラ汁の肉の CTXs のマウス毒性換算値は食用不適レベル以上であった。また, CTXs のヒトに対する最小発症量は 10 MU⁶⁾とされている。各検体のヒト発症最小量に相当する量は, 刺身柵では約 250g, アラ汁の肉では約 140g となる。患者は刺身柵とアラ汁を喫食していることから最小発症量以上の CTXs を摂取したと思われる。

アラ汁の汁からは CTXs は検出されなかった。CTXs は脂溶性で魚の筋肉、内臓に分布している⁵⁾ことから、汁物に調理した場合、水分に溶出しないことが確認できた。

また、刺身柵とアラ汁の肉における CTXs 含量が約 2 倍近くの差があった。文部科学省の食品成分データベースによると魚類(生)可食部の約 60~80 %が水分とされている⁷⁾ことから、加熱調理により CTXs 含量が高くなったと思われる。

今回の事例は、患者がシガテラを知らず、原因魚を違う種類と認識していたことから、今後も県民にシガテラの正しい情報を提供する必要がある。

2. 学校給食によるヒスタミン食中毒疑い

(1) 概要

発生日 2019年8月30日
 発生場所 南部保健所管内(学校)
 喫食者数 7,804人
 患者数 67人
 死亡者数 0人
 原因食品 シイラフライ
 原因物質 ヒスタミン
 原因施設 不明
 症状 舌・唇のしびれ、異味

2019年8月30日、学校給食共同調理場から同日に提供したシイラフライを喫食した直後に舌・唇のしびれの症状を呈している生徒がいる旨の連絡が管轄保健所にあった。この共同調理場では、管轄の小学校、中学校計10校に給食を提供しており、その後の全校調査で、舌・唇のしびれの他に異味(味がいつもと違う。酸っぱい)を訴える者もいたことが判明した。

このシイラフライは、魚介類仲卸業者、加工業者、共同調理場の各段階で加工されたものであった。魚介類仲卸業者が卸売市場から仕入れ、その日のうちに三枚におろし、冷蔵保管して加工業者に納品を行った。加工業者では冷凍保管していたシイラ切り身を半解凍後にカット、味付け、衣付けをした後に再度冷凍保管し、給食当日に共同調理場へ納品した。共同調理場では約7,900食分の冷凍品を揚げて、各学校に提供した。

(2) 検体

検体として、加工業者で保管されていたシイラフライ用の切り身5枚(重量43.5~52.6g)、共同調理場の検食として、調理前シイラフライ3枚(重量41.2~48.8g)、調理済みシイラフライ4(重量35.3~46.6g)、学校の残食シイラフライ4枚(重量14.8g~81.3g)が搬入された。

フライは1枚毎に細切、均一化したものを、検体群毎に等量混合したものを検査用の検体とした。

(3) 分析方法

1) 検査方法

検査はヒスタミンと関連する腐敗性アミン類6種類(トリプタミン、チラミン、アグマチン、フェネチルアミン、カダベリン、プトレシン)の検出を目的とした。

各検体の前処理は、西名らの報告⁸⁾に準じて、前処理を行い、カラム及び機器メーカーの技術資料^{9)・10)}を参考に LC-MS/MS を用いて分析を行った。

2) 分析条件

装置 Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS

カラム Intrada Amino Acid (100×3mm)

流速 1 mL/min

注入量 2 µL

移動相 A 液 200 mM ギ酸アンモニウム

B 液 メタノール

グラジエント 50%B (0min) →50%B (8 min) →0%B (9 min) →0%B (35 min)

イオン化モード ESI . positive (Agilent Jet Stream electrospray ionization)

ドライガス流速および温度 13L/min. 350 °C

ネブライザーガス圧力 60 psi

シースガス流速および温度 12 L/min. 380 °C

フラグメンター電圧 300 V

測定イオン, フラグメンター電圧, コリジョンエネルギーは表4のとおりである。

表4. 腐敗性アミン類のモニターイオン等の一覧。

化合物名	プレカーサーイオン [M+H] ⁺	プロダクトイオン	フラグメンター電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
アグマチン	131.1	72	66	13
カダベリン	103.1	86.1	66	5
ヒスタミン	112.1	95.1	66	13
フェネチルアミン	122.1	105	60	9
プトレシン	89.1	72	63	1
トリプタミン	161.1	144	63	5
チラミン	138.1	121	63	5

(4) 分析結果

すべての検体からヒスタミンが検出され、カダベリンが検食の調理済みフライから検出された。トリプタミン、チラミン、アグマチン、フェネチルアミン、プトレシンはすべての検体で定量下限値未満であった。これらの腐敗性アミン類の定量下限値は2 mg/100 gであった。

検出されたヒスタミンおよびカダベリンの定量結果を表5に示す。

表 5. 各検体のヒスタミン, カダベリンの定量結果.

単位は mg/100g.

検体名	ヒスタミン	カダベリン
シイラ切り身	2	<2
検食(調理前フライ)	4	<2
検食(調理済みフライ)	12	2
給食残食	6	<2

(5) 考察

一般的に、食品 100 g 当たりのヒスタミン量が 100 mg 以上の場合に発症するとされているが、実際には摂取量が問題であり、食中毒事例から発症者のヒスタミン摂取量を計算した例では、大人一人あたり 22~320 mg と報告されている¹¹⁾。本事例ではヒスタミン含量が 2~12 mg/100 g と低い濃度であり、検食の調理済みフライ 1 枚の重量を 40 g と仮定し、これを喫食した場合のヒスタミン摂取量を推定すると 4.8 mg と低い値となる。

本事例の検体は、患者喫食残品でなく、検食、給食残差などの関連食品である。症状が舌・唇のしびれ、異味が主であり、ヒスタミン食中毒で特徴的な顔面紅潮やじんましんはない。登田らが、国内外の食品中ヒスタミンの食中毒事例から食中毒を引き起こすと考えられる食品中のヒスタミン濃度について、「5 mg/100 g 以下では安全域である。」、「5 ~ 10 mg/100 g では感受性が高いグループでは食中毒を生じる可能性があり、軽度~中程度の症状を呈す。」と推定している¹²⁾ことから、小学生・中学生は成人に比較して感受性が高く、ヒスタミン摂取量が低いことからアレルギー様症状が比較的軽症となったと思われた。

ヒスタミンは、食品中のアミノ酸の一種ヒスチジンがヒスタミン産生菌の酵素の作用によりヒスタミンに変換され、生成される。ヒスタミン食中毒予防では、ヒスタミン産生菌を増やさないよう温度管理を徹底する必要がある。本事例の加工段階における温度管理の問題は確認されず、原因施設は不明となった。

ヒスタミン食中毒の原因施設は、本事例と同様に給食施設や飲食店など一度に多量の原材料を取り扱う施設が多い¹²⁾ことから、給食施設、大量調理施設や水産加工業者においては、魚類の鮮度保持、温度管理を徹底する必要がある。

3. 魚によるシガテラ

(1) 概要

発生日 2019年9月2日
 発生場所 那覇市保健所管内(家庭)
 喫食者数 1人

患者数 1人

死亡者数 0人

原因食品 魚の刺身

原因物質 シガトキシン類 (CTXs)

原因施設 家庭

症状 下痢, 倦怠感, 舌のしびれなど

患者は、友人と釣りをし、体長 50~60 cm. 体重 3~4 kg の魚をもらい、その日の夕食に刺身を、翌朝に頭部の味噌汁を食べた。喫食後約 3 時間から下痢、倦怠感、口のしびれなどを発症したものである。

患者は本県が発行しているパンフレット「魚類食中毒シガテラを知っていますか?」を所有しており、喫食した魚の外観、特に尾ビレの形状と色がバラハタと一致していたことを証言した。

(2) 検体

検体として、魚の半身 1 枚 (363 g) が搬入された。

半身の皮の色は、赤色~濃い赤紫色であった。バラハタの特長である小型の桃色斑点の有無は、鱗が除去されていたため、確認できなかった(図 2)。

半身は、筋肉、皮、骨に分別し、原因魚種推定の遺伝子検査用に皮、筋肉を少量採取し、残りの筋肉を原因物質の検査に供した。

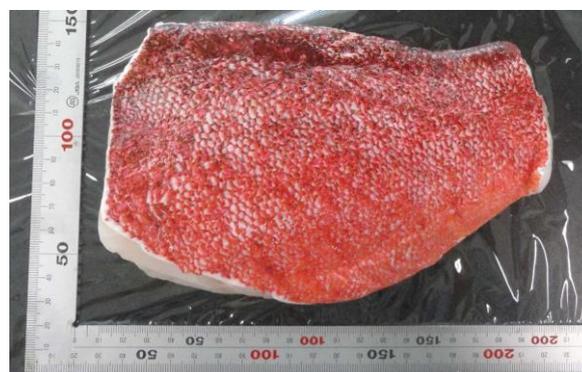


図 2. 搬入された魚半身.

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

CTXs の検出を目的に、筋肉を均一化した後、5g ずつ 3 検体を採取し、前述の事例 1 と同様に、前処理を行い、LC-MS/MS により分析を行った。3 検体の CTXs 含量をそれぞれマウス毒性値に換算し、合計値を求め、その平均値を検査結果とした。

2) 分析条件

前述の事例 1 のとおりとした。

3) 結果

CTX1B, 52-epi-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B の 3 物質が検出された。CTX1B および

52-*epi*-54-deoxyCTX1B の含量等を表 6 に示す。なお、CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の定量下限値は、0.02 ng/g であった。

表 6. 魚半身の CTXs 含量およびマウス毒性換算値。

試験品名	CTX1B		52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B		マウス毒性換算値の合計 (MU/g)
	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※1}	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※2}	
魚の半身	0.22	0.031	0.23	0.016	0.047

※1.マウス毒性値 1 MU/g は CTX1B 7 ng に相当する。

※2.マウス毒性値 1 MU/g は 52-*epi*-54-deoxyCTX1B 14 ng に相当する。

(4) 原因魚種推定のための遺伝子検査

1) 検査方法

原因魚種推定のための遺伝子検査は、管轄保健所からの依頼はないが、今後のシガテラ対策のため、調査研究としてヒレおよび筋肉を用いて行った。

遺伝子検査の方法は、前述の事例 1 の方法を次のように変更して行った。PCR 条件について、KOD One™ PCR Master Mix –Blue (TOYOBO) を用いて、98℃ 60 秒加熱、熱変性 98℃ 10 秒、アニーリング 45℃ 5 秒、伸長反応 68℃ とし 5 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル行った後、最終伸長反応 68℃ 60 秒とした。

DNA シーケンサーによる塩基配列の解析を行った後、MEGAX¹³⁾により各塩基配列の決定を行い、国立遺伝学研究所が運営している日本 DNA データバンク (DDBJ)¹⁴⁾ が公開している BLAST¹⁵⁾を用いて GenBank⁴⁾に登録されている塩基配列と相同性検索を行った。

2) 結果

皮および筋肉の 16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列 (いずれも 577 塩基) を決定した。これらの塩基配列は DDBJ¹⁴⁾ に登録されているバラハタ (Accession No.DQ067319) と一致率が 99% (Identities=576/577) だった。

(4) 考察

本事例の CTXs のマウス毒性換算値は 0.047 MU/g となり、食用不適⁵⁾レベルの約 2 倍程度となった。また、ヒト発症最小量 10MU⁶⁾に相当する量は、刺身として約 200 g となる。患者は刺身と頭部の味噌汁を喫食していることから、最小発症量以上の CTXs を摂取したと思われる。

本事例の原因魚は個人が釣った魚であり、シガテラの認識が低かったと思われる。県民、釣り関係業に対するシガテラの正しい情報を周知する必要がある。

4. 魚汁によるシガテラ

(1) 概要

発生日 2019 年 10 月 29 日

発生場所 那覇市保健所管内 (家庭)

喫食者数 2 人

患者数 1 人

死亡者数 0 人

原因食品 魚汁

原因物質 シガトキシン類 (CTXs)

原因施設 不明

症状 腹痛、めまい、血圧低下など

患者は、黒いミーバイの切り身を購入し、その日の夕食に魚汁にして喫食した。その夜に腹痛が始まり、翌朝に医療機関を受診した。血圧低下が認められ、入院治療となった。

(2) 検体

検体として、魚汁残品 (491 g) が冷凍状態で搬入された。検体は、切り身 2 枚とニンニク、ワカメ等あり、汁は煮凝りになっていた。切り身のみ取り出し、皮の色が黒褐色であることを確認した (図 3, 4)。

切り身は筋肉、皮、骨に分け、原因魚種推定の遺伝子検査用にヒレ、皮を少量採取し、残りの筋肉を原因物質の検査に供した。

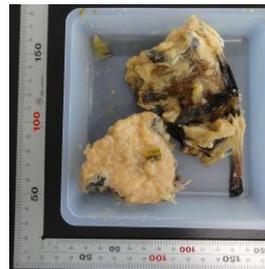


図 3. 切り身2枚.



図 4. 切り身の皮.

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

CTXs の検出を目的に、筋肉を均一化した後、5g ずつ 3 検体を採取し、前述の事例 1 と同様に前処理を行い、LC-MS/MS により分析を行った。3 検体の CTXs 含量をそれぞれマウス毒性値に換算し、合計値を求め、その平均値を検査結果とした。

2) 分析条件

前述の事例 1 のとおりとした。

3) 結果

CTX1B、52-*epi*-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B

表 7. 魚汁中の筋肉の CTXs 含量およびマウス毒性換算値。

試験品名	CTX1B		52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B		マウス毒性換算値の合計 (MU/g)
	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※1}	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{※2}	
魚汁中筋肉	0.30	0.043	0.61	0.043	0.086

※1.マウス毒性値 1 MU/g は CTX1B 7 ng に相当する。

※2.マウス毒性値 1 MU/g は 52-*epi*-54-deoxyCTX1B 14 ng に相当する。

の 3 物質が検出された。CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の含量等を表 7 に示す。なお、CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の定量下限値、0.02 ng/g であった。

(4) 原因魚種推定のための遺伝子検査

1) 検査方法

原因魚種推定のための遺伝子検査は、管轄保健所から依頼はないが、今後のシガテラ対策のため、調査研究としてヒレおよび皮を用いて行った。

遺伝子検査の方法は、事例 3 のとおりとした。

2) 結果

ヒレおよび皮の 16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列（いずれも 580 塩基）を決定した。これらの塩基配列は GenBank⁴⁾ に登録されているアオノメハタ (Accession No.KC593377) と一致率が 99% (Identities=578/581) だった。

(4) 考察

本事例の魚汁中の筋肉の CTXs のマウス毒性換算値は 0.086 MU/g となり、食用不適⁵⁾レベルの約 3 倍以上となった。また、ヒト発症最小量 10 MU⁶⁾に相当する量は筋肉として約 116g となる。患者の喫食状況は不明であるが、最小発症量以上の CTXs を摂取したと思われる。本事例の原因施設は不明となったが、魚介類販売業などの食品営業者に対し、シガテラ発生防止のため発生状況などの情報提供を行うとともに正しい情報を周知する必要がある。

また、この検体は遺伝子検査結果からアオノメハタと示唆されたが、当研究所ではアオノメハタ標本を保管していないため、魚種を推定することができない。今後はアオノメハタの魚標本を入手し、検体と比較する必要がある。

5. 魚のアラ汁およびソテーによるシガテラ

(1) 概要

発生日 2019 年 11 月 14 日
 発生場所 南部保健所管内 (家庭)
 喫食者数 2 人
 患者数 2 人
 死亡者数 0 人
 原因食品 イッテンフエダイ (推定) のソテーおよびアラ汁
 原因物質 シガトキシン類 (CTXs)
 原因施設 家庭
 症状 水様性下痢、手のしびれ、ふらつき、冷や汗、倦怠感、脱力感、血圧低下、徐脈、ド

ライアイスセンサーションなど

患者は、釣った魚をソテーとアラ汁に調理し、友人とともに夕食で喫食した。喫食約 5 時間頃から症状が出現し、救急外来を受診した。

患者が調理前の魚を撮影しており、その画像を確認したところ、イッテンフエダイと思われた。

(2) 検体

喫食した魚の残品として、半身 (189 g)、アラ汁 (723 g、丼 1~2 杯分) が搬入された。

半身の皮の色は、部位によって黄色、赤色、暗赤色であり、側線の中央部に黒色斑点の痕跡ができた (図 5.6)。アラは、中骨、眼球周辺などの頭部の一部であり、頭部の色は暗赤色であった (図 7)。



図 5. 半身の全体.



図 6. 半身の拡大. 測線上の黒色斑点の痕跡.



図 7. アラ汁から取り出したアラ.

半身は、筋肉 (163.7 g)、皮 (21.5 g)、骨 (0.67 g) に分別し、アラは筋肉 (51.5 g)、骨 (86.1 g)、皮等 (72.8 g) に分別した。

半身の筋肉、アラの筋肉、皮等を用いて原因物質の検

査を行い、半身、アラの各々の皮、筋肉を用いて原因魚種推定のための遺伝子検査を行った。

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

CTXsの検出を目的に、半身の筋肉、アラの筋肉、アラの皮をそれぞれ均一化した後、筋肉は5gずつ3検体ずつ採取し、皮は5gずつ2検体を採取した。前述の事例1と同様に、前処理を行い、LC-MS/MSにより分析を行った。3検体または2検体のCTXs含量をそれぞれマウス毒性値に換算し、合計値を求め、その平均値を検査結果とした。

2) 分析条件

前述の事例1のとおりとした。

3) 結果

CTX1B、52-*epi*-54-deoxyCTX1B および 54-deoxyCTX1B の3物質が検出された。CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の含量等を表8に示す。なお、CTX1B および 52-*epi*-54-deoxyCTX1B の定量下限値は0.02 ng/gであった。

表8. 半身およびアラのCTXs含量およびマウス毒性換算

試験品名	CTX1B		52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B		マウス毒性換算値の合計 (MU/g)
	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g)*1	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g)*2	
半身	1.262	0.180	0.183	0.013	0.193
アラ汁の肉	1.419	0.203	0.265	0.019	0.222
アラ汁の皮等	1.598	0.228	0.273	0.020	0.248

*1.マウス毒性値1 MU/gはCTX1B 7 ngに相当する。

*2.マウス毒性値1 MU/gは52-*epi*-54-deoxyCTX1B 14 ngに相当する。

(4) 原因魚種推定のための遺伝子検査

1) 検査方法

遺伝子検査の方法は、事例4のとおりとした。

2) 結果

すべての検体のプライマー部分を除いた577塩基について配列を決定した。この塩基配列はGenBank⁴⁾に登録されているイッテンフエダイ (Accession No.DQ78735.インド産 *Lutjanus monostigma*) と一致率が100% (Identities=577/577) だった。

遺伝子解析の結果から、検体はイッテンフエダイであると推定した。

(5) 考察

本事例のCTXsマウス毒性換算値は、半身が0.193 MU/g、アラ汁の肉が0.222 MU/g、アラ汁の皮等が0.248 MU/gとなり、食用不適²⁾レベルの約8倍~10倍の濃度となった。また、この半身を刺身として喫食した場合、約52gでヒト発症最小量10 MU⁹⁾に相当する。アラ汁に含まれる

CTXs量は、筋肉約51gで約11 MU、皮等72gで約18 MU。全体で約39 MUとなる。このアラ汁は井約2杯の分量であったことから、1杯分でも約20 MUのCTXsを摂取する可能性がある。

本事例は、患者本人が釣った魚が原因で、シガテラを警戒していなかった。事例1と同様に県民、釣り関係にはシガテラの正しい情報、特にイッテンフエダイによるシガテラに関して注意喚起が必要である。

6. 魚汁によるシガテラ中毒

(1) 概要

発生日 2019年11月16日
 発生場所 中部保健所管内
 喫食者数 1人
 患者数 1人
 死亡者数 0人
 原因食品 コクハンアラ (推定) の魚汁
 原因物質 シガトキシン類 (CTXs)
 原因施設 飲食店
 症状 吐き気、しびれ、ドライアイスセンサーション

2013年11月16日、患者は飲食店でミーバイ汁を喫食した。翌日朝に吐き気、しびれがあり、19日までにドライアイスセンサーションも発症した。

飲食店では、釣り人から魚アカジンを3尾 (体重約3 Kg、体長約60 cm) 購入し、鱗、内臓を除去してぶつ切りにし、ミーバイ汁の材料として約150gずつに小分けし冷凍保管をしていた。ミーバイ汁の注文を受けて、前日から解凍し調理していた。

(2) 検体

店に残っていた小分けした6袋が検体として搬入された。各袋には、魚の切り身が4.5個入っており、切り身の重量は約9~182gと様々なサイズであった (図8~図13)。袋毎に切り身を確認したところ、黒い皮の切り身、赤い皮の切り身、茶色斑点がある頭部の一部があり、3個体の切り身が混合されたものと思われた (図8~図10)。

3個体の魚種の確認のため、遺伝子検査用に袋1の黒い皮の切り身 (図8右) のヒレ、袋2の赤い皮の切り身 (図9右)、袋3の茶色斑点の頭部の下唇側の肉 (図10右) を用いた。これらの切り身等の残りと袋4~袋6の切り身をCTXsの検査に用いた。

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

CTXsの検出を目的に、袋1の黒い皮の切り身、袋2の赤い皮の切り身、袋3の茶色斑点の頭部、袋4~袋6

のそれぞれの全量を検体とした。検体は、電子レンジで加熱した後、筋肉、皮をほぐしながら骨を除去した。各々の検体の筋肉、皮を均一化し、5 g ずつ3 検体を採取した。なお、検体重量については、袋1の切り身は95.2 g、袋2の切り身は102.7 g、袋3の頭部は33.8 g、袋4は256.2 g、袋5は282.5 g、袋6は274.1 gであった。

前述の事例1と同様に前処理を行い、LC-MS/MSにより分析を行った。3 検体のCTXs 含量をそれぞれマウス毒性値に換算し、合計値を求め、その平均値を検査結果とした。

2) 分析条件

前述の事例1のとおりとした。

3) 結果

袋2の赤い皮の切り身、袋5および袋6のそれぞれの切り身全量からCTX1B、52-*epi*-54-deoxyCTX1B および54-deoxyCTX1B の3物質が検出された。CTX1B および52-*epi*-54-deoxyCTX1B の含量等を表9に示す。なお、CTX1B および52-*epi*-54-deoxyCTX1B の定量下限値は0.02 ng/g であった。

表9. 各検体のCTXs 含量およびマウス毒性換算値。

試験品名	CTX1B		52- <i>epi</i> -54-deoxyCTX1B		マウス毒性換算値の合計 (MU/g)
	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{*1}	含量 (ng/g)	マウス毒性換算値 (MU/g) ^{*2}	
袋1の黒い皮の切り身	<0.020	-	<0.020	-	-
袋2の赤い皮の切り身	0.119	0.017	0.164	0.012	0.029
袋3の頭部	<0.020	-	<0.020	-	-
袋4の切り身全量	<0.020	-	<0.020	-	-
袋5の切り身全量	0.045	0.006	0.048	0.003	0.010
袋6の切り身全量	0.047	0.007	0.061	0.004	0.011

※1.マウス毒性値 1 MU/g は CTX1B 7 ng に相当する。

※2.マウス毒性値 1 MU/g は 52-*epi*-54-deoxyCTX1B 14 ng に相当する。

(4) 原因魚種推定のための遺伝子検査

1) 検査方法

遺伝子検査の方法は、前述の事例3の方法と同様にDNAの抽出、増幅、精製を行い、16S rRNA 遺伝子領域の塩基配列を解析した。

MEGAX¹³により各塩基配列の決定を行い、日本DNAデータバンク (DDBJ)¹⁴ のBLAST¹⁵を用いてGenBank⁴に登録されている塩基配列と相同性検索を行った。

2) 結果

袋1の黒い皮の切り身および袋2の赤い皮の切り身の塩基配列はコクハンアラ (Accession No.DQ067320. *Plectropomus laevis*) と一致率が100% (Identities=580/580) であり、袋3の茶色斑点の頭部はシロブチハタ (Accession No. KM077979. *Epinephelus maculatus*) と一致率が100%

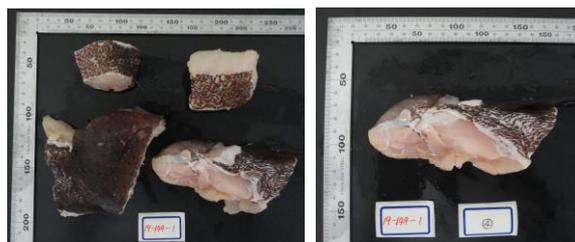


図8. 袋1の切り身. 左は切り身全量. 右は黒い皮の切り身

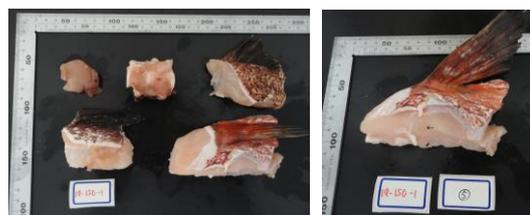


図9. 袋2の切り身. 左は切り身全量. 右は赤い皮の切り身



図10. 袋3の切り身. 左は切り身全量. 右は茶色斑点がある切り身.



図11. 袋4の切り身.

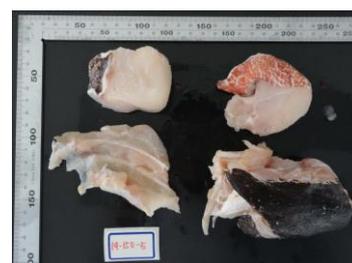


図12. 袋5の切り身.



図13. 袋6の切り身.

(Identities=577/577) であった。CTXs が検出された赤い皮の切り身の遺伝子検査結果から、原因となった魚はコ

クハンアラと推定した。

(5) 考察

本事例のCTXsが検出された検体のうち、袋1の赤い皮の切り身のマウス毒性換算値は食用不適²⁾レベル程度の0.029 MU/gであり、袋5の切り身全量、袋6の切り身全量では、0.010 MU/g、0.011 MU/gと食用不適⁵⁾レベルの約半分以下であった。袋5、袋6を各々ミーバイ汁1食分としてCTXs量を算出すると、それぞれ約3 MU程度となる。ヒト発症最小量10 MU⁶⁾であることから、この検体を喫食した場合、シガテラ発症の可能性は低い。本事例の患者は、偶然に赤い皮の魚の切り身が多いミーバイ汁を喫食したことにより、シガテラを発症したと推定する。

飲食店主は材料とした魚の種類はアカジンと証言していたが、遺伝子検査結果から、3尾のうち2尾はコクハンアラ、残りの1尾はシロブチハタと示唆された。琉球列島産魚類目録¹⁶⁾によると、アカジンは和名スジアラの方言名であり、コクハンアラの方言名はチンスアカジン、アヤアカジンとされている。またコクハンアラは、釣り雑誌でクルバニアカジンと紹介¹⁷⁾されており、方言名がスジアラと一部一致している。また、スジアラとコクハンアラの外部形態は類似しており、魚類検索では胸ビレの全体又は一部の色の違い(黒色であるか)のみで同定¹⁸⁾される。方言名、呼称や外部形態が類似していることから誤認されていた可能性がある。

コクハンアラによるシガテラは稀で、平成21年度に体重約12kgの大型個体による事例¹⁹⁾がある。本県では、主なシガテラ原因魚としてバラハタ、イッテンフエダイ、バラフエダイの3魚種の注意喚起をしているが、これら3魚種以外の稀な事例についても、県民、特に食品営業者には情報提供する必要がある。また、食品営業で取り扱う魚類の名称について、なじみのある方言名のみだけでなく、和名も併せて認識するよう周知する必要がある。

7. ヘチマによる有症苦情

(1) 概要

発生日 2019年12月19日
 発生場所 南部保健所管内(家庭)
 喫食者数 2人
 患者数 1人
 死亡者数 0人
 原因食品 ヘチマの味噌煮
 原因物質 ククルビタシン類
 原因施設 スーパー
 症状 苦味、異味、下痢等

2019年12月19日、苦情者Aがスーパーでヘチマを購入し、味噌煮に調理して喫食したところ、苦味があり、翌日には下痢があり、管轄保健所に電話相談をした。当該スーパーでは12月18日にヘチマ3袋を入荷し、2袋が販売されていた。保健所の調査までにもう1袋の苦情があった。苦情者Bは、12月20日に味噌煮に調理し喫食したところ、ピリピリとした異味を感じたとのことであった。

(2) 検体

搬入された検体は、スーパーの在庫のヘチマ2本(235.5g、178.8g)、苦情者Aのヘチマ味噌煮A(317g)、苦情者Bのヘチマ味噌煮B(26.0g)および材料残品のヘチマ(59.4g)であった。なお、味噌煮Aはヘチマと味噌等に分けられていた。

(3) 原因物質の検査

1) 検査方法

ククルビタシン類の検出を目的に、味噌煮Aのヘチマ10切れ(72.0g)、味噌煮Bのヘチマ全量を取り出し、蒸留水で振り洗いした後、ミルサーで細切した。スーパー在庫のヘチマ2本、味噌煮Bの材料ヘチマはそれぞれ全量はミルサーで細切した。

細切した各検体は、2gを量りとり、アセトニトリル200mLを加えてホモジナイズ抽出した(ポリトロンミキサー、15,000rpm、5分間)。抽出液を遠心分離(3,000rpm、5分間)し、得られた上清をフィルターろ過(0.45μm)したものを試験原液とした。試験原液を適宜アセトニトリルで希釈しLC-MS/MSによる試験を行った。

対象物質は、これまでに測定経験のあるククルビタシンBの他に吉岡らの報告²⁰⁾を参考にククルビタシンD、ククルビタシンE、ククルビタシンE-2-O-グリコシド(別名エラテリニド)の合計4種類とした。

標準品については、ククルビタシンDはEXTRASYNTHESIS製、ククルビタシンBは東京化成工業(株)製、ククルビタシンEはChromaDex製、エラテリニドはPhytoLab製のものを用いた。それぞれ2mgをメタノール10mLに溶解し、標準原液(200μg/mL液)とした。各標準原液をそれぞれアセトニトリルで希釈して1μg/mL液を調整し、分析条件の最適化に用いた。

MS(質量分析装置)の分析条件は、測定経験のあるククルビタシンBの条件を元に最適化を行った。ククルビタシンEは、LC-MS/MSのオプティマイザーによりモニターイオン、フラグメンター電圧、コリジョンエネルギーを決定した。残りのククルビタシンは、吉岡らの報告²⁰⁾を参考にして、ククルビタシンDのプロダクトイオン

を[M+H-H₂O]⁺とし、エラテリニドは、アセトキシ基および糖が脱離した[M-C₆H₁₀O₅-OCOCH₃]⁺と設定し、プロダクトイオンは、イオン源温度、ガス温度、ガス流量、電圧などの設定値を変更しながら繰り返し測定し、ピーク強度が最大となる条件を決定した。

LC (液体クロマトグラフ装置) の条件は、ククルピタシン B の条件のうち、移動相の比率を変更した。

2) 分析条件

装置 Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS

カラム ZORBAX Eclipse Plus C18(2.1×50 mm. 1.8 μm)

ガードカラム UHPLC Guard(ZORBAX Eclipse Plus C18. 2.1×5 mm. 1.8 μm)

流速 0.2 mL/min

注入量 2 μL

移動相 A 液 5 mM ギ酸アンモニウム-0.1% ギ酸

B 液 アセトニトリル

グラジエントなし A 液 : B 液 = 45 : 55

イオン化モード ESI . positive (Agilent Jet Stream electrospray ionization)

ドライガス流速および温度 5 L/min. 300 °C

ネブライザーガス圧力 45 psi

シースガス流速および温度 7 L/min. 300 °C

モニターイオン等は表 10 のとおりである。

表 10. ククルピタシン類のモニターイオン等の一覧。

物質名	プレカーサーイオン	プロダクトイオン	フラグメンター電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
ククルピタシンB	576.4	499.3	135	7
ククルピタシンD	499.1	481	190	16
ククルピタシンE	574.3	497.2	133	8
エラテリニド	497.3	479.3	225	20

3) 結果

検査結果は表 11 のとおり、味噌煮 A のへちまからククルピタシン B を 374 μg/g、ククルピタシン E を 0.75 μg/g

表 11. 各検体のククルピタシン類含量。単位は μg/g。

試験品名	ククルピタシンD	ククルピタシンB	ククルピタシンE	エラテリニド
へちま 店舗在庫1	<2.5	<0.50	<0.50	<2.5
へちま 店舗在庫2	<2.5	<0.50	<0.50	<2.5
味噌煮A へちま	<2.5	374	0.75	<2.5
味噌煮B へちま	<2.5	17	<0.50	<2.5
味噌煮B 材料へちま	43	527	<0.50	<2.5

検出した。味噌煮 B のへちまからククルピタシン B を 17 μg/g 検出し、味噌煮 B の材料残品であるへちまからククルピタシン D を 43 μg/g、ククルピタシン B を 527 μg/g 検出した。店舗に残っていたへちま 2 本からは検出されなかった。

定量下限値は、ククルピタシン B およびククルピタシン E は、それぞれ 0.50 μg/g、ククルピタシン D およびエラテリニドは、それぞれ 2.5 μg/g である。

(4) 考察

食品中のククルピタシン類について、食品衛生法上の基準値等はなく、ヒト最小発症量等の毒性データが見当たらないことから、過去の食中毒等と比較する。平成 27 年の事例 (杉並区) では、煮物残品中のへちまよりククルピタシン B が 74 μg/g、ククルピタシン D が 2.6 μg/g 検出されており²¹⁾、平成 29 年のへちま味噌汁による有症事例 (沖縄県) では、味噌汁残品からククルピタシン B が 83 μg/g 検出されている²²⁾。今回の事例の味噌煮 A のへちまからククルピタシン B が 374 μg/g と過去事例よりも高濃度で検出されている。このへちまの 1 切れの重量を 7 g と仮定し、これを喫食した場合、ククルピタシン B を約 2.6 mg と多量に摂取することとなる。苦情者 A の喫食量は不明であるが、多量のククルピタシン B を摂取したことにより、下痢を発症したと思われる。

また、苦情者 B 宅の味噌煮では、へちまからククルピタシン B が 17 μg/g が検出されているがその材料であるへちま残品から、ククルピタシン B が 527 μg/g、ククルピタシン D が 43 μg/g と検出されている。材料のへちまに含まれていたククルピタシン類が、調理により味噌煮の煮汁等に溶出したものと思われる。

当研究所では、ウリ科野菜のククルピタシン類による食中毒等の防止のために、苦いへちまやトウガンなどは食べないように広報しているが、最近ククルピタシン事例が続いていることから、県民への情報提供、注意喚起をより一層務める必要がある。

III 参考文献

- 1) Yogi. K., Sakugawa. S., Oshiro. N., Ikehara. T., Sugiyama. K., Yasumoto. T.(2014) Determination of Toxins Involved in Ciguatera Fish Poisoning in the Pacific by LC/MS. Journal of AOAC International, 97, (2), 398-402
- 2) Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0.

- <<https://www.megasoftware.net/>>2019 年アクセス
- 3) National Center for Biotechnology Information. Basic Local Alignment Search Tool.
<<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>2019 年アクセス
- 4) National Center for Biotechnology Information. GenBank.
<<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>>2019 年アクセス
- 5) 大城直雅. (2015)シガテラ. 食品衛生検査指針理化学編 2015. 公益社団法人日本食品衛生協会. 東京都. p. 842-848.
- 6) 安元健 (1980) シガテラ. 医学の歩み. 112. p. 888-892.
- 7) 文部科学省. 食品成分データベース.
< https://fooddb.mext.go.jp/freeword/fword_select.pl >
2019 年アクセス
- 8) 西名武士・飛野敏明・宇梶徳史・濱本愛・松本理世・増永ミキ・野田康平・村川弘(2014)LC/MS/MS を用いた食品中不揮発性アミン類の迅速一斉分析法の検討. 熊本県保健環境科学研究所報. 44. 38-47
- 9) Agilent 6490 トリプル四重極 LC/MS による食品中ヒスタミンの迅速で容易な高感度・高い信頼性分析メソッドの開発. アプリケーションノート (Agilent)
- 10) LC-MS 専用アミノ酸分析カラム Intrada Amino Acid Technical Information No.TI782E (Imtakt)
< <http://www.imtakt.com/TecInfo/TI782E.pdf> > 2019 年アクセス
- 11) 井部明広(2001)アレルギー様食中毒.食中毒.食品安全性セミナー (1). p. 215-227.
- 12) 登田美桜・山本都・畝山智香子・森川馨 (2009) 国内外におけるヒスタミン食中毒. 国立医薬品食品衛生研究所報告. 127. 31-38.
- 13) Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version X
<<https://www.megasoftware.net/>>2019 年アクセス
- 14) 日本 DNA データバンク
<<https://www.ddbj.nig.ac.jp/index.html>>2019 年アクセス
- 15) Altschul. S. F., Madden. T. L., Schaffer. A. A., Zhang. J., Zhang. Z., Miller. W. Lipman., David. J. L. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST:a new generation of protein database search programs.Nucleic Acids Res, 25, (17), 3389-3402.
- 16) 吉野哲夫, 西島信昇, 篠原士郎 (1975) 琉球列島産魚類目録. 琉球大学理工学部紀要, 61-118
- 17) 城一人. (2013) おきなわの釣り図鑑, p. 101
- 18) 中坊徹次. (2013) 日本産魚類検索 全種の同定 第三版 I, p.757-778
- 19) 佐久川さつき・松田聖子・玉城宏幸・大城直雅・興儀健太郎 (2010) 沖縄県における平成 21 年度の化学物質と自然毒による食中毒および苦情事例. 沖縄県衛生環境研究報, 第 44 号, 149-151
- 20) 吉岡直樹・野村素行(2018) ズッキーニによる有症苦情事例の原因物質の解明—苦味成分クルビタシン類の一斉分析法の検討及び定量分析—. 兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告, 第 9 号, 11-17
- 21) 田中佳代子・秋谷正人・渡邊和彦・辻亜由子・坂田実穂・山崎匠子 (2016) 苦情事例におけるヘチマ中のクルビタシンの検査について. 杉並区衛生試験所年報, 第 34 号, 40-43
- 22) 業務概況 (衛生化学班 行政検査). 沖縄県衛生環境研究所所報, 第 52 号, 17