

事業区分	経常研究(基盤)	研究期間	令和2年度～令和4年度	評価区分	事後評価
研究テーマ名	食中毒起因化学物質の迅速分析手法の確立				
(副題)	(長崎県で事例の多い化学性食中毒に特化した分析法について)				
主管の機関・科(研究室)名	研究代表者名	環境保健研究センター 生活化学科 松尾 広伸			

<県総合計画等での位置づけ>

長崎県総合計画 チャレンジ2020	戦略9 快適で安全・安心な暮らしをつくる (3)食品の安全・安心の確保と安全・安心な消費生活の実現 食品の安全性の確保
長崎県食品の安全・安心 推進計画	第3章 食品の安全・安心確保のための施策 第1節 生産から消費までの安全性の確保 3. 食品の安全確保体制の充実 (1)食品の安全管理に関する調査・研究の推進

1 研究の概要

研究内容(100文字)	
長崎県において発生頻度の高い海洋生物による食中毒起因化学物質の検出に特化した迅速分析法を開発する。それにより、長崎県の化学性食中毒対応体制を強化し、食品衛生行政に寄与する。	
研究項目	テトロドトキシンおよびヒスタミン類の LC-MS/MS 一括分析法の確立 テトロドトキシンとヒスタミン類の簡易分析法の確立

2 研究の必要性

1) 社会的・経済的背景及びニーズ

長崎県は、全国2位の海岸線の長さを持つことから多様な漁業環境が形成されており、県民が水産物に親しむ機会が多い。一方で、食品衛生学的には、海に関連する食中毒が課題となっている。長崎県で平成12年から30年にかけて起きた化学性食中毒の多くは海洋生物に由来するものであり、中でもフグ毒として知られるテトロドトキシン(TTX)と赤身魚に起因するヒスタミン類(HA類)を原因とするものが全体の約85%を占めている。TTXは強力な神経毒であり、長崎県ではTTXによる死亡事例が3例あり、フグ以外に巻貝での中毒事例もある。一方、HA類については、死亡事例はないものの、保育施設や給食施設で起きることで大規模な食中毒になりやすく、平成30年度にはHA類の食中毒疑いが2件発生したため、県立保健所より注意喚起がなされた。さらにHACCPにおいて両者は「化学的有害要因物質」とされており、平成30年度の食品衛生法の改正により、全ての食品事業者がHACCPに沿った衛生管理を求められるようになったことから、これらの物質に対してより対応の必要性が増していると言える。

食中毒が発生した際には、当センターが行政検査依頼を受け、その分析結果を根拠に行政機関が営業禁止等の行政処分、指導及び情報公開を行う。食中毒による県民の健康被害拡大を防止するためには、迅速かつ正確に原因究明を行う必要がある。先行研究において、TTXの尿および血液(血清)の分析法を確立し、またHA類については、生魚を対象に内部標準法を用いた分析法の検討を行った。しかし両者共に個別の分析法しか存在しておらず、実際の食中毒対応の中で、迅速性・多検体への対応性・必要な検体重量の多さ等の課題が生じてきた。

以上のことから、現状の検査における課題を解決し、分析の迅速性と正確性を向上させることが必要不可欠である。

2) 国、他県、市町、民間での実施の状況または実施の可能性

【国、他県、市町、民間での実施の状況について】

TTX:マウス検定法が主流であるが、精度に課題があり、また検査に先立ち、マウスの馴化や体重の平準化等の準備が必要なことから迅速性に欠ける。また近年動物愛護の面からも問題が大きい。他県と民間については、LC-MS/MSを用いた個別の定量法や薄層クロマトグラフィ(TLC)を用いた簡易分析法の報告がなされている。

HA:日本ではHAの規制基準が存在しないため、公定法が規定されていない。他県と民間については、LC-MS/MSを用いた個別の定量法やTLCを用いた簡易分析法の報告がなされている。

【実施の可能性について】

当センターではこれまで海洋生物に由来する有害物質の研究に継続的に取り組んできた。また水産食品衛生学・水族毒性学において、先進大学である長崎大学水産学部と協力関係にあり、本研究においても情報の提供及び分析法の助言を受ける。

本研究においては、長崎県における食中毒事例から分析項目を設定しており、当県独自の化学性食中毒の一括分析法となる。また当センターではこれまで起きた食中毒検体を保管しており、さらに地方衛生研究所(長崎市等)からは食中毒情報提供および中毒検体提供について協力を受け、これまでの報告にない幅広い検体で分析法の妥当性評価を行うことができる。

3 効率性(研究項目と内容・方法)

研究項目	研究内容・方法	活動指標	R			単位
			2	3	4	
	LC-MS/MS による TTX および HA 類の分析条件選択	分析条件数	目標	1		条件
			実績	1		
	TTX および HA 類の抽出条件選択	抽出条件数	目標		4	条件
実績			1		6	
	過去の食中毒検体および擬似検体での検証	検体数	目標		10	検体
			実績		1	
	分析法についての情報収集	文献数	目標	20		報
			実績	33	8	
	TTX および HA 類の簡易分析条件検討	分析条件数	目標	1	1	条件
			実績	2		
TTX および HA 類の抽出条件検討	抽出条件数	目標		4	条件	
		実績	3			3
	過去の食中毒検体および擬似検体での検証	検体数	目標		10	検体
			実績	6		

1) 参加研究機関等の役割分担

長崎大学水産学部: 海洋生物に由来する有害物質に関する情報提供、分析法に関する助言
 地方衛生研究所(長崎市等): 食中毒に関する情報提供、食中毒検体提供

2) 予算

研究予算 (千円)	計 (千円)	人件費 (千円)	研究費 (千円)	財源			
				国庫	県債	その他	一財
全体予算	29,789	23,267	6,522				6,522
2年度	10,114	7,824	2,290				2,290
3年度	9,961	7,790	2,171				2,171
4年度	9,714	7,653	2,061				2,061

過去の年度は実績、当該年度は現計予算、次年度以降は案
 人件費は職員人件費の単価とする

(研究開発の途中で見直した事項)

TTX の簡易分析法において、長崎大学水産学部、日水製薬株式会社、独立行政法人大阪健康基盤研究所と共同研究を実施した。

4 有効性

研究項目	成果指標	目標	実績	R			得られる成果の補足説明等
				2	3	4	
	過去の食中毒検体および擬似検体での一括分析法の検証	10 検体	14			10	保管している食中毒検体および擬似的な食中毒原因成分含有の食品検体を用いて、一括分析法の妥当性を検証する。
	過去の食中毒検体および擬似検体での簡易分析法の検証	10 検体	11			10	保管している食中毒検体および擬似的な食中毒原因成分含有の食品検体を用いて、簡易分析法の妥当性を検証する。複数名で検証を行い、分析法の簡便性についても確認する。
	研究成果の県民・社会への還元	3 報	5		1	2	具体的な手段としては、論文発表、学会もしくは所内研究発表会での発表、ホームページでの啓発、研究所の一般公開での啓発。

1) 従来技術・先行技術と比較した新規性、優位性

内容(項目)	新規性・優位性	従来技術・先行技術	本研究
テトロドトキシンおよびヒスタミン類のLC-MS/MS 一括分析法の確立	<ul style="list-style-type: none"> ・TTX と HA 類は個別の分析法の報告事例は多いが、広範囲の食中毒対応を想定して一括して分析する手法はない ・これまでの食中毒検体を冷凍保存しており、また検体確保については地方衛生研究所(長崎市等)と協力関係にある 実際の食中毒を想定した検証が可能 ・TTX の抽出過程改善 迅速性向上、多検体および微量検体への対応性向上 	<ul style="list-style-type: none"> ・TTX、HA 類 共に LC-MS/MS を用いた個別の分析法の報告あり。ただし、検体は生鮮魚体が主。 ・個別の分析法では、原因究明に時間がかかる場合がある。 ・抽出過程で時間がかかる ・分析機器の整備状況が機関ごとに異なり、各機関で最適化が必要のため、文献における分析条件をそのまま適用不可。 	<p>現状の抽出過程を改善した上で、TTX と HA 類について一括分析法を確立し、過去の食中毒検体と擬似検体で検証を行う。健康危機管理の際に、二次的な健康被害を防止するには、正確かつ迅速に分析を行うことが重要であり、と併せて食中毒対応検査の正確性と迅速性を向上させる研究である。</p>
テトロドトキシンとヒスタミン類の簡易分析法の確立	<ul style="list-style-type: none"> ・食中毒対応の際、LC-MS/MS 一括分析法とセットでの運用を想定しており、併行して分析できる方法を検討。 ・用いる機器や試薬が比較的安価である。 ・過去の食中毒検体と擬似検体を分析法の検証に用いる。これまでの食中毒検体を冷凍保存しており、また検体確保については地方衛生研究所(長崎市等)と協力関係にある 実際の食中毒を想定した妥当性評価 	<ul style="list-style-type: none"> ・薄層クロマトグラフィやペーパークロマトグラフィ等の手法で報告例あり。ただし検体は生鮮魚体が主。 	<p>LC-MS/MS 一括分析法と併行して行う定性分析もしくは簡易な定量分析を想定し、最適な手法を検討する。現状の分析法からの感度および分離能の改善を目指し、過去の食中毒検体と擬似検体で検証を行う。また食中毒検体においては検査の信頼性向上のために複数の方法が必要であり、LC-MS/MS のデータを補完する分析法としての位置付けである。</p>

2) 成果の普及

研究成果の社会・経済・県民等への還元シナリオ

本研究は環境保健研究センターでの食中毒検査に適用されるものであり、研究成果が速やかに県内での食中毒対応の向上につながることを期待できる。また所内研究発表会、ホームページや研究所一般公開における研究成果の発表によって、県民の食の安心に寄与する。

食品衛生の分析手法に関わる学会や全国衛生化学技術協議会、九州衛生環境技術協議会等における発表により、得られた知見が民間企業や他県の地方衛生研究所に活用されることで、他県における食中毒の対応向上や食中毒予防技術の発展につながる可能性がある。

研究成果による社会・経済・県民等への波及効果(経済効果、県民の生活・環境の質の向上、行政施策への貢献等)の見込み

食中毒対応においては、迅速かつ正確に原因究明を行うことが、二次的な健康被害を防止することにつながるため、非常に重要である。本研究により、長崎県で事例のある主な化学性食中毒について、分析の迅速化、正確性の向上が実現できれば、食品衛生行政に寄与することが期待できる。また簡易分析法の検討については、その簡便性から、保健所等現場での活用によるより迅速な食中毒対応体制構築に繋がる可能性がある。また食品製造施設等での活用により、食中毒予防にも繋がることを期待される研究である。

(研究開発の途中で見直した事項)

種類	自己評価	研究評価委員会
事前	<p>(令和元年度) 評価結果 (総合評価段階:A) ・必要性 S 平成12年から平成30年にかけて長崎県で起きた化学性食中毒の約85%がテトロドトキシン(TTX)とヒスタミン(HA 推定)を原因とするものであり、今後もTTXとHA類による食中毒が発生することが予想されることから、健康危機管理としてこれらの対応を優先的に行う必要がある。現在の個別的分析法では、迅速性・多検体への対応性・必要な検体重量の多さ等の課題がある。食中毒の際には、当センターが行政検査依頼を受け、その分析結果を根拠に行政機関が営業禁止等の指導や情報公開を行う。以上のことから、速やかに二次的な健康被害を防止するためには、現状の検査における課題を解決し、分析の迅速性と正確性を向上させることは必要不可欠である。</p> <p>・効率性 A 本研究においては、水産食品衛生学・水族毒性学において全国的にも先進大学である長崎大学水産学部と連携体制をとり、最新の知見の提供や研究内容についての助言を受け、効率的に研究を行う。 当センターは過去の食中毒検体を保存しており、分析法の妥当性確認に用いることができる。加えて、地方衛生研究所から食中毒についての情報提供や検体供与を受け、円滑に研究を進められる体制にある。また複数の有毒成分を同時に定量することに適した分析機器であるLC-MS/MSが整備済みである。</p> <p>・有効性 A 食中毒が発生した際には、当センターにおける分析結果が、健康被害拡大を防ぐための本庁や県立保健所の対応の根拠となる。そのため、可能な限り迅速かつ正確に分析を行うことが重要である。また食品検体は多様な成分を含むことから、食中毒の原因究明においては複数の原理で定性を行うことが不可欠である。本研究においては、LC-MS/MSを用いた一斉分析法によってより迅速に分析を行い、一斉分析法と原理の異なりかつ併行して行える簡易分析法によって一斉分析法のデータを補完し、分析の正確性を向上することができる。また、実際の中毒検体を用いて検証を行うことで、その有効性を確認できる。</p>	<p>(令和元年度) 評価結果 (総合評価段階:A) ・必要性 A 本研究は、魚介類に起因する化学性食中毒のうち、本県で発生頻度の高いテトロドトキシンとヒスタミン類に焦点を当て、迅速かつ正確な分析法の開発を目指したものであり、水産物による化学性食中毒予防に繋がる重要なテーマである。</p> <p>・効率性 A これまでの技術蓄積、過去の食中毒検体の確保、分析機器の整備に加え、関係機関との連携体制も構築できており、効率的な研究が見込まれる。</p> <p>・有効性 A 一括分析法の確立を理想としながらも、簡易分析法と併用しつつ、食中毒発生時における行政検査の迅速性及び正確性の向上を目指しており、行政対応の信頼性確保に資する研究である。分析期間短縮の目標値を明確にして、より迅速で効果的な手法の確立を期待する。</p>

<p>・総合評価 A</p> <p>長崎県は水産資源に恵まれており、消費量も多いことから、TTX および HA の分析体制を充実させることは、県民の安心・安全につながるものである。これらは長崎県の化学性食中毒の 85%を占めることから、研究成果が速やかに食中毒対応の向上に反映することができる。これらの定量を一斉分析で行うことで、複数の検査依頼に併行して対応することが可能であり、また常備する試薬も減るため、業務の効率化・コストダウンにつながる。また HACCP の側面においても、貢献することができる。</p> <p>簡易分析法の検討は、その簡便性から、食中毒対応における保健所等現場での活用が考えられる。さらに食品製造施設等で活用することで、食中毒予防につながりうる研究である。県民および県の産業の安全・安心に寄与することが期待される研究である。</p>	<p>・総合評価 A</p> <p>魚介類に起因する化学性食中毒については、原因物質の特定検査法が明確に定められていない状況にある中で、テトロドトキシン及びヒスタミン類の分析法を確立することを目的とした本研究の実施は、概ね妥当である。</p>
<p>対応</p>	<p>対応</p>
<p>途 中</p> <p>(年度) 評価結果 (総合評価段階:)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 ・効率性 ・有効性 ・総合評価 	<p>(年度) 評価結果 (総合評価段階:)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 ・効率性 ・有効性 ・総合評価
<p>対応</p>	<p>対応</p>
<p>事 後</p> <p>(令和5年度) 評価結果 (総合評価段階:A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 S <p>平成12年から平成30年にかけて長崎県で起きた化学性食中毒の約85%がテトロドトキシン(TTX)とヒスタミン(HA 推定)を原因とするものであり、今後もTTXとHA類による食中毒が発生することが予想されることから、健康危機管理としてこれらの対応を優先的に行う必要がある。</p> <p>現在、食中毒対応としては、個別の分析法が整備されているが、取り扱いに高度の技術と知識を要するLC-MS/MSにおいては、過去の事例を踏まえて、できる限り多くの有害物質を同時に分析可能な分析法が望ましい。また、個別の分析法においても、迅速性・多検体への対応性・分析に必要な検体重量の多さ等の課題がある。</p> <p>食中毒の際には、当センターが行政検査依頼を受け、その分析結果を根拠に行政機関が営業禁止等の指導や情報公開を行う。以上のことから、速やかに二次的な健康被害を防止するためには、現状の検査における課題を解決し、分析の迅速性と正確性を向上させた一括分析法を整備することは必要不可欠である。</p>	<p>(令和5年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 A <p>水産県として全国に名を馳せる本県において、海産物による食中毒の検査体制は万全を期すべきであり、本研究で得られた成果はこの考え方に良く合致したものと高く評価できる。食中毒の原因となる化学物質に対する迅速分析法の確立は県研究機関として取り組むべき課題として極めて必要性が高い。</p>

・効率性 A

本研究においては、水産食品衛生学・水族毒性学において全国的にも先進大学である長崎大学水産学部、荒川・高谷両教授と連携体制をとり、最新の知見の提供や研究内容についての助言を受け、また、客員研究員として在籍することで、より多くの文献を参照することが可能であった。

当センターは過去の食中毒検体を冷凍保存しており、これらを用いることで、妥当性確認した分析法を検証した。また協力関係にある長崎大学水産学部より、模擬検体の材料となるトラフグの提供を受けることができ、さらに、大学、企業及び大阪健康安全基盤研究所と連携して簡易分析法の研究を進めた。加えて、協力関係にある長崎市等の地方衛生研究所から食中毒についての情報提供が得られた。また複数の成分を同時に定量することに適した分析機器である LC-MS/MS が整備済みであり、これらのことから、効率的に研究が進められた。

・有効性 A

本研究で確立した TTX および HA 類の簡易分析法は、1 検体を約 3 時間で結果を出すことが可能であり、原因究明の迅速性という点で、大きく改善できた。また、併せて画像解析による簡易定量法を確立し、さらに、TTX においては、濃度推定フローを用いることにより、目視で大まかな毒力区分を推定することが可能となった。

一括分析法においては、分析行程の簡便化を図り、また、食中毒事例の多い調理品を用いて検証を行うことで、食中毒時に適した迅速分析法を確立できた。さらに、同分析法でキンシバイ中に含まれる有毒な TTX 類縁体の検出が可能であることを確認し、また、キンシバイ抽出液を精製・濃縮することで標準液を作成し、今後の食中毒の際に速やかに検出することが可能となった。

簡易分析法と一括分析法を併用することで、迅速性と正確性を相互に補完することができ、原理の異なる分析法で原因究明を行うことで、検査の信頼性を向上させることができた。

今後の展望として、現場のニーズによって、簡易分析法を保健所や病院等の検査に適用する等の運用が考えられる。画像解析方法については、他成分の分析でも応用が可能と考えられる。一括分析法については、HA 類は鮮度指標の一つであり、さらに鮮度の指標となる他物質等を分析法に加えることで、より多角的な鮮度評価方法として適用できると考えられる。

・総合評価 A

長崎県は水産資源に恵まれており、消費量も多いこ

・効率性 A

致死率の高い化学物質である TTX の簡易分析法については、長崎大学水産学部、日水製薬株式会社、大阪健康安全基盤研究所との共同研究を実施し、地方衛生研究所からの情報提供も得られている。研究手法は主として平成 28～30 年度経常研究の成果を基盤として発展的に進められたものであり、効率性の高い研究であった。

・有効性 A

TTX と HA 類に対する微量分析装置を用いた一括分析法の確立は、分析時間の短縮や多検体・微量検体への対応等、従来法と比較して多くの優位性を有することが明らかとなった。一方、分析機器を使用することなく低コストで簡便に当該成分の濃度推定を行う簡易分析法の確立は、迅速かつ適切な行政対応に繋げ、二次的な健康被害を防止する観点から有効性は高く、計画通りの研究成果を得ることができた。

・総合評価 A

本研究により確立された一括分析法の対象成分とし

<p>とから、TTX および HA の分析体制を充実させることは、県民の安心・安全につながるものである。これらは長崎県の化学性食中毒の 85%を占めるものであり、本研究において、これらの検査の正確性・迅速性を向上できたことで、本県の食中毒検査体制の強化に寄与できた。また、食中毒はいつ起きるか分からず、使用する試薬・機材を削減できたことは、分析体制の人的・物質的な維持コストの面で、利点が大きい。さらに、これらが重要管理点とされている HACCP の側面においても、貢献することが可能となった。</p> <p>現在、気候変動の進行により、交雑ふぐの問題、南方系の毒魚の北上等、食品衛生上の新たなリスクが懸念されている。今回確立した分析法は、これらのリスクアセスメントを行うための基礎データの収集に用いると共に、一括分析法については、今後は他の海洋性自然毒も含め、可能な限り、食中毒事例の多いものから分析可能な有毒物質を追加することで、より健康危機管理時に有用な分析法として発展させていきたい。</p>	<p>テトラミンは既に追加済みであり、平成 28～30 年度経常研究により検討されたパリトキシンと併せると平成 12～30 年に本県で発生した魚介類による化学性食中毒のすべてをカバーすることが可能。また、本研究で確立された尿を検体とする TTX の簡易分析法は、体内に残存する TTX 濃度の推定に有用である可能性があり、当該患者に対する治療方針を決定する上でのモニタリング法として臨床応用が期待される。</p>
<p>対応</p>	<p>対応</p> <p>一括分析法については、事例の多い食中毒原因物質を優先的に、今後も分析対象成分を増やしていくことで、継続して健康危機管理時の検査体制の強化を図る。簡易分析法については、食中毒現場での活用や臨床応用等へ向けて、関係機関と検討していきたい。</p>