

### 調査研究に関する中間報告書

提出年月日		令和5年6月12日	部 名	衛生化学部	
調査研究課題		パリトキシン及びパリトキシン様毒の検出技術に関する研究			
調 査	主任研究者	鈴木郷		研究区分 (小分類)	<input checked="" type="checkbox"/> 県単研究 <input type="checkbox"/> 公募研究 <input type="checkbox"/> 共同研究 <input type="checkbox"/> 受託研究 <input type="checkbox"/> 基礎研究
	その他の研究者	溝添暁子、中村麻羽、松川浩子、黒木麻衣、落合克紀			
研 究	調査研究期間	令和4年度 ~ 令和6年度 (3か年間)			
体 制	調査研究費	予算項目	令和4年度	令和5年度	令和6年度
		国費	千円	千円	千円
		県費	300千円	250千円	200千円
	その他	千円	千円	千円	
	合計	300千円	250千円	200千円	
調査研究の目的		<p>パリトキシン(以下、PTXという。)は、アオブダイやハコフグ等に含まれる自然毒であり、これに起因した食中毒の発生が全国的に見られている。1953年から2016年にかけて少なくとも44件の中毒の報告があり、患者総数は129名、そのうち8名が死亡している。一般に、PTX及びPTX様毒の検出は、LC-MS/MS分析法やマウス試験法により行われている。LC-MS/MS分析法は既知物質であるPTXのみの検出が可能であり、当所でもPTXの検出にはこの分析法を採用している。一方、マウス試験法はPTX及びPTX様毒の両者の検出が可能であるものの、検出感度の低さや倫理的観点の課題から代替法の開発が望まれており、その一つとして培養細胞を用いた試験法が提案されている。そうした中、本県では令和3年度、PTX又はPTX様毒と疑われる食中毒が発生し、LC-MS/MS分析を試みたが原因の特定には至らなかった。</p> <p>そこで本研究では、PTX及びPTX様毒の検出技術を確認することを目的として、LC-MS/MS分析の技術蓄積による精度向上を図るとともに、細胞培養法を用いた検出についても検討を行い基盤技術を開発する。</p>			
調査研究の進捗状況  (これまでの成果や問題点等を含む。)		<p>PTXのLC-MS/MS分析法の抽出・精製は、煩雑な工程で行われ、検査時間が2日以上かかり回収率が低いものとなっている。今回、簡便化及び回収率向上を図るべく検討を行った。</p> <p>PTXがプラスチックに吸着することと精製溶媒にクロロホルムを使用することから、PTXの抽出・精製には現在ガラス器具が用いられている。PP製遠沈管のPTXの吸着性とクロロホルムへの耐性を確認したうえで、PP製遠沈管とセラミックホモジナイザーを用いることで抽出・精製の簡便化を図ったところ、遠沈管への吸着の影響は少なく、検査時間が1日に短縮された。また、ヘキサンによる精製時に-80℃で冷却することで、筋肉からの抽出は十分な精製効果が得られた。一方で、肝臓の検査では夾雑成分が多く、精製方法の改良が課題である。なお、これまでに収集したアオブダイ3検体の筋肉・肝臓からPTXは検出されなかった。</p> <p>PTX様毒の検出は細胞培養法を検討した。PTX及びPTX様毒は横紋筋融解症を主な症状とすることから、ヒト胎児横紋筋肉腫(RD-A)細胞を用いて細胞培養法の先行研究を行っている長崎県環境保健研究センターに協力を求めた。また、RD-A細胞を実際に培養し、細胞の確保と手順の検討を行った。今後は実際の食中毒検体を用いて試験を行っていく。</p>			
備	考	<p>1)厚生労働省. 自然毒のリスクプロファイル.  <a href="https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/animal_det_03.html">https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/animal_det_03.html</a>          (2023年5月29日アクセス可能).</p>			