

クワズイモと疑われたサトイモ科植物による食中毒疑い事例

宮崎悦子・佐藤秀樹・松永典久・浜崎志帆
安川幸恵・菅弘樹・小出石千明・戸渡寛法

福岡市保健環境研究所保健科学課

A Case Report of Suspected Alocasia Food Poisoning Caused by an Araceae Plant Called “*Touimo*”

Etsuko MIYAZAKI, Hideki SATOU, Norihisa MATSUNAGA, Shiho HAMASAKI,
Sachie YASUKAWA, Hiroki KAN, Chiaki ODEISHI and Hironori TOWATARI

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

要約

令和元年9月に、他県の道の駅で購入したハスイモに外観が類似したイモの茎を、市民が調理喫食した数分後に、口腔内に痛みの症状を呈する食中毒疑い事例が発生した。クワズイモによる食中毒が疑われたため、原因究明のために当所で実施した分析とその結果について報告する。

光学顕微鏡観察の結果、当該品からは、シュウ酸カルシウムの針状結晶が認められた。キャピラリー電気泳動によるシュウ酸の定量を行ったが、当該品は、対照品であるクワズイモ及びハスイモと比較して、含有量に差は認められず判断ができなかった。次に、リアルタイム PCR によるクワズイモの遺伝子分析を行った結果、当該品からクワズイモの遺伝子は検出されなかった。分析結果及び保健所の調査結果から総合的に判断し、当該品はクワズイモではなく、「トウイモ」と呼ばれるサトイモ科植物であり、調理の際のあく抜きが不十分であったことが症状の原因と推察された。

Key Words: クワズイモ *Alocasia odora*, サトイモ科 *Araceae*, シュウ酸カルシウム calcium oxalate, 食中毒 food poisoning, キャピラリー電気泳動 capillary electrophoresis, リアルタイム PCR 法 real-time PCR method, 鑑別 identification

1 はじめに

令和元年9月、福岡市内の保健所に、九州内他県の道の駅でトウイモと表示のあるハスイモに類似したイモ（以下、「当該品」する。）の茎（以下、「葉柄（ようへい）」とする。）を購入した市民から、当該品を具材としたみそ汁を調理し喫食した数分後に口腔内にピリピリとした痛みを呈したので、当該品は、有害なシュウ酸カルシウムを含むクワズイモ (*Alocasia odora*) が混入していたのではないかと通報があった。そこで、当該品がクワズイモかどうかの分析を行うこととなった。

シュウ酸カルシウム（以下、「シュウ酸 Ca」とする。）の針状結晶を含有する植物には、サトイモ科植物があり、よく知られたクワズイモのアロカシア属以外にも、食用のサトイモ属、コンニャク属等がある。サトイモ科植物は、観葉植物として非常に多くの種類が出回っており、

日本には12属約60種が自生している¹⁾。サトイモ科の植物を一口食べると、咀嚼により不溶性のシュウ酸 Ca の東晶が放出され、口腔粘膜組織に物理的損傷をもたらす。ひどい場合は、水疱を伴う口腔・舌・口唇の浮腫、咽頭の浮腫、潰瘍化、嚥下困難、一過性の言語障害、血性おう吐、下痢が起こる場合があり、さらに呼吸困難が生じることもある¹⁾。

厚生労働省の食中毒統計（平成12年～令和元年）（https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html）によると、過去20年間のクワズイモによる食中毒の発生件数は計20件であり、そのうち15件が九州7県での発生という地域的な特徴がある。

今回、原因究明のために、喫食した当該品（調理残品、未調理残品）について、光学顕微鏡観察²⁾、シュウ酸濃度の分析³⁻⁵⁾に加え、クワズイモ遺伝子⁶⁾の分析を行っ

た。

九州内ではサトイモ科植物の栽培が多いため、クワズイモによる食中毒及びクワズイモ以外のサトイモ科植物によるシュウ酸 Ca による食中毒（疑いを含む）が発生する可能性があり、今後の参考のために事例の詳細を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

令和元年9月に九州内の道の駅にて販売されていた当該品の調理残品（みそ汁）、未調理残品（当該品、図1）、通報者が対照品として提供したクワズイモの葉柄（対照品1、図2）、食用として市販されていたハスイモの葉柄（対照品2、図3）の計4件を試料とした。なお、別途、観葉植物として市販されていたクワズイモを当所で入手し、遺伝子分析の陽性対照とした（図4）。



図1 未調理残品



図2 対照品1クワズイモ



図3 対照品2ハスイモ

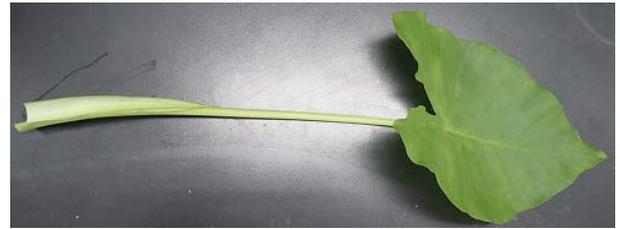


図4 陽性対照

2.2 試薬及び器具

2.2.1 シュウ酸分析用試薬

シュウ酸ナトリウム：片山化学工業（株）製特級

シュウ酸標準原液：シュウ酸ナトリウム 148.8 mg を精製水に溶解し 100 mL に定容したものを、シュウ酸 1000 µg/mL 標準原液とした。

10%塩酸：和光純薬工業（株）製有害金属分析用の塩酸（35%）100 mL を超純水で希釈し 350 mL とした。

250 mmol/L リン酸緩衝液（pH 6.5）：関東化学（株）製特級リン酸（85%）の 2.88 g を正確に量り、超純水で 100 mL とし、5 mol/L の水酸化ナトリウム溶液で pH を 6.5 に調整した。

ろ紙：アドバンテック東洋（株）製 No.5A

限外ろ過フィルター：メルクミリポア（株）製ウルトラフリーMC 遠心式フィルターユニット 5000NMWL

2.2.2 遺伝子分析用試薬

DNA 抽出キット：（株）キアゲン製 Genomic-tip20/G

マスターミックス：サーモフィッシャーサイエンティフィック（株）製 Power Up SYBR Green Master Mix

2.3 装置

2.3.1 シュウ酸分析用装置

光学顕微鏡：（株）ニコン製 ECLIPSE E600

キャピラリー電気泳動：大塚電子（株）製 Agilent7100

ホモジナイザー：（株）キアゲン製 Tissue Ruptor

超音波洗浄器：アズワン（株）製 MCS-13

2.3.2 遺伝子分析用装置

リアルタイム PCR：サーモフィッシャーサイエンティフィック（株）製 QuantStudio5

高速冷却遠心機：久保田商事（株）製 6200

微量高速冷却遠心機：久保田商事（株）製 3780

分光光度計：サーモフィッシャーサイエンティフィック（株）製 NanoDrop One

超純水製造装置：オルガノ（株）製 PURELAB flex-UV

2.4 分析方法

2.4.1 シュウ酸分析

1) 光学顕微鏡による観察

調理残品のみそ汁の汁部分（以下、「調理残品汁部分」

とする。)はそのままプレパラートとした。調理残品のみそ汁のイモの葉柄部分(以下、「調理残品イモ部分」とする。)は水洗い後に、未調理残品のイモの葉柄、対照品1クワズイモ及び対照品2ハスイモの葉柄はそのまま横断切片を作成し、光学顕微鏡下で観察した。

2) 総シュウ酸の分析

ハサミで細切した試料5gを50mL容PP製遠沈管に採り、10%塩酸20mLを加え、3分間ホモジナイズし、10%塩酸で40mLとした。80°Cの温浴中で30分間超音波抽出を行い、放冷後、ろ紙でろ過し、超純水で100mLとした。そのうちの一部を限外ろ過したものを試験溶液として、キャピラリー電気泳動に供した。分析条件は表1に示す。

表1 キャピラリー電気泳動分析条件

機種	Agilent 7100
キャピラリー	No.G1600-62332 (内径75µm, 有効長72cm, バブルファクター2.7)
サンプル温度	10°C
キャピラリー温度	30°C
泳動液	250mmol/Lリン酸緩衝液(pH6.5)
注入圧	50hPa・2s
測定波長	200nm
測定時間	30min

2.4.2 遺伝子分析

1) DNA抽出

アレルギーを含む食品の検査方法⁷⁾に示された食品からのDNA抽出精製法を改変した方法で行った。すなわち、細切した試料2g(試料量が不足する場合は1g以上)を50mL容PP製遠沈管に採り、G2 Buffer 15mL及びα-アミラーゼ200µLを加え、2分間ホモジナイズし、37°C、80rpmで1時間振とうした。次にProteinaseK 100µL、RNaseA 20µLを加えてボルテックスミキサーでよく混合し、途中10分おきに攪拌を繰り返して50°Cで2時間静置した。これを遠心し、上澄み液を、予めQBTbufferで平衡化したGenomic-tip20/Gに全量負荷したのち、QCbufferで洗浄し、QFbuffer 2mLで溶出した。溶出液に0.7倍容量の2-プロパノールを加え、遠沈により回収したDNAを滅菌超純水100µLに溶解したものをDNA溶液とした。分光光度計を用いてDNA溶液の260nmの吸光度(A₂₆₀)からDNA濃度を、280nmに対する260nm吸光度の比(A₂₆₀/A₂₈₀)及び230nmに対する260nm吸光度の比(A₂₆₀/A₂₃₀)から純度を確認した。滅菌超純水を用いてDNA溶液を20ng/µLとなるよう調製した。

2) プライマー対

萩野らの報告⁶⁾をもとに、クワズイモ検出用PCRに

はクワズイモ及びシマクワズイモの遺伝子(以下、「クワズイモ遺伝子」とする。)を検出するプライマー対(KUWAZU-Fb; 5'-CTCTCTCCCGTCCCTCG-3'及びKUWAZU-Ra; 5'-CGGGAGTCGTTVAGAATAG-3')を用いた。

同時に、DNA抽出及びPCR反応が適切に行われていることを確認する陽性コントロールとして、真核生物に共通の配列を検出する真核生物検出用プライマー対(TR03; 5'-TCTGCCCTATCAACTTTCGATGGTA-3'及びTR04; 5'-AATTTGCGCGCCTGCTGCCCTTCCTT-3')を用いた。プライマー対はいずれもサーモフィッシュサイエンティフィック(株)に合成を依頼した。

3) リアルタイムPCR

リアルタイムPCRに供する液は、2×Power Up SYBR Green Master Mix 12.5µL、50µmol/Lのプライマー対を各0.3µL、20ng/µLのDNA試料溶液を2.5µL加え、滅菌超純水で25µLとなるように調製した。真核生物検出用とクワズイモ検出用のPCR反応は、同じ96穴プレート上で行い、50°C 2分間、95°C 2分間保持した後、95°C 15秒間、60°C 1分間を1サイクルとして50回繰り返した。その後、融解曲線を得るために95°C 15秒間、60°C 1分間、95°C 1分間保持した。

リアルタイムPCRの増幅曲線のThreshold lineを0.2、baselineをautoと設定したときのCt値が43未満となったときを増幅とし、真核生物検出用PCRでの増幅を確認した後、対応するDNA溶液のクワズイモ検出用の増幅を認めた場合にクワズイモ遺伝子を検出と判定した。

3 実験結果及び考察

3.1 光学顕微鏡による観察

光学顕微鏡による観察の結果、調理残品イモ部分の細胞内からはシュウ酸Caと推察される針状結晶が束状に並んだアンブル型細胞が認められた(図5)。また、調理残品汁部分には、複数の針状結晶が認められた(図6)。このことから、通報者の口腔内の痛みの原因は針状結晶によるものと推察された。

対照品1クワズイモの細胞内には、針状結晶が束状に並んだアンブル型細胞が認められた(図7)。一方、対照品2ハスイモからは針状結晶は認められなかった。

シュウ酸Caの針状結晶は、クワズイモによる食中毒の原因物質であり、通常、針状結晶が見つかるクワズイモであると判断する根拠の一つとなる。しかし、外観が類似したサトイモ科の植物の場合、多くの品種で針状結晶が認められる⁸⁾ため、顕微鏡観察だけでは当該品がクワズイモかどうかを判断できなかった。



図5 調理残品イモ部分の光学顕微鏡写真 (100倍)



図6 調理残品汁部分の光学顕微鏡写真 (100倍)



図7 対照品1クワズイモの光学顕微鏡写真 (100倍)

3.2 総シュウ酸の定量

森岡ら³⁾, 西名ら⁴⁾の報告を参考に, 試料から10%塩酸を用いて抽出しキャピラリー電気泳動で分析することで総シュウ酸を定量した. 標準品のエレクトロフェログラムを図8に示す. 検量線は5~100 µg/mLの間で決定

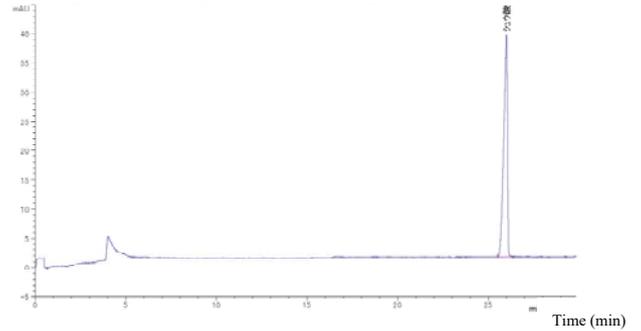


図8 シュウ酸のエレクトロフェログラム

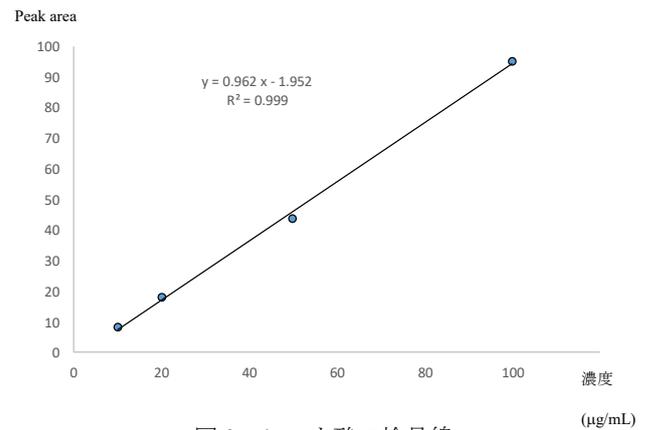


図9 シュウ酸の検量線

係数0.999と直線性は良好であった(図9)。

総シュウ酸の分析の結果を表2に示す. 調理残品イモ部分からは1000 mg/kg, 調理残品汁部分からは150 mg/kg, 未調理残品からは1000 mg/kgの総シュウ酸が検出された. また, 対照品1クワズイモからは1100 mg/kg, 対照品2ハスイモからは700 mg/kgの総シュウ酸が検出された.

調理残品及び未調理残品と対照品1クワズイモ及び対照品2ハスイモから検出された総シュウ酸の濃度に明確な差は認められず, 当該品がクワズイモであるかの判断はできなかった.

表2 各試料中の総シュウ酸の定量結果

No.	試料	総シュウ酸の含有量(mg/kg)
1	調理残品イモ部分	1000
2	調理残品汁部分	150
3	未調理残品	1000
4	対照品1クワズイモ	1100
5	対照品2ハスイモ	700

3.3 DNA 抽出

試料からの DNA 抽出には、調理残品からの DNA 抽出を考慮し、加工食品からの DNA 抽出に適した⁹⁾ Genomic-tip20/G を用いた。また、調理加工されていることから DNA の断片化により DNA の収量が少ないことが予想されたので、抽出効率を上昇させるため、ホモジナイズ工程を追加し、37℃インキュベート時に振とう操作を追加した。その結果、表 3 に示すとおり、調理残品のイモ部分からは 1.4~2.2 μg の DNA が、未調理品の残品及び対照品 1 クワズイモからは 21~29 μg、対照品 2 ハスイモからは 13 μg の DNA が抽出された。また、いずれの DNA 溶液も DNA とタンパク質の比である A260/A280 は 1.8, DNA と多糖類の比 A260/A230 は 1.7~2.3 と PCR に適した純度であった。

表 3 各試料から抽出した DNA の収量と純度

No.	検体	部位	試料採取量(g)	DNA収量(μg)	A260/A280	A260/A230
1-1	調理残品イモ部分	葉柄	1.22	1.4	1.8	1.7
1-2	調理残品イモ部分	葉柄	1.68	2.2	1.8	2.0
2-1	未調理残品	葉柄	2.01	29.3	1.8	2.1
2-2	未調理残品	葉柄	2.05	20.5	1.8	2.3
3	対照品1クワズイモ	葉柄	2.03	28.9	1.8	2.2
4	対照品2ハスイモ	葉柄	2.08	12.6	1.8	2.2
5	陽性対照	葉	2.06	87.2	1.8	2.3

3.4 リアルタイム PCR

3.3 で抽出した DNA 溶液を用いて萩野らの報告に従いコンベンショナル PCR を行ったところ、陽性対照においてクワズイモ遺伝子の増幅が認められなかった（データは示さず）。その原因を特定するには至らなかったが、PCR の感度が不足していることが要因の一つと考えられた。

そこで、PCR の感度を上昇させる目的で、プライマー対をそのまま用いることが可能な SYBR Green を用いたインターカレーション法によるリアルタイム PCR を行った。プライマーの濃度は、当所で通常使用している終濃度各 0.6 μmol/L とした。

各試料の増幅曲線を図 10 に示す。その結果、対照品 1 クワズイモ及び陽性対照ではクワズイモ遺伝子の増幅が認められた。一方、調理残品イモ部分、未調理残品及び対照品 2 ハスイモの DNA からはクワズイモ遺伝子の増幅は認められなかった。つまり、当該品はクワズイモではないことが強く示唆された。なお、いずれの DNA からも真核生物遺伝子は検出され、融解曲線は単一ピークであったことから、リアルタイム PCR 反応は適切であったと考えられる。

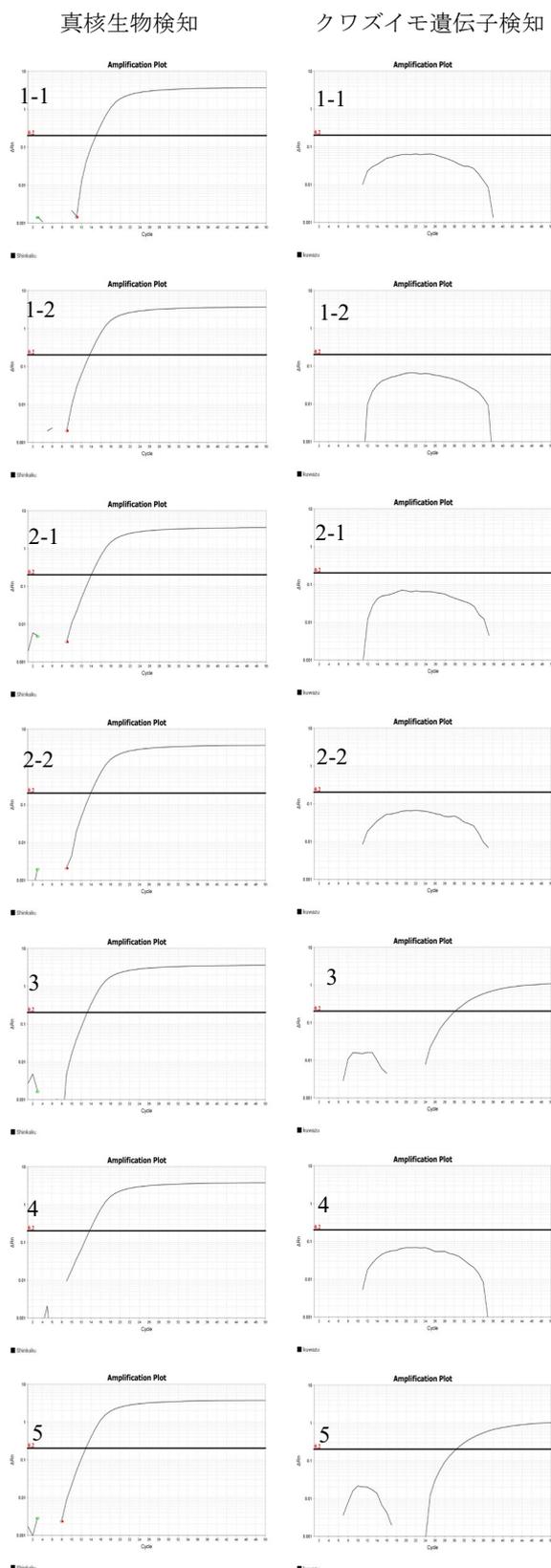


図 10 各試料の増幅曲線

(左：真核生物検知, 右：クワズイモ検知) 1-1, 1-2:調理残品イモ部分, 2-1, 2-2:未調理残品, 3:対照品 1 クワズイモ, 4:対照品 2 ハスイモ, 5:陽性対照

一般的に、クワズイモによる食中毒が発生した場合、顕微鏡観察とシュウ酸分析で判断されることが多い。しかし、今回の事例から、顕微鏡観察とシュウ酸の分析では、食中毒の原因がシュウ酸 Ca を含有するサトイモ科植物であることを推察可能であるが、そのサトイモ科植物がクワズイモであるかを判別できない可能性が高いことが示唆された。また、その場合には遺伝子分析による判別が役立つことが示された。

3.5 保健所の調査結果

クワズイモによる食中毒疑いの通報を受けた保健所は、当所に検査依頼を行うと同時に、道の駅を管轄する自治体にクワズイモによる食中毒疑いに係る調査依頼を行った。調査結果によると、当該品は現地でトウイモと呼ばれるサトイモ科植物であり、畑で栽培されておりクワズイモの混入の可能性は極めて低いとのことであった。また、現地ではトウイモはあく抜きのために湯がいてから調理することが広く認識されているが、通報者は当該品を水に数分さらしただけで調理を行っており、口腔内の症状はあく抜きが不十分であったために発生した可能性が高いと考えられる。このような地域特有の食品の場合、調理（下処理）方法を知らない旅行者などに健康被害が出る可能性があることから、調理方法の注意書きの掲示をするように指導がなされた。

追加情報として、厚生労働省の自然毒プロファイル (https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryu/shokuhin/syokuchu/poison/index.html) 及び現地保健所の食品衛生監視員によるクワズイモの実食経験から、クワズイモによる食中毒では喫食後直ちに口腔内の痛みを呈するが、今回の事例では喫食した数分後に痛みを呈しており、発症するまでの時間の差もクワズイモではないことを裏付ける一因と考えられる。

4 まとめ

令和元年9月に、本市市民が九州内他県の道の駅で購入したハスイモに外観が類似したイモの葉柄を調理喫食

した数分後に、口腔内に痛みの症状を呈するクワズイモによる食中毒疑い事例が発生した。光学顕微鏡観察の結果、当該品からは、シュウ酸 Ca の針状結晶が認められたが、キャピラリー電気泳動による総シュウ酸の定量結果では、クワズイモと他のサトイモ科植物を区別できず判断ができなかった。そこで、リアルタイム PCR によるクワズイモ遺伝子分析を行った結果、当該品からクワズイモの遺伝子は検出されなかった。よって、当所の分析結果及び保健所の調査結果を総合的に判断し、当該品はクワズイモではなく、現地でトウイモと呼ばれるサトイモ科の植物であり、調理の際のあく抜きが不十分であったことが症状の原因と推察された。

文献

- 1) (財) 中毒情報センター編：改訂版症例で学ぶ中毒事故とその対策, 303～307, じほう（東京）, 2000
- 2) 熊野眞佐代, 他：クワズイモによる食中毒, 長崎衛生公害研究所報, 46, 83～85, 2000
- 3) 森岡浩文, 他：キャピラリー電気泳動によるクワズイモ中のシュウ酸分析, 宮崎県衛生環境研究所所報, 20, 91～93, 2008
- 4) 西名武士, 他：LC/MS/MS を用いたクワズイモ中シュウ酸の迅速分析法の検討, 熊本県保健環境科学研究所報, 45, 91～93, 2015
- 5) 小坂妙子, 他：クワズイモによる食中毒事例について, 宮崎県衛生環境研究所所報, 11, 77～80, 1999
- 6) 萩野賀世, 他：PCR 法によるクワズイモの同定, 食品衛生学雑誌, 53, 32～35, 2017
- 7) 消費者庁次長通知消食表第 139 号：食品表示基準について, 別添アレルゲンを含む食品の検査方法, 別添平成 27 年 3 月 30 日
- 8) 田中政信, 他：サトイモ葉柄内のシュウ酸カルシウム結晶細胞の密度および大きさの差異, 園芸学会雑誌, 72, 551～556, 2003
- 9) 肥前昌一郎, 他：食品中の特定原材料小麦実態調査および PCR 法における小麦の検出限界, 福岡市保健環境研究所報, 32, 81～84, 2007