

実態調査結果表 神奈川

フモニン

サンプル番号	品名	原材料	原産国	製造または加工地	ロット (賞味期限)	国産/ 輸入/ 不明	分析値 (ng/g) B1	分析値 (ng/g) B2	分析値 (ng/g) B3
1	ポップコーン	ポップコーン	アメリカ	神戸市	不明	輸入	67.0	20.9	9.0
2	ポップコーン	ポップコーン	アメリカ	兵庫県加古郡	06.01	輸入	8.1	4.1	ND
3	ポップコーン	とうもろこし	アメリカ	大阪府守口市	06.09.25	輸入	91.9	19.5	11.3
4	ポップコーン	とうもろこし	アメリカ	千葉県松戸市	不明	輸入	ND	ND	ND
5	ポップコーン	ポップコーン	アメリカ	帯広市	06.09	輸入	ND	ND	ND
6	ポップコーン	ポップコーン	アメリカ	帯広市	07.10.13	輸入	ND	ND	ND
7	ポップコーン	とうもろこし	アメリカ	千葉県松戸市	不明	輸入	ND	ND	ND
8	ポップコーン	とうもろこし	アメリカ	茨城県ひたちなか	07.10.16	輸入	Trace	Trace	ND
9	ポップコーン	とうもろこし	アメリカ	大阪府守口市	06.11.06	輸入	92.9	19.2	11.5
10	ポップコーンP-5	とうもろこし	アメリカ		07.08.30	輸入	5.1	3.0	2.0
11	ポップコーンP-6	とうもろこし	アメリカ		不明	輸入	132.4	27.6	15.5
12	ポップコーンP-7	とうもろこし	アメリカ		07.01	輸入	185.0	43.0	17.5
13	ポップコーンP-10	とうもろこし	アメリカ		06.09.28	輸入	2.8	ND	ND

サンプル 番号	品名	販売店 (都道府県)	内容量	原材料	原産国	製造又は 加工地	製造者	輸入者	ロット (賞味期限)	国産/輸入 不明	分析値(ng/g)		
											FB1	FB2	FB3
1	コーンフレーク	兵庫県	180g	コーングリッツ			日本ケロッグ(株)			不明	N.D.	N.D.	N.D.
2	コーンフロステイ	兵庫県	215g	コーングリッツ			日本ケロッグ(株)		JBCEX '06.09	不明	N.D.	N.D.	N.D.
3	フロステイプラス	兵庫県	190g	コーングリッツ			日本ケロッグ(株)		IIFY '06.08	不明	N.D.	N.D.	N.D.
4	シスコーンB(Gコーンフレーク)	兵庫県	240g	コーングリッツ			日清シスコ(株)		EH30 ('06.08)	不明	N.D.	N.D.	N.D.
5	シスコーンB(Gフロスト)	兵庫県	270g	コーングリッツ			日清シスコ(株)			不明	N.D.	N.D.	N.D.
6	サイザリムコーンフレーク/アレーン	兵庫県	210g	コーングリッツ			日清シスコ(株)		P56 ('06.08.25)	不明	N.D.	N.D.	N.D.
7	サイザリムコーンフレーク/セサミスト	兵庫県	210g	コーングリッツ			日清シスコ(株)		R36 ('06.09.05)	不明	12.38	(4.23)	(3.33)
8	オーガニックコーン フレーク(アレーン)	兵庫県	150g	有機 コーングリッツ			ムソー(株)		06.07.26	不明	N.D.	N.D.	N.D.
9	オーガニックコーン フレーク(フロスト)	兵庫県	150g	有機 コーングリッツ			ムソー(株)		06.06.02	不明	(3.33)	N.D.	N.D.
10	コーンフレーク	兵庫県	375g	とうもろこし	ドイツ		イオンマルシェ(株)			不明	N.D.	N.D.	N.D.
11	ブラウンシユガー	兵庫県	230g	コーン			オイシア(株)		CI ('06.09.27)	不明	N.D.	N.D.	N.D.
12	コーンフレークアレーン	兵庫県	180g	コーングリッツ			イオン(株)			不明	(3.15)	N.D.	N.D.
13	カルビコーンフレーク	東京都	85g	コーン			オイシア(株)		06.11.23 D1	不明	(4.48)	N.D.	N.D.
14	コーンフレークアレーン	東京都	115g	コーングリッツ			(有)わかなみ		06.02.25	不明	N.D.	N.D.	N.D.
15	コーンフレークシユガー	東京都	115g	コーングリッツ			(有)わかなみ		06.07.31	不明	N.D.	N.D.	N.D.

コーンフラワー及びコーンスターチ フモニシン

サンプル番号	品名	内容量	原材料	原産国	ロット(賞味期限)	国産/輸入/不明	分析値 (ug/kg)		
							FB1	FB2	FB3
1	コーンスターチ	200 g	とうもろこし, 脱水乾燥	南アフリカ	06/10/5, J719	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
2	コーンスターチ	250 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	06/6	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
3	コーンスターチ	150 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	06/9/4, KZ6	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
4	コーンスターチ	220 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	07/9/12	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
5	コーンスターチ	250 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	07/9/10	輸入	(0.6)	(0.7)	< 0.6
6	コーンスターチ	200 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	07/2/1	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
7	コーンスターチ	90 g	とうもろこし, 脱水乾燥	米国	07/10/30, ZGB	輸入	< 0.6	< 0.6	< 0.6
8	コーンミール	500 g	とうもろこし	米国	06/10/11	輸入	12.9	5.4	(1.7)
9	コーンフラワー	500 g	とうもろこし	米国	06/7/2	輸入	62.7	16.7	7.1
10	コーングリッツ	500 g	とうもろこし	米国	06/8/1	輸入	6.6	(1.5)	(0.7)

サンプル番号	品名	内容量	原材料	ロット(賞味期限)	分析値(ng/g)		
					FB1	FB2	FB3
1	コーングリッツ	500g	とうもろこし	2005.11.09	57.6	11.8	9.4
2	コーングリッツ(コーンミール粗挽)	500g	コーン	2006.05.01	86.3	19.1	10.8
3	コーングリッツ(コーンミール粗挽)	500g	コーン	2006.04.02	7.4	(1.1)	(0.8)
4	コーングリッツ(コーンミール粗挽)	500g	コーン	2006.03.02	7.9	(1.9)	(1.0)
5	コーングリッツ	500g	とうもろこし	2005.12.27	57.3	16.1	7.4
6	コーングリッツ(コーンミール粗挽)	500g	コーン	2006.07.02	3.2	(0.6)	< 0.6
7	コーングリッツ	1kg	とうもろこし	2006.02.11	63.0	11.8	7.3
8	コーングリッツ	200g	とうもろこし	2006.2	55.5	13.5	5.8
9	コーングリッツ(マフィン用)	1kg	とうもろこし	2006.07.15	36.6	9.9	6.2
10	コーングリッツ	500g	とうもろこし	2006.03.21	16.8	4.2	2.0

スイートコーン:フモニシン

サンプル 番号	内容量	原材料	原産国	ロット (賞味期限)	分析値(ng/g)		
					FB1	FB2	FB3
1	55g	スイートコーン	不明		N.D.	N.D.	N.D.
2	300g	有機スイートコーン	米国	06.09.29 T C	N.D.	N.D.	N.D.
3	300g	とうもろこし	米国	5A05E1 (06.07.0)	4.29	N.D.	N.D.
4	265g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
5	1本	スイートコーン	ニュージーランド		N.D.	N.D.	N.D.
6	145g	スイートコーン	北海道	HK20 (07.08.23)	N.D.	N.D.	N.D.
7	300g	有機とうもろこし	米国	KP 5179A (06.12)	4.31	N.D.	N.D.
8	220g	とうもろこし	北海道		N.D.	N.D.	N.D.
9	275g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
10	230g	とうもろこし	米国	07.01.15 J01	N.D.	N.D.	N.D.
11	270g	スイートコーン	カナダ		N.D.	N.D.	N.D.
12	1本	スイートコーン	中国	06.12.26	N.D.	N.D.	N.D.
13	275g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
14	220g	とうもろこし	米国	06.12.05 J01	4.64	N.D.	N.D.
15	300g	とうもろこし	米国	06.12.15 C	4.27	N.D.	N.D.
16	250g	とうもろこし	米国	5E02FIN (06.11.4)	4.26	N.D.	N.D.
17	300g	とうもろこし	米国	06.11.17 B	N.D.	N.D.	N.D.
18	250g	有機とうもろこし	米国	06.08.31 D	N.D.	N.D.	N.D.
19	400g	とうもろこし	米国	06.12.16 D	4.32	N.D.	N.D.
20	465g	スイートコーン	米国	07.10.03	N.D.	N.D.	N.D.
21	55g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
22	262g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
23	465g	スイートコーン	米国	07.10.06	N.D.	N.D.	N.D.
24	265g	スイートコーン	米国		N.D.	N.D.	N.D.
25	265g	スイートコーン	国産		(2.98)	N.D.	N.D.
26	300g	とうもろこし	米国	05.12.01	N.D.	N.D.	N.D.
27	250g	有機とうもろこし	米国	4M06D1N (06.04)	N.D.	N.D.	N.D.
28	250g	有機とうもろこし	米国	06.12.01 A	(2.99)	(1.66)	N.D.
29	500g	とうもろこし	米国		N.D.	N.D.	N.D.
30	500g	とうもろこし	ニュージーランド	B4154 (06.11.04)	N.D.	N.D.	N.D.
31	225g	ヤングコーン	タイ	YCW_M OFC 40	(2.97)	(1.66)	N.D.
32	276g	スイートコーン	中国	HK20 (07.08.23)	(2.97)	N.D.	N.D.

## 加工品:スイートコーン(缶詰・汁)

サンプル 番号	内容量	原材料	原産国	製造又は 加工地	自産／輸 ／不明	分析値(ng/g)		
						FB1	FB2	FB3
4	265g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
6	145g	スイートコーン	北海道		国産	N.D.	N.D.	N.D.
9	275g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
11	270g	スイートコーン	カナダ		不明	N.D.	N.D.	N.D.
13	275g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
20	465g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
21	55g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
22	262g	スイートコーン	米国		不明	N.D.	N.D.	N.D.
23	465g	スイートコーン	米国		輸入	N.D.	N.D.	N.D.
24	265g	スイートコーン	米国		輸入	N.D.	N.D.	N.D.
25	265g	スイートコーン	国産		国産	N.D.	N.D.	N.D.
31	225g	ヤングコーン	タイ		不明	N.D.	N.D.	N.D.
32	276g	スイートコーン	中国		不明	(1.01)	N.D.	N.D.

コーンスープ・フロミンシ

サンプル 番号	品名	販売店 (都道府県)	内容量	原材料	原材料の生産地	原産国	製造者	輸入者	ロット (賞味期限)	国産/輸入 /不明	分析値(ng/g)		
											FB1	FB2	FB3
1	コーンクレー 兵隊県	180g スイートコーン	製(株)アーデン			(株)アーデン			06.12.24	不明	N.D.	N.D.	N.D.
2	煮込みでど のスープ 兵隊県	160g スイートコーン	販)ハイナン日本(株)	北海道		ハイナン日本(株)			06.09.16 YJ 2U 1715 CS	国産	N.D.	N.D.	N.D.
3	キャンベルズ ポタージュ 兵隊県	303g スーパ スイートコーン	輸)キャンベルジャパン(株) 販)エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)			エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)		キャンベルジャパン(株)	06.12.21 GJ R7 1240 CS	輸入	N.D.	N.D.	N.D.
4	キャンベルズ クリームコー 兵隊県	306g コーンビュール	輸)キャンベルジャパン(株) 販)エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)			エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)		キャンベルジャパン(株)	06.12.21	輸入	N.D.	N.D.	N.D.
5	MCC コーン 兵隊県	290g どうもろこし	製)エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)			エム・シー・ビバレッジ・フーズ(株)				不明	4.32	N.D.	N.D.
6	帝國ホテルコ 兵隊県	160g どうもろこし	販)インペリアル・キッチン			インペリアル・キッチン			CMQ2 IK3 (08.06.28)	不明	N.D.	N.D.	N.D.
7	札幌クラフト 兵隊県	165g どうもろこし	販)三井観光商事(株)			三井観光商事(株)			08.05.25	不明	N.D.	N.D.	N.D.
8	ホテルオー 兵隊県	160g スイートコーン	販)三井観光商事(株)			三井観光商事(株)			08.05.16 E1/LQ	不明	N.D.	N.D.	N.D.
9	ホテルオー 兵隊県	160g スイートコーン	販)三井観光商事(株)			三井観光商事(株)			08.05.04 E1/PO	不明	N.D.	N.D.	N.D.
10	ホテルニュー 兵隊県	165g スイートコーン	販)三井観光商事(株)			三井観光商事(株)			08.4.29 JA78	不明	N.D.	N.D.	N.D.
11	ホテルニュー 兵隊県	165g スイートコーン	販)三井観光商事(株)			三井観光商事(株)			08.06.26	不明	N.D.	N.D.	N.D.

コーンスープ粉末：フモニシン

サンプル 番号	内容量	原材料	ロット (賞味期限)	国産／輸入 ／不明	分析値(ng/g)			確認の 有無
					FB1	FB2	FB3	
1	79.2g	スイートコーン	06.05.10	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
2	74.4g	スイートコーン	06.09.10	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
3	76.0g	スイートコーン	06.08.24	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
4	88.4g	スイートコーン	06.09.15	不明	(2.00)	N.D.	N.D.	LCMS
5	65.7g	スイートコーン	06.05.01	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
6	87.0g	スイートコーン	06.05.20	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
7	128.0g	スイートコーン		不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
8	64.0g	スイートコーン	06.12.06	不明	N.D.	N.D.	N.D.	LCMS
9	54.0g	スイートコーン	06.04	不明	5.85	N.D.	N.D.	LCMS



神奈川フモニシン.xls

フモニシン

サンプル番号	品名	販売店 (都道府県)	内容量	原材料	産地	原産国	輸入者	ロット (賞味期限)	国産/ 輸入/ 不明	分析値 (ng/g) B1	分析値 (ng/g) B2
1	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	千葉	日本			国産	Trace	Trace
2	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	群馬	日本			国産	ND	ND
3	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	群馬	日本			国産	Trace	ND
4	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	北海道	日本			国産	ND	ND
5	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	北海道	日本			国産	ND	ND
6	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	岩手	日本			国産	ND	ND
7	生とうもろこし	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	群馬	日本			国産	ND	ND
8	とうもろこし(レトルト)	オリンピック (神奈川県)	360g	とうもろこし	北海道	日本			国産	Trace	ND
9	生とうもろこし	兵庫	360g	とうもろこし	兵庫	日本			国産	ND	ND
10	生とうもろこし	兵庫	360g	とうもろこし	高知	日本			国産	Trace	Trace

# 分担研究報告書

実験動物を用いたニバレノールの毒性実験

広瀬 雅雄

厚生労働科学研究費補助金研究事業

(食品の安心・安全確保推進研究事業)

分担研究報告書(平成17年度)

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

実験動物を用いたニバレノールの毒性実験

分担研究者 広瀬雅雄 国立医薬品食品衛生研究所 病理部長

(協力研究者 渋谷 淳 国立医薬品食品衛生研究所 病理部室長)

研究要旨：本分担研究では、食品中カビ毒である nivalenol (NIV) の長期間経口投与によるラットに対する毒性を評価する目的で 90 日間の反復投与毒性試験を計画し、昨年度に用量設定試験を最高 100 ppm で実施したが、精巣に軽微な病変が見出されたのみであった。そこで、今年度、再度用量を変えて 14 日間用量設定試験を実施したところ、投与 1 週目に 150 ppm 以上で体重減少、2 週目では 150 ppm で体重増加抑制、300 ppm で体重減少と共に途中死亡例が 1 例認められた。この結果を踏まえ、最高用量を 100 ppm として、25 及び 6.25 ppm の混餌用量で雌雄のラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験を実施した。その結果、雄の 25 ppm 以上、雌の 100 ppm で体重増加が抑制され、雌雄の 100 ppm では摂餌量も減少した。臓器重量は、雄の 100 ppm で精巣重量(絶対・相対)が増加し、胸腺絶対重量が減少した。雌でも、100 ppm で胸腺重量(絶対・相対)が減少した。血液検査では、雄の 100 ppm、雌の 6.25 ppm 以上で白血球が減少し、血小板の減少が雌雄の 100 ppm、赤血球の減少が雄の 100 ppm、ヘモグロビンの減少が雌の 100 ppm で認められた。また、雄では 100 ppm で白血球分画中でのリンパ球比率の減少、好中球比率の増加を認めた。以上、NIV のラットへの長期経口投与により、弱い貧血とともに白血球を標的とした毒性が示された。来年度は、この試験において臓器重量の変動の認められた精巣をはじめとした全身諸臓器の病理組織学的検索を行うとともに、免疫細胞の臓器内分布に関する免疫組織化学的検索を実施し、無毒性量の検討を行う予定である。

#### A. 研究目的

近年、赤カビ病菌 *Fusarium* 属の産生する trichothecene 系マイコトキシン類の内、nivalenol (NIV) や deoxynivalenol が、小麦、大麦およびトウモロコシなどの穀類やそれらの加工品から検出されることが明らかにされ、他の trichothecene と共にヒトや家畜の健康を損なうことが懸念されている。これら trichothecene の毒性については、嘔吐作用(芳沢と諸岡, 1974)、血液凝固時間の延長(Cosgriff et al., 1986)と血球の形態変化(Sato et al., 1978)、蛋白質及びDNAの合成抑制(Ohtsubo et al., 1968, 1970; Ueno et al., 1973)、放射線障害類似作用(Saito et al., 1969; Ueno et al., 1971)、及び免疫抑制作用(芳沢, 1984)など、多数の報告がある。

しかし、NIV の毒性に関してはマウスの試験が多く、ラットに関するものは当研究所毒性部で実施された単回ないし 15 日間・30 日間反復投与に関する報告と、肝臓の薬物代謝の検討を行うために雄ラットに最高 12 ppm の混餌用量で 2 週ないし 4 週間投与した試験があるのみである(川崎ら, 1990; Yabe et al., 1993)。当研究所毒性部において行われた試験では、単回急性投与による LD<sub>50</sub> 値が雌雄とも 19.5 mg/kg b.w.であったものの、0.4 ないし 2.0 mg/kg b.w./day の割合で連日強制経口投与を行った場合では、明らかな毒性変化を検出していない。そこで本研究では、設定濃度をより高くしてラットに混餌投与を行い、毒性評価することを目的として、昨年度に 100 ppm を最高用量と

した用量設定試験Ⅰを実施した。しかし、精巢以外にNIVによる毒性を示唆する変化が確認されなかったため、本年度は、最高用量を300 ppmとして用量設定試験Ⅱを実施し、それによって得られた結果をもとに90日間反復投与毒性試験を実施した。

## B. 研究方法

NIVは当研究所衛生微生物部にて精製されたものを使用した。産生菌として *Fusarium kyushuense* (Fn-2B) を用い、角田平板寒天培地 (硝酸ナトリウム 2g, リン酸水素二カリウム 1g, 塩化カリウム 0.5g, 硫酸マグネシウム 0.5g, 酵母エキス 2.5g, ポリペプトン 5g, シュクロース 50g, 寒天 15g, 水道水 1L) に接種し 25°C, 7日間, 前培養した。次いで、本培養として、角田液体培地 (硝酸ナトリウム 2g, リン酸水素カリウム 1g, 塩化カリウム 0.5g, 硫酸マグネシウム 0.5g, 酵母エキス 2.5g, ポリペプトン 5g, シュクロース 50g, 水道水 1L) に、あらかじめ平板培養した Fn-2B を入れ、25°C, 5日間ジャーにより培養を行った。培養後、ガーゼで3回ろ過し菌体を取り除いた培養液に同量のアセトニトリルを加え、よく混和後、硫酸アンモニウムを加え、上層のアセトニトリル層を採取し、濃縮した。濃縮物にメタノールおよびクロロフォルムを加えて溶解後、ヘキサンで平衡化したフロリジルカラムに付加し、その溶出液を乾固し、それを再度、アセトニトリル/メタノール/水に溶解後、ODS 分取用カラムに付加した。次いで、フザレノン X 画分を集め、透析乾燥後 0.1N アンモニウム/メタノール溶液に溶解し、18時間反応させた後に濃縮・乾固し、温メタノールで完全に溶解し、4°Cで5時間放置することにより再結晶化させた。

動物は、用量設定試験Ⅱにおいては、5週齢の雄 F344 ラット (日本チャールズリバー) を用い、1週間の馴化期間の後、一群 8匹ずつとして計 3群に群分けし、それぞれの群について NIV を 0, 150, 300 ppm の割合で基礎飼料 (CRF-1: オリエンタル酵母) に混じり、14日間投与を行った。実験期間中の体重、摂餌量及び解剖後の臓器重量、血液学的検査の結果をもとに 90日間反復投与毒性

試験の投与量を決定した。90日間反復投与毒性試験においては、5週齢の雌雄 F344 ラットを用い、1週間の馴化期間の後、一群 10匹ずつとして計 4群にそれぞれ NIV を 0, 6.25, 25, 100 ppm の割合で基礎飼料に混じり、90日間投与を行った。投与期間中、一般状態を観察し、週に一度の割合で、体重と摂餌量を測定した。

動物は全て、投与終了時にエーテル麻酔下で採血を行い、脱血後に屠殺した。用量設定試験Ⅱでは、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巢、小腸を採取し、小腸以外の臓器については重量を測定した。90日間反復投与毒性試験ではそれらの臓器に加え、鼻腔を含む頭蓋、眼球及びその付属器、下垂体、唾液腺、舌、気管、甲状腺、上皮小体、大動脈、食道、胃、大腸、膵臓、膀胱、前立腺、精嚢腺、凝固腺、精巢上体、卵巣、卵管、子宮、膈、乳腺、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、胸骨、大腿骨、脊髄、坐骨神経、皮膚及び骨格筋を採取した。採取後、精巢を除く臓器は 10%緩衝ホルマリン液にて固定し、精巢はブアン液にて固定を行った。用量設定試験Ⅱ、90日間反復投与毒性試験共に、全例の血液について多項目自動血球計数装置 (K-4500 型、東亜医用電子株式会社) にて赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (Plt)、白血球数 (WBC) の測定を行ったほか、血液細胞自動分析装置 (MICROX HEG-120A 型、立石電機株式会社) にて桿状核好中球 (band-form neutrophils)、分葉核好中球 (segmented neutrophils)、好酸球 (eosinophiles)、好塩基球 (basophils)、リンパ球 (lymphocytes)、単球 (monocytes) の分類を行い、網状赤血球 (reticulocytes) の数も求めた。また、90日間反復投与毒性試験については、血清を分離後、凍結し、株式会社エスアールエルに依頼して、総蛋白 (TP)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、アルブミン (Alb)、総ビリルビン (TB)、直接ビリルビン (DB)、間接ビリルビン (IB)、グルコース (Glu)、トリグリセライド (TG)、総コレステロール (TC)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、ナトリウム (Na)、クロール (Cl)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、アスパラギン

酸トランスアミナーゼ (AST), アラニントランスアミナーゼ (ALT)を測定した。

統計学的解析は、体重、臓器重量については各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、不当分散の場合は Kruskal-Wallis の方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合、その多重比較は Dunnett の方法で無処置群と NIV 各群の間で有意差検定を行った。

(倫理面への配慮)

投与実験は混餌による経口投与が主体であり、動物の苦痛を最小限に留めた。また、動物はすべてエーテル深麻酔下で大動脈からの脱血により屠殺し、動物に与える苦痛は最小限に留めた。また、動物飼育、管理に当たっては、研究所の利用規程に従った。

### C. 研究結果

用量設定試験Ⅱの結果、投与1週目に150 ppm以上で体重が減少し、2週目では150 ppmで体重増加抑制、300 ppmで体重減少と共に途中死亡例が1例認められた。個体あたりの摂餌量は150 ppm以上で減少した (Table 1)。また、2週目に150 ppmでは軟便が、300 ppmでは下痢が観察された。血液学的検査においては、150 ppm以上でMCV, MCHが減少し、300 ppmでRBC, Hbが増加、Pltが減少した。また、150 ppmでのみWBCが減少した (Table 2)。臓器重量は、150 ppm以上で胸腺、肝臓の絶対重量が用量依存的に減少し、300 ppmで脾臓、腎臓、精巣の絶対重量、胸腺の相対重量の減少及び腎臓の相対重量の増加が認められた。また、150 ppmのみで肝臓、精巣の相対重量が増加した (Table 3)。

90日間反復投与毒性試験の実験期間中の体重は、雄の25 ppm以上で用量依存的に減少し、雌の100 ppmでも減少した。個体あたりの摂餌量は、100 ppmで雄の投与開始後4週目までと雌のほぼ全ての試験期間において減少した (Fig. 1, 2)。また、雌雄共に100 ppmにおいて軽度の軟便が観察された。各群の摂餌量、NIV摂取量はTable 4に示した。摂餌量は、個体当たりでは雌雄とも100 ppm群で若干減少したが、体重当たりに換算すると、雌では他の群と変わらなかったものの、雄で

は減少ではなくむしろ軽度の増加を示した。このことから、体重当たりのNIV摂取量は概ね投与濃度に相関していることが確認された。血液学的検査では、雄の25 ppm以上でMCVが用量依存的に増加し、100 ppmでMCHの増加及びWBC, RBC, Pltの減少が認められた。また、白血球分画では、100 ppmでリンパ球比率が減少し、好中球比率が増加した (Table 5)。雌では、6.25 ppm以上でWBCが用量依存的に減少し、100 ppmでHb, Pltが減少した (Table 6)。血清生化学的検査では、雄の25 ppm以上でTG, TC, Cre, ALTが減少し、100 ppmでA/G, Alb, Clが増加、TP, Glu, K, ASTが減少した (Table 7)。雌では、25 ppm以上でA/Gの増加、TP, TC, Cre, ASTの減少が認められた (Table 8)。臓器重量は、雄の25 ppm以上で、脳、肺、心臓、腎臓、精巣の相対重量が用量依存的に増加し、肝臓の絶対重量が用量依存的に減少した。また、100 ppmで、精巣の絶対重量及び脾臓、肺の相対重量が増加し、脳、胸腺、心臓、脾臓、腎臓の絶対重量が減少した (Table 9)。雌では、25 ppm以上で肺、心臓、脾臓、腎臓の相対重量が用量依存的に増加し、100 ppmで脳、肝臓の相対重量の増加、脳、胸腺、肝臓、腎臓の絶対重量及び胸腺の相対重量の減少が認められた (Table 10)。

### D. 考察

昨年度、90日間反復投与毒性試験の用量設定試験として100 ppmを最高用量としたラット14日間混餌投与を行ったが、精巣以外にNIVによる毒性を示唆する変化は認められなかった。そこで今年度、最高用量を300 ppmとして再度14日間混餌投与を行ったところ、300 ppmでは投与1週目から体重が減少し、2週目には途中死亡例が1例認められた。150 ppmにおいても投与1週目に体重が減少した後に、2週目に強い体重増加抑制が認められた。また、投与2週目には、150 ppmで軟便が、300 ppmで下痢が観察され、消化管に毒性影響が生じている可能性も考えられた。その結果を踏まえ、本試験は100 ppmを最高用量として実施することとした。

90日間反復投与の本試験では、100 ppmで雌雄共に投与1週間目から、雄の25 ppmで投与6週目から体重増加の抑制が見られた。NIV反復経口

投与による体重増加の抑制については、雌雄の C57BL/6CrSlc マウスに最高 30 ppm の混餌用量で 4 週ないし 12 週間投与した試験、雌の C57BL/6CrSlc マウスに最高 30 ppm の混餌用量で 6 か月、1 年間ないし 2 年間投与した試験のいずれにおいても今回の本試験と同様に用量依存的な体重増加率の減少が観察されている (Yamamura et al., 1989; Ryu et al., 1988; Ohtsubo et al., 1989)。一方、ラットを用いた 15 日ないし 30 日間の 0.4 ないし 2.0 mg/kg NIV 反復投与試験では、投与群と対照群と間に体重の差はほとんど認められず、雄ラットに最高 12 ppm の混餌用量で 2 週ないし 4 週間投与した試験においても体重に対する影響は観察されなかった (川崎ら, 1990; Yabe et al., 1993)。今回の本試験での摂餌量から NIV 摂取量を計算すると、100 ppm 群の雄が 6.9 mg/kg/日、雌が 6.4 mg/kg/日であり、既報の 2.0 mg/kg NIV 反復投与試験より 3 倍以上高い投与濃度であったことから、体重増加抑制は投与用量の違いに起因していた。その原因としては、摂餌量の減少、消化管への毒性影響による栄養吸収障害が考えられる。実際、本試験において、雌の 100 ppm では試験期間の殆んどで摂餌量の減少が認められたが、雄の同用量では減少は投与初期に限定していた。更に、雄の 25 ppm 群では明らかな摂餌量の減少を認めておらず、体重増加抑制の原因が単純に摂餌量の減少に起因しているとは考えられなかった。他方、雌雄の 100 ppm 群で軽度の軟便を示し、予備試験 I においても 150 ppm で軟便、300 ppm で下痢が認められたことから、栄養の吸収障害が生じた可能性が指摘される。それを指示する所見として、マウス及びラットを用いた単回投与急性毒性試験において、小腸及び盲腸の充血性病変が認められている (辰野, 1969; 芳沢, 1984, Ryu et al., 1988, 川崎ら, 1990)。今後、病理組織学的検査により消化管障害を示唆する所見の有無を検討する。また、昨年度実施した用量設定試験 I では 100 ppm で体重の変化は認められなかったが、原因は NIV のロットの違いによるものであるのかもしれない。

今回の本試験で、NIV100 ppm 投与により、雄の胸腺、脾臓の絶対重量、雌の胸腺の絶対・相対重量が減少を示したが、マウスを用いて 30 ppm

の混餌用量で 12 週間、6 か月ないし 1 年間投与した試験においても同様に、胸腺、脾臓の絶対重量の減少が報告されている (Yamamura et al., 1989; Ryu et al., 1988)。NIV は免疫抑制作用を有するとの報告もなされており (芳沢, 1984)、今回の胸腺及び脾臓等の重量変化に関与していると考えられた。また、血液学的検査では、雌雄共に、用量依存的に WBC の減少が認められたが、同様の所見は、マウスを用いた 6 ヶ月、1 年および 2 年の混餌投与試験やラットを用いた 15 日間反復経口投与試験においても観察されている (Ryu et al., 1988; Ohtsubo et al., 1989; 川崎ら, 1990)。更に、雄では、100 ppm で白血球分画のリンパ球比率が減少し、好中球比率が増加した。血清生化学的に 100 ppm の雌雄で A/G の明らかな増加を認めたにも関わらず、この用量では雄で若干の Alb の増加が認められたのみであったことから、雌雄ともにグロブリンが減少を示しているものと考えられた。この結果は、白血球分画のリンパ球率の減少とともに、B 細胞系の異常や T リンパ球の異常といった免疫器官への毒性影響の可能性を示唆している。また、本試験では 100 ppm において雌雄ともに Plt が減少し、雄では RBC、雌では Hb が減少を示した。trichothecene 系の mycotoxin を連続的あるいは長期間にわたり動物に投与することにより、骨髄の造血組織の破壊に由来する Plt, RBC 及びリンパ球の減少が過去に報告されている (上野, 1973; 芳沢, 1984)。過去のラット及びマウスを用いた反復投与試験においては、NIV 投与による明らかな臓器病変は認められていないが、今後、胸腺、脾臓、リンパ節、骨髄等の免疫・造血組織について免疫組織化学的検索を含めた病理組織学的解析を行い、詳細な検討を行う。

その他の所見としては、雄の 100 ppm で精巣の絶対・相対重量の増加が認められたが、NIV 投与により精巣重量が増加するとの報告は過去にない。しかし、昨年度に実施した予備試験 I において、25 ないし 100 ppm の NIV を 14 日間混餌投与した際に、25 ppm 以上で精細管内のセルトリ細胞の空胞変性、精上皮の脱落といった病変が観察されている。今後、病理組織学的検査により精巣を標的とした病変の有無を検討する。

血清生化学的検査では、A/G, Alb を含め複数

のパラメーターが変動したが、TP, TG, TC, Cre, AST, ALT の減少は毒性学的意義が乏しいため、NIV 投与による毒性を示唆するものではないと考えられた。

NIV の反復経口投与によるその他の器官への毒性影響として、マウスに 12 ppm の NIV を 8 週間混餌投与することにより、血清 IgA の上昇とメサンギウムへの IgA 沈着といった IgA 腎症様の変化が起こることが報告されている (日ノ下, 2003)。今回実施した試験においては、雌雄とも血清中グロブリンの減少が示す所見が見られ、体液性免疫に対する影響が示唆されたものの、腎機能の指標である BUN, Cre に毒性を示唆する変動がなかったため、同様の病変を示している可能性は低いと考えられるが、病理組織学的検査の結果を待つて最終的に判断する。

#### E. 結論

2 度の用量設定試験の結果をもとに、ラットを用いた NIV の 90 日混餌投与試験を 100 ppm を最高用量として実施した結果、体重増加抑制、免疫器官の重量減少が認められ、血液学的検査から、弱い貧血を伴った白血球を標的とした毒性が示された。今後、病理組織学的検査を行い、無毒性量の検討を実施する予定である。

#### 参考文献

Cosgriff TM, Bunner DL, Wannemacher RW Jr, Hodgson LA, Dinterman RE.: *Toxicol Appl Pharmacol.* 82: 532-539 (1986)

日ノ下文彦 : *Mycotoxins.* 53: 123-127 (2003)

川崎 靖, 内田雄幸, 関田清司, 松本清司, 落合敏秋, 白井章夫, 中路幸男, 降矢 強, 黒川雄二, 戸部満寿夫 : *食衛誌.* 31: 144-154 (1990)

Ohtsubo K, Yamada M, Saitou M.: *Japan J Med Sci Biol.* 21: 185-194 (1968)

Ohtsubo K, Ryu JC, Nakamura K, Izumiyama N, Tanaka T, Yamamura H, Kobayashi T, Ueno Y.: *Food Chem Toxicol.* 27: 591-598 (1989)

Ohtsubo K, Saitou M.: *Japan J Med Sci Biol.* 23: 217-225 (1970)

Ryu JC, Ohtsubo K, Izumiyama N, Nakamura K, Tanaka T, Yamamura H, Ueno Y.: *Fundam Appl Toxicol.* 11: 38-47 (1988)

Saitou M, Enomoto M, Tatsuno T: *Gann* 60: 599-603 (1969)

Sato M, Ito T, Kumada H, Ueno Y, Asano K, Saito M, Ohtsubo K, Ueno I, Hatanaka Y.: *J Toxicol Sci.* 3, 335-356 (1978)

辰野高司 : *生化学.* 41: 153-171 (1969)

上野芳夫 : *食衛誌.* 14: 403-414 (1973)

Ueno Y, Nakajima M, Sakai K, Ishii K, Sato N, Shimada N.: *J Biochem.* 74: 285-296 (1973)

Ueno Y, Ueno I, Iitoi Y, Tsunoda H, Enomoto M, Ohtsubo K.: *Japan J Exp Med.* 41: 521-539 (1971)

Yabe T, Hashimoto H, Sekijima M, Degawa M, Hashimoto Y, Tashiro F, Ueno Y.: *Food Chem Toxicol.* 31: 573-581 (1993)

Yamamura H, Kobayashi T, Ryu JC, Ueno Y, Nakamura K, Izumiyama N, Ohtsubo K.: *Food Chem Toxicol.* 27: 585-590 (1989)

芳沢宅美, 諸岡信一 : *食衛誌.* 15, 261-269 (1974)

芳沢宅美 : *防菌防黴.* 12: 241-250 (1984)

#### F. 健康危険情報

なし

#### G.

研究業績

論文『英文』

なし

学会発表

なし

#### Ⅱ. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



**Table 1. Body weight and food intake of male F344 rats fed diets containing nivalenol for 14 days.**

	Nivalenol in diet (ppm)		
	0	150	300
No. of animals examined	8	8	8
Body weight (g)			
Week 0	114.3 ± 5.8 <sup>a</sup>	114.0 ± 5.4	114.1 ± 5.0
Week 1	138.5 ± 5.6	106.9 ± 4.7**	87.6 ± 4.9**
Week 2 <sup>b</sup>	184.0 ± 7.8	128.5 ± 6.1**	86.9 ± 10.9**
Food intake (g)			
Week 0-1	11.6 ± 1.5	4.6 ± 0.2*	2.3 ± 0.1*
Week 1-2	16.5 ± 1.1	10.3 ± 0.6*	6.0 ± 0.8**

<sup>a</sup>Mean±SD.

<sup>b</sup>One animal died during week 2 at the 300 ppm-dose group.

\*, \*\*: Significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

**Table 2. Hematological data of male F344 rats fed diets containing nivalenol for 14 days.**

	Nivalenol in diet (ppm)		
	0	150	300
No. of animals examined	8	8	7
Hematological data			
WBC ( $\times 10^2$ /ml)	43.5 $\pm$ 9.0 <sup>a</sup>	25.1 $\pm$ 6.2*	55.0 $\pm$ 17.2
RBC ( $\times 10^4$ /ml)	737.4 $\pm$ 38.6	747.4 $\pm$ 30.1	826.9 $\pm$ 48.8*
Hb (g/dl)	14.1 $\pm$ 0.7	14.0 $\pm$ 0.6	15.5 $\pm$ 1.2**
HCT (%)	43.1 $\pm$ 2.4	42.7 $\pm$ 1.8	46.8 $\pm$ 2.8*
MCV (fl)	58.5 $\pm$ 0.5	57.2 $\pm$ 0.7**	56.6 $\pm$ 0.3**
MCH (pg)	19.1 $\pm$ 0.1	18.7 $\pm$ 0.2*	18.7 $\pm$ 0.5*
MCHC (g/dl)	32.7 $\pm$ 0.3	32.8 $\pm$ 0.3	33.1 $\pm$ 0.9
Plt ( $\times 10^4$ /ml)	82.3 $\pm$ 33.1	68.3 $\pm$ 7.3	42.3 $\pm$ 17.9*

<sup>a</sup>Mean $\pm$ SD.\*, \*\*: Significantly different from the controls at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

**Table 3. Organ weight of male F344 rats fed diets containing nivalenol for 14 days.**

	Nivalenol in diet (ppm)		
	0	150	300
No. of animals examined	8	8	7
Absolute organ weight			
Body weight (g)	181.1 ± 7.4 <sup>a</sup>	126.8 ± 5.5**	84.8 ± 9.8**
Thymus (g)	0.347 ± 0.037	0.230 ± 0.015**	0.043 ± 0.024**
Spleen (g)	0.518 ± 0.034	0.362 ± 0.018	0.217 ± 0.067**
Liver (g)	7.04 ± 0.42	5.47 ± 0.33**	3.38 ± 0.59**
Kidneys (g)	1.40 ± 0.11	1.11 ± 0.06	0.88 ± 0.03**
Testes (g)	2.26 ± 0.19	1.93 ± 0.30	1.03 ± 0.38**
Relative organ weight			
Thymus (g/100g BW)	0.192 ± 0.020	0.182 ± 0.011	0.049 ± 0.025**
Spleen (g/100g BW)	0.286 ± 0.010	0.285 ± 0.011	0.250 ± 0.058
Liver (g/100g BW)	3.88 ± 0.12	4.31 ± 0.16**	3.96 ± 0.33
Kidneys (g/100g BW)	0.773 ± 0.036	0.873 ± 0.018	1.053 ± 0.109**
Testes (g/100g BW)	1.25 ± 0.08	1.52 ± 0.20*	1.20 ± 0.35

<sup>a</sup>Mean±SD.

Abbreviation: BW, Body weight.

\*\*: Significantly different from the controls at  $P < 0.01$ .

**Table 4. Food consumption and intake of nivalenol of F344 rats fed diets containing nivalenol for 90 days.**

Sex	Nivalenol in diet (ppm)	No. of rats examined	Food consumption (g/rat/day)	Mean daily intake of nivalenol (mg/kg BW/day) <sup>a</sup>	Total intake of nivalenol (g/kg BW) <sup>b</sup>
Males	0	10	14.7 (60.5) <sup>c</sup>	0	0
	6.25	10	14.7 (60.1)	0.4	33.8
	25	10	14.2 (61.5)	1.5	138.4
	100	10	13.6 (68.6)	6.9	617.4
Females	0	10	10.1 (65.6)	0	0
	6.25	10	10.0 (66.0)	0.4	37.1
	25	10	9.6 (64.2)	1.6	144.4
	100	10	8.2 (63.6)	6.4	572.4

<sup>a</sup>Values were calculated by multiplying the food consumption (g/kg BW/day) by the dietary level of nivalenol (mg/g diet).

<sup>b</sup>Values were the sum of nivalenol administered during the experimental period and were calculated by multiplying the mean daily intake of nivalenol (g/kg BW/day) by 90 (days).

<sup>c</sup>Values in parentheses are for food consumption calculated as g/kg BW/day.

Abbreviation: BW, Body weight.