

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小西 良子

国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

平成19（2007）年3月

目次

総括研究報告書

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究・・・・・・・・・・	1
主任研究者 小西良子	

分担研究報告書

フモニシンの毒性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	17
分担研究者 小西良子	

食品のカビ毒汚染実態に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・	69
分担研究者 熊谷 進	

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究・・・・・・・・・・	117
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	

モンテカルロ法による日本人のアフラトキシン B1 曝露量の推定・・	135
分担協力者 佐藤 敏彦	

総括研究報告書

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

小西 良子

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保推進研究事業)
平成18年度総括研究報告書

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

主任研究者 小西良子 国立医薬品食品衛生研究所

衛生微生物部 第4室室長

研究要旨：食品を汚染する有害化学物質は多く存在するが、カビ毒は気象条件に左右される汚染物質であるため、防御が困難な物質の代表的なものである。カビ毒は、圃場や貯蔵段階で、農産物に汚染したカビによって産生され蓄積される。カビ毒が含まれている食品を食することにより、癌や腎臓疾患、胃腸障害、免疫疾患など様々な健康被害が引き起こされる。しかし、加熱や製造工程でその減衰が難しい化合物であるため、含まれる量を規制することがヒトや動物への暴露量を最小限にするための最も有効な対応策といえる。カビ毒産生菌は世界中に分布しているため、この防御や規制に対しては国際的な取り組みがなされている。すでにいくつかのカビ毒に関してコーデックスなどで国際的に基準値が設定されているが、我が国で基準値が設定されているのはパツリンのみである。本研究では我が国でまだ基準値が設定されていないにもかかわらず国際的に対応が急がれているカビ毒を対象に、基準値設定の根拠となる科学的基礎データを得ることを目的としている。本年度の成果は以下の通りである。

①我が国に流通している食品中のトータルアフラトキシン、オクラトキシンA、フモニシンについてそれぞれ397検体、335検体、192検体を対象に汚染実態調査を行った。その結果アフラトキシンは、市販の、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、豆がし、ゴマ油、そばめん、せんべい、米、豆菓子については定量下限未満であったが、香辛料、ココア、チョコレート、ホワイトチョコレート、ハトムギ、アーモンド、ピスタチオナッツ、ピーナッツ、そば粉、コーングリッツ、ピーナッツバターの一部より定量下限以上の濃度のAFB1が検出された。オクラトキシンAは、コーンフレーク等のとうもろこし製品、せんべい、かつお節からは検出されなかったが、パスタ、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麺、ライ麦粉、小麦粉、オートミールの一部から、また、ココアの全て、チョコレートとインスタントコーヒーの大部分から最高4.25ng/gの汚染が認められた。フモニシンは、コーンスターチ、スイートコーン、コーンスープ、米からは検出されなかったが、コーンスナック、コーングリッツ、ポップコーン、コーンフレーク、大豆、ビールの多くより、数十 μ g/kg以下、一試料から453 μ g/kgのフモニシンB1が検出された。

②フモニシンの毒性評価に関する文献調査をおこなった。フモニシンは発ガン性および肝、腎毒性があり、トウモロコシがその主汚染源である。アメリカでは、2001年にガイドラインが決められたが、2000年にヨーロッパ連合において、2001年にJECFAにおいてその暫定一日耐容摂取量が設定されたことから、ヨーロッパ連合においても基準値の設定がされているところである。

③わが国の国産小麦で汚染が問題になっているニバレノール(NIV)の慢性毒性試験では昨年行なった雌雄のラットを用いた90日間反復投与毒性試験の検体を詳細に検討した。その結果、血液学的検査では、雄の100ppmおよび雌の

(NOAEL)は、6.25 ppm (0.4 mg/kg/day)未満であると考えられた。④3年間通年で実態調査をした結果を踏まえて、モンテカルロ・シミュレーション法による日本人のアフラトキシン曝露量の推定を行った。アフラトキシン B1 に対して 10 μg/kg で規制をしている現状においては、年齢構成比で重み付けした日本人全体のアフラトキシン B1 の曝露量は、もっとも安全側をとったシナリオである「B1 10 μg/kg 規制」の場合で 99.9 パーセンタイル値において 2.06ng/kg/day であり、もっとも少なめに見積もられる「B1 4 μg/kg、トータル 8 μg/kg 規制値」で 99.9 パーセンタイル値においては 1.88ng/kg/day であった。アフラトキシン摂取量が 1ng/kg/day/を超える人口の割合はいずれのシナリオにおいても 0.2%程度となった。

分担研究者

熊谷 進 東京大学大学院 農学生命科学研究科
広瀬 雅雄 国立医薬品食品衛生研究所 病理部長
佐藤 敏彦 北里大学医学部

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
高橋 美和 国立医薬品食品衛生研究所 病理部研究員
斉藤 史朗 東京大学大学院

A. 研究目的

カビ毒による健康被害とは、主に低用量を慢性的に摂取することによる発ガンや免疫毒性、腎毒性などが挙げられる。さらにフモニシンにおいては、新生児の形成不全や神経管閉鎖障害との関連性を疑う症例も報告されている。農産物のカビ毒汚染は自然気象の変化と密接に関係しているため、その防御は容易ではない。世界中のそれぞれの気候に順化したカビ毒産生菌が存在し、農産物を汚染する。そのため圃場や生産過程でのカビ毒汚染を減らすための行動規範だけでは、汚染ゼロにすることは不可能であるといわれている。

わが国は輸入食品への依存性が高いことでも知られている。その背景から、汚染カビ毒についての正しい毒性を知り、汚染実態および暴露実態を常に把握することはわが国において食品衛生上欠かすこのできない対策である。また国際的な動向を常に把握しそれに対し適切な対応する

ことが必要である。現在までにコーデックスなどで国際的に基準値が既に設定されているまたは推奨されているカビ毒は、トータルアフラトキシン(TAF:AFB1, AFB2, AFG1, AFG2)、アフラトキシン M1, パツリン、オクラトキシン A, トータルフモニシン(B1, B2, B3)、ゼアラレノンなど数多く存在するが、わが国ではパツリンにしか基準値が設定されていない。本研究では我が国でまだ基準値が設定されていないにもかかわらず国際的に基準値が設定されつつあるカビ毒を対象に、基準値設定の根拠となる科学的基礎データを得ることを目的としている。そこで昨年に続いて①主要カビ毒の汚染実態調査 ②主要カビ毒の毒性評価 ③ニバレノールの毒性実験 ④3年間通年の実態調査結果を基にアフラトキシンの確率論的手法を用いた暴露評価を行った。

①の実態調査は、昨年と同じく、トータルアフラトキシン(TAF:AFB1, AFB2, AFG1, AFG2)、オクラトキシン A, およびトータルフモニシン(B1, B2,

B3)の3つのカビ毒を対象に行った。②毒性評価は、フモニシンを対象に、毒性学的な観点から諸外国の基準値を含めて検討した。③国産小麦で汚染が問題になっているにも関わらず、毒性学的な知見がないため国際的に評価されていないニバレノールの90日間反復毒性試験を行い、no-observed-adverse-effect level (NOAEL)を推定した。④では、過去3年間に得られたアフラトキシシン汚染実態の結果を基にモンテカルロ法により我が国におけるアフラトキシシンの暴露評価をいくつかの想定基準値に対してシナリオを作成し、推定を行った。

B. 研究方法

1) 実態調査

(1) 試料

小麦粉は農林水産省から提供されたものを、その他の食品は全国各地のスーパーマーケット等で購入したものを、それぞれ分析試料とした。

(2) 分析方法

アフラトキシシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉砕器で粉砕し混合してから、塩化ナトリウムとメタノール-水(8+2)を加え、振とう抽出した。イムノアフィニティーカラム(アフラテストP(VICAM社))でクリーンアップを行ない、溶出液をトリフルオロ酢酸で処理してから、または処理せずに、HPLC(ODSカラム:4.6mm i. d.×250mm、5μm、移動相:アセトニトリル-メタノール-水(1+3+6)、流速:1ml、蛍光検出器:励起波長360nm、蛍光波長450nm)により分析した。

なお、ごま油、ピーナッツ、ピーナッツバターについては、クロロホルムで抽出し、フロリジルカラム(クロロホルム・メタノール(9:1)で洗浄、アセトン・水(99:1)で溶出)でクリーンアップを

行ない、溶出液をトリフルオロ酢酸で処理しHPLCで分析するとともに、処理せずにシリカゲルHPTLC(クロロホルム・アセトン(9:1)、エーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5))で分析した。

オクラトキシシンAの分析

固体試料はミキサーあるいは遠心粉砕器等で粉砕し、小麦粉・ライ麦粉についてはアセトニトリル-水(6+4)で、コーン製品・米・オートミール・コーンフレーク・そば粉については塩化ナトリウムを加え、メタノール-水(8+2)で、レーズン・生コーヒー豆についてはメタノール-1%炭酸水素ナトリウム水溶液(7+3)でそれぞれ振とう抽出した。ワイン、ビールについては1%ポリエチレングリコール8000-5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。イムノアフィニティーカラム(オクラテスト(VICAM社))でクリーンアップを行ない、メタノール-酢酸(99+1)で溶出し、HPLC(ODSカラム:4.6mm i. d.×250mm、5μm、移動相:アセトニトリル-水-酢酸(55+43+2)、流速:1ml/min、蛍光検出器:励起波長333nm、蛍光波長460nm)により分析した。

フモニシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉砕器で粉砕し混合してから、塩化ナトリウムとメタノール-水(3+1)を加え、振とう抽出した。イオン交換カートリッジカラム(Bond Elut LRC(VARIAN))を用いクリーンアップを行なった。メタノール-酢酸(99+1)溶出液をLC/MS(カラム:ZORBAX Eclipse XDB-C18)により分析した。

2) フモニシン(FBs)の毒性評価

(1)FBsの毒性評価-2003年の報告

FBsの毒性に関しては2001年に開かれたJECFA

で毒性評価され、その内容は Monograph に記載してあるが、2003 年にそれを踏まえて食品科学委員会 (SCF) で検討された。本報告では 2002 年の JECFA の報告および 2003 年に出された SCF の要約を行った。

(2) FBs の毒性評価-2006 年の発表論文の情報収集

2005-2006 年の 1 年間に発表された毒性 [21 編] を収集し、その要旨をまとめた。

3) ニバレノールの毒性試験

昨年度行なったニバレノールの 90 日間反復投与毒性試験において得られた検体を詳細に検討した。

90 日間反復投与毒性試験は、以下のように行なった。

昨年度までに用量設定試験として、5 週齢の雄 F344 ラット (日本チャールズリバー) を一群 8 匹ずつとして計 3 群に群分けし、NIV を 0, 150, 300 ppm の用量で 14 日間混餌投与した。その結果、1 週目から 150 および 300 ppm 投与群において体重減少が認められ、2 週目に 300 ppm 投与群の 1 例が死亡したため、90 日間反復投与毒性試験では 100 ppm を最高用量として設定した。

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、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。全例の血液について多項目自動血球計数装置にて赤血球数 (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

測定を行った他、血液細胞自動分析装置にて桿状核好中球 (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、血清生化学検査として、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。

解剖時には脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣、下垂体、鼻腔、眼球、ハーダ腺、脊髄/脊椎 (頸部、胸部、腰部)、唾液腺、胃、小腸および大腸、膵臓、膀胱、皮膚、乳腺、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、気管、食道、甲状腺、舌、胸骨、大腿骨、大腿筋、坐骨神経、精巣上体、精囊、前立腺、子宮、卵巣、膣を摘出し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣については重量を測定した。精巣を除く臓器は 10% 緩衝ホルマリン液にて固定し、精巣はブアン液にて固定を行った。鼻腔、脊髄、胸骨、大腿骨等脱灰が必要な組織については、10% ギ酸および 10% ホルマリン混合液で脱灰処理を行った。まず雌雄の 0 および 100 ppm 群の全臓器について病理組織学的検索を実施し、100 ppm 群において投与に関連した病変が認められた臓器に関しては、6.25 および 25 ppm 群についても検索を行った。臓器は定法に従ってパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリンエオジン染色を施した。

統計学的解析は、体重、血液および血清生化学検査値、臓器重量について各群の分散を 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。摂餌量については各群の例数が少ないため (3 ケージ/群)、分散分析の後、Student あるいは Welch の t 検定を実施した。病変の発生率は Fisher 直接確率検定、病変のグレードについては Mann-Whitney U 検定によって比較を行った。倫理面への配慮では

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、研究所の動物実験に関する指針に従った。

4) アフラトキシン B1 の暴露評価

(1) 対象食品

今回検討した食品は、アフラトキシンが含有されると考えられる以下の 11 品目とした。

- ・ ピーナッツ (乾ピーナッツ、炒りピーナッツ)
- ・ ピーナッツバター
- ・ チョコレート (ミルクチョコレート、ピュアチョコレート)
- ・ ココア (ミルクココア、ピュアココア)
- ・ ピスタチオ
- ・ 白こしょう
- ・ レッドペッパー
- ・ アーモンド (乾アーモンド、
アーモンドフライ)
- ・ はとむぎ
- ・ そば粉 (全層粉)

- ・ そば麺 (生そば、ゆでそば、干そば、
ゆで干そば)

(2) 含有量のシミュレーションデータ

(3) 使用データ

今回のシミュレーションで使用した食品の含有量 (汚染量) 調査のサンプルは、ピーナッツ 150 サンプル、ピーナッツバター 62 サンプル、チョコレート類 42 サンプル、ピスタチオ 159 サンプル、白こしょう 5 サンプル、とうがらし 6 サンプル、アーモンド 15 サンプル、はとむぎ 17 サンプル、そば類 28 サンプルであった。検出下限は 0.1 ng/g とした。

(4) 各食品のシミュレーション方法

各食品において、対象総サンプル数および検出されたサンプル数割合が異なるために、それぞれに応じたシミュレーション方法を用いた。すなわち、サンプル総数が少ないもの (白こしょう、とうがらし、アーモンド、はとむぎ、そば類) については、対数正規分布を推定することができないので、サンプルに見られた検出値を、同じ割合で発生すると仮定した。

次に、総サンプル数は多いものの、検出されたサンプルの割合が少ないピーナッツについてはそもそも分布を想定することができないので、ランダムに 150 分の 1 の確率で観測された汚染量を発現させた。ピスタチオについても、そのままでは分布を推定することができないのだが、検出下限を上回る 6 つのサンプルについて、著しく高い汚染量が観察されたものが複数存在しており、そのほとんどが、規制シナリオで用いる規制値を大きく超えているので、規制値のシミュレーションをする際には、このままの値が均等な確率で発生するという仮定をしてしまうと、流通しているピスタチオの汚染量 (アフラトキシン B1 の含有量)

について過小評価をしてしまうことになるので、この6つのサンプルの平均と分散で対数正規分布を推定した。

ピーナツバターとチョコレート類（カカオ含有食品）についてはサンプル総数も検出下限を超えたサンプル数も十分にあったため、対数正規分布を仮定し、シミュレーション用のデータセットを作成した。チョコレート類については、それに含まれているカカオがアフラトキシン B1 に汚染されているため、チョコレートやココアに含まれているカカオの単位量あたりでシミュレーションを行うことにした。

(5) 含有量検出下限以下の取り扱い

検出下限以下のサンプルの取り扱いについては、検出下限以下のものについては、検出下限値である 0.1 ng/g を全てあてる（仮定 A）と、検出下限値の 0.1 と 0 の間の一様分布をすると想定する（仮定 B）の 2 つのシナリオを適用した。

(6) 食品摂取量に関するシミュレーションデータ

食品摂取量に関するデータは平成 17 年度の「食品摂取頻度・摂取割合調査」の個票を用いた。これは、各人が原則的に連続 3 日間行った食物摂取についてのデータであるが、サンプル数を確保するために、同一人の異なる日のレコードはそれぞれ別の摂取サンプルとして取り扱った。全体で 17,827 のサンプルが得られた。

食品摂取については、年齢層による摂取パターンに差違が認められるので、以下の 4 つの年齢階層によりその摂取量を推定した。

- ・ 1 歳から 6 歳
- ・ 7 歳から 14 歳
- ・ 15 歳から 19 歳
- ・ 20 歳以上

しかし、食品によっては、そもそも摂取したことのある人が少ないもの、あるいはある年齢層に

おいては摂取したことのある人が少ないものがあり、それぞれの場合につき、複数の年齢層を合わせて分布を推定する、あるいは他の年齢層の分布を流用する、もしくはサンプルを単純に 3 倍に増やして推定するなどの方法を用いた。それぞれについて以下で詳しく説明するが、比較的摂取したことのある人が多かったチョコレート類とそれ以外に分けて述べることにする。

カカオからのアフラトキシンの摂取量は、チョコレート類の摂取量から求めた。この推定の元データとなったのは、「カバーリングチョコ」「ミルクチョコ」「ピュアココア」「ミルクココア」の 4 品目である。全サンプル 17827 を適切な組み合わせによりグループに分けて推定を行なった。すなわち、1 歳から 6 歳までは、「ドリンクチョコ」と「固形チョコ」、7 歳から 19 歳までは「ドリンクチョコ」と「カバーリングチョコ」「ミルクチョコ」、20 歳以上では、「カバーリングチョコ」「ミルクチョコ」「ピュアココア」「ミルクココア」のそれぞれの食品についての分布を推定し、それをもとに、カカオの摂取量合計を推定することとした。

(7) カカオ含有量の仮定

4 つの食品のカカオ含有量はそれぞれ

- ・ カバーリングチョコレート：35%
- ・ ミルクチョコレート：30%
- ・ ピュアココア：100%
- ・ ミルクココア：30%

とした。

チョコレート類以外の摂取

それぞれの食品の年齢層ごとの摂取者の割合は、摂取した者のサンプル数が少ない以下のもの

- ・ 1 歳から 6 歳のアーモンド
- ・ 15 歳から 19 歳のピーナツバター
- ・ 15 歳から 19 歳のピーナツ

- ・1歳から19歳のとうがらし
- ・1歳から19歳のピスタチオ

についてはそれぞれ適切な割合を用いた。

4. 規制値のシナリオ

今回のシミュレーションで用いた含有量に関するデータはアフラトキシン B1 の他に B1 以外も含めた総アフラトキシンのデータもあり、食品によっては B1 以外の値が高いものがあった。従って、今回は、含有量による流通規制について、アフラトキシン B1 と総アフラトキシンとの二つの基準を組み合わせた規制シナリオを想定した。すなわち、

シナリオ a : 現状 (アフラトキシン B1 のみ 10 µg/kg)

シナリオ b : アフラトキシン B1 > 4µg/kg or
総アフラトキシン > 8µg/kg

シナリオ c : アフラトキシン B1 > 10µg/kg or
総アフラトキシン > 15µg/kg

シナリオ d : アフラトキシン B1 > 10µg/kg or
総アフラトキシン > 20µg/kg

従って、含有量のシミュレーションでは、アフラトキシン B1 と総アフラトキシンの両方についての分布を発生させ、それらがシナリオの基準値のどちらかを超えた場合にはそれらを除外することとした。

(8) 曝露量のシミュレーション

上記の含有量シミュレーションデータセットと摂取量シミュレーションデータセットを Crystal Ball 2000 日本語版 ((株) 構造計画研究所) を用いて、モンテカルロ法により年齢階層別および全人口でのシミュレーションをそれぞれ 1000 万回行った。後者は、日本人人口の各年齢層の総人口に占める割合 (0歳 : 0.9%, 1歳~6歳 :

5.4%, 7歳~14歳 : 7.5%, 15歳~19歳 : 5.1%, 20歳以上 : 81.1%) で各年齢層から曝露量サンプルを抽出することにより (年齢が1歳未満については、曝露量はゼロと仮定した) シミュレーションを行った。

その上で、各シナリオ (含有量の検出下限未満についての仮定 A と仮定 B、および規制値についての4つ (規制なし & 3つの規制方法) の仮定で、全部で8つのシナリオ) について、それぞれ、20%点、30%点、40%点、50%点、60%点、70%点、80%点、90%点、95%点、97.5%点、99%点、99.5%点、99.8%点、99.9%点の曝露量を推定した。

C. 研究結果

1) 実態調査

アフラトキシンは、397 試料のうち、市販の香辛料、ココア、チョコレート、ホワイトチョコレート、ハトムギ、アーモンド、ピスタチオナッツ、ピーナッツ、そば粉、コーングリッツ、ピーナッツバターの一部より定量下限以上の濃度の AFB1 が検出された。香辛料、ココア、チョコレート、ホワイトチョコレート、ハトムギ、アーモンド、ピーナッツバターに比較的高い頻度で汚染が認められ、最高濃度の汚染として中国産手むき落花生一試料に AFB1 が 4.88ng/g、AFG1 が 20.9ng/g が認められた。

オクラトキシン A は、パスタ、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麺、ライ麦粉、小麦粉、オートミールの一部から、また、ココアの全て、チョコレートとインスタントコーヒーの大部分から最高 4.25ng/g の汚染が認められた。国産表示のビール、そば粉、そばめんにも汚染が認められたが、それらの原料の由来は不明である。最高濃度の汚染はオートミール一試料に認められた 13.3ng/g であった。

フモニシンは、コーンスナック、コーングリッツ、ポップコーン、コーンフレーク、ビールの多くより、数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下、トウモロコシ製品一試料から $453\mu\text{g}/\text{kg}$ のフモニシン B1 が検出された。

2) フモニシンの毒性評価

フモニシンの急性毒性は非常に低く、 LD_{50} は報告されていない。ウマやブタでは、白質脳症や肺水腫などフモニシンが原因とされる疾病が報告されている。

げっ歯類においては、肝毒性および腎毒性であり、発がん性が認められた。Fischer 344 ラットにおける腎臓癌および腎毒性の無影響濃度 (NOEL) はそれぞれ、 $0.67\text{mg}/\text{kg bw}/\text{day}$ と $0.2\text{mg}/\text{kg bw}/\text{day}$ であった。フモニシンは、IARC によりグループ 2B のクラスに分類されている。しかしヒトでの発がん性との因果関係を確証付ける疫学調査はまだ出されていない。

フモニシンは、スフィンガニンのアナログとしてスフィンゴリピッド生合成系における N-アシルトランスフェラーゼの働きを阻害する。フモニシンのこのような毒性機序は、スフィンゴ脂質代謝の失調やグリセロリン脂質代謝への影響をおこし、間接的に疾病の発症に関わっていると考えられている。また血液中のスフィンガニン/スフィンゴシン濃度の割合 (S_a/S_o) は、フモニシン汚染のバイオマーカーとして使われている。

最近報告されたフモニシンの新しい毒性としては、神経管閉鎖障害がある。テキサス-メキシコ国境地帯で多発して注目されたが、現在トウモロコシの消費量とフモニシン暴露と神経管障害リスクの関連について研究結果が行なわれている。それによると神経管閉鎖障害リスクとトウモロコシの摂取量とに相関関係があることが示唆されているが明確にはなっていない。

フモニシンの摂取とヒト癌との関連について

は、食道癌の原因の可能性が示唆されてきたが、トウモロコシの摂取とそれらの疾病との関係はあると判断された。しかし、他の要因も多く関与していることが指摘されており、フモニシンの単独での発癌性影響の証拠は限定されたものでしかなかった。

フモニシンの汚染実態報告は、2003年 European Commission: EC (欧州委員会) が確立した SCOOP Task (Scientific co-operation task) により報告されている。それによると、とうもろこしでは平均汚染濃度 $357\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。本研究事業で行われている我が国の実態調査の結果では、ポップコーンから頻度高くフモニシンが検出されているが、汚染量は低いレベルにある。

フモニシンは遺伝原性がないので NOEL の数値に安全係数 100 を乗じて、フモニシン B1 の暫定一日耐容摂取量を $2\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ と設定されている。この評価を受けて、EU では基準値の設定が進んでいる。アメリカでは 2001 年 11 月にフモニシンに対してガイドラインを作成している。

3) ニバレノールの毒性試験

実験期間中に死亡した動物は認められなかった。個体当たりの摂取量は、100 ppm で雄の投与開始後 6 週目までと雌のほぼ全ての試験期間において減少し、25 ppm では雌の投与期間前半において減少した。摂取量は、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。

血液学的検査の結果から雄の 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。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。

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。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。

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。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。

病理組織学的検索結果から、雌雄共に 100 ppm において、胸腺の萎縮および骨髓造血細胞の減少がしばしば観察された。雌の 100 ppm において、閉鎖卵胞および間質腺の増加が顕著であり、重度の例では黄体を欠いていた。しかし、二次卵胞の数には変化はみられなかった。雌の 100 ppm 群では卵巣の病変に伴って子宮は萎縮し、多くの動物で膻は発情前期あるいは休止期の状態を呈した。これに対し雄では、精巣および副生殖器に、投与に関連した病変は認められなかった。下垂体前葉では、100 ppm 群の雌雄において、去勢細胞の増加や好塩基細胞の肥大がびまん性に観察された。同様の変化は 25 ppm においても数例認められ、6.25 ppm の雄 1 例では限局性の好塩基性細胞の肥大が観察された。100 ppm 群ではこれらの病変が減少していた。腸間膜リンパ節では 100 ppm において、マクロファージおよび肥満細胞の集積の程度が重度になる傾向がみられた。雌の 100 ppm で

は、肺胞壁におけるマクロファージ集簇の発生頻度が増加した。また、雌雄共に 100 ppm では、副鼻腔上皮の杯細胞の数が増加する傾向を示した。胸骨および大腿骨では、雌雄の 100 ppm において、骨梁の減少と骨幹部の菲薄化がしばしば観察された。

4) アフラトキシンの暴露評価

年齢構成比で重み付けした日本人全体のアフラトキシシン B1 の曝露量は、もっとも安全側をとったシナリオである「現状 B1 10 μ g/kg」の仮定 A の場合で 99.9 パーセンタイル値が 2.06ng/kg/day であり、もっとも少なめに見積もられる「B1 4 μ g/kg、トータル 8 μ g/kg 規制値」の B で 99.9 パーセンタイル値は 1.88ng/kg/day であった。1ng/kg/day を超える割合はいずれのシナリオにおいても 0.2%程度となった。

D. 考察

1) 実態調査

JECFA により推定されたアフラトキシシン B1 の発がんリスク（一日当たり体重 1 kg 当たり 1ng AFB1 摂取により 0.01/100000）、フモニシンとオクラトキシシン A の暫定耐容値 (2 μ g/kg bw/day、0.1 μ g/kg bw/week) から、市販食品において前年度から今年度に認められたこれらかび毒の汚染濃度によってヒトの健康障害が直ちに引き起こされることは考え難い。しかし、かび毒による健康障害は長期暴露によることが懸念されるため、基準値の設定を含めた対応の必要性が検討されるべきである。

アフラトキシシンの汚染は、本研究では前年度までに、汚染の可能性が考えられる食品を優先的に取り上げて調査を行なった結果、ピーナッツバターに定量下限値以上の濃度の汚染が認められ

た。前年度、低頻度ながら AFB1 が検出されたそば粉については今年度も汚染が認められた。その他、香辛料、ココア、チョコレート、ホワイトチョコレート、ハトムギ、アーモンド、ピスタチオナッツ、ピーナッツ、コーングリッツにも汚染が認められたことから、今後これら食品もアフラトキシン汚染のリスク食品として対応する必要がある。

個々のアフラトキシンとその総量との関係は、本年度ピーナッツバターを対象に検討した結果、AFB1 が大部分の試料で最も高く、総量との間の比は 1:2 程度であった。

オクラトキシン A については、従来より小麦、大麦、燕麦、ライ麦、干しぶどう、ワイン、コーヒーに高濃度の汚染が比較的高頻度に認められてきた。前年度同様に、米とうもろこし製品、グレープシュースからは認められなかった。しかし、それ以外の食品のいずれからも、一部または全部に汚染が認められた。ビールとワインの汚染頻度と汚染濃度は、これまでに世界各地で認められているものと比べ顕著な差異はない。干しぶどうの汚染濃度は前年に比べ低かった。我が国において比較的摂取量が多いそば麺は、検出例の平均値は前年度よりも若干低く 0.38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、検出例が半数以上に及んだことから、そばの製造工程中の減衰を究明することが必要と考えられる。パスタの汚染頻度も半数以上に及び、平均汚染濃度は 0.59 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であることから、そばと同様の配慮が必要である。小麦粉は、パン製造用のみが汚染され、製麺用には汚染が認められなかったが、その原因については今後の調査が必要である。前年度同様にインスタントコーヒーは、大多数が 0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上で汚染されており、平均汚染濃度も生コーヒーや焙煎コーヒーよりも高いことから、製造工程での濃縮や原料コーヒー豆の高濃度

汚染の関与の究明が必要である。

JECFA によって設定された暫定摂取耐容量 (1995) は 100 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{week}$ である。SCF はそれとほぼ同じレベルの一日摂取許容量として、1.2–14 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{day}$ (8.4–98 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{week}$) を提唱し、また、食品毒性学とリスク評価に関する Nordic Working Group は、最大一日耐容摂取量として 5 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{day}$ (35 $\text{ng}/\text{kg bw}/\text{week}$) を提唱している。今年度パスタまたはそば麺に認められた最高濃度 1.62 または 1.48 ng/g を成人が 100g 摂取した場合には、調理過程での減衰が無いと仮定しても 1kg 体重当たり 2–3 ng であることから、最大一日耐容摂取量を直ちに超える量ではないが、適切な規制の下にこうした高濃度汚染食品の流通をコントロールすることが望まれる。

フモニシンはポップコーンについては前年度、B1 汚染濃度の平均値として 73.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が、最高値として 185 $\mu\text{g}/\text{kg}$ がそれぞれ認められていたが、今年度も同様にそれぞれ 91.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と 262 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が認められた。またコーングリッツやコーンスナックにも高濃度の汚染が認められた。大豆には前年度同様に低濃度の汚染がみられた。

また、本研究では 3 年間わたる調査の結果米にアフラトキシンとオクラトキシン A の汚染が認められなかったことから、国産米についてはこれらの毒素によるリスクは極めて低いものと考えられる。

2) フモニシンの毒性評価

現在フモニシンで最も問題となっている毒性は、発がん性と神経管閉鎖障害との関連であろう。今年度は、最も新しい毒性評価レポートとして SCF が作成した報告書を参考資料として毒性評価を行ったが、この報告書において、

1. 発がん性のメカニズムに関してはほとんど分かっていない。

2. ヒトの神経管閉鎖障害とフモニシンとの関係に関しては、現在のところフモニシンが葉酸の吸収を阻害する可能性が *in vitro* 実験において示されているにすぎず、葉酸阻害メカニズムによる発症は十分な確証が得られていない。

3. ミトコンドリア誘発セラミド媒介アポトーシスを制御するに際し、フモニシンによるセラミド生合成の抑制の役割を解明する必要がある。

4. トウモロコシ製品がヒトの食事の大きな部分を占める地域での肝疾患、腎疾患、および他の疾患（鼻咽癌、食道癌、神経管疾患など）の発症率とフモニシン摂取との関係は疫学的手法で十分研究されていない

5. フモニシンが人の腎疾患と肝疾患に関連のある、病原菌とその産生毒についての受容体の発現にどのような影響を及ぼしているか。など、今後解明されなければならない毒性学的問題点も明らかとなった。

EU の予想では、国際貿易における健康なトウモロコシ中のフモニシン B₁ の平均濃度は、0.2 mg/kg と 2.5 mg/kg の間であるとしている。わが国の汚染実態調査では、大豆や小麦から検出はされるものの、主な汚染源はトウモロコシである。現在のところその汚染濃度は非常に低いレベルにあるため、健康被害を引き起こす懸念はほとんどないが、わが国は輸入トウモロコシに依存しているため、モニタリングを続け、必要とあれば基準値を設けるべきであろう。

また、トウモロコシは、アフラトキシンや、デオキシニバレノール、ゼアラレノンなどのフザリウム毒素も頻度高く汚染している。これらの複数のカビ毒の毒性に関する研究も、今後加速的に発展していかなければならない分野である。

3) ニバレノールの毒性試験

本研究において雌雄共に 100 ppm で認められた胸腺の萎縮、骨髄造血細胞の減少や、雌の 6.25 ppm 以上で認められた白血球の減少は、NIV の蛋白合成阻害作用に起因すると考えられた。トリコテセン系マイコトキシンは細胞死を介して免疫抑制作用を示す一方、免疫機能を刺激することも報告されている。本研究においても、生体内の防御反応の亢進を示唆する NK 細胞の活性増加が NIV を投与した全群において認められており、その効果は低用量群でより明らかであった。一方で、マウスでは NIV 投与によりヒト IgA 腎症に類似した病変が生じることが報告されているが (Hinoshita et al., 1997), 本研究では腎系球体において NIV 投与による毒性影響は観察されず、血清生化学的検査では血清グロブリンの減少を示唆する所見が得られたことから、IgA 腎症の発症には種差の存在することが示唆された。

これまでの報告で、マウスに最高 30 ppm の混餌用量で NIV を 12 週ないし 1 年間投与した試験において、6 ppm 以上で用量依存的な体重増加率の減少が観察されている。一方、ラットに 0.4 ないし 2.0 mg/kg の NIV を 15 あるいは 30 日間反復投与した試験では、投与群と対照群との間に体重の差はほとんど認められていない。本研究では雌雄とも 100 ppm において、顕著な体重増加抑制が観察された。今回の摂餌量から NIV 摂取量を換算すると 100 ppm 群の雄では 6.9 mg/kg/day、雌では 6.4 mg/kg/day となり、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。トリコテセン系マイコトキシンの一種であるデオキシニバレノール(DON)は、最高 5.0 mg/kg/day の濃度で雄ラットに 28 日間経口投与した実験において、血清卵胞刺激ホルモン(FSH)および黄体ホルモン(LH)が上昇し、血清テストステロンが減少することが報告されており、DON が下垂体-精巢

軸に影響を及ぼすことを示している。これらの作用は DON 反復投与によるストレスに起因すると推察されている。また CD-1 マウスでは、他のトリコテセン系マイコトキシンである T-2 toxin に暴露された後に、血清コルチコステロンレベルの上昇等のストレス様反応の生じることが報告されている。本研究において、雌雄の下垂体において FSH や LH 産生細胞を含む好塩基性細胞の肥大や去勢細胞の増加が認められたことや、雌の 100 ppm で観察された卵巣の変化から、雌雄差については不明な点はあるが、NIV 投与に起因するストレスにより血清ホルモンレベルが変化した可能性や、NIV が下垂体-生殖器軸に直接作用した可能性が考えられる。

雌の 100 ppm で認められた子宮の萎縮や膣粘膜の変化（発情休止期）については、卵胞発育障害に伴う変化であると考えられた。Sachchidananda, 1982; Motwani et al., 1984; Yamasaki et al., 2002)。このような唾液腺および尿細管の組織学的変化に関するメカニズムは不明であるが、NIV の蛋白合成阻害作用だけでなく、ホルモン変動も関与している可能性が考えられる。

4) アフラトキシンの暴露評価

一昨年度のナッツ類による曝露量推定に加え、チョコレート等他の食品摂取による曝露を勘案しても 99 パーセンタイル値は 0.05ng/kg/day と低値であった。また、アフラトキシン B1 に対して 10 µg/kg で規制している現状においては、今回の推定では規制の有無において顕著な差異は認められなかった。これは我が国に流通する食品においてはアフラトキシン B1 の含有量が、設定した規制値を超えるものの割合が少ないためと考えられる。すなわちこの結果は現在行なっている規制が有効に機能していることに他ならない。

今回のシミュレーション結果ではピーナッツ、

アーモンド摂取により 1ng/kg/day 以上摂取するものは大きく見積もっても全体の 0.1~2%であり、両者の摂取による肝がんの過剰発生はほとんど見込まれない、と思われる。

E. 結論

実態調査は、市販食品 397 試料についてアフラトキシン B1、B2、G1、G2 を、市販食品 335 試料についてオクラトキシン A を、市販食品 192 試料について、フモニシン B1、B2、B3 を分析した。その結果、アフラトキシンは、香辛料、ココア、チョコレート、ホワイトチョコレート、ハトムギ、アーモンド、ピスタチオナッツ、ピーナッツ、そば粉、コーングリッツ、ピーナッツバターの一部より AFB1 が検出された。オクラトキシン A は、パスタ、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、そば麵、ライ麦粉、小麦粉、オートミールの一部から、また、ココアの全て、チョコレートとインスタントコーヒーの大部分から検出された。フモニシンは、コーンスナック、コーングリッツ、ポップコーン、コーンフレーク、ビールの多くから検出された。

フモニシンの毒性評価については、最新の情報である、2003 年に再見直しを行なった SCF の資料を参考におこなった。フモニシンの毒性は、急性毒性はほとんどないが、遺伝毒性のない発がん性がげっ歯類で認められている。IARC ではグループ 2B に分類されている。一日耐容摂取量を SCF および JECFA のいずれも 2µg/kg bw/day と設定している。現在までに報告されている文献によると、フモニシンの主なる汚染食品はとうもろこしである。わが国のトウモロコシのフモニシン汚染は、頻度は高いが汚染量は低いレベルにあり、直ちに健康被害を引き起こされる状況ではないが、カビ毒は気象条件に大きく影響を受けやすい自然毒であることから、今後も継続したモニタリングを

続けていくべきである。

ラットを用いた NIV の 90 日混餌投与試験を実施した結果、NIV は雌雄の造血・リンパ系組織、下垂体を主体とする内分泌系臓器および雌性生殖器官を主体に病変を誘発し、血液学的検査の結果から no-observed-adverse-effect level (NOAEL) は 6.25 ppm (0.4 mg/kg/day) 未満であると考えられた。アフラトキシンの暴露評価は、3 年間通年で行った実態調査結果を基にモンテカルロ法で暴露評価を行った。その結果、アフラトキシン B1 の暴露量は、99 パーセンタイル値で 0.05ng/kg/day と低値であった。また、アフラトキシン B1 に対して 10 μg/kg で規制している現状においては、4 つのシナリオ間での顕著な差異は認められなかった。これは我が国に流通する食品においてはアフラトキシン B1 の含有量が、設定した規制値を超えるものの割合が少ないためと考えられ、現在行なっている規制が有効に機能していることを示しているといえる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y. Sugita-Konishi, et al., Occurrence of Aflatoxins, Ochratoxin A and Fumonisin in Retailed Foods in Japan, *J. Food Prot.*, (2006)
- 2) Y. Sugita-Konishi, A. Kubosaki, M. Aihara¹⁾, B. J. Park, T. Tanaka, Y. Suzuki, K. Takatori, M. Hirose, M. Shibutani, Nivalenol targets female reproductive system as well as hematopoietic and immune systems in rats after 90-day exposure through diet. *Food Addit. Contamin.* 2007, in press.
- 3) S. Kumagai, M. Nakajima, S. Tabata, E. Ishikuro, T. Tanaka, H. Norizuki, Y. Itoh, K. Aoyama, K. Fujita, S. Kai., T. Sato, S. Saito,

N. Yoshiike, Y. Sugita-Konishi, Aflatoxin and ochratoxin A contamination in retail foods and intake of these mycotoxins in Japan. *Food Addit. Contamin.* 2007, in press.

4) Y. Sugita-Konishi, A. Kubosaki, M. Aihara¹⁾, B. J. Park, T. Tanaka, Y. Suzuki, K. Takatori, M. Hirose, M. Functional, biochemical and immunological effects of nivalenol after oral administration for 90-day in F344 rats.

ISOMYCO'06 Bangkok, proceedings

5) 小西良子: 実験動物を用いての毒性評価マイコトキシノズ, 56-2, 105-115 (2006)

6) M. Takahashi, M. Shibutani, Y.

Sugita-Konishi, M. Aihara, K. Inoue, G-H. Woo, H. Fujimoto, M. Hirose; A 90-day subchronic toxicity study of nivalenol, a trichothecene mycotoxin, in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, submitted.

7) A. Kubosaki, M. Aihara, B. J. Park, Y. Sugiura, M. Shibutani, M. Hirose, Y. Suzuki, K. Takatori, Y. Sugita-Konishi, Immunotoxicity of Nivalenol after Subchronic Dietary Exposure to Rats, *Food and Chemical Toxicology*, submitted.

2. 口頭発表

1) Y. Sugita-Konishi, A. Kubosaki, M. Aihara, B. J. Park, Y. Sugiura, M. Shibutani, M. Hirose, Y. Suzuki, K. Takatori, Society of Toxicology, 2007.3, Charlotte, NC., USA

2) Y. Sugita-Konishi, A. Kubosaki, M. Aihara, B. J. Park, T. Tanaka, Y. Suzuki, K. Takatori, M. Hirose, M. Shibutani Functional, biochemical and immunological effects of nivalenol after oral administration for 90-day

in F344 rats. International Symposium on Mycotoxicology in Bangkok-New Strategies for Mycotoxin Research in Asia-ISMCO Bangkok '06 (2006.12.13)

3) Kumagai S., Nakajima M., Tabata S., Tanaka T., Norizuki H., Itoh Y., Sato T, Saito S, Yoshiike N., Takatori K., Sugita-Konishi Y. Surveillance of mycotoxin contamination in retail foods and exposure assessment based on it in Japan 10th International Symposium on Toxic Microorganisms, United State-Japan Cooperative Program on Development and Utilization of Natural resources, Wiley Center, FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition (2006.11.9)

4) Y. Sugita-Konishi, A. Kubosaki, M. Aihara, B. J. Park, T. Tanaka, Y. Suzuki, K. Takatori, M. Hirose, M. Shibusaki, Nivalenol targets female reproductive system as well as hematopoietic and immune systems in rats after 90-day exposure through diet. 10th International Symposium on Toxic Microorganisms, United State-Japan Cooperative Program on Development and Utilization of Natural resources, Wiley Center, FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition.

5) 中島正博、青山幸二、石黒瑛一、堤 徹、法月廣子、大須賀裕美、藤田和弘、甲斐茂美、田端節子、杉浦義紹、田中敏嗣、田中宏輝、高橋正紀、

伊藤嘉典、小西良子、熊谷 進：日本に流通する食品中のアフラトキシン、オクラトキシンAおよびフモニシン汚染実態調査（平成17年度）第92回日本食品衛生学会（2006.10）

6) 田中敏嗣、小西良子、高鳥浩介、Chris M. Maragos、田中宏輝、高橋正紀、中島隆：デオキシニバレノールおよびニバレノールを認識するモノクローナル抗体の開発とその応用 第92回日本食品衛生学会（2006.10）

7) 五十嵐奈津子、伊佐川聡、藤田和弘、中村宗知、渡井正俊、小西良子、田端節子、中島正博、田中敏嗣、木谷裕亮、青山幸二、平岡久明、牧野大作、石黒瑛一、法月廣子、滝澤和弘：玄米中のオクラトキシンA分析法の複数機関による評価 第92回日本食品衛生学会（2006.10）

8) 小西良子、高鳥浩介、佐藤敏彦、斎藤史朗、吉池信男：我が国に流通するチョコレートのオクラトキシンAおよびアフラトキシンの汚染実態と暴露評価 第92回日本食品衛生学会（2006.10）

9) 小西 良子、本邦におけるオクラトキシンA汚染の実態とその汚染カビ
オーバービュー、第60回マイコトキシン研究会
学術講演会シンポジウム、2006.8月

10) 松田 瑛奈、朴奉柱、葉袋 裕二、芳賀 実、小西 良子：トリコテセン系マイコトキシンのマクロファーグへのサイトカイン産生能、日本農芸化学会2006年度大会（2006.3）

H. 知的財産権の出願登録状況 なし

分担研究報告書

フモニシンの毒性評価

小西 良子

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安心・安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

フモニシンの毒性評価

分担研究者 小西良子 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

第4室室長

研究要旨：フモニシン (FBs) はフザリウム属 (*Fusarium verticillioids*, *Fusarium proliferatum*) のカビによって産生されるカビ毒であり、世界中で汚染が報告されている。その毒性は、動物実験においては発がん性が実証されており、2002年国際癌研究機関においてグループ2B (ヒトにおいて発ガン性の可能性あり) に分類されている。ヒトにおける神経管閉鎖障害との関連も近年注目されており、疫学的研究も行なわれるようになってきている。フモニシンは主に穀類、トウモロコシ、小麦での汚染が報告されているが、近年大豆にも汚染例が報告され、わが国での実態調査でも低レベルであるが検出された。2001年にWHO/FAO Joint Expert Committee Food Additives (JECFA) において、暫定一日耐容摂取量が $2\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ に設定されたことを受け、ヨーロッパを中心に汚染実態調査および暴露評価が行われ、EUでは2007年に基準値設定が行なわれる予定である。米国ではフモニシンに関してはガイドラインが設定されている。本報告書では、2003年に出された食品科学委員会 (SCF) のレポートおよび2006年に出された文献を基に最近の毒性に関する知見をまとめた。

A. 研究目的

フモニシン (FBs) は、フザリウム属真菌によって産生されるフザリウム毒素の1つである。フモニシンの発見は比較的新しく、1988年に *Fusarium moniloforme* (現在の *F. verticillioides*) の培養物から発ガンプロモーターとして単離精製され、構造が決定された。その後数多くのフモニシン (B群、A群、C群、P群) が単離され構造決定されている。そのうち、フモニシン B_1 , B_2 , B_3 は飼料・食品中に多く検出されることから、 B_1 , B_2 , B_3 をあわせてトータルフモニシン (FBs) と総称している。これらはウマの白質脳症、ブタの肺水腫の原因物質としてすでに同定されている。また、南アフリカ及び中国での食

道癌多発地帯において、農産物が著しくこのかび毒に汚染されている事が報告された事から、フモニシンの発がん性が注目されるようになった。フモニシンは主にトウモロコシに汚染するが、最近では小麦や大豆にも汚染例が報告されている。そのためアメリカではガイドラインが設定されている。また、JECFA (FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会) や EU (ヨーロッパ連合) の SCF などでリスクアセスメントが行われており、我が国でもその毒性評価および汚染実態の把握が急がれている。そこで、本報告では、2003年に行なわれたフモニシン B_1 , B_2 , B_3 に関する SCF の最新見解および2006年度に発表された最新の文献をまとめ、FBs の毒性に関して最新の知見を

収集した。

B. 研究方法

(1) FBs の毒性評価-2003 年の報告

FBs の毒性に関しては、2000 年に SCF において、2001 年に JECFA において毒性評価されており、2003 年にそれを踏まえて SCF で再検討された。本報告では2003 年に出された SCF の再検討された報告の要約を行った (別紙 1)。

(2) FBs の毒性評価-2006 年の発表論文の情報収集

2005 年度までに発表された FBs の毒性に関する報告は、すでに内閣府食品安全委員会の平成 17 年度食品安全確保総合調査「食品等に係るカビ毒・自然毒のリスク評価に関する情報調査」において調査されていることから、それ以降すなわち 2006 年度以降の発表論文の中から毒性を中心に 21 報を選び、その要約を行なった (別紙 2)。

C. 研究結果

(1) フモニシンの毒性

(1)-1. 構造および物理化学的性質

フモニシンの構造は炭化水素鎖とアミノ基で構成され、分子量は 700 以上あり、カビ毒としては比較的大きな分子である。食品汚染が問題となるフモニシン B₁, B₂, B₃ のうち、含量、頻度が高く最も毒性が強いのは、フモニシン B₁ である。フモニシン B₁ は分子量が 721, 分子式が C₃₄H₅₉N₁₅ で、水溶性の物質である (図 1)。

(1)-2. 毒性

フモニシンの急性毒性は非常に低く、LD₅₀ は報告されていない。ウマやブタでは、白質脳症や肺水腫などフモニシンが原因とされる疾病が報告されている。培養液から抽出されたフモニシンでも、ウマにおいては白質脳症を起こし、ブタに対しては肺に水腫を起こすことが確認された。ブタでの標的臓器は

肺、肝臓およびすい臓と報告されている。

げっ歯類においては、フモニシン B₁ の毒性は血統および性によって異なっている。たとえば、BDIX 血統の雄のラットは、フモニシン B₁ の肝毒性影響において他の血統種より敏感であった。一方 Fischer 344N, Sprague-Dawley, RIVM:WU 血統のラットは、腎毒性の影響において、より敏感であった。マウスでは、腎臓より肝臓の方が敏感であり、雌は雄より敏感であった。長期給餌試験では、フモニシン B₁ は、肝臓ならびに腎臓の腫瘍を誘発した。フモニシン B₁ により雄の Fischer 344N ラットに誘発させた癌腫は、腎臓細管腫瘍の極めて悪性の変異体であった。Fischer 344 ラットにおける腎臓癌および腎毒性の無影響濃度 (NOEL) はそれぞれ、0.67mg/体重 kg/一日と 0.2mg/体重 kg/一日であった。給餌による摂取を制限した雄の BDIX ラットおよび雌の B6C3F1 マウスの肝臓癌の NOEL はそれぞれ、0.8mg/体重 kg/一日と 1.9mg/体重 kg/一日であった。

フモニシン B₁ の発がん性はげっ歯類では実証されたことから、2002 年に国際癌研究機関により、ヒトへの発がん性の可能性がある (グループ 2B) のクラスに分類された。しかしヒトでの発がん性との因果関係を確証付ける疫学調査はまだ出されていない。

(1)-3. 毒性機序

フモニシンの構造は動物細胞の膜脂質構成物質であるスフィンゴシンに類似していることから、スフィンガニンのアナログとしてスフィンゴリピッド生合成系における N-アシルトランスフェラーゼの働きを阻害する。フモニシンのこのような毒性機序がどのように発症に関わっているかは不明な点も多いが、スフィンゴ脂質代謝の失調やグリセロリン脂質代謝への影響が、間接的に疾病の発症に関わっていると考えられている。また血液中のスフィンガニン/スフィンゴシン濃度の割合 (Sa/So) は、フモニシン暴露により影響を受けることから、フモニシン汚染のバ