

この値を超える結果となった。即ち、1～6歳の日本人の1%は一日耐用摂取量以上のNIVを曝露する可能性を示した。この結果は、一日耐用摂取量の設定の方法を考慮すれば（マウスにおけるLOAEL、最小毒性量に安全率1000で割って設定）、日本人のほとんどが小麦摂取により健康影響を受けることはないものと推定されるが、乳幼児は成人と比較し影響を受けやすいことを考えれば、乳幼児向けの食品に使用する小麦については成人より厳格な規制が必要かもしれない。

最後に、コンピュータシミュレーションであるモンテカルロ法では、得られたサンプルから対数正規分布を仮定することにより母集団のデータを作り出すことから、作成したサンプルデータの一部には通常では存在しえない高値のデータが存在していたことは否定できない。従って、その適合性には十分配慮した上で結果を考察することが重要である。

E. 参考文献

1. IARC, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. Volume 56, Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins (1992)
2. 吉池信男. 残留農薬の暴露量試算のための食品摂取量基準データの検討—1995～1997年国民栄養調査. 食品衛生研究 Vol 50(6),2000
3. 日本人のカドミウム曝露量推計に関する研究 平成15年度 総括研究報告書 (2004)
4. Scientific Committee on Food. (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol.
5. WHO (World Health Organization) (2002). Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert

Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. Geneva, pp. 1-62

6. FAO (Food and Agriculture Organisation), (1997). Worldwide Regulations for Mycotoxin 1995. A compendium. FAO Food and Nutrition: Paper 64. (Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations).

図1-1. サンプル人口における体重1kgあたり一日小麦摂取量(1-6歳)

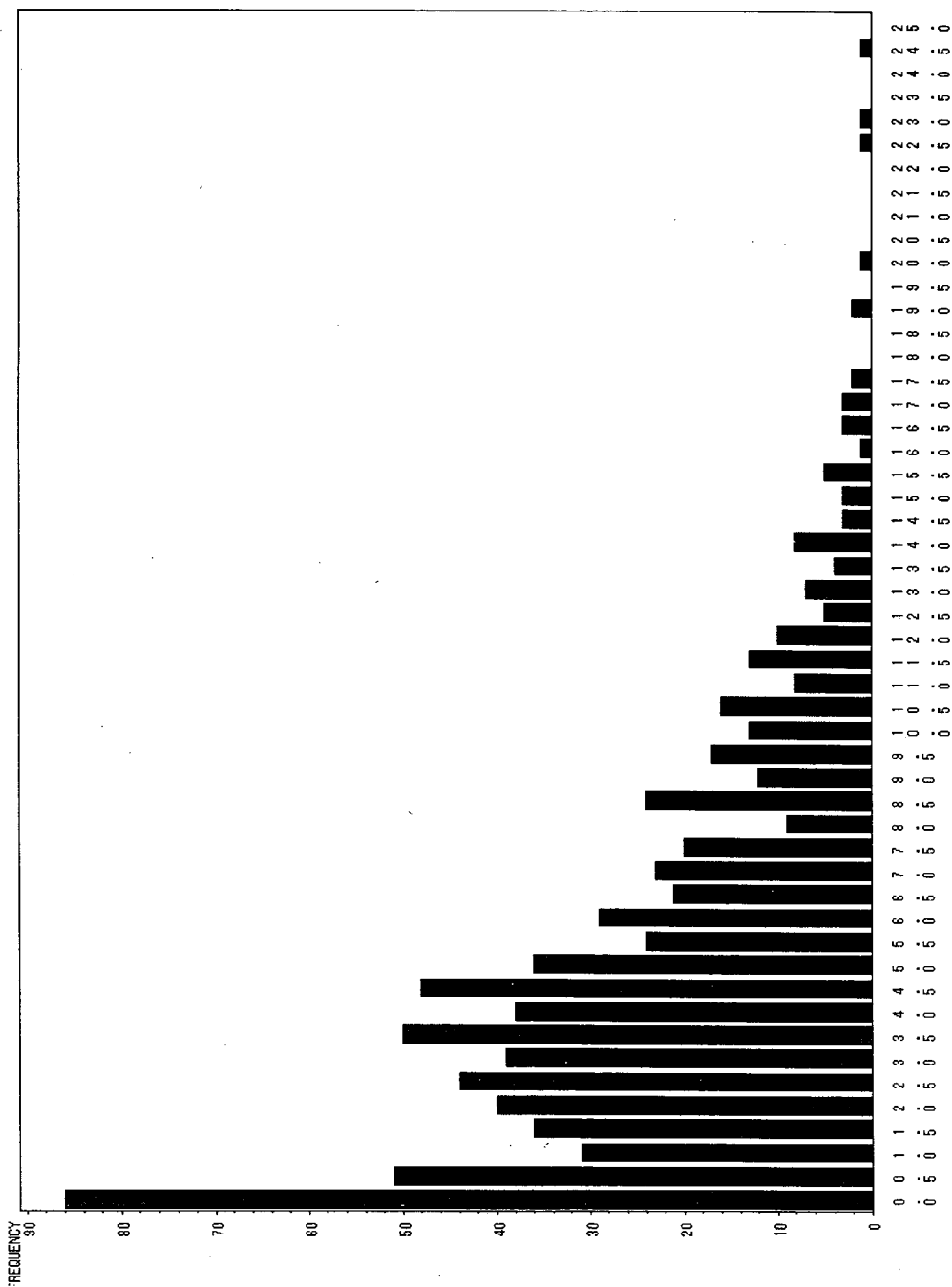


図1-2. サンプル人口における体重1kgあたり一日小麦摂取量(7-14歳)

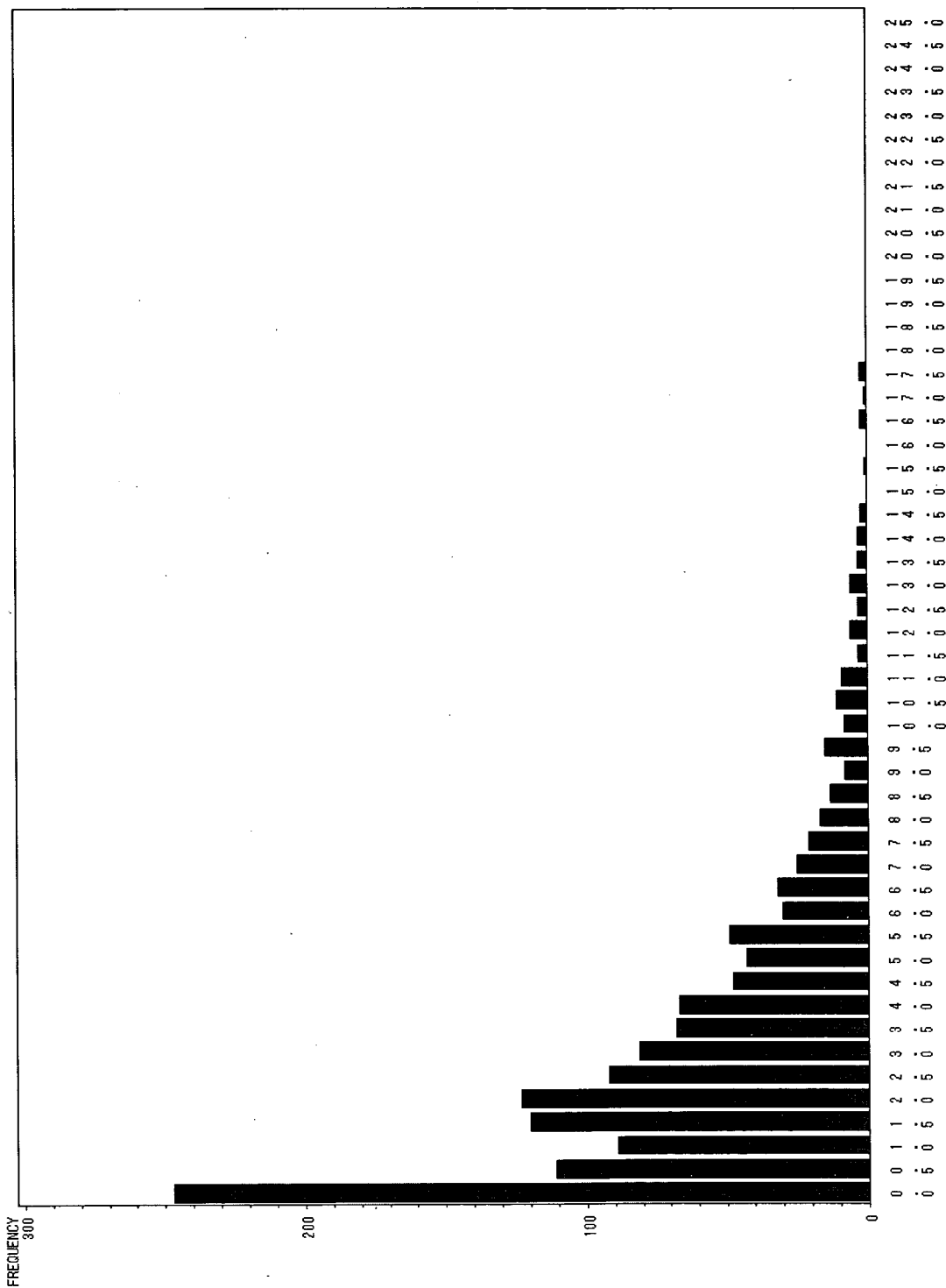


図1-3. サンプル人口における体重1kgあたり一日小麦摂取量(15-19歳)

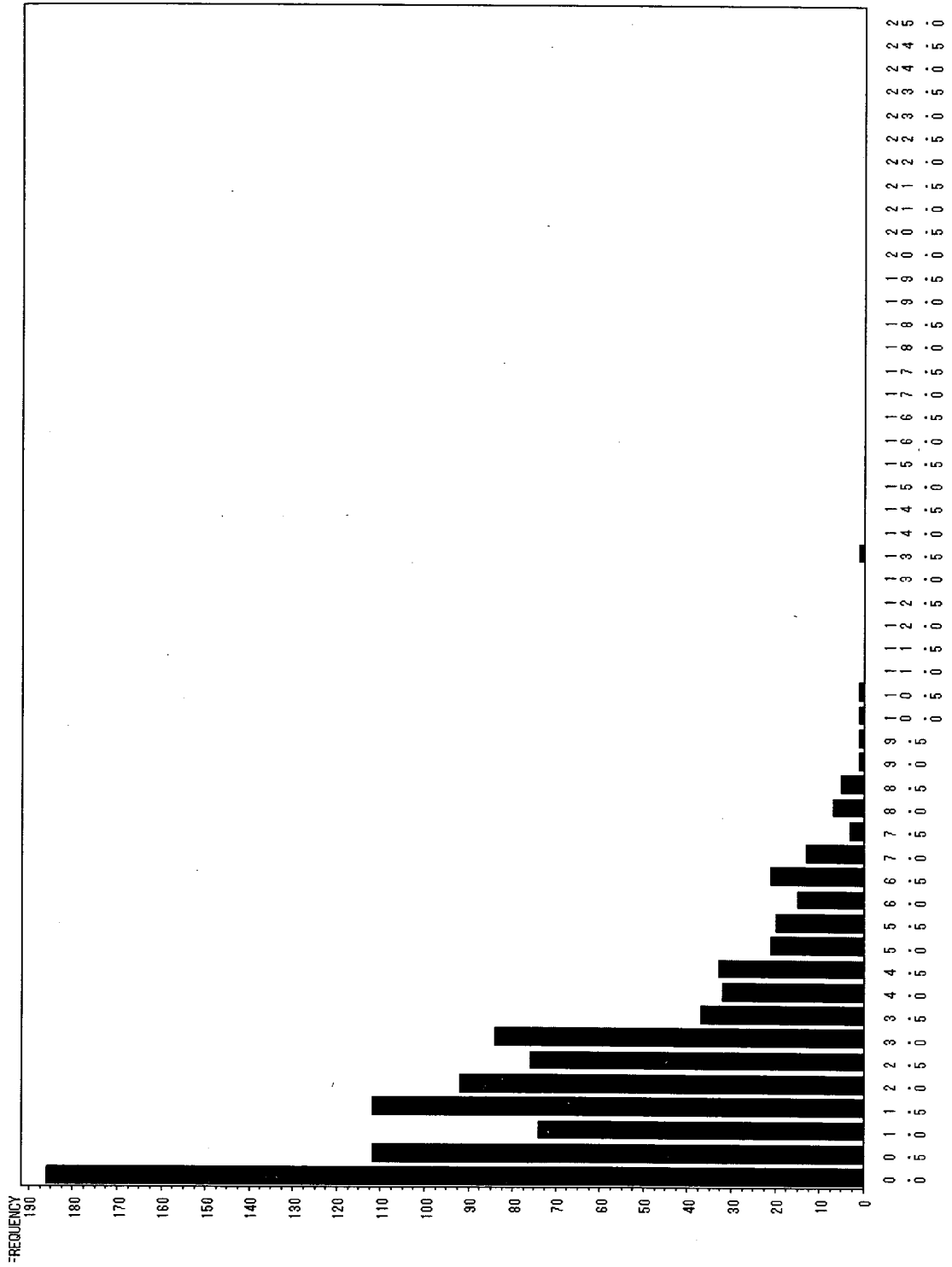


図1-4. サンプル人口における体重1kgあたり一日小麦摂取量(20歳以上)

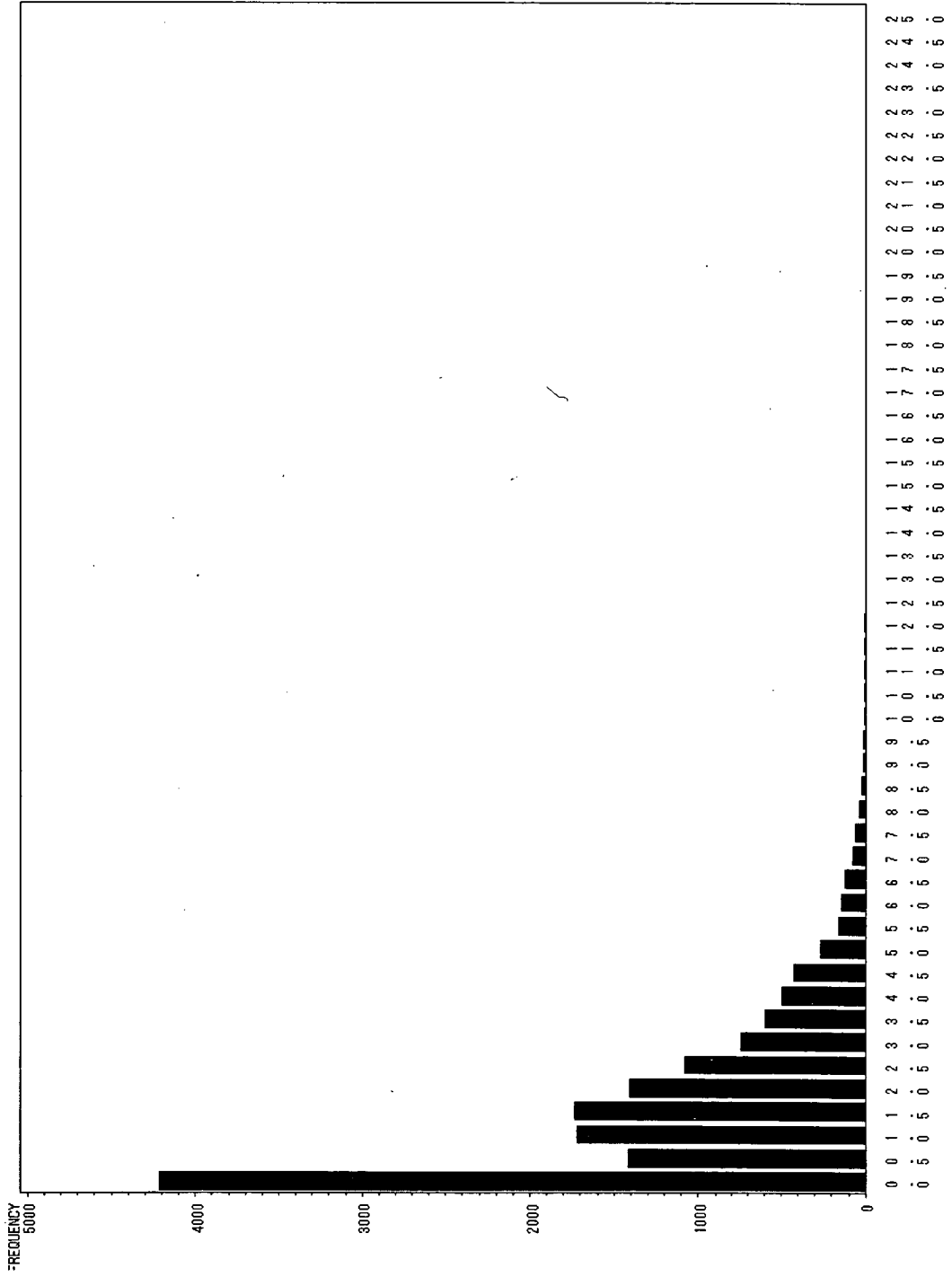


図2-1 小麦摂取量シミュレーションデータ(1-6歳)

komugi_sesshu 1-6y

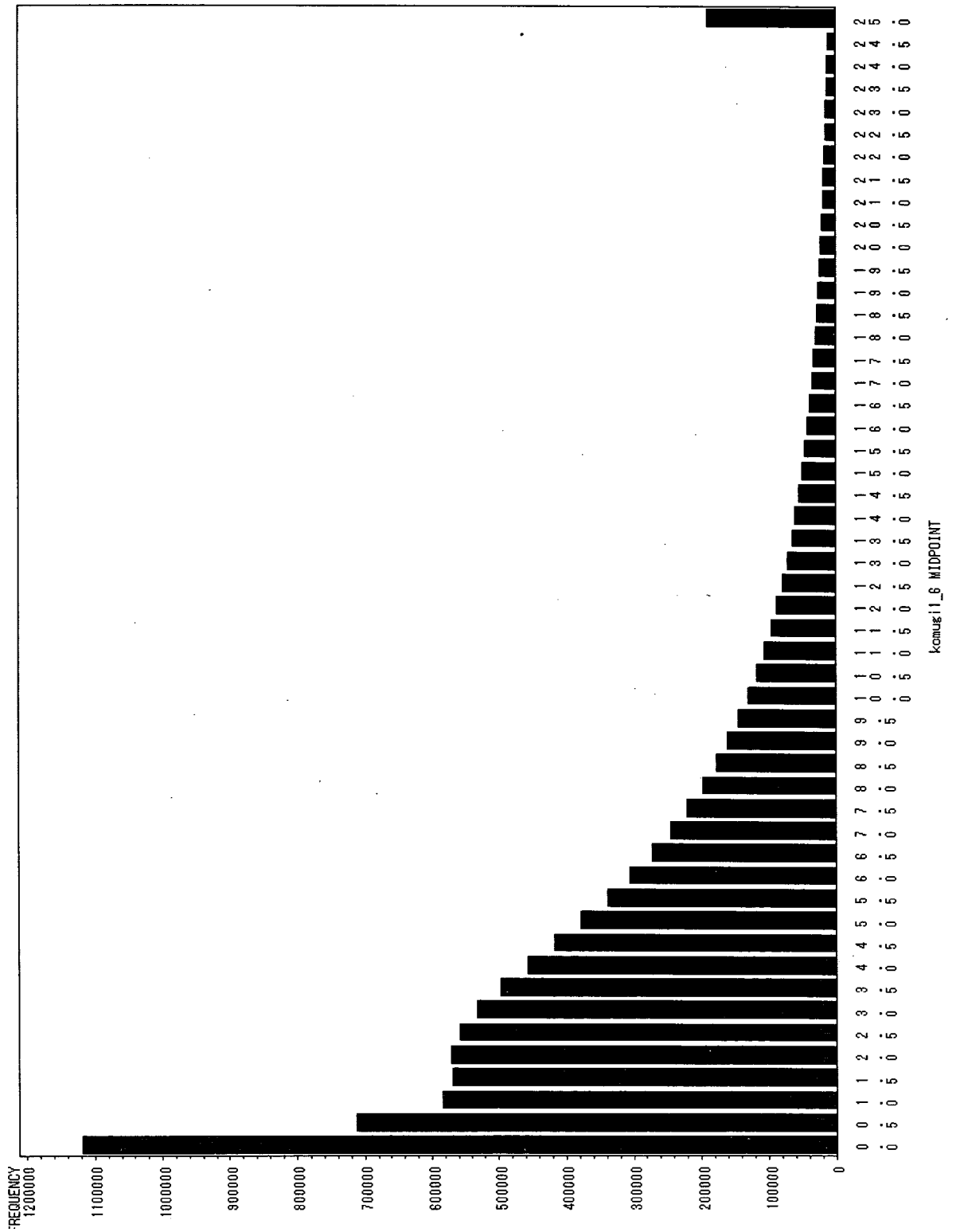


図2-2 小麦摂取量シミュレーションデータ(7-14歳)

komugi_sesshu 7-14y

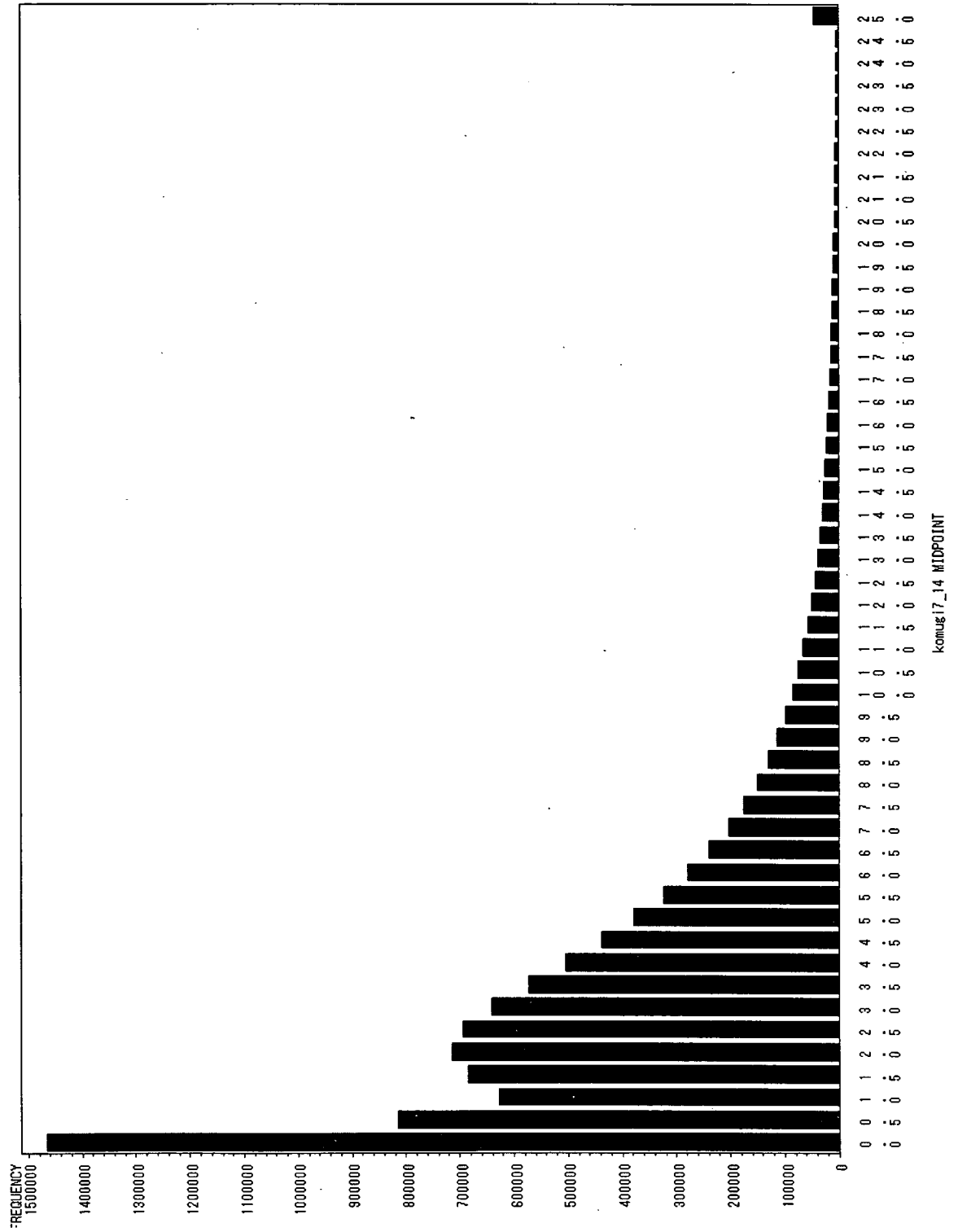


図2-3 小麦摂取量シミュレーションデータ(15-19歳)

komugi_sesshu 15-19y

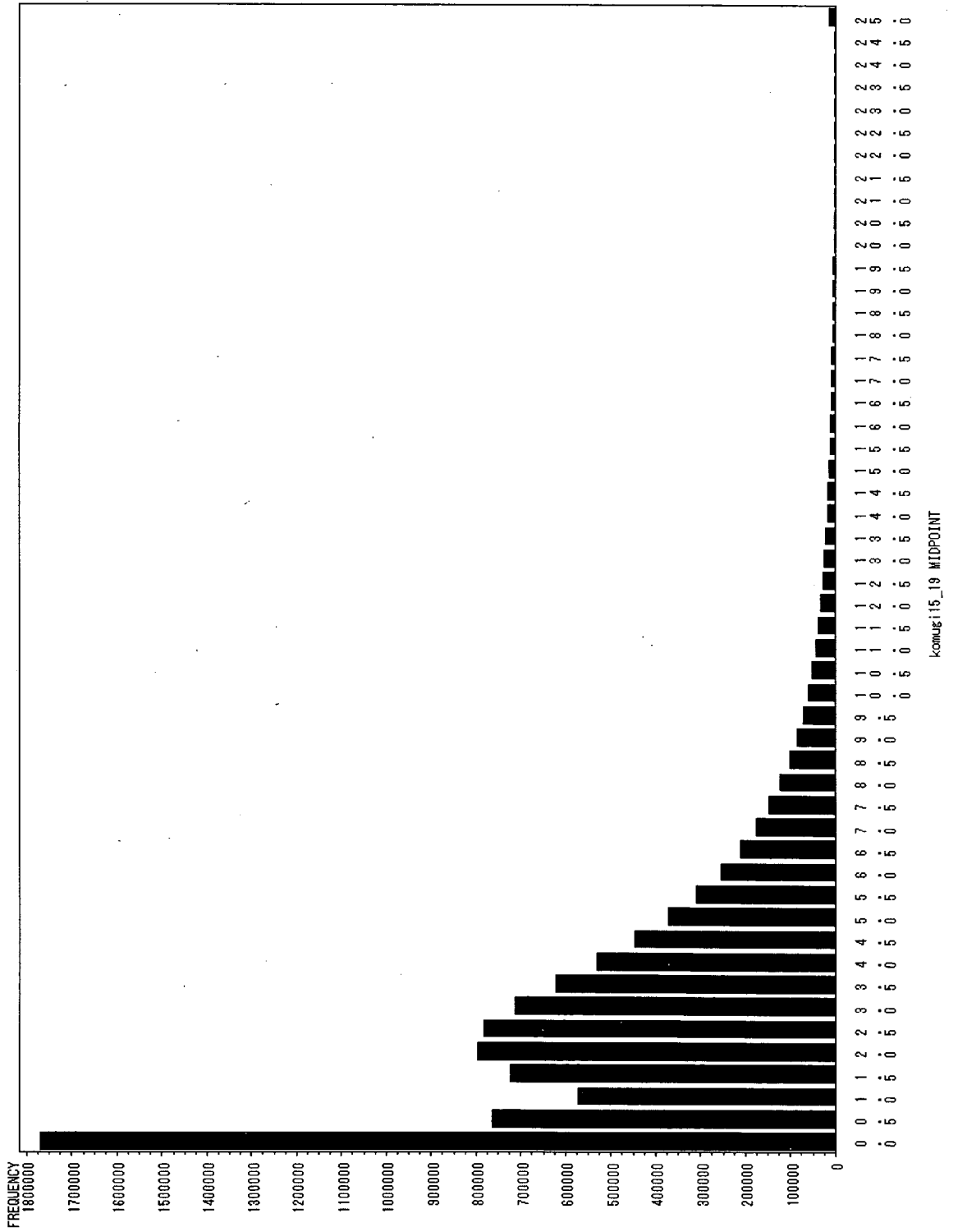


図2-4 小麦摂取量シミュレーションデータ(20歳以上)

komugi_sesshu over 20's

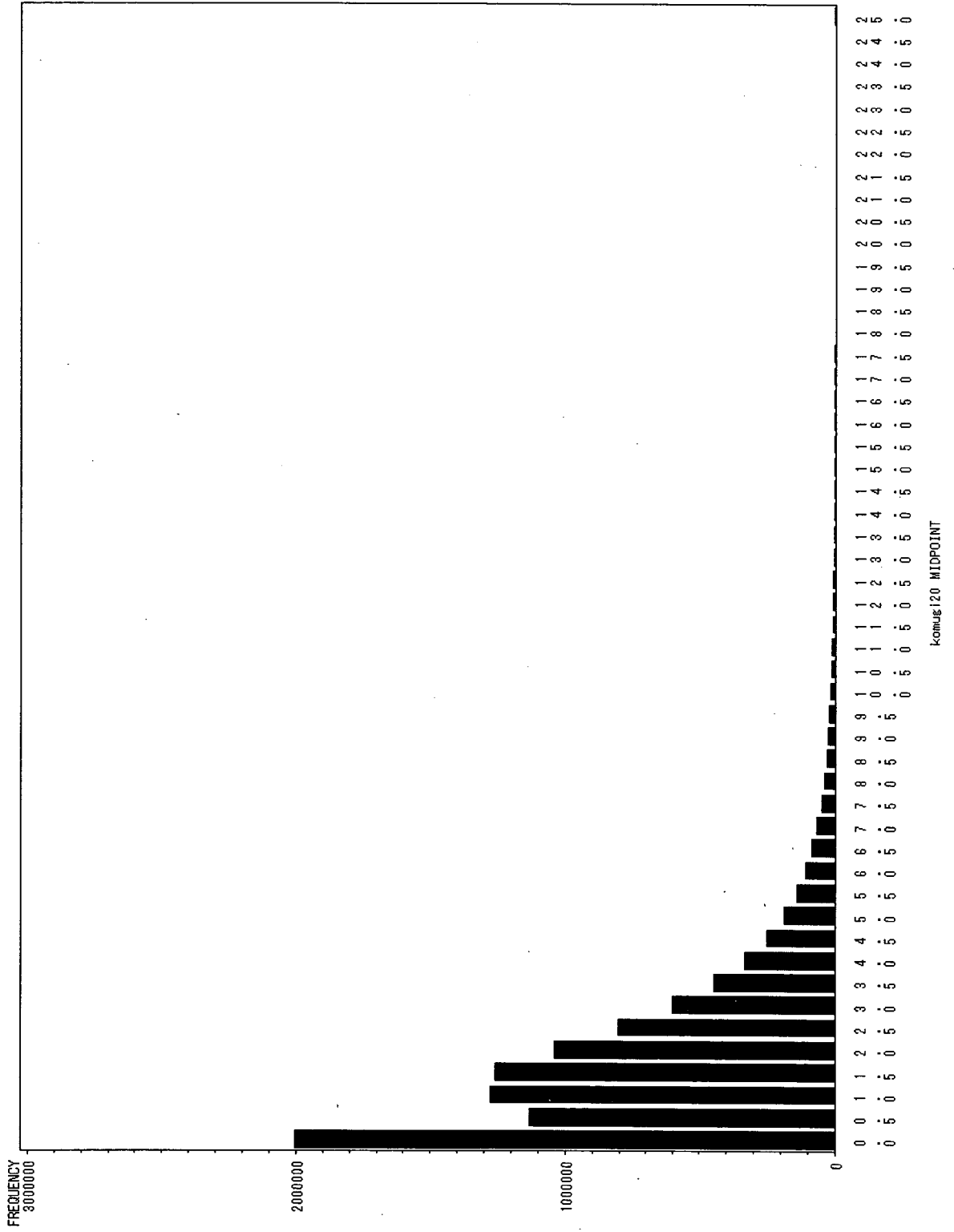


表2-1 NIV曝露量パーセンタイル値(1~6歳)

	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
ニハノール単独規制なし	0.01	0.02	0.05	0.09	0.19	0.33	0.52	0.85	1.17	1.71	2.20
ニハノール単独規制0.2ppm	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.26	0.39	0.61	0.81	1.13	1.42
ニハノール単独規制0.5ppm	0.01	0.02	0.05	0.09	0.19	0.33	0.51	0.83	1.13	1.63	2.09
ニハノール単独規制1ppm	0.01	0.02	0.05	0.09	0.19	0.33	0.52	0.85	1.17	1.70	2.21
合計量規制なし	0.01	0.03	0.05	0.10	0.21	0.37	0.61	1.04	1.50	2.31	3.12
合計量規制1.1ppm	0.01	0.02	0.05	0.09	0.19	0.33	0.52	0.85	1.17	1.71	2.20
合計量規制2ppm	0.01	0.03	0.05	0.09	0.20	0.36	0.58	0.97	1.36	2.04	2.67

表2-2 NIV曝露量パーセンタイル値(7~14歳)

	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
ニハノール単独規制なし	0.01	0.02	0.03	0.07	0.14	0.23	0.36	0.58	0.79	1.13	1.44
ニハノール単独規制0.2ppm	0.01	0.02	0.03	0.06	0.11	0.19	0.27	0.41	0.53	0.72	0.89
ニハノール単独規制0.5ppm	0.01	0.02	0.03	0.07	0.14	0.23	0.35	0.56	0.76	1.07	1.35
ニハノール単独規制1ppm	0.01	0.02	0.03	0.07	0.14	0.23	0.36	0.58	0.79	1.12	1.44
合計量規制なし	0.01	0.02	0.04	0.07	0.15	0.26	0.42	0.71	1.01	1.54	2.06
合計量規制1.1ppm	0.01	0.02	0.03	0.07	0.14	0.23	0.36	0.58	0.79	1.13	1.44
合計量規制2ppm	0.01	0.02	0.04	0.07	0.15	0.26	0.40	0.66	0.92	1.35	1.76

表2-3 NIV曝露量パーセンタイル値(15~19歳)

	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
ニハノール単独規制なし	0.01	0.01	0.03	0.05	0.11	0.18	0.28	0.44	0.59	0.83	1.04
ニハノール単独規制0.2ppm	0.01	0.01	0.02	0.05	0.09	0.15	0.21	0.31	0.39	0.52	0.63
ニハノール単独規制0.5ppm	0.01	0.01	0.03	0.05	0.11	0.18	0.27	0.43	0.57	0.79	0.98
ニハノール単独規制1ppm	0.01	0.01	0.03	0.05	0.11	0.18	0.28	0.44	0.59	0.83	1.04
合計量規制なし	0.01	0.02	0.03	0.06	0.13	0.22	0.35	0.58	0.82	1.23	1.62
合計量規制1.1ppm	0.01	0.01	0.03	0.06	0.12	0.20	0.30	0.47	0.63	0.89	1.12
合計量規制2ppm	0.01	0.02	0.03	0.06	0.12	0.21	0.33	0.54	0.74	1.07	1.37

表2-4 NIV曝露量パーセンタイル値(20歳以上)

	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
ニハノール単独規制なし	0.00	0.01	0.02	0.03	0.07	0.11	0.17	0.28	0.37	0.53	0.67
ニハノール単独規制0.2ppm	0.00	0.01	0.02	0.03	0.06	0.09	0.13	0.19	0.25	0.34	0.41
ニハノール単独規制0.5ppm	0.00	0.01	0.02	0.03	0.07	0.11	0.17	0.27	0.36	0.50	0.63
ニハノール単独規制1ppm	0.00	0.01	0.02	0.03	0.07	0.11	0.17	0.28	0.37	0.53	0.67
合計量規制なし	0.00	0.01	0.02	0.04	0.08	0.14	0.22	0.37	0.52	0.78	1.04
合計量規制1.1ppm	0.00	0.01	0.02	0.03	0.07	0.12	0.19	0.30	0.40	0.57	0.72
合計量規制2ppm	0.00	0.01	0.02	0.04	0.08	0.13	0.21	0.34	0.47	0.68	0.88

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性・安心確保推進研究事業）
分担研究報告書

新生児へのフモニシン暴露の薬物代謝機能に及ぼす影響

分担研究者 熊谷 進（東京大学大学院農学生命科学研究科）

研究要旨

新生時期に投与されたフモニシンの成熟後における薬物代謝活性への影響を、とくにアフラトキシン（以下 AF）代謝関連酵素に着目し究明することを目的として、新生児ラットへのフモニシン B1 単回投与による成熟時の肝臓と腎臓の薬物代謝酵素活性に及ぼす影響を調べた。その結果、肝臓および腎臓のサイトゾール分画の GST 活性の変化並びに肝臓ミクロゾームと肝臓 9,000G 遠心上澄分画の AFB1-DNA 付加体生成活性の低下等が認められた。以上の成績から、新生児のフモニシン B1 暴露の薬物代謝機能におよぼす影響が成熟後まで残ることが示された。

A. 研究目的

胎児や新生児に対するフモニシンの毒性影響については、母親への毒性影響を介した間接的な影響は認められていたが、直接的な顕著な毒性影響を認めた報告は少なかった（Safety evaluation of certain mycotoxins in food, EHO Food Additives series 47, 2001, pp147）。しかし最近、妊娠マウスに投与したフモニシンが胎児に神経管欠損を引き起こすことが実験的に示され（Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol., 2005, 73, 487-97）、さらに、テキサス・メキシコ境界地域で多発した人の神経管欠損とフモニシン摂取量との関係から、フモニシン摂取が人の神経管欠損のリスクを高めることが提唱されている（Environ. Health Perspect., 2006, 114, 237-41）。

しかし、胎児期や新生時期にフモニシン

に暴露された場合の、それによって引き起こされる成熟後の異常の有無についての知見はこれまでに見られない。本研究では、新生時期に投与されたフモニシンの成熟後における薬物代謝活性への影響を、とくにアフラトキシン（以下 AF）代謝関連酵素に着目し究明することを目的として、新生児ラットへのフモニシン B1 投与による成熟時の肝臓と腎臓の薬物代謝酵素活性に及ぼす影響を調べた。

B. 研究方法

2日齢の雌雄フィッシャーラット（F344）にフモニシン B1（10 mg/kg）を皮下投与後、2ヶ月齢時にエーテル麻酔下でと殺し肝臓と腎臓を摘出、肝臓は生理食塩水で還流した後に液体窒素で冷凍し-80℃下で使用時まで保存した。常法に従

い調整した各組織ホモジネイトを、9000Gで遠心し、その上澄（以下S9分画）を得るとともに、S9分画を105,000Gで遠心することにより、マイクロゾームとサイトゾールの各分画を得た。

マイクロゾームとS9分画については、[H 3]AFB1、子牛胸腺DNA、NADPH (2 mM)、G-6-P デヒドロゲナーゼ (1 Unit/ml)、G-6-P (10 mM) とともにインキュベートし、生成された[H 3]AFB1-DNA 付加体量を測定することにより付加体生成活性 (AF 活性化) 能を調べた。サイトゾール分画については、マイクロゾーム分画 (ハムスター肝臓由来) によるAFB1-DNA 付加体生成反応系に、サイトゾール分画とグルタチオンを加え、それらの存在下における付加体生成量を測定することにより、グルタチオントランスフェラーゼ (GST) による付加体生成阻害活性を調べた。さらにサイトゾールについては、AFB1とDNAに替えて、1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)、ethacrynic acid (EA)、trans-4-phenyl-3-butene-2-one (t-PBO) または cumene hydroperoxide (CPH) を基質として反応系に加えることによって、それぞれの基質に対するGST活性を求めた。

C. 研究結果と考察

新生児ラットへのフモニシン投与によって、2ヶ月齢時の体重が雌雄共に、対照群に比して有意に低かった (図1)。3~12日齢にフモニシンを投与されたラットにおいても、こうした体重低下の影響が既に報告されている (Neurotoxicology, 1997, 18, 571-79) が、その機序の詳細は不明で

ある。

肝臓サイトゾール分画のGST活性については、フモニシン投与により、EAを基質とした活性は雄において有意に低下し、t-PBOに対する活性は雌雄共に有意に上昇することが認められたが、CDNBとCPHに対する活性にはフモニシン投与の影響が認められなかった (図2-5)。

腎臓サイトゾール分画のGST活性については、雌におけるCDNBとCPHに対する活性の上昇および雌雄におけるEAに対する活性の上昇が認められた (図6-8)。t-PBOに対する活性は検出できなかった。

肝臓S9分画のAFB1-DNA付加体生成活性は、フモニシン投与により低下傾向が見られ、とくに雄においては有意に低下したのに対し、腎臓S9分画のAFB1-DNA付加体生成活性は逆に上昇することが認められた (図9、10)。

肝臓マイクロゾームのAFB1-DNA付加体生成活性は雌雄共にフモニシン投与による低下が認められたが、これは、新生児へのフモニシン投与によって、肝臓CYPのAFB1-epoxide生成に関わる酵素が抑制されることを示唆している。一方、CDNBに対する肝臓サイトゾールのGST活性がフモニシン投与によって影響を受けなかったことと一致し、肝臓サイトゾール存在下でAFB1-DNA付加体生成活性の低下が認められず、むしろ上昇が認められた (図11、12)。この成績より、フモニシン処理群において見られた肝臓S9分画のAFB1-DNA付加体生成活性の低下は、肝臓サイトゾール分画のAFに特異的なGST活性の上昇によるものではなく、肝臓マイクロゾームのAFB1-DNA付加体生成活性の低下を反映したものと考えられる。

肝臓S9分画のAFB1-DNA付加体生成

活性の成績は、新生児のフモニシン暴露により AF の肝臓毒性と肝発がん性が減弱する可能性を示唆しているが、これについてはさらなる研究が必要である。フモニシンにプロモーター活性があることはよく知られており (Safety evaluation of certain mycotoxins in food, EHO Food Additives series 47, 2001, pp147)、ラットを用いた実験において、アフラトキシンとフモニシンが肝発がん性に対して相乗効果を示すことが報告されている (Toxicology, 2002, 171, 161-73) が、アフラトキシンの発がん性や毒性に及ぼす胎児または新生児へのフモニシン暴露の影響については不明である。本研究で認められた新生児へのフモニシン暴露による成熟後の関連酵素活性の変化は、胎児または新生児へのフモニシン暴露の影響が成熟後まで残ることを示唆している。

D. 結論

新生児ラットへのフモニシン B1 単回投与による成熟時の肝臓と腎臓の薬物代謝酵素活性に及ぼす影響を調べた結果、肝臓および腎臓のサイトゾール分画の GST 活性の変化並びに肝臓ミクロゾームと肝臓 9,000G 遠心上澄分画の AFB1-DNA 付加体生成活性の低下等が認められた。

E. 健康危機情報

無し

F. 研究発表

Poapolathep, A., Poapolathep, S., Imsilp, K., Wannapat, N., Klangkaew, N., Kusutjarit, N., Kumagai, S. Distribution and residue depletion of oxytetracycline in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Journal of Food Protection, Vol 70, in press

Tulayakul P, Dong KS, Li JY, Manabe N, Kumagai S. The effect of feeding piglets with the diet containing green tea extracts or coumarin on in vitro metabolism of aflatoxin B1 by their tissues. Toxicol. 50:339-48. 2007

K. Dong, Y. Sugita-Konishi, J. Yu, P. Tulayakul, S. Kumagai

(2008) The effects of subcutaneous administration of T-2 toxin on liver drug metabolizing enzymes in piglets. Toxicological & Environmental Chemistry, 90, 401-413.

G. 知的財産権の出願・登録状況

無し

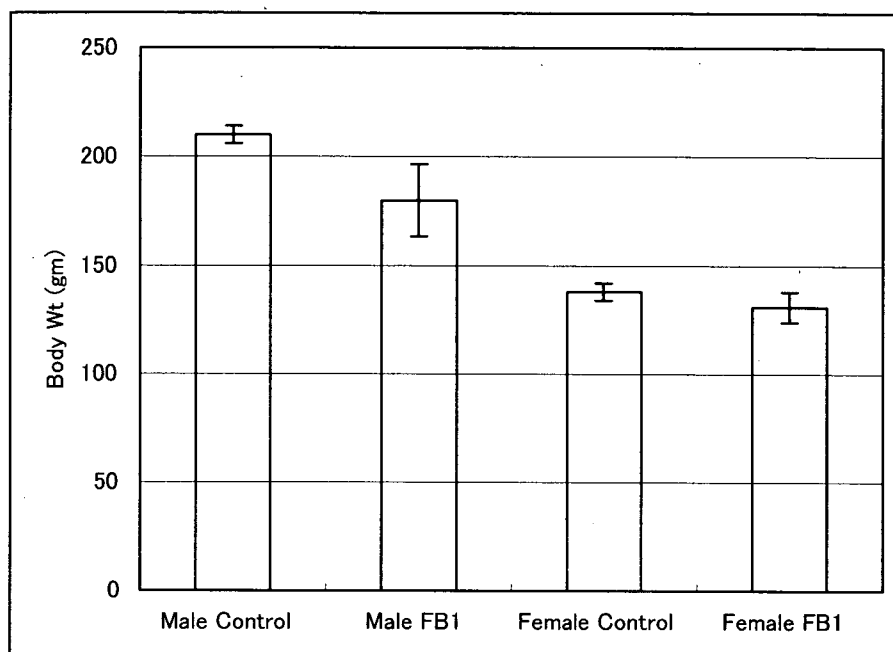


図1 2ヶ月齢時の体重
雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.01$)

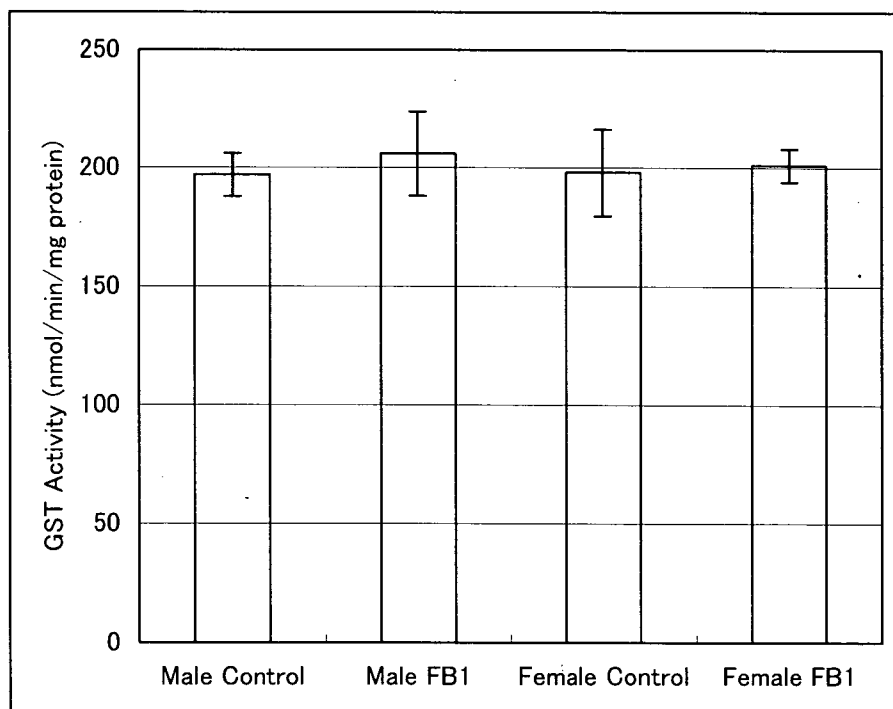


図2 肝臓サイトゾール GST 活性 (CDNB)

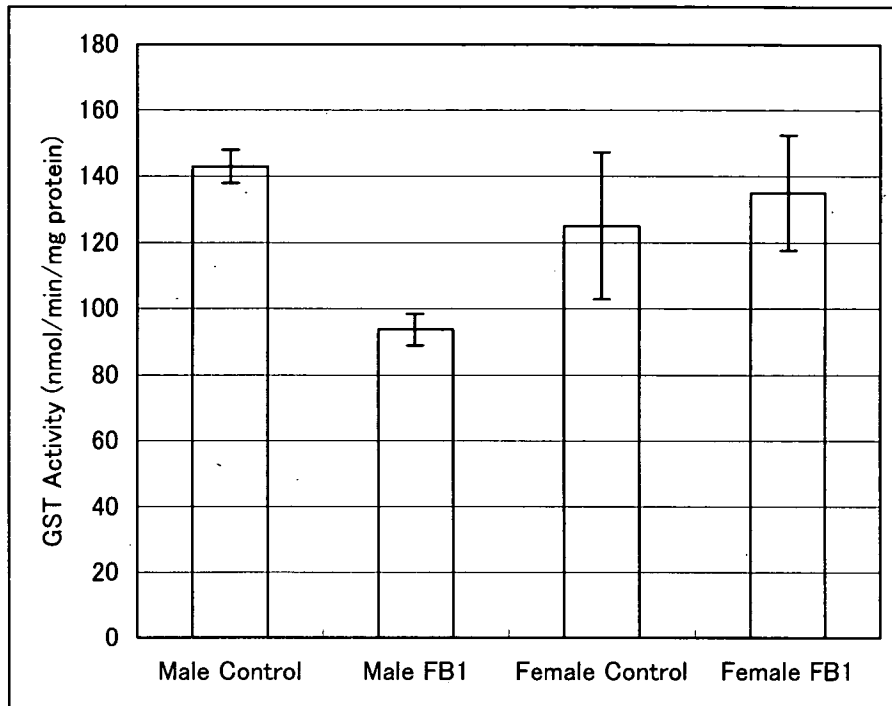


図3 肝臓サイトゾール GST 活性 (EA)
雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.01$)

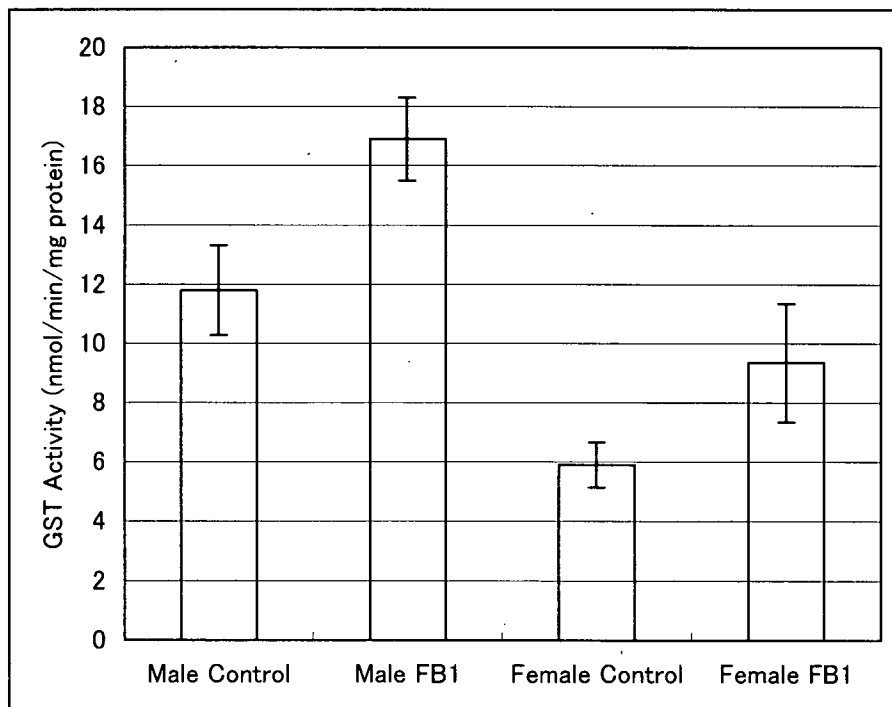


図4 肝臓サイトゾール GST 活性 (t-PBO)
雌雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.05$)

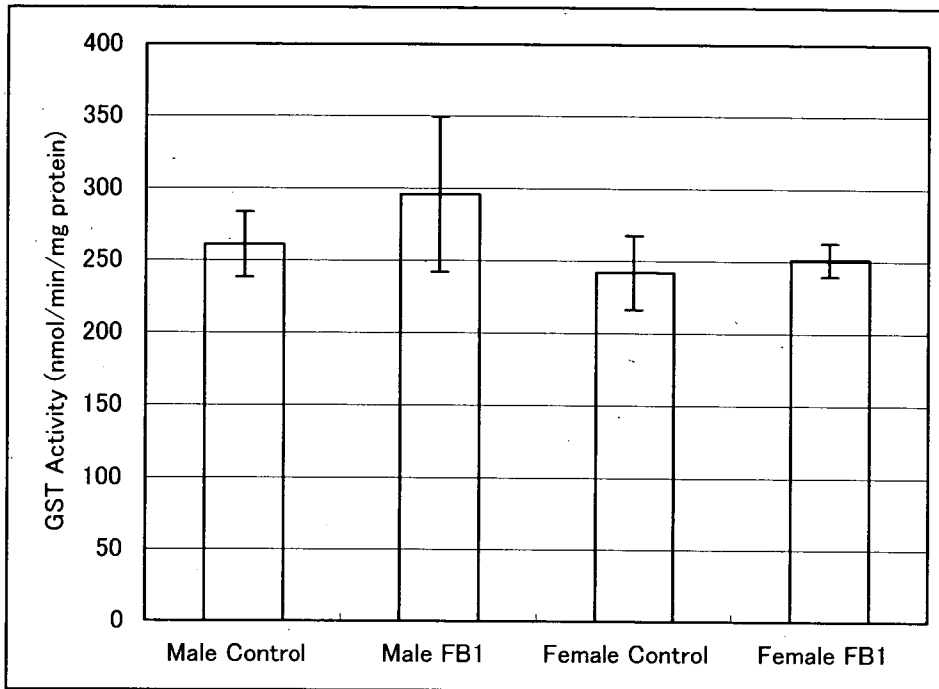


図5 肝臓サイトゾール GST 活性 (CPH)

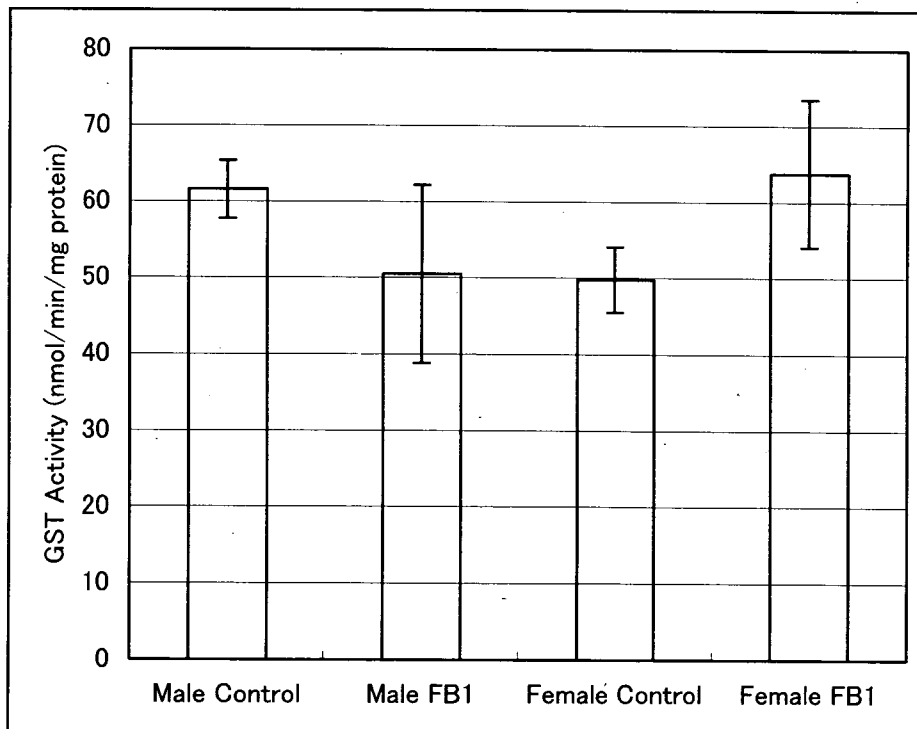


図6 腎臓サイトゾール GST 活性 (CDNB)

雌において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.05$)

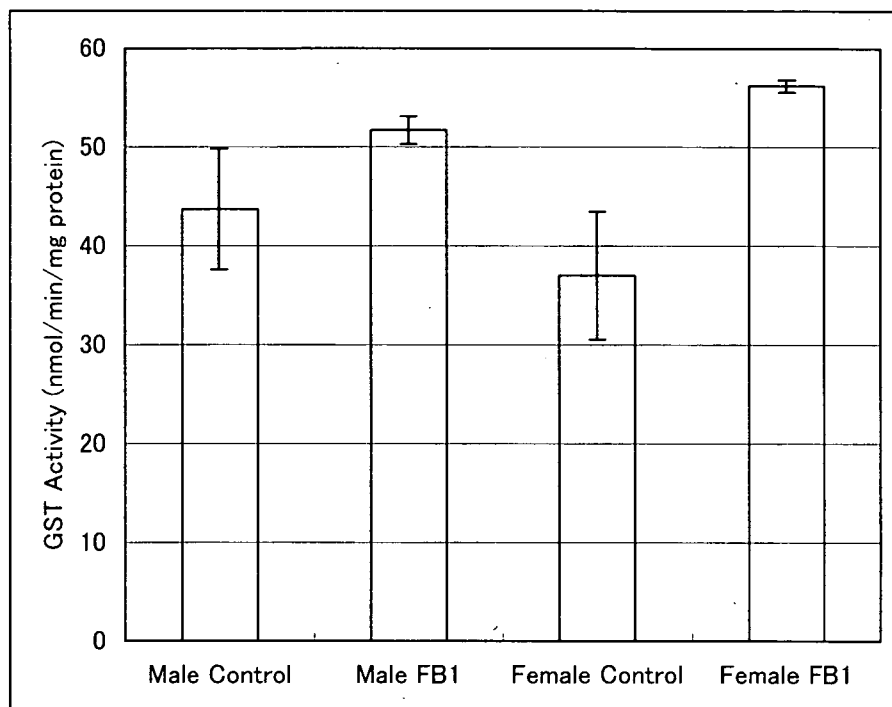


図 7 腎臓サイトゾール GST 活性 (EA)

雌雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.05$)

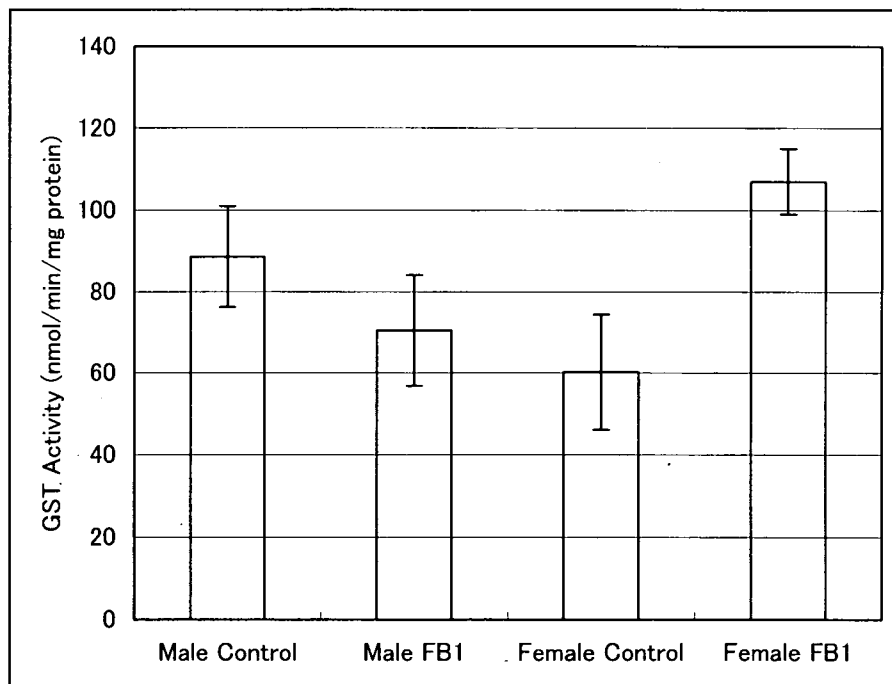


図 8 腎臓サイトゾール GST 活性 (CPH)

雌において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.01$)

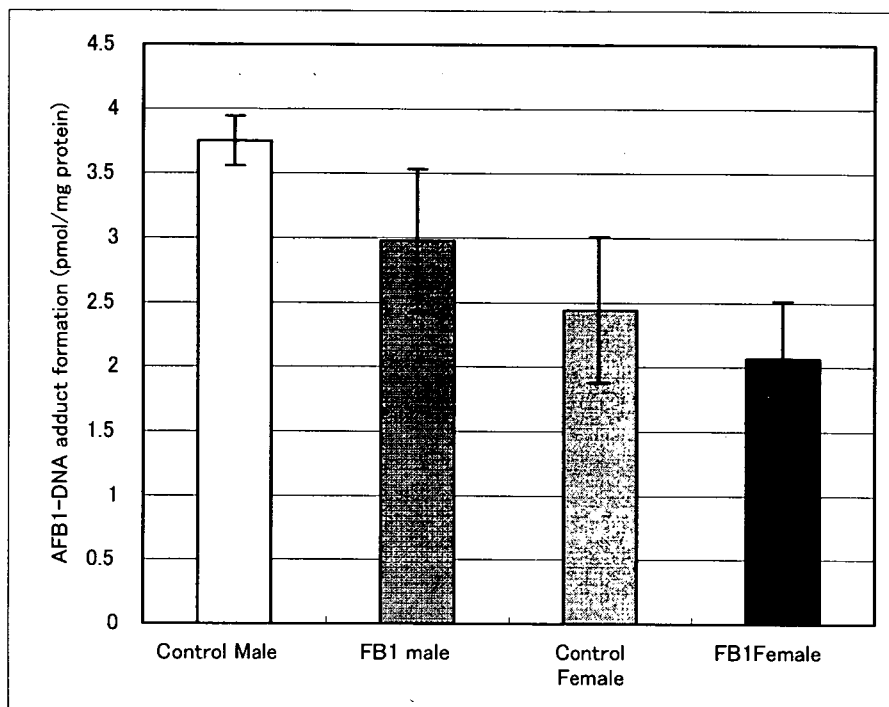


図 9 肝臓 S9 分画の AFB1-DNA 付加体生成活性
雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.05$)

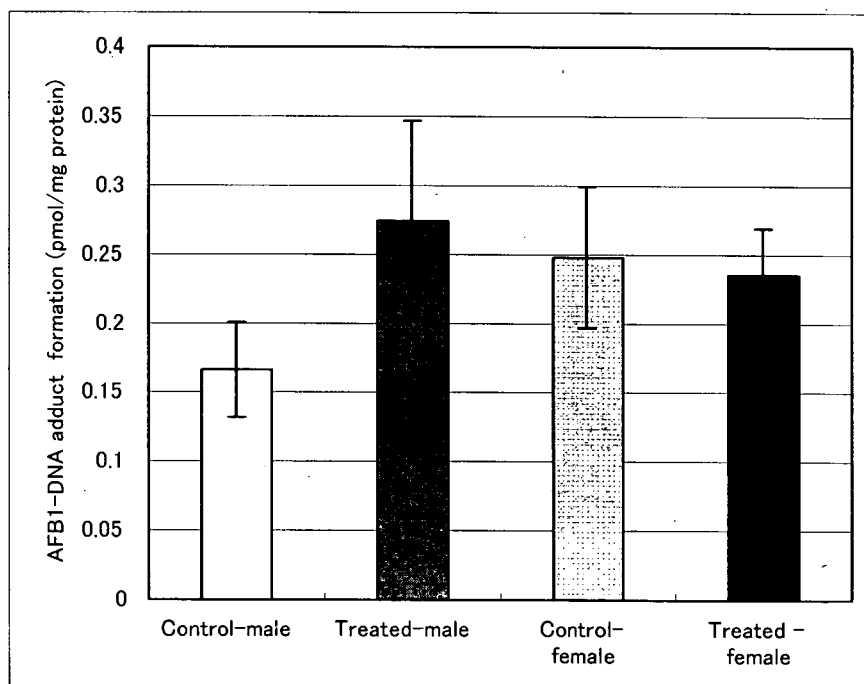


図 10 腎臓 S9 分画の AFB1-DNA 付加体生成活性
雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.05$)

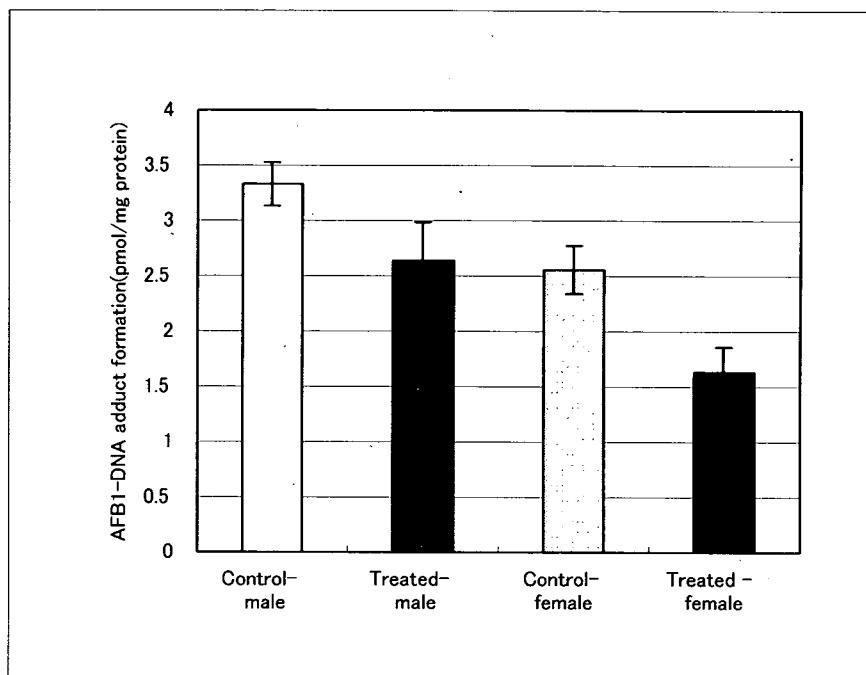


図 1 1 肝臓ミクロゾームの AFB1-DNA 付加体生成活性
雌雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.01$)

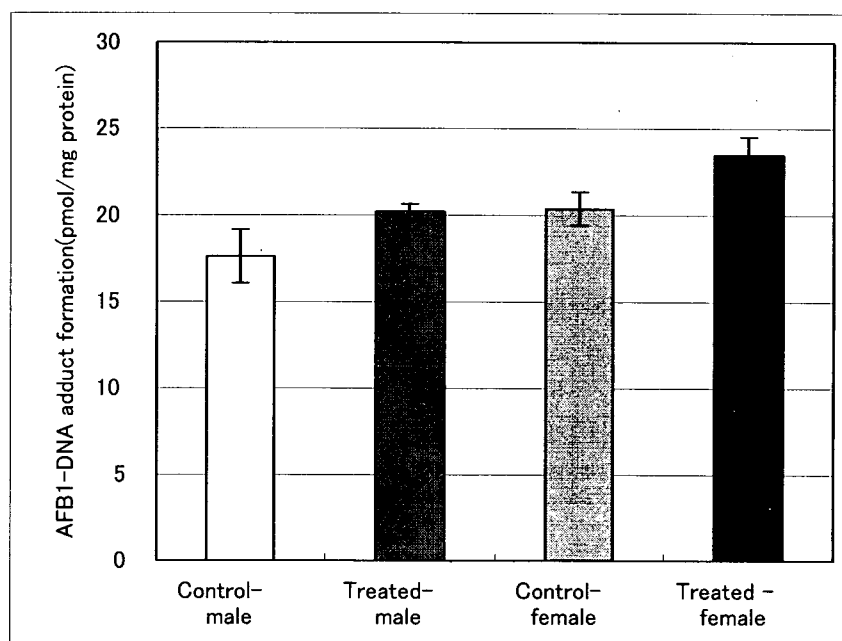


図 1 2 肝臓サイトゾール存在下での AFB1-DNA 付加体生成活性
雌雄において処理群と対照群間に有意差あり ($p < 0.01$ または < 0.05)

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性・安心確保推進研究事業）
分担研究報告書

—実験動物を用いたニバレノール誘発 IgA 腎症モデルの作出—

分担研究者 熊谷 進（東京大学大学院農学生命科学研究科）

協力研究者 渋谷 淳 東京農工大学大学院共生科学技術研究部 動物生命科学部門 准教授

研究要旨

食品中のカビ毒に起因する臓器障害の予防や治療を目的とした毒性評価手法確立の一環として、nivalenol (NIV)により誘発される臓器障害を対象として、本年度は、実験的 IgA 腎症モデルの作出ならびに高 IgA 血症を示す HIGA マウスの IgA 腎症病態進行における NIV の影響について検討した。

実験的 IgA 腎症モデルの作出として、雌 Balb/c マウスに NIV の 0, 12, 24 ppm を 4 週間ないし 8 週間混餌投与した結果、NIV の 8 週間投与により血清 IgA 値及び糸球体への IgA・IgG 沈着の増加が認められた。また、HIGA マウスの IgA 腎症病態進行に対する NIV の影響を検討した結果、NIV は HIGA マウスにおける血清 IgA 値を有意に上昇させることが確認された。以上の結果から、カビ毒 NIV による IgA 腎症の治療・予防研究におけるこれらの動物モデルの有用性が示唆された。

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 (DON) が、小麦、大麦およびトウモロコシ等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、ヒトや家畜の健康を損なうことが懸念されている (Ali et al., 1998 ; Sudakin, 2003)。

Trichothecene 系マイコトキシンは、体重増加抑制、下痢、繁殖障害、栄養障害、免疫抑制等、動物に対して様々な毒性作用を示す他、家畜において IgA 産生に影響を及ぼすことが知られており、実験動物では、マウスに 12 ppm の NIV ないし 25 ppm の DON を最低 4 週間混餌投与することにより、血清 IgA の上昇とメザンギウムへの IgA 沈着といったヒト IgA 腎症様の変化が起きることが報告されている (Hinoshita et al., 1997 ; Pestka et al., 1989)。

IgA 腎症は、日本において最も多い原発性糸球体腎炎であり、20 年以上の経過を経て、40～50%の症例が透析療法や腎移植を必要とする末期腎不全に至る疾患である (Tomino, 1999)。その病因については、遺伝的素因、食物やウイルス惹起抗原、粘膜免疫系の機能低下、T・B

細胞機能異常等の関与が報告されているが、詳細については不明な点が多く、治療・予防方法を確立することは臨床的、医療経済的にも重要な課題である。

本分担研究の一部では、食品中のカビ毒である NIV の毒性リスクである IgA 腎症を対象として、その予防・治療を目的とした毒性評価手法確立の一環として、NIV 投与により実験的 IgA 腎症モデルを作出するとともに、IgA 腎症の自然発症モデルである HIGA マウスに NIV を投与し、その病態進行に対する NIV の影響を検討した。

B. 研究方法

NIV は国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部にて生成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 2 g, リン酸水素二カリウム 1 g, 塩化カリウム 0.5 g, 硫酸マグネシウム 0.5 g, 酵母エキス 2.5 g, ポリペプトン 5 g, シュクロース 50 g, 寒天 15 g, 精製水 1 L）にて接種し 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