

200939009A

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

カビ毒を含む食品の安全性に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小西 良子

国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

平成22(2010)年5月

目 次

I. 総括研究報告	3
II. 分担研究報告	19
食品中のカビ毒汚染実態に関する研究	21
研究分担者 小西 良子	
オクラトキシンAの減衰ならびに生物学的評価法に関する研究	49
研究分担者 杉山 圭一	
日本人のフモニシン曝露量の推定	63
研究分担者 佐藤 敏彦	
日本人のオクラトキシンA曝露量の推定	67
研究分担者 佐藤 敏彦	
カビ毒の毒性と評価	89
研究分担者 局 博一	
分析法のバリデーション等に関する研究	103
研究分担者 田中 敏嗣	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	135

I. 総括研究報告書

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)

カビ毒を含む食品の安全性に関する研究

総括研究報告書

主任研究者 小西 良子 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長

要旨

今年度は、1) わが国に流通している食品中のフモニシン B1、B2、B3 (FBs:FB1, FB2, FB3) およびオクラトキシン A(OTA) の汚染実態調査、2) 減衰評価のためのバイオアッセイ系の構築と米加工品の OTA 減衰実態のモデル試験 3) 我が国のフモニシンおよび OTA の曝露量の推定 4) ニバレノール誘発 IgA 腎症とデオキシニバレノールの心機能に及ぼす影響 5) 実態調査および規格基準管理のための分析法の妥当性評価の検討をおこなった。

今年度汚染実態調査では、市販食品 16 食品目 200 試料について FBs を LC/MS-MS を用いて、市販食品 19 食品目 355 試料について OTA(OTA) を、HPLC—蛍光検出器を用いて測定した。FBs は、コーングリッツ類では測定したすべての検体から、コーンスナックから、90 %の頻度で検出された。コーンフレークでも 75 %、ポップコーンでは約 60 %であった。一方米、生とうもろこし、生アスパラガス、大豆においては定量限界未満であった。FBs 汚染の寄与率はとうもろこし加工品であり、特にコーンスナックが今後注意が必要であることが示唆された。OTA は、コーングリッツ等のとうもろこし製品、大麦、紅茶、ウーロン茶、米からは検出されなかったが、小麦粉、そば(そば粉) およびパスタでは 40~60 %の検出率であった、インスタントコーヒー、ココアからは 90 %以上、コリアンダーからは 80 %以上検出された。OTA では、主食として食される小麦粉、そば、パスタは寄与率の高い食品であるといえるが、ハーブ類や嗜好品においても OTA の汚染が高いものも多い。

OTA については、その減衰ならびに高感度のバイオアッセイ系について検討を行った。OTA の汚染対象としてわが国の主食である米を想定し、同加工品である日本酒の製造工程における減衰について検討した。その結果、同加工品製造工程において OTA は、醸造終了した後に行われる圧搾工程後において約 8.4 %の残留に留まるとの結果を得た。また、OTA の毒性評価法としてバイオアッセイ系の構築については、ヒトマクロファージ様細胞を用いた TLR シグナル阻害活性を指標としたアッセイ系の構築に成功した。

次に、上記のデータを基に、日本人が各種食品を摂取することによる FBs および OTA の曝露量の推定をモンテカルロ法によるコンピュータシミュレーションを用いて行った。FBs の曝露量推定値は、1 歳~6 歳までの群で体重 1 kg あたりの一日曝露量がもっとも高くなり、99 パーセンタイル値は、規制なしの場合 191.56、規制ありの場合 170.29 ng/kg 体重/日となった。7 歳以上の群では、規制の有無にかかわらず 99 パーセンタイル値は、いずれも 100 ng/kg 体重/日以下であった。この値は JECFA が設けた耐容摂取量 (2000 ng/kg 体重/

日)を下回っていた。OTAの暴露量推定値は、1歳~6歳までの群で体重1kgあたりの一日曝露量をもっとも高くなり、99パーセンタイル値は、規制なしの場合5.008,規制ありの場合5.006 g/kg体重/日となった。この値は1週間換算した場合でもJECFAが暫定的に設けた耐容摂取量(100 ng/kg体重/週)を大きく下回っていた。

毒性評価においては、今年度は 昨年度終了したニバレノール(NIV)誘発 IgA 腎症に対する SMTP-7 の修飾作用の検討に用いた動物実験の腎組織での IgA 蛍光免疫染色像の画像解析により、マウス IgA 腎症の病態メカニズムには、糸球体糸膜における組織リモデリングの関与することが示唆された。さらにデオキシニバレノール(DON)は伝導障害や異所性刺激生成を主とする心機能異常を引き起こすこと、また投与直後の自律神経活動の著しい低下が生じることが明らかになった。

「カビ毒試験法評価委員会」では、発がん性を有するアフラトキシンについて、落花生の総アフラトキシン及び乳中のアフラトキシン M1 試験法のコラボラティブスタディを実施することによってその妥当性を委員会で評価した。室内併行性、室間併行性等を評価した結果、本分析法の妥当性が認められると判定した。さらに、食品衛生法に定めている総アフラトキシン及びアフラトキシン B₁ 試験法以外の方法によって試験をする場合に、その試験法の妥当性を各試験機関が評価するためのガイドラインについて、検討し、策定した。

	鎌田洋一	国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部
研究分担者：		
小西 良子	国立医薬品食品衛生研究所	大西貴弘 国立医薬品食品衛生研究所
局 博一	東京大学大学院	衛生微生物部
田中 敏嗣	神戸市環境保健研究所	
杉山 圭一	国立医薬品食品衛生研究所	青山幸二 (独)農林水産消費安全技術センタ ー (FAMIC)
佐藤 敏彦	北里大学医学部	中島正博 名古屋市衛生研究所
		甲斐茂美 神奈川県衛生研究所
研究協力者		田端節子 東京都健康安全研究センター
渋谷 淳	東京農工大学大学院共生科学技術 研究部	法月廣子 (財)日本穀物検定協会
斉藤 史朗	北里大学医学部	小木曾基樹 (財)日本食品分析センター 多摩研究所
石黒瑛一	(財)日本食品分析センター	鈴木 剛 (財)日本冷凍食品協会
堀江正一	大妻女子大学家政学部	和田丈晴 (財)化学物質評価研究機構
永山敏廣	東京都健康安全研究センター	菊川浩史 (財)食品分析開発センター
山本勝彦	名古屋学芸大学短期大学部	佐久間久子 国立医薬品食品衛生研究所
内藤成弘	(独)農業・食品産業技術総合研究 機構食品総合研究所	渡辺 康 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

カビ毒はカビが産生する二次代謝物であり、人や動物に健康被害を引き起こす。カビ毒は自然毒であるため、気候、土壌等の環境、天候などの影響を受けやすく、その制御は極めて困難とされる。また、世界的にカビ毒の食品汚染が報告されていることから、国際的な機関での取り組みが為されている。いままでにパツリン、総アフラトキシンやOTAに関しては、コーデックス委員会で食品規格が設定されている。また、国際的に問題となりながら、基準値が未設定の主要カビ毒についても、WHO/FAO 食品添加物・汚染物合同専門家会議 (JECFA) や欧州食品安全機構 (EFSA) による毒性評価が進んでいる。

近年このような国際的動向を受けて、わが国においても基準値策定を視野に入れた科学的根拠の蓄積が必要となってきた。すでに、平成16年度から18年度までの厚生労働科学研究事業において、総アフラトキシン、OTA、フモニシン (FBs) を対象に3年間通年実態調査を行い、総アフラトキシンに関する成果は、食品安全委員会の審議資料となっている。一方、OTA および FBs については、寄与度の高い食品を限定すること、より正確な暴露評価に資する実態調査データの収集が必要となったことから、本研究事業で実態調査に取り組んでいる。

カビ毒の実態調査に用いる試験法や規格基準を担保するために行う公定法は、その妥当性を国際的にも評価されるべきものである。そこで、本研究事業では、科学的な知見を有した専門家で組織しカビ毒試験法評価委員会を設立し、その妥当性を評価することとした。

減衰に関する研究も正確な暴露評価を行う上で重要な知見となる。従来の方法では、最終食品に

含まれるカビ毒は、有機溶媒を用いて対象となるカビ毒のみを抽出して測定する手法で分析されてきたが、近年、カビ毒と食品成分との複合体の存在がクローズアップされ、複合体としての毒性または含有量の把握がもためられている。本研究では、最終食品での毒性をありのまま測定できる感度の高いバイオアッセイ法を開発するとともに、それらの毒性を明らかにする。実態調査で得られたデータと減衰率等を基に、暴露評価を行った。

一方わが国におけるトリコテセン系カビ毒による共汚染は、生産者レベルでの積極的な取り組みからその汚染頻度および濃度に改善が見られているが、現在のところ、デオキシニバレノール (DON) のみに暫定的基準に定まっているに留まっている。そのため、DON を含めたトリコテセン系に対して基準値を策定する必要があるか否かを検討するために、これらのカビ毒を対象とした新規の毒性研究が必要とされている。

B. 研究方法

1) わが国に流通している食品中のFB1, FB2, FB3 およびOTA 汚染実態調査

FB1, FB2, FB3 の分析

試料をミキサーまたは遠心粉碎器で粉碎し混合してから振とう抽出し、イオン交換カートリッジカラムでクリーンアップを行なった。溶出液をLC/MSによる分析に供した。この方法で回収率が得られない食品目に関しては、それぞれに適した試験法を確立し測定した。

OTA の分析

固体試料はミキサーあるいは遠心粉碎器等で粉碎し、均一になるように良く混合してから、食品目に適した抽出液でそれぞれ振とう抽出した。ワイン、ビールなど液体検体については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混合した。抽出物は、イムノアフィニティーカラム (オクラプレップ (r-Biopham-Rhone 社)) でクリーンアップを行なった。測定はHPLCで行い、確認はLC/MS/MSで行った。

2) OTA の減衰ならびに生物学的評価法に関する研究

【細胞培養・各種試料の調製】

ヒトモノサイトの THP-1 細胞は Human Science Research Resources Bank (Tokyo, Japan) より入手した。NF- κ B 依存性プロモーター領域の下流にホタルルシフェラーゼ遺伝子を連結した NF- κ B 依存性レポーター遺伝子を安定的に保持したマウスマクロファージ様細胞 RAW264 (ELAM/RAW264) および IFN- β プロモーター領域の下流にホタルルシフェラーゼ遺伝子を連結した IFN- β 依存性レポーター遺伝子を安定的に保持したマウスマクロファージ様細胞 RAW264 (IFN- β /RAW264 (武蔵野大学 室井准教授より供与)) を用いた。

【レポーターアッセイ】

レポーター遺伝子を保持した細胞株である ELAM/RAW264 と IFN- β /RAW264 は、OTA (3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 μ g/ml) およびエンドトキシン 100 ng/ml をそれぞれ含む DMEM を各 well あたり 500 μ l を加え細胞を培養し、6 時間後培養液を除去した。細胞は Passive Lysis Buffer 5 \times (Promega) を 5 倍希釈したものをセルスクレイパーで細胞を掻き取り、その上清を試料としレポーターアッセイに供した。

THP-1 細胞はマクロファージ様細胞に分化させ、トランスフェクションを行った。トランスフェクション処理した細胞は、種々の濃度の OTA および

エンドトキシンを加えて培養し、6 時間後培養液を除去した。その後、遠心を行い、上清を試料としレポーターアッセイに供した。

【清酒小仕込試験】

通常の清酒の醸造に準じて試験を行った。留仕込は以後 1.5 $^{\circ}$ C ずつ品温を上げ、留仕込 4 日目には品温を 15 $^{\circ}$ C とし以後同温度を維持した。なお、原料の米は五百万石を、酵母は協会 7 号を使用した。

【OTA の分析】

OTA のイムノアフィニティーカラムで前処理後 HPLC-蛍光検出器で測定した。

3) 日本人の OTA 曝露量の推定

OTA に関しては、全国より集められた 28 種類の各種食品の実態調査 摂取量の存在したものについてのみシミュレーションを行なったので、結局シミュレーションを行なったのは以下の食品になった。

- ・焙煎コーヒー
- ・缶コーヒー
- ・インスタントコーヒー
- ・チョコレート
- ・ココア
- ・ビール
- ・小麦
- ・レーズン
- ・そば類

これらの食品について、OTA の含有量の平均値と標準偏差 (分散) を利用して対数正規分布のシミュレーションデータを各 10,000,000 サンプル作成した。上記の 2 つの 10,000,000 サンプルのデータセット (汚染量のデータセットと摂取量のデータセット) を用いて年齢階級毎 1000 万人の曝露

量分布をシミュレーションにより求めた。この際、上記の条件で4つのシナリオによる4つの結果を得た。

- ・LOQ未満はLOQの二分の一の一樣分布で規制なし
 - ・LOQ未満はLOQの二分の一の一樣分布で規制の基準値は5 μ g/kg
 - ・LOQ未満はゼロで、規制なし
 - ・LOQ未満はゼロで、規制の基準値は5 μ g/kg
- フモニシンに関しては、全国より集められた22種類の各種食品の実態調査結果から作成した。

- ・コーンスナック
- ・コーンフレーク
- ・雑穀米
- ・ビール
- ・ポップコーン

これらの食品について、フモニシンの含有量の平均値と標準偏差(分散)を利用して対数正規分布のシミュレーションデータを各10,000,000サンプル作成した。上記の2つの10,000,000サンプルのデータセット(汚染量のデータセットと摂取量のデータセット)を用いて年齢階級毎1000万人の曝露量分布をシミュレーションにより求めた。この際、上記の条件で4つのシナリオによる4つの結果を得た。

- ・LOQ未満はLOQの二分の一の一樣分布で規制なし
- ・LOQ未満はLOQの二分の一の一樣分布で規制の基準値は加工食品の場合は1000ng/kg、未加工品の場合は4000ng/kg
- ・LOQ未満はゼロで、規制なし
- ・LOQ未満はゼロで、規制の基準値は規制の基準値は加工食品の場合は1000ng/kg、未加工品の場合は4000ng/kg

(ソフトウェアとしてSAS社のBase SASを使用)。

4) カビ毒の新しい毒性評価

(1) ニバレノール(NIV)誘発IgA腎症に対するSMTP-7の修飾作用の検討

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。

NIVを含む4ppmの混餌用量でBALB/cマウスに投与したIgA腎症を誘発するモデルで、SMTP-7を10mg/kg/日、週3回の割合で、8週間の間NIVと同時投与する群、ないし16週間NIVを投与して最後の4週間にSMTP-7を投与する群を設定して実験を行った。解剖時には、腎臓を摘出して重量を測定後、組織について、10%中性緩衝ホルマリン液にて固定するか、OCT compoundにて包埋後、ドライアイス上で急速凍結した。ホルマリン固定標本については、定法に従ってパラフィン包埋後、薄切、ヘマトキシリンエオジン染色ならびにPAS染色を施した。糸球体におけるIgA沈着については、200倍視野で1個体につきランダムに5ヶ所観察し、目視による蛍光強度について0から3のスコアをつけて評価した。また、WinROOF(version 5.7, Mitani Corp., Fukui, Japan)を用いて、腎糸球体のIgA沈着部の面積当たりの蛍光強度値を測定した。統計学的解析は、体重、血清IgA・IgG濃度、臓器重量、IgA沈着の蛍光強度の定量値についてBartlettの方法で検定し、等分散の場合はTukeyの多重比較を行い、不等分散の場合はSteel-Dwassの多重比較検定を行った。目視によるIgA沈着の蛍光強度については、Mann-Whitney's U-testによる比較を行った。

(2) デオキシニバレノール(DON)の心機能に及ぼす影響

Wistar ラットにテレメトリー送信機の埋め込み手術をおこなった。8 週齢で導入した後、1 週間後に無線で心電図を搬送するためのテレメトリー送信機 (心電図用、A10ETA-F20, Data Science, St. Paul, MN) の体内埋め込み手術を行った。この埋め込み手術の 1 週間後から正式な心電図記録を開始し、DON の投与後 3 日間にわたって連続記録した。

投与は、各群 4 匹ずつの実験群を 4 群設けた。1 群は対照群とし DON を含まない溶媒 (プロピレングリコール) のみを 0.2 ml 投与した。他の 3 群は、DON (和光純薬、標準品) を 0.5 mg/kg、1 mg/kg または 2 mg/kg の用量で各ラットに皮下投与した。DON 投与の 24 時間前に溶媒 (プロピレングリコール) のみを 0.2 ml 投与して同一個体における投与対照とした。

データ解析および統計処理は心電図データに基づいて、心拍数、心電図波形 (不整脈を含む) および心拍変動解析を専用のソフトウェアを用いて行った。一方、DON 投与による不整脈の種類と発現頻度を観察した。心拍間隔のゆらぎ成分の高速フーリエ変換によるパワースペクトラムを上記のソフトウェア (SRV2W) によって計測し、交感神経活動と副交感神経活動を反映する低周波成分 (LF) と副交感神経活動を反映する高周波成分 (HF) のパワー値を求め、DON 投与による影響を調べた。

群間の有意差検定は Kruskal-Wallis の一元配置分散分析法によって行い、次いで対照群と DON 投与群との間の有意差検定は Shirley-William test を用いた。また、不整脈の発現頻度の検定は分散分析 (ANOVA) によって行った。いずれも $P < 0.05$ で有意差ありとした。

5) 分析法のバリデーション等に関する研究

カビ毒試験法評価委員会を設立した。組織は次

の通り

① 委員長：

田中敏嗣 (神戸市環境保健研究所)

② 実務委員：

石黒瑛一 (財) 日本食品分析センター

永山敏廣 (東京都健康安全研究センター)

中島正博 (名古屋市衛生研究所)

堀江正一 (大妻女子大学)

③ 統計学的評価委員：

山本勝彦 (名古屋学芸大学短期大学部)

内藤成弘 (独) 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所)

④ 事務局 (作業部会)：

小西良子 (国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部)

鎌田洋一 (国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部)

大西貴弘 (国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部)

本委員会は、食品のカビ毒分析および統計解析の専門家を集め、将来我が国で基準値が設定された場合に通知法となりうる方法または実態調査に用いられるカビ毒試験法の妥当性を科学的にオーソライズする委員会とした。AOAC などの手順を参考に、プロトコールの評価、コラボラティブスタディの結果評価を行う。

C. 研究結果

1) わが国に流通している食品中の FB1, FB2, FB3 および OTA 汚染実態調査

平成 21 年度の FB1, FB2, FB3 の汚染は、米、小麦粉、大豆、生とうもろこし、アスパラガス、粉末・液体コンスープにおいてはいずれも定量限界未満であった。検出率としては、コーングリッ

ツ類は100%、コーンスナックは90%、コーンフレークは75%、ポップコーンは60%と検出率は高かった。昨年度高い検出頻度を記録した雑穀米およびビールにおいては45%とおよび25%と低い検出率であった。コーングリッツ類のFB1の陽性平均汚染濃度は例年よりやや高い値であり、FB1の最大値として1928.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が検出され、昨年より高い値であった。とうもろこし製品のコーンスナックのFB1の最大値は、506 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上であった。大豆加工品からFB1が検出された。

OTAの汚染は、コーングリッツ等のとうもろこし製品、大麦、紅茶、ウーロン茶、米からは検出されなかったが、インスタントコーヒーでは93%、焙煎コーヒーでは87%、缶コーヒーでは27%、ココアでは95%、チョコレートでは65%、レーズンでは40%、ワインでは45%、乾燥イチジクでは10%、小麦粉では40%、パスタでは49%、そば(そば粉)では60%、オートミールでは30%、ビールでは50%、コリアンダーでは80%の頻度で検出された。特に、コリアンダーは、1頻度のみならず汚染度も比較的高く、最高9.7 ng/g、平均3.5 ng/gの汚染が認められた。インスタントコーヒーの検出頻度も高く陽性検体平均汚染量は、0.8 ng/gであり、最高値2.26 ng/gはほぼ昨年度同値であった。

2) OTAの減衰ならびに生物学的評価法

(1) バイオアッセイ系の構築

RAW264におけるエンドトキシン誘導性NF- κ B依存性レポーター活性におよぼすOTAの影響を検討した結果、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のOTA存在下でコントロールと比較し約40%のレベルまで抑制された。一方、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下のOTA存在下ではエンドトキ

シン誘導性NF- κ B依存性に対して顕著な変化認められなかった。

RAW264においてエンドトキシンによる誘導されるIFN- β プロモーター依存性レポーター活性におよぼすOTAの影響を検討した結果、25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度のOTA存在下において濃度依存的な抑制効果が認められた。一方、12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下のOTA存在下ではエンドトキシン誘導性IFN- β プロモーター依存性レポーター活性に対して顕著な変化は認められなかった。

マクロファージ様細胞に分化させたTHP-1細胞においてエンドトキシンによる誘導されるNF- κ B依存性レポーター活性におよぼすOTAの影響を検討した結果、6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度のOTA存在下において濃度依存的な抑制効果が確認された。以上の結果から、本研究で検討した上記3種類のアッセイ系においては、マクロファージ様細胞に分化させたヒト単球由来細胞THP-1細胞におけるエンドトキシン誘導性NF- κ B依存性レポーター活性がOTAに最も感受性が高いことが明らかとなった。

(2) 清酒発酵過程におけるOTAの消長

小仕込試験による清酒醸造工程におけるOTAの消長についてHPLCを用いて検討を行った。添加回収実験において、発酵前サンプルにおいては93.1 \pm 8.4%、発酵後サンプルにおいては93.5 \pm 9.0%の回収率を得た。小仕込試験5日目サンプルに5ppbのOTAを添加した場合、その残存率は5日目で14.6%、発酵後(25日目)では8.4%との結果を得た。以上の結果から、清酒醸造工程におけるOTAは発酵過程にかかわらず、可溶性画分に留まる可能性は低いことが示唆された。

3) 日本人のFBsおよびOTAの曝露量の推定

FBsの曝露量の推定：モンテカルロシミュレーション

ョンを行った結果得られた年齢区分別では、1歳～6歳までの群で体重1kgあたりの一日曝露量をもっとも高くなり、年齢が上がるにつれて体重1kgあたりの曝露量は低下する。各規制シナリオを比較した場合、当然ことながら「規制なし」の場合の曝露量の方が高くなっており、だいたい10%程度曝露量が大きい。「1歳～6歳」までの群の99パーセンタイル値でみると、規制がない場合は191.56 ng/kg 体重/日、規制を設けた場合でも190.49 ng/kg 体重/日となった。7歳以上の群では、99パーセンタイル値は、いずれも100 ng/kg 体重/日以下であった。

OTAの曝露量の推定：モンテカルロシミュレーションを行った結果得られた年齢区分別では、1歳～6歳までの群で体重1kgあたりの一日曝露量をもっとも高くなり、年齢が上がるにつれて体重1kgあたりの曝露量は低下するが、20才以上になると摂取している該当食品の種類が増えるために曝露量がまた上がっている。各規制シナリオを比較した場合、当然ことながら「規制なし」の場合の曝露量の方が高くなっているが、差は僅かである。「1歳～6歳までの群の99パーセンタイル値でみると、規制がない場合は5.008 ng/kg 体重/日、規制を設けた場合でも5.007 ng/kg 体重/日となった。7歳以上の群では、99パーセンタイル値は、いずれも4.0 ng/kg 体重/日未満であった。

4) カビ毒の毒性と評価

(1) NIV誘発IgA腎症に対するSMTP-7の修飾作用の検討

IgAについては、対照群では糸球体にほとんど蛍光が観察されなかったが、NIV単独群およびNIV+SMTP-7併用群では糸球体メザンギウム領域

においてIgAの顕著な顆粒状沈着が認められた。糸球体におけるIgA蛍光強度値は、NIV単独群に比べてNIV+SMTP-7併用群で有意な低下が認められた。

(2) DONの心機能に及ぼす影響

- ・心拍数(HR)の変化：対照群に比べて、有意な変化は観察されなかった。
- ・心電図波形成分の変化：PQ間隔は2 mg/kg DON投与群で投与後30、60、90分目で対照群および他の投与群に比べて延長する傾向が示されたが、とくに90分目では有意($P<0.05$)に延長した。
不整脈の発現性：対照群では投与前後の全期間を通じて不整脈は観察されなかったが、DON投与群では投与後に第2度房室ブロックの濃度依存性の出現が認められ、2 mg/kg DONでは有意($P<0.05$; ANOVA)な発現(平均3.75 episodes/rat; n=4)が示された。また、房室ブロックとともに洞性徐脈や補充収縮も認められる傾向があった。さらに、DON投与群では上室性期外収縮(supraventricular extrasystole)および心室期外収縮(ventricular extrasystole)の発現が認められた。
- ・心拍変動解析(LF、HF)：0.5mg/kg DON投与群および1.0mg/kg DON投与群では投与後90分までパワー値がもっとも低くなり、その後は120分から180分まで増大する傾向を示した。一方、2mg/kg DON投与群では投与後はパワー値が時間の経過とともに明瞭に減少し、120分目、150分目および180分目では対照群に比べて有意($P<0.05$)に減少した。一方、LFパワーはすべてのDON投与群で、投与後90分目でもっとも減少する傾向を示した。1 mg/kg DON投与群では投与後90分目に、2 mg/kg DON投与群では投与後60、90、120、150分目で有意差($P<0.05$)が

認められた。交感神経と副交感神経のバランスを示す LF/HF は、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kgDON 投与群でいずれも 90 分目に有意 ($P < 0.05$) に低い値を示し、2mg/kgDON 投与群では 120 分目においても有意に低い値を示した。

5) 分析法のバリデーション評価

「落花生の総アフラトキシン試験法の妥当性確認のためのコラボラティブスタディ」及び「乳中のアフラトキシン M1 試験法の妥当性確認のためのコラボラティブスタディ」の結果を、AOAC International および JAS, ISO 法の指針に沿って議論し、その妥当性を評価した。

「食品中に残留する総アフラトキシン及びアフラトキシン B1 に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」については、平成 19 年 11 月 15 日付け食安発第 1115001 号「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」に準じて作成した。

D. 考察

1) わが国に流通している食品中の FB1, FB2, FB3 および OTA 汚染実態調査結果

今年度の我が国の FBs の汚染は、大豆、生鮮アスパラガスには認められなかった。しかし大豆加工品において検出されたことから、注意深く分析法等を検討する必要がある。

とうもろこしは加工品も含めて FBs の汚染への寄与率が最も高い食品であり、とくに子供の消費量の多いスナック類に比較的濃度の高い FBs が検出されていたことから、今後もモニタリング等を続けていく必要があると考えられた。

OTA は、ココア、インスタントコーヒーの汚染頻度が昨年度に続き 100 %近い値を示していたが、年齢層によっては慢性的に大量に摂取するグルー

プもあり、すでに韓国ではコーヒーに OTA の基準値を設定しているため、我が国においても考慮する必要があるかもしれない。我が国では米、小麦、そばが主食であるが、米には OTA の汚染は認められなかった。しかし小麦、そばにおいては低レベルであるが OTA の汚染は検出されている。今年度の OTA 汚染を例に挙げると平均濃度が 0.3 ng/g 程度であった。JECFA で設定された一週間耐容摂取量は体重 1 kg 当たり 100 ng であることから、50 kg 体重の成人で一週間 5000 ng まで摂取しても健康被害は出ないとされている。この成人が 1 日一回小麦またはそばを食し、一回の食事に 100 g 程度摂取すると仮定した場合、一週間耐容摂取量の約 4 %ほどにしかならない。

近年、OTA、FBs およびアフラトキシンの共汚染の報告が多くなってきている。分析技術の進歩からいままで不明であったものが明るみに出てきたといえるが、温暖化や気候不順の原因も否定はできない。特にとうもろこしの共汚染は問題であり、輸入とうもろこしにおいて、複数のカビ毒の同時モニタリングが必要であると思われる。

2) OTA の減衰ならびに生物学的評価法

今回、OTA のバイオアッセイ系への応用の観点から、活性化マクロファージにおけるエンドトキシン誘導性シグナル伝達系におよぼす影響を検討した。マウスマクロファージ様細胞 RAW264 とヒト単球由来細胞 THP-1 をマクロファージ様細胞に分化させた細胞の 2 種類の細胞を用いて検討した結果、ヒト単球由来細胞 THP-1 で惹起されるエンドトキシン誘導性に NF- κ B 依存性レポーター活性が検討したなかで最もセンシティブであることが明らかとなった。この結果は、細胞がマウスではなくヒトであることから、その毒性評価はより正

確な影響を反映していることが期待できる点で優位性を有すといえる。

一方、清酒発酵過程における OTA の消長については、今回の一連の研究から原料中に混入した OTA は、その醸造期間中において少なくとも上清画分から約 14.6 %の未満の検出に留まる可能性が明らかとなった。この結果は、醸造過程の最終産物としての酒中にはオクラトキシン A は移行しにくいことを強く示唆している。

3) 日本人の FBs および OTA の曝露量の推定

FBs については、2006 年に JECFA で暫定的に設けられた一日あたりの耐容摂取量が 2000 ng/kg 体重/日と定められた。それゆえ、日本人のほとんどが FBs の曝露によって健康影響を受けることはないものと推定される。

OTA については、2007 年に JECFA で従来から用いられてきた暫定的評価基準である一週間耐容摂取量 100 ng/kg を用いてリスク評価を行うこととなった。今回のシミュレーションからは、曝露量の一番多い即ち、1~6 歳群においても 99 %点での一日の曝露量は 5.008 ng/kg 体重/日となっている。この結果は、単純に 7 倍して一週間の曝露量を計算した場合でも、たかだか 40 ng/kg 体重/日にすぎない。それゆえ、日本人のほとんどが健康影響を受けることはないものと推定される。

ただし、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する可能性がある。

しかし、実際に OTA 含有食品の摂取について、考え得る最大の摂取量と考えられるものを基準値

として設け、それ以上の摂取をデータから削除して得た結果と比べてみてもさほどの違いは見られなかったため、数理シミュレーションによる非現実的な結果が今回の分析結果を左右しているものとは考えられない。

4) カビ毒の毒性と評価

BALB/c マウスを用いた NIV により誘発される IgA 腎症において、8 週間の SMTP-7 併用投与による修飾作用について、IgA 及び IgG の血清中濃度ならびに糸球体への IgA の沈着を検討した。その結果、NIV の単独投与群及び NIV+SMTP-7 併用投与群では、血清中 IgA 濃度の上昇が観察され、さらに糸球体への IgA 沈着が認められた。SMTP-7 投与により、腎糸球体の IgA の蛍光強度に有意な低下が認められた。以上の結果より、SMTP-7 は、急性期からの IgA 沈着に対して保護作用を示すことが考えられ、SMTP-7 による組織リモデリング機能を考慮すると、NIV による糸球体係蹄への IgA 沈着の際に、その初期から係蹄壁のリモデリングの関与していることが示唆された。

また、本 IgA 腎症モデルにおいて、16 週間 NIV を投与して、最後の 4 週間のみ SMTP-7 を短期投与することにより、腎症がより進行した時期での SMTP-7 の反応性を検討した結果、昨年度報告したように、NIV 投与群及び NIV+SMTP-7 投与群で、血清中 IgA 濃度の上昇が観察され、さらに糸球体係蹄への IgA 沈着に明らかな増強が認められた。しかし、SMTP-7 投与により、血清中 IgA 濃度及び糸球体への IgA 沈着に対する明らかな変化は認められなかった。以上の結果は、既に沈着した IgA に対して SMTP-7 によって期待されるリモデリング効果による修復作用は認められないと考えられた。

トリコセセン系カビ毒の一種である T-2 トキシ

ンでは、ブタやイヌにおいて心臓への影響が報告されているが、DON の心臓作用に関してはこれまであまり注目されていない。しかし、10~20ppm の濃度で DON を含む餌を数週間摂食したマウスでは、石灰化した心膜炎が生じることを示されている。近年、DON による肝細胞のアポトーシスや DNA 傷害は、活性酸素種の影響要因として関与する可能性が示唆されている。これらの研究知見を考慮すると、DON も T-2 トキシンと同様に心臓毒性を有していることが推測されるが、in vivo の実験も含め DON の心臓機能影響に関する知見は乏しい。

本研究では、DON 0.5, 1, 2 mg/kg の無麻酔、無拘束ラットへの皮下投与による心機能影響をテレメトリー法によって調べた。その結果、1) 1, 2 mg/kg では投与後 90 分以降に心拍数の増加が生じること、2) DON 投与により、PQ 間隔の延長 (2 mg/kg) および QT 間隔の延長 (1 mg/kg, 2 mg/kg) が生じること、3) 第 2 度房室ブロック、洞性徐脈、上室性期外収縮、心室期外収縮などの不整脈が生じること、4) 投与後 90 分で自律神経活動 (LF パワー+HF パワー) がもっとも低くなること、などが明らかになった。

DON 投与後 120 分以降にみられた心拍数の増加は、概ね HF パワー成分の低下と一致していたことから、主として副交感神経活動の低下によるものと考えられる。一方、DON 投与後 90 分では、LF パワーおよび HF パワーのいずれもが著しい低下を示したことから、この時間帯においては自律神経活動が全般的にかなり抑制された状態に陥っていることが示唆された。PQ 間隔の延長および第 2 度房室ブロックが頻繁に認められたことから、DON は心臓の心房-心室間における興奮伝導傷害をもたらすことが明らかになった。また、2 mg/kg の投与量では QRS 持続時間の延長を伴わない QT 間隔

の延長が出現したことから、DON は心室再分極過程を遅延させる可能性が示唆された。上室性期外収縮および心室期外収縮 (short-run 含む) も多く認められたことから、心臓内における正規の興奮伝導リズムから逸脱した異所性刺激生成が生じていることが示された。これらの不整脈が連続して生じる場合は心拍出量の低下と全身血圧の低下を招き個体死につながる危険性がある。上述した心機能異常は DON の心臓への直接作用と自律神経系を介した間接的な作用の両方が関与しているものと推測される。

5) 分析法のバリデーション評価

(1) 落花生の総アフラトキシン試験法の妥当性確認のためのコラボラティブスタディ

得られた有効なデータから、室内併行性 (RSD_r) と室間併行性 (RSD_b) を算出し、その値から HorRat 値を評価した。その結果、本コラボラティブスタディに用いた総アフラトキシン添加量である 8 ng/g から 32 ng/g までの範囲において、本分析法の妥当性は認められると判断された。

抽出溶媒にメタノールを使用した場合には回収率はやや低い傾向及び妨害成分が多く認められたが、真度、精度等において許容の範囲で本分析法の妥当性は認められると判断された。

前処理にイムノアフィニティーカラムを用いた場合には、回収率はやや低い傾向が認められたが、精度、HorRat 値において良好な結果で本分析法の妥当性は認められると判断された。

(2) 乳中のアフラトキシン M₁ 試験法の妥当性確認のためのコラボラティブスタディ

得られた有効なデータから、室内併行性 (RSD_r) と室間併行性 (RSD_b) を算出し、その値から HorRat 値を評価した。本コラボラティブスタディに用いたアフラトキシン M₁ である 0.05 ng/g から 1.0

ng/g までの範囲において、本分析法の妥当性は認められると判断された。

(3) 食品中に残留する総アフラトキシン及びアフラトキシン B₁ に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて

選択性、真度（回収率）、精度をそれぞれ総アフラトキシンに特異的な値を検討した。それ以外の方法は、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」に準じることを提案した。

E. 結論

市販食品 16 食品目 200 試料について FBs を、市販食品 19 食品目 355 試料について OTA を、それぞれ LC/MS および HPLC—蛍光検出器を用いて測定した。FBs は、とうもろこし類から頻度高く検出され、濃度も昨年を上回っていた。特にコーンスナックの汚染率、汚染濃度とも比較的高く、若年層の汚染が懸念される場所である。昨年度高い検出率であった雑穀米およびビールではそれぞれ 25 % および 45 % と低くなっていた。一方米、生とうもろこし、生アスパラガス、大豆においては検出されなかった。OTA は、調査に用いた小麦粉、そば（そば粉）およびパスタでは 40 % 以上の検出率であった、インスタントコーヒー、ココアからは 90 % 以上、コリアンダーからは 80 % 以上であった。測定に供した試料の中での最大値を示したのはコリアンダーであった。オートミールからも次に高い濃度が検出された。平成 16～18 年度に続き、本研究事業期間である 3 年間通年で実態調査を行った結果、FBs 汚染の寄与率はとうもろこし加工品であり、特にコーンスナックに今後注意が必要であることが示唆された。OTA では、主食として食される小麦粉、そば、パスタは寄与率の高い食品であるといえるが、ハーブ類や嗜好品において

も OTA の汚染が高いものも多かった。

FBs の曝露量推定値は、1 歳～6 歳までの群で体重 1 kg あたりの一日曝露量をもっとも高く、99 パーセンタイル値は、1～6 歳規制なし、191.56 (upper bound), 規制あり 170.29 (upper bound) ng/kg 体重/日となった。7 歳以上の群では、規制の有無にかかわらず 99 パーセンタイル値は、いずれも 100 ng/kg 体重/日以下であった。この値は JECFA が設けた耐容摂取量 (2000 ng/kg 体重/日) を下回っており、現時点では直ちに健康被害の生じる汚染ではないことが明らかになった。OTA も同様に、1 歳～6 歳までの群で体重 1 kg あたりの一日曝露量をもっとも高く各年齢区分別の 99 パーセンタイル値は、規制なし 5.008, 規制あり 5.006 ng/kg 体重/日となった。この値は 1 週間換算した場合でも JECFA が暫定的に設けた耐容摂取量 (100 ng/kg 体重/週) を大きく下回っており、直ちに健康被害の生じる汚染ではないことと考えられた。

しかし、一部の食品においては、それぞれのカビ毒汚染が検出されていること、年次変動が大きいこと、コーデックス基準値が設置されたことから、基準値のない国には規格外食品が輸入される可能性があることなどを考慮し、今後モニタリングを続けるとともに、必要時に基準値策定を視野に入れる必要がある。

次に今回 OTA の免疫毒性を指標として、パイオアッセイ系測定法構築に成功した。ヒト単球由来細胞 THP-1 をマクロファージ様細胞に分化させた細胞におけるエンドトキシン誘導性 NF- κ B 依存性レポーター活性に対する阻害作用が評価系として利用できることを明らかにした。また、清酒醸造過程における OTA の消長を検討した結果、発酵過程にかかわらず、可溶性画分に留まる可能性

が低いことが強く示唆された。

BALB/c マウスを用いた NIV により誘発される IgA 腎症に対して、組織プロテオリシス活性化化合物である SMTP-7 の修飾作用を検討した結果、SMTP-7 の急性期からの IgA 沈着に対する保護作用が認められたことから、マウス IgA 腎症の病態メカニズムには、糸球体係蹄における組織リモデリングが関与することが示唆された。一方で、既に沈着した IgA に対して SMTP-7 のリモデリング効果による修復作用は認められなかった。

DON は 0.5mg/kg の皮下投与で軽度の心臓作用があり、1mg/kg 以上では明らかな心臓毒性作用があることが明らかになった。この心毒性には DON の心臓に対する直接作用と自律神経を介した間接作用が関与することが示唆された。

落花生の総アフラトキシン試験法、牛乳・粉ミルクのアフラトキシン M1 試験法の 2 つの試験法の妥当性を評価しいずれも公定法として耐えうるものであると判断した。さらに最近の分析機器の発展に伴って、それぞれの機器で妥当性が確認できることを目的として、総アフラトキシン等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの作成を行った。

これらの結果は、基準値設定とともに妥当性が検証された分析法として、厚生行政に資することとなる。

F. 研究業績

【論文】

Yaguchi, A, Yoshinari, T., Tsuyuki, R. Takahashi, T., Nakajima, T., Sugita-Konishi, Y., Nagasawa, H., Sakuda, S.: Isolation and identification of precocenes and

piperitone from essential oils as specific inhibitors of trichothecene production by *Fusarium graminearum*". *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57 (3):846-51.

Mizutani, K., Kumagai, S., Mochizuki, N., Kitagawa, Y., Sugita-Konishi, Y., Determination of yellow rice toxin, Luteoskyrin, in rice using liquid chromatography / tandem mass spectrometry with electrospray ionization. *J Food Prot.* 2009, 72 (6):1321-6.

Sugiyama, K., Tanaka, H., Kamata, Y., Tanaka T., Sugita-Konishi Y., Reducing rate A reduced rate of deoxynivalenol and nivalenol during bread production from wheat flour in Japan, *Mycotoxins*, 59, 2009, (1), 1-6,

Tamura N, Yoshida T, Miyaji K, Sugita-Konishi Y, Hattori M.: Inhibition of Infectious Diseases by Components from Aloe Vera. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2009, 73 (4):950-3.

Dewa Y, Kemmochi S, Kawai M, Saegusa Y, Harada T, Shimamoto K, Mitsumori K, Kumagai S, Sugita-Konishi Y, Shibutani M : Rapid deposition of glomerular IgA in BALB/c mice by nivalenol and its modifying effect on high IgA strain (HIGA) mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2009, in press,

Tanaka H, Takino M, Sugita-Konishi Y, Tanaka T, Toriba A, Hayakawa K. Determination of nivalenol and deoxynivalenol by liquid chromatography/atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2009, 23

(19):3119-3124.

Sugita-Konishi, Y. Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, T., Tanaka, S., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, S., Sugiyama, K., Kamata, Y., Yoshiike, N. & Kumagai, S.: Exposure to aflatoxins in Japan: Risk assessment for aflatoxin B₁ Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010, 27 (3):365-72.

Aoyama, K. Nakajima, M. Tabata, S. Ishikuro, E. Tanaka, T. Noriduki, H. Itoh, Y. Fugita, K. Kai, S. Tsutsumi, T. Takahashi, M. Tanaka, H. Iizuka, S. Ogiso, M. Maeda, M. Yamaguchi, S. Sugiyama, K., Sugita-Konishi, Y., Kumagai, S.: Four-year Surveillance for Ochratoxin A and Fumonisin in Retail Foods in Japan J. Food Protection 2010, 73 (2) 344-352

Sugiyama KI, Muroi M, Tanamoto KI, Nishijima M, Sugita-Konishi Y. Deoxynivalenol and nivalenol inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide production by mouse macrophage cells. Toxicol Lett. 2010, 192(2) 150-154

Tanaka, H., Sugita-Konishi, Y., Takino, M., Tanaka, T., Toriba, A., Hayakawa, K., A survey of the occurrence of Fusarium Mycotoxins in Biscuits in Japan by using LC/MS J. Health Science, 2010, 56 (2) 1-7.

【著書】

杉山圭一, 室井正志, 棚元憲一, 小西良子: LPS誘導性一酸化窒素産生におよぼすトリコテセン系マイコトキシンの影響, エンドトキシン研究12—自然免疫学の新たな展開—. 高田春比古, 谷徹, 嶋田紘 (編). 81-83 医学図書出版株式会社.

(2009)

Sugita-Konishi Y, Nakajima T, Chapter 15: Nivalenol on the mycology, occurrences, toxicology, analysis, control and regulation. In Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons, ed. Rai, Mahendra, Varma Ajit, Springer, Aug. 12, 2009 pp253-273

【学会発表】

斉藤史朗, 佐藤敏彦, 熊谷進, 中島正博, 田端節子, 青山幸二, 法月廣子, 和田丈晴, 伊藤嘉典, 小西良子; 我が国における小麦類からの OTA の摂取量評価, 第 98 回日本食品衛生学会 (2009.10) (函館)

田村千佳子, 杉山圭一, 鎌田洋一, 小西良子, 中馬誠, 門田智之, 西島基弘; 低メトキシルペクチンのゲル化を利用したカビ毒の封入効果 第 98 回日本食品衛生学会 (2009.10) (函館)

青山幸二, 中島正博, 法月廣子, 小木曾基樹, 甲斐茂美, 田端節子, 山口茂明, 和田丈晴, 田中敏嗣, 伊藤嘉典, 小西良子; 日本に流通する食品中の OTA およびフモニシン汚染実態調査 (平成 20 年度) 第 98 回日本食品衛生学会 (2009.10) (函館)

杉山 圭一, 木下 麻緒, 葉袋 裕二, 鎌田 洋一, 佐藤 一臣, 宮田 徹, 小西 良子; マクロファージ様細胞における トリコテセン系カビ毒誘導性細胞毒性に対する緑茶カテキン類の効果, 第 52 回日本農芸化学会大会 (2010.3) (東京)

- Tamura, C., Nakamura, M., Kadota, T., Itoh, S., Kamata, Y., Sugiyama, K., Nishijima, N., Sugita-Konishi, Y. ; Sealing effects of pectin gelation on mycotoxin reduction in food ISM Conference 2009 (2009.9) (Tulln, Austria)
- Poapolathep, A., Poapolat hep, S., Sugita-Konishi, Y., Wongpanit, K., Machii, K., Itoh, Y., Kumagai, S.; The effect of naringenin on the fate and disposition of deoxynivalenol in piglets, ISM Conference 2009 (2009.9) (Tulln, Austria)
- Sugiyama, K., Narui, T., Kamata, Y., Kobayashi, K., Tadokoro, T., Sugita-Konishi, Y.; Effects of epigallocatechin gallate on cytotoxicity induced by deoxynivalenol in mouse cultural macrophages, ISM Conference 2009(2009.9)(Tulln, Austria)
- Koyama, D., Arai, S., Kamata, Y., Nakajima, T., Sugita-Konishi, Y., Itoh, S.; Study on the toxicokinetics of deoxynivalenol in swine, アジア養豚獣医学会 (APVS2009) (2009.10) (茨城県つくば市)
- Kamata, Y., Ohnishi, T., Miyahara, M., Hara-Kudo, Y., Konuma, H., Takatori, K., Onoue Y., Sugita-Konishi Y.; An 11 Year-Survey to Food-Borne Bacteria in Retail Foods in Japan, 天然資源の開発利用に関する日米会議 有毒微生物専門部会, (2009.11, 東京)
- Sugita-Konishi Y., Aoyama, K., Nakagima, S., Tabata, E., Ishikuro, T., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Fujita, K., Kai, S., Tsutsumi, T., Takahashi, M., Tanaka, H., Iizuka, M., Ogiso, M., Maeda, M., Yamaguchi, S., Sugiyama, K., Kumagai, S.; Five -year Surveillance for Ochratoxin A and Fumonisin in Retail Foods in Japan, 天然資源の開発利用に関する日米会議 有毒微生物専門部会, (2009.11, 東京)
- Hamada, M., Shimizu, M., Sugita-Konishi Y.; The absorption, metabolism and disposition of tangeretin in the human intestinal epithelial cells, 4th International Conference on Polyphenols and Health, (2009. 12, Yorkshire, England)
- Sugita-Konishi, Y., Koyama, D., Kadota, T., Itoh, S., Sugiyama, K., Tamura, C., Nishijima, M. Kamata, Y. ; Suppressive Effect of Pectin Gelation on Absorption of Deoxynivalenol in Mice. 49th Annual Meeting and ToxExpo. (2010. 3, Salt Lake City, USA)
- Hosokawa, M., Asakawa, H., Kaido, T., Sugaya, C., Inoue, Y., Tsunoda, M., Itai, K., Yukio Kodama, Sugita-Konishi, Y., Aizawa, Y., The Effects of Fluoride on Renal Function of ICR-Derived Glomerulonephritis (ICGN) by Subacute Administration of Fluoride in Drinking Water. 49th Annual Meeting and ToxExpo. (2010.3, Salt Lake City, USA)
- 杉山圭一、室井正志、棚元憲一、小西良子：TLR シグナルに対する deoxynivalenol の抑制機構、第 82 回日本生化学会大会プログラム, 371 (2009, 10)
- 杉山圭一：デオキシニバレノール誘導性細胞毒性に対するカテキン類の効果、日本マイコトキシン学会第 67 回学術講演会 (2010, 1, 東京)
- Ngampongsa S., Ito, K., Kuwahara, M., Kumagai, S., Tsubone, H.; Circulatory and autonomic nervous short-term effects of deoxynivalenol toxin evaluating by

a telemetric system as a recorder in conscious rats. 日本
マイコトシン学会第 67 回学術講演会(2010.1,東京)

Ochiai, E., Takino, M., Sugita-Konishi, Y., Ito, J.,
Kikuchi, K., Sato, A., Watanabe, A., Toyotome, T.,
Yaguchi, T., Kamei, K.: Antifungal Susceptibility and
Mycotoxin Production of *Aspergillus Fumigatus* and
its Relative Fungi, 4th Advances Against Aspergillosis
(2010.3, ローマ)

Ⅱ. 分担研究報告書