

性サンプルの内、高い割合 (90.5%) で 100ppb より低いレベルで総アフラトキシン汚染が見られた。イスマイリア産のピーナッツには一番高いレベルの汚染平均値 400ppb アフラトキシン B1 が見られた。同じピーナッツの穂から取った粒と殻の汚染の比率関係は 1:7 であった。一番低い汚染レベルは 5ppbB1 で大豆のサンプルからであった。すべてのそら豆と魚粉サンプルは陰性であった。アフラトキシン B1 のみ存在頻度 (陽性サンプルの 76.2%) が多く、アフラトキシン B2:G1:B1 濃度の比率関係は 1:2.3:22.4 であった。エジプトの様々な地位から採取された 56 もの食品と餌のサンプルに TLC を用いて腎炎オクラトキシン A の検査をした。内、12 のサンプル (23.5%) は陽性と示された。陽性のサンプルはコーン、小麦、小麦ふすま、豆、米醗酵、米醗酵ケーキ、若鳥の餌、卵生産用鳥の餌、牛乳用家畜の餌であったが黄色コーン (交配種)、大豆、小麦大豆食、煎餅、綿実、綿実ケーキ、そして魚粉は陰性であった。汚染レベル値の範囲は 4 ppb から 577 ppb までで  $58.2 \pm 22.9$  ppb が平均値だった。陽性のサンプルのうちの半分は 10-100 ppb のレベルで汚染されていた一方、41.7% のサンプルは 10 ppb 以下で 8.3% は 100 ppb 以上での汚染であった。エジプトの食糧と飼料の中にはシトリニンが存在した。エジプトの様々な地域から採取した 52 のサンプルのうち 15.4% は陽性であった。それらは米ぬか、米醗酵、コーン (白)、小麦ふすま、綿実ケーキ、そして魚料理であった。汚染レベル値の範囲は 3-70 ppb で汚染平均レベルは  $25.9 \pm 3.4$  ppb である。エジプトの食糧と飼料に高いレベルでマイコトキシンゼラレノン汚染していることが初めて知られた。

(要約文字数制限 400 字を超えているので以下省略)

### <ゼアラレノン>

論文番号	Z-1
タイトル	Mycoestrogen Pollution of Italian Infant Food
雑誌名	J Pediatr
巻	N/A
最初のページ~最後のページ	N/A
発行年	2011, Mar. 9 <sup>th</sup>
著者名 (姓、名)	Meucci V, Soldani G, Razzuoli E, Saggese G, Massart F.

### 要 約

**目的:**イタリアの一般的なマーケットで売られている人気製品の乳児用調製粉乳と肉ベースの離乳食のゼアラレノンとその代謝的な汚染を立証し、それをエストロゲン毒素の臨時耐容一日摂取量に反映すること。

**研究デザイン:**合計 185 の牛乳ベースの乳児用調製粉乳と 44 の肉ベースの離乳食を分析する。マイコトキシンの分析は蛍光検出付抗体カラム高圧洗浄液体クロマトグラフィーによってなされた。

**結果:**ゼアラレノンは 17 の粉乳サンプル (9%) から検出された (MAX=0.76  $\mu\text{g/L}$ )。 $\alpha$ ゼアラレノールは 49 の粉乳サンプル (26%) から検出された (MAX=12.91  $\mu\text{g/kg}$ )。 $\beta$ ゼアラレノールは 53 の粉乳サンプル (28%) から検出された (MAX=73.24  $\mu\text{g/L}$ )。 $\alpha$ ゼアラレノールと  $\beta$ ゼアラレノールは粉乳サンプルからは検出されなかった。しかし  $\alpha$ ゼアラレノールは 12 の肉離乳食サンプル (27%) から検出され (MAX 30.50  $\mu\text{g/kg}$ )、たった一つの肉離乳食サンプルからアルファゼアラレノールの汚染が見つかった (950  $\mu\text{g/kg}$ )。ゼアラレノール、 $\beta$ ゼアラレノール、そして  $\beta$ ゼアラレノールは肉離乳食サンプルからは検出されなかった。

**まとめ:**この研究で乳幼児食品 (乳ベース、肉ベース) からエストロゲンの存在が次の世代の為にこれらの食品に調査の必要性が非常に高いことを示した。

論文番号	Z-2
タイトル	Natural occurrence of masked deoxynivalenol and multi-mycotoxins in cereals from China harvested in 2007 and 2008.
雑誌名	Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi
巻	45(1)
最初のページ～最後のページ	57-63
発行年	2011
著者名 (姓、名)	Li FQ, Yu CC, Shao B, Wang W, Yu HX.

### 要 約

<p><b>目的:</b> 中国全土から集めたシリアルのマスキドデオキシニバレノール (DON-3-G) とマルチマイコトキシンの自然発生を解明する。</p> <p><b>方法:</b> 2007年と2008年に河南省、河北、広西壮族自治区、アンホイ、四川、チンギン、そしてチャンスー (江蘇) から収穫した合計446のコーンと小麦サンプルのDON-3-Gと他のマルチマイコトキシンのデオキシニバレノール (DON)、ゼラレノール (ZEN)、ニバレノール (NIV) 及びその他を含む) をUPLC-MS/MSを用いて分析した。</p> <p><b>結果:</b> コーンと小麦は主にDONとその誘導体と、さらにZENによっても汚染されていた。小麦サンプルの88% (169/192) はDON陽性 (範囲: 1.5-590.7 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>; 中央値: 30.8 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) であった。小麦サンプルの22.9%(44/192)ZEN(範囲: 1.7-3425.0 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>; 中央値: 8.0 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)も汚染されて、うち6つのサンプルがZEN許容限度60 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>の濃度を超えていた。コーンサンプルの50.5% (103/204)からはDON (1.6-4374.4 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>; 中央値: 94.9 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) が検出され、内7つのサンプルはDON許容限度1000 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>を超えていた。さらに、コーンサンプルの41.7% (85/204)からは1.6 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>から1808.7 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> (中央値: 48.5 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) の濃度範囲でZENが検出され、内37つのコーンサンプルはZEN許容限界60 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>を超えていた。DON-3-Gは中国で初めてコーンと小麦から検出され、平均レベルはそれぞれコーンが21.4 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>、小麦が34.6 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>であった。小麦はDON-3-Gによる汚染が激しく、3-アセチル-DON (3-A-DON、平均値: 4.1 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) や15-アセチル-DON (15-A-DON、平均値: 3.1 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) (t-値はそれぞれ5.111と5.966、どちらもP-値 &lt; 0.01) よりも汚染レベルが高かった。その時、コーンの15-A-DON (平均値: 48.6 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) は3-A-DON (平均値: 6.9 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) (t=3.579, P&lt;0.01) より高いレベルだった。コーン内のDON、DON-3-G、15-S-DON、そしてZEN濃度は小麦内のもの (Z-値はそれぞれ-3.492、-1.960、-2.467、-8.711、そして-6.272であり、P&lt;0.05) より高かった。NIV濃度は小麦 (平均値: 19.0 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>) がコーン (平均値: 18.2 <math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>, Z=-2.086, P&lt;0.05) に比べて高いレベルを含んでいた。</p> <p><b>まとめ:</b> 中国のさまざまな地域からとった小麦とコーンのサンプルはトキシシンとDONに汚染されていて、それは優勢であった。小麦とコーンを比較するとコーンサンプルの方が小麦よりDON、DON-3-G、3-A-DON、15-A-DONそしてZENの汚染がひどかった。</p>
--

論文番号	Z-3
タイトル	Short-term exposure to the environmentally relevant estrogenic mycotoxin zearalenone impairs reproduction in fish.
雑誌名	SCi Total Environ
巻	409(2)
最初のページ～最後のページ	33-326
発行年	2010 Nov. 5 <sup>th</sup>
著者名 (姓、名)	Schwartz P, Thorpe KL, Bucheli TD, Wetstein FE, Burkhardt-Holm P.

要 約

ゼラレノン (ZON) はマイコトキシンの中でも世界的に最も一般的で17βエストラジオール (E2) のような天然ステロイドエントゲンにいたるまでエストロゲン活性作用がある。ZONの発生は排水の水、土、流出廃水、そして川からも報告されているが、魚へのその生体毒性はほとんど調査されていない。この研究ではZONのエストロゲン有効性と組み換え型イーストエストロゲンスクリーン (rYES) 内のE2の比較、さらにZON汚染水性の生殖への影響、ゼブラフィッシュの生理、形態論、を42日間復元実験で調査した。E2とZONはそれぞれ平均値EC(50)と500μg/Lで共にシクソイドの濃度反応曲線を示し、その結果、割合はE2:ZON EC(50)は1:250となった。21日間のZON汚染でこの実験前と比べて、相対産卵頻度は減り、それぞれ1000と3200ng/Lつまり38.9と37.6%となり、相対繁殖力はそれぞれ100、320、1000、3200ng/Lつまり74.2、41.7、43.8、16.7%となった。4.4と8.1の折り重なるプラズマビテロジェニン誘導体 (VTG) はオスのゼブラフィッシュからそれぞれZON1000と3200ng/Lと観測された。ZON汚染はゼブラフィッシュの生産力、孵化、胚生存、または生殖腺形態に影響を与えなかった。この研究の結果、ZONはビトロに穏健なエストロゲン効能を示すものの、生体にVTG導入と復元に比較的強い効果があることが立証された。それはZONがこの環境でエストロゲン活性化の一因になっているかも知れないということと、野生の魚の生存環境に危険を来たすかも知れないことを示すものになった。

論文番号	Z-4
タイトル	Occurrence of free and conjugated Fusarium mycotoxins in cereal-based food.
雑誌名	Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.
巻	27(8)
最初のページ～最後のページ	52-1148
発行年	2010 Aug.
著者名 (姓、名)	Vendl O, Crews C, MacDonald S, Krska R, Berthiller F.

要 約

ビールを含む25の合成物のシリアルベース食品48個はデオキシニバレノール、ゼラレノン、そしてそれらの代謝産物デオキシニバレノール-3-グルコピラノシド、3-アセチルデオキシニバレノール、ゼラレノール-4-グルコピラノシド、αゼラレノール、βゼラレノール、αゼラレノン-4-グルコピラノシド、βゼラレノール-4-グルコピラノシド、そしてゼラレノン-4-硫酸塩の分析を行った。最も検出頻度が高かったのはゼラレノン-4-硫酸塩で13の合成物から見つかったが濃度は低かった。さらに、デオキシニバレノールは8、ゼラレノンは7、そしてデオキシニバレノール-3-グルコピラノシドは2の合成物から検出された。残りの6つの検体からはどのマトリックスからも検出されなかった。つまりそれは後者の代謝産物の濃度はとても低く、消費者に危害を加えることは全くないことを意味している。一番多いマイコトキシンの容量はデオキシニバレノール254 ng/g(・1)、ゼラレノン-4-硫酸塩6 ng/g(・1)、そしてゼラレノン44 ng/g(・1)でブラン・フレークから見つかった。

論文番号	Z-5
タイトル	Zearalenone occurrence and human exposure

雑誌名	World Mycotoxin Journal
巻	3(4)
最初のページ～最後のページ	369-383
発行年	2010 Nov.
著者名 (姓、名)	Maragos C.M.

#### 要 約

マイコトキシンはその発情ホルモン系効果とホルモン代謝効果のため興味を持たれている。ZEAを生産する菌は世界全土で見つかり、特にシリアルや派生製品からよく見つかり、それが日用化合物からは検出する調査の促進にも繋がっている。その結果、食品内の広範囲なZEAの発生は良く報告されている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) による大規模な報告書も含め、SCOOP は食品や日用品内のZEAの発生について多大な情報を提供していた。発生データは急速なペースで発表され続け、データ内容も以前の摂取・露出評価も確信されレポートはまとめられていた。予測摂取量と以前の予測耐用一日摂取量を比べると露出評価がなされた国々の人口は安全と見なされるレベルまでになっていると考えられる。人口は汚染に影響を受けやすい食品の大量消費、場合によっては汚染レベルが以上に高かったによって変わってくるのかもしれない。多くの国の予測汚染は発表されていない。それはつまり、世界では本当のZEAの人体への影響の広がりはまだ解明されていないということだ。

論文番号	Z-6
タイトル	Fusarium head blight and associated mycotoxin occurrence on winter wheat in Luxembourg in 2007/2008.
雑誌名	Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess
巻	27(6)
最初のページ～最後のページ	35-825
発行年	2010, Jun.
著者名 (姓、名)	Giraud F, Pasquali M, El Jarroudi M, Vrancken C, Brochot C, Cocco E, Hoffmann L, Delfosse P, Bohn T.

#### 要 約

赤カビ病 (FHB) は秋まき小麦の品質、生産低下の大きな原因になっている。さらに、その病原体はさまざまなトキシンを生産する。比較的高いFHBの感染率が観測されたのは2007年と2008年に取れたルクセンブルグ産の秋まき小麦であった。フザリウムオトキシンの調査は異なる17箇所の地域で実施された。フザリウムマイコキシンの3つのグループ(トリコテセンタイプA,とB,そしてゼアラレノン)はマルチ検出機HPLC-MS/MS法を使って分析された。フザリウム菌も形態学的方法と分子法によって調査をした。さらに調査をした17の農家管理に生活習慣についての質問事項が送られた。FHBの流行は2007年で0.3から65.8% (平均8.5%) で2008年は0から24.5%(平均17.8%)であった。形態学的、分子的同定した結果、罹患小麦から分離された種類は *F. graminearum*(33.1%)、続いて *F. avenaceum*(20.3%)、そして *F. poae*(17.8%)であった。この化学的分析で調査を受けた農家のうち75%はデオキシニバレノール (DON, 範囲0-8111µg/kg) の汚染があった。前期の作物には穀物の感染量に著しく高い相関性があり、病気の流行 (それぞれ  $p=0.025$  と  $0.017$  Fisher's F-test) にも大きな影響を与えている。前期の作物が畑の中のDONの存在率を予想している最中、コーンから ( $p=0.084$  Tukey's

test) ある傾向が見られた。この結果は自然感染したルクセンブルグ産の小麦サンプル内の DON と ZON の発生についての初めての報告となった。

論文番号	Z-7
タイトル	Fusarium mycotoxins in milling streams from the commercial milling of maize imported to the UK, and relevance to current legislation.
雑誌名	Food addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess
巻	26(5)
最初のページ～最後のページ	53-744
発行年	2009 May.
著者名 (姓、名)	Schudamore KA, Patel S.

#### 要 約

3つの大規模な商業用コーン工場の研究の結果、摂取製粉の中のフザリウムマイコトキシン、つまりデオキシニバレノール、ゼラレノン、そしてフモニシンが製粉過程に分配されているとコーンの種構成によって示された。内胚乳には低いマイコトキシンレベルしか含まないという傾向が判明した。

内胚乳の低いマイコトキシン濃度はその粒子のサイズにも関連した。普段動物の餌や産業利用されている胚や種の外側の層から生じる生産物は一番高いマイコトキシン感染レベルでは5倍以上の濃度を含んでいた。一般的なマイコトキシンの分布パターンは様々な種類の相似したフランスとアルゼンチン産の粉末コーンから見つかри、結果的にこの変動はトウモロコシ取引先の自然や条件および各トウモロコシ工場で使われている異なる製粉工程によって生じている。粗びきトウモロコシの中のマイコトキシン (particle sizes > 500 μm) は大抵丸ごとのトウモロコシに比べると大きく減少し、トウモロコシ粉 (< 又は =500 μm) は減少したり増加したり、製粉や委託によっても変わってくる。従って、欧州委員会で制定した数値に達している丸ごとトウモロコシの中のマイコトキシンレベルはどんな状況でも製粉材料も同様にレベルをあげるべきである。しかしこれはどの材料にも正しいわけではなく、特に粒子のサイズがく又は=500 μmのごく少量の中のフモニシンには当てはまらない。

論文番号	Z-8
タイトル	Occurrence of estrogenic mycotoxin – Zearalenon in aqueous environmental samples with various NOM content.
雑誌名	Water Res.
巻	43(4)
最初のページ～最後のページ	9-1051
発行年	2008 Dec. 6 <sup>th</sup>
著者名 (姓、名)	Gromadzka K, Waskiewicz A, Golinski P, Swietlik J.

#### 要 約

ゼラレノンとは食糧や資材の中のフザリウム類から生産されるマイコトキシンである。ZEA の毒素とその代謝産物はエストロゲンの自然発生に似たマイコトキシンの化学構成に

関係する。現在、水中のカビの著しい発生とその毒素代謝生産物への認識は高まっている。従って、ポーランドの地表水、地下水、廃水中のエストロゲン毒素濃度の立証が絶対に必要だと考えられている。ゼアララテスト抗体カラムを HPLC を使ったゼアラレノン立証に水サンプルに使ったところ自然有機物 (NOM) 容量 74~86% で特徴を示した。得られた結果は低分子量水の有機微量汚染物質はゼアラレノンの回収に影響があることを示した。ゼアラレノンは 0~43.7 ng/L (-1) 水サンプルの中に存在した。

論文番号	Z-9
タイトル	Occurrence of Fusarium mycotoxins in maize imported into the UK, 2004-2007.
雑誌名	Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, ¥.
巻	26(3)
最初のページ~最後のページ	71-363
発行年	2009 Mar
著者名 (姓、名)	Schudamore KA, Patel S.

#### 要 約

この研究は 2004 年と 2007 年にイギリスのトウモロコシ工場で受け取った計 82 のフランスとアルゼンチン産の販売品用生トウモロコシサンプルを検査したものである。これらのサンプルは妥当性が確保された分析法を使用し、DON、NIV、そしてそれぞれのフモニシンマイコトキシンに 10 µg/kg、また ZON に 3 µg/kg の数量制限を定めて DON、NIV、他のトリコテセン、ZON、そしてフモニシン B(1)、B (2)、そして B(3) (FB(1)、FB(2)、そして FB(3)) を分析した。2つのフモニシン混合物以外すべてのサンプルは 2007 年度までの欧州委員会法定の DON、ZON、そして FB(1)+FB(2) 最大許容限度に達していた。DON、NIV、ZON、そして FB(1)+FB(2) の最高濃度はそれぞれ 444、469、165、そして 5002 µg/kg(-1) であった。フモニシンはサンプルのほとんどから検出され、内 65% は 1000 µg/kg(-1) 以上の FB(1)+FB(2) の濃度を含んでいた。それとは対照的に ZON は販売品の 50% は検出不可能値であった。この時期、収穫と地理的起源の違いでマイコトキシンに明白な差異があった。フモニシン濃度は 2000 µg/kg(-1) で両サンプル内の発生率が高いにもかかわらず、アルゼンチン産のプリントコーンには大抵、低濃度の DON とトリコテセン関連性とフランス産のトウモロコシより高い濃度レベルのフモニシンが含まれている。このフモニシンの発生率と濃度はゼアラレノンレベルが低かった頃の以前と似たような調査であろう。多数の船蔵内のマイコトキシンの分布もフモニシンは DON と比べてよっぽど平等に分布されることを示すために調査された。従って、一般的な船内のレベルは全体像で示されることになった。清掃体制は様々な種に効果的であることがわかり、特に DON に関して全くマイコトキシンが動かなかったものから 50% にまで増加したものも状況によってはあったが、濃度には関係はなかった。この証拠は清掃が製粉前の外国産のものを取り除くのに絶対不可欠であり、マイコトキシン減少にこれ以外有効な方法はないと証明した。

論文番号	Z-10
タイトル	Survey of maize from south-western Nigeria for zearalenone, alpha- and beta-zearalenols, fumonisins B1 and enniatins produced by Fusarium species.
雑誌名	Food Addit Contam
巻	24(9)

最初のページ～最後のページ	993-1000
発行年	2007 Sep
著者名 (姓、名)	Adejumo TO, Hettwer U, Karlovsky P.

## 要 約

高性能液体クロマトグラフィーと質量分析を結合 (HPLC/MS) させたものを使い、ナイジェリアの4つの南西の州で人が消費するトウモロコシのフザリウムマイコトキシン自然発生について調査をした結果、サンプル内の93.4%がゼアラレノン (ZON)、 $\alpha$ と $\beta$ ゼアラレノール ( $\alpha$ と $\beta$ -ZON)、フモニシン B(1) (FB(1)) 又はエンニアチン (ENN s) に汚染されていると示した。FB(1)のわずかな汚染が見られたのはサンプル内の73% (平均117 $\mu$ g/kg(-1)、範囲は10 $\mu$ g/kg(-1))、ZONで57% (平均49 $\mu$ g/kg(-1)、範囲は115-779 $\mu$ g/kg(-1))、そして $\alpha$ -ZOLは13% (平均63.6 $\mu$ g/kg(-1)、範囲は32-181 $\mu$ g/kg(-1))、そのとき ENNsA1,BそしてB(1)は3、7そしてサンプル内の3%にそれぞれ存在していた。50 $\mu$ g/kg(-1)の定量減数以上の $\beta$ -ZOLは存在しなかった。FB(1)容量のみが4つの州の95%信頼水準と著しく異なっていた。フザリウム属の中でもっともトウモロコシの種から分離していたのは *F.verticillioides*(70%)、続いて *F.sporotrichioides*(42%)、*F.graminearum*(30%)、*F.pallidoroseum*(15%)、*F.compactum*(12%)、*F.proliferatum*(12%)、*F.equiseti*(9%)、*F.acuminatum*(8%)、そして *F.subglutinans*(4%)であった。これが初めてのナイジェリア産トウモロコシ内の $\alpha$ -ゼアラレノールとエンニアチンの自然発生に関する報告であった。

論文番号	Z-11
タイトル	Natural occurrence of Fusarium toxins in soy food marketed in Germany.
雑誌名	Int J Food Microbiol
巻	113(2)
最初のページ～最後のページ	6-142
発行年	2006 Jul 18 <sup>th</sup>
著者名 (姓、名)	Schollenberger M, Muller HM, Ruffle M, Terry-Jara H, Suchy S, Plank S, Drochner W.

## 要 約

合計45の挽いていない豆、ロースト大豆、大豆の粉、フレーク、テクスチャード加工の大豆タンパク、豆腐を含む大豆食品と特殊調製粉乳と発光製品 (醤油) を含むタンパク分離物を無作為に健康食品ストアから集めたサンプルをフザリウムトキシンの分析をした。A-タイプの13のトリコテセンのスペクトルと同様にB-タイプもガスクロマトグラフィー/質量計測器で分析し、ゼアラレノン (ZEA)、 $\alpha$ -と $\beta$ -ゼアラレノール ( $\alpha$ -と $\beta$ -ZOL) を高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) と蛍光、UV-検出器を使って分析した。検出限界は1から19 $\mu$ g/kgにした。少なくとも45検体中11検体の大豆食品や日用品サンプルはこれらの毒素が検出された。シルペノール(SCIRP)、15-モノアセチトキシシルペノール、4、15-ジアセトキシシルペノール、T-2テトラオール、HT-2トキシン、デオキシニバレノール (DON)、15-と3-アセチルデオキシニバレノール、ZEA、 $\alpha$ -と $\beta$ -ZOLは最低1サンプルから検出され、T-2テトラオール、T-2、NEO、NIV、そしてFUS-Xはどのサンプルからも検出されなかった。11検体中5検体のサンプルは1種のトキシンに陽性、1サンプルには2、3、6か7種類のトキシンに陽性、2サンプルには5種類のトキシンが検出され、大豆食品のフザリウムトキシン汚染ではSCIRP、DON、そしてZEAは108、260、そして214 $\mu$ g/kgの値まで検出され、他のトキシンは61 $\mu$ g/kgを超えることは

なかった。広範のフザリウムトキシンのスペクトルによる大豆食品汚染の洞察はこれが初めての報告である。

論文番号	Z-12
タイトル	Fusarium mycotoxins in Lithuanian cereals rom the 2004-2005 harvests.
雑誌名	Ann Agric Environ Med.
巻	14(1)
最初のページ～最後のページ	7-103
発行年	2007
著者名 (姓、名)	Mankeviciene A, Butkute B, Dabkevicius Z, Suproniene S.

#### 要 約

フザリウムマイコトキシンであるデオキシニバレノール (DON)、T-2 トキシン、そしてゼラレノン (ZEN) の汚染を 2004 年と 2005 年にリトアニアの異なる地域で収穫した 5 種類のシリアル中の発生頻度と汚染レベルについて検査をした。全てのシリアルの中でも DON が 98.0-100% の発生率で最も頻繁に検出されたマイコトキシンであり、それぞれ 2004 年には  $691 \mu\text{g}/\text{kg}(-1)$  で検出率は 62.5-94.0%、また 2005 年には  $1,121 \mu\text{g}/\text{kg}(-1)$  であった。テストされた全てのオート麦サンプルは 2004 年と 2005 年に収穫され、全て T-2 トキシンの汚染されていた。2004 年のサンプルの 1 つに T-2 トキシンレベル ( $121.5 \mu\text{g}/\text{kg}(-1)$ ) が許容レベルを超えていた。2004 年は ZEN の汚染は春小麦、大麦、そしてオート麦から頻繁に見つかったが、2005 年はこのトキシンの高めのレベルは大麦 (68.9%) からしか確認されなかった。2004 年の大麦サンプルの 1 つに ZEN 容量 ( $193.4 \mu\text{g}/\text{kg}(-1)$ ) が許容レベルを超えているものがあつた。空気中の湿気の変動はフザリウム属カビの発生率と小麦の中のマイコトキシン容量に影響を与えた。収穫時の天候条件は秋まき小麦が生産するフザリウムカビと、DON と ZEN マイコトキシン容量の増加の一因となった。この事実は人間と動物の健康を脅かす危険性を増加させた。

論文番号	Z-13
タイトル	Co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1, Ochratoxin A and zearalenone in cereals and peanuts from Côte d'Ivoire
雑誌名	Food Addit Contam
巻	23(10)
最初のページ～最後のページ	7-1000
発行年	2006 Oct.
著者名 (姓、名)	Sangare-Tigori B, Moukha S, Kouadio HJ, Betbeder AM, Dano DS, Creppy EE.

#### 要 約

この調査ではコートジボワール産の米、トウモロコシ、そしてピーナッツ、計 30 のサンプルをアフラトキシン B1、フモニシン B1、そして、ゼアラレノンには免疫測定法を、オクラトキシン A には正確な HPLC 法と蛍光検出機を用いて検査をした。コートジボワールでは他の国々と同様、同じ農産物にいくつかのマイコトキシンが存在した。これらのマイコト



キシンはアフラトキシン B1、ゼラレノン、そしてオクラトキシン A であり、普通アスペルギルスやペニシリウム、そしてフザリウム属のカビから生産される菌である。いくつかのあるサンプルは4つのマイコトキシン（86%）を含んでいた。4つのピーナッツサンプルにはオクラトキシン A（14%）は認められなかったが、EU 規制限度を越えた濃度のゼラレノンとフモニシン B1 が認められた。オクラトキシン A、ゼラレノン、そしてフモニシン B1 の濃度は低く本来の害になる原因にもならないであろう、しかし日々の食生活によっては耐容一日摂取量を超え害になるうる可能性も免れない。また他のマイコトキシンとの相乗効果も大切な要素になる。この方面の調査は進行中で菌の種類分離物と特徴も関係している。

(和訳レポート)

Scientific report submitted to EFSA Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins. CT/EFSA/CONTAM/2010/03 Prepared by Ulrike Schuhmacher-Wolz Karin Heine Klaus Schneider Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG) Freiburg, Germany 1 (Question No EFSA-Q-2010-0143). Accepted for Publication on 25 June 2010.

<内容>

T-2 トキシン

CAS no. : 21259-20-1

HT-2 トキシン

CAS no. : 26934-87-2

1 危害同定及び危害特性

1.1 毒性動態学

1.1.1 吸収

1.1.2 分布

1.1.3 代謝

Figure 2 : ヒト及び動物での代謝経路 ; (Dohnal et al., 2008) のデータを改変

1.1.4 排泄

1.2 生化学的作用機序

1.2.1 タンパク合成への影響

1.2.2 DNA 及び RNA 合成への影響

1.2.3 アポトーシス

1.2.4 細胞膜と脂質過酸化反応への影響

1.2.5 その他の影響

1.3 実験動物及びヒトでの毒性

1.3.1 急性毒性

1.3.2 反復投与毒性

1.3.3 免疫毒性

*In vivo*

*In vitro*

1.3.4 血液毒性

1.3.5 生殖発生毒性

1.3.6 神経毒性

1.3.7 遺伝毒性

1.3.8 発癌性

1.4 疫学データ

1.4.1 バイオマーカー

1.5 健康に関する基準値

2 要約と結論

## 背景

T-2 及び HT-2 トキシンのヨーロッパにおけるリスク評価は未だなされておらず、それゆえ近い将来欧州委員会から EFSA に向け、ヒト及び動物へのこれら物質の危険性評価が要求されると考えられる。これらのリスク評価を高水準かつ効率的に実施するために、T-2 及び HT-2 トキシンに関する科学的な情報が必要である。

トリコテセン系マイコトキシンは、植物やその加工品中に存在し得るため、ヒト及び/又は動物への健康に影響を及ぼす可能性がある。トリコテセン系マイコトキシンの T-2 及び HT-2 はタイプ A に分類され、それらは一般的にタイプ B (デオキシニバレノールやニバレノールなど) よりも毒性が強いと言われている。トリコテセン類は免疫抑制能のある化合物で、またタンパク合成を阻害することも知られて

いる。また、神経障害、出血、皮膚刺激、嘔吐、下痢のほか、実験動物及び家畜に飼料摂取の減少を起こすと考えられている。

### 取り決め事項

プロジェクト NP/EFSA/CONTAM/2010/03 において求められる成果は科学的な報告書であり、かつ以下の事項を含むものとする：

トリコテセン系マイコトキシンである T-2 及び HT-2 トキシンの、毒性に関する公共かつ科学的な情報を収集したものであること。下記の 4 項目についての科学的な情報が、請負者により収集、編集、総合されたものであること<sup>注2</sup>。科学報告書は両マイコトキシンについてのデータがあることが望まれる。この報告書は下記の 4 項目における主要な情報について記述するとともに、EFSA の引用規格に基づいて全ての参考資料一覧表を添付するものとする。

項目 1：毒性動態学(吸収、分布、代謝、排泄)、実験動物、家畜に対する毒性(急性、亜急性、反復投与毒性、免疫毒性、生殖発生毒性、神経毒性、発癌性、遺伝毒性及び他の作用)。

項目 2：ヒトに関する疫学的なデータ、該当する場合。

項目 3：暴露と影響のバイオマーカーのデータ、該当する場合。

項目 4：過去に実施されたリスク評価で、国際又は国家機関により示された健康に関する基準値の概要。

注 2：この任務を遂行するために、科学的な情報は利用可能な複数の公的な情報元(科学論文、EU/National 当局の様々な情報、企業連合、個々の企業)から収集されたものであることが望まれる。いずれの場合においても、個々の事項に対し情報元を明示しなければならない。たとえ複数の同等の参照元からの情報で優先的なものがあっても、関連があると思われる他方のデータについても記述する必要がある。

### 謝辞

この委託助成は EFSA から以下の機関に委託された。

Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG)

Research and Advisory Insititute for Hazardous Substances

Klarastr. 63

79106 Freiburg

Germany

### 序論

T-2 及び HT-2 はカビの二次代謝産物であり、トリコテセン類のタイプ A に属する。このグループは共通の骨格を持ち、C9 と C10 に 2 重結合、C12 と C13 にエポキシ環を有する (Fig. 1)。これらマイコトキシンは不揮発性で、低分子のエポキシドを有するセスキテルペンである。これらは通常の食品加工過程では分解されない。また、中性、酸性域で安定な為、摂取後胃の中で加水分解されない (Roche et al, 2005)。タイプ A トリコテセン類は他の食品由来トリコテセン類よりも毒性が強いため、特に関心が高い (Miller et al, 2002)。

T-2 トキシンは主に *Fusarium* 属である、*F. acuminatum*、*F. nivale*、*F. oxysporum*、*F. poae*、*F. sporotrichoides* 及び *F. solani* から産生される。また T-2 トキシンは他の属のカビからも確認されている (*Trichoderma sp.*、*Myrothecium sp.*)。 *Fusarium* 属はおそらく北の温帯地域で最も広く分布している毒素産生性カビであるが、T-2 トキシンは世界中に分布するマイコトキシンである。気象条件、穀物の異常、水分含有率が、T-2 トキシシン産生に関わる最も重要な因子である。T-2 産生の温度領域は広く (0-32°C)、15°C 以下で最も産生量が多いとされている。トウモロコシ、小麦、大麦、オーツ麦及びライ麦がこのマイコトキシンに最も汚染されている穀類である (Jaradat, 2005、SCF, 2001、Sokolovic et al, 2008)。

タイプ A トリコテセンの一般的な構造式を Figure 1 に示す。また T-2 と HT-2 の識別子を下に示す。

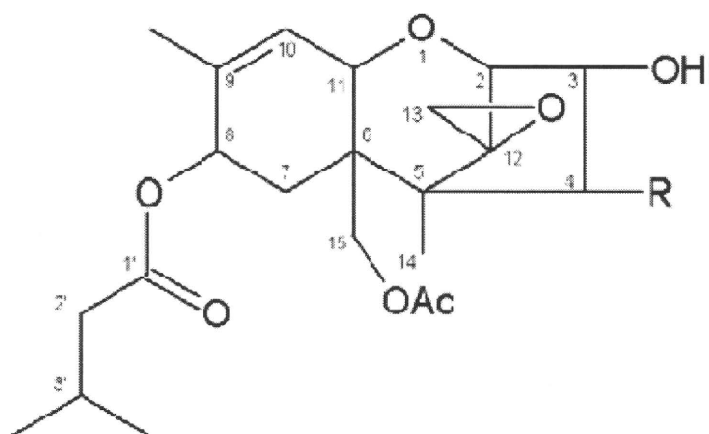


Figure 1 : T-2(R=OAc) と HT-2(R=OH) トキシンの構造式。

## T-2 トキシシン

CAS no. : 21259-20-1

EC no. : 244-297-7

物質名 : (3 $\alpha$ , 4 $\beta$ , 8 $\alpha$ )-12, 13-epoxytrichothec-9-ene-3, 4, 8, 15-tetrol 4, 15-diacetate 8-(3-methylbutyrate)

分子式 : C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub>

分子量 : 466. 53g/mol

## HT-2 トキシシン

CAS no. : 26934-87-2

物質名 : (3 $\alpha$ , 4 $\beta$ , 8 $\alpha$ )-12, 13-epoxytrichothec-9-ene-3, 4, 8, 15-tetrol 15-acetate 8-(3-methylbutyrate)

分子式 : C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>

分子量 : 424. 48g/mol

HT-2 トキシシン単独についての、参照し得る毒性情報はほとんど存在しない。現存のデータでは、T-2、HT-2 トキシシンが同等の効力で悪影響を誘導するということが示されている。その上、T-2 トキシシンは腸管内でHT-2 トキシシンに速やかに変換される。よって、*in vivo*でのT-2 トキシシンの毒性はHT-2 トキシシンによる毒性作用も含まれており、T-2 トキシシンに関する研究結果からHT-2 トキシシンが起こす作用を概算することができる(WHO, 2001)。

## 1 危害同定及び危害特性

### 1.1 毒性動態学

一般的にトリコテセン系マイコトキシンの毒性は代謝活性化には依存しない(Wannemacher and Wiener, 1977)。T-2 又はHT-2 トキシシンのヒトでの動態を扱ったデータで参照し得るものはない。しかしながら、いくつかのT-2 代謝に関する *in vitro*のデータは得られている。HT-2 トキシシンに関するデータはごくまれであるが、前述したとおり、HT-2 は主要なT-2 の代謝産物であり、HT-2 トキシシンの活性経路は一般的にT-2 の活性経路に準ずるとされている。

#### 1.1.1 吸収

T-2 トキシシンは経口及び吸入投与した場合、速やかに吸収される。

[<sup>3</sup>H]T-2 トキシシンを経口投与すると、血漿中の放射活性のピークが30分後に確認された(Doi et al., 2006)。飼料にT-2 トキシシンを0.5又は1 mg/kg となるように混合し、ニワトリに単回経口投与すると、120分以内に60-65 %の吸収が見られた。給餌後60-90分が、吸収が最も多かった(Reddy et al., 2004)。HT-2 トキシシンの吸収に関するデータは非常に限られている。ミニブタの仔ブタにHT-2 トキシシンを経口投与(0.06 mg/kg bw、単回投与)した時は速やかに吸収され、血清中のピークは1時間後に確認された

(1.3  $\mu\text{g/L}$ )。血清中の濃度はその後減少した(0.8  $\mu\text{g/L}$ 、投与4時間後; SCF, 2001)。 *In vitro* で、T-2 トキシンのヒト皮膚への浸透率は遅いとの記載がある(Sudakin, 2003)。

放射能ラベルされたT-2 トキシンをブタに静脈注射した場合は、4時間後には胃腸管(15-24%)及び他の組織(4.7-5.2%、主に筋肉と肝臓)で存在が確認された(SCF, 2001)。

### 1.1.2 分布

T-2 トキシンの血中からのクリアランスは、血漿半減期が20分以下ということもあり、非常に効率的である(SCF, 2001)。放射能ラベルされたT-2 トキシんと、ラベルされていないT-2 トキシンの両方をブタに血管内投与(0.15 mg T-2 トキシン/ kg bw, 1 mCi)した場合、総放射性残留物の血漿消失半減期は90分であった(Corley, 1986; Doi et al., 2006)。リンパ器官中のT-2 トキシンの組織中濃度は常に高い。ブタに大動脈内投与すると3時間後、脾臓及び腸間膜リンパ節で検出された(Doi et al., 2006)。<sup>[3H]</sup>T-2 トキシンをブタに経口投与した実験では、筋肉と肝臓でより長く残留していた(それぞれ18時間; 0.7%、0.29-0.43%)。同様の効果はニワトリやウシといった他の種でも確認されている(Jaradat, 2005)。全般的に、親油性の毒素は血液脳関門の通過並びにあらゆる細胞及び細胞小器官への移入は容易である。T-2 トキシンは速やかに胎盤を通過する(Doi et al., 2006)。

### 1.1.3 代謝

T-2 トキシンは速やかに他の物質に代謝される。例えば、雄のカニクイザルに放射能ラベルしたT-2 トキシンを静脈注射で単回投与すると(14.6  $\mu\text{g/kg bw}$ ; 500  $\mu\text{Ci/kg}$ )、5分後には22%のT-2 トキシンの代謝産物として血漿中に確認され、24時間後には血漿中からたったの8%しかT-2 トキシンは検出されなかった。いくつかの種の *in vivo* と *in vitro* (ヒト細胞を含む)で確認される代謝変換には、アセチル化、脱アセチル化(非特異的なカルボキシエステラーゼを介する)、水酸化(チトクローム p450 酵素を介する)、脱エポキシ化(げっ歯類、ブタ、ウシで見られる)、及びグルクロニド抱合(Figure 2 参照)がある(Doi et al., 2006; Naseem et al., 1995; Wu et al., 2010)。

C4 の脱アセチル化によるT-2 トキシンからHT-2 への変換は、非特異的なカルボキシエステラーゼが関与しており、*in vitro* ではヒトの皮膚とヒト線維芽細胞において優位に見られる代謝変換である。ヒト皮膚組織をトリチウムで標識したT-2 トキシン(74 ng/cm<sup>2</sup>)と共に48時間培養すると、レセプター液中には71%のHT-2 トキシンと、15%のT-2 トキシンが検出された(Kemppainen et al., 1986)。3'-ヒドロキシT2、3'-ヒドロキシHT-2、3'-ヒドロキシT2 トリオール、3-アセチルT-2 トキシンといった未知の代謝産物が暫定的に同定されている。3-アセチルT-2 トキシンへの代謝は、この代謝産物がT-2 トキシンよりも毒性が強いことから、活性化経路と考えられている(Wu et al., 2010)。3'-ヒドロキシ代謝産物はHT-2、T-2 両方で確認されている(Figure 2 参照、黒枠で囲まれている物質)。T-2 トキシン及びHT-2 トキシンの変換はヒト近位尿細管上皮細胞とヒト肺線維芽細胞を用いた研究でも観察されている(Königs et al., 2009)。HT-2 は、様々な動物種(ラット、ヒツジ)の肝臓、腎臓及び脾臓のマイクロソーム標本を調べた研究において、唯一確認されたT-2 の代謝産物である(SCF, 2001)。

生体内変化は主に肝臓で行われているが、ラット、ブタ、マウス、ニワトリ、ウシでは腸管や血漿中でもみられる。反芻動物では代謝は特に第1胃で行われている(Cavret and Lecoeur, 2006)。HT-2 を基として、3'-ヒドロキシHT-2、T-2 トリオール、3'-ヒドロキシT-2 トリオール、4-ジアセチルネオソラニオール、T-2 テトラオールといった様々な付随する代謝産物が産生される。T-2 トキシンから誘導されるものとしては、3'-ヒドロキシT-2 トキシンも上記の動物種で確認されている(SCF, 2001; WHO, 2001; Wu et al., 2010)。さらに、Figure 2 の下線が引かれた代謝産物は、脱エポキシ化された代謝産物であり(例えば脱エポキシ化T-2 テトラオール)、げっ歯類、ブタ、ウシで見つかっている(15-ジアセチルネオソラニオールはげっ歯類でのみ、T-2 テトラオールはブタでもみられる)(Wu et al., 2010)。T-2 トキシン及びその代謝産物の第II相代謝はグルクロニド抱合体の形成として特徴づけられており、その大部分が排泄される代謝産物である(下記参照)。ネコはグルクロニド抱合体の形成能を欠いているため、T-2 トキシンの毒性への感受性が極めて高い(SCF, 2001; WHO, 2001)。

*in vivo* でのラットの代謝(変換率に関して)は投与の経路と時間に依存し、濃度は関係ないことがわかっている。例えば、トリチウムをラベルしたT-2 トキシンを0.15及び0.60 mg/kg bw で投与したラットにおいては、T-2 テトラオール、HT-2 トキシン及び脱エポキシ化テトラオールへの相対変換率は高く、3'-OH-HT-2 への変換率は低いという傾向が、経口投与よりも静脈内投与した場合にみられた。また、脱エポキシ化3'-OH-HT-2 は静脈内投与した場合より、経口で投与した個体でより多く確認された

(Pfeiffer et al., 1988 ; WHO, 2001 ; Wu et al., 2010)。

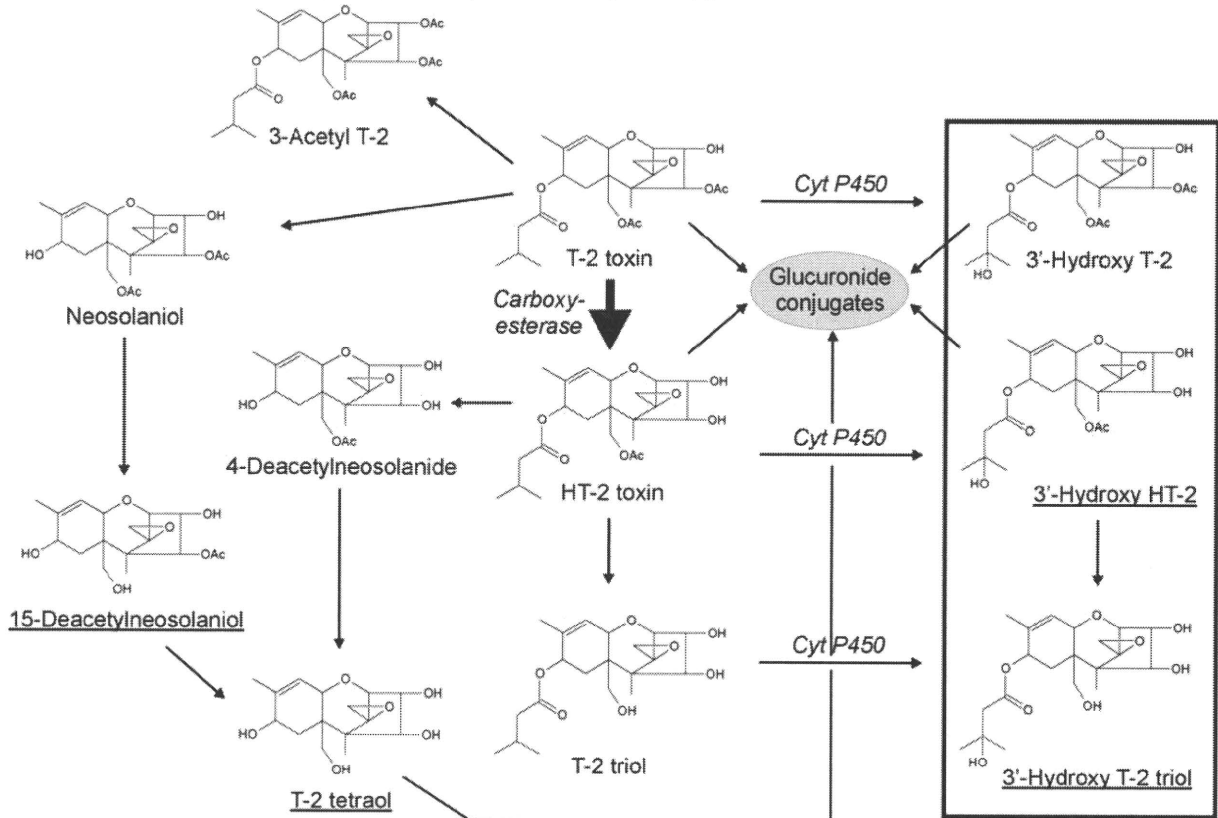


Figure2 : ヒト及び動物での代謝経路 ; (Dohnal et al., 2008) のデータを改変

#### 1.1.4 排泄

様々なげっ歯類 (マウス、ラット、モルモット) で、排泄は尿や胆汁を介して行われるが、尿中排泄と胆汁中排泄の比率は種によって異なる (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。放射能ラベルした T-2 トキシンをモルモットに筋肉内投与 (1 mg/kg bw) した後、投与した濃度の 75% が尿と糞便中に排泄され、その比率は 5 日間にわたり 4 : 1 であった。尿中排泄は 24h が最高で、28 日以内には投与した濃度の 99% が消失した (WHO, 2001)。

ラットでは、異なる濃度と様々な投与経路で、糞中排泄が尿中排泄を上回った。例えば、0.15 又は 0.6 mg/kg bw/d で T-2 トキシンを経口投与したラットの場合、72 時間以内には 95% がすでに排泄されていた。高用量群ではおおよそ 80% の T-2 トキシンが糞便中に排泄されていた。これは 0.15 mg/kg bw で静脈内投与した場合も同じであった。静脈内投与後、ラットの尿中の代謝産物は、暴露 5 日後まで確認された (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。マウスでは、T-2 トキシンとその代謝産物は糞中と尿中に 3:1 の割合で排泄された (Eriksen and Alexander, 1998)。

泌乳牛に [<sup>3</sup>H] T-2 トキシンを経口投与したところ、尿、胆汁及び乳中に毒素代謝産物 (HT-2、ネオソラニオール、4-ジアセチルネオソラニオール) が排泄された (Wu et al., 2010)。メスのブタに T-2 トキシンを与えると (0.48 mg/kg bw/d, 220 日間)、乳汁 1g 当たり T-2 トキシン 76ng の乳中汚染が見られた (実験 190 日目に分析 ; WHO, 2001)。反芻動物では、乳中汚染は第一胃での代謝に依存する。第一胃に摂取されたトリコテセン系トキシンの代謝に胃内の細菌が関与するため (Dohnal et al., 2008)、ウシが 4 倍量の暴露を受けているにも関わらず、ウシとブタの乳汁中の汚染濃度は同じであった (Cavret and Lecoer, 2006)。ニワトリでは、分布パターンと排泄で、胆汁中排泄の優位を示していた。メスのニワトリに放射能ラベルした T-2 トキシンを単回もしくは 8 日間の反復経口投与を行うと、投与後 24 時間以内に卵内への放射能汚染が確認され (反復投与後、卵白中の最大値は投与量の 0.41% に達した)、投与中止後は速やかに減少した (WHO, 2001)。

排泄される生成物のほとんどはグルクロニド抱合体である。例えば、ブタに 0.15 mg/kg bw で<sup>[3H]</sup>T-2 トキシンを静脈内投与した 4 時間後では、グルクロニド抱合体は胆汁中に 77%、尿中に 63% 検出され (Corly, 1986)、これは T-2 トキシンが腸肝循環下にあることを示している。腸管循環はラットでも確認されている (Doi et al., 2006)。

## 1.2 生化学的作用機序

観察されるトリコテセン類の毒性は、タンパクの、又は高用量下では RNA 及び DNA の合成阻害能であると最も考えられる。さらに、細胞膜の完全性に影響する脂質の過酸化や、アポトーシス効果が T-2 トキシンの作用として確認されている (Battilani et al., 2009 ; Rocha et al., 2005)。

### 1.2.1 タンパク合成への影響

*In vitro* で、哺乳動物培養細胞へ T-2 トキシンを作用させた場合の、タンパク合成阻害についての様々な研究が報告されている (例えば、ラットの肝細胞の培養液中の T-2 トキシンの濃度が 0.01 ng/mL の場合、75% 抑制された。)。 *In vivo* についても、T-2 トキシンを 0.3、0.75 又は 2mg/kg bw で単回腹腔内投与されたラットにおいて、筋肉、心臓、肝臓及び脾臓でタンパク合成阻害が確認された。さらに、マウスに 0.75 mg/kg bw を 3 又は 7 日間、連日腹腔内投与すると、骨髄、脾臓及び胸腺から得られた細胞で、タンパク合成阻害が見られた (Erikson and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; Thompson and Wannemacher, 1990 ; WHO, 2001)。

HeLa 細胞に T-2 トキシンを 1-100  $\mu$ M の濃度で作用させた際に、ポリソームの解離が報告されている (Liao et al., 1976)。T-2 トキシンは、リボソームの 60s サブユニット上のペプチジル基転移酵素の中心と相互に作用し、そのためペプチド結合形成におけるペプチド転移を阻害する。しかし、*Myrothecium verrucaria* と呼ばれる真菌のリボソームは T-2 トキシンのタンパク合成阻害に対し耐性を持っていた。真核細胞の T-2 トキシンへの感受性は、おそらくリボソームの 80s 真核細胞リボソームの 60s サブユニットと T-2 トキシンの間での直接作用によるものと考えられる (Jaradat, 2005 ; WHO, 2001)。

### 1.2.2 DNA 及び RNA 合成への影響

DNA 及び RNA の合成阻害は、*ex vivo* での培養細胞 (0.75 mg/kg bw で単回、もしくは 3 又は 7 日間連日投与したマウスの骨髄、脾臓及び胸腺由来)、及び *in vitro* (多種の細胞株 ; >0.1 -10 ng/mL) で確認されている。例えば DNA 合成は、フィトヘマグルチニン (PHA) で刺激したヒト末梢血白血球に 8 ng/mL で T-2 トキシンを作用させると完全に阻害され、たったの 1.5 ng/mL 作用させた場合でも 80% が阻害されているのが確認された (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

### 1.2.3 アポトーシス

T-2 トキシンのアポトーシス効果については、*in vitro* (HL-60 細胞 : 10 ng/mL ; Raw264.7 細胞 : 10 ng/mL ; Jurkat 細胞 : 10  $\mu$ M (HT-2 トキシンでも同様)) 及び *in vivo* (10 mg/kg bw、マウスの胸腺及び脾臓の白血球、骨髄及び腸陰窩上皮細胞 (SCF, 2001)) に関して、多くの論文で報告されている。T-2 トキシンを経口又は腹腔内投与でマウスやラットに暴露すると、胸腺と脾臓でアポトーシスが誘導される。マウスでは 0.75 mg/kg bw で経口投与した後に、胸腺の委縮も観察されている。アポトーシスは子宮内暴露後の胎仔の組織でも確認されている (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

T-2 トキシン投与後のアポトーシス誘導機構については、様々な見解が示されている (Jaradat, 2005)。

- a) タンパク合成阻害又は酸化ストレス (グルタチオンレベルの枯渇や脂質過酸化反応の増加などを特徴とする) の二次的な影響としての DNA の傷害が、ミトコンドリアのアポトーシス経路を活性化する。

ミトコンドリアと ROS は、T-2 が誘導する *in vitro* でのヒト肝癌細胞 (HepG2) とヒト子宮頸癌細胞 (HeLa) のアポトーシスで、きわめて重要な役割を果たしていると考えられる (Bouaziz et al., 2009 ; Bouaziz et al., 2008)。Jaradat (2005) が行った様々な研究では、ミトコンドリアから放出されるプロアポトーシス因子 (シトクローム c など) が、特異的なプロテアーゼによる特異的なアポトーシスプログラムの実行を活性化していると報告している。ヒト子宮頸癌細胞に T-2 トキシンを 10ng/mL で作用させると酸化的ストレスがかかり、時間依存性に DNA 損傷が起こった : T-2 トキシン添加 2 時間後は軽度の DNA 拡散 ; 4 時間後は拡散した 1 本鎖 DNA の分解 ; 8 時間後は重度の損傷を意味する細胞顆粒の出現がみられた。その上、アポトーシス調節の中核タンパクである p53 の発現が増加し、他のタンパク質がミト

コンドリアのアポトーシス経路に関与した(例: Baxはミトコンドリアからのチトクロームcの遊離を促し、プロカスペーゼ-9を活性化させる。Chaudhari et al., 2009a)。Doiら(2006)はp-53が介するアポトーシス経路は造血系細胞とリンパ組織において好都合な細胞死と考えられると報告している。

b) タンパク抑制の二次的な作用として、もしくはROS産生が付随する脂質過酸化が間接的に介することのどちらかにより、Strain-activated protein kinase(SAPK/JNK)とmitogen activated protein kinase(p38/MAPK)が誘導され、引き起こされるアポトーシス細胞死。

トリコセチン類は皮膚(*in vitro*と*in vivo*)とマクロファージにリボトキシックストレスを起こす(Doi et al., 2006; Li and Pestka, 2008)。例えば、T-2 トキシンはラットのケラチノサイト初代培養にアポトーシスを起こした。アポトーシスに関連した遺伝子(*c-jun*と*c-fos*)及びサイトカイン(TNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ )のmRNAの発現は、アポトーシスが起こる前に著しく増加した(T-2 トキシン処理後0.5時間後には検出された)(Albarenque and Doi, 2005; Doi et al., 2006)。T-2 トキシンを2mg/kg bwで妊娠ラットに経口投与すると、ラットの肝臓と胎盤、加えて胎仔の肝臓での*c-jun* 遺伝子の発現が増加しており、これはMAPK経路の関与が最終的にアポトーシスを誘導しているということを示唆している(1.3.5項参照(Sehata et al., 2005a; b))。Shinozukaら(2009)によると、T-2 トキシンが誘導する肝細胞への損傷は主に酸化ストレスによるもので、次いでアポトーシス細胞死を引き起こす。Sehataら(2004a)は、神経系のアポトーシスに先立って、hsp70やSODといった抗酸化遺伝子の発現が、ラット胎仔の脳で増加していることを確認している。4 $\mu$ MのT-2 トキシンをTHP-1細胞(ヒト単球性白血病細胞株)に作用させると15分後には事前のp38キナーゼ活性が見られ、3-6時間後にはアポトーシス細胞死が確認された(Rakkestad et al., 2010)。

一般的に、T-2 トキシンが誘導するアポトーシスのメカニズムについては未だ議論の余地があると思われる。様々な研究で見られる違いは、異なった実験方法と用いられたT-2の濃度の違いによるものと考えられる。しかし現在一般的には、T-2 トキシン及びHT-2 トキシンは特に高増殖性の細胞にアポトーシスを誘導すると考えられている。例えば、リンパ器官で見られる委縮(前述及び1.3項の詳細を参照)は、明らかにアポトーシス細胞死のためである。さらに、アポトーシス細胞死は造血系、リンパ系、及び腸管系組織で確認される。背面皮膚や胎仔の組織(中枢神経や骨組織)も影響を受ける(Doi et al., 2006; Jaradat, 2005)。

#### 1.2.4 細胞膜と脂質過酸化反応への影響

*in vitro*で、L-6筋芽細胞の細胞膜の透過性は0.4pg/mLの濃度(SCF, 2001; WHO, 2001)で影響を受けた。さらに、ウシ血小板のリン脂質の代謝回転は変化し(20 $\mu$ g/mLのT-2により)、また赤血球の溶血も*in vitro*で起こった(SCF, 2001)。血小板の溶血には最小閾値濃度が存在し、250-200 $\mu$ g/mLでT-2を暴露した時は影響が見られたが、130 $\mu$ g/mLの時では確認されなかった(Eriksen and Alexander, 1998)。

T-2 トキシンは両親媒性の為、細胞膜の二重層に取り込まれ、フリーラジカルを生成することにより脂質過酸化反応を誘導し、それにより細胞膜を傷害すると考えられている。脂質過酸化反応はつまりは細胞の酸化ストレスを示す。さらに、酸化ストレスはROS(活性酸素)や抗酸化物質(GSH(グルタチオン)など)を測定することで確認できる。ROSレベルの増加とそれに伴うGSHレベルの低下や、マロンジアルデヒド(MDA)の濃度増加が*in vitro*(T-2 トキシンをヒト子宮頸癌細胞に10ng/mLで作用させた場合)、及び*in vivo*(マウスに11.2mg/kg bwで腹腔投与した場合; Chaudhari et al., 2009a; Chaudhari et al., 2009b)でも確認されている。別の研究では、マウスにT-2 トキシンを1-6.25mg/kg bwで単回投与した後、24時間から48時間でMDAレベルが増加し、その後減少している(Vilà et al., 2002)。これは3種の鳥類(アヒル、ニワトリ、ガチョウ)での結果と一致している。被験動物は0.2-0.6mg/kgでT-2 トキシンが含有された飼料を給餌され、増加したMDA濃度が肝ホモジネートと血漿から測定された(WHO, 2001)。ラットにT-2 トキシンを投与すると(単回経口投与、2又は3.6mg/kg bw; Rocha et al., 2005; SCF, 2001)、脂質過酸化物は肝臓、脾臓、腎臓、胸腺及び骨髄で増加していた。アスコルビン酸、 $\alpha$ -トコフェロール及びセレン(フリーラジカルから保護する物質)が、T-2 トキシンが介在する脂質過酸化反応に対する保護作用を示した為、フリーラジカルの関与があると筆者らは結論づけている(Erikson and Alexander, 1988)。

T-2 トキシンが10mg/kgで含有している飼料を17日間給餌されていたニワトリでは、抗酸化能(TAS)の低下と、わずかであり有意ではない血漿中のMDAの上昇が肝臓で見られた(1.3.7参照)。T-2 トキシンはグルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)活性には影響しなかった(Frankic et al., 2006)。ブタでは(T-2 トキシンが3mg/kgで含有している飼料を14日間給餌、1.3.2参照)、MDAの血漿中と、24時間尿



中排出率に変化は見られず、GPx レベルも同じままであった (Frankic et al., 2008)。

総合すると、T-2 トキシシが酸化ストレスの指標に与えた影響に関する報告には、未だいくつか矛盾する点がある。いくつかの研究では MDA レベルの増加が見られる一方で、他の報告では変化が見られていない。しかしながらほとんど全ての研究において、高濃度の T-2 トキシシを用いた場合、劇的な酸化パラメーターの増加が見られ、急性の短期毒性が起こっている (Frankic et al., 2008)。

### 1.2.5 その他の影響

T-2 トキシシは酵母細胞のミトコンドリアの電子伝達系や、チャイニーズハムスター V79 細胞のギャップ結合を介した細胞間伝達を阻害すると報告されている (SCF, 2001)。後者は、オスのマウスに 4 もしくは 8mg/kg bw で T-2 トキシシを単回経口投与した実験で実証されている。T-2 トキシシ投与 6 時間後に、ギャップ結合における主要なタンパク構成要素のひとつであるコネキシン 32 の発現が低下し始めた (Muto et al., 2002a)。

Li ら (2006b) は、T-2 存在下で見られる抗ウイルス免疫力の低下は、T-2 トキシシによる IFN- $\gamma$  の抑制が一つの要因ではないかと述べている。IFN- $\gamma$  の抑制は、おそらく IL-6 の発現増加のためと考えられる。

## 1.3 実験動物及びヒトでの毒性

### 1.3.1 急性毒性

ほとんどの急性毒性のデータは T-2 トキシシのものである。HT-2 トキシシに関しては、後述の LD50 について言及しているものだけが参照できる。

T-2 トキシシの急性毒性は非常に高い。げっ歯類での経口 LD50 値は 5-10mg/kg bw の範囲であり、週令の高い動物は新生児に比べ感受性が低く、またオスはメスに比べ感受性が低い。加えて、種間での違いが特にマウスでみられている。ブタでは、経口 LD50 値が 5mg/kg bw と報告されている。鶏雛に T-2 トキシシを経口で投与した場合は、半数致死量は 2-6mg/kg bw の間だった。HT-2 トキシシに関しては、ニワトリでの経口 LD50 値が 7.2mg/kg bw であると報告されている (Jardat, 2005; SCF, 2001; WHO, 2001)。最近の研究では、若齢のオスのフィッシャーラットでの T-2 トキシシの経口 LD50 値が、3.71mg/kg bw (95% 信頼区間: 2.69-5.01 mg/kg bw) であると決定されている。アフマトキシシ B1 との併用投与では類似した LD50 値が得られている。総合的に、これら二つの毒素の併用により、相加効果が得られると筆者らは述べている (McKean et al., 2006)。

マウスに T-2 トキシシ及び HT-2 トキシシを腹腔内投与 (i. p.) した時の LD50 値は 5-10mg/kg bw の範囲であった。一方、ラットはマウスに比べ、より T-2 トキシシに対し感受性が高かった (腹腔内 LD50 値は 0.9-2.2mg/kg bw)。皮下投与、静脈内投与 (i. v.)、又は筋肉内投与 (i. m.) の場合の両毒素の LD50 値は、平均してラットでは 1mg/kg bw 以下で、マウスでは約 6mg/kg bw であった。ブタでは静脈内投与した時の LD50 値は 1.2mg/kg bw であり、サルでは筋肉内投与した時の LD50 値は 0.65mg/kg bw であった。吸入投与した時の T-2 トキシシの急性毒性で、最も低い半数致死量が示されており、オスのマウスで 0.035mg/kg bw であった。経口投与の際に見られたように、オスよりメスのマウスの方がより T-2 トキシシの影響に対して感受性が高い (Jardat, 2005; SCF, 2001; WHO, 2001)。

0.06-10mg/kg bw の範囲での T-2 トキシシの急性経口投与の後、体重減少、食欲減退、皮膚炎、嘔吐、下痢、出血といった非特異的な症状に加え、胃腸、骨髄、脾臓、精巣、卵巣の上皮の壊死といった影響が確認されている。ネコは特に感受性が高い。造血系は T-2 トキシシ急性暴露の際の一つの主要なターゲットである (SCF, 2001)。詳細な説明は 1.3.4 項に記述する。

ラットに T-2 トキシシを経口単回投与 (3.6mg/kg bw; SCF, 2001) すると、肝臓中の過酸化脂質が増加した。

ブタとラットでの急性な作用には、循環系の異常 (血圧低下や不整脈) があり、おそらく血圧への中枢効果とカテコールアミンの上昇のためと考えられる。さらに詳細に述べると、初期の実験で培養心筋細胞に 250  $\mu$ g/mL の濃度で作用させた際、即座に拍動数と振幅が減少した。わずか 5 又は 2.5  $\mu$ g/mL だけでも 24 時間後には筋細胞に有害な影響がみられ、48 時間後には細胞死に至った。さらに、*in vivo* でラットへ T-2 トキシシを投与した後、冠状毛細血管は重度に傷害され、しばしば崩壊することが示されている。ラットへ T-2 トキシシを 2mg/kg bw で単回腹腔内投与 (また低用量で複数回投与の場合も) した場合には、内皮細胞の損傷、基底膜の変形、及び平滑筋細胞の変形が見られた (SCF, 2001; WHO, 2001)。

T-2、HT-2 トキシンは極めて強い皮膚刺激性がある。T-2 トキシンをラットの皮膚に局所投与すると、12 から 24 時間後に血管拡張、浮腫、単核球浸潤及び多くの肥満細胞の脱顆粒が濃度依存的に確認された(SCF, 2001 ; WHO, 2001)。ラットでは、T-2 トキシンの刺激効果の閾値は  $0.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  と報告されている(Sudakin, 2003)。

T-2 トキシンをラットへ皮膚適用した際の毒性については、Albarenque ら(2000 ; 2001a ; 2001b)によっても調べられている。T-2 トキシンをラットに  $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  で皮膚に単回塗布後、24 時間以内に組織病理学的検査を行うと、好酸性の細胞質や核濃縮又は核崩壊を伴う細胞の委縮として特徴づけられる、表皮の基底細胞の好酸性変化が見られた。これらの細胞はアポトーシスを起こしていた。真皮には肥満細胞を含む炎症性細胞の浸潤が確認された。皮膚形態学的に同様の結果が、Nguansangiam ら (2003) が  $10 \mu\text{g}$  の T-2 トキシンをマウスに投与した実験で報告されている。

*in vitro* で 1 日齢の鶏雛の気管上皮に T-2 トキシンを適用すると、 $0.6\text{--}20\text{mg}/\text{L}$  の場合 2 日後に、 $0\text{--}300 \mu\text{g}/\text{L}$  の場合 3 日後に、絨毛運動が停止した。つまりは、生物と環境の間の最も重要なバリアが機能的に破壊されていることになる(Wijnands and van Leusden, 2000)。

ここ 10 年、T-2 トキシンを単回投与した際の毒性に関する更なる調査が、異なった種(ラットやマウス) で実施されており、免疫系、造血系への影響、遺伝子やタンパク発現、タンパク活性の変化(酸化ストレス遺伝子/タンパク又はアポトーシス誘導遺伝子/タンパクなど)、DNA の断片化、母体毒性、胎仔毒性が確認されている。その結果、過去の研究の実証により T-2 トキシンが関わる新たな有害作用や、T-2 トキシンが作用する生化学的な経路が明らかになった。様々な研究が個別の分野でより詳細に報告されている。

T-2 トキシンの急性暴露後の第 1 相、第 2 相薬物代謝酵素への影響は、とりわけマウス、ウサギ、ブタで調べられている。T-2 トキシンを  $4\text{mg}/\text{kg bw}$  でマウスに投与すると、24 時間後と 48 時間後の肝臓中のチトクローム P450 2E1 タンパクは有意に抑制されていた(それぞれの時点につき  $n=5$ )。それにも関わらず、CYP3A2 の発現には影響がなかった。T-2 トキシンを投与された動物は P450 の総量も減っていたものの、コントロールとの有意差はなかった(Muto et al., 2002b)。

ニュージーランドホワイトラビットに T-2 トキシンを  $0.1$ 、 $0.25$  又は  $0.5\text{mg}/\text{kg bw}/\text{d}$  で 5 日間強制給餌すると、高用量投与群で  $3/5$  の動物が死亡した。 $0.1 \text{mg}/\text{kg bw}/\text{d}$  では毒性の兆候はみられず、代謝酵素への影響もなかった。 $0.25 \text{mg}/\text{kg bw}/\text{d}$  では体重増加度の減少と、中程度の毒性の影響が見られた。さらに、総肝マイクロソーム P450 量と、アミノフィリン、ベンズフェタミン N-デメチラーゼ、ペントキシシレゾルフィン 0-デペンチラーゼ及びグルタチオン S-トランスフェラーゼの活性は減少していた。T-2 トキシンはエチルモルフィン、エリスロマイシン N-デメチラーゼ、エトキシシレゾルフィン及びメトキシシレゾルフィン 0-デアアルキラーゼ、アニリンヒドロキシラーゼ並びに UDP-グルクロニルトランスフェラーゼには影響を与えなかった。チトクローム P450 1A1、1A2、2A1 及び 2B4 の発現は減少したが、P450 2C3 及び 3A<sub>g</sub> は減少しなかった(Guerre et al., 2002)。

代謝酵素の活性は、T-2 トキシンを  $0.3\text{mg}/\text{kg bw}$  で単回皮下投与された仔ブタの肝臓で調べられている。クメンヒドロペルオキシドに対する酵素活性は、チトクローム P450 アイソフォーム 1A2、2E1、3A4 及びグルタチオン S-トランスフェラーゼでわずかに上昇していた(ただし 1-クロロ-2, 4-ジニトロベンゼンに対しては上昇しなかった)。CYP1A2、2E1、3A4、グルタチオン S-トランスフェラーゼ  $\alpha$  及びグルタチオン S-トランスフェラーゼ M1-1 は適用後 24 時間で上昇した(Dong et al., 2008)。

## ヒト細胞での所見

2 種のヒト細胞株 (ヒト近位尿細管上皮細胞及び正常ヒト肺線維芽細胞) の初代培養において、細胞毒性が観察され、T-2 及び HT-2 トキシンの IC<sub>50</sub> 値が定められている。T-2 トキシンの IC<sub>50</sub> 値の  $0.2$  及び  $0.5 \mu\text{M}$  は細胞に強い毒性を示し、 $0.1 \mu\text{M}$  すでにアポトーシス細胞死が明らかに見られた。HT-2 トキシンは幾分高い濃度で ( $>1 \mu\text{M}$ ) でアポトーシスを誘導し、毒性はわずかに弱かった (IC<sub>50</sub> 値 :  $0.7 \mu\text{M}\text{--}3 \mu\text{M}$ , Königs et al., 2009)。

### 1.3.2 反復投与毒性

T-2 トキシン又は HT-2 トキシンの反復投与における毒性の兆候は、体重減少、体重増加度の低下、出血性下痢、皮膚壊死、嘴や口の病変、出血、泌乳や産卵の減少、さらに免疫学的な影響として現れる。以下に示す表は、過去に調べられた哺乳動物に T-2 及び HT-2 トキシンを反復投与した場合の毒性についてまとめたものである(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

表1 哺乳類におけるT-2トキシシン反復投与毒性についての関連研究の要旨(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001からのデータ)。

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg bw/d)	暴露期間	N(L)OEL* (mg/kg bw/d)	影響	参考文献
亜慢性毒性						
ブタ	経口 (給餌)	0.03-0.09	3週間	0.03(L)	0.03 (mg/kg bw/d) で飼料摂取量が10%減少 0.06 (mg/kg bw/d) からグルコース、無機リン及びマグネシウムレベルが低下	(Rafai et al., 1995a)
ブタ	経口 (給餌)	0.03-0.13	3週間	0.03(L)	免疫毒性	(Rafai et al., 1995b)
ブタ	経口 (給餌)	0.016-0.132	5週間	0.132	血液学的な変化は見られず <sup>1</sup> 、有意でない飼料摂取量低下の傾向のみ	(Friend et al., 1992)
ブタ	経口 (給餌)	0.04-0.64	8週間	0.04(L)	体重増加度の減少 <sup>2</sup>	(Weaver et al., 1978)
ミニブタ	経口 (強制給餌)	0.012, 0.06	7週間	0.06	病原体への感受性、臨床的な健康状態、体重増加、血液学的性状には影響なし	(Berhoffs et al., 2000)
サル	経口 (強制給餌)	0.1	4-5週間	0.1(L)	免疫毒性、(加えて嘔吐、出血、呼吸器感染、致死)	(Jagadeesan et al., 1982)

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg bw/d)	暴露期間	N(L) OAEL* (mg/kg bw/d)	影響	参考文献
ラット	経口 (給餌)	0.25, 0.5, 0.75	4週間	0.25	胃病変(マウスでの病変に類似、慢性毒性を参照)	(Ohtsubo and Saito, 1977)
慢性毒性						
マウス	経口 (強制給餌)	0.1	25週間	0.1(L)	乳頭腫	(Yang and Xia, 1988a)
マウス	経口 (給餌)	0, 1.5, 2.25	12か月	1.5(L)	胃の食道領域の可逆性病変(形成不全、過形成、表皮肥厚、扁平上皮の炎症性細胞浸潤を伴う乳頭腫)	(Ohtsubo and Saito, 1977)
マウス	経口 (給餌)	0.22, 0.45	71週間	0.22(L)	肺腺腫及び肝細胞腺腫(m)、噴門洞の上皮過形成(m/f) <sup>3</sup> 、高投与量での心臓重量増加(m)	(Schiefer et al., 1987)
ラット	経口 (給餌)	0.5 <sup>4</sup>	8か月	0.5(L)	影響なし	(Marasas et al., 1969)

m : オス, f : メス, n. d. : 未決定

\*それぞれの実験においてLはLOAELを示し、NOAELは決定できていない。

<sup>1</sup>分析されたパラメーター：ヘマトクリット値、赤血球数、細胞容積、ヘモグロビン濃度

<sup>2</sup>血液学的な変化はなし

<sup>3</sup>生存率は投与群(75%又はそれ以上)に比べ、コントロール群が常に低かった(62%)、以下の分析されたパラメーターは変化なし：飼料摂取、体重増加度、メスの心臓重量増加、他の臓器の重量、血液学的パラメーター

<sup>4</sup>4週間ずつの条件交替法； T-2 トキシン含有飼料4週間とコントロール飼料4週間で交互に与える