

ブロイラー雛、シチメンチョウ雛、マガモ雛、コウライキジを用いた給餌実験では、コントロール群と比較して体重増加度が減少し(飼料中に約 5mg/kg の T-2 トキシンが含有している場合で 18-26%の減少)、また嘴の病変も見られた(飼料中に約 1mg/kg の T-2 トキシンが含まれている場合)。これらの研究の飼料中の T-2 トキシン濃度は 0.2 から 16mg/kg の範囲で、給餌は 19 から 24 日間行われた(WHO, 2001; Wijnands and van Leusden, 2000)。

T-2 トキシンを 0.06、0.08 又は 0.1mg/kg bw/d でネコに隔日経口投与すると、6-40 日以内で死亡した。死亡前に見られた影響としては、体重減少、嘔吐、食欲不振、出血性下痢及び運動失調があった。肉眼所見では、腸管、リンパ節及び心臓に出血が見られた。顕微鏡検査では、消化管、リンパ節、心臓及び髄膜での出血や胃腸上皮の壊死、骨髄中の細胞充実度の減少が見られた。平均生存時間と投与量には逆の相関が見られた。ネコで確認された重度な症状は、グルクロニド抱合体形成能が乏しく、その結果、毒素の解毒及び排泄に限られるためと考えられている(WHO, 2001)。

仔ヒツジに T-2 トキシンを 0.3 又は 0.6mg/kg bw/d で 21 日間給餌すると、唇交連の皮膚粘膜移行部における限局性の充血及び皮膚炎、下痢並びに免疫毒性が見られた。仔ウシに経口で(給餌又はカプセル)0.08、0.16、0.32 又は 0.6mg/kg bw/d を 30 日間投与した場合、様々な影響が見られた。もっとも高い用量を投与された仔ウシは 20 日目に死亡した。すべての用量で中程度の腸炎があらわれ、0.32 mg/kg bw/d 以上投与した場合では血便が見られた。さらに、腸管や造血系への影響も確認された(WHO, 2001)。

以上のトリコテセン類の毒性に関するデータは、ここ数年で発表された結果に裏付けられており、ほとんど全てのこれらデータが、家畜を用いて実施されたものである。T-2 トキシンの反復投与毒性試験の大部分は、ニワトリへの給餌実験で行われている(2-5 週間、0.5-13.5mg/kg の T-2 トキシン含有飼料)。

T-2 トキシンと HT-2 トキシンの毒性が 90 日齢のオスのブロイラー(n=30)で調べられている。オスの若齢ブロイラーは T-2 トキシンが 0.31mg/kg 及び HT-2 トキシンが(0.26mg/kg)含有(マイコトキシン量は HPLC により分析)している飼料を 21 日間給餌された。データに基づいて、T-2 トキシン 0.033-0.05mg/kg bw/d と HT-2 トキシン 0.03-0.04 mg/kg bw/d の投与量における、体重と飼料消費量が計算された。暴露動物の体重増加度と飼料消費量には影響がなかった。血漿、肝臓、心臓及び脾臓中の MDA 濃度は、コントロールと比べると投与動物で増加していたが、この作用は統計学的に有意ではなかった。投与動物での GPx 活性は影響を受けなかった。還元型グルタチオン量は、コントロールと比較して血漿、心臓中では増加し、肝臓、脾臓中では減少した(統計学的に有意差があったのは心臓での作用のみ)。筆者らはマイコトキシン症の臨床兆候が見られなかったのは飼料中の抗酸化物質(50mg/kg のビタミン E 及び 0.29mg/kg のセレン; Pál et al., 2009)のためではないかと論じている。

別の実験ではオスのブロイラー雛に 17 日間給餌しており(T-2 トキシンが飼料中に 0、0.5、1.5、4.5、13.5mg/kg で含有)、飼料摂取量と体重増加度(LOAEC=4.5mg/kg diet)の減少が報告されている。その上、最も高い投与量では DNA 断片化と IgA レベルの増加(ただし IgG は増加せず)が確認されている。DNA の断片化が誘導されているにも関わらず、この投与量の範囲では T-2 トキシンによる酸化ストレスは見られなかった(Rezar et al., 2007)。

ブロイラー雛に T-2 トキシンが 2mg/kg で含有している飼料を 28 日間与えた実験では、状態に悪影響が見られた(体重減少、飼料摂取/体重増加度の上昇など)。このマイナス効果は、“Mycofix”というマイコトキシンの 12, 13-エポキシド環を酵素的に不活化する(Diez et al., 2005) 飼料添加物を飼料に加えることで抑制された。

ニワトリにT-2トキシシが8.1mg/kgで含有している飼料を21日間与えると、肝臓中のセレン(32.2%)、 α -トコフェロール(41.1%)、総カロテノイド(56.5%)、アスコルビン酸(43.5%)及び還元型グルタチオン(56.3%)の濃度が減少し、またセレン依存性GPxの肝臓活性(36.8%)も減少した。MDA濃度は投与動物で3倍に増加した。T-2トキシシの毒性作用は、改良グルコマンナンもしくは改良グルコマンナンと有機セレンを一緒に飼料に含有させることで、防ぐことが出来た(Dvorska et al., 2007)。

鶏雛(各投与群につき20羽)及びシチメンチョウ(各投与群につき12羽)への低用量での給餌実験では、T-2トキシシの飼料中濃度が1mg/kg以下で(純度は報告なし)実施されたが(5週間、さらにT-2トキシシと1mg/kg以下のジアセトキシシルペノールとの併用投与も実施)、体重減少、飼料効率、もしくは経腸又は非経口による免疫付与(ウシ血清アルブミン又はニューカッスル病ウイルス)後の免疫グロブリン形成への悪影響などは引き起こさなかった。口及び腸管の病変(空腸及び十二指腸の絨毛表面積の減少など)は、これら低用量投与動物でも観察された(Sklan et al., 2001; Sklan et al., 2003)。

病理学的な影響が、ブロイラーにT-2トキシシが4mg/kgで含有されている飼料を35日間給餌することで評価されている。これらの鳥は肝臓、リンパ器官、前胃及び腸管で病変が見られた(Rajeev et al., 2003)。

これらの組織病理学的な変化はKrishnamoorthyと共同研究者(2007)により、鶏雛を用いた(n=12)低用量給餌実験によって確認されている。0.5mg/kgでT-2トキシシが含有している飼料(0.0625mg/kg bw/dに相当する; 飼料安全係数8を適用、純度に関する報告なし)を28日間与えると、様々な器官で病理学的な影響が見られ、それらの一部は14日後ですでに確認できた(上皮壊死、陰窩の伸長、固有層でのジフテリア膜形成と単核球浸潤、腸腺の線維化及び過形成、脾臓への単核球浸潤など)。これは、この研究でT-2トキシシとクロルピリホス(有機リン化合物、飼料中に45mg/kg)を併用投与した場合でも見られた。

ニワトリを用いた17日間の給餌実験(飼料中にT-2トキシシが10mg/kgで含有)では、脾臓白血球のDNA断片化(1.3.7項参照)が起こった。さらに、酸化ストレスのマーカーが調べられている。総抗酸化能(TAS)の減少や、わずかで有意でない血漿及び肝臓中のMDA含有量の増加が見られたが、一方GPx活性への影響は見られなかった。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)はT-2投与群で有意に減少したが、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)及び γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGT)への影響は決定的ではなかった(Frankic et al., 2006)。

幼齢ブチナマズへのT-2トキシシの毒性が給餌実験により調べられている。成長抑制が適用濃度(T-2トキシシが0, 0.625, 1.25, 2.5, 5mg/kgで含有している飼料を8週間給餌)に関わらず確認されており、高用量投与群で飼料効率の低下が明らかであった。また投与量の高い3群において、ヘマトクリット値が減少し、胃、頭腎、体腎での組織病理学的異常が観察された。ペアフィード群のヘマトクリット値はコントロール群の値と類似しており、T-2トキシシが1.25, 2.5, 5mg/kgで含まれている飼料を与えられた群よりも有意に高かった(Manning et al., 2003)。

家禽での新しいデータをまとめると、最初の作用は飼料中に1mg/kg以下のT-2トキシシが含有している飼料で起こっており、口や腸管の病変を起こす。そしてそれは非経口投与でも見られるため、全身性であると考えられている(Doi et al., 2006)。免疫調節性への作用は飼料中濃度が1mg/kg以上で明らかである。成長抑制は飼料中濃度2-5mg/kgの範囲で見られている。飼料中濃度1mg/kg以下の場合の免疫系や一般的な反応へのT-2トキシシの影響は、ピーキングダックを用いた研究1つのみである(2.3.3

項参照 ; Rafai et al., 2000)。DNA 断片化は高用量投与したときのみ誘導される(10mg/kg 以上)。生殖への影響は家禽以外の種で見られているが、15mg/kg 以上の濃度の場合のみであった。

他のいくつかの反復投与毒性についての研究が、T-2 トキシシ暴露後に代謝酵素と器官の完全性に影響が出ると報告している。

オスのブタ(一群あたり 5 匹、試験開始時の体重は約 11.4kg)に、純度の高い T-2 トキシシ(純度 98% 以上)が 0.54、1.3、2.1mg/kg 含まれている飼料を 28 日間暴露させている(Meissonnier et al., 2008)。免疫系への影響は 1.3.3 に記載した。体重増加度はすべての暴露群で減少したが、有意差があったのは最も高い用量を投与された群のみであった(約 13%減)。T-2 トキシシの暴露は、肝臓重量、脂質過酸化、肝臓中タンパク量、肝酵素の ALP(アルカリフォスファターゼ)、ALT 及び AST の血漿中活性には影響を与えなかった。肝臓と腸管に組織病理学的な異常は見られなかったが、コントロールを含むすべての群においてグリコーゲン過剰沈着がみられ、また中～高用量の群ではわずかな間質への炎症性細胞浸潤を伴っていた。T-2 トキシシ暴露は CYP1A 関連酵素(エトキシレゾルフィン脱エチル化反応及びベンゾ[a]ピレン水酸化反応)を低下させたが、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ及びグルタチオン-S-トランスフェラーゼには影響がなかった。作用は最も低い用量を暴露した場合でも確認できた。チトクローム P450 1A、2B、2C 及び 3A 並びに UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼのタンパク発現は影響を受けなかったが、高用量投与群でのみ P450 1A のタンパク発現が減少した。この研究の代謝酵素についての LOAEL は飼料中含有量 0.54mg/kg である(筆者らによると約 30 µg/kg bw/d に相当)。

ブタに T-2 トキシシが 3mg/kg で含有している飼料を 14 日間与えると、血漿中と 24 時間蓄尿中の MDA 排泄率及び GPx レベルの変化は見られなかった。T-2 トキシシ投与は、血漿中 AST、ALT レベルをコントロール群に比べ低下させた。血中リンパ球での DNA 断片化及び免疫学的な影響が確認された(1.3.3 項参照)(Frankc et al., 2008)。

T-2 トキシシの毒性が、チャイニーズハムスターに T-2 トキシシを 1mg/kg bw で 1 週間に 2 回、3 週間にわたり胃内投与することで調べられている。暴露終了時点で、体重、一般健康状態、肝臓、肺、腎臓、脾臓、膵臓、空腸、胸腺及び睾丸に影響は見られなかった。血清中の ALP 活性は有意に上昇したが、その他の生化学的指標(ALT、AST、GMA、総ビリルビン及び抱合型ビリルビン、グルコース並びにコレステロール)に有意な影響は見られなかった。白血球像では、単球の増加が見られたが、その他の影響はなかった(Rajmon et al., 2001)。

オスのラットに LD50 の 1/10 量(それ以外のデータなし)を 28 日間皮下投与し、その期間中、生化学的血中パラメーターの反応並びに肝臓、心臓及び腎臓の組織プレパラートが時系列で観察された。肝臓、心臓及び腎臓は壊死に至る重度な傷害を受けた。活性が増加したのは ALT(1.5 倍)、AST(1.5 倍)、LDH(乳酸脱水素酵素 ; 3.8 倍)及びクレアチニンキナーゼ(3.9 倍)で最高値はそれぞれ 14、14 及び 21、21 日後に観察された。一方 28 日後以降は活性は有意に減少した(これ以上のデータはなし)。筆者らは、これらのデータは実験の最初の 3 週間で臓器に傷害が起こって酵素が漏出し、さらに細胞内の貯蔵酵素が枯渇したことを示していると述べている(Jovanovic et al., 2000)。

T-2 トキシシ投与による血清中の ALT、AST 及び LDH 濃度への影響は、マウスに T-2 トキシシを 5.61 又は 11.22mg/kg bw(LD50 値の 1 又は 2 倍)で単回腹腔内投与した実験でも調べられている。示されたデータはいくらか不明瞭であり、表で示された結果と本文中で論じられた結果が一部矛盾していた(Chaudhari et al., 2009b)。Shinozuka ら(2009)は T-2 トキシシを 10mg/kg bw でマウスに単回経口投

与した場合に、48 時間後の血漿中の AST 及び ALT レベルが増加していることを報告している。

要約すると、T-2 トキシンは、特に高用量投与で(大抵毒性で、ほぼ致死的)哺乳類の血清中の肝酵素濃度に作用する。測定の高い時点で肝酵素の増加がしばしば見られる一方、遅い時点ではしばしば減少がみられ、これは恐らく細胞内に貯蓄した酵素が欠乏した影響であると思われる。

1.3.3 免疫毒性

免疫系は T-2 トキシンの毒性の一つの主要な標的である。急性経口投与の後には、骨髄、リンパ節、脾臓、胸腺及び腸粘膜で活発に分裂している細胞への重度な傷害が観察される。T-2 トキシンは他のトリコテセン類と同様に、投与量と暴露のタイミングに応じて免疫抑制性能及び免疫活性の両方を持ち得る。T-2 トキシンの液性免疫及び細胞性免疫両者に対する影響は、様々な研究で明らかにされている。

トリコテセン類の反復暴露はサルモネラ、マイコバクテリア、スタフィロコッカス、リステリア、トキソプラズマ及び単純ヘルペスウイルス (HSV-1) など様々な病原体への感受性を高める。作用はラット、マウス及びニワトリで 0.5-5mg/kg bw の範囲の用量で見られる。同じ濃度範囲で、T-2 トキシンを短期間投与した後にリステリアを接種するとリステリアへの耐性が強まるが、リステリア接種後では免疫抑制がかかる。耐性の増強はマクロファージの遊走が増加し、食作用が活性化された為であり、免疫抑制に関しては制御性 T 細胞の活性が変化したことによると推測されている (Bondy and Peskta, 2000 ; WHO, 2001)。

T-2 トキシンをマウスやラットに経口又は腹腔内投与した後は、胸腺や脾臓でアポトーシスが誘導される。マウスでの胸腺の萎縮が、0.75mg/kg bw で経口投与した場合に見られている (LOAEL ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

T-2 トキシン暴露は、分裂促進因子存在下の *in vitro* 及び *in vivo* でリンパ球の増殖能に影響する。マウス由来の脾臓リンパ球の分裂促進因子存在下での増殖は、低濃度の T-2 トキシン (0.23ng/mL、コンカナバリン存在下) で促進され、高濃度の場合 (1.2ng/mL、コンカナバリン存在下) は抑制される (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

2000 年までに発表された、より詳細な研究報告が JECFA (WHO, 2001) 及び SCF (2001) の報告書に記載されている。この 10 年間で発表された研究と比較するためのより良い基準として、暫定最大耐容一日摂取量 (PMTDI) 及び暫定耐用一日摂取量 (t-TDI) を算出した中心的研究である、Rafai ら (1995b) のブタを用いた研究をここではより詳細に記載する。

In vivo

4 群の体重約 9kg の 7 週齢のブタ (1 群につき 10 匹) に T-2 トキシンを 3 週間与えた (給餌)。飼料中の精製された T-2 トキシン (純度 90% 以上) は、0、0.5、1.0、2.0 及び 3.0mg/kg であった。これは、一日摂取量にすると 0、0.38、0.81、1.24 及び 1.43mg に相当し、平均一日暴露濃度になると 0.029、0.062、0.105 及び 0.129 mg/kg bw/d に相当する。ブタは実験の 1 日目と 4 日目にウマグロブリンで免疫された。血液サンプルが免疫前並びに 7、14 及び 21 日目に採取され、抗体力価、*in vitro* での分裂促進因子によるリンパ球増殖能、免疫複合体、サイトカイン反応及び循環顆粒球の貪食作用活性が調べられた。赤血球数、ヘマトクリット、平均赤血球容積、ヘモグロブリン量、白血球数及び T リンパ球の割合は 21 日目に採取した血液サンプルでのみ調べられた。ウマグロブリンへの抗体産生は全ての試験群及びサン

プル採取時点で減少した(有意でなかったのは1.0mg/kg投与した群の、7日目採取試料のみ)。赤血球数、平均赤血球容積及びヘモグロビン濃度は、高用量投与上位2群の、21日目の試料で有意に減少した。胸腺、脾臓及び腸間膜リンパ節の組織病理学像では、胸腺及び脾臓での濃度依存的なリンパ系細胞の枯渇が確認されたが、リンパ節についてはこの定量化は困難だった。白血球数及びTリンパ球の割合はすべての暴露群で減少した。最も低い用量を投与された群でさえ、白血球数は20%、ウマグロブリンへの反応は29%、リンパ球のPHAに対する幼若化反応は25%減少した。飼料摂取量は濃度依存的に減少した。最も低用量の投与群では飼料摂取は10%減少したが、体重増加度の有意な変化は見られなかった(Rafai et al., 1995b)。この研究でのLOAELは0.029mg/kg bw/dであった。SCF及びJECFAは終点での飼料摂取と体重増加度の潜在的な交絡の影響は、この研究ではペアフィーディングを実施していないため評価できないと述べている(SCF, 2001; WHO, 2001)。

Rafaiら(1995b)の実験結果は基本的に近年実施された類似の研究(Meissonnier et al., 2008)で実証されている。その実験ではオスのブタ(各群5匹ずつで試験開始時の体重が約11.4kg)にT-2トキシン(純度98%以上)が0.54、1.3又は2.1mg/kg含有している飼料を28日間与えている。被験動物は卵白アルブミンで免疫され、液性及び細胞性免疫反応が測定された。肝臓組織試料から得られた代謝酵素活性及びタンパク発現の結果は1.3.2に記載した。体重増加度は全ての暴露群で減少したが、統計学的に有意であったのは最も高用量を暴露された群のみであった。脾臓の組織病理学的検査では特に毒性は見られず、胃腸管にも病変(胃腸管上皮の傷害やパイエル板での細胞枯渇など)は見られなかった。血漿中のIgG及びIgM濃度はT-2トキシン暴露により影響を受けなかった。IgA濃度は中～高用量投与群で増加が見られたが、統計学的に有意ではなかった。分裂促進因子刺激によるリンパ球の増殖能は、T-2トキシンの影響を受けなかった。抗卵白アルブミン抗体の産生は、中～高用量投与群の21及び28日後では減少したが、低用量投与群では変化が見られなかった。T細胞の卵白アルブミンへの反応は、中～高用量投与群の28日後でのみ、数値的な減少が見られた(ただし統計学的な有意差なし)。筆者らは、リンパ球増殖能試験において抑制に有意差が見られなかったのは、おそらく使用した被験動物の数がRafaiら(1995b)より少なかったためであろうと述べている。この研究での免疫系への影響という点でのNOAELは飼料中の含有量0.54mg/kgである(筆者らによると、約30µg/kg bw/dに相当)。ペアフィーディングによる調査はMeissonnierら(2008)によっても実施されていない。飼料にグルコマンナンを添加すると(2g/kg)T-2トキシンの毒性を一部抑えた(Meissonnier., 2009)。

Bokkersら(2009)は、Rafaiら(1995b)及びMeissonnierら(2008)の研究データを確率論的リスク評価を求めるために使用している。彼らはMeissonnierら(2008)のデータから重要影響用量(CED)を0.06mg/kg bw/dとし、重要影響サイズ(CES)はIgAの血漿中濃度の5%上昇と算出している。Rafaiら(1995b)のデータからは、CEDを0.02、0.06、10.1mg/kg bw/dと算出し、それぞれのCESを白血球数、食細胞指数又はリンパ球刺激試験の5%減少としている。

ブタ(n=9)にT-2トキシンが3mg/kgで含まれている飼料を14日間与えると、給餌終了時点での血清中の総IgG及びIgA量が減少するが、有意に減少したのはIgGのみであった(IgG:0.49及び0.39AU、IgA:0.38及び0.30AU、それぞれコントロール群及びT-2トキシン投与群)(Frankic et al., 2008)。

Nagataら(2001)は、マウスにT-2トキシンを10mg/kg単回経口投与し、投与後24時間以内のパイエル板、腸間膜リンパ節及び胸腺へのアポトーシス効果を調べている。アポトーシスの程度は胸腺で顕著で、パイエル板では中程度、そして腸間膜リンパ節では軽度であった。

T-2 トキシンの経皮投与による、ネズミ皮膚への免疫学的な作用が Nguansangiam ら (2003) によって調べられている。T-2 トキシシ 10mg (純度についての記載なし) がマウスの片足に適用され、1、3、5 及び 7 日目に影響が測定された (計測ポイントごとに 5 匹ずつ; 適用面積の範囲についての情報なし)。ランゲルハンス細胞の密集度は、T-2 トキシシを適用した足底で反体側のコントロールに比べ 20-35% 減少した。1 日目に顕著な減少が見られ、3 日から 7 日にかけて段々と回復した。さらに、ランゲルハンス細胞の樹状突起が短くかつ丸くなったため大きさが小さくなるという形態学的な変化が、T-2 トキシシ適用後に見られた。T-2 トキシシを適用した足底は、発赤及び腫脹し、角化上皮の落屑、細胞壊死、浮腫及び炎症性細胞浸潤が見られた。

Balb/c マウスに T-2 トキシシを 1.75mg/kg bw で単回腹腔内投与した実験がある。2 時間後、被験動物は鼻腔内にレオウイルス又は生理食塩水を注入された。投与 10 日後、T-2 トキシシ投与マウスの肺のウイルスのプラーク形成反応と、レオウイルス L2 遺伝子の発現は、コントロールに比べ 10 倍高かった。また、T-2 を投与されたレオウイルス感染マウスは気管支肺炎を起こし肺への細胞浸潤を増加させた。さらに、T-2 トキシシはレオウイルスによる IFN- γ の誘導を抑制したが、IL-6 と MCP-1 の産生は促進した。T-2 トキシシ暴露はレオウイルスに特異的な肺及び腸管での粘膜の IgA 反応も抑制するが、血清中の IgA と IgG の反応は促進させた。マウス (n=12) に T-2 トキシシを 0、0.02、0.2、0.5、1.0 及び 2.0mg/kg bw で単回腹腔内投与し、2 時間後にレオウイルス又は生理食塩水を経鼻腔で注入している。投与 4 時間後に肺のレオウイルス RNA が調べられた。肺からのレオウイルスのクリアランスは 0.2mg/kg bw 以上の濃度で投与した時に有意に抑制され、0.02mg/kg bw では影響は見られなかった (Li et al., 2006b)。

Li ら (2006a) はレオウイルスの腸管でのクリアランスへ T-2 トキシシが与える影響も調べている。マウスに 1.75mg/kg で T-2 トキシシを単回腹腔内投与し、2 時間後にレオウイルスを強制経口投与により感染させている。T-2 トキシシを投与されたマウスは、5 日後にはプラーク形成試験で得られる腸のウイルス力価が上昇し、10 日後には腸管よりウイルスを完全に排除することが出来なくなり、また、糞便中の L2 遺伝子の RNA レベルが有意に増加していた。用量反応性の解析では、RNA レベルは統計学的に有意な濃度依存的増加を示し、最も低用量 (0.05mg/kg) の場合でも見られた。並行研究での結果と同様に、T-2 トキシシの存在下ではレオウイルスによる IFN- γ の誘導は抑制され、IL-6 の賛成は増加した。糞便中のレオウイルス特異的 IgA 並びに血清中特異的 IgA 及び IgG_{2a} は一時的に抑制された。

ある短報では (Sugita-Konishi et al., 2006)、マウスへの *in utero* での T-2 トキシシ単回暴露 (用量の記載なし) は、F1 世代での免疫抑制効果があるといういくつかの証拠を示している。

心臓の肥満細胞の形態学的変化が、ラットに T-2 トキシシを急性投与することで調べられている。ラットは 0.23mg/kg bw で単回皮下投与を受けた。生存ラットは投与後 1~28 日まで連続的に殺処分され、心臓の肥満細胞の形態測定パラメーター (周囲長、面積、真円度) の定量分析が実施された。低顆粒及び高顆粒肥満細胞では投与群とコントロール群の間に差は見られなかった。しかし、投与動物の脱顆粒した肥満細胞は、コントロール群と比べると周囲長、面積が有意に増加し、真円度が減少した (Jacevic et al., 2007)。

28 日齢の性別不明のプロイラー雛に (各群及び測定時点ごとに 3 羽ずつ) に T-2 トキシシ 1mg/kg 含有飼料を単回与えたところ、有意な胸腺でのアポトーシスの誘導が投与後 6、12、24 及び 36 時間後に確認された (ピークは投与後 24 時間後)。脾臓でもわずかなアポトーシス細胞が確認されたが、統計学的に有意ではなかった (Vekatesh et al., 2005)。

T-2 トキシンは飼料中濃度が約 1mg/kg (約 100 μ g から 1000 μ g の範囲) までは、オスの雛又は幼鳥に経腸又は非経口で抗原を投与した時の、抗体の産生に影響しなかった (Sklan et al., 2001; Sklan et al., 2003)。

免疫調節効果が、T-2 トキシンが 2.35 又は 4.18mg/kg 含有している飼料をニワトリに 14 日間与えることで観察されている (Weber et al., 2006)。低用量では免疫刺激作用、高用量では免疫抑制作用が確認された (評価項目: ニューカッスル病ウイルスに対する赤血球凝集抑制力価)。同研究グループは更なる実験で、ビタミンEの経口投与がニューカッスル病ウイルスに対する抗体産生を増加させ、その効果は飼料中濃度 2.35mg/kg の T-2 トキシンの暴露では抑制されないことを示している (Weber et al., 2008)。

T-2 トキシンを 4mg/kg で給餌 (~28 日) した ブロイラー雛の肉眼検査では、リンパ器官 (ファブリキウス嚢、胸腺及び脾臓) の委縮が見られ、これら組織の組織病理学的検査ではリンパ球溶解による、リンパ球の枯渇が見られた (Nataraja et al., 2003)。

Kamalavenkatesh ら (2005) は、孵化から 28 日間、性別不明のブロイラー雛 (n=10) に T-2 トキシン 1mg/kg 含有飼料を与えて、免疫病理学的な影響を調べている。被験動物は 7 日齢でニューカッスル病ウイルスを接種された。T-2 トキシン暴露は、リンパ器官でのリンパ球溶解とリンパ球枯渇、胸腺中の CD4⁺ 及び CD8⁺ リンパ球の減少、及びニューカッスル病ウイルスに対する赤血球凝集抑制力価の低下を起こした。

T-2 トキシン含有飼料 (精製 T-2 トキシン 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、2、3 及び 4mg/kg) をホワイトピーキングダックの若鳥に 49 日間給餌した場合、皮膚毒性の口腔病変が暴露開始後 2 日以内にすべての用量群で確認された。2mg/kg 以下の濃度の投与群は次第に消失したが、3 及び 4mg/kg の投与群では消失しなかった。7 週間後には、0.4mg/kg の給餌で 1 週間当たりの体重増加度が重度に減少した。0.6mg/kg の給餌では、4 週以降で 1 週間当たりの体重増加度が有意に減少した。全試験期間にわたり、1mg/kg 以上の給餌で一様な成長率の低下が見られた。0.6 から 4mg/kg の飼料投与群で、3 週間後には飼料摂取量の減少が見られた。3 及び 4mg/kg を給餌したグループでは、脾臓とファブリキウス嚢でのリンパ球の枯渇が明らかであった。*in vitro* での分裂促進因子に対するリンパ球の非特異及び特異的な免疫学的反応は、すべての群において減弱したが、濃度依存性は不明瞭であった。血液学的パラメーターは影響を受けなかった (Rafai et al., 2000)。この研究で見られた作用は、1.3.2 で述べた家禽における研究で、いくらか低い用量で見られている。

オスのブロイラーへの 17 日間の給餌実験 (飼料中 T-2 トキシンは 0、0.5、1.5、4.5、13.5mg/kg) では高用量投与群での脾臓白血球の DNA 断片化が有意に増加したと報告されている。血清中 IgA は 13.5mg/kg を給餌した群で増加したが、血清 IgG には影響を示さなかった (Rezar et al., 2007)。

In vitro

in vitro で、マウスの腹腔マクロファージ及びリンパ節 T 細胞のサイトカイン産生に対する T-2 トキシンの影響が、Ahmadi と Riazipour (2008) により調べられた。T-2 トキシンは IL-1 β を濃度依存的に減少させた。IL-12 と TNF α の産生は、T-2 トキシンの濃度が 0.001-0.1ng/mL の範囲では有意に増加したが、1ng/mL 又はそれ以上では減少した。リンパ節 T 細胞の IL-4 及び IL-10 の放出は 0.001ng/mL 又はそれ以上で濃度依存的に減少した。IL-2 及 IFN- γ の減少は濃度が 1ng/mL 以上の場合に見られた。

Jaradat ら (2006) は、*in vitro* で T-2 トキシンがニワトリのリンパ球の分裂促進因子刺激による増殖

を、濃度 1ng/mL 又はそれ以上で抑制すると報告している。トキシンを 10ng/mL で試験開始時点に加えた場合増殖は完全に抑制され、また、試験開始後 24 時間後に T-2 トキシンを加えた場合は 80%抑制された。ビタミンEの添加は、T-2 トキシンによるリンパ球増殖能の抑制を強く防いだ。

ヒト細胞での所見

いくつかの *in vitro* の研究で、T-2 トキシンはヒト末梢リンパ球の分裂促進因子刺激による増殖能を抑制することが示されている。T-2 トキシンの代謝産物は抑制能は弱く、特に 3'-OH HT-2、T-2 トリオール及び T-2 テトラオールは *in vitro* での毒性が減少する (WHO, 2001)。

これらの知見はここ十年で発表されているいくつかの研究に基づいている：

T-2 トキシンは、ヒトリンパ系細胞系の T (MOLT-4) 細胞株、B (IM-9) 細胞株の増殖を抑制する。50%抑制がかかる濃度は、MOLT-4 細胞に対しては 0.003 μ g/mL、IM-9 細胞に対しては 0.00002 μ g/mL であった。培養 24 時間後での 50%細胞毒性濃度は MOLT-4 では 0.6 μ g/mL、IM-9 では 0.2ng/mL であると示された。MOLT-4 に T-2 トキシンを 0.01 μ g/mL の濃度で添加し 4 時間培養すると、アポトーシス細胞死が確認された。

ヒトから分離した末梢血リンパ球へのフィトヘマグルチニン刺激による増殖能は、10ng/mL の濃度の T-2 トキシンで完全に抑制されたが、0.1ng/mL では影響がなかった。10ng/mL の T-2 トキシンを添加した場合は、早期のアポトーシス細胞死のピークが 8 時間後に見られた。T-2 トキシンは、未処理のリンパ球に対しては直接の影響を与えなかった。更なる研究で、T-2 トキシンは調べられた全ての細胞亜集団 (CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺ 及び CD45RO⁺) に対し作用することが示された。T-2 トキシンは亜毒性濃度 (1ng/mL) では、フィトヘマグルチニン刺激の細胞に対し、共刺激作用を示している (Vlata et al., 2005)。

T-2 トキシンはヒト単球、単球のマクロファージ又は樹状細胞への分化過程、並びに未成熟樹状細胞及びマクロファージに対し細胞毒性を示す。例えば、1 μ M のトキシン存在下では、未成熟樹状細胞はたった 2%しか生存できなかった。24 時間又は 48 時間暴露での IC₅₀ 値は、それぞれ 38nM 及び 20nM であった。一般に、単球は分化した細胞に比べて T-2 トキシンに対しより感受性が高い。単球のマクロファージ又は樹状細胞への分化は 10nM の T-2 トキシン存在下で抑制されたが、この作用はより低い 1nM の場合でも示されている (Hymery et al., 2009 ; Hymery et al., 2006)。

ヒトリンパ球への分裂促進因子刺激による増殖能は、T-2 トキシンが 1-5ng/mL 存在すると 50%抑制がかかることが Meko ら (2001) により示されている。

T-2 及び HT-2 トキシンを、それぞれ 3.1、6.25ng/mL の濃度で開始しヒト末梢血リンパ球系細胞株 (女性 AML 患者からの HL-60) に 4 時間作用させると、アポトーシスを濃度依存的に誘導した (Holme et al., 2003)。

要約すると、急性経口投与の後の *in vitro* の試験で、骨髄、リンパ節、脾臓、胸腺及び腸粘膜中の分裂の活発な細胞への重度の傷害が確認された。トリコテセン類の反復投与は様々な病原体への感受性を高めた。T-2 トキシン暴露は液性及び細胞性免疫反応に影響を与え、暴露の時間や濃度に応じ、免疫抑制的及び免疫刺激的効果の両方が確認された。ヒトへのリスク評価の為の最も重要な研究は Rafai ら (1995b) が実施したブタへの給餌実験である。毒性作用は最も低い投与量である LOAEL の 0.029mg/kg bw/d で確認された。これらのデータは基本的に、ブタを用いた同様の実験を行った他の実験 (Meissonnier et al., 2008) からも裏付けられており、また彼らは特異的な免疫反応の抑制も示してい

る。Rafai ら(1995b)とは異なり、脾臓の組織病理学的又はリンパ球の増殖能への影響は確認しなかった。Meissonnier ら(2008)の研究では、免疫毒性の観点からの NOEL は 0.03ng/kg bw/d であった。両研究ともペアーフィディングは実施しなかった。Meissonnier ら(2008)の実験は、各実験群の検体数が Rafai ら(1995b)より少なかった(n=5)ため、統計的検出力が弱い。

哺乳類で見られたものと同様の影響が鳥類でも確認された。T-2 トキシンの飼料中濃度が 1mg/kg の場合、免疫系に有意な作用を示した。ニワトリに対する変換係数 8(ECHA, 2008)を適用すると、0.125mg/kg bw/d の投与量に相当し、これはブタでの LOEL の約 4 倍高い。

1.3.4 血液毒性

マウス、ラット及びヒト由来の赤血球、白血球及び血小板前駆細胞の増殖能、分化への T-2 及び HT-2 トキシンの作用や細胞毒性が *in vitro* で調べられている。T-2 及び HT-2 トキシンは、 10^{-7} から 10^{-10} M の間(0.05-50ng/mL)の濃度で増殖や分化を抑制した。マウス胎児の肝臓の造血前駆細胞を用いた試験では、T-2 トキシンの主要な標的である CD45R⁺B リンパ球に対し、選択性が高く、またほぼ完全な毒性を示した(SCF, 2001)。

T-2 及び HT-2 トキシンを 1 度又はそれ以上で *in vivo* でマウス、ラット、ネコ、ウサギ及びモルモットに急性暴露すると、造血器官に対して影響を示す。

0.65mg/kg bw(LD₅₀用量)で T-2 トキシンを単回筋肉内投与すると、投与後 24 時間以内に 3/9 の被験動物が死亡し、数日中にはさらに 2 匹が死亡したが、コントロール動物 3 匹は死亡しなかった。剖検すると、リンパ系組織の壊死並びに大腸及び心臓での点状出血が確認された。投与マウスは一時的な白血球増多と、好中球数及びリンパ球数の増加を示した。さらに、プロトロンビン時間は長くなり、凝固因子活性は減少した。後者の作用はビタミン K への拮抗作用によるものではない。T-2 トキシンをマウスに単回皮下投与すると、骨髄及び脾臓中の赤血球前駆体や循環赤血球の鉄の取り込みの減少が確認された(LOEL : 0.3mg/kg bw ; NOEL : 0.17mg/kg)。1.2mg/kg bw 以上の用量でマウスに子宮内暴露すると、胎児肝臓中の造血細胞に影響を与えた(SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

オス 3 匹とメス 2 匹の大人のアカゲサルに T-2 トキシンを 1mg/kg bw で 4 日間投与した(強制給餌)。嘔吐、無気力、下肢の虚弱といったヒトの食中毒性無白血球症と類似した毒性を示した為、5-15 日目には用量を 0.5mg/kg bw に下げた。毒性の兆候はオスでより重度であり、顔面の点状出血、白血球減少症、脾臓及びリンパ節の濾胞の委縮並びに肺炎も見られた。剖検では骨髄の変化は確認されなかった。すべてのオスが、実験 8 から 15 日目の間に呼吸器不全及び肺鬱血のために死亡した。30 日後も生存していたメス 2 匹と、追加した 2 匹のオスにさらに 15 日間 0.1mg/kg bw を投与した。これらのサルは白血球減少症と軽度の貧血を示した(Rukmini et al., 1980 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

ブタに T-2 トキシンを 0、0.5、1.0、2.0 及び 3.0mg/kg で含有している飼料(0、0.029、0.062、0.105 及び 0.129mg/kg bw/d に相当)を 3 週間給餌すると、血液毒性の兆候を示した。詳細は 1.3.3 に記載した(Rafai et al., 1995b)。

この 10 年間で実施された血液毒性の関連研究は、後の項に要約した。反復投与後の毒性と、血液毒性についての調べた研究(Rafai et al., 2000)は相当する項に記載した。

T-2 トキシンのニワトリへの経口単回投与(0.5mg/kg bw で T-2 トキシンをそ嚢へ投与)は、末梢白血球の DNA に著しい傷害を与えた(1.3.7 も参照)(Sokolovic et al., 2007)。

T-2 トキシン含有飼料(0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、2、3 及び 4ppm の精製トキシン ; Rafai et al., 2000) を 49 日間給餌されたホワイトピーキングダックの若鳥では、血液学的パラメーター(赤血球数、ヘモグロビン濃度、血中血球容積、平均赤血球容積、白血球数及び偽好酸球数)には影響が見られなかった。

T-2 トキシンが 0、1、2 又は 4mg/kg 含まれている飼料をブロイラー雛(1 群あたり 30 羽)に 42 日間与えた。投与動物は有意な体重減少と飼料転換率の上昇を示した。4mg/kg では(ただし他の群では見られなかった)、ヘモグロビン値及び血中血球容積の有意な減少が確認された。他の血液学的パラメーターは T-2 トキシン投与による影響は見られなかった。T-2 トキシンは血清中の総タンパク量とコレステロールレベルを減少させ、血清中の尿酸及び LDH のレベルを上昇させた(Pande et al., 2006)。この文献には、試験に用いた物質の純度の記載がなく、方法及び結果についての記述が不足しているなど、いくつか不十分な点がある。

ヒト細胞での所見

T-2 及び HT-2 トキシンの赤血球前駆体の増殖と分化に及ぼす影響が、ヒト臍帯由来の赤芽球バースト形成細胞を用いて調べられている。トキシンは細胞の成長を減少させ、異なった色素形成を示した(つまりヘモグロビン合成への影響)。T-2 トキシンはポルフィリンとヘモグロビン濃度にも変化を起こしたが、明確な濃度依存性はない(WHO, 2001)。

T-2 及び HT-2 トキシンはヒト臍帯由来の顆粒球-マクロファージ・コロニー形成細胞の成長を、0.1nmol/L(それぞれ 0.047、0.042ng/ml)の濃度で一時的に抑制した。この作用は 10nmol/L で延長した(WHO, 2001)。

T-2 トキシン存在下で(5-500 μ g/ 10^9 platelets)20 分間培養すると、濃度依存的に血小板凝集が確認された(WHO, 2001)。

巨核球前駆細胞(CFU-MK)へ *in vitro*での T-2 及び HT-2 トキシンの毒性が、Froquet ら(2001)により調べられている。増殖は 10^{-8} M の T-2 トキシンと、 10^{-7} M の HT-2 トキシンで完全に抑制された。T-2 トキシンの *in vitro*での止血パラメーター及び循環赤血球の生存への影響を調べたところ、止血パラメーター及び赤血球には影響を及ぼさない濃度(10⁻⁵M 及び 10⁻⁶M)でも、造血前駆細胞の増殖が抑制されたため、造血前駆細胞は T-2 トキシンに対し成熟血液細胞よりも感受性が高いことが示された。

まとめると、T-2 トキシンは主に白血球減少や凝固不全といった血液学的な異常を起こす。

1.3.5 生殖発生毒性

T-2 トキシンを 1.5 及び 3mg/kg の濃度で飼料に混入し、CD-1 マウスに給餌した(0.22 及び 0.45mg/kg bw/d)2 世代試験では、胚毒性と胎仔毒性のどちらも確認されなかった。高用量投与群の仔で、わずかで一時的な体重増加度の減少が見られた(Rousseaux et al., 1986 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

T-2 トキシンの発生毒性が、マウスに経口又は腹腔内投与したいくつかの研究で調べられている。1mg/kg bw 以上を腹腔内投与すると奇形(短尾や無尾、下肢奇形、open eyes 及び顎低形成など)、胎仔死亡、胎仔体重減少及び母体毒性を引き起こした。更なる研究で、0.5mg/kg bw 投与でも奇形が確認された。同様の結果は、強制給餌による投与でも報告されている。T-2 トキシンを妊娠 14-17 日目から投与された(1.2 又は 1.5mg/kg ; Doi et al., 2008 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001) マウスの母体から得た胎仔では、胎仔肝臓の前リンパ球及び前胸腺細胞数の減少による胸腺委縮と、液性免疫の抑制が報告された。

Wag ラットに妊娠 14-20 日目に T-2 トキシンを給餌で与える (2.4 及び 10mg/kg feed、0.1 及び 0.4mg/kg bw/d に相当)、もしくは毎日腹腔内投与 (0.1、0.2 又は 0.4mg/kg bw) を実施し毒性を調べたところ、母体毒性を起こさない投与量では、胚毒性又は催奇形性を示さなかった。すべての用量群において、一時的な胸腺の委縮が確認された (SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

妊娠マウスに妊娠 11 日目に T-2 トキシンを 3mg/kg bw で単回経口投与し、24 時間後に胚を調べた。中枢神経系のいくつかの層、尾側硬節部 (caudal sclerotomic segment)、尾側舌野 (caudal region of the tongue)、気管及び顔の間葉系でアポトーシスが確認された (SCF, 2001)。

これらの研究結果は妊娠マウス (1 群あたり n=10) に対し、妊娠 8.5、9.5、10.5、11.5、12.5、14.5、15.5 又は 16.5 日目に T-2 トキシン (純度についての記載なし) を 2mg/kg bw、又は溶媒のプロピレングリコールを経口投与した実験でも実証されている。1 群あたり 5 匹のマウスは投与 24 時間後に殺処分され、胎子が組織病理学的に検査された。残りの 5 匹は妊娠 17.5 日目に殺処分され、胎子には骨格検査が実施された。核濃縮又は核崩壊した細胞として確認されたアポトーシスが中枢神経系、室周層から脳室下帯、軟骨芽細胞及び軟骨細胞、さらに胸腺や腎皮膜下実質で見られた。アポトーシス細胞の数や部位は、投与日により変化した。妊娠 13.5 及び 14.5 日目に投与され、17.5 日目に殺処分された母マウスからの胎子の少数は、波状肋骨や短い肩甲骨といった骨格異常を示した (Ishigami et al., 2001)。

T-2 トキシンのウサギとヒツジの生殖に対する作用が WHO (2001) で報告されているが、この研究は記述が乏しいことから批判を受けている。4 頭の未経産牛に T-2 トキシンを、第 1 胃アシドーシスを引き起こす 0.025mg/kg bw/d の用量で排卵開始後 20 日間経口挿管により投与すると、卵胞成熟と排卵に影響が出る。同様の実験プロトコルの並行実験ではヒツジの卵巣活動にも T-2 トキシンが影響すると記述している (Huszenicza et al., 2000 ; WHO, 2001)。

T-2 トキシンは *in vitro* で、スナネズミの精巣間質細胞からのテストステロンの分泌を抑制し、抑制がかかる平均用量は 0.02ng/mL であった (WHO, 2001)。

メスのニワトリに T-2 トキシンを給餌により暴露 (0.5-8mg/kg、8 週間) させると、飼料摂取、産卵、殻の厚さが減少し、その作用は最も高い濃度の場合で統計学的に有意であった。さらに、受精卵の孵化率は 2mg/kg 以上の濃度の飼料を与えた場合でコントロール群より低くなった (WHO, 2001)。

T-2 トキシンの生殖毒性についてのこの 10 年間の研究について、以下の段落に記載した：妊娠ウイスターラットに妊娠 13 日目に T-2 トキシン (純度の記載なし) を 2mg/kg bw で単回経口投与し、投与後 24 又は 48 時間で殺処分した (投与群、コントロール群及びそれぞれの殺処分の時点ごとに n=3)。組織病理学的検査を母体、胎盤及び胎児について実施した。単細胞壊死が母体の胸腺、脾臓、肝臓、胃、腸管、唾液腺及び膵臓で確認された。さらに、肝臓の脂肪化も見られた。母体の 1 体は、肉眼検査において膣の出血が見られ、また顕微鏡検査において胎盤での出血や、細胞栄養芽層での単細胞壊死が見られた。胎仔の中枢神経系における単細胞壊死の増加は投与 24 時間後に確認された。投与 48 時間後では、肝臓中の造血細胞及び肝細胞の単細胞壊死が増加した (Sehata et al., 2003)。

Sehata ら (2005b ; 2004b) による更なる 2 つの研究では、妊娠ウイスターラットに妊娠 13 日目に T-2 トキシン (純度の記載なし) を 2mg/kg で単回経口投与し、投与後 1、3、6、9 又は 12 日後に殺処分している (投与群、コントロール群及びそれぞれの殺処分の時点ごとに n=3)。組織病理学的検査では、肝臓、胎盤及び胎仔の肝臓でのアポトーシス細胞の増加が確認され、その作用が最大に現われたのはそれぞれ 6 日目、12 日目及び 9-12 日目であった。これらの臓器では、アポトーシスに付随する酸化ストレス及

びアポトーシス関連遺伝子の発現の増加、さらに脂質代謝及び薬物代謝酵素関連遺伝子の発現の減少が確認された。筆者らは、T-2 トキシンが誘導する妊娠ラットへの毒性は酸化ストレスによるもので、次いで MAPK 経路が活性化し、最終的にアポトーシスを誘導すると結論づけている。さらに、*c-jun* 発現の増加が常に見られており、T-2 トキシンが誘導するアポトーシスにおいて重要な役割を担っているように思われる (Sehata et al., 2005b)。並行実験では妊娠中の T-2 トキシンの暴露が、胎仔の脳に与える影響を調べている。組織病理学的に、終脳のアポトーシスを起こしている神経上皮細胞の増加が確認された。マイクロアレイ解析では、酸化ストレス関連遺伝子(熱ショックタンパク 70 及びヘムオキシゲナーゼ)の発現が検出された。さらに、T-2 トキシン投与により MAPK 関連遺伝子及びその他のアポトーシス関連遺伝子(カスパーゼ-2 及びインスリン様成長因子結合タンパク-3)の発現が誘導された。マイクロアレイ解析から得られたデータは、リアルタイム PCR によっても裏付けられている (Sehata et al., 2004a)。

フィンランドの人口受精所の雄牛(約 120 匹)の精液品質は、カビの生えた干し草を約 14 週間与えたあとに悪化した(直進運動性の低下及び形態学的異常、精子の数には影響はなかった) (Alm et al., 2002)。ガスクロマトグラフィーにより解析した干し草中のマイコトキシン量及び干し草の摂取量から計算すると、暴露量は T-2 トキシンは 117.5 $\mu\text{g/day}$ 、HT-2 トキシンは 1425 $\mu\text{g/day}$ とかなり低かった。干し草への他のマイコトキシンの汚染の可能性については、排除できない。

Yang ら (2010) は、T-2 トキシン(純度の記載なし)がマウス(1 群当たり $n=10$)の精液品質、受精率及び血清中テストステロン濃度に与える影響を調べている。オスのマウスに T-2 トキシン(0、5、10、15mg/kg bw)を 7 日間連続で腹腔内投与し、未処置のメスのマウスと交配させた。オスのマウスは 9 日目で殺処分され、精液品質、血清中のテストステロン濃度が調べられた。メスのマウスは妊娠 15 日目に殺処分され、妊娠マウス、生存胎仔及び胎仔吸収の数が記録された。全ての投与群において、妊娠率の低下(最高用量群では妊娠なし)と、高い胎児吸収率が確認された。全ての投与群で精巣及び精巣上体尾部の精子数、精子産生効率並びに血清中テストステロン濃度の減少が濃度依存的に見られた(ほとんどの影響が、最低用量投与群でもコントロール群に比べ統計学的に有意差があった)。全ての投与群で異常精子の数は有意に増加し、アクロソームの結合した精子の数は有意に減少した。10、15mg/kg bw 投与群では、オスの生存精子の量が有意に減少した。

Caloni ら (2009) は、*in vitro* でブタの顆粒膜細胞に T-2 トキシンを暴露すると、ステロイド産生及び細胞増殖に影響が出ると報告している。卵胞刺激ホルモン及びインスリン様成長因子-1 によるブタの顆粒膜細胞からのエストラジオール産生は 1-300ng/mL の濃度範囲の T-2 トキシンだと完全に抑制され、0.3ng/mL の T-2 トキシンでは 40%抑制された。プロジェステロン合成は T-2 トキシンの抑制作用への感受性は低かった(0.3ng/mL では影響なし、1ng/mL で 30%抑制、30ng/mL 以上で完全に抑制) 30ng/mL の T-2 トキシンは血清刺激による細胞増殖を有意に抑制した。

短報で (Sugita-Konishi et al., 2006) T-2 トキシンのマウスへの子宮内暴露が、F1 世代へ免疫抑制的な影響を及ぼすことが示されている。

要約すると、1.1 で述べたように、T-2 トキシンは胎盤を容易に通過し、胚/胎仔の組織へと到達する。母体毒性はマウス及びラットを用いたいくつかの研究で確認されている。2 又は 3mg/kg の T-2 トキシンの単回投与はリンパ系、造血系及び胃腸管の組織並びに肝臓でアポトーシスを起こし、さらに、胎盤の細胞栄養芽層でのアポトーシスも報告された。子宮内暴露では、胚/胎仔死亡、胎仔の脳障害、胎仔の骨奇形及び免疫系の障害が報告された。さらに、T-2 トキシンはテストステロン合成を抑制し、精子形

成にも影響する。

1.3.6 神経毒性

HT-2 トキシンの神経毒性効果に関するデータはない。

ラット又はニワトリに 0.1-22mg/kg bw/d で T-2 トキシンを給餌で与えると、脳内の神経伝達物質濃度が変化する(ノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニン、トリプトファン、5-ヒドロキシインドール-3-酢酸、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸)。神経伝達物質制御への影響は多様である。実験設定や調べられた脳の領域により、増加したり、又は減少したりすると記載されている。最低投与量でも、神経伝達物質濃度への影響は見られた(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。さらに、ブタに T-2 トキシンを血管内投与すると、脳内のノルエピネフリンとエピネフリンの濃度が劇的に上昇した(Jardat, 2005)。T-2 トキシンの投与(i. p. ; 1mg/kg bw)はラットの血液脳関門におけるマンニトールの移送を増加させるが、デキストランの脳内への取り込みには影響を与えなかった。1mg/kg bw で T-2 トキシンを腹腔内投与すると脳組織でのタンパク合成の増加が見られたが、給餌による投与では確認されなかった。一方、モノアミンオキシダーゼ活性は T-2 トキシンの腹腔内投与により影響を受けなかったが、T-2 トキシンを飼料中に 2.5 又は 10mg/kg で含有させて給餌した場合(0.32 及び 0.88mg/kg bw/d に相当)では減少した(WHO, 2001)。

2mg/kg bw でラットに単回経口投与し行動試験を実施すると、自発運動及び受動的回避試験での反応が減少した。0.4mg/kg bw を投与したラットでは影響は見られなかった(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

Ishigami ら(2001)及び Sehata ら(2004a ; 2003)は子宮内暴露した時のラットとマウスでの神経毒性について述べている。2-3mg/kg bw で単回投与した場合、胎仔の脳の複数の領域でアポトーシスが誘導された。

全体的に、神経系で見られる影響は不均一であり、また免疫毒性の場合と比較すると、より高用量で投与した場合に引き起こされる。それゆえ、リスク評価に重要な意味を持つとは考えられない。

1.3.7 遺伝毒性

T-2 トキシンの遺伝毒性の可能性を評価する為に、in vitro 及び in vivo で様々な実験が行われ、トリコセシン類マイコトキシンの過去の総説に記述されている。HT-2 トキシンに関しての情報は限られている(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

要約すると、*Salmonella typhimurium* を用いた微生物復帰突然変異試験及び *Escherichia coli* を用いた DNA 修復試験での遺伝毒性活性、もしくは分裂酵母細胞(*Saccharomyces cerevisiae*)での有糸分裂交叉や小さな前進突然変異は、代謝活性化の有無に関わらず確認されなかった(Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001)。

DNA 損傷(一本鎖 DNA の損傷)は in vitro で、初代肝細胞(弱い反応のみ)並びに、BALB/c マウスの脾臓及び胸腺のリンパ球(5ng/mL で 2 時間)で確認されている。in vivo の実験では、BALB/c マウスに腹腔内投与すると脾臓及び胸腺での一本鎖 DNA の損傷が見られたが、肝臓では見られなかった(3mg/kg bw を投与して 3 時間後に反応が見られた)。他の実験では、in vitro 及び in vivo で肝臓細胞での DNA 断片化が、T-2 トキシンの投与 4 時間後に確認された。この T-2 トキシンによる影響は前もって抗酸化物質

を投与することで防がれたため、おそらくフリーラジカルの形成が DNA 損傷にかかわっていると思われた (Jaradat, 2005)。1.3.2 ですでに言及したように、ニワトリへの 17 日間の給餌実験 (飼料中の T-2 トキシンが 10mg/kg) では、脾臓リンパ球での DNA 断片化が確認されている (Frankic et al., 2006)。さらに同筆者らは、ブタに T-2 トキシンが 3mg/kg で含有している飼料を 14 日間給餌すると、血中リンパ球での DNA 断片化が増加 (27%) することを示した (Frankic et al., 2008)。他に、オスのブロイラー雛に T-2 トキシンが 13.5mg/kg で含有している飼料を 17 日間与えると、DNA 断片化が起こることが示されている (Rezar et al., 2007)。

最近の論文では、ニワトリの有核赤血球が、コメットアッセイでの DNA 損傷の測定による、遺伝毒性試験の細胞モデルとして確立されている。T-2 トキシンの単回経口投与 (0.5mg/kg bw、そ嚢内、n=5；純度 98.4%) 24 時間後に全血試料を採取したところ、著しい DNA 損傷が確認された (Sokolovic et al., 2007)。

細胞遺伝学的損傷はショウジョウバエを用いた実験 (伴性染色体消失試験) で投与 48 時間後 (飼料中 20mg/kg) に確認された。さらに、細胞遺伝学的損傷は *in vitro* でチャイニーズハムスター細胞で見られている。姉妹染色分体交換 (SCE) は 100ng/mL の濃度で、代謝活性化を実施した時に引き起こされた。他の実験では、代謝活性化の有無にかかわらず、2300ng/mL で SCE が確認されている。この細胞種では、染色体異常は 1ng/mL から見られるようになり、また小核形成は 50ng/mL で確認された。ヒトリンパ球では、3ng/mL の T-2 トキシンでは姉妹染色分体交換はみられないが、染色体異常は 0.1ng/mL で明らかであった。チャイニーズハムスターに *in vivo* で 3mg/kg bw で腹腔内投与しても、骨髄での小核形成は起こらなかった。しかし同種での染色体異常は低用量 (1.7mg/kg bw、i.p.) でも明らかであり、さらにマウスでも確認されたが (15ng/kg bw で 12 週間の給餌実験、骨髄細胞への影響)、T-2 トキシンの用量反応は確認されなかった (Eriksen and Alexander, 1988；SCF, 2001；WHO, 2001)。

チャイニーズハムスター V79 線維芽細胞を用いた遺伝子突然変異試験は代謝活性化を起こした場合は陽性だった (100ng/mL の T-2 トキシン、チオグアニン選択 (HPRT))。しかし、*Drosophila melanogaster* を用いた遺伝子突然変異試験 (伴性劣性致死突然変異試験) では明確な結果は得られなかった (Eriksen and Alexander, 1988；SCF, 2001；WHO, 2001)。

ヒト細胞での所見

ヒトに関しては不十分な情報しか得られていない。不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では結果が矛盾していた。ヒト胃粘膜上皮細胞の初代培養細胞では、T-2 トキシン処理後に UDS は見られなかった。ヒト線維芽細胞への HT-2 トキシン処理の場合、代謝活性化がないと UDS は確認されなかったが、最高用量 (100 μ g/mL) の場合、ラット肝臓による代謝活性化を起こすと UDS が陽性だった。ヒト線維芽細胞へ T-2 トキシンを適用すると、UDS 試験陽性になることが立証された (5ng/mL；Eriksen and Alexander, 1988；SCF, 2001；WHO, 2001)。THP-1 細胞 (ヒト急性単球性白血病細胞) へ 4 μ M の T-2 トキシンを作用させると、DNA 損傷が確認された (コメットアッセイでの陽性結果；Rakkestad et al., 2010)。

要約すると、微生物を用いた遺伝毒性試験は陰性であった。全体的に、T-2 及び HT-2 トキシンの *in vitro* 及び *in vivo* でのいくつかの遺伝毒性試験の結果は陽性であった。特に、染色体異常誘発作用は陽性であった。これらの作用を起こす濃度はタンパク合成や DNA/RNA 合成も抑制する濃度であり、細胞毒性も示すため、確認された遺伝毒性作用は恐らく二次的なものであると推測される。

1.3.8 発癌性

T-2 トキシンの発癌性がマウス、ラット及びニジマスに経口投与することで調べられている。さらに、T-2 トキシンのイニシエーション/プロモーション作用を示すかどうかについてを、マウスに皮膚適用することで試験されている。T-2 及びHT-2 トキシンのヒトでの発癌性に関するデータは無い。

マウス(性別及び用量毎に n=50)に精製 T-2 トキシンの 0、1.5 又は 3mg/kg 含まれている飼料を 71 週間給餌した(0、0.22 又は 0.45mg/kg bw/d に相当)。オスのマウスでは、両 T-2 トキシンの投与群ともコントロールに比べ肺腺腫の発生率が上昇した(コントロール群：10%、低用量群：15%、高用量群：23.3%)。肺腺癌はコントロールマウス 2 匹と、高用量群のオスのマウス 3 匹で確認された。その上、肝細胞腺腫はコントロールに比べると高用量群のオスのマウスで増加したが、低用量群では増加は見られなかった(コントロール群：7%、低用量群：6%、高用量群：21%)。どちらの種類の腺腫でも、高用量群のオスのマウスはコントロールと比較すると統計学的に有意差があった(p<0.05)。前胃上皮の過形成はオス及びメス、また全ての投与群において用量依存的かつ統計学的に有意に増加した。

T-2 トキシンを 0.1mg/kg bw/d(75 回、3 回/週を 25 週間)でマウス強制経口投与したところ、前胃乳頭腫が 5/35 で確認された。30 匹のコントロールマウスでは乳頭腫は見られなかった(SCF, 2001 ; WHO, 2001 ; Yang and Xia, 1988a)。

ラットでは、T-2 トキシンの長期強制給餌の後の、前胃の乳頭腫及び癌腫、さらに他の器官での腫瘍の発生が報告されている。他の実験では、ラットに T-2 トキシンの単独、又はニコチンアミドと併用して投与すると、膵臓腫瘍及び他の腫瘍の発生率が増加すると述べられている。これらラットを用いた研究及びニジマスを用いた 1 つの研究(記載していない)は、評価には不十分であると IARC の作業グループに判断された(IARC, 1993)。

T-2 トキシンの腫瘍のイニシエーション/プロモーションを起こす可能性が、マウスに皮膚適用する実験で調査された。

実験は以下の a)、b) の条件で皮膚投与して行われた：a) 7,12-ジメチルベンズ[a]アントラセン(DMBA) 100 µg を腫瘍イニシエーターとして投与し、一週間後 T-2 トキシンの 0.5 µg を週 3 回で 26 週間適用する。b) 5 µg の T-2 トキシンを腫瘍イニシエーターとして 6 日間投与し、1 週間後 12-O-テトラデカノールホルボール-13-アセテート(TPA)又はアセトンを用いて週 3 回で 26 週間適用する。

結果的に、コントロール(DMBA 適用のみ)で 1 匹のマウスで乳頭腫が見つかった。T-2 トキシンをプロモーターとして投与した群(条件 a)、45 匹)では、8 匹のマウスで乳頭腫が、また 1 匹のマウスで癌腫が確認された。一方 T-2 トキシンをイニシエーターとして投与した群(条件 b)、35 匹)では腫瘍は発生しなかった。同筆者らによる同様の条件での別の試験では、DMBA の後に T-2 トキシンを適用したマウス(22 匹)のうち 2 匹で乳頭腫、1 匹で皮膚癌が発生した。先の結果とは反対に、T-2 トキシンの後に TPA を適用する実験では 21 匹中 4 匹のマウスで乳頭腫が確認された(WHO, 2001 ; Yang and Xia, 1998a ; Yang and Xia, 1998b)。2 つの別の研究では、DMBA で刺激された皮膚において、T-2 トキシンの弱いプロモーター活性を示すと報告している(Lindenfelser et al., 1974 ; Marasas et al., 1969 ; WHO, 2001)。

さらに、T-2 トキシンのプロモーター活性が *in vitro* で v-Ha-ras 遺伝子導入 BALB/3T3 細胞(Bhas42 細胞)を用いた短期形質転換試験により確認されている。T-2 トキシンは培養液中ではかなり低い濃度(1-2ng/mL)で活性を示した(Sakai et al., 2007)。

IARC は 1993 年に、ヒトへの発癌性の有効なデータがなく、実験動物による T-2 トキシンの発癌性に

関する証拠が非常に限られていることから、T-2 トキシンを発癌性グループ 3 に分類した (IARC, 1993)。

1.4 疫学データ

食中毒性無白血球症 (ATA) と穀物中の *Fusarium* 種との関連が示されており、例えば 1931 年から USSR で起こった疾病の症例などが挙げられる。1994 年に深刻な発生を見せた際に、疑わしい穀物サンプルのその後の分析では、T-2 及び HT-2 トキシンが他のカビ毒と一緒に同定された。穀物からの抽出物を動物に経皮投与すると高い毒性を示した。疾病発生中の罹患したヒトの臨床症状は、嘔吐、腹痛及び下痢に次いで、白血球減少症、鼻及び喉からの出血、骨髄の枯渇及び発熱であった。病理学的変化は口腔、食道及び胃の壊死病斑が確認されている。高い確率で、この疾病は致死性であった (Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001) 。

インド (1987) と中国 (1993) で発生した、トリコテセン類が汚染した小麦や米などの穀物を摂取したことによる中毒について記載している報告が 2 つある。両事例とも約 100 人が罹患し、症状は腹痛、悪心、めまい、喉の炎症、下痢、血便及び嘔吐であった。症状は遅くとも 1 時間で現れた。試料を調べると、インドの小麦粉サンプルでは T-2 トキシンが 0.55-0.8mg/kg で汚染しており、中国の米では T-2 トキシンが 0.18-0.42mg/kg で検出された。インドの調査ではその他のトリコテセン系毒素が検出されており、中国の調査ではその他毒性の存在の可能性を排除できなかった (Eriksen and Alexander, 1988 ; SCF, 2001 ; WHO, 2001) 。

ヒトや畜産動物で症状を引き起こす赤かび中毒とばれる疾病が 1946-63 年にかけて日本と韓国で報告された。最も一般的な臨床症状は上記のものと同様であった。中毒は急性かつ可逆性で、いずれの事例も致命的ではなかった。疑われた穀物の調査では、*Fusarium* 種の検出に限定され、毒素の含有量の分析は実施されなかった (WHO, 2001)。

カビ培養物の粗抽出物又は T-2 トキシンが含有した液体の偶発的な皮膚への付着は、深刻な作用を皮膚に及ぼし、重度の炎症、感覚の欠如及び落屑などが見られた。しかし、この T-2 トキシンが含まれていた溶媒中の成分が、現れた症状へ影響を及ぼしている可能性は排除できなかった (WHO, 2001)。

上記の報告以降に、T-2 及び HT-2 トキシン暴露が関連したヒトのマイコトキシン症についての文献は確認されなかった。

1.4.1 バイオマーカー

今まで、暴露又はその影響のバイオマーカー検出のための方法は確立されていない。これらのマイコトキシンへの暴露は、一般的に食品サンプル中の成分を分析することで決定されている。ガスクロマトグラフィーによる分析は、質量分析計、電気化学検出又はフレームイオン化検出と共に、タイプ A トリコテセン類の測定の選択法である (WHO, 2001)。ガスクロマトグラフィーによる、ヒト血液中のトリコテセン類マイコトキシンの検出も報告されている (Sudakin, 2003)。

1.5 健康に関する基準値

T-2 及び HT-2 トキシングループの健康に関する基準値が示されているが、後者は T-2 トキシンの代謝産物として扱われており、確認された作用は少なくとも部分的には *in vivo* での代謝産物によるものと考えられた。

1998年に、**北欧閣僚理事会**のフザリウム毒素の作業グループが、起こりうる**発癌作用**に基づいて、T-2及びHT-2トキシンの合計量としての暫定耐用一日摂取量(t-TDI)を1日当たり**0-0.2 μ g/kg bw/d**と算出し、**腫瘍形成作用**のNOAELに安全率1000を適用している。筆者らは、このt-TDIならT-2トキシンのより更なる重大な作用を引き起こすと考えられる免疫毒性も防ぐであろうと述べている(Eriksen and Alexander, 1988)。

後にいくつかの規制当局が、異なった条件かつ複数の種でその作用が見られた**免疫毒性**と**血液毒性**をT-2及びHT-2トキシンの重要な評価項目にすることに同意した。

暫定最大耐容一日摂取量(PMTDI)は**FAO/WHO 合同食品添加物専門会議**(JECFA)により、ブタの3週間にわたる実験(Rafai et al., 1995b)で見られた血液学的な作用に基づいて、2001年に定められた。作用がかなり微弱かつ可逆的であり、他のブタでの実験においてわずかにより高い用量でもそのような作用が見られていないことから、LOAELである0.029mg/kg bw/dは、NOAELに近いと考えられている。安全率500を用いて(LOAELが短期実験にしか用いられないという事実を考慮して)、T-2及びHT-2トキシン単独又は併用に対し、**1日当たり60ng/kg bw/d**というPMTDIが導き出された。

EUの**食品科学委員会**は、T-2及びHT-2トキシンの合計量としてのt-TDIという解釈に従って、2001年にt-TDIを定めている(SCF, 2001)。SCFの総括的評価は、**t-TDIは60ng/kg bw**であり、これは評価データでみられた他の慢性、亜慢性及び生殖への作用を防ぐ値であると結論している。

2 要約と結論

HT-2 トキシンの毒性はほとんど調べられていない。ほとんどの毒性に関するデータは、T-2 トキシンのものとして得られている。T-2 トキシンはHT-2 トキシんに速やかに代謝され、またT-2 トキシンの急性毒性は同程度であることから、*in vivo*でのT-2 トキシンの毒性はHT-2 トキシンの作用によるものも含まれていると考えられ、さらにT-2 トキシンの研究結果はHT-2 トキシンの作用を概算するのに使用される。

T-2 トキシンは経口及び吸入で速やかに吸収される。皮膚吸収は遅いと報告されている。一度摂取されると、毒素は体全体に分散し、血液脳関門及び胎盤を通過する。また卵や乳中にも移行する。T-2 トキシンは広く代謝される。T-2 トキシンからHT-2 トキシンへのC4の脱アセチル化は優位な代謝変換である。更なる代謝産物には、とりわけ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及びその先のT-2 テトラオールがある。3'-ヒドロキシT-2 トキシンへの経路は、この代謝産物がT-2 トキシンそれ自体よりも毒性が強いと確認されたことから、活性化経路であると考えられている。T-2 及びHT-2 トキシンに加えその代謝産物は、主にグルクロニド抱合体として尿及び糞便中に数日以内に排泄される。尿及び糞便への排泄の割合は種によって異なる。

確認されるトリコセセン類の毒性は、大体がタンパク、又は高用量の際のRNA及びDNAの合成阻害である。その上、脂質過酸化反応が関与する細胞膜の完全性やアポトーシスがT-2 トキシンの存在下で確認されている。骨髄、リンパ節、胸腺及び腸粘膜といった細胞分裂が活発に行われている組織は、T-2 トキシンの作用に対する感受性が最も高い。リスク評価に最も関連のある作用は、一般毒性、血液毒性及び免疫毒性である。

T-2 及びHT-2 トキシンはげっ歯類に経口LD50値の5-10mg/kg bwの範囲で急性暴露すると、高い毒性を示す。吸入暴露後のT-2 トキシンの急性毒性として報告されている最も低い値は、オスのマウスでの半数致死量の0.035mg/kg bwである。

様々な動物種で0.06-10mg/kg bwの範囲でT-2 トキシンを急性経口投与して見られる作用には、体重減少、食餌摂取量減少、皮膚炎、嘔吐、下痢、出血に加え、胃腸上皮、骨髄、脾臓、精巣及び卵巣での壊死などの非特異的な症状がある。T-2 及びHT-2 トキシンは極めて高い皮膚刺激性を持つ。ラットではT-2 トキシンの刺激作用の閾値は0.5 µg/cm²と報告されている。

鳥類を用いた長期試験では、飼料中の濃度が1mg/kg未満で、口及び腸管の病変(空腸及び十二指腸の**絨毛表面積の減少など**)が確認された。ピーキンダックの若鳥に反復投与すると、体重増加度の減少及び飼料摂取量の減少がそれぞれ0.4mg/kg及び0.6mg/kgの時に見られた。0.2mg/kgの場合ですでに免疫系への作用が確認された。他の研究では、ブロイラー雛に1mg/kgでT-2 トキシン含有している飼料を28日間与えると、免疫病理学的な作用を示すことが報告された。若齢のオスのニワトリにT-2 トキシンが0.31mg/kg及びHT-2 トキシンが0.26mg/kg含有している飼料を21日間与えた(T-2 トキシン0.033-0.05mg、HT-2 トキシン0.03-0.04mg/kg bw dに相当)実験では、マイコトキシ症の臨床兆候は見られなかった。けれども、飼料には有意な量のビタミンE及びセレンが添加されていた。

鳥類で見られた結果は一般的に哺乳類で確認されたものと一致している。しかしヒトへの毒性を評価することに対しては、いくらか実験上の制約(飼料中の高濃度の抗酸化物質、飼料消費及び飼料効率に関するデータの欠如など)があるため、価値が限られる。

CD-1 マウスにT-2 トキシンが1.5及び3mg/kg(0.22及び0.45mg/kg bw/d)含有している準合成飼料を

与えた2世代試験では、胚毒性と胎仔毒性のどちらも見られなかった。母体毒性はマウスやラットを用いたいくつかの研究で確認されており、2又は3mg/kg bwを単回投与した場合はリンパ系、造血系及び腸管系組織、並びに肝臓でアポトーシスが起こった。さらに、胎盤の細胞栄養芽層でのアポトーシスも報告されている。子宮内暴露の後には、胚/胎仔死亡、胎仔の脳障害及び胎仔の骨奇形や免疫系の障害が報告されている。その上、T-2トキシンはテストステロン合成を抑制し、精子形成にも影響する。

得られた情報に基づくと、神経毒性作用は、その作用が不均一であり、免疫毒性作用などよりも高用量でないと起こらないことから、リスク評価にとっては重要でないと考えられている。例を挙げると、ラット又はニワトリに0.1-22mg/kg bw/dでT-2トキシンを与えた場合、脳内の神経伝達物質濃度が変化した。

造血/免疫系はT-2トキシン毒性の主要な標的である。T-2トキシンは他のトリコテセン類と同様に、暴露の用量やタイミングに応じ免疫抑制的又は免疫促進的に作用し得る。T-2トキシンの液性及び細胞性免疫への作用は様々な研究で明示されている。T-2トキシン暴露は、多種多様な病原体への感受性を高める。

T-2トキシンをヒト以外の霊長類(アカゲザル)に0.1mg/kg bw/dで15日間投与した試験では、白血球減少症と軽度の貧血が確認された。これに最も関連する研究は、Rafaiら(1995b)が行ったブタに精製T-2トキシンが0、0.5、1.0、2.0、及び3.0mg/kgで含有している飼料を3週間与えた実験である。免疫毒性作用は最低用量群でも見られ、LOELは0.029mg/kg bw/dであった。これらのデータはNOELを0.03mg/kg bw/dとしたMeissonnierら(2008)の研究で基本的に裏付けられている。Rafaiら(1995b)の研究は、T-2トキシンのヒトでのリスク評価にとって、未だ最も適切であると考えられている。

微生物を用いた遺伝毒性試験は陰性であった。いくつか*in vitro*及び*in vivo*で遺伝毒性試験が実施されており、T-2及びHT-2トキシンの結果は陽性と報告されている。特に、染色体異常誘発性を調べる試験では結果が陽性であった。これらの作用を起こす濃度は、タンパク合成やDNA/RNA合成を抑制し、細胞毒性を誘導する濃度であることが分かっている。それゆえ、確認される遺伝毒性は恐らく二次的なものであると推測される。

IARCは1993年に、ヒトへの発癌性の有効なデータがなく、実験動物によるT-2トキシンの発癌性に関する証拠が非常に限られていることから、T-2トキシンを発癌性グループ3に分類した。今日まで、カビ毒の腫瘍形成性を検討した更なるデータは報告されていない。

関連する反復投与研究は表2にまとめてある。

全般的に、T-2トキシンの毒性は広範囲にわたって調べられているが、亜慢性又は慢性毒性の有効な研究は不足している。現存するデータは、T-2トキシンが主として免疫系と造血系に作用する、かなり強力な毒性を持つことを示している。これらの研究結果は哺乳類や鳥類を含む複数の種で相次いで報告されている。

Fusarium属菌は共通の化学構造を持ち、同様の挙動を示すいくつかのトリコテセン系マイコトキシンを産生する(Pestka, 2008; Rocha et al., 2005)。それゆえ、T-2及びHT-2トキシンのリスク評価には、予想される組み合わせ効果についても考慮すべきである。

3. References

- Ahmadi K and Riazipour M, 2008. Effects of T-2 toxin on cytokine production by mice peritoneal macrophages and lymph node T-Cells. *Iranian J. Immunol.*, 5, 177-180.
- Albarenque SM and Doi K, 2005. T-2 toxin-induced apoptosis in rat keratinocyte primary cultures. *Exp. Mol. Pathol.*, 78, 144-149.
- Albarenque SM, Shinozuka J, Suzuki K, Nakayama H and Doi K, 2000. Kinetics and distribution of transforming growth factor (TGF)-beta 1 mRNA in the dorsal skin of hypotrichotic WBN/ILA-Ht rats following topical application of T-2 toxin. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 52, 297-301.
- Albarenque SM, Suzuki K, Nakayama H and Doi K, 2001a. Kinetics of cytokines mRNAs expression in the dorsal skin of WBN/ILA-Ht rats following topical application of T-2 toxin. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 53, 271-274.
- Albarenque SM, Suzuki K, Shinozuka J, Nakayama H and Doi K, 2001b. Kinetics of apoptosis-related genes mRNA expression in the dorsal skin of hypotrichotic WBN/ILA-Ht rats after topical application of T-2 toxin. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 52, 553-556.
- Alm K, Dahlbom M, Säynäjärvi M, Andersson MA, Salkinoja-Salonen MS and Andersson MC, 2002. Impaired semen quality of AI bulls fed with moldy hay: a case report. *Theriogenology*, 58, 1497-1502.
- Battilani P, Costa LG, Dossena A, Gullino ML, Marchelli R, Galaverna G, Pietri A, Dall'Asta C, Giorni P, Spadaro D and Gualla A, 2009. Scientific information on mycotoxins and natural plant toxicants. CFP/EFSA/CONTAM/2008/01. Scientific / Technical Report submitted to EFSA. <http://www.efsa.europa.eu/de/scdocs/doc/24e.pdf>.
- Bernhoft A, Modestas K, Langseth W, Åkesson CP, Oswald IP and Larsen HJS, 2000. A study on immunotoxicity of HT-2 and T-2 toxins in minipigs. Abstract (Poster) presented at: X International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Brazil, May, 2000.
- Bokkers BGH, Bakker MI, Boon PE, Bos P, Bosgra S, van der Heijden GWAM, Janer G, Slob W and van der Voet H, 2009. The Practicability of the Integrated Probabilistic Risk Assessment Approach for Substances in Food. RIVM Report No. 320121001/2009. RIVM, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven Netherlands.
- Bondy GS and Pestka JJ, 2000. Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Environ. Health. B. Crit. Rev.*, 3, 109-143.
- Bouaziz C, Martel C, Sharaf el dein O, Abid-Essefi S, Brenner C, Lemaire C and Bacha H, 2009. Fusarial toxin-induced toxicity in cultured cells and in isolated mitochondria involves PTPC-dependent activation of the mitochondrial pathway of apoptosis. *Toxicol. Sci.*, 110, 363-375.
- Bouaziz C, Sharaf El Dein O, El Golli E, Abid-Essefi S, Brenner C, Lemaire C and Bacha H, 2008. Different apoptotic pathways induced by zearalenone, T-2 toxin and ochratoxin A in human hepatoma cells. *Toxicology*, 254, 19-28.
- Caloni F, Ranzenigo G, Cremonesi F and Spicer LJ, 2009. Effects of a trichothecene, T-2 toxin, on proliferation and steroid production by porcine granulosa cells. *Toxicon*, 54, 337-344.
- Cavret S and Lecoeur S, 2006. Fusariotoxin transfer in animal. *Food Chem. Toxicol.*, 44, 444-453.
- Chaudhari M, Jayaraj R, Bhaskar ASB and Lakshmana Rao PV, 2009a. Oxidative stress induction by T-2 toxin causes DNA damage and triggers apoptosis via caspase pathway in human cervical cancer cells. *Toxicology*, 262, 153-161.
- Chaudhari M, Jayaraj R, Santhosh SR and Rao PVL, 2009b. Oxidative damage and gene expression profile of antioxidant enzymes after T-2 toxin exposure in mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 23, 212-221.
- Corley RAS, S. P.; Gullo, G. J.; Johnson, L.; Beasley, V. R.; Buck, W. B., 1986. Disposition of T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin, in intravascularly dosed swine. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 868-875.
- Diaz GJ, Cortés A and Roldán L, 2005. Evaluation of the efficacy of four feed additives against the adverse effects of T-2 toxin in growing broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.*, 14, 226-231.