

201131022A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業

食品汚染カビ毒の実態調査ならびに生体毒性影響に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 局 博一

東京大学大学院農学生命科学研究科

平成24(2012)年3月

目 次

I. 総括研究報告書

食品汚染カビ毒の実態調査ならびに生体毒性影響に関する研究 -----	1
局 博一	

II. 分担研究報告書

食品汚染カビ毒の実態調査 -----	13
小西良子	

T-2 トキシンの心機能、心筋細胞呼吸機能および催吐性への影響に 関する研究 -----	28
局 博一	

シトリニンのマウス臓器および全身影響に関する研究 -----	38
渋谷 淳	

カビ毒の暴露評価の問題点 -----	47
佐藤敏彦 斉藤史朗（研究協力者）	

ヒト肝ガン由来細胞株（Hep G2）における酸化ストレスおよびヒト 単球由来細胞株（THP-1）における免疫毒性影響 -----	52
杉山圭一（研究協力者）	

III. 個表 -----	S-1
---------------	-----

IV. 付録1 -----	S-5
---------------	-----

VI. 付録2 -----	S-23
---------------	------

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

食品汚染カビ毒の実態調査ならびに生体毒性影響に関する研究

総括研究報告書

研究代表者 局 博一 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医学専攻教授

研究要旨：麦類やトウモロコシなどを汚染するフザリウム属菌が産生するカビ毒である T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ゼアラレノンおよび米などを汚染するペニシリウム属菌が産生するシトリニンの食品汚染実態と分析法の検討、これらのカビ毒の生体毒性評価、ならびに日本人のカビ毒曝露量評価のためのモデル開発を行った。

汚染実態調査 今年度は 11 種類全 170 試料について、LC-MS/MS を用いたフザリウムトキシンの測定を行った。その結果、T-2 トキシンと HT-2 トキシンはシリアル、小豆、胚芽入り加工品及びビールにおいて半数以上の試料で検出され、ゼアラレノンは国産小麦、国産大麦、ハトムギ、雑穀米、コーングリッツ、シリアル、小豆、胚芽入り加工品、ゴマにおいて半数以上の試料で検出された。汚染濃度について、T-2 トキシンの平均濃度が 1 ng/g を超えた試料はハトムギ (1.8 ng/g) とコーングリッツ (1.3 ng/g)、HT-2 トキシンの平均濃度が 1 ng/g を超えた試料は国産小麦 (1.1 ng/g)、ハトムギ (1.4 ng/g)、コーングリッツ (1.2 ng/g)、シリアル (1.8 ng/g) 及び胚芽入り加工品 (2.0 ng/g) であった。

毒性評価試験 ①心機能影響：T-2 トキシン 0.1 mg/kg、0.5 mg/kg の成熟ラット (Wistar) 皮下投与で不整脈の発現が明瞭に認められた。また心拍数増加、自律神経活動の変化 (トータルパワーの低下など) も認められた。房室伝導障害、洞性徐脈は副交感神経遮断薬 (アトロピン) によって、また心室期外収縮は交感神経遮断薬 (プロプラノロール) の持続的投与によって大部分が消失した。これらの結果から、平成 22 年度報告に続いて本年度においても T-2 トキシンが心機能異常をもたらすことが明らかになったとともに、心電図上現れる大部分の不整脈は自律神経の支配が重要に関与していることが明らかになった。②心筋細胞影響：ラット一次培養心筋細胞の好氣的呼吸 (酸素消費量=OCR) に対する T-2 トキシンの影響を調べた。T-2 トキシンの濃度が $6 \times 10^{-4} \sim 10^{-1} \mu\text{M}$ の濃度で、酸素消費量が有意に減少し、またミトコンドリアにおける ATP 合成酵素 (Complex V) を阻害するオリゴマイシンに対する OCR の反応性が有意に低下した。このことから、T-2 トキシンは比較的低濃度の濃度で心筋細胞のミトコンドリア機能を阻害することが明らかになった。実際の生体内では、抗酸化酵素や解毒酵素などの働きが存

在するため、一般の汚染レベルでの生体影響としては問題がないと思われる。③催吐作用：嘔吐物質はセロトニンⅢ受容体（5-HT₃ receptor）が関与する胃内容物の滞留を伴う吐気（nausea）を起こすことが知られている。ラットを用いて胃内容物（ビーズ）の滞留性を調べたところ、T-2 トキシン 0.1 mg/kg および 0.5 mg/kg の皮下投与によって有意に高い滞留性が示された。この成績から本方法は T-2 トキシンなどカビ毒の催吐性（吐気）の評価に有用である可能性が示唆された。④抗酸化活性：T-2 トキシンと HT-2 トキシンの肝細胞由来細胞内の Glutathione（GSH）含量に及ぼす影響を調べた。ヒト肝ガン由来細胞株である Hep G2 の細胞内 GSH 含量は T-2 トキシン 50 ～100 nM の濃度で有意な上昇を示したが、HT-2 では濃度依存的な減少が認められた。一方、より高濃度である 200 ～400 nM では、両カビ毒とも対照と比較し約 50%まで GSH 含量の低下が認められた。

⑤免疫細胞毒性：ヒト単球由来細胞株 THP-1 を用いてシトリンとオクラトキシン A の共存下での細胞毒性を調べた結果、両毒素の共存下（各 6.25 nM）では単独作用では認められない細胞毒性が認められることが明らかとなった。上記の④、⑤の実験成績より、T-2 /HT-2 トキシンによって酸化ストレスが生じること、シトリンとオクラトキシン A の共存は単球細胞に相乗的な効果を生じることが明らかになった。

⑥臓器影響・全身影響：22 年度に雌 BALB/c マウスを用いた投与実験で認められた腎尿細管と卵巣の微弱な変化について注目し、用量を前回の高用量の 2-4 倍とした実験を行った。BALB/c マウス（雌、5 週齢、各群 15 匹）にシトリン（CTN）0, 15 ないし 30 ppm を飲水にて 90 日間投与した。一般症状において明らかな変化はなかった。また剖検時での、卵巣相対重量が CTN 投与群で用量依存的に有意に増加した。病理組織学的な検索により、子宮粘膜の変化として、発情後期の組織像を示す個体が多い傾向が認められ、更に CTN 投与群で大型卵胞数の増加が認められた。腎臓では、尿細管上皮での PCNA 染色陽性細胞率の明らかな変化は認められなかったが、CTN 投与群で尿細管上皮の腫大が認められ、更に再生尿細管の増加傾向が認められた。以上の結果より、極低用量の CTN による卵巣及び腎臓に対する毒性の可能性が示唆された。

曝露評価

現在行われている食品摂取によるカビ毒の曝露量評価では、食品の汚染量のサンプル・データから汚染量を推定するパラメーターを導き、また食品の摂取量のサンプル・データから摂取量を推定するパラメーターを導いている。しかし、サンプル調査には限界があり、十分なサンプル数をとれているかどうかは不明であり、サンプル数の少なさによる誤差が、シミュレーション結果にどの程度の影響を与えているのかも不明である。そのため、出された結果に対して、どれくらいの誤算範囲を想定すればよいのかもわからない状態である。そこで、母集団とほぼ同じと考えられるデータか

ら、ランダムにサンプルを選ぶことを繰り返し、サンプルの数がシミュレーション結果に与える影響を数理的に解析してみることを試みた。食品摂取量に関しては平成17年度から平成19年度の3年間にわたって行われた「食品摂取量・摂取頻度調査」の結果から、摂取者が非常に多い20歳以上の「コメ」の食品摂取量を求め、その値をもとにシミュレーションを行った。サンプル数によって、コメの摂取量の実際とシミュレーション結果のズレの範囲には違いが生じたが、95%タイルで比較した場合、50サンプル以上あれば、誤差範囲は上下20%程度におさまることが確かめられた。

研究協力者

青山 幸二 (独) 農林水産消費安全技術センター
吉成 知也 国立医薬品食品衛生研究所
甲斐 茂美 神奈川県衛生研究所
田端 節子 東京都健康安全研究センター
谷口 賢 名古屋市衛生研究所
竹内 浩 三重県保健環境研究所
田中 敏嗣 神戸市環境保健研究所
橋口 成喜 川崎市衛生研究所
中島 正博 名古屋市衛生研究所
秋山 裕 (財) 日本冷凍食品協会
伊佐川 聡 (財) 日本食品分析センター

石黒 瑛一 (財) 日本食品分析センター
伊藤 志保美 (財) 日本食品分析センター
小木曾 基樹 (財) 日本食品分析センター
木村 彩子 (財) 日本食品分析センター
佐藤 孝史 (財) 食品分析開発センターSUNATEC
法月 廣子 (財) 日本穀物検定協会
本田 寛幸 (財) 食品分析開発センターSUNATEC
松井 好之 (財) 日本冷凍食品協会

A. 研究目的

カビ毒を対象に国際的成分規格の設定に向けた動きが活発になってきている

(CODEX、JECFA)。我が国は輸入大国であることを鑑みると、食品の成分規格に対する国際的動向に即対応できる体制を整え

ておかなければ食の安全性は担保できない。また、国際的には問題とならないカビ毒でも、我が国では重要な危害要因となりうるカビ毒も存在する。たとえば米を汚染するカビ毒はその一つである。本研究では、わが国の食習慣に密接に関係する食品を汚染する可能性があり、国際的に毒性評価がなされているが、わが国では未検討のゼアラレノン、T-2 トキシンとその代謝物である HT-2 トキシン、オクラトキシン A との複合汚染および国内汚染が危惧されるシトリニンを対象に、汚染実態調査（分析法の評価を含む）および毒性評価を行う。また、上記のカビ毒の日本人の曝露量を統計学的に評価するための基本モデルの検討を汚染調査結果や日本人の摂食量の統計に基づいて行う。

B. 研究方法

I. 汚染実態調査

昨年度から 3 年間通年で、トリコテセン系マイコトキシンである T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの実態調査を開始し、本年度は国産小麦、国産大麦、ハトムギ、コーングリッツ、小豆、コーンスナック、シリアル、雑穀米、ゴマ、ビール及び胚芽入り加工品を対象とした。麦類は、国産小麦（40 点）及び国産大麦（10 点）であり、農林水産省から提供された。その他の試料は市販品を用いた。T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの分析は、LC-MS/MS を用いて実施した。

II. 毒性評価

(1) T-2 トキシンの心機能影響

成熟雄ラット (Slc:Wistar; 8 週齢) にテレメーター送信機を埋入し、1 週間の手

術回復期の後、T-2 トキシンを 0.1 mg/kg (n=6), 0.5 mg (n=5), を皮下投与した。心電図は 24 時間連続記録を 2 週間以上にわたって実施した。心電図記録をもとに、不整脈の発現性、心拍数 (HR)、心拍変動解析 (HRV)、心電図波形分析 (PR 間隔、QT 間隔、QRS 持続時間) を測定した。不整脈の発現性や心電図波形成成分への自律神経の関与の仕方を明らかにするために、硫酸アトロピン (副交感神経遮断薬) およびプロプラノロール (交感神経遮断薬) を持続的に腹腔内投与しながら T-2 トキシン (0.5 mg/kg) を皮下投与した。

(2) T-2 トキシンの心筋細胞呼吸機能への影響

ラット一次培養心筋細胞を 96 ウェルのプレートに播種し、48 時間または 72 時間培養後に $6 \times 10^{-1} \sim 10^{-7} \mu\text{M}$ の T-2 トキシンおよび DMSO (対照) を添加し、各ウェルの酸素消費量 (OCR) を光学的に連続記録した。また、ミトコンドリアのストレステストをオリゴマイシン (ATP 合成・電子伝達系抑制)、FCCP (電子伝達系活性化) を用いて実施した。

(3) T-2 トキシンの催吐性評価

Wistar 系ラットを用い、対照群 (n=5)、T-2 トキシン 0.1 mg/kg 群 (n=5)、T-2 トキシン 0.5 mg/kg 群 (n=5) の 3 群に分けた。胃ゾンデを用いてメチレンブルーで染色したレジンビーズ 40 個/1.0ml(水) を経口投与し、その直後に T-2 トキシンを皮下投与し、投与後 1 時間目に胃内に残存するビーズの数を測定した。

(4) 抗酸化活性影響

培養細胞: ヒト肝ガン細胞 Hep G2 を用

いた。Hep G2 細胞を 6 well plate に 5×10^5 cells/well となるように 2 ml/well にて播種し、37°C、5%CO₂ 条件下で一晩培養した。培養液を吸引後、T-2 トキシン、HT-2 トキシンを含む培地を 1 ml/well 加え、さらに 24 時間培養した。Total GSH 濃度の測定を行った。

(5) 免疫細胞毒性

培養細胞：ヒト単球性細胞株 THP-1 細胞 (Human Science Research Resources Bank, Tokyo, Japan) を用いた。THP-1 細胞及び RAW264 細胞を 96 ウェルプレートに 2×10^4 cells/well、 1×10^4 cells/well になるように播種し、37°C、5%CO₂ 条件下で一晩培養後培養オクラトキシン A (OTA) とシトリニン (CIT) を含む培地を加え (100 µl/well) さらに 24 時間培養した。細胞増殖活性を OTA および CIT 非存在下におけるコントロールの値を 100% として評価した。

(6) シトリニンの臓器影響・全身影響

4 週齢の雌 BALB/c マウス (日本エスエルシー) を 1 週間の馴化期間後、一群を 15 匹ずつとして計 3 群に分け、シトリニン (CTN) を 0, 15, 30 ppm (0, 60, 120 µM) の用量で 90 日間飲水投与した。全身臓器の組織学的研究および血液の生化学的検査を行った。腎臓、肝臓および卵巣に関しては、PCNA 染色を行った。

卵巣における PCNA 染色切片を用いて、原始卵胞、一次卵胞、二次卵胞、黄体及び閉鎖卵胞の数をカウントし、卵巣全体の面積あたりの数を算出した。腎臓における PCNA 染色切片を用いて、尿細管における陽性細胞数を、各個体 200 倍視野で左右腎臓につき、それぞれランダムに皮質～髓質外帯で

片側 5 か所、計 10 か所観察し、陽性細胞数/尿細管上皮細胞数をカウントした。肝臓における PCNA 染色切片を用いて、陽性細胞数を、各個体 100 倍視野で計 5 か所観察し、陽性細胞数/肝細胞数をカウントした。

III. 曝露評価

曝露評価のための母集団推定に必要な分析対象データの検討を日本人の主食である「コメ」を例にとり、平成 17 年度～19 年度「食物摂取量・摂取頻度調査」より、20 才以上の米 (「めし」: 白米) 摂取量のデータ (32, 814 サンプル) を利用した。これにより明らかになった米摂取量の平均 (5.97g/体重 Kg/日) と標準偏差 (2.94) をもとに対数正規分布を作成し、実際のサンプルデータの分布との間でどれくらい異なっているのかを調べてみた (90%点、95%点、99%点、99.9%点の値の比較を行った)。

さらに、サンプル数 (50, 100, 200, 300, 500, 1000) の相違による誤差の範囲を求めた上で、最大誤差をもたらす組み合わせによって摂取量のシミュレーションを行い、実際の摂取量分布との比較を行った (90%タイル値、95%タイル値、99%タイル値、99.9%タイル値の比較を行った)。

C. 研究結果

I. 汚染実態調査

(1) T-2 トキシン

麦類: 国産小麦で 40 検体中 11 検体、国産大麦で 10 検体中 1 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 0.1、0.3 ng/g であり、最大濃度は国産大麦の 2.8 ng/g であった。

麦類加工品: ハトムギで 20 検体中 5 検体、シリアルで 10 検体中 6 検体、ビールで 10

検体中 8 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 1.8、0.4、0.04 ng/g であり、最大濃度はハトムギの 25.2 ng/g であった。

とうもろこし加工品：コーングリッツで 20 検体中 2 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は 1.3 ng/g、最大濃度が 25.8 ng/g であり、コーンスナックでは 10 検体中に汚染は認められなかった。

その他：雑穀米で 20 検体中 9 検体、小豆で 10 検体中 9 検体、胚芽入り加工品で 10 検体中 6 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 0.2、0.31、0.73 ng/g であり、胚芽入り加工品で最大 3.7 ng/g の汚染が確認された。ゴマでは 10 検体中に汚染は認められなかった。

(2) HT-2 トキシン

麦類：国産小麦で 40 検体中 14 検体、国産大麦で 10 検体中 1 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 1.1、1.0 ng/g であり、最大濃度は国産小麦の 12.7 ng/g であった。

麦類加工品：ハトムギで 20 検体中 4 検体、シリアルで 10 検体中 6 検体、ビールで 10 検体中 8 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 1.4、1.8、0.06 ng/g であり、最大濃度はハトムギの 13.9 ng/g であった。

とうもろこし加工品：コーングリッツで 20 検体中 1 検体に 1.2 ng/g の汚染が認められ、コーンスナックでは 10 検体中に汚染は認められなかった。

その他：雑穀米で 20 検体中 4 検体、小豆で 10 検体中 8 検体、胚芽入り加工品で 10 検体中 6 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 0.19、0.91、

2.0 ng/g であり、小豆で最大 2.6、胚芽入り加工品で最大 10.7 ng/g の汚染が確認された。ゴマでは 10 検体中に汚染は認められなかった。

(3) ゼアラレノン

麦類：国産小麦で 40 検体中 34 検体、国産大麦で 10 検体中 6 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は両者共に 3.0 ng/g であり、最大濃度は国産小麦の 36.1 ng/g であった。

麦類加工品：ハトムギで 20 検体中 17 検体、シリアルで 10 検体中 10 検体、平均濃度はそれぞれ 17.4、1.5 ng/g であり、最大濃度はハトムギの 152.9 ng/g であった。ビールでは 10 検体中に汚染は認められなかった。なお、ビールの製造過程において、原料に含まれているゼアラレノンが・-ゼアラレノール又は・-ゼアラレノールに変換されることが知られている。そこで両代謝物の分析も併行して行ったが、定量限界値以上の濃度が含まれる試料は認められなかった。

とうもろこし加工品：コーングリッツで 20 検体中 20 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は 7.4 ng/g、最大濃度は 30.7 ng/g であった。コーンスナックでは 10 検体中に汚染は認められなかった。

その他：雑穀米で 20 検体中 20 検体、小豆で 10 検体中 10 検体、胚芽入り加工品で 10 検体中 10 検体、ゴマで 10 検体中 10 検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ 3.7、37.3、0.32、4.7 ng/g であり、雑穀米で最大 32.0、小豆で最大 86.9、ゴマで 19.9 ng/g の汚染が確認された。

II. 毒性評価

(1) T-2 トキシンの心機能影響

房室ブロックなどの不整脈を誘発することが明らかになっている 0.5 mg/kg を濃度として選んだ。心電図記録が可能なテレメトリー送信機をラット体内に埋め込んだ後、ラットの回復後対照液 (vehicle) を投与し、3 日後から体内埋め込み型ミニ浸透圧ポンプを用いて硫酸アトロピンを 20 mg/kg/日の割合で持続的投与を行い、その開始後 2 日目に T-2 トキシンを皮下投与した。T-2 トキシンの投与によって、房室ブロック、洞性徐脈、上室性不整脈、心室不整脈が発現したが、アトロピンの投与によって、房室ブロックおよび洞性徐脈の発現が明瞭に減少した。心室期外収縮はアトロピンでは消失せず、プロプラノロールによって消失した。

T-2 トキシンの投与による心拍数の増加はプロプラノロールによって消失した。

(2) T-2 トキシンの心筋細胞呼吸機能への影響

48 時間培養および 72 時間培養のいずれにおいても対照溶液に比べて、 $6 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 以上の濃度で有意な OCR の減少が示された。生細胞数で補正後のデータでは $6 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ 以上の濃度から有意な OCR の減少が示された。

ミトコンドリアのストレス試験では、オリゴマイシンに対する反応性が低下し、 $6 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ 以上で反応性が有意に低下した。FCCP に対する反応性には明瞭な傾向が認められなかった。

(3) T-2 トキシンの催吐性評価

胃内ビーズの滞留率 (mean \pm SD, %) は、対照群で 40 ± 25.7 、0.1 mg/kg 群で

81.7 ± 12 、0.5 mg/kg 群で 93.8 ± 12.5 を示した。T-2 トキシンの投与の 2 群はいずれも対照群に対して有意 ($P < 0.05$) に高い値を示した。

(4) 抗酸化活性影響

Hep G2 細胞の細胞内 GSH 含量におよぼす T-2 および HT-2 の影響を検討した。その結果、50 - 100 nM の T-2 存在下においては、細胞内 GSH 含量は有意な上昇傾向を示した。一方、HT-2 では検討した濃度 (50 - 400 nM) において依存的な減少が確認された。但し、より高濃度である 200 - 400 nM の T-2 存在下では、コントロールと比較し約 50%まで GSH 含量の低下が確認された。本減少は同濃度の HT-2 処理でもほぼ同様の傾向が確認された減少である。以上の結果から、Hep G2 細胞における細胞内 GSH 含量は少なくとも 200 nM 以上の T-2 および HT-2 存在下では非存在下と比較して約 50%程度まで低下することが明らかとなった。

(5) 免疫細胞毒性

THP-1 細胞を用いて、OTA と CIT の複合毒性を同細胞の生存率を指標に検討した。その結果、OTA 単独処理では 25 nM 以上の濃度から有意な細胞毒性が認められることが明らかとなった。CIT 単独処理においては、検討した濃度で最も高い 100 nM においてのみ有意な細胞毒性が認められた (図 3)。両毒素を等量含んだ条件下においては、12.5 nM 処理 (各毒素 6.25 nM) 存在下から有意な細胞毒性が確認され、その作用は濃度依存的であった。

(6) シトリニンの臓器影響・全身影響
体重、飲水量、摂食量：体重は、CTN 30 ppm 投与群において、投与後 1、2 週間で、対照群

に比べて有意な低値を示した。飲水量は、CTN 15 ppm 投与群で投与後 5 週目に有意な低値を示した。摂食量は投与期間を通じて明らかな変化を示さなかった。

尿検査値：尿蛋白、潜血検査では、CTN 投与群で対照群に比べて差異がなかった。尿 pH 値は投与後 8 週目において、CTN 15 ppm 投与群で有意な高値を示した。

臓器重量：卵巢重量（絶対値及び相対値）が CTN 投与群で用量に関連して有意に増加した。また、相対肝重量が CTN 15 ppm 投与群で有意に減少した。その他の臓器については、CTN 投与群で対照群に比べて明らかな変化を示さなかった。

血液生化学検査：検査項目のうち、BUN 及び ALT は用量に依存しないものの、CTN 30 ppm 投与群で有意に減少ないし増加した(Table 3)。Creatinin、AST、ALP、TP 及び albumin は CTN 投与群と対照群との間に差がなかった。

病理組織学的変化および免疫組織学的変化：統計学的に有意な病理組織学的変化として、腎臓における限局性の再生尿細管の増加が CTN の 30 ppm 投与群で認められた。その他、CTN 投与群で、各群 1 例に腎臓に尿細管上皮の限局性腫大が認められた。また CTN 30 ppm 投与群で、肝臓に肝細胞の単細胞壊死、及び胸腺に好酸球の浸潤が各 1 例に認められた。

子宮粘膜の変化として、CTN 30 ppm 投与群で発情後期の組織像を示す個体が多い傾向が認められたが、卵巢、子宮、膣の形態で正常性周期を逸脱するものは認められなかった。一方、卵巢において小型卵胞、中型卵胞、大型卵胞、新世代黄体、旧世代黄体、閉鎖卵胞数をカウントしたところ、CTN 投与群で用量依存的に大型卵胞数が増加した。

腎臓では、PCNA 染色の結果、尿細管上皮の陽性細胞率に明らかな違いは認められなかった(Table 5)。更に肝臓においても、肝細胞の PCNA 染色陽性率の明らかな違いは認められなかった。

III. 曝露評価

(1) 対数正規分布仮定についての誤差

対象者全体の 6.3%については米の摂取がなかったが、残りの 93.7%については平均 5.97g/体重 Kg/日、標準偏差が 2.94 というパラメーターによって対数正規分布を発生させた。93.7%の摂取量ありについての実際の分布と対数正規分布の差を求めた。摂取量なしもふくめた全件についての体重 1Kg あたりの摂取量のずれを比較した。

(2) サンプル数に由来するパラメーターの誤差範囲

サンプル数ごとに 1,000 回試行した結果を明らかにした。

(3) パラメーターの誤差による摂取量の誤差範囲

上記(2)の結果から、サンプル数ごとに、摂取量のシミュレーション結果の最大誤差をもたらすパラメーターの組み合わせによって、計算を行った。

D. 考察

I. 汚染実態調査

(1) 検出限界値、添加回収試験について

検出限界値は各食品で異なるが、T-2 トキシンでは 0.002-0.2 ng/g、HT-2 トキシンでは 0.007-0.8 ng/g、ゼアラレノンでは 0.005-0.2 ng/g であった。回収率は、ゴマと胚芽入り加工品のゼアラレノンで 70%を下回ったが、その他は全て 70%以上であっ

た。ゴマのように回収率が 50%程度と特に低い試料の分析値については、回収率を踏まえて算出する必要があると考えられる。

(2) 実態調査の結果について

T-2 トキシン及び HT-2 トキシンの平均濃度はいずれの試料においても 2 ng/g 以下と低レベルではあったが、ハトムギ 1 試料で T-2 が 25.2 ng/g、HT-2 が 13.9 ng/g、コーングリッツ 1 試料で T-2 が 25.8 ng/g、HT-2 が 23.1 ng/g と数は少ないものの平均値よりもかなり高い濃度で汚染されている試料が存在した。また、去年の結果と比較すると、小豆の T-2 トキシンの検出頻度が 10% から 90% に、HT-2 トキシンの検出頻度が 10% から 80% に著しく上昇した。これら試料については、来年度も重点的に調査を行う必要がある。

ゼアラレノンにはコーンスナックとビールでは汚染頻度が 0% であるが、国産小麦とはと麦で 80%、雑穀米、コーングリッツ、シリアル、小豆、胚芽入り加工品、ゴマでは 100% であり、試料によって汚染頻度が大きく異なっていた。ハトムギの平均濃度は 17.4 ng/g と他の試料よりも高く、T-2 トキシン及び HT-2 トキシンとの複合汚染が認められた。また、小豆は昨年度は検出頻度が 20%、平均濃度が 0.43 ng/g であったが、今年度は平均濃度が 37.3 ng/g と最も高かった。なお、1983~85 年に行われたゼアラレノン汚染調査(食衛誌、28、322-329、1987)においてハトムギで 139 検体中 51 検体に 26~960 ng/g、赤竹小豆で 67 検体中 44 検体に 43~4560 ng/g 検出されたことが報告されている。

II. 毒性評価

(1) 心機能影響

昨年度の報告と同様に、T-2 トキシンは 0.1 mg/kg 以上の濃度で明らかな心機能の変化、すなわち心拍数の増加、QRS 持続時間の延長などの心電図変化、房室ブロック、心室期外収縮などの不整脈の発現が認められた。このことから、T-2 トキシンはデオキシニバレノールと同様に比較的高濃度では心臓障害をもたらすことが明らかとなった。自律神経遮断薬を用いた実験結果から T-2 トキシン投与直後数日間の急性期における心機能異常の大部分は自律神経活動と関連して生じることが示唆された。しかしながら、これらの不整脈は自律神経活動の変化だけで誘発されるとは限らず、刺激伝導系や心筋細胞そのものが不整脈を起こしやすくする不整脈基質が T-2 トキシンの作用によって形成されている可能性が否定できない。

(2) 心筋細胞呼吸機能影響

心臓は全身臓器の中でもエネルギー需要が高く、酸素消費量が多い臓器である。そのため心筋細胞はミトコンドリア機能を発達させている。本研究において心筋細胞の酸素消費量は $6 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ 以上の濃度で有意な減少、生細胞数で補正しないときの酸素消費量は $6 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 以上で有意な減少が示された。またオリゴマイシンを用いたミトコンドリアストレス試験では、 $6 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ 以上の濃度で、反応性が低下(酸素消費量キャパシティの有意な減少)が示された。

上記の実験結果は、T-2 トキシンが心筋細胞に直接作用した場合、ミトコンドリア機能(電子伝達系機能)を阻害する性

質を有すことが明らかになった。このような性質は心筋細胞の変性壊死の原因となることが推測される。また、心筋細胞の障害は心臓内での興奮伝播様式に変調を来すことで、不整脈基質を形成する要因となることも推測される。

(3) 催吐性影響

トリコテセン系のカビ毒のうち、デオキシニバレノール、ニバレノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシンは人で吐き気や嘔吐をもたらすことが知られている。動物ではブタ、イヌなどで同様に嘔吐を起こす。実験動物として繁用されているラットは生来的に嘔吐を起こさない動物であるため、嘔吐の研究に用いられることは少ない。一方、嘔吐に共通した現象として、嘔吐前に胃内容物の腸への排出抑制が認められており、この減少は嘔吐を起こさないラットにおいても認められている。この排出抑制は、脳内セロトニン受容体 5-HT₃ 拮抗薬によって、胃内容物の排出抑制が抑制されることが、ヒトやラットの研究で明らかになっている。したがって、ラットは嘔吐という最終形態には至らないものの、胃内容物の排出抑制とその中枢神経系機序は嘔吐動物と類似していることが考えられる。本研究では、予備的な実験段階ではあるものの、T-2 トキシンの 0.1 mg/kg および 0.5 mg/kg の皮下投与によって有意な胃内容物（ビーズ）の滞留が観察されたことから、嘔吐に関連した影響指標として本試験法は有用である可能性が示唆される。

III. 曝露評価

95%タイル値を比較した場合、サンプル

サイズが 50 程度であれば、上下 20% くらいのがずれがあり、サンプルサイズを大きくしていくと、そのズレは小さくなり、500 サンプルになるとずれは 10% を切り、1000 サンプルになると、大きい方のずれでも 6% 強でとどまっている。

99%タイル値を比較した場合には、50 サンプルで上下 30% 弱で、500 サンプルになると 15% 弱、1000 サンプルでは 11% 強のズレとなった。

20 才以上における米の摂取量ということで、サンプル数が非常に多いので、20 才以上の日本人全体の摂取量という母集団にほぼ近いと想定されるデータに対して、試みられたシミュレーション結果とのズレ（誤差範囲）であるが、現在曝露評価に多く利用される 95%タイル値については、50 サンプル程度であっても、さほど大きなズレはないととらえてよさそうである。

また、分布の右側の裾野にひろがるほど、max の方の誤差が大きくなる傾向にある。これは、シミュレーションの結果が、分布の右裾ほど過大評価するというを示しているが、規制値などを考える際には、特別に多くの量を摂取する、一部の人口に対するリスクを高く見ることになり、国民の健康保護という面からは望ましいのではないと思われる。

ただし、この結果がほかの食品、とりわけ米とは摂取パターンの異なる食品の場合にもあてまるとは限らないので、今後、摂取パターンの異なる（たとえば、季節性が高いとか、個人差が非常におおきな食品など）食品においても同様の検証を行う必要がある。

E. 結論

I. 汚染実態調査

本研究では、3年間通年で3種のフザリウムトキシン（T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン）を測定する予定となっており、本年度が2年目となる。

昨年度に引き続き、毒性の高いT-2 トキシン及びHT-2 トキシンが小麦や麦類加工品で検出された。ハトムギ、コーングリッツで1検体ずつではあるが20 ng/gを超えるT-2 トキシンが、また小豆10検体中6検体に30 ng/g以上のゼアラレノンが検出されており、最後の年となる来年度はそれら品目について重点的に調査を行う。

II. 毒性評価

本研究によって、T-2 トキシンは0.1 mg/kg(s.c.)以上の濃度でラットに不整脈を伴う心機能異常を起こすこと、および不整脈の発現性に自律神経系の作用が関与していることが自律神経遮断薬の効果調べることによって明らかになった。また、T-2 トキシンは $6 \times 10^{-4} \mu\text{M}$ 以上の濃度でラットの心筋細胞におけるミトコンドリア機能を阻害することが明らかになった。一方、T-2 トキシンは催吐性の高い毒素として知られているが、T-2 トキシンが他の催吐物質と同様にラットにおいても胃内容物の滞留性を増大させたことから、胃滞留試験はマイコトキシンの催吐作用の有無を判断する上で有用な方法である可能性が示唆された。

タイプAトリコテセン系カビ毒のT-2とHT-2は、ヒト肝ガン由来細胞Hep G2の細胞内GSH含量を200 - 400 nMの毒素存在下ではコントロールと比較し約50%

まで低下させることが明らかとなった。本結果は、T-2とHT-2の毒性低減に抗酸化物質が有効であることを示唆した。また、オクラトキシンAとシトリニンの免疫細胞におよぼす複合毒性については、両毒素による複合毒性は相乗的である可能性が示唆された。本結果は今後両毒素のリスクアナリシスを行うにあたり有用な知見となる。

雌BALB/cマウスにシトリニンを飲水投与した結果、卵巣絶対/相対重量の増加および発情後期を示す個体の増加が認められた。更に、腎臓において、再生尿細管の増加が認められた。以上より、シトリニンの飲水投与による卵巣及び腎臓に対する毒性が示唆され、卵巣の変化は低用量群である15 ppmから認められたことから、今後より低用量を含む用量設定で検討を行う必要性が示唆された。

III. 曝露評価

食品摂取量についてのシミュレーションを行う場合の、パラメーターを決めるためのサンプルデータのサンプル数は、50以上あれば、誤差範囲が上下20%程度の範囲に収まることが明らかになった。

F. 研究業績

【発表論文】

- 1) Wu W, Flannery B. M., Sugita-Konishi Y, Watanabe M, Zhang H, Pestka J. J.: Comparison of murine anorectic responses to the 8-ketotrichothecenes 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, fusarenon X and nivalenol. *Food Chem Toxicol.* 2012. (in press)

- 2) Ngampongsa S., Ito, K., Kuwahara M., Kumagai, S. and Tsubone H. : Arrhythmias and alterations in autonomic nervous function induced by deoxynivalenol (DON) in unrestrained rats. *J. Toxicol. Sci.* 2011. **36(4):453-460.**
- 3) Kadota T, Kimura M, Hirano S, Tajima O, Nakajima T, Kamata Y, Sugita-Konishi Y. Development of a simultaneous liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of type B trichothecenes, their derivatives, and precursors in wheat. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2011. **25(23):3481-3490.**
- 4) Watanabe M, Yonezawa T, Lee K, Kumagai S, Sugita-Konishi Y, Goto K, Hara-Kudo Y.: Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *BMC Evol Biol.* 2011 **11:322.**
- 5) Watanabe M, Yonezawa T, Lee K, Kumagai S, Sugita-Konishi Y, Goto K, Hara-Kudo Y.: Evaluation of genetic markers for identifying isolates of the species of the genus *Fusarium*. *J Sci Food Agric.* 2011. **91(13):2500-2504.**
- 【学会発表】
- 1) 吉成知也, 大西貴弘, 小西良子: トウモロコシ類に含まれるトリコテセン類の LC-MS/MS 同時分析法及び実態. 第 101 回日本食品衛生学会学術講演会 (2011.5) .
- 2) Yoshinari, T, Kadota, T, Ohnishi, T, Sugita-Konishi, Y : Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins in cereals by LC-MS/MS International Union of Microbiological Societies, 2011 CONGRESS (2011, 9).
- 3) 谷口 賢, 吉成知也, 青山幸二, 竹内 浩, 橋口成喜, 甲斐茂美, 中島正博, 田端節子, 田中敏嗣, 佐藤孝史, 松井好之, 小木曾基樹, 石黒瑛一, 小西良子: 日本に流通する食品中の T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよびゼアラレノン汚染実態調査 (平成 22 年度) . 第 102 回日本食品衛生学会学術講演会 (2011.9).
- 4) スチトラ・ガンポンサ (Suchitra Ngampongsa)、伊藤公一、桑原正貴、局博一: T-2 トキシンの心機能作用における自律神経遮断薬の効果. 日本マイコトシン学会第 70 回学術講演会 (2012 年 1 月 6 日、於船堀) .
- 5) 局 博一、スチトラ・ガンポンサ (Suchitra Ngampongsa)、伊藤公一、桑原正貴: T-2 トキシンによるラット心筋細胞の呼吸機能に及ぼす影響. 日本マイコトシン学会第 70 回学術講演会 (2012 年 1 月 6 日、於船堀) .

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

食品汚染カビ毒の実態調査

研究分担者 小西 良子 国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部長

研究要旨：近年、国際的潮流としてカビ毒に対する対策が推進されている。我が国の輸入食品依存体制から鑑みても、輸入食品の安全性を確保するために、JECFA 及びコーデックスにおいて評価されるカビ毒を対象に、我が国の汚染実態を把握し、然るべき対策をとる必要がある。

そこで昨年度から 3 年間通年で、3 種のフザリウムトキシン (T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン) を対象に実態調査を行っている。

今年度は 11 種類全 170 試料について、LC-MS/MS を用いたフザリウムトキシンの測定を行った。その結果、T-2 トキシンと HT-2 トキシンはシリアル、小豆、胚芽入り加工品及びビールにおいて半数以上の試料で検出され、ゼアラレノンは国産小麦、国産大麦、ハトムギ、雑穀米、コーングリッツ、シリアル、小豆、胚芽入り加工品、ゴマにおいて半数以上の試料で検出された。汚染濃度について、T-2 トキシンの平均濃度が 1 ng/g を超えた試料はハトムギ (1.8 ng/g) とコーングリッツ (1.3 ng/g)、HT-2 トキシンの平均濃度が 1 ng/g を超えた試料は国産小麦 (1.1 ng/g)、ハトムギ (1.4 ng/g)、コーングリッツ (1.2 ng/g)、シリアル (1.8 ng/g) 及び胚芽入り加工品 (2.0 ng/g) であった。

研究協力者		小木曾 基樹 (財) 日本食品分析センター
青山 幸二	(独) 農林水産消費安全技術センタ	木村 彩子 (財) 日本食品分析センター
	—	佐藤 孝史 (財) 食品分析開発センターSUNATEC
吉成 知也	国立医薬品食品衛生研究所	法月 廣子 (財) 日本穀物検定協会
甲斐 茂美	神奈川県衛生研究所	本田 寛幸 (財) 食品分析開発センターSUNATEC
田端 節子	東京都健康安全研究センタ	松井 好之 (財) 日本冷凍食品協会
	—	
谷口 賢	名古屋市衛生研究所	
竹内 浩	三重県保健環境研究所	
田中 敏嗣	神戸市環境保健研究所	
橋口 成喜	川崎市衛生研究所	
中島 正博	名古屋市衛生研究所	
秋山 裕	(財) 日本冷凍食品協会	
伊佐川 聡	(財) 日本食品分析センター	
石黒 瑛一	(財) 日本食品分析センター	
伊藤 志保美	(財) 日本食品分析センター	

A. 研究目的

食品汚染カビ毒への関心は年々高まり、国際的にも企画基準の策定が進んでいる。JECFA では、2007年に総アフラトキシン及びオクラトキシンA、2010年2月にデオキシニバレノール、2011年にフモニシンの見直しが行われた。

それらを受け、コーデックスでも具体的な基準作りが進んでおり、2008年には木の実に含まれる総アフラトキシン及び大麦、小麦に含まれるオクラトキシンAの基準値が設定された。

このように国際レベルでカビ毒に対する対策が整えられており、また我が国の輸入食品依存体制から鑑みても、輸入食品の安全性を確保するために、近い将来 JECFA 及びコーデックスにおいて評価されるカビ毒を対象に我が国の汚染実態を把握し、しかるべき対策をとる必要がある。

現在のところ、パツリン(リンゴジュースの成分規格)及び総アフラトキシン(食品衛生法第6条2項)に基準値が、デオキシニバレノールに暫定基準値が設定されている。また、一昨年までに厚生科学研究費補助金により、フモニシン及びオクラトキシンAを対象に6年間の通年汚染実態調査が実施された。

そして昨年度から3年間通年で、トリコテセン系マイコトキシンであるT-2トキシン、HT-2トキシン及びゼアラレノンの実態調査を開始し、本年度は国産小麦、国産大麦、ハトムギ、コーングリッツ、小豆、コーンスナック、シリアル、雑穀米、ゴマ、ビール及び胚芽入り加工品を対象とした。

B. 研究方法

実態調査に用いた麦類は、国産小麦(40点)及び国産大麦(10点)であり、農林水産省から提供された。その他の試料は市販品を用いた。

T-2トキシン、HT-2トキシン及びゼアラレノンの分析は、以下の方法で行った。

抽出は、試料25gに抽出溶媒メタノール:水(75:25)100mLを加え、30分間振盪することで行った。添加回収試験の場合はそれぞれのカビ毒で定めた用量を添加し、暗所に1時間放置

した後に抽出を行った。遠心分離(1410g、10分間)により抽出液を分離した。

精製はイムノアフィニティーカラム(R-Biopharm Rhone社、DZT MS-PREP)を用いた。抽出液10mLを正確にピペッター等で50mLのメスフラスコにとり、PBSで50mLにメスアップした後、ガラス繊維ろ紙でろ過した。

ろ液10mLをIACに添加し、蒸留水で洗浄後、メタノール2mLで溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をHPLC移動相0.5mLに溶解し、試験溶液とした。

<LC-MS/MSの測定例>

HPLC

カラム: Inertsil ODS-4 3×50 mm, 2・m

カラム温度: 40°C

移動相: A 溶媒 10 mM 酢酸アンモニウム

B 溶媒 メタノール

分離条件: 0分 A:B = 95:5

8分 A:B = 10:90 14分まで

保持

流速: 0.2 ml/分

注入量: 10・1

MS

イオン化: ESI

モニタリングイオン:

T-2トキシン(positive) 484/305

HT-2トキシン(positive) 442/263

ゼアラレノン(negative) 317/131

C. 研究結果

(1) T-2トキシン(表1、図1、図2)

麦類については、国産小麦で40検体中11検体、国産大麦で10検体中1検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ0.1、0.3 ng/gであり、最大濃度は国産大麦の2.8 ng/gであった。

麦類加工品については、ハトムギで20検体中5検体、シリアルで10検体中6検体、ビールで10検体中8検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ1.8、0.4、0.04 ng/gであり、最大濃度はハトムギの25.2 ng/gであった。

とうもろこし加工品については、コーングリッツで20検体中2検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は1.3 ng/g、最大濃度が25.8 ng/gであり、コーンスナックでは10検体中に汚染は認められなかった。

その他、雑穀米で20検体中9検体、小豆で10検体中9検体、胚芽入り加工品で10検体中6検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ0.2、0.31、0.73 ng/gであり、胚芽入り加工品で最大3.7 ng/gの汚染が確認された。ゴマでは10検体中に汚染は認められなかった。

(2) HT-2 トキシン (表2、図3、図4)

麦類については、国産小麦で40検体中14検体、国産大麦で10検体中1検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ1.1、1.0 ng/gであり、最大濃度は国産小麦の12.7 ng/gであった。

麦類加工品については、ハトムギで20検体中4検体、シリアルで10検体中6検体、ビールで10検体中8検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ1.4、1.8、0.06 ng/gであり、最大濃度はハトムギの13.9 ng/gであった。

とうもろこし加工品については、コーングリッツで20検体中1検体に1.2 ng/gの汚染が認められ、コーンスナックでは10検体中に汚染は認められなかった。

その他、雑穀米で20検体中4検体、小豆で10検体中8検体、胚芽入り加工品で10検体中6検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ0.19、0.91、2.0 ng/gであり、小豆で最大2.6、胚芽入り加工品で最大10.7 ng/gの汚染が確認された。ゴマでは10検体中に汚染は認められなかった。

(3) T-2 トキシン及びHT トキシンの合算 (表3、図5)

麦類については、国産小麦、国産大麦の平均濃度はそれぞれ1.2、1.3 ng/gであり、最大濃度は国産大麦の14.8 ng/gであった。

麦類加工品については、ハトムギ、シリアル、ビールの平均濃度はそれぞれ3.2、2.2、0.1 ng/gであり、最大濃度はハトムギの39.1 ng/gであった。

とうもろこし加工品については、コーングリッツの平均濃度は2.5 ng/g、最大濃度が48.9 ng/gであり、コーンスナックでは汚染は認められなかった。

その他、雑穀米、小豆、胚芽入り加工品の平均濃度はそれぞれ0.4、1.2、2.7 ng/gであり、胚芽入り加工品で最大14.2 ng/gの汚染が確認された。ゴマでは汚染は認められなかった。

(4) ゼアラレノン (表4、図6、図7)

麦類については、国産小麦で40検体中34検体、国産大麦で10検体中6検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は両者共に3.0 ng/gであり、最大濃度は国産小麦の36.1 ng/gであった。

麦類加工品については、ハトムギで20検体中17検体、シリアルで10検体中10検体、平均濃度はそれぞれ17.4、1.5 ng/gであり、最大濃度はハトムギの152.9 ng/gであった。ビールでは10検体中に汚染は認められなかった。なお、ビールの製造過程において、原料に含まれているゼアラレノンが・-ゼアラレノール又は・-ゼアラレノールに変換されることが知られている。そこで両代謝物の分析も併行して行ったが、定量限界値以上の濃度が含まれる試料は認められなかった。

とうもろこし加工品については、コーングリッツで20検体中20検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度は7.4 ng/g、最大濃度は30.7 ng/gであった。コーンスナックでは10検体中に汚染は認められなかった。

その他、雑穀米で20検体中20検体、小豆で10検体中10検体、胚芽入り加工品で10検体中10検体、ゴマで10検体中10検体に検出限界値以上の汚染が認められ、平均濃度はそれぞれ3.7、37.3、0.32、4.7 ng/gであり、雑穀米で最大32.0、小豆で最大86.9、ゴマで19.9 ng/gの汚染が確認された。

D. 考察

・検出限界値、添加回収試験について

検出限界値は各食品で異なるが、T-2 トキシンでは 0.002-0.2 ng/g、HT-2 トキシンでは 0.007-0.8 ng/g、ゼアラレノンでは 0.005-0.2 ng/g であった。回収率は、ゴマと胚芽入り加工品のゼアラレノンで 70%を下回ったが、その他は全て 70%以上であった。ゴマのように回収率が 50%程度と特に低い試料の分析値については、回収率を踏まえて算出する必要があると考えられる。

・実態調査の結果について

T-2 トキシン及びHT-2 トキシンの平均濃度はいずれの試料においても 2 ng/g 以下と低レベルではあったが、ハトムギ 1 試料で T-2 が 25.2 ng/g、HT-2 が 13.9 ng/g、コーングリッツ 1 試料で T-2 が 25.8 ng/g、HT-2 が 23.1 ng/g と数は少ないものの平均値よりもかなり高い濃度で汚染されている試料が存在した。また、去年の結果と比較すると、小豆の T-2 トキシンの検出頻度が 10%から 90%に、HT-2 トキシンの検出頻度が 10%から 80%に著しく上昇した。これら試料については、来年度も重点的に調査を行う必要がある。

ゼアラレノンはコーンスナックとビールでは汚染頻度が 0%であるが、国産小麦とはと麦で 80%、雑穀米、コーングリッツ、シリアル、小豆、胚芽入り加工品、ゴマでは 100%であり、試料によって汚染頻度が大きく異なっていた。ハトムギの平均濃度は 17.4 ng/g と他の試料よりも高く、T-2 トキシン及び HT-2 トキシンとの複合汚染が認められた。また、小豆は昨年度は検出頻度が 20%、平均濃度が 0.43 ng/g であったが、今年度は平均濃度が 37.3 ng/g と最も高かった。なお、1983~85 年に行われたゼアラレノン汚染調査（食衛誌、28、322-329、1987）においてハトムギで 139 検体中 51 検体に 26~960 ng/g、赤竹小豆で 67 検体中 44 検体に 43~4560 ng/g 検出されたことが報告されている。

E. 結論

本研究では、3 年間通年で 3 種のフザリウムトキシン（T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノン）を測定する予定となっており、本年度が 2 年目となる。

昨年度に引き続き、毒性の高い T-2 トキシン及び HT-2 トキシンが小麦や麦類加工品で検出された。ハトムギ、コーングリッツで 1 検体ずつではあるが 20 ng/g を超える T-2 トキシンが、また小豆 10 検体中 6 検体に 30 ng/g 以上のゼアラレノンが検出されており、最後の年となる来年度はそれら品目について重点的に調査を行う。

F. 研究業績

【学会発表】

- 1) 吉成知也, 大西貴弘, 小西良子: トウモロコシ類に含まれるトリコテセン類の LC-MS/MS 同時分析法及び実態
第 101 回日本食品衛生学会学術講演会 (2011.5)
- 2) Yoshinari, T, Kadota, T, Ohnishi, T, Sugita-Konishi, Y: Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins in cereals by LC-MS/MS
International Union of Microbiological Societies, 2011 CONGRESS (2011, 9)
- 3) 谷口 賢, 吉成知也, 青山幸二, 竹内 浩, 橋口成喜, 甲斐茂美, 中島正博, 田端節子, 田中敏嗣, 佐藤孝史, 松井好之, 小木曾基樹, 石黒瑛一, 小西良子: 日本に流通する食品中の T-2 トキシン、HT-2 トキシンおよびゼアラレノン汚染実態調査 (平成 22 年度)
第 102 回日本食品衛生学会学術講演会 (2011.9)

表 1. T-2 トキシンの汚染実態

食品目	試料数	LoD 以上の 試料数	平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LoD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
小麦(国産)	40	11	0.1	0.2	2.1
大麦(国産)	10	1	0.3	0.10	2.8
ハトムギ	20	5	1.8	0.2	25.2
雑穀米	20	9	0.2	0.05	1.4
コーンスナック	10	0	-	0.10	-
コーングリッツ	20	2	1.3	0.016	25.8
シリアル	10	6	0.4	0.02	1.6
小豆	10	9	0.31	0.03	1.0
胚芽入り加工品	10	6	0.73	0.03	3.7
ゴマ	10	0	-	0.002	-
ビール	10	8	0.04	0.01	0.13
合計	170	57			

表 2. HT-2 トキシンの汚染実態

食品目	試料数	LoD 以上の 試料数	平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LoD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
小麦(国産)	40	14	1.1	0.8	12.7
大麦(国産)	10	1	1.0	0.38	9.5
ハトムギ	20	4	1.4	0.8	13.9
雑穀米	20	4	0.19	0.2	1.7
コーンスナック	10	0	-	0.24	-
コーングリッツ	20	1	1.2	0.61	23.1
シリアル	10	6	1.8	0.10	9.3
小豆	10	8	0.91	0.08	2.6
胚芽入り加工品	10	6	2.0	0.08	10.7
ゴマ	10	0	-	0.007	-
ビール	10	8	0.06	0.11	0.58
合計	170	52			