

い、Dunette 法を用いて統計学的比較を行った。値は平均±標準誤差 (Standard Error of Mean: SEM) として表した。

K. 研究結果

【LPS 誘導性 IFN- β レポーター活性におよぼす T-2 および HT-2 の影響】

RAW264 における TLR4 シグナリングに与える T-2 または HT-2 の影響を、IFN- β プロモーター活性を指標に検討した。その結果、LPS 誘導性 IFN- β プロモーターレポーター活性に対して T-2 は 10 ng/ml から 80 ng/ml では濃度依存的な抑制効果を示した (Fig. 1)。80 ng/ml の T-2 存在下では、LPS 単独刺激時のレポーター活性と比較し、おおよそ 1/5 程度にまで抑制されていた。HT-2 においても、1.0 ng/ml から 8.0 ng/ml の濃度範囲において、LPS 誘導性 IFN- β プロモーターレポーター活性の濃度依存的な抑制効果が認められた (Fig. 2)。以上の結果から、T-2、HT-2 は共に TLR4 の MyD88 非依存経路を阻害することが示唆された。

【LPS 誘導性 NF- κ B 依存性レポーター活性におよぼす T-2 および HT-2 の影響】

ELAM/264 細胞を用いて、TLR4 により活性化される転写因子 NF- κ B に対する T-2 および HT-2 の影響を検討した。その結果、LPS 誘導性 NF- κ B 依存性レポーター活性は、T-2、HT-2 ともに抑制効果を示したものの、IFN- β プロモーターレポーター活性に対して認められた顕著な濃度依存的抑制効果は見られなかった (Fig. 3, Fig.

4)。NF- κ B の TLR4 による活性化は MyD88 依存経路が主要な経路と考えられている。従って、TLR4 の MyD88 依存経路に対する阻害作用は両毒素とも限定的であることが示唆された。

【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】

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%程度まで 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 もしくは HT-2 存在下ではコントロールと比較して約 50%程度まで低下することが明らかとなった (Fig. 5)。

【THP-1 細胞生存率を指標とした OTA と CIT の複合毒性】

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 (Fig. 6)。CIT 単独処理では、100 nM においてのみ有意な細胞毒性が認められた (Fig. 7)。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 (Fig. 8)。

L. 考察

LPS 誘導性 TLR4 シグナリングに対する T-2 および HT-2 影響をマウスマクロファージ様細胞にて検討をした。その結果、両毒素とも TLR4 シグナルの下流に存在する 2 経路を阻害することが明らかとなった。この結果は、これまでに報告されてきたトリコテセン系カビ毒のタイプ B に相当する DON と NIV と類似する [1]。従って、トリコテセン系カビ毒のタイプ A および B はともに TLR4 シグナルに対して抑制的に作用する可能性が示唆された。本結果は、トリコテセン系カビ毒の毒性の特徴として挙げられる免疫毒性、特に易感染性を合理的に説明できる知見とも言える。但し、その毒性レベルは各毒素間で異なることが推測された。今回明らかとなった T-2 と HT-2 の LPS 誘導性 IFN- β レポーター活性に対する抑制作用は、これまでに報告されている DON と NIV の濃度と比較し 1/10 以下の濃度で認められている [1]。これは、タイプ B と比較してタイプ A の毒性が強い可能性を指摘するこれまでの認識と一致する [5]。また本研究では、HT-2 が T2 と比較してより強い TLR4 シグナリング抑制作用を示している。T-2 は摂取された場合、代謝過程で HT-2 に変換されることが知られている。従っ

て TLR4 シグナル阻害作用の点からは、T-2 と HT-2 のリスクアナリシスは、HT-2 が示す毒性に注意を払い検討する必要がある。但し、両毒素の毒性評価に際しては、今後様々な観点から T-2 と HT-2 の毒性試験を実施したうえで、得られた知見を重層的に検証する必要がある。

食品衛生上問題視されているタイプ A および B のトリコテセン系カビ毒は、今回用いたバイオアッセイシステムで毒性評価できることが本研究より明らかとなった。同一のプラットフォームで各毒性を比較検討できることは、それぞれの毒性プロファイルを作成するうえで必要な精緻な基礎データが得られると期待される。また、タイプ A および B のトリコテセン系カビ毒が MyD88 非依存経路に対して濃度依存的な阻害作用を示すことを明らかにしたことは、トリコテセン系カビ毒の免疫毒性発現序の解明に貴重な知見を付与したとも言えよう。

肝細胞由来細胞内の GSH 含量におよぼす T-2 および HT-2 の作用と、免疫細胞の細胞毒性を指標とした OTA と CIT の複合毒性についても検討した。肝細胞内 GSH 含量におよぼす T-2 および HT-2 の作用としては、ヒト肝ガン由来細胞株である Hep G2 の細胞内 GSH を 200 nM 以上の濃度において、両毒素とも減少させることが明らかとなった。一方、T-2 においてのみ細胞内 GSH 含量を増大させる効果が認められた。この GSH 含量を増大させる機序としては GSH が生体外異物の解毒に関与する

ことから、同分子の *de novo* 合成系が促進されたことが考えられる。しかし、T-2 は体内で加水分解され HT-2 に代謝されることから、肝細胞内における T-2 誘導性 GSH 含量の増大の可能性は低いと推測される [6]。一方、HT-2 は今回検討した濃度では細胞内 GSH 含量を減少させる作用を示すことが明らかとなった。この減少は肝細胞における HT-2 の代謝 (解毒) に GSH が用いられたことが推測される。事実、トリコテセン系カビ毒が肝臓で GSH 抱合体となることが知られている [7]。また、本研究よりトリコテセン系カビ毒の毒性低減に抗酸化物質が有効である可能性が示唆された。細胞内 GSH の減少は細胞内酸化度の上昇を誘発すると考えられるが、同上昇を抗酸化物質が抑制する可能性が考えられる。白血球系細胞ではトリコテセン系カビ毒誘導性細胞毒性に対するカテキンによる抑制効果が報告されているが [2]、同報告は少なくともトリコテセン系カビ毒の毒性低減には抗酸化物質が有効であることを示唆する。肝細胞由来と白血球系細胞とその細胞内代謝は異なるが、今後、抗酸化物質によるトリコテセン系カビ毒の減弱作用の研究は、食の安全をはかる上で重要なテーマの一つと考えられる。

免疫毒性からみた OTA と CIT の複合毒性については、本研究よりその作用は相加ではない可能性が示唆された。OTA と CIT 各々単独では細胞毒性が認められない濃度において、共存下ではマクロファ

ージ様細胞では毒性を呈することが明らかとなった。両毒素は *Penicillium* 属真菌が産生する二次代謝産物であり、共汚染が認められることから [3]、今回認められた毒性は、OTA と CIT のリスク評価に貴重な知見を付与するものと考えられる。今後、その毒性機序について研究を進めることで、同毒性の発現メカニズムが明らかとなれば、対策法と各毒素の新たな毒性発現メカニズムの理解が得られると期待される。OTA については免疫毒性として T および B リンパ球の増殖阻害等の研究報告があるが [4]、CIT の明確な免疫毒性についての報告例は少ない。したがって、特に CIT については本研究を推進することで、新規毒性に関する知見が得られると期待できる。また両毒素とも腎毒性を有することが知られているが [3]、両毒素共存下での腎毒性発現機序に今回の現象を誘発する機構が影響している可能性も否定できず、その場合これら毒素の腎毒性についても新たな知見が付与できよう。

M. 結論

タイプ A トリコテセン系カビ毒 T-2 もしくは HT-2 は、タイプ B 同様に LPS 誘導性 TLR4 シグナルを抑制した。またその抑制は、MyD88 非依存経路において顕著に認められた。これは、トリコテセン系カビ毒が呈する易感染性の分子基盤の一つである可能性を示すと考えられる。

ヒト肝ガン肝由来細胞 Hep G2 において、

200 - 400 nM のタイプ A トリコテセン系カビ毒 T-2 もしくは HT-2 存在下では、細胞内 GSH はコントロールと比較し約 50% まで低下した。

免疫細胞におよぼす OTA と CIT の複合毒性は、相乗的である可能性が示唆された。

N. 健康危険情報

なし

O. 研究業績

【学会発表】

1. 渡辺康、佐久間久子、鎌田洋一、杉山圭一、斉藤史朗、佐藤敏彦、小西良子：パスタ調理におけるオクラトキシン A の消長について、第 100 回日本食品衛生学会学術講演会 (2010, 9) .

2. 佐久間久子、伊藤有加里、小林政人、渡辺康、杉山圭一、鎌田洋一、小西良子：木の実中の総アフラトキシンの迅速法キットの検討、日本マイコトキシン学会第 68 回学術講演会講演要旨集 31 (2010, 9) .

3. 杉山圭一、石澤聡美、木下麻緒、葉袋裕二、小西良子：Type A トリコテセンの自然免疫系におよぼす影響、日本マイコトキシン学会第 69 回学術講演会講演要旨集 19 (2011, 1) .

P. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

1) Sugiyama, K., Muroi, M., Tanamoto, K., Nishijima, M. & Sugita-Konishi, Y. (2010): Deoxynivalenol and nivalenol inhibit Lipopoly-saccharide-induced Nitric oxide production by mouse macrophage cells, *Toxicology letters*. **192**, 150-154.

2) Sugiyama, K., Kinoshita, M., Kamata, Y., Minai, Y. & Sugita-Konishi, Y. (2011): (-)-Epigallocatechin gallate suppresses the cytotoxicity induced by trichothecene mycotoxins in mouse cultural macrophages, *Mycotoxin Research*, 1-5.

3) 杉山圭一 & 小西良子 (2009) わが国におけるカビ毒による食中毒とその現状 (特集 自然毒食中毒), *公衆衛生*. **73**, 350-352.

4) Pfohl - Leszkowicz, A. & Manderville, R.A. (2007): Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans, *Molecular nutrition & food research*. **51**, 61-99.

5) 小西良子 & 杉山圭一 (2008) カビ毒のリスク評価と国際的な動向, *食品衛生学雑誌*. **49**, 1-10.

- 6) Sugiyama, K., Kinoshita, M., Kamata, Y., Minai, Y., Tani, F. & Sugita-Konishi, Y. (2012): Thioredoxin-1 contributes to protection against DON-induced oxidative damage in HepG2 cells, *Mycotoxin Research*, 1-6.
- 7) Gouze, M., Laffitte, J., Rouimi, P., Loiseau, N., Oswald, I. & Galtier, P. (2006) Effect of various doses of deoxynivalenol on liver xenobiotic metabolizing enzymes in mice, *Food and chemical toxicology*. **44**, 476-483.

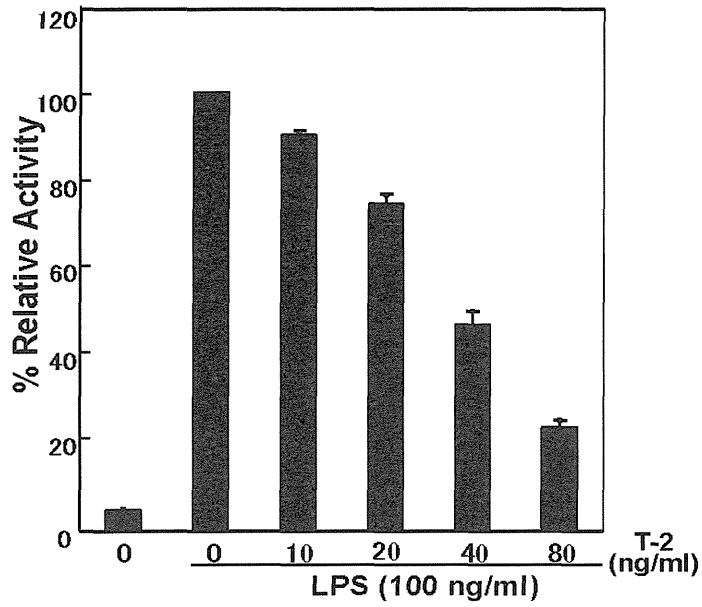


Fig. 1 Effects of T-2 on LPS-induced IFN- β reporter activity in RAW264 cells.

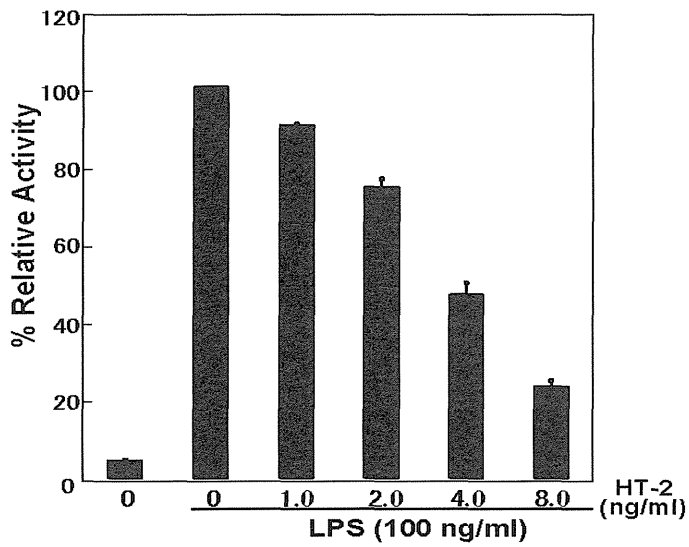


Fig. 2 Effects of HT-2 on LPS-induced IFN- β reporter activity in RAW264 cells.

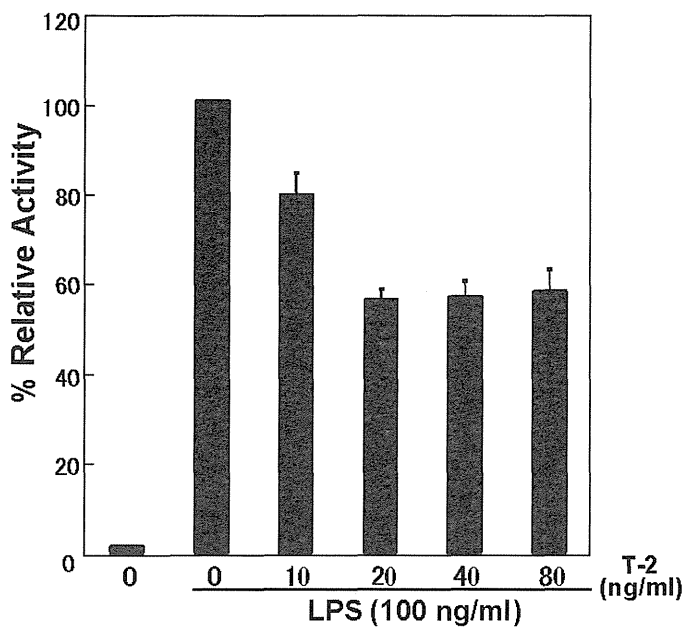


Fig. 3 Effects of T-2 on LPS-induced NF-κB dependent reporter activity in RAW264 cells.

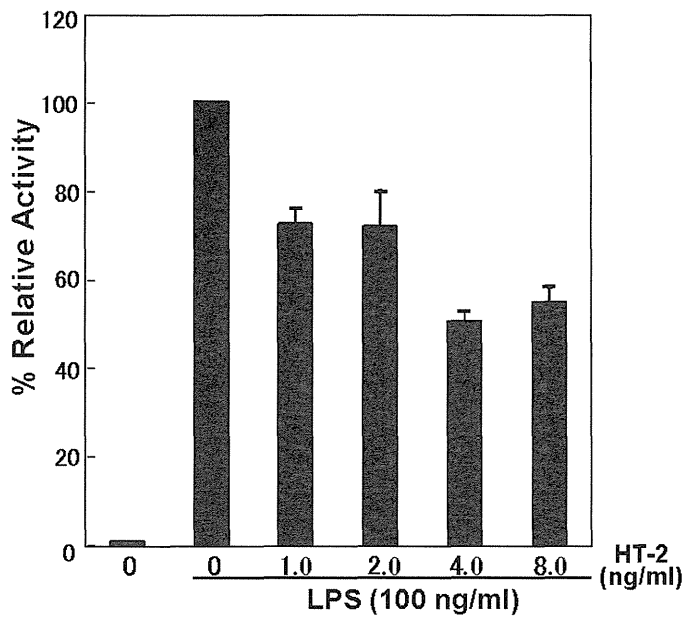


Fig. 4 Effects of HT-2 on LPS-induced NF-κB dependent reporter activity in RAW264 cells.

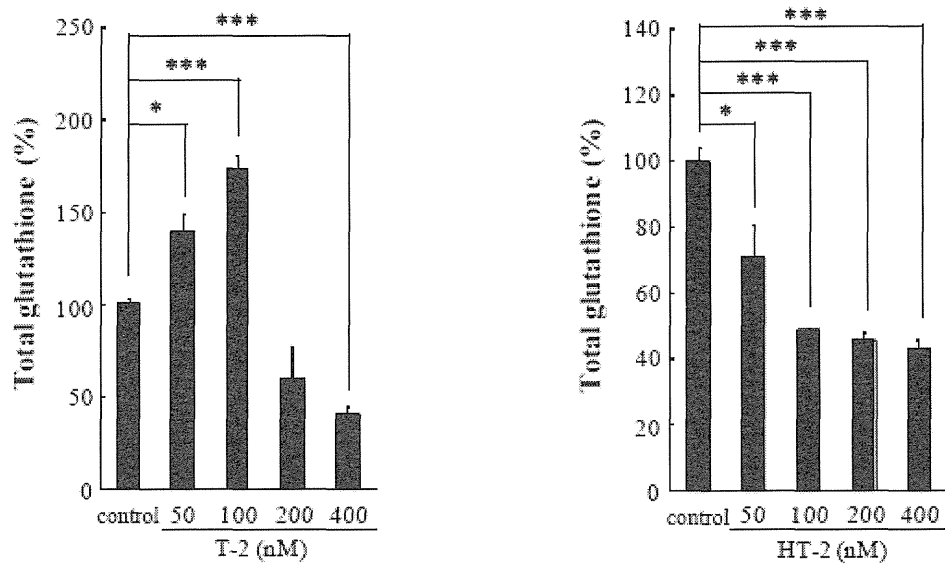


Fig. 5 Effects of T-2 and HT-2 on total GSH contents in Hep G2 cells.

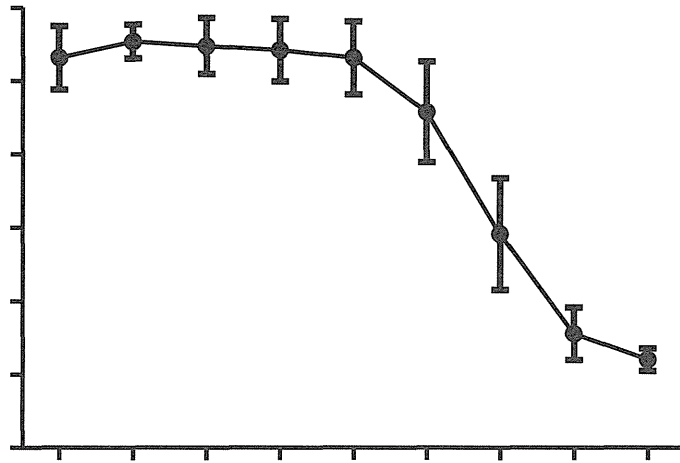


Fig. 6 Effect of OTA on cell viability of THP-1 cells.

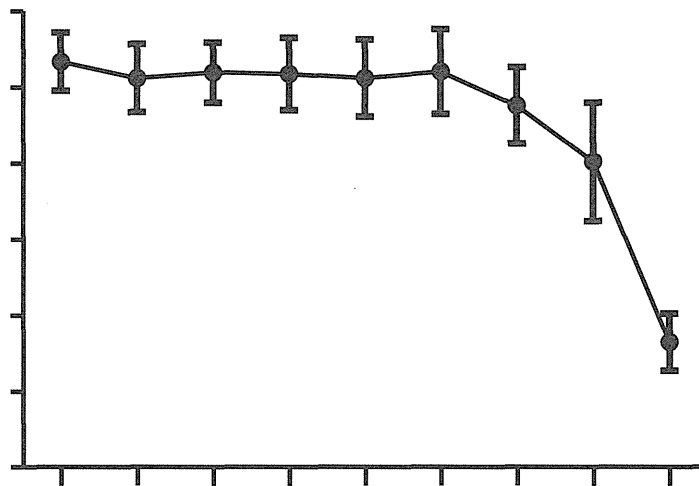


Fig. 7 Effect of CIT on cell viability of THP-1 cells.

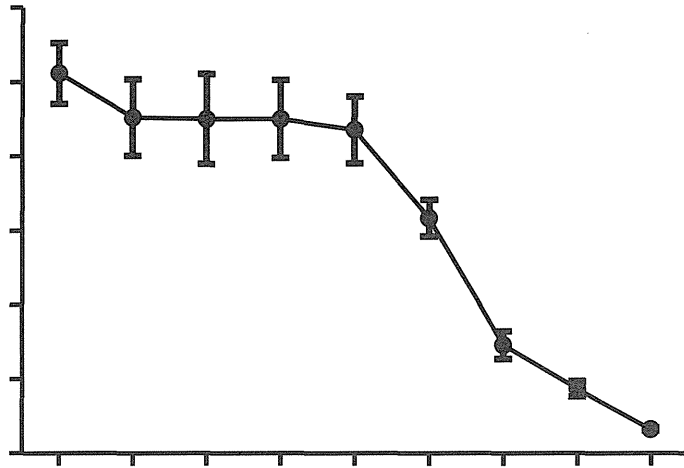


Fig. 8 Combined effects of CIT and OTA on cell viability of THP-1 cells.

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

カビ毒の曝露量評価

分担研究者 小西良子 国立医薬品食品衛生研究所
分担研究者 佐藤敏彦 北里大学医学部 (平成 22-23 年度)
協力研究者 斉藤史朗 東京大学大学院

研究要旨

近年国際的にも対策が望まれているカビ毒につき、わが国の健康被害のリスクを評価するためにも、曝露評価が必要とされてきているが、いまだに具体的な評価のなされていないカビ毒も存在する。本研究においてはフザリウム系カビ毒である、ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの3種のカビ毒につき、本格的な曝露評価を行うための準備と試行評価を行った。

平成 22 年度および 23 年度は、シミュレーションの方法について、実際のデータ（カビ毒含有量調査データおよび、食品摂取量・摂取頻度調査のデータ）を使って、具体的に曝露量のシミュレーションを行うことによって妥当性の評価を行った。

平成 22 年度は日本人の曝露評価をゼロ歳から 70 歳までの合計の曝露量として評価することを試みた。摂取量のシミュレーションにおいて、それぞれの年齢層における摂取量の多寡を前後の年齢層とどう関連づけるのか（ある年齢層で摂取量の多い人は、他の年齢層においても同じく摂取量が多いのか）という課題が明らかになった。

平成 23 年度は摂取量シミュレーションにおけるサンプル数による誤差範囲が、曝露量計算の誤差にどれくらいの影響を与えるのかをシミュレーションによって調査し、サンプル数が多い場合には、上下 20%程度の誤差範囲になると考えられることを示した。

平成 24 年度には、あずき含有食品およびはと麦について、ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの3種のカビ毒の曝露量を評価した。あずき含有食品は摂取者の割合も比較的多い（一番多い年齢層では 12%あまりとなる）のに対して、はと麦は摂取者の割合自体が極めて少ない（一番多い年齢層でも 0.5%未満）。実際の曝露量をシミュレーションしてみると、はと麦の摂取による曝露量は、あずき含有食品摂取による曝露量と比べて、きわめて少ないことがわかった。それゆえ、曝露量評価については、摂取者割合および摂取量の多い、いわゆる主食と呼ばれているものが重要であると考えられる。

なお、あずき含有食品とはと麦の摂取による合計の曝露量はゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンについて 99%タイルであっても、PMTDI よりも少ないことが推定された。

A. 研究目的

(1) ゼロ歳から 70 歳までの合算暴露量の推定

従来の暴露量評価では、年齢層ごとに、一日あたりの暴露量を推定し、最大1日耐容摂取量と比較することによって、健康リスクを評価することが試みられてきた。

今回は、各年齢層でシミュレーションした結果である1日あたりの暴露量をもとに、ゼロ歳から70歳までの合算した暴露量を推定することとした。

(2) 汚染量シミュレーションの元となるデータのサンプル数による誤差が、暴露量においてどれくらいの誤差となるのか

暴露評価を行う際、食品によっては摂取量のデータのサンプル数が少ない場合がある。それによってもたらされるシミュレーションの誤差が、結果的に暴露量の計算結果にどれくらいの誤差範囲をもたらすのかがわからないと、シミュレーション結果をどれくらいの精度で受け止めればよいかかわからないという問題がある。そこで、サンプル数を変えることによって変動する平均値や分散の値の誤差範囲をもとに、暴露量がどの程度上下するのかをシミュレーションしてみた。

(3) ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの暴露評価

食品の中には米や小麦のように摂取者割合の高い主食と言われるものから、はと麦や雑穀のように摂取者割合の低いものまでがある。暴露量の値の大きく影響するのは、主食と言われるような食品だろうということは想像されるが、摂取者割合の低い食品による影響がどれくらい

あるのか、ないのかを実際にシミュレーションで確かめてみるとともに、これまで暴露評価がなされてこなかったフザリウム系カビ毒であるゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンについて、暴露評価を行ってみた。

B. 研究方法

1) ゼロ歳から 70 歳までの合算暴露量の推定

(1) 牛乳におけるアフラトキシン M1 含有量の推定

1歳未満の乳児については、粉ミルクの汚染量を推定するために、平成22年度の「食品中のかび毒に係る試験検査（アフラトキシンM1）」のデータからシミュレーションにより分布を作成した。

1歳以上の対象者については、国立医薬品・食品衛生研究所による「市販乳 AFM1 濃度一覧」を利用して、分布を作成した。

(2) 牛乳の摂取量推定

1歳未満の乳児については、粉ミルクの摂取量をもって、牛乳の摂取量とした。1歳以上の対象者については、「食品摂取量・摂取頻度調査」のデータから、年令階層別（1才から6才、7才から14才、15才から19才、20才以上の4つの階層）に分布を作成した。

(3) 暴露量の計算と評価

一日あたりの暴露量は上記(1)の方法でもとめた含有量に、(2)の方法でもとめた摂取量をかけることによって算定し、総暴露量は、一日あたりの暴露量を年あたり365.24倍して、該当する年齢層分の年数をかけて、さらに4つの年令層分を合計して算出した。

また、各年齢層における総暴露量を合

算してゼロ歳から70歳までの生涯暴露量を計算するにあたり、各年齢層での暴露量の順番（何番目に多く暴露しているか）をあわせて計算した。（1才から6才までで一番多く暴露している人は、7才から14才、15才から19才、20才以上のそれぞれのライフ・ステージでも一番多く暴露していると仮定した。）（なお、ゼロ歳の暴露量は摂取量ではなくて汚染量に依存しているので、合算はランダムに行った。）

2) 汚染量シミュレーションの元となるデータのサンプル数による誤差が、暴露量においてどれくらいの誤差となるのか

(1) 分析対象としての米摂取量データ

パラメータの誤差範囲やあるいはパラメータを利用したシミュレーション結果の誤差範囲について、誤差をはかる相手となる母集団は、日本人全体の摂取量であり、近似的にこうした母集団に代替可能な大量データが手に入るということで、食物摂取量についてのデータを使用し、摂取量のシミュレーションについて分析を行うこととした。対象食品は日本人の主食である「コメ」にして、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。（そのうち、「めし」摂取有りが全体の93.7%の30,740 サンプルであった。）

(2) 対数正規分布という仮定に関する誤差

現在行われている曝露量のモンテカルロ・シミュレーションにおいては、サンプルからパラメータである平均と標準

偏差を明らかにすると、そのパラメータ一値を持った対数正規分布を発生させることが多い。実際にそうした場合の対数正規分布と元のサンプルの分布とは適合度が高い場合が多いのだが、適合度で言えば、その他の分布の方が良い場合もある。

そこで、今回、上記データから明らかになった平均（5.97g/体重Kg/日）と標準偏差（2.94）をもとに作成した対数正規分布と、実際のサンプルデータの分布とが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。）

(3) パラメータ推計のサンプル数による誤差

摂取量のパラメータを推計するに際して誤差の生む要因としては、そもそもサンプルをとってきた集団の問題や、摂取量を記録する方法の問題など、サンプル調査の方法的な問題をあげることができるが、ここでは調査の中身には立ち入らずに、サンプル数による誤差の問題を取り扱う。サンプル数がどれくらい少ないと、平均的にどれくらいの誤差を生むのかを調べてみる。

上記の20才以上のこめ摂取者のデータセットから、ランダムにサンプルを抽出することを各サンプル数（50, 100, 200, 300, 500, 1000）ごとに1,000回ずつ行い、サンプル数ごとに摂取量の分布を求め、上下95%の範囲の上限・下限（97.5%点と2.5%点）の値を求めた。

3) ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの暴露評価

(1) フザリウム系カビ毒の含有量の推定

3 ヶ年にわたって集められた、あずき 40 サンプル、はと麦 60 サンプルを使って3つのフザリウムカビ毒（ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシン）の含有量（汚染量）について測定し、これを用いてサンプルデータを作成した。

今回は特別な規制値は存在しないので、規制値によるシナリオは容易しなかった。

LOQ 未満の処理として、WHO GEMS FOOD の規定に従って upper bound と lower bound の二種類のシナリオを用意して、それぞれ 1,000 万回の試行を実行した。

(2) あずきおよびはと麦の摂取量の推定

「平成 17 年度～19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、あずきを含んだ食品およびはと麦の摂取量データを元にして、年齢階層別に摂取量データを作成した。

年齢階層は「1 歳から 6 歳」「7 歳から 14 歳」「15 歳から 19 歳」「20 歳以上」の 4 つの階層に分けた。あずき含有食品の摂取量は以下の食品群ごとに計算した。

- ・赤飯
- ・あんこ
- ・まんじゅう
- ・羊羹

C. 研究結果

1) ゼロ歳から 70 歳までの合算暴露量の推定

アフラトキシン M1 の健康への影響のうちで最も考慮しなければならないのは発ガンであるが、これについては、以下のような発ガン率の計算式が認められている。

※体重 1Kg あたりのアフラトキシン M1 の曝露量 (ng) × {B 型肝炎キャリアー% (日

本では 2%) *0.03(キャリアのアフラトキシン M1 の発がん率)+B 型肝炎非キャリアー% (日本では 98%) *0.001(健常人のアフラトキシン M1 の発がん率)}=10 万人あたりにガンを発生する人の数

そこで、まずは 70 才までの生涯の総曝露量から、一日あたりの曝露量を計算するために、総曝露量を (365.24×70)=25566.8 (単位は日) で割る。さらにその値に、上記の計算式による日本人の現状の数値をあてはめて、0.00158 をかけると、それぞれの%タイルにおける 10 万人あたりのガンを発生する人の数がわかる。

たとえば、99%タイルにおける両シナリオよりも多めに 9,000ng と仮定してみると、10 万人あたりにガンを発生する人の数は 0.000553 人となり、日本人口総数を 1 億 2 千万人としても、0.000553×1200=0.636 人で、一人にも満たないことになる。

それゆえ、現状では牛乳を介したアフラトキシン M1 による発ガンの恐れは、ほぼないと考えてよいと思われる。

2) 汚染量シミュレーションの元となるデータのサンプル数による誤差が、暴露量においてどれくらいの誤差となるのか

求めた各サンプル数ごとの平均の上限・下限と標準偏差の上限・下限を用いて、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比較を行う。(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。)

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、現在暴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。

3) ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの暴露評価

(1) あずき含有食品におけるカビ毒暴露量

・ゼアラレノン

95%タイルでの暴露量は多くとも 3ng/体重 Kg/day 未満。99%タイルでの暴露量は多くとも 20ng/体重 Kg/day 未満。

・T2-トキシン

95%タイルでの暴露量は多くとも 3ng/体重 Kg/day 未満。99%タイルでの暴露量は多くとも 25ng/体重 Kg/day 未満。

・HT-2 トキシン

95%タイルでの暴露量は多くとも 3ng/体重 Kg/day 未満。99%タイルでの暴露量は多くとも 20ng/体重 Kg/day 未満。

(2) はと麦摂取による暴露量との合計暴露量

そもそも摂取者割合が少ないため、合計しても、あずき単独の暴露量と比べてほとんど暴露量は増えない。増えた場合でも小数点以下第二位の変化にすぎなかった。

D. 考察

1) ゼロ歳から 70 歳までの合算暴露量の推定

各年齢層における摂取量の順位は人（サンプル）によって異ならなかった。いわば、いくつになっても、多く摂取する人は多く摂取するという考え方を極端にしたものである。しかし、現実には、各年齢層ごとの摂取量の順位は高い相関はあるが、厳密に一致するものではない。そこで、各年齢層における摂取量の順位の相関を利用したシミュレーションが行えると、より現実的になると思われる。上記の理由で今回のシミュレーション結果はいく分か過大評価になっているが、それでもなお、発ガンの恐れはほぼないということなので、より安全性は高いと思われる。

2) 汚染量シミュレーションの元となるデータのサンプル数による誤差が、暴露量においてどれくらいの誤差となるのか

OTA については、2007 年に JECFA で、従来から用いられてきた暫定的評価基準である一週間耐容摂取量 100ng/kg を用いてリスク評価を行うこととなった。今回のシミュレーションからは、曝露量の一番多い即ち、1~6 歳群においても 99%点での一日の曝露量は 5.22ng/kg 体重/日となっている。この結果は、単純に 7 倍して一週間の曝露量を計算した場合でも、たかだか 40ng/kg 体重/日にすぎない。

それゆえ、日本人のほとんどが小麦摂取により健康影響を受けることはないものと推定される。

3) ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの暴露評価

(1)あずき含有食品によるカビ毒暴露量

・ゼアラレノン

PMTDI は 500ng/体重 Kg/day であるが、99%タイルで一番多い暴露量の年齢層・シナリオでも 20ng/体重 Kg/day 余りであるので、上下誤差を 30%としても、PMTDI よりもはるかに低い。

・T-2 トキシンおよびHT-2 トキシン

PMTDI は T-2 トキシンと HT-2 トキシンの合計で 60ng/体重 Kg/day であるが、99%タイルの一番多い年齢層・シナリオでも 45ng/体重 Kg/day であり、上下誤差を 30%としても PMTDI よりも低い。

(2)はと麦摂取による暴露量との合計暴露量

ゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンのいずれにおいても、あずき単独での暴露量に比べて、はと麦の分を合算しても、暴露量はほとんど増えない。(増えた場合でも小数点以下第二位の水準で増えるに過ぎない。)

それゆえ、日本人のほとんどがこれら食品の摂取によって健康被害を受けることはないと考えられる。

4) モンテカルロ・シミュレーションに

ついて

最後に、コンピュータシミュレーションであるモンテカルロ法では、得られたサンプルから対数正規分布を仮定することにより母集団のデータを作り出すことから作成したサンプルデータの一部には通常では存在しえない高値のデータが存在していたことは否定できない。それゆえ、シミュレーション結果の解釈には慎重であるべきだが、こうした値は暴露量を過大に評価することはあっても、過小評価するわけではないこと。また、こうした値は分布のかなり右側に存在するので、健康被害リスクの評価基準となる 95%タイル付近には影響はない。以上のことからして、(1)および(2)における日本人の健康被害リスクについての考察は妥当なものだと思われる。

E. 結論

95%タイルでは今のところ推計暴露量は PMTDI よりもかなり低い水準にある。

摂取量のより多いあずき類においても日本人の健康に対する悪影響はないものと考えられる。また、はと麦のような摂取量の少ない食品は暴露量について寄与する度合いが少ない。小麦類などの主食による暴露量評価が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表：特になし
2. 学会発表：特になし

Ⅱ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshinari T, Tanaka T, Ishikuro E, Horie M, Nagayama T, Nakajima M, Naito S, Ohnishi T, Sugita-Konishi Y.	Inter-laboratory Study of an LC-MS/MS Method for Simultaneous Determination of Deoxynivalenol and Its Acetylated Derivatives, 3-Acetyl-deoxynivalenol and 15-Acetyl-deoxynivalenol in Wheat.	Shokuhin Eiseigaku Zasshi.	54(1)	75-82	2013
Hayashi H, Itahashi M, Taniai E, Yafune A, Sugita-Konishi Y, Mitsumori K, Shibutani M.	Induction of ovarian toxicity in a subchronic oral toxicity study of citrinin in female BALB/c mice.	J Toxicol Sci.	37(6)	1177-90	2012
Sugita-Konishi Y, Kamata Y, Sato T, Yoshinari T, Saito S.	Exposure and risk assessment for ochratoxin A and fumonisins in Japan.	Food Addit Contam	Part A	1-10	2012
Wu W, Bates MA, Bursian SJ, Link JE, Flannery BM, Sugita-Konishi Y, Watanabe M,	Comparison of emetic potencies of the 8-ketotrichothecenes deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol,	Toxicol Sci.	131(1)	279-91	2013

Zhang H, Pestka JJ.	fusarenon X, and nivalenol.				
Yoshinari T, Ohnishi T, Kadota T, Sugita-Konishi Y.	Development of a purification method for simultaneous determination of deoxynivalenol and its acetylated and glycosylated derivatives in corn grits and corn flour by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.	J Food Prot.	75(7)	1355-8	2012
Aoyama K, Akashi H, Mochizuki N, Ito Y, Miyashita T, Lee S, Ogiso M, Maeda M, Kai S, Tanaka H, Noriduki H, Hiraoka H, Tanaka T, Ishikuro E, Itoh Y, Nagayama T, Nakajima M, Naito S, Sugita-Konishi Y.	Interlaboratory study of LC-UV and LC-MS methods for the simultaneous determination of deoxynivalenol and nivalenol in wheat.	Shokuhin Eiseigaku Zasshi.	53(3)	152-6	2012
Wu W, Flannery BM, Sugita-Konishi Y, Watanabe M, Zhang H, Pestka JJ.	Comparison of murine anorectic responses to the 8-ketotrichothecenes 3-acetyldeoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, fusarenon X and nivalenol.	Food Chem Toxicol.	50(6)	2056-61	2012
Suchitra NGAMPONGSA, Koichi ITO,	Arrhythmias and alterations in autonomic nervous function induced by	J. Toxicol. Sci.	36(4)	453-60	2011

Masayoshi KUWAHARA, Susumu KUMAGAI, Hirokazu TSUBONE.	deoxynivalenol (DON) in unrestrained rats.				
Ngampongsa S, Ito K, Kuwahara M, Ando K, Tsubone H.	Reevaluation of arrhythmias and alterations of the autonomic nervous activity induced by T-2 toxin through telemetric measurements in unrestrained rats.	Toxicol Mech Methods.	22(9)	662-673	2012