

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)

総括研究報告書

基準値の策定に資する食品汚染かび毒の実態調査  
と生体影響評価に関する研究

研究代表者 局 博一

東京大学大学院農学生命科学研究科附属食の安全研究センター特任教授

研究要旨

1. カビ毒の食品汚染実態調査と生態調査、曝露量評価

1) 食品汚染カビ毒の実態調査

2010年～2013年の調査に引き続いて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)を対象に市販食品における実態調査を行った。本年度は14品目298検体について分析を行った。ゼアラレノンは、主に大麦、ゴマ、小豆及び雑穀米で、T-2 トキシンとHT-2 トキシンはライ麦粉、ハト麦加工品、ビール及び小豆から検出された。汚染濃度については、ハト麦粉と小豆ではゼアラレノンの下限平均濃度が15 µg/kg を超えていた。T-2 トキシンについては、下限平均濃度が1 µg/kg を超えた食品はなく、HT-2 トキシンについては、ライ麦粉、ハト麦加工品及び小豆において下限平均濃度が1 µg/kg を超えており、小豆における平均濃度が最も高く、7.1 µg/kg であった。カビ毒の汚染には年次変化があることを踏まえ、汚染が認められる試料を重点的に調査していく必要性が示唆された。

2) 国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況

国内で流通している国産小豆および対照として国産大豆・外国産小豆の計20検体について *Fusarium* 属菌の分布状況を調べた。その結果、*Fusarium* 属菌の陽性検体数は、国産小豆では8検体(88.9%)、国産大豆では4検体(57.1%)、外国産小豆では0検体(0.0%)であった。国産小豆の陽性検体率は、国産大豆および外国産小豆と比較して有意に高かった。*Fusarium* 属菌種には産地によって偏りがみられた。また、検出菌種にはトリコテセン系マイコトキシン等の産生菌が含まれた。今後、供試検体のマイコトキシン汚染状況および分離株のマイコトキシン産生性について解析を進めるとともに、産地数と1産地あたりの検体数を増やして調査を継続する必要があると考えられた。

3) カビ毒産生菌の生態学的研究

上記の2)の調査により分離された *Fusarium* 属菌の代謝産物を分析する方法の検討を行った。4種のカビ毒(T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ネオソラニオールおよびジアセトキシシルペノール)が良好に分析できるLC-TOF/MSの分析条件を用いて、11種の

カビについて代謝産物を調べた。その結果、11種合計で580の代謝産物が検出され、また、標準品とした4種のカビ毒の生産性については、T-2トキシン生産菌が1株、ジアセトキシシルペノール生産株が4株であった。本分析法は、次年度以降で行う多くの菌株についての代謝産物の分析に有効であると考えられた。

#### 4) 我が国におけるデオキシニバレノール (DON) の年齢別暴露評価

DONの汚染が報告されている国内流通の食品につき、日本人への曝露量を統計学的に評価した。汚染量調査の対象となった食品のうち、そもそも汚染量がきわめて少ないもの及び、摂取者の割合が少ないものを除き、小麦、大麦、ビール、小豆についての曝露量を年齢層ごとに求め、それを合算した総量によって、日本人のDONの曝露評価を年齢層ごとに行った。GEMS-FOODの最新の勧告に基づき、lower boundとupper boundの二つの場合のそれぞれについてシミュレーションを行った。結果として99.8%タイルで1~6才、7~14才、15~19才、20才以上のどの年齢層でも暫定一日耐容摂取量(1.0 µg/体重kg/日)を上回らなかった。99.9%タイルでの結果とも合わせて考察すると、日本人のDON摂取による健康被害は極めて小さいものと推定された。

## 2. 毒性評価

### 1) かび毒の発達神経毒性評価

妊娠ICRマウスを用いてT-2トキシン(0、1、3、9 ppm)の発達期暴露試験(各群12匹)を行った。妊娠6日目から離乳時(生後21日目)まで母動物に対して混餌投与することにより、経胎盤・経乳的に児動物に暴露し、暴露終了時と生後77日目にそれぞれ解剖を行った。母動物は9 ppmで分娩後に体重の低値、前胃粘膜の過形成、肝臓重量の高値が認められた。また、1 ppmから胸腺重量の低値が認められた。児動物では、9 ppmで投与期間を通じて体重低値を示し、離乳後も出生後77日まで体重低値が継続した。また、離乳時脳絶対重量の低値が3 ppmから認められ、9 ppmでの体重や諸臓器の重量低値と併せてT-2トキシンによる発達障害が示唆された。出生後77日の児動物では雌9 ppmで肝臓及び胸腺重量の低値がみられたが、出生時に比較して変化の程度は小さく、回復性のある変化であると考えられた。離乳時の雄児動物における脳海馬歯状回の免疫組織学的検査の結果、顆粒細胞層下帯でのTbr2陽性細胞が3 ppmから減少し、T-2トキシンによるtype 2前駆細胞を標的としたニューロン新生障害が起きているものと考えられた。歯状回門部ではreelin陽性細胞の増加が9 ppmで認められ、前駆細胞の移動異常を反映して介在ニューロンからの産生が増加した可能性が考えられた。

### 2) T-2トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響

T-2トキシンの経口摂取による全身機能(循環機能、体温および活動量)に及ぼす影響を自由行動下のラットのテレメトリー観察によって行った。実験群は3群(0 ppm、6 ppm、12 ppm;各群6匹)とした。その結果、12 ppm-T2トキシン摂取群および6 ppm-T2トキシン摂取群で、摂取期間中(5日間)に心拍数、活動量および体温のレベルおよび日周リズムへの影響が摂取開始の翌日から認められ、その影響は12 ppm-T2トキシン摂取群は6 ppm-T2トキシン摂取群に比べて大きい傾向がみられた。心拍数、活動量、体温周期性の変化はT-2トキシンの摂取を中止すると摂取前の状態近くまで回復した。摂食量および体重(実験終了日)は12 ppm-T2トキシン摂取群、6 ppm-T2トキシン摂取群、0 ppm-Tトキシン群の順に低値を示した。これらの試験結果から、6 ppm~12 ppmのT-2トキシンの短期間経口摂取によって全身性指標である循環機能などに可逆性の機能的影

響が生じることが明らかになった。

上述のとおり、国内流通食品におけるフザリウム毒素およびフザリウム菌の汚染実態と T-2 トキシンの毒性影響の一端が明らかになった。これらの研究は食品衛生上重要な知見を含むことから引き続き詳細な研究を行う必要性が考えられた。

#### A.研究目的

諸外国から輸入される様々な食品および国内産食品の安全性を確保するため、国際標準に準じた我が国の成分規格策定やリスク評価を行っていく必要がある。そのため我が国におけるカビ毒の実態調査・暴露評価および毒性評価に関して継続的に調査研究を行う必要がある。また、予防的措置として、欧米等で注目される新規カビ毒、あるいはまだ毒性評価されていないカビ毒複合体を対象に情報収集を行うとともに、輸入食品を汚染するカビ毒産生菌の実態およびその毒素産生能を検討し、モニタリング対象カビ毒の選定を検討する必要性もある。

本研究グループでは平成 22 年～24 年度までに 15 食品目、約 800 検体のカビ毒汚染調査（カビ毒陽性検出率、汚染濃度）を実施し、とくに T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ゼアラレノンの汚染状況を明らかにしてきた。実態調査の結果、比較的高頻度に汚染が検出されている現状を重要視し、平成 25 年度からは一部新たな食品目を加えさらに 3 年間の実態調査を行う方針で進めている。本年度では食品汚染カビ毒（フザリウム毒素）を対象に、汚染実態調査、暴露量評価、食品中のフザリウム属菌の生態調査ならびに毒性評価を行った。

#### B.研究方法

##### 1.カビ毒の食品汚染実態調査と生態調査、曝露量評価

###### 1) 食品汚染カビ毒の実態調査

調査対象品目：農林水産省から提供された国産小麦（試料数：40）及び国産大麦（試料数：10）のほか、ランダムに購入した市販の食品目（13 種類）

の合計 298 試料を検査対象とした。T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの分析は、試料（25 g）からメタノール溶媒で抽出、イムノアフィニティーカラムで精製後、LC-MS/MS を用いて測定した。

###### 2)国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況

国内に流通する小豆を中心とした食品について、産地別に *Fusarium* 属菌の分布状況を検討した。国産小豆および対照として国産大豆・外国産小豆の計 20 検体を供試した。小豆および大豆の全粒を寒天平板培地上で培養後、*Fusarium* 属菌の特徴を示すコロニーの発育がみられた粒数を計測した。発育したコロニーを単離し、形態観察および分子生物学的指標によって菌種を同定した。

###### 3)カビ毒産生菌の生態学的研究

上記の 2) の調査により分離された *Fusarium* 属菌の代謝産物を分析する方法の検討を行った。4 種のカビ毒（T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ネオソラニオールおよびジアセトキシシルペノール）が良好に分析できる LC-TOF/MS の分析条件を用いて、11 種のカビについて代謝産物を調べた。

###### 4)我が国におけるデオキシニバレノール（DON）の年齢別暴露評価

DON の汚染が報告されている国内流通の食品につき、日本人への曝露量を統計学的に評価した。汚染量調査の対象となった食品のうち、汚染量がきわめて少ない食品や摂取者の割合が少ない食品を除き、小麦、大麦、ビール、

小豆についての曝露量を年齢層ごとに求め、それを合算した総量によって、日本人の DON の曝露評価を年齢層ごとに行った。GEMS-FOOD の最新の勧告に基づき、lower bound と upper bound の二つの場合のそれぞれについてシミュレーションを行った。

## 2. 毒性評価

### 1) かび毒の発達神経毒性評価

妊娠 ICR マウスを計 4 群 (12 匹 / 群) に分け、T-2 トキシンを 0、1、3、9 ppm の用量で妊娠 6 日から分娩後 21 日まで混餌投与した。出生後 4 日目以降は各母動物に雄 8 匹、雌 2 匹を確保するよう児動物数を調整した。検査項目としては、着床数、産仔数、臓器 (脳、肝臓、胸腺、脾臓) の重量および病理学的、免疫組織学的変化を観察した。

離乳時の雄児動物において、新生ニューロンの分化指標である Sox2、Tbr2 及び doublecortin 陽性細胞数を海馬歯状回の顆粒細胞層下帯において検索した。一方、GABA 性介在ニューロンの指標である reelin 及び parvalbumin、成熟ニューロンの指標である NeuN については、海馬歯状回門における陽性細胞数の検索を行った。

### 2) T-2 トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響

T-2 トキシンの経口摂取による全身機能 (循環機能、体温および活動量) に及ぼす影響を自由行動下のラットのテレメトリー観察によって行った。実験群は 3 群 (0 ppm、6 ppm、12 ppm ; 各群 6 匹) とした。Wistar 系ラット (雄、8 週齢) の背部皮下にテレメトリー送信機を埋入後、7 日間の術後回復期を経て 3 日間の対照期間、5 日間の試験餌 (T-2 トキシン混餌) 摂取期間および 5 日間の試験餌終了期間における心電図、活動量、皮下体温を同時に連続記録した。試験結果は心拍数、活動量、体温のレベル変化および日周リズムの

変化を中心に分析した。

## C. 研究結果

### 1. カビ毒の食品汚染実態調査と生態調査、曝露量評価

#### 1) 食品汚染カビ毒の実態調査

##### ゼアラレノン

【検出率 (%)】国産大麦 (100)、雑穀米 (95)、小豆 (90)、ゴマ (90)、ソバ (75)、ハト麦加工品 (70)、国産小麦 (60) で高かった。

【下限平均濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】小豆 (33.4)、ハト麦加工品 (15.3)、雑穀米 (6.2)、国産大麦 (1.2)、ライ麦粉 (1.0)、国産小麦 (0.8) などであった。

【最大濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】ハト麦加工品 (170)、小豆 (103)、雑穀米 (59.5)、国産小麦 (22)、ゴマ (11.8)、ライ麦粉 (10.3) などであった。

##### T-2 トキシン

【検出率 (%)】ビール (95)、小豆 (75)、グラノーラ (40)、ハト麦加工品 (40)、雑穀米 (35)、コーングリッツ (25) などであった。

【下限平均濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】ハト麦加工品 (1.0)、小豆 (0.8)、雑穀米 (0.5) などであった。

【最大濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】ハト麦加工品 (9.5)、雑穀米 (4.4)、小豆 (4.2)、ライ麦粉 (1.7) などであった。

##### HT-2 トキシン

【検出率 (%)】ビール (85.0)、小豆 (85.0)、ライ麦粉 (60.0)、ライ麦加工品 (50.0)

【下限平均濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】小豆 (7.1)、ライ麦粉 (1.7)、ハト麦加工品 (1.4)、グラノーラ (1.0) などであった。

【最大濃度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )】小豆 (103)、ハト麦加工品 (10.3)、ライ麦粉 (8.4)、ソバ (8.3)、国産大麦 (7.9)、国産小麦 (6.4) などであった。

##### T-2 トキシン + HT-2 トキシン

【下限平均濃度(  $\mu\text{g}/\text{kg}$  )】小豆( 7.9 )、ハト麦加工品( 2.3 )、ライ麦粉( 1.9 )、グラノーラ( 1.3 )などであった。

【最大濃度(  $\mu\text{g}/\text{kg}$  )】小豆( 104 )、ハト麦加工品( 19.9 )、ライ麦粉( 10.1 )、ソバ( 9.5 )、国産大麦( 9.3 )、国産小麦( 7.1 )などであった。

( 2001 年に行われた JECFA における毒性評価は、T-2 トキシン及び HT-2 トキシンの合計として一日耐容摂取量を規定している。そのため、本実態調査においても同様に合計汚染量を計算した。その結果、最も下限平均濃度が高かったのは小豆の 7.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であり、その次がハト麦加工品の 2.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であった。最大値は小豆の 104  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であった。)

## 2) 国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況

*Fusarium* 属菌の陽性検体数は、国産小豆では 8 検体(88.9%)、国産大豆では 4 検体(57.1%)、外国産小豆では 0 検体(0.0%)となり、外国産小豆からは *Fusarium* 属菌の検出は無く、国産小豆の陽性検体率は、国産大豆および外国産小豆と比較して有意に高かった( $p < 0.05$ )。小豆・大豆 100 粒あたりの *Fusarium* 属菌の陽性粒率が最も高かった検体は、国産小豆では北海道産で 9.0%であった。各地域の大豆・小豆から検出された *Fusarium* 属菌種には、産地によって偏りがみられ、*Fusarium* 属菌の地理的分布が異なる可能性が示唆された。また、検出菌種にはトリコセセン系マイコトキシン等の産生菌が含まれた。

## 3) カビ毒産生菌の生態学的研究

今回採用した分析法が既知のカビ毒を検出できるかどうかを調べるために、4 種のカビ毒標準品を測定し問題がないことを確認した上で、上記 2) の調査により分離された *Fusarium* 属菌の代謝産物を分析する方法の検討を行っ

た。カビ無添加の培地と 11 種のカビの培養液の酢酸エチル抽出物 LC-TOF/MS で分析した。イオンカウントが 10000 以上のものを選択し、カビ無添加の培地で検出された化合物を除いた結果、580 種の化合物が検出された。標準品と保持時間が一致することからリスト中の推定分子量  $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_9$  の化合物は T-2 トキシン、 $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{NO}_7$  の化合物は DAS と考えられた。T-2 トキシン生産菌が 1 株、ジアセトキシスシルペノール生産株が 4 株見出された。

## 4) 我が国におけるデオキシニバレノール (DON) の年齢別暴露評価

小麦、大麦、ビール、小豆についての曝露量を年齢層ごとに求め、それを合算した総量によって、日本人の DON の曝露評価を年齢層ごとに行った。その際、汚染量の LOD 以上 LOQ 未満の検出値の取り扱いに関する GEMS-FOOD の最新の勧告に基づき、lower bound と upper bound の二つの場合それぞれについてシミュレーションを行った。結果として 99.8%タイルでは 1~6 歳、7~14 歳、15~19 歳、20 歳以上のどの年齢層でも暫定一日耐容摂取量を上回ったものはなかった。すなわち、99.9%タイルにおいては 1~6 歳では lower bound も upper bound も約 112 ng/体重 Kg/日で、7~14 歳では lower bound で約 105 ng/体重 Kg/日であるほか、7~14 歳の upper bound および 20 歳以上はいずれも約 103 ng/体重 Kg/日、また 15~19 歳はいずれも約 70 ng/体重 Kg/日となっており、日本人の DON 摂取による健康被害は極めて小さいものと推定された。

## 2. 毒性評価

### 1) かび毒の発達神経毒性評価

母動物は 9 ppm で分娩後 7~14 日にかけて体重低値を示し、分娩後 21 日目までの間に摂餌量、摂水量の低値を認められた。また、9 ppm で前胃粘膜の過形

成を示唆する肥厚性変化が認められた。更に、1 ppm から胸腺重量の低値がみられ、9 ppm では肝臓重量の高値がみられた。母動物では、一般毒性的変化は9 ppm に集中的に見られたものの、免疫系への影響は最も鋭敏であった。児動物では、9 ppm で投与期間を通じて体重低値を示し、離乳後も出生後77日まで体重低値が継続した。また、離乳時脳絶対重量の低値が3 ppm から認められ、9 ppm での体重や諸臓器の重量低値と併せてT-2 トキシンによる発達障害が示唆された。出生後77日の児動物では雌9 ppm で肝臓及び胸腺重量の低値がみられたが、出生時に比較して変化の程度は小さく、回復性のある変化であると考えられた。離乳時の雄児動物を対象とした脳海馬歯状回における免疫染色の結果、顆粒細胞層下帯でのTbr2陽性細胞が3 ppm から減少し、T-2 トキシンによるtype 2前駆細胞を標的としたニューロン新生障害が起きているものと考えられた。歯状回門部ではreelin陽性細胞の増加が9 ppm で認められ、前駆細胞の移動異常を反映して介在ニューロンからの産生が増加した可能性が考えられた。

## 2) T-2 トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響

12 ppm-T2 トキシン摂取群および6 ppm-T2 トキシン摂取群で、摂取期間中に心拍数、活動量および体温のレベルおよび日周リズムへの影響が摂取開始の翌日から認められ、その影響は12 ppm-T2 トキシン摂取群が6 ppm-T2 トキシン摂取群に比べて大きい傾向がみられた。これらの変化はT-2 トキシンの摂取を中止すると摂取前の状態近くまで回復した。心拍数を例にとると、T-2 トキシン混餌の摂取期間中は多くの個体で自己相関係数の低下と周期性の変化が観察された。自己相関係数の明瞭なピークが認められず本来の規則的な周期性が消失した個体も出現した。

その個体数は12 ppm-T2 トキシン群では6匹中2匹、6 ppm-T2 トキシン群では6匹中1匹であった。自己相関係数(コレログラム)の分析では、12 ppm-T2 トキシン群ではT-2 トキシンの摂取前、摂取中、摂取後の期間で有意差(一元配置分散分析、 $P < 0.01$ )が認められ、T-2 トキシン摂取中の自己相関係数は摂取前および摂取後に比較して有意に低かった( $P < 0.01$ )。また6 ppm-T2 トキシン群では、T-2 トキシンの摂取期間中に有意差ではないものの自己相関係数の低下傾向がみられた(一元配置分散分析、 $P = 0.08$ )。

これらの試験結果から、少なくとも6 ppm~12 ppmのT-2 トキシンの短期間経口摂取によって全身性指標である循環機能などに可逆性の機能的影響が生じることが明らかになった。

## D. 考察

### 1. カビ毒の食品汚染実態調査と生態調査、曝露量評価

#### 1) 食品汚染カビ毒の実態調査

本年度の実態調査において、ゼアラレノンについてはハト麦加工品、小豆及び雑穀米における汚染が他の試料よりも高かった。T-2 トキシンについてはゼアラレノンと同様にハト麦加工品、小豆及び雑穀米で他の試料よりも汚染が高かった。しかし2012年度にはハト麦加工品で平均3.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  /kg、小豆で平均15.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  /kgの汚染が認められており、今年度の汚染レベルは低下していた。HT-2 トキシンについては、小豆における汚染が他の試料よりも高かった。

T-2 とHT-2の合算値については、小豆が最も高く、平均7.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  /kg、次いでハト麦加工品の平均2.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  /kg、ライ麦粉の平均1.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  /kgであった。小豆とハト麦加工品について年次変化はあるものの、他の試料よりもT-2、HT-2汚染レベルが高いことがこれまでの実態調査結果からもわかっており、

今後も調査を続ける必要がある。

小麦粉については国産品を原料としたものと輸入品を原料としたものを区別して調査を行った。両者とも合計値の下限平均濃度は0.5 µg/kg/kg以下と低く、また最大値についても大きな差は認められなかった。

今年度初めて調査を行ったソバについては、合計値の平均が1.0 µg/kg/kg、最大値が9.5 µg/kg/kgであり、国産の小麦や大麦の値を上回っていた。今年度は12検体のみの調査であったが、来年度以降は調査数を増やす必要がある。

## 2)国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況

我が国ではこれまで、*Fusarium* 属菌の地理的分布について、網羅的な地域および菌種を対象とした検討が行われておらず、全体像が明らかになっていなかった。そこで北海道、東北、関東、九州と地理的に異なる地域産の小豆および大豆を対象に *Fusarium* 属菌の汚染状況の調査を行った。

*Fusarium* 属菌の陽性検体率および検出菌種について、国産大豆、国産小豆および外国産大豆の間で比較検討を行ったところ、国産小豆では88.9%の検体から *Fusarium* 属菌が検出されており、国産大豆よりも有意に高い結果となった。近年の食品のフザリウムトキシン汚染実態調査において、国産小豆では最大でゼアラレノンが125.0 ppb、T-2 トキシンが48.4 ppb、HT-2 トキシンが45.7 ppb 検出されており、一方で国産大豆では最大でゼアラレノンが0.0 ppb、T-2 トキシンが4.3 ppb、HT-2 トキシンが3.1 ppbと低く、国産小豆での高い汚染傾向が示されており、本研究において得られた国産小豆における高い *Fusarium* 属菌汚染状況は国産小豆の高濃度・高頻度なフザリウムトキシン汚染状況と一致した傾向を示した。

各地域の小豆および大豆から検出された *Fusarium* 属菌の割合について、北海道産および熊本県産から検出された *Fusarium* 属菌種の傾向の違いが示され、

国内において *Fusarium* 属菌の地理的分布が異なる可能性が示唆された。しかし、外国産小豆同様に今回の検討で用いた供試検体数および産地数には限りがあり、今後1産地あたりの供試検体数を増やすとともに、様々な地域の検体について調査を継続する必要がある。

## 3) カビ毒産生菌の生態学的研究

多くの *Fusarium* 属菌それぞれの株が生産する代謝産物を特徴付けるためには、サンプルの調製が簡便であることと、1回の分析で多数の化合物の存在を推定できることが重要となる。今年度検討したLC-TOF/MSによる分析は、少量の培養液の酢酸エチル抽出物を用いて行うためサンプル調製に手間がかからず、また、数百の代謝産物を区別して分析することが可能である。従って、今回は4種の標準品についての生産性が示されたが、他の標準品やTICにおいて特徴的な化合物について今後調べて行くことにより、それぞれの菌株のマイコトキシン生産性についての情報を得ることが可能になったと考えられる。

## 4)我が国におけるデオキシニバレノール (DON) の年齢別暴露評価

WHO GEMS FOODの新しい勧告によれば、LOD以上LOQ未満の取り扱いについて、最初のステップとして、lower boundでLOQ未満は「0」として、upper boundはLOQ未満を「LOQの値」として、両者の差が少なく、かつ規制値よりも低い値であれば、upper boundを使うことが推奨されている。本研究の場合はこの最初の条件に合うので、各年齢層の暴露量推計はupper boundを使うこととした。

食品摂取によるDON曝露の健康被害リスク評価を行った。平成23年度報告による30%の推定誤差を用いても、暫定一日耐容摂取量を超えるのは、99.8%の1才から6才および、99.9%タイルの全年齢層だけである。99.75%タ

イルまではどの年齢層においても、30%増しにしても暫定一日耐容摂取量を超えなかった。

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と思われる。しかしながら、このような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ことなどから、DONの曝露による日本人の健康被害リスクは極めて小さいものと思われる。

## 2. 毒性評価

### 1) かび毒の発達神経毒性評価

妊娠ICRマウスにT-2トキシンを9ppmを最高用量として妊娠6日から分娩後21日まで混餌投与することで、児動物に経胎盤、経乳的に暴露させ、暴露終了時ならびに出生後77日における影響について解析した。その結果、母動物は9ppmで分娩後7~14日にかけて体重低値を示し、主に9ppmで分娩後21日目までの間に摂餌量、摂水量の低値を認めた。また、9ppmで前胃粘膜の過形成を示唆する肥厚性変化が認められ、摂餌量ならびに摂水量の低下に影響した可能性が考えられた。一方、1ppmから胸腺重量の低値がみられ、9ppmでは肝臓重量の高値がみられた。このことから母動物では、一般毒性的変化は9ppmに集中的に見られたものの、免疫系への影響は最も鋭敏に認められた。児動物では、9ppmで投与期間を通じて体重低値を示し、離乳後も出生後77日まで体重低値が継続した。一方、離乳時の児動物では脳絶対重量の低値が3ppmから認められ、9ppmでの体重

や諸臓器の重量低値と併せてT-2トキシンによる発達障害が示唆された。出生後77日の児動物では雌9ppmで臓器重量低値がみられたが、出生時と比較して変化の程度は小さく、雄では出生時の変化が消失していることから、回復性のある変化であると考えられた。

離乳時の雄児動物を対象とした脳海馬歯状回における免疫染色の結果、Tbr2 (Type2前駆細胞に発現)陽性細胞が3ppmから減少し、T-2トキシンによるニューロン新生障害が起きているものと考えられた。9ppmでみられたreelin陽性細胞の増加は前駆細胞の移動異常を反映して介在ニューロンからの産生が増加した可能性が考えられた。

### 2) T-2トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響に関する研究

平成22~24年度にかけての研究で、成熟ラットへのT-2トキシン(0.1mg~1.0mg/kg)の皮下投与によって投与直後の一過性の心拍数増加に続き循環機能異常(房室伝導障害、心室期外収縮、洞性徐脈、上室性頻拍など)が3日間にわたって生じやすくなること、また投与直後には自律神経機能バランスの明瞭な変化が生じることが明らかになっている(Ngampongsa, S. 2012ら)。また、ラット心筋細胞へのT-2トキシンの直接作用によってミトコンドリア電子伝達系機能の抑制が生じることがわかっている(Ngampongsa, S. 2013ら)。しかしながら、これらの変化は直接投与による変化であるため、実際の摂食を介した影響がどの程度現れるかについては不明である。今回、このような観点からラットにT-2トキシンを含む餌を自由経口摂取した際の全身影響を心電図、活動量、体温を指標として調べた。その結果、T-2トキシン摂取群では摂取期間中に心拍数の変化とともに心拍リズム、活動量リズムおよび体温リズムに変化が認められた。その変

化は 12 ppm 摂取群は 6 ppm 摂取群にくらべて大きかった。また T-2 トキシンの摂取を中止すると、上記の日周リズムが回復する傾向がみられた。そのため、これらの変化は明らかに T-2 トキシンの生体影響としてとらえることができる。T-2 トキシンの摂取期間中の最初の 2 日間の明期における心拍数は対照群や T-2 トキシンの摂取前に比較して増加する傾向が示された。このような初期変化は T-2 トキシンの皮下投与実験で得られた結果に類似していた。

T-2 トキシンの摂取終了後の心拍数は 12 ppm、6 ppm、0 ppm (対照) の順に減少度が大きかった。正常ラットでは心拍数は加齢に伴って減少することが通常の現象であるが、T-2 トキシンの摂取群では対照群に比べて減少度が大きい傾向がみられたが、その再現性や原因をさらに詳しく調べる必要がある。T-2 トキシンの摂取期間中の心拍数の変化の一部は活動量の変化に起因する可能性があるが、活動量の増減と心拍数変化とが一致していない個体も観察されたことから、心拍数の変化は必ずしも活動量の変化による二次的な要因によるとは限らず、T-2 トキシンの自律神経系あるいは心臓への直接作用が影響している可能性も否定できない。一方、6 ppm および 12 ppm のいずれも対照群に比べて摂食量と体重の低値が示されたことから、これらの変化も T-2 トキシンの全身影響とみなされる。このような変化をもたらす要因として T-2 トキシンの混餌に対するラットの忌避行動や消化器障害などの生体内部の変化が考えられる。

## E. 結論

### 1. カビ毒の食品汚染実態調査と生態調査、曝露量評価

#### 1) 食品汚染カビ毒の実態調査

今年度は、6 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 4 年目となる。

毒性の高い T-2 トキシン及び HT-2 トキシンの今年度も小麦、大麦、麦類加工品で検出された。その他、ソバ、小豆、雑穀米からも検出されたが、全体的に昨年度よりも汚染レベルが低い傾向にあった。カビ毒の汚染には年次変化があることを踏まえ、汚染が認められる試料を重点的に調査していく必要性が示唆された。

#### 2) 国内流通食品における *Fusarium* 属菌の分布状況

本研究の結果から、国産小豆はある程度の頻度および濃度で *Fusarium* 属菌に汚染されていることが明らかとなり、フザリウムトキシン汚染状況を裏付ける結果が得られた。今、今回供試した検体のマイコトキシン汚染状況および分離株のマイコトキシン産生性について解析を進め、さらに 1 産地あたりの検体数や産地のバリエーションを増やして調査を継続し、日本各地の小豆におけるマイコトキシン汚染とその原因、産地域域別のリスクについて明らかにする必要があると考えられた。

#### 3) カビ毒産生菌の生態学的研究

国産大豆、国産小豆等から分離された *Fusarium* 属菌の代謝産物を、簡便かつ多種に渡り分析する方法を確立した。

#### 4) 我が国におけるデオキシニバレノール (DON) の年齢別曝露評価

小麦のみならず、その他の汚染事例が報告された食品を加えた総合的な曝露評価を行ったが、日本人の食品摂取による DON 曝露の健康被害リスクは極めて小さいものと思われる。

### 2. 毒性評価

#### 1) カビ毒の発達神経毒性評価

T-2 トキシンの発達期曝露により、母動

物と児動物への影響は主に9 ppmで認められたが、母動物では1 ppmより胸腺重量の低下がみられ、児動物では3 ppmより脳の絶対重量の低値と海馬歯状回におけるtype2 前駆細胞を標的とするニューロン新生障害を示唆する変化が認められた。

## 2) T-2 トキシンの経口摂取による心拍・体温・活動量への影響

12 ppm および6 ppm の T-2 トキシンを含む粉餌を自由経口摂取したラットにおいて、摂取期間中に心拍数、活動量および体温（最低体温）レベルの変化、心拍数や活動量の日周リズムの変化が生じることが明らかになった。また、12 ppm は6 ppm に比べて影響の度合いが大きかった。心拍数や活動量の日周リズムは餌を T-2 トキシンを含まない通常の餌に戻すことによって回復する傾向が示された。これらの結果から少なくとも6 ppm 以上の T-2 トキシンの短期間経口摂取によって自由行動下のラットにおいて循環系を始めとする全身機能におそらくは可逆性の影響が生じることが明らかになった。

## F. 研究業績

### [学会発表]

- 1) 吉成知也：日本の市販品におけるデオキシニバレノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの汚染実態。日本マイコトキシン学会、第73回学術講演会（2013.9）
- 2) 竹内浩、吉成知也、青山幸二、中島正博、谷口賢、橋口成喜、甲斐茂美、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を対象とした3年間サーベイランス。第106回日本食品衛生学会学術講演会(2013.11)

- 3) 渡辺麻衣子、後藤慶一、小西良子、鎌田洋一、工藤由起子。マイクロプレートを用いた DNA-DNA ハブリダイゼーションによる *Fusarium* 属菌近縁種間における全ゲノム塩基配列比較手法の検討。第34回日本食品微生物学会学術総会，東京，2013.10.
- 4) Maiko Watanabe. Utility of the Phylotoxigenic Relationships among Trichothecene-Producing *Fusarium* species for Predicting Their Mycotoxin Producing Potential. 48th Session of the Joint UJNR Panel on Toxic Microorganisms (2014.1) (Tokyo)
- 5) 局 博一、スチトラ・ガンボンサ：T-2 トキシンおよびデオキシニバレノールの心筋細胞ミトコンドリア機能に及ぼす影響。日本マイコトキシン学会第73回学術講演会（2013年9月13日、於大阪府立大学）

### [論文発表]

- 1) Maiko Watanabe, Takahiro Yonezawa, Yoshiko Sugita-Konishi, Yoichi Kamata. Application of phylotoxigenic relationships among trichothecene-producing *Fusarium* species to the prediction about the potential mycotoxin-productivity. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 30:1370-1381. 2013.
- 2) Ngampongsa S, Hanafusa M, Ando K, Ito K, Kuwahara M, Yamamoto Y, Yamashita M, Tsuru Y, Tsubone H.: Toxic effects of T-2 toxin and deoxynivalenol on the mitochondrial electron transport system of cardiomyocytes in rats. J Toxicol Sci. 38(3): 495-502. 2013.