

小麦を含む食品を摂取する量が大きくなる傾向にある。

汚染量の高さと摂取量の多さの二つの条件を合わせるにより、低年齢層の曝露量、とりわけ HT-2 の曝露量が大きくなっている。

3) 今後の課題

T-2 トキシシンと HT-2 トキシシンの合算値で、PMTDI を測定するという方法を取る場合、この両者には強い相関が認められるが、シミュレーションにおいてもこの二つのカビ毒の発生を、互いに強い相関で行うようなシミュレーションが必要であると思われるので、今後の研究ではこの点を反映するアルゴリズムを作成してシミュレーションを行いたい。

また、小麦の汚染量を推定するにあたり、各国の輸入割合を考慮することで、曝露量の推定を精緻化した。こうした考え方を敷衍して、各国の輸入割合が変化した場合に、どの程度全体の曝露量に影響が及ぶのかを試行してみたい。

E. 結論

95%タイルでは今のところ推計曝露量は PMTDI よりも低い水準にある。

しかし低年齢層の曝露水準は大人に比べるとかなり高いことから、今後とも、食品汚染レベルの変化に注意すべきであると思われる。

また、99.5%を超えると同年度行ったように、輸入国別に麦類の汚染量を推定した場合、99.5%タイルを超えると分布の右になるほど（パーセンタイルが大きくなるほど）、従来の推定方法よりも曝露量が大きくなることから、少数であるが、曝露量が大きく健康被害のリスクの大きい層が存在することには留意しておく必要がある。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 我が国のフザリウム属カビ毒に対する暴露評価（2014年）

							ng/体重Kg/日
1～6才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル
T-2(2014)	4.36	7.54	14.45	28.79	43.70	70.33	96.83
HT-2(2014)	18.54	33.57	51.79	78.60	101.38	135.61	165.42
ZEN(2014)	6.50	18.47	62.04	144.32	244.78	442.85	616.43
T2+HT2(2014)	25.16	41.93	61.92	92.26	118.67	159.80	196.45
7～14才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル
T-2(2014)	3.00	5.13	9.58	19.02	29.06	47.62	66.62
HT-2(2014)	12.36	22.49	34.87	52.84	67.85	90.22	109.87
ZEN(2014)	4.80	15.04	40.67	97.76	170.19	308.46	426.06
T2+HT2(2014)	16.80	28.01	41.51	61.89	79.49	107.24	132.72
15～19才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル
T-2(2014)	2.10	3.71	6.89	12.91	18.95	29.32	39.40
HT-2(2014)	8.50	15.53	24.01	36.00	45.84	60.14	72.37
ZEN(2014)	3.27	11.96	28.70	60.43	102.52	195.50	278.22
T2+HT2(2014)	11.73	19.38	28.40	41.46	52.42	68.78	82.78
20才以上	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル
T-2(2014)	2.55	5.64	10.08	18.12	26.26	40.34	54.06
HT-2(2014)	8.41	14.85	22.40	33.30	42.48	56.18	68.53
ZEN(2014)	8.89	25.26	44.76	81.27	121.81	197.92	265.21
T2+HT2(2014)	12.37	20.09	28.86	42.04	53.59	71.93	88.86

表2		我が国のフザリウム属カビ毒に対する暴露評価 (2015年)						ng/体重Kg/日
1～6才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル	
T-2(2015)	3.93	6.93	13.20	26.91	41.66	68.25	95.02	
HT-2(2015)	16.51	26.29	41.03	69.72	99.81	153.97	209.02	
ZEN(2015)	7.72	23.15	64.49	140.59	217.22	338.50	441.91	
T2+HT2(2015)	22.00	34.65	52.73	86.03	119.63	178.07	235.69	
7～14才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル	
T-2(2015)	2.71	4.74	8.77	17.68	27.65	46.29	65.39	
HT-2(2015)	11.06	17.54	27.38	46.71	67.16	103.58	140.66	
ZEN(2015)	5.83	17.13	42.28	94.84	149.83	236.94	309.93	
T2+HT2(2015)	14.75	23.05	35.01	57.53	80.71	120.90	161.38	
15～19才	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル	
T-2(2015)	1.90	3.44	6.35	12.06	17.97	28.28	38.45	
HT-2(2015)	7.65	12.06	18.66	31.47	45.08	69.22	93.12	
ZEN(2015)	3.98	13.18	29.63	59.76	91.69	146.16	191.41	
T2+HT2(2015)	10.30	15.97	23.84	38.06	52.50	77.22	101.45	
20才以上	90%タイル	95%タイル	97.5%タイル	99%タイル	99.5%タイル	99.8%タイル	99.9%タイル	
T-2(2015)	2.40	5.35	9.70	17.70	25.84	40.02	53.80	
HT-2(2015)	7.49	12.02	18.48	30.58	43.08	64.82	86.10	
ZEN(2015)	9.67	25.72	44.98	77.98	109.92	160.34	203.54	
T2+HT2(2015)	10.91	17.43	26.03	41.06	55.67	80.25	104.18	

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

麦類の輸入割合を変更した場合の効果について

分担研究者 小西良子 麻布大学

研究要旨

食物経由の毒物の曝露については、主食として食べられることの多い、摂取量の多い食品の汚染量が、曝露量に大きく寄与することが知られている。カビ毒についてはとりわけ小麦の寄与が高いという知見が得られている。(平成25年度報告)

他方で、日本国内で消費される小麦の多くは輸入によっており、日本人の曝露量を推定するためには、外国産の小麦の汚染の度合いについての情報が不可欠である。現在、汚染量の調査では輸入元がどの国であったのかが明らかになっているサンプルを利用しており、その結果も輸入元の情報とともに公開されている。

こうしたデータを利用して各国ごとの輸入割合に応じた汚染量の推定を行えば、現状の曝露量の推定をより精緻にすることが可能である。そこで、現状の輸入割合に応じた汚染量および曝露量の推定を行った(本報告書内で報告)。そこで、この報告では各国別の輸入割合を調整した場合に、曝露量がどの程度変化するかをシミュレーションし、輸入割合を調整しない場合との比較を行った。

輸入小麦および輸入大麦における T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ゼアラレノンの3種のカビ毒の汚染量データは、平成22年度、24年度、26年度の実態調査結果を元にした。小麦の輸入元の国別の割合はアメリカが約58.31%、カナダが約23.2%、オーストラリアが18.39%、その他が約0.01%となっている。大麦はオーストラリアが約75.56%、カナダが約22.22%、その他が0.22%となっている。現状の曝露量評価は、それぞれの輸入国別に小麦および大麦の T-2、HT-2、ゼアラレノンの汚染量を推定し、上記の輸入割合で案分して輸入小麦および輸入大麦の汚染量を推定したものをもとにして計算している。

これに対して、輸入割合を変更した場合として2つのシナリオを想定した。一つは汚染量の少ない国からの輸入を増やすというもので、もう一つが汚染量の多い国からの輸入を増やすというものである。汚染量の少ない国からの輸入を増やす場合としては、汚染の度合いが一番少ない国からの輸入を50%として残りを現状の比率に合わせるように調整した。すなわち、小麦はアメリカ35%、カナダ15%、オーストラリア50%、その他が0%であり、大麦はオーストラリア37.5%、カナダ12.5%、アメリカ50%である。この比率を使って小麦と大麦の変更汚染量を推定した。一方、汚染量の多い国からの輸入量を増やす場合としては、小麦は汚染量大きいアメリカからの輸入を80%とし、カナダとオーストラリアからの輸入はそれぞれ10%ずつとして、その他からの輸入は0%とした。大麦は汚染量の多いカナダからの輸入を50%として、オーストラリアからの輸入を50%、その他からの輸入は0%とした。

国産小麦および国産大麦の汚染量について別途計算し、日本国内に流通する輸入ものと国産ものとの比率に基づいて国内流通している小麦と大麦の汚染量を推定した。摂取量については一昨年度、昨年度と計算した小麦と大麦の年齢層ごとの摂取量推定値を用いて、小麦と大麦の摂取による曝露量を推定した。推定した小麦と大麦の、T-2、HT-2、ゼアラレノンの曝露量に、昨年度推定した小豆、ビール、雑穀の曝露量推定値を加えて、日本人の各年齢層ごとに T-2、HT-2、ゼアラレノンの曝露量全体を現状の輸入比率のままのケースと、上記のように輸入比率を2種類に変更したケースの合計3通りで推定した。予想通り、どの年齢層におけるどのカビ毒についても、曝露量は汚染の多い国からの輸入を増やした場合が一番多く、現状がそれに続き、曝露量が一番少ないのは、汚染量の少ない国からの輸入を増やした場合であった。年齢層・カビ毒によっては、現状で PMTDI を超えているものが汚染量の少ない国からの輸入を増やすと PMTDI 未満となる場合(99%タイルで1歳~6歳の HT-2 トキシン曝露量)、現状では PMTDI 未満であるものが、汚染量の多い国からの輸入を増やすと PMTDI を超える場合(99%タイルで7歳~14歳の T-2 トキシンと HT-2 トキシンの合計曝露量)も見られた。

我が国における上記カビ毒の曝露による健康被害を推定するにあたって、T-2 トキシンと HT-2 トキシ

ンの合算値を考慮することは重要であると思われる。とくに%タイル分布の右端に近いグループでは少数ではあるものの曝露量が大きくなるのが危惧される。そのため、小麦や大麦の輸入元の割合を変更して、できるだけ汚染度合いの少ない国からの輸入を増やすということは、十分に意味のあることだと思われる。

研究協力者

斉藤 史朗 (東京大学)

A. 研究目的

主要な食品摂取を通じたゼアラレノン、T-2 トキシン、HT-2 トキシンの3種のカビ毒の健康被害リスクを評価するために、上記カビ毒への曝露量を、年齢層(1歳から6歳、7歳から14歳、15歳から19歳、20歳以上)ごとに計量化し、JECFAのPMTDIと比較した。

その際、摂取量の多い麦類(小麦・大麦)について輸入元の国別の汚染量推定を行い、かつ、現状の輸入割合を維持した場合と、汚染度の低い国からの輸入割合を多くするといった輸入割合の変更を行った場合とで全体の曝露量の変化を比較検討した。

B. 研究方法

1) 対象食品の選定

3種類のカビ毒の汚染調査対象食品は、グラノーラ、コーングリッツ、コーンフレーク、そば、はと麦、ビール、ライ麦粉、ゴマ、小麦、大麦、雑穀米、小豆、はと麦、大豆、米があった。これらの食品目のうち、ほとんど汚染が検出されなかった食品(大豆、米)および、摂取者の割合が1%を下回る食品(コーングリッツ、はと麦、ライ麦粉)、また摂取量が極めて少なく健康被害のリスクを考えにくい食品(ゴマ)、および汚染量データのサンプル数が十分に集まっていない食品(グラノーラ、そば、コーンフレーク)は今回のシミュレーションの対象からは除外した。結果として今回のシミュレーション対象となったのは、以下の5つの食品である。

- 小麦

- 大麦
- 小豆
- 雑穀米
- ビール

2) 汚染量シミュレーションの方法

T-2 トキシン、HT-2 トキシン、ゼアラレノン(ZEN)の汚染実態調査結果を以下の表に示す。表中の平均と標準偏差は、LOQ以上のサンプルの平均と標準偏差を示している。

それぞれの食品についてLOQ以上の割合については下記の平均値と標準偏差値を利用して対数正規分布を作成し、LOQ以上の割合を超えるものについては、LOQ値を取るよう計算を行った。

(1) 小麦

汚染レベルが輸入小麦と国産小麦で異なっているため、それぞれにつき汚染量をシミュレーションし、曝露量を計算する際に国内流通の割合で按分した。

今回使用したデータでは国産小麦については小麦粉の汚染量データを利用したので、減衰はないものとした。輸入小麦は玄麦であるので、減衰を50%と仮定した。

輸入小麦については、輸入元の各国別に汚染量を集計した。

■ 輸入小麦の汚染実態(単位 ng/g)

【アメリカ】

小麦(アメリカ)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	134	134	134
LOQ以上数	11	27	28
平均	2.45	11.1	3.07
標準偏差	2.4	17.5	2.4

【カナダ】

小麦(カナダ)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	68	68	68
LOQ以上数	6	14	2
平均	2.64	8.33	3.53
標準偏差	3.92	9.23	—

【オーストラリア】

小麦(オーストラリア)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	58	58	58
LOQ以上数	0	1	0
平均	—	2.3	—
標準偏差	—	—	—

【フランス】

小麦(フランス)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	6	6	6
LOQ以上数	0	0	3
平均	—	—	4.89
標準偏差	—	—	5.43

※データは平成22年度、24年度、26年度実態調査より
 ※断りのない限り、これらの平均と標準偏差を使って対数正規分布の値を発生させた。

※アメリカ産小麦の ZEN には一サンプルだけはずれ値(150.65)があったので、平均と標準偏差による分布とは別に、一定の割合(28分の1)ではずれ値を発生させた。

※なお、カナダの ZEN およびオーストラリアの HT-2 については分布を発生させずに、それぞれの出現確率(サンプル数で該当数を割った値)で、それぞれの計測値(カナダの ZEN は 1.08 と 5.98。オーストラリアの HT-2 は 2.3)を発生させた。

輸入元ごとに 10,000,000 件のシミュレーションデータを作成し、それを各国ごとの総輸入量に対する割合で按分して輸入小麦の汚染量を作成した。

【輸入小麦の国別構成比:現状】

輸入元	構成比
アメリカ	58.31%
カナダ	23.20%
オーストラリア	18.39%
その他	0.10%

※ 農林水産省「平成25年 麦の需給に関する見通し」より

※今回は、フランスの小麦の汚染状況を「その他」の汚染状況に代用した。

今回はこれを以下の構成比に変更してシミュレーションを行い、汚染度合いの低い国からの輸入を増やした場合のシナリオによって、曝露量を推定した。

【輸入小麦の国別構成比:汚染の少ない国を多くした場合】

輸入元	構成比
アメリカ	35.00%
カナダ	15.00%
オーストラリア	50.00%
その他	0.00%

【輸入小麦の国別構成比:汚染の多い国を多くした場合】

輸入元	構成比
アメリカ	80.00%
カナダ	10.00%
オーストラリア	10.00%
その他	0.00%

■ 国産小麦粉の汚染実態(単位 ng/g)

	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	26	26	26
LOQ以上数	4	16	4
平均	0.37	0.75	1.14
標準偏差	0.5	0.5	0.69

※データは平成26年度実態調査より

■ 国内流通している小麦の汚染量推定

上記輸入小麦の汚染量と国産小麦の汚染量を国内流通している小麦の総量に対する割合（国産が14%で輸入が86%）で按分して小麦の汚染量をシミュレーションした。

※国産と輸入の比率は農林水産省「平成25年麦の需給に関する見通し」によった。

(2)大麦

汚染レベルが輸入大麦と国産大麦で異なっているので、それぞれにつき汚染量をシミュレーションし、曝露量を計算する際に国内流通の割合で按分した。

国産大麦については、農林水産省の公表値に標準偏差の記載がなかったので、輸入大麦の平均と標準偏差にならって、国産小麦の標準偏差を仮定した。

輸入大麦も国産大麦も玄麦であるため減衰を50%と仮定した。

輸入大麦についても、輸入小麦と同じく、輸入元の国ごとに汚染量をシミュレーションした。

■ 輸入大麦の汚染実態 (単位 ng/g)

【オーストラリア】

大麦(オーストラリア)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	42	42	42
LOQ以上数	0	0	0
平均	—	—	—
標準偏差	—	—	—

【カナダ】

大麦(カナダ)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	15	15	15
LOQ以上数	7	14	8
平均	1.24	5.24	5.84
標準偏差	1.28	5.31	8.78

【アメリカ】

大麦(アメリカ)	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	18	18	18
LOQ以上数	0	0	0
平均	—	—	—
標準偏差	—	—	—

※データは平成22年度から24年度実態調査より

※断りのない限り、これらの平均と標準偏差を使って対数正規分布の値を発生させた。

※なお、オーストラリアのZENについては42分の2の確率でサンプルの計測値である2.7と5.3を発生させた。

輸入元ごとに10,000,000件のシミュレーションデータを作成し、それを各国ごとの総輸入量に対する割合で按分して輸入大麦の汚染量を作成した。

【輸入大麦の国別構成比：現状】

輸入元	構成比
オーストラリア	75.56%
カナダ	22.22%
その他	2.22%

※ 農林水産省「麦をめぐる事情について（大麦・はだか麦）」より

※ 今回はアメリカの小麦の汚染状況を「その他」の汚染状況に代用した。

今回はこれを以下の構成比に変更してシミュレーションを行い、汚染の度合いの低い国からの輸入を増やしたらどうなるのかというシナリオによって、曝露量を推定した。

【輸入大麦の国別構成比：汚染の少ない国を多くした場合】

輸入元	構成比
オーストラリア	37.50%
カナダ	12.50%
その他	50.00%

【輸入大麦の国別構成比：汚染の多い国を多くした場合】

輸入元	構成比
オーストラリア	50.00%
カナダ	50.00%
その他	0.00%

■平成 26 年 9 月国産大麦の汚染実態(単位 ng/g)

	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	30	30	300
LOQ以上数	8	5	185
平均	0.6	1.6	4.9
標準偏差	0.56	1.07	6.7

※データは農林水産省サイトの公開情報より

■国内流通している大麦の汚染量推定

上記輸入大麦の汚染量と国産大麦の汚染量を国内流通している大麦の総量にたいする割合(国産が31%で輸入が69%)で按分して大麦の汚染量をシミュレーションした。

※国産と輸入の割合については農林水産省「麦をめぐる事情について(大麦・はだか麦)」によった。

(3)小豆

■小豆の汚染実態

	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	40	40	40
LOQ以上数	28	28	29
平均	11.12	9.93	44.94
標準偏差	13.14	12.36	33.03

※データは平成 22 年度から 24 年度実態調査より

(4)雑穀米

■雑穀米の汚染実態

	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	80	80	80
LOQ以上数	16	18	67
平均	0.85	0.98	5.73
標準偏差	1.03	0.89	11.35

※データは平成 22 年度から 24 年度実態調査と平成 26 年度実態調査の結果を合わせて利用

(5)ビール

■ビールの汚染実態

	T-2	HT-2	ZEN
サンプル数	30	30	30
LOQ以上数	25	2	0
平均	0.05	0.575	—
標準偏差	0.03	—	—

※データは平成 22 年度から 24 年度実態調査より

※ HT-2 に関しては汚染サンプルが二つしかなかったの
で、LOQ 以上の割合である 0.067 の確率で全てを 0.575 とし、
それ以外を LOQ 値と同じ 0.4 としてシミュレーションした。
※ゼアラレノン検出サンプルがなかったためシミュレーション対象としなかった。

3) 食品摂取量シミュレーションのやり方

下記の食品につき、年齢層(1歳から6歳、7歳から14歳、15歳から19歳、20歳以上)にわけて摂取量をシミュレーションした。(試行回数10,000,000回)

(1)小麦含有食品

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、小麦を含んだ食品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。

小麦含有食品の摂取量は以下の食品群ごとに計算した。(詳細は平成 23 年度中間報告参照)

- ・ 少量摂取群
- ・ 含有率 30%群
- ・ 含有率 50%群

- ・含有率 100%群

(2)大麦含有食品

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、大麦を含んだ食品（「七分つき押し麦 (01005)」「押し麦(01006)」「米粒麦(01007)」（括弧内は食品番号)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。

(3)小豆含有食品

「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。

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。（詳細は平成 24 年度報告書参照）

- ・赤飯
- ・あんこ
- ・まんじゅう
- ・羊羹

(4)ビール

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、ビール類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。（第一種ビール）

(5)雑穀米

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」には「雑穀米」という項目での調査結果が存在しない。また、市販の「雑穀米」と称する商品は、それぞれにどのような穀物を含んでいるのか、種類や混合割合が異なっている。そこで、多くの商品に含まれていて、かつ、調査データが存在する「アマランサス」が、汚染量調査のサンプルに重量比でどれくらい含まれているのかを計測して、その割合をもとに、「雑穀米」としての摂取量を推定した。（詳細は平成 26 年度中間報告を参照）

4)曝露量の計算

年齢階層ごとに、汚染量 (ng/g) を摂取量 (七日の体重 1Kg あたり) とを掛け合わせて、1 日あたりに体重 1Kg に対する曝露量 (ng) を計算し、パーセントイルごとの曝露量を明らかにした。

C. 研究結果

1)輸入国の比率を変える効果

年齢層ごと・カビ毒ごとの曝露量は、現状と輸入

割合の変更の場合を比べてみると、全ての年齢層・カビ毒について汚染量の高い国からの輸入を増やした場合（「汚染大」）が曝露量が一番多く、現状（「現状」）がそれに次ぎ、汚染量の少ない国からの輸入を増やした場合（「汚染小」）が最も少なかった。（食品・カビ毒ごとの各年齢階層の曝露量の値は表 2 を参照）

懸念されていた低年齢層における HT-2 の曝露量であるが、1 歳から 6 歳の 99%タイルで現状で 69.72 (ng/体重 Kg/日) と PMTDI を超えているものが、汚染量が少ない国からの輸入を増やすと 51.05 (ng/体重 Kg/日) へ減少した。逆に汚染量の高い国からの輸入を増やすと、83.29 (ng/体重 Kg/日) へ増加している。T-2 と HT-2 の合計量を見てみると、7 歳から 14 歳の 99%タイルで現状は 57.53 (ng/体重 Kg/日) で、汚染量の少ない国からの輸入を増やした場合には 45.78 (ng/体重 Kg/日) になるものが、汚染量の多い国からの輸入を増やすと、66.29 (ng/体重 Kg/日) と PMTDI を超えた。

2) カビ毒・年齢層ごとの総合曝露量

(1)T-2 トキシン

1 歳から 6 歳で 99.8%点で初めて PMTDI を上回り、7 歳から 14 歳では 99.9%で PMTDI を上回る。15 歳以上では 99%でも PMTDI 未満である。

1 歳から 6 歳の 99.8%では、輸入国の割合によって少しずつ曝露量が変わるが、いずれも PMTDI を少しずつ上回っている。

特徴的なのは、どの年齢層でも 99.8%から 99.9%になることにより、曝露量がいずれの場合も急激に増えて、場合によっては 1.5 倍近くにもなっていることである。分布の右端になればなるほど曝露のリスクが飛躍的に高まるものと思われる。

(2)HT-2 トキシン

各年齢層とも輸入国別の割合を変えることが、曝露量に大きな変化をもたらしている。とりわけ、汚染量が少ない国からの輸入を増やした場合と現状とを比べると 1.5 倍近くの差が生じている。これに対して現状と汚染の多い国からの輸入を増やした場合の比較では、1.2 倍程度の違いにとどまっている。

また、%タイルが 99.9 のように大きい側（分布の右側）になると、曝露量が飛躍的に高まることは T-2 トキシンの場合と同様であった。1 歳から 6 歳では 99.5%タイルと 99.8%タイルとを比べると 1.5 倍以上

の差が生じている。

(3)ゼアラレノン

各年齢層とも輸入国別の割合を変えることによる曝露量の差は1.2倍程度であり、さほど大きいものではないが、分布の右側での曝露量の増大はT-2やHT-2と同じく、飛躍的である。ただし、1歳から6歳の汚染量の多い国からの輸入を増やした場合(548.24ng/体重Kg/日)以外は曝露量はPMTDI未満にとどまっている。

(4)T-2トキシンとHT-2トキシンの合算値

各年齢層とも輸入国割合を変えた場合の曝露量の違いは、T-2トキシン単体の場合よりは大きく、HT-2トキシン単体の場合よりは小さくなったが、例えば7歳から14歳の99%の場合には現状でPMTDI未満の57.53ng/体重Kg/日であるものが、汚染量の多い国からの輸入を増やした場合には66.29ng/体重Kg/日となってPMTDIを超える大きな変化となった。

また、分布の右側に行くと曝露量がかなり大きくなることについても、年齢層にかかわらず見られた。

D. 考察

T-2トキシン、HT-2トキシンおよびゼアラレノンの曝露による健康被害のリスクについては、平成26年度の報告にもあるように、95%タイルではリスクは小さいものの、カビ毒の種類や年齢層によっては分布が右に行くにつれ、注意すべきリスクレベルに達することが明らかになった。

HT-2トキシンの曝露量が多いこと、低年齢層での曝露量が多いこと、とりわけPMTDIの基準となっているT-2とHT-2の合計値については1歳から6歳の年齢層で曝露量が多いことに注意が喚起される。

今回、汚染度合いの低い国からの小麦・大麦の輸入割合を増やすことにより、全体として曝露量が減少すること、逆に汚染度合いの高い国からの小麦・大麦の輸入割合を増やすことにより、全体としての曝露量が増大することが明らかになったが、とりわけT-2とHT-2の合計曝露量が大きく変化したことは注目すべきである。

現在、T-2とHT-2による健康被害については、両者の合計量が問題とされることが多い。それゆえ、T-2トキシンやHT-2トキシンの単体ばかりでなく、

両トキシンの合計量のリスク評価の必要性が重要視される。すなわち、%タイルが大きくなるほど(分布が右に行くほど)曝露量が飛躍的に大きくなる傾向が明瞭になっており、少数ではあるが、注意すべき人達が存在することを示唆している。とりわけ低年齢層(1歳から6歳)においては、汚染量が多い国からの輸入を増やすと97.5%タイルにおいてもすでにPMTDIに近づく値(58.23ng/体重Kg/日)を示しているため、注意を払う必要があると思われる。

3) 今後の課題

T-2トキシンとHT-2トキシンの合算値で、PMTDIを測定するという方法を採用する場合、この両者には強い相関が認められるため、シミュレーションの実施においても両カビ毒の発生を、互いに強い相関で行うようなシミュレーションが必要であると思われる。今後の研究ではこの点を反映するアルゴリズムを作成してシミュレーションを行いたい。

E. 結論

汚染度合いの低い国からの麦類(小麦・大麦)の輸入割合を増やし、汚染度合いの高い国からの麦類の輸入割合を減らすことは、T-2トキシンとHT-2トキシン、ゼアラレノンの曝露による健康被害のリスクを低減させることに効果があると思われる。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表1 輸入国割合を変えた暴露量の比較							
カビ毒と年齢	ng/体重Kg/一日						
	90%点	95%点	97.5%点	99%点	99.5%点	99.8%点	99.9%点
T2:1才から6才:汚染少	2.70	5.12	11.20	25.17	40.14	67.08	93.79
T2:1才から6才:現状	3.93	6.93	13.20	26.91	41.66	68.25	95.02
T2:1才から6才:汚染大	4.18	7.31	13.85	27.82	42.64	69.32	95.79
T2:7才から14才:汚染少	1.89	3.60	7.48	16.48	26.59	45.50	64.55
T2:7才から14才:現状	2.71	4.74	8.77	17.68	27.65	46.29	65.39
T2:7才から14才:汚染大	2.88	4.98	9.21	18.32	28.29	46.87	65.97
T2:15才から19才:汚染少	1.32	2.66	5.53	11.29	17.27	27.69	37.82
T2:15才から19才:現状	1.90	3.44	6.35	12.06	17.97	28.28	38.45
T2:15才から19才:汚染大	2.02	3.61	6.64	12.48	18.43	28.75	38.91
T2:20才以上:汚染少	1.88	4.88	9.27	17.35	25.50	39.69	53.54
T2:20才以上:現状	2.40	5.35	9.70	17.70	25.84	40.02	53.80
T2:20才以上:汚染大	2.50	5.51	9.88	17.91	26.03	40.19	53.94
HT2:1才から6才:汚染少	14.61	21.71	32.03	51.95	72.76	110.06	146.65
HT2:1才から6才:現状	16.51	26.29	41.03	69.72	99.81	153.97	209.02
HT2:1才から6才:汚染大	16.44	27.58	45.99	83.29	122.78	194.70	268.67
HT2:7才から14才:汚染少	9.82	14.47	21.28	34.62	48.79	74.20	99.72
HT2:7才から14才:現状	11.06	17.54	27.38	46.71	67.16	103.58	140.66
HT2:7才から14才:汚染大	11.00	18.38	30.74	55.86	82.68	130.78	179.72
HT2:15才から19才:汚染少	6.81	9.99	14.55	23.30	32.44	48.25	63.60
HT2:15才から19才:現状	7.65	12.06	18.66	31.47	45.08	69.22	93.12
HT2:15才から19才:汚染大	7.59	12.59	20.90	37.70	55.75	88.52	121.02
HT2:20才以上:汚染少	6.69	10.18	15.12	24.39	33.78	50.18	66.01
HT2:20才以上:現状	7.49	12.02	18.48	30.58	43.08	64.82	86.10
HT2:20才以上:汚染大	7.49	12.60	20.40	35.48	51.36	79.19	107.39
ZEN:1才から6才:汚染少	5.47	19.35	60.94	125.78	183.70	270.83	349.44
ZEN:1才から6才:現状	7.72	23.15	64.49	140.59	217.22	338.50	441.91
ZEN:1才から6才:汚染大	8.96	25.89	66.38	150.43	246.19	411.04	548.25
ZEN:7才から14才:汚染少	4.19	15.33	40.04	84.40	125.97	190.31	247.76
ZEN:7才から14才:現状	5.83	17.13	42.28	94.84	149.83	236.94	309.93
ZEN:7才から14才:汚染大	6.78	18.58	43.53	101.92	170.32	286.06	380.45
ZEN:15才から19才:汚染少	2.82	12.10	28.35	54.04	77.55	113.13	143.01
ZEN:15才から19才:現状	3.98	13.18	29.63	59.76	91.69	146.16	191.41
ZEN:15才から19才:汚染大	4.67	14.10	30.33	63.39	104.21	181.55	246.36
ZEN:20才以上:汚染少	8.91	25.05	43.06	72.11	98.09	138.77	175.43
ZEN:20才以上:現状	9.67	25.72	44.98	77.98	109.92	160.34	203.54
ZEN:20才以上:汚染大	10.28	26.06	45.94	82.30	120.49	185.70	240.13
T2+HT2:1才から6才:汚染少	18.58	28.38	42.56	68.84	95.26	140.37	183.69
T2+HT2:1才から6才:現状	22.00	34.65	52.73	86.03	119.63	178.07	235.69
T2+HT2:1才から6才:汚染大	22.47	36.78	58.23	98.68	140.15	214.06	288.08
T2+HT2:7才から14才:汚染少	12.51	18.86	28.09	45.78	63.98	96.02	126.86
T2+HT2:7才から14才:現状	14.75	23.05	35.01	57.53	80.71	120.90	161.38
T2+HT2:7才から14才:汚染大	15.05	24.45	38.73	66.29	94.93	145.24	196.22
T2+HT2:15才から19才:汚染少	8.76	13.16	19.30	30.33	41.08	59.03	76.47
T2+HT2:15才から19才:現状	10.30	15.97	23.84	38.06	52.50	77.22	101.45
T2+HT2:15才から19才:汚染大	10.50	16.90	26.26	43.88	62.23	94.78	127.23
T2+HT2:20才以上:汚染少	9.47	15.09	22.58	35.62	48.17	68.92	88.84
T2+HT2:20才以上:現状	10.91	17.43	26.03	41.06	55.67	80.25	104.18
T2+HT2:20才以上:汚染大	11.19	18.39	28.11	45.40	62.59	92.18	121.09

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

コーデックス規格基準を基にした DON の曝露再評価

分担研究者 小西良子 麻布大学

研究要旨

平成 27 年のコーデックス委員会においてデオキシニバレノール (DON) の規格基準が設定された。現在我が国では、厚生労働研究事業 (平成 13 年) において、実態調査を行い、現在施行されている暫定基準 1.1mg/Kg を玄麦について定めている。食品安全委員会におけるリスク評価では 1 μ g/体重 Kg/日を一日耐容摂取量 (TDI) としている。

本研究の目的は、DON の汚染が報告されている国内流通している食品につき、近年の実態調査から総合的にその曝露量を再評価しようというものである。その際、小麦についての現行の規制値の妥当性の評価の参考にするために、規制なし、規制値 2ppm、規制値 1.1ppm(現行規制)の 3 種類のシナリオを実行した。

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いた、小麦、大麦、ビール、小豆、雑穀米についての曝露量を年齢層ごとにもとめ、それを合算した総量によって、日本人の DON の曝露量評価を年齢層ごとに行った。(小麦の規制値と年齢層の組み合わせによるシナリオとなる。) 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。

上記シミュレーションの結果、1 歳から 6 歳の曝露量は、各規制値条件、lower bound 条件、upper bound 条件のいずれにおいても、90%タイルのレベルで 1 日耐容摂取量のある 1 μ g/体重 Kg/日を超えた。また、7 歳から 14 歳においても 95%タイルで 1 μ g/体重 Kg/日を超えた。年齢が低い人々が摂取しやすい食品については、より厳しい規制を行う必要があるのではないかと思われる。

研究協力者

斉藤 史朗 (東京大学)

A. 研究目的

食品経路による日本人の DON の曝露評価

今回は最新の汚染量データを利用して、現状の曝露量を評価するとともに、規制値の妥当性の判断を行うためのシミュレーションを行うことを目的とする。

調査対象の商品は、小麦、大麦、はと麦、雑穀米、小豆、大豆、コーンスナック、コーングリッツ、ビール、ごまの 10 種類であった。

そのうち、まず最初に汚染量サンプルが極めて少ない大豆、ごま、コーンスナックを対象から除いた。次いで摂取者の割合が少ない食品である、はと麦、コーングリッツを除いた。結果として曝露評価の対象食品となったのは、小麦、大麦、ビール、小豆の、雑穀米の 5 食品であった。

この 5 食品の汚染量のデータと食品摂取のデータを用いて、1 歳から 6 歳、7 歳から 14 歳、15 歳から 19 歳、20 歳以上の各年齢層について、規制がない場合、規制値が 2ppm の場合、規制値が 1.1ppm の場合 (現行規制) の 3 つのシナリオに基づく曝露量のシミュレーションを行った。

B. 研究方法

1) 食品中の DON 含有量のサンプルデータの作成

(1)小麦含有食品におけるカビ毒含有量

国産小麦の汚染量データと輸入小麦の汚染量データを利用して、それぞれ別々に DON 含有量のサンプルを作成した。(曝露量を計算する際に、日本国内で消費されている国産小麦と輸入小麦の割

合に応じて、それぞれの含有量の値を利用した。)

輸入小麦については、平成 26 年度の輸入小麦の汚染量データを用いた。国産小麦については国産小麦を使った小麦粉についての平成 26 年度の汚染量データを用いた。(輸入小麦については玄麦であるので、汚染量計算においては減衰率を 50%として 0.5 をかけた)

小麦については 1.1mg/Kg の流通規制があるので、その妥当性を検討する材料として規制値なし、規制値 2ppm、規制値 1.1ppm の場合の 3 通りのシミュレーションを行った。

LOQ 未満の処理として、WHO GEMS FOOD の新たな勧告に従って upper bound(LOQ 未満については、LOQ の汚染があるものとする) と lower bound (LOQ 未満については、汚染を無しとする) の二つのシナリオを用意し、それぞれ 10,000,000 件のシミュレーション・データセットを作成した。

(2)大麦含有食品における DON 含有量

大麦については国産大麦の新しいデータが入手できなかったため、全て輸入大麦として計算した。輸入大麦については、平成 26 年度の輸入大麦の汚染量データを利用した。

LOQ 未満の処理として、WHO GEMS FOOD の勧告に従って upper bound と lower bound の二種類のシナリオを用意した。

(3)ビールにおける DON 含有量

最新の調査では、第 1 種のビールについての汚染量調査が行われていないので、古いデータであるが、平成 23 年度と平成 24 年度の調査データを利用して DON 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。LOQ 未満の処理として、WHO GEMS FOOD の勧告に従って upper bound と lower bound の二種類のシナリオを用意した。

(4)小豆含有食品における DON 含有量

小麦については平成 22 年度から平成 24 年度までの 3 ヶ年にわたって集められた小豆の汚染量データを利用してサンプルデータを作成した。

LOQ 未満の処理として、WHO GEMS FOOD の勧告に従って upper bound と lower bound の二種類のシナリオを用意した。

(5)雑穀米の DON 含有量

雑穀米については、平成 22 年度から平成 24 年度までの 3 年間分と平成 26 年度のデータを合わせて汚染量データとした。

2) 食品摂取量のサンプルデータ作成

摂取量推定にあたり、「1 歳から 6 歳」「7 歳か

ら 14 歳」「15 歳から 19 歳」「20 歳以上」の 4 つの階層に分けてシミュレーションを行った。

(1)小麦含有食品の摂取量

平成 17 年度から平成 19 年度にかけて行われた「食品摂取量・摂取頻度調査」の調査対象食品のうち小麦を含有する約 80 の食品を対象とする。最初に各年齢層ごとに摂取量の平均を取り、平均よりも摂取量の多かった「大量摂取群」とし、それ以外を「少量摂取群」とする。大量摂取群はさらに、小麦の含有割合により、含有率 100%、50%、30%の 3 つのグループにわけて、それぞれ分布を推定してシミュレーションを行った。

(2)大麦含有食品の摂取量

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、大麦を含んだ食品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。対象となった大麦含有食品は「七分つき押麦(01005)」「押麦(01006)」「米粒麦(01007)」「(括弧内は食品番号)の 3 種類の食品である。

(3)ビールの摂取量

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、大麦を含んだ食品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。対象となったのは、「ビール 淡色(16006)」「ビール 黒(16007)」「ビール スタウト(16008)」の 3 種類の食品である。

(4)小豆含有食品の摂取量

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」より、小豆を含んだ食品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。摂取量は小豆の含有量に応じて「赤飯(10%)」「あんこ(100%)」「まんじゅう(50%)」「ようかん(80%)」の 4 つの食品群ごとに計算した。

(5)雑穀米の摂取量

「平成 17 年度~19 年度食品摂取頻度・摂取量調査」には雑穀米についての調査はない(そもそも、「雑穀米」という食品ジャンルにどのような穀類がどれくらいの割合で含まれているのかは、決まっているわけではない)ので、流通している多くの雑穀米商品に含まれている「アマランサス」の含有量を調査して、雑穀米の摂取量を推定した。

3) 曝露量のシミュレーション

(1)小麦と大麦の曝露量計算

小麦と大麦の玄麦の DON 汚染(含有量)は、精麦により、着している DON が半分くらいの量になると報告されているので、曝露量計算の際に、摂取量(g/体重 Kg)に汚染量(ng/g)をかけて、

さらにそれに 0.5 をかけている。小麦粉についてはすでに精麦されているので、そのままの値を用いた。

また、前述のように、日本国内で消費されている小麦は国産のものと輸入のものが混ざっているため、小麦については国産比率を 14% として曝露量を計算した。大麦は前述のように、輸入の大麦が 100% であると仮定した。

・小麦：(輸入小麦汚染量×0.86+国産小麦汚染量×0.14) ×小麦摂取量×0.5

(2) その他の食品の曝露量計算

その他の対象食品(小豆とビール、雑穀米)については、単純に摂取量(g/体重Kg)に汚染量(ng/g)をかけている。

C. 研究結果

年齢層・小麦規制値ごとの結果が下記となる。

	90%	95%	97.5%	99%
1歳から6歳_現行規制_upper_bound	1.04	1.54	2.12	3.01
1歳から6歳_規制2ppm_upper_bound	1.05	1.57	2.19	3.18
1歳から6歳_規制なし_upper_bound	1.05	1.57	2.19	3.19
7歳から14歳_現行規制_upper_bound	0.70	1.03	1.41	2.01
7歳から14歳_規制2ppm_upper_bound	0.71	1.06	1.46	2.11
7歳から14歳_規制なし_upper_bound	0.71	1.06	1.47	2.13
15歳から19歳_現行規制_upper_bound	0.48	0.71	0.98	1.38
15歳から19歳_規制2ppm_upper_bound	0.49	0.73	1.01	1.45
15歳から19歳_規制なし_upper_bound	0.49	0.73	1.01	1.46
20歳以上_現行規制_upper_bound	0.43	0.67	0.97	1.54
20歳以上_規制2ppm_upper_bound	0.44	0.68	1.00	1.62
20歳以上_規制なし_upper_bound	0.44	0.68	1.00	1.63

(単位はμg/体重Kg/日)

D. 考察

(1) WHO GEMS FOOD の勧告

WHO GEMS FOOD の新しい勧告によれば、LOD 以上 LOQ 未満の取り扱いに関して、First Step として、lower bound として LOQ 未満は「0」とし

て、upper bound は LOQ 未満を「LOQ の値」として、両者の差が小さくかつ、規制値よりも低い値であれば、upper bound を使うようにとある。本研究の場合はこの First Step の条件に合うので、各年齢層の曝露量推計は upper bound を用いた。

(2) 食品摂取による DON 曝露の健康被害リスク

低年齢層における曝露量が PMTDI (1 μg/体重Kg/日) を超えており、低年齢層が良く食べるような食品については、現在の規制より厳しい別の規制を行うことも考える必要があると思われる。

(3) 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、こうした値は曝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、DON の曝露による日本人の健康被害リスクは極めて少ないものと思われる。

E. 結論

小麦に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うと、日本人の食品摂取による DON 曝露の健康被害リスクは低年齢層においては高くなっている。

F. 健康危害情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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)

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

分担研究報告書

かび毒の発達神経毒性評価

分担研究者 渋谷 淳

東京農工大学大学院 農学研究院 動物生命科学部門 教授

研究要旨 本研究は、発達神経毒性が懸念されているかび毒について、実験病理学的に発達神経毒性影響を検討する。平成 27 年度の評価対象として、穀物を含む幅広い食品から検出されているオクラトキシン A (OTA) を選択し、ラットを用いて発達期神経毒性影響を検討した。妊娠 SD ラットを用いて妊娠 6 日目から離乳時 (生後 21 日目) まで OTA を母動物に対して混餌投与 (0.12、0.6、3.0 ppm) することにより、経胎盤・経乳的に児動物に曝露し、離乳時と生後 77 日目における影響について解析した。雌雄児動物は離乳後一時的に 3.0 ppm で一時的な体重低値を示した。母動物の腎臓では 3.0 ppm で髄質外帯外層近位尿管における巨大核及び空胞変性がみられた。離乳時の児動物の腎臓では同様の変化が 0.6 ppm からみられ、巨大核については生後 77 日目でも認められた。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 (SGZ) では type-2a 及び type-2b 前駆細胞が 3.0 ppm で減少し、歯状回門部ではソマトスタチンあるいはアセチルコリン受容体 CHRN2 を発現する GABA 性介在ニューロンが減少した。これらの海馬における変化は出生後 77 日目に回復した。OTA の発達期曝露によって、SGZ における酸化ストレスの増加及び、歯状回門からのアセチルコリンによる入力減少によって、離乳時の児動物 SGZ におけるニューロン新生が障害されたものと考えられた。

A. 研究目的

近年、農作物へのかび毒等自然毒の汚染が国際的に深刻な問題となっており、かび毒の国際的成分規格を設定する動きが活発になっている。かび毒の健康被害を防ぐには、基準策定が最も効果的であり、それに向けた国際的取り組みがなされている。すでに近年、木の実を対象とした総アフラトキシン、穀物のオクラトキシン A (OTA) の新たな規格基準が設定され、更にはフモニシン、デオキシニバレノールの毒性再評価が行われている。今後さらに対象のかび毒が増えることが予想

される。このような状況にあつて、農産物の輸入大国の我が国としては、国際動向に準じた基準値策定は急務であることから、我が国の食品中のかび毒汚染実態および国民の曝露実態を正確に把握する必要がある。また、輸入食品を汚染するかび毒産生菌の種およびかび毒産生を考慮に入れた予防対策を構築する必要がある。

本研究は、神経毒性影響の懸念ないし報告のあるかび毒を対象として、高感受性集団である胎児・乳幼児を想定した神経発達に対するリスク評価を目的とする。我々は、記憶や学習の中核であ

り、生後もニューロンを産生し続ける海馬歯状回に着目し、顆粒細胞層下帯 (SGZ) における顆粒細胞系譜の各種分化指標と歯状回門に分布して顆粒細胞の分化や移動を制御する介在ニューロンの分布を検討することで、数々の神経毒性物質がニューロン新生を障害することを見出している。

本分担研究では、平成 25 年度は T-2 トキシシ、平成 26 年度はアフラトキシシ B₁ の発達期神経毒性影響を明らかにすることを目的として ICR マウスあるいは SD ラットを用いた発達期曝露実験を実施し、いずれのかび毒においても離乳時の児動物海馬歯状回におけるニューロン新生障害を見出した。平成 27 年度は穀物を含む幅広い食品汚染が検出されるオクラトキシシ A (OTA) について、ラットを用いて発達期神経毒性影響を検討した。母動物に OTA を混餌投与することにより、妊娠 6 日から出生後 21 日目 (離乳時) まで経胎盤及び経乳的に OTA を児動物に対して曝露し、曝露終了時ならびに出生後 77 日目にニューロン新生に対する影響を検討した。

B. 研究方法

妊娠 SD ラット (妊娠 1 日で入手、日本チャールズリバー) を、一群を 12 匹ずつとして計 4 群に分け、OTA を 0、0.12、0.6、3.0 ppm の用量で妊娠 6 日から分娩後 21 日目まで混餌投与した。最高用量は 0、1.0、3.0 ppm の濃度で母動物に対して混餌投与した予備実験において、3.0 ppm で離乳時の児動物に脳絶対重量の低値が認められたため、最高用量を 3.0 ppm に設定した。OTA の乳汁移行について、予備試験において、生後 14 日目に 3.0 ppm 投与群の児動物の胃から乳汁を採取し、OTA 濃度を HPLC 法により測定した (日本食品分析センター)。本実験では出生後 4 日目に間引きを行い、各母動物 (n=11) に雄 6 例、雌 2 例を確保するよう児動物数を調整した。投与期間中、一般状態は 1 日 1 回観察し、体重及び摂餌量を 2 回/週、摂水量を 1 回/週の頻度で測定し

た。混餌飼料の調製は 2 週間を超えない頻度で行った。出生後 21 日目に児動物の半数を解剖に供した。各群 10 例の雄児動物を CO₂/O₂ 麻酔下で 4%PFA/0.1M リン酸バッファーにより灌流固定を行った。各群雄 29 例、雌 12 例の児動物は CO₂/O₂ 麻酔下で放血し、脳、腎臓重量を測定後、脳はメタカーンもしくはブアン固定液、腎臓は 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。残り半数の児動物は出生後 77 日目まで OTA を含まない通常飼料により飼育し、一般状態を 1 日 1 回観察し、体重を週に 1 回の割合で測定した。出生後 77 日目に各群 10 例の雄児動物を離乳時と同様に 4%PFA による灌流固定に供した。各群雄 17 例、雌 10 例の児動物は CO₂/O₂ 麻酔下で放血し、脳、腎臓重量を測定後、脳はメタカーンもしくはブアン固定液、肝臓は 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。母動物は分娩後 22 日目に CO₂/O₂ 麻酔下で放血し、脳、腎臓重量を測定後、脳はブアン固定液、腎臓は 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。

母動物、出生後 21 日目及び 77 日目の児動物雌雄各 10 例の脳、腎臓は HE 染色標本作製し観察を行った。

PFA 灌流固定脳標本については大脳の Bregma の後方約-3.0 mm (出生後 21 日目) または約-3.5 mm (出生後 77 日目) の 1 カ所で冠状断面を作製して、その前後の対称面 (2 切面) が薄切面となるようにパラフィン包埋し、3 μm 厚の連続切片を作製した。切片は Table S1 に示した条件で以下の各分子の対する抗体を用いて免疫染色を行った。顆粒細胞層における新生ニューロンの分化指標である glial fibrillary acidic protein (GFAP)、paired box 6 (PAX6)、T box brain 2 (TBR2)、doublecortin (DCX)、tubulin, beta 3 class III (TUBB3)、介在ニューロンの指標である reelin (RELN)、parvalbumin (PVALB)、calbindin-D-28K (CALB1)、calbindin-D-29K (calretinin, CALB2) somatostatin (SST)、成熟ニューロンの指標である NeuN、細胞増殖活性の指標である proliferating

cell nuclear antigen (PCNA)、アセチルコリン作動性受容体である cholinergic receptor、nicotinic、beta 2 (CHRN2)、酸化ストレスの指標として過酸化脂質 malondialdehyde (MDA) 及び 4-hydroxynonenal (4-HNE) を DAB 発色にて ABC 法 (VECTASTAIN ABC Elite kit、Vector Laboratories) により染色した。アポトーシス活性の指標として TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色 (ApopTag[®] Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit、EMD Millipore, Inc.) を行った。MDA、4-HNE については出生後 21 日目についてのみ検討した。GFAP、PAX6、TBR2、DCX、TUBB3、PCNA、TUNEL、4-HNE、MDA 陽性細胞数について海馬歯状回 SGZ の単位長さ当りの陽性細胞数を算出した。RELN、PVALB、CALB1、CALB2、SST、NeuN 及び CHRN2 については、海馬歯状回門における単位面積当りの陽性細胞数の検索を行った。NeuN 陽性細胞に関しては顆粒細胞層 (GCL) における計数も行い、SGZ の単位長さ当りの陽性細胞数を算出した。

出生後 21 日目の 0 及び 3.0 ppm 群のメタカーン固定脳標本を用いて大脳の Bregma の後方約 -3.0 mm の 2 mm 厚切片より海馬部分を採取し、AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen) を用いて total RNA を抽出した。1 µg の total RNA から SuperScript[®] III Reverse Transcriptase (Life Technologies) を用いて cDNA を合成し、real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR、StepOnePlus Real-time PCR System、Life Technologies) により遺伝子発現解析を行った。

(統計学的解析)

母動物及び離乳後の児動物の体重ならびに臓器重量、摂餌量、摂水量、免疫組織化学染色、TUNEL 染色における陽性細胞のカウント数、遺伝子発現解析結果は群平均及び標準偏差を算出した。離乳までの児動物の体重及び臓器重量、免疫組織化学染色、TUNEL 染色における陽性細胞

のカウント数については母動物ごとに平均値を算出し、さらに群平均及び標準偏差を算出した。統計学的解析は、体重、摂餌量、摂水量、臓器重量、陽性細胞数、遺伝子発現解析結果について、各群の分散を Bartlett の方法で検定し、等分散の場合は Dunnett、不等分散の場合は Steel の方法により対照群と各投与群との検定を行った。2 群間の比較においては各群の分散を *F* 検定により比較し、等分散の場合は Student の *t* 検定、不等分散の場合は Aspin-Welch の *t* 検定により対照群と各投与群との検定を行った。病理組織学的所見 (カテゴリカルデータ) について、Mann-Whitney's *U*-test により対照群と各投与群で比較した。病理組織学的変化の発生頻度は Fisher の直接確率法により対照群と各投与群で比較した。

(倫理面への配慮)

投与実験はいずれも混餌投与が主体であり、動物の苦痛を最小限に留めた。また、動物は全て CO₂/O₂ 深麻酔下での灌流固定ならびに後大静脈からの放血により屠殺し、動物に与える苦痛は最小限に留めた。また、動物飼育、管理にあつては、国立大学法人 東京農工大学の実験取扱い倫理規定に従った。

C. 研究結果

胃内乳汁の OTA 濃度：

3.0 ppm 投与児動物の胃内乳汁における OTA 濃度は 1000 ppb であった。

体重、飲水量、摂餌量：

母動物では、体重、摂餌量、摂水量への影響は認められなかった (Figure 1)。児動物では 3.0 ppm で雄の出生後 28 及び 35 日目に、雌の出生後 28 日目に有意な体重低値がみられた (Table 1, 2)。

着床数、産仔数：

着床数、産仔数に OTA 曝露による影響は認められなかった (Table 3)。

臓器重量：

母動物の脳重量、腎臓重量に変化はみられなかった。(Table 3)。

児動物では離乳時に 3.0 ppm で雄の脳相対重量の高値、雌雄の腎臓相対重量及び腎臓絶対重量の低値がみられた (Table 4)。出生後 77 日目では脳及び腎臓重量に変化はみられなかった。

病理学的変化および免疫組織学的変化：

母動物の腎臓では統計学的有意ではないものの、髄質外帯外層 (outer stripe of the outer medulla; OSOM) 近位尿細管の巨大核、空胞変性の増加が 3.0 ppm で認められた (Table 5)。児動物の腎臓においては離乳時に、0.6 ppm から OSOM 近位尿細管の巨大核、3.0 ppm で OSOM 及び皮質近位尿細管におけるアポトーシスの有意な増加が雌雄でみられた (Table 6)。OSOM 近位尿細管の巨大核増加は出生後 77 日目でも認められた。(Table 7)。一方で、母動物、児動物ともに脳では所見はみられなかった。

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、SGZ において PAX6 陽性細胞 (type-1 幹細胞～type-2a 前駆細胞) 数及び TBR2 陽性細胞 (type-2b 前駆細胞) 数が 3.0 ppm で減少した (Figure 2)。GFAP 陽性細胞 (type-1 神経幹細胞) 数、DCX 陽性細胞 (type-2b 前駆細胞～未熟顆粒細胞) 数、TUBB3 陽性細胞 (未熟顆粒細胞) 数、NeuN 陽性細胞 (成熟顆粒細胞) 数に変動はみられなかった。歯状回門部では、reelin、PVALB、CALB1、CALB2 を発現するいずれの介在ニューロンや NeuN 陽性成熟ニューロン数にも変動を認めなかったが、SST を発現する GABA 性介在ニューロンの減少が 3.0 ppm でみられた (Figure 3)。SGZ におけるアポトーシス活性、細胞増殖活性には変化がみられなかった (Figure 4)。またアセチルコリン受容体の一つ

である CHRN2 陽性細胞数の減少が 3.0 ppm で認められた (Figure 5)。これらの変化はいずれも出生後 77 日目では消失した。また過酸化脂質である MDA 陽性細胞数が離乳時の児動物 SGZ において 3.0 ppm で増加した (Figure 6)。

遺伝子発現解析：

Type-2b 神経前駆細胞を中心に発現する転写因子 TBR2 をコードする *Eomes*、ソマトスタチンをコードする *Sst*、脳由来神経成長因子 BDNF をコードする *Bdnf* の発現量が 3.0 ppm で増加した。アセチルコリン受容体である CHRN2 をコードする *Chrn2* の発現が減少する一方で、グルタミン酸 AMPA 型受容体をコードする *Gria1*、*Gria2*、NMDA 型受容体をコードする *Grin2a*、セロトニン合成酵素をコードする *Tph2*、セロトニン受容体をコードする *Htr1a* 及び *Htr4* はいずれも発現量が増加した。また DNA 傷害修復に関連する遺伝子群では *Ogg1*、*Sirt1*、*Tp53* の発現量増加がみられた (Table 8)。

D. 考察

妊娠 SD ラットに OTA を 3.0 ppm を最高用量として妊娠 6 日から分娩後 21 日目まで混餌投与することで、児動物に経胎盤、経乳的に曝露させ、曝露終了時ならびに出生後 77 日目における影響について解析した。母動物の腎臓では OTA のげっ歯類への反復投与で報告されている¹⁾ OSOM 近位尿細管の巨大核、空胞変性の増加が 3.0 ppm で認められたが、離乳時の児動物では同様の所見が 0.6 ppm からみられ、OTA 発達期曝露による腎臓への影響は児動物でより感受性が高いと考えられた。OSOM 近位尿細管の巨大核は出生後 77 日目の児動物でも認められており、OTA 発達期曝露による児動物腎臓への影響は回復性に乏しいと考えられた。

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、PAX6 陽性細胞 (type-1 幹細胞～type-2a 前駆細胞) 数及び TBR2 陽性細胞

(type-2b 前駆細胞) 数の減少が離乳時に 3.0 ppm で認められ、GFAP 陽性細胞 (type-1 神経幹細胞) 数、DCX 陽性細胞 (type-2b 前駆細胞～未熟顆粒細胞) 数、beta III tubulin 陽性細胞 (未熟顆粒細胞) 数、NeuN 陽性細胞 (成熟顆粒細胞) 数に影響がみられなかったことから、OTA によるニューロン新生障害は type-2a 及び type-2b 前駆細胞を標的とすることが明らかとなった。同用量では歯状回門におけるソマトスタチンを発現する GABA 性介在ニューロンとアセチルコリン受容体 CHRN2 を発現する介在ニューロンの減少が認められた。遺伝子発現解析において *Chrn2* 遺伝子発現量が減少し、グルタミン酸受容体やセロトニン受容体をコードする遺伝子群の発現量が増加したことからアセチルコリンを介した神経伝達が減少し、代償性にグルタミン酸やセロトニンによる神経伝達が増加していると考えられた。ニューロン新生を亢進する脳由来神経栄養因子である BDNF をコードする *Bdnf* の mRNA 発現量が増加し、ソマトスタチンをコードする *Sst*、TBR2 をコードする *Eomes* の mRNA 発現量が増加したが、これらの遺伝子がコードするタンパクの発現は減少していた。このことから BDNF を含めて複数の機構が代償性にニューロン新生を亢進させているが、OTA で報告されている蛋白合成阻害作用により²⁾、これらの分子を発現する細胞数が減少したと考えられた。また、過酸化脂質の蓄積を示す MDA 陽性細胞数が 3.0 ppm で増加し、DNA 障害に対する修復系遺伝子が発現増加したことから、酸化ストレスによる DNA 障害によりニューロン新生が障害された可能性が考えられた。

E. 結論

OTA のラットにおける発達期曝露により、児動物の海馬歯状回ではアセチルコリン作動性入力の減少及び酸化ストレスの増加を伴う type-2a 及び type-2b 前駆細胞の減少が 3.0 ppm で認められた。児動物のニューロン新生障害における無毒

性量は 0.6 ppm と判断された。児動物の腎臓では皮質/髄質外帯尿管のアポトーシス、巨大核が 0.6 ppm から認められ、腎臓への影響における無毒性量は 0.12 ppm と判断された。

参考文献

- 1) Rached, E., Hard, G.C., Blumbach, K., Weber, K., Draheim, R., Lutz, W.K., Ozden, S., Steger, U., Dekant, W., Mally, A., 2007. Ochratoxin A: 13-week oral toxicity and cell proliferation in male F344/N rats. *Toxicol. Sci.* 97, 288–298.
- 2) Creppy, E.E., Chakor, K., Fisher, M.J., Dirheimer, G., 1990. The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and in vivo. *Arch. Toxicol.* 64, 279–284.

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
 - 1) 田中 猛、阿部 一、白木彩子、板橋 恵、木村 真之、水上さやか、渡邊洋祐、寒川祐見、吉田 敏則、渋谷 淳: オクラトキシン A の発達期曝露によるラット海馬歯状回における生後のニューロン新生に対する影響, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 神戸, 第 42 回日本毒性学会学術年会要旨集: O-21, p.S185, 6月29-7月1日, 2015.
 - 2) Takeshi Tanaka, Hajime Abe, Masayuki Kimura, Sayaka Mizukami, Ayako Shiraki, Yousuke watanabe, Yasuko Hasegawa-Baba, Toshinori Yoshida and Makoto Shibutani: Maternal Exposure Effect of Ochratoxin A on Hippocampal Neurogenesis in Rat Offspring, Surrey-United Kingdom 22-25 September 2015, 13th European Congress of Toxicologic Pathology.

H. 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