

I . 總括研究報告

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)
国際的に問題となる食品中のかび毒の安全性確保に関する研究

総括研究報告書
小西良子 (麻布大学 生命・環境科学部)

研究要旨

かび毒は、世界的に汚染が報告されておりヒトや動物に対して健康被害を引き起こすため、国際的に対応が急がれている食品の有害物質のひとつである。そのためかび毒の世界的汚染および規制値の動向の情報を集めるとともに我が国独自の調査研究を行い、今後の施策策定の根拠とすることは、食の安全性確保において不可欠な課題である。現在 JECFA においてステリグマトシスティン (STC) およびジアセトキシシルベノール (DAS) についてリスク評価が行われたところであり、我が国においてのリスク評価も必要となる可能性が高い。そこで、本研究事業においてこれらについての毒性評価、暴露評価および簡易分析法の基礎的研究を行うこととした。

毒性評価として DAS について、マウスを用いて発達期神経毒性影響を検討した。6.0 ppm を高用量として妊娠 ICR マウスを用いて発達期暴露試験 (各群 13 匹) を行った。母動物は 6.0 ppm で摂餌量の低値が認められ、剖検時には 6.0 ppm で胸腺重量の低値と肝臓および腎臓の高値を認めた。児動物では、6.0 ppm で雌雄ともに生後 4 日目から 77 日目までの間、断続的な体重の低値を認めた。雄児動物で暴露終了時に 2.0 および 6.0 ppm で顆粒細胞層下帯における type-1 神経幹細胞から type-3 神経前駆細胞までの減少を認めた。児動物の神経新生障害に基づいた無毒性量は 0.6 ppm (0.09-0.29 mg/kg 体重/日) と判断された。

暴露評価は、STC 及び 4,15-DAS を対象に日本に流通する食品における汚染実態を調査し、日本人の健康に対するそれらカビ毒の影響を評価することとした。本年度は、市販流通食品を対象とした汚染実態調査を行った。STC については、9 食品目計 182 検体の調査を行った。その結果、小麦粉、ハト麦、ソルガム、米、ライ麦、大麦及びインスタントコーヒーにおいて STC 陽性検体が認められた。陽性率が最も高かったのは国産小麦粉の 90%、次いでハト麦の 42%であった。最高濃度はハト麦における 4 µg/kg であった。4,15-DAS については、8 食品目 165 検体の調査を行った。ハト麦、ソルガム、小豆及びコーングリッツの 4 食品目において検出された。ハト麦で陽性率 67%、平均値が 9 µg/kg と汚染レベルが最も高かった。

簡易分析法の基礎的研究では、培養を行わずにかび毒産生菌を効率よく検出する方法の開発を行った。STC 産生菌種を多く含む *Aspergillus section Versicolores* を対象に、STC 産生菌種のみを検出する方法の開発および STC 産生非菌種を検出しない方法を試みた。*Aspergillus section Versicolores* に属する菌株の中で国内で最も高率に検出される、*A. creber* を対象にして当該菌種のみを検出することに改変型 DNA 合成酵素を用いる系で成功した。STC 非産生菌種 *A. sydowii* を除いた *Aspergillus section Versicolores* に属する菌種をまとめて検出する系の開発に成功した。次に玄米において、本方法の有効性を検討した。その結果、STC 汚染が確認された玄米では、全てにおいて STC 産生菌種が検出された。また、STC 未検出の玄米においても STC 産生菌種の存在が確認され、STC 産生菌の増殖前のリスクを検出することができた。

A. 研究目的

かび毒は、世界的に汚染が報告されておりヒトや動物に対して健康被害を引き起こすため、国際的に対応が急がれている食品の有害物質である。そのためかび毒の世界的汚染および規制値の動向の情報を集めるとともに我が国独自の調査研究を行い、今後の施策策定の根拠とすることは、食の安全性確保において不可欠な課題である。厚労科研補助金による主要な食品汚染かび毒を対象とした調査研究は平成 13 年から行われており、今までの成果として CODEX 規格が策定されている総アフラトキシン、アフラトキシン M1、デオキシニバレノール、オクラトキシン A、フモニシン(平成 16-22 年)および、JECFA で国際的リスク評価が行われた T-2 及び HT-2 トキシン、ゼアラレノン(平成 23-27 年)のリスク評価に必要なデータを得ている。

本研究課題では上記の研究事業で構築した研究組織および手法を用いて、JECFA でのリスク評価が終わり CODEX 委員会で討論されているステリグマトシスティン(STC)と、JECFA で T-2 トキシンと同等の毒性があるとされたジアセトキシスシルペノール(DAS)を対象に調査研究を行った。

B. 研究方法

1. 毒性評価

妊娠 ICR マウス(妊娠 1 日で入手、日本エスエルシー)を、一群あたり 13 匹ずつとして計 4 群に分け、DAS を 0、0.6、2.0、6.0 ppm の用量で妊娠 6 日目から分娩後 21 日目まで混餌投与した。DAS の乳汁移行に関して、生後 14 日目に予備試験の 8 ppm 投与群の児動物の胃から乳汁を採取し、DAS の濃度を LC-MS/MS 法により測定した(日本食品分析センター)。出生後 21 日目(離乳時)に児動物の半数を解剖に供した。各群 10~13 例の雄児動物を CO₂/O₂ 麻酔下で 4% paraformaldehyde (PFA) / 0.1M リン酸バッファ

ーにより灌流固定を行った。新生ニューロンの分化段階指標である glial fibrillary acidic protein (GFAP)、sex determining region Y (SRY)-box 2 (SOX2)、T-box brain 2 (TBR2)、doublecortin (DCX)、介在ニューロンの指標である reelin (RELN)、parvalbumin (PVALB)、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)、アポトーシス活性の指標である TUNEL、シナプス可塑性の指標として

activity-regulated cytoskeleton-associated protein (ARC) および cyclooxygenase 2 (COX2) の各免疫染色を行った。母動物は分娩後 22 日に CO₂/O₂ 麻酔下で放血し、脳、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺重量を測定後、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 日まで DAS 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 日に各群 10~13 例の雄児動物を灌流固定を行った。各群雌雄各 10~13 例の児動物は脳、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺重量を測定後、脳はメタカーンもしくは 10%中性緩衝ホルマリン液、その他の臓器は 10%中性緩衝ホルマリン液にて固定した。

2. 実態調査

(1) STC の汚染実態調査

抽出は、試料 25 g に抽出溶媒アセトニトリル:水(85:15) 100 mL を加え、30 分間振盪することで行った。精製はイムノアフィニティーカラム(IAC、堀場製作所社製 AFLAKING STC)を用いた。希釈液 20 mL(ビールのみ 5 mL)を IAC に添加し、PBS 10 mL と蒸留水 10 mL で洗浄後、アセトニトリル 3 mL で溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル 0.5 mL で溶解後、さらに蒸留水 0.5 mL を加えてから混合したものを試験溶液とした。インスタントコー

ヒ-については、残渣をアセトニトリル 0.5 mL で溶解後、さらに蒸留水 0.5 mL を加えてから混合したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム : InertSustain C18
2.1 × 150 mm, 3 μm

カラム温度 : 40

移動相 : A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B メタノール

分離条件 : 0分 A : B = 60 : 40

13分 A : B = 10 : 90

流速 : 0.2 mL/分

注入量 : 10 μL

MS

イオン化 : ESI positive

モニタリングイオン : 325[M+H]⁺>281

回収率はそれぞれの食品の中で汚染がないものを選び、0.5 μg/kg 及び 5 μg/kg となるよう STC を添加し、抽出、定量を行って算出した。

(2) 4,15-DAS の汚染実態調査

抽出は、試料 25 g に抽出溶媒アセトニトリル : 水 (85 : 15) 100 mL を加え、30 分間振盪することで行った。精製は多機能カラム (昭和電工社製 Autoprep MF-T 1500) を用いた。ピールについては、試料 10.0 g をピペッターで 50 mL のメスフラスコにとり、蒸留水で 50 mL にメスアップした。Monospin C18 (GL サイエンス社製) に希釈液 0.5 mL を負荷した。蒸留水 0.3 mL で洗浄後、アセトニトリル 0.3 mL で溶出した。溶出液を窒素気流により乾固後、残渣をアセトニトリル : 水 (1 : 9) 0.5 mL で溶解したものを試験溶液とした。

<LC-MS/MS の測定条件>

HPLC

カラム : InertSustain C18
2.1 × 150 mm, 3 μm

カラム温度 : 40

移動相 : A 2 mmol/L 酢酸アンモニウム

B メタノール

分離条件 : 0分 A : B = 80 : 20

8分 A : B = 10 : 90

12分まで保持

流速 : 0.2 mL/分

注入量 : 10 μL

MS

イオン化 : ESI positive

モニタリングイオン : 384[M+H]⁺>307

回収率はそれぞれの食品の中で汚染がないものを選び、5 μg/kg 及び 50 μg/kg となるよう STC を添加し、抽出、定量を行って算出した。

2. 毒性評価

3. 簡易分析法の基礎的研究

(1) 供試菌株および米検体

食品および環境から分離した *Aspergillus section Versicolorese* 株を供試した米は平成 27 年度産の国産玄米 9 検体および平成 25 年度産国産玄米 4 検体を用いた。

(2) 培養真菌からのゲノム DNA 抽出

胞子をポテトデキストロース液体培地 (PDB) に接種して 25 °C で 2 日間培養し、ゲノム DNA の抽出は SDS 法¹⁾または DNeasy plant mini kit (QIAGEN) を用いて添付のプロトコルに従って行った。

(3) 分子生物学的手法による菌種同定と STC 産生能の測定

-tubulin 遺伝子部分配列 (377 bp) を PCR により増幅した。その後、PCR 産物をエタノール沈殿により精製し、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いてシーケンス反応を行った。シーケンシングは ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems 社) を用いて行い、塩基配列を決定した。登録配列は *Aspergillus section Versicolores* に含まれる 14 種³⁾および外群 2 種 39 株の登録配列を NCBI のデータベースからダウンロードして使用した。このアライメン

トを基に MEGA6.0⁴⁾を用い、近隣結合法により系統樹を作成し、菌種の同定を行った。

STC 産生能は、得られた孢子をポテトデキストロース寒天培地 (PDA) に接種し、25℃ で 2 週間培養したのち、コルクボークで 1 cm² にくりぬき、メタノール：クロロホルム (1:2) を 1 mL 加えて振盪した。得られた素抽出物を、Silica gel 60 薄層版 (Merck 社) にスポットした。メタノール：クロロホルム (2:98) を用いて展開し、366 nm の光の下でシグナルを確認した。STC 標準品 (Major Chemicals) と同じ時間に現れるスポットを STC のシグナルと判断した。RNA polymerase 2 遺伝子部分配列の比較は、*Aspergillus section Versicolores* に含まれる種の登録配列を NCBI のデータベースからダウンロードして使用し、MEGA6.0⁴⁾ を用い、ClustelW によりアライメントを行った。

(4) 米付着カビ孢子からの直接 DNA 抽出

玄米 500 mg (20 粒程度) から、市販抽出キット (NucleoSpin Soil: TaKaRa) を用い、添付のプロトコルに従い、DNA を抽出した。菌種特異的検出 PCR は、5℃ で作成したアライメントを基に、標的菌種の塩基配列がその他の菌種と異なる部分にプライマーを設計し、PCR を行った。

C. 研究結果

1. 毒性評価

母動物は、摂餌量の低値が 6.0 ppm 群で分娩後 18 日および 21 日目に認められた。摂水量の高値は 0.6 ppm 群と 2.0 ppm 群で分娩後 1 日および 15 日目に認められた。

児動物は、6.0 ppm 群の雌雄児動物において、18 日目から 77 日目までは連続して体重の低値が認められた。母動物は、6.0 ppm で胸腺重量の低値と肝臓および腎臓の高値を示した。児動物は、暴露終了時雄児動物において脳絶対重量および肝臓、脾臓、腎臓の重量が低値を示し、雌児動物では脳絶対重量および肝臓重量が低値を示した。

また、成熟時には雌雄ともに脳絶対重量の低値および雄では腎臓の低値を認めた。脳重量の低値は出生後 77 日目にも持続して認められた。

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、SGZ において GFAP (type-1 神経幹細胞)、SOX2 (type-1 神経幹細胞 ~ type-2b 神経前駆細胞)、TBR2 (type-2b ~ type-3 神経前駆細胞)、DCX (type-3 神経前駆細胞 ~ 未熟顆粒細胞) の陽性細胞数が 2.0 および 6.0 ppm 群で有意に減少し、TUNEL (アポトーシス) の陽性細胞が 6.0 ppm 群で有意に増加した。また、歯状回門では、GABA 性介在ニューロンである PVALB 陽性細胞が 6.0 ppm 群で有意に減少した (Fig. 4)。一方、成熟時の雄児動物では、離乳時の顆粒細胞系譜の変化は全て回復したが、海馬歯状回では ARC 陽性細胞が 6.0 ppm で有意に減少し、歯状回門では RELN 陽性細胞数が 2.0 および 6.0 ppm 群で有意に増加した。

離乳時の雄児動物の脳における 6.0 ppm での遺伝子発現解析の結果、*Casp9* と *Casp12*、*Gria3*、*Grin2a*、*Slc17a7*、*Chrna7* の発現減少を認めた。一方、*Slc17a6* の発現増加を認めた。

2 実態調査

STC の添加回収率は 80~120%、4,15-DAS の添加回収率は 80~110% の範囲に収まった。

STC の汚染実態は、9 食品目計 182 検体の調査を行った。最も陽性率が高かったのは国産小麦粉の 90% であり、続いてハト麦の 42%、輸入小麦粉の 40%、ライ麦の 39% であった。最大濃度はハト麦の 4 μg/kg であった。輸入小麦粉、米、ライ麦及び大麦において陽性検体が認められたが、濃度は低かった。小豆及びビールでは陽性検体は認められなかった。

4,15-DAS では、8 食品目計 165 検体について実態調査を行った。最も陽性率が高かったのはハト麦の 67% であり、次いでソルガムの 57% であった。平均濃度が最も高かったのはハト麦のソルガム、

小豆及びコーングリッツに陽性検体は認められたが、ハト麦と比較して汚染濃度は低かった。最大濃度はハト麦で 54 µg/kg、平均濃度 9 µg/kg であった。

3. 簡易分析法の基礎的研究

(1) プライマーの設計

国内の食品および環境から多数分離した *Aspergillus* section *Versicolorese* の菌種の同定を行った。-tubulin 遺伝子部分配列(377 bp) を決定し、合計 60 株の配列データを得た。それぞれの菌株が含まれるクレードの登録配列の菌種をもとに同定を行った。供試菌株には、*A. amoenus* が 1 株、*A. creber* が 12 株、*A. jensenii* が 4 株、*A. protuberus* が 2 株、*A. puulaauensis* が 1 株、*A. sydowii* が 22 株、*A. tabacinus* が 1 株、*A. tennesseensis* が 10 株、*A. venenatus* が 3 株、*A. versicolor sensu stricto* が 4 株含まれた。60 株の分離・同定を行った結果、*Aspergillus* section *Versicolores* に属する 14 菌種の内、10 菌種の株を得ることができた。

STC 産生能に関しては、*A. creber* の 12 株中 8 株、*A. jensenii* の 4 株中 2 株、*A. tennesseensis* 10 株中 4 株、*A. venenatus* の 3 株中 1 株、*A. versicolor sensu stricto* の 4 株中 3 株で STC 産生能が確認された。*A. amoenus* (1 株)、*A. protuberus* (2 株)、*A. puulaauensis* (1 株)、*A. sydowii* (22 株) および *A. tabacinus* (1 株) においては、STC 産生株は検出されなかった。

国内において分離される *Aspergillus* section *Versicolores* の中で、分離頻度が高く、且つ STC 産生菌株の頻度が高い菌種である *A. creber* を用い、HiDi DNA polymerase を用いた PCR により、*A. creber* のみを特異的に増幅する系を検討した。HiDi DNA polymerase はプライマーの 3' 末端の 1 塩基の違いを認識し、完全一致しない場合は増幅効率が著しく低下する改変型 DNA 合成酵素であるため、データベース登録配列より、*A.*

creber が他の菌種と異なる配列を探索した。*RPB2* 遺伝子において、*A. creber* に特徴的な塩基配列が見出されたため、当該配列を基に *A. creber* のみを標的とするプライマーセットを設計した。さらに、*A. creber* では増幅がおこらない相補的なプライマーセットの設計も行った。これらのプライマーを使用して培養菌株から抽出したゲノム DNA をテンプレートに PCR を行ったところ、前者のプライマーセットでは *A. creber* 特異的に増幅が見られ、後者のプライマーセットでは *A. creber* では増幅が起こらず、他の菌種では増幅が確認された。このことから、HiDi DNA polymerase を用いた PCR により、国内の主要な STC 産生菌種と考えられる *A. creber* を特異的に検出することが可能であることが確認された。

次に *A. sydowii* は国内で最も高頻度に分離される *Aspergillus* section *Versicolores* だが、STC を産生しない菌種であることから、*A. sydowii* を除いて残りの *Aspergillus* section *Versicolores* の菌種をまとめて検出する、STC 産生菌を検出する系を検討した。*RPB2* 遺伝子において、*A. sydowii* のみで特異的に他の菌種と配列が異なる箇所をターゲットに、*A. sydowii* 以外の菌種の塩基配列と一致するプライマーセットを設計し、PCR を行ったところ、*A. sydowii* では増幅が見られず、その他の菌種では全てのサイズの増幅が観察された。この結果から、STC 産生菌種を多く含む *Aspergillus* section *Versicolorese* の中で STC 非産生菌種である *A. sydowii* 以外の菌種を特異的に増幅することが可能であることが確認された。

(2) 玄米における STC 産生菌の検出

A. sydowii 以外の菌種を特異的に増幅する PCR の系を用い、玄米からの STC 産生菌の検出を行った。STC による汚染が確認された玄米 5 検体と STC が検出されていない玄米 8 検体に付着するカビから DNA を抽出し、PCR を行った。その結果、STC が検出された玄米については全てにおいて

目的サイズの増幅産物が確認された。STC が未検出の玄米についても、8 検体中 7 検体で増幅産物が確認された。

D. 考察

DAS のマウスに対する発達期暴露後の雄児動物を対象とした海馬歯状回における免疫組織化学的解析の結果、出生後 21 日目で、2.0 と 6.0 ppm において脳の SGZ における type-1 神経幹細胞から type-3 神経前駆細胞までの減少と海馬歯状回門における神経新生制御系の発現減少を特徴とする神経新生障害が認められた。一方、歯状回での遺伝子発現解析において、0 ppm 対照群と 6.0 ppm 群の比較において、6.0 ppm 群でグルタミン酸作動性入力の種類受容体とアセチルコリン作動性入力の一部の受容体で発現低下が認められたことから、DAS による神経新生障害は 2.0 ppm 以上で type-1 神経幹細胞から type-3 神経前駆細胞までの広い細胞標的性と、6.0 ppm ではさらに介在ニューロンの標的性が示唆された。出生後 77 日目では、離乳時に認められた顆粒細胞系譜の変化は消失したが、海馬歯状回において 6 ppm でシナプス可塑性に関わる ARC³陽性細胞の減少を認め、歯状回門においては神経細胞の移動や神経突起伸長などに関わる RELN⁴陽性細胞の増加を認めたことから、DAS の発達期暴露により成熟後の神経突起伸長の異常が示唆され、その修復応答として RELN の発現が増加したものと考えられた。これらの結果より、神経新生障害は不可逆的であることが示唆された。以上の実験から NOAEL を推測すると、母動物の摂取量で 0.6 ppm (0.09-0.29 mg/kg 体重/日) と算出される。これは、JECFA で評価された 0.03 mg/kg bw per day に近い数値であり、現在 JECFA が算出した PMTDI を支持する結果であった。

STC の実態調査では、昨年度同様国産小麦粉、ライ麦、ハト麦及びインスタントコーヒーから主に検出された。平均濃度は昨年度の結果と同程度

であった。今年度より新たに検査対象としてソルガムを加えたが、7 検体中 1 検体のみから STC が検出された。アフリカにおいてソルガムの STC 陽性検体の 10% から 100 µg/kg 以上の濃度で STC が検出されたとの報告があるため、調査は継続する必要がある。

4,15-DAS の汚染実態では、昨年度と同様にハト麦において陽性検体が多く認められた。日本産よりも東南アジア産の検体で検出濃度が高い傾向も同様であった 2 年間の調査では日本で摂取される主要な穀類中に 4,15-DAS の汚染は確認されていない。

日本では流通する輸入食品の割合の増加に伴い、検疫所でのモニタリングの頻度、対象食品量も増加している。そのため簡便でかつ正確なモニタリング手法が求められている。カビ毒の検査の場合、簡便な方法として ELISA やラテラルフローなどの検査法が開発されているが、サンプリングからの抽出に多くの手間がかかることやコストが高いことが障害となりあまり汎用されていない。そこでカビの汚染がなければカビ毒は汚染していないことから、農作物に汚染しているカビの有無からカビ毒の存在を予測する方法の開発を試みた。本研究で対象としている STC に注目し、その産生カビの検出を培養しないで検出する方法を開発した。

今年度は、輸入食品から菌株を収集することができなかったため、国内に分布する *Aspergillus section Versicolores* 60 株を分離・同定して用いた。その結果

A) STC 産生菌種 *A. creber* を特異的に検出する系

B) STC 非産生菌種 *A. sydowii* を除き、*Aspergillus section Versicolores* の他菌種をまとめて検出することで効率的に STC 産生菌種を検出する系

以上 2 つの系を、改変型 DNA 合成酵素 (HiDi DNA polymerase) を使用した PCR 技術を基に、*RPB2*

遺伝子上にプライマーを設計することで、目的の特定菌種のみを増幅して検出する方法を確立することができた。

また、確立した PCR の系のうち B) の系を用いて、玄米からの STC 産生菌の検出を試み、本方法の有効性を検討した。玄米は平成 25 年度産または平成 27 年度産の国産玄米 13 検体を使用した。STC が機器分析で検出された玄米検体では全てにおいて目的サイズの増幅産物が得られ、STC 産生菌種による汚染が認められた(図 4)。一方で、STC 未検出の玄米検体においても 8 検体中 7 検体で目的サイズの増幅産物が見られた。これは、*Aspergillus secton Versicolores* 内の STC 非産生菌種による汚染を検出している可能性が考えられるが、STC 産生にいたらない少数の STC 産生菌種を検出している可能性が高い。本検査法は、サンプルからの抽出工程は無用で、一度に 94 検体が測定できることから、STC 汚染農作物のスクリーニング的検出法として優れている。

E. 結論

乳児が暴露される可能性が高いかび毒の発達神経毒性影響を評価することを目的として、マウスを用いた DAS の発達期暴露実験を行った。その結果、DAS の発達期暴露の影響は不可逆的であり、成熟後の神経突起伸長に影響を及ぼす可能性が示唆された。児動物の神経新生障害に基づいた無毒性量は母動物の摂取量で 0.6 ppm (0.09-0.29 mg/kg 体重/日) と判断された。

食品または飼料に付着したカビ由来の DNA を回収し、培養を行わずに PCR によって STC 産生菌種を効率的に検出する方法を確立することができた。今回開発した手法では 4 時間程度で検出が可能であり、STC 汚染のスクリーニング検査として有効な手法となることが期待される。

STC と 4,15-DAS について日本に流通する食品を対象に汚染実態調査を行った。STC は小麦やコーヒーといった日本人における摂取量が多い食品で検出されることが確認された。4,15-DAS に

ついてはハト麦茶などのハト麦の加工品における汚染データを来年度収集する。

G. 研究業績

【論文発表】

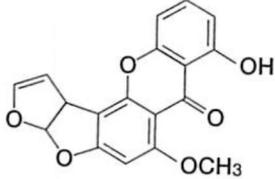
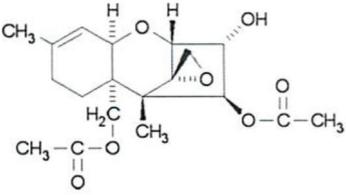
- 1) Onami J[†], Watanabe M[†], Yoshinari T, Hashimoto R, Kitayama M, Kobayashi N, Sugita-Konishi Y, Kamata Y Takahashi H, Kawakami H, Terajima J: Study on Fumonisin-productivity of *Aspergillus* from Foods and Environment. *Food Safety* in press (†筆頭著者同等貢献者)
- 2) Kobayashi, N, Kubasaki, A, Takahashi, Y, Yanai, M., Konuma, R, Uehara, S, Chiba, T, Watanabe, M, Terajima, J and Sugita-Konishi, Y: Distribution of sterigmatocystin-producing *Aspergilli* in Japan. *Food Safety*, in press.
- 3) Yoshinari, T, Takeda, N, Watanabe, M, Sugita-Konishi, Y.: Development of an Analytical Method for Simultaneous Determination of the Modified Forms of 4,15-Diacetoxyscirpenol and their Occurrence in Japanese Retail Food. *Toxins (Basel)*. (2018)10(5). pii: E178. doi: 10.3390/toxins10050178.

【学会発表】

- 1) Watanabe M, Suzuki Y, Takahashi H, Yoshinari T, Kobayashi N, Sugita-Konishi Y, Goto K and Terajima J: Comparative study including fumonisin production on the phylogenetic tree of kuro-koji molds and their relatives isolated from Japanese fermented foods. *UJNR* (2017, 5, Washington DC)
- 2) Kobayashi N, Kubosaki A, Shiratori N,

- Watanabe M, Terajima J and Sugita-Konishi Y: Classification and sterigmatocystin-production of *Aspergillus* section *Versicolores* from Japanese foods and environments. UJNR (2017, 5, Washington DC)
- 3) 窪崎敦隆、小林直樹、高橋治男、吉成知也、高鳥浩介、寺嶋淳、小西良子、渡辺麻衣子. 高度識別型 DNA 合成酵素を用いた玄米汚染真菌の検出. 第 44 回日本防菌防黴学会 (2017, 9, 大阪)
 - 4) 小林直樹、窪崎敦隆、渡辺麻衣子、小沼ルミ、上原さとみ、高橋由美、矢内美幸、寺嶋淳、高橋治男、高鳥浩介、小西良子. *Aspergillus* section *Versicolores* におけるステリグマトシスチン産生菌種の分子生物学的検出方法の開発. 日本マイコトキシン学会第 80 回学術講演会 (2017, 7, 東京)
 - 5) 小林直樹、藤江雄大、鹿嶋直哉、渡辺麻衣子、小西良子. 国内で分離された *Aspergillus ochraceus* の再同定とその OTA 産生性. 日本マイコトキシン学会第 81 回学術講演会 (2018, 1, 東京)
 - 6) 窪田祐恵、尾畑瑠衣、内藤千秋、大仲賢二、石崎直人、小林直樹、小西良子. 野菜由来乳酸菌のアフラトキシン類への結合能と胃内環境での挙動. 日本マイコトキシン学会第 81 回学術講演会 (2018, 1, 東京)
 - 7) 尾畑瑠衣、窪田祐恵、内藤千秋、大仲賢二、石崎直人、小林直樹、小西良子. アフラトキシン結合能を有する野菜由来乳酸菌の探索と消化液での安定性に関する研究. 日本食品衛生学会第 113 回学術講演会 (2017, 11, 東京)
 - 8) 小林直樹、藤江雄大、鹿嶋直哉、渡辺麻衣子、小西良子. *Aspergillus ochraceus* sensu lato における OTA 産生と OTA 生合成関連遺伝子の保有状況. 日本食品衛生学会第 113 回学術講演会 (2017, 11, 東京)
 - 9) 中島 康太、渡邊 洋佑、水上 さやか、猪鼻 真理、吉田 敏則、小西 良子、渋谷 淳: シトレオピリジンのマウス発達期曝露による海馬歯状回における神経新生障害の可逆性と制御系シグナルの発現変動、第44回日本毒性学会学術年会、横浜、第44回日本毒性学会学術年会要旨集: P-42、S 229、7月10-12日、2017
 - 10) 中島 康太、伊藤 優子、増淵 康哲、吉田 敏則、渋谷 淳: T-2 toxinのマウス発達期曝露による海馬歯状回及び小脳における metallothionein発現増加と発現細胞の同定、第34回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄、第34回日本毒性病理学会学術集会講演要旨集: P-56、p.93、1月25-26日、2018

表 1 . 本研究のまとめ

	ステリグマトシスチン (STC)	ジアセトキシシルペノール (DAS)
化学構造	 <p>molecular weight 324.28 Da</p>	 <p>molecular weight 366.4Da</p>
汚染実態	国産小麦粉、ライ麦、ハト麦及びインスタントコーヒー、ソルガムから検出	ハトムギから検出 平成 30 年度ハト麦茶などのハト麦の加工品における汚染データを実施予定
分析法	LC-MS/MS 平成 28 年度本事業で妥当性確認済	LC-MS/MS 平成 28 年度本事業で妥当性確認済
簡易直接測定法	平成 30 年度 実施予定	玄米から STC 産生 <i>Aspergillus</i> section <i>Versicolores</i> の非培養検出法の開発に成功
毒性評価	平成 30 年度 実施予定	母動物の摂取量で 0.6 ppm (0.09–0.29 mg/kg 体重/日) (JECFA 0.03 mg/kg bw per day)
今後の予定	平成 30 年度に暴露評価を行う。	平成 30 年度に暴露評価を行う。
期待される成果	<ul style="list-style-type: none"> ・ STCおよびDASを対象とした毒性評価・汚染実態を基とした暴露評価が明らかになり、今後のリスク評価の科学的根拠となる。 ・スクリーニングを含めた分析法が確立されたことにより、基準値策定への検討が容易となる。 ・本事業で得られた成果は、CODEX 委員会へのデータ提供に寄与するとともに、国際学術誌への掲載により、今後 JECFA 等の国際的リスク評価時に引用される。 	