

II . 分担研究総合報告

厚生労働科学研究費補助金研究事業
(食品の安全確保推進研究事業)
総合研究報告書

ステリグマトシスチンと 4,15-ジアセトキシシルペノールの汚染実態調査
(2016~2018 年度)

分担研究者

吉成知也(国立医薬品食品衛生研究所)

研究要旨：本研究においては、2016~2018 年の 3 年間に亘り、日本に流通する食品を対象に、STC 及び 4,15-DAS の汚染調査を行った。両かび毒ともに国際的な関心が高まっており、STC については欧州食品安全機関 (EFSA) により 2013 年にリスク評価、2015 年に汚染実態調査の結果が報告され、さらに 2016 年に JECFA においてリスク評価が実施された。4,15-DAS は 2016 年の JECFA で評価され、さらに EFSA においても 2018 年にリスク評価の結果が公表された。

STC については、11 食品群計 583 検体の調査を行った。116 検体 (20%) から定量限界値以上の STC が検出された。陽性率が比較的高かった試料は国産小麦粉、ハト麦加工品及びライ麦粉であった。陽性の 116 検体のうち、91 検体 (76%) において STC 濃度は 0.05 ~ 0.5 µg/kg の範囲であった。ライ麦粉 2 検体において、5 µg/kg 以上の濃度の STC が検出された。STC 濃度の平均値が比較的高かったのは、ハト麦加工品 (0.3 µg/kg)、ライ麦粉 (0.3 µg/kg) 及び国産小麦粉 (0.1 µg/kg) であった。

4,15-DAS については、12 食品群計 461 検体の調査を行った。4,15-DAS はハト麦加工品、ソルガム及びコーンフラワーから検出され、陽性率はそれぞれ 57%、33% 及び 8% であった。平均濃度はハト麦加工品の 10 µg/kg が最も高く、ソルガムとコーンフラワーではそれぞれ 0.3 及び 0.1 µg/kg であり、ハト麦加工品と比べると非常に低かった。最大濃度はハト麦加工品の 70 µg/kg であった。

モンテカルロシミュレーション法により、日本人における小麦加工品からの STC ばく露量を推定した。50%ile 値は 0.01 ~ 0.02、80%ile 値は 0.03 ~ 0.05、90%ile 値は 0.05 ~ 0.08、95%ile 値は 0.08 ~ 0.12 ng/kg 体重/日であり、また平均値は 0.03 ~ 0.04 ng/kg 体重/日であった。JECFA による STC のリスク評価の際に採用された BMDL₁₀ 0.16 mg/kg 体重/日に基づき、日本人の STC 平均摂取量から MOE を算出した結果、4,000,000 ~ 5,300,000 であった。今回算出された STC のばく露量は、過去に推定されたアフラトキシン B₁ の 20 ~ 30 倍であり、STC の毒性がアフラトキシン B₁ よりも低いとされていることを勘案しても、日本人におけるかび毒による肝臓ガン発症のリスク評価を実施するには STC も考慮に入れる必要性があると考えられる。一方で、平均的な日本人における STC の MOE は 10,000 を上回っており、健康に対する影響は少ないと考えられる。

研究協力者

脇 ますみ 神奈川県衛生研究所
橋口 成喜 川崎市健康安全研究所
佐藤 英子 川崎市健康安全研究所
谷口 賢 名古屋市衛生研究所
中島 正博 名古屋市衛生研究所
竹内 浩 三重県保健環境研究所
藤吉 智治 (一財)食品分析開発センター

SUNATEC

森田 剛史 (一財)日本穀物検定協会
本田 俊一 (一財)日本食品検査
七戸 八重子 (一財)日本食品検査
伊佐川 聡 (一財)日本食品分析センター
飯塚 誠一郎 (一財)日本食品分析センター
猪之鼻 修一 (一財)日本食品分析センター
小杉 正樹 (一財)日本食品分析センター
笛木 周平 (一財)日本食品分析センター
宮崎 光代 (一財)日本食品分析センター

A. 研究目的

世界的に汚染頻度が高く、健康被害が予測されるかび毒は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) で毒性評価が行われ、コーデックス委員会で規格策定が行われている。我が国はコーデックス委員会の加盟国であることから、コーデックス規格を食品の規格基準に採用することが厚生労働省の方針として決められている。

厚生労働省は、リンゴジュース中のパツリン、小麦玄麦中のデオキシニバレノール、全食品中の総アフラトキシン及び乳中のアフラトキシン M₁ に対して規制を行っている。また、コーデックス規格が定められているオクラトキシン A やフモニシンに関しては、本研究事業で実態調査が行われており、それらについては食品安全委員会において我が国におけるリスク評価が実施され

た。また、JECFA において毒性評価が行われた T-2 トキシン、HT-2 トキシン及びゼアラレノンの 3 種のフザリウムトキシンについても汚染実態調査を行った。

本事業が研究対象とするステリグマトシスチン (STC) と 4,15-ジアセトキシシルペノール (4,15-DAS) については、日本に流通する食品における汚染実態はほとんどわかっていない。一方で、STC については欧州食品安全機関 (EFSA) により 2013 年にリスク評価、2015 年に汚染実態調査の結果が報告され^{1,2)}、また、2016 年に JECFA においてリスク評価が実施された³⁾。4,15-DAS は 2016 年の JECFA で評価され、さらに EFSA においても 2018 年にリスク評価の結果が公表された⁴⁾。このような背景からこの 2 種のかび毒に対する関心が国際的に高くなってきている。

本研究においては、2016~2018 年の 3 年間に亘り、日本に流通する食品を対象に、STC 及び 4,15-DAS の汚染調査を行った。これらの結果は、我が国におけるヒトへのばく露評価に用いられ、国民が摂取しているかび毒が健康被害を起こすレベルであるか否かを判断する科学的根拠となる。

B. 研究方法

1. 試料

検体は日本各地の小売店などからランダムに購入したものをを用いた。

2. 分析法

STC 及び 4,15-DAS の分析は、3 年間同じ方法を用いた。分析法の妥当性は 2016 年度に複数機関で評価した。

2-1. STC の分析法

粉状の検体、ビール及びワイン以外の検体については、破砕機で粉末状に破砕した。ビールとワイン以外の試料からの STC 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。添加回収試験の場合は STC の標準溶液を添加し (終濃度 0.5 又は 5.0 µg/kg) 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 (IAC、堀場製作所社製 AFLAKING) を用いた。抽出液 5.0 mL をピペッターで 50 mL のメスフラスコにとり、PBS で 50 mL にメスアップした後、ガラス繊維ろ紙でろ過した。ビール (一晩置いて脱気した) とワインについては、検体 5.0 g を 50 mL のメスフラスコにとり、PBS で 50 mL にメスアップした。希釈液 20 mL (ビールとワインは 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。

< 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

2-2. 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。添加回収試験の場合は試料中の 4,15-DAS 濃度が 5 又は 50 µg/kg となるよう標準品を添加し、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。

精製は多機能カラム (昭和電工社製 Autoprep MF-T 1500) を用いた。抽出液約 10 mL をカラムに入れ、最初の流出液 3 mL は捨て、次いで流出する約 2.4 mL を試験管に採った。その溶出液から 2.0 mL を別の試験管に正確にとり、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。

ハト麦茶については、製品の作り方に記載された量の沸騰水でティーバックからお茶を煮出したものを試料とした。2 mL のアセトニトリルと 2 mL の蒸留水で前処理した固相カラム (Biotage 社製 ISOLUTE Myco 60mg) に試料 2 g を供した。蒸留水 3 mL と 10% アセトニトリル 3 mL でカラムを洗浄後、アセトニトリル 2 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) 1 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 μ L

MS

イオン化：ESI positive

モニタリングイオン：384[M+H]⁺>307

平均値については、検出限界値（LOD）未満の値は0に、検出限界値以上定量限界値（LOQ）未満の値は検出限界値に置き換えて算出した。中央値は陽性率が50%以上であった試料においてのみ算出した。

3. ばく露量推定

摂取量は、2005～2007年に実施された食品摂取量・摂取頻度調査の結果を用いた。対象食品から小麦加工品139種を選抜した。それぞれ的小麦加工品の摂取量に対し、小麦の含有量を掛け、さらに麺類についてはDONの残存率0.289を掛けた。のべ40364人のデータに対し、同一人物のデータを平均化することにより、4506人の摂取量データとした。各個人における139種の小麦摂取量を足し合わせ、総小麦摂取量とした。Crystal Ball（株）構造計画研究所）を用いてモデルの探索を行った結果、対数正規分布が適合した（二乗検定）。

DONの汚染量は2016～18年度の国産小麦粉72件と輸入小麦粉61件の結果を用いた。輸入小麦粉のデータ数を8倍（488件）に複製し、国産小麦粉の約7倍になるようデータセットを作った。Lower boundを求め

る際には、検出限界値未満の値を0、検出限界値以上定量限界値未満の値を0.02に置き換えた。合計560件のうち343件が0であるため、そのデータを除いた217件のデータを用いた。モデルの探索を行ったが適合するものが無かったため、個々の数値を用いたカスタム分布とした。STC濃度と摂取量を掛け合わせた後（試行回数100000）0.3875を掛けた値をばく露量とした。Upper boundを求める際には、検出限界値未満の値を0.02、検出限界値以上定量限界値未満の値を0.05に置き換えた。輸入小麦粉のデータ数を8倍（488件）に複製し、国産小麦粉の約7倍になるようデータセットを作った。モデル探索を行ったが、適合するものが無かったため、個々の数値を用いたカスタム分布とした。試行回数は100000回とした。

C. 研究結果

1. STCの汚染実態

表1に3年間の調査結果のまとめを示した。計583検体の調査を行い、116検体（20%）から定量限界値以上のSTCが検出された。陽性率が比較的高かった試料は国産小麦粉（44%）、ハト麦加工品（42%）、ライ麦粉（30%）、米（23%）であった。輸入小麦粉、そば粉、ホワイトソルガム、大麦加工品、小豆及びコーンフラワーからもSTCは検出されたが、陽性率は4～16%の範囲で比較的低かった。陽性の116検体のうち、91検体（76%）においてSTC濃度は0.05～0.5 μ g/kgの範囲であった。ハト麦加工品4検体、ライ麦粉2検体及び国産小麦粉1検体において、1.5～5 μ g/kgの濃度範囲のSTCが検出された。ライ麦粉2検体において、5 μ g/kg以上の濃度のSTCが検出された（5.1及び

7.1 µg/kg) STC 濃度の平均値が比較的高かったのは、ハト麦加工品 (0.3 µg/kg)、ライ麦粉 (0.3 µg/kg) 及び国産小麦粉 (0.1 µg/kg) であった。

2. 4,15-DAS の汚染実態

表 2 に 3 年間の調査結果のまとめを示した。計 461 検体の調査を行い、4,15-DAS はハト麦加工品、ソルガム及びコーンフラワーから検出された。ライ麦粉、国産及び輸入小麦粉、米、そば粉、エン麦、大麦加工品、小豆、ビール及びハト麦茶からは定量限界値 (0.5 µg/kg) 以上の濃度の 4,15-DAS は検出されなかった。ハト麦加工品の陽性率が 57% と最も高く、次いでソルガムの 33%、コーンフラワーの 8% であった。平均濃度はハト麦加工品の 10 µg/kg が最も高く、ソルガムとコーンフラワーではそれぞれ 0.3 及び 0.1 µg/kg であり、ハト麦加工品と比べると非常に低かった。最大濃度はハト麦加工品の 70 µg/kg であった。

3. ばく露量推定

モンテカルロシミュレーションに用いた小麦粉の摂取量の分布を図 1 に、小麦粉の STC 汚染量の分布を図 2 に示した。日本人における小麦加工品からの STC ばく露量を推定した結果を図 3 及び表 3 に示した。50%ile 値は 0.01 ~ 0.02、80%ile 値は 0.03 ~ 0.05、90%ile 値は 0.05 ~ 0.08、95%ile 値は 0.08 ~ 0.12 ng/kg 体重/日であり、また平均値は 0.03 ~ 0.04 ng/kg 体重/日であった。

2016 年に行われた JECFA による STC のリスク評価の際に採用された BMDL₁₀ 0.16 mg/kg 体重/日に基づき、日本人の STC 平均摂取量から MOE を算出した結果、4,000,000

~ 5,300,000 であった。

D. 考察

1. STC について

日本以外の地域における STC の食品汚染については近年情報が集まっている。2013 ~ 2014 年にヨーロッパ 9 カ国で実施された汚染調査の結果では、STC は穀類から主に検出された²⁾。大麦、トウモロコシ、ライ麦及び小麦における平均濃度はそれぞれ 0.032、0.059、0.024 及び 0.015 µg/kg であった。中国で 2016 年に小麦 32 検体を対象とした調査では、STC の陽性率は 53.1%、平均濃度は 0.07 µg/kg であった⁵⁾。中国のビール 101 検体からは STC は不検出であった⁶⁾。我々の 3 年間の調査結果における STC 汚染レベルはこれら海外の報告と同等であった。一方でサブサハラアフリカ地域産のホワイトソルガム 1533 検体を対象とした調査では、15% の検体から STC が検出され、濃度範囲は 2.5 ~ 1189 µg/kg であった⁷⁾。またナイジェリア産の米 38 検体の調査結果では 17 検体から STC が検出され、平均濃度が 18.99 µg/kg、最高濃度が 124.95 µg/kg であった⁸⁾。我々の調査においては、これらアフリカの検体で認められたような高濃度汚染の検体は存在しなかった。

3 年間の調査結果において STC は小麦粉、はと麦加工品及びライ麦粉で主に検出された。2005 ~ 2007 年に実施された食品摂取量・摂取頻度調査の結果から小麦加工品、はと麦加工品及びライ麦加工品の 1 日当たりの摂取量を算出したところ、それぞれ 3、0.0003 及び 0.009 g/体重であり、小麦加工品と比較してはと麦とライ麦加工品の摂取量は著しく低かった。よって STC のばく露量推定には小麦加工品のみを用いることとした。2004 ~ 06 年に厚生労働科学研究で実施

された日本に流通する食品中のアフラトキシン B₁ の汚染実態調査結果を基に、ばく露量推定が行われた。その結果、80%ile 値は 0、90%ile 値は 0.001、95%ile 値は 0.003 ~ 0.004 ng/kg 体重/日であった⁹⁾。ばく露量推定に用いた食品の種類やモンテカルロシミュレーションの方法が STC とアフラトキシン B₁ では異なることから単純な比較は出来ないが、今回算出された STC のばく露量はアフラトキシン B₁ の 20 ~ 30 倍であった。STC の毒性がアフラトキシン B₁ よりも低いとされていることを勘案しても、日本人におけるかび毒による肝臓ガン発症のリスク評価を実施するには STC も考慮に入れる必要があると考えられる。一方で、平均的な日本人における STC の MOE は 10,000 を上回っており、健康に対する影響は少ないと考えられる。今後、小麦加工品における STC の汚染実態を調べ、より正確なばく露量を推定するためのデータを得る必要があると考える。

2. 4,15-DAS について

2010 ~ 2015 年度に実施した T-2 トキシンの汚染調査の結果では、小麦、大麦、ライ麦、ソバ、ハト麦加工品、小豆など多様な食品から検出された¹⁰⁾。4,15-DAS は T-2 トキシンの化学構造が非常に似た類縁体であることから、T-2 トキシンと同様に様々な食品種から検出されることが予想された。しかし、3 年間で 12 種の食品群の調査を行った結果、4,15-DAS が T-2 トキシンと同レベルで検出された食品はハト麦加工品のみで、小麦や大麦といった日本人における摂取量が比較的多い食品では全く検出されなかった。EFSA が 2018 年に公表したリスク評価書では、2000 年以降に発表されたヨーロッパにおける 4,15-DAS の汚染調査に関する

報告がまとめられた⁴⁾。ドイツ、フランス、イギリス、フィンランドやデンマークでの調査では、ほとんどの小麦、大麦、ライ麦やオーツ麦から 4,15-DAS は検出されず、検出されたものも濃度は 1 µg/kg 未満であった。ソルガム、コーヒー、芋製品などで数 10 µg/kg 検出されたとの報告もあるが、件数は極めて少なかった。

このように 4,15-DAS が汚染する食品は非常に限られており、4,15-DAS を単独で摂取することによる健康リスクは低いと考えられる。ただ、2016 年の第 83 回 JECFA 会議において、これまで T-2 トキシンと HT-2 トキシンに設定されていたグループ PMTDI 0.06 µg/kg に 4,15-DAS も加えられた³⁾。このことより国際的には 3 種のかび毒をまとめて評価する流れが主流になっていることが予想される。今後は T-2 トキシン、HT-2 トキシン及び 4,15-DAS の 3 種まとめて汚染調査を行い、汚染濃度や頻度の違いを明らかにし、健康リスクを評価する必要があると考える。

参考文献

- 1) EFSA. Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. EFSA Journal. 2013;11(6):3254.
- 2) EFSA. Survey on sterigmatocystin in food. EFSA Supporting Publications. 2015; 12(3):774E.
- 3) WHO. Evaluation of certain contaminants in food. WHO Technical Report Series. 2017; No.1002
- 4) EFSA. Risk to human and animal health related to the presence of 4,15 diacetoxyscirpenol in food and feed. EFSA

- Journal. 2018;(16)8: e05367.
- 5) Zhao Y et al. Wang Q, Huang J, Ma L, Chen Z, Wang F. 2018. Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin in wheat and wheat products from supermarkets in China. Food Addit. Contam. Part B. 2018; 1(1):9-14.
 - 6) Zhao Y et al. Aflatoxin B₁ and sterigmatocystin survey in beer sold in China. Food Addit. Contam. Part B. 2017;10(1):64-68.
 - 7) Ssepuuya G et al. Mycotoxin contamination of sorghum and its contribution to human dietary exposure in four sub-Saharan countries. Food Addit. Contam. Part A. 2018;35(7):1384-1393.
 - 8) Rofiat A-S et al. Fungal and bacterial metabolites associated with natural contamination of locally processed rice (*Oryza sativa* L.) in Nigeria. Food Addit. Contam. Part A. 2015;32(6):950-959.
 - 9) Sugita-Konishi Y et al. Exposure to aflatoxins in Japan: risk assessment for aflatoxin B₁. Food Addit. Contam. Part A. 2010;27(3):365-372.
 - 10) Yoshinari T et al. Occurrence of four *Fusarium* mycotoxins, deoxynivalenol, zearalenone, T-2 toxin, and HT-2 toxin, in wheat, barley, and Japanese retail food. J. Food Prot. 2014;77(11):1940-1946.

F. 研究業績

【論文発表】

- 1) Yoshinari T et al. Development of an Analytical Method for Simultaneous Determination of the Modified Forms of

4,15-Diacetoxyscirpenol and their Occurrence in Japanese Retail Food. Toxins. 2018;10(5):E178.

【学会発表】

- 1) 吉成知也、竹田名菜水、寺嶋淳、小林直樹、小西良子：発がん性を有するかび毒ステリグマトシスチンの我が国に流通する食品における汚染実態
第112回日本食品衛生学会学術講演会(2016年10月)
- 2) 吉成知也、竹田名菜水、小西良子、寺嶋淳：4,15-ジアセトキシシルベノールのモディファイド化合物の汚染実態
第80回日本マイコトキシン学会学術講演会(2017年7月)
- 3) 吉成知也、小杉正樹、佐藤英子、七戸八重子、竹内浩、谷口賢、藤吉智治、脇ますみ、小西良子、大西貴弘、工藤由起子：国内流通食品におけるステリグマトシスチンの汚染実態調査
第83回日本マイコトキシン学会学術講演会(2019年1月)

G.知的財産権の出願登録状況

なし

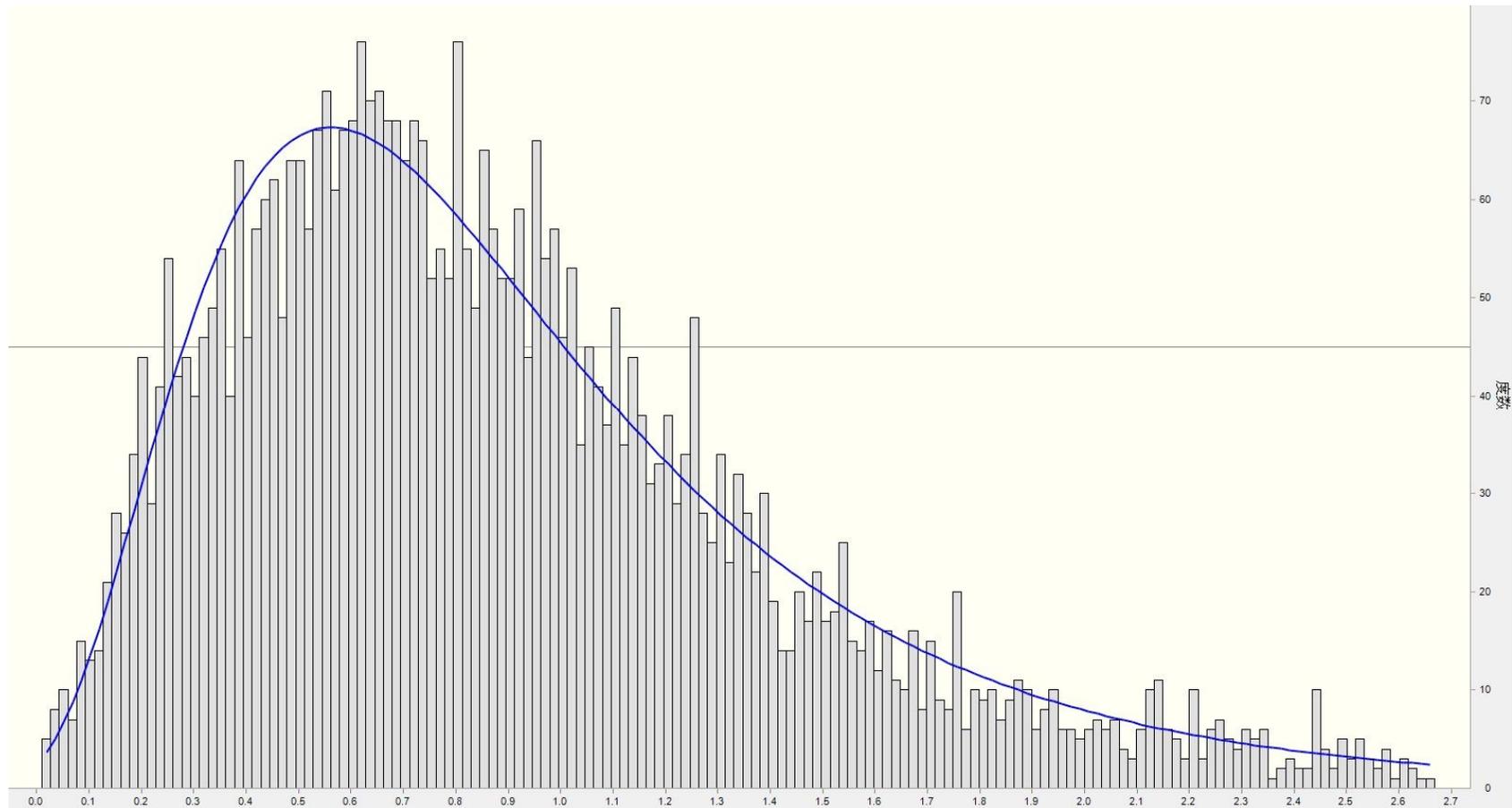
表1 食品中のSTCの汚染実態結果(2016~18年度)

食品	調査数 N	陽性		0.05-0.5 μg/kg		0.5-1.5 μg/kg		1.5-5 μg/kg		> 5 μg/kg		平均値 (μg/kg)	最大値 (μg/kg)
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
国産小麦粉	72	32	44%	28	39%	3	4%	1	1%			0.1	2.4
ハト麦加工品	72	30	42%	16	22%	10	14%	4	6%			0.3	4.1
ライ麦粉	87	26	30%	18	21%	4	5%	2	2%	2	2%	0.3	7.1
米	40	9	23%	9	23%							0.04	0.4
輸入小麦粉	61	10	16%	10	16%							0.02	0.1
そば粉	25	2	8%	1	4%	1	4%					0.04	0.6
ホワイトソルガム	12	1	8%	1	8%							0.03	0.3
大麦加工品	35	2	6%	2	6%							0.01	0.1
小豆	39	2	5%	2	5%							0.004	0.07
コーンフラワー	47	2	4%			2	4%					0.05	1.5
ワイン	30	0	0%									-	-
ビール	63	0	0%									-	-
合計	583	116	20%	87	16%	20	3%	7	1%	2	0.3%		

表2 食品中の4,15-DASの汚染実態結果(2016~18年度)

	調査数	陽性率(%)	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ハト麦加工品	68	57	10	70
ソルガム	12	33	0.3	1
コーンフラワー	48	8	0.1	1
ライ麦粉	62	0	-	-
国産小麦粉	72	0	-	-
輸入小麦粉	72	0	-	-
米	20	0	-	-
そば粉	17	0	-	-
エン麦	10	0	-	-
大麦加工品	15	0	-	-
小豆	33	0	-	-
ビール	20	0	-	-
ハト麦茶	12	0	-	-

図1 日本人における小麦粉の摂取量の分布



対数正規分布（青線）を適用した。

X軸の単位は g/kg 体重/日

図2 小麦粉におけるSTC汚染濃度の分布

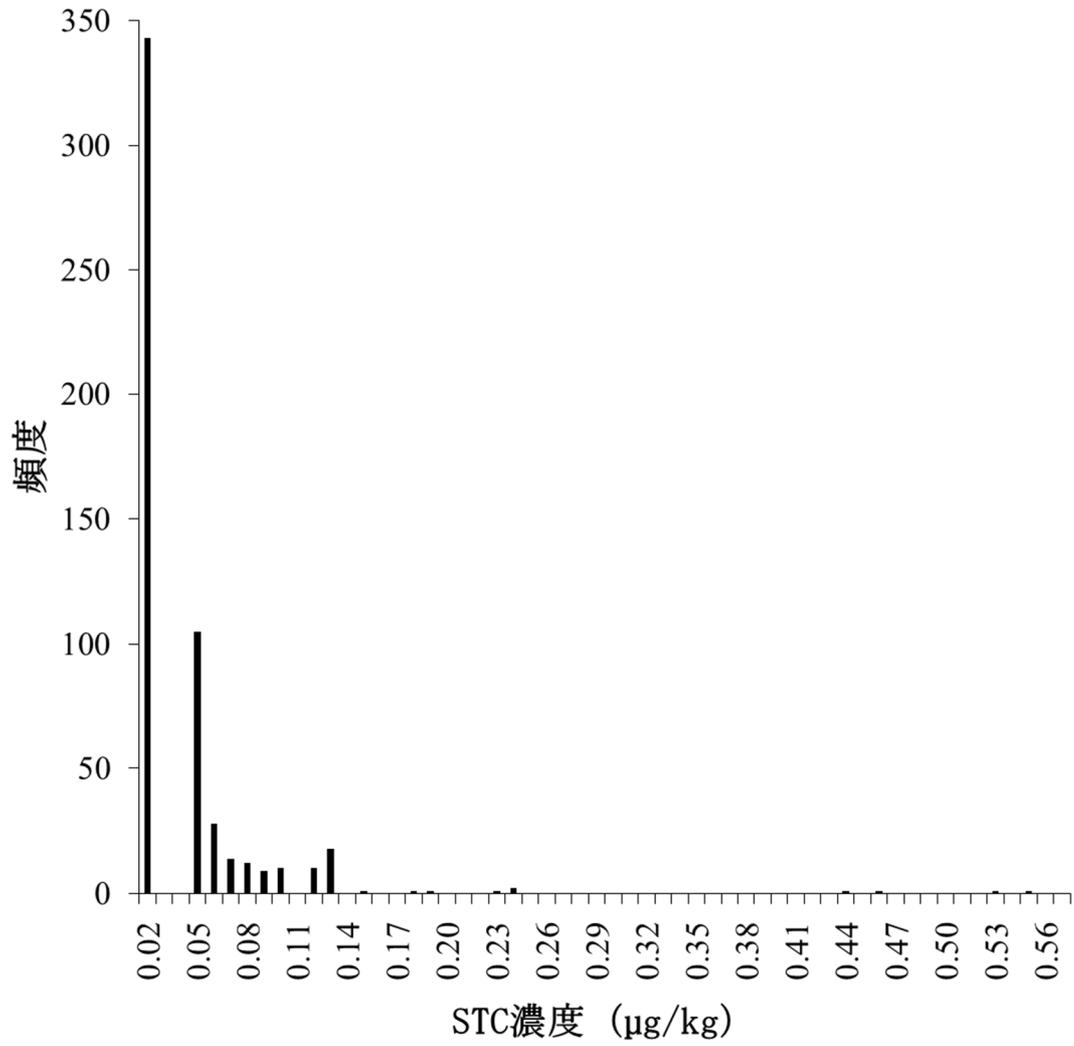


図3 日本人における小麦粉からのSTCばく露量の分布



横軸（ばく露量）の単位は ng/kg 体重/日

表 3 日本人における小麦粉からの STC ばく露量

	ばく露量 (ng/kg 体重/日)	
	Lower bound	Upper bound
50%ile	0.01	0.02
60%ile	0.02	0.03
70%ile	0.02	0.04
80%ile	0.03	0.05
90%ile	0.05	0.08
95%ile	0.08	0.12
99%ile	0.22	0.30