

1	オクラトキシン A の評価書 (案) 毒性部分のたたき台 (案)	
2		
3	◎実験動物等における毒性.....	2
4	(1) 急性毒性.....	2
5	(2) 亜急性毒性試験.....	3
6	① マウス.....	6
7	② ラット.....	6
8	③ ニワトリ.....	9
9	④ ウサギ.....	9
10	⑤ イヌ.....	10
11	⑥ ブタ.....	10
12	(3) 慢性毒性・発がん性.....	12
13	① マウス.....	13
14	② ラット.....	15
15	③ ブタ.....	19
16	(4) 生殖発生毒性.....	19
17	① マウス.....	20
18	② ラット.....	22
19	③ ウサギ.....	23
20	(5) 遺伝毒性.....	24
21	① 遺伝子突然変異.....	31
22	② 染色体異常試験及び小核試験.....	31
23	③ DNA 損傷及び修復.....	32
24	④ DNA 付加体.....	33
25	(6) その他(神経毒性、免疫毒性性).....	37
26	① 神経毒性.....	37
27	② 免疫毒性.....	38
28	(7) 腫瘍形成の機序.....	41
29	① 腎毒性のメカニズム.....	41
30	② OTA の代謝活性化.....	42
31	③ DNA 付加体.....	42
32	④ 酸化ストレス.....	43
33	⑤ 遺伝子発現及び細胞のシグナル伝達系の変化.....	45
34	⑥ 細胞増殖増加、アポトーシス増加、細胞有糸分裂阻害など.....	47
35	(8) 毒性試験のまとめ.....	49
36		

2. 実験動物等における毒性

毒性データのとりまとめにあたっては、OTA を投与したときに特異的な毒性兆候を明らかにするため、基本的に精製物を投与したデータを用いた。また、今回の評価は食品中の OTA に関する評価であることから、経口投与のデータを中心にとりまとめた。

(1) 急性毒性

各生物種と各曝露経路における LD₅₀ 値の比較を表 1 に示した。イヌ及びブタが、OTA に感受性の高い種で、ラットやマウスが感受性の低い種であることを示している。

表1 各動物種におけるオクラトキシン A の LD₅₀ 値

種	LD ₅₀ 値(mg/kg 体重)		
	経口投与	腹腔内注射	静脈注射
マウス	46～58	22～40	26～34
ラット	20～30	13	13
ラット(新生児)	3.9	n.d.	n.d.
イヌ	0.2	n.d.	n.d.
ブタ	1	n.d.	n.d.
ニワトリ	3.3	n.d.	n.d.

n.d.:データなし

(参照 1(1983)#496)

Long Evans ラットと Sprague-Dawley ラット(雄、各群 10 匹)に、OTA が 22 mg/kg 体重の用量で単回強制投与され、投与 48 時間後まで観察された。組織病理的及び電子顕微鏡による観察において、12～24 時間後には、膀胱、胃、腸管、心内膜下、脾臓及び肝臓に多数の局所出血が観察され、脾臓、脳の脈絡叢、肝臓、腎臓及び心臓における線維素血栓がみられた。これらの所見は播種性血管内凝固症(DIC)であることを示していた。原因は、内因性及び外因性の血液凝固活性化によるものと推定されている。また、肝臓とリンパ系の壊死、消化管の絨毛の萎縮を伴う腸炎(最も重度な影響は空腸にあった)及びネフローゼがみられた。本研究では、心筋の変化は、冠血栓とその後の虚血障害に関連すると考えられた(参照 2(1987)#51)。また、新生児ラットは、成熟ラットよりも影響を受けやすいと考えられている(参照 1(1983)#496)。

薬物代謝酵素を誘導するフェノバルビタール (80 mg/kg 体重)を 5 日間、又は 3-メチルコラントレン(20 mg/kg 体重)を 2 日間、経口により前投与した結果、OTA を強制経口投与した場合の LD₅₀ 値は増加した。フェノバルビタールを用いた試験で、OTA 投与 144 時間後では、48 時間後より LD₅₀ を比較したときの差は小さかった。ミクロソームのモノオキシゲナーゼ阻害剤であるピペロニルブトキシドを投与した場合、OTA の 144 時間後の LD₅₀ は 40 mg/kg 体重から 19 mg/kg 体重に減

少した。(参照 3(1988)#80)

(2) 亜急性毒性試験

OTA の亜急性毒性試験の結果を表 2 に示した。

表2 オクラトキシン A の亜急性毒性試験の結果

動物種等 (動物数/ 一群)	投与 期間	投与量		所見	LOAEL mg/kg 体重	NOAE L mg/kg 体重	備考	参照
		(mg/kg 飼料)	(mg/kg 体重/日)					
マウス、 Swiss、雌 雄(10)	45 日		0、1.5、 3	・肝臓及び腎臓で濃度依存的な DNA 及び RNA 減少 ・総タンパク質量、酸性、塩基性、中性タンパク質量の濃度依存的な減少 ・精巣への生化学的影響				(参照 4(2008)# 410) (参照 5(2008)# 402)
ラット、 Wistar、 雄、離乳後 (10)	14 日	0、2.4、 4.8、 9.6、24	0、0.24、 0.48、 0.96、 2.4(*1)	・体重増加抑制 ・BUN の増加 ・腎臓重量の増加、尿量の減少、腎臓障害	0.96	0.24	指標: 腎臓重量の増加	(参照 6(1974)# 179)
ラット、 Wistar 雌雄、離乳 後(15)	90 日	0、0.2、 1.0、5	0、 0.015、 0.075、 0.37(*1)	・体重増加抑制、腎臓重量の増加 ・BUN に変化なし ・細胞の表皮落屑、平滑面小胞体(SER)の増加、粗面小胞体(RER)の変化、近位曲尿細管細胞の基底膜肥厚 ・近位曲尿細管で中好酸球と巨大核細胞の増加	0.37	0.015	指標: 腎臓重量の増加	
ラット、 Wistar 雄	3 日		0、5	・腎皮質に PHA が蓄積 ・基底膜肥厚		<5		(参照 7(1975)# 219)
ラット、雄 (4~6)	2 日		0、2	・腎におけるビルビン酸塩からの糖新生は 26%減少し、腎臓部のホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性は約 55%低下				(参照 8(1979)# 172)
ラット、 Sprague- Dawley、 雄(6)				・腎臓で、PEPCK の mRNA 量の減少				(参照 9(1983)# 173)
ラット、 Sprague- Dawley、 雄	1~5 日		0、2~2.5	・腎臓の PEPCKmRNA 量が 50~60%減少				(参照 10(1986) #171)
ラット、 Wistar 雄(3)	56~84 日		0、0.14、 2	・腎臓酵素の減少 ・尿中酵素の増加		<0.14		(参照 11(1986) #139)
ラット、 Alderley、 雄(3~8)	16 日			・投与 1 週間後より腎臓の LDH、AP、ロイシンアミノペプチターゼ及び γ GTP 活性の低下				(参照 12(1987) #211)
ラット、 Fischer 344/N、 雌雄、離乳	16 日 (12 回 投与)		0、1、4、 16	・腎臓、心臓及び脳の相対重量の増加 ・胸腺の萎縮 ・前胃上皮の壊死		1		(参照 13(1989) #318) #318

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

後(15)				・副腎腺出血 ・骨髄細胞の減少 ・腎症				
ラット、 Fischer 344/N、雌 雄、離乳後 (15)	91 日、 週 5 回		0、0.06、 0.12、 0.25、 0.5、1	・尿細管の壊死及び近位尿細管上皮細胞に容量依存的な巨大核の増加 ・0.5 以上の雄で成育の遅延及び腎臓相対重量の減少		0.12(雄)		(参照 13(1989) #318) #318
Wistar ラット、雄 (数不明)			0、0.5、 1、2	・2 mg/kg 投与一群ではコントロール群に比べて有意に腎重量、尿用量の増加 ・1 mg/kg 投与以上の群で血中尿素窒素の増加				(参照 14(1977) #507)
ラット、 Fischer 344/N、雄 (3)	14 日、 週 5 回		0、0.25、 0.5、1、 2	・尿細管におけるアポトーシスの増加、巨大核細胞の増加 ・腎臓における細胞核抗原増殖発現の増加 ・トリメチルシチンサイトの排泄増加			近位尿細管への毒性とは異なる変化	(参照 15(2005) #308)
ニワトリ、 ブロイラー (10)	60 日	0、4		・致死率は 42% ・飼料に L-フェニルアラニンを 0.8 又は 2.4%添加した場合、致死率はそれぞれ 12%と 15%に減少	4			(参照 16(1990) #119)
ニワトリ、 ブロイラー (32~52)	14 日 以上	0、2		・肝細胞の曇りガラス様腫大、単核細胞浸潤、クッパー細胞の過形成、凝固壊死、充出血 ・腎臓では、局所の出血、尿細管上皮変性、尿細管腫大、壊死、間質性腎炎、糸球体の萎縮 ・ファブリシウス囊では、軽度の萎縮、髄質リンパ球の減少、間質結合組織の増加 ・脾臓や胸腺でもリンパ球が減少				(参照 17(2008) #407)
ニワトリ、 ブロイラー (10)	42 日	0、0.5、 1		・腎臓と肝臓の相対重量増加 ・LDH、γGTP 及び AST の上昇 ・腎近位尿細管上皮の重度な壊死				(参照 18(2008) #396)
産卵鶏、 Hisex Brown、 47 週 齢 (28)	3 週間		0、2	・肝臓の相対重量の有意な増加				(参照 19(2008) #394)
ウサギ、 New Zeal White、 6-8 週 齢 (4)	60 日	0、0.75		・腎近位曲尿細管上皮細胞でミトコンドリアにおける細胞退化及び壊死的変化 ・刷子縁の消失、微絨毛の退化、細胞小器官の消失を伴う細胞質空洞形成 ・巨大核及び核小体の消失	0.75			(参照 20(2007) #297)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

イヌ、 Beagle、 雄(3~6)	14 日		0、0.1、 0.2	- 腎機能に変化なし - すべての投与群で尿細管壊死及び近位尿細管上皮細胞における細胞質空胞化及びミエロイド小体の形成 - 胸腺と扁桃腺のリンパ系組織の壊死		>0.2		(参照 21(1977) #145、 22(1977) #146、 23(1977) #147)
ブタ、雌 (2~8)	5~6 日		0、1	- 尿量増加、尿比重低下 - 尿中タンパク増加、LDH、GOT、ICDH の増加 - 血中タンパク量及び尿素濃度の増加 - 近位尿細管及び近位曲尿細管上皮細胞の壊死				(参照 24(1973) #1020)
ブタ、 Danish Landrace 、雌(9)	3~4 か 月	0、0.2、 1、5	0、8、 40、160 µg/ kg 体重/日	0.2 mg/kg 飼料以上で TmPHA の減少及び TmPHA/Cin の減少 1 mg/kg 飼料以上で尿の濃縮能の減少及び尿タンパクの増加 8 µg/kg 体重/日群の 9 匹中 4 匹、40 以上ではすべてに近位尿細管細胞の刷子縁縮小、核凝縮及び核分裂像がみられ、尿細管内には剥離した尿細管上皮細胞が認められた				(参照 25(1974) #1014)
Danish Landrace ブタ、雌、 8~10 週 齢(3)	5 日	0、5	0、0.04	- 近位尿細管の形態変化 - 近位尿細管上皮細胞の壊死 - 近位尿細管で NADH-テトラゾリウム還元酵素、コハク酸脱水素酵素、活性の減少				(参照 26(1979) #95)
	3 か月	0、1	0、0.008	- 局所的変性及び尿細管細胞の壊死による尿細管の萎縮 - 局所的な間質の繊維化 - 近位尿細管で NADH-テトラゾリウム還元酵素、コハク酸脱水素酵素、AP 活性の減少				
Danish-L andrace ブタ、雌、 25~38 k g (4)	5 日		0、0.8	腎臓において細胞質の凝集、近位尿細管の下部における持続的な剥離				(参照 27(1985) #97)
ブタ (6) 種、性差不 明	5 週間	0、0.2、 1		0.2 mg/kg 飼料投与より、腎皮質の PEPCK 活性が有意に低下				(参照 28(1986) #170)
Landrace -Duroc ブ タ、雌、8 ~12 週齢 (3)	5 週間	0、0.2、 1	0、 0.008、 0.04(*1)	- Tm PAH、Tm PAH/Cln の減少 - 糖排出の用量依存的増加 1 mg/kg 飼料投与群において腎臓皮質細胞では細胞質 PEPCK 活性及び γGTP 活性が有意に減少				(参照 29(1988) #152)
ブタ、 雌雄	90 日	0、0.09、 0.13、 0.18(最		すべての用量で、近位尿細管上皮細胞に顆粒状、空胞状変性などの退行性変			汚染飼料	(参照 30(2001) #350)

		初 3 か月)、0、0.13、0.305、0.79(続く 2 か月)		性が主に認められ、後期には間質増殖変化				
ブタ、雌雄	1 年	0、0.8		・軽度の腎症、組織学的には近位尿細管上皮細胞の退行性変性及び間質の増殖性変化				(参照 31(2002) #351)

(*1)JECFA 換算

① マウス

Swiss マウス(雄、一群 10 匹)に OTA を 0、50 及び 100 µg /動物/日を 45 日間経口投与した結果、50 µg/動物/日以上 of 投与群で肝臓及び腎臓で濃度依存的に DNA 及び RNA が有意に減少した。総タンパク質量、酸性、塩基性、中性タンパク質量も濃度依存的に有意に減少した (参照 4(2008)#410) 。同じ条件で OTA を投与した結果、精巣における脂質過酸化反応(LPO)が有意に亢進した。非酵素性の抗酸化物質であるグルタチオン及び総アスコルビン酸並びに酵素性の抗酸化物質である SOD、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンレダクターゼ及びグルタチオン転移酵素の活性は、精巣中で著しく減少した(参照 5(2008)#402) 。

② ラット

Wistar ラット(雄、一群 10 匹)に 0、2.4、4.8、9.6 又は 24 mg/kg 飼料/日(0、0.24、0.48、0.96 又は 2.4 mg/kg 体重/日に相当 : JECFA 換算)の粗精製 OTA を離乳後に 2 週間混餌投与する反復投与毒性試験が実施された。9.6 mg/kg 飼料/日以上の投与群で、体重増加抑制及び飼料摂取量の減少が認められた。24 mg/kg 飼料/日投与群では、腎臓の相対重量が増加した。血清中尿素窒素(BUN)は、投与量依存的に増加した。すべての投与群で尿量が有意に減少し、比重は有意に増加した。尿の pH は、コントロール群の pH7.0 に対し、すべての投与群で pH6.5 であった。組織学的検査では、2.4 mg/kg 飼料/日投与群において近位曲尿細管に好酸性の顆粒を有した上皮細胞が認められた。また、核の凝縮も認められた。すべての投与群で、ヘンレループ下降脚に膨潤が認められた。24 mg/kg 飼料/日投与群では近位尿細管、ヘンレループ、遠位尿細管及び集合管に剥脱細胞が認められた。(参照 6(1974)#179)

Wistar ラット(雌雄、一群 15 匹)に 0、0.2、1 又は 5 mg/kg 飼料/日(0、0.015、0.075 又は 0.37 mg/kg 体重/日に相当 : JECFA 換算)の OTA を含む半精製飼料を離乳後より 90 日間投与する反復投与毒性試験が実施された。試験終了後に各群 8 匹をと殺し、残りのラットには回復期間として引き続き対照飼料を 90 日間投与した。5 mg/kg 飼料/日摂取群で雌雄とも体重増加率が減少した。1 mg/kg 飼料/

1 日以上の投与群において投与期間後に、腎臓の相対重量は雌雄共に非投与群と比
2 較して減少したが、90 日間の回復期間後には、5 mg/kg 飼料/日投与群の雄を除い
3 て対照値まで回復した。投与期間後には、0.2 mg/kg 飼料/日以上 of 投与群におい
4 て近位尿細管における巨大核細胞及び好酸性変性細胞の増加が認められ、5
5 mg/kg 飼料/日投与群において近位尿細管細胞の剥離及び尿細管基底膜の肥厚が
6 認められた。90 日間の回復期間後も巨大核と尿細管基底膜肥厚が残存したが、腎
7 臓は肉眼的観察では正常であった。尿パラメータ及び血清中尿素窒素(BUN)など
8 の血液パラメータは、いずれの投与群においても変化が認められなかった。(参照
9 6(1974)#179)

10 Wistar ラット(雄)に 3 日間 0、5 又は 15 mg/kg/日の OTA が経口投与され、最
11 終投与 24 時間後にと殺された。血中パラアミノ馬尿酸(PHA)濃度は、非投与群に
12 比べて OTA 投与群で有意に増加した。腎皮質切片を用いて *in vitro* における PAH
13 の取り込み能を調べた結果、OTA 投与群では非投与群に比べて腎皮質切片におけ
14 る PAH の取り込みが有意に減少した。組織学的検査では、OTA 投与群において
15 曲尿細管基底膜の肥厚及び楕円形に膨張したミトコンドリアが認められた。(参照
16 7(1975)#219)

17 Sprague-Dawley ラット(雄、一群 4~6 匹)に 0 又は 2 mg/kg 体重の OTA が 2
18 日間経口投与され、腎臓における糖新生への影響が調べられた。腎皮質における
19 ピルビン酸塩からの糖新生は、OTA 非投与群に比べて OTA 投与群では 26%減少
20 し、糖新生を制御する酵素の一つであるホスホエノールピルビン酸カルボキシナ
21 ーゼ(PEPCK)活性は約 55%低下した。ピルビン酸カルボキシラーゼ、リンゴ酸脱
22 水素酵素、ヘキソキナーゼ及び γ -グルタミルトランスペプチターゼ(γ GTP)などの
23 他の酵素には影響が認められなかった。肝臓では PEPCK 活性の低下は認められ
24 なかった。PEPCK の mRNA 量は腎臓で減少したが、肝臓では減少しなかった。
25 (参照 8(1979)#172, 9(1983)#173, 10(1986)#171)

26 Sprague-Dawley ラット(雄、一群 6 匹)に 3-5 日間 OTA を摂取させると
27 poly(A)⁺ RNA の総量は、腎臓で 50 %減少したが、肝臓では変化しなかった。(参
28 照 8(1979)#172, 9(1983)#173, 10(1986)#171)

29 Wistar ラット(雄、一群 3 匹)に 0 又は 2 mg/kg 飼料/日(0 又は 145 μ g/kg 体重
30 相当：文献中)の OTA を 8~12 週間経口投与する反復投与毒性試験が実施され
31 た。投与量は、食品及び飼料中にみられる自然汚染の範囲に設定された。腎臓に
32 おける障害部位を調べるために、1 週間毎に腎臓及び尿における酵素活性が測定
33 された。腎臓における乳酸脱水素酵素(LDH)、アルカリホスファターゼ(ALP)、
34 ロイシンアミノペプチターゼ及び γ GTP の活性は投与 1 週間後より有意に減少し
35 た。後者の 3 つの酵素は近位曲尿細管の刷子縁に存在し、その部位に損傷があっ
36 たことを示していた。腎臓における酵素活性の減少に付随して、尿中にこれらの
37 酵素が出現した。投与開始 4~5 週間目に OTA 投与群では尿中の酵素活性が最高
38 値となり、OTA 非投与群に比較して 70%から 100%増加した。酵素活性は 6 週

間目には減少し、8 週間目に再び増加した。本研究では、この結果より尿細管の損傷と再生が繰り返されていると考えられたとしている。また、PHA クリアランスの変化においても近位尿細管の損傷と再生が示唆されたとしている。PHA クリアランスは、OTA 投与開始から 2 週間目に OTA 非投与群に比較して 56%減少した。12 週間後には、PHA クリアランスは回復し、OTA 非投与群に比べ 8%の減少であった。*N*-アセチル β -D-グルコシダーゼ活性は 2 週間後より尿中で増加した。この酵素はリソゾームに存在する酵素であり、壊死した細胞のリソゾームより放出されたと考えられた。肝臓における *N*-アセチル β -D-グルコシダーゼ活性は OTA の影響を受けなかった。(参照 11(1986)#139)

F344/N ラット(雌雄、一群 5 匹)に、0、1、4 又は 16 mg/kg 体重の OTA を 1 週間に 5 日、16 日間で計 12 回強制経口投与する反復投与毒性試験が実施された。OTA を 16 mg/kg 体重で投与した全てのラットにおいて下痢と鼻汁が認められ、試験終了前に死亡した。4 mg/kg 体重以上の OTA 投与群で、腎臓、心臓及び脳の相対重量の増加、胸腺萎縮、前胃上皮の壊死又は過形成並びに副腎の出血が認められた。骨髄細胞の減少及び腎症は、すべての投与群で認められ、腎臓における尿細管の変性及び再生の変化を伴っていた。(参照 13(1989)#318)

F344/N ラット(雌雄、一群 10 匹)に 0、0.06、0.125、0.25、0.50 又は 1 mg/kg 体重の OTA を週 5 日、13 週間強制経口投与する反復投与毒性試験が実施された。すべての投与群で、腎臓尿細管の壊死及び近位尿細管上皮細胞において用量依存的に巨大核細胞が認められた。0.5 mg/kg 体重投与以上の雄で、成長遅延及び腎臓の相対重量の減少が認められた。0.06 ~0.5 mg/kg 体重投与群で、腎臓の皮質、髓質の境界部及び髓質において軽度な尿細管萎縮が認められた。(参照 13(1989)#318)

Wistr ラット(雄、一群匹数不明)に OTA を 0、0.5、1、2 mg/kg で 10 日間経口投与する反復投与毒性試験が実施された。OTA 投与群では尿中窒素濃度の減少とともに、尿容量の増加が認められた。血中総タンパク質濃度と尿素濃度は OTA 非投与群より高くなったが、総脂質とコレステロール濃度は低下した。血中グルコース濃度は変化がなかった。(参照 14(1977)#507) (→フランス語の文献、有意差などの詳細記述がない。)

Fischer 344 ラット(雄、一群 3 匹)に 0、0.25、0.5、1、2 mg/kg 体重/日の OTA を 1 週間に 5 日、2 週間強制経口投与する反復投与毒性試験が実施された。組織学的検査において全ての投与群の腎臓髓質外層外帯の近位尿細管(S3 セグメント)に用量依存的に巨大核及び核異形を有する細胞の増加が認められたことから、著者は、DNA 合成後の細胞質分裂に異常が生じたことで多核の細胞が増加すると考察している。また、2 mg/kg 体重/日投与群では非投与群に比べて分裂期にある細胞数が明らかに多く認められた。また、基底膜上あるいは基底膜から剥脱して管腔内にアポトーシスの細胞が認められた。OTA 投与群の腎臓で、細胞核抗原(PCNA)が用量に依存して増加し、細胞が増殖していることが示されたが、肝臓

では PCNA は増加しなかった。1 mg/kg 体重/日以上 OTA 投与群では、非投与群より尿量が明らかに増加し、尿中トリメチルアミン-N-オキサイドが増加した。尿中グルコース濃度の増加など近位尿細管に毒性を示す物質にみられる典型的な変化は認められず、この結果から、本研究では OTA による腎毒性には特有のメカニズムが関与している可能性を示唆するとしている。(参照 15(2005)#308) (→本文では、suggested・・・may be・・・)

③ ニワトリ

ブロイラー (雄、一群 10 羽) に 0 又は 4 mg/kg 飼料の OTA を 2 か月間投与する反復投与毒性試験が実施された。OTA 投与群では、非投与群に比べて体重が減少し、飼料効率が低下した。肝臓や前胃、砂嚢及び心臓の相対的重量は増加し、ファブリシウス嚢の相対的重量は減少した。致死率は 42%であった。飼料に L-フェニルアラニン を 0.8 又は 2.4% 添加した場合、致死率はそれぞれ 12%又は 15%に減少した。(参照 16(1990)#119)

ブロイラー(雌雄、一群 32 羽)に 2 mg/kg 飼料の OTA を 14 日以上混餌投与した結果、肝臓では硝子様腫大、炎症性単核細胞の浸潤、クッパー細胞の過形成、凝固壊死及び充出血がみられた。腎臓では、局所の出血、尿細管上皮変性、尿細管腫大、壊死及び間質性腎炎が認められ、糸球体の萎縮もみられた。ファブリシウス嚢では、軽度の萎縮、髄質リンパ球の減少及び間質結合組織の増加がみられ、脾臓や胸腺でもリンパ球が減少した。(参照 17(2008)#407)

ブロイラー(一群 10 羽)に 0、0.5 又は 1 mg/kg 飼料の OTA が 42 日間混餌投与された。その結果、腎臓と肝臓の相対重量増加は OTA 投与群で認められたが、ファブリシウス嚢と脾臓の相対重量への著しい影響は見られなかった。血清の LDH、 γ GTP 及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)の上昇、腎臓近位尿細管上皮の壊死が認められた。(参照 18(2008)#396)

Hisex Brown 産卵鶏(47 週齢、一群 28 羽)に 0 又は 2 mg /kg 飼料の OTA が 3 週間混餌投与された。OTA 非投与のコントロール群では肝臓中に OTA は検出できなかった ($<0.05 \mu\text{g/kg}$) が、OTA 投与群では肝臓中 OTA 濃度は $15.1 \mu\text{g/kg}$ であった。コントロール群と比較して投与群では相対肝重量が有意に増加した。(参照 19(2008)#394)

④ ウサギ

ニュージーランド白ウサギ(一群 4 匹)に、OTA を 0 又は 0.75 mg/kg 含む飼料が 60 日間投与された。腎臓近位曲尿細管上皮細胞に巨大核細胞及び細胞の基底膜からの剥離が認められた。また、刷子縁の消失、微絨毛の退化、細胞小器官の消失を伴う細胞質空胞形成、核小体の消失及びミトコンドリアの内部構造であるクリステの消滅が認められた。(参照 20(2007)#297)

⑤ イヌ

ビーグル犬(雄、一群 3~6 匹)に、0.1、0.2 mg/kg 体重/日の OTA がカプセルを用いて 14 日間経口投与された。腎機能変化は、これらの投与レベルでは認められなかった。組織学的検査により、尿細管壊死及び近位尿細管上皮細胞における細胞質空胞化及びミエロイド小体と呼ばれる層状構造の形成がすべての投与群で認められた。胸腺と扁桃腺のリンパ系組織の壊死もすべての投与群で認められた。(参照 21(1977)#145, 22(1977)#146, 23(1977)#147)

⑥ ブタ

ブタは、OTA による腎臓への毒性影響に最も感受性のある種と考えられ、腎臓近位尿細管に特異的な形態的及び機能的変化が報告されている。(参照 26(1979)#95, 27(1985)#97, 32(1977)#150)

ブタ(雌、一群 2~8 匹)に 0 又は 1 mg/kg 体重/日の OTA が 5~6 日経口投与された結果、尿量の増加、尿比重の低下、尿中タンパク質濃度及び糖濃度の増加並びに血中タンパク質濃度及び尿素濃度の増加が認められた。尿における LDH、AST 及びイソクエン酸脱水素酵素(ICDH)濃度は増加した。組織学的検査により、曲尿細管及び集合管に水腫が認められた。近位尿細管、特に近位曲尿細管の上皮細胞に壊死がみられ、近位曲尿細管腺腔内には壊死した細胞破片及び基底膜から剥脱した細胞が認められた。また、消化管上皮細胞及び粘膜固有層に壊死が認められ、単球及び好中球の浸潤がみられた。(参照 24(1973)#1020)

ブタ(雌、一群 6-11 匹)に OTA で自然汚染された大麦 (オクラトキシン B 及び C、オクラトキシンエステル、シトリニン、viridicatumtoxin 並びにアフラトキシンは不検出) を混じた飼料を用いて、0、0.2、1、4 mg/kg 飼料(0、8、40 又は 160 µg/kg 相当: 文献中)の OTA を毎日給与し、投与 9 日後と 68 日後に各群のブタを 1 匹ずつと殺し、残余のブタには 20kg から 90kg に増体重する 4 か月間、上記飼料が給与された。その結果、0.2、1、または 4 mg/kg の OTA 汚染飼料を給餌した各群における給餌期間中の体重当たり一日 OTA 投与量は、それぞれ 7.2-8.6mg/kg、36.2-43.3mg/kg、145.0-173.6mg/kg であった。また、OTA の用量に依存して、パラアミノ馬尿酸の尿細管最大排泄量 (TmPHA) および TmPHA のイヌリンクリアランスに対する割合が減少し (対照群と 0.2mg/kg 群との間に有意差あり)、尿濃縮能が低下することが認められた。90 kg 体重時の腎臓について、0.2mg/kg 群においては肉眼的病理変化が認められず、顕微鏡所見として 9 匹中 4 匹に近位尿細管上皮細胞に核濃縮と分裂像を含む障害が認められた。1 mg/kg および 4 mg/kg 投与群においては、全てのブタの腎臓に病変が認められた。(参照 25(1974)#1014)

ブタ(雌、一群 3~6 匹)に、0 又は 5 mg/kg/飼料/日(約 0.4 mg/kg 体重/日: 文献中)の OTA を 5 日間並びに、0 又は 1 mg/kg/飼料/日の OTA を 3 か月間混餌投与し、腎臓における各種脱水素酵素及びリン酸化酵素の活性が調べられた。5 mg/kg/飼

料/日 OTA の 5 日投与群では、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管上皮細胞の脱落及び局所的な壊死がみられた。近位曲尿細管及び近位直尿細管で NADPH テトラゾリウム還元酵素活性の低下及び近位曲尿細管でコハク酸テトラゾリウム還元酵素活性の低下が認められた。1 mg/kg/飼料/日 OTA の 3 か月投与群では、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管細胞に局所的な萎縮及び壊死並びに間質の線維化が認められた。近位尿細管では NADPH テトラゾリウム還元酵素、コハク酸テトラゾリウム還元酵素及び ALP の酵素活性が低下したことから、著者らは呼吸鎖の機能低下が示唆されたとしている (参照 26(1979)#95)。

Danish-Landrace ブタ(雌、一群 4 匹)に 0.8mg/kg 体重/日の OTA が 5 日間経口投与された結果、近位曲尿細管下部に変化がみられ、尿細管上皮細胞の脱落が認められた。遠位尿細管及び集合管には変化がみられなかった。(参照 27(1985)#97)

ブタ(種及び性差不明、一群 6 匹)に 0、0.2 又は 1 mg/kg 飼料/日(0、0.008 又は 0.04 mg/kg 体重/日 : JECFA 換算)の OTA が 5 週間投与された。用量依存的な T_{mPHA}/C_{ln} の減少及び尿中糖排出量の増加が認められた。腎皮質における PEPCK 活性が用量依存的に減少した。(参照 28(1986)#170)

Danish-Landrace ブタ(雌、一群 3 匹)に 0、0.2 又は 1 mg/kg 飼料(0、0.008 又は 0.04mg/kg 体重-事務局換算)の OTA が 5 週間経口投与され、腎臓への影響が調べられた。OTA 投与により T_{mPHA} の有意な減少、 T_{mPHA}/C_{ln} の減少並びに糖排出の増加及び用量依存的な近位尿細管の機能障害が認められた。1 mg/kg 飼料投与群において、腎臓皮質の細胞質における PEPCK 活性及びミトコンドリアの γ GTP 活性が OTA 非投与群に比べて有意に減少したが、肝臓の PEPCK 活性は変化しなかった(参照 29(1988)#152)。

ブタ(雌雄、一群各 3 頭)に 0、90、130 又は 180 μ g/kg 飼料の OTA を 3 か月、続く 2 か月間には 0、130、305 又は 790 μ g/kg 飼料の OTA 投与する反復投与毒性試験が実施された。試験には OTA とペニシリン酸を産生する *Aspergillus ochraceus* 菌を汚染させた大麦が用いられた。(→ペニシリン酸の混入度の記されている論文未入手)組織学的、血液学的及び生化学的パラメータの変化が全投与群で認められた。投与 3 か月後にはアシドーシスの傾向が、5 か月後及び試験終了 1 か月後では呼吸性アシドーシスが認められ、尿の pH は有意に低下していた。投与 3 か月後には主に 790 μ g/kg 飼料投与群において、更に 5 か月後にはすべての投与群において近位尿細管上皮細胞に顆粒状及び空胞状変性などの退行性変性が認められ、間質では繊維芽細胞の増殖がみられた(参照 30(2001)#350)。本研究の追加試験で、Landrace と Bulgarian white の F₁ ブタ(雌雄、一群各 3 頭)に OTA を 1 年間 800 μ g/kg の濃度で混餌投与した結果、軽度の腎症発生が報告された。組織検査の結果、6 か月後のブタ近位尿細管上皮細胞の退行性変性及び間質には炎症性単球の浸潤と間質繊維芽細胞の異常な増殖が確認された。OTA を投与しない対照群ではこれらの異常は観察されなかった。(参照 31(2002)#351)

OTA の亜急性毒性試験結果を要約すると、腎臓が OTA の主な標的器官であり、マウス、ラット、イヌ、ブタによる短期毒性試験において、用量依存性、時間依存性の進行性腎症発生が認められた。OTA 誘発性腎臓毒性の作用メカニズムについては、(6)その他に記述した。

(3) 慢性毒性・発がん性

OTA の慢性毒性、発がん性試験の結果を表 3 に示した。

表3 オクラトキシン A の慢性毒性・発がん性試験の結果

動物種(動物数/群)	投与方法・期間	投与量		所見	LOAEL mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参考文献
		(mg/kg 飼料)	(mg/kg 体重/日)					
マウス、ddY、雄(10)	混餌、44 週	40	5.6	・生存した 9 匹のうち、5 匹に肝細胞癌、9 匹に腎臓の嚢胞性腺腫、2 匹に結節性腎臓腫瘍形成	5.6			(参照 33(1978)#140)
マウス、DDD、雄(20)	混餌、70 週	25	3.5	・生存した 20 匹のうち、すべてに腎臓の嚢胞性腺腫、6 匹に腎臓腫瘍、8 匹に肝細胞癌形成	3.5			(参照 34(1984)#497)
マウス、ddY、雄(16)	混餌、5～30 週	50	7	・OTA 投与 10 週間以下のマウスでは腎及び肝臓の腫瘍は発生なし ・腎細胞腫瘍の発生頻度は、15,20,25,30 週間投与群で、それぞれ 3/15、1/14、2/15、4/17 ・肝臓腫瘍の投与 25 週間(5/15)と 30 週間(6/17)投与で増加	7		投与後 40～65 週間を正常飼料を給餌	(参照 34(1984)#497)
マウス、B6C3F1、雌雄(各 50)	混餌、24 か月	1,40		・40mg/kg 飼料投与群の雄マウスにのみに腎臓の良性(発生率 53%)と悪性の腫瘍(29%)発生	40		ベンゼンを 9%含む飼料	(参照 35(1985)#63)
ラット、Fischer、雌雄(各 50)	強制経口、9 か月、15 か月、2 年		0.021,0.07,0.21	・2 年後の腎癌の発生率は、0、21、70、210 µg/kg 群の雄でそれぞれ 0/50、0/50、16/51、30/50、雌では 0/51、0/51、1/50、3/50	0.07	0.021		(参照 13(1989)#318)
ラット、Fischer 344/N、雄(5)	90 日、週 5 回		0、0.021、0.070、0.21	・0.07 mg/kg 体重投与以上で髄質外層外帯の近位直尿細管の単細胞死、顕著な細胞核拡大		0.021		(参照 36(2007)#331)
Danish Landrace ブタ、雌、8～10 週齢(6)	混餌、2 年	0、1	0、0.041 mg/kg 体重(*1)	・細尿管の萎縮と局所的な間質の繊維化 ・損傷を受けた腎臓で萎縮した細尿管に単核細胞の浸潤 ・近位尿細管で NADH-テトラゾリウム還元				(参照 26(1979)#95)

				酵素、コハク酸脱水素 酵素活性の減少				
--	--	--	--	-----------------------	--	--	--	--

(*1)JECFA 換算

① マウス

ddY マウス(雄、一群 10 匹)に 0 又は 40 mg/kg(約 5.6 mg/kg 体重/日に相当 : JECFA 換算)の OTA を含む飼料を 44 週間投与する反復投与毒性試験が実施された。試験終了後 5 週間は回復期間として観察された。OTA 投与群では 9 匹が生存し、そのうちの 5 匹に肝細胞腫瘍、9 匹に腎臓で嚢胞性の腺腫及び 2 匹には結節性の腎臓腫瘍が認められた。肝臓や腎臓の腫瘍は OTA 非投与の対照群では認められず、また、この種のマウス対照群に関してのこれら腫瘍の自然発生頻度に関するデータは示されていない。観察された肝臓腫瘍が良性か悪性かは、明確に示されていない。(参照 33(1978)#140)

同じ研究室で更に 2 種類の反復投与毒性試験が実施された。DDD マウス(6 週齢雄、一群 20 匹)に OTA25 mg/kg を含む飼料(約 3.5 mg/kg 体重/日相当 JECFA 換算)が 70 週間投与された結果、生存した 20 匹の OTA 投与マウス全てに腎臓の嚢胞性腺腫が認められた。6 匹には、結節性の腎臓がんが、8 匹には肝細胞がんが認められた。17 匹の対照マウスの 1 匹に、肝細胞がんが認められた。毒性所見として、腎臓に複数の嚢胞形成、リンパ球の浸潤を伴うネフロンの変形及び線維化又は尿細管上皮細胞の変性が認められた。ddY マウス(雄、一群 16 匹)を用いた 70 週間の試験では、50 mg/kg の OTA(約 7 mg/kg 体重/日に相当 : JECFA 換算)を含む飼料が 0、5、10、15、20、25 又は 30 週間投与され、いずれの群も 70 週目まで OTA 無添加の飼料で飼育され、回復期間とされた。腎臓及び肝臓の腫瘍は、OTA 非投与の対照群及び OTA 投与 10 週間以下のマウスでは認められなかった。肺がんは非投与群でも発生し、OTA 投与群において用量依存性が認められないことより OTA 特異的に発生する腫瘍とは考えられなかった。腎細胞がんの発生頻度は、OTA を 15、20、25 及び 30 週間投与した場合、それぞれ 3/15、1/14、2/15、4/17 であった。腎臓における嚢胞性腺腫の発生頻度は示されていない。肝臓がんの発生頻度の有意な増加が、OTA 投与 25 週間(5/15)と 30 週間(6/17)投与群に認められた。(参照 34(1984)#497)

腫瘍発生率の結果を表 4 に示す。

表4 オクラトキシン A を摂取した ddy 雄マウスの腫瘍発生率

投与期間 (週)	一群匹数	肝臓がん(%)	腎臓がん(%)	肺がん(%)
0	15	0	0	4 (26.7)
5	16	0	0	8 (50.0)
10	15	0	0	3 (20.0)
15	15	0	3 (20.0)	11 (73.3)
20	14	2 (14.3)	1 (7.1)	6 (42.9)

25	15	5 (33.3)	2 (13.3)	4 (26.7)
30	17	6 (35.3)	4 (23.5)	8 (47.1)

これらの試験において、OTA 投与により、乳頭状の嚢胞腺腫(良性)及び結節性の腎細胞がんといった 2 つのタイプの腎臓腫瘍が識別された。これらは、異型の細胞を含み浸潤性の増殖が認められるため、JECFA では悪性であると評価された。腎臓又は肝臓腫瘍に起因した転移は認められなかった。(参照 34(1984)#497, 37(1990)#1030)

B6C3F1 マウス(離乳後、一群雌雄各々 45～50 匹)に 0、1 又は 40 mg/kg の OTA を含む飼料を 24 か月間投与する反復投与毒性試験が実施された。試験に使用された粗精製 OTA は約 84% の OTA、7% の OTB 及び 9% のベンゼンを含むものであった。OTA の 40 mg/kg 飼料摂取群において、体重が雌 25% 及び雄で 33% 減少し、雄では、上皮の過形成を伴う腎臓尿細管の嚢胞性拡張によって特徴づけられる腎症が認められた。OTA 無添加飼料を摂取させた対照群又は 1 mg/kg 飼料の OTA 摂取群では、雄雌ともに腎がんは認められなかった。OTA 40 mg/kg 飼料摂取群の雄マウスで、21 か月目以降に腎臓に良性の腺腫と悪性の腎がんが認められ、それらの発生した頻度は、それぞれ 53% と 29% であった。同時の発生頻度は 63% であった。腎臓がんからの転移は認められなかった(参照 35(1985)#63)。肝細胞腺腫と肝細胞がんの発生頻度を合わせると、40 mg/kg 飼料摂取群の雄雌両方のマウスに対照群と比較して統計的に有意な増加があったが、雄の 20% の発生頻度は、B6C3F1 マウスにおける自然発生の肝細胞がん発生率である 0～22%(参照 35(1985)#63, 38(1979)#230)の範囲内であった。雌では、自然発生率の 0～3.9% より高い 14% であったが、著者らは、試験に使用した OTA には、既知の発がん物質であるベンゼンを不純物として 9% 含んでいることを考慮すると、その相乗作用の可能性は否定できないとしている。

本研究結果における腫瘍発生率を表 5 に示す。(参照 35(1985)#63)

表5 オクラトキシン A を摂取した B6C3F1 マウスの腫瘍発生率

投与群 (mg/kg 飼料)	一群匹数	腎腺腫	腎臓がん	肝細胞腺腫	肝細胞がん
雄					
0	50	0	0	1	0
1	47	0	0	5	3
40	50	26	14	6	4
雌					
0	47	0	0	0	0
1	45	0	0	1	1
40	49	0	0	2	5

試験開始 18 か月後の生存率は、対照群、1 mg/kg 飼料及び 40 mg/kg 飼料の OTA 投与群においてそれぞれ 65%、75% 及び 98% であり、腎臓がんによる生存

率の低下は認められなかった。対照群及び 1 mg/kg 投与群において 4 か月目より致命的な閉塞性の泌尿器疾患の発生がみられた(参照 35(1985)#63)。40 mg/kg OTA 投与群で生存率が高くなった原因は、OTA によるグラム陽性細菌の生育阻害効果及び OTA が誘発した近位腎臓尿細管損傷の結果としての多尿症によると推定されている(参照 39(1986)#62)。本結果については、ケージ内におけるマウス同士の喧嘩に関係する包皮/陰茎における障害が、慢性の尿路疾患に関与した可能性も指摘されている(参照 40(1987)#198)。

② ラット

Fischer 344/N ラット(雌雄、一群各 80 匹)に、0、21、70 又は 210 µg/kg 体重/日の OTA を 9 か月、15 か月又は 2 年間強制投与する毒性及び発がん試験が米国国家毒性プログラム(NTP)において実施された。ラットは毎日 2 回観察され、最初の 13 週間は毎週、その後は毎月体重と摂餌量が記録された。飼料と水は自由摂取であった。各群雌雄各 15 匹のラットが、9 及び 15 か月後にと殺された。210 µg/kg 体重/日投与群において、雄ラットでは 18~77 週間の間に、雌のラットでは 6~89 週間の間に体重が 4~7%減少した。一般所見上の変化はみられなかった。血液学的検査と血清の化学分析の結果、生物学的に有意な影響は認められなかった。OTA 投与により尿量の増加と比重の低下が認められ、尿を濃縮する能力にわずかな変化がみられたが、腎臓機能の変化は伴わなかった。雄における腎臓腺腫及び腎臓がんの発生頻度は、0、21、70 又は 210 µg/kg 体重/日の OTA の投与群で 1/50、1/51、6/51 及び 10/50 並びに 0/50、0/51、16/51 及び 30/50 であった。腎尿細管細胞の腺腫とがんを合わせた発生頻度は、70 及び 210 µg/kg 体重/日の OTA 投与群で、それぞれ 36/50 及び 20/51 であった。210 µg/kg 体重/日投与群では、腎臓腺腫及び腎臓がんが、複数個あるいは両側の腎臓に認められた。最終と殺の前に死亡又は瀕死の状態の雄の数は、投与量に依存して増加し、210 µg/kg 体重投与群では有意に増加した(0、21、70 又は 210 µg/kg 体重投与に対し、それぞれ 7、19、23 又は 26 匹)。70 及び 210 µg/kg 体重/日の OTA 投与群において、生存数の減少が腎臓がんの存在に起因していると考えられ、死亡したラットのうち腎臓がんが認められた割合は各々の投与群で 15/23 18/26 であった。転移性がんを有していたラットはと殺前に死亡する例が多かった。転移性がんを有していた割合は、と殺前に死亡したラットでは 70 及び 210 µg/kg 体重投与で各々 3/8 及び 11/15 であったが、最終日にと殺されたラットでは、各々 0/7 及び 3/15 であった。一方で、21 µg/kg 体重群の雄ラットでは、生存率の減少が 70 又は 210 µg/kg 体重投与群と同様であったにもかかわらず、腎臓がんは認められなかった。雌においては、腎臓腺腫と腎臓がんの合計頻度は、OTA を 0、21、70 又は 210 µg/kg 体重投与した群で、それぞれ 0/51、0/51、2/50 又は 8/50 であった。ラットにおいて OTA により誘発された腎臓がんは、主に肺及びリンパ節に転移した。210 µg/kg 体重/日投与の雌ラットでは、多重度の乳腺線維腺腫が認められた。乳腺線

1 維腺腫の発生頻度は、対照及び低用量投与群の 4～5/50 と比較し、14/50 であつた。
2 非腫瘍性の毒性は主として腎臓に関係するものであつた。老齢のラットに共
3 通する慢性のびまん性腎症は、全ての群で雄雌とも同じ発生頻度であつたが、傷
4 害の程度は報告されていなかった。13 週間の予備試験ラット並びに 9、15 及び
5 24 か月の毒性試験ラットにおいて、70 及び 210 µg/kg 体重/日の OTA 投与群の
6 雌雄に、巨大核又は 倍数体の核と突起状の核小体を持つ大きな腎臓上皮細胞(有
7 核細胞肥大)が認められた。(参照 13(1989)#318)

8 第 44 回 JECFA において、この NTP 試験について検討された。雄ラットにお
9 ける腎臓がん発生頻度が、70 µg/kg 体重 OTA 投与群で 16/51 及び 210 µg/kg 体
10 重 OTA 投与群で 30/50 であり、それ以下の低用量投与群ではがんが認められな
11 かったことが着目された。210 µg /kg 体重の OTA 投与群でそれぞれ 0/50、1/50、
12 3/50 であつた。腎臓腺腫は、全ての投与群の雄で認められ、投与量に応じて発生
13 頻度が増加した。雌ラットにおける腎臓腺腫は 70 及び 210 µg/体重投与群でのみ
14 認められた。乳腺線維腺腫は、処置ラットの 45～46%で認められ、対照群より有
15 意に高い発生頻度であつた(参照 41(2001)#1031)。

16 NTP の試験における腎臓標本が、その後レビューされ(参照 42(2000)#547),原
17 文入手手配中 G.C. Hard, Histopathologic evaluation of rat kidney from toxicity and
18 carcinogenicity studies with ochratoxin A. "*Expert report by International Life*
19 *Science Institute, Washington DC, USA.2000*"), JECFA において検討された。傷
20 害部位は、髓質外層の外帯にある近位直尿細管 S3 分節であることが確認された。
21 2 年間慢性・発がん試験における組織学的所見は、巨大核細胞及び肥大した有核
22 細胞の増加による S3 尿細管の萎縮と組織破壊が認められた。この変化は、雌雄
23 ともに明らかな用量反応関係を示した。16 日間及び 13 週間試験において髓質外
24 層の外帯を含む尿細管における局所的な細胞死、細胞分裂の活性化及び尿細管過
25 形成を伴った好塩基性細胞の増加が認められた。これらの損傷部位と 2 年間試
26 験の発がん部位に相関が認められ、発がんのメカニズムに関与する可能性も考え
27 られたが組織化学的な所見のみでは不十分とされた。髓質外層の外帯に関わるこ
28 の他の非腫瘍性の傷害は、拡張した異型尿細管、色素嫌性尿細管、嚢胞性尿細管
29 であり、嚢胞性尿細管は雄より雌ラットに顕著に認められた。マイクログラムオ
30 ーダーの OTA が、腎尿細管がんを高頻度で誘発し(高用量群雄の 74%)、がんが腺
31 腫より多く認められた。がんは比較的迅速に発症し、悪性で急速に進行した。通
32 常とは異なって、未分化の表現型を示す傾向が認められ、比較的高頻度で転移し、
33 明らかに死亡の原因と考えられるケースもあつた。これら OTA で誘発されるが
34 んの各特徴は、非遺伝毒性物質である d-リモネンやクロロホルムなどに誘発され
35 る腎臓がんにみられる特徴とは異なっている。未分化で活発な性質を持つ傾向は、
36 フモニシン B₁ で誘発される腎尿細管がんと類似性があつた。フモニシン誘発の腫
37 瘍は、スフィンゴ脂質代謝の変化を介した間接的なものと推定されている。OTA
38 が DNA に作用している可能性も考えられたが、JECFA では悪性で進行性の腫瘍

の誘発メカニズムが、DNA との反応によるという確実に示しているかどうかは不明であるとされた。(参照 41(2001)#1031)

NTP の試験結果をまとめ、表 6～表 8 に示した。

表6 雄のマウスとラットにおけるオクラトキシン A による巨大核及び発がん性の LOAEL 及び NOAEL

動物種	影響	試験期間	LOAEL ($\mu\text{g/kg}$ 体重/日)	NOAEL ($\mu\text{g/kg}$ 体重/日)
マウス(雄) ^a	腎臓腫瘍	2 年間	4400	130
ラット(雄) ^b	近位尿細管細胞 の核肥大	90 日間 9 及び 15 か月間	62.5 70	設定せず 21
	腎臓腫瘍	2 年間	70	21

a : OTA 混餌投与

b : OTA 5 日/週強制投与 (参照 13(1989)#318)

表7 オクラトキシン A に曝露した雄ラットにおける巨大核の発生頻度

OTA 投与量 ($\mu\text{g/kg}$ 体重/日) ^a	0	21	70	210
巨大核(%)	0/50	1/51(2)	51/51(100)	50/50(100)

a : 5 日/週で 2 年間強制経口投与 NTP(1989)より (参照 13(1989)#318)

表8 オクラトキシン A に曝露した雄ラットにおける腎臓腫瘍と巨大核の発生頻度

OTA 投与量($\mu\text{g/kg}$ 体重/日) ^a	0	21	70	210
腺腫(%)	1/50(2)	1/51(2)	6/51(12)	10/50(20)
生命表検定	$P<0.001$	$P=0.669$	$P=0.023$	$P<0.001$
ロジスティック 回帰テスト	$P<0.001$	$P=0.669$	$P=0.053$	$P=0.004$
がん(%)	0/50	0/51	16/51(31)	30/50(60)
生命表検定	$P<0.001$	-	$P<0.001$	$P<0.001$
ロジスティック 回帰テスト	$P<0.001$	-	$P<0.001$	$P<0.001$
腺腫 及びがん(%)	1/50(2)	1/51(2)	20/51(39)	36/50(72)
生命表検定	$P<0.001$	$P=0.669$	$P<0.001$	$P<0.001$
ロジスティック 回帰テスト	$P<0.001$	$P=0.669$	$P<0.001$	$P<0.001$

a : 5 日/週で 2 年間強制経口投与 NTP(1989)より (参照 13(1989)#318)

リスク評価のための追加情報を得るために、JECFA において、NTP で実施されたラットの OTA 発がん性試験データ(参照 13(1989)#318)を用いて、ベンチマーク量(BMD)モデル化が行われた。腎臓発がんに対する性及び種感受性として、雄ラット腎臓における腫瘍と癌の組合せ発生頻度が(表 6)、モデリングの最も適当なデータとされた。

注) BMD 手法は、対照群に対し 5%又は 10%で代表的に選ばれた軽度であるが確認可能な反応(ベンチマーク反応)を引き起こすことが感知できる範囲及び推定量を含む実験データに適合する数学モデルに基づい

ている。用量－反応評価において、定量的な低濃度の分析が可能なことより、健康影響のため NOAEL と LOAEL 手法の代案として提唱された(国際化学物質安全性プログラム)。BMD の下限値(BMDL)は、BMD の 95%信頼区間片側に相当する下限を意味している。下限値を用いることは、その試験の持つ不確かさを考慮に入れ、選択したベンチマーク反応が限度を超えないことを保証(95%信頼水準)することになる。

米国環境保護局の BMD ソフトウェア ver.1.4.1(参照 43(2007)#956)を用いて、雄ラットにおける腎臓腫瘍の量－反応のモデリングにおいて、対照群のバックグラウンド発生頻度と比較した腫瘍の追加 10%の増加に対しての BMD₁₀ と BMDL₁₀ の値が、250 回の繰り返し計算(イテレーション)を行うことにより推定された。使用したモデルの BMD₁₀ と BMDL₁₀ の値を、関係する統計量とともに表 9 示した。

算出された OTA の BMD₁₀ 値は 18～33 µg/kg 体重/日で、最も信頼できる BMD₁₀ 値は 30 µg/kg 体重/日付近にあった。BMDL₁₀ 値は、最小の 15 µg/kg 体重/日から最も良好に適合したモデルにおける 25 µg/kg 体重/日の範囲であった。従って、BMDL₁₀ 値は、PTWI の設定の根拠となっているブタにおける腎臓毒性を指標とした LOAEL 8 µg/kg 体重/日と比較し、より高い値であることが確認された(参照 44(2008)#1032)。

表9 NTP の試験からの雄 F344 ラットにおける腎臓腫瘍発生頻度に基づく
BMD₁₀ 及び BMDL₁₀ 算出

モデル	対数 (尤度)	p-値	AIC	X ² 乗	p-値	許容	BMD ₁₀ µg/kg 体重/日	BMDL ₁₀ µg/kg 体重/日
Full model	-71.61							
Gamma multi-hit	-76.36	0.02	158.7	4.91	0.03	??	30	18
Log-logistic	-75.57	0.05	157.1	3.46	0.06	Yes??	32	21
Multistage	-77.29	0.01	160.6	5.96	0.01	??	24	15
Log-probit	-75.05	0.09	156.1	2.64	0.1	Yes	33	25
Quantal-linear	-77.74	0.02	159.5	5.99	0.05	??	18	15
Weibull	-76.68	0.01	159.4	5.27	0.02	??	28	17
Reduced model	-120.77	<0.001						

AIC:赤池情報量規準の略でモデルの選択基準、一般に小さいほうが良いモデルとされる。

NTP(1989)のデータより。OTA を 5 日/週で 2 年間強制経口投与

F344/N ラット(雄、一群 5 匹)に OTA が 0、21、70 又は 210 µg/kg 体重/日の濃度で、14、28 又は 90 日間、5 日/週で強制経口投与された。この試験は、NTP(参照 13(1989)#318)による 2 年間試験で用いられた投与量を用いて実施され、低用量 OTA 投与がラット腎臓発がんに与える影響を検証するものであった。組織検査において、70 µg/kg 体重以上の投与群で、OTA 誘発腫瘍の発生部位である腎臓髓質外層外帯の近位直尿細管に巨大核細胞及び細胞死などの変化が認められた。また、70 µg/kg 体重以上の投与群において用量及び時間依存的に異常な細胞増殖が認められ、その範囲は髓放線から髓質外層の外帯まで認められた。21µg/kg 体重/日投与群の腎臓と肝臓には影響がみられなかった。この試験の NOAEL は 21 µg/kg 体重/日であった。OTA で誘発される細胞増殖の促進と腫瘍形成との間に明らか

な相関がみられたことから、本研究では細胞増殖を刺激することが OTA の発がん性に主要な役割を果たしていると考えられたとされている。(参照 36(2007)#331)

③ ブタ

ブタ(雌、一群 3 匹又は 6 匹)に 1 mg/kg/日の OTA が 2 年間混餌投与された。3 か月後には、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管上皮細胞に局所的に尿細管の萎縮及び間質の線維化が認められた。この所見は 2 年後には広範囲に認められ、近位尿細管の構造変化及び壊死が生じ、萎縮した尿細管の上皮細胞間に単球の浸潤が認められた。近位尿細管では NADPH テトラゾリウム還元酵素、コハク酸テトラゾリウム還元酵素及びアルカリホスファターゼの酵素活性が低下したことから、本研究では TCA 回路及び呼吸鎖の機能が低下したと考えられたとされている。(参照 26(1979)#95)

(4) 生殖発生毒性

いくつかの発生毒性影響についての試験では、OTA が胎盤を通過し、ラット及びマウスに対する胎児毒性及び催奇形性が示されている。OTA の発生毒性試験の主なものを表 10 にまとめた。

表10 オクラトキシン A の生殖発生毒性試験の結果

動物種、系統、性、齢	試験	用量		投与経路	作用	LOAE L(mg/kg 体重/日)	NOAE L (mg/kg 体重/日)	参考文献
		飼料中の含有率 (mg/kg)	1日あたりの摂取量 (mg/kg 体重/日)					
マウス、CBA、妊娠(10)	発生毒性、妊娠 8、9 日 妊娠 -2 日、妊娠 2 ~14 日		0、1、2、4 (コーン油)	強制経口	・すべての投与群で胎児に影響 ・妊娠 8 又は 9 日目投与群で胎児の顔面上部構造の無形成と形成異常	4<		(参照 45(1981)#57)
マウス、CD-1、妊娠(10~13)	発生毒性、妊娠 8 日目に投与し、18 日目に検査		0、2、3 [タンパク質(カゼイン)量を調整]	飼料	・胎児頭蓋顔面の奇形	2		(参照 46(1985)#205)
マウス、ICR、妊娠	発生毒性、発生毒性、妊娠 10 日目に投与		0、3	腹腔内	・小脳症	3		(参照 47(1992)#106)
マウス、遺伝的多指症/無嗅脳症マウス、妊娠	発生毒性、妊娠 7.5 日目に投与		2 (NaHCO ₃ 溶液)	腹腔内	・神経管欠損	2		(参照 48(2007)#451)
ラット、	発生毒性、		8 及び 9 日	腹	・数回の投与及	4		(参照 49(1974)#498)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

Wistar、妊娠(12~20)	妊娠 8 日目から投与		目に 2.5、8~11 日目に 1.2、8~13 日目に 0.83 又は 8~15 日目に 0.63	腔内	び妊娠初期に分けて投与された雌親に最も影響 ・胎児の吸収胚の増加、平均胎児数、平均胎児体重、胎盤の平均重量減少			
ラット、Wistar、妊娠	発生毒性、妊娠 8 ~ 15 日		8 及び 9 日目に 2.5、8~11 日目に 1.2、8~13 日目に 0.83 又は 8~15 日目に 0.63	強制経口	・催奇形性、胎児数、胎児重量減少	N/A		(参照 50(1975)#499)
ラット、Sprague-Dawley、妊娠(6~9)	発生毒性、妊娠 6~15 日		0、1	強制経口	・胎児の骨格、肺、腎臓奇形	1		(参照 51(1999)#50)
ラット、Wistar、妊娠(10)	発生毒性、妊娠 6~15 日		0、0.125、0.25、0.50、0.75	強制経口	・0.5 mg/kg 投与以上で有意な催奇形性、胚吸収の増加 ・0.25 mg/kg 投与以上で有意な胎子数減少	0.25		(参照 52(2004)#361), (参照 53(2004)#362)
ラット、Wistar、妊娠(10)	発生毒性、妊娠 6~15 日		0、2.0、2.5、2.75、3.0、3.5、4.0	強制経口	・外水頭症、頭蓋骨不完全閉鎖、臍帯ヘルニア、内水頭症、小眼症、腎盂拡張、腎形成不全	2.75		(参照 54(2006)#325)
ウサギ New Zeal White、妊娠(5)	発生毒性、妊娠 6~18 日		0、0.025、0.05、0.10	強制経口	・胎児体重と生存胎子数減少、催奇形性	0.10		(参照 55(2005)#500)

① マウス

妊娠 8 又は 9 日目(膈栓形成を 1 日目とする)の CBA マウス(一群 10 匹)にコーン油に溶解した OTA が 0、1、2 又は 4 mg/kg 体重で投与される発生毒性試験が実施された。妊娠 19 日目にと殺し、母体及び胎児の生死、生存胎児の体重、肉眼的観察及び骨格が検査された。4 mg/kg 体重 OTA を妊娠 8 又は 9 日目に投与した群における胎児の死亡率はそれぞれ 17.3 又は 22.2%であった。生存胎児の体重は、用量依存的に減少し、対照群として溶媒を妊娠 8 又は 9 日目に投与した群ではそれぞれ 1.04±0.024 g 又は 1.09±0.02 g であったが、4 mg/kg 体重 OTA を妊娠 8 又は 9 日目に投与した群ではそれぞれ 0.93±0.02 g 又は 0.62±0.02 g であった。4 mg/kg 体重の OTA 投与により認められた主な異常は、妊娠 8 又は 9 日目投与群で脳ヘルニアがそれぞれ 10.4%(7/67;67 匹中 7 匹)又は 89.3%(50/56)、小眼球症が 6%(4/67) 又は 26.8%(15/56)、眼瞼開存が 6%(4/67) 又は 16.1%(9/56)並びに奇形のあご及び舌突出が 1.5%(1/67) 又は 41.1%(23/56)であった。半数の

胎児について更に骨格を調べた結果、椎骨及び胸骨における癒合が認められた。これらの胎児の異常は、頭蓋骨の骨格と側部壁の骨の位置及び大きさの配置異常による脳頭蓋の閉鎖の不具合から起こると考察された。さらに、交尾 1 日前、妊娠 2、4、6、7、10、11、12、13、14 又は 16 日目に 4 mg/kg 体重を強制経口投与し、妊娠 19 日目に母体及び胎児が観察された結果、胎児への影響はすべての投与群で認められた。妊娠 7 日目投与群で胚致死数の有意な増加が、妊娠 10、11、13 及び 14 日目投与群で有意な胎児体重の減少が認められた。妊娠 9 日目投与群では、形成阻害への影響が明らかに認められた。これらの結果から、本研究では母体への毒性はなかったとしている。(参照 45(1981)#57)

CD-1 マウス(雌、一群 10～13 匹)に精製タンパク質食(カゼイン)を 26%、16%、8%又は 4%を含有する飼料を交配中及び妊娠中に摂取させて、OTA の催奇形性作用におけるタンパク質欠乏の影響が調べられた。妊娠(膈栓形成を 1 日目とする)8 日目に、0、2、3 mg/kg 体重の OTA を単回強制経口投与し、母動物は妊娠 18 日目にと殺された。OTA 投与は、母動物の摂餌量に影響しなかった。OTA 非投与群の母動物は、いずれのタンパク質食でも死亡例はなかったが、3 mg/kg 体重の OTA 投与群において、26%、16%、8%及び 4%のタンパク質食を含有する飼料を摂取させた群の OTA 投与後 48 時間以内の母動物の死亡数は、それぞれ 5、4、1 及び 14 匹であった。胎児の生存率は、8%及び 4%のタンパク質食摂取群において OTA 投与により有意に減少した。OTA を投与しない 26%タンパク質食摂取群(コントロール群)及び 16%タンパク質食摂取群に胎児の外表奇形はみられなかった。OTA の用量依存的に外表奇形の増加が認められ、その発生率はタンパク含有量が少ないほど増加した(表 1 1)。OTA 投与により主に唇顎口蓋裂及び骨格異常がみられ、4%のタンパク質食摂取群では四肢及び尾に外見の奇形が認められた。(参照 46(1985)#205)

表 11 オクラトキシン A と摂餌タンパク質含量が奇形形成に及ぼす影響

奇形胎字数/全胎字数(%)

OTA 投与量mg/kg 体重	タンパク質含有率 (%)			
	26	16	8	4
0	0/120(0)	0/142(0)	3/119(3.0)	14/141(9.8)
2	6/127(4.7)	30/131(21.3)	10/79(12.6)	35/48(77.7)
3	23/91(25.2)	23/133(17.0)	50/111(45.0)	48/60(81.3)

妊娠 10 日目の ICR マウスに 0 又は 3 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与した結果生まれた雄マウス(一群 6 匹)の脳重量は OTA を投与しない母動物から生まれた雄マウスより有意に少なく、大脳皮質の厚さは有意に薄かった。発生した小脳症について、6 週齢でニューロンとシナプスの定量的評価を行ったところ、体性感覚皮質において、OTA に暴露された群では、OTA の暴露のない対照群よりニューロンあたりシナプス数が少なく、神経細胞樹状突起の発育不良を示していた。

(参照 47(1992)#106)

多指症/無嗅脳症(*Pdn/Pdn*)マウスには神経管欠損(NTD)が 13.2 %の割合で認められた。*Pdn/+*の雌雄を交雑した後、妊娠 7.5 日に 2 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与した結果、神経管欠損の発生率は 51.6 %に増加した。(参照 48(2007)#451)

② ラット

妊娠 Wistar ラット(一群 12~20 匹)の 5 群に、0.16 mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液として、総量 5 mg/kg 体重の OTA が強制投与された。各群の詳細は、妊娠(膣栓形成を 1 日目とする)8 及び 9 日目に 2.5 mg/kg 体重の投与群、妊娠 8~11 日目に 1.2 mg/kg 体重投与群、妊娠 8~13 日目に 0.83 mg/kg 体重投与群、妊娠 8~15 日目に 0.63 mg/kg 体重投与群並びに非投与の対照群であった。同様の方法で、ラット(各群 20 匹)に妊娠 8 及び 9 日目に 2.5 mg/kg 体重の OTA を単回投与並びに妊娠 8~10 日目に 1.67 mg/kg 体重単回投与する発生毒性試験が実施された。ラットは妊娠 20 日目にと殺された。各群の雌 1 匹あたりの着床数に有意差はなかった。総量と同じ OTA であっても、数回の投与及び妊娠初期に分けて投与された雌が、最も影響を受けた。雌 1 匹あたり胚吸収の数は、用量に依存する増加があり、雌 1 匹あたりの平均胎子数、平均胎子体重及び胎盤の平均重量の減少に用量依存性があった。高用量投与に関係する胎子の出血の発生頻度(1.2 mg/kg 投与の 2、2.5、4 倍認められた)及び体腔に水腫があるものとなないものが認められ、著者らは、奇形反応の影響と考察している。(参照 49(1974)#498, 56(1993)#136)

同じ試験室での調査で、同様の試験計画でラットの観察を生後 82 日後までとした発生毒性試験が行われた。新生ラットの平均数、4 日後に生存していたラットの平均数及び生存力指標に、用量に依存した減少が認められたが、授乳期指標には認められなかった。OTA を 2.5 mg/kg 体重で 2 回投与した群では、82 日目の雄と雌の子の平均体重が、それぞれ 12 又は 8%減少した。同じ群で、出生 15 日後に雄児動物の 26%に水頭症が観察され、これらのラットの 40%は生後 20 日までに死亡した。(参照 50(1975)#499)

妊娠 6~15 日目の Sprague-Dawley ラット(一群 6~9 匹、膣栓形成を 1 日目)に OTA を 0 又は 1 mg/kg 体重で経口投与し、妊娠 20 日目にと殺して母動物と胎児が観察された。胎児体重の減少と吸収胚数の増加が認められたが、母動物に明らかな悪影響は見られなかった。OTA の暴露を受けた胎児には、骨格の骨化不全、胸骨欠損又は尾椎欠損が 30 匹中 6 匹(20%)、3 匹(10%)又は 2 匹(6.7%)認められた。腎臓及び胚の奇形が 15 匹中 6 匹(40%)又は 3 匹(20%)認められた。抗酸化作用のある L-メチオニンを 43.0mg/kg 体重の用量で OTA と同時に投与すると OTA の発生毒性を予防した。(参照 51(1999)#50)

妊娠 6~15 日目の Wistar ラット(一群 10 匹)に OTA を、0、0.125、0.25、0.50 又は 0.75 mg/kg 体重/日で強制経口投与する発生毒性試験が実施された。OTA は、0.25 mg/kg 体重/日以上投与群で、用量に依存して生存胎児数が減少し、0.75

mg/kg 体重/日投与群では有意に減少した。胎児体重と頭殿長も用量に依存して減少し、胎児の体重増加は 0.50 mg/kg 体重/日以上で有意に減少した。外表奇形、骨格及び臓器の異常が、全ての投与群において用量に依存して増加し、0.5 mg/kg 体重/日投与以上で統計的に有意な増加であった。外表奇形には、脳ヘルニア、頭蓋骨の閉鎖不全、小顎症、小肢症、尾の曲湾、脊柱側湾症及び後部矮小などが認められた。骨格異常には、多数の骨の不完全骨化並びに融合又は枝分かれした肋骨が認められた。臓器の異常には、水頭症、小眼症、腎盂拡張、水腎症及び停留睾丸などが認められた。胎児の肝臓、腎臓、脳及び眼の組織学的検査において、0.25 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物からの胎児に、水腫、腎臓の線維化及び尿細管上皮細胞の変性、肝細胞変性、胆管増殖、小脳の不完全形成並びに水晶体及び網膜の欠陥などの発生頻度の増加が認められた。(参照 52(2004)#361, 53(2004)#362)

Wistar ラット(一群 10 匹)の妊娠 6～15 日のうち一日に 0、2.0、2.5、2.75、3.0、3.5 又は 4.0 mg/kg 体重の OTA が単回経口投与された。催奇形性を指標とした OTA の最小投与量は、2.75 mg/kg 体重/日であった。催奇形性に対し最も感受性の高い日は、妊娠 6 日目と 7 日目であった。(参照 54(2006)#325)

③ ウサギ

ニュージーランド白ウサギ(一群 5 匹)に OTA を妊娠 6～18 日目に、0.025、0.05 又は 0.10 mg/kg 体重/日で経口投与する発生毒性試験が実施された。0.10 mg/kg 体重/日投与群で、胎児体重及び生存胎児数に有意な減少があった。胎児には、水頭症、小眼症、球節の突き出し、尾の未発達又は無発育、波状肋骨、腎臓の無形成並びに頭蓋骨及び背骨の骨化不良の発生頻度が増加した。肝臓、腎臓、脳、眼の組織学的検査により、胎児の肝臓及び腎臓に用量依存的な障害の増加が認められた。(参照 55(2005)#500)

1 (5) 遺伝毒性

2 遺伝毒性試験の結果を表 1 2 (*in vitro*)及び表 1 3 (*in vivo*)にまとめた。表 1 2

3 オクラトキシン A の *in vitro* 遺伝毒性試験結果

4 ○細菌を用いた突然変異試験

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA1535	0.1、1、10、100 μg/プレート	ラット肝臓 S9	—	—	1978	(参照 57(1978)#296)
	TA100			—	—		
	TA1538			—	—		
	TA1537			—	—		
	TA98			—	—		
復帰突然変異	TA1535	0.5、5、50、500 μg/プレート	ラット S9	—	—	1980	(参照 58(1978)#41)
	TA100			—	—		
	TA1537			—	—		
	TA98			—	—		
復帰突然変異	TA1535	50、100、200、 400、600 μg/ プレート	ラット S9	—	—	1985	(参照 59(1985)#244)
	TA100			—	—		
	TA1538			—	—		
	TA1537			—	—		
	TA98			—	—		
復帰突然変異	TA1535,	1、3.3、10、 33、100μg/プ レート	ハムスター及びラットの肝臓由 来 S9	—	—	1989	(参照 13(1989)#318)
	TA100			—	—		
	TA98			—	—		
	TA97			—	—		
復帰突然変異	TA102,	37、111.1、 333.3、991.2 μg/プレート	ラット S9	—	—	1991	(参照 60(1991)#234)
復帰突然変異	TA1535,	0.2 μM/2ml	OTA をラット初代肝細胞と培養 した調整培地、2 時間	n.d.	+	1991	(参照 61(1991)#502)
	TA100	0.2 μM/2ml		n.d.	+		
	TA1538	0.2 μM/2ml		n.d.	+		
	TA1537	0.2 μM/2ml		n.d.	—		
	TA98	0.2 μM/2ml		n.d.	—		
復帰突然変異	TA1535	0、121、403、 1210 μg/プレ ート(0、0.3、 1、3 mM/プレ ート)	マウス肝臓 S9+NADP、ラット 肝臓 S9+NADP、マウス腎臓 S9 +NADP、マウス腎臓 S9+アラ キドン酸	—	+	1999	(参照 62(1999)#321)
	TA1538			—	+		
	TA98			—	+		
復帰突然変異	TA100	10~200 mg/ プレート	ラット腎臓ミクロソーム/細胞質 +NADPH+GSH、ラット肝臓細胞 質、ラット肝臓 GSH S-転換酵 素粗抽出物、ラット肝臓 S-9+ NADPH+GSH、ヒト CYP3A4、 HRP+過酸化水素	—	—	2001	(参照 63(2001)#364)
	TA2638			—	—		
復帰突然変異	TA100	2.5、5、10、 25、50 mM/L	HepG2 由来 S9mix	—	—	2002	(参照 64(2002)#267)
	TA98			—	—		
復帰突然変異	TA100	0.01、0.04、 0.05、0.1、0.2、 0.25、0.5 mM/ プレート	ラット S9mix (市販) 又はラット 初代培養肝細胞と OTA を共培養 した上清(#502 と同じ条件)	—	—	2003	(参照 65(2003)#278)
	TA102			—	—		
	TA104			—	—		
	TA1538			—	—		
	TA1537			—	—		
	TA98			—	—		
復帰突然変異	<i>Escherichia coli</i> WP2	0.1~1000 mg/ml	ラット S9	—	—	1985	(参照 59(1985)#244)
	WP2uvrA-	0.1~1000 mg/ml	ラット S9	—	—		

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

復帰突然変異	<i>S.cerevisiae</i> D3	0.1~100 mg/plate	ラット肝臓 S9mix	—	—	1978	(参照 57(1978)#296)
--------	------------------------	------------------	-------------	---	---	------	-------------------

1 n.d.:データ無し

2

3 ○ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			コメント	年	参照文献
			活性化に用いた物質	無	有			
復帰突然変異	C3H マウス乳腺細胞	5、10 mg/ml		—	n.d.	・ pSV.SPORTlacZ を用いた復帰突然変異試験	1977	(参照 66(1977)#358)
前方突然変異	マウス L5178Y TK+/-	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、12.5 mg/ml	ラット S9	—	—	・ 25 mg/ml 以上は細胞毒性	1985	(参照 59(1985)#244)
遺伝子変異	マウス胎児繊維芽細胞由来 NIH/3T3 (ヒトチトローム P450 発現)	2、10、50、100 mg/ml	ヒトチトローム P450 を発現させた細胞	—	+	・ CYP1A1、CYP1A2、CYP2C10、CYP3A4 は OTA による変異を誘導 ・ CYP2D6 及び CYP2E1 は変異を誘導しなかった	1996	(参照 67(1996)#258)
前方突然変異 (HP RT 突然変異アッセイ)	チャイニーズハムスター V78 細胞	0.1、0.25、0.5、1、2.5、5、10、50、100 mM	ラット S9mix	—	—		2003	(参照 65(2003)#278)
前方突然変異 (HP RT 突然変異アッセイ)	チャイニーズハムスター V78 細胞	35、80、187、483 mM(3h)	ラット肝臓及び腎臓 S9	(+)	(+)	・ 弱い染色体異常、用量相関性はない ・ 代謝は関係なし	2007	(参照 68(2007)#457)
前方突然変異 (マイクロタiter 法)	マウスリンフォーマ LY5178/TK+	3、81、188、438 mM(3h)	ラット腎臓 S9	(+)	(+)	・ 81 mM 以上 (—S9) 又は 3~188 mM (+S9) で弱い染色体異常		

4

5 ○哺乳類由来細胞を用いた染色体異常試験

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			コメント	年	参照文献
			活性化に用いた物質	無	有			
in vitro 小核試験	ヒツジ精嚢小胞細胞由来 OSV 細胞	12、18、24、30 μM/L		+		・ 12 μM/L から用量依存的に陽性 ・ キネトコア染色により OTA の作用は主に構造異常	1997	(参照 69(1997)#257)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

<i>in vitro</i> 小核試験	ハムスター 胚由来 SHE 細胞	5、10、15、20 μM/L		+	n.d.	・ 5～15 μM/L で用 量依存性あり。20 は細胞毒性 ・ OTA 培養 36 時間 で影響が最も強く 認められた ・ キネトコア染色に より OTA の作用は 構造異常 ・ 細胞内カルシウム の変化による誘発 効果、アクチンフィ ラメントに作用	1999	(参照 70(1999)#263)
<i>in vitro</i> 小核試験	ヒト肝臓が ん由来 HepG2 細胞	25 μg/ml(1 時間 又は 2 時間培 養) 5、10、25、50 μg/ml (24 時間培 養)		+	n.d.	・ 時間依存的な小核 を有する細胞数の 増加 ・ 5～25ug/ml で小核 を有する細胞数の 用量依存的増加	2002	(参照 64(2002)#267)
染色体 異常	CHO 細胞	30、50、100、 160、300 μg/ml		—	—		1989	(参照 13(1989)#318)
染色体 異常	ヒトリンパ 細胞 (6 人健 常女性)	0.015 μM/L	S 9mix(ラッ ト腎臓)	+	+	・ 数的異常及び構造 異常 ・ 数的異常では X 染 色体のトリソミー が多い (バルカン腎 症によくみられる)	1990	(参照 71(1990)#313)
染色体 異常	ウシリンパ 球	0.1、0.5、1、2 μM/L		+	n.d.	・ 0.1 μM/L から用量 依存的な染色体切 断、染色分体切断、 フラグメンテーシ ョン、ギャップの増 加 ・ 0.1 μM/L で 2～3 倍、2 uM/L で 4～5 倍	2004	(参照 72(2004)#305)
染色体 異常	チャイニー ズハムスタ ー V78 細胞 ヒトリンパ 細胞 (健常男 性 1 名)	24.8、53.2、 114.9、247.6、 532.4、1149.0、 2476.4 μM/L	ラット肝臓又 は腎臓由来 S9 mix ラット肝臓由 来 S9 mix	— —	— —	・ 2476.4 μM は細胞 毒性 ・ 532.4 以上で細胞 毒性	2008	(参照 73(2008)#411)

1

2

○インディケーター試験

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			コメント	年	参考文献
			活性化に用い た物質	無	有			
SOS 試 験	<i>B.subtilis</i> rec	20～100 mg/disc		—			1975	(参照 74(1976)#357)
SOS 試 験	<i>E.coli</i>			—	n.d.		1986	(参照 75(1986)#242)
SOS 試 験	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> PQ37	1、2、4mM		+		・ ビタミン E の水溶 性型であるトロロ ックス C(Trolox C は、 OTA の遺伝毒性を 完全に消失させた	1994	(参照 76(1994)#167)
<i>in vitro</i> DNA 一 本鎖切断	Balb/c 雄マウ ス脾臓初代 培養細胞	10 μg/ml		+	n.d.	・ 48 時間培養で DNA 一本鎖切断	1985	(参照 77(1985)#254)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

in vitro DNA 一本鎖切断	チャイニーズハムスター卵巣細胞、	25、50、100、200 µg/ml		+	n.d.	・ 200 µg/ml で陽性	1986	(参照 78(1986)#349)
	ラット繊維芽細胞			—	n.d.			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト肝臓がん由来 HepG2	5、10、15、20、25、30 µM/L		+	n.d.	・ 用量依存的に陽性	2002	(参照 64(2002)#267)
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	イヌ腎臓 MDCK 細胞	0.001、0.01、0.1、10、100、500 µM	S9-mix (ラット肝臓)	+	+	・ S9-mix は DNA 損傷を増強 ・ 濃度依存的に一本鎖切断を誘導	2003	(参照 79(2002)#300)
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞	500、1000、2000 µM/L(1 時間) 0.25、0.5、1、2.5 µM/L(24 時間)		+	n.d.	・ 2.5 µM 以上 24 時間で生存率低下、アポトーシス増加 ・ 1 時間の OTA 処理で 500 mM/L 以上で増加傾向、2000 mM/L で Fpg 存在下で有意に DNA 損傷の増加 ・ 24 時間の 0.5 mM/L 以上の OTA 濃度で有意に DNA 損傷増加し、Fpg 処理によりすべての用量で増加	2005	(参照 80(2005)#291)
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	アフリカンモンキー腎臓由来 CV-1 細胞			+	n.d.	・ 生存率の明らかな低下なし ・ 1mM/L 以上でアポトーシス増加 ・ 1 時間の OTA 処理で 1000µM/L で有意に DNA 損傷の増加、Fpg 及び EndIII 処理によりすべての用量で増加 ・ 24 時間では OTA による DNA 損傷の増加は認められなかったが、Fpg 処理によりすべての用量で増加		
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	雄ラット腎臓初代培養細胞			+	n.d.	・ OTA による DNA 損傷の増加は認められなかった。 ・ Fpg 及び EndIII 存在下では DNA 損傷増加		
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト CYP2C9 あるいは CYP3A4 を発現させた NIH/3T3 細胞	10、25、50、100、150、200 mM (8h)	ヒト CYP2C9 あるいは CYP3A4	—	+	・ 非発現細胞では OTA の影響ほとんどなし ・ CYP2C9 発現により 200 µM で陽性	2006	(参照 81(2006)#345)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト尿路上皮細胞初代培養	100 μ M/L	OTA 3h	±	n.d.	・個人差あり	2006	(参照 82(2006)#301)
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト腎臓由来 HK-2 細胞	50 μ M (6 及び 24 時間)		+	n.d.	・6 時間では陰性。 24 時間で陽性；細胞毒性の影響あり ・FpgEndoIII 処理の結果は陽性。DNA の酸化ダメージを示唆	2007	(参照 83(2007)#241)
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト腎臓由来 HK-2 細胞	50、100、200、400、600 mM (6 時間)	S9-mix (肝臓)	—	±	・3 時間では S9 の有無にかかわらず陰性 ・EndIII 及び Fpg により酸化的 DNA 損傷、S9 存在下の Fpg では有意に増加	2007	(参照 84(2007)#240)
DNA 損傷	CHO 細胞	0.2、0.8、1 mM、3h		+	n.d.	・用量依存的に陽性	2009	(参照 85(2009)#369)
不定期 DNA 合成試験	ACI ラット初代培養肝細胞	0.1、1 mM (0.4、4)		+	n.d.	・1 mM で細胞毒性	1984	(参照 86(1984)#175)
	C3H マウス初代培養肝細胞	1、10 mM (4、40)		+	n.d.	・10 mM で細胞毒性	1984	
不定期 DNA 合成試験	F344 雄ラット初代培養肝細胞	0.0000025、0.000005、0.00025、0.0005、0.0025、0.005、0.025、0.05 μ g/ml		—	n.d.	・0.025 μ M 以上で細胞毒性	1985	(参照 59(1985)#244)
不定期 DNA 合成試験	Fisher ラット肝細胞	0.01、0.1、0.5、0.75、1 μ M		+	n.d.	・1 μ M 以上は細胞毒性 ・0.75~1 μ M で弱い陽性	1997	(参照 87(1997)#264)
	ブタ膀胱上皮細胞	0.25、0.5、0.75、1、1.5、3 μ M	0.5~1 μ M で用量依存的に増加	+	n.d.	・1 μ M 以上は細胞毒性		
不定期 DNA 合成試験	ヒト尿路上皮細胞	0.05、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.52 μ M/L (24 時間)		+	n.d.		1998	(参照 88(1998)#503)
不定期 DNA 合成試験	ヒト初代培養尿路上皮細胞(胎児から 66 歳まで 4 例)	0.05、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2 μ M/L (24 時間)		+	n.d.	・0.5 μ M/L 以上ではすべての細胞で細胞毒性・0.05 μ M/L で DNA の修復率は最大・成人由来培養細胞で 0.05~0.5 μ M/L の OTA 濃度範囲において陽性	2000	(参照 89(2000)#265)
姉妹染色分体交換	ヒト末梢血リンパ細胞 (PHA 刺激)	5~10 μ g/ml		—	n.d.	・10 μ g/L で有糸分裂阻害	1984	(参照 90(1984)#83)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

姉妹染色 分体交換	CHO 細胞	5、16、50、160、 500 µg/ml(2 時 間)	S9 (ラット肝 臓)	—	+	・S9 存在下で弱い陽 性、用量依存性 ・500 µg/ml は細胞 毒性	1989	(参照 13(1989)#318)
姉妹染色 分体交換	ヒトリンパ 細胞	0.001、0.01、0.1、 1、10 µM/L	OTA をラット 初代肝細胞と 培養した調整 培地	+	+	・OTA 0.01~0.1 µM/L で陽性 ・10 µM/L で細胞毒 性	1991	(参照 61(1991)#502)
姉妹染色 分体交換	ウシリンパ 球	0.1~2 µM/L	マイトジェン で刺激後、7 2 h	+	n.d.	・細胞生存率の減少、 アポトーシスの増加	2004	(参照 72(2004)#305)
姉妹染色 分体交換	チャイニー ズハムスタ ーV79 細胞	24.8、53.2、 114.9、247.6、 532.4、1149.0、 2476.4 µM	S9mix (ラット 肝臓+腎臓)	—	—	・2476.4 µM は細胞 毒性	2008	(参照 73(2008)#411)
	ヒトリンパ 細胞		S9mix (ラット 肝臓+腎臓)	—	—	・532.4 µM は細胞毒 性		

+: 陽性、—: 陰性、n.d.: データなし

表13 オクラトキシン A の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	生物種	OTA 濃度	結果	コメント	年	参考文献
<i>in vivo</i> 小核 試験	Swiss マウス	1 µg/kg 体重、 14 日、混餌投与	+	・有糸分裂及び減数分裂における染色体 異常 ・ビタミン A 投与は OTA の影響を有意に 抑えた	1994	(参照 91(1994)#298)
<i>in vivo</i> 染色 体異常試験	マウス 骨髄細胞、精 子細胞	1 µg/kg 体重/日、 45 日混餌投与	+	・有糸分裂及び減数分裂における染色体 異常 ・ビタミン C 投与(10 mg/kg 体重/日)は OTA の影響を有意に抑えた	1994	(参照 92(1994)#246)
<i>in vivo</i> 染 色体異常試 験	F344 ラッ ト、雄	0、250、500、 1000、2000 µg/kg 体重、5 回/週、2 週間経 口投与	—	・染色分体と染色体型欠失の染色体異常 のわずかな増加、統計的な有意差なし (DNA に直接結合しない物質でみられ る異常)	2005	(参照 93(2005)#309)
<i>in vivo</i> 染色 体異常試験	Balb/c 雄マウ ス	腹腔内投与 0.6、1.2、2.4 mg/kg 体重、24 時間後にと殺		・骨髄細胞、用量依存的に構造的染色体 異常(癒合、切断、リング形成、ギャ ップ)	2008	(参照 94(2008)#405)
<i>in vivo</i> 姉妹 染色分体交 換	チャイ ニーズ ハムス ター、 雄、一 群 3 匹	0、25、50、100、 200、400 mg/kg 体重	—	・100 mg/kg 以上で細胞毒性	1985	(参照 59(1985)#244)
<i>in vivo</i> DNA 損傷、一本鎖 切断、アルカ リ溶出法	Balb/c マウ ス、脾 臓細胞	2.5 mg/kg 体重 OTA、単回、腹 腔内投与	+	・24 時間後に脾臓、腎臓、肝臓で DNA 損傷が認められた ・48 時間後には腎臓では回復したが肝臓 ではより強い影響が認められた	1985	(参照 77(1985)#254)
<i>in vivo</i> DNA 損傷、一本鎖 切断、アルカ リ溶出法	Wistar ラッ ト、雄、 一群 10 匹	0.29 mg/kg 体 重、48 時間毎に 12 週強制投与	+	・腎臓と肝臓で一本鎖切断	1986	(参照 95(1986)#293)

資料9 オクラトキシン A の評価書(案)毒性部分のたたき台(案)

第 20 回かび毒・自然毒等専門調査会 平成 23 年 3 月 8 日

<i>in vivo</i> コメントアッセイ	F344 ラット、雄	0、250、500、1000、2000 $\mu\text{g/kg}$ 体重、1 週間に 5 回、2 週間強制投与	+	- 肝臓及び脾臓で 500 $\mu\text{g/kg}$ 以上で用量依存的な DNA 損傷 - 腎臓では 250 $\mu\text{g/kg}$ 以上で DNA 損傷、用量依存性なし - Fpg 処理により腎臓における DNA 損傷が増加したが、脾臓及び骨髓細胞では Fpg の影響は認められなかった - 骨髓では 500 $\mu\text{g/kg}$ 以上で DNA 損傷が増加し、末梢血では陰性	2005	(参照 93(2005)#309)
<i>in vivo</i> コメントアッセイ	F344 ラット、雄	0、0.03、0.1、0.3 mg/kg 体重/日 4 週間経口投与、5 匹/群	+	- Fpg 処理によりすべての投与群で腎臓及び肝臓に DNA 損傷がみられた - タンパク質の酸化は認められなかった	2005	(参照 96(2005)#292)
<i>in vivo</i> コメントアッセイ	Wistar ラット、雌、一群 5 匹	0.5 mg/kg 体重、7、14、21 日間、腹腔内投与、5 匹/群	+	- 腎臓、7 日から陽性 - 腎臓組織では OTA 濃度に依存した DNA 損傷	2006	(参照 97(2006)#363)
<i>in vivo</i> 姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター骨髓細胞	経口投与 25、50、100、200、400 mg/kg 体重	—		1985	(参照 59(1985)#244)
<i>in vivo</i> レポーター遺伝子アッセイ	F344 gpt delta ラット、雌雄、	5 mg/kg 飼料(事務局換算：0.5 mg/kg 体重) 4 週・13 週経口投与	+	- 腎臓全体：gpt 試験 陰性、Spi 試験 陰性 - 腎臓髄質外帯：gpt 試験 陰性、Spi 試験 陽性	2011	第27回毒性病理学会要旨から

- 1 CYP: チトクローム P450、Endo III : エンドヌクレアーゼ III、Fpg : ホルムアミド・ピリミジン-DNA-グリコ
- 2 シラーゼ、GST : グルタチオン S-トランスフェラーゼ、S9 : 肝臓 9000×g 上清

① 遺伝子突然変異

バクテリアを用いたほとんどの復帰突然変異試験では、代謝活性化の有無にかかわらず OTA 曝露の影響は認められなかった(表 1 2)。Wistar ラット初代培養肝細胞を 100 μ M/L の OTA と 24 時間培養後の培地をバクテリアのプレインキュベーション (200 nM OTA /2ml)に用いた復帰突然変異試験で、サルモネラ菌株 *S.typhimurium* TA1535、TA1538 及び TA100 株 において陽性の結果であった(参照 61(1991)#502)が、同じ条件を用いて実施された試験では、*S.typhimurium* TA100、TA1535、TA97a、TA102、TA1537、TA1538 株において陰性であった(参照 65(2003)#278)。また、アラキドン酸を添加したマウス腎臓ミクロソーム存在下で代謝活性化された *S.typhimurium* TA98(403~1210 μ g OTA/プレート)及び TA1538 株 (121~1210 μ g OTA/プレート)は陽性であったが、アラキドン酸を添加したマウス肝臓ミクロソーム存在下では陰性であった(参照 62(1999)#321)。酸化ストレスに対し感受性がある *Salmonella* TA102(参照 60(1991)#234)、*S.typhimurium* TA2638(参照 63(2001)#364) 株を用いた OTA の復帰突然変異試験において、ラットの肝臓又は腎臓ミクロソームあるいはラット GST 又はヒト CYP3A4 を用いた代謝活性化の有無にかかわらず、陰性であった。

大腸菌株 *Escherichia coli* WP2 及び *Escherichia coli* WP2uvrA を用いた OTA の遺伝子突然変異試験の結果、S9 による代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。(参照 59(1985)#244)

哺乳細胞における OTA の遺伝子突然変異試験では、L5178Y 細胞(マウスリンパ由来株化細胞)を用いたマウスリンフォーマ tk 試験、V 78 細胞(チャイニーズハムスター肺由来株化細胞)及び C3H 細胞(マウス乳腺由来株化細胞)を用いたヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)突然変異試験の 3 試験において代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった(参照 59(1985)#244, 65(2003)#278, 66(1977)#358)。一方、ヒト CYP450 を導入した NHI/3T3 細胞(マウス胎児繊維芽由来株化細胞)では陽性結果が認められた(参照 67(1996)#258)。また、L5178Y 細胞を用いたマウスリンフォーマ tk 試験、V 78 細胞を用いた HPRT 突然変異試験で弱い陽性が認められたが、本結果について著者は、これらの細胞で自然発生する突然変異を増強している結果であると考察している。(参照 68(2007)#457)

② 染色体異常試験及び小核試験

ヒトリンパ細胞(健常女性 6 人由来)及びウシリンパ細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験において OTA は陽性であった。ヒトリンパ細胞試験を用いた試験の結果より、染色体数の異常及び染色体の構造異常が観察された(参照 71(1990)#313) (参照 72(2004)#305)。V78 細胞及びヒトリンパ細胞(健常男性 1 名由来)を用いた染色体異常試験では陰性であった。いずれの染色体異常試験においてもラット肝臓及び腎臓 S9 による代謝活性化の影響は認められなかった(参照 73(2008)#411)。

in vitro の小核試験では、OSV 細胞(ヒツジ精嚢小胞細胞由来株化細胞)、SHE 細胞

(ハムスター胚由来株細胞)及び Hep2 細胞(ヒト肝がん由来株化細胞)を用いた試験で陽性であった(参照 64(2002)#267, 69(1997)#257, 70(1999)#263)。 *in vivo* 試験では、1 µg/kg 体重/日の用量で 14 日間したマウスの骨髄細胞及び同じ用量で 45 日間投与されたマウスの骨髄細胞及び精子細胞を用いた染色体異常試験の結果、陽性であった。これらの OTA の影響は、抗酸化剤であるアスコルビン酸又はビタミン A を同時に摂取することにより軽減された(参照 91(1994)#298, 92(1994)#246)。

in vitro の姉妹染色分体交換が、肝臓及び腎臓由来の S9 mix により活性化された CHO 細胞(チャイニーズハムスター卵巣由来株化細胞)、ヒトリンパ細胞及びウシリンパ細胞を用いた試験で誘発された(参照 13(1989)#318, 61(1991)#502, 72(2004)#305)。一方、CHO 細胞及びヒトのリンパ球を用いた *in vitro* の姉妹染色分体交換試験では S9 mix の有無にかかわらず陰性であった。チャイニーズハムスターに OTA を強制投与する *in vivo* 姉妹染色分体交換試験では陰性であった(参照 59(1985)#244)。

③ DNA 損傷及び修復

バクテリアを用いた SOS 試験において、DNA 損傷が起こった結果としての DNA 修復の証拠はみられなかった (参照 74(1976)#357, 75(1986)#242, 98(1986)#545)。BALB/c マウス脾臓初代培養細胞及び CHO 細胞を用いたほ乳細胞における *in vitro* 試験で DNA 一本鎖切断の誘発が認められた(参照 77(1985)#254) (参照 78(1986)#349)。

in vitro 不定期 DNA 合成試験により、損傷した DNA の修復が、ラット及びマウスの初代培養肝細胞、ブタ膀胱上皮細胞並びにヒト尿路上皮細胞に認められた。(参照 59(1985)#244, 86(1984)#175, 87(1997)#264, 88(1998)#503, 89(2000)#265)

コメットアッセイを用いた *in vitro* 試験の結果、マウス線維芽細胞、CHO 細胞、MDCK 細胞(イヌ腎臓由来株化細胞)、HepG2 細胞において陽性であった(参照 64(2002)#267, 79(2002)#300, 81(2006)#345, 85(2009)#369)。ホルムアミドピリミジン DNA グリコシラーゼ(Fpg)又はエンドヌクレアーゼ(EndIII)処理により、V79 細胞(チャイニーズハムスター肺由来株化細胞)、CV-1 細胞(アメリカモンキー腎臓由来株化細胞)、HK-2 細胞(ヒト腎臓由来株化細胞)における DNA の損傷が有意に増加した。Fpg 又は EndIII は、各々 DNA の酸化されたプリン塩基又は酸化されたピリミジン塩基を認識して DNA に切り目を入れ、これがコメットアッセイにより DNA 損傷として観察される。本研究では、酵素処理により DNA 損傷が増加した結果は、OTA が DNA の酸化を誘導していることを示唆していると考察している(参照 80(2005)#291, 83(2007)#241, 84(2007)#240)。HK-2 細胞を活性酸素種(ROS)のスカベンジャーである抗酸化剤の N-アセチル-L-システインで処理すると DNA 損傷が低減した(参照 80(2005)#291)。

ヒト初代培養尿路上皮細胞を 100 µM OTA と共に 3 時間培養する *in vitro* コメットアッセイの結果、22 サンプルで陰性、28 サンプルで陽性であり、OTA がヒト DNA に及ぼす影響には個体差が認められた。(参照 82(2006)#301)

BALB/c マウスに 2.5 µg/kg 体重の OTA を腹腔内注射した *in vivo* 試験では、アル

カリ溶出法による解析の結果、投与 24 時間後の脾臓、肝臓及び腎臓細胞に DNA 一本鎖切断が認められた。腎臓では 48 時間後及び肝臓では 72 時間後に DNA 一本鎖切断は修復された。(参照 77(1985)#254)

Wistar ラットに 0.29 µg/kg 体重の OTA を 48 時間毎に 12 週経口投与し、最終投与直後に摘出された肝臓及び腎臓においてもアルカリ溶出法により DNA 一本鎖切断が認められた。(参照 95(1986)#293)

F344 ラット(雄)に、0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重の OTA が 1 週間に 5 回、2 週間投与され、最終投与 72 時間後にと殺された。*in vivo* コメットアッセイにより、肝臓、脾臓、腎臓及び骨髓細胞において、それぞれ 0.5、0.5、0.25 及び 0.5 mg/kg 体重以上で用量依存的な DNA 損傷の増加が認められた。Fpg 処理により、腎臓細胞で DNA 損傷の増加が認められた。(参照 93(2005)#309)

F344 ラット(雄)に 0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg 体重の OTA が 4 週間経口投与投与され、最終投与 24 時間後にと殺された。*in vivo* コメットアッセイの結果、Fpg で処理した肝臓及び腎臓の細胞においてすべての用量で DNA 損傷の促進が認められた(#292)。Wistar ラット(雌)に 0.5 mg/kg 体重の OTA が 7、14 又は 21 日間腹腔内投与され、最終投与 24 時間後にと殺された。肝臓、腎臓、脾臓の細胞を用いた *in vivo* コメットアッセイの結果はすべて陽性であった。(参照 97(2006)#363)

→gpt delta ラットの試験結果(第 27 回毒性病理学会 2011)について追記

④ DNA 付加体

DNA 付加体は、生体異物や内因生成物質が共有結合により直接 DNA に結合して生じる。付加体形成により DNA の合成が阻害されて細胞死又は突然変異が誘発されるため、DNA 付加体の形成は、発がんのリスク要因とされている。OTA の DNA 付加体形成について以下のように様々な試験が実施されている。(参照 99(2005)#312, 100(1996)#201, 101(2007)#467, 102(2005)#356)

a. ³²P-ポストラベル化法による DNA 付加体検出

³²P-ポストラベル化法を用いた *in vitro* 試験で、OTA が P450、PGHS 又は HRP により代謝活性化されて DNA 付加体を形成すると報告されている。(参照 103(1995)#283, 104(2000)#320, 105(1993)#505, 106(1997)#284, 107(1998)#248, 108(1998)#328, 109(2004)#274)

Swiss マウス(雄)に 0.6、1.2 又は 2.5 mg/kg 体重の用量で OTA が単回投与され、24、48 又は 72 時間後に脾臓、肝臓及び腎臓より抽出した DNA を用いて付加体形成が ³²P-ポストラベル化法で解析された。24 時間後から TLC クロマトグラム上に付加体スポットが認められ、その数及び検出パターンは臓器毎に異なり、スポットの数は腎臓で多く、48 時間後にピークとなった。2.5 mg/kg 体重投与群では、多くの DNA 付加体スポットについて 72 時間後まで腎臓及び肝臓で時間依存的にシグナルの増強がみられ、72 時間後のスポットの数は腎臓では肝臓の 5.2 倍であった。0.6、1.2 mg/kg 体重投与群では腎臓のほとんどの付加体スポットが 72 時間後には消失し、

DNA が修復されたと考えられた。DNA 付加体の頻度は、7～40 付加体/ 10^9 塩基対と算出された(参照 106(1997)#284, 110(1991)#504, 111(1993)#1036)。

Lewis ラット及びデブリスキン代謝の遅い DA ラット(雌雄、一群 10～40 匹)に 1 週間に 3 回、0.4 mg/kg 体重の用量で 2 年間 OTA が経口投与され、腎臓がん DNA 付加体形成について調べられた。雄 DA ラットは、2 年間試験の結果、腎腺腫が認められ、OTA に対する感受性が高かった。感受性が低いのは雌 DA ラットであった。 ^{32}P -ポストラベル化法を用いた TLC クロマトグラム上の DNA 付加体形成は、雌より雄が多かった。(参照 107(1998)#248)

DNA をマウス又はウサギの腎臓ミクロソーム中で OTA と *in vitro* で共培養した ^{32}P -ポストラベル化法試験の結果では、 10^9 塩基対中 126 以上の DNA 付加体が検出された。4 種のモノヌクレオチドを用いた試験では、OTA とデオキシグアノシン(dGMP)を培養すると DNA 付加体が観察された。(参照 104(2000)#320)

一方、後述するとおり、 ^{32}P -ポストラベル化法を用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験でアダクトが認められなかった結果が報告されている。(参照 93(2005)#309, 112(2004)#307, 113(2008)#259)

^{32}P -ポストラベル化法は、非特異的試験法であるため、TLC クロマトグラム上に観察される付加体には OTA 分子又はその代謝物分子が含まれない可能性がある。付加体のいくつかは、OTA で誘発された酸化ストレスによる細胞毒性の影響と考えられた(参照 114(2005)#306)。なお、本知見について EFSA では、観察されるスポットの化学構造が不明であり、そのスポットが真の OTA-DNA 付加体であるという証拠はないと指摘している(参照 115(2006)#273)

b. その他の方法を用いた付加体検出

OTA が DNA に直接結合するか否かを調べる目的で、 ^3H -OTA とラット又はヒト肝細胞を培養する *in vitro* 試験並びに ^3H -OTA を齧歯類に投与する *in vivo* 試験が実施された。(参照 93(2005)#309, 102(2005)#356)

ラット又はヒト肝臓ミクロソームの代謝系、NADPH 及び ^3H -OTA を用いた *in vitro* DNA 結合試験において ^3H -OTA と DNA の結合は認められなかった。代謝系存在下でラット又はヒト初代培養肝細胞を ^3H -OTA と培養した結果、 ^3H -OTA と DNA の結合は認められなかった。(参照 116(2001)#281, 117(2002)#285)

Fischer344 ラット(雄、一群 4 匹)に ^3H -OTA(1 mg/kg 体重相当)を経口投与する *in vivo* 試験の結果、投与 24 時間後に腎臓 DNA と ^3H -OTA の結合は検出できなかった。検出限界は、2.7 分子付加体/ 10^9 DNA 塩基対であった。同じサンプルを用いて ^{32}P -ポストラベル化法により DNA 付加体が調べられた。OTA 非投与の対照群におけるバックグラウンドが 6～24DNA 付加体/ 10^9 塩基対に対し、OTA 投与群では 31～71 DNA 付加体/ 10^9 塩基対であり、この ^{32}P -ポストラベル化法で検出された OTA 投与による DNA 付加体の増加は、OTA が直接 DNA に結合した結果ではないと考えられた(参照 118(2001)#66)

Fischer344 ラット(雄、一群 3 匹)に 0 又は 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の ^{14}C -OTA が単回経

口投与され、72 時間後にと殺された。肝臓と腎臓から単離された DNA の付加体形成について加速器質量分析装置(AMS)を用いて分析された。OTA 投与群と非投与群に有意な差は認められず、特異的な OTA-DNA 付加体は検出されなかった。検出限界は、3 付加体/10⁹ 塩基対であった。(参照文献(参照 112(2004)#307)。なお、EFSA では、この試験結果を解析する上での問題点として、他の試験では OTA 曝露の 24 時間後に、DNA が単離されているのに対し、この試験では[¹⁴C]-OTA を比較的低濃度で単回投与した 72 時間後に DNA が単離されているため、DNA 付加体が修復された可能性があることを指摘している(参照 115(2006)#273)。

0 又は 210 µg/kg 体重の OTA が 90 日間経口投与された F344 ラット(雄)の腎臓並びに 0、250、500、1000 又は 2000 µg/kg 体重の OTA が 2 週間投与された F344 ラット(雄)の腎臓における DNA 付加体の有無が調べられた。ラットは OTA 最終投与の 72 時間後にと殺された。安定同位体希釈 LC-MS/MS 法で解析の結果、腎臓に DNA アダクトは検出されなかった。検出限界は 3.5 dGuoOTA/10⁹DNA 塩基対であった(参照 113(2008)#259)。なお、本論文での dGuo OTA は C-C8-dG-OTA と同一物質と考えられる。

c. 酸化ストレスと DNA 付加体

ポストラベル化法で認められたスポットのパターンを比較した結果、OTA と同様なパターンは、げっ歯類に腎臓がんを発生させるニトリロ三酢酸鉄(III)に曝露された F344 ラットの腎臓 DNA 及び過酸化水素曝露の DNA でも認められた(参照 119(1995)#196) (参照 120(1996)#197)。

マウスに抗酸化剤であるビタミン A、ビタミン C 又はビタミン E を投与すると、腎臓において ³²P ポストレベル法で観察されるスポットの数は有意に減少した。(参照 106(1997)#284)

腎臓には、パーオキシターゼが豊富に存在するため、DNA 付加体形成は OTA そのものではなく、脂質過酸化(LPO)が関与する可能性が検討された。LPO の DNA 損傷として、DNA 中の 2'-デオキシグアノシンの 8 位の酸化による 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン(8-OHdG)やエテノ塩基などの環外 DNA 付加体の生成が報告されている(Schaaf 2002)。LPO に関係するもう一つの主要な DNA 傷害は、脂質の過酸化分解物であるマロンジアルデヒド(MDA)とグアニンの反応による付加体形成である。

Lewis ラット(雄)に OTA が投与される前に抗酸化剤 2-メルカプトエタンスルホン酸(MESNA)が投与され、OTA の腎毒性に酸化ストレスが関与している可能性が調べられた。MESNA は腎臓で遊離チオール基を増加させることで酸化ストレスを防ぎ、LPO 産生物を減少させる。MESNA 投与により腎臓における OTA 誘導性の巨大核細胞が有意に減少すると共に ³²P-ポストラベル化法で検出された DNA 断片の数と強度が減少した。(参照 121(2002)#329)

OTA を 0.25、0.5、1、2 mg/kg 体重で、5 日/週、2 週間投与したラット腎臓において、³²P-ポストラベル化法により LPO 関連付加体を調査する試験が実施された。

F344 ラット(雄、一群 3 匹)に、0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重の OTA が、1 週間に 5 回の頻度で 2 週間経口投与され、最終投与 72 時間後にと殺された。尿中には OTA の代謝物は検出されなかった。酸化ストレスのマーカーである、MDA 及び 4-ヒドロキシパーオキサイド並びに DNA における 8-OHdG、1,N⁶-エテノデオキシアデノシン及び 1,N²-プロパノデオキシグアノシン付加体が定量された結果、OTA 投与による腎臓及び肝臓における酸化ストレスの増加は認められなかった(参照 15(2005)#308)

d. OTA 由来活性キノン/ヒドロキノンと DNA 付加体

OTA の酸化的脱塩素反応により OTA 由来のフェノキシラジカル及びキノン(OTQ)/ヒドロキノン(OTHQ)酸化還元対が生成することが理論的に考えられ、DNA 付加体可を形成する可能性が検討された。(参照 122(1996)#130, 123(1997)#131, 124(1999)#120)

OTA の紫外線による光化学反応により、OTA から OTQ/ OTHQ 酸化還元対が生成した。OTQ は、NADPH により還元されると OTHQ となり、OTHQ は GSTs により酸化されて OTQ となる。また、この過程で ROS が産生され、DNA 損傷及び LPO 産生に関与している可能性が考えられた。OTA と DNA 塩基を光酸化すると OTHQ、OTB と共にデオキシグアニンの C8 を介して OTA が結合した C-C8-OTA (C-C8-dG-OTA) 及び O-C8-OTA (O-C8-dG-OTA) OTA が LC-MS/MS 及び核磁気共鳴装置(NMR)により検出された。OTB とパーオキシダーゼの培養からも OTHQ が検出された。(参照 112(2004)#307, 125(2004)#256, 126(2003)#1033)

C-C8-dG-OTA は、OTA 及び DNA をホースラディッシュパーオキシダーゼ(HRP) 及び H₂O₂ 又は Fe(II) と H₂O₂ 存在下で培養した系においても認められた(参照 127(2003)#1035)。一方、OTA 及び OTHQ と子牛胸腺 DNA 又は dGMP を培養し、LC-MS/MS 法並びに ³²P-ポストラベル化法を用いた DNA 付加体を分析した結果、特異的な付加体は検出されなかった。(参照 112(2004)#307)

OTA 又は OTHQ と、サケ精子 DNA を用いた ³²P-ポストラベル化法による DNA 付加体形成試験の結果、ブタ腎臓ミクロソームによる代謝活性化がない条件では OTA から DNA 付加体は検出されなかったが、OTHQ からは付加体が認められた。OTHQ の酸化により生成した OTQ と DNA の共有結合による DNA 付加体であると考えられた。OTHQ で認められた付加体スポットと同様のスポットが、ブタ腎臓ミクロソーム及び NADPH とともに培養した OTA にも認められ、OTA が、チトクローム P450 又はパーオキシダーゼ活性を持つ酵素によりキノンへの酸化的活性化を受けたと考えられた。ヒト腎臓及び WI26 細胞(ヒト胎児肺由来株化細胞)を OTHQ 又は代謝活性系存在下で OTA と培養すると、付加体形成が認められた。DNA 付加体は、OTA 又は OTHQ の用量及び時間に依存して形成されたが、付加体形成速度は OTA より OTHQ が速かった。著者は、本結果について OTHQ から OTQ が迅速に生成することによると考察している。(参照 128(2006)#506)

in vivo で生成する OTA の DNA 付加体の化学構造は、完全には解明されていな

い。F344 ラット(雄、一群 3 匹)に 0 又は 2 mg/kg 体重の OTA が週 5 回、2 週間経口投与される *in vivo* の付加体形成試験が実施された。ラットは最終投与 72 時間後にと殺された。LC-MS/MS 法を用いて尿を分析した結果、OTHQ が微量検出されたが、LC-MS/MS 法及び ^{32}P -ポストラベル化法を用いた解析の結果、腎臓及び肝臓に OTA 特異的な DNA アダクトは認められなかった。(参照 112(2004)#307)。

亜急性曝露(0.02 mg/kg 体重、3 週間)されたブタ腎臓髄質及び慢性曝露(週 3 回 2 年間、0.4 mg/kg 体重)されたラット腎臓において付加体検出試験が実施された。OTA 及び dGMP にキセノンランプを照射することにより生成した C-C8 及び O-C8 の C8-dG-OTA が標準品として用いられた。 ^{32}P -ポストラベル化法により検出された TLC 上のスポットを比較した結果、ブタ腎臓及びラット腎臓には主に C-C8-dG-OTA が存在することが示唆された。(参照 109(2004)#274)。なお、本研究結果について EFSA では、唯一のクロマトグラフィー条件で実証されたものであり、確認が必要とされている(参照 115(2006)#273)。

0 又は 210 $\mu\text{g/kg}$ 体重の OTA が 90 日間経口投与された F344 ラット(雄)の腎臓並びに 0、250、500、1000 又は 2000 $\mu\text{g/kg}$ 体重の OTA が 2 週間投与された F344 ラット(雄)の腎臓における DNA 付加体の有無が調べられた。OTA の生体における排出速度及び単回投与後に ^{32}P -ポストラベル化法により検出された腎臓における DNA 付加体形成の結果を考慮して(参照 111(1993)#1036, 129(2003)#243)、ラットは OTA 最終投与の 72 時間後にと殺された。安定同位体希釈 LC-MS/MS 法で解析の結果、腎臓に DNA 付加体は検出されなかった。検出限界は 3.5 dGuoOTA/10⁹DNA 塩基対であった。(参照 113(2008)#259)なお、dGuo OTA は C-C8-dG-OTA と同一物と考えられる。

BALB/c マウス(雄、一群 3 匹)に 0、3.5、7、35、70、289 又は 1056 $\mu\text{g/kg}$ 体重の OTA が単回投与され、48 時間後にと殺された。腎臓では 3.5 $\mu\text{g/kg}$ 体重より、精巣では 70 $\mu\text{g/kg}$ 体重より投与量依存的に OTA が認められた。 ^{32}P ポストラベル法による解析の結果、35 $\mu\text{g/kg}$ 体重より用量依存的に、腎臓及び精巣に 2~8/10⁹ 塩基対の付加体がみられた。また、妊娠 17 日目の SWR/J マウスに、2.5 mg/kg 体重の OTA が単回投与された結果、出生 1 日目の子動物(雄)の 精巣及び腎臓にそれぞれ 5.2/10⁹ 及び 4.2/10⁹ 塩基対の付加体が認められ、TLC 上のスポットは C-C8-dC-OTA と考えられた。(参照 130(2010)#1016)

(6) その他(神経毒性、免疫毒性性)

① 神経毒性

マウス

Swiss ICR マウス(雄、一群 4~6 匹)に、OTA を 3~6 mg/kg 体重で腹腔内単回投与後 24 時間後に線条体のドーパミンを測定した結果、ドーパミンが OTA の用量に依存して減少した。酸化ストレス、酸化的 DNA 損傷及び酸化的 DNA 修復の一過性阻害も、小脳、大脳皮質、海馬、中脳、尾状核/被殻及び脳橋/髄質に認められた。(参照

131(2006)#339)

ラット

Wistar ラット(雄、一群 4 匹)に 0 又は 290 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OTA が 48 時間毎に 1~6 週間、経口投与された。4 週間後に OTA 摂取ラットの体重がわずかに減少したが、飼料及び水の消費量は、OTA 非投与の対照群と有意差はなかった。脳中の OTA は時間依存的に蓄積され、6 週間後の OTA 濃度はおよそ 100 ng/g となった。摂取 4 週間後には脳内の遊離チロシンが有意に減少し、遊離フェニルアラニンは有意に増加し、タンパク質合成阻害が生じていると考えられた。組織学的観察の結果、海馬組織の損傷が認められた。(参照 132(1998)#61)

Fischer ラット(雌、一群 10 匹)に 0 又は 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の OTA が 10、20 又は 35 日間強制経口投与され、脳における OTA の作用が調べられた。10 日間及び 20 日間の OTA 投与により、大脳皮質、小脳及び海馬の 3 つの脳領域において可溶性画分及び膜結合画分の乳酸脱水素酵素及び N-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼの活性並びにエクト-5' -ヌクレオチダーゼ、エクト- $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPase、アラニンアミノペプチダーゼ及び γ GTP の活性が変化した。10 日間又は 20 日間の OTA 投与で γ GTP 活性は、3 つの脳領域において対照群に比べ有意に増加した。投与 35 日目には、ほとんどの活性が OTA が投与されない対照群と同じレベルとなった。(参照 133(1996)#236)

SPF Wag ラット(雌、一群 10 匹)の若年(12 週齢)及び高齢(27~30 か月齢)ラットに、0、70、340 又は 1680 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の OTA が 4 週間強制経口投与された。両者の 1680 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群で、OTA を投与しない対照群に比べ有意な死亡率増加が起こった。OTA 摂取群で脳白質(小脳髄質及び脳幹の腹側部)の空胞形成が認められ、若年ラットの 340 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群と高齢ラットの 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上投与群において、対照群と比べ統計的に有意な増加であった。(参照 134(2001)#266)

Wistar ラット(雄、一群 8 匹)に 289 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日の OTA 又は OTA 及び活性酸素のスカベンジャーであるメラトニン(10 mg/kg 体重/日)が飲水により 1 週間経口投与され、海馬の N-メチル-D-アスパルテート受容体サブユニット 2A(NR2A)及び 2B(NR2B)タンパク質の発現が調べられた。溶媒のみを投与された対照群と比較して OTA 投与ラットでは、NR2A 及び NR2B に有意な減少が認められた。海馬の NMDA レセプターは記憶や学習過程に関与するため、認知機能に影響する可能性がある。メラトニンは、OTA により引き起こされる NR2A 及び NR2B 減少を阻害した。(参照 135(2003)#260)

② 免疫毒性

マウス

BALB/c マウス(雌、一群 8 匹)に、0、6、250 又は 2600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の OTA を含む飼料が 28 又は 90 日間投与された(0、1、40 又は 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日相当/原文中)。250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 飼料以上の投与群で 28 日目及び 2600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 飼料投与群で 90 日目に腎臓重量が減少した。腎臓中の OTA 濃度は、用量に相関した。体重及びリンパ器官重量に OTA の影響はなかった。白血球数に差は認められなかったが、2600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 飼料群投与群で 90

1 日目に、OTA 非投与の対照群に比べ脾細胞の数に有意な減少(約 20%)が認められた。
2 28 日目の血中又は胸腺中の T リンパ球に変化はみられなかった。90 日目に、250 µg/kg
3 飼料以上の投与群で対照群に比べて未分化細胞である CD4⁺/CD8⁺細胞の有意な増加
4 並びに成熟 CD4⁺及び CD8⁺細胞の割合の減少が認められ、これは OTA が T 細胞の後
5 期の分化へ影響することを示すと考えられた。24 日目に、各群 10 匹のマウスにヒツ
6 ジ赤血球細胞(SRBCs)が腹腔内注射され、28 日目に脾細胞を用いてプラーク法により
7 抗 SRBC 抗体産生能が調べられた結果、用量依存的な抗体産生能の低下が認められた。
8 一方、OTA は、ウィルス抗原 PR8 で免役したマウスの血清中抗体価に影響を及ぼさ
9 なかった。これらの結果は、OTA 曝露がマウスの特定の免疫機能を変化させ、脾臓が
10 OTA に感受性の高い免疫組織であることが示された。(参照 136(1995)#223)

11 雌の BALB/c マウス(雌、一群)に、交尾前 2 週間にわたり、0.18(対照群)、30 又は
12 200 µg/kg 飼料の OTA が平均で 5~30 µg/kg 体重/日の摂取量になるように混餌投与さ
13 れた。出生後の児動物は、すべて対照群の母動物に哺育された。児動物は生後 14 又は
14 28 日目にと殺され、免疫毒性試験が実施された。14 日目の児動物において脾臓重量、
15 胸腺重量及び各々の細胞数に差は認められなかった。28 日目では、母動物に 200 µg/kg
16 飼料の OTA を投与した群の児動物において胸腺重量及び細胞数は対照群の児動物に
17 比べて 20%及び 67%増加した。200 µg/kgOTA 投与群の児動物では、脾臓 T 細胞の
18 CD4⁺及び CD8⁺細胞の割合が対照群の児動物に比べて減少傾向にあったが、T 細胞の
19 細胞数及び脾臓の細胞数に変化は認められなかった。児動物の脾臓又は胸腺リンパ球
20 のマイトジェンに対する増殖反応、コンカナバリン A(Con A)刺激培養細胞のインター
21 ロイキン-2(IL-2)の生成、ヒツジ赤血細胞及びウィルス抗原 PR8 に対する抗体反応並
22 びにナチュラルキラー(NK)細胞活性への影響は認められなかった。母動物への OTA
23 投与は、児動物の免疫機能を抑制しなかった。(参照 137(1996)#222)

24 ラット

25 授乳期 11 日目の Sprague-Dawley ラット(雌、一群 4~5 匹)に 0、10、50 又は 250
26 µg/kg 体重の OTA が単回投与され、授乳 14 日目の児動物について免疫毒性試験が実
27 施された。OTA 非投与の母動物に授乳された児動物を対照群とした。母動物及び児動
28 物において OTA の血中濃度は OTA の用量に依存して増加し、乳を通して OTA が児
29 動物に移行したと考えられた。児動物のリンパ器官重量は OTA 投与により変化しな
30 かった。250 µg/kg 体重 OTA 投与群では、児動物の脾細胞を用いたリポポリサッカライ
31 ド(LPS)刺激後の増殖反応は、対照群に比べて有意に減少した。一方、10~50 µg/kg
32 体重/日投与群では、児動物の脾細胞及び胸腺細胞の Con A 刺激後の増殖反応は対照群
33 に比べて有意に増加した。(参照 136(1995)#223)

34 Sprague-Dawley ラット(雌、一群 4~5 匹)に 1 週間に 5 回、0 又は 50 µg/kg 体重
35 の OTA が交尾前 2 週間及び妊娠中に反復投与された。授乳中は同量の OTA が毎日投
36 与され、児動物は交差哺育された。OTA に暴露していない対照群、出生前暴露群、出
37 生後暴露群及び出生前後暴露群の 4 群に分類された。児動物において授乳 14 日目、
38 22 日目又は 13 週における免疫応答が調べられた。対照群、出生前暴露群、出生後暴

露群及び出生前後暴露群における授乳 14 日目の OTA 血中濃度は、各々 4.1 ± 0.8 、 130 ± 14 、 640 ± 86 及び $860 \pm 100 \mu\text{g/L}$ であった。児動物の体重及びリンパ器官重量に変化は認められなかった。OTA 出生前暴露群では、Con A の有無に係わらず、脾細胞の増殖反応が対照群に比較して有意に低かった。5 週目にインフルエンザ PR8 ウィルス抗原で免役し、その 18 日後に ELISA 法により血清中の抗 PR8 抗体価を検査した結果、対照群の 10.7 ± 0.45 に対し出生前暴露群は 10.0 ± 0.36 と、抗体価の低下が認められた。13 週目における脾細胞の NK 細胞活性に、OTA の影響は認められなかった。本論文では、OTA の出生前暴露は、免疫抑制を誘発し、出生後の暴露はリンパ球のマイトジェン刺激による増殖を促進すると結論付けている。(参照 136(1995)#223)。なお、JECFA では、本試験について、使用した OTA についての詳細がなかったことを指摘している(参照 41(2001)#1031)。

SPF Wag ラット(雄、一群 10 匹)の若年(12 週齢)及び高齢(27~20 月齢)ラットに、OTA を 70、340 又は $1680 \mu\text{g/kg}$ 体重で 4 週間強制経口投与し、加齢による OTA の免疫毒性への影響が調べられた。 $1680 \mu\text{g/kg}$ 体重投与群で老若両群に有意な死亡率増がみられた。高用量の高齢群では、死亡のために免疫パラメータの試験ができなかった。両群の $340 \mu\text{g/kg}$ 体重/日投与群及び若年の $1680 \mu\text{g/kg}$ 体重/日群で、各々 OTA 非投与の対照群に比べて血中イムノグロブリン G 減少が認められた。(参照 138(2007)#250)

若年ラットの脾臓 T 細胞の比率では、用量依存性の減少を誘発し、 $1680 \mu\text{g/kg}$ 体重投与群で統計的に有意な減少が認められた。(参照 134(2001)#266)

Wistar ラット(雄、一群)に 0、50、150 又は $450 \mu\text{g/kg}$ 体重/日の OTA を 28 日間経口投与し、免疫毒性試験が実施された。この試験は、OECD ガイドライン 407(1995 年)¹に従って実施された。すべての OTA 投与群でマウスリンパ腫由来株化細胞 Yac-1 細胞に対する NK 細胞活性が用量依存的に有意に減少し、 $450 \mu\text{g/kg}$ 体重/日では、NK 細胞活性は完全に抑制された。と殺 4 日前に HRBC で免疫したラットの脾臓細胞を用いて HRBC に対する抗体産生能が試験された結果、抗体産生能は用量依存的に減少したが、統計的に有意ではなかった。細胞障害性 T 細胞活性は、 $50 \mu\text{g/kg}$ 体重/日投与群でのみ低下した。マクロファージの溶菌活性は、50 及び $450 \mu\text{g/kg}$ 体重/日群で OTA を投与しない対照群に比べ有意に減少したが、 $150 \mu\text{g/kg}$ 体重/日の中間用量では減少はなかった。組織病理観察において、胸腺及び脾臓に変化は認められなかった。(参照 139(2004)#238)

Fischer ラット(雌雄、一群 5 匹)に 0、1 又は 4 mg/kg 体重の OTA が 1 週間に 5 回、16 日間投与された結果、胸腺用量依存的に相対重量の減少及び萎縮が認められた(参照 13(1989)#318)。また、Wistar ラット(雄、一群 10 匹)に OTA が 5~50 mg/kg 体重で単回投与され結果、脾臓及びリンパ節内の胚中心に壊死が認められた。(参照

¹ OECD (経済協力開発機構) が化学物の安全性確保のために定めた、28 日反復毒性試験のテストガイドライン

140(1977)#141)

ニワトリ

ニワトリ(雌雄、一群 10~22 羽)に 0、2 又は 4 mg/kg 飼料の OTA が 20 日間投与された。OTA 投与群では、胸腺、脾臓及び腸管パイエル板組織のリンパ球細胞数が減少した。(参照 141(1984)#91)

ニワトリに 0、5 mg/kg 飼料 の OTA が、56 日間混餌投与された結果、OTA 投与群では、血漿中の $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 β 及び γ -グロブリン量が減少した。(参照 142(1978)#546)

ニワトリに 0、2、又は 4 mg/kg 飼料の OTA が 20 日間混餌投与された結果、OTA 投与群では用量依存的にリンパ組織及び血清中の IgG、IgA 及び IgM が減少し(参照 143(1984)#92)、OTA が 2 mg/kg 飼料で 5~6 週間投与された結果、補体価がわずかに減少した。(参照 144(1983)#78)

13 日齢の卵(一群 15 個)に 2.5 μ g/卵の OTA が注射され、20 日齢の発育鶏卵のニワトリ胎児において免疫試験が実施された。OTA 投与群では、溶媒を注射された対照群に比べファブリシウス嚢中 IgG が有意に減少し、IgM が有意に増加した。同様に OTA に暴露された卵から孵化した 1、2 又は 4 週齢のニワトリに β 溶血性大腸菌を用いた免疫応答試験では OTA の影響は認められず、OTA の免疫グロブリンへの影響は一過性であると考えられた。(参照 145(1987)#127)

ニワトリ(一群 10~25 羽)に OTA を 0、0.5、2 mg/kg 飼料で 21 日間混餌投与した結果、OTA を投与しない対照群と比較し OTA 投与群では、総血清タンパク質、リンパ球数、胸腺重量、ファブリシウス嚢重量、脾臓重量が減少した。(参照 146(1990)#206)

(7) 腫瘍形成の機序

OTAによる発がん機序として、OTAの代謝物によるDNA障害、DNA付加体の形成、酸化ストレスなどが考えられている。以下にそれらに関する要約を示した。

① 腎毒性のメカニズム

本評価書の(1)⑤排泄のとおり、種々の報告で、OTAに感受性が強い組織は腎臓で、近位尿細管に選択的な毒性作用は、OTAが近位尿細管細胞の刷子縁にある有機アニオン輸送システムにより細胞内外に移行することとの関連が考えられている。(参照 147(1988)#101) (参照 148(1988)#207, 149(1986)#508)

Sprague-Dawley ラット及び Wistar ラット(雌雄、一群 4~6 匹)に、0、0.75 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA が 5~7 日間の腹腔内注射により投与された結果、すべての投与群で体重の減少、尿流量の増加、尿中タンパク質量の増加、尿中グルコースの増加及び尿中の有機物の輸送障害が認められた。Sprague-Dawley ラットは、Wistar ラットより OTA 感受性が高く、また雄は雌より感受性が高かった。尿中タンパク質量及びグルコースの増加について、著者は近位曲尿細管における再吸収の損傷によると考察している。(参照 150(1979)#64)

Sprague-Dawley ラットの尿細管を部位別に OTA と *in vitro* で培養すると、細胞内 ATP が用量依存的に減少した。近位尿細管の中間(S2)及び末端(S3)セグメントが、OTA の毒性影響に対し最も感受性が高かった。OTA のこの作用が有機アニオン輸送 (Ota1,Ota3)阻害剤であるプロベネシドによって抑制されたことより、OTA は有機アニオン輸送経路を通して細胞内に入ることが示唆された。ミトコンドリアの ATP 合成は OTA によって用量依存的に阻害された。尿細管を 0.1 mM/L の OTA と培養した結果、アラニンペプチターゼ、ロイシンアミノペプチターゼ及びアルカリホスファターゼ活性は、各々60%, 50%及び 35%減少した。(参照 149(1986)#508, 151(1989)#138)

② OTA の代謝活性化

いくつかの研究より各種のチトクローム P450(CYPs)、パーオキシダーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼが、OTA の活性中間体への生体代謝を触媒することが示唆されているが、その代謝率は低く、本研究では通常の 1/100 以下程度と考察されている(参照 60(1991)#234, 61(1991)#502, 62(1999)#321, 76(1994)#167, 106(1997)#284, 108(1998)#328, 152(1991)#509, 153(1995)#100, 154(2000)#94)。なお、反応性を有する代謝物の構造は明らかにはされていない(参照 107(1998)#248)。

OTA 由来の活性キノン OTQ/OTHQ は、高い活性を持つ CYPs 単離酵素及び各種ミクロソームを用いた代謝活性系を用いた *in vitro* 試験では検出されず、4R-及び 4S-ヒドロキシ OTA のみ極めて少量認められている(参照 63(2001)#364, 116(2001)#281)。また、腎臓に多いプロスタグランジン合成酵素活性又は精製した CYP 酵素の多い細胞分画を用いた試験でも、OTA のグルタチオン抱合物及び酸化物の生成は認められなかった(参照 116(2001)#281)。

ラット肝マイクロソームを用いた *in vitro* 試験で、CPY の誘導剤により OTA の生体代謝率が増加し腎臓毒性が軽減されると報告されている(参照 155(1996)#183)。しかし、CYP 活性が非常に少ないか又は活性がない細胞系において、OTA の典型的毒性作用が認められたことから、代謝活性化による毒性発現の可能性は低いと考えられた(参照 70(1999)#263, 122(1996)#130, 156(1994)#204, 157(1996)#235)。また、本研究では OTHQ の生成について示唆はされているが、*in vivo* で高分子化合物と相互作用する OTA 由来のラジカル生成の証拠はないとしている。(参照 122(1996)#130, 123(1997)#131)

③ DNA 付加体

OTA 由来の DNA 付加体と考えられたスポット生成が、高感度の ³²P-ポストラベル化法により、*in vitro* 及び *in vivo* 試験でげっ歯類の腎臓で認められたが、OTA により引き起こされる DNA 損傷又は変異生成物は同定されていない(参照 110(1991)#504) (参照 103(1995)#283, 106(1997)#284) (参照 104(2000)#320)。また、³H又は¹⁴Cでラベルした OTA と核酸との結合試験が実施された結果、代謝活性系の有無にかかわらず、検出限界以下であった(参照 118(2001)#66)。

④ 酸化ストレス

OTA が *in vitro* 及び *in vivo* で細胞に酸化ストレスを引き起こすことが報告されている。長期間の腎毒性及び酸化ストレスの総合的なメカニズムが、ラット腎臓における腫瘍誘発に重要な役割を果たすと考えられている。(参照 158(1991)#510, 159(1993)#511, 160(1998)#126)

コメットアッセイを用いた *in vitro* 及び *in vitro* 試験では、Fpg 存在下で OTA 用量依存的に DNA 損傷が助長される。本結果は OTA による酸化的 DNA 損傷を示唆すると考えられている。(参照 93(2005)#309, 96(2005)#292)

NIH/3T3 細胞において、コメットアッセイにより示された OTA 依存的な DNA 損傷の増加が ROS の増加と相関を示した。(参照 81(2006)#345)

アメリカンオポッサムの近位尿細管由来腎臓(OK)細胞系を用いて OTA の細胞毒性試験が行われた。OK 細胞に、OTA 単独もしくは腎臓中で遊離のチオールを増加させることにより酸化ストレスを低減する 2-メルカプトエタンスルホン酸、N-アセチル-L-システイン、GSH シンセターゼ阻害剤であるブチオン-スルホキシイミン、 γ -グルタミル-トランスペプチダーゼ阻害剤の α -アミノ-3-クロロ-4 又は 5-ジヒドロ-5-イソキサゾール酢酸存在下で OTA と共に培養された。これらの酸化ストレス阻害剤のうち、OK 細胞において OTA で誘発される細胞毒性を抑制するものではなく、全てが OTA の生体代謝を促進した。これらの薬剤との培養中に生成した代謝物組成と DNA 付加体の種類のいずれも、薬剤により質的にも量的にも異なっていた。(参照 161(2006)#275)

HK-2 細胞を 50 μ M の OTA と 6 時間又は 24 時間培養した結果、細胞生存率は 6 時間後に 83%、24 時間後に 53%であった。6 時間後に DNA の酸化的損傷の増加と共に ROS の産生と関連するミトコンドリア電子伝達系に関与する酵素の mRNA 発現上昇が認められた。24 時間後に、酸化ストレス応答系の遺伝子発現の増加が認められた。DNA 切断やアダクト形成などの DNA 損傷により発現の誘導される細胞周期調節又はアポトーシス関連遺伝子の発現上昇は、どの曝露時間にも検出されなかった。(参照 83(2007)#241)

マウス(種、雌雄不明、一群 10 匹)に 0、0.05 又は 0.1 mg/匹/日の OTA が 45 日経口投与された。用量依存的にマウス精巣中の MDA が有意に増加した。また、SOD、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンレダクターゼ及びグルタチオン転移酵素(GST)の活性が用量依存的に低下し、0.1 mg/匹/日投与群では有意に低下した。(参照 5(2008)#402)

Wistar ラット(雄、一群 6 匹)に 0 又は 289 μ g/kg 体重の OTA が 48 時間毎に 3 週間経口投与された。OTA 投与 1 時間前に活性酸素消去酵素であるスーパーオキシドジムターゼ(SOD)及びカタラーゼを皮下注射すると酵素尿、蛋白尿、クレアチン血症及び OTA の尿中排泄のを指標とした OTA の腎毒性が軽減された。本研究では、これらの結果は、スーパーオキシドラジカルと過酸化水素が *in vivo* で OTA の腎毒性に関与を示す考察している。(参照 162(1994)#58)

Lewis ラット(雄、一群 20 匹)に 0.4mg/kg 体重の OTA が 1 週間に 3 回の頻度で 2 年間投与された。MESNA 投与により、巨大核細胞を指標とした腎毒性は有意に低下した。一方、腎臓がんを発症したラットは、OTA 投与群では 6/20 であったが、OTA 及び MESNA 投与群では 8/20 であり、腎臓腫瘍の発生頻度減少には効果を示さなかったとされている。(参照 121(2002)#329)

Wistar ラット(雄、一群 4~5 匹)に 0 又は 120 µg/kg 体重/日で OTA が 10、30 又は 60 日間腹腔内投与された結果、腎臓中の OTA 濃度は、曝露時間に比例し 10、30 又は 60 日後にそれぞれ腎臓あたり 547、753 又は 930 ng/g であった。近位及び遠位の尿細管上皮細胞に時間依存的なアポトーシスが認められた。酸化ストレスの指標として、SOD 活性及び LPO のひとつである MDA 生成が測定された。OTA が 60 日間投与されたラットの腎臓において、OTA が投与されない対照群に比較して LPO 濃度は 36%増加し、SOD 活性は 26%減少した。この結果は、OTA により酸化ストレス制御系が抑制されたことを示すと本研究では考察されている。(参照 163(2003)#326)

Wistar ラット(雄、一群 8 匹)に 289 µg/kg 体重の OTA と活性酸素のスキャベンジャーであるメラトニンが 10 mg/kg 体重/日で共投与された。組織病理検査の結果、メラトニンの投与群では OTA で誘発される肝臓及び腎臓毒性が軽減された。(参照 129(2003)#243)

Sprague-Dawley(雄、一群 10 匹)ラットに 0.2 mg/kg 飼料の OTA と抗酸化剤であるシアニジン 3-O-β-D-グルコシド(C3G)が 4 週間混餌投与され、腎臓、肝臓及び脳における非タンパク質チオール基(RSH)、脂質ヒドロペルオキシド(LOOH)レベル、ヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)発現及び DNA 断片化が調べられた。OTA 投与群のラットは非投与の対照群に比較して、腎臓及び肝臓の非タンパク質チオール基(RSH)含量が有意に減少し、すべての組織の脂質ヒドロペルオキシド(LOOH)が有意に増加した。腎臓及び肝臓において活性酸素の解毒作用を有する HO-1 が有意に誘導された。また、腎臓、肝臓及び脳より抽出された DNA を電気泳動した結果、スメアが認められ、本研究では、これらの結果から、DNA 損傷が生じていることが考えられるとされている。(参照 164(2007)#458)

Wistar ラット(雄、一群 6 匹)に 0、5 ng/kg 又は 50 mg/kg 体重の OTA が 15 日間強制経口投与された。肝臓においては 50 mg/kg 体重投与群で酸化ストレスの指標となる MDA 及びカルボニル化タンパク質(PCs)の濃度が OTA 非投与の対照群に比べて有意に高く、腎臓における MDA 及び PCs 濃度は、5 ng/kg 体重投与群で有意に増加した。カタラーゼ及び SOD 活性には変化は認められなかった。(参照 165(2007)#452)

OTA による脂質酸化には OTA と Fe³⁺複合体による ROS 産生が関与している報告がある一方、Fe³⁺との複合体を形成しない O-アセチルフェニル OTA で脂質酸化が認められることより、これらは OTA の作用には関与しないという報告もある。(参照 123(1997)#131, 157(1996)#235)

光化学反応による OTA から OTQ/OTHQ 酸化還元対の形成が報告されている。また、この機序については、生産される ROS が DNA 損傷及び LPO 生産物と環外付

加体を形成することを示唆するとされている。(参照 121(2002)#329, 166(2007)#449)

Wistar ラット(雄、一群 6 匹)に OTA が 1 日おきに 289 µg/kg 体重の用量で 14 日間投与された。OTA により増加した腎の脂質ヒドロペルオキシド(LOOH)の増加、還元型グルタチオン(GSH)/酸化型グルタチオン(GSSG)の減少及びスーパーオキシドジムスターゼ活性の減少は、OTA と共に 0.5 ml の赤ワインを投与することによって予防された。赤ワイン中の抗酸化性フラボノイドの作用と考えられた(参照 167(2005)#245)。初期発育段階のラットにおいて線維症において間質細胞外マトリックスの沈着に関与する主要作用細胞である尿細管細胞の上皮表現型から筋線維芽細胞への転換の分子メカニズムを阻害することにより、一方、赤ワインは、長期間の OTA 処置により主として後期に誘発される線維症に関与するメカニズムには影響しなかった。(参照 168(2005)#280)

Caco-2/TC7 細胞(ヒト腸管上皮由来培養細胞)を用いた *in vitro* の試験では、培地で 10 倍希釈した脱アルコール赤ワインが、OTA と相乗作用し、細胞におけるアポトーシス段階反応(カスケード)のきっかけになることが示された。(参照 169(2007)#332)

⑤ 遺伝子発現及び細胞のシグナル伝達系の変化

OTA による遺伝子発現の変化が、転写因子レベルで制御されていることが示されている。

Fischer 344 ラット(雄、初期体重 175 g、一群 5 匹)に 300 µg/kg 体重/日の OTA を開始時摂取量として投与し、その後投与量を下げ、体重が 333 g となった後は投与量を 100 µg/kg 体重/日に固定した。試験の後半 6 か月間に 25%のラットに腎臓腫瘍が現れた。肝臓及び腎臓の遺伝子発現プロファイルが、OTA 投与開始後 7 日、21 日、4 か月、7 か月及び 12 か月後に試験された。腎臓では、転写因子である Nrf2 によって発現が制御されるグルタチオン S 転スフェラーゼ(GST)、NAD(P)H キノン還元酵素(NQO1)など解毒及び酸化ストレス応答に関与している多くの遺伝子、並びに同じく転写因子である肝細胞核内因子 4α(HNF4α) によって発現が制御される脂肪酸代謝及びチトクローム P450 に関与する遺伝子の発現が抑制された。腎臓においてこれらのタンパク質の発現も抑制された。酸化ストレスの影響を DNA の塩基脱落部位を指標として測定した結果、OTA 非投与の対照群に比較して 12 か月後の OTA 投与群では DNA 塩基脱落部位の有意な増加が認められた。また、尿細管損傷により発現する腎臓損傷のマーカーである KIM-1 及び細胞生存のマーカーとなるいくつかの遺伝子の発現は促進された。DNA 合成に関与する遺伝子又は DNA 損傷の結果誘導される遺伝子の発現には、小さな変化が認められただけであった。アポトーシスに関与する遺伝子には、ほとんど変化はみられなかった。腎臓において Na⁺/K⁺-ATPase などのトランスポーター遺伝子の発現は OTA により抑制され、腎臓尿細管において細胞外カルシウム恒常性維持を制御するレギュカルシンの発現は抑制された。本研究では、カルシウム恒常性維持の変化及び転写因子 HNF4αや Nrf2 による制御系の阻害などの後成的な遺伝子

機能変化のメカニズムが、酸化ストレスに対する細胞内防御を損傷し、OTA の発がん性に関与している可能性が考えられている。(参照 170(2006)#315) (参照 138(2007)#250)

1.5~6 $\mu\text{mol/L}$ の OTA と RL-34 細胞(ラット肝臓由来株化細胞)、ラット初代培養肝細胞及び NRK 細胞ラット(腎臓細胞由来株化細胞)を培養する *in vitro* 試験の結果、Nrf2 の転写活性の阻害と共に、DNA の酸化的損傷による塩基脱落部位の増加が認められた。Nrf2 経路の活性化剤を用いた前処理によりこれらの OTA の影響は予防された。(参照 138(2007)#250)

同じ用量で Fischer 344 ラット(雄、一群 4 匹)に OTA が 7 日間、21 日間又は 12 か月間混餌投与され、腎臓におけるタンパク質キナーゼ(PKC)及びヒストンデアセチラーゼ(HDAC)のタンパク質の発現が調べられた。対照群と比較して、OTA 摂取群では、全ての採取時において PKC のリン酸化が促進され、21 日目及び 12 か月目には統計的有意性が認められた。PKC の活性化は、下流シグナル因子である MAPK (MAP キナーゼ)細胞外シグナル制御キナーゼアイソフォーム 1/2(ERK 1/2)、転写因子である ETS ファミリータンパク質 1(ELK 1/2)及びリボソーム-S6 キナーゼ(p90RSK)の活性化と関連していた。インシュリン生育因子-1 受容体(IGF-1r)と IGF-1 によって活性化されるイノシトールリン脂質依存性キナーゼ-1 系(PDK1)の発現増加が OTA 投与 7 日目及び 21 日目で認められたことから、PKC の上流で作用している可能性が示されたとしている。また、OTA 投与群では HDAC3 タンパク質の発現が促進されて、HDAC 酵素の活性化が認められることから、本研究では OTA の作用に HDAC3 を介した遺伝子発現抑制が関与している可能性が考えられている。(参照 171(2007)#316)

IGF-1 とその後の MRPK 下流応答、MAPK-ERK カスケードの活性化が、IGF-1 レセプター(IGF-1r)の発現を促進し、増加した異型の PKC 活性が、MARK の活性化をもたらす。これが、腫瘍抑制遺伝子である von Hippel-Lindau 遺伝子産物の不活化による腎臓細胞がん発生の重要な要因と考えられている。IGF-1r はまた、げっ歯類の腫瘍発生にも関与していると考えられ、PKC 活性及び ERK 1/2 の選択的な活性化が、ラットにおける腎臓がんに関連付けられている。本研究では、これらの結果から、初期の *in vitro* 試験で示唆されたように、OTA の雄ラットへの長期間投与が、アポトーシスを誘導するというよりむしろ、増殖及び酸化ストレスの選択的刺激と適合する MAPK 反応を起すことを示唆しているとしている。(参照 171(2007)#316)

野生型ラット及び、結節性硬化症 2(*Tsc2*)腫瘍抑制遺伝子中に優性の生殖細胞系列変異に対し異型接合を持つ Eker ラットに、210 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日の OTA が 1、3、7 又は 14 日間強制経口投与された。腎臓組織病理、細胞増殖及び遺伝子発現プロファイルが、腎臓の皮質又は髄質外層で調べられた。OTA は、皮質に軽い病的所見(前腫瘍性病変)を誘発し、野生型ラットでは 14 日目に、Eker ラットでは 7 日目より有意に細胞増殖の増加を引き起こした。OTA 投与群では、ラパマイシンシグナル経路の標的であるフォスファチジルイノシトール 3-キナーゼ(PI3K)-AKT-*Tsc2* の多数の遺伝子の発現が抑制された。Eker ラットは、全ての影響に対し、野生ラットより OTA に対する感

受性が高かった。本研究では、影響の全体傾向から、*Tsc2*が、OTA の毒性への関与が示唆されている。(参照 172(2007)#348)

⑥ 細胞増殖増加、アポトーシス増加、細胞有糸分裂阻害など

MDCK 細胞 C-7 クローンを 100 nM/L の OTA と培養すると、c-jun N-末端キナーゼ(JNK)の活性化と共にカスパーゼ活性化及び DNA ラダーによってアポトーシスが検出された。乳酸脱水素酵素(LDH)放出によって検出される細胞壊死は認められなかった。MDCK 細胞 C-11 クローンでは、JNK の活性化及びアポトーシスはみられず、300 nM/L の OTA と培養すると DNA 断片化及び LDH 放出がみられ、壊死が誘導された。(参照 173(2000)#116)

Wistar ラット(雄、一群 4〜5 匹)に 0、0.25、0.50、1.00 mg/kg 体重の OTA が週 3 回、4 週間腹腔内投与された結果、血中及び腎臓における OTA 濃度が用量依存的に増加し、尿細管上皮細胞に用量依存的なアポトーシスの増加が認められた。(参照 174(2004)#262)

F344 ラット(雄、一群 3 匹)に、0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重の OTA が、1 週間に 5 回の頻度で 2 週間経口投与された。組織学的検査の結果、腎臓髄質外帯に尿細管配列の組織障害が観察された。髄質外帯には用量依存的にアポトーシス性の細胞及び S3 細管に点在する巨大核を有する細胞がみられ、組織変化と一致して、腎臓に細胞増殖を示す核内増殖抗原(PCNA)の発現の用量依存的増加が認められた。(参照 15(2005)#308)

NRK-52E 細胞(ラット腎臓近位尿細管由来株化細胞)に 100、1000 nmol/L 濃度の OTA を曝露すると、LDH の分泌、DNA ラダーの形成及びcapsase-3 の活性化により、上皮堅牢性の喪失、壊死による細胞数減少及びアポトーシス増加など、慢性の間質性腎症に特有の変化が確認された。OTA は、炎症活性のマーカーである NFκB の活性化、線維症のマーカーであるコラーゲン分泌及び上皮間葉転換のマーカーであるα-平滑筋アクチンの生成を誘発した。また、用量依存的に、細胞外シグナル制御キナーゼ 1/2 (ERK 1/2)、JNK 及び細胞外シグナル制御キナーゼ 38(p38)も誘導した。(参照 175(2005)#337)

コラーゲン分泌の誘発が、OTA に曝露した OK 細胞及びヒト腎臓近位尿細管細胞において認められた。コラーゲン分泌は時間と用量に依存し、細胞毒性の誘発も同様であった(参照 175(2005)#337)。OK 及び NRK-25E 細胞へ ERK 1/2 阻害剤の存在下、OTA を曝露させたところ、OTA 単独曝露に比べて細胞数の減少、タンパク質の低下、上皮堅牢性の低下、アポトーシス及びネクロシスの増加が認められ、毒性が強まった。炎症、線維症上皮間葉転換のバイオマーカーも増強された。本研究では、アントシアニジンのような天然に存在する ERK 1/2 阻害剤が OTA の作用を強化する可能性があるかと推測されている。(参照 176(2005)#338)

ヒト腎臓尿細管細胞及び肺線維芽細胞の初代培養細胞を用いて OTA の作用が調べられた。細胞と 0.3〜10 nmol/L の OTA が 2、5 又は 14 日間培養された。capsase-3

1 活性及び LDH 活性が、各々アポトーシス及びネクローシス細胞死の指標として測定
2 された。細胞内タンパク質含量、コラーゲン及びフィブロネクチン分泌及び転写因子
3 NF- κ B 活性もまた測定された。腎臓尿細管細胞は、capsase-3 と LDH 放出の増加に
4 関して、線維芽細胞より約 10 倍高い感受性を示し、低濃度(0.3~10 nmol/L)の OTA
5 に 14 日間曝露することにより、細胞の肥大化が認められた。腎臓尿細管細胞特異的な
6 線維性の反応が NF- κ B 活性、コラーゲン III 及びフィブロネクチン分泌の増加により
7 確認された。(参照 177(2007)#342)

8 ラット(雌雄不明、一群 6~9 匹)に 0.8 mg/kg 体重の OTA が腹腔内投与により 90 日
9 間投与された。腎臓の組織学的検査により、投与 30 日後には、腎臓で細胞分裂期中期
10 及び終期にある細胞が認められ、有糸細胞分裂の障害が示唆された。90 日後には局所
11 的に細胞核の肥大した巨大な尿細管細胞が認められた。(参照 178(1999)#164)

12 ヒト腎臓上皮細胞由来株化細胞 IHKE を 0~50 μ M の OTA と 12 時間又は 24 時間
13 培養した結果、1 μ M 以上の濃度で 24 時間後に有意な細胞数の減少並びに時間及び用
14 量依存的なアポトーシスの増加が認められた。OTA 処理群では、多倍染色体を有する
15 巨大核細胞が認められ、染色体の不分離を示す choromatin bridge も観察された。巨
16 大核を含めた染色体異常は 24 時間後に OTA 非処理の対照群で $1.97 \pm 0.16\%$ に対し、
17 10 μ M 及び 50 μ M OTA 処理で各々 $4.36 \pm 1.15\%$ 及び $7.25 \pm 1.16\%$ と有意に増加した。
18 10 μ M 以上の OTA 濃度では、有糸分裂後期及び終期にある細胞の割合が有意に減少
19 した。これらの結果から、本研究では OTA は有糸分裂の中期から後期への移行を障害
20 すると考えられている。(参照 179(2006)#330)

21 V79 細胞を OTA と 24 時間培養した時の IC₅₀ は、35 μ M であった。この濃度にお
22 いて OTA が細胞周期に及ぼす影響をフローサイトメトリーを用いて調べた結果、
23 G₂/M 期の移行障害が観察された。DNA の複製障害は認められなかった。(参照
24 68(2007)#457)

25 V79 細胞又はヒト末梢血リンパ細胞が各々 114.9~1149.0 μ M 又は 24.8~247.6 μ M
26 の OTA 用量で 3 時間培養された。細胞は OTA 除去後、更に 18 時間培養された。OTA
27 処理により、凝縮して倍加した染色体及び細胞内で部分的に不規則に分離した染色分
28 体が認められる細胞が明らかに増加することから、本研究では DNA 複製後の細胞分
29 裂障害が考えられている。(参照 73(2008)#411)

30 CHO を 0、0.2、0.8 又は 1 mM の OTA と培養すると、多倍染色体を有する細胞が
31 OTA の用量依存的に増加した。細胞分裂の過程において DNA のもつれを解消して染
32 色体分離に必要な酵素であるトポイソメラーゼ II の活性を測定した結果、0.05 mM~
33 1 mM の用量で、OTA による用量依存的な活性低下が認められた。(参照
34 85(2009)#369)

35 F344 ラット(雄)に 21、70 及び 210 μ g/kg 体重の OTA が、週 5 日、90 日間強制経
36 口投与され、腎における遺伝子発現への影響がリアルタイム PCR により調べられた。
37 染色体不安定性や悪性形質転換に関連する有糸分裂の主要制御因子(PLK1、Aurora B、
38 Cdk1^{Cdc2}、いくつかのサイクリン、CDK 阻害因子、トポイソメラーゼ II、サバイビン

等)が OTA により過剰に発現した。14 日後及び 90 日後に、腎臓近位尿細管における Cdk1^{cdc2}、p21^{WAF1/CIP1}、トポイソメラーゼ II 及びサバイビンの発現の増加が免疫組織化学的検査により認められた。(参照 180(2009)#377)

(8) 毒性試験のまとめ

(参照文献)

- 1 J. Harwig, T. Kuiper-Goodman and P. M. Scott. Microbial food toxicants: Ochratoxins. In: Rechcigl, M., ed., Handbook of Foodborne Diseases of Biological Origin, Boca Raton, FL: CRC Press. 1983; 193-238; #496
- 2 M. A. Albassam, S. I. Yong, R. Bhatnagar, A. K. Sharma and M. G. Prior. Histologic and electron microscopic studies on the acute toxicity of ochratoxin A in rats. Vet. Pathol. 1987; 424: 427-435; #51
- 3 K. Chakor, E. E. Creppy and G. Dirheimer. In vitro studies on the relationship between hepatic metabolism and toxicity of ochratoxin A. Arch.Toxicol.Suppl. 1988; 12: 201-204; #80
- 4 R. Verma and D. Chakraborty. Alterations in DNA, RNA and protein contents in liver and kidney of mice treated with ochratoxin and their amelioration by Emblica officinalis aqueous extract. Acta Pol. Pharm. 2008; 65: 3-9; #410
- 5 R. Verma and D. Chakraborty. Emblica officinalis aqueous extract ameliorates ochratoxin-induced lipid peroxidation in the testis of mice. Acta Pol. Pharm. 2008; 65: 187-194; #402
- 6 I. C. Munro, C. A. Modie, T. Kuiper-Goodman, P. M. Scott and H. C. Grice. Toxicologic changes in rats fed graded dietary levels of ochratoxin A. Toxicol.Appl.Pharmacol. 1974; 28: 180-188; #179
- 7 S. Suzuki, Y. Kozuka, T. Satoh and M. Yamazaki. Studies on the nephrotoxicity of ochratoxin A in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. Toxicol.Appl.Pharmacol. 1975; 34: 479-490; #219
- 8 H. Meisner and P. Selanik. Inhibition of renal gluconeogenesis in rats by ochratoxin. Biochem. J. 1979; 180: 681-684; #172
- 9 H. Meisner, M. A. Cimbala and R. W. Hanson. Decrease of renal phospho-enolpyruvate carboxykinase RNA and poly(A) RNA level by ochratoxin A. Arch. Biochem. Biophys. 1983; 223: 264-270; #173
- 10 H. Meisner and L. Polsinelli. Changes in renal mRNA species abundance by ochratoxin A. Biochem.Pharmacol. 1986; 35: 661-665; #171
- 11 A. Kane, E. E. Creppy, R. Rösenthaller and G. Dirheimer. Changes in urinary and renal tubular enzymes caused by subchronic administration of ochratoxin A in rats. Toxicology. 1986; 42: 233-243; #139
- 12 M. D. Stonard, C. W. Gore, G. J. A. Oliver and I. K. Smith. Urinary enzymes and protein patterns as indicators of injury to different regions of the kidney. Fund. Appl. Toxicol. 1987; 9: 339-351; #211
- 13 NTP. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A (CAS NO. 303-47-9) in F344/N rats (gavage studies). NIH Publication No. 88-2813 (G. Boorman, Ed.), Research Triangle Park, NC U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health. 1989; #318
- 14 F. Hatey and P. Galtier. [Short term toxicity of ochratoxin A in rats; some biochemical manifestations of intoxication].[in French]. Ann. Rech. Vet. 1977; 8: 7-12; #507
- 15 A. Mally, W. Volkel, A. Amberg, M. Kurtz, P. Wanek, E. Eder, G. Hard and W. Dekant. Functional, biochemical and pathological effects of repeated oral administration of ochratoxin A to rats. Chem.Res.Toxicol. 2005; 18:

- 1242-1252; #308
- 16 R. Gibson, C. Bailey, L. Kuena, W. Huff and R. Harvey. Impact of L-phenylalanine supplementation on the performance of three-week-old broilers fed diets containing ochratoxin A. 1. Effects on body weight, feed conversion, relative organ weight, and mortality. Poult. Sci. 1990; 69: 414-419; #119
- 17 S. Gupta, N. Jindal, R. S. Khokhar, R. K. Asrani, D. R. Ledoux and G. E. Rottinghaus. Individual and combined effects of ochratoxin A and Salmonella enterica serovar Gallinarum infection on pathological changes in broiler chickens. Avian Pathol. 2008; 37: 265-272; #407
- 18 N. Q. Hanif, G. Muhammad, M. Siddique, A. Khanum, T. Ahmed, J. A. Gadahai and G. Kaukab. Clinico-pathomorphological, serum biochemical and histological studies in broilers fed ochratoxin A and a toxin deactivator (Mycofix Plus). Br. Poult. Sci. 2008; 49: 632-642; #396
- 19 M. Denli, J. C. Blandon, M. E. Guynot, S. Salado and J. F. Perez. Efficacy of a new ochratoxin-binding agent (Ocratox) to counteract the deleterious effects of ochratoxin A in laying hens. Poult. Sci. 2008; 87: 2266-2272; #394
- 20 M. Kumar, P. M. Dwivedi, A. K. Sharma, N. D. Singh and R. J. Patil. Ochratoxin A and citrinin nephrotoxicity in New Zealand White rabbits: an ultrastructural assessment. Mycopathologia. 2007; 163: 21-30; #297
- 21 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and E. J. Hinsman. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs III. Terminal renal ultrastructural alterations. Vet. Pathol. 1977; 14: 392-406; #145
- 22 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and J. Tuite. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs. I. Clinical and clinicopathological features. Vet. Pathol. 1977; 14: 154-172; #146
- 23 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and J. Tuite. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs. II. Pathology. Vet. Pathol. 1977; 14: 261-272; #147
- 24 G. M. Szczech, W. W. Carlton, J. Tuite and R. Caldwell. Ochratoxin A toxicosis in swine. Vet Pathol. 1973; 10: 347-64; #1020
- 25 P. Krogh, N. H. Axelsen, F. Elling, N. Gyrd-Hansen, B. Hald, J. Hyldgaard-Jensen, A. E. Larsen, A. Madsen, H. P. Mortensen, T. Moller, O. K. Petersen, U. Ravnskov, M. Rostgaard and O. Aalund. Experimental porcine nephropathy. Changes of renal function and structure induced by ochratoxin A- contaminated feed. Acta Pathol Microbiol Scand Suppl. 1974; 0: 1-21; #1014
- 26 F. Elling. Ochratoxin A-induced mycotoxic porcine nephropathy: alterations in enzyme activity in tubular cells. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1979; 87: 237-243; #95
- 27 F. Elling, J. P. Nielsen, E. B. Lillehoj, M. S. Thomassen and F. C. Stømer. Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: Enzyme and ultrastructure changes after short-term exposure. Toxicology. 1985; 23: 247-254; #97
- 28 H. Meisner and P. Krogh. Phosphoenolpyruvate carboxykinase as a selective indicator of ochratoxin A induced nephropathy. Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1986; 14: 199-206; #170
- 29 P. Krogh, N. Gyrd-Hansen, B. Hald, S. Larsen, J. P. Neilsen, M. Smith, C. Ivanoff and H. Meisner. Renal enzyme activities in experimental ochratoxin

- 1 A-induced porcine nephropathy: diagnostic potential of phosphoenolpyruvate
- 2 carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. J. Toxicol.
- 3 Environ. Health. 1988; 23: 1-14; #152
- 4 30 S. D. Stoev, S. Vitanov, G. Anguelov, T. Petkova-Bocharova and E. E. Creppy.
- 5 Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing
- 6 ochratoxin A and penicillic acid. Vet. Res. Commun. 2001; 25: 205-223; #350
- 7 31 S. D. Stoev, M. Paskalev, S. MacDonald and P. Mantle. Experimental one
- 8 year ochratoxin A toxicosis in pigs. Exp. Toxicol. Pathol. 2002; 53: 481-487;
- 9 #351
- 10 32 P. Krogh and F. Elling. Mycotoxic nephropathy. Vet. Sci. Commun. 1977; 1:
- 11 51-63; #150
- 12 33 M. Kanisawa and S. Suzuki. Induction of renal and hepatic tumors in mice
- 13 by ochratoxin A; a mycotoxin. Gann. 1978; 69: 599-600; #140
- 14 34 M. Kanisawa. Synergistic effect of citrinin on hepatorenal carcinogenesis of
- 15 OA in mice. In: Kurata,H. and Ueno,Y., Toxigenic Fungi - Their Toxins and
- 16 Health Hazard. Tokyo: Kodansha and Amsterdam: Elsevier. 1984; 245-254;
- 17 #497
- 18 35 A. M. Bendele, W. W. Carlton, P. Krogh and E. B. Likkehoj. Ochratoxin A
- 19 carcinogenesis in the (C57BL/6J x C3H)F1 mouse. J.Natl.Cancer Inst. 1985;
- 20 23: 911-918; #63
- 21 36 E. Rached, G. C. Hard, K. Blumbach, K. Weber, R. Draheim, S. Ozden, U.
- 22 Steger, W. Dekant and A. Mally. Ochratoxin A: 13-week oral toxicity and cell
- 23 proliferation in male F344/N rats. Toxicol.Sci. 2007; 97: 288-298; #331
- 24 37 JECFA. "JECFA monographs Ochratoxin A: WHO Food Additives Series,
- 25 No.28, 1990.". 1990; #1030
- 26 38 J. M. Ward, D. G. Goodman, R. A. Squire, K. C. Chu and M. S. Linhart.
- 27 Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging (C57BL6N/ x C3H/HeN)F1
- 28 (B6C3F1) mice. J.Natl.Cancer Inst. 1979; 63: 849-854; #230
- 29 39 A. M. Bendele and W. W. Carlton. Incidence of obstructive uropathy in male
- 30 B6C3F1 mice on a 24-month carcinogenicity study and its apparent
- 31 prevention by ochratoxin A. Lab. Anim. Sci. 1986; 36: 282-285; #62
- 32 40 C. N. Rao. Obstructive uropathy in group caged male B6C3F1 mice on a
- 33 24-month carcinogenicity study. (letter). Lab. Anim. Sci. 1987; 37: 8-9; #198
- 34 41 JECFA. "JECFA monographs Ochratoxin A: WHO Food Additives Series,
- 35 No.47". 2001; #1031
- 36 42 G. C. Hard. Histopathologic evaluation of rat kidney from toxicity and
- 37 carcinogenicity studies with ochratoxin A. "Expert report by International
- 38 Life Science Institute, Washington DC,USA.". 2000; #547
- 39 43 USEPA. Benchmark dose software (BMDS) version 1.4.1.
- 40 <http://www.epa.gov/ncea/bmds/about.html>. 2007; #956
- 41 44 JECFA. JECFA monograph: Ochratoxin A: WHO Food Additives Series
- 42 No.59. 2008; 357-429; #1032
- 43 45 R. G. Arora and H. Frölén. Interference of mycotoxins with prenatal
- 44 development of the mouse. 2. Ochratoxin A induced teratogenic effects in
- 45 relation to the dose and stage of gestation. Acta Vet. Scand. 1981; 22:
- 46 535-552; #57
- 47 46 J. Singh and R. D. Hood. Maternal protein deprivation enhances the

- 1 teratogenicity of ochratoxin A in mice. *Teratology*. 1985; 32: 381-388; #205
- 2 47 Y. Fukui, S. Hayasaka, M. Itoh and Y. Tabenchi. Development of neurons
- 3 and synapses in ochratoxin A-induced microcephalic mice: A quantitative
- 4 assessment of somatosensory cortex. *Neurotox. Teratol.* 1992; 14: 191-196;
- 5 #106
- 6 48 R. Katagiri, M. Kurome, Y. Teshima, E. Ueta and I. Naruse. Prevention of
- 7 ochratoxin A-induced neural tube defects by folic acid in the genetic
- 8 polydactyly/arhinencephaly mouse, Pdn/Pdn. *Congenit. Anom. (Kyoto)*. 2007;
- 9 47: 90-96; #451
- 10 49 J. Moré and P. Galtier. [Toxicity of ochratoxin A. I. Embryotoxic and
- 11 teratogenic effect in rats.] [in French]. *Ann. Rech.Vet.* 1974; 5: 167-178; #498
- 12 50 J. Moré and P. Galtier. [Toxicity of ochratoxin A. II. Effect of treatment on
- 13 the progeny (F1 and F2) of intoxicated rats.][in French]. *Ann. Rech.Vet.*
- 14 1975; 6: 379-389; #499
- 15 51 M. A. Abdel-Wahhab, S. A. Nada and M. S. Arbid. Ochratoxicosis; Prevention
- 16 of developopmental toxicity by L-methionine in rats. *J. Appl. Toxicol.* 1999;
- 17 19: 7-12; #50
- 18 52 P. B. Wangikar, P. Dwivedi and N. Sinha. Effect in rats of simultaneous
- 19 prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1. I. Maternal toxicity and
- 20 fetal malformations. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 2004; 71:
- 21 343-351; #361
- 22 53 P. B. Wangikar, P. Dwivedi, A. K. Sharma and N. Sinha. Effect in rats of
- 23 simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1. II.
- 24 Histopathological features of teratological anomalies induced in fetuses.
- 25 *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 2004; 71: 352-358; #362
- 26 54 R. D. Patil, P. Dwivedi and A. K. Sharma. Critical period and minimum
- 27 single oral dose of ochratoxin A for inducing developmental toxicity in
- 28 pregnant Wistar rats. *Reprod. Toxicol.* 2006; 22: 679-687; #325
- 29 55 P. B. Wangikar, P. Dwivedi, N. Sinha, A. K. Sharma and A. G. Telang.
- 30 Teratogenic effect in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and
- 31 aflatoxin B1. with special reference to microscopic effects. *Toxicology*. 2005;
- 32 215: 37-47; #500
- 33 56 IARC. "IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to
- 34 humans; Vol.56: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and
- 35 Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins.". 1993;
- 36 489-521; #136
- 37 57 F. C. Wehner, P. G. Thiel, S. J. v. Rensburg and I. P. C. Demasius.
- 38 Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some *Aspergillus* and
- 39 *Penicillium* mycotoxins. *Mutat.Res.* 1978; 58: 193-203; #296
- 40 58 M. H. Kuczuk, P. M. Benson, H. Heath and W. Hayes. Evaluation of the
- 41 mutagenic potential of mycotoxins using *Salmonella typhimurium* and
- 42 *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat.Res.* 1978; 53: 11-20; #41
- 43 59 A. M. Bendele, S. B. Neal, T. J. Oberly, C. Z. Thompson, B. J. Bewsey, L. E.
- 44 Hill, M. A. Rexroat, W. W. Carlton and G. S. Probst. Evaluation of ochratoxin
- 45 A for mutagenicity in a battery of bacterial and mammalian cell assays. *Food*
- 46 *Chem. Toxicol.* 1985; 23: 911-918; #244
- 47 60 F. E. Wügler, U. Friedrich and J. Schlatter. Lack of mutagenicity of

- 1 ochratoxin A and B, citrinin, patulin and conestine in *Salmonella*
2 *typhimurium* TA102. *Mutat.Res.* 1991; 261: 209-216; #234
- 3 61 A. Hennig, J. Fink-Gremmels and L. Leistner. Mutagenicity and effects of
4 ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic
5 activation. In: Castegnaro, M., Plestina, R., Dirheimer, G., Chernozemsky, I. N.
6 and Bastsch, H., eds, *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract*
7 *Tumours*, Lyon, France, International Agency for Research on Cancer. (IARC
8 Scientific Publication No. 115). 1991; 255-260; #502
- 9 62 S. Obrecht-Pflumio, T. Chassat, G. Dirheimer and D. Marzin. Genotoxicity of
10 ochratoxin A by *Salmonella* mutagenicity test after bioactivation by mouse
11 kidney microsomes. *Mutat.Res.* 1999; 446: 95-102; #321
- 12 63 H. Zepnik, A. Pahler, U. Schauer and W. Dekant. Ochratoxin A-induced
13 tumor formation: is there a role of reactive ochratoxin A metabolites?
14 *Toxicol.Sci.* 2001; 59: 59-67; #364
- 15 64 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Gann, B. J. Majer, M.
16 Eisenbauer and S. Knasmüller. Genotoxic effects of ochratoxin A in
17 human-derived hepatoma (HepG2) cells. *Food Chem. Toxicol.* 2002; 40:
18 1085-1090; #267
- 19 65 W. Föllmann and S. Lucas. Effects of the mycotoxin ochratoxin A in a
20 bacterial and a mammalian in vitro mutagenicity test system. *Arch.Toxicol.*
21 2003; 77: 298-304; #278
- 22 66 M. Umeda, T. Tsutsui and M. Saito. Mutagenicity and inducibility of DNA
23 single-strand breaks and chromosome aberrations by various mycotoxins.
24 *Gann.* 1977; 68: 619-625; #358
- 25 67 E. M. D. Groene, I. G. Hassing, M. L. Blonm, W. Seinen, J. Fink-Gremmels
26 and G. J. Horbach. Development of human cytochrome P450-expressing cell
27 lines: Application in mutagenicity testing of ochratoxin A. *Cancer Res.* 1996;
28 56: 299-304; #258
- 29 68 N. Palma, S. Cinelli, O. Sapora, S. H. Wilson and E. Dogliotti. Ochratoxin
30 A-induced mutagenesis in mammalian cells is consistent with the production
31 of oxidative stress. *Chem Res Toxicol.* 2007; 20: 1031-7; #457
- 32 69 G. H. Degen, M. M. Gerber, S. Obrecht-Pflumio and G. Dirheimer. Induction
33 of micronuclei with ochratoxin A in ovine seminal vesicle cell cultures. *Arch.*
34 *Toxicol.* 1997; 71: 365-371; #257
- 35 70 E. Dopp, J. Müller, C. Hahnel and D. Schiffmann. Induction of genotoxic
36 effects and modulation of the intracellular calcium level in Syrian hamster
37 embryo(SHE) fibroblasts caused by ochratoxin A. *Food Chem. Toxicol.* 1999;
38 37: 713-721; #263
- 39 71 Y. Manolova, G. Manolov, L. Parvanova, T. Petkova-Bocharova, M.
40 Castegnaro and I. N. Chernozemsky. Induction of characteristic
41 chromosomal aberrations, particularly x-trisomy, in cultured human
42 lymphocytes treated by ochratoxin A; a mycotoxin implicated in Balkan
43 endemic nephropathy. *Mutat.Res.* 1990; 231: 143-149; #313
- 44 72 M. B. Lioi, A. Santoro, R. Barbieri, S. Salzano and M. V. Ursini. Ochratoxin
45 A and zearalenone: a comparative study on genotoxic effects and cell death
46 induced in bovine lymphocytes. *Mutat.Res.* 2004; 557: 19-27; #305
- 47 73 P. Mosesso, S. Cinelli, J. Piñero, R. Bellacima and G. Pepe. In vitro

- cytogenetic results supporting a DNA nonreactive mechanism for ochratoxin A, potentially relevant for its carcinogenicity. *Chem. Res. Toxicol.* 2008; 21: 1235-1243; #411
- 74 Y. Ueno and K. Kubota. DNA-attacking ability of carcinogenic mycotoxins in recombination-deficient mutant cells of *Bacillus subtilis*. *Cancer Res.* 1976; 36: 445-451; #357
- 75 Y. Auffray and P. Boutibonnes. Evaluation of the genotoxic activity of some mycotoxins using *Escherichia coli*, in the SOS spot test. *Mutat.Res.* 1986; 171: 79-82; #242
- 76 C. Malaveille, G. Brun and H. Bartsch. Structure-activity studies in *E. coli* strains on ochratoxin A and its analogues implicate a genotoxic free radical and a cytotoxic thiol derivative as reactive metabolites. *Mutat.Res.* 1994; 307: 141-147; #167
- 77 E. E. Creppy, A. Kane, G. Dirheimer, C. Lafarge-Frayssinet, S. Mousset and C. Frayssinet. Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicol.Lett.* 1985; 28: 29-35; #254
- 78 R. Stetina and M. Votava. Induction of DNA single-strand breaks and DNA synthesis inhibition by patulin, ochratoxin A, citrinin, and aflatoxin B, in cell lines CHO and AWRP. *Folia Biol.* 1986; 32: 128-144; #349
- 79 S. Lebrun and W. Föllmann. Detection of ochratoxin A-induced DNA damage in MDCK cells by alkaline single cell electrophoresis (comet assay). *Arch.Toxicol.* 2002; 75: 734-741; #300
- 80 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, J. Schlatter, K. Wurth and C. Janzowski. Ochratoxin A: induction of (oxidative) DNA damage, cytotoxicity and apoptosis in mammalian cell lines and primary cells. *Toxicology.* 2005; 206: 413-425; #291
- 81 Y. Simaro-Doorten, S. Nijmeijer, L. d. Nijs-Tjon and J. Fink-Gremmels. Metabolism-mediated ochratoxin A genotoxicity in the single cell gel electrophoresis (comet assay). *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 261-270; #345
- 82 S. Lebrun, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann. Glutathione S-transferase polymorphisms and ochratoxin A toxicity in primary human urothelial cells. *Toxicology.* 2006; 224: 81-90; #301
- 83 L. Arbilla, A. Azqueta, J. H. M. v. Delft and A. D. d. Cerain. In vitro gene expression data supporting a DNA non-reactive genotoxic mechanism for ochratoxin A. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 2007; 220: 216-224; #241
- 84 L. Arbilla, A. Azqueta, O. Ezpeleta and A. D. d. Cerain. Oxidative DNA damage induced by ochratoxin A in the HK-2 human kidney cell line: Evidence of the relationship with cytotoxicity. *Mutagenesis.* 2007; 22: 35-42; #240
- 85 S. Cosimi, L. Orta, S. Mateos and F. Cortés. The mycotoxin ochratoxin A inhibits DNA topoisomerase II and induces polyploidy in cultured CHO cells. *Toxicol. In Vitro.* 2009; 23: 1110-1115; #369
- 86 H. Mori, K. Kawai, F. Ohbayashi, T. Kuniyasu, M. Yamazaki, T. Hamasaki and G. M. Williams. Genotoxicity of a variety of mycotoxins in the hepacyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepacytes. *Cancer Res.* 1984; 44: 2918-2923; #175
- 87 A. Dorrenhaus and W. Föllmann. Effects of ochratoxin A on DNA repair in

- 1 culture of rat hepatocytes and porcine urinary bladder epithelial cells.
- 2 Arch.Toxicol. 1997; 71: 709-713; #264
- 3 88 A. Flieger, A. Dorrenhaus, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann. Genotoxic
- 4 effect of the mycotoxin ochratoxin A in cultured human urothelial cells.
- 5 Occup.Hyg. 1998; 4: 297-307; #503
- 6 89 A. Dorrenhaus, A. Flieger, K. Golka, H. Schlze, M. Albrecht, G. H. Degen and
- 7 W. Föllmann. Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human
- 8 urothelial cells by the mycotoxin ochratoxin A. Toxicol.Sci. 2000; 53: 271-277;
- 9 #265
- 10 90 R. Cooray. Effects of some mycotoxins on mitogen-induced blastogenesis and
- 11 SCE frequency in human lymphocytes. Food Chem. Toxicol. 1984; 22:
- 12 529-534; #83
- 13 91 D. Kumari and S. P. Sinha. Effect of retinol on ochratoxin-produced
- 14 genotoxicity in mice. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 471-475; #298
- 15 92 S. Bose and S. P. Sinha. Modulation of ochratoxin-produced genotoxicity in
- 16 mice by vitamin C. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 533-537; #246
- 17 93 A. Mally, G. Pepe, S. Ravppri, M. Fiore, R. Gupta, W. Dekant and P. Mosesso.
- 18 Ochratoxin A causes DNA damage and cytogenetic effects but no DNA
- 19 adducts in rats. Chem.Res.Toxicol. 2005; 18: 1253-1261; #309
- 20 94 A. Bouslimi, C. Bouaziz, I. Ayed-Boussema, W. Hassen and H. Bacha.
- 21 Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability and
- 22 DNA fragmentation in cultured Vero cells and on chromosome aberrations in
- 23 mice bone marrow cells. Toxicology. 2008; 251: 1-7; #405
- 24 95 A. Kane, E. E. Creppy, A. Roth, R. Rösenthaller and G. Dirheimer.
- 25 Distribution of the [3H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A
- 26 ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver
- 27 and kidneys. Arch.Toxicol. 1986; 58: 219-224; #293
- 28 96 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, C. Janzowski, J. Kiossev, J. R. Latendresse, J.
- 29 Schlatter and R. J. Turesky. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage in
- 30 liver and kidney after oral dosing to rats. Mol.Nutr.Food Res. 2005; 49:
- 31 1160-1167; #292
- 32 97 D. Zeijezic, A.-M. Domijan and M. Peraica. DNA damage by ochratoxin A in
- 33 rat kidney assessed by the alkaline comet assay. Braz.J. Med. Biol. Res.
- 34 2006; 39: 1563-1568; #363
- 35 98 J. Reiss. Detection of genotoxic properties of mycotoxins with the SOS
- 36 chromotest. Naturwissenschaften. 1986; 73: 677-678; #545
- 37 99 R. A. Manderville. A case for the genotoxicity of ochratoxin A by
- 38 bioactivation and covalent DNA adduction. Chem.Res.Toxicol. 2005; 18:
- 39 1091-1097; #312
- 40 100 C. Schlatter, R. J. Studer and T. Rasonyi. Carcinogenicity and kinetic
- 41 aspects of ochratoxin A. Food Addit.Contam. 1996; 13(suppl.): 43-44; #201
- 42 101 A. Pfohl-Leskowicz and R. A. Manderville. Ochratoxin A: An overview on
- 43 toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Nutr. Food Res.
- 44 2007; 51(1): 61-99; #467
- 45 102 R. J. Turesky. Perspective: ochratoxin A is not a genotoxic carcinogen.
- 46 Chem.Res.Toxicol. 2005; 18: 1082-1090; #356
- 47 103 Y. Grosse, I. Baudrimont, M. Castegnaro, A. M. Betbeder, E. E. Creppy, G.

- 1 Dirheimer and A. Pfohl-Leszkowicz. Formation of ochratoxin A metabolites
2 and DNA adducts in monkey kidney cells. Chem. Biol. Interactions. 1995; 95:
3 175-187; #283
- 4 104 S. Obrecht-Pflumio and G. Dirheimer. In vitro DNA and dGMP adducts
5 formation caused by ochratoxin A. Chem. Biol. Interactions. 2000; 124:
6 29-44; #320
- 7 105 A. Pfohl-Leszkowicz, Y. Grosse, M. Castegnaro, I. G. Nicolov, I. N.
8 Chernozemsky, H. Bartsch, A. M. Betbeder, E. E. Creppy and G. Dirheimer.
9 Ochratoxin A-related DNA adducts in urinary tract tumours of Bulgarian
10 subjects. In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N.
11 and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract.
12 Tumours, Lyon, France, International Agency for Research on Cancer.
13 (IARC Scientific Publications No.124). 1993; 141-148; #505
- 14 106 Y. Grosse, L. Chekir-Ghedira, A. Huc, S. Obrecht-Pflumio, G. Dirheimer, H.
15 Bacha and A. Pfohl-Leszkowicz. Retinol, ascorbic acid and alpha-tocopherol
16 prevent DNA adduct formation in mice treated with the mycotoxins
17 ochratoxin A and zearalenone. Cancer Lett. 1997; 114: 225-229; #284
- 18 107 M. Castegnaro, U. Mohr, A. Pfohl-Leszkowitz, J. Esteve, J. Steinmann, T.
19 Tillmann, J. Michelon and H. Bartsch. Sex- and strain-specific induction of
20 renal tumors by ochratoxin A in rats correlates with DNA adduction.
21 Int.J.Cancer. 1998; 77: 70-75; #248
- 22 108 A. Pfohl-Leszkowicz, E. Pinelli, H. Barsch, U. Mohr and M. Castegnaro. Sex-
23 and strain-specific expression of cytochrome P450s in ochratoxin A-induced
24 genotoxicity and carcinogenicity in rats. Mol. Carcinog. 1998; 23: 76-85; #328
- 25 109 V. Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, J. Dai, M. Castegnaro and R. A. Manderville.
26 Evidence for covalent DNA adduction by ochratoxin A following chronic
27 exposure to rats and subacute exposure to pig. Chem.Res.Toxicol. 2004; 17:
28 1289-1296; #274
- 29 110 A. Pfohl-Leszkowicz, K. Chakor, E. Creppy and G. Dirheimer. DNA adduct
30 formation in mice treated with ochratoxin A. In: Castegnaro,M., Plestina,R.,
31 Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic
32 Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon, France, International
33 Agency for Research on Cancer (IARC Scientific Publications No. 115). 1991;
34 245-253; #504
- 35 111 A. Pfohl-Leszkowicz, Y. Grosse, A. Kane, E. E. Creppy and G. Dirheimer.
36 Differential DNA adduct formation and disappearance in three mouse
37 tissues after treatment with the mycotoxin ochratoxin A. Mutat Res. 1993;
38 289: 265-73; #1036
- 39 112 A. Mally, H. Zepnik, P. Wanek, E. Eder, K. Kingley, H. Ihmels, W. Volkel
40 and W. Dekant. Ochratoxin A: lack of formation of covalent DNA adducts.
41 Chem.Res.Toxicol. 2004; 17: 234-242; #307
- 42 113 T. Delatour, A. Mally, J. Richoz, S. Ozden, W. Dekant, H. Ihmels, D. Otto, D.
43 Gasparutto, M. Marin-Kuan, B. Schilter and C. Cavin. Absence of
44 2'-deoxyguanosine-carbon 8-bound ochratoxin A adduct in rat kidney DNA
45 monitored by isotope dilution LC-MS/MS. Mol.Nutr.Food Res. 2008; 52(4):
46 472-482; #259
- 47 114 A. Mally and W. Dekant. DNA adduct formation by ochratoxin A: review of

- the available evidence. Food Addit.Contam. 2005; 22(1): 65-74; #306
- 115 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A in food. the EFSA Journal. 2006; 365: 1-56; #273
- 116 J. C. Gautier, J. Richoz, D. H. Welti, J. Markovic, E. Gremaud, F. P. Guengerich and R. J. Turesky. Metabolism of ochratoxin A: Absence of formation of genotoxic derivatives by human and rat enzymes. Chem. Res. Toxicol. 2001; 14: 34-45; #281
- 117 K. Gross-Steinmeyer, J. Weymann, H. G. Hege and M. Metzler. Metabolism and lack of DNA reactivity of the mycotoxin ochratoxin A in cultured rat and human primary hepatocytes. J.Agric.Food Chem. 2002; 50: 938-945; #285
- 118 J. C. Galtier, J. Richoz, D. H. Welti, J. Markovic, E. Gremaud, F. P. Guengerich and R. J. Turesky. Metabolism of ochratoxin A: Absence of formation of genotoxic derivatives by human and rat enzymes. Chem. Res. Toxicol. 2001; 14: 34-45; #66
- 119 E. Randerath, W. P. Watson, G. D. Zhou, J. Chang and K. Randerath. Intensification and depletion of specific bulky renal DNA adducts (I-compounds) following exposure of male F344 rats to the renal carcinogen ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA). Mutat.Res. 1995; 341: 265-279; #196
- 120 K. Randerath, E. Randerath, C. V. Smith and J. Chang. Structural origins of bulky oxidative DNA adducts (type II I-compounds) as deduced by oxidation of oligonucleotides of known sequence. Chem.Res.Toxicol. 1996; 9: 247-254; #197
- 121 A. Pfohl-Leszkowicz, H. Bartsch, B. Azemar, U. Mohr, J. Esteve and M. Castegnaro. MESNA protects rats against nephrotoxicity but not carcinogenicity induced by ochratoxin A, implicating two separate pathways. Med. Biol. 2002; 9: 37-43; #329
- 122 D. Hoehler, R. R. Marquardt, A. R. McIntosh and H. Xiao. Free radical generation an induced by ochratoxin A and its analogs in bacteria (*Batillus brevis*). J.Biol.Chem. 1996; 271: 27388-27394; #130
- 123 D. Hoehler, R. R. Marquardt, A. R. McIntosh and G. M. Hatch. Induction of free radicals in hepacytes, mitochondria and microsomes of rats by ochratoxin A and its analogs. Biochim. Biophys. Acta. 1997; 1357: 225-233; #131
- 124 I. G. Gillman, T. N. Clark and R. A. Manderville. Oxidation of ochratoxin A by an Fe-porphyrin system: Model for enzymatic activation and DNA cleavage. Chem.Res.Toxicol. 1999; 12: 1066-1076; #120
- 125 J. Dai, G. Park, J. L. Perry, Y. V. Il'ichev, D. A. Bow, J. B. Pritchard, V. Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, R. A. Manderville and J. D. Simon. Molecular aspects of the transport and toxicity of ochratoxin A. Acc.Chem.Res. 2004; 37: 874-881; #256
- 126 J. Dai, M. W. Wright and R. A. Manderville. An oxygen-bonded c8-deoxyguanosine nucleoside adduct of pentachlorophenol by peroxidase activation: evidence for ambident c8 reactivity by phenoxyl radicals. Chem Res Toxicol. 2003; 16: 817-21; #1033
- 127 J. Dai, M. W. Wright and R. A. Manderville. Ochratoxin a forms a carbon-bonded c8-deoxyguanosine nucleoside adduct: implications for c8

- 1 reactivity by a phenolic radical. J Am Chem Soc. 2003; 125: 3716-7; #1035
- 2 128 M. Tozlovanu, V. Faucet-Marquis, A. Pfohl-Leszkowicz and R. A. Manderville.
3 Genotoxicity of the hydroquinone metabolite of ochratoxin A:
4 Structure-activity relationship for covalent DNA adduction.
5 Chem.Res.Toxicol. 2006; 18: 1241-1247; #506
- 6 129 G. Aydin, N. Ozcelik, E. Cicek and M. Soyoz. Histopathologic changes in liver
7 and renal tissues induced by ochratoxin A and melatonin in rats.
8 Hum.Exp.Toxicol. 2003; 22: 383-391; #243
- 9 130 J. E. Jennings-Gee, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. S. Miller, A.
10 Pfohl-Leszkowicz and G. G. Schwartz. Ochratoxin A: In Utero Exposure in
11 Mice Induces Adducts in Testicular DNA. Toxins (Basel). 2010; 2: 1428-1444;
12 #1016
- 13 131 V. Sava, O. Reunova, A. Velasquez, R. Harbision and J. Sanchez-Ramos.
14 Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin A.
15 Neurotoxicology. 2006; 27: 82-92; #339
- 16 132 A. Belmadani, G. Taramu, A. M. Betbeder, P. S. Steyn and E. E. Creppy.
17 Subchronic effects of ochratoxin A on young adult rat and partial prevention
18 by aspartame, a sweetener. Hum.Exp.Toxicol. 1998; 17: 380-386; #61
- 19 133 T. Zanic-Grubisic, A. Santini, I. Cepelak, K. Barisic, D. Juretic and S.
20 Pepelnjak. Influence of ochratoxin A treatment on the activity of membrane
21 bound enzymes in rat brain regions. Biol. Chem. Hoppe Seyler. 1996; 377:
22 121-127; #236
- 23 134 P. M. Dortant, G. W. M. Peters-Volleberg, H. V. Loveren, R. R. Marquardt
24 and G. J. A. Speijers. Age-related differences in the toxicity of ochratoxin A
25 in female rats. Food Chem. Toxicol. 2001; 39: 55-65; #266
- 26 135 N. Delibas, I. Altunas, Z. Yonden and N. Ozcelik. Ochratoxin A reduces
27 NMDA receptor subunits 2A and 2B concentrations in rat hippocampus:
28 partial protective effect of melatonin. Hum. Exp. Toxicol. 2003; 22: 335-339;
29 #260
- 30 136 A. Thuvander, A. Breitholtz-Emanuelsson and F. Olsen. Effects of ochratoxin
31 A on the rat immune system after subchronic exposure. Food Chem. Toxicol.
32 1995; 33: 1005-1011; #223
- 33 137 A. Thuvander, A. Breitholtz-Emanuelsson, D. Brabencova and I. Gadhasson.
34 Prenatal exposure of Balb/c mice to ochratoxin A: Effects on the immune
35 system in the offspring. Food Chem. Toxicol. 1996; 34: 547-554; #222
- 36 138 C. Cavin, T. Delatour, M. Marin-Kuan, D. Holzhauser, L. Higgins, C.
37 Bezencon, G. Guignard, S. Junod, J. Richoz-Payot, E. Gremaud, J. D. Hayes,
38 S. Nestler, P. Mantle and B. Schilter. Reduction in antioxidant defence may
39 contribute to ochratoxin A toxicity and carcinogenicity. Toxicol.Sci. 2007; 96:
40 30-39; #250
- 41 139 L. Alvarez, A. G. Gil, O. Ezpeleta, J. A. Garcia-Jalon and A. L. D. Cerain.
42 Immunotoxic effects of ochratoxin A in Wistar rats after oral administration.
43 Food Chem. Toxicol. 2004; 42: 825-834; #238
- 44 140 M. Kanisawa, S. Suzuki, Y. Kozuka and M. Yamazaki. Histopathological
45 studies on the toxicity of ochratoxin A in rats 1. Acute oral toxicity. Toxicol.
46 Appl. Pharmacol. 1977; 41: 55-64; #141
- 47 141 P. Dwivedi and R. B. Burns. Pathology of ochratoxicosis A in young broiler

- 1 chicks. Res.Vet.Sci. 1984; 36: 92-103; #91
- 2 142 V. Rupic, B. Liker, S. Muzic, I. C. Bogdanic and I. Balzer. The effects of
- 3 ochratoxin A in feed on the blood content of lipids and proteins in chickens.
- 4 [in Serbo-Croatian]. Arh. Hig. Rada. Toxikol. 1978; 29: 139-145; #546
- 5 143 P. Dwivedi and R. B. Burns. Effect of ochratoxin A on immunoglobulins in
- 6 broiler chicks. Res.Vet.Sci. 1984; 36: 117-121; #92
- 7 144 M. L. Cambell, J. D. May Jr, W. E. Huff and J. A. Doerr". Evaluation of
- 8 immunity of young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and
- 9 ochratoxicosis. Poult. Sci. 1983; 62: 2138-2144; #78
- 10 145 R. B. Harvey, L. F. Kubera, S. A. Naqi, J. E. Gyimah, D. E. Corrier, B.
- 11 Paningrahy and T. D. Philips. Immunologic effects of low levels of ochratoxin
- 12 A in ovo: utilization of a chicken embryo model. Avian Dis. 1987; 31: 787-791;
- 13 #127
- 14 146 G. S. Singh, H. V. Chauhan, G. J. Jha and K. K. Singh. Immunosuppression
- 15 due to chronic ochratoxicosis in broiler chicks. J.Comp.Pathol. 1990; 103:
- 16 399-410; #206
- 17 147 C. Friis, R. Brinn and B. Hald. Uptake of ochratoxin A by slices of pig kidney
- 18 cortex. Toxicology. 1988; 52: 209-217; #101
- 19 148 P. P. Sokol, G. Ripich, P. D. Holohan and C. R. Ross. Mechanism of
- 20 ochratoxin A transport in kidney. J,Pharmacol.Exp.Ther. 1988; 246: 460-465;
- 21 #207
- 22 149 H. Endou, C. Koseki, H. Yamada and T. Obara. Evaluation of nephrotoxicity
- 23 using isolated nephron segments. Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1986; 14:
- 24 207-216; #508
- 25 150 W. O. Berndt and A. W. Hayes. In vivo and in vitro changes in renal function
- 26 caused by ochratoxin A in the rat. Toxicology. 1979; 12: 5-17; #64
- 27 151 K. Y. Jung and H. Endou. Nephrotoxicity assessment by measuring cellular
- 28 ATP content. II. Intranephron site of ochratoxin A nephrotoxicity.
- 29 Toxicol.Appl.Pharmacol. 1989; 100: 383-390; #138
- 30 152 E. Hietanen, H. Bartsch, J. C. Béréziat, M. Castegnaro and J. Michelon.
- 31 Characterization of the cytochrome P450 isozyme that metabolizes
- 32 ochratoxin A, using metabolic inducers, inhibitors, and antibodies. In:
- 33 Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and
- 34 Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract
- 35 Tumours . (IARC Scientific Publication No. 115), Lyon: IAPCPress. 1991;
- 36 297-304; #509
- 37 153 J. Fink-Gremmels, A. John and M. J. Blom. Toxicity and metabolism of
- 38 ochratoxin A. Nat.Toxins. 1995; 3: 214-220; #100
- 39 154 C. E. Adlouni, E. Pinelli, B. Azemar, D. Zaoui, P. Beane and A.
- 40 Pfohl-Leszkowicz. Phenobarbital increases DNA adduct and metabolites
- 41 formed by ochratoxin A: Role of CYP 2C9 and microsomal
- 42 glutathione-S-transferase. Environ.Mol.Mutag. 2000; 35: 123-131; #94
- 43 155 R. F. Omar, H. V. Gelboin and A. D. Rahimtula. Effect of cytochrome p450
- 44 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A.
- 45 Biochem.Pharmacol. 1996; 51: 207-216; #183
- 46 156 J. C. Seegers, L. H. Bohmer, M. C. Kruger, M. L. Lottering and M. d. Kock. A
- 47 comparative study of ochratoxin A-induced apoptosis in hamster kidney and

- 1 HeLa cells. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 1994; 129: 1-11; #204
- 2 157 H. Xiao, S. Madhyastha, R. R. Marquardt, S. Li, J. K. Vodela, A. A. Frohlich
3 and B. W. Kemppainen. Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form and
4 several of its analog: Structure-activity relationship. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*
5 1996; 137: 182-192; #235
- 6 158 J. A. Swenberg and R. R. Maronpot. Chemically induced cell proliferation as
7 a criterion in selecting doses for long-term bioassays. In: *Chemically Induced*
8 *Cell Proliferation: Implications for Risk Assessment*, New York: Wiley-Liss.
9 1991; 245-251; #510
- 10 159 D. R. Dietrich and J. A. Swenberg. Renal carcinogenesis. In: Hook, J.B. and
11 Goldstein, R.S., eds, *Toxicology of the Kidney.*, New York: Raven Press. 1993;
12 495-537; #511
- 13 160 G. C. Hard. Mechanisms of chemically induced renal carcinogenesis in the
14 laboratory rodent. *Toxicol. Pathol.* 1998; 26: 104-112; #126
- 15 161 V. Faucet-Marquis, F. Pont, F. C. Stømer, T. Rizk, M. Castegnaro and A.
16 Pfohl-Leschkowicz. Evidence of a new dechlorinated ochratoxin A derivative
17 formed in opossum kidney cell cultures after pretreatment by modulators of
18 glutathione pathways: correlation with DNA adduct formation. *Mol. Nutr.*
19 *Food Res.* 2006; 50: 530-542; #275
- 20 162 I. Baudrimont, A. M. Betbeder, A. Ghabi, A. Pfohl-Leschkowicz, G. Dirheimer
21 and E. E. Creppy. Effect of superoxide dismutase and catalase on the
22 nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin A in
23 rats. *Toxicology.* 1994; 89: 101-111; #58
- 24 163 J. Petrik, T. Zanic-Grubisic, K. Barisic, S. Pepeljnjak, B. Radic, Z. Ferenciz
25 and I. Cepelak. Apoptosis and oxidative stress induced by ochratoxin A in rat
26 kidney. *Arch. Toxicol.* 2003; 77: 685-693; #326
- 27 164 C. D. Giacomo, R. Acquaviva, A. Piva, V. Sorrenti, L. Vanella, G. Piva, G.
28 Casadei, L. F. L., A. Ritieni, M. Bognanno, L. D. Renzo, M. L. Barcellona, M.
29 Morlacchini and F. Galvano. Protective effect of cyanidin
30 3-O-beta-D-glucoside on ochratoxin A-mediated damage in the rat. *Br. J.*
31 *Nutr.* 2007; 98: 937-943; #458
- 32 165 A. M. Domijan, M. Peraica, A. L. Vrdoljak, B. Radić, V. Zlender and R. Fuchs.
33 The involvement of oxidative stress in ochratoxin A and fumonisin B1
34 toxicity in rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 1147-1151; #452
- 35 166 A. Pfohl-Leschkowicz, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. Peraica, M.
36 Castegnaro and V. Stefanovic. New molecular and field evidences for the
37 implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy
38 and urinary tract tumor. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 1131-1136; #449
- 39 167 A. A. Bertelli, M. Migliori, C. Filippi, N. Gagliano, E. Donetti, V. Panichi, V.
40 Scalori, R. Colombo, C. Mannari, J. P. Tillement and L. Giovannini. Effect of
41 ethanol and red wine on ochratoxin A-induced experimental acute
42 nephrotoxicity. *J.Agric.Food Chem.* 2005; 53: 6924-6929; #245
- 43 168 N. Gagliano, C. Torri, E. Donetti, F. Grizzi, F. Costa, A. E. Bertelli, M.
44 Migliori, C. Filippi, M. Bedoni, V. Panichi, L. Giovannini and M. Gioia.
45 Ochratoxin A-induced renal cortex fibrosis and epithelial-to-mesenchymal
46 transition: molecular mechanism of ochratoxin A injury and potential effects
47 of red wine. *Mol.Med.* 2005; 11: 30-38; #280

- 1 169 G. Ranaldi, E. Mancini, S. Ferruzza, Y. Sambuy and G. Perozzi. Effects of red
2 wine on ochratoxin A toxicity in intestinal Caco-2/TC7 cells. *Toxicol. In Vitro*.
3 2007; 21: 204-210; #332
- 4 170 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguët, R.
5 Mansourian, J. Holzwarth, M. Grigorov, T. Delatour, P. Mantle, C. Cavin
6 and B. Schilter. A toxicogenomics approach to identify new plausible
7 epigenetic mechanisms of ochratoxin A carcinogenicity in rat. *Toxicol. Sci.*
8 2006; 89: 120-134; #315
- 9 171 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguët, T. Delatour,
10 P. Mantle, C. Cavin and B. Schilter. MAPK-ERK activation in kidney of male
11 rats chronically fed ochratoxin A at a dose causing a significant incidence of
12 renal carcinoma. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007; 224: 174-181; #316
- 13 172 K. Stemmer, H. Ellinger-Ziegelbauer, H. J. Ahr and D. R. Dietrich.
14 Carcinogen-specific gene expression profiles in short-term treated Eker and
15 wild-type rats indicative of pathways involved in renal tumorigenesis.
16 *Cancer Res.* 2007; 67: 4052-4068; #348
- 17 173 M. Gekle, G. Schwerdt, R. Freudinger, S. Mildemberger, D. Wilflingseder, V.
18 Pollack, M. Dander and H. Schramek. Ochratoxin A induces JNK activation
19 and apoptosis in MDCK-C7 cells at nanomolar concentrations. *J Pharmacol*
20 *Exp Ther.* 2000; 293: 837-44; #116
- 21 174 A. M. Domijan, M. Peraica, Z. Ferencic, S. Cuzic, R. Fuchs, A. Lucic and B.
22 Radic. Ochratoxin A-induced apoptosis in rat kidney tissue. *Arh. Hig. Rada*
23 *Toksikol.* 2004; 55: 243-248; #262
- 24 175 C. Sauvant, H. Holzinger and M. Gelke. The nephrotoxin ochratoxin A
25 induces key parameters of chronic interstitial nephropathy in renal proximal
26 tubular cells. *Cell physiol. Biochem.* 2005; 15: 125-134; #337
- 27 176 C. Sauvant, H. Holzinger and M. Gelke. Proximal tubular toxicity of
28 ochratoxin A is amplified by simultaneous inhibition of the extracellular
29 signal-regulated kinases 1/2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005; 313: 234-241;
30 #338
- 31 177 G. Schwerdt, H. Holzinger, C. Sauvant, M. Königs, H.-U. Humpt and M.
32 Gekle. Long-term effects of ochratoxin A on fibrosis and cell death in human
33 proximal tubule of fibroblast cells in primary culture. *Toxicology.* 2007; 232:
34 57-67; #342
- 35 178 K. Maaroufi, A. Zakhama, I. Baudrimont, A. Achour, S. Abid, F. Ellouz, S.
36 Dhouib, E. E. Creppy and H. Bacha. Karyomegaly of tubular cells as an early
37 stage marker of nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats.
38 *Hum. Exp. Toxicol.* 1999; 18: 410-415; #164
- 39 179 E. Rached, E. Pfeiffer, W. Dekant and A. Mally. Ochratoxin A: apoptosis and
40 aberrant exit from mitosis due to perturbation of microtubule dynamics.
41 *Toxicol. Sci.* 2006; 92: 78-86; #330
- 42 180 M. Adler, K. Müller, E. Rached, W. Dekant and A. Mally. Modulation of key
43 regulators of mitosis linked to chromosomal instability is an early event in
44 ochratoxin A carcinogenicity. *Carcinogenesis.* 2009; 30: 711-719; #377
- 45
46