

フモニシンの遺伝毒性について（案）

①遺伝子突然変異

FB1、FB2 及び FB3 は、*Salmonella* Typhimurium TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535 又は TA1537 を用いた復帰突然変異試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、陰性の結果が得られている(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229, 2. DL Park, et al. (1992) #232, 3. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 4. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 5. M Aranda, et al. (2000) #400)。

②染色体異常試験及び小核試験

・ *in vitro*試験

F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた染色体異常試験(参照 4. S Knasmuller, et al. (1997) #230)、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)、PK15 細胞（ブタ腎臓上皮細胞由来細胞株）を用いた小核試験(参照 7. MS Segvic-Klaric, et al. (2008) #86)、ヒトリンパ球を用いた小核試験(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)、ヒト HepG2 細胞（ヒト肝臓がん由来細胞株）を用いた小核試験(参照 3. V Ehrlich, et al. (2002) #224)の結果は、いずれも陽性であった。

F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた小核試験の結果は、陰性であった(参照 4. S Knasmuller, et al. (1997) #230)。

・ *in vivo*試験

雄性 CF1 マウスに、精製 FB1 を 25 又は 100 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、骨髄細胞を用いて実施された小核試験の結果は陽性であった。(参照 5. M Aranda, et al. (2000) #400)

雌雄 BALB/c マウスに、精製 FB1 を 0.1、1、10 mg/kg 体重の用量で単回又は複数回腹腔内投与した結果、複数回投与では骨髄細胞に毒性兆候は見られたものの、いずれの処置においても骨髄細胞に小核の有意な増加は認められなかった(参照 8. R Karuna, et al. (2013) #233)。

③DNA 損傷及び修復

・ *in vitro*試験

大腸菌を用いた FB1 の SOS 試験及び DNA 修復試験結果は陰性であった(参照 4. S Knasmuller, et al. (1997) #230)。

ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験は 2 報報告されており、いずれも陰性であった(参照 9. WP Norred, et al. (1992) #231, 10. WC

1 Gelderblom, et al. (1992) #193)。

2 HepG2 細胞、C6 細胞 (ラット脳神経膠腫由来細胞株) を用いたコメットアッ
3 セイの結果は、いずれも陽性であり、FB1 による DNA 損傷が認められた(参照
4 3. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 11. TA Mobio, et al. (2003) #227)。

5 ヒトリンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験の結果は、陽性であった(参照 6.
6 D Lerda, et al. (2005) #226)。

7 8 ・ *in vivo*試験

9 雄性 F344 ラットに精製 FB1 又は FB2 (純度 90~95%) を 100 mg/kg 体重
10 の用量で単回経口投与する不定期 DNA 合成試験の結果は、いずれも陰性であっ
11 た(参照 10. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。

12 雄性 Wistar ラットに精製 FB1 (純度 98%) を 2 又は 7 日間、0.5 mg/kg 体重
13 /日の用量で腹腔内投与したコメットアッセイでは、腎臓においては 2 日投与群
14 から、肝臓では 7 日投与群において、有意な DNA 損傷の増加が確認された(参
15 照 12. AM Domijan, et al. (2007) #222)。

16 雄性 Wistar ラットに精製 FB1 (純度 98%) を 5、50 又は 500 µg/kg 体重の
17 用量で強制単回経口投与した。投与後 4、24 及び 48 時間目にと殺し、肝臓を用
18 いたコメットアッセイを行った結果、投与量及び時間依存的な DNA 損傷が認め
19 られた(参照 13. AM Domijan, et al. (2008) #127)。

20 21 ④遺伝毒性の機序

22 ・ *in vitro*試験

23 細胞周期を調節する遺伝子である p53 が正常な C6 細胞と、p53 遺伝子を欠
24 損した MEF 細胞 (マウス胚性線維芽細胞由来細胞株) に精製 FB1 (純度>98%)
25 をばく露させると、いずれの細胞においても DNA が酸化された 8-ヒドロキシ-
26 2'-デオキシグアノシン (8-OH-dG) が認められ、酸化ストレスの指標となるマ
27 ロンジアルデヒド (malondialdehyde : MDA) の生成が認められた。このこと
28 から、FB1 が脂質の過酸化を通して酸化ストレスによる DNA 損傷を及ぼして
29 いる可能性が示唆された。また、p53 遺伝子が正常な C6 細胞ではアポトーシス
30 及び細胞周期の乱れが認められた(参照 11. TA Mobio, et al. (2003) #227)。

31 Caco-2 細胞 (ヒト結腸癌由来細胞株) に精製 FB1 をばく露させると、10 µM
32 の濃度で、MDA の増加、タンパク質及び DNA 合成の抑制、DNA のメチル化
33 及び断片化を誘導した(参照 14. JH Kouadio, et al. (2007) #225)。DNA メチル
34 化を調べる目的で、NRK-52E 細胞 (ラット近位尿細管上皮細胞由来細胞株) 及
35 び Clone 9 細胞 (ラット肝臓上皮細胞由来細胞株) に精製 FB1 (純度 99%) を
36 1~50 µM の濃度でばく露させた。FB1 は、ゲノム全体の DNA メチル化レベル

1 に影響しなかったが、Clone 9 細胞では、がん遺伝子である *c-myc* 遺伝子のプロ
2 モーター領域のメチル化が増加した。また、両細胞とものがん抑制遺伝子である
3 VHL 遺伝子のプロモーター領域にメチル化がみられた(参照 15. G Demirel, et
4 al. (2015) #87)。

5 BALB/3T3 細胞 (マウス胚性線維芽細胞由来細胞株) に精製 FB1 (純度 90%)
6 を 10~1000 µg/mL の濃度で 48 時間から 4 週間ばく露した形質転換試験の結
7 果は、陰性であった(参照 16. CW Sheu, et al. (1996) #200)。また、Bhas 42 細
8 胞¹に精製 FB1 を 1~5 µg/mL の濃度でばく露させる形質転換試験の結果、濃
9 度依存性のプロモーション作用が見られたが、イニシエーション作用は認めら
10 なかった(参照 17. A Sakai, et al. (2007) #184)

11 なお、*Fusarium* 属のかび培養抽出物を用いて ³²P-ポストラベル法により
12 DNA 付加体を検出する試験の結果は陽性であり、オリゴヌクレオチドと FB1 を
13 用いて、エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) により DNA 付加
14 体を検出する試験の結果は陰性であった。JECFA では、FB1 を用いた ³²P-ポ
15 トラベル法では DNA 付加体は検出されず (未公表データ)、培養抽出物を用い
16 た ³²P-ポストラベル法試験で検出された DNA 付加体は、*Fusarium* 属が産生す
17 る他のかび毒によるものと判断された。(参照 18. JECFA (2001) #401)

19 ・ *in vivo*試験

20 雄性 Wistar ラットに精製 FB1 (純度 98%) を 2 又は 7 日間、0.5 mg/kg 体重
21 /日の用量で腹腔内投与した試験の結果、血漿、肝臓及び腎臓における Sa/So 比
22 が 2 日投与群から増加した。カタラーゼ活性、カルボニル化タンパク質 (PC)
23 及び MDA 濃度への影響は 7 日投与群で有意に増加した。著者らは、スフィン
24 ゴ脂質代謝の阻害が腎臓の DNA 損傷に関与していると考えた(参照 12. AM
25 Domijan, et al. (2007) #222)。

26 雄性 Wistar ラットに精製 FB1 (純度 98%) を 5、50 又は 500 µg/kg 体重の
27 用量で強制単回経口投与し、投与後 4、24 及び 48 時間にと殺し、肝臓を用いた
28 組織学的検査及び酸化ストレスの指標として還元型グルタチオン (GSH) 及び
29 MDA 濃度が調べられた。アポトーシス細胞の数は投与量及び時間依存的に増加
30 し、DNA 損傷の傾向と一致していたが、GSH 及び MDA の濃度に影響はみら
31 れなかった。著者らは、DNA 損傷の前にアポトーシスが生じており、FB1 が誘
32 発するアポトーシスは DNA 損傷に起因するものではないこと、また、低用量に
33 おいて有糸分裂像及び巨大核細胞が認められていることから、FB1 の発がんメ

¹ BALB/3T3 細胞に *v-Ha-ras* 遺伝子を導入した細胞株。Bhas 42 細胞を用いた形質転換
試験は発がんイニシエーターとプロモーターを高感度かつ簡便に検出することができ
るとされている。

1 カニズムには細胞増殖の変化が関与している可能性があると考えた(参照 13.
2 AM Domijan, et al. (2008) #127)。

3 雄性 Wistar ラットに精製 FB1 (純度 98%) を 200 ng/kg 体重/日又は 50 µg/kg
4 体重/日の用量で 5 日間経口投与すると、肝臓では MDA 及び PC 濃度に影響は
5 なかったものの、腎臓では MDA 及び PC 濃度が有意に増加したことが報告され
6 ている(参照 19. AM Domijan, et al. (2007) #223)。

7
8 以上のように、遺伝毒性について、サルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験
9 の結果は代謝活性化の有無にかかわらず陰性であったが、*in vitro* の細胞を用
10 いた染色体異常試験は陽性、*in vitro* 小核試験は陰性と陽性、*in vivo* 小核試験
11 は陰性と陽性の結果が得られており、染色体異常試験については結果が一致し
12 ていない。また、DNA 損傷と修復を指標とした試験の結果についても、陰性
13 と陽性の結果がある。

<参照>

- 1 W. C. Gelderblom and S. D. Snyman. Mutagenicity of potentially carcinogenic mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Mycotoxin Res.* 1991; 7: 46-52 #229
- 2 D. L. Park, S. M. Rua, Jr., C. J. Mirocha, E. S. Abd-Alla and C. Y. Weng. Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia decontamination procedure. *Mycopathologia.* 1992; 117: 105-108 #232
- 3 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Zsivkovits and S. Knasmueller. Fumonisin B1 is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis.* 2002; 17: 257-260 #224
- 4 S. Knasmuller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom, E. Zohrer and P. M. Eckl. Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat hepatocytes. *Mutat Res.* 1997; 391: 39-48 #230
- 5 M. Aranda, L. P. Perez-Alzola, M. F. Ellahuene and C. Sepulveda. Assessment of in vitro mutagenicity in *Salmonella* and in vivo genotoxicity in mice of the mycotoxin fumonisin B1. *Mutagenesis.* 2000; 15: 469-471 #400
- 6 D. Lerda, M. Biaggi Bistoni, N. Peralta, S. Ychari, M. Vazquez and G. Bosio. Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food Chem Toxicol.* 2005; 43: 691-698 #226
- 7 M. S. Klaric, S. Pepeljnjak and R. Ruzgaj. Genotoxicity of fumonisin B1, beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual and combined treatment. *Croatica Chemica Acta.* 2008; 81: 139-146 #86
- 8 R. Karuna and B. S. Rao. Lack of micronuclei induction by fumonisin B1 mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Res.* 2013; 29: 9-15 #233
- 9 W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss. Effects of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 1992; 30: 233-237 #231
- 10 W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber. The cancer-initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis.* 1992; 13: 433-437 #193

- 11 T. A. Mobio, E. Tavan, I. Baudrimont, R. Anane, M. R. Carratu, A. Sanni, M. F. Gbeassor, T. W. Shier, J. F. Narbonne and E. E. Creppy. Comparative study of the toxic effects of fumonisin B1 in rat C6 glioma cells and p53-null mouse embryo fibroblasts. *Toxicology*. 2003; 183: 65-75 #227
- 12 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B1: oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*. 2007; 232: 163-169 #222
- 13 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Peraica, G. Kovacevic, G. Gregorovic, Z. Krstanac, K. Horvatin and M. Kalafatic. Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver. *Hum Exp Toxicol*. 2008; 27: 895-900 #127
- 14 J. H. Kouadio, S. D. Dano, S. Moukha, T. A. Mobio and E. E. Creppy. Effects of combinations of *Fusarium* mycotoxins on the inhibition of macromolecular synthesis, malondialdehyde levels, DNA methylation and fragmentation, and viability in Caco-2 cells. *Toxicol*. 2007; 49: 306-317 #225
- 15 G. Demirel, B. Alpertunga and S. Ozden. Role of fumonisin B1 on DNA methylation changes in rat kidney and liver cells. *Pharm Biol*. 2015; 53: 1302-1310 #87
- 16 C. W. Sheu, I. Rodriguez, R. M. Eppley and J. K. Lee. Lack of transforming activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. *Food Chem Toxicol*. 1996; 34: 751-753 #200
- 17 A. Sakai, C. Suzuki, Y. Masui, A. Kuramashi, K. Takatori and N. Tanaka. The activities of mycotoxins derived from *Fusarium* and related substances in a short-term transformation assay using v-Ha-ras-transfected BALB/3T3 cells (Bhas 42 cells). *Mutat Res*. 2007; 630: 103-111 #184
- 18 JECFA. Fumonisin. 2001; #401
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>.
- 19 A. M. Domijan, M. Peraica, A. L. Vrdoljak, B. Radic, V. Zlender and R. Fuchs. The involvement of oxidative stress in ochratoxin A and fumonisin B1 toxicity in rats. *Mol Nutr Food Res*. 2007; 51: 1147-1151 #223