

フモニシンの毒性発現の機序について (案)

① 細胞内への取り込み

FB1 は細胞膜を通過することが示されている。精製 FB1 (純度>98%) を 24 時間 SNO 細胞 (ヒト食道癌由来細胞株) にばく露させ、FB1 抗体を用いて細胞内取り込みを電子顕微鏡で調べたところ、16 μM の濃度で、細胞質、核、ミトコンドリア及び細胞膜に陽性シグナルが見られた(参照 1. RB Myburg, et al. (2009) #361)。

② 細胞内の毒性発現

FB1 は、セラミド合成酵素であるスフィンガニン (スフィンゴシン) -*N*-アシル転移酵素を阻害する。セラミドの生合成には、スフィンガニン (Sa) とスフィンゴシン (So) を介した経路がある。これらのスフィンゴ脂質の化学構造がフモニシンと似ていることから、フモニシンは、競合拮抗作用によりセラミド合成酵素であるスフィンガニン (スフィンゴシン) -*N*-アシル転移酵素の阻害を引き起こすと考えられている。実験動物にフモニシン(FB1)を投与すると、セラミド合成酵素阻害作用により、急激に Sa 及び So の濃度が上昇する。このうち、特に Sa 濃度が高値となるため、肝臓、腎臓、血清、尿で Sa/So 比が高値となることが報告されている。血清中の Sa 濃度や Sa/So 比は、FB1 のばく露指標となることが家畜において示されているが、ヒトでは Sa/So 比が FB1 のばく露量指標として有用であるとのデータは得られていない(参照 2. KA Voss, et al. (2007) #67, 3. E Wang, et al. (1991) #296, 4. AM Domijan (2012) #246)。

このようなスフィンゴ脂質代謝異常がどのように細胞に作用するか、そのメカニズムは明らかではないが、スフィンゴ脂質代謝異常は、細胞に FB1 による毒性がみられる前に検出される変化であり、FB1 の細胞毒性にはスフィンゴ脂質の代謝異常が関与していることが示唆される。FB1 によるスフィンゴ脂質代謝異常が、脂質を介したシグナルに関与し、アポトーシス、ネクローシス、細胞増殖阻害、そして発がん性に関連すると考えられている。また、スフィンゴ脂質は、細胞膜の構成成分であることから、その代謝阻害は、細胞膜の機能を変化させる可能性がある(参照 2. KA Voss, et al. (2007) #67, 4. AM Domijan (2012) #246)。

FB1 によるスフィンゴ脂質代謝の変化により、細胞膜の機能阻害がおこり、細胞膜上の葉酸受容体を介した葉酸の細胞内取り込みが阻害されることが報告されている。葉酸受容体を発現している Caco-2 細胞に、精製 FB1 を最高濃度 20 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で添加し、葉酸の細胞内取り込みが調べられた。その結果、5-

1 メチルテトラヒドロ葉酸¹の取り込みが FB1 濃度依存的及びばく露時間依存的
2 に阻害された。FB1 により細胞のスフィンゴ脂質量は明らかに減少していたこ
3 とから、FB1 がスフィンゴ脂質の合成を阻害することにより、葉酸の取り込み
4 が抑制される可能性が考えられた。FB1 を介した葉酸取り込み阻害が NTD に
5 関与しているとの仮説が提唱されている(参照 4. AM Domijan (2012) #246, 5.
6 VL Stevens, et al. (1997) #362, 6. JECFA (2011) #350)。

7 8 ③ 血液脳関門の通過

9 12 日齢の Sprague Dawley 雄ラットに、精製 FB1 (純度>91%、FB2 は含ま
10 ず) が、0.8 又は 8 mg/kg 体重の用量で皮下投与された。投与後 24 時間までの
11 間に経時的に脳組織及び血液が採取され (一群 3~4 匹)、FB1、Sa 及び So 濃
12 度が測定された。その結果、FB1 を 8 mg/kg 体重の用量で投与した場合、脳内
13 に FB1 が検出され (血漿中のおよそ 1/50)、いずれの投与用量においても、脳
14 内 Sa 濃度及び Sa/So 比ともに増加した。このことから、FB1 は血液脳関門を
15 微量ながら通過し、スフィンゴ脂質代謝に影響を及ぼすことが示唆された(参照
16 7. OS Kwon, et al. (1997) #244)。

17 18 ④ 血液胎盤関門の通過

19 妊娠 15 日目の Sprague Dawley ラット 2 匹に ¹⁴C-FB1 を静脈内注射し、注
20 射 1 時間後の分布を調べた結果、胎児から検出された放射能は無視できる量で
21 あり、FB1 は胎盤を通過しないと考えられた(参照 8. KA Voss, et al. (1996)
22 #215)。

23 妊娠 LM/Bc マウスに、妊娠 7.5 日目と 8.5 日目の 2 回、5~20 mg/kg 体重/日
24 の FB1 を腹腔内投与すると、用量依存的に胎児に NTD がみられる。NTD の予
25 防効果を調べる目的で、20 mg/kg 体重/日の FB1 を投与した群に葉酸又はガン
26 グリオシド (GM1)²を妊娠マウスに腹腔内投与した結果、葉酸は NTD の発症
27 率を 79%から 50%に抑制し、GM1 は、同じく 79%から 5%に抑制した。著者ら
28 は、¹⁴C-FB1 を妊娠初期 (妊娠 10.5 日目) に腹腔内投与すると、胎盤及び胎児
29 に ¹⁴C-FB1 が検出されたこと(未公表データ)、また、FB1 投与群では胎児の Sa
30 濃度が上昇していたことより、母体毒性とは別に、FB1 が未熟な胎盤を通過し
31 て胎児に影響している可能性が考えられるとしている(参照 9. J Gelineau-van
32 Waes, et al. (2005) #55)。同じグループにより、So のリン酸化物であるスフィ
33 ンゴシン-1-リン酸 (S1P) 受容体と NTD の関係について調べられている。FB1

¹ 葉酸は、血漿中で 5-メチルテトラヒドロ葉酸として存在し、細胞に吸収される。

² セラミドから合成されるスフィンゴ糖脂質の一種。GM1 は主に神経系細胞の細胞膜に存在し、細胞のシグナル伝達を担うと考えられている。

1 又は S1P の受容体作動薬である FTY720 をそれぞれ妊娠マウスに投与すると
2 NTD が認められ、FTY720 は、母体及び胎児より検出されたことが報告されて
3 いる。著者らは、FB1 は、S1P 受容体を介して NTD に関与していると考えた
4 (参照 10. J Gelineau-van Waes, et al. (2012) #217)。

5 2011 年の JECFA の評価においては、動物試験の結果、FB1 が胎児から検出
6 された証拠はなく、FB1 は胎盤を通過しないと結論された。胎児毒性、骨格組
7 織及び軟質組織の奇形といった生殖毒性は、フモニシンによる母胎毒性を介し
8 た二次的な影響であるとされた(参照 6. JECFA (2011) #350)。2012 年に公表さ
9 れた Gelineau van Waes らの論文(参照 10. J Gelineau-van Waes, et al. (2012)
10 #217)では、FTY720 が胎児から検出されたことが報告されているが、FB1 の胎
11 児分布に関するデータはなかった。

12 このように FB1 投与により、胎児の Sa 濃度の上昇や NTD の発生というエ
13 ビデンスはあるものの、FB1 の胎盤通過については不明な点が多い。

<参照>

- 1 R. B. Myburg, N. Needhi and A. A. Chuturgoon. The ultrastructural effects and immunolocalisation of fumonisin B1 on cultured oesophageal cancer cells (SNO). *S. Afr. J. Sci.* 2009; 105: 217-222 #361
- 2 K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek. Fumonisin: toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2007; 137: 299-325 #67
- 3 E. Wang, W. P. Norred, C. W. Bacon, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J Biol Chem.* 1991; 266: 14486-14490 #296
- 4 A. M. Domijan. Fumonisin B1: a neurotoxic mycotoxin. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012; 63: 531-544 #246
- 5 V. L. Stevens and J. Tang. Fumonisin B1-induced sphingolipid depletion inhibits vitamin uptake via the glycosylphosphatidylinositol-anchored folate receptor. *J Biol Chem.* 1997; 272: 18020-18025 #362
- 6 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350
- 7 O. S. Kwon, J. A. Sandberg and W. Slikker, Jr. Effects of fumonisin B1 treatment on blood-brain barrier transfer in developing rats. *Neurotoxicol Teratol.* 1997; 19: 151-155 #244
- 8 K. A. Voss, C. W. Bacon, W. P. Norred, R. E. Chapin, W. J. Chamberlain, R. D. Plattner and F. I. Meredith. Studies on the reproductive effects of *Fusarium moniliforme* culture material in rats and the biodistribution of [14C] fumonisin B1 in pregnant rats. *Nat Toxins.* 1996; 4: 24-33 #215
- 9 J. Gelineau-van Waes, L. Starr, J. Maddox, F. Aleman, K. A. Voss, J. Wilberding and R. T. Riley. Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: mechanisms in an in vivo mouse model. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2005; 73: 487-497 #55
- 10 J. Gelineau-van Waes, M. A. Rainey, J. R. Maddox, K. A. Voss, A. J. Sachs, N. M. Gardner, J. D. Wilberding and R. T. Riley. Increased sphingoid base-1-phosphates and failure of neural tube closure after exposure to fumonisin or FTY720. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2012; 94: 790-803 #217