

1 (3) 慢性毒性・発がん性

2 ① マウスを用いた 2 年間発がん性試験 (National Toxicology Program :
3 NTP)

4 雌雄 B6C3F₁/Nctr BR マウス (雌雄それぞれ一群 48 匹) に精製 FB1 (純
5 度>96%) を 2 年間混餌投与する発がん性試験が実施された。FB1 の投与量
6 は、雄では、0、5、15、80 又は 150 mg/kg 飼料 (0、0.6、1.7、9.7 又は 17.1
7 mg/kg 体重/日相当)、雌では、0、5、15、50 又は 80 mg/kg 飼料 (0、0.7、
8 2.1、7.1 又は 12.4 mg/kg 体重/日相当) であった。

9 2 年間発がん性試験の結果、FB1 を投与しない対照群と比べて、すべての
10 FB1 投与群の雌雄マウスの体重に違いはみられなかった。生存率は、80
11 mg/kg 飼料以上の投与群の雌雄マウスで明らかに減少した。雌マウスでは、
12 対照群と比較して 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、相対肝臓重量、肝
13 細胞肥大と肝細胞のアポトーシスの発生頻度が有意に増加した。腫瘍に関し
14 ては、用量依存的な肝細胞腺腫及び肝細胞癌の増加が認められ、いずれも 50
15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、対照群に比べて発生頻度が有意に増加し、
16 増加傾向 (positive trend) が認められた (表 1)。雄マウスでは、15 mg/kg
17 飼料以上 FB1 投与群で、対照群と比較して肝細胞肥大が有意に増加したが、
18 肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度と FB1 投与量に相関はみられなかった。
19 発がんを指標とした FB1 の NOAEL は 15 mg/kg 飼料であった。

20

21 表 1 FB1 を 2 年間混餌投与した雌マウスに¹における肝腫瘍の発生頻度

FB1 投与量 (mg/kg 飼料)	0	5	15	50	80
腺腫(%)	5/47(11)	3/48(6.3)	1/48(2.0)	16/47(34)	31/45(69)
Poly-k 検定	P=0.0001	P=0.3314N	P=0.0862N	P=0.0047	P=0.0001
がん(%)	0/47(0)	0/48(0)	0/48(0)	10/47(21)	9/45(20)
Poly-k 検定	P=0.0001	—	—	P=0.0007	P=0.0007
腺腫及び/ 又はがん(%)	5/47(11)	3/48(6)	1/48(2)	19/47(40)	39/45(87)
Poly-k 検定	P=0.0001	P=0.3314N	P=0.0862N	P=0.0005	P=0.0001

¹ B6C3F₁ 雌マウスにおける NTP 発がん試験 2 年間生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、肝臓腫瘍で 17.33% (範囲:2-50%)、肝細胞癌で 8.4% (範囲: 0-20%)、肝臓腫瘍及び/又は肝細胞癌で 23.6% (範囲: 6-56%) と報告されている (Haseman JK, Hailey JR, Morris RW., Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. Toxicol Pathol. 1998 May-Jun;26(3):428-41.)。

1 NTP 試験結果より(参照 1. NTP (2001) #103)

2
3 NTP では、雌マウスの肝臓における Sa/So 比と肝細胞腫瘍の増加に相関
4 性はみられず、マウスにおける FB1 の曝露のバイオマーカー又は腫瘍リス
5 クの指標として Sa/o 比は適切ではないかもしれない、と考察している。ま
6 た、NTP では、FB1 投与における腫瘍発生の雌雄差については、科学的に
7 説明できないとしている(参照 1. NTP (2001) #103, 2. PC Howard, et al.
8 (2001) #188。

9
10 ② ラットを用いた 2 年間発がん性試験 (NTP)

11 雌雄の F344/N ラット (一群雌雄それぞれ 40~48 匹) に精製 FB1 (純度
12 >96%) を 2 年間 (105 週) 混餌投与する発がん性試験が実施された。FB1 の
13 投与量は、雄では 0、5、15、50 又は 150 mg/kg 飼料 (0、0.25、0.76、2.5
14 又は 7.5 mg/kg 体重/日相当)、雌では 0、5、15、50 又は 100 mg/kg 飼料
15 (0、0.31、0.91、3.0 又は 6.1 mg/kg 体重/日相当) であった。

16 2年間発がん試験の結果、雌雄ともにFB1投与量と生存率に相関関係はみ
17 られず、用量依存的な体重の変化もみられなかった。雄ラットでは50
18 mg/kg 飼料以上、雌ラットでは15 mg/kg 飼料以上のFB1投与群の腎臓相
19 対重量が対照群と比較して減少した。雌雄ともに腎臓のSa/So比はFB1投与
20 量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の投与群で、FB1を投与しない対照
21 群に比べて有意に増加した。50 mg/kg 飼料以上の雄ラット及び100 mg/kg
22 飼料の雌ラットFB1投与群の腎臓に好塩基性尿細管とともに細胞死が認め
23 られた。15 mg/kg 飼料の雄ラットFB1投与群にも軽度ではあるが、同様の
24 腎臓毒性がみられた。50 mg/kg飼料以上の雄ラットFB1投与群では、尿細
25 管上皮過形成の発生頻度が有意に増加した。100 mg/kg飼料のFB1を給餌し
26 た雌ラットにも同様の過形成がみられたが、発生頻度は低く、対照群と比
27 較して統計的に有意ではなかった。0、50及び150 mg/kg飼料以上の雄ラッ
28 トFB1投与群において、慢性進行性腎炎 (CPN) についてスコア化して比
29 較した結果、FB1投与群のCPNのスコアはFB1を投与しない対照群に比べ
30 て低かった。雄ラットに用量依存的な腎腺腫及び腎細胞癌の増加が認めら
31 れ、50 mg/kg飼料以上のFB1投与群では、腎腺腫及び腎細胞癌を合わせた
32 腫瘍発生率が有意に増加し、増加傾向 (positive trend) も明らかであった
33 (表 2)。雌にFB1投与と関連した腫瘍はみられなかった。発がんを指標と
34 したFB1のNOAELは15 mg/kg 飼料であった。

35
36 FB1を投与した雄ラットでは、Sa/So比の上昇が示すように、明らかにセ
37 ラミド合成阻害がみられる。セラミド合成阻害がみられる用量では、ラッ
38 ト腎臓の尿細管上皮細胞のアポトーシス並びに腎腺腫及び腎細胞癌の発生

1 率が上昇し、腎重量が減少する。以上のことより、NTPは、FB1の発がん
 2 について、腎臓尿細管上皮細胞にセラミド合成阻害作用に起因するアポト
 3 ーシスが誘導され、それに引き続いて腎臓尿細管上皮細胞の再生及び腫瘍
 4 形成がおこる可能性があると考えた。FB1投与による腎臓のSa/So比の上
 5 昇は、雌ラットでもみられた。しかし、腎臓尿細管上皮細胞のアポトーシ
 6 スは、雄ラットでは15 mg/kg 飼料FB1投与群から観察されたのに対し、雌
 7 ラットでは最高投与量である100 mg/kg 飼料投与群でもみられなかった。
 8 これらFB1投与における雌雄差について、NTPでは、現時点では説明でき
 9 ない、としている(参照 1. NTP (2001) #103, 2. PC Howard, et al. (2001)
 10 #188, 3. GC Hard, et al. (2001) #187)。

11

12 表2 FB1を2年間混餌投与した雄ラット²における腎腫瘍の発生頻度

FB1 投与量 (mg/kg 飼 料)	0	5	15	50	150
腺腫(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	2/48(4)	5/48(10)
Poly-k 検定	P=0.0004	—	—	P=0.2293	P=0.0314
がん(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	7/48(15)	10/48(21)
	P=0.0001	—	—	P=0.0059	P=0.0008
腺腫及び/ 又はがん(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	9/48(19)	15/48(31)
	P=0.0001	—	—	P=0.0011	P=0.0001

13 NTP 試験結果より(参照 1. NTP (2001) #103)

14

15 ③ ラットを用いた2年間発がん性試験

16 BD IXラット(一群25匹、雌雄不明)に0又は50 mg/kg (0又は1.6
 17 mg/kg 体重/日、JECFA換算)のFB1(純度>90%)を26か月間、混餌投与
 18 する発がん性試験が実施された。ラットは、投与開始6、12、20及び26か
 19 月目に5匹ずつを用いて臓器の検査が実施された。FB1投与群では、投与開
 20 始18か月目以降に肺炎により死亡した5匹を含む15匹のラットすべてに

² F344雄ラットにおける2年間NTP発がん試験生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、腎臓腺腫で0.7%(範囲:0-6%)、腎細胞癌で0.2%(範囲:0-2%)と報告されている(Haseman JK, Hailey JR, Morris RW., Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. Toxicol Pathol. 1998 May-Jun;26(3):428-41.)。

1 肝硬変、肝細胞再生結節及び胆管線維症が認められ、そのうちの 10 匹に肝
 2 細胞癌が認められた。FB1 投与群の腎臓には、リンパ球の浸潤がみられる限
 3 局性又はびまん性の間質性腎炎及び軽度の膜性増殖性糸球体変性が認めら
 4 れた(参照 4. WC Gelderblom, et al. (1991) #179)。低用量の FB1 を投与し
 5 た場合の影響を調べる目的で、BD IXラット（一群 20 匹、雌雄不明）に 1、
 6 10 又は 25 mg/kg 飼料（0.03、0.3 又は 0.8 mg/kg 体重/日、JECFA 換算）
 7 の FB1（純度>90%）を 24 か月間混餌投与した結果、腫瘍は認められなな
 8 かった(参照 5. WC Gelderblom, et al. (2001) #186)。

9

10 ④その他の試験

11 ラットを用いて FB1 のイニシエーション作用が調べられている。F344
 12 ラット（雄、一群 5 匹）に FB1 を含まない飼料又は 1000 mg/kg（100
 13 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算³⁾）の FB1 を含む飼料を 26 日間給餌す
 14 るイニシエーション試験の結果、肝細胞変性及び肝細胞壊死と共にγ-グル
 15 タミルトランスペプチターゼ(GGT)陽性細胞巢の有意な増加が認められ
 16 た。一方、0、50 又は 100 mg/kg 体重の用量で FB1 を単回投与するイニシ
 17 エーション試験の結果、GGT 陽性細胞巢の増加は認められなかった著者ら
 18 は、FB1 のイニシエーション作用はほとんどないと考えた。(参照 6. WC
 19 Gelderblom, et al. (1992) #193)。

20 F344 ラット（雄、一群 5 匹）に 0～750 mg/kg 飼料の FB1 を 14 又は
 21 21 日間混餌投与するイニシエーション試験が実施された。プロモーション
 22 処置として、20 mg/kg 体重/日の 2-アセチルアミノフルオレン（2-AAF）
 23 を 3 日間経口投与後、部分肝切除し、部分肝切除後 2 週間目目に肝臓の
 24 GGT 陽性細胞巢が観察された。250 mg/kg 飼料（14.7 mg/kg 体重/日相
 25 当）以上の FB1 を 21 日間又は 500 mg/kg 飼料（24 mg/kg 体重/日相当）
 26 以上の FB1 を 14 日間混餌投与すると、GGT 陽性細胞巢が FB1 を投与し
 27 ない対照群に比べて増加した。F344 ラット（雄、一群 3～5 匹）に FB1 の
 28 総量として 14 日間、0～323 mg/kg 体重の用量で強制経口投与するイニシ
 29 エーション試験の結果、119 mg/kg 体重以上の FB1 投与群（8.5 mg/kg 体
 30 重/日に相当）の肝臓に GGT 陽性細胞巢の増加が認められた(参照 7. WC
 31 Gelderblom, et al. (1994) #191)。

32 更に、0、20、60、200、300 又は 500 mg/kg 体重の FB1 を F344 ラッ
 33 ト（雄、一群 5～8 匹）に 14 日間経口投与（0、1.4、4.2、11.4、21 又は
 34 35 mg/kg 体重/日に相当）するイニシエーション試験の結果、35 mg/kg 体

³⁾ JECFA で用いている換算（IPCS:EHC70）を用いて摂取量を推定

種	体重 (kg)	飼料摂取量 (g/動物/日)	摂取量 (mg/kg 体重/日)
ラット (若)	0.1	10	0.100

1 重/日の FB1 投与群に大小の胎盤型グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ
 2 (GST-P) 陽性細胞巢の明らかな増加とともにオーバル細胞の増殖傾向及
 3 び増殖細胞の増加が認められた。21 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に、
 4 肝細胞の単細胞壊死、水腫様変性及び硝子滴変性が認められた(参照 8. WC
 5 Gelderblom, et al. (2001) #180)。

6

7 FB1 のプロモーション作用の有無を調べる目的で、BDIXラット (雄、一
 8 群 5 匹) に FB1 を含まない飼料又は 1000 mg/kg の FB1 を含む飼料 (100
 9 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁴⁾) を 4 週間給餌するプロモーション試
 10 験の結果、肝細胞変性及び肝細胞壊死と共に GGT 陽性細胞巢の有意な増加
 11 が認められた(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1988) #192)。

12 F344/Nラット (雄、一群 5 匹) に 200 mg/kg 体重/日のジエチルニトロ
 13 サミン (diethylnitrosamine: DEN) を腹腔内投与し、投与 1 週間日目から
 14 0~500 mg/kg 飼料の FB1 を 21 日間投与するプロモーション試験が実施
 15 された。50 mg/kg 飼料 (5 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算²⁾) 以上の
 16 FB1 投与群の肝臓で、相対的に大きい GSTP 陽性細胞巢の面積あたりの数
 17 が明らかに増加した(参照 10. WC Gelderblom, et al. (1996) #195) 。

18

19 肝臓での二段階発がんモデルに従ったイニシエーション試験・プロモー
 20 ション試験においては、一般的に、肝前がん病変 (これらの試験の場合、
 21 GGT 又は GST-P 陽性酵素変異肝細胞巢) の大きさが直径 200 μm 以上の
 22 場合、発がん (促進) 作用と関連すると言われており、それより小さいも
 23 のは数えない。報告された FB1 のイニシエーション試験及びプロモーシ
 24 ョン試験については、GGT 又は GST-P 陽性細胞巢の数を数えて増加を認め
 25 ているとしているが、プロモーション期間が不十分な試験が多く、陽性細
 26 胞巢の大きさが報告されていない試験及び陽性細胞巢の大きさも計測して
 27 いるが大きさが非常に小さいものも計測している試験がある。高用量 (100
 28 mg/kg 体重) の FB1 を 26 日間投与した試験でイニシエーション作用が報
 29 告されているが、同じ実験で低用量を投与した試験又は高用量の単回投与
 30 試験ではイニシエーション作用が認められていない。また、いずれの試験
 31 も使用している動物数が少ない。従って、かび毒・自然毒専門調査会で
 32 は、これらの試験の結果から、FB1 にイニシエーション作用及びプロモー
 33 ション作用があるとの判断は困難であると考えた。

34

4 JECFA で用いている換算 (IPCS:EHC70) を用いて摂取量を推定

種	体重 (kg)	飼料摂取量 (g/動物/日)	摂取量 (mg/kg 体重/日)
ラット (若)	0.1	10	0.100

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38

< 参照文献 >

- 1 NTP. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). Research Triangle Park, NC, USA, Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Toxicology Program (NTP Technical Report 496; NIH Publication No. 01-3955; http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr496.pdf). 2001; #103
- 2 P. C. Howard, R. M. Eppley, M. E. Stack, A. Warbritton, K. A. Voss, R. J. Lorentzen, R. M. Kovach and T. J. Bucci. Fumonisin b1 carcinogenicity in a two-year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. *Environ Health Perspect.* 2001; 109 Suppl 2: 277-82 #188
- 3 G. C. Hard, P. C. Howard, R. M. Kovatch and T. J. Bucci. Rat kidney pathology induced by chronic exposure to fumonisin B1 includes rare variants of renal tubule tumor. *Toxicol Pathol.* 2001; 29: 379-86 #187
- 4 W. C. Gelderblom, N. P. Kriek, W. F. Marasas and P. G. Thiel. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1, in rats. *Carcinogenesis.* 1991; 12: 1247-1251 #179
- 5 W. C. Gelderblom, S. Lebepe-Mazur, P. W. Snijman, S. Abel, S. Swanevelder, N. P. Kriek and W. F. Marasas. Toxicological effects in rats chronically fed low dietary levels of fumonisin B(1). *Toxicology.* 2001; 161: 39-51 #186
- 6 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
- 7 W. C. Gelderblom, M. E. Cawood, S. D. Snyman and W. F. Marasas. Fumonisin B1 dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. *Carcinogenesis.* 1994; 15: 209-214 #191
- 8 W. C. Gelderblom, D. Galendo, S. Abel, S. Swanevelder, W. F. Marasas and C. P. Wild. Cancer initiation by fumonisin B(1) in rat liver--role of cell proliferation. *Cancer Lett.* 2001; 169: 127-137 #180
- 9 W. C. Gelderblom, K. Jaskiewicz, W. F. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R. Vleggaar and N. P. Kriek. Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol.* 1988; 54: 1806-1811 #192
- 10 W. C. Gelderblom, S. D. Snyman, S. Lebepe-Mazur, L. van der Westhuizen, N. P. Kriek and W. F. Marasas. The cancer-promoting potential of fumonisin B1 in rat liver using diethylnitrosamine as a cancer initiator. *Cancer Lett.* 1996; 109:

1 101-108 #195

2