

（７）毒性発現の機序

フモニシンの毒性として、家畜及び実験動物に肝毒性及び腎毒性を示すとともに、マウスに肝腫瘍、ラットに腎腫瘍、ウマに白質脳軟化症（ELEM）、ブタに肺水腫（PPE）を誘導する等、種により臓器特異的な影響が認められている。ヒトへの健康影響として、Ⅳの３に記載するように、フモニシンに汚染されたトウモロコシの喫食と、胎児の神経管閉鎖阻害との関連についての報告がある。このように多岐にわたるフモニシンの毒性の発現機序は、不明な点が多いが、フモニシンのセラミド合成酵素阻害に起因する脂質代謝異常とフモニシンの毒性との相関が示唆されている。以下に報告されている概要をまとめた。

① 脂質代謝異常

フモニシンは、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（Ⅲ 1（２）参照）。フモニシンの実験動物への投与により、肝臓、腎臓等でスフィンガニン（Sa）及びスフィンゴシン（So）濃度が高値となる一方、セラミドの濃度は低下し、セラミドから合成/代謝されるスフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質濃度も低下する。このようなスフィンゴ脂質代謝異常は、FB1による肝毒性、腎毒性等が発現する前に検出され、フモニシン暴露の指標にもされている（Ⅳ参照）。

細胞膜には脂質ラフトと呼ばれる微小領域が存在し、この脂質ラフトにスフィンゴ脂質及びコレステロールが多く存在する。脂質ラフトには細胞膜受容体、GPI アンカー型タンパク質が集積し、シグナル伝達、細胞間コミュニケーション、免疫応答等、細胞の生存に関与する機能調節を担っている。フモニシンによるスフィンゴ脂質代謝異常は、脂質ラフトを構成するスフィンゴ脂質等の成分変化を招き、これらの細胞調節機能に影響を与えられとされる。また、フモニシンは、スフィンゴ脂質の代謝物であるリン酸化物、セラミド等、生理作用を有する脂質メディエータの細胞内外の濃度変化を招き、細胞増殖及び細胞死を含む細胞の生理的な機能に係るシグナリングや制御経路にも影響を与えられとされる（参照 1. JECFA (2011) #350, 2. JECFA (2001) #465）。

② 特異的なフモニシンの毒性

a. 発がんの機序

フモニシンの発がん機序についてはよくわかっていないが、上記に示したようなフモニシンのセラミド合成酵素阻害によるスフィンゴ脂質の代謝異常が細胞増殖とアポトーシスのバランスに影響を与え、発がんに関与している可能性が示されている（参照 3. YP Dragan, et al. (2001) #75, 4.

1 PC Howard, et al. (2001) #188, 5. RT Riley, et al. (2001) #190, 6. AH
2 Merrill, Jr., et al. (2001) #290, 7. M Tsunoda, et al. (1998) #142)。

3 セラミド合成酵素 (CerS2) ¹ノックアウトマウスに観察される肝障害
4 は、FB1により誘発される肝障害に類似していた。1か月齢で血清中ALT、
5 AST及びALP活性の増加及びコレステロール濃度の増加と共に肝細胞ア
6 ポトーシス発生頻度の増加及び肝細胞の増殖がみられ、10か月齢では巨
7 大肝細胞の増加及び肝細胞癌がみられた。しかしながら、このマウスの腎
8 臓では、機能障害及び病理所見は認められなかった(参照 8. Y Pewzner-
9 Jung, et al. (2010) #503)。このため、腎臓と肝臓では発がんの機序が異な
10 る可能性が示唆される。

11 フモニシンは *in vitro* 及び *in vivo* で酸化ストレスを誘発することが示
12 されている。フモニシンは、脂質、タンパク質及びDNAの酸化を誘導し、
13 これが発がんに関与する可能性も指摘されている(参照 9. K Abado-
14 Becognee, et al. (1998) #112, 10. AM Domijan, et al. (2007) #223, 11. X
15 Wang, et al. (2016) #402, 12. M Sozmen, et al. (2014) #279)。

16 また、フモニシンは *in vitro* で、DNA及びヒストンのメチル化を低下
17 させ、染色体を不安定化することで発がんに関与している可能性も報告さ
18 れている(参照 13. A Chuturgoon, et al. (2014) #234)。

19 20 b. ヒトの神経管閉鎖不全 (NTD) の機序

21 マウスへのFB1経口投与によりNTDが誘導されるFB1用量は20
22 mg/kg体重/日であるが、この用量は母マウスに肝毒性を誘導する用量で
23 もあり、胎児への影響は母マウスの毒性を介した二次的なものとする報告
24 がある(参照 1. JECFA (2011) #350)。

25 胎盤の通過については、FB1は胎盤を通過しないとする報告(参照 14.
26 KA Voss, et al. (1996) #215)がある一方、通過するとしている報告(参照
27 15. J Gelineau-van Waes, et al. (2005) #55)もあり、胎児がFB1に暴露
28 されるかどうかは不明である。

29 ヒトのNTDの原因のひとつとして母体の葉酸不足が挙げられている(参
30 照 16. Institute_of_Medicine_(US)_Standing_Committee. (1998) #539)。
31 FB1は、母動物の脂質代謝異常を招き、葉酸受容体を介した胎児への葉酸
32 の移行を阻害することが示唆されている。FB1をCaco-2細胞に暴露させ
33 る *in vitro* 試験では、FB1により細胞のスフィンゴ脂質は最大40%減少
34 し、葉酸受容体を介した5-メチルテトラヒドロ葉酸²の細胞内移行が阻害

¹ 6種類あるセラミド合成酵素のひとつ。CerS2は肝臓及び腎臓に認められる。

² 葉酸は、ビタミンB群の水溶性ビタミンの一つで、血漿中では主にメチルテトラヒドロ葉酸として存在している。

されることが観察されている(参照 17. VL Stevens, et al. (1997) #362)。妊娠マウスに FB1 を腹腔内投与すると、胎盤の Sa 濃度並びに胎児の Sa 及び So 濃度が有意に高値となり、胎児への葉酸の分布は FB1 を投与しない対照群に比べて有意に減少した。FB1 投与群では、脂質ラフトの構成成分である GM1³の減少とともに脂質ラフトに局在する葉酸受容体も減少し、胎児の神経管の形成時期に、胎児に葉酸を適切に供給できない可能性が示唆された(参照 15. J Gelineau-van Waes, et al. (2005) #55)。一方、NTD の発現にはホモシステイン濃度、ビタミン B12 濃度、胎児のスフィンゴ脂質構成等、複雑な要因が関与しており、NTD 発現率と葉酸との正確な関連性は不明であるとの報告もある(参照 18. KA Voss, et al. (2014) #220)。

FB1 又はスフィンゴシン 1-リン酸 (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いずれも NTD が認められ、FB1 は、S1P 受容体を介して NTD に関与しているとの報告もある(参照 19. J Gelineau-van Waes, et al. (2012) #217)。

FB1 を LM/Bc マウス胎児線維芽細胞に暴露させる *in vitro* 試験では、核内にスフィンガニン 1-リン酸(Sa1P)が蓄積した。Sa1P の核内蓄積は、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) 活性の阻害を介してヒストンをアセチル化していた。HDAC 阻害剤がマウスやヒトで胎児の二分脊椎を誘導する可能性も報告されており、FB1 がヒストンアセチル化を介して NTD に関与している可能性も報告されている(参照 20. NM Gardner, et al. (2016) #460)。

c. ウマの白質脳軟化症 (ELEM) の機序

ラットに、精製 FB1 を 8 mg/kg 体重の用量で皮下投与すると、脳内に FB1 が検出され、脳内 Sa 濃度及び Sa/So 比ともに増加した報告がある(参照 21. OS Kwon, et al. (1997) #244)。一方、¹⁴C-FB1 をラットに胃内投与又は静脈内投与した試験並びに ¹⁴C-FB1 をブタに経口投与した試験では、脳から FB1 は検出されておらず(参照 22. WP Norred, et al. (1993) #537, 23. DB Prelusky, et al. (1996) #69)、FB1 が直接脳に移行するかどうかは不明である。

精製 FB1 を 0.2 mg/kg 体重/日の用量で静脈内投与して ELEM の神経症状が認められたウマでは、脳脊髄液中のタンパク質、アルブミン及び IgG 濃度が高く、アルブミン/グロブリン比⁴が対照群と比べて有意に増加し、

³ ガングリオシドの一種。ガングリオシドは、セラミドから合成されるスフィンゴ脂質の一種。主に脂質ラフトに存在している。

⁴ 髄液アルブミン濃度/血中アルブミン濃度

血液脳関門の透過性が亢進したことを示唆していた(参照 24. JH Foreman, et al. (2004) #240, 25. IPCS (2001) #465)。

ウマに 0.2 mg/kg 体重/日の FB1 を 7～9 日間投与して、ELEM の神経症状が認められたウマでは、心拍数の減少、心拍出量の低下、右心不全等の心血管疾患も報告されており、これらと ELEM との関連が示唆された(参照 26. GW Smith, et al. (2002) #100)。

また、ウマが飼料を採食したり水を飲んだりするために頭を下げる時に、フモニシンの影響で脳への血液循環を制御できず、脳浮腫を起こした結果、ELEM になるという仮説も提唱されている(参照 26. GW Smith, et al. (2002) #100)。

d. 豚の肺水腫 (PPE) の機序

Sa及びSoは、ブタの血管平滑筋を弛緩させ、S1Pはブタの血管平滑筋を収縮させると考えられている。S1Pは、細胞膜のGタンパク質共役型受容体であるS1P2及びS1P3に結合し、S1P3は、大動脈及び肺血管を含む血管に発現していることが示されている。フモニシンによる血中Sa及びSo濃度の上昇はブタに低血圧を誘導し、血中S1P濃度の上昇は、肺における血圧上昇に関与している可能性が示されている(参照 27. SH Hsiao, et al. (2005) #287)。

スフィンゴシンの蓄積は、心筋でL-タイプCa²⁺チャネルを阻害し、左心不全を誘導する。ウマでも同様の障害を誘導する(参照 28. KA Voss, et al. (2007) #67)。

< 参照 >

- 1 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
- 2 JECFA. Fumonisin. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001; #465
- 3 Y. P. Dragan, W. R. Bidlack, S. M. Cohen, T. L. Goldsworthy, G. C. Hard, P. C. Howard, R. T. Riley and K. A. Voss. Implications of apoptosis for toxicity, carcinogenicity, and risk assessment: fumonisin B1 as an example. Toxicol Sci. 2001; 61: 6-17 #75
- 4 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
- 5 R. T. Riley, E. Enongene, K. A. Voss, W. P. Norred, F. I. Meredith, R. P. Sharma, J. Spitsbergen, D. E. Williams, D. B. Carlson and A. H. Merrill, Jr. Sphingolipid perturbations as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. Environ Health Perspect. 2001; 109 Suppl 2: 301-308 #190
- 6 A. H. Merrill, Jr., M. C. Sullards, E. Wang, K. A. Voss and R. T. Riley. Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. Environ Health Perspect. 2001; 109 Suppl 2: 283-9 #290
- 7 M. Tsunoda, R. P. Sharma and R. T. Riley. Early fumonisin B1 toxicity in relation to disrupted sphingolipid metabolism in male BALB/c mice. J Biochem Mol Toxicol. 1998; 12: 281-9 #142
- 8 Y. Pewzner-Jung, O. Brenner, S. Braun, E. L. Laviad, S. Ben-Dor, E. Feldmesser, S. Horn-Saban, D. Amann-Zalcenstein, C. Raanan, T. Berkutzki, R. Erez-Roman, O. Ben-David, M. Levy, D. Holzman, H. Park, A. Nyska, A. H. Merrill, Jr. and A. H. Futerman. A critical role for ceramide synthase 2 in liver homeostasis: II. insights into molecular changes leading to hepatopathy. J Biol Chem. 2010; 285: 10911-23 #503
- 9 K. Abado-Becognee, T. A. Mobio, R. Ennamany, F. Fleurat-Lessard, W. T. Shier, F. Badria and E. E. Creppy. Cytotoxicity of fumonisin B1: implication of lipid peroxidation and inhibition of protein and DNA syntheses. Arch Toxicol. 1998; 72: 233-6 #112
- 10 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
- 11 X. Wang, Q. Wu, D. Wan, Q. Liu, D. Chen, Z. Liu, M. R. Martinez-Larranaga, M. A. Martinez, A. Anadon and Z. Yuan. Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. Archives of toxicology. 2016; 90: 81-101 #402
- 12 M. Sozmen, A. K. Devrim, R. Tunca, M. Bayezit, S. Dag and D. Essiz. Protective effects of silymarin on fumonisin B(1)-induced hepatotoxicity in mice. J Vet Sci. 2014; 15: 51-60 #279
- 13 A. Chuturgoon, A. Phulukdaree and D. Moodley. Fumonisin B1 induces global DNA hypomethylation in HepG2 cells - An alternative mechanism of action. Toxicology. 2014; 315: 65-9 #234
- 14 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
- 15 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
- 16 Institute of Medicine (US) Standing Committee. 8. Folate. In Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. 1998; Washington (DC): National Academies Press (US): #539
- 17 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
- 18 K. A. Voss, R. T. Riley and J. Gelineau-van Waes. Fumonisin B(1) induced neural tube defects were not increased in LM/Bc mice fed folate-deficient diet. Mol Nutr Food Res. 2014; 58: 1190-1198 #220
- 19 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
- 20 N. M. Gardner, R. T. Riley, J. L. Showker, K. A. Voss, A. J. Sachs, J. R. Maddox and J. B. Gelineau-van Waes. Elevated nuclear sphingoid base-1-phosphates and decreased histone deacetylase activity after fumonisin B1 treatment in mouse embryonic fibroblasts. Toxicol Appl Pharmacol. 2016; 298: 56-65 #460
- 21 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
- 22 W. P. Norred, R. D. Plattner and W. J. Chamberlain. Distribution and excretion of [14C]fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. *Nat Toxins.* 1993; 1: 341-346 #537
- 23 D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. A. Rotter, J. D. Miller, M. E. Savard, J. M. Yeung and P. M. Scott. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv Exp Med Biol.* 1996; 392: 265-278 #69
- 24 J. H. Foreman, P. D. Constable, A. L. Waggoner, M. Levy, R. M. Eppley, G. W. Smith, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek. Neurologic abnormalities and cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously. *J Vet Intern Med.* 2004; 18: 223-230 #240
- 25 IPCS. Fumonisin. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. 2001; TRS 906-JECFA 56/16: #465
- 26 G. W. Smith, P. D. Constable, J. H. Foreman, R. M. Eppley, A. L. Waggoner, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek. Cardiovascular changes associated with intravenous administration of fumonisin B1 in horses. *Am J Vet Res.* 2002; 63: 538-545 #100
- 27 S. H. Hsiao, P. D. Constable, G. W. Smith and W. M. Haschek. Effects of exogenous sphinganine, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate on relaxation and contraction of porcine thoracic aortic and pulmonary arterial rings. *Toxicol Sci.* 2005; 86: 194-9 #287
- 28 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