

フモニシン評価書（案）目次

I. 背景	1
1. 経緯	
2. 現行規制等	
(1) 国内規制等	
(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値	
II. 評価対象	4
III. 評価対象物質の概要	6
1. 名称、分子式、分子量、構造式	
2. 物理化学的特性	
3. 産生生物	
IV. 安全性に係る知見の概要	
1. 実験動物等における体内動態	
(1) 吸収、分布、代謝、排泄	10
(2) 酵素及び他の生化学的パラメータへの影響	14
(3) 実験動物等における体内動態のまとめ	
2. 実験動物等における毒性	
(1) 急性毒性	22
(2) 亜急性毒性	25
(3) 慢性毒性・発がん性	42
(4) 生殖発生毒性	48
(5) 遺伝毒性	61
(6) 神経毒性及び免疫毒性	70
(7) 毒性発現の機序	
(8) 毒性試験のまとめ	
3. ヒトにおける知見	
(1) <u>各国におけるばく露評価のばく露状況</u>	
(2) 疫学研究	
(3) ヒトにおける知見のまとめ	
4. <u>ばく露評価状況</u>	
(1) 日本における汚染実態	
(2) 日本におけるばく露量の推定	
(3) 加工・調理による影響	
5. 諸外国における評価	79
(1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)	
(2) 欧州食品安全機関 (EFSA)	
(3) 国際がん研究機関 (IARC)	
V. 食品健康影響評価	
＜別添＞	
・ウマの白質脳軟化症 (ELEM) 及びブタの肺水腫 (PPE)	84
・ <u>マスクドフモニシン又はモディファイドフモニシン</u>	

・ <u>BMDL₁₀の試算</u>	93
-------------------------------	----

＜略称＞

＜参照文献＞

I. 背景

1. 経緯

食品安全委員会は、リスク管理機関から依頼を受けて食品健康影響評価を行うほか、自らの判断で食品健康影響評価を行う役割を有している。この「自ら評価」案件については、国民の健康への影響の程度に照らして食品健康影響評価の実施の優先度が高いと考えられる案件候補を企画等専門調査会が選定し、国民からの意見・情報の募集等を行った上で、食品安全委員会が決定している。

フモニシン B 群（フモニシン B1、B2 及び B3:それぞれ FB1、FB2 及び FB3）は、*Fusarium verticillioides*、*Fusarium proliferatum* 等のフザリウム属菌から産生される二次代謝産物で、世界中のトウモロコシ及びトウモロコシ加工品から検出されているかび毒である。フモニシンは、1988 年に発見されたかび毒であるが（参照 1. WC Gelderblom, et al. (1988) #192）、それ以前から、かびに汚染された飼料とウマの白質脳軟化症（equine leukoencephalomalacia: ELEM）及びブタの肺水腫（porcine pulmonary edema: PPE）が関連が疑われ、*F. verticillioides* 培養物がウマ、ブタのみならず、ヒヒ、ヒツジ、ラットにも毒性を示すことが知られていた。その後、実験的又は疫学的に、ELEM や PPE はフモニシンが原因で発症することが示された（参照 1. TS Kellerman, et al. (1990) #459, 2. WF Marasas, et al. (1988) #438, 3. LR Harrison, et al. (1990) #170）。（ウマ及びブタに関する知見については、別添資料○参照）。ヒトへの影響として、トウモロコシを主食とする地域でフモニシン B 群の摂取と胎児の神経管閉鎖障害（Neural tube defects: NTDs）との疫学的な関連が報告されており、食道がんとの関連も示唆されている。また、げっ歯類に FB1 を経口投与する毒性試験により、FB1 の発がん性が示されている。

コーデックス委員会では 2014 年に、食品用のトウモロコシ及びその加工品中のフモニシン（FB1 及び FB2）の最大基準値を設定し、EU、米国等ではフモニシンの最大基準値又はガイダンスレベルが設定されている。日本では、厚生労働省において、食品中のフモニシンの実態調査及び農林水産省において飼料及び飼料原料のフモニシン実態調査等が実施されているが、基準値は設定されていない。

かび毒「フモニシン」については、トウモロコシ及びトウモロコシ加工品から高頻度で検出されるかび毒であり、国民の健康への影響の程度に照らして食品健康影響評価の実施の優先度が高いとして、2015 年 3 月に食品安全委員会では、「フモニシン」を自ら食品健康影響評価を行う案件として決定し、かび毒・自然毒等専門調査会で調査審議を行うこととされた。

2. 現行規制等

(1) 国内規制等

国内では基準値等は設定されていない。

(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値

コーデックス委員会では、食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1 及び FB2 の総量として表 1 に示した最大基準値が設定されている(参照 4. FAO/WHO (2014) #452, 5. CODEX_alimentarius (1995) #444)。また、2003 年に「穀類のかび毒汚染の防止及び低減に関する実施規範（オクラトキシン A、ゼアラレノン、フモニシン及びトリコテセン類に関する付属書を含む）」(CAC/RCP 51-2003) を定めて、各国に汚染低減策の実施を呼び掛けている。

表 1 コーデックス委員会によるフモニシンの最大基準値(2014)

最大基準値の対象	FB1 及び FB2 の総量(μg/kg)
未加工のトウモロコシ粒	4,000
トウモロコシ粉（コーンフラワー）、ひき割り粉（コーンミール）	2,000

EU では食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1 及び FB2 の総量として表 2 に示した最大基準値が設定されている(参照 6. EFSA (2014) #355, 7. EU (2007) #358)。

表 2 EU におけるフモニシンの最大基準値

最大基準値の対象	FB1 及び FB2 の総量(μg/kg)
未加工トウモロコシ	4,000
直接消費用トウモロコシ及び加工品(トウモロコシが主原料の朝食用シリアル・スナック、加工食品及び乳幼児用トウモロコシ加工食品を除く)	1,000
トウモロコシが主原料の朝食用シリアル・スナック	800
トウモロコシが主原料の加工食品・乳幼	200

児用トウモロコシ加工食品	
直接消費用以外の 500 μ m より大きい製粉画分	1,400
直接消費用以外の 500 μ m 以下の製粉画分	2,000

米国では、食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1、FB2 及び FB3 の総量として表 3 に示したガイダンスレベルが設定されている(参照 8. National_Grain_and_Feed_Association (2011) #49)。

表 3 米国 FDA ガイダンスによるトウモロコシ及びその加工品中の
フモニシンのガイダンスレベル

ガイダンスレベルの対象	FB1、FB2 及び FB3 の総量 (ppm)
胚芽を除去した乾式製粉のトウモロコシ製品	2
ポップコーン用の精選トウモロコシ	3
胚芽を全く除去しない又は部分的に胚芽を除去した乾式製粉のトウモロコシ製品	4
乾式製粉のコーンブラン	4
マサ（トルティーヤなどの生地）用精選トウモロコシ	4

II. 評価対象

フモニシンは、現在までに少なくとも 28 種報告されており、A 群、B 群、C 群及び P 群の 4 種に分類される(参照 9. JP Rheeder, et al. (2002) #48)。

フモニシン B 群には FB1、FB2、FB3 の他、フモニシン B4 (FB4) やその他のいくつかのマイナーな B 群も報告されている。FB2、FB3 及び FB4 は、水酸基の数が少ない点で FB1 と異なる。フモニシン A 群の FA1、FA2 及び FA3 はそれぞれ FB1、FB2 及び FB3 の N-アセチル化体である。同じく A 群の FAK1 は FA1 の 15-ケト修飾体である。フモニシン C 群の FC1、FC2、FC3、FC4 はそれぞれ FB1、FB2、FB3 及び FB4 の類似体であるが、アミノ基に隣接するメチル基を欠く。フモニシン P 群の FP1、FP2 及び FP3 はそれぞれ FB1、FB2、FB3 のアミノ基の代わりに 3-ヒドロキシピリジニウム基を有している(参照 10. EHC (2000) #337)。

フモニシンは、*F. verticillioides*、*F. proliferatum* 等のフモニシン産生菌に自然汚染された穀物及びその加工品から検出される。フモニシンが検出されるのはほとんどがトウモロコシで、世界各地で生産されたトウモロコシから FB1、FB2 及び FB3 が高頻度に検出される。そのなかでも、FB1 は検出頻度が高く、高濃度で検出されることがある。同じ検体から検出されるフモニシン量について、FB1:FB2:FB3 はおよそ 10:3:1 と推計されている (JECFA#346)。FB4 が検出される濃度は低く、知見も少ない。フモニシン B 群以外のフモニシンは、産生菌を培養すると条件により産生が認められるが、自然汚染された穀物からはほとんど検出されない(参照 11. A Desjardins (2006) #51)。なお、近年、一部のフモニシンがデンプンやタンパク質等のマトリックスに捕捉されて不溶性となり、一般的な検出法として用いられている分析法では検出できないことが示されており、hidden fumonisin 又は bound fumonisin と呼ばれている。このような非共有結合のフモニシンの他、タンパク質やデンプンに共有結合したフモニシン、カルボン酸がエステル結合したフモニシン、脂肪酸が結合したフモニシン等の化学的修飾を受けたフモニシンも報告されており、これらも含めて「マスクドフモニシン」又は「モディファイドフモニシン」と呼ばれている(参照 12. EFSA (2014) #344)このような化学的修飾を受けたフモニシンの毒性やばく露量の知見は少ない。

フモニシン B 群に汚染された飼料を原因として、ウマに致死性の ELEM 及びブタに PPE がみられることが報告されている。ヒトでは、トウモロコシを主食とする地域で、フモニシン B 群の摂取と胎児の NTDとの関連が示されており、食道がんとの関連も示唆されている。また、げっ歯類に FB1 を混餌投与する毒性試験により、FB1 には発がん性があることが示されている (参照 13. JECFA (2001) #465, 14.

1 National_Toxicology_Program (2001) #103)。FB1 は、毒性のデータもあること、FB2 及び FB3 は、FB1 に比べると汚染濃度は低く、毒性の知見も少ないが、FB1 と同時に検出されることが多いことより、JECFA 又は EFSA の評価においても、この FB1、FB2 及び FB3 のグループ TDI を設定している(参照 11. A Desjardins (2006) #51, 15. JECFA (2011) #350, 16. EFSA (2005) #356)。

7 以上のことから、本調査会における評価対象物質は FB1、FB2 及び FB3
8 とし、マスクドフモニシン又はモディファイドフモニシンについての現在の知見を別添に整理した。

10

Ⅲ. 評価対象物質の概要

1. 名称、分子式、分子量、構造式

(1) フモニシン B1(FB1) CAS(No. 116355-83-0)

①化学名 (IUPAC 名)

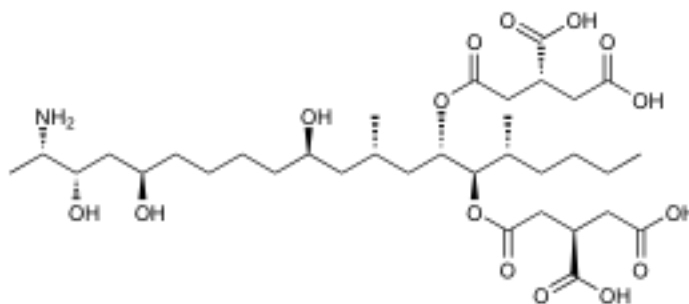
英語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-11,16,18-trihydroxy-5,9-dimethylicosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

日本語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-11,16,18-トリヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキシエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

②分子式 : C₃₄H₅₉NO₁₅

③分子量 : 721.83

④構造式



(2) フモニシン B2(FB2) CAS (No. 116355-84-1)

①化学名 (IUPAC 名)

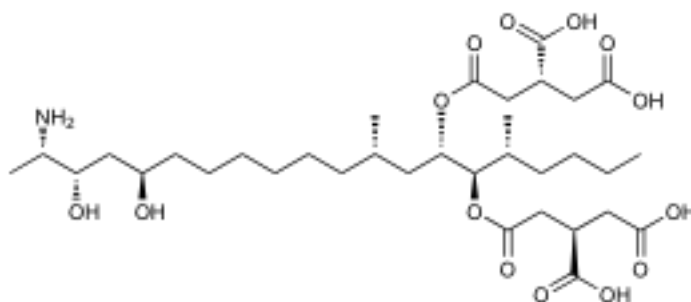
英語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-16,18-dihydroxy-5,9-dimethylicosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

日本語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-16,18-ジヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキシエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

②分子式 : C₃₄H₅₉NO₁₄

③分子量 : 705.83

④ 構造式



(3) フモニシン B3(FB3) CAS (No. 136379-59-4)

① 化学名 (IUPAC 名)

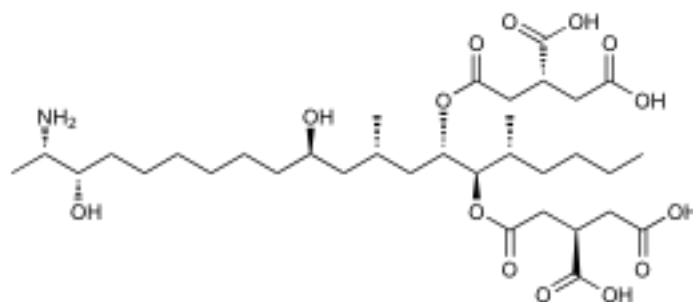
英語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-11,18-dihydroxy-5,9-dimethylcosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

日本語名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-11,18-ジヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキシエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

② 分子式 : C₃₄H₅₉NO₁₄

③ 分子量 : 705.83

④ 構造式



(参照 15. JECFA (2011) #350, 17. SCF (2000) #339)

2. 物理化学的特性

フモニシン B1(FB1、(参照 18. IARC (2001) #60)

性状 ; 白色吸湿性の粉末

融点 : 不明

溶解性 : 水に可溶(20 g/L)、メタノール、アセトニトリル-水に可溶。

1 水/オクタノール分配係数(log P) : 1.84

2 安定性 : 25°C でアセトニトリル-水(1:1)に安定、25°C のメタノール中では不
3 安定で、メチルエステルを形成。-18°C のメタノール及び 78°C の pH 4.8
4 ~9 の緩衝液で安定。

5
6 なお、フモニシン B2,B3 の物理化学的特性については確認できなかった。
7

8 9 3. 産生生物

10 ELEM と関連するかび毒として、1988 年に、ELEM が発生していた南
11 アフリカで、FB1 が汚染トウモロコシから発見された。産生菌は *F.*
12 *moniliforme* と報告されていたが、1998 年、それまで *Fusarium*
13 *moniliforme* Sheldon と呼ばれていた産生菌を *Fusarium verticillioides*
14 (Sacc.) Nirenberg (*F. verticillioides*) と命名することが正式に認められ
15 た(参照 10. EHC (2000) #337)。現在では、*F. verticillioides*、*F.*
16 *proliferatum* が、トウモロコシから検出される主なフモニシン産生菌とし
17 て報告されており、天然に存在する主要なフモニシンである FB1、FB2
18 及び FB3 の産生能があることが知られている(参照 10. EHC (2000) #337,
19 19. IARC (2002) #60, 20. MM Reynoso, et al. (2004) #372, 21. JECFA
20 (2001) #367)。*F. verticillioides*、*F. proliferatum* は無性世代(アナモルフ)
21 だが、これらの有性世代(テレオモルフ)である *Gibberella fujikuroi*
22 及び *Gibberella fujikuroi* species complex と記載されることもある。上
23 記の主要なフモニシン産生菌種の中で、*F. verticillioides* のフモニシン産
24 生能は高いが、*F. proliferatum* は菌株間のフモニシン産生能の差が大き
25 い。(参照 18. IARC (2001) #60, 20. MM Reynoso, et al. (2004) #372, 22.
26 TFR No.139 (2003) #15)。近年、*Aspergillus niger* に FB2 の産生能があ
27 り、市販ワインから FB2 が、レーズンから FB2 及び FB4 が検出されるこ
28 とが報告されているが、検出される FB2 及び FB4 の濃度は低い。(参照 23.
29 FAO/WHO (2011) #350, 24. JC Frisvad, et al. (2007) #34, 25. A Logrieco,
30 et al. (2010) #446)。

31 *F. verticillioides* 及び *F. proliferatum* は、米国、カナダ、南アフリカ、
32 ネパール、オーストラリア、タイ、フィリピン、インドネシア、メキシ
33 コ、フランス、イタリア、ポーランド、スペイン、南アフリカ、日本等、
34 世界中に分布している。これらのフザリウム属菌はトウモロコシの赤かび
35 病(*Fusarium ear rot*)の病原菌であり、フモニシン蓄積と高い相関がみ
36 られる。また、これらは通常土壌に生息する土壌腐生菌であり、健常に見
37 えるトウモロコシの可食部や根、茎、葉からも検出されることがある。感
38 染経路に関しては、トウモロコシの根や茎等に生息しているフザリウム

1 属菌の分生子が、大気又は雨によって飛散し、トウモロコシの絹糸からト
2 ウモロコシ穀粒に感染するとの報告がある。(参照 17. SCF (2000) #339,
3 22. TFR No.139 (2003) #15, 26. WP Norred, et al. (1992) #231)。

4 フモニシン産生菌に自然汚染されたトウモロコシ穀粒の表皮及び胚芽
5 から高濃度の FB1 が検出される一方、表皮と胚芽を除去した胚乳から得
6 られたコーングリッツ及びトウモロコシ粉の FB1 濃度は低かったとの報
7 告がある(参照 27. C Brera, et al. (2004) #461)。

8 フモニシン産生菌は水分活性 0.90 以上で比較的広い温度範囲で生育し、
9 トウモロコシの穀粒形成期(開花期)の気候が比較的高温で湿度が高い場
10 合にフモニシン汚染率が増加することが報告されている。フモニシンは、
11 トウモロコシの収穫前又は乾燥初期に産生され、通常、穀類の貯蔵中にフ
12 モニシン濃度が増加することはないが、虫害がある場合、収穫後から乾燥
13 までの期間が長い場合、また、湿度が高いとフモニシン産生菌が増殖し、
14 フモニシン濃度が増加することがある(参照 13. JECFA (2001) #465, 28.
15 FAO/WHO (2012) #347, 29. CY Warfield, et al. (1999) #450)。

IV. 安全性に係る知見の概要

1. 実験動物等における体内動態

(1) 吸収、分布、代謝、排泄

フモニシンを動物に経口投与すると、体内への吸収率は低い。吸収されたフモニシンは肝臓や腎臓に分布し、比較的早く排泄される。排泄経路としては、糞が多くを占め尿からの排泄は少ない。詳細は以下のとおり。

① 吸収

ラット、産卵鶏、アヒル、七面鳥、ブタ、乳牛及びベルベットモンキーに FB1 を経口投与すると速やかに吸収されるが、血中及び臓器中に検出される FB1 の量は非常に少ない。FB1 の吸収率は投与量の 4% 以下と、ごく低い。FB2 のバイオアベイラビリティ¹は FB1 より低いと考えられている(参照 10. EHC (2000) #337, 15. JECFA (2011) #350, 30. DB Prelusky, et al. (1996) #69, 31. KA Voss, et al. (2007) #67, 32. MR Martinez-Larranaga, et al. (1999) #68)。

雄性 Wistar ラットに 10 mg/kg 体重の用量で FB1 を単回経口投与すると、投与量の 3.5% の FB1 が血漿中に認められた。血漿中の最高濃度 (C_{max}) は 0.18 µg/mL、投与後最高濃度に至るまでの時間 (T_{max}) が 1.02 時間であり、著者らは、FB1 は速やかに吸収されると考えた。(参照 31. KA Voss, et al. (2007) #67)。8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイト) に、*F. verticillioides* の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与した結果、FB1 の吸収率は 3.9 ± 0.7% であった。(参照 33. J Fodor, et al. (2008) #63)。

10～14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ¹⁴C-FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で単回経口投与した試験の結果、FB1 のバイオアベイラビリティは 4.07% であった(参照 30. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

乳牛に 0.05 又は 0.2 mg/kg 体重の FB1 を静脈内投与すると、投与 2 時間後には血中に検出できなくなった。1 又は 5 mg/kg 体重の FB1 を経口投与すると、血中に FB1 は検出できなかった。著者らは、反芻動物では FB1 はほとんど吸収されず、バイオアベイラビリティは低いと考えた。(参照 31. KA Voss, et al. (2007) #67) (original Prelusky1995 未入手)

② 分布及び代謝

¹⁴C-FB1 をラット又はブタに経口投与すると、速やかに全身に分布することが報告されている。最も分布濃度が高い組織は肝臓及び腎臓であった。~~ラットでは血漿や肝臓より腎臓に高い濃度で検出され、腎臓にお~~

¹ 投与量に対する循環血液中における未変化体の総量の割合。

ける半減期も長かった(参照 10. EHC (2000) #337, 15. JECFA (2011) #350)。

雄性 Sprague-Dawley ラットに ^{14}C -FB1 (FB1 として 1 mg 相当) を胃内投与してすると、肝臓への蓄積が多かった。投与 4 時間後に、肝臓に投与量の 0.5% が認められ、腎臓及び血液にも ^{14}C -FB1 の分布がみられた。 ^{14}C -FB1 を静脈内投与 (FB1 として 4.5 μg 相当) すると、投与 10 分後には血中 ^{14}C -FB1 は急速に減少した。投与 96 時間後に、投与量の約 2% が血液に、約 25% が肝臓に、約 10~12% が腎臓に残存した。 ^{14}C -FB1 は、認められた(参照 34. WP Norred, et al. (1993) #537)。

3~4 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットに、*F. verticillioides* の培養物を用いて、フモニシン (FB1、FB2 及び FB3) を総量として 1.1、13.5 又は 88.6 $\mu\text{g/g}$ 含む飼料を 10 日間混餌投与した。FB1 は、投与量依存的に腎臓及び肝臓に認められ、腎臓の FB1 濃度は肝臓より有意に高かった(参照 35. RT Riley, et al. (2006) #58)。

雄性 Wistar ラットに 10 mg/kg 体重の用量で ^{14}C -FB1 を単回強制経口投与すると、FB1 は主に肝臓と腎臓に分布した。臓器への蓄積を示す $\text{AUC}_{\text{tissue}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ (AUC: area under the concentration-time curve (血中濃度-時間曲線下面積)) は、肝臓で 2.03 及び腎臓で 29.89 であったことから、肝臓より腎臓に多く分布して蓄積すると考えられた。 ^{14}C -FB1 を単回強制経口投与した場合の血中からの消失半減期は、血漿で 3.15 時間、臓器における半減期は肝臓で 4.07 時間、腎臓で 7.07 時間であった。また、雄性 Wistar ラットに 2 mg/kg 体重の用量で ^{14}C -FB1 を単回静脈内投与すると、血中からの半減期は 1.03 時間であった。(参照 31. KA Voss, et al. (2007) #67, 32. MR Martinez-Larranaga, et al. (1999) #68)。

10~14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ^{14}C -FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で単回経口投与し、72 時間後に FB1 の分布を調べた結果、放射能活性は全身にみられた。放射能活性が強かったのは肝臓及び腎臓で、それぞれ投与量の 0.49% 及び 0.03% であった。放射能活性は胆管にも認められた。10~12 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ^{14}C -FB1 を 2.0~3.0 mg/kg 含む飼料を 24 日間混餌投与した試験においても、肝臓及び腎臓への分布が多くみられたが、投与終了後に 9 日間の回復期間を経た後では、両組織における放射能活性は検出限界程度であった。放射能活性は胆管にも認められた。血漿、脾臓、筋肉、脳、副腎、脂肪、皮膚に放射能活性は検出されなかった(参照 30. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイト) に、*F. verticillioides* の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与すると、吸収された FB1 は主に肝臓及び腎臓に分布し、筋肉

及び脂肪ではほとんど検出されなかった。これらの臓器中では回収された 50%が FB1 として検出され、加水分解 FB1 (HFB1)²及び部分加水分解 FB1³はそれぞれ 30%及び 20%であった。投与終了後、10 日間の回復期間を経ても肝臓と腎臓では FB1 及びその代謝物である HFB1 が検出された。腸内容物から回収された FB1 は、その 1%が HFB1 及び 3.9%が部分加水分解 FB1 であり、FB1 が腸内細菌叢により分解されたと考えられた。投与した FB1 の 69%が試験期間中に糞及び尿から回収され、そのうち 90%は 10 日間の投与期間中に回収された。投与期間中に糞中に排泄された FB1 の 47%が部分加水分解 FB1、12%が HFB1 であった。投与した FB1 の 1.5%が試験期間中に尿から回収された。そのうち 65%が FB1、16%が HFB1、24%が部分加水分解 FB1 であった(参照 36. J Szabo-Fodor, et al. (2008) #74)。

③ 排泄

雄性 Sprague-Dawley ラットに ¹⁴C-FB1 を胃内投与すると、投与 48 時間までに糞から 80%が、96 時間後までに投与量の 2~3%が尿から回収された。¹⁴C-FB1 を静脈内投与すると、¹⁴C-FB1 は消化管にも検出され、投与 96 時間までに投与量の 35%が糞から、10%が尿から回収された(参照 34. WP Norred, et al. (1993) #537)。

7~10 週齢の雌雄 F344 ラットに、純度 95%以上の ¹⁴C-FB1 を 0.69 µmol/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 84 時間目にその分布が調べられた。その結果、¹⁴C-FB1 の尿中及び糞中への排泄はそれぞれ投与量の 0.5%及び 90%で、性差はみられなかった。糞への排泄のピークは、投与後 12 時間目から 24 時間目までで、60 時間目にはわずかに排泄される程度であった。15 週齢の雌 Sprague-Dawley ラットに、¹⁴C-FB1 を 0.69 µmol/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、胆管カニューレにより投与後 9.5 時間目まで 30 分ごとに胆汁を採取した。胆汁への排泄は、投与 4 時間までに投与量の平均 1.4%であった。投与後 9.25 時間目まで胆汁に継続的に少量の排泄がみられた(参照 37. WR Dantzer, et al. (1999) #1)。

9~10 週齢の雄性 F344 ラットに、FB1 を 0.69、6.93 又は 69.3 µmol/kg 体重の用量で単回強制経口投与し、投与後 96 時間までの尿及び糞への排泄が調べられた。加水分解物を含めた糞からの FB1 の回収率は 101%それぞれ 110、92 又は 98%、尿からの回収率は 2.7それぞれ 7.4、1.2 又は

² フモニシンの加水分解により、2 個のトリカルボン酸と HFB1 (又は長鎖アルキルアミノペンタオール骨格) が生成する。

³ フモニシンの部分加水分解により 1 個のトリカルボン酸と部分加水分解 FB1 が生成する。

0.5%であった(参照 38. EC Hopmans, et al. (1997) #2)。

5 週齢の雄性 F344 ラットに、*F. moniliforme* 培養物から精製した FB1 (純度~98%) を 0、10 及び 25 mg/kg 体重の用量で強制単回経口投与した。また、5 週齢の雄性 F344 ラットに、0、1.0 及び 2.5 mg/kg 体重/日の用量で 5 週間にわたって強制連続経口投与した。単回及び連続投与のいずれにおいても、用量依存的に FB1 の尿及び糞への排泄量が増加した。FB1 単回投与群の糞中 FB1 濃度は投与後 12 時間目から上昇し、1 日目にピークとなった。糞中 FB1 は、投与 3 日目には検出できなかった。尿中 FB1 濃度は、投与 12 時間目にピークとなり、10 日目にはほとんど検出できなかった(参照 39. Q Cai, et al. (2007) #53)。

5 週齢の雄性 F344 ラットに、25 mg/kg 体重の FB1 を強制単回経口投与し、投与後 72 時間目まで継時的に尿への排泄が調べられた。投与後 12 時間目に尿中の濃度がピークとなり、その後急激に減少した(参照 40. NJ Mitchell, et al. (2014) #73)。

50 日齢の雄性ニュージーランドホワイトウサギに 31.5 mg/kg 体重の精製 FB1 (純度>95%) を強制単回経口投与した結果、糞中への FB1 の排泄は投与後 24 時間目がピークで、濃度は 490.56 µg/g であった。尿中への FB1 排泄は投与 12 時間後にピークとなり、濃度は 1.13 µg/g であった。FB1 の主な排出経路は糞で、腸肝循環していることが示唆された。投与された FB1 の 55%が投与後 7 日目までに糞に排泄された(参照 41. RB Orsi, et al. (2009) #54)。

10~14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ¹⁴C-FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で単回経口投与又は 0.40 mg/kg 体重の用量で静脈内投与して、投与後 72 時間目まで排泄が調べられた。単回経口投与した FB1 は、72 時間目までに、尿中に 0.60%、糞中に 90.8%排泄された。静脈内投与した FB1 は、胆汁中に 70.8%、尿中に 16.2%、糞中に 1.5%排泄された(参照 30. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイト) に、*F. verticillioides* の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与し、投与後 10 日間の回復期間が設定された。20 日間の試験期間中に、投与した FB1 の 69%が糞及び尿から回収された。そのうちの 90%は 10 日間の投与期間中に排泄され、排泄されたうちの 47%は部分加水分解 FB1、12%は HFB1 であった。試験期間中に尿から回収されたのは、投与量の 1.5%で、そのうち 65%は FB1、16%が HFB1 及び 24%は部分加水分解 FB1 であった(参照 33. J Fodor, et al. (2008) #63, 42. J Szabó-Fodor, et al. (2008) #74)。

8 週齢の去勢ブタ(ランドレース×ラージホワイト×デュロック)に、*F. verticillioides* の培養抽出物 (FB1 と FB2 が含まれる) を 5 mg/kg 体重

の FB1 用量で強制単回経口投与し、投与後 96 時間目まで尿及び糞が採取された。尿から回収された FB1 は投与量の 0.93%であった。尿中 FB1 は、投与後 75 分目～41 時間目の間に検出され、ピークは投与後 8～24 時間目にかけてであった。糞から回収された FB1 は投与量の 76.5%であった。糞中から FB1 が検出されたのは、投与 8 時間目から 84 時間目の間で、ピークは投与後 8 時間目から 24 時間目にかけてであった(参照 43. P Dilkin, et al. (2010) #62)。

20～43 ヲ月齡の雌性ベルベットモンキーに、1.6 mg/kg 体重の用量で FB1 を静脈内投与又は 8 mg/kg 体重の用量で強制経口投与した。投与用量の 47%が FB1 及び HFB1 として 5 日間にわたって尿と糞に排泄された。投与群では、糞中の排泄が 61%で、尿へは 1.2%であった(参照 44. GS Shephard, et al. (1994) #70)。

10 名のボランティアにトウモロコシ由来の市販食品を 3 日間摂取してもらい、尿を採取して尿中の FB1、FB2、FB3 及び HFB1 を分析した。FB1 摂取量は 4 µg/kg 体重/日であった。尿中には FB1 のみが検出された。市販食品摂取 3 時間後には尿への FB1 の排泄が認められ、摂取終了後 5 日目には、尿中に FB1 は検出されなくなった。尿に排泄されたのは、FB1 総摂取量の 1%未満であった。この試験におけるヒトの FB1 の半減期は 48 時間以内と著者らは考えた。(参照 45. RT Riley, et al. (2012) #72)。

(2) フモニシンの生化学的パラメータへの影響

フモニシンは、スフィンゴ脂質生合成経路に重要な役割を担うセラミド合成酵素の阻害作用を有し、この作用がフモニシンの毒性に関与していることが示唆されている。

スフィンゴ脂質は、スフィンゴシン (So)、スフィンガニン (Sa) 等のスフィンゴイド塩基と呼ばれる長鎖アミノアルコールを基本骨格に持つ脂質の総称で、生体膜の主要な構成成分であるとともに、細胞内シグナル伝達分子として様々な細胞機能に関与している。Sa 及び So は、セラミド合成に係る酵素である Sa(So)スフィンガニン-N-アシルトランスフェラーゼ転移酵素及びスフィンゴシン-N-アシル転移酵素 によるアシル化反応を経てセラミドに変換される (図 1)。フモニシンは、Sa 及び So と化学構造が類似していることから、競合拮抗作用によりセラミド合成酵素を阻害する(参照 46. E Wang, et al. (1991) #296)。この阻害作用により、Sa 及び So の蓄積と共にセラミドを含むスフィンゴ脂質が減少する。組織における違いはあるが、実験動物に精製 FB1 を投与すると、組織、血液、尿等の Sa 及び So の濃度の上昇がみられ、このうち、特に Sa 濃度が高値となり、Sa/So 比が高くなることが報告されている。変化したこれらパラメ

1 ータの値は FB1 投与を中止すると元に戻る(参照 47. E Wang, et al.
2 (1992) #300, 48. RT Riley, et al. (1994) #293, 49. GS Shephard, et al.
3 (2007) #66)。

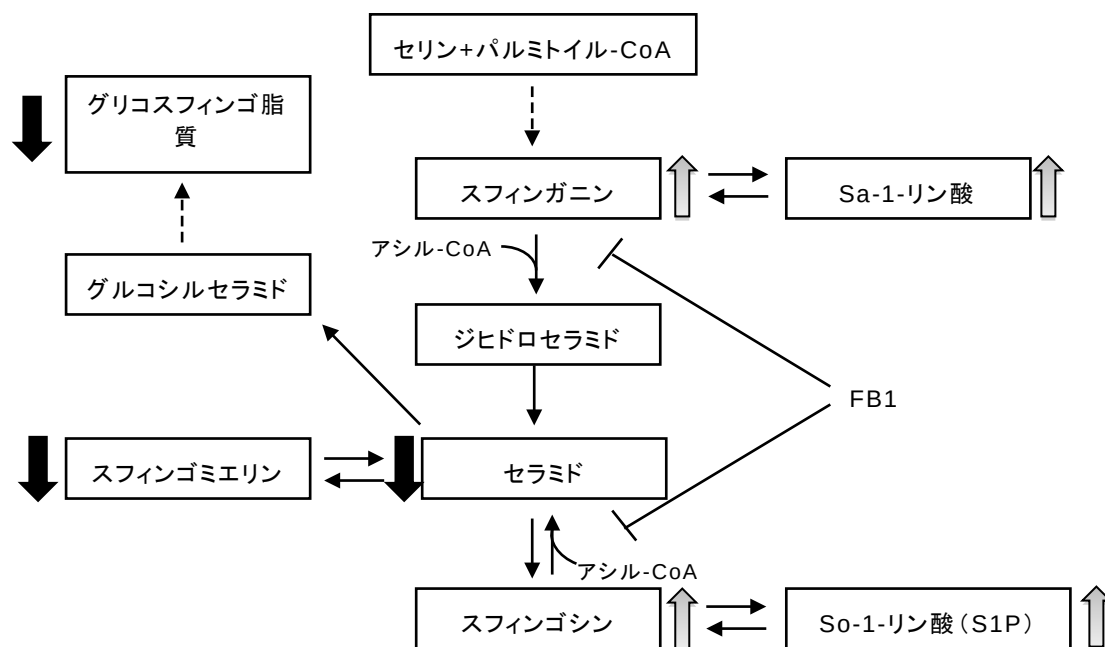


図 1 フモニシン B1 (FB1) によるセラミド合成酵素阻害作用
(FB1 により増加するものを↑、低下するものを↓で示した。)
(参照 50. S Muller, et al. (2012) #199)の Fig.2 を改変)

24 初代培養肝細胞を用いて、FB1 と FB2 の So 合成への影響を調べた結果、
25 ^{14}C -セリンから ^{14}C -So への変換は、FB1 と FB2 のいずれにおいても同じ
26 程度阻害された(参照 46. E Wang, et al. (1991) #296)。

27 FB1 及び FB2 のセラミド合成酵素阻害作用について、初代培養ラット
28 肝細胞及びブタ腎臓近位尿細管由来上皮細胞株 (LLC-PK1 細胞) を用い
29 て調べられた。肝細胞において FB1 はセリンから脂質への変換を阻害し、
30 IC_{50} は $0.1 \mu\text{M}$ であった。FB2 も同程度の変換阻害を起こした。腎臓近
31 位尿細管由来上皮細胞株において、FB1 の IC_{50} は $35 \mu\text{M}$ であった(参照
32 51. WP Norred, et al. (1992) #113)。

33 FB2 及び FB3 のセラミド合成酵素阻害作用について、雄性
34 Sparague-Dawley ラットの肝臓切片に FB2 又は FB3 をばく露させた研究
35 では、いずれの物質のばく露でも So に変化はなかったが、Sa と Sa/So
36 比は対照と比較して有意に上昇したことより、FB2 及び FB3 のセラミド
37 合成酵素阻害作用は FB1 とほぼ同等であった、と著者らは報告している
38 (参照 52. WP Norred, et al. (1997) #7)FB2 又は FB3 を 75 mg/kg の濃度

1 でそれぞれ含む飼料をポニーに混餌投与し、スフィンゴ脂質濃度を調べた。
2 血清中の Sa/So 比は、FB2 で投与 4 日目に、FB3 で 11 日目に有意に上昇
3 した。FB2 を投与したポニーでは、肝毒性の指標となる血清中アスパラギ
4 ン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 活性の上昇が 34 日目に明らかと
5 なり、臨床症状は 48 日目から認められた。一方、FB3 を投与したポニー
6 では、65 日間の投与期間中異常が認められなかった(参照 35. RT Riley, et
7 al. (2006) #58, 53. RT Riley, et al. (1997) #295)。
8

＜ 参考文献 ＞

- 1 T. S. Kellerman, W. F. Marasas, P. G. Thiel, W. C. Gelderblom, M. Cawood and J.
2 A. Coetzer. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of
3 fumonisin B1. Onderstepoort J Vet Res. 1990; 57: 269-275 #459
- 4 1 W. F. Marasas, T. S. Kellerman, W. C. Gelderblom, J. A. Coetzer, P. G. Thiel and
5 J. J. van der Lugt. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1
6 isolated from *Fusarium moniliforme*. Onderstepoort J Vet Res. 1988; 55:
7 197-203 #438
- 8 2 L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr.
9 Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic
10 metabolite of *Fusarium moniliforme*. J Vet Diagn Invest. 1990; 2: 217-221 #170
- 11 3 FAO/WHO. Working document for information and use in discussions related
12 to contaminants and toxins in the GSCTFF. CCCF Eighth Session. 2014; CF/9
13 INF/1: 65-67 #452
- 14 4 CODEX_alimentarius. GENERAL STANDARD FOR CONTAMINANTS AND
15 TOXINS IN FOOD AND FEED (CODEX STAN 193-1995). 1995; #444
- 16 5 EFSA. Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible
17 temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone
18 and fumonisins for maize and maize products. EFSA Journal. 2014; 12: 3699
19 #355
- 20 6 EU. Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for
21 certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and
22 maize products. EC No 1126/2007. 2007; #358
- 23 7 National_Grain_and_Feed_Association. FDA Mycotoxin Regulatory Guidance.
24 2011; #49
- 25 8 J. P. Rheeder, W. F. Marasas and H. F. Vismer. Production of fumonisin analogs
26 by *Fusarium* species. Appl Environ Microbiol. 2002; 68: 2101-2105 #48
- 27 9 EHC. Environmental Health Criteria 219: fumonisin B1, International
28 Programme on Chemical Safety (IPCS; UNEP, ILO and WHO). Eds.
29 W.H.O. Marasas, J.D. Miller, Riley, R.T. and A. Visconti. WHO, Geneva. 2000;
30 #337
- 31 10 A. Desjardins. Chapter 3. Fumonisin. In *Fusarium mycotoxins: chemistry,*
32 *genetics, and biology.* The American Phytopathological Society, U.S.A. 2006;
33 #51
- 34 11 EFSA. Scientific opinion on the risks for human and animal health related to
35 the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. . EFSA
36
37
38

- Journal. 2014; 12: 3916 #344
- 13 JECFA. Fumonisin. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001; #465
- 14 National Toxicology Program. 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). NTP Technical Report 496. 2001; #103
- 15 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
- 16 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. The EFSA Journal. 2005; 235: 1-32 #356
- 17 SCF. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium toxins. Part 3: Fumonisin B1 (FB1). http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html. 2000; #339
- 18 IARC. Fumonisin B1. IARC [International Agency for Research on Cancer] Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. 2001; 82: #60
- 19 IARC. Fumonisin B1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. 2002; 82: #60
- 20 M. M. Reynoso, A. M. Torres and S. N. Chulze. Fusaproliferin, beauvericin and fumonisin production by different mating populations among the Gibberella fujikuroi complex isolated from maize. Mycol Res. 2004; 108: 154-160 #372
- 21 JECFA. Fumonisin. JECFA 47. 2001; #367
- 22 T. F. R. No.139. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. 2003; #15
- 23 FAO/WHO. FAO/WHO–World Health Organization. Evaluation of Certain Food Addit Contam. Series 65. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 966, p70-94. 2011; #350
- 24 J. C. Frisvad, J. Smedsgaard, R. A. Samson, T. O. Larsen and U. Thrane. Fumonisin B2 production by Aspergillus niger. J Agric Food Chem. 2007; 55: 9727-9732 #34
- 25 A. Logrieco, R. Ferracane, A. Visconti and A. Ritieni. Natural occurrence of fumonisin B2 in red wine from Italy. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010; 27: 1136-1141 #446
- 26 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

- 1 27 C. Brera, F. Debegnach, S. Grossi and M. Miraglia. Effect of industrial
2 processing on the distribution of fumonisin B1 in dry milling corn fractions. J
3 Food Prot. 2004; 67: 1261-1266 #461
- 4 28 FAO/WHO. Discussion paper on proposed draft maximum levels for fumonisins
5 in maize and maize-products and associated sampling plans. CCCF Sixth
6 Session. 2012; CX/CF 12/6/18: 1-31 #347
- 7 29 C. Y. Warfield and D. G. Gilchrist. Influence of kernel age on fumonisin B1
8 production in maize by *Fusarium moniliforme*. Appl Environ Microbiol. 1999;
9 65: 2853-2856 #450
- 10 30 D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. A. Rotter, J. D. Miller, M. E. Savard, J. M.
11 Yeung and P. M. Scott. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing
12 animals. Adv Exp Med Biol. 1996; 392: 265-278 #69
- 13 31 K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek. Fumonisins: toxicokinetics,
14 mechanism of action and toxicity. Anim. Feed Sci. Technol. 2007; 137: 299-325
15 #67
- 16 32 M. R. Martinez-Larranaga, A. Anadon, M. J. Diaz, M. L. Fernandez-Cruz, M. A.
17 Martinez, M. T. Frejo, M. Martinez, R. Fernandez, R. M. Anton, M. E. Morales
18 and M. Tafur. Toxicokinetics and oral bioavailability of fumonisin B1. Vet Hum
19 Toxicol. 1999; 41: 357-362 #68
- 20 33 J. Fodor, K. Balogh, M. Weber, M. Miklos, L. Kametler, R. Posa, R. Mamet, J.
21 Bauer, P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs. Absorption, distribution and
22 elimination of fumonisin B(1) metabolites in weaned piglets. Food Addit
23 Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2008; 25: 88-96 #63
- 24 34 W. P. Norred, R. D. Plattner and W. J. Chamberlain. Distribution and excretion
25 of [14C]fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. Nat Toxins. 1993; 1:
26 341-346 #537
- 27 35 R. T. Riley and K. A. Voss. Differential sensitivity of rat kidney and liver to
28 fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and
29 sphingoid base metabolism. Toxicol Sci. 2006; 92: 335-345 #58
- 30 36 J. Szabo-Fodor, L. Kametler, R. Roland Posa, R. Rene Mamet, V. Rajli, J. Bauer ,
31 P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs. Kinetics of fumonisin B 1 in pigs and
32 persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin
33 concentration. Cereal Res. Commun. 2008; 36: 331-336 #74
- 34 37 W. R. Dantzer, J. Hopper, K. Mullin, S. Hendrich and P. A. Murphy. Excretion of
35 (14)C-fumonisin B(1), (14)C-hydrolyzed fumonisin B(1), and (14)C-fumonisin
36 B(1)-fructose in rats. J Agric Food Chem. 1999; 47: 4291-6 #1
- 37 38 E. C. Hopmans, C. C. Hauck, S. Hendrich and P. A. Murphy. Excretion of
38 fumonisin B1, hydrolyzed fumonisin B1, and the fumonisin B1-fructose adduct

- in rats. J Agric Food Chem. 1997; 46: 2618-2625 #2
- 39 Q. Cai, L. Tang and J. S. Wang. Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. Toxicol Appl Pharmacol. 2007; 225: 28-39 #53
- 40 N. J. Mitchell, K. S. Xue, S. Lin, A. Marroquin-Cardona, K. A. Brown, S. E. Elmore, L. Tang, A. Romoser, W. C. Gelderblom, J. S. Wang and T. D. Phillips. Calcium montmorillonite clay reduces AFB1 and FB1 biomarkers in rats exposed to single and co-exposures of aflatoxin and fumonisin. J Appl Toxicol. 2014; 34: 795-804 #73
- 41 R. B. Orsi, P. Dilkin, J. G. Xavier, S. Aquino, L. O. Rocha and B. Correa. Acute toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. Chem Biol Interact. 2009; 179: 351-5 #54
- 42 J. Szabó-Fodor, L. Kametler, R. Pósa, R. Mamet, V. Rajli, J. Bauer, P. Horn, F. Kovács and M. Kovács. Kinetics of fumonisin B 1 in pigs and persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin concentration. Cereal Res Commun. 2008; 36: 331-336 #74
- 43 P. Dilkin, G. Direito, M. M. Simas, C. A. Mallmann and B. Correa. Toxicokinetics and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B1 containing *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. Chem Biol Interact. 2010; 185: 157-62 #62
- 44 G. S. Shephard, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, J. F. Alberts and M. E. Cawood. Distribution and excretion of a single dose of the mycotoxin fumonisin B1 in a non-human primate. Toxicol. 1994; 32: 735-41 #70
- 45 R. T. Riley, O. Torres, J. L. Showker, N. C. Zitomer, J. Matute, K. A. Voss, J. Gelineau-van Waes, J. R. Maddox, S. G. Gregory and A. E. Ashley-Koch. The kinetics of urinary fumonisin B1 excretion in humans consuming maize-based diets. Mol Nutr Food Res. 2012; 56: 1445-55 #72
- 46 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
- 47 E. Wang, P. F. Ross, T. M. Wilson, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. J Nutr. 1992; 122: 1706-1716 #300
- 48 R. T. Riley, D. M. Hinton, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, E. Wang, A. H. Merrill, Jr. and K. A. Voss. Dietary fumonisin B1 induces disruption of sphingolipid metabolism in Sprague-Dawley rats: a new mechanism of nephrotoxicity. J Nutr. 1994; 124: 594-603 #293

- 1 49 G. S. Shephard, L. Van Der Westhuizen and V. Sewram. Biomarkers of exposure
2 to fumonisin mycotoxins: a review. Food Addit Contam. 2007; 24: 1196-1201 #66
3 50 S. Muller, W. Dekant and A. Mally. Fumonisin B1 and the kidney: modes of
4 action for renal tumor formation by fumonisin B1 in rodents. Food Chem
5 Toxicol. 2012; 50: 3833-46 #199
6 51 W. P. Norred, E. Wang, H. Yoo, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. In vitro
7 toxicology of fumonisins and the mechanistic implications. Mycopathologia.
8 1992; 117: 73-78 #113
9 52 W. P. Norred, R. D. Plattner, M. A. Dombrink-Kurtzman, F. I. Meredith and R. T.
10 Riley. Mycotoxin-induced elevation of free sphingoid bases in precision-cut rat
11 liver slices: specificity of the response and structure-activity relationships.
12 Toxicol Appl Pharmacol. 1997; 147: 63-70 #7
13 53 R. T. Riley, J. L. Showker, D. L. Owens and P. F. Ross. Disruption of
14 sphingolipid metabolism and induction of equine leukoencephalomalacia by
15 Fusarium proliferatum culture material containing fumonisin B(2) or B(3).
16 Environ Toxicol Pharmacol. 1997; 3: 221-228 #295
17

2. 実験動物等における毒性

食品中のフモニシンに関する毒性データのとりまとめにあたっては、経口摂取によるフモニシン特異的な毒性所見を明らかにするために、精製物を経口投与したデータを中心にとりまとめた。フモニシン以外の様々な毒素が混入している可能性のある自然汚染飼料、培養物等を投与した試験結果は必要に応じて参考とした。

実験動物におけるフモニシンの主な標的器官は肝臓及び/又は腎臓である。種による違いはみられるが、雄ラットでは腎臓、雌マウスでは肝臓の感受性が高いことが報告されている。また、飼料用トウモロコシのフモニシン汚染により、馬に白質脳軟化症（ELEM）、豚に肺水腫がみられることが報告されている。

以下にフモニシンを経口投与する毒性試験の結果を中心にとりまとめた。

(1) 急性毒性

精製 FB1 を経口投与した急性毒性試験結果を表 4 にまとめた。実験動物を用いた急性毒性試験において、初期に一過性の Sa 濃度上昇が認められている。FB1 の標的器官は、ほとんどの動物で肝臓及び/又は腎臓であった。FB1 の単回投与による死亡例は報告されていない。

表 1 単回投与によるフモニシンの急性毒性

動物種	化合物 (純度)	観察 期間	1 群 匹数	用量 (mg/kg 体重)	投与 経路	影響	LOAEL (mg/kg 体重)	NOAEL (mg/kg 体重)	参考文献
雄 Swiss NIH マウス、8 週齢	精製 FB1 (>95%)	0~120 時間	3~7 (時間ごと)	25、0.03 (0 時間を対照)	強制 経口	・ 25 mg/kg 体重投与群で、投与 2 時間以内に小腸、腎臓及び肝臓の Sa 濃度が増加。 ・ 25 mg/kg 体重投与群で、肝臓では投与 12 時間目にピークとなり、48 時間目に投与前の濃度となった。	25	0.03	(参 照 1. EN Enongene, et al. (2002) #128)
雌 BALB/c マウス 7 週 齢、約 20 g	精製 FB1 (>90%)	4、8 時 間	4	0、25	強制 経口	・ FB1 投与 4~8 時間目の肝臓で TNF α シグナル伝達経路に関与する遺伝子が誘導された。	25	— ^a	(参 照 2. N Bhandari, et al. (2002) #129)
雄 F344 ラ ット、週 齢 不明、90 ~ 110 g	精製 FB1 (>98%)	7 日間	5	0、1.0、2.15、 4.64、10.0、 21.5、46.4	強制 経口	・ 21.5 mg/kg 体重以上の投与群で飼料摂取量減少及び歩行障害がみられた。 ・ 死亡例なし。	21.5 —	10.0	(参 照 3. C McKean, et al. (2006) #130)
雄 F344 ラ ット、5 週 齢、100 g	精製 FB1 (>98%)	10 日間	3~6	0、10、25	強制 経口	・ 尿中の Sa/So 比及びスフィンガニン 1 リン酸/スフィンゴシン 1 リン酸比の増加。	10	— ^a	(参照 4. Q Cai, et al. (2007) #53)
雄 Wistar ラ ット、週 齢不 明、~230 g	精製 FB1 (Sigma 98%)	4、24、 48 時間	6	0、0.005、 0.05、0.5	強制 経口	・ 全投与量で肝細胞のアポトーシス数が増加し、用量依存的であった。 ・ 0.5 mg/kg 体重投与群で肝臓に主にみられたのは細胞壊死であった。	0.5	— ^a — ^a	(参 照 5. A Domijan, et al. (2008) #127)
雄ウサギ、50 日 齢、1.7 kg	精製 FB1 (>95%)	7 日間	12	31.5	強制 経口	・ 体重、肝臓重量抑制、血液化学的異常、尿タンパク質異常、肝臓及び腎臓のうっ血及び変性。	31.5	— ^a	(参照 6. RB Orsi, et al. (2009) #54)
雄去勢離乳 ブタ、8 週 齢、25 kg	精製 FB1 (Sigma)	2、6、 12、24、 48、72、 96 時間	4	5 (対照群なし)	強制 経口	・ 肺水腫の開始を示す挙動及び臨床徴候がみられた。 ・ 投与後 2 日目より不活発となり、被毛の乱れ、心拍数の増加、呼吸数の増加がみられた。 ・ 喫水量及び摂餌量が減少した。 ・ 心臓壁の弛緩及び肥大並びに肝臓、腎臓及び肺にわずかなうっ血が認められたが、明らかな組織学的変化はみられなかった。 ・ 血漿及び尿の Sa 及び Sa/So 比はそれぞれ投与後 12 及び 48 時間が最高値であった。	5	— ^a	(参照 7. P Dilkin, et al. (2010) #62)

a：設定できず

< 参考文献 >

- 1 E. N. Enongene, R. P. Sharma, N. Bhandari, J. D. Miller, F. I. Meredith, K. A. Voss and R. T. Riley. Persistence and reversibility of the elevation in free sphingoid bases induced by fumonisin inhibition of ceramide synthase. *Toxicol Sci.* 2002; 67: 173-81 #128
- 2 N. Bhandari and R. P. Sharma. Fumonisin B(1)-induced alterations in cytokine expression and apoptosis signaling genes in mouse liver and kidney after an acute exposure. *Toxicology.* 2002; 172: 81-92 #129
- 3 C. McKean, L. Tang, M. Tang, M. Billam, Z. Wang, C. W. Theodorakis, R. J. Kendall and J. S. Wang. Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and fumonisin B1 in animals and human cells. *Food Chem Toxicol.* 2006; 44: 868-76 #130
- 4 Q. Cai, L. Tang and J. S. Wang. Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007; 225: 28-39 #53
- 5 A. 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
- 6 R. B. Orsi, P. Dilkin, J. G. Xavier, S. Aquino, L. O. Rocha and B. Correa. Acute toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. *Chem Biol Interact.* 2009; 179: 351-5 #54
- 7 P. Dilkin, G. Direito, M. M. Simas, C. A. Mallmann and B. Correa. Toxicokinetics and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B1 containing *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. *Chem Biol Interact.* 2010; 185: 157-62 #62

1 (2) 亜急性毒性

2 <精製フモニシンを用いた知見>

3 ① マウス

4 a. 7日間強制経口投与試験

5 Swiss マウス（雌雄、それぞれ一群 5 匹）に精製 FB1 を 0.110 mg/kg 体
6 重/日の用量で 7 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1
7 投与群の一般状態に変化はなく、死亡は認められなかった。FB1 を投与しな
8 い対照群と比べて、FB1 投与群の雌マウスに有意な増体量の低下、雄マウス
9 に血清総コレステロール及び総タンパク質の有意な増加、雌雄マウスに血清
10 中の中性脂肪 (TG) 及びクレアチニンの有意な増加並びに尿中クレアチニン
11 の有意な減少が認められた(参照 1. JH Kouadio, et al. (2013) #145)。

12
13 b. 7日間混餌投与試験

14 フモニシンによる肝障害に、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α
15 (PPAR α)¹ が関与しているか否かを調べる目的で、野生型 SV129 マウス
16 又はその PPAR α 欠損マウス（雌、それぞれ一群 5 匹）に、精製 FB1（純度
17 >98%）又は *F. verticillioide*s 培養物 (CM) を 7 日間、0 又は 300 mg/kg 飼
18 料の FB1 用量（45 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算）で混餌投与された。
19 陽性対照として選択的 PPAR α アゴニストである WY-14643 (WY) が 500
20 mg/kg 飼料で混餌投与された。FB1 又は CM を投与した両マウス群では、
21 飼料のみを給与したそれぞれの対照群に比べて増体率が有意に減少し、肝臓
22 の Sa 濃度及び Sa/So 比が上昇した。肝臓では、限局性の肝細胞アポトーシ
23 ス、細胞増殖、巣状肝細胞壊死、細胞及び核の大小不同、限局性の急性炎症、
24 軽度な胆管過形成等がみられた。オリゴヌクレオチドアレイを用いた転写プ
25 ロファイリングの結果、FB1 又は CM 投与により、両マウス群では細胞増
26 殖、シグナル伝達及びグルタチオン代謝に関係する遺伝子の発現が認められ
27 たが、PPAR α 依存的な遺伝子発現パターンの変化は認められなかった。著
28 者らは、FB1 及び CM によるマウスの肝障害に PPAR α は関与していないと
29 考えた(参照 2. KA Voss, et al. (2006) #141)。

30
31 c. 14日間強制経口投与試験

32 B6C3F1 マウス（雌雄、それぞれ一群 14 匹）に、精製 FB1（純度不明）
33 を 0、1、5、15、35 又は 75 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与す
34 る亜急性毒性試験が実施された。その結果、FB1 投与群では雌の体重が明ら
35 かな減少傾向を示し、雌雄ともに肝臓、骨髄、副腎及び腎臓に以下のような

¹ ペルオキシソーム増殖剤は、ステロイドホルモン受容体スーパーファミリーに属する核内受容体のひとつである PPAR α に結合し、げっ歯類にペルオキシソームの増殖を伴う肝細胞の肥大及びマウスに肝腫瘍を誘発する。

軽度の障害が認められた。肝臓では、肝細胞の単細胞壊死が雄の 35 mg/kg 体重/日以上及び雌の 15 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認められ、肝細胞の軽度の増殖が雄の 75 mg/kg 体重/日以上及び雌の 5 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認められた。雌雄ともにすべての FB1 投与群で、血清中の総コレステロール濃度及びアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性が FB1 用量依存的に有意に上昇した。骨髓細胞の軽度の空胞変性が雌の 5 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認められた。副腎皮質細胞の空胞変性が雄の 35 mg/kg 体重/日以上及び雌の 15 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認められた。雄では、35 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で血清中尿素窒素の上昇が、雌では、15 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で腎臓皮質及び髓質の尿細管上皮細胞に軽度の単細胞壊死が認められた(参照 3. GS Bondy, et al. (1997) #167)。

d. 28 日間混餌投与試験 (National Toxicology Program : NTP)

2 年間発がん試験の予備試験として、B6C3F1 マウス (雌雄、それぞれ一群 12 匹) に 0、99、163、234 又は 484 mg/kg の精製 FB1 (純度 92%) を含む飼料 (雄 : 0、19、31、44 又は 93 mg/kg 体重/日、雌 : 0、24、41、62 又は 105 mg/kg 体重/日に相当) を 28 日間給与した。すべての FB1 投与群の雌及び 484 mg/kg 飼料の FB1 投与群の雄で、血清総コレステロール濃度、総胆汁酸濃度、ALT 及びアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が、FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値となり、脂質代謝異常及び肝障害を示していた。また、すべての FB1 投与群の雌及び 484 mg/kg 飼料の FB1 投与群の雄の肝臓に、肝細胞壊死、びまん性の門脈周囲性肝細胞肥大、小葉中心性の肝細胞過形成、細胆管過形成、クッパー細胞過形成及び細胞分裂の亢進がみられた。尿中 Sa 濃度及び Sa/So 比は、484 mg/kg 飼料投与群の雄で対照群に比べて有意に上昇した(参照 4. National Toxicology Program (2001) #103)。

e. 28 日間混餌投与試験

B6C3F1/Nctr マウス (雌、一群 8 匹、フモニシンを投与しない対照群 16 匹) に、精製 FB1 (純度>97%)、FB2 又は FB3 をそれぞれ 3 用量で 28 日間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。それぞれの投与群に給与した飼料中のフモニシン濃度は、FB1 が、10、52 又は 103 mg/kg 飼料、(0、2.2、11.5 又は 22.9 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算) FB2 が、8、41 又は 82 mg/kg 飼料、FB3 が、11、55 又は 110 mg/kg 飼料であった。いずれのフモニシン投与群でも、摂餌量及び増体量に用量依存的な変化はみられなかった。52 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群では、対照群と比べて、血清中の総コレステロール濃度、総胆汁酸濃度及び ALP 活性が用量依存的に有意に上昇し、

1 肝臓中セラミド濃度が有意に減少した。肝臓の相対重量は、52mg/kg 飼料の
 2 FB1 投与群で減少傾向にあり、103 mg/kg 飼料の FB1 投与群では対照群に
 3 比べて有意に減少した。肝臓の Sa/So 比は、全ての FB1 投与群で用量依存
 4 的に増加し、すべての FB1 投与群で対照群に比べて有意に増加した。肝臓、
 5 脳、心臓、腎臓、脾臓及び腸間膜リンパ節を用いた病理組織学的検査の結果、
 6 52 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の肝臓で、小葉中心性に肝細胞のアポトー
 7 シスの用量依存的な増加、肝細胞の肥大及び空胞変性、クッパー細胞の過形
 8 成並びにマクロファージに色素沈着がみられた。当該試験において、FB1 投
 9 与群に肝毒性が認められたが、FB2 及び FB3 投与群のマウスでは、血液検
 10 査、臓器重量、肝臓の Sa/So 比に投与用量依存的な変化はみられなかった(参
 11 照 5. PC Howard, et al. (2002) #77)。

12 f. 13 週間混餌投与試験

13 B6C3F1 マウス（雌雄、それぞれ一群 15 匹）に、0、1、3、9、27 又は 81
 14 mg/kg 飼料の用量で *F. moniliforme* の培養物から抽出、精製した FB1（純
 15 度>98%）を 13 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1 の平均
 16 投与量は、雄で 0、0.30、0.84、2.44、7.38 又は 23.1 mg/kg 体重/日、雌で
 17 は 0、0.31、1.00、3.03、9.71 又は 28.9 mg/kg 体重/日であった。雄に毒性
 18 影響はみられなかった。81 mg/kg 飼料の FB1 投与群（28.9 mg/kg 体重/日）
 19 の雌マウスの肝臓に、肝細胞の壊死及び巨大肝細胞（megalocytic hepatocyte）
 20 の増加、分裂像の増加、好中球及びマクロファージの浸潤並びにマクロフ
 21 ザージへの色素沈着が、小葉中心性に認められた。また、FB1 を投与しない
 22 対照群に比べて ALT 活性、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）
 23 活性、ALP 活性、乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）活性、総コレステロール濃
 24 度、総タンパク質濃度及び総ビリルビンの濃度が有意に高値となった。雌マ
 25 ウスの肝障害を指標とした FB1 の NOAEL は 27 mg/kg 飼料（9.71 mg/kg
 26 体重/日）と著者らは考察している(参照 6. KA Voss, et al. (1995) #162)。

27 g. 16 週間混餌投与試験

28 マウス（雌、系統不明、一群 15 匹）に 0 又は 150 mg/kg 飼料（22.5 mg/kg
 29 体重/日に相当、事務局換算³⁾）の精製 FB1 を 16 週間混餌投与する亜急性
 30 毒性試験が実施された。増体量に FB1 の用量依存的な変化はみられなかつ
 31 た。FB1 投与群では、組織学的に軽度から中等度の胃粘膜の萎縮がみられ、
 32
 33

² megalocytic hepatocytes. 遺伝子や増殖活性に異常を起こした細胞の核及び細胞質が腫大した状態。

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

種	最終体重(kg)	摂取量(g/動物/ 日)	摂取量(g/kg 体重/ 日)
マウス	0.02	3	150

FB1 を投与しない対照群に比べて胃の壁細胞数が有意に減少し、胃粘膜の高さ及び胃腺の分裂細胞数が有意に減少した。免疫組織化学染色の結果、FB1 投与群では、対照群に比べて胃の上皮細胞にアポトーシスを抑制するタンパク質である Bcl-2 陽性細胞の減少及びアポトーシスを促進するタンパク質である Bax 陽性細胞の増加がみられた。(参照 7. AM Alizadeh, et al. (2015) #176)。

h. 24 週間混餌投与試験 (NTP)

B6C3F1 マウス (雌雄、それぞれ一群 20 匹) に、2 年間試験と同じ用量の精製 FB1 (純度 96%) を 24 週間混餌投与し、投与開始 3、7、9 又は 24 週目に 4 匹ずつ病理学的検査が実施された。FB1 の投与量は、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 mg/kg 体重/日に相当)、雌では、0、5、15、50 又は 80 mg/kg 飼料 (0、0.7、2.1、7.1 又は 12.4 mg/kg 体重/日に相当) であった。15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雌では、投与開始 24 週目までに肝臓に小葉中心性の肝細胞アポトーシス及び壊死、細胞質に空胞変性、クッパー細胞増生、小葉中心性の色素沈着が散見された。小葉中心性の肝細胞アポトーシスは、FB1 投与開始 3 週間目から 150 mg/kg 飼料投与群に認められたが、時間又は投与量依存性はみられなかった。肝臓の Sa/So 比は、FB1 投与開始 3 週間目に 50 mg/kg 飼料以上の投与群及び投与開始 9 週間目に 5 mg/kg 飼料以上の投与群で、FB1 を投与しない対照群に比べて有意な上昇が認められたが、投与開始 7 及び 24 週目では、すべての投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。尿クレアチニン濃度及びタンパク濃度に FB1 投与による影響は認められなかった。雄の肝臓の Sa/So 比は、80 mg/kg 飼料投与群で投与開始 7 週間目のみ対照群に比べて有意に上昇した(参照 4. National Toxicology Program (2001) #103)。

i. 26 週間混餌投与試験

FB1 の発がん性に p53 たんぱく質が関与しているか否かを調べる目的で、トランスジェニック $p53^{+/-}$ マウス ⁴ ~~($p53$ 欠損アレルのヘテロ接合マウス)~~ 及びその野生型である $p53^{+/+}$ マウス (雄、それぞれ一群 10 匹) に、精製 FB1 (純度 97%) を 0、5、50、150 mg/kg 飼料の用量で 26 週間混餌投与した。~~算出した~~ FB1 摂取量は、 $p53^{+/-}$ マウスで 0、0.37、3.88 又は 12.6 mg/kg 体重/日並びに $p53^{+/+}$ 野生型 マウスで 0、0.39、3.87 又は 12.2 mg/kg 体重/日相当であった。 $p53^{+/-}$ マウス及び $p53^{+/+}$ 野生型 マウスともに肝臓の相対重

⁴ $p53^{+/-}$ マウスは、がん抑制遺伝子 $p53$ に変異を導入した AB1ES 細胞 (129/SvEv マウス由来) を C57BL/6J の胚盤胞期胚に導入し、戻し交配して、 $p53$ の片側アレルを欠損させたマウス。本試験に用いられているのは 5 世代目の $p53^{+/-}$ 及び $p53^{+/+}$ マウス。

量に変化はみられなかった。両マウスの白血球数及びリンパ球数は、用量依存的に増加し、150 mg/kg 飼料の FB1 投与群で血中 IgA 及び IgM 濃度が明らかに高値となった。両マウスともに、すべての FB1 投与群で、肝臓及び腎臓中の Sa、Se1P 及びデオキシ-Sa 濃度が FB1 の用量依存的に上昇した。両マウスの 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群の肝臓に結節がみられた。また、両マウスのすべての FB1 投与群の肝臓では、~~巨大肝細胞が増加し、当該病変がみられる個体数~~の発生率が用量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、アポトーシス、細胞壊死、細胞分裂及び多核の肝細胞が用量依存的に増加した。これらの非腫瘍性病変の他に、両マウスともに、150 mg/kg 飼料の FB1 投与群で肝腫瘍及び胆管腫瘍が認められたが、腎臓への影響はみられなかった。*p53*^{+/+}マウス及び野生型マウスへの FB1 の毒性影響に違いはほとんどみられず、FB1 の毒性作用は非遺伝毒性のメカニズムによるものと著者らは考えた。巨大肝細胞の増加を指標として *p53*^{+/+}マウス及び *p53*^{+/+}野生型マウスのデータを合計して推計した FB1 の BMDL₁₀ は 0.15 mg/kg 体重/日であった(参照 8. G Bondy, et al. (2012) #144)。

② ラット

a. 11 日間強制経口投与試験

Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群 6～7 匹) に、精製 FB1 (純度不明) を 0、1、5、15、35 又は 75 mg/kg 体重/日の用量で 11 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。雌雄ラットの肝臓及び腎臓に FB1 用量依存的な障害が認められた。雄ラットの主な標的器官は腎臓で、すべての FB1 投与群の雄及び 5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で、腎臓尿細管上皮細胞の単細胞壊死及び脱落上皮細胞が認められた。尿中のγグルタミルトランスペプチターゼ (γGTP)、LDH 及び N-アセチル-β-D 乳酸脱水素酵素 (NAG) 活性は一過性の有意な上昇が認められ、尿細管損傷を示していた。血中クレアチニン濃度は、FB1 を投与しない対照群に比べて 75 mg/kg 体重/日 FB1 投与群の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で有意に上昇した。雌雄ラットの 35 mg/kg 体重/日以上投与群で肝臓の絶対重量がそれぞれの対照群と比べて有意に減少した。雌では、15 mg/kg 体重/日以上投与群で肝臓の相対重量が対照群と比べて有意に減少したが、雄ラットでは、肝臓の相対重量に FB1 投与依存的な変化はみられなかった。肝細胞壊死は、雌雄ラット共に 15 mg/kg 体重/日以上投与群でみられ、肝細胞の増殖亢進は、35 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に認められた。雄ラットでは、対照群にくらべて 75 mg/kg 体重/日投与群で、血清中 ALT 及びγGTP 活性並びにコレステロール濃度が有意に上昇した。雌ラットでは、対照群と比べて、5 mg/kg 体重/日以上投与群で血清中コレステロール濃度の有意な上昇がみられ、35 mg/kg 体重/日以上の

1 FB1 投与群で血清 ALT 及び ALP 活性が有意に上昇した。FB1 に対して最
2 も感受性が高く、障害がみられたのは腎臓で、雌ラットより雄ラットの感受
3 性が高かった(参照 9. G Bondy, et al. (1996) #166, 10. GS Bondy, et al.
4 (1998) #168)。

5
6 b. 14 日間強制経口投与試験

7 Sprague-Dawleyラット（雄、一群8～10匹）に、精製FB1（純度98%）
8 を5、15又は25 mg/kg体重/日の用量で14日間強制経口投与する亜急性毒性
9 試験が実施された。FB1を投与しない対照群と比べて、15 mg/kg体重/日以
10 上のFB1投与群では体重減少がみられた。臓器重量並びに赤血球数
11 （RBC）、白血球数（WBC）、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット等の血液
12 検査の結果にFB1投与量依存的な変化はみられなかった(参照 11. H
13 Tryphonas, et al. (1997) #139)。

14
15 c. 28 日間混餌投与試験

16 F344 ラット（雌雄、一群それぞれ 10 匹）に、0、99、163、234、又は 484
17 mg/kg 飼料（0、12、20、28 又は 56 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算）
18 の用量で精製 FB1（純度>92.5%）を 28 日間混餌投与する亜急性毒性試験が
19 実施された。雌雄ともに FB1 投与群の増体量が用量依存的に低下傾向にあ
20 った。FB1 を投与しない対照群と比べて、雌雄ともに 234 mg/kg 飼料以上
21 の FB1 投与群で肝臓の絶対重量が有意に減少し、すべての FB1 投与群で腎
22 臓の絶対重量が有意に減少した。組織学的検査の結果、雄では、すべての FB1
23 投与群で腎皮質内層の尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられ、163 mg/kg
24 飼料以上の投与群で尿細管の変性がみられた。雌では、163 mg/kg 飼料以上
25 の FB1 投与群で尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられた。肝臓では、肝
26 細胞のアポトーシス、肝小葉構造の変性、胆管過形成及び肝細胞増殖が認め
27 られた。これらの肝障害は、雄では 234 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群にみ
28 られ、雌では肝細胞のアポトーシスが 99 mg/kg 飼料以上、その他の肝障害
29 は 163 又は 234 mg/kg 飼料以上の投与群にみられた(参照 12. WH Tolleson,
30 et al. (1996) #89)。

31
32 d. 4 週間混餌投与試験

33 Sprague-Dawley ラット（雌雄、一群それぞれ 3 匹）に、0、15、50 又は
34 150 mg/kg 飼料（雌：0、1.4、4.1 又は 13.0 mg/kg 体重/日、雄：0、1.4、
35 4.7、13.6 mg/kg 体重/日）の用量で精製 FB1（純度>99%）を 4 週間混餌投
36 与する亜急性毒性試験が実施された。体重、摂餌量及び一般状態に FB1 用
37 量依存的な変化はみられなかった。血清 TG の有意な増加が雄の 50 mg/kg
38 飼料以上の FB1 投与群及び雌の 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群に、血清コレ

ステロール及び ALP の有意な増加が雌の 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群にみられた。150 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雌雄すべてのラットの肝臓に散在性の単細胞壊死及び核濃縮がみられ、細胞質には空胞変性が認められた。雄の 15 mg/kg 飼料以上及び雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で、腎臓髄質境界部に尿細管上皮細胞の単細胞壊死、脱落、好塩基性化及び過形成が認められた。同用量で精製 FB1（純度 90~94%）を Sprague-Dawley ラット（雌雄、一群それぞれ 3 匹）に 4 週間混餌投与した結果、純度>99%の精製 FB1 と同様の肝障害が 150 mg/kg 飼料の雌雄 FB1 投与群で、ネフローゼが雄の 15 mg/kg 飼料以上及び雌の 50 mg/kg 飼料以上に認められた。腎臓の Sa 及び Sa/So 比は雌雄ともにすべての投与群で有意に増加した。肝臓の Sa/So 比は雄の 150 mg/kg 飼料投与群、雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で有意に増加し、尿中の Sa/So 比は雄の 15 mg/kg 飼料投与群以上、雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で有意に増加した。血清中の Sa/So 比は雌雄ともに 150 mg/kg 飼料の投与群で有意に増加した(参照 13. KA Voss, et al. (1993) #271, 14. KA Voss, et al. (1995) #162)。

e. 28 日間混餌投与試験 (NTP)

2 年間発がん試験の予備試験として、雌雄 F344 ラット（雌雄、それぞれ一群 18 匹）に 0、99、163、234 又は 484 mg/kg の精製 FB1（純度 92%）を含む飼料（雌雄ともに 0、12、20、28 又は 56 mg/kg 体重/日に相当）を 28 日間給与した。雌雄ともに 484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の平均体重は、FB1 を投与しない対照群にくらべて有意に減少した。484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雄では、飼料摂取量も有意に減少した。血液化学検査の結果、484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雌雄では、FB1 を投与しない対照群に比べてクレアチニン濃度、総コレステロール濃度、TG 濃度、ALT 活性、ALP 活性、AST 活性及びγGTP 活性が有意に高値となり、雄では、総胆汁酸濃度も有意に高値となり、脂質代謝異常及び肝障害を示していた。尿中 Sa/So 比は、雄ではすべての FB1 投与群で、雌では 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で対照群に比べて有意に高かった。腎臓の絶対重量及び相対重量は雌雄ともにすべての投与群で対照群に比べて有意に減少した。雄のすべての FB1 投与群及び雌の 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、腎臓の皮質内層の尿細管上皮細胞を主体としたアポトーシス及び変性が認められた。肝臓の肝細胞アポトーシス及び変性は、雌の 234 mg/kg 飼料以上及び雄の 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群に認められた(参照 4. National Toxicology Program (2001) #103)。

f. 13 週間混餌投与試験

F344 ラット（雌雄、一群それぞれ 15 匹）に、*F. moniliforme* の培養物か

ら抽出、精製した FB1 (純度>98%) を、0、1、3、9、27 又は 81 mg/kg 飼料の用量で 13 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1 の平均投与量は、雄では 0、0.07、0.21、0.62、1.92 又は 5.66 mg/kg 体重/日、雌では 0、0.08、0.24、0.73、2.15 又は 6.35 mg/kg 体重/日であった。雌雄ともに、9 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で腎臓絶対重量が有意に減少し、27 mg/kg 飼料以上の投与群で腎臓相対重量が有意に減少した雄の 9 mg/kg 飼料以上の投与群及び雌の 81 mg/kg 飼料投与群の腎臓では、髓質外帯の髓放線に沿って近位尿細管細胞の変性及び壊死が広がっていた。また、核濃縮を起こし、細胞質が好酸性化した壊死細胞が管腔内に脱落していた。雌雄ともに肝障害は認められなかった。雄の腎毒性を指標とする当該試験の NOAEL は 3 mg/kg 飼料 (0.21 mg/kg 体重/日に相当) であった(参照 6. KA Voss, et al. (1995) #162)。

g. 26 週間混餌投与試験 (NTP 試験)

F344 ラット (雌雄、それぞれ一群 4 匹) に、2 年間試験と同じ用量の精製 FB1 (純度 $\geq$ 96%) を 26 週間混餌投与し、投与開始 6、10、14 又は 26 週目に 4 匹ずつ病理学的検査が実施された。FB1 の投与量は、雄では 0、5、15、50 又は 150 mg/kg 飼料 (0、0.25、0.76、2.5 又は 7.5 mg/kg 体重/日に相当)、雌では 0、5、15、50 又は 100 mg/kg 飼料 (0、0.31、0.91、3.0 又は 6.1 mg/kg 体重/日に相当) であった。血液検査、血液生化学検査、尿検査の結果、FB1 投与による用量依存的な変化は認められなかった。雄ラットでは、腎臓皮質尿細管上皮細胞のアポトーシスが、投与開始 6 週目から 14 週目まで、15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群のすべてのラットに認められた。投与開始 26 週目では、5 mg/kg 飼料投与群で 4 匹中 1 匹にも腎臓皮質尿細管上皮細胞のアポトーシスが認められた。腎臓尿細管上皮細胞の増殖は、50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雄ラットで投与開始 6 週間以降に、雌ラットでは、100 mg/kg 飼料投与群にみられた。尿中 Sa/So 比は雄ラットで FB1 投与開始 6 週目に 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群で FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値となり、投与開始 10 週間目及び 21 週目に 5 mg/kg 飼料以上並びに 14 週目に 15 mg/kg 飼料の FB1 投与群で用量依存的に対照群と比べて有意に上昇し、雌ラットでは、6、14、26 週目に 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で用量依存的に対照群と比べて有意に上昇した(参照 4. National Toxicology Program (2001) #103)。

③ ~~ウサギ~~

~~a. 3～19 日間強制経口投与試験~~

~~New Zealand White(NZW)ウサギ (妊娠雌、一群 5 匹 (推定)) に、精製 FB1 (純度 92.3%) を 0、0.25、0.50、1.00、1.25 又は 1.75 mg/kg 体重/日~~

の用量で、妊娠 3～19 日に強制経口投与した。妊娠 11～22 日の間にいずれの投与群においても 1 匹以上の母動物が死亡した。死亡した母動物の肝臓及び腎臓にアポトーシスを含む変性が認められた。死亡した 1.75 mg/kg 体重/日投与群の 1 匹の母ウサギの海馬に中程度の白質脳軟化、多発性局所性血管周囲性出血及び浮腫がみられた(参照 15. TJ Bucci, et al. (1996) #135)。000(参照 16. JB LaBorde, et al. (1997) #214)

③ ブタ

a. 6 日間強制経口投与試験

3 週齢の雄性ヨークシャー雑種離乳ブタに、FB1 を含む *F. verticillioides* 培養抽出液又は精製 FB1 (純度>95%) を 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 6 日間強制経口投与した。FB1 投与最終日に、ブタに病原性 *Escherichia coli* (*E. coli*) 菌株を接種し、24 時間後に実施された剖検又は組織学的検査において、投与に関係する臓器への有意な影響はみられなかった。また、体重増加量、臨床症状、血漿の生化学分析で投与に関係する変化は認められなかった。*E. coli* 接種 24 時間後の腸の検査から、FB1 含有培養抽出物又は精製 FB1 のいずれの投与でも、回腸、盲腸及び結腸において菌のコロニー形成の有意な増加がみられた。コロニー形成と腸外器官(腸間膜リンパ節、肺、肝臓、脾臓)への転移の程度は、精製 FB1 より FB1 含有培養抽出物を投与したブタのほうが大きかったことから、著者らは、抽出物中の未確認の物質が FB1 と相乗的に作用していると考察した(参照 15. IP Oswald, et al. (2003) #158)。

b. 8 週間混餌投与試験

去勢雄及び未經産ヨークシャーブタ(雌雄、一群それぞれ 4 頭)に、0、0.1、1.0 又は 10.0 mg/kg 飼料(0、0.004、0.04 又は 0.4 mg/kg 体重/日に相当、事務局換算⁵⁾)の精製 FB1 (純度>98%) を含む飼料を 8 週間給与する亜急性毒性試験が実施された。雄では、FB1 を投与しない対照群と比べて 1.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群で 8%及び 10.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群で 11%の体重増加抑制がみられた。総コレステロール濃度は、投与 2 週目に、1.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雄で、対照群と比べて有意に高かったが、8 週間目には雌雄ともに 1.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群のみ対照群に比べて有意に高かった。肝臓、腎臓及び肺の Sa/So 比が、雌雄ともに 10.0 mg/kg 飼料投与群で対照群に比べて有意に高値であった(参照 16. BA Rotter, et al. (1996) #171)。

⁵⁾ JECFA で用いている換算(IPCS:EHC70)を用いて摂取量を推定

種	最終体重(kg)	摂取量(g/動物/日)	摂取量(g/kg 体重/日)
ブタ	60	2400	40

1 <培養物等を用いた知見>

2 ①マウス

3 a. 43 日間混餌投与試験

4 BALB/c マウス（雌、一群 24 匹）に、*F. verticillioides* 培養物から抽出し
5 た FB1 及び FB2 を総量として、0、50、150 mg/kg 飼料（0、7.5、22.5 mg/kg
6 体重/日に相当、事務局換算²⁾）含む飼料を 42 又は 43 日間給与する試験が実
7 施された。当該試験では、各群 20 匹に *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*) がフ
8 モニシン投与開始 6 日目に 1000 個腹腔内投与された。*T.cruzi* 接種の有無
9 にかかわらず、フモニシン投与群には軽度な肝細胞のアポトーシス及び肝細胞
10 の大小不同が認められ、肝臓の Sa/So 比が用量依存的に増加した(参照 17.
11 C Dresden Osborne, et al. (2002) #157)。

12
13 ②ラット

14 a. 10 日間混餌投与試験

15 Sprague-Dawley ラット（雄、一群 12 匹）に *F. verticillioides* 培養物を
16 添加して、総フモニシン(FB1、FB2 及び FB3 の重量比は 1.00:0.45:0.10)
17 を 13.5 又は 88.6 mg/kg 飼料含む飼料を 10 日間給与し、投与開始 1、3、5
18 又は 10 日目に肝臓、腎臓、心臓の病理検査を実施するとともに、FB1 及び
19 スフィンゴ脂質の濃度が調べられた。対照群に給与した培養物を添加しない
20 飼料のフモニシン濃度は 1.1 mg/kg 飼料であった。フモニシン蓄積は、フモ
21 ニシン投与 1 日目から肝臓及び腎臓に認められ、その蓄積量は腎臓に多く、
22 肝臓の 10 倍ほどであった。腎臓髄質外層の尿細管上皮細胞のアポトーシス
23 及びそれに伴う再生性・反応性変化を指標に腎毒性をスコア化すると、腎
24 毒性は、13.5 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 5 日目から及び 88.6
25 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 3 日目から認められた。投与 5 日目
26 からは、用量依存的に腎毒性がみられた。腎臓では Sa の濃度が投与 1 日目
27 から有意に高値となった。So の濃度は、Sa より低値で、投与 5 日目から対
28 照群と比べて有意に高値となった。これらの代謝物であるスフィンガニン 1
29 リン酸 (Sa-1-P) 及びスフィンゴシン 1 リン酸 (So-1-P) も投与 3~5 日目
30 にはすべての投与群に認められた。肝臓では肝細胞の壊死及びそれに伴う再
31 生性・反応性変化をを指標とすると、軽度な肝障害が投与 5 日目及び 10 日
32 目の 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群に認められた。肝臓では、対照群
33 と比べて 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 10 日目に Sa 濃度及
34 び投与 5 日目に So 濃度の有意な増加が認められた。心臓に病理学的な変化
35 は認められなかった。心臓の Sa 及び So は、対照群と比べて投与開始 5 日
36 目に 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で有意に高値となった。Sa 及び
37 So のリン酸化物は検出されなかった(参照 18. RT Riley, et al. (2006) #58)。

b. 3週間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット（雄、一群 10 匹）に、FB1、FB2 及び FB3 を産生する菌株、FB2 のみを産生する菌株又は FB3 のみを産生する菌株の 3 種の *F. moniliforme* 培養物を添加した飼料を 3 週間給与する亜急性毒性試験が実施された。総フモニシン投与群には、総フモニシンとして 6.9、53 又は 303 mg/kg（FB1、FB2 及び FB3 の割合は 1.0:0.38:0.15）含む飼料、FB2 投与群には 4.6、32 又は 219 mg/kg の FB2 を含む飼料、FB3 投与群には 6.7、49 又は 295 mg/kg の FB3 を含む飼料が給与された。培養物を添加しない飼料を給与した対照群と比べて総フモニシン、FB2 及び FB3 投与群に増体量の抑制、腎臓の相対重量減少、血清中 ALT、ALP 及び LDH 活性の上昇がみられた。また、総フモニシン投与群では、肝細胞及び主に腎臓髄質外層の尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられた。総フモニシン投与群及び FB2 投与群では、副腎皮質の 索状帯に空胞変性が認められた。毒性の強さは総フモニシン投与群 $\geq$ FB2>FB3 であった。全てのフモニシンの最高濃度投与群の肝臓の Sa/So 比及び 53 mg/kg 飼料以上の総フモニシン投与群の腎臓の Sa/So 比が対照群と比較して有意に増加した。培養物を添加した飼料を 3 週間給与後に、それぞれ 5 匹ずつに回復期間として培養物を添加しない飼料を 3 週間給与すると、すべての FB2 及び FB3 投与群並びに 6.9 mg/kg 飼料の総フモニシン投与群では、体重、臓器重量、血液化学検査、肝臓及び腎臓の Sa/So 比に、対照群との差はみられなかった(参照 19. KA Voss, et al. (1998) #10)。

c. 35日間混餌投与試験

Wistar ラット（雌、一群 13 匹）に、*F. verticillioides* 培養物を添加して、10 又は 20 mg/kg の FB1 を含む飼料を 35 日間給与し、体重を測定するとともに糞を採取して飼料の消化率が調べられた。対照群に給与した飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼料であった。FB1 投与群では、対照群と比較して体重及び体重増加率が有意に減少した。飼料及び糞中の乾燥物、粗蛋白質、粗繊維、エーテル抽出物、灰分、可溶性無窒素物について分析した結果、FB1 投与群では飼料消化率の用量依存的な低下が認められた(参照 20. FA Gbore, et al. (2010) #156)。

d. 8週間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット（雄、一群 10 匹）に、*F. verticilliodes* により発酵させたコーングリッツの加工産物を添加した飼料をラットに給与した。6 種類の加工産物を含む飼料を給与したラットの平均 FB1 摂取量は、0.0251、0.103、0.222、0.354、0.698 又は 1.804 mg/kg 体重/日であった。FB1 の用量依存的に、腎臓のアポトーシス、スフィンゴ塩基濃度の上昇を含む腎毒性

1 のスコアが上昇した。0.0251 mg/kg 体重/日の FB1 投与群に腎毒性はみ
2 られなかった(参照 21. K Voss, et al. (2011) #85)。

3
4 e. 12 週間混餌投与試験

5 Wistar ラット (雄、一群 6 匹) に *F. verticillioidea* 培養物から抽出した
6 FB1 を 0 又は 100 mg/kg 含む飼料を 90 日間給与する亜急性毒性試験が実施
7 された。90 日間の総 FB1 摂取量は、810 mg/kg 体重であった。FB1 を投与
8 しない対照群に比べて FB1 投与群では、飼料摂取量、体重及び体重増加の
9 減少がみられた。肝臓では、血管周囲に組織球浸潤及びクッパー細胞の増加、
10 腎臓では尿細管上皮細胞の壊死及びアポトーシス、小腸陰窩では細胞分裂像
11 の増加及びリンパ球浸潤がみられた。血液化学検査の結果、対照群に比べて
12 FB1 投与群では、血清 ALP 活性の有意な上昇と、TG の有意な減少が認め
13 られた(参照 22. MG Theumer, et al. (2002) #137)。

14
15 ③ウサギ

16 a. 5 週間混餌投与試験

17 雑種ウサギ (雄、一群 10 匹) に、*F. verticillioidea* 培養物を添加して FB1
18 を 12.3 又は 24.56 mg/kg 含む飼料を 5 週間投与する亜急性毒性試験が実施
19 された。対照群に給与した、培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は、0.35
20 mg/kg 飼料であった。体重及び体重増加に有意差はなかったが、24.56
21 mg/kg 飼料の FB1 投与群の飼料摂取量が有意に減少した。血清中の ALT 及
22 び AST に変化はみられなかった(参照 23. EO Ewuola, et al. (2008) #150)。

23
24 b. 196 日間混餌投与試験

25 NZW×Chinchilla 交雑ウサギ (雄、一群 12 匹) に、*F. verticillioidea* 培
26 養物を添加して 5.0、7.5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 196 日間
27 給与した。対照群に給与した、培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.13
28 mg/kg 飼料であった。FB1 の一日投与量は、それぞれ 0.005(対照群)、0.199、
29 0.292 又は 0.373 mg/kg 体重/日相当であった。FB2 及び FB3 濃度は無視で
30 きる程度であった。10 mg/kg 飼料の FB1 投与群では肝臓及び脾臓の相対重
31 量が有意に減少した。腎臓及び精巣の相対重量は、すべての用量で有意に増
32 加した。組織学的検査の結果、5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の肝臓及
33 び腎臓に細胞壊死、精巣にセルトリ細胞の変性、胃及び小腸に粘膜のびらん
34 が用量依存的に認められた。心臓及び副腎に影響はみられなかった(参照 24.
35 EO Ewuola (2009) #148)。同じ条件で FB1 を含む飼料を NZW×Chinchilla
36 交雑ウサギ (雄、一群 12 匹) に 84 日間投与した結果、7.5 mg/kg 飼料以上
37 の FB1 投与群で、ヘマトクリット値及び赤血球の減少並びに白血球の増加
38 がみられた。5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、血清中の総タンパク質、

1 アルブミン及びアルブミン/グロブリン比が有意に低下した。7.5 mg/kg 飼
2 料以上の FB1 投与群で血清中グロブリン、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で
3 AST 活性及び 5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で ALP 活性が有意に増加
4 した(参照 25. EO Ewuola, et al. (2008) #149)。

5 6 ④ブタ

7 a. 14 日間強制経口投与試験

8 離乳ブタ(雌、4 週齢、一群 6 頭)に、*F. verticillioidea* の培養抽出液 (FB1:
9 530.85 mg/L、FB2: 133.30 mg/L、FB3: 35.60 mg/L) を FB1 として 2.8
10 µmol/kg 体重/日の用量で 14 日間連続強制経口投与する亜急性毒性試験が実
11 施された。FB1 投与群では、肝臓に肝細胞索の構造異常、肝細胞の空胞変
12 性、炎症性細胞浸潤及び肝細胞肥大がみられ、小腸では、リンパ管の拡張、
13 間質の浮腫並びに小腸絨毛の短縮及び融合がみられた。血漿中アルブミン、
14 総タンパク質、TG、総コレステロール、フィブリノーゲン及びγGTP 活性は、
15 培養抽出物を投与しない対照群に比べて有意に増加した(参照 26. B
16 Grenier, et al. (2012) #146)。

17 18 b. 6 ヶ月間混餌投与試験

19 離乳ブタ(雄、一群 6 頭)に *F. verticillioidea* 培養物を添加して FB1 を
20 5.0、10.0、15.0 mg/kg 飼料の用量で 6 ヶ月間給与した。培養物を添加しな
21 い対照群の飼料中 FB1 の濃度は 0.2 mg/kg であった。動物への FB1 の平均
22 1 日投与量は、FB1 投与群でそれぞれ 6.0、11.5 及び 17.0 mg/kg 体重/日、
23 対照群で 0.2 mg/kg 体重/日であった。5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で一
24 日乾物摂取量と飼料要求率が有意に増加し、10 mg/kg 飼料以上の投与群で
25 一日増体量が有意に減少した(参照 27. FA Gbore (2009) #151)。

26 27 ⑤鳥類

28 a. 63 日間混餌投与試験

29 BUT 9 系統の七面鳥(雄、試験開始時 8 日齢、一群 36 羽)に、野外汚染
30 トウモロコシを添加してフモニシン (FB1 及び FB2) を 0、5、10 又は 20
31 mg/kg 含む飼料を 63 日間給与した。飼料にフモニシン以外のかび毒汚染は
32 認められなかった。体重増加、血清生化学並びに肝臓及び腎臓における肉眼
33 的検査及び組織学的検査の結果、フモニシン投与による影響は認められな
34 かった。Sa/So 比及び Sa 濃度が、20mg/kg 飼料の投与群で大きく増加した(参
35 照 28. D Tardieu, et al. (2007) #160)。

36 37 b. 77 日間強制経口投与試験

38 ドバンアヒル(7 日齢、一群 8 羽)に、*F. verticillioidea* 培養抽出物(FB1:

54%、FB2: 8%、FB3: 9%)から一部精製した FB1 を 0、2、8、32、128 mg/kg 飼料の用量で 77 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。32mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で肝臓及び脾臓の相対重量の有意な増加がみられたが、組織学的検査の結果、変性は認められなかった。32 mg/kg 飼料以上の投与群で、血清中の ALP 活性が有意に上昇した。8 mg/kg 飼料以上の投与群で、Sa/So 比が、血清、肝臓及び腎臓において有意に増加し、腎臓における増加が顕著であった(参照 29. ST Tran, et al. (2005) #81)。

c. 41 日間混餌投与試験

ブロイラー (8 日齢、一群 12 羽) に *F. verticillioides* 培養抽出物を添加して、FB1、FB2 及び FB3 を 50 mg/kg 含む飼料 (FB1: 57.3、FB2: 18.5、FB3: 6.0 mg/kg 飼料) 又は 200 mg/kg 含む飼料 (FB1: 201.0、FB2: 64.9、FB3: 21.0 mg/kg 飼料) を 41 日間給与する亜急性試験が実施された。培養物を添加しない飼料を給与した対照群に比べて、すべてのフモニシン投与群で、体重、体重増加量が有意に減少し、心臓の相対重量は有意に増加した。肝臓の相対重量は、フモニシン 200 mg/kg 飼料投与群で有意に増加した。病理組織学的には、すべてのフモニシン投与群で、肝臓の空胞変性と胆管に細胞増殖がみられた(参照 30. EN Tessari, et al. (2006) #161)。

1 < 参考文献 >

- 2
- 3 1 J. H. Kouadio, S. Moukha, K. Brou and D. Gnakri. Lipid metabolism disorders,
4 lymphocytes cells death, and renal toxicity induced by very low levels of
5 deoxynivalenol and fumonisin b1 alone or in combination following 7 days oral
6 administration to mice. *Toxicol Int.* 2013; 20: 218-23 #145
- 7 2 K. A. Voss, J. Liu, S. P. Anderson, C. Dunn, J. D. Miller, J. R. Owen, R. T. Riley,
8 C. W. Bacon and J. C. Corton. Toxic effects of fumonisin in mouse liver are
9 independent of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Toxicol Sci.*
10 2006; 89: 108-19 #141
- 11 3 G. S. Bondy, C. A. Suzuki, S. M. Fernie, C. L. Armstrong, S. L. Hierlihy, M. E.
12 Savard and M. G. Barker. Toxicity of fumonisin B1 to B6C3F1 mice: a 14-day
13 gavage study. *Food Chem Toxicol.* 1997; 35: 981-9 #167
- 14 4 National_Toxicology_Program. NTP technical report on the toxicology and
15 carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats
16 and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report 496. 2001; #103
- 17 5 P. C. Howard, L. H. Couch, R. E. Patton, R. M. Eppley, D. R. Doerge, M. I.
18 Churchwell, M. M. Marques and C. V. Okerberg. Comparison of the toxicity of
19 several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F(1)
20 mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002; 185: 153-165 #77
- 21 6 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. A. Herbert, D. B. Walters and
22 W. P. Norred. Subchronic feeding study of the mycotoxin fumonisin B1 in
23 B6C3F1 mice and Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1995; 24: 102-10 #162
- 24 7 A. M. Alizadeh, F. Mohammadghasemi, K. Zendehdel, Z. Kamyabi-Moghaddam,
25 A. Tavassoli, F. Amini-Najafi and A. Khosravi. Apoptotic and proliferative
26 activity of mouse gastric mucosa following oral administration of fumonisin B1.
27 *Iran J Basic Med Sci.* 2015; 18: 8-13 #176
- 28 8 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D.
29 Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long
30 term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53
31 homozygous transgenic mice. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50: 3604-3613 #144
- 32 9 G. Bondy, M. Barker, R. Mueller, S. Fernie, J. D. Miller, C. Armstrong, S. L.
33 Hierlihy, P. Rowsell and C. Suzuki. Fumonisin B1 toxicity in male Sprague-
34 Dawley rats. *Adv Exp Med Biol.* 1996; 392: 251-64 #166
- 35 10 G. S. Bondy, C. A. Suzuki, R. W. Mueller, S. M. Fernie, C. L. Armstrong, S. L.
36 Hierlihy, M. E. Savard and M. G. Barker. Gavage administration of the fungal
37 toxin fumonisin B1 to female Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A.*
38 1998; 53: 135-51 #168
- 39 11 H. Tryphonas, G. Bondy, J. D. Miller, F. Lacroix, M. Hodgen, P. McGuire, S.

- 1 Fernie, D. Miller and S. Hayward. Effects of fumonisin B1 on the immune
2 system of sprague-dawley rats following a 14-day oral (gavage) exposure.
3 Fundam Appl Toxicol. 1997; 39: 53-9 #139
- 4 12 W. H. Tolleson, K. L. Dooley, W. G. Sheldon, J. D. Thurman, T. J. Bucci and P.
5 C. Howard. The mycotoxin fumonisin induces apoptosis in cultured human cells
6 and in livers and kidneys of rats. Adv Exp Med Biol. 1996; 392: 237-250 #89
- 7 13 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon and W. P. Norred. A preliminary
8 investigation on renal and hepatic toxicity in rats fed purified fumonisin B1.
9 Nat Toxins. 1993; 1: 222-228 #271
- 10 14 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred.
11 Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit
12 Contam. 1995; 12: 473-478 #162
- 13 15 I. P. Oswald, C. Desautels, J. Laffitte, S. Fournout, S. Y. Peres, M. Odin, P. Le
14 Bars, J. Le Bars and J. M. Fairbrother. Mycotoxin fumonisin B1 increases
15 intestinal colonization by pathogenic Escherichia coli in pigs. Appl Environ
16 Microbiol. 2003; 69: 5870-4 #158
- 17 16 B. A. Rotter, B. K. Thompson, D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. Stewart, J. D.
18 Miller and M. E. Savard. Response of growing swine to dietary exposure to pure
19 fumonisin B1 during an eight-week period: growth and clinical parameters. Nat
20 Toxins. 1996; 4: 42-50 #171
- 21 17 C. Dresden Osborne, G. Pittman Noblet, E. N. Enongene, C. W. Bacon, R. T.
22 Riley and K. A. Voss. Host resistance to Trypanosoma cruzi infection is
23 enhanced in mice fed Fusarium verticillioides (=F. moniliforme) culture
24 material containing fumonisins. Food Chem Toxicol. 2002; 40: 1789-98 #157
- 25 18 R. T. Riley and K. A. Voss. Differential sensitivity of rat kidney and liver to
26 fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and
27 sphingoid base metabolism. Toxicol Sci. 2006; 92: 335-345 #58
- 28 19 K. A. Voss, R. D. Plattner, R. T. Riley, F. I. Meredith and W. P. Norred. In vivo
29 effects of fumonisin B1-producing and fumonisin B1-nonproducing Fusarium
30 moniliforme isolates are similar: fumonisins B2 and B3 cause hepato- and
31 nephrotoxicity in rats. Mycopathologia. 1998; 141: 45-58 #10
- 32 20 F. A. Gbore, R. I. Yinusa and B. Salleh. Evaluation of subchronic dietary
33 fumonisin B1 on nutrient digestibility and growth performance of rats. African
34 J Biotech. 2010; 9: 6442-6447 #156
- 35 21 K. Voss, R. Riley, L. Jackson, J. Jablonski, A. Bianchini, L. Bullerman, M.
36 Hanna and D. Ryu. Extrusion cooking with glucose supplementation of
37 fumonisin contaminated corn grits protected against nephrotoxicity and
38 disrupted sphingolipid metabolism in rats. Mol Nutr Food Res. 2011; 55: S312-
39 S320 #85

- 1 22 M. G. Theumer, A. G. Lopez, D. T. Masih, S. N. Chulze and H. R. Rubinstein.
2 Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic
3 mycotoxicoses in rats. Clin Diagn Lab Immunol. 2002; 9: 149-55 #137
- 4 23 E. O. Ewuola, F. A. Gbore, J. T. Ogunlade, R. Bandyopadhyay, J. Niezen and G.
5 N. Egbunike. Physiological response of rabbit bucks to dietary fumonisin:
6 performance, haematology and serum biochemistry. Mycopathologia. 2008; 165:
7 99-104 #150
- 8 24 E. O. Ewuola. Organ traits and histopathology of rabbits fed varied levels of
9 dietary fumonisin B(1). J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2009; 93: 726-31 #148
- 10 25 E. O. Ewuola and G. N. Egbunike. Haematological and serum biochemical
11 response of growing rabbit bucks fed dietary fumonisin B1. African J Biotech.
12 2008; 7: 4304-4309 #149
- 13 26 B. Grenier, A. P. Bracarense, H. E. Schwartz, C. Trumel, A. M. Cossalter, G.
14 Schatzmayr, M. Kolf-Clauw, W. D. Moll and I. P. Oswald. The low intestinal and
15 hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B(1) correlates with its inability to
16 alter the metabolism of sphingolipids. Biochem Pharmacol. 2012; 83: 1465-1473
17 #146
- 18 27 F. A. Gbore. Growth performance and puberty attainment in growing pigs fed
19 dietary fumonisin B(1). J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2009; 93: 761-7 #151
- 20 28 D. Tardieu, J. D. Bailly, F. Skiba, J. P. Metayer, F. Grosjean and P. Guerre.
21 Chronic toxicity of fumonisins in turkeys. Poult Sci. 2007; 86: 1887-93 #160
- 22 29 S. T. Tran, A. Auvergne, G. Benard, J. D. Bailly, D. Tardieu, R. Babile and P.
23 Guerre. Chronic effects of fumonisin B1 on ducks. Poult Sci. 2005; 84: 22-8 #81
- 24 30 E. N. Tessari, C. A. Oliveira, A. L. Cardoso, D. R. Ledoux and G. E. Rottinghaus.
25 Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and
26 histology of broiler chicks. Br Poult Sci. 2006; 47: 357-64 #161

27

(3) 慢性毒性・発がん性

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

雌雄 B6C3F₁/Nctr BR マウス (雌雄それぞれ一群 48 匹) に精製 FB1 (純度>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 mg/kg 体重/日相当)、雌では、0、5、15、50 又は 80 mg/kg 飼料 (0、0.7、2.1、7.1 又は 12.4 mg/kg 体重/日相当) であった。

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 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 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、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。腫瘍に関しては、用量依存的な肝細胞腺腫及び肝細胞癌の増加が雌マウスで認められ、いずれも 50 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、増加傾向 (positive trend) が認められた (表 1)。雄マウスでは、15 mg/kg 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、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。発がんを指標とした FB1 の NOAEL は 15 mg/kg 飼料であった。

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

NTP 試験結果より(参照 1. NTP (2001) #103)

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 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
2 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
3 クの指標として Sa/So 比は適切ではないかもしれない、と考察している。ま
4 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
5 説明できないとしている(参照 1. NTP (2001) #103, 2. PC Howard, et al.
6 (2001) #188。

7
8 ② ラットを用いた 2 年間発がん性試験 (NTP)

9 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
10 >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
11 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
12 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
13 (0、0.31、0.91、3.0 又は 6.1 mg/kg 体重/日相当) であった。

14 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
15 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
16 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
17 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
18 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
19 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
20 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
21 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
22 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
23 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
24 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
25 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
26 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
27 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
28 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
29 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
30 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
31 (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
32 したFB1のNOAELは15 mg/kg 飼料であった。

33
34 FB1を投与した雄ラットでは、Sa/So比の上昇が示すように、明らかにセラ
35 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
36 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
37 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
38 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

1 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
 2 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
 3 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
 4 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
 5 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。
 6 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
 7 ない、としている(参照 1. NTP (2001) #103, 2. PC Howard, et al. (2001)
 8 #188, 3. GC Hard, et al. (2001) #187)。

9
 10 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

11 NTP 試験結果より(参照 1. NTP (2001) #103)

12
 13 ③ ラットを用いた2年間発がん性試験

14 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
 15 mg/kg 体重/日、JECFA換算)のFB1(純度>90%)を26か月間、混餌投与
 16 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
 17 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
 18 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
 19 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
 20 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
 21 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
 22 れた(参照 4. WC Gelderblom, et al. (1991) #179)。低用量のFB1を投与し
 23 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、

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.)。

10 又は 25 mg/kg 飼料 (0.03、0.3 又は 0.8 mg/kg 体重/日、JECFA 換算) の FB1 (純度>90%) を 24 か月間混餌投与した結果、腫瘍は認められなかった(参照 5. WC Gelderblom, et al. (2001) #186)。

④その他の試験

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 ラット (雄、一群 5 匹) に FB1 を含まない飼料又は 1000 mg/kg (100 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-グルタミルトランスぺプチターゼ (GGT) 陽性細胞巢の有意な増加が認められた。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 Gelderblom, et al. (1992) #193)。

F344 ラット (雄、一群 5 匹) に 0～750 mg/kg 飼料の FB1 を 14 又は 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) 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 GGT 陽性細胞巢が観察された。250 mg/kg 飼料 (14.7 mg/kg 体重/日相当) 以上の FB1 を 21 日間又は 500 mg/kg 飼料 (24 mg/kg 体重/日相当) 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 Gelderblom, et al. (1994) #191)。

更に、0、20、60、200、300 又は 500 mg/kg 体重の FB1 を F344 ラット (雄、一群 5～8 匹) に 14 日間経口投与 (0、1.4、4.2、11.4、21 又は 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 (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、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 Gelderblom, et al. (2001) #180)。

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 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
2 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
3 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
4 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
5 が認められた(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1988) #192)。

6 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
7 サミン（diethylnitrosamine：DEN）を腹腔内投与し、投与1週間日目から
8 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
9 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
10 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
11 が明らかに増加した(参照 10. WC Gelderblom, et al. (1996) #195)。
12
13

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 < 参照文献 >

- 2 1 NTP. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of
3 fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed
4 studies). Research Triangle Park, NC, USA, Department of Health and Human
5 Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National
6 Toxicology Program (NTP Technical Report 496; NIH Publication No. 01-
7 3955; http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr496.pdf). 2001; #103
- 8 2 P. C. Howard, R. M. Eppley, M. E. Stack, A. Warbritton, K. A. Voss, R. J.
9 Lorentzen, R. M. Kovach and T. J. Bucci. Fumonisin b1 carcinogenicity in a
10 two-year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. Environ Health
11 Perspect. 2001; 109 Suppl 2: 277-82 #188
- 12 3 G. C. Hard, P. C. Howard, R. M. Kovatch and T. J. Bucci. Rat kidney pathology
13 induced by chronic exposure to fumonisin B1 includes rare variants of renal
14 tubule tumor. Toxicol Pathol. 2001; 29: 379-86 #187
- 15 4 W. C. Gelderblom, N. P. Kriek, W. F. Marasas and P. G. Thiel. Toxicity and
16 carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1, in rats.
17 Carcinogenesis. 1991; 12: 1247-1251 #179
- 18 5 W. C. Gelderblom, S. Lebepe-Mazur, P. W. Snijman, S. Abel, S. Swanevelder, N.
19 P. Kriek and W. F. Marasas. Toxicological effects in rats chronically fed low
20 dietary levels of fumonisin B(1). Toxicology. 2001; 161: 39-51 #186
- 21 6 W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber. The cancer-
22 initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. Carcinogenesis. 1992; 13:
23 433-437 #193
- 24 7 W. C. Gelderblom, M. E. Cawood, S. D. Snyman and W. F. Marasas. Fumonisin
25 B1 dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. Carcinogenesis. 1994;
26 15: 209-214 #191
- 27 8 W. C. Gelderblom, D. Galendo, S. Abel, S. Swanevelder, W. F. Marasas and C. P.
28 Wild. Cancer initiation by fumonisin B(1) in rat liver--role of cell proliferation.
29 Cancer Lett. 2001; 169: 127-137 #180
- 30 9 W. C. Gelderblom, K. Jaskiewicz, W. F. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R.
31 Vleggaar and N. P. Kriek. Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting
32 activity produced by *Fusarium moniliforme*. Appl Environ Microbiol. 1988; 54:
33 1806-1811 #192
- 34 10 W. C. Gelderblom, S. D. Snyman, S. Lebepe-Mazur, L. van der Westhuizen, N.
35 P. Kriek and W. F. Marasas. The cancer-promoting potential of fumonisin B1 in
36 rat liver using diethylnitrosamine as a cancer initiator. Cancer Lett. 1996; 109:
37 101-108 #195
- 38

(4) 生殖・発生毒性

① FB1 を経口投与した生殖発生毒性試験

a. CD1 マウスに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験

CD1 マウス（雌、一群 4～17 匹）に *F. moniliforme* 培養抽出物から粗精製した FB1（純度 40%、FB2、FB3 等を含まない）を 0、12.5、25、50 又は 100 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7～15 日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。妊娠 18 日の各投与群の毒性所見を表 1 に示す。母動物において、50mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で死亡例がみられ、25 mg/kg 体重/日以上 of 群で体重増加抑制及び肝毒性所見（肝細胞肥大、肝細胞の核肥大、好塩基性細胞の増加、細胞増殖の亢進、肝細胞壊死の増加等）が用量依存的に認められた。胎児では、100 mg/kg 体重/日群で口蓋裂、骨格~~変異~~異常の増加がみられ、25 mg/kg 体重/日以上 of 群で吸収胚数増加、生存胎児数減少、低体重、水頭症及び骨化不全が用量依存的に認められた(参照 1. SM Gross, et al. (1994) #213)。

表 1 CD1 マウスで認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
100 mg/kg 体重/日	・ 死亡(2/9 例、22%)	・ 口蓋裂 (42%) ・ 骨格変異 (波状肋骨・肋骨短小) の増加
50 mg/kg 体重/日	・ 死亡(3/17 例、18%)	
25 mg/kg 体重/日以上	・ 体重増加抑制 ・ 腹水貯留 ・ 肝毒性 ・ 血漿中 ALT の有意な増加	・ 吸収胚数増加 ・ 生存胎児数減少 ・ 低体重 ・ 水頭症 (26～100%) ・ 骨化不全 (指骨及び胸骨)
12.5 mg/kg 体重/日	—	—

—：毒性所見なし

b. CD1 マウスに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験

CD1 マウス（雌、一群 12 匹、最高用量は 4 匹）に精製 FB1（純度 98%）を 0、12.5、25、50 又は 100 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7～15 日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。妊娠 18 日の各投与群の毒性所見を表 2 に示す。12.5 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で母動物の体重減少及び体重増加率の減少傾向がみられ、100 mg/kg 体重/日の FB1 投与群では、両者ともに有意に減少した。母動物の肝毒性について、ネクロシス、アポトーシス、細胞増殖の増加、好塩基性細胞及び細胞核の直径をスコア化した結果、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に用量依存的な肝毒性がみられた。血漿中 ALT はすべての FB1 投与群で用量依存的に増加し、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で有意であった。胎児に骨格異常、骨化不全等の異常はみられなかった。肝臓 Sa/So 比が、すべての群の母動物、並びに 50 mg/kg 体重/日の FB1 投与群及び対照群の胎児を用いて調べられた。母動物では、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群の Sa/So 比が対照群に比べて有意に増加したが、胎児では FB1 投与群と対照群の Sa/So 比に差は認められなかった。（参照 2. RV Reddy, et al. (1996) #207）。

表 2 CD1 マウスで認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
100 mg/kg 体重/日	・ 体重増加抑制 ・ 死亡（1/4 例）	・ 有意な生存数減少 ・ すべての胎児に水頭症
50 mg/kg 体重/日	・ 死亡（2/12 例）	
25 mg/kg 体重/日以上	・ 肝毒性 ・ 血漿中 ALT の有意な増加	・ 生存率及び体重に減少傾向 ・ 一腹当たり、1 匹以上の水頭症
12.5 mg/kg 体重/日	—	—

—：毒性所見なし

c. CD ラットに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験

CD ラット¹（雌、一群 5 匹）に、精製 FB1（純度 98%）を 0、1.875、3.75、7.5 又は 15 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 3～16 日に経口投与し、妊娠 20 日まで観察する発生毒性試験が実施された。15 mg/kg 体重/日の FB1 投与群の母動物に、摂餌量減少及び体重増加抑制が認められ、胎児では、雌の体重及び頭殿長が有意に減少した。更に、CD ラットに

¹ SD 系統ラット

FB1 を 0、6.25、12.5、25 又は 50 mg /kg 体重/日の用量で妊娠 3～16 日に経口投与（一群 29～30 匹）し、妊娠 17 日又は 20 日まで観察する発生毒性試験が実施された。50 mg/ kg 体重/日の FB1 投与群で、母動物に死亡（4/29 例）、摂餌量減少、消瘦等がみられた。病理学的検査の結果、25 mg/ kg 体重/日以上 of FB1 投与群で、母動物に肝毒性が認められた。妊娠率及び総着床数に変化はなかったが、50 mg/ kg 体重/日の FB1 投与群では、妊娠 20 日の生存胎児数が有意に減少し、胎児の体重及び頭殿長が有意に減少した。いずれの試験においても催奇形性は認められなかった。母動物の肝臓、腎臓及び血清中 Sa/So 比は妊娠 17 日において FB1 用量依存的に上昇したが、胎児の肝臓、腎臓及び脳では FB1 投与による Sa/So 比の変化はみられなかった。（参照 3. TF Collins, et al. (1998) #211, 4. TF Collins, et al. (1998) #212）。

d. SD ラットに培養物を混餌投与した生殖発生毒性試験

Sprague-Dawley ラット（雌雄、一群 5 匹）に、*F. moniliforme* 培養物を添加して 0、1、10、55 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を交配前、妊娠後、及び母動物の授乳期に給餌した。その結果、雄では 10 mg/kg 飼料以上の混餌投与群でクレアチニン濃度が有意に上昇し、雌では 55 mg/kg 飼料の混餌投与群で妊娠 15 日に血中コレステロール濃度及びクレアチニン濃度が有意に上昇し、雌雄ともに腎毒性が認められた。雌雄ともに交配率及び妊娠率に、FB1 を投与しない対照群と FB1 投与群に差はみられなかった。雄の精子検査及び精巣の病理学的検査の結果、対照群と FB1 投与群に差はみられなかった。10 mg/kg 濃度以上の FB1 混餌投与群で出生児の体重増加が減少傾向を示した。55 mg/kg 濃度の FB1 混餌投与群の妊娠 15 日の母動物の肝臓 Sa/So 比が FB1 を投与しない対照群に比べて有意に上昇したが、妊娠 15 日の胎児 Sa/So 比に違いは認められなかった。10 mg/kg 濃度の FB1 投与群で、分娩後 21 日目の母動物の肝臓 Sa/So 比及び分娩後 21 日目の出生児の肝臓 Sa/So 比は、対照群に比べて有意に高値であった。¹⁴C-FB1 を妊娠 15 日の母動物に静脈内投与し、1 時間後の分布を調べた結果、投与量の 98%が母動物の血液から消失し、胎児に ¹⁴C-FB1 は検出されなかった（参照 5. KA Voss, et al. (1996) #215）。

e. SD ラットに培養物を混餌投与した生殖発生毒性試験

Sprague-Dawley ラット（雌、一群 10 匹）に、妊娠 6～15 日まで *F. moniliforme* 培養物を添加して 150 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を給餌する FB1 投与群又は培養物を添加しない飼料を給餌する対照群において発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日の FB1 投与群の母動物の

1 体重及び摂餌量が対照群より減少し、死亡胚・死亡胎児数の増加、生存
2 胎児数の減少、胎児体重の減少及び骨化不全(頭蓋骨、胸骨分節、尾椎)
3 が認められた。母動物の肝臓 Sa/So 比は対照群に比べて FB1 投与群で
4 有意に高値であったが、胎児の肝臓 Sa/So 比は対照群に比べて FB1 投
5 与群で有意に低値であった。(参照 6. MA Abdel-Wahhab, et al. (2004)
6 #203)

8 ② FB1 を腹腔内投与した生殖発生毒性試験

10 a. LM/Bc マウスに FB1 を腹腔内投与した発生毒性試験

11 LM/Bc マウス(雌、一群 10 匹)に精製 FB1 を 0、5、10、15 又は 20
12 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7.5 日及び 8.5 日に腹腔内投与する発生毒
13 性試験が実施された。妊娠 17.5 日に、全ての FB1 投与群の胎児に、用
14 量依存的に外脳症を主とする神経管閉鎖障害(neural tube defect :
15 NTD)が認められた。20 mg/kg 体重/日の FB1 投与群では、一腹当
16 りの平均 NTD 発現率(NTD 胎児数/生存胎児数)が 79%であった。FB1
17 を投与しない対照群の胎児に NTD は認められなかった。同じ条件で
18 LM/Bc マウス(雌)に 20 mg/kg 体重/日の FB1 を腹腔内投与し、妊娠
19 10.5 日に母マウスの胎盤及び胎児の Sa 及び So 濃度を調べた結果、FB1
20 投与群の母マウス胎盤 Sa 濃度並びに胎児 Sa 及び So 濃度が FB1 を投
21 与しない対照群に比べて有意に低値であった(参照 7. J Gelineau-van
22 Waes, et al. (2005) #55)。

24 b. CD1 マウスに FB1 を腹腔内投与した発生毒性試験

25 CD1 マウス(雌、一群 8~10 匹)に精製 FB1 を 0、15、30 又は 45
26 mg/kg 体重/日(試験 1)並びに 0、10、23、45 又は 100 mg/kg 体重/
27 日(試験 2)の用量で妊娠 7 日及び 8 日に腹腔内投与する発生毒性試験
28 が実施された。これらの試験において、母動物の体重、黄体数及び着床
29 数に変化はみられなかった。試験 1 では 15 及び 45 mg/kg 体重/日の
30 FB1 投与群に、試験 2 では、すべての FB1 投与群の母動物に用量依存
31 的な外脳症を主とする NTD の胎児が認められた。試験 2 の結果、NTD
32 の胎児を有する母動物の割合は、0、10、23、45 又は 100 mg/kg 体重
33 /日の FB1 投与群でそれぞれ 0、8、17、36 又は 55%であった(参照 8.
34 KA Voss, et al. (2006) #209, 9. KA Voss, et al. (2006) #83)。

36 ③ その他の生殖毒性試験

38 a. ウサギを用いた生殖発生毒性試験

New Zealand White(NZW)ウサギ（妊娠雌、一群 5～10 匹）に、精製 FB1（純度 92.3%）を 0、0.25、0.50、1.00、1.25 又は 1.75 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3～19 日に強制経口投与する予備試験が実施された。妊娠 11～22 日の間にそれぞれの FB1 投与群で 1、0、2、4 又は 2 匹の母動物が死亡した。死亡した母動物の肝臓及び腎臓にアポトーシスを含む変性が認められた。妊娠 12 日目に死亡した 1.75 mg/kg 体重/日投与群の母ウサギの海馬に中程度の白質脳軟化、多発性局所性血管周囲性出血及び浮腫が認められた。妊娠 20 日目にそれぞれの投与群の 3 匹ずつを用いて、母ウサギの血液、尿、腎臓、肝臓及び脳並びに胎児の腎臓、肝臓及び脳を採取し、Sa 及び So 濃度が調べられた。母ウサギの血液及び尿で Sa/So 比が投与量依存的に上昇した。Sa/So 比の上昇は、肝臓及び腎臓でもみられたが、脳では認められなかった。胎児の腎臓、肝臓及び脳の Sa/So 比に変化はみられなかった。胎児への毒性影響は認められなかった。NZW ウサギ（妊娠雌、一群 22～26 匹）に、精製 FB1（純度 92.3%）を 0、0.10、0.50、1.00 又は 1.00 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3～19 日に強制経口投与する発生毒性試験が本試験として実施された。0.5 及び 1.0 mg/kg 体重の FB1 投与群でそれぞれ 23 匹中 2（8.7%）及び 26 匹中 5 匹（19.2%）の母ウサギが死亡した。妊娠 29 日目に胎児を調べた結果、着床数、生存胎児数並びに骨格及び内臓検査に用量依存的な変化はみられなかった。0.50 mg/kg 体重/日以上投与群で胎児の体重が、雌雄ともに FB1 を投与しない対照群に比べて有意に減少した。0.1 mg/kg 体重/日以上投与群で雄胎児の腎臓絶対重量が有意に減少したが、相対重量に有意差は認められなかった。著者らは、FB1 は胎盤を通過せず、胎児の体重減少は、母ウサギへの FB1 の毒性を介した二次的な影響と考えた。（参照 10. JB LaBorde, et al. (1997) #214, 11. TJ Bucci, et al. (1996) #135）

b. ウサギを用いた生殖毒性試験

異種交配（NZW×Chinchilla）の雄ウサギ（一群 12 匹）に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 5、7.5、10 mg/kg の FB1 含む飼料を 25 週間給餌した。対照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.13 mg/kg 飼料であった。最終週に雌ウサギと交尾させ、受精率を調べた結果、7.5 mg/kg 濃度以上の FB1 混餌投与群の雄ウサギで、性成熟は 9～12 日間遅延した。性成熟時の体重、精子濃度及び 1 射精当たりの精子数に、FB1 投与による影響は認められなかった。精子の運動能（turbulence motion/wave）、運動精子率（sperm motility）、生存精子数は、すべての FB1 投与群で濃度依存的に減少した。精子形態の異常は、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で最も多かった。受胎率及び一腹あ

1 たちの胎児数に影響はみられなかった。7.5 mg/kg 飼料以上の FB1 混
2 餌投与群の胎児死亡率が有意に増加した。FB1 を投与した雄に、性成熟
3 の遅れ、精子検査結果に影響がみられたことから、著者らは、飼料中 FB1
4 濃度の LOAEL を 7.5 mg/kg と考えた(参照 12. EO Ewuola, et al.
5 (2010) #204)。

6 7 c. ウサギを用いた生殖毒性試験

8 上記と同じ用量で、28 週間培養物添加又は無添加飼料を雄ウサギに
9 給餌した試験では、7.5 mg/kg 飼料の FB1 投与群の精巣重量が対照群
10 より有意に増加したが、用量依存性はなかった。精巣中及び精巣上体中
11 の貯留精子数は、すべての FB1 投与群で用量依存的に減少した。1 日
12 当たりの精子生産能は、FB1 用量依存的に低下し、5、7.5、10 mg/kg
13 の FB1 混餌投与群で、それぞれ FB1 を投与しない対照群に比べて 67、
14 59 及び 36%であった(参照 13. EO Ewuola, et al. (2010) #205)。

15 雑種成熟ウサギ(雌、一 群 8 匹、1.65~2 kg)に、飼料中のフモニシ
16 ン濃度を、*F. verticillioides* 培養物を用いて、0、5、10 mg/kg 飼料の
17 フモニシンを混餌投与した。ウサギは 2 週間混餌投与した後、交配し、
18 交配後も 4 週間フモニシンを混餌投与した。5 mg/kg 飼料以上のフモ
19 ニシン投与群で体重が有意に減少した。飼料の乾燥物摂取量もフモニシ
20 ン投与群で有意に減少し、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群の乾燥物摂取量
21 は、FB1 を投与しない対照群の 50%であった。給餌 6 週間目に、実施
22 された血液検査及び血液生化学検査の結果、妊娠雌では、5 mg/kg 飼料
23 以上の FB1 投与群でヘモグロビンの有意な減少、白血球数の有意な増
24 加、総タンパク質の有意な増加、ALT 及び AST 活性の有意な低下並び
25 に 10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で、ヘマトクリット値の有意な減少、
26 赤血球数の有意な減少、ALP 活性の有意な増加が認められた。5 mg/kg
27 の濃度のフモニシンを含む飼料は、妊娠時の血液及び血清の生化学的変
28 化を誘導し、胎児の適切な発育と発生に負の影響を及ぼす可能性がある
29 と著者らは考察した(参照 14. F Gbore, et al. (2010) #154)。

30 31 d. ブタを用いた生殖毒性試験

32 離乳雄ブタ(ラージホワイ特)に、*F. verticillioides* 培養物を添加し
33 て 5.0、10.0 及び 15.0 mg/kg の FB1 を含む飼料を 6 ヶ月間給餌した。
34 対照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼
35 料であった。5 mg/kg 以上の FB1 投与群で、精巣及び精巣上体中の精
36 子数及び 1 日当たりの精子生産量が対照群に比べて有意に低下した。
37 10 mg/kg 以上の FB1 混餌投与群では、精子数が対照群の 70%まで低
38 下した。(参照 15. FA Gbore, et al. (2008) #134)。

e. ブタを用いた生殖毒性試験

離乳雄ブタ（ラージホワイット、一群 6 匹）に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 5、10、15 mg/kg の FB1 を含む飼料を、6 ヶ月間混餌投与した。対照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼料であった。精巣及び精巣上体相対重量と精巣容積に影響はなかった。精液容量の変化及び精子の形態学的異常は認められなかった。1 射精当たりの精子濃度、総精子数、運動精子数は、すべての FB1 投与群で用量依存的に減少し、15 mg/kg の FB1 混餌投与群において、それぞれ対照群に比べて 83.3、79.1 及び 59.6%と低下した。(参照 16. FA Gbore (2009) #152)。

④ *in vitro* 試験

胎児への FB1 の影響を調べる目的で、*in vitro* で ICR マウスの妊娠 9 日胚を用いて全胚培養した（膣栓確認日＝妊娠 1 日）。葉酸添加又は無添加の条件下で、体節 4～5 のマウス胚（一群 10～36 胚）に精製 FB1 を 0～100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で 26 時間ばく露させた。その結果、葉酸添加の有無に関わらず、FB1 を含まない対照培地における胚の発育は正常で、形態異常も認められなかったが、FB1 ばく露により全ての投与群で発育遅延が認められた。2、3.5、25、50 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ (1.4、2.52、18.0、36.1 又は 72.2 mg/L) 以上の FB1 投与群でそれぞれ 10、26、25、7 又は 48%の胚に外脳症を主とする NTD がみられ、3.5 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 濃度以上で対照群に比べて有意であった。2、25、50 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 とともに葉酸を添加すると、NTD の発現率は、それぞれ 10、9、8 又は 14%であり、25 $\mu\text{mol/L}$ 以上の FB1 投与群で NTD 発現率が有意に低下した(参照 17. TW Sadler, et al. (2002) #208)。

また、体節 3～4 のマウス胚を、葉酸添加又は無添加の条件下で 50 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 2 時間ばく露させた後、FB1 を含まない葉酸添加又は無添加の培地で 24 時間培養すると、葉酸無添加群では 67%に NTD 及び 83%に顔面の形成不全がみられたが、葉酸添加によりこれらの発現頻度は有意に低下した(参照 17. TW Sadler, et al. (2002) #208)。

雌ブタの卵巣の卵胞から顆粒膜細胞を採取し、2 日間培養後、1 日又は 2 日間 FB1 を添加した無血清培地で培養した。卵胞刺激ホルモンとインシュリン様成長因子 1 (IGF-1) の存在下で、FB1 を 14 $\mu\text{mol/L}$ 添加すると、細胞増殖が有意に阻害され、プロジェステロン産生が有意に増加したが、エストラジオール産生に影響はなかった。著者らは、顆粒膜細胞の増殖抑制及びステロイド産生促進といった FB1 の作用が、

1 ブタの生殖に影響する可能性があると考えた(参照 18. C Cortinovis,
2 et al. (2014) #219)。

3 雄馬から採取した精液に精製 FB1 をばく露してその影響が調べられ
4 た。新鮮精子を $2.5 \times 10^{-5} \sim 25 \mu\text{mol/L}$ の FB1 に 2 時間ばく露した結果、
5 精子の生存率に影響はなかった。7.5 及び 15 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 ばく露で
6 総運動精子率及び前進運動精子率が低下した。(参照 19. F Minervini,
7 et al. (2010) #221)。

8

表 5 フモニシンの生殖発生毒性試験結果

表 5-1 精製フモニシン（経口投与）

中綱目	動物種等	化合物	用量	投与経路、期間	影響	参考文献
①a.	妊娠 CD1 マウス（一群 4~17 匹）	<i>F. moniliforme</i> 培養物を粗精製した FB1（純度 40%、他のフモニシン等は含まず）	0、12.5、25、50、100 mg/kg 体重/日	強制経口投与、妊娠 7~15 日	妊娠 18 日に検査したところ、 ・ 50 mg/kg 体重/日以上で母動物に死亡例 ・ 25 mg/kg 体重/日以上で母動物に用量依存的に体重増加抑制、肝毒性所見 ・ 25 mg/kg 体重/日以上で胎児に用量依存的に吸収胚数増加、生存胎児数減少、低体重、水頭症（26~100%）、骨化不全（指骨及び胸骨） ・ 100 mg/kg 体重/日で胎児に口蓋裂（42%）	（参 照 1. SM Gross, et al. (1994) #213）
①b.	妊娠 CD1 マウス（一群 12 匹、最高用量は 4 匹）	精製 FB1（純度 98%）	0、12.5、25、50、100 mg/kg 体重/日	強制経口投与、妊娠 7~15 日	妊娠 18 日に検査したところ、 ・ 100 mg/kg 体重/日で胎児の生存数減少 ・ 50 mg/kg 体重/日以上で母動物に死亡例 ・ 25 mg/kg 体重/日以上で胎児に水頭症 ・ 25 mg/kg 体重/日以上で母動物に肝毒性	（参 照 2. RV Reddy, et al. (1996) #207）
①c.	妊 娠 CRL:CD-BR 系統ラット	精製 FB1（純度 98%）	0、6.25、12.5、25、50 mg/kg 体重/日	強制経口投与、妊娠 3~16 日	妊娠 17 及び 20 日に、母動物及び胎児を検査したところ、 ・ 50 mg/kg 体重/日で母動物に死亡例、摂餌量減少、消瘦等 ・ 50 mg/kg 体重/日で胎児の生存数減少、体重減少、頭殿長減少 ・ 25 mg/kg 体重/日以上で母動物に肝毒性 ・ 妊娠したラットの比率、総着床数に変化なし ・ 催奇形性はみられなかった ・ 17 日目に、母動物で用量依存的に肝臓、腎臓、血清中、脳の Sa/So 比上昇（胎児では影響なし）	（参 照 4. TF Collins, et al. (1998) #212）
	妊 娠 CRL:CD-BR 系統ラット	精製 FB1（純度 98%）	0、1.875、3.75、7.5、15 mg/kg 体重/日	強制経口投与、妊娠 3~16 日	妊娠 17 及び 20 日に、母動物及び胎児を検査したところ、 ・ 15mg/kg 体重/日で母動物の摂餌量減少、体重増加抑制 ・ 15 mg/kg 体重/日で雌の胎児で体重減少、頭殿長減少 ・ 催奇形性は認められなかった ・ 母動物の肝臓、腎臓、血清における Sa/So 比は用量依存的に上昇 ・ 母動物の脳、胎児の肝臓、腎、脳においては Sa/So 比に影響なし	（参 照 3. TF Collins, et al. (1998) #211）
①d.	雌雄 SD ラット	<i>F.moniliforme</i> 培養物	FB1 濃度として 0、1、10、55 mg/kg を含む飼料	混餌投与、交尾前、妊娠後、泌乳期	・ 雄では 10 ppm 以上で、雌では 55 ppm で腎毒性 ・ 雌雄ともに繁殖への影響なし ・ 10 ppm、55 ppm で子の体重増加が減少傾向 ・ 55 ppm の妊娠 15 日目、10ppm の出産 21 日目で、母動物の肝臓 Sa/So 比増加 ・ 55 ppm の妊娠 15 日目、胎児の Sa/So 比は影響なし ・ 10ppm の妊娠 21 日目、胎児の肝臓 Sa/So 比上昇	（参照 5. KA Voss, et al. (1996) #215）
①e.	妊娠 SD ラット	<i>F.moniliforme</i> 培養物	150 mg/kg を含む飼料	混餌投与、妊娠 6~15 日目	・ 妊娠 20 日の母動物の体重減少、摂餌量減少、死亡胚・死亡胎児数の増加、生存胎児数の減少 ・ 妊娠 20 日の胎児の体重減少、骨化不全 ・ 母動物及び胎児の肝臓 Sa/So 比上昇	（参 照 6. MA Abdel-Wahhab, et al. (2004) #203）

表 5-2 精製フモニシン（腹腔内投与）

中綱目	動物種等	化合物	用量	投与経路、期間	影響	参考文献
②a.	近親交配により妊娠させた LM/Bc マウス(一群 10 匹)	精製 FB1	0、5、10、15、20 mg/kg 体重/日	腹腔内投与、妊娠 7.5 日及び 8.5 日	腹腔内投与動物について妊娠 17.5 日に胎児を検査したところ、 ・ 全ての投与群の胎児に NTD ・ NTD 発生率：一腹当たり平均 79% ・ 20 mg/kg 体重/日の妊娠 10.5 日の胎盤 Sa 濃度、胎児の Sa 及び So 濃度増加	(参照 7. J Gelineau-van Waes, et al. (2005) #55)
②b.	雌 CD1 マウス	精製 FB1	(試験 1) 0、15、30 又は 45 mg/kg 体重/日	腹腔内投与、妊娠 7 及び 8 日	・ 母動物の体重、黄体数、着床数に変化なし ・ 15 mg/kg 体重/日、45 mg/kg 体重/日の胎児で用量依存的な NTD	(参照 9. KA Voss, et al. (2006) #83)
			(試験 2) 0、10、23、45 又は 100 mg/kg 体重/日		・ 母動物の体重、黄体数、着床数に変化なし ・ 全ての投与群の胎児に用量依存的な NTD ・ NTD 胎児を有する母動物の割合：10 mg/kg 体重/日投与群で 10%、100 mg/kg 体重/日投与群で 55%、	(参照 8. KA Voss, et al. (2006) #209)

表 5-3 その他の生殖毒性試験

中綱目	動物種等	化合物	用量	投与経路、期間	影響	参考文献
③a.	異種交配(NZW × Chinchilla)雄ウサギ	<i>F.verticillioides</i> 培養物	FB1 が 0.13(対照)、5、7.5、10 mg/kg 飼料	混餌投与、交尾前 175 日間、最終週に雌ウサギと交尾	・ 7.5 及び 10 mg/kg 飼料の性成熟は 9～12 日間遅延 ・ 精子の活動性、運動能、生存精子数は濃度依存的に減少 ・ 10 mg/kg 飼料で精子形成の異常が最多 ・ 7.5 及び 10 mg/kg 飼料で胎児死亡率増加、精巣検査値に影響	(参照 12. EO Ewuola, et al. (2010) #204)
③b.	異種交配(NZW × Chinchilla)雄ウサギ	<i>F.verticillioides</i> 培養物	FB1 が 0.13(対照)、5、7.5、10 mg/kg 飼料	混餌投与、28 週間	・ 7.5 mg/kg 飼料で精巣重量増加 ・ 精巣中及び精巣上体中の精子貯留数は濃度依存的に減少 ・ 1 日当たりの精子生産能は用量依存的に低下 精子生産能：5、7.5、10 mg/kg 飼料で、それぞれ 67、59、36%	(参照 13. EO Ewuola, et al. (2010) #205)
	雑種雌ウサギ	<i>F.verticillioides</i> 培養物	FB1 が 0(対照)、5、10 mg/kg 飼料	混餌投与、2 週間	・ 5 mg/kg 飼料以上で体重減少 ・ 給餌 6 週目に、妊娠雌で有意な血液検査及び血液生化学検査結果の変化	(参照 14. F Gbore, et al. (2010) #154)
③c.	離乳雄ブタ(ラージホホワイト)	FB1	0.2(対照)、5.0、10.0 及び 15.0 mg/kg の濃度で含まれる(ELISA で測定)飼料	混餌投与、6 ヶ月間	・ 5 mg/kg 以上の投与群で、精巣及び精巣上体の精子数と 1 日当たりの精子生産量が低下 ・ 10 mg/kg 以上の投与群で、精子貯留が 70%まで低下	(参照 15. FA Gbore, et al. (2008) #134)
③d.	雄性離乳ブタ(ラージホホワイト)	<i>F.verticillioides</i> 培養物から調製された FB1	0.2(対照)、5、10、15 mg/kg 含む(ELISA で測定)飼料	混餌投与、6 ヶ月間	・ 精子量と精子の形態学的異常以外の精液の品質が濃度依存的に低下 ・ 1 射精当たりの精子濃度、総精子数、運動精子数が用量依存的に減少 (15 mg/kg 投与群で、それぞれ 83.3、79.1 及び 59.6%に減少)	参照 13. FA Gbore (2009) #152)

表 5-4 *in vitro* 試験

中綱目	動物種等	化合物	用量	投与経路、期間	影響	参考文献
④	ICR マウスの胚(妊娠 9 日目、体節 4～5 及び体節 3～4)、	精製 FB1	0、1、2、3、5、7、15、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ (体節 4～5)、50 $\mu\text{mol/L}$ (体節 3～4)	胚の <i>in vitro</i> 培養に、長時間ばく露として 26 時間添加(体節 4～5)又は短期間ばく露として 2 時間添加(体節 3～4、)後、葉酸の有無において FB1 不含培地で 24 時間培養	・ 葉酸添加の有無に関わらず、対照培地における胚成育は正常 ・ 長時間ばく露の 2 $\mu\text{mol/L}$ 以上で用量依存的に NTD 及び成育遅延 ・ 短期ばく露では、NTD(67%)、顔面欠陥(83%)、成育遅延	(参照 17. TW Sadler, et al. (2002) #208)
④	安楽殺雌ブタの卵巣	精製 FB1	0、0.01、0.4、14 $\mu\text{mol/L}$	顆粒膜細胞を採取し、血清加培地で 2 日間培養後、1 又は 2 日間血清非添加培地で FB1 を添加して培養	卵胞刺激ホルモン(FSH)とインシュリン様成長因子 1 (IGF-1) の存在下で、FB1 の 14 $\mu\text{mol/L}$ の添加で細胞増殖が有意に阻害され、プロジェステロン産生が有意に増加したもののエストラジオール産生に影響なし	(参照 18. C Cortinovis, et al. (2014) #219)
④	2 頭の雄馬から採取した精液	精製 FB1	$2.5 \times 10^{-7} \sim 25 \mu\text{mol/L}$	・ 120 分間ばく露後、フローサイトメトリー(FC)による生存率解析 ・ 120 分間ばく露後、FC によるクロマチン構造の安定性(SCSA)解析、ばく露後 30 及び 60 分の活性酸素(ROS)生産解析 ・ 30 分間、60 分間又は 120 分間ばく露後、精子運動解析システムによる運動率解析	・ 新鮮精子の生存率に影響なし ・ 7.5$\mu\text{mol/L}$、15 $\mu\text{mol/L}$ では総運動精子率、前進運動精子率が減少	(参照 19. F Minervini, et al. (2010) #221)

＜参考文献＞

- 1 S. M. Gross, R. V. Reddy, G. E. Rottinghaus, G. Johnson and C. S. Reddy. Developmental
- 2 effects of fumonisin B1-containing *Fusarium moniliforme* culture extract in CD1 mice.
- 3 *Mycopathologia*. 1994; 128: 111-8 #213
- 4 1 R. V. Reddy, G. Johnson, G. E. Rottinghaus, S. W. Casteel and C. S. Reddy. Developmental
- 5 effects of fumonisin B1 in mice. *Mycopathologia*. 1996; 134: 161-166 #207
- 6 2 T. F. Collins, M. E. Shackelford, R. L. Sprando, T. N. Black, J. B. Laborde, D. K. Hansen, R.
- 7 M. Eppley, M. W. Trucksess, P. C. Howard, M. A. Bryant, D. I. Ruggles, N. Olejnik and J. I.
- 8 Rorie. Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. *Food Chem Toxicol*. 1998; 36: 397-408 #211
- 9 3 T. F. Collins, R. L. Sprando, T. N. Black, M. E. Shackelford, J. B. Laborde, D. K. Hansen, R.
- 10 M. Eppley, M. W. Trucksess, P. C. Howard, M. A. Bryant, D. I. Ruggles, N. Olejnik and J. I.
- 11 Rorie. Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. Part 2. *Food Chem Toxicol*. 1998; 36: 673-
- 12 4 685 #212
- 13 K. A. Voss, C. W. Bacon, W. P. Norred, R. E. Chapin, W. J. Chamberlain, R. D. Plattner and
- 14 F. I. Meredith. Studies on the reproductive effects of *Fusarium moniliforme* culture material
- 15 in rats and the biodistribution of [¹⁴C] fumonisin B1 in pregnant rats. *Nat Toxins*. 1996; 4:
- 16 5 24-33 #215
- 17 M. A. Abdel-Wahhab, A. M. Hassan, H. A. Amer and K. M. Naguib. Prevention of fumonisin-
- 18 induced maternal and developmental toxicity in rats by certain plant extracts. *J Appl*
- 19 *Toxicol*. 2004; 24: 469-474 #203
- 20 6 J. Gelineau-van Waes, L. Starr, J. Maddox, F. Aleman, K. A. Voss, J. Wilberding and R. T.
- 21 Riley. Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: mechanisms in an in
- 22 vivo mouse model. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2005; 73: 487-497 #55
- 23 7 K. A. Voss, R. T. Riley and J. Gelineau-van Waes. Fetotoxicity and neural tube defects in
- 24 CD1 mice exposed to the mycotoxin fumonisin B1. *JSM Mycotoxins*. 2006; 2006: 67-72 #209
- 25 8 K. A. Voss, J. B. Gelineau-van Waes and R. T. Riley. Fumonisin: current research trends
- 26 in developmental toxicology. *Mycotoxin Res*. 2006; 22: 61-69 #83
- 27 9 J. B. LaBorde, K. K. Terry, P. C. Howard, J. J. Chen, T. F. Collins, M. E. Shackelford and D.
- 28 K. Hansen. Lack of embryotoxicity of fumonisin B1 in New Zealand white rabbits. *Fundam*
- 29 *Appl Toxicol*. 1997; 40: 120-128 #214
- 30 10 T. J. Bucci, D. K. Hansen and J. B. LaBorde. Leukoencephalomalacia and hemorrhage in
- 31 the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1. *Nat Toxins*. 1996; 4: 51-2 #135
- 32 11 E. O. Ewuola and G. N. Egbunike. Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty,
- 33 semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reproduction*.
- 34 2010; 139: 439-445 #204
- 35 12 E. O. Ewuola and G. N. Egbunike. Gonadal and extra-gonadal sperm reserves and sperm
- 36
- 37
- 38 13

- 1 production of pubertal rabbits fed dietary fumonisin B1. Anim Reprod Sci. 2010; 119: 282-
2 286 #205
- 3 14 F. Gbore and O. Akele. Growth performance, haematology and serum biochemistry of
4 female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) fed dietary fumonisin. Veterinary Archives. 2010;
5 80: 431–443 #154
- 6 15 F. A. Gbore and G. N. Egbunike. Testicular and epididymal sperm reserves and sperm
7 production of pubertal boars fed dietary fumonisin B(1). Anim Reprod Sci. 2008; 105: 392-
8 397 #134
- 9 16 F. A. Gbore. Reproductive organ weights and semen quality of pubertal boars fed dietary
10 fumonisin B1. Animal. 2009; 3: 1133-1137 #152
- 11 17 T. W. Sadler, A. H. Merrill, V. L. Stevens, M. C. Sullards, E. Wang and P. Wang. Prevention
12 of fumonisin B1-induced neural tube defects by folic acid. Teratology. 2002; 66: 169-76 #208
- 13 18 C. Cortinovis, F. Caloni, N. B. Schreiber and L. J. Spicer. Effects of fumonisin B1 alone and
14 combined with deoxynivalenol or zearalenone on porcine granulosa cell proliferation and
15 steroid production. Theriogenology. 2014; 81: 1042-1049 #219
- 16 19 F. Minervini, G. M. Lacalandra, A. Filannino, A. Garbetta, M. Nicassio, M. E. Dell'aquila
17 and A. Visconti. Toxic effects induced by mycotoxin fumonisin B1 on equine spermatozoa:
18 assessment of viability, sperm chromatin structure stability, ROS production and motility.
19 Toxicol In Vitro. 2010; 24: 2072-2078 #221
20

1 (5) 遺伝毒性

2 ① *in vitro* 試験

3 a. 細菌を用いた復帰突然変異試験

4 FB1、FB2 及び FB3 は、*Salmonella* Typhimurium TA97a 株、TA98
5 株、TA100 株、TA102 株、TA1535 株又は TA1537 株を用いた復帰突然変
6 異試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、試験結果は陰性であっ
7 た(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229, 2. DL Park, et al. (1992)
8 #232, 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 4. M Aranda, et al. (2000)
9 #366, 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)。

10
11 b. 細菌を用いた DNA 損傷、修復試験

12 大腸菌を用いた FB1 の SOS 試験及び DNA 修復試験結果は、代謝活性
13 化の有無にかかわらず陰性であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997)
14 #230)。

15
16 c. 哺乳類細胞を用いた染色体異常試験

17 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の染色体異常試験及びヒ
18 ト末梢血リンパ球を用いた FB1 の染色体異常試験の結果は、いずれも陽
19 性であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 6. D Lerda, et al.
20 (2005) #226)。

21 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB2 及び FB3 の染色体異常試験の結果
22 は、陰性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)。

23
24 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の小核試験の結果は、陰性
25 であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)。一方、ブタ PK15 細
26 胞(ブタ腎臓上皮細胞由来細胞株)、ヒト Hep G2 細胞(ヒト肝臓がん由来
27 細胞株)又はヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の小核試験の結果は、いず
28 れも陽性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et
29 al. (2005) #226, 7. MS Segvic-Klaric, et al. (2008) #86)。

30 ヒト末梢リンパ球細胞を用いた FB2 及び FB3 の小核試験の結果は、陰
31 性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et al.
32 (2005) #226)。

33
34 d. 哺乳類細胞を用いた姉妹染色单体交換試験

35 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の姉妹染色单体交換試験の結果は、
36 陽性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)

e. 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験

ラット初代培養肝細胞を用いた FB1 の不定期 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 8. WP Norred, et al. (1992) #231, 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。ラット初代培養肝細胞を用いた FB2 の不定期 DNA 合成試験の結果も陰性であった(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)

Hep G2 細胞を用いたコメットアッセイの結果は陽性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)。

② *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、投与 30 時間目に採取した骨髓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が、用量依存性は認められなかった。著者らはこの小核の誘発は間接的影響によるものと考察している。(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)。

雌雄 BALB/c マウスに精製 FB1 を 0.1、1.0 又は 10 mg/kg 体重/回の用量で単回又は 24 時間毎に計 3 回腹腔内投与し、骨髓細胞を用いた小核試験の結果は陰性であった。正染色赤血球 (NCE) に対する多染色赤血球 (PCE) の比 (PCE/NCE) は、単回 FB1 投与群では変化がなかったが、3 回の FB1 投与では、すべての用量で FB1 を投与しない対照群と比べると有意に低下し、細胞毒性を示していた。(参照 10. R Karuna, et al. (2013) #233)。

雄性 F344 ラットに、精製 FB1 又は FB2 (純度 90~95%) を 100 mg/kg 体重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た(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。

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/日の用量で FB1 を腹腔内投与して小核試験及びコメットアッセイが実施された。末梢血を用いた小核試験の結果は陰性であった。コメットアッセイの結果、腎臓では 2 日間及び 7 日間投与群、肝臓では 7 日間投与群において、FB1 を投与しない対照群に比べて有意な DNA 損傷の増加が認められた(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)。

雄性 Wistar ラットに、精製 FB1 (純度 98%) を 5、50 又は 500 µg/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 4、24 又は 48 時間目に安楽殺し、肝臓を用いたコメットアッセイが実施された。すべての投与群で用量及び時間依存的な DNA 損傷が認められた(参照 12. A Domijan, et al. (2008) #127)。

しかしながら、上記の Domijan らのコメットアッセイの結果は、DNA

1 損傷よりも、アポトーシスによる 2 次的な影響と考えられる。

2
3 ③その他の試験

4 FB1 とオリゴヌクレオチドをインキュベーションし、エレクトロスプ
5 レーイオン化質量分析 (ESI-MS) で分析した結果、DNA 付加体形成は認
6 められなかった(参照 13. G Pocsfalvi, et al. (2000) #451)

7 BALB/3T3 細胞 (マウス胎児繊維芽細胞由来細胞株) を 10~1000 μ
8 g/mL の FB1 にばく露させ、細胞形質転換試験が実施された。FB1 の濃度
9 依存性は認められなかった(参照 14. CW Sheu, et al. (1996) #200)。

10 v-Ha-ras 遺伝子を導入した BALB/3T3 細胞 (Bhas 42 細胞) を 0.1~
11 10 μ g/mL の FB1 又は FB2 にばく露させ、フォーカス形成により FB1 及
12 び FB2 のイニシエーション作用及びプロモーション作用が調べられた。
13 FB1 にプロモーション作用が認められたが、イニシエーション作用は認め
14 られなかった(参照 15. A Sakai, et al. (2007) #184)。

15
16 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果を表 6 に、*in vivo* 遺伝毒性試
17 験結果を表 7 にまとめた。

表 6 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表 6-1 細菌を用いた復帰突然変異試験結果

試験	生物種	被験物質	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	TA100	FB1、	0、0.2、0.5、1、5、10 mg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1991	(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229)
	TA102	FB2			—	—		
	TA97a	又は			—	—		
	TA98	FB3			—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.01、0.05、0.1、0.5、5、10、25、50、100 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1992	(参照 2. DL Park, et al. (1992) #232)
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、10、20、50、114 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
	TA102				—	—		
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、25、50、100、200 µg/g	Hep G2 細胞より調整した S9 mix	n.d.	—	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
	TA102				n.d.	—		
	TA98				n.d.	—		
	TA1535				n.d.	—		
	TA1537				n.d.	—		
	TA98				—	—		

+ : 陽性、— : 陰性、n.d. : データなし

表 6-2 細菌を用いた DNA 損傷及び修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	代謝活性化			年	参考文献
				活性化に用いた物質	無	有		
SOS 試験	<i>E. coli</i> PQ37	FB1	0、5、16、50、166、500 µg/アッセイ	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
DNA 修復試験	<i>E. coli</i> K-12	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/ml	ラット肝臓 S9 mix	—	—		

1 表 6-3 ほ乳類由来細胞を用いた染色体異常試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果	備考	年	参考文献
染色体異常	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.01、0.1、 1、10、100 μg/ml	+	・ 1 μg/ml 以上の濃度 で陽性	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
染色体異常	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	+	・ 10 μg/g の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	—			
		FB3	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	—			
小核試験	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.010、 0.100、1.000、 10.000、 100.000 μg/ml	—	・ 用量依存 性なし	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
小核試験	ヒト肝臓がん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、 50、100、200 μg/ml、24 時間 培養	+	・ 25 μg/ml 以上の濃度 で、小核を 有する細胞 数の用量依 存的な増加	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
小核試験	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	+	・ 5 μg/g 以 上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	—			
		FB3	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	—			
小核試験	ブタ腎臓由来 PK15 細胞	FB1	0、0.05、0.5、 5 μg/ml、24 又 は 48 時間培養	+	・ 小核を有 する細胞数 の用量依存 的な増加、5 μg/ml で有 意な増加	2008	(参照 7. MS Segvic- Klaric, et al. (2008) #86)

2 + : 陽性、— : 陰性

1 表 6-4 哺乳類細胞を用いた姉妹染色分体交換試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
姉妹染色分体交換試験	ヒト末梢血リンパ球	FB1	0、1、2、5、10 µg/g	+	・5 µg/g 以上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、10 µg/g	—			
		FB3	0、1、2、5、10 µg/g	—			

2 ※ 代謝活性化は見えていない。

3

4 表 6-5 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.5、2.5、5.0、25.0、50.0、250.0 µM、18 時間培養	—		1992	(参照 8. WP Norred, et al. (1992) #231)
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0.04～80 µM/plate、18 時間培養	—		1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	0.04～40 µM/plate、18 時間培養	—			
DNA 損傷(コメットアッセイ)	ヒト肝臓がん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、50、100、200 µg/ml、24 時間培養	+	・25 µg/ml 以上の濃度で陽性	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)

5 + : 陽性、— : 陰性、※ : いずれも代謝活性化は見えていない。

6

1

表 7 フモニシンの *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度、投与方法、期間	結果	備考	年	参照文献
小核試験	CF1 マウス、雄	FB1	25、100 mg/kg 体重、腹腔内投与、投与 30 時間目に安楽殺	+	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度の増加 ・ 25 mg/kg 体重投与群における影響が大きく、用量依存性なし	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
小核試験	BALB/c マウス、雌雄	FB1	0.1、1.0、10 mg/kg 体重、腹腔内単回投与、投与 24 時間目に安楽殺	—	・小核を有する骨髄細胞の発生頻度及び PCE/NEC に変化なし	2013	(参照 10. R Karuna, et al. (2013) #233)
			0.1、1.0、10 mg/kg 体重、24 時間ごとに 3 回、腹腔内投与、投与開始 72 時間目に安楽殺	—	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度に変化なし ・骨髄細胞の PCE/NCE が有意に減少。細胞毒性あり		
小核試験	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	—			(参照 16. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	—			
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット、雄	FB1	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13～14 時間目に安楽殺	—	・肝臓で DNA 修復を誘導せず	1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13～14 時間目に安楽殺	—			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・腎臓で DNA 損傷	2007	(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・肝臓及び腎臓での DNA 損傷		
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	5、50、500 µg/kg 体重、強制単回経口投与、投与 4、24 又は 48 時間目に安楽殺	+	・肝臓で FB1 投与量及び時間依存的な DNA 損傷	2008	(参照 12. A Domijan, et al. (2008) #127)

2

+ : 陽性、— : 陰性

1 < 参考文献 >

- 2
- 3 1 W. C. Gelderblom and S. D. Snyman. Mutagenicity of potentially carcinogenic
4 mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. Mycotoxin Res. 1991; 7: 46-52
5 #229
- 6 2 D. L. Park, S. M. Rua, Jr., C. J. Mirocha, E. S. Abd-Alla and C. Y. Weng.
7 Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia
8 decontamination procedure. Mycopathologia. 1992; 117: 105-108 #232
- 9 3 S. Knasmuller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom,
10 E. Zohrer and P. M. Eckl. Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins,
11 fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures
12 of rat hepatocytes. Mutat Res. 1997; 391: 39-48 #230
- 13 4 M. Aranda, L. P. Pérez-Alzola, M. F. Ellahueñe and C. Sepúlveda. Assessment
14 of in vitro mutagenicity in Salmonella and in vivo genotoxicity in mice of the
15 mycotoxin fumonisin B(1). Mutagenesis. 2000; 15: 469-471 #366
- 16 5 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Zsivkovits and S.
17 Knasmueller. Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2)
18 cells. Mutagenesis. 2002; 17: 257-60 #224
- 19 6 D. Lerda, M. Biaggi Bistoni, N. Peralta, S. Ychari, M. Vazquez and G. Bosio.
20 Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. Food
21 Chem Toxicol. 2005; 43: 691-698 #226
- 22 7 M. S. Segvic-Klaric, S. Pepeljnjak and R. Ruzica. Genotoxicity of fumonisin B1,
23 beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual
24 and combined treatment. Croatica Chemica Acta. 2008; 81: 139-146 #86
- 25 8 W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss. Effects
26 of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled
27 synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. Food Chem Toxicol. 1992; 30: 233-
28 237 #231
- 29 9 W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber. The cancer-
30 initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. Carcinogenesis. 1992; 13:
31 433-437 #193
- 32 10 R. Karuna and B. S. Rao. Lack of micronuclei induction by fumonisin B(1)
33 mycotoxin in BALB/c mice. Mycotoxin Res. 2013; 29: 9-15 #233
- 34 11 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B(1): oxidative
35 status and DNA damage in rats. Toxicology. 2007; 232: 163-9 #222
- 36 12 A. Domijan, D. Zeljezic, M. Peraica, G. Kovacevic, G. Gregorovic, Z. Krstanac,
37 K. Horvatin and M. Kalafatic. Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver.
38 Hum Exp Toxicol. 2008; 27: 895-900 #127

- 1 13 G. Pocsfalvi, A. Ritieni, G. Randazzo, A. Dobo and A. Malorni. Interaction of
2 fusarium mycotoxins, fusaproliferin and fumonisin B1, with DNA studied by
3 electrospray ionization mass spectrometry. J Agric Food Chem. 2000; 48: 5795-
4 5801 #451
- 5 14 C. W. Sheu, I. Rodriguez, R. M. Eppley and J. K. Lee. Lack of transforming
6 activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. Food Chem
7 Toxicol. 1996; 34: 751-753 #200
- 8 15 A. Sakai, C. Suzuki, Y. Masui, A. Kuramashi, K. Takatori and N. Tanaka. The
9 activities of mycotoxins derived from *Fusarium* and related substances in a
10 short-term transformation assay using v-Ha-*ras*-transfected BALB/3T3 cells
11 (Bhas 42 cells). Mutat Res. 2007; 630: 103-111 #184
- 12 16 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B1: oxidative
13 status and DNA damage in rats. Toxicology. 2007; 232: 163-169 #222
14

(6) 神経毒性及び免疫毒性

① 神経毒性

a マウスに精製 FB1 を脳内投与した試験

BALB/c マウス（雌、7～8 週齢、一群 5 匹）に、0、10、100 μg /匹の用量で精製 FB1（純度 98%）を 7 日間、側脳室にカニューレで投与又は頸部に皮下投与した。脳内投与群では、Sa 濃度が用量依存的に上昇傾向を示し、100 μg /匹 FB1 投与群の脳皮質、小脳、中脳及び延髄の Sa 濃度は、FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値であった。So 濃度は、100 μg /匹 FB1 投与群の脳皮質で対照群に比べて有意に高値であった。脳皮質のスフィンゴミエリン濃度及び複合スフィンゴ脂質濃度に変化はみられなかった。100 μg /匹投与群では、脳皮質の神経に細胞死が認められ、海馬ではアストロサイトの活性化がみられた。炎症性サイトカインである $\text{TNF}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 及び $\text{IFN}\gamma$ の mRNA の発現は、対照群に比べて 100 μg /匹投与群で有意に増加した。皮下投与群では、FB1 を投与しない対照群に比べて 100 μg /匹 FB1 投与群の脳皮質に Sa の有意な増加が認められた。中脳、小脳、延髄の Sa 及び So 濃度に変化はみられなかった。（参照 1. MF Osuchowski, et al. (2005) #242）。

b ウサギに精製 FB1 を経口投与した試験

ウサギ（妊娠雌、NZW、一群 4 匹）に、精製 FB1（純度 92.3%）を 0.00、0.25、0.50、1.00、1.25 及び 1.75 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3～19 日に強制経口投与した。妊娠 12 日目に死亡した 1.75 mg/kg 体重/日群の母体の海馬に中程度の白質脳軟化、多発性局所性血管周囲出血及び浮腫が認められた。妊娠 16 日目に死亡した母体では、海馬の髄質に複数の微小な出血が認められた。（参照 2. TJ Bucci, et al. (1996) #135）。

c ブタに培養物を混餌投与した試験

離乳ブタ（雄、ラージホワイット）に、*F. verticillioides* 培養物を添加して FB1 を約 5.0、10.0 又は 15.0 mg/kg の濃度で含む飼料を 6 ヶ月給餌した。培養物を添加しない対照群の飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg であった。対照群に比べて 5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、橋、扁桃体、視床下部及び延髄のアセチルコリンエステラーゼ（AChE）活性が有意に低下した。（参照 3. FA Gbore (2010) #153）。JECFA では、飼料中 FB1 濃度が ELISA で測定されており、報告されたブタの体重当たりの FB1 一日摂取量も一致せず、明確な用量反応関係もみられないため、これらの AChE 活性への影響が、FB1 ばく露によるものではない可能性があるとしている（参照 4. FAO/WHO (2012) #359）。

d *in vitro* 試験

ヒトの神経膠芽腫由来細胞株 (U-118MG 細胞株) を用いて、FB1 の神経毒性作用が調べられた。U-118MG 細胞を 10 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 48~144 時間ばく露させると、脂質過酸化物及び 活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) の産生の増加がみられた。グルタチオン濃度及び細胞生存率が低下し、アポトーシスを誘導するカスパーゼ 3-様プロテアーゼ活性が増加し、DNA の断片化が認められた。著者らは、FB1 により誘発される神経毒性には、酸化ストレスとアポトーシスが関与している可能性があると考えた(参照 5. H Stockmann-Juvala, et al. (2004) #236)。

マウス視床下部細胞由来細胞株 (GT1-7 細胞株)、ラット神経膠芽細胞腫由来細胞株 (C6 細胞株)、ヒト U-118MG 細胞株及びヒト神経芽細胞腫由来細胞株 (SH-SY5Y 細胞株) を 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 48~144 時間ばく露させると、カスパーゼ 3 様プロテアーゼ活性が増加し、DNA 断片化が認められた。一方、p53、アポトーシス誘発又は抗アポトーシス Bcl-2 ファミリータンパク質である Bax、Bcl-2、Bcl-XL 及び Mcl-1 の発現に、FB1 は影響しなかった。細胞株による感受性は、U-118MG 細胞株 > GT1-7 細胞株 > C6 細胞株 > SH-SY5Y 細胞株の順に高かったことから、著者らは、神経細胞よりグリア細胞の感受性が高いと考えた(参照 6. H Stockmann-Juvala, et al. (2006) #237)。

マウスミクログリア由来細胞株 (BV-2 細胞株) 及び神経芽細胞腫由来細胞株 (N2A 細胞株)、BALB/c マウス初代培養のアストロサイト及び脳皮質ニューロンを用いて FB1 の神経毒性作用が調べられた。50 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 4 又は 8 日間ばく露させると、全ての種類の細胞で、Sa の蓄積と So の減少が認められた。BV-2 細胞株及び初代培養アストロサイトでは、0~50 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 ばく露により用量依存的に壊死が認められ、TNF α と IL-1 β の mRNA の発現が低下した。これらの結果から、FB1 による神経組織への毒性は、アストロサイト等のグリア細胞の機能低下の二次的影響である可能性があると考えた(参照 7. MF Osuchowski, et al. (2005) #241)。

②免疫毒性

a マウスに精製 FB1 を皮下注射した試験

BALB/c マウス (雌雄、平均体重 20 g、一群 5 匹) に、FB1 (エンドトキシンを含まず、純度 100%) を 2.25 mg/kg 体重/日の用量で、5 日間皮下注射し、免疫反応の性差が調べられた。FB1 投与による一般状態の変化は雌雄マウスともにみられなかった。FB1 を投与しない対照群に比べて、雌雄マウスともに増体率が有意に低下した。雌マウスでは、対照群に比べて脾臓及び胸腺の相対重量が有意に低下し、フィトヘマグルチニン (PHA-P)

刺激による T 細胞の細胞増殖及びリポ多糖 (LPS) 刺激による B 細胞の細胞増殖も低下した。また、雌マウスでは、脾臓細胞の IL-2 mRNA 発現が低下した。対照群に比べて FB1 投与群の雌マウスの脾臓では、脾臓中の T 細胞、B 細胞ともに絶対数は減少したが、相対的な T 細胞数は増加し、胸腺では、未成熟 CD4+/CD8+ 二重陽性 T 細胞群が有意に減少した。FB1 投与群の雄に FB1 投与による変化はみられなかった。これらの結果から、著者らは、FB1 による免疫抑制作用について、雌の感受性が高いと考えた(参照 8. VJ Johnson, et al. (2001) #136)。

b ラットに精製 FB1 を経口投与した試験

Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群 10 匹) に、精製 FB1 (純度 98%) を 5、15、25 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与し、脾臓単核細胞中の ヒツジ赤血球 に対する IgM 抗体 プラーク形成 細胞 (PFC) の割合 及び脾臓中の PFC の割合を比較した。雄では、両者とも、25mg/kg 体重/日の用量で、有意な減少がみられたが、雌に影響はみられなかった。更に、雄ラット (一群 12 匹) に FB1 を 0、1、5、15 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与し、投与後に *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) に感染させて感染 72 時間目まで観察した。感染 24 時間目の脾臓では、FB1 用量依存的に *L. monocytogenes* の菌数が増加した。臓器重量、血液検査、マイトジェン刺激によるリンパ球増殖、カルシウム動員、白血球及び T リンパ球サブセットの数、ナチュラルキラー細胞活性及び食作用に影響はなかった(参照 9. H Tryphonas, et al. (1997) #139)。

Wistar ラット (雄、一群 6 匹) に *F. verticillioides* 培養物から抽出した FB1 を 0 又は 100 mg/kg の濃度で含む飼料を 90 日間給餌する亜急性毒性試験において、それぞれの群のラット脾臓単核細胞を用いたマイトジェン刺激によるリンパ球増殖に FB1 投与による変化はみられなかった。それぞれの群のラット脾臓単核細胞を 72 時間培養して培養液中のサイトカインを測定した結果、対照群に比べて FB1 投与群では、IL-4 濃度が有意に増加し、IL-10 濃度は有意に減少した。腹腔マクロファージにより放出される過酸化水素 (H_2O_2) は減少したが、腹腔浸出細胞 (peritoneal cells) から産生されるスーパーオキシドアニオンレベルに変化はみられなかった(参照 10. MG Theumer, et al. (2002) #137)。

c ブタに精製 FB1 を経口投与又は培養物を混餌投与した試験

離乳ブタ (ヨークシャー、3 週齢、対照群 8 頭、投与群 9 頭) に、精製 FB1 を 0 又は 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与した。投与終了後に回腸組織から mRNA を抽出し、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法により炎症性サイトカインである IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12 又

1 は TNF α の mRNA の発現を調べた結果、FB1 投与による IL-1 β 、IL-6、
2 IL-12 又は TNF α の mRNA 発現の変化は認められなかった。一方、FB1
3 投与は、IL-8 の mRNA 発現を有意に抑制した。IL-8 発現に及ぼす FB1 の
4 抑制作用は、ブタ腸上皮由来培養細胞株 (IPEC-1 細胞株) を FB1 にばく
5 露すると、IL-8 mRNA の発現と共に IL-8 タンパク質の発現が用量依存的
6 に減少した。著者らは、FB1 が IL-8 の発現を減少させることによって腸
7 の免疫反応を変化させる可能性があると考えた(参照 12. S Bouhet, et
8 al. (2006) #251)。

9 離乳子ブタ (雑種、平均体重が 7.3 $\pm$ 0.4 g、一群 3 匹) に、精製 FB1 (純
10 度>98%) を 0 又は 1.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与し、投
11 与終了後に血液、脾臓及び腸間膜リンパ節組織を採取して、*in vitro* 刺激
12 によるサイトカイン mRNA の発現を測定した。末梢血単核細胞を PHA で
13 刺激すると、IFN- γ 及び IL-4 mRNA の発現がみられた。FB1 投与群では、
14 対照群に比べると腸間膜リンパ節及び脾臓の IL-4 mRNA 発現が低下し、
15 IFN- γ mRNA 発現が上昇した(参照 13. I Taranu, et al. (2005) #259)。

16 離乳後 1 週齢のブタ (一群 11 又は 14 匹) に、*F. verticilloides* の培養
17 物から得られた粗抽出物 (FB1: 54%、FB2: 8%、FB3: 9%) を、FB1 とし
18 て 0 又は 1 mg/kg 体重/日の用量で 10 日間経口投与するとともに、それぞ
19 れの群で 5 頭ずつ、計 10 頭のブタに 線毛性定着因子 である F4 を保
20 有する (F4+) 腸管病原性大腸菌 (*enterotoxigenic Escherichia coli*: ETEC)
21 を投与した。臨床症状に異常は認められなかったが、FB1 投与群では感染
22 後の ETEC 排出が長く見られ、抗原特異的反応の低下が見られた。FB1 投
23 与群では、小腸内 IL-12p40 mRNA の発現減少、主要組織適合複合体クラ
24 ス II 分子 (MHC-II) の発現抑制、T 細胞の刺激応答低下がみられた。著
25 者らは、FB1 が抗原提示細胞 (APC) の成熟過程を阻害していると考えた
26 (参照 14. B Devriendt, et al. (2009) #252)。

27 子ブタに、*F. verticilloides* 培養物 (FB1: 54%、FB2: 8%、FB3: 9%)
28 を、FB1 として 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与した。ま
29 た、一部には投与後 1 日目から毒素非産生 A 型の *Pasteurella multocida*
30 (*P. multocida*) を 13 日間経気管内投与した結果、FB1 又は *P. multocida*
31 どちらかの投与では、臨床症状及び肺に影響しなかった。気管支肺胞洗浄
32 液中の細胞の IL-8、IL-18、IFN- γ の mRNA 発現が、FB1 及び *P. multocida*
33 を投与しない対照群にくらべて FB1 投与群で増加し、*P. multocida* 投与
34 群では TNF α の mRNA 発現が増加した。FB1 及び *P. multocida* を共に投
35 与すると、咳がみられ、気管支肺胞洗浄液中の細胞、マクロファージ及び
36 リンパ球数が増加した。肺では、亜急性間質性肺炎の像を呈し、肺組織の
37 TNF α 、IFN- γ 、IL-8 の mRNA 発現は増加した(参照 15. DJ Halloy, et al.
38 (2005) #254)。

豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) と FB1 汚染の関連を調べる目的で、離乳ブタ (雌雄、雑種、一群 5 頭) に 12 mg/kg 飼料の濃度の FB1 を強制経口投与及び/又は PRRSV を感染させた。FB1 と PRRSV をブタに共投与すると重篤な肺の組織学的変化がみられた(参照 16. CM Ramos, et al. (2010) #257)。

子ブタ(雌又は去勢雄、4 週齢、一群 5 頭)に、対照飼料 (トウモロコシ・大豆ミール飼料) 又は *F. verticillioides* 培養物 (FB1: 8 mg/kg 含有、前半 0.99 及び後半 1.49 mg/kg 体重/日相当) 添加飼料のいずれかを 28 日間給与した。粗抽出物には、FB1: 54%、FB2: 8%及び FB3: 9%が含まれていた。7 日目と 21 日目に、*Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*) ワクチンを皮下注射した結果、FB1 投与群の雄の体重増加量が有意に減少したが、雌の体重に変化はなかった。体重増加量低下は飼料摂取量減少によるものではなかった。統計的に有意なクレアチニンレベルの上昇が、雌雄の FB1 投与群に認められた。*M. agalactiae* に特異的な抗体産生が、雌雄で増加したが、雄の FB1 投与群では 28 日目の血清中特異的抗体濃度及び血液の IL-10 mRNA が、FB1 を投与しない投与対照群より有意に少なかった。著者らは、FB1 がブタに免疫抑制作用を示し、雄が雌より感受性が高いと考えた(参照 19. DE Marin, et al. (2006) #256)。

F. moniliforme 培養物を用いて、実験 1 として、離乳子ブタ (去勢雄、一群 5 匹) に FB1 を 0、1、5、10 mg/kg の濃度で含む飼料を 3~4 か月間混餌投与した。実験 2 として離乳去勢子ブタに (フモニシンを投与しない対照群 6 匹、投与群 14 匹) 0、100 mg/匹を 8 日間混餌投与した。オーエスキー病に対する不活化ワクチンを接種し、末梢血リンパ球を用いて、PHA-P、Con A、LPS 刺激による非特異的免疫反応又はオーエスキー病のウイルス不活化懸濁液による特異的免疫反応が調べられた。試験された免疫パラメータの測定値に、各群間の違いは認められなかった。(参照 20. G Tornyos, et al. (2003) #260)。

離乳ブタ (ラージホワイト、一群 24 頭) に自然汚染されたトウモロコシを添加して、0 又は 11.8 mg/kg (FB1 濃度: 8.6 mg/kg/飼料、FB2 濃度: 3.2 mg/kg/飼料) のフモニシンを含む飼料を 63 日間給餌し、FB1 投与開始 7 日目にそれぞれの群 12 頭ずつにサルモネラ (*Salmonella* Typhimurium) を経口摂取して免疫への影響が調べられた。すべての群に、死亡及び臨床症状の変化はみられなかった。フモニシン投与群の血清、肝臓及び腎臓中の Sa/So 比はフモニシンを投与しない対照群に比べて有意に増加した。フモニシン非投与群では、サルモネラ接種 7 日目にサルモネラ抗原刺激による特異的な白血球増殖が有意に増加したが、フモニシン投与群では、この増加がみられなかった。サルモネラ接種ブタにおけるサルモネラのトランスロケーション又はセロコンバージョンに、フモニシンは

影響を与えなかった。糞便細菌叢のプロファイル調べた結果、フモニシン投与群で糞便細菌叢が一時的に変化し、フモニシン投与及びサルモネラ感染群で、急速かつ明瞭に細菌叢プロファイルが変化した。(参照 21. C Burel, et al. (2013) #278)。

d ウズラに培養物を混餌投与した試験

ウズラ(1日齢、一群105羽)に *F. verticillioides* 培養物を添加して 200 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を 35 日間給餌した。FB1 投与群では、羽毛の乱れと成長不良がみられ、12.38%が死亡した。ジニトロクロロベンゼン(DNCB)塗布により調べられた細胞性免疫は、FB1 投与群で有意に低下した。(参照 22. D Sharma, et al. (2008) #258)。

1 < 参考文献 >

- 2 1 M. F. Osuchowski, G. L. Edwards and R. P. Sharma. Fumonisin B1-
3 induced neurodegeneration in mice after intracerebroventricular
4 infusion is concurrent with disruption of sphingolipid metabolism
5 and activation of proinflammatory signaling. Neurotoxicology.
6 2005; 26: 211-21 #242
- 7 2 T. J. Bucci, D. K. Hansen and J. B. LaBorde.
8 Leukoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits
9 gavaged with mycotoxin fumonisin B1. Nat Toxins. 1996; 4: 51-2
10 #135
- 11 3 F. A. Gbore. Brain and hypophyseal acetylcholinesterase activity of
12 pubertal boars fed dietary fumonisin B1. J Anim Physiol Anim Nutr
13 (Berl). 2010; 94: e123-9 #153
- 14 4 FAO/WHO. Fumonisin (addendum) in Safety evaluation of certain
15 food additives and contaminants. WHO FOOD ADDITIVES
16 SERIES: 65. 2012; 325-527 #359
- 17 5 H. Stockmann-Juvala, J. Mikkola, J. Naarala, J. Loikkanen, E.
18 Elovaara and K. Savolainen. Fumonisin B1-induced toxicity and
19 oxidative damage in U-118MG glioblastoma cells. Toxicology. 2004;
20 202: 173-83 #236
- 21 6 H. Stockmann-Juvala, J. Naarala, J. Loikkanen, K. Vahakangas
22 and K. Savolainen. Fumonisin B1-induced apoptosis in
23 neuroblastoma, glioblastoma and hypothalamic cell lines.
24 Toxicology. 2006; 225: 234-41 #237
- 25 7 M. F. Osuchowski and R. P. Sharma. Fumonisin B1 induces necrotic
26 cell death in BV-2 cells and murine cultured astrocytes and is
27 antiproliferative in BV-2 cells while N2A cells and primary cortical
28 neurons are resistant. Neurotoxicology. 2005; 26: 981-92 #241
- 29 8 V. J. Johnson and R. P. Sharma. Gender-dependent
30 immunosuppression following subacute exposure to fumonisin B1.
31 Int Immunopharmacol. 2001; 1: 2023-34 #136
- 32 9 H. Tryphonas, G. Bondy, J. D. Miller, F. Lacroix, M. Hodgen, P.
33 McGuire, S. Fernie, D. Miller and S. Hayward. Effects of fumonisin
34 B1 on the immune system of sprague-dawley rats following a 14-
35 day oral (gavage) exposure. Fundam Appl Toxicol. 1997; 39: 53-9
36 #139
- 37 10 M. G. Theumer, A. G. Lopez, D. T. Masih, S. N. Chulze and H. R.
38 Rubinstein. Immunobiological effects of fumonisin B1 in

- experimental subchronic mycotoxicoses in rats. Clin Diagn Lab Immunol. 2002; 9: 149-55 #137
- 11 M. G. Theumer, A. G. Lopez, D. T. Masih, S. N. Chulze and H. R. Rubinstein. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. Toxicology. 2003; 186: 159-70 #138
- 12 S. Bouhet, E. Le Dorze, S. Peres, J. M. Fairbrother and I. P. Oswald. Mycotoxin fumonisin B1 selectively down-regulates the basal IL-8 expression in pig intestine: in vivo and in vitro studies. Food Chem Toxicol. 2006; 44: 1768-73 #251
- 13 I. Taranu, D. E. Marin, S. Bouhet, F. Pascale, J. D. Bailly, J. D. Miller, P. Pinton and I. P. Oswald. Mycotoxin fumonisin B1 alters the cytokine profile and decreases the vaccinal antibody titer in pigs. Toxicol Sci. 2005; 84: 301-7 #259
- 14 B. Devriendt, M. Gallois, F. Verdonck, Y. Wache, D. Bimczok, I. P. Oswald, B. M. Goddeeris and E. Cox. The food contaminant fumonisin B(1) reduces the maturation of porcine CD11R1(+) intestinal antigen presenting cells and antigen-specific immune responses, leading to a prolonged intestinal ETEC infection. Vet Res. 2009; 40: 40 #252
- 15 D. J. Halloy, P. G. Gustin, S. Bouhet and I. P. Oswald. Oral exposure to culture material extract containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by Pasteurellamultocida. Toxicology. 2005; 213: 34-44 #254
- 16 C. M. Ramos, E. M. Martinez, A. C. Carrasco, J. H. L. Puente, F. Quezada, J. T. Perez, I. P. Oswald and S. M. Elvira. Experimental trial of the effect of fumonisin B1 and the PRRS virus in swine. J Anim Vet Advances. 2010; 9: 1301-1310 #257
- 17 A. P. Bracarense, J. Lucioli, B. Grenier, G. Drociunas Pacheco, W. D. Moll, G. Schatzmayr and I. P. Oswald. Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. Br J Nutr. 2012; 107: 1776-86 #177
- 18 B. Grenier, A. P. Loureiro-Bracarense, J. Lucioli, G. D. Pacheco, A. M. Cossalter, W. D. Moll, G. Schatzmayr and I. P. Oswald. Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets. Mol Nutr Food Res. 2011; 55: 761-71 #174

- 1 19 D. E. Marin, I. Taranu, F. Pascale, A. Lionide, R. Burlacu, J. D.
2 Bailly and I. P. Oswald. Sex-related differences in the immune
3 response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin
4 extract. *Br J Nutr.* 2006; 95: 1185-92 #256
- 5 20 G. Tornyos, M. Kovacs, M. Rusvai, P. Horn, J. Fodor and F. Kovacs.
6 Effect of dietary fumonisin B1 on certain immune parameters of
7 weaned pigs. *Acta Vet Hung.* 2003; 51: 171-9 #260
- 8 21 C. Burel, M. Tanguy, P. Guerre, E. Boilletot, R. Cariolet, M.
9 Queguiner, G. Postollec, P. Pinton, G. Salvat, I. P. Oswald and P.
10 Fravallo. Effect of low dose of fumonisins on pig health: immune
11 status, intestinal microbiota and sensitivity to *Salmonella*. *Toxins*
12 (Basel). 2013; 5: 841-64 #278
- 13 22 D. Sharma, R. K. Asrani, D. R. Ledoux, N. Jindal, G. E. Rottinghaus
14 and V. K. Gupta. Individual and combined effects of fumonisin b1
15 and moniliformin on clinicopathological and cell-mediated immune
16 response in Japanese quail. *Poult Sci.* 2008; 87: 1039-51 #258
- 17 23 I. Taranu, D. E. Marina, R. Burlacu, P. Pinton, V. Damian and I. P.
18 Oswald. Comparative aspects of in vitro proliferation of human and
19 porcine lymphocytes exposed to mycotoxins. *Arch Anim Nutr.* 2010;
20 64: 383-93 #92
- 21 24 L. Y. Wan, K. J. Allen, P. C. Turner and H. El-Nezami. Modulation
22 of mucin mRNA (MUC5AC and MUC5B) expression and protein
23 production and secretion in Caco-2/HT29-MTX co-cultures following
24 exposure to individual and combined *Fusarium* mycotoxins. *Toxicol*
25 *Sci.* 2014; 139: 83-98 #88
- 26 25 D. Luongo, L. Severino, P. Bergamo, R. De Luna, A. Lucisano and
27 M. Rossi. Interactive effects of fumonisin B1 and alpha-zearalenol
28 on proliferation and cytokine expression in Jurkat T cells. *Toxicol*
29 *In Vitro.* 2006; 20: 1403-10 #91
- 30 26 !!! INVALID CITATION !!!;
- 31 27 W. T. Shier, H. K. Abbas and C. J. Mirocha. Toxicity of the
32 mycotoxins fumonisins B1 and B2 and *Alternaria alternata* f. sp.
33 *lycopersici* toxin (AAL) in cultured mammalian cells.
34 *Mycopathologia.* 1991; 116: 97-104 #114

5. 諸外国における評価

(1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)

JECFA は、2001 年、2011 年及び 2016 年にフモニシンの評価を行った。2001 年評価では、ラットにおける 90 日間の亜急性毒性試験(参照 1. KA Voss, et al. (1995) #162)及び慢性毒性/発がん性試験(参照 2. GC Hard, et al. (2001) #187)の結果から、雄ラットにおける腎毒性(尿細管細胞の変性・壊死等)を指標とした NOAEL 0.2 mg/kg 体重/日に、不確実係数 100 を適用し、グループ暫定最大耐容一日摂取量(PMTDI)を 2 µg/kg 体重/日 (FB1、FB2 及び FB3 の単独または合計) と設定した(参照 3. IPCS (2001) #465)。

2011 年の再評価では、用量反応相関が示されている精製 FB₁ または FB₁ を含む *F. verticillioides* 培養物を混餌投与したマウス又はラットの 6 試験のデータ¹(参照 4. PC Howard, et al. (2002) #77, 5. G Bondy, et al. (2012) #144, 6. RT Riley, et al. (2006) #58, 7. K Voss, et al. (2011) #85, 8. National Toxicology Program (2001) #103)に BMD 法を適用して解析が行われた。精製 FB₁ を混餌投与した試験のうち、最も低い BMDL₁₀ が得られたのは雄マウスの肝細胞にみられる巨大肝細胞の増加を指標(参照 5. G Bondy, et al. (2012) #144)としたときの 165 µg/kg 体重/日であった。この BMDL₁₀ 値に不確実係数 100 を適用し、PMTDI 2 µg/kg 体重/日が求められた²。この値は、2001 年の評価で設定されたグループ PMTDI と同じであったため、このグループ PMTDI が維持された(参照 9. JECFA (2011) #350)。

2011 年のフモニシンのばく露評価では、総フモニシンのばく露量が平均摂取者で 0.087×10⁻³~14.14 µg/kg 体重/日、高摂取者では最大 44.8 µg/kg 体重/日と推計され、特にトウモロコシを主食とし、フモニシン汚染リスクの高い地域では、PMTDI を超過する可能性があるとして指摘した。また、飼料中のフモニシンについても考察し、飼料から畜産物へのフモニシン移行は無視できることから、飼料中のフモニシンによるヒトへの健康影響はないとした(参照 10. FAO/WHO (2012) #359)。

2016 年、JECFA は、2011 年の再評価以降に更新されたばく露データや新たに得られた毒性試験及び疫学研究に基づいて再びフモニシンの評

¹ そのうち Bondy らのマウスを用いた 26 週間亜急性毒性試験 (#144) については、JECFA は、2011 年時点では非公開であったデータに基づいて評価を行った (#501)。

² 解析の結果、FB1 の最少 BMDL₁₀ 値は、培養物を用いた試験(参照 6. K Voss, et al. (2011) #85)の 17 µg/kg 体重/日であったが、培養物の成分の詳細が不明であること及び培養物が自然汚染状況を反映していない可能性もあることから、JECFA では TDI の設定根拠としてこの値を採用しなかった。

1 価を行い、2011年に再評価されたグループ PMTDI が維持された(参照
2 11. JECFA (2016) #501)。

3 4 (2) 欧州食品安全機関 (EFSA)

5 EFSA の前身である欧州の食品科学委員会 (SCF) は 2000 年に FB1 に
6 ついて意見書を公表している(参照 12. SCF (2000) #339)。SCF は、ラッ
7 トにおける 90 日間の亜急性毒性試験(参照 1. KA Voss, et al. (1995) #162)
8 及びラットの慢性毒性/発がん性試験(参照 2. GC Hard, et al. (2001)
9 #187)に基づく NOAEL 0.2 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 を適用し、耐
10 容一日摂取量 (TDI) を 2 µg/kg 体重/日と設定した。JECFA が 2001 年に
11 グループ PMTDI を設定したことを受け、SCF は 2002 年にこの TDI を、
12 グループ TDI (FB1、FB2 及び FB3 の単独または合計) とした(参照 13.
13 SCF (2003) #342)。

14 EFSA は、2005 年に「飼料中の望ましくない汚染物質」としてフモニシ
15 ンについて意見書を公表しており、この中で、各種動物(家畜動物、ウサ
16 ギ、家禽類及び魚)について NOAEL をまとめている(参照 14. EFSA
17 (2005) #356)。また、飼料汚染からのヒトへのばく露影響については、有
18 意な寄与はないとしている。関連して、EFSA は、2014 年にフモニシン
19 を分解する飼料添加物のフモニシンエステラーゼ (FUMzyme®) の評価を
20 行った。この評価において、加水分解フモニシンの遺伝毒性試験及び短期
21 毒性試験のデータもレビューされている(参照 15. EFSA (2014) #343)。

22 23 (3) 国際がん研究機関 (IARC)

24 IARC は、1993 年に *F. verticillioides*³由来かび毒⁴として FB1 及び
25 FB2 について、化学物質としての発がん性の評価を行った。*F.*
26 *verticillioides* 培養物がラットに前腫瘍性の肝毒性を示すことから、実験
27 動物において十分な発がん性エビデンスがあるとした。一方、FB1 の発がん
28 性についてはデータが限られているとした。総合評価としては *F.*
29 *verticillioides* 由来のかび毒をグループ 2B (ヒトに対して発がん性がある
30 可能性がある。)に分類した(参照 16. IARC (1993) #338)。

31 2002 年に FB1 を再評価した。フモニシンの発がん性について、ヒトに
32 おける証拠は不十分であるが、発がん性について、雄ラットの胆管癌及び
33 肝細胞癌並びに腎尿細管癌の誘発、雌マウスにおける肝細胞腺腫及び肝細

³ 原著では、*F. moniliforme* と記載されている。1988 年に、FB1 が発見された当初
は、産生菌は *F. moniliforme* と報告されていたが、1998 年、それまで *Fusarium*
moniliforme Sheldon と呼ばれていた産生菌を *Fusarium verticillioides* (Sacc.)
Nirenberg (*F. verticillioides*) と命名することが正式に認められた。

⁴ IARC は、*F. verticillioides* 由来かび毒として FB1、FB2 及びフザリン C について
評価しているが、フザリン C は構造上、フモニシンとは別の化合物である。

1 胞癌の発生頻度の増加をエビデンスとして採用した。また、FB1 を投与さ
2 れた実験動物の肝臓及び腎臓でアポトーシス増加と細胞増殖を誘発する
3 こと、ウマの白質脳軟化（ELEM）及びブタの肺水腫（PPE）におけるス
4 フィンゴ脂質代謝阻害と心血管系への影響について考察した。この評価に
5 おいて、FB1 の作用機序としてスフィンゴ脂質代謝阻害並びにリン脂質及
6 び脂肪酸代謝異常について詳述している。以上に基づき、FB1 をグループ
7 2B に分類した(参照 17. IARC (2002) #60)。

1 < 参考文献 >

- 2
- 3 1 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred.
4 Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit
5 Contam. 1995; 12: 473-478 #162
- 6 2 G. C. Hard, P. C. Howard, R. M. Kovatch and T. J. Bucci. Rat kidney pathology
7 induced by chronic exposure to fumonisin B1 includes rare variants of renal
8 tubule tumor. Toxicol Pathol. 2001; 29: 379-86 #187
- 9 3 IPCS. Fumonisin. World Health Organization, International Programme on
10 Chemical Safety. 2001; TRS 906-JECFA 56/16: #465
- 11 4 P. C. Howard, L. H. Couch, R. E. Patton, R. M. Eppley, D. R. Doerge, M. I.
12 Churchwell, M. M. Marques and C. V. Okerberg. Comparison of the toxicity of
13 several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F(1)
14 mice. Toxicol Appl Pharmacol. 2002; 185: 153-165 #77
- 15 5 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D.
16 Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long
17 term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53
18 homozygous transgenic mice. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 3604-3613 #144
- 19 6 R. T. Riley and K. A. Voss. Differential sensitivity of rat kidney and liver to
20 fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and
21 sphingoid base metabolism. Toxicol Sci. 2006; 92: 335-345 #58
- 22 7 K. Voss, R. Riley, L. Jackson, J. Jablonski, A. Bianchini, L. Bullerman, M.
23 Hanna and D. Ryu. Extrusion cooking with glucose supplementation of
24 fumonisin contaminated corn grits protected against nephrotoxicity and
25 disrupted sphingolipid metabolism in rats. Mol Nutr Food Res. 2011; 55: S312-
26 S320 #85
- 27 8 National Toxicology Program. NTP technical report on the toxicology and
28 carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats
29 and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report 496. 2001; #103
- 30 9 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.
31 Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee
32 on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350
- 33 10 FAO/WHO. Fumonisin. Safety evaluation of certain food additives and
34 contaminants. Series 65. 2012; WHO Food Additives: 325-794 #359
- 35 11 JECFA. JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES-
36 Summary and Conclutions. JECFA/83/SC. 2016; 4-5 #501
- 37 12 SCF. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium toxins. Part 3:
38 Fumonisin B1 (FB1). http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html.
39 2000; #339

- 1 13 SCF. Updated opinion of the scientific committee on food on fumonisin B1, B2
2 and B3. 2003; #342
- 3 14 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a
4 request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances
5 in animal feed. The EFSA Journal. 2005; 235: 1-32 #356
- 6 15 EFSA. Scientific opinion on the safety and efficacy of fumonisin esterase
7 (FUMzyme) as a technological feed additive for pigs. EFSA Journal. 2014; 12:
8 3667 #343
- 9 16 IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans.
10 1993; 56: 445-466 #338
- 11 17 IARC. Fumonisin B1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk
12 to Humans. 2002; 82: #60
13

<別添>

ウマの白質脳軟化症 (ELEM) 及びブタの肺水腫 (PPE)

飼料用トウモロコシのフモニシン汚染を原因とするウマの白質脳軟化症 (Equine leukoencephalomalacia : ELEM) 及びブタの肺水腫 (Porcine pulmonary edema : PPE) が報告されている。以下にこれらの知見をまとめた。

1 ウマの 白質脳軟化症 (ELEM)

ウマでは、飼料中のフモニシン自然汚染トウモロコシを原因として、致死性の ELEM が報告されている。~~ウマの~~ ELEM は、アルゼンチン、ブラジル、中国、エジプト、メキシコ、南アフリカ、スペイン等、世界中で発生が報告されている(参照 1. D Morgavi, et al. (2007) #473)。初期症状として、無関心、食欲不振、衰弱、筋肉の震え等がみられ、症状が進むと死に至る。組織学的には、脳にマクロファージの浸潤を伴う巣状の細胞壊死、浮腫及び出血がみられる。また、フモニシンの毒性として、肝障害、腎障害も報告されている。(参照 2. WF Marasas (2001) #17, 3. RT Riley, et al. (1997) #295, 4. EHC (2000) #337, 5. KA Voss, et al. (2007) #67)。

(1) 疫学的知見

1989 年の秋及び 1990 年の冬に ELEM の発生事例が米国各地で報告された。これら ELEM を発症したウマのほとんどの、1989 年に収穫されたトウモロコシが給与されていた。米国各地から収集された飼料中の FB1 濃度と ELEM 発生事例の関係を調べた結果、ELEM 発生地域の飼料中の FB1 濃度は <1~126 mg/kg 飼料であり、~~ほとんどの~~ ELEM 発生事例に関係した飼料中 FB1 濃度は ほとんどが 10 mg/kg 以上であった。ELEM が報告されていない地域のウマが摂取した飼料中 FB1 濃度は 9 mg/kg 飼料以下であった。FB1 が検出された飼料からは、FB2 も検出されており、FB2 の濃度は FB1 の 20~40% であった(参照 6. M Segvic, et al. (2001) #474)。

(2) 精製フモニシン又は培養物の経口投与試験

F. verticilloides に自然汚染されたトウモロコシをウマに給与すると血清中のスフィンガニン (Sa) 及びスフィンゴシン (So) 濃度並びに Sa/So 比が上昇~~する~~し、複合スフィンゴ脂質濃度は減少した。これらの~~上昇~~変化は可逆的であるが、肝障害を示す血清中総ビリルビン濃度、胆汁酸濃度、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 活性、γ グルタミルトランスフェラーゼ (γ GTP) 活性、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性等が上

1 昇する前及びウマに ~~ELEM~~ の神経症状がみられる前には Sa 及び So 濃度並
2 びに Sa/So 比 ~~の値~~ が高値となったことが報告されている。(参照 7. E Wang,
3 et al. (1992) #300)

4 ウマ (一群 1 頭) に精製 FB1¹ を 1.00~4.00 mg/kg 体重/日の用量で 30
5 日間に 20 回、FB1 の総量として 8,417 mg をカテーテルを介して胃内投与
6 した。投与開始を 0 日目とすると、20~30 日目に血清中の γ GTP 活性が明
7 らかに高値となった。投与開始 24 日目から神経症状がみられ、33 日目の剖
8 検の結果、ELEM が認められた(参照 8. TS Kellerman, et al. (1990) #459)。

9 ELEM 発症の最小用量を調べる目的で、ウマ (雌雄、一群 4 頭) に自然汚
10 染トウモロコシを用いて 15mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 130 日間給与
11 し、更に 22 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 196 日間に 159 回給与した。
12 4 頭中の 1 頭が試験開始 225 日目に ELEM で死亡した。このウマは、FB1
13 の総量として 4,519 mg 摂取し、22 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を給与さ
14 れている期間には 0.18 mg/kg 体重/日の FB1 を摂取したと推計された。試
15 験中に実施されたこのウマの血液検査の結果、死亡する 9 日前まで正常範囲
16 内であったが、肝障害を示す 血中総ビリルビン値、胆汁酸濃度、ALP 活性、
17 γ GTP 活性等が明らかに高値とな~~り、肝障害を示してい~~った。また、自然汚
18 染されたトウモロコシを用いて、ウマ (一群 5 頭) に 8 mg/kg 飼料の濃度
19 で FB1 を 180 日間給与すると、ELEM による死亡はみられなかったが、全
20 てのウマに一過性の軽度な神経症状がみられた。これらのウマの組織学的検
21 査により、肝臓、腎臓及び脳に軽度な損傷がみられた(参照 7. E Wang, et al.
22 (1992) #300, 9. TM Wilson, et al. (1992) #133)。

23 ウマ (一群 3 頭、対照群 2 頭 (培養物を添加しない飼料を給与)) に、主
24 に FB2 を多く含む *F. proliferatum* 培養物又は主に FB3 を多く含む *F.*
25 *proliferatum* 培養物を添加した。FB2 投与群として 75 mg/kg 飼料の FB2²
26 を混餌投与し、FB3 投与群として 75 mg/kg 飼料の FB3³ を混餌投与した。
27 FB2 投与群の 1 頭は、給与開始 34 日目に肝障害を示す血液化学検査の値が
28 高値となり、48 日目に神経症状がみられた。給与開始 136 日目の組織学検
29 査により ELEM が認められた。別の 1 頭は、給与開始 48 日目に肝障害を示
30 す血液化学検査の値が高値となり、148 日目に神経症状がみられた。給与開
31 始 223 日目の組織化学検査の結果、軽度な肝障害と脳に軽度な巣状液化壊死
32 部位が認められたが、ELEM の兆候は認められなかった。FB3 投与群では、
33 投与開始 57 日目及び 65 日目に剖検が行われたが、FB3 投与による影響は
34 認められなかった。FB2 投与群及び FB3 投与群の血清、肝臓及び腎臓中の
35 Sa/So 比は、対照群に比べて上昇した。Sa/So 比への影響は、FB2 投与群の

¹ *F. verticillioides* の培養抽出物。純度 95~98%。

² FB1 は 3 mg/kg 飼料、FB3 は <1mg/kg 飼料。

³ FB1 及び FB2 は <1mg/kg 飼料

1 方が大きかった(参照 3. RT Riley, et al. (1997) #295, 10. PF Ross, et al.
2 (1994) #265)。

4 (3) 精製フモニシンの静脈内投与試験

5 ウマ 1 頭に精製 FB1 を 0.125 mg/kg 体重/日の用量で 5 日間、その後 1 日
6 おきに 2 回、計 7 回静脈内投与すると、投与開始日を 0 日目として 8~10 日
7 目に AST 活性及び γ GTP 活性が上昇し、8 日目には神経症状がみられた。
8 投与開始 10 日目の剖検の結果、ELEM が認められた(参照 11. WF Marasas,
9 et al. (1988) #438)。

10 ウマ (一群 3~4 頭) に精製 FB1 を 0、0.01 又は 0.2 mg/kg 体重/日の用
11 量で 7~28 日間静脈内投与した。0.2 mg/kg 体重/日の FB1 を 7~9 日間投
12 与した 4 頭全てに ELEM の神経症状がみられた。心拍数、心拍出量及び右
13 心室収縮性の低下と共に動脈脈圧の低下、全身末梢血管抵抗の低下がみられ、
14 これらの低下は心血管疾患を示していた。0.01 mg/kg 体重/日の FB1 を 28
15 日間投与した 3 頭には ELEM の神経症状はみられなかった。血漿中及び右
16 心室心筋の Sa 及び So 濃度並びに Sa/So 比は 0.01 mg/kg 体重/日の FB1 投
17 与群から用量依存的に上昇した(参照 12. GW Smith, et al. (2002) #100)。

18 ウマ (一群 3 又は 4 頭) に 0、0.01、0.05、0.1 又は 0.2 mg/kg 体重/日の
19 精製 FB1 を静脈内投与すると、0.01 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で血
20 清中及び右心室の Sa 及び So 濃度の上昇がみられ、0.2 mg/kg 体重/日の投
21 与群では、4~10 日間の FB1 投与で ELEM の神経症状が認められた。神経
22 症状を示したウマでは、FB1 を投与しない対照群と比べて、脳せき髄液中の
23 タンパク質、アルブミン及び IgG 濃度が高く、アルブミン比⁴が対照群と比
24 べて有意に増加し、血液脳関門の透過性が亢進したことを示唆していた。
25 0.01 mg/kg 体重/日の静脈内 FB1 投与群に ELEM を示す神経症状は認めら
26 れなかった(参照 13. JH Foreman, et al. (2004) #240, 14. JECFA (2001)
27 #465)。

29 2 ブタの肺水腫 (PPE)

30 ブタでは、フモニシンの毒性として、心機能不全、免疫抑制、脾臓毒性、
31 肝障害及び致死性の PPE とともに、スフィンゴ脂質の代謝阻害、増体量の
32 低下が報告されている。PPE は胸腔に多量の透明な胸水貯留を主症状とし、
33 急性の呼吸困難、虚弱 (weakness)、チアノーゼ、流産、死亡等がみられる
34 (参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 16. G Smith, et al. (1996) #269, 17.
35 A Desjardins (2006) #51, 18. LR Harrison, et al. (1990) #170, 19. WM
36 Haschek, et al. (2001) #414)。

4 髄液アルブミン濃度/血中アルブミン濃度

(1) 疫学的知見

1988～1989年に、主に *F. verticilloides* に汚染されたトウモロコシ飼料を原因として、米国各地でブタに PPE が発生した(参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 20. PF Ross, et al. (1991) #267)。PPE が発生した地域では ELEM の発生もみられ、これらの地域から収集した飼料サンプルの FB1 濃度は 20～330 mg/kg 飼料であった(参照 6. M Segvic, et al. (2001) #474, 21. PF Ross, et al. (1990) #266)。

1989年の秋から冬にかけてアイオワ州及びイリノイ州で発生した PPE のうち、16匹に給与されていた飼料中の FB1 濃度を調べた結果、ほとんどの飼料で FB1 濃度が 20 mg/kg 飼料以上であった。(参照 22. GD Osweiler, et al. (1992) #470)。1989年の秋及び1990年の冬に米国各地で発生した PPE の事例と飼料中の FB1 濃度の関係が調べられた。PPE と関連したとされる飼料 83 検体及び PPE と関連していないとされた飼料 51 検体が収集された。PPE と関連したとされる飼料の FB1 濃度は <1～330 mg/kg で、そのほとんどが、10 mg/kg 以上であった。PPE と関連していないとされた飼料の FB1 濃度は、8 mg/kg 以下であった(参照 20. PF Ross, et al. (1991) #267)。

(2) 培養物の経口投与試験

離乳雄ブタ(一群 2～5 頭)に自然汚染トウモロコシを用いて総フモニシンを <1、5、23、39、101 又は 175 mg/kg 飼料の濃度で 14 日間混餌投与すると、23 mg/kg 飼料以上の投与群の肝臓に、肝細胞索の乱れ、単細胞壊死及び好酸性細胞質がみられた。101 mg/kg 飼料以上の投与群で血清中ビリルビン及びコレステロール濃度が高値となり、 γ GTP 活性、ALP 活性、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性、AST 活性及びアルギナーゼ活性が有意に高くなった。(参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 23. GK Motelin, et al. (1994) #132)。

ブタ(一群 2 頭)に *F. verticillioides* 培養物を用いて 200 mg/kg の FB1 を添加した飼料(8 mg/kg 体重/日：事務局換算⁵⁾)を 21 日間投与し、投与開始 14 日目から 17 日目に血液検査が実施された。その結果、培養物を添加しない飼料を投与した対照群に比べて AST 活性が明らかに高くなり、血中の総ビリルビン及びコレステロール濃度も高値となった。著者らは、肝細胞壊死及び胆汁鬱滞がおこっていると考察した。肺への影響は認められな

⁵ 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 (/動物/日)	摂取量 (mg/kg 体重/日)
ブタ	60	2400	0.040

かった。FB1 を混餌投与後、回復期間として培養物を含まない飼料を 10 日間投与すると、AST 活性及び総ビリルビン濃度は、正常範囲となった。同じ培養物をブタ（一群 1~3 頭）に、4、8、16、32 又は 64 mg/kg 体重/日の FB1 用量で 3~45 日間胃内投与すると、すべての用量で肝細胞壊死が認められ、16 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に肺水腫が認められた(参照 24. BM Colvin, et al. (1993) #484)。

ブタに *F. verticillioides* 培養物

予備試験として、*F. verticillioides* 培養物を飼料に混ぜて離乳子ブタに 4 週間給与すると 10 mg/kg 飼料以上の FB1 濃度で PPE がみられた。このため、低用量でのフモニシンの毒性をみるため、*F. verticillioides* 培養物を用いて 0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を 8 週間、去勢離乳ブタ（一群 5 頭）に投与して肺への影響が調べられた。その結果、一般所見、体重及び体重増加量に FB1 投与依存的な変化はみられなかった。~~去勢離乳ブタ（一群 5 頭）に *F. verticillioides* の培養液を添加して FB1 を 0、1、5 又は 10 mg/kg 含む飼料を 8 週間給与して肺への影響が調べられた。一般所見、体重及び体重増加量に FB1 投与依存的な変化はみられなかった。~~心臓、肝臓、肺、腎臓、脳、脾臓及び膵臓の病理学的検査の結果、1 mg/kg 飼料 FB1 投与群の 4 頭中 1 頭の肺では肺尖部及び後葉の 小葉間中隔に軽度の肥厚がみられた。5 mg/kg 飼料 FB1 投与群の 5 頭中 2 頭及び 10 mg/kg FB1 飼料投与群の 4 頭中 3 頭の肺では、中隔の肥厚、肺に出血が認められ、FB1 投与量依存的に肺重量が有意に増加した。5 mg/kg 飼料 FB1 投与群で数頭の肝臓、10 mg/kg 飼料 FB1 以上の投与群で 1 頭の心臓及び腎臓、5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で 2 頭の食道に病変が認められた。全ての FB1 投与群で血清中の γ GTP 活性及び AST 活性が用量依存的に増加した(参照 25. M Zomborszky-Kovacs, et al. (2002) #164)。また、*F. verticillioides* 培養物を飼料に混ぜて 0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を 20 週間、離乳雄ブタ（一群 5 頭）に投与する別の試験では、5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で肺重量が用量依存的に増加し、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群に、投与 4 週目から PPE がみられた。1 mg/kg 飼料以上の FB1 を 2 週間以上投与すると、不可逆性の肺線維化が生じた。全ての用量で血清中の AST 活性、ALT 活性、 γ GTP 活性及びクレアチニン濃度の用量依存的な上昇がみられた。Sa/So 比は 5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で用量依存的に増加した(参照 26. KF Zomborszky-Kovacs M, Horn P, Vetesi F, Repa I, Tornyo G, Toth A (2002) #163)

離乳ブタ（一群雌及び去勢雄それぞれ 2 頭、7 週齢、平均体重 15 kg）に、*F. moniliforme* 培養物を添加して FB1 及び FB2 を総量で約 10 mg/kg

(FB1:8 mg/kg 飼料及び FB2:3 mg/kg 飼料) 又は 30 mg/kg (FB1:26 mg/kg 飼料及び FB2:8 mg/kg 飼料) 含む飼料を 28 日間給与した。培養物を添加しない飼料を給与した対照と比較して、30 mg/kg フモニシン投与群に、飼料摂取量及び体重増加量の有意な減少、赤血球数、ヘマトクリット及び総タンパクの上昇、血清中 ALP、AST、ALT、総ビリルビン及びコレステロールの有意な上昇が認められた。30 mg/kg フモニシン投与群の 1 頭がフモニシン投与開始 23 日目に肺水腫で死亡した。肺水腫、肝臓の変性等の病理学的変化は、30 mg/kg 投与群でのみ認められた(参照 27. P Dilkin, et al. (2003) #147)。

去勢ブタ (雄、一群 5 頭) に、FB1 及び FB2 を含む培養物を添加した飼料を 7 日間給与した。総フモニシン (FB1 及び FB2) の濃度は、20 mg/kg 飼料以下であった。培養物を添加しない対照群と比べると、フモニシン投与群では、投与 8 日目に平均肺動脈圧の亢進並びに心拍数、心拍出量及び混合静脈血酸素分圧が有意に減少した。これらのブタは、心電図は正常で、肺に PPE であることを示す組織学的な変化はみられず、肺の湿重量及び乾燥重量の変化もみられなかった (参照 16. G Smith, et al. (1996) #269)。去勢ブタ (雄、一群 7 頭) に、*F. moniliforme* 培養物を添加した飼料を 20 mg/kg 体重/日の FB1 用量で 3 日間給与した試験の結果、培養物を添加しない飼料を給与した対照群と比べると、FB1 投与群では心拍出量及び心拍数が低値となり、心収縮力も減少した。著者らは、これらの変化は左心室の機能不全によると考えた(参照 28. GW Smith, et al. (1999) #270)。

(3) 精製フモニシンの静脈内投与試験

離乳雌子ブタ (一群 1 頭) に 0.88 mg/kg 体重の FB1 を 9 日間又は 1.15 mg/kg 体重の FB1 を 4 日間静脈内投与すると、1.15 mg/kg 体重の FB1 を投与したブタでは、投与 1 日後から血清中 ALP 活性が高値となった。病理学的検査の結果、肝臓には巨大化した肝細胞が散在し、壊死した単細胞と増殖細胞がみられた。肺では、小葉間隔壁の肥厚及び胸膜下リンパ管の拡張がみられ、軽度な肺水腫が認められた。脾臓では、腺房で、細胞の萎縮、好酸性の細胞質及び核崩壊又は凝縮した核を有する腺房細胞が散在していた。0.88 mg/kg 体重の FB1 を投与したブタでは、肝臓と脾臓に 1.15 mg/kg 体重の FB1 を 4 日間投与したブタと同じような障害がみられたが、肺に影響は認められなかった。(参照 29. WM Haschek, et al. (1992) #542)

＜参照文献＞

- 1 D. Morgavi and R. Riley. An historical overview of field disease outbreaks
known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with
Fusarium toxins. *Animal Feed Science and Technology*. 2007; 137: 201-212 #473
- 2 W. F. Marasas. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical
perspective. *Environ Health Perspect*. 2001; 109 Suppl 2: 239-43 #17
- 3 R. T. Riley, J. L. Showker, D. L. Owens and P. F. Ross. Disruption of sphingolipid
metabolism and induction of equine leukoencephalomalacia by *Fusarium*
proliferatum culture material containing fumonisin B(2) or B(3). *Environ*
Toxicol Pharmacol. 1997; 3: 221-228 #295
- 4 EHC. Environmental Health Criteria 219: fumonisin B1, International
Programme on Chemical Safety (IPCS; UNEP, ILO and WHO). Eds.
W.H.O. Marasas, J.D. Miller, Riley, R.T. and A. Visconti. WHO, Geneva. 2000;
#337
- 5 K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek. Fumonisins: toxicokinetics,
mechanism of action and toxicity. *Anim. Feed Sci. Technol*. 2007; 137: 299-325
#67
- 6 M. Segvic and S. Pepeljnjak. Fumonisins and their effects on animal health - a
brief review. *Vet. arhiv*. 2001; 71: 299-323 #474
- 7 E. Wang, P. F. Ross, T. M. Wilson, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Increases in
serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in
ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium*
moniliforme. *J Nutr*. 1992; 122: 1706-1716 #300
- 8 T. S. Kellerman, W. F. Marasas, P. G. Thiel, W. C. Gelderblom, M. Cawood and
J. A. Coetzer. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of
fumonisin B1. *Onderstepoort J Vet Res*. 1990; 57: 269-275 #459
- 9 T. M. Wilson, P. F. Ross, D. L. Owens, L. G. Rice, S. A. Green, S. J. Jenkins and
H. A. Nelson. Experimental reproduction of ELEM. A study to determine the
minimum toxic dose in ponies. *Mycopathologia*. 1992; 117: 115-120 #133
- 10 P. F. Ross, P. E. Nelson, D. L. Owens, L. G. Rice, H. A. Nelson and T. M. Wilson.
Fumonisin B2 in cultured *Fusarium proliferatum*, M-6104, causes equine
leukoencephalomalacia. *J Vet Diagn Invest*. 1994; 6: 263-265 #265
- 11 W. F. Marasas, T. S. Kellerman, W. C. Gelderblom, J. A. Coetzer, P. G. Thiel and
J. J. van der Lugt. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1
isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J Vet Res*. 1988; 55: 197-
203 #438
- 12 G. W. Smith, P. D. Constable, J. H. Foreman, R. M. Eppley, A. L. Waggoner, M.

- 1 E. Tumbleson and W. M. Haschek. Cardiovascular changes associated with
2 intravenous administration of fumonisin B1 in horses. Am J Vet Res. 2002; 63:
3 538-545 #100
- 4 13 J. H. Foreman, P. D. Constable, A. L. Waggoner, M. Levy, R. M. Eppley, G. W.
5 Smith, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek. Neurologic abnormalities and
6 cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously.
7 J Vet Intern Med. 2004; 18: 223-230 #240
- 8 14 JECFA. Fumonisin. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001; #465
- 9
10 15 N. P. Kriek, T. S. Kellerman and W. F. Marasas. A comparative study of the
11 toxicity of *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*) to horses, primates, pigs,
12 sheep and rats. Onderstepoort J Vet Res. 1981; 48: 129-131 #131
- 13 16 G. Smith, P. Constable, C. Bacon, F. Meredith and W. Haschek. Cardiovascular
14 effects of fumonisins in swine. Fundam Appl Toxicol. 1996; 31: 169-172 #269
- 15 17 A. Desjardins. Chapter 3. Fumonisin. In *Fusarium mycotoxins: chemistry,*
16 *genetics, and biology.* The American Phytopathological Society, U.S.A. 2006; #51
- 17 18 L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr.
18 Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic
19 metabolite of *Fusarium moniliforme*. J Vet Diagn Invest. 1990; 2: 217-221 #170
- 20 19 W. M. Haschek, L. A. Gumprecht, G. Smith, M. E. Tumbleson and P. D.
21 Constable. Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary
22 edema and current perspectives. Environ Health Perspect. 2001; 109 Suppl 2:
23 251-7 #414
- 24 20 P. F. Ross, L. G. Rice, R. D. Plattner, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, s. D. L. Owen,
25 H. A. Nelson and J. L. Richard. Concentrations of fumonisin B1 in feeds
26 associated with animal health problems. Mycopathologia. 1991; 114: 129-135
27 #267
- 28 21 P. F. Ross, P. E. Nelson, J. L. Richard, G. D. Osweiler, L. G. Rice, R. D. Plattner
29 and T. M. Wilson. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and
30 *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia
31 and a pulmonary edema syndrome in swine. Appl Environ Microbiol. 1990; 56:
32 3225-6 #266
- 33 22 G. D. Osweiler, P. F. Ross, T. M. Wilson, P. E. Nelson, S. T. Witte, T. L. Carson,
34 L. G. Rice and H. A. Nelson. Characterization of an epizootic of pulmonary
35 edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. J Vet Diagn
36 Invest. 1992; 4: 53-9 #470
- 37 23 G. K. Motelin, W. M. Haschek, D. K. Ness, W. F. Hall, K. S. Harlin, D. J.
38 Schaeffer and V. R. Beasley. Temporal and dose-response features in swine fed

- 1 corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins. Mycopathologia.
2 1994; 126: 27-40 #132
- 3 24 B. M. Colvin, A. J. Cooley and R. W. Beaver. Fumonisin toxicosis in swine:
4 clinical and pathologic findings. J Vet Diagn Invest. 1993; 5: 232-241 #484
- 5 25 M. Zomborszky-Kovacs, F. Vetesi, P. Horn, I. Repa and F. Kovacs. Effects of
6 prolonged exposure to low-dose fumonisin B1 in pigs. J Vet Med B Infect Dis
7 Vet Public Health. 2002; 49: 197-201 #164
- 8 26 K. F. Zomborszky-Kovacs M, Horn P, Vetesi F, Repa I, Tornyo G, Toth A
9 Investigations into the time- and dose-dependent effect of fumonisin B1 in
10 order to determine tolerable limit values in pigs. Livestock Production Science.
11 2002; 76: 251-256 #163
- 12 27 P. Dilkin, P. Zorzete, C. A. Mallmann, J. D. Gomes, C. E. Utiyama, L. L. Oetting
13 and B. Correa. Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B(1) and
14 fumonisin B(1)-containing *Fusarium moniliforme* culture material in weaned
15 piglets. Food Chem Toxicol. 2003; 41: 1345-1353 #147
- 16 28 G. W. Smith, P. D. Constable, M. E. Tumbleson, G. E. Rottinghaus and W. M.
17 Haschek. Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in
18 swine fed culture material containing fumonisin. Am J Vet Res. 1999; 60: 1292-
19 300 #270
- 20 29 W. M. Haschek, G. Motelin, D. K. Ness, K. S. Harlin, W. F. Hall, R. F. Vesonder,
21 R. E. Peterson and V. R. Beasley. Characterization of fumonisin toxicity in
22 orally and intravenously dosed swine. Mycopathologia. 1992; 117: 83-96 #542

23

<別添>

BMDL₁₀の試算

1 経緯

近年、JECFA では、アクリルアミド（2010 年）や、デオキシニバレノール（2011 年）¹を評価する際にベンチマークドーズ（Benchmark Dose）法²（BMD 法）が用いられた他、フモニシンの再評価（2011、2016 年）においても BMD 法による毒性評価が行われている。

現在までに、食品安全委員会において、BMD 法による検討が行われた事例は、メチル水銀³（2004 年）、グリシドール（2015 年）、アクリルアミド（2016 年）等限られている。かび毒の毒性評価では、オクラトキシン A（2014 年）の実験動物における発がん影響について BMDL₁₀の試算を行ったが、最終的に、発がん性については NOAEL を基に算出し、BMD 法による試算結果は用いなかった。

今般のフモニシンの評価においても、これらを踏まえてフモニシンの毒性について BMDL₁₀を用いて試算することとした。

2 試算結果

(1) 試算の対象

EFSA の BMD ガイダンス（2009 年）では、NOAEL を同定することが難しいとき、遺伝毒性や発がん性を有する物質などでばく露マージンのための基準値を提供したいとき等に、BMD 法が活用できるとされている。一方、毒性学的意義のある所見について用量反応相関が認められない場合には、BMD 法が適用できないことに留意する必要がある。

¹ JECFA は、デオキシレバニノールの ARfD（Acute Reference Dose:急性参照用量）を求めるにあたり、ブタにおける嘔吐への影響についてベンチマークドーズ法を用いて BMDL₁₀を推計し、この値よりデオキシニバレノール及びそのアセチル体のグループ ARfD を設定した。

² BMDL（Benchmark Dose Lower Confidence Limit）を算出する方法。動物実験から得られる用量・反応レベルのグラフにおいて、有意な影響があるとされる反応レベル（BMR：Benchmark Response、発生毒性で 5%、一般毒性で 10%）をもたらす用量を BMD という。この 95%信頼区間の下限值が BMDL である。BMR を 10%とした場合の BMDL は BMDL₁₀と表される。BMDL は NOAEL に相当するとされる。

³ 魚介類等に含まれるメチル水銀に係るリスク評価（2004 年）では、フェロー諸島の疫学データを基にした BMDL（米国立科学アカデミー調査委員会）とセイシエルのコホート調査の NOAEL を考慮して、週間耐用摂取量（TWI）を設定した。

このことを踏まえると、フモニシンのマウスを用いた 26 週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144)は、NOAEL が得られなかったこと、毒性所見のうち、肝細胞の傷害及び再生の過程で認められた~~マウスの~~巨大肝細胞の増加について毒性学的意義⁴及び用量相関性が認められたこと、本所見について JECFA (2011、2016 年)でも BMDL₁₀が試算されていることから、今回、BMD 法を活用可能な事例として、本試験を用いて BMDL₁₀を試算することとした。その際、JECFA (2011 年)(参照 2. JECFA (2011) #350)と同様に、p53+/-マウス及びその野生型である p53+/+マウス (C57BL/6) の該当病変の発生頻度を合算して試算した。

なお、NOAEL が最少であった F344 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験(参照 3. KA Voss, et al. (1995) #162)の腎毒性の所見について BMDL₁₀の算出の検討を行った。しかし、発生頻度が 0%と 100%を示す以外の用量は一用量 (LOAEL) しかなく、その発生頻度は 90%であり、BMD 法で用量反応相関モデルを適切に算定できる用量反応を示す所見ではなかった。適切な用量反応を推定するためには、0%と 100%以外の発生頻度を示す用量が 2 用量以上必要であるため、この所見については BMD 法を適用できなかった。

(2) 設定した条件

ア：使用したソフト

EPA BMDS Ver.2.6.0.1 及び proast 38.9

イ：BMR

10%

ウ：Restriction⁵

ON と OFF の両方で試算

エ：適合モデルの選択 (棄却条件)

・P 値⁶が 0.1 以下

・BMD/BMDL 比が 10 以上 (NOAEL から外れている)

オ：BMDL₁₀の選択方法

⁴ 巨大肝細胞の増加に加え、肝細胞のアポトーシスについても毒性学的意義があると考えられたが、対照群を含む全群に同様の所見が認められ、発生頻度に用量相関性が認められなかったことから、BMDL₁₀の試算の対象とはしなかった。

⁵ EPA BMDS では、実測データをモデルにフィッティングさせる段階で、パラメータに制限 (Restriction) を設けるオプションを選択することが可能。生物学的に説明できない用量反応曲線にならないように、Restriction on と Restriction off の両方でフィッティングすることを推奨。

⁶ EPA BMDS では、統計モデルに基づく用量反応曲線と実測データとの適合度をカイ二乗検定により評価している。p 値が小さい統計モデルは、実測データから有意に乖離していると考えられ、EPA BMDS では、p>0.1 となる (乖離しているとは言えない) モデルについて、フィッティングが適合していると判断している。

以下 (a) ～ (d) の 4 種類の考え方で $BMDL_{10}$ を検討

(a) アクリルアミドの毒性評価において採用した選択方法 (2016 年)

- ・ 最も低い BMD が得られたモデルを選択した。

(b) JECFA (2011 年)

- ・ Restriction が選択できるモデルは、ON のみ検討の対象とした。
- ・ 最も低い $BMDL_{10}$ を示すモデルを選択した。

(c) EPA テクニカルガイダンス (2012 年)

- ・ モデル依存性がある ($BMDL$ の幅が広い) 場合は、最も低い $BMDL$ 値を選択した。
- ・ モデル依存性がない ($BMDL$ の幅が狭い) 場合は、最も低い AIC^7 を示す統計モデルを選択した。

(d) EFSA ガイダンス (2017 年)

- ・ 最も低い AIC を示す統計モデルを選び、その $AIC+2$ までの範囲に入る統計モデルの中から、最も低い $BMDL_{10}$ を示すモデルを選択した。

(3) 結果 ~~—(詳細は別紙の通り)—~~

	選択したモデル	BMD_{10}	$BMDL_{10}$
(a)	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
(b) JECFA 法	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
(c) EPA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430
(d) EFSA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430

⁷ 赤池情報量基準 (Akaike Information Criterion)。異なる統計モデルの良さを比較するための指標であり、モデルの複雑さと、測定データとの適合度とのバランスを表している。 $-2 \log(L) + 2p$ (モデルの対数尤度とモデルのパラメータ数) で求められる。 AIC が小さいモデルほど、バランスがよい統計モデルであるとされる。

3. 課題

今回、マウスの26週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144)を対象に試算したところ、 $BMDL_{10}$ の選択方法(2.(2).オ(a)～(d)参照)の考え方の違いにより、2通りの $BMDL_{10}$ が得られた。このように、BMD法は、モデルの選択方法及び専門家の判断により、異なる $BMDL_{10}$ が選択される場合がある。

このことを解消するため、EFSAは「モデルの平均化」を重視すべきとするガイダンスを2017年に公表した。モデルの平均化とは、複数の統計モデルをそれぞれの適合度から加重平均する方法で、単一のBMD及び $BMDL_{10}$ が得られる。JECFA(2016年)においても、適切なモデルを選択する従来の方法のほか、モデルの平均化についても検討するよう議論が進められており、統計学的に最も適切な選択方法について海外の専門家の間で検討がなされている状況である。

さらに、今回試算を行ったマウスの26週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144)の巨大肝細胞の増加については、その発生頻度に用量反応性が認められ、 $BMDL_{10}$ の算出が可能であったが、本試験の肝細胞のアポトーシスのように病変の程度にのみ用量反応相関がある病理所見に対してはBMD法を適用できなかった。

このように、BMD法を適用する際は、統計学的妥当性と生物学的妥当性の両面を勘案する必要があり、最終的なモデルの採用は専門家判断に依存している。このことについては、海外の評価機関の間でも具体的に統一化された考え方は示されていない。

以上の状況を鑑み、食品安全委員会では、今後、海外機関での議論を注視しつつ、評価技術企画ワーキンググループにおいて、定量的なリスク評価におけるBMD法の利点を生かすための適切な活用に向けた議論を開始する予定である。

1 < 参照文献 >

- 2
- 3 1 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D.
4 Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long
5 term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53
6 homozygous transgenic mice. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 3604-3613 #144
- 7 2 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.
8 Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee
9 on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350
- 10 3 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred.
11 Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit
12 Contam. 1995; 12: 473-478 #162
- 13