

1 <別添2：モディファイドフモニシンについて>

フモニシンには、「フモニシン評価書」で評価対象としたFB1、FB2及びFB3の遊離型フモニシンの他に、植物、微生物等により代謝されたフモニシン、又は加熱加工過程で構造が変化したフモニシン及びデンプンやタンパク質に共有結合又はフモニシンの構造は変化せずに非共有結合したフモニシンがあることが、分析技術の進歩によって明らかになってきた。

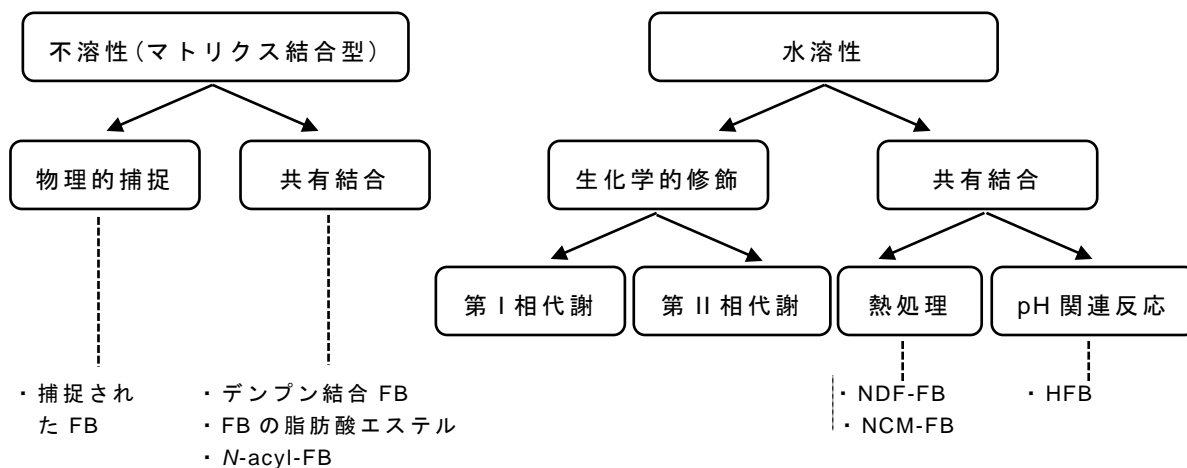
EFSAでは、共有結合や非共有結合も含め構造変化が生じたマイコトキシンを全て「モディファイドマイコトキシン」としている。この中には、デンプンやタンパク質に非共有結合するマトリクス結合型のマイコトキシンも含まれる(参照 1. EFSA (2014) #344)。このような、化学的性状に基づく定義以外に、通常の実験手法では検出できないマイコトキシンとして、「マスクドマイコトキシン」とする、分析技術上の観点に基づく定義もある。

本評価においては、EFSAの定義と同様に遊離型以外の全てのフモニシンを「モディファイドフモニシン」と記載することとした。

1 モディファイドフモニシンの生成

トウモロコシなどの植物から検出されるモディファイドフモニシンとしては、フモニシンの脂肪酸エステルなどがあり(参照 2. F Berthiller et al. (2013) #27)、これらは、食品加工過程における加熱過程等によっても生じる。コーンフレーク及びコーンスナックからはタンパク質と共有結合したFB₁が検出されることが知られているが、これはタンパク質がフモニシンの側鎖であるトリカルボン酸に結合することにより生じる。また、デンプンも同様にフモニシンに共有結合することが知られている(参照 3. JW Park et al. (2004) #26)。さらに、加熱加工により、メイラード反応型の結合体である *N*-(carboxymethyl) fumonisin B₁ (NCM-FB₁)や *N*-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) fumonisin B₁ (NDF-FB₁)が生じることも知られている(参照 4. M Rychlik et al. (2014) #29, 5. HU Humpf et al. (2004) #50)。

また、トルティーヤなどの製造過程におけるトウモロコシ粉のアルカリ処理や喫食後の腸内細菌叢による代謝で、FB₁の側鎖である2つのトリカルボン酸が解離した加水分解フモニシン B₁ (HFB₁)が報告されている(参照 4. M Rychlik, et al. (2014) #29)。主要なモディファイドフモニシンとその予測される生成過程について、図1に示した。



FB: fumonisin
 HFB: hydrolyzed fumonisin
 NDF-FB: *N*-(1-deoxy-D-fructos-1-yl)fumonisin
 NCM-FB: *N*-(carboxymethyl)fumonisin

図1 主要なモディファイドフモニシンとその予測される生成過程
 (参照 1. EFSA (2014) #344)より引用

2. 毒性に関する知見

モディファイドフモニシンの知見は限られているが、FB1と比較するとそれらの毒性は低いと考えられている。以下に加水分解物であるHFB1及び化学修飾を受けたフモニシンの毒性に関する知見を整理した。

(1) HFBの毒性知見

B6C3F1 雌性マウス (一群 8 匹) に 14、72 又は 143 $\mu\text{mol/kg}$ の FB1 (10、52 又は 103 mg/kg 試料に相当) を含む飼料及び 13、65 又は 131 $\mu\text{mol/kg}$ (5、26 又は 53 mg/kg 試料に相当) の HFB1 を含む飼料をそれぞれ 28 日間給与する毒性試験が実施された。FB1 投与群では、72 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料以上の投与群に血液化学的及び組織学的に肝臓毒性が認められ、全ての FB1 投与群で肝臓中セラミドの有意な減少及び Sa/So 比の有意な増加が認められた。一方、HFB1 投与群では、血液化学検査、組織学検査に異常は認められず、肝臓セラミド濃度及び Sa/So 比に変化はみられなかった (参照 6. PC Howard et al. (2002) #77)。

マウス又はラットを用いた生殖発生毒性試験が実施されている。妊娠 LM/Bc マウス (一群 10 匹) に、HFB1 を 2.5、5、10、20 mg/kg 体重/日の

1 用量で妊娠7及び8日目に腹腔内投与した結果、胎児に異常は認められな
2 かった。(参照 7. KA Voss et al. (2009) #84)。妊娠ラット(系統不明、一
3 群30~31匹)に、HFB1を0、15、30、60、120 mg/kg 体重/日の用量で妊
4 娠3~16日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。母ラットで
5 は、60及び120 mg/kg 体重投与群に有意な飼料摂取量減少及び30、60及
6 び120 mg/kg 体重投与群で投与20日目に体重増加量の有意な低下がみら
7 れた。胎児にHFB1の影響は認められなかった。母動物及び胎児組織に
8 Sa/So比の変化もみられなかった(参照 8. TF Collins et al. (2006) #284)。

9 子ブタにFB1又はHFB1(一群6匹)を2.8 µmol/kg 体重/日の用量で
10 2週間強制経口投与する毒性試験が実施された。FB1投与群には肝障害が
11 みられたが、HFB1投与群の肝臓に血液化学的及び組織学的変化は認めら
12 れなかった。(参照 9. B Grenier et al. (2012) #146)。

13
14 雄性Sprague-Dawleyラット(一群4匹)に、FB1又はHFB1をそれぞ
15 れ13.9 µmol/kg 飼料の濃度で混餌投与し、投与0、7、14及び21日目に
16 糞尿を採取した。FB1投与群の尿にFB1が検出されたが、HFB1投与群
17 の尿にHFB1及びFB1は検出されず、尿中Sa/So比の変化もみられな
18 かったことより、HFB1はほとんど吸収されないと考えられた。(参照 10. I
19 Hahn et al. (2015) #283)。

20 雄性Fischerラット(一群5匹)に、HFB1又はHFB2を500 mg/kg 又
21 は1000 mg/kg の濃度で21日間混餌投与し、2-アセチルアミノフルオレ
22 ン(2-AAF)を経口投与後部分肝切除する7週間肝短期発がん試験が実施
23 されている。FB1、FB2又はFB3の投与群の肝臓ではGGT陽性細胞巢の
24 形成が認められたが、HFB1及びHFB2投与群ではGGT陽性細胞巢の形
25 成はみられなかった(参照 11. WC Gelderblom et al. (1993) #169)。

26
27 ラット初代肝細胞培養に種々のフモニシンを添加し、乳酸脱水素酵素
28 (LDH)の放出を指標に細胞毒性を調べた*in vitro*試験の結果では、加水
29 分解フモニシンに親化合物より強い細胞毒性が報告されている(参照 11.
30 WC Gelderblom, et al. (1993) #169)。

31 雄のSprague-Dawleyラットの肝臓スライスを用いて、*F. verticillioides*
32 及び*F. proliferarum*培養物から分離したFB1、FB2、FB3、*N*-アセチル
33 化FB1(FA1)、HFB1、HFB2又はHFB3のセラミド合成阻害作用を調べ
34 た結果、最も阻害作用が高かったのはFB1であった。HFB1、HFB2及び
35 HFB3のセラミド合成阻害作用は、FB1、FB2及びFB3のそれぞれ30~
36 40%であった。FA1にセラミド合成阻害作用はみられなかった(参照 12.
37 WP Norred et al. (1997) #7)。

1 (2) 化学修飾を受けたフモニシンの毒性知見

2 雄性 F344 ラット（一群 6 匹）に、精製 FB1、HFB1 又は FB1-果糖結合
3 物を、0.69、6.93 又は 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ 体重の用量で強制経口投与し、投与
4 96 時間後まで尿及び糞を採取した。尿の分析の結果、FB1-果糖結合物は
5 最も高率に吸収されることが示された。 ^{14}C -FB1、 ^{14}C -HFB1 及び ^{14}C -
6 FB1-果糖結合物を 0.69 $\mu\text{mol/kg}$ 体重の用量で雌雄 F344 ラット（一群 3 匹）
7 に強制経口投与すると、尿中への排泄は HFB1>FB1-果糖結合物> FB1 の
8 順に多かった(参照 13. EC Hopmans et al. (1997) #2)。

9 F344 ラット（一群 6~7 匹）を用いた肝短期発がん試験として、ラット
10 にジエチルニトロソアミン（DEN）を腹腔内投与後、FB1 又は果糖-FB1
11 をそれぞれ 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ の濃度で含む飼料を 4 週間混餌投与した結果、
12 果糖-FB1 投与群では、血液生化学検査で異常は認められず、肝臓の GSTP
13 及び GGT 陽性肝細胞巢の増加はみられなかった(参照 14. Z Lu et al.
14 (1997) #4)。

15
16 B6C3F1 雌性マウス（一群 8 匹）に *N*-カルボキシメチル FB1(NCM-FB1)
17 を 14、70 又は 140 $\mu\text{mol/kg}$ 含む飼料（11、15 又は 111 mg/kg 飼料に相
18 当）を 28 日間混餌投与する毒性試験が実施された。血液生化学検査、肝
19 臓セラミド濃度、Sa/So 比、病理組織学的検査のいずれにおいても、NCM-
20 FB1 投与群に異常は認められなかった(参照 6. PC Howard, et al. (2002)
21 #77)。雄性 Sprague-Dawley ラット（一群 4 匹）に 13.9 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料の
22 NDF-FB1 を混餌投与し、0、7、14 及び 21 日に糞尿を採取した。糞中に
23 FB1 及び NDF-FB1 が認められ、尿では NDF-FB1 のみが検出された。組
24 織中の Sa/So 比に変化は認められなかった(参照 10. I Hahn, et al. (2015)
25 #283)。

26
27 FB1 のアセチル化体である FA1 は、(1) で述べたように、雄の Spague-
28 Dawley ラットの肝臓スライスを用いた試験において、セラミド合成抑制
29 作用を示さなかった(参照 12. WP Norred, et al. (1997) #7)。また、ラッ
30 トを用いた 7 週間肝短期発がん試験において、FA1 投与群の肝臓に GGT
31 陽性細胞巢の形成はみられなかった(参照 11. WC Gelderblom, et al.
32 (1993) #169)。FA1 は 1 年の冷蔵保存後に *O*-アセチル化 FB1 を生成する
33 ことが示されている。この *O*-アセチル化 FB1 を含む FA1 は、ラット肝臓
34 スライスを用いた試験で Sa/So 比の上昇を示したことが報告されている
35 (参照 15. WP Norred et al. (2001) #3)。

36
37 近年、分析法の発達により、*N*-Linoleyl、*N*-Oleyl、*N*-Palmitoyl 及び *N*-
38 Stearyl FB1 及び HFB1 などのアシル化フモニシンが市販のトルティーヤ

1 チップで検出されたことが報告されている(参照 16. JW Park et al.
2 (2013) #31)。雄性 F344 ラット (一群 2 匹) に 0、0.5、1.0 及び 2.0 mg/kg
3 体重/日 (0.69、1.38 及び 2.77 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日に相当) の用量で FB1 を、
4 1.0 mg/kg 体重/日の用量 (2.47 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日に相当) で HFB1 を 5 日
5 間腹腔内投与した。最終投与日の翌日に、肝臓及び腎臓中のフモニシン化
6 合物を分析した結果、肝臓及び腎臓に *N*-アシル化 FB1 が最大 0.4 nmol/g
7 又は *N*-アシル化 HFB1 が最大 2.7 nmol/g の濃度で検出された。FB1 及び
8 HFB1 濃度はそれぞれ最大 10 及び 1.7 nmol/g であった(参照 17. H Harrer
9 et al. (2015) #11)。FB1 及び HFB1 は、細胞内でセラミド合成酵素により
10 アシル化されることが報告されている。FB1、HFB1 又は種々の長さの側
11 鎖を有する脂肪酸結合 FB1 をヒト肝細胞癌由来細胞株 Hep3B 細胞、ヒト
12 胎児腎細胞由来細胞株 HEK 細胞又はヒト線維芽細胞に暴露させ、LDH 放出
13 を指標として細胞毒性が調べられた。20 μM の FB1 は細胞毒性を示さな
14 かったが、それぞれ 20 μM の C16:0、C18:0 及び C24:1 アシル化 FB1 は
15 いずれの細胞に対しても同程度の細胞毒性を示した。著者らは、アシル化
16 FB1 の *in vivo* における影響を調べる必要があると考察している(参照 18.
17 H Harrer et al. (2013) #104)。
18

19 3 諸外国における評価

20 モディファイドフモニシンについては、EFSA の 2014 年の意見書に記
21 載されている(参照 1. EFSA (2014) #344)。トウモロコシ等から検出され
22 たモディファイドフモニシンのデータによると、親化合物の 60%のモディ
23 ファイドフモニシンの混入があるとされている。したがって、フモニシン
24 の汚染実態調査で得られた値を 1.6 倍したものが、フモニシンとモディフ
25 アイドフモニシンの合計ばく露量と推定されるが、ヨーロッパ諸国におけ
26 るフモニシンの長期にわたる食事を介したばく露量を考慮した場合、フモ
27 ニシンのグループ TDI である 2 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日と比較すると、1~10 歳の
28 小児のばく露量が TDI を超えると見積もられている。
29
30

1 < 参照 >

- 2 1 EFSA. Scientific opinion on the risks for human and animal health related to
3 the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. . EFSA
4 Journal. 2014; 12: 3916 #344
- 5 2 F. Berthiller, C. Crews, C. Dall'Asta, S. D. Saeger, G. Haesaert, P. Karlovsky, I.
6 P. Oswald, W. Seefelder, G. Speijers and J. Stroka. Masked mycotoxins: a review.
7 Mol Nutr Food Res. 2013; 57: 165-186 #27
- 8 3 J. W. Park, P. M. Scott, B. P. Lau and D. A. Lewis. Analysis of heat-processed
9 corn foods for fumonisins and bound fumonisins. Food Addit Contam. 2004; 21:
10 1168-1178 #26
- 11 4 M. Rychlik, H. U. Humpf, D. Marko, S. Danicke, A. Mally, F. Berthiller, H.
12 Klaffke and N. Lorenz. Proposal of a comprehensive definition of modified and
13 other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. Mycotoxin Res. 2014;
14 30: 197-205 #29
- 15 5 H. U. Humpf and K. A. Voss. Effects of thermal food processing on the chemical
16 structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. Mol Nutr Food Res. 2004; 48:
17 255-269 #50
- 18 6 P. C. Howard, L. H. Couch, R. E. Patton, R. M. Eppley, D. R. Doerge, M. I.
19 Churchwell, M. M. Marques and C. V. Okerberg. Comparison of the toxicity of
20 several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F(1)
21 mice. Toxicol Appl Pharmacol. 2002; 185: 153-165 #77
- 22 7 K. A. Voss, R. T. Riley, M. E. Snook and J. G. Waes. Reproductive and
23 sphingolipid metabolic effects of fumonisin B(1) and its alkaline hydrolysis
24 product in LM/Bc mice: hydrolyzed fumonisin B(1) did not cause neural tube
25 defects. Toxicol Sci. 2009; 112: 459-467 #84
- 26 8 T. F. Collins, R. L. Sprando, T. N. Black, N. Olejnik, R. M. Eppley, M. E.
27 Shackelford, P. C. Howard, J. I. Rorie, M. Bryant and D. I. Ruggles. Effects of
28 aminopentol on in utero development in rats. Food Chem Toxicol. 2006; 44: 161-
29 169 #284
- 30 9 B. Grenier, A. P. Bracarense, H. E. Schwartz, C. Trumel, A. M. Cossalter, G.
31 Schatzmayr, M. Kolf-Clauw, W. D. Moll and I. P. Oswald. The low intestinal and
32 hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B(1) correlates with its inability to
33 alter the metabolism of sphingolipids. Biochem Pharmacol. 2012; 83: 1465-1473
34 #146
- 35 10 I. Hahn, V. Nagl, H. E. Schwartz-Zimmermann, E. Varga, C. Schwarz, V. Slavik,
36 N. Reisinger, A. Malachova, M. Cirilini, S. Generotti, C. Dall'Asta, R. Krska, W.
37 D. Moll and F. Berthiller. Effects of orally administered fumonisin B(1) (FB(1)),
38 partially hydrolysed FB(1), hydrolysed FB(1) and N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl)

- 1 FB(1) on the sphingolipid metabolism in rats. *Food Chem Toxicol.* 2015; 76: 11-
2 18 #283
- 3 11 W. C. Gelderblom, M. E. Cawood, S. D. Snyman, R. Vlegaar and W. F. Marasas.
4 Structure-activity relationships of fumonisins in short-term carcinogenesis and
5 cytotoxicity assays. *Food Chem Toxicol.* 1993; 31: 407-414 #169
- 6 12 W. P. Norred, R. D. Plattner, M. A. Dombrink-Kurtzman, F. I. Meredith and R.
7 T. Riley. Mycotoxin-induced elevation of free sphingoid bases in precision-cut
8 rat liver slices: specificity of the response and structure-activity relationships.
9 *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997; 147: 63-70 #7
- 10 13 E. C. Hopmans, C. C. Hauck, S. Hendrich and P. A. Murphy. Excretion of
11 fumonisin B1, hydrolyzed fumonisin B1, and the fumonisin B1-fructose adduct
12 in rats. *J Agric Food Chem.* 1997; 46: 2618-2625 #2
- 13 14 Z. Lu, W. R. Dantzer, E. C. Hopmans, V. Prisk, J. E. Cunnick, P. A. Murphy and
14 S. Hendrich. Reaction with fructose detoxifies fumonisin B1 while stimulating
15 liver-associated natural killer cell activity in rats. *J Agric Food Chem.* 1997;
16 45: 803-809 #4
- 17 15 W. P. Norred, R. T. Riley, F. I. Meredith, S. M. Poling and R. D. Plattner.
18 Instability of N-acetylated fumonisin B1 (FA1) and the impact on inhibition of
19 ceramide synthase in rat liver slices. *Food Chem Toxicol.* 2001; 39: 1071-8 #3
- 20 16 J. W. Park, P. M. Scott and B. P. Y. Lau. Analysis of N-fatty acyl fumonisins in
21 alkali-processed corn foods. *Fd Sci Biotech.* 2013; 22: 147-152 #31
- 22 17 H. Harrer, H. U. Humpf and K. A. Voss. In vivo formation of N-acyl-fumonisin
23 B1. *Mycotoxin Res.* 2015; 31: 33-40 #11
- 24 18 H. Harrer, E. L. Laviad, H. U. Humpf and A. H. Futerman. Identification of N-
25 acyl-fumonisin B1 as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins. *Mol*
26 *Nutr Food Res.* 2013; 57: 516-522 #104
- 27