

「研究内容」

研究課題名	メラミンによる腎不全の発生機序の解明と健康影響評価手法の確立
主任研究者	郡 健二郎 (名古屋市立大学大学院医学研究科)
研究成果概要	2008年に中国でメラミン混入食品により、腎結石と腎不全の発症に伴い乳幼児が死亡する事件が発生した。それをうけて、本研究では、その発症機序の解明と対策の確立を、メラミン結石動物を作成して調べた。先ず始めに、メラミン結晶はメラミン単独投与では形成されず、類似化合物であるシアヌル酸と尿中で反応することによりはじめて形成されることが判った。そこでメラミンとシアヌル酸との混合投与による14日目までの評価では、12mg/体重kg/day以上を投与すると腎結晶の形成を認めたが、8mg/kg/day以下の群では明らかな健康被害は見られなかった。組織学的検討からは、腎不全の形成機序はメラミンが腎尿細管腔内で濃縮される段階で析出し、腎尿細管の閉塞により腎障害を引き起こすものと考えられた。雌雄差については、腎の瘢痕形成は、雄の方が雌よりも著しくみられ、腎結石の形成量についても雄は雌の約1.5倍の結石形成を認めた。また、投与した実験動物の週齢による比較では、6、10、26週齢と、週齢と共に結石形成が多かった。約1年にわたる経過観察では、メラミン投与中止後28日目にも腎組織の瘢痕形成は残存していたが、メラミンによる健康被害リスクが発生しても、摂取中止を行うことで、その健康被害が改善する傾向にあり、約半年間で消失することが判明した。

研究課題名	日本沿岸海域における熱帯・亜熱帯性魚毒による食中毒発生リスクの評価法の開発
主任研究者	足立 真佐雄 (高知大学教育研究部自然化学系)
研究成果概要	近年、わが国においては地球温暖化による沿岸海域の海水温上昇に伴い、熱帯・亜熱帯性魚毒による食中毒の発生リスクの上昇が懸念されている。これらの魚毒性中毒は、微細藻類由来の神経毒が食物連鎖を通じて魚類に蓄積することにより起こるとされているが、その原因毒、さらには毒を生産する原因生物に関する情報が不足しているため、本中毒発生のリスク評価が行えない状況にある。そこで本研究では、本邦沿岸海域における代表的な熱帯・亜熱帯性魚毒であるパリトキシン(PTX)様中毒とシガテラ中毒の発生リスクの評価法を開発しようとした。まず、両中毒の原因藻とされているオストレオプシス属藻類ならびにガンビエールディスカス属藻類の本邦における分布について検討したところ、前者は4種が、後者は5種がそれぞれ分布していることが判明した。これらのうち、少なくとも6種はマウス毒性を示した。さらに、これらの有毒種に特異的なリアルタイムPCR法による検出・定量法の新規開発に成功した。また、LC-MS/MSを用いることにより、両中毒の原因毒とされるPTX類ならびにCTX類の高感度かつ高精度な同定・定量法をそれぞれ新規開発した。本手法により国内産オストレオプシス株を分析した結果、主要毒はPTXの1種であり新規なオバトキシンaの異性体と考えられる42-hydroxy-16,44,70-trideoxypalytoxin (オバトキシンaAC)と推定された。一方、国内産ガンビエールディスカス株についてはCTX類が検出されなかった。また、本法を用いてアオブダイ中毒検体を分析したが、PTX類縁体は検出されなかった。

研究課題名	アルキルシクロブタン類を指標とした照射食品の安全性解析
主任研究者	古田 雅一 (大阪府立大学地域連携研究機構放射線研究センター)
研究成果概要	<p>食品の放射線照射で特異的に分解生成物するとされる、2-アルキルシクロブタン類（2-ACBs）に対し、指摘されている遺伝毒性やラットの実験的大腸発がんモデル系での発がんプロモーター活性の追試験を含む毒性試験を実施した。その際、2-ACBsの生成の放射線照射特性の再検証を行った。</p> <p>2008年に1例だけ天然存在の報告のあるナツメグおよびカシューナッツを分析対象とし、HRGC-MSを用いた新規高感度分析法を適用しても、未照射試料からの2-ACBs検出は確認されず、一方で照射試料では1.2~3.6 nmole/mole 前駆脂肪酸/kGyの効率で2-ACBsが生成していた。よって、2-ACBsは非照射食品中では検出されず、この化合物を指標とした放射線照射食品の安全性評価研究は妥当なものと判断された。</p> <p>2-ドデシルシクロブタノン（2-dDCB）および、2-テトラデシルシクロブタノン（2-tDCB）を最大濃度8 mMまでのEtOH溶液としたAmes試験は陰性で、コメットアッセイでは、2-dDCBで分析した最高濃度（0.10 mg/mL）で細胞毒性の指標であるヘッジホッグの頻度が上昇したが、両者ともにDNA切断は認められなかった。また、2-dDCB については染色体の構造異常も陰性であった。なお、ヒトリンパ腫細胞株U937 に対して2-dDCB、2-tDCB、親脂肪酸であるパルミチン酸（PA）及びステアリン酸（SA）が、活性酸素ストレスによる濃度依存的アポトーシス活性を示していた。</p> <p>Bhas42細胞を用いるin vitro形質転換試験においては2-dDCBのイニシエーション作用は陰性であったが、プロモーション作用については、2-dDCB（0.012 mg/mL）及び2-tDCB（0.010 mg/mL）ともに明らかに陽性を示した。一方、CD1 (ICR) マウスを用いた経口投与による小核試験においては、2-dDCB、2-tDCB共に2,000 mg/kg/dayの経口投与で骨髓細胞に染色体異常を誘発せず、そのマウス結腸組織DNAに対するDNAアダクト形成も認められなかった。ラットによる90日間亜急性毒性試験の結果、2-tDCB の無毒性量は雌雄とも0.0012%混餌（雄:0.62 mg/kg体重/日、雌:0.67 mg/kg体重/日）と考えられた。ラットによる下部消化管二段階発がん試験においては先行研究の混餌濃度より高濃度条件（0.025%）においても陰性であり、その大腸粘膜DNAに対するDNAアダクト形成も認められなかった。</p>

研究課題名	かび毒・きのこ毒の発生要因を考慮に入れたリスク評価方法の開発
主任研究者	小西 良子 (国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部)
研究成果概要	<p>本研究では、米のかび毒やきのこ毒をハザードとし、1) 米カビ毒の摂取形態モデルの構築、2) 米のかび毒の一斉分析、3) 毒性影響、4) スギヒラタケの食中毒病因物質を研究項目として、これらを考慮に入れたリスク評価手法を開発することを目的とした。1) ではまず米を対象に、アフラトキシン、オクラトキシンA、シトリニンを経路とし、これらのカビ毒の炊飯工程における減衰率を明らかにした。2) 食品に付着しているかび菌とそのかび毒産生能の解析および米に汚染する可能性のあるカビ毒を特定し、LC-MS/MSを用いて、アフラトキシン、ステリグマトシスチン、オクラトキシンA、シトリニン、パツリン、フモニシンについて、効率的な一斉分析条件を見出した。3) オクラトキシンAの発がんリスクをレポーター遺伝子導入動物を用い解明した。その結果オクラトキシンAは腎髄質外帯部に限局的に遺伝毒性を有する可能性が強く示唆された。カビ毒に関する以上の成果から、調理による減衰を考慮に入れた各年齢層の暴露評価およびリスク評価が簡便にできるシミュレーションシートを作成した。このシートに一斉分析などのモニタリング結果から得られた汚染量を挿入するだけで、瞬時にそれぞれのカビ毒の発がんリスクを含めたリスク評価を行うことができる。4) スギヒラタケの食中毒病因物質の疑いが最も高いシアン配糖体の化学構造を明らかにしその毒性機序を明らかにした。この結果はスギヒラタケのリスク評価に役立つとともにリスクコミュニケーションにも資するものである。</p>

研究課題名	ビスフェノールAによる神経発達毒性の新たな評価手法の開発
主任研究者	遠山 千春 (東京大学大学院医学系研究科)
研究成果概要	<p>妊娠期への微量の化学物質曝露による中枢神経系への影響を見逃さず検出し、その質と程度を明らかにするためには、個体レベルの現象を発達期の一点だけを見るのではなく、発達時系列的变化を捉えることができる評価手法を開発することが必要である。本研究では、低用量曝露によつての発達障害を引き起こすことが報告されているビスフェノールA (BPA) をモデル化学物質とし、脳の微細形態の発達形成とこれに及ぼす影響を捉える現象把握型のアプローチによる影響評価手法の構築を目的とした。神経細胞の微細形態を観察するため、神経細胞がまばらに光るThy-1XFPマウスの毒性実験への適用可能性を検討し、これを用いることでBPA曝露が発達期の大脑海馬における微細形態を変化させることを見出した。また子宮内電気穿孔法により新生ニューロン特異的に蛍光遺伝子を導入して可視化することで、大脳形成過程を評価する技術を毒性実験に適用し、BPA曝露により大脳皮質の神経細胞移動に異常が生じていることを見出した。さらに、微細形態解析で影響が検出された海馬各領域の遺伝子発現解析を行い、BPA毒性メカニズムに関わる候補遺伝子を絞り込むことができた。以上の結果から発達期のBPA低用量曝露は大脳の形成に異常をもたらす可能性があることが示された。個体レベルでの行動試験により得られた異常現象を微細形態レベルで理解するうえで基盤となる知見をうることができた。</p>

～ 発表者の紹介 ～

郡 健二郎（こおり けんじろう）



名古屋市立大学大学院医学研究科 腎・泌尿器科学分野 教授
1973年3月大阪大学医学部卒業。1993年9月名古屋市立大学教授 医学部泌尿器科。2001年4月名古屋市立大学病院長(兼任：2003年3月まで)。2003年4月名古屋市立大学大学院医学研究科 腎・泌尿器科学分野教授(現職)2005年4月名古屋市立大学大学院医学研究科長・医学部長(兼任：2009年3月まで)。
2004年11月 日本医師会医学賞受賞。2008年5月紫綬褒章受章。
所属学会：日本泌尿器科学会理事、日本尿路結石症学会理事長。

足立 真佐雄（あだち まさお）



高知大学教育研究部自然科学系農学部門教授
京都大学大学院農学研究科博士後期課程修了 博士(農学)。1994年日本学術振興会・特別研究員、1995年に高知大学農学部講師として赴任し、助教授を経て、2005年より現職。2005年より愛媛大学大学院連合農学研究科兼担。2005年に、米国モンレー湾水族館附置研究所(MBARI)に留学。
研究領域は、海洋環境微生物学(とりわけ有害・有毒な微細藻に関わる研究や微細藻類の有効利用に関わる研究など)、マリンバイオテクノロジー。

古田 雅一（ふるた まさかず）



大阪府立大学地域連携研究機構放射線研究センター量子線化学生物学研究室教授
京都大学農学系研究科修士課程修了(農学博士)。1985年大阪府立放射線中央研究所(現、大阪府立大学地域連携研究機構放射線研究センター)入所。2005年大阪府立大学理学研究科生物科学専攻へ異動(助教授)、准教授を経て2011年4月より現職。
専門は放射線を含む殺菌生理科学、食品照射。
日本防菌防黴学会評議員、日本食品照射研究協議会理事、放射線照射利用促進協議会理事。

小西 良子（こにし よしこ）



国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部長

東京大学農学系研究科博士課程修了（農学博士）。1986年国立予防衛生研究所（現、国立感染症研究所）入所。2002年国立医薬品食品衛生研究所へ異動、2007年4月より現職。

専門は食品衛生学、マイコトキシンの毒性、分析法およびリスク評価。食品安全委員会カビ毒・自然毒専門調査会専門委員、厚生労働省「薬事・食品衛生審議会委員」日本マイコトキシン学会長、日本食品衛生学会理事、日本食品微生物学会理事、日本防菌防黴学会理事

遠山 千春（とおやま ちはる）



東京大学大学院医学系研究科教授

University of Rochester博士課程修了（Ph.D）、1981年国立環境研究所（現、国立環境研究所）環境保健部研究員、2001年国立環境研究所環境健康研究領域長、2005年より現職。研究領域は毒性学・環境保健学。WHO、JECFA及びEFSAのTemporary Adviser。環境省中央環境審議会等の専門委員。現在、日本衛生学会理事長、日本毒性学会理事、環境ホルモン学会理事及びToxicological Sciences Associate Editor。