

かび毒評価書（案）

オクラトキシンA （第2版）

令和8年（2026年）7月

食品安全委員会
かび毒・自然毒等専門調査会

【事務局より】

オクラトキシンA（OTA）については、2014年に自らの判断で食品健康影響評価を実施し、「オクラトキシンA」の評価書を作成しています。

今般、厚生労働省（現在の所管は消費者庁）より、小麦及び大麦についてOTAの規格基準を設定することに関する評価依頼を受けております。

原則として第1版の記述は維持しつつ、追記を行うとともに、第1版の評価から時間が経過していることを踏まえ、記述内容、構成等の変更については、適宜修正を行う方向で進めます。

第1版からの修正箇所は赤字で、専門委員及び専門参考人からのご意見は青字で記載しています。なお、前回の第65回かび毒・自然毒等専門調査会（以下「第65回調査会」という。）にて修正内容をご了承いただいた箇所については、修正を反映しております。

目 次

	頁
＜審議の経緯＞	6
＜食品安全委員会委員名簿＞	8
＜食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿＞	10
要 約	15
I. 背景	16
1. 経緯	16
2. 現行規制等	16
(1) 国内規制等	16
(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値	17
II. 評価対象物質の概要	17
1. 名称、分子式、分子量、構造式	17
2. 物理化学的特性	19
3. 産生生物	19
4. 発見の経緯	22
III. 安全性に係る知見の概要	24
1. 実験動物等における体内動態	24
(1) 吸収、分布、代謝、排泄	26
① 消化管での代謝・変換	26
② 吸収	27
③ 分布	28
④ 代謝	36
⑤ 排泄	38
(2) 酵素及び他の生化学的パラメータへの影響	40
(3) 吸収、分布、代謝、排泄に係るOTA評価書第1版以降の追加知見 (案)	42
(4-3) 実験動物等における体内動態のまとめ	46
2. 実験動物等における毒性	47
(1) 急性毒性	48
(2) 亜急性毒性	49
① マウス	55
② ラット	55
③ ニワトリ	58
④ ウサギ	59
⑤ イヌ	59
⑥ ブタ	60
(3) 急性毒性・亜急性毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	63
① マウス	65

② ラット	66
(3 4) 慢性毒性・発がん性	67
① 44 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）	69
② 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）	70
③ 24か月間発がん性試験（マウス、混餌投与）	71
④ 13週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	72
⑤ 9か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	73
⑥ 15か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	73
④ 90日間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	73
⑤ 2年間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	74
⑧ 90日間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	79
⑥ 2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）	80
⑦ 2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）	80
⑧ 2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）	80
⑨ 1年間慢性毒性試験（ブタ、混餌投与）	81
⑩ 2年間発がん性試験（ブタ、混餌投与）	81
(4 5) 生殖発生毒性	81
① マウス	84
② ラット	85
③ ウサギ	87
④ ウシ	87
(6) 生殖発生毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	87
(5 7) 遺伝毒性	91
① 遺伝子突然変異	101
② 染色体異常試験及び小核試験	103
③ DNA損傷及び修復	104
(8) 遺伝毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	105
(6 9) その他（神経毒性、免疫毒性）	111
① 神経毒性	111
① マウス	111
② ラット	111
(10) 神経毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	112
(11) ② 免疫毒性	114
(12) 免疫毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	118
(●) 神経毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	118
(●) 免疫毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）	120
(7 13) 腫瘍形成の機序等	120
① OTAの腎毒性とトランスポーター	121
② OTAの発がん性メカニズム	122
(8 14) 毒性試験のまとめ	157
3. ヒトにおける知見	159
(1) 各国におけるばく露量	159

① 血液中 OTA 濃度	159
② 尿中OTA濃度	161
③ 母乳中OTA濃度	162
④ OTAばく露のバイオマーカー	164
⑤ OTAばく露量の推定	164
（2）疫学研究	166
（3）ヒトにおける知見のまとめ	170
4. 諸外国における評価	170
（1）FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）	170
（2）国際がん研究機関（IARC）	171
（3）欧州食品安全機関（EFSA）	172
（4）カナダ保健省（Health Canada）	173
5. 日本におけるばく露状況	174
（1）汚染実態	174
（2）ばく露量の推定	177
（3）加工・調理によるOTAの減衰	179
IV. 食品健康影響評価	182
<略称>	185
<参照>	187
<参考資料1>	227
<参考資料2>	230

1 <審議の経緯>

2 第1版関係

2009年	3月	19日	第278回食品安全委員会（自ら評価の実施を決定）
2010年	6月	18日	第17回かび毒・自然毒等専門調査会
2010年	8月	27日	第18回かび毒・自然毒等専門調査会
2010年	10月	26日	第19回かび毒・自然毒等専門調査会
2011年	3月	8日	第20回かび毒・自然毒等専門調査会
2013年	6月	21日	第25回かび毒・自然毒等専門調査会
2013年	8月	2日	第26回かび毒・自然毒等専門調査会
2013年	9月	5日	第27回かび毒・自然毒等専門調査会
2013年	9月	25日	第28回かび毒・自然毒等専門調査会
2013年	10月	28日	第492回食品安全委員会（報告）
2013年	10月	29日	国民からの御意見・情報の募集
	～	11月	27日
2014年	1月	23日	かび毒・自然毒等専門調査会座長より食品安全委員会委員長に報告
2014年	1月	27日	第501回食品安全委員会（報告・審議） （同日付けで厚生労働大臣及び農林水産大臣へ通知）

3

4 第2版関係

2024年	2月	28日	厚生労働省から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2024年	3月	5日	第932回食品安全委員会（要請事項説明）
2024年	3月	21日	第56回かび毒・自然毒等専門調査会
2024年	3月	27日	厚生労働省に対し、評価に必要な補足資料の提出を依頼
2024年	11月	7日	補足資料の接受
2024年	11月	15日	第57回かび毒・自然毒等専門調査会
2025年	7月	16日	第58回かび毒・自然毒等専門調査会
2025年	9月	29日	第59回かび毒・自然毒等専門調査会
2025年	11月	10日	第60回かび毒・自然毒等専門調査会
2025年	12月	1日	第61回かび毒・自然毒等専門調査会
2026年	2月	20日	第62回かび毒・自然毒等専門調査会
2026年	3月	18日	第63回かび毒・自然毒等専門調査会
2026年	6月	1日	第64回かび毒・自然毒等専門調査会

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

2026年 6月 17日 第65回かび毒・自然毒等専門調査会
2026年 7月 27日 第66回かび毒・自然毒等専門調査会

1 <食品安全委員会委員名簿>

2009年6月30日まで

見上 彪（委員長）
小泉直子（委員長代理）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
本間清一

2009年7月1日から

2011年1月6日まで

小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

2011年1月7日から

2012年6月30日まで

小泉直子（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓
野村一正
畑江敬子
廣瀬雅雄
村田容常

2012年7月1日から

2015年6月30日まで

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森国敏（委員長代理）
石井克枝
上安平冽子
村田容常

*2011年1月13日から

2
3

2021年7月1日から

2024年6月30日まで

山本茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）
川西 徹（委員長代理 第二順位）
脇 昌子（委員長代理 第三順位）
香西みどり
松永和紀
吉田 充

2024年7月1日から

2026年1月6日まで

山本茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）
祖父江友孝（委員長代理 第二順位）
頭金正博（委員長代理 第三順位）
小島登貴子
杉山久仁子
松永和紀

4

2026年1月7日から

祖父江友孝（委員長）

浅野 哲（委員長代理 第一順位）

頭金正博（委員長代理 第二順位）

春日文子（委員長代理 第三順位）

小島登貴子

杉山久仁子

松永和紀

＜食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿＞

2009年10月1日から2011年1月6日まで

熊谷 進（座長*）	渋谷 淳
高島浩介（座長代理*）	長島裕二
荒川 修	伏谷伸宏
大島泰克	矢部希見子
川原信夫	山浦由郎
久米田裕子	山崎寛治
合田幸広	山田雅巳
小西良子	芳澤宅實

*2009年12月4日から

2011年3月1日から2011年9月30日まで

芳澤宅實（座長**）	渋谷 淳
高島浩介（座長代理**）	長島裕二
荒川 修	伏谷伸宏
大島泰克	宮崎 茂
川原信夫	矢部希見子
久米田裕子	山浦由郎
合田幸広	山崎寛治
小西良子	山田雅巳

**2011年3月8日から

2011年10月1日から2013年9月30日まで

芳澤宅實（座長***）	高島浩介
宮崎 茂（座長代理***）	長島裕二
大島泰克	矢部希見子
川原信夫	山浦由郎
久米田裕子	山崎寛治
小西良子	山田雅巳
渋谷 淳	

***2011年11月30日から

2013年10月1日から2015年9月30日まで

宮崎 茂（座長****）	杉山圭一
合田幸広（座長代理****）	鈴木敏之
荒川 修	豊福 肇
川原信夫	長島裕二
久米田裕子	矢部希見子
小西良子	山崎寛治
渋谷 淳	渡辺麻衣子

****2013年10月15日から

2023年10月1日から2024年3月31日まで

渋谷 淳（座長）	佐藤 順子
荒川 修（座長代理）	増村 健一
久城 真代（座長代理）	山下 まり
内山 奈穂子	吉成 知也
大城 直雅	

2024年4月1日から2025年9月30日まで

渋谷 淳（座長）	佐藤 順子
荒川 修（座長代理）	津田 雅貴
久城 真代（座長代理）	山下 まり
内山 奈穂子	吉成 知也
大城 直雅	

2025年10月1日から2026年3月31日まで

渋谷 淳（座長）	佐藤 順子
荒川 修（座長代理）	鈴木 敏之
久城 真代（座長代理）	津田 雅貴
安藤 直子	山下 まり
内山 奈穂子	吉成 知也
大城 直雅	渡辺 麻衣子

2026年4月1日から

渋谷 淳（座長）	大城 直雅
荒川 修（座長代理）	鈴木 敏之
久城 真代（座長代理）	津田 雅貴
安藤 直子	山下 まり
内山 奈穂子	渡辺 麻衣子

＜第25回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

梅村隆志 能美健彦

＜第27回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

杉山圭一

＜第28回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

杉山圭一

＜第56回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

鈴木敏之（国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所環境・応用
部門長）

渡辺麻衣子（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第三室長）

＜第58回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

小澤正吾（元岩手医科大学薬学部教授）

川口博明（農薬第五専門調査会専門委員）

渡辺麻衣子（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第三室長）

＜第59回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人＞

川口博明（農薬第五専門調査会専門委員）

高橋研（肥料・飼料等専門調査会専門委員）

森田健（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター安全性予
測評価部第三室長）

渡辺麻衣子（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第三室長）

<第60回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

高橋研（肥料・飼料等専門調査会専門委員）

森田健（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター安全性予測評価部第三室長）

<第61回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

久米利明（農薬第一専門調査会、農薬第五専門調査会及びビスフェノールAワーキンググループ専門委員）

高橋研（肥料・飼料等専門調査会専門委員）

<第62回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

石井雄二（農薬第四専門調査会専門委員）

森田健（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター安全性予測評価部第三室長）

<第63回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

石井雄二（農薬第四専門調査会専門委員）

森田健（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター安全性予測評価部第三室長）

<第64回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

石井雄二（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部第一室長）

佐藤順子（メディフォード株式会社創薬レギュラトリーセンター病理研究部シニア研究エキスパート）

森田健（農薬第二専門調査会及び肥料・飼料等専門調査会専門委員）

<第65回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

- 石井雄二（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部
第一室長）
小澤正吾（農薬第一専門調査会及び農薬第三専門調査会専門委員）
佐藤順子（メディフォード株式会社創薬レギュラトリーセンター病理研究部
シニア研究エキスパート）
広瀬明彦（汚染物質等専門調査会、評価技術企画ワーキンググループ、有機
フッ素化合物（PFAS）ワーキンググループ及びビスフェノールA
ワーキンググループ専門委員）
森田健（農薬第二専門調査会及び肥料・飼料等専門調査会専門委員）
安彦行人（農薬第一専門調査会及び農薬第二専門調査会専門委員）
吉成知也（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第四室長）

<第66回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

- 石井雄二（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部
第一室長）
小澤正吾（農薬第一専門調査会及び農薬第三専門調査会専門委員）
佐藤順子（メディフォード株式会社創薬レギュラトリーセンター病理研究部
シニア研究エキスパート）
広瀬明彦（汚染物質等専門調査会、評価技術企画ワーキンググループ、有機
フッ素化合物（PFAS）ワーキンググループ及びビスフェノールA
ワーキンググループ専門委員）
森田健（農薬第二専門調査会及び肥料・飼料等専門調査会専門委員）
安彦行人（農薬第一専門調査会及び農薬第二専門調査会専門委員）
吉成知也（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第四室長）

1
2
3
4
5

要 約

【事務局より】

審議結果を踏まえて記載いたします。

【事務局より】

- ・第2版にて新たに追加した参照については、1001番より開始、文献選定にて新たに追加した参照については、文献リストに対応した番号を記載しております。
- ・事前に専門委員及び専門参考人に御確認いただき、修正等を加えております。

I. 背景

1. 経緯

2009年3月に食品安全委員会は、「オクラトキシンA（OTA）」等を「自ら評価¹」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。

「OTA」については2008年10月14日に開催された第9回かび毒・自然毒等専門調査会での審議において、「デオキシニバレノール及びニバレノール」の審議の後実施することとされ、第17回かび毒・自然毒等専門調査会（2010年6月18日開催）から審議を開始するに至った。

2010年6月から同調査会での審議を経て、2014年1月27日に開催された第501回食品安全委員会においてOTAの非発がん性に関するTDI（耐容一日摂取量）を15 ng/kg 体重/日、発がん性に関するTDIを16 ng/kg 体重/日と設定した。また、ばく露量の推定結果からは、現状においては、我が国におけるOTAのばく露量は、設定したTDIを下回っていると考えられ、一般的に日本人における食品からのOTA摂取が健康に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられる審議結果が承認され、同日付で厚生労働大臣及び農林水産大臣に通知した。

その後、厚生労働省では、2023年12月11日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において審議を行い、小麦（玄麦）及び大麦（玄麦）についてOTAの基準値をそれぞれ5 µg/kgと設定することを検討することとされた。食品安全委員会は、厚生労働省から食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、小麦及び大麦についてOTAを5 µg/kgを超えて含有するものであってはならない旨の成分規格を新たに設定することについて意見を求められたため、新たな知見の確認・整理を行い、第2版をとりまとめた。

2. 現行規制等

（1）国内規制等

現在、我が国においては、食品及び動物用飼料ともにOTAに関する基準値の設定又はリスク管理に係る具体的な措置等行われていない。

¹ 食品安全基本法第23条第1項第2号に基づき、食品安全委員会が自ら評価を行う食品健康影響評価をいう。

（２）諸外国等の規制又はガイドライン値

OTAのヒトばく露源は主に穀類と考えられている。（参照 1）

コーデックス委員会では、2008年に小麦、大麦及びライ麦におけるOTAの最大基準値を5 µg/kg と設定している。また、実施規範（Code of Practice）として、「穀類のかび毒汚染の防止及び低減に関する実施規範」（CXC 51-2003）等を定め、各国に対して汚染低減策の実施を呼びかけている。

EUでは、小麦及び大麦以外の食品についても基準値（EC規則 No. 2023/915）を設定しているが、主に穀類の基準値について表1に示す。（参照 2）

表 1 EUにおける穀類のOTA基準値 (EC Regulation No. 2023/915)

（参照 2）

食品		基準値 (Maximum level) (µg/kg)
1.2.9	未加工穀類 (第一段階の加工前の市場の未加工穀類 ・「第一段階処理」とは、穀物に対する、乾燥以外の物理的又は熱的処理をいう。精練、選別、乾燥工程を含む洗浄は、全粒穀物がそのまま残っている限り、「第一段階処理」とはみなさない。 ・「精練」とは、ブラッシング及び／又は激しく擦ることによる穀類の洗浄を意味し、粉塵除去と組み合わせられる。精練の後、製粉の前に色選別が行われることもある。)	5.0
1.2.10	未加工穀類を原料とする製品及び最終消費者向けに市販される穀類	3.0
1.2.11	ベーカリー製品、穀類スナック及び朝食用穀類	
1.2.23	ベビーフード、乳幼児用穀類加工品 ・乳幼児向け食品、特別医療目的食品及び体重管理のための総合栄養食品 ・基準値は、製品の乾燥物に適用	0.5

II. 評価対象物質の概要

1. 名称、分子式、分子量、構造式

OTAは、ジヒドロイソクロメンの基本骨格に、7 位のカルボキシル基を介してフェニルアラニン分子がアミド結合したものである。（参照 3, 4）

（１）化学名

CAS(No.303-47-9)

和 名：*N*[[*(3R)*-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ
-1*H*-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-*L*-フェニルアラニン

英 名：*N*[[*(3R)*-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo
-1*H*-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-*L*-phenylalanine

IUPAC

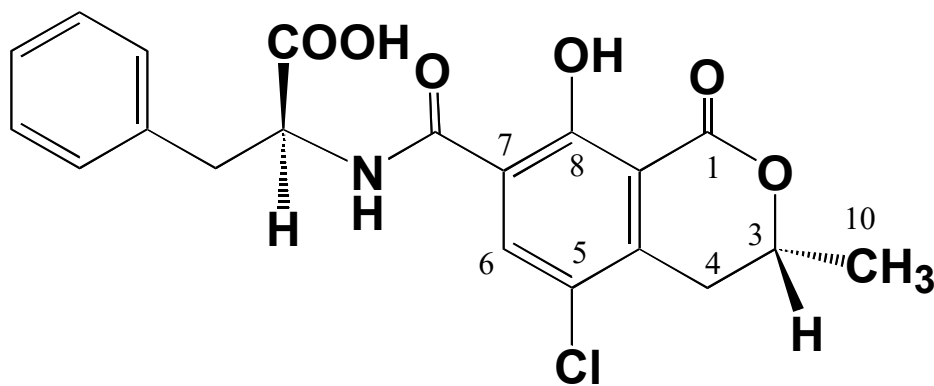
和 名：*(2S)*-2-[[*(3R)*-5-クロロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-3,4-
-ジヒドロイソクロメン-7-カルボニル]アミノ]-3-フェニルプロパン
酸

英 名：*(2S)*-2-[[*(3R)*-5-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-3,4-
dihydroisochromen-7-carbonyl]amino]-3-phenylpropanoic acid

（２）分子式： $C_{20}H_{18}ClNO_6$

（３）分子量：403.82

（４）構造式



2. 物理化学的特性

(a) 性状：結晶構造を持ち、酸性溶液中では緑色蛍光、アルカリ溶液中では青色蛍光を示す。

(b) 融点：169 °C

(c) 比旋光度： $[\alpha]_D^{21} - 46.8^\circ$ [$c=2.65$ mmol/L(1.07 g/L)クロロホルム溶液]

(d) 分光学的データ：IRスペクトル、UVスペクトル、MSスペクトル、及び ^1H -及び ^{13}C -核磁気共鳴（NMR）スペクトル

(e) 溶解性：クロロホルム、エタノール、メタノール及びキシレンに可溶。

(f) 安定性：通常の調理条件下で一部分解する。溶液を過剰の次亜塩素酸ナトリウム溶液で処理すると完全に分解する。

(g) 液性：酸性化合物で $\text{pKa}=7.1$ である。（参照 3、4、1002）

3. 産生生物

OTAは、*Aspergillus* 属及び*Penicillium* 属に属する数種の糸状菌によって産生されるが、菌によってはOTAに加え、オクラトキシンB（OTB）等の類縁体を産生するものもある。これら類縁体のうち、食品汚染の報告が多いのはOTAであり、OTBが次に続くが、その他の類縁体は検出されることはまれである²。各種食品におけるOTAの自然汚染の原因となる主要糸状菌の分布及び汚染食品等について表2に示す。表2に示されるとおり、OTA産生菌は熱帯から寒冷地まで多種多様な農産物及び様々な食品で生育する。

OTA産生菌種は*Aspergillus* 属のCircumdati 節3に含まれる*A. ochraceus*、*A. westerdijkiae* 及び*A. steynii*、*Flavi* 節に含まれる*A. alliaceus*、*Nigri* 節に含まれる*A. carbonarius* 及び*A. niger* 種複合体⁴（このうち主に*A. niger* 及び*A. welwitschiae*）、並びに*Penicillium* 属の*P. verrucosum* 及び*P. nordicum* 等である。各種食品への各菌の汚染は、それぞれの生態、宿主となる農作物及び食品の特異性、地理的分布及び発育条件（温度、湿度など）によって、大きく異なる。

OTA産生菌は、1960年代に南アフリカのモロコシから分離した*A. ochraceus* として最初に報告された（参照 35, 36）。日本では、最初にアズキ及び唐辛子粉から分離した*A. ochraceus* から（参照 7）、次いで、国産米から分離した*A. ochraceus* から（参照 8, 9, 10）、OTA産生が認められている。*Aspergillus* 属の

² *A. ochraceus* をコメ上でインキュベーションしてもOTCは検出されなかったという報告がある。（参照 133）

³ 国際植物命名規約で認められる、属と種の間におかれる分類階級（生物学辞典 第1版第1刷）

⁴ 何らかの理由で独立の分類学的種として扱うことに支障がある複数の生物学的種の集合をさす（生物学辞典 第1版第1刷）。*A. niger* 種複合体には*A. niger* のほか、*A. luchuensis*、*A. tubingensis*、*A. welwitschiae* 等が含まれ、これらの種は形態学的にも遺伝学的にも非常に類似している。

Circumdati 節に属する *A. westerdijkiae* 及び *A. steynii* はかつて *A. ochraceus* に含まれており、2004年に形態的な特徴や生育温度の差異によって、*A. ochraceus* からの独立が提唱された(参照 6)。したがって、それ以前にOTA汚染の原因または産生菌として報告されてきた *A. ochraceus* の中には *A. westerdijkiae*、*A. steynii* が含まれている可能性がある。実際に、2004年以降、過去に分離されたある食品のOTA汚染の原因菌 *A. ochraceus* を再分類し、*A. westerdijkiae* と同定されたとする報告は複数ある（参照 1004, 1005）。生コーヒー豆のOTA汚染は南米、東南アジア及びアフリカ諸国で広く発生するが（参照 27, 28, 29, 30, 31）、そのうち海拔1,000 m以上の高地で栽培されるアラビカ種のコーヒーでは、*A. ochraceus*、*A. westerdijkiae*、*A. steynii* 等の *Aspergillus* 属の *Circumdati* 節の菌がOTA汚染の主原因となっているとの報告がある。（参照 1007, 1008）

Aspergillus 属 *Nigri* 節の菌種については、いずれも生育が早く、暗黒褐色～黒色の集落を形成し、OTA産生において高温と多湿環境が影響するといった特性が共通している。したがって、しばしばまとめて **black aspergilli** と表記される。この中で、*A. carbonarius* は以前から明確に同定されていた種であるが、OTA産生に関する報告は1995年が最初である（参照 20）。2000年以降、ワイン用ブドウ液及びワインのOTA自然汚染に関して、ポルトガル、スペイン、フランス及びイタリアを始めとする地中海沿岸諸国、オーストラリア並びに南米のワイン用ブドウ生産地における実態調査が実施され、分離された *A. carbonarius* 菌株はいずれも強力なOTA産生能を有し、ブドウのOTA汚染の主要な菌であることが示された（参照 21, 22, 23, 24, 25, 26）。本菌の発生率は高温と降雨による湿度の上昇といった条件に影響され、気象との相関がみられる（参照 1006）。また生コーヒー豆でも *A. carbonarius* によるOTA汚染が多数報告され（参照 27, 28, 29, 30, 31）、中でも海拔800 m以下の高温多湿の熱帯地域で栽培されるロブスタ種に本菌が感染するとの報告があり（参照 1007）、上述のアラビカ種では *Aspergillus* 属 *Circumdati* 節の菌がOTA汚染の主原因となることと比較すると、OTA産生菌の地理的分布の差異が顕著に表れている。

以上のことから、*A. carbonarius* はブドウ、ワイン用ブドウ液及び干しブドウ等の乾燥果実並びに生コーヒー豆における重要な汚染原因菌として認識されている。一方で、ブドウ又はコーヒー栽培で *A. carbonarius* による OTA汚染が発生する地域であっても、穀類、種実類などの農作物では本菌の検出率は低く、OTA汚染への関与は低い。

A. niger 種複合体は、*A. carbonarius* と共に熱帯圏のブドウ又はコーヒーに同時発生することが多いが、*A. carbonarius* よりも分布に多様性があり、温帯にも広く分布する。さらに、表 2 に示すように穀類、穀類加工品など多種類の食品及び原材料に発生する。*A. niger* 種複合体は、ブドウ果実の成熟段階の全てにお

いて菌の汚染の主体となっており、発生率は*A. carbonarius* より2～3 倍程度高い。
一方で*A. carbonarius* は成熟期から収穫期にかけて増加する。

Penicillium 属のOTA産生菌に関する最初の報告は、1969年にカナダにおいて
ハムから分離した、当時*P. viridicatum* と同定された菌株によるものである(参
照 11)。その後、*P. viridicatum* のかび毒産生について、多数の菌株の検討が行
われた結果、本菌は生育速度や集落の色調などの形質並びにOTA及びシトリニン
(CIT) の産生性を指標として再分類され、OTA及びCITを産生しない菌を*P.*
viridicatum、OTA及びCITを産生する菌を*P. verrucosum*、OTAを産生しCIT
を産生しない菌を*P. nordicum* と再定義された(参照 15)。なお、*P. verrucosum*
及び*P. nordicum* は酵母エキス・スクロース寒天培地 (YES) の集落裏面の色調の
違いによって識別できるとされている。以上のとおりOTA産生*Penicillium* 属の
分類については、変遷が認められるため、2000 年以前のOTA産生菌については、
A. ochraceus の場合と同様に種名に十分留意する必要がある。

現在では、*P. verrucosum* は主に温帯地域の中でも寒冷な地域で生産されるコ
ムギ、オオムギ、ライムギ等穀類のOTA汚染源であるとされる(参照 1009, 1010)。
本菌によるOTA産生性は収穫後の穀類における貯蔵環境に強く影響を受け、特に
穀粒の含水率や貯蔵条件の不適切さによってOTA産生が増強されるとした報告が
多数ある(参照 1011, 1012)。一方で、*P. nordicum* は主に食肉加工品やチーズな
どのOTA汚染源とされている。高タンパクで塩濃度の高い食品に汚染が認められ、
低温 (15℃) 条件や 20%の塩濃度でも生育は可能である (参照 16)。*P.*
nordicum は、酵母エキス・スクロース寒天 (YES) 培地に 0～8%の塩 (NaCl)
を添加してOTA産生性を調べた結果、塩濃度が2%のときにOTA産生量が最大と
なり、塩を添加していないときの2倍であった (参照 17)。また、ハムの熟成過
程において*P. nordicum* のほかにも*A. ochraceus* 等がOTA汚染に関与すること
が報告されている。(参照 18, 19)

表2 食品におけるオクラトキシンA汚染に関与する
主要な*Aspergillus* 属及び*Penicillium* 属かびの種類

菌種	主な汚染食品	地理的分布
<i>Aspergillus</i> 属		
<i>Circumdati</i> 節		
<i>A. ochraceus</i>	穀類、穀類加工品、豆類、種実類、 香辛料、オリーブ、ブドウ、乾燥果 実、コーヒー豆、乾物類（かつお 節等）、食肉加工品	温帯～熱帯： 日本、世界各地

<i>A. westerdijkiae</i>	ソルガム、種実類、香辛料、ブドウ、コーヒー豆	米国、ヨーロッパ、南アフリカ、イスラエル、インド、タイ、ベトナム、中国、オーストラリア、ブラジル、ベネズエラ
<i>A. steynii</i>	コメ、ダイズ、ブドウ、コーヒー豆	スペイン、インド、スリランカ、タイ、ベトナム、中国、オーストラリア、パナマ、アルゼンチン
<i>Flavi</i> 節		
<i>A. alliaceus</i> *	コムギ、種実類、イチジク、タマネギ、ニンニク	米国、メキシコ、英国、イタリア、アルジェリア、中近東、インド、中国、オーストラリア、ペルー
<i>Nigri</i> 節		
<i>A. niger</i> 種複合体	穀類、穀類加工品、豆類、種実類、香辛料、生鮮果実・野菜（ブドウ、トマト、タマネギ、ニンニク等）、乾燥果実、コーヒー豆、カカオ豆、食肉、食肉加工品、チーズ	温帯～熱帯： 日本、世界各地
<i>A. carbonarius</i>	穀類、種実類、香辛料、カンキツ、ブドウ、イチジク、乾燥果実、コーヒー豆（ロブスタ種）、カカオ豆	米国、ヨーロッパ（地中海沿岸）、チュニジア、ガーナ、ナイジェリア、中近東、インド、インドネシア、タイ、ベトナム、日本、オーストラリア、ブラジル、アルゼンチン
<i>Penicillium</i> 属		
<i>P. verrucosum</i>	穀類、穀類加工品、ジャガイモ、タマネギ、豆類、種実類、チーズ、クリーム、ケーキ	温帯（特に寒冷地） 米国、カナダ、ロシア、ヨーロッパ、日本、フィリピン
<i>P. nordicum</i>	タマネギ、食肉、食肉加工品、魚卵、塩魚、ジャム、チーズ	カナダ、グリーンランド、ヨーロッパ、インドネシア、日本、オーストラリア

*：参照 1003においては完全世代*Petromyces alliaceus*での表記。

4. 発見の経緯

OTAは、1960年代の初めに南アフリカにおいて原発性肝癌が高発していたため、その原因を調査する研究の過程において、毒素産生菌の探索中にモロコシから分離された*Aspergillus ochraceus*（2004年に*A. westerdijkiae*と再分類）の代謝物として発見され、1965年に単離及び構造決定がなされている。（参照 35, 36,1004）

OTAによる農産物の最初の自然汚染の報告は、1969年の米国の市販トウモロコシについてであり（参照 37, 38）、その後、世界各地で麦類及び豆類での自然

1 汚染例が報告された。（参照 39, 40, 41）

2 さらに、1974 年に生コーヒー豆、1990年代にはOTA汚染穀類を原料として生
3 産されたビールの汚染（参照 42, 43）、1996年にワインの自然汚染例（参照 44）
4 が報告されている。また、欧州においては、デンマークなどの北欧で発生して
5 いるブタの腎症やバルカン諸国で発生しているバルカン風土病腎症の要因の一つ
6 であると推定されていた（参照 45, 46, 47, 48）。これらの状況から、これまでに
7 世界各国において大規模な汚染実態調査や疫学調査等が実施され、OTAの世界
8 的な汚染実態が明らかにされている。（参照 1, 21, 22, 23, 43,49, 50, 51, 52）

【事務局より（第66回調査会）】

第65回調査会までは見え消しでお示ししていた以下の内容について、修正を反映しております。その他、用語の統一を図っております。

- ・「暴露」の記載を「ばく露」に統一
- ・一部記載については、原著を確認し、修正や補足、参照の追加等を実施
- ・各種試験に用いた動物の表記については、「動物（種（系）、性別、匹数）」とし、動物種（系）では会社名を削除することで統一
- ・その他、単位、用語等について第2版内で統一

Ⅲ. 安全性に係る知見の概要

【事務局より（第59回調査会）】

第58回調査会でのご議論を踏まえ、2014年1月評価書（第1版）以降の知見内で使用されるOTAの扱いについての記載を追記しております。

公表文献、FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）、欧州食品安全機関（EFSA）及び国際がん研究機関（IARC）の資料等を基に安全性に関する主な科学的知見を整理した。

なお、2014年1月評価書（第1版）以降の知見については、原則OTAに関する入手経路が明確なものについて採用することとした。

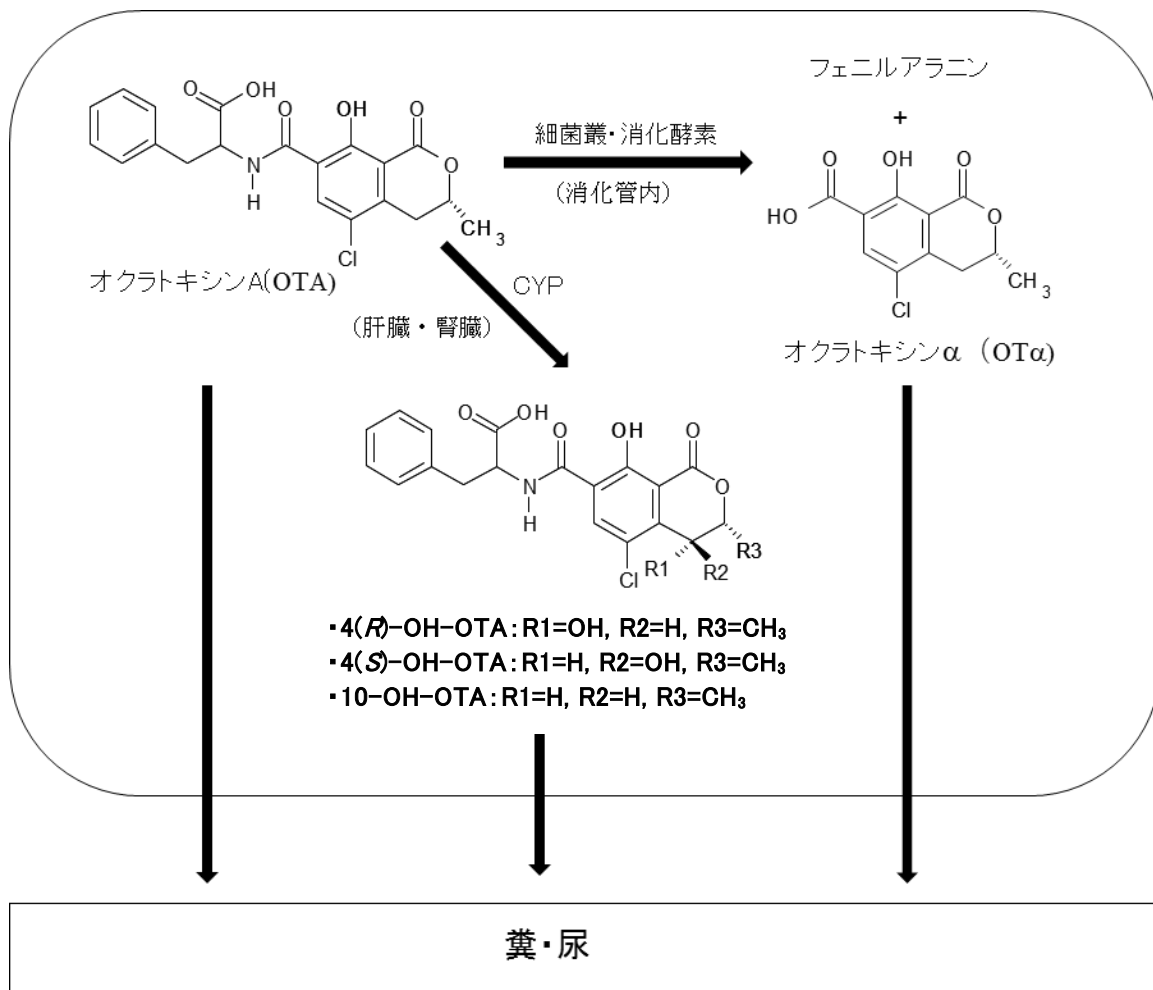
1. 実験動物等における体内動態

【大城専門委員（第58回調査会）】

「水酸化酵素ファミリー」という記載が正しいか、確認が必要。

OTAの主な代謝経路を図1に示した。OTAは、その一部が消化管で毒性が低いとされるOT α に加水分解される(参照 4)。肝臓及び腎臓では、OTAは水酸化還元酵素ファミリーであるシトクロムP450（CYP）により酸化され、少量であるが、OTAの酸化代謝物が認められている。このほか、エチルエステル誘導体であるオクラトキシンC（OTC）、オクラトキシンキノン/オクラトキシンハイドロキノン（OTQ/OTHQ）、脱塩素化類縁体であるOTB及びオクラトキシン β （OT β ）、ラクトン環の開裂、誘導体の抱合体形成（OTHQ-GSH、OTHQ-N-acetylcystein、OTAグルコシド等）等、様々な経路で代謝されたとする報告がある(参照 53, 54)。主なOTAの関連化合物を参考資料1に示した。

1



2

3

図 1 オクラトキシンA の主な代謝経路

（１）吸収、分布、代謝、排泄

① 消化管での代謝・変換

OTA は *in vitro* でラット（Wistar、雄、匹数不明）の膵臓、十二指腸又は回腸のホモジネートと共にインキュベーションすることによって OTαに加水分解された(参照 55)。また、OTA をラット（Sprague-Dawley、雄、匹数不明）の結腸又は盲腸のホモジネートとインキュベーションすると 6 時間で約 50%が、12 時間で 85～91%が OTαに加水分解された（参照 56）。一方、ラット（Wistar、雄、匹数不明）の腎臓(参照 55)、ラット（Wistar、雄、匹数不明）の肝臓(参照 57)又はウサギ（BN/Mol、雄、羽数不明）の肝臓(参照 59)のホモジネートと OTA を共にインキュベーションしても、OTαは検出されなかった。

マウス（ddY、雄、一群 5 匹）に 15 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与すると、OTA は、肝臓から胆汁及び小腸へ循環した。肝臓では OTαは検出されず OTA は腸管で加水分解されると考えられた。(参照 61)

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群 12 匹）に、2.7 mg/kg 体重の[¹⁴C]-OTA を静脈内投与し OTA と OTαを測定した結果、盲腸及び結腸を除く各組織に検出されたのは主に OTA であり、OTαは盲腸及び結腸でのみ検出された。著者らは、盲腸内細菌叢に OTA の加水分解能が存在すると考えた。(参照 62)

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群 4～6 匹）を用いて、OTA の体内変換における胃及び腸管内の細菌叢の影響が調べられた。ネオマイシンを混餌投与後、ネオマイシン投与群及びネオマイシン非投与の対照群に 1 mg/kg 体重の OTA が経口投与された。5 日間の観察期間中、糞及び尿中に排出された OTA 及び OTαは対照群で 0.068±0.006 mg 及び 0.041±0.006 mg であった。一方、ネオマイシン投与群では 0.111±0.014 mg 及び 0.021±0.002 mg であり、腸管内で細菌叢による OTA から OTαへの加水分解が阻害されたと考えられた。また、ネオマイシン投与群の血中 OTA 濃度は対照群に比べ有意に高かった。(参照 56)

ウシ（系統不明、性別不明、6 頭）の第 1、2、3 及び 4 胃それぞれの内容物と OTA をインキュベーションした結果、第 1～3 胃の内容物に OTA から OTαへの加水分解能が認められた。一方、第 4 胃内容物においては、加水分解能は認められなかった。*in vivo*において同様の反応速度と仮定すると、飼料中で最大 12 mg/kg までの OTA が分解されると推計された(参照 63, 64)。第 1 胃の内容物に含まれる胃内細菌叢の微生物の数、活性等により OTA の解毒能に差はあるが、ウシの第 1 胃には飼料中の OTA を解毒する作用があることが示されている(参照 65)。

ヒツジ（系統不明、雌雄、頭数不明）に 5 mg/kg 飼料の OTA を混餌投与した結果、投与 1 時間後の第 1 胃液中に OTA 及び OTαが認められたが、血中には両者とも検出されず、OTA は血液に達する前に解毒されると考えられた。(参照 66)

OTαへの加水分解に関与する酵素として、ウシ及びラットの膵液に含まれるカルボキシペプチダーゼ A とキモトリプシンが示されている（参照 4, 67）。しかしながら、OTA の加水分解に関与する腸内微生物由来の酵素は同定され

ていない(参照 56)。かび毒の一種であるペニシリン酸は、*in vitro* でカルボキシペプチダーゼ A の酵素反応を阻害し、OTA の加水分解を抑制する(参照 68)。

② 吸収

a. 吸収

【大城専門委員（第58回調査会）】

10行目について、溶液中の濃度であるかの確認が必要。

OTA の吸収部位を調べるために、ラット（Wistar、雄、一群 3 匹）の胃の両端又は腸管各部位の両端を 4～8cm の長さで結紮・閉管し、その閉鎖胃腸管腔内に 1.17 mg/kg 体重で OTA 溶液（1.17 mg/mL）を注入した。注入 5 分後から 10 分毎に門脈血中における OTA の血中濃度を測定した結果、OTA は主に空腸近位部から吸収されることが認められた。(参照 69)

ラット（Wistar、雄、匹数不明）の十二指腸内に 0.33 mg/kg 体重の OTA を投与すると、投与量の約 60%が投与後 8 時間以内に吸収された。血漿中に OTA の代謝物は検出されなかった。(参照 71)

ラット（Wistar、雄、一群 15 匹）に 2 mg/kg 体重の OTA を経口投与すると、胆汁中の OTA 濃度は 6 時間以内に 1 µg/mL 以上となり、以後減少した。OTA 投与 24 時間後に採取した胆汁（OTA 濃度 0.180 µg/L 又は 0.220 µg/L）を別のラット（Wistar、雄、一群 6 匹）の胃（0.180 µg/L を 2 mL）又は十二指腸（0.220 µg/L を 2 mL）に直接注入した結果、投与 24 時間後にそれぞれ投与量の 1/3 又は 2/3 の OTA が血漿中から検出された。本結果は、ラットにおける OTA の腸肝循環の所見と考えられる。(参照 72)

マウス（Swiss、雄、一群 5 匹）に OTA の加水分解物であるフェニルアラニンと OTA と共に 10:1 のモル比で経口投与すると、胃と腸からの OTA の吸収が増加した。最初の 12 時間で、血清及び肝臓中の OTA 濃度がフェニルアラニン非投与群と比較し、それぞれ 8 倍及び 4 倍高い値となった。フェニルアラニン投与群の血中 OTA 濃度は、周期性を示さなかった。(参照 73)

b. バイオアベイラビリティ⁵

【事務局より（第58回調査会）】

33～34行目については、排泄の記載であるため削除しております。なお、同内容については、すでに排泄の項目で記載がございます。

~~ラットに 3.6 mg/匹（約 15 mg/kg 体重に相当）の [¹⁴C]-OTA を経口投与した結果、バイオアベイラビリティ⁵ は 56%であった(参照 55)。~~ブタ（Large White、去勢、4 頭）に 0.5 mg/kg 体重並びにウサギ（Fauve de Bourgogne、雄、6 匹）及びニワトリ（レグホン、性別不明、6 羽）に 2 mg/kg 体重の OTA を経口投与後のバイオアベイラビリティは、それぞれ 66%、56%及び 40%であった(参照 75)。魚（コイ、性別不明、6 尾）、ウズラ（日本ウズラ、性別不明、32 羽）、マウス（White、雄、匹数不明）、ラット（Wistar、雄、匹数不明）及び

⁵ 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で示される。

サル（*Macaca mulata*、雌雄、各 1 匹）に 0.050 mg/kg 体重の OTA を経口投与した結果、バイオアベイラビリティは、それぞれ 1.6%、62%、97%、44% 及び 57%であった(参照 76)。

③ 分布

a. 血漿タンパク質との結合

OTA は吸収後、血液中で容易に血漿タンパク質と結合し、未結合分画の割合は、ヒト（男、人数不明）及びラット（Wistar、雄、匹数不明）で 0.02%、サル（*Macaca mulata*、雌雄、各 1 匹）で 0.08%、マウス（White、雄、匹数不明）及びブタ（系統不明、性別不明、頭数不明）で 0.1%、ウズラ（日本ウズラ、性別不明、3 羽）で 0.2%、魚（コイ、性別不明、6 尾）で 22%であった(参照 76)。また、血球において、痕跡程度の OTA が検出された(参照 77)。

ブタ（系統不明、性別不明、頭数不明）、ニワトリ（系統不明、性別不明、羽数不明）及びラット（系統不明、性別不明、匹数不明）の血清アルブミンに結合する OTA の結合定数は、それぞれ $7.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、 $5.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 及び $4.0 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ であった。血清アルブミン及びその他の血清中の高分子に結合した OTA は、徐々に遊離 OTA となり、長期間にわたって組織中へ放出される。(参照 74)

アルブミン結合 OTA が OTA の体内動態に与える影響を調べるため、ラット（アルブミン欠損及び野生型 Sprague-Dawley、雌、一群 各 2～4 匹）に 4.1 mg/kg 体重の OTA が静脈内投与され、投与後 90 分まで血漿中、尿中及び胆汁中の OTA 濃度が調べられた。野生型ラットでは、投与後の尿及び胆汁に排泄される OTA 濃度は低く、血漿中 OTA 濃度は投与 90 分後に 50 mg/L だった。血漿中ではほとんどの OTA が血清アルブミンと結合していた。一方、アルブミン欠損ラットでは、OTA は投与後に尿及び胆汁から急速に排出され、それに伴って血漿中の遊離 OTA 濃度は急減して投与 10 分後には 0.5 mg/L（検出限界）未満となった。遊離 OTA は、肝臓及び腎臓において濃度勾配に逆らって血液中から胆汁又は尿中に排泄された。(参照 78)

ラット（Wistar、雄、一群 9 匹）に 4 mg/kg 体重/日の OTA と 0、10、20 又は 50 mg/kg 体重/日の酸性薬剤のフェニルブタゾンが 10 日間投与された。フェニルブタゾンは *in vitro* で OTA とアルブミンの結合を競合的に阻害する。雄ラットにおいて、フェニルブタゾン存在下で OTA はより強い毒性を示し、50 mg/kg 体重/日投与群において OTA の LD₅₀ 値が 33 から 21 mg/kg 体重へと有意に減少した。(参照 79)

OTA と結合するヒト（健常者、性別不明、人数不明）又はブタ（食用、性別不明、頭数不明）の血漿中タンパク質が *in vitro* で調べられた。その結果、それぞれの血漿中にアルブミンよりも OTA と強い親和性を示す未同定の高分子（分子量 20 kDa）が認められた。結合定数は、ヒト由来の未同定高分子が $2.3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ であり、ブタ由来の未同定高分子が $0.59 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ であった。この未同定の高分子への OTA の結合は、血漿中 OTA 濃度 10～20 µg/L で飽和した。血漿中アルブミンは血漿中 OTA 濃度が数 100 mg/L 以上で飽和した。(参照 74, 80)

b. 組織残留と半減期

OTAが吸収された後の組織及び血清中のOTA及びOTA代謝物の残留濃度は、投与期間、投与量、投与したOTAが自然汚染か純品使用か、血清中高分子との結合度合、OTA半減期、と殺前のOTA未投与の回復期間の長さ等に依存する(参照 81)。OTAの半減期が生物種により異なることが報告されている(表3)。この生物種間差は、OTAの吸収速度、血漿中でのピーク値、アルブミンなどの血清中高分子への結合度合、排出経路等の違いによる(参照 75, 82)。

表3 各種動物種におけるオクラトキシンAの半減期

種	半減期(時間)	参照文献
ニワトリ	4.1	(参照 75)
ウズラ	6.7	(参照 76)
マウス	24～39	(参照 76)
ラット	56～264	(参照 76, 84, 85, 86, 87, 88)
ブタ	89～144	(参照 75, 89)
子ウシ	77	(参照 90)
サル	510	(参照 76)
ヒト	853	(参照 91)

単回経口投与後のOTAの最大血中濃度は、ニワトリ（レグホン、性別不明、一群6羽）では0.33時間後(参照 75)、ラット（Wister、雄、一群各時3匹以上）では4～8時間後(参照 55, 77)、ウサギ（Fauve de Bourgogne、雄、一群6匹）では1時間後(参照 75)、ブタ（Large White、去勢、一群4頭）では10時間後(参照 75)及び子ウシ（ホルスタイン、雄、一群4頭）では2～4時間後(参照 90)に認められた。また、ラット（Wister、雄、一群各時3匹以上）における腎臓、肝臓及び心臓での組織中最大濃度は、血中濃度と同様に4時間以内に認められた(参照 55)。

マウス（C57Bl、雌雄、一群各4匹）に $[^{14}\text{C}]$ -OTAを約0.200 mg/kg体重の用量で静脈内投与し、経時的に1匹ずつと殺してオートラジオグラフィにより分布が調べられた。OTAは血液中に4日間以上残留することが示された。この投与量ではOTAは主にタンパク質に結合した状態で存在すると考えられた。(参照 92)

ラット（Wistar、雄、一群6匹）に $[^{14}\text{C}]$ -OTAが0.086 mg/kg体重の用量で単回静脈内投与され、1匹ずつと殺し、経時的なOTAの分布の変化が調べられた。24時間後の分布濃度は、肺・副腎髄質・皮膚＞肝臓＞心筋・腎臓＞唾液腺・副腎皮質＞筋肉・胃粘膜＞骨髄の順であった。(参照 93)

ラット(F344、雄、一群4匹)に1 mg/kg体重の $[^3\text{H}]$ -OTAを経口投与した結果、投与24時間後にOTAが血漿中に14.0%、肝臓に1.3%、腎臓に0.3%の放射活性が認められた。肝臓及び腎臓では、その放射活性物質の88%以上が未代謝のOTAであった。(参照 94)

マウス（Swiss、雄、一群 5 匹）に 0.00011mg の^[3H]-OTA を含む 0.00661 mg の OTA を筋肉内投与すると 30 分後には胆汁中及び腸内容物中に^[3H]-OTA が認められた。腸内容物中においては、投与 1 時間後に OTA 濃度が最高値となった。血中 OTA 濃度は投与 3 時間後で最高値となり、その後速やかな減少とそれに続く増加が認められた。薬物と毒物の腸肝循環を妨げるコレステラミンを投与するとこのような減少後の増加はみられなかった。（参照 73）

マウス（ICR Swiss、雌、一群 2 匹）に 25 mg/kg 体重の OTA を単回強制経口投与した後に食道、胃、小腸、腎臓及び肝臓を取り出し、OTA の分布を免疫組織化学的に調べた結果、投与 15 分後から 6 時間後までに OTA が認められ、大部分は近位尿細管細胞の側底部に分布するが、遠位尿細管細胞、ヘンレループの細胞、ボーマン氏嚢及び糸球体にも分布が認められた。集合管と髓放線に OTA は認められなかった。（参照 95）

ラット（Wistar、雄、6 週及び 2 年齢、匹数不明）に 0.5 mg/kg 体重/日の OTA を 6 日間腹腔内投与して腎臓組織の OTA 濃度が調べられた。成熟ラット（2 年齢）では、腎臓の乳頭部並びに髓質内層及び皮質の OTA 濃度が高く、髓質外層の 2 倍以上高い濃度であった。若齢ラット（6 週齢）では、乳頭部の OTA 濃度が最も高く、次いで髓質内層であり、髓質外層及び皮質の濃度は低かった。（参照 96）

ラット（Wistar/AF EOPS、雄、一群 12 匹）に OTA 汚染飼料を 28 日間給与し、腎臓中及び肝臓中の OTA 濃度が調べられた。ラットの OTA 平均摂取量は 0.1461 mg/kg 体重/日であった。腎臓中及び肝臓中の OTA 濃度の平均±標準偏差は、それぞれ 79.4±31.4 µg/kg 及び 73.7±31.3 µg/kg であった。（参照 97）

ブタ（交雑種、去勢雄及び雌、4 週齢、一群各 8 頭）に、OTA 汚染飼料（0.120 mg/kg 飼料）を 4 週間給与した後に腎臓及び肝臓の OTA 濃度を測定した結果、平均濃度はそれぞれ 12.49 µg/g 及び 1.02 µg/kg と、肝臓よりも腎臓で高い傾向が認められた。（参照 98）

ラット（F344、雌雄、10 及び 15 週齢、一群各時 2~3 匹）に 0.5 mg/kg 体重の OTA を単回強制経口投与し、投与後 12 時間目から 2 か月目までそれぞれ 3 匹ずつ経時的にと殺して腎臓及び肝臓中の OTA 濃度を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した結果、両臓器中の OTA 濃度はほぼ等しかった。性差については、投与前に絶食させたラットでは、最高到達濃度（C_{max}）が雌よりも雄において高く、投与前に絶食させていないラットでは逆の傾向が認められた。ラット（F344、雄、8 週齢、一群 10 匹）に OTA（0.5 mg/kg 体重/日）を 7 又は 21 日間強制経口投与した後の腎臓と肝臓の各組織中 OTA 濃度にも、大きな差異はなかった。（参照 99）

ラット（F344、雌雄、一群各時 2~3 匹）に 0.5 mg/kg 体重（コーン油に溶解）の OTA を単回経口投与した後に、糞尿が 12 時間間隔で収集された。また、投与 24、48、72、96、672 及び 1,344 時間後に各群のラットを 3 匹ずつと殺し、血液、肝臓及び腎臓を採取し、HPLC 又は液体クロマトグラフトンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いてそれぞれの試料中の OTA 及びその代謝物が分析された。OTA 以外には主に OTαが認められた。尿中に、LC-MS/MS の

分析結果より推定された OTA のヘキソース及びペントース抱合体が僅かに認められたが、OTQ/OTHQ、ラクトン環の開裂した OTA、OTA 及びその代謝物である OTA のグルタチオン抱合体とグルクロン酸抱合体は検出されなかった。OTA の最大血漿中濃度は、雄では 48 時間後に $4.6 \mu\text{mol/L}$ 、雌では 24 時間後に $6.0 \mu\text{mol/L}$ であった。血液からの OTA の減少は一次速度式に従い、雄及び雌の血漿中 OTA の半減期はそれぞれ 224 及び 231 時間であった。OT α の血漿中濃度は $0.010 \sim 0.015 \mu\text{mol/L}$ と低かった。肝臓の OTA 濃度は、雌より雄の方が高かったがいずれも $0.012 \mu\text{mol/kg}$ 組織以下であった。腎臓の OTA 濃度は投与 24 時間後に、雄で $0.0480 \mu\text{mol/kg}$ 組織、雌ではその約 1/3 であった。OTA 濃度は、肝臓より腎臓で高く、投与 24 時間後の雄ラットにおける腎臓の OTA 濃度は肝臓の 20 倍であった。肝臓、腎臓共に OTA 濃度は投与 48 時間目には減少しており、投与後 672 時間目には検出限界 ($0.002 \mu\text{mol/kg}$) 未満であった。OT α は肝臓及び腎臓中には認められなかった。(参照 86, 99)

ラット (F344、雄、一群 3 匹) にコーン油に溶解した 10 mg/kg 体重の OTB を単回又は 2 mg/kg 体重/日 (一週間に 5 日) を 2 週間、それぞれ強制経口投与した後に、組織中及び血液中の OTB 及びその代謝物を LC-MS/MS 及び HPLC で分析した。血漿中及び組織中には OTB のみが検出された。血漿中、腎臓中及び肝臓中の OTB 濃度は、単回投与後 72 時間目には、それぞれ $3.8 \pm 0.8 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.2326 \pm 0.044.7 \mu\text{mol/kg}$ 及び $0.2450 \pm 0.0447 \mu\text{mol/kg}$ 、2 週間投与後 72 時間目には、それぞれ $0.7 \pm 0.2 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.0423 \pm 0.0294 \mu\text{mol/kg}$ 及び $0.0618 \pm 0.0285 \mu\text{mol/kg}$ と、腎臓と肝臓における濃度が同程度であった(参照 100)。一方、 0.5 mg/kg 体重の OTA を単回強制経口投与後 72 時間目の血漿中、腎臓中及び肝臓中の OTA 濃度は、それぞれ $4.4 \pm 0.4 \mu\text{mol/L}$ 、 $0.2719 \pm 0.0929 \mu\text{mol/kg}$ 及び $0.0007 \pm 0.0011 \mu\text{mol/kg}$ であった(参照 86)ことから、著者らは、OTB が腎臓中に残留し難いこと等の OTA と OTB のラット (F344、雄、一群 3 匹) 体内動態の相異が、両化合物の毒性の差に関与していると考えた(参照 100)。

ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 6 mg/kg 体重の OTA (水溶液) を単回経口投与した結果、投与後 3 時間以内に血漿中濃度が最大となり、投与後 4 日まで約 $50000 \mu\text{g/L}$ の血漿中濃度を維持した後、28 日目まで穏やかに減少した。この期間の半減期は 7.57 日であった。F344 ラット (雄、一群 3~8 匹) に 5 mg/kg 飼料の OTA (0.285 mg/kg 体重/日) を 2 年間給与した場合には、投与開始から 3 か月目以降は OTA 血漿中濃度が $6000 \sim 8000 \mu\text{g/L}$ と安定的に推移した。(参照 101)

ラット (F344、雌雄、一群各 3 匹) に 0.5 mg/kg 体重の OTA を単回経口投与し、性別と年齢が OTA の動態に与える影響が調べられた。若齢 (10 週齢) 及び成熟 (15 週齢) ラットの最高血中濃度は、成熟雌で投与後 6 時間、その他の群では投与後 2 時間となった。成熟雌では、同じ週齢の雄より高い最高血中濃度に達した。見かけの分布容積は体重とともに有意に上昇し、半減期は、若齢雄、成熟雄、若齢雌及び成熟雌でそれぞれ 219 時間、264 時間、191 時間及び 205 時間であった。OTA 血中濃度の推移を推計した結果、2 か月後の血中濃度は雌雄で差がみられず、OTA の長期の毒性試験において認められる雌雄差に

1 ついて動態に基づく説明は難しいと考えられた。(参照 88)

2 ラット (Wistar、雄、一群 4 匹) に、0.050、0.125、0.250 又は 0.500
3 mg/kg 体重の OTA が 1 日おきに 10 日間投与され、腎臓髓質外層外帯の近位尿細
4 管 (S3 セグメント) の尿細管上皮細胞刷子縁又は側底膜⁶にある有機アニオン輸
5 送システムへの影響が調べられた。S3 セグメントは、0.050 mg/kg 体重投与群
6 より用量依存的に損傷の程度が増加した。免疫組織化学により、刷子縁に認め
7 られる有機アニオントランスポーターの Organic Anion transporter (OAT) 2
8 及び OAT5 並びに側底膜に認められる OAT1 及び OAT3 の発現を調べたところ、
9 これらのタンパク質の発現は、OTA 投与により 0.250 mg/kg 体重投与群
10 までは増加し、0.500 mg/kg 体重投与群では低下した。0.250 及び 0.500
11 mg/kg 体重投与群において、腎臓、肝臓、尿における OTA 濃度は、用量依
12 存的に増加した。腎臓において、酸化ストレスの指標を調べた結果、脂質の分解
13 産物のマロンジアルデヒド (MDA) 濃度に変化はみられず、尿中 8-ヒドロキ
14 シ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) 濃度の変化に用量依存性は認められな
15 かった。(参照 102)

16 ブタ (スウェーデンランドレース、一群 2 頭及びデンマークランドレース、
17 一群 5 頭) において、血液からの OTA の消失率は、腎臓、肝臓及び他の組織よ
18 り低かった。(参照 103)

19 ブタ (デンマークランドレース、雌、一群 4 頭) に 0.8 mg/kg 体重/日の OTA
20 を 5 日間胃内投与して肝臓と腎臓の OTA 濃度が調べられた。OTA は肝臓に 189
21 µg/kg、腎臓に 283 µg/kg 検出された。(参照 104)

22 ブタ (デンマークランドレース、雌、一群 5 頭) に 1 mg/kg 飼料及びニワトリ
23 (系統不明、性別不明、羽数不明) に 0.3~1 mg/kg 飼料の OTA を混餌投与
24 し、組織分布に関する結果をまとめたところ、両動物種における組織中 OTA 濃
25 度は腎臓>肝臓>筋肉>脂肪組織の順であった(参照 105, 106)。また、ブタ (系
26 統不明、性別不明、一群 1 頭) を用いた 6 週~3 か月の反復投与試験の結果で
27 は、腎臓>筋肉>肝臓>脂肪組織の順であった(参照 89, 107)。

28 ブタ (SPF、性別不明、一群 10 頭) に 0、0.025、0.050、0.100 又は 0.200
29 mg/kg 飼料 (それぞれ 0、0.0009、0.0017、0.0034 又は 0.0069 mg/kg 体重/日)
30 の OTA を約 3 か月混餌投与した結果、臓器及び筋肉に僅かな OTA 残留が認め
31 られ、腎臓に 4~11 µg/kg、筋肉に 1~6 µg/kg 及び肝臓に 1~4 µg/kg の OTA が
32 検出された。(参照 107)

33 ブタ (交雑種、去勢雄及び雌、4 週齢、一群各 12 頭) に、OTA 汚染飼料
34 (0.120 mg/kg 飼料) を 4 週間給与した後に腎臓及び肝臓各組織中 OTA 濃度を
35 測定した結果、平均濃度は腎臓で 12.49 µg/kg、肝臓で 1.02 µg/kg と、肝臓より
36 も腎臓で高い傾向が認められた。(参照 98)

37 ウシ (ジャージー、搾乳牛、一群 1 頭) に 0.317~1.1 mg/kg 飼料の OTA を
38 9 kg 飼料/日の割合で 11 週間経口投与した結果、一頭の腎臓に OTA が認められ
39 たが、筋肉、肝臓、血清、乳及び尿において OTA は検出限界 (5 µg/kg) 未満
40 であった。(参照 108)

6 極性をもつ細胞の側面と底部側の細胞膜を併せた名称

サバンナモンキー（*Cercopithecus aethiops*、雌、一群 3 頭）に、0.8、1.5 又は 2 mg/kg 体重の OTA が単回静脈内投与され、21 日間血液及び尿試料が採取された。OTA 血中濃度は投与後 2 時間で最大となり、尿中に代謝物は検出されなかった。サルにおける OTA の血液からのクリアランスは 2 コンパートメントモデルに一致し、OTA の半減期は、19～21 日であった。体循環コンパートメント（中心）と末梢組織コンパートメントの平均見かけ分布容量は、59 mL/kg であった。（参照 109）

OTA の動態プロフィールを調べるため、395 ng の³H]-OTA(0.14 MBq) がヒト（志願者、男、1 名）に空腹時に経口投与され、75 日間血液が採取された。投与後 8 時間目に、投与した³H]-OTA の 84.5%以上が血漿中に認められた。6 日後には血中の³H]-OTA は、投与量の 36.3%となり、以後ゆるやかに減少した。HPLC 分析の結果、血中ではほとんどが遊離 OTA であり、OTA 代謝物は検出されなかった。OTA の血液からのクリアランスは 2 コンパートメントオープンモデルに一致した。この 2 コンパートメントモデルは、迅速な消失及び分布期とその後の緩やかな消失期（腎臓クリアランス 0.11 mL/分）と続き、半減期は最初の 6 日間は約 20 時間、6 日後からは 35 日と算出された。腎臓クリアランスは 0.093～0.109 mL/分（およそ 0.13 L/日）と算出された。また、食品に由来する OTA の血中濃度の個体間変動が、ヒト（志願者、男女、8 名）において 2 か月間調査された。OTA の血中濃度は、0.20～0.88 µg/L であった。血中濃度は、2 名において観察期間中ほぼ一定に推移したが、6 名においては、観察期間中に増減が認められた。男女差は認められなかった。（参照 91）

一方、2 コンパートメントモデルでは OTA の投与経路、生物種又は性差による半減期の違い及び腎臓への集積を十分に説明できず、OTA の動態の理解に 3 コンパートメントモデル又はそれ以上のコンパートメントモデルに基づく解析が検討された。（参照 82）

c. 卵、乳汁、胎盤及び胎児への移行

ニワトリ（白色レグホン、雌、一群 27 羽）に生後 1 日目から 0.3 又は 1 mg/kg 飼料（0.0375 及び 0.125 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁷⁾）の OTA を 341 日間給餌して卵への移行が調べられた。卵中（各群 60～70 個）に OTA は認められなかった。（参照 112）

ニワトリ（プリマスロック、産卵鶏、一群 4～8 羽）に OTA が 2.5 又は 10 mg/kg 飼料（0.1 又は 0.4 mg/kg 体重/日に相当）で 7 日間混餌投与された。4 日目に 10 mg/kg 飼料投与群の卵黄中に 1.1 µg/kg の OTA が検出された。投与終了 3 日後でも 0.7 µg/kg の OTA が卵黄中に検出された。（参照 113）

ニワトリ（産卵鶏、一群 7 羽）に OTA が 2 mg /kg 飼料の用量で 3 週間混餌

⁷ 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)	1ppm飼料時摂取量 (mg/kg 体重/日)
ヒナ鳥	0.04	50	0.125

投与された。分析した卵の OTA 残留量は検出限界（0.05 $\mu\text{g/kg}$ ）未満であった。（参照 114）

ウズラ（日本ウズラ、産卵鶏、一群 5 羽）に $[^{14}\text{C}]$ -OTA を 0.070 mg/kg 体重の用量で静脈内投与すると、オートラジオグラフ法により 6 時間後には黄色卵胞の周囲に環状に放射能残留が認められ、24 時間後には卵白中に OTA が検出された。（参照 115）

ウズラ（日本ウズラ、産卵用、一群 28 羽）に OTA を 0、1、5 又は 20 mg/kg 体重で単回経口投与すると、5 mg/kg 体重以上の投与群で OTA の卵への移行が認められた。12 時間後の黄色卵胞の OTA 濃度は、5 mg/kg 体重投与で 13 $\mu\text{g/kg}$ 、20 mg/kg 体重投与で 34 $\mu\text{g/kg}$ であった。OTA は、投与 4 日後の黄色卵胞になお存在し、平均濃度は全卵中より 10 倍高かった。5 mg/kg 体重の OTA 投与群で卵中 OTA 濃度は 72 時間後に 2.06 $\mu\text{g/kg}$ と最高値となった。20 mg/kg 体重投与群において卵中の OTA 濃度は更に高くなり、産卵が遅延した。（参照 116）

ラット（Sprague-Dawley、雌、一群 4～5 匹）の授乳期に OTA を 0.010、0.050 又は 0.250 mg/kg 体重の用量で単回経口投与すると、乳中に OTA が認められた。母動物において乳中と血中の濃度比は 24 時間後に 0.4 及び 72 時間後に 0.7 であった。72 時間後では母乳中と児動物の血液中の OTA 濃度及び母乳中と児動物の腎臓中の OTA 濃度との間に正の直線的相関が認められた。児動物における血液中及び腎臓中 OTA 濃度は、それぞれ母動物の OTA 濃度より高かった。（参照 117）

マウス（C57B1、妊娠、一群 2～4 匹）に 120～170 mg/kg の $[^{14}\text{C}]$ -OTA を静脈内投与し、全身オートラジオグラフィによる解析が行われた。 $[^{14}\text{C}]$ -OTA は、妊娠 10 日目よりも 8、9 日目に投与したときに迅速に胎盤を通過し、投与後 20 分後に子宮壁、胎盤及び胎児組織で放射能が認められた。妊娠 17 日目に $[^{14}\text{C}]$ -OTA を投与した場合は、胎児に僅かな放射能が認められた。（参照 118, 119）

マウス（ICR、妊娠、一群 5～13 匹）の妊娠 11 日目及び 13 日目に OTA を 5 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、母動物及び胎児への分布が調べられた。母動物の血漿、肝臓、腎臓及び胎盤中の OTA 濃度は投与 2 時間後に最大値に達した。胎盤中の OTA 濃度は、投与 2～6 時間後が高く、以後は他の組織より緩やかに減少した。母動物における OTA の血清半減期は、妊娠 11 日目投与で 29 時間及び 13 日目投与で 24 時間であった。胎児中の OTA 濃度は投与後 2 時間では母動物血清中濃度の 0.1%以下であったが、徐々に増加し、11 日目投与では 48 時間後に 4.6%及び 13 日目投与では 72 時間後に 13.3%であった。（参照 83）

ラット（Sprague-Dawley、雌、一群 39 匹）に 0 又は 0.050 mg/kg 体重/日の OTA（炭酸水素ナトリウム水溶液中に溶解）が、交尾 2 週間前及び妊娠中に週 5 日、その後 3 週間に渡る授乳期に週 7 日強制経口投与され、OTA の児動物への移行が調べられた。OTA 非投与群又は投与群の母動物から産まれた児動物は一群当たり 3～4 匹に分けて交差哺育された。OTA 非投与群の母動物から産まれ、OTA 非投与群の母動物に哺育された OTA にばく露していない対照群、OTA 投与群の母動物から産まれた後 OTA 非投与群の母動物に哺育された出生

前ばく露群、OTA 非投与群の母動物から産まれた後 OTA 投与群の母動物に哺育された出生後ばく露群及び OTA 投与群の母動物から生まれ、OTA 投与群の母動物に哺育された出生前後ばく露群の 4 群に分類された。OTA 処置は、母動物の体重に影響せず、児動物の体重、腎重量及び発育にも影響しなかった。児動物の血漿及び腎臓における OTA 濃度は、対照群でそれぞれ $11 \pm 13 \mu\text{g/L}$ 及び $4.0 \pm 5 \mu\text{g/kg}$ 、出生前ばく露群でそれぞれ $130 \pm 14 \mu\text{g/L}$ 及び $42 \pm 7 \mu\text{g/kg}$ 、出生後ばく露群でそれぞれ $640 \pm 86 \mu\text{g/L}$ 及び $180 \pm 63 \mu\text{g/kg}$ であった。出生前後ばく露群の児動物の OTA 濃度が最も高く、血漿及び腎臓における OTA 濃度は $860 \pm 100 \mu\text{g/L}$ 及び $240 \pm 52 \mu\text{g/kg}$ であった。この結果は哺乳期の児動物における OTA の高吸収や低排泄を示唆している。(参照 120)

ラット (Sprague-Dawley、妊娠、一群 4 匹) の妊娠 12 日目に 2.5 mg/kg 体重の $[\text{H}^3]$ -OTA を皮下投与して各臓器への分布が調べられた。この結果から、妊娠 12 日目のラットに OTA を投与した場合、胎児組織に蓄積するが、総投与量の 0.1% を超えることはないことが示された。(参照 85)

ウサギ (Blanc de Termonde、雌、一群 4 匹) に、 0.190 mg/kg 飼料 (0.016 mg/kg 体重/日に相当) の OTA を含む自然汚染飼料が哺乳の 3～19 日目に給与された。OTA は母動物の血液から乳に移行し、最終的に児動物へ移行した。哺乳 19 日目の OTA 濃度比は母動物の血漿を 1 とすると乳では 0.015 であり、乳中 OTA 濃度と児動物血漿中 OTA 濃度には正の直線的相関が認められた。児動物における血漿 OTA 濃度に対する腎臓 OTA 濃度の比は、母動物より高く、児動物においては解毒が緩やかであると考えられた (表 4)。(参照 121)

表 4 哺乳ウサギと児動物のオクラトキシン A 濃度

オクラトキシン A 濃度			
	血漿($\mu\text{g/L}$)	乳($\mu\text{g/L}$)	腎臓($\mu\text{g/kg}$)
母動物	3.144 ± 0.704	0.049 ± 0.011	1.241 ± 0.366
児動物	0.051 ± 0.0248	—	0.041 ± 0.0257

(参照 121)

ブタ (系統不明、妊娠、一群 2 頭) に OTA 添加飼料が 0.38 mg/kg 体重/日の用量となるように調整され、妊娠 21～28 日目に給餌された。OTA は胎盤に 40 又は $60 \mu\text{g/kg}$ の濃度で認められたが、胎児からは検出されなかった(参照 122)。同様に、 0.700 又は 1.400 mg/kg 飼料 (0.007 又は 0.016 mg/kg 体重/日) の OTA を妊娠期間中に混餌投与されたブタ (デンマークランドレース、妊娠、一群 2 頭) の児動物に OTA 残留は認められなかった(参照 123)。一方、自然汚染飼料 (OTA 0.1931 mg/kg 飼料、ゼアラレノン 0.1529 mg/kg 飼料) を摂取したブタ (系統不明、妊娠、一群 1 頭) から胎児に OTA が移行したとする報告があり、母ブタの血中濃度は $0.20 \mu\text{g/L}$ であったが、児動物 (6 頭) の出生時の血中濃度は $0.075 \sim 0.12 \mu\text{g/L}$ であった(参照 124)。

反すう動物では経口摂取された OTA のほとんどが消化管内で分解されることが考えられており、ウシ (ジャージー、雌、一群 1 頭) に $0.317 \sim 1.1 \text{ mg/kg}$ 飼料の OTA を 11 週間経口投与した結果、乳から OTA は検出されなかった。(参照

108)

一方、妊娠 3～6 か月目のウシ（ホルスタイン、雌、一群 1 頭）に 0.2、0.75 又は 1.66 mg/kg 体重/日の OTA を 5 日間胃内投与した場合には、1.66 mg/kg 体重/日の OTA 投与群においてのみ、投与開始から 3、4 及び 5 日目の乳に僅かに OTA が検出されたとの報告もある。(参照 125)

④ 代謝

OTA の主な代謝経路を図 1（「Ⅲ. 安全性に係る知見の概要」の冒頭）に示した。OTA は、主に消化管等で毒性の低い OTα に加水分解される。肝臓及び腎臓では OTA は CYP により酸化され、少量であるが、OTA の酸化代謝物が認められている。このほか、脱塩素化、ラクトン環の開裂、抱合体形成等、様々な経路で代謝される報告がある。(参照 53)

ヒト、ブタ及びラットの肝臓から調製したミクロソームを、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）の存在下で OTA とインキュベーションし、得られた代謝物について NMR 及び MS を用いて確認した結果、少量の 4(R)-ヒドロキシオクラトキシン A (4(R)-OH-OTA) 及び 4(S)-OH-OTA が生成された。ヒト及びラット肝臓のミクロソームを用いると 4(R)-OH-OTA が主要な代謝物で、ブタの肝臓ミクロソームを用いると 4(S)-OH-OTA が主要な代謝物であり、これらの OTA の加水分解には CYP が関与していると考えられた。また、両者の加水分解反応における Vmax 値が低かったことから、これらの代謝物は OTA の主要経路ではないと著者らは考えた(参照 126)。NADPH 存在下でラット又はヒト肝臓ミクロソームと OTA をインキュベーションし、HPLC で分析した結果、OTA の代謝物として 4(R)-OH-OTA が認められたが、その生成率は低く、タンパク質 1 mg 当たり 10～25 pmol/分であった(参照 94)。4(R)-OH-OTA は OTA より毒性が低いと考えられているが、4(S)-OH-OTA の毒性については利用できるデータはない(参照 126, 127, 128)。

OTA の代謝について、各種ミクロソーム標品、ラット CYP 標品及び組換えヒト CYP 標品を用いた *in vitro* 系で OTA の代謝が調べられている。

【大城専門委員（第58回調査会）】

36ページ38行目～37ページ3行目（元は「（1）急性毒性」の項目に記載）は、内容として「代謝」の項目に移動しても良いのではないか。

OTA をラット又はマウスの肝ミクロソーム反応系に添加すると LC-MS/MS でごく少量の 4(R)-及び 4(S)-OH-OTA が検出されている。げっ歯類では肝臓に発現する CYP1A2 と CYP3A2 の関与が示唆されている(参照 129)。マウスの腎ミクロソームの存在下で OTA が代謝されて遺伝毒性を示すとの報告(参照 130)がある一方、ラットの腎ミクロソームでは OTA の遺伝毒性が検出されないとの報告もある(参照 129)。また、マウス（Swiss、雄、一群 5～10 匹）に、薬物代謝酵素を誘導するフェノバルビタール（80 mg/kg 体重/日）を 5 日間、又は 3-メチルコラントレン（20 mg/kg 体重/日）を 2 日間、それぞれ経口投与した後に OTA を強制経口投与した結果、前処理により OTA の LD₅₀ 値が増加するなど OTA の急性毒性が低下した。一方、ミクロソームのモノオ

キシゲナーゼ阻害剤であるピペロニルブトキシド（1,400 mg/kg 体重）を投与した場合には、OTA の投与 144 時間後の LD₅₀ は 40 mg/kg 体重から 18.9 mg/kg 体重に減少した。（参照 159）

4(*R*)-OH-OTA の生成に関して、ラットの CYP1A2 及び CYP2C11 の発現系で検出されず、ヒトの CYP1A1 及び CYP3A4 の存在下で生成が検出されるが、ヒト CYP1A2 には活性が認められなかったとの報告がある(参照 94)。しかしながら CYP3A4 以外に CYP2C9-1 と CYP1A2 に弱い活性があるとする報告もある(参照 129)。このように OTA 代謝に関与する酵素分子種と活性化部位についての知見は報告間に違いがあり、酵素学的な活性化機序には未だ不明の点がある。

各種 CYP 誘導剤を前投与したラットの肝臓ミクロソームを用いると 4(*R*)-OH-OTA の生成率が増加した。アルカリホスファターゼ（ALP）及びγグルタミルトランスフェラーゼ（γGT）の尿中排泄を指標とした OTA の腎障害は、CYP 誘導剤の前投与により軽減することから、CYP による酸化により OTA 毒性は低下すると考えられた。（参照 94, 129, 130）

【大城専門委員（第58回調査会）】

20行目の「NMR」を「¹H-NMR」に修正。

ウサギ肝臓のミクロソームと OTA を共にインキュベーションすると 10-OH-OTA が形成されることが ¹H-NMR 及び MS で確認された(参照 59)。

反すう動物（ウシ及びヒツジ、性別不明、各 8 頭）胃液中で OTA の代謝物である OTC が生成されたことが報告されている(参照 131)。

【事務局より（第58回調査会）】

27行目～30行目（元は「排泄」の項目に記載）は、内容として代謝にフォーカスされているため、記載箇所を移動したものです。

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群 4~6 匹）にネオマイシンを 0 又は 5% 混餌投与した後、1 mg/kg 体重の OTA を経口投与した。ネオマイシン投与群では OTA から OTα への加水分解が阻害され、投与量に対する回収率は対照群で 56% 及びネオマイシン投与群で 71%であった。（参照 56）

ラット（Wistar、雄、匹数不明）に 0.050 mg/kg 体重 の OTA 又は 0.0535 mg/kg 体重の OTC を経口投与すると、血中 OTA 濃度は 1 時間後に最大となり、OTC は投与後速やかに体内で OTA に変換されたと考えられた（参照 132）。

ラット及びヒトの初代培養肝細胞と、毒性を示さない濃度として 10⁻⁷~10⁻⁵ mol/L の [³H]-OTA を *in vitro* で 8 時間共にインキュベーションすると、OTA の生体内代謝物として知られる 4(*R*)-OH-OTA のほかに、新たな 2 種の代謝物が認められ、HPLC の分析結果から、OTA のヘキソース又はペントースとの抱合体と推定された。このうちペントース抱合体は、ヒトの初代培養肝細胞を用いた場合には検出されなかった。薬物代謝酵素の誘導剤である 3-メチルコラントレン刺激により 4-OH-OTA 生成は増加したが、抱合体生成には変化がなかった。（参照 134）

マウス（BALB/c、雄、一群5匹）に0.0005、0.0014、0.008又は0.020 mg/kg 体重/日の OTA を4週間経口投与後、腎臓及び精巣における OTA 代謝物を HPLC で分析した結果、両臓器に共通に、OTB、OTHQ-GSH、OTA-GSH、OT α 、OTHQ、OTHQ-N-acetylcystein、脱炭素 OTHQ、4(R)-OH-OTA、OTC 及び未同定の1種の代謝物が認められた。(参照 135)

【大城専門委員（第58回調査会）】

10～17行目（元は「(1) 急性毒性」の項目に記載）は、内容として「代謝」の項目に移動しても良いのではないかと。

離乳前でルーメンの発達していないウシ（ホルスタイン、5週齢、一群1頭）に11又は25 mg/kg 体重の OTA を胃内投与した結果、投与後24時間以内に死亡した。一方、ルーメンの発達したウシ（ホルスタイン、妊娠3～6か月、一群1頭）に0.2、0.75又は1.66 mg/kg 体重/日の OTA を4～5日間、並びに13.3 mg/kg 体重の OTA を単回胃内投与した結果、13.3 mg/kg 体重投与群のみ一過性の臨床影響を示した。これらの結果から、ルーメンの発達したウシの経口投与による OTA の致死量は、ルーメンの発達していないウシに比較して高値で13 mg/kg 体重を数 mg/kg 体重上回ると考えられた。(参照 125)

⑤ 排泄

ラットの血漿中 OTA のクリアランスにおいては、胆汁排泄及び糸球体ろ過が重要な役割を担っている。これは、遊離 OTA の分子量が403.82であることと関連付けられている。ラットでは分子量350～450の範囲にある物質が胆汁排泄及び糸球体ろ過を受けやすい。主な排出経路である尿又は糞への相対的分布は OTA の投与経路、投与量等に依存する(参照 81)。マウス(ddY、雄、一群5匹)に薬物代謝酵素の誘導剤であるフェノバルビタール(PB)を1週間前投与した後、OTAを15 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与した。OTAの胆汁への排泄はPB非処理群に比較して約2倍に増加した。PB処理群における投与後24時間の尿への排出は、非処理群に比べてOTAは1/3に、OT α は1/4に減少した(参照 61)。

ラット(Wistar、雄、一群3～4匹)にOTAを静脈内投与後に胃腸管を灌流した結果、OTAは腸管からも排出され、腸管灌流液中に顕著な量のOTAが出現した。(参照 69)

【事務局より（第58回調査会）】

36～40行目は、内容として代謝にフォーカスされているため、「代謝」の項目へ記載箇所を移動しました。

~~Sprague-Dawley ラット (雄、一群6匹) にネオマイシンを混餌投与した後、ネオマイシン投与群及びネオマイシン非投与の対照群に1 mg/kg 体重の OTA を経口投与した。ネオマイシン投与群では OTA から OT α への加水分解が阻害され、投与量に対する回収率は対照群で56%及びネオマイシン投与群で71%であった。(参照 56)~~

ラット(Wistar、雄、一群3～4匹)に15 mg/kg 体重の [14 C]-OTA が単回経口投与された。投与6時間後までに放射能活性の33%が胆汁中に排泄された。

また、投与された OTA の約 56%が、投与後 120 時間の間に OTA 又は OT α として尿及び糞中に排泄された。相対的に OTA より OT α の排泄量が多かった。また、微量の OT α が胆汁から検出された。(参照 55)

ラット (Wistar、雄、匹数不明) に 6.6 mg/kg 体重の OTA を経口又は腹腔内投与すると、8 日間の観察期間中に尿中に排出されたのは OT α 、OTA 及び 4(*R*)-OH-OTA であり、それぞれ投与量の 27%、12%及び 1~2%であった。4(*S*)-OH-OTA は検出されなかった。OTA と OT α は糞中にも僅かに認められた。血液中に OTA の代謝物は検出されず、OTA は代謝されると速やかに尿中に排出された。(参照 71)

ラット (アルビノ、雄、匹数不明) に 6.6 mg/kg 体重の用量で OTA を経口投与し、5~6 日間の観察期間における回収率が調べられた。尿中には OTA、OT α 及び 4(*R*)-OH-OTA が検出され、排泄量はそれぞれ投与量の 6.9%、27.2%及び 1.6%であった。糞中には微量の OTA と OT α が検出された。(参照 136)

ラット (F344、雄、一群 4 匹) に 1 mg/kg 体重の [3 H]-OTA を経口投与した結果、投与 24 時間後までに放射能活性の $14 \pm 1\%$ が尿中に、 $18.0 \pm 2.6\%$ が糞中に排出された。尿中に排出された放射性物質の 85%が OT α 及び 3.9%が OTA であった。また、未同定の 2 種類の代謝物及び微量 (0.01%以下) の 4(*R*)-OH-OTA が検出された。糞中に排出された放射性物質は OTA 又は OT α として同定されなかった。(参照 94)

ラット (F344、雌雄、一群各 3 匹) に、0.5 mg/kg 体重 (溶媒: コーン油) の OTA が単回経口投与された。投与後 96 時間の観察期間中に尿中 OTA 及び OT α の投与量に対する回収率は、雄ラットでそれぞれ 2.1%及び 4.2%並びに雌ラットではそれぞれ 5.2%及び 3.5%であった。尿中には低濃度の OTA-グルコシドが検出され、LC-MS/MS のデータからペントース又はヘキソース抱合体と推定された。96 時間内における糞中の OTA 及び OT α の回収率は、雄で 5.5%及び 2.9%並びに雌で 1.5%及び 2.2%であった。(参照 86)

ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 2 mg/kg 体重/日の OTA を 1 週間に 5 日、2 週間強制経口投与し、最終投与 24 時間後までに採取した尿を LC-MS/MS で分析した結果、OT α 、ペントース又はヘキソース抱合体並びに痕跡程度の OTB 及び OTHQ が検出された。最終投与 72 時間後にと殺したラットの肝臓、腎臓及び血漿中に OTA は認められたが、その代謝物は検出されなかった。(参照 137)

第 1 胃が未発達の生後 10~15 日目の子ウシ (ホルスタイン、雄、一群 2 頭) に 0.5 mg/kg 体重の用量で OTA を経口投与してから、120 時間の糞尿が分析された。その結果、投与された OTA の 80~90%が OT α として排出され、OT α は尿中にのみ認められた。一方、未代謝の OTA も尿中 (3.2~3.3%) 及び糞中 (7.8~10%) に認められた。(参照 90)

サバンナモンキー (*Cercopithecus aethiops*、雌、一群 1 頭) に、0.8、1.5 又は 2 mg/kg 体重の OTA を単回静脈内投与し、21 日間血液及び尿試料が採取された。採取試料の分析を行った結果、OTA の平均の全身クリアランスは、0.22 mL/h/kg 体重であった。(参照 109)

ヒト (志願者、男、1 名) に 395 ng の [3 H]-OTA (0.14 MBq) を空腹時に

経口投与してから採取した尿中の $[^3\text{H}]$ 化合物が HPLC により分析された。投与 1 日後から 9 日後までの 4 検体において尿中に排泄された放射性物質の 42～54%が遊離 OTA であった。サンプリング期間を通じて、OTA 代謝物又は抱合体と考えられる放射性物質の 14～20%が遊離 OTA よりも速く溶出された。投与後 6 日間の観察期間中に投与量の約 20%が尿に排泄された(参照 91)。

血漿中でタンパク質と結合していない OTA は、0.2%以下であることが多くの動物種で認められている(参照 76)。OTA の尿への排出は尿細管分泌に依存し、そのほとんどは多様なイオン性薬物の尿細管分泌を媒介する有機アニオン輸送によると考えられた(参照 138)。

有機アニオントランスポーターの OAT1 を発現させた卵母細胞を用いた試験で、OTA は OAT1 を介して膜輸送された。アルブミンと結合した OTA については、この OAT1 依存的な OTA 輸送が抑制された。(参照 139, 140)

(2) 酵素及び他の生化学的パラメータへの影響

ラット（アルビノ、性別不明、一群 15 匹）に 0 又は 0.100 mg/匹/日の OTA を 8 週間経口投与した結果、血中糖濃度が有意に増加し、血清中インスリン濃度は有意に低下した。肝臓における糖分解酵素活性は低下したが、糖新生酵素活性は増加した。OTA の糖尿病誘発作用は、膵臓細胞からのインスリンの合成又は放出の障害、に加え既知のグリコーゲン生成の抑制及びグリコーゲン酸化酵素活性の抑制から、解糖系の抑制が考えられた。(参照 141)

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群 5～6 匹）に OTA を 10 mg/kg 体重の単回又は 0、0.5、1.0、2.0 又は 4 mg/kg 体重/日で 4 日間腹腔内投与した結果、腎臓の小胞体カルシウムポンプ活性増加が 10 mg/kg 体重単回投与群と 2.0 mg/kg 体重/日以下投与群で認められた。4 mg/kg 体重/日与群ではカルシウムポンプ活性は低下した。(参照 142)

ブタ（Hormel-Hanford ミニブタ、性別不明、頭数不明）腎臓皮質細胞を用いて OTA によるタンパク質、RNA 及び DNA の生合成障害を調べた結果、OTA によるこれらの高分子化合物生合成の障害は細胞内呼吸の障害によるものではないことが示された。(参照 143)

OTA はラット肝臓がん由来 HTC 細胞の増殖を抑制した。HTC 細胞に OTA を添加すると 30 分後にタンパク質合成の障害、150 分後に RNA 合成障害が認められた。OTA 添加後 5 時間の間に、DNA の合成障害は認められなかった。この結果より、OTA のタンパク質合成障害に伴って RNA の合成が障害されることが確認された。(参照 144)

マウス（BALB/c、雌雄不明、一群 15 匹）に 0、1、2.5、5、10 又は 15 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与すると、投与量に依存したタンパク質合成障害が認められた。1 mg/kg 体重の OTA 投与 5 時間後のタンパク質合成障害の程度は、肝臓、腎臓及び脾臓で異なり、非投与群と比較してそれぞれ 26%、68%及び 75%であった(参照 145)。OTA のタンパク質合成障害は mRNA からタンパク質への翻訳レベルで起こり、アミノアシル反応及びペプチド伸長を障害することが示された。アミノアシル tRNA 合成酵素は、アミノ酸とそのアミノ酸に対応したアンチコドンを持つ tRNA との結合に係わる二段階の反応を触媒する。第一段階では、アミ

ノ酸が AMP と結合してアデニルアミノ酸となり活性化される。第二段階では、アデニルアミノ酸が tRNA とエステル結合を形成し、アミノアシル tRNA となる。酵母細胞より抽出されたフェニルアラニン tRNA 合成酵素を用いて OTA の作用が調べられた結果、OTA はアミノアシル tRNA 合成酵素のひとつであるフェニルアラニン tRNA 合成酵素の第一段階の反応を主に阻害した(参照 146)。HTC 細胞を用いた試験では、OTA によるタンパク質合成拮抗阻害が、フェニルアラニンの濃度が増加すると回復することが認められた。OTA のタンパク質合成阻害において、フェニルアラニン tRNA 合成酵素とフェニルアラニンとの結合を競合的に阻害することが確認された(参照 144)。同様に、マウス (ddY、雄、一群 7~10 匹) における OTA の経口投与による LD₅₀ は 46.0 mg/kg 体重であったが、フェニルアラニン 100 mg/kg 体重を OTA と同時に経口投与したところ、OTA の経口投与による LD₅₀ は 71 mg/kg 体重となった(参照 61)。また、マウス (Swiss、雌雄不明、一群 10 匹) において、OTA を 0.8 mg/匹 (40 mg/kg 体重に相当) の用量で腹腔内投与するとマウスは 24 時間以内に 100% 死亡するが、1 mg のフェニルアラニンを同時に腹腔内投与することにより、死亡例は認められなかった(参照 147)。

フェニルアラニン tRNA 生成とタンパク質合成に対する影響に関して、OTB は OTA に対し拮抗作用を示さなかった(参照 148)。OTA 代謝物のタンパク質合成抑制作用が酵母を用いて調べられた。OTA の代謝物である 4(*B*)-OH-OTA は OTA と同様にタンパク質合成抑制作用を示したが、フェニルアラニンを分子内に含まない OTα には、タンパク質合成抑制作用は認められなかった(参照 149, 150)。

OTA 分子内のフェニルアラニンをチロシンなどの他のアミノ酸に置き換えると、OTA と同様に各アミノ酸の特異的 tRNA 合成酵素を阻害した。(参照 149)

フェニルアラニン tRNA 合成酵素の OTA に対する結合親和性は、フェニルアラニンに対する結合親和性より弱く、酵母のフェニルアラニン tRNA 合成酵素を用いた実験では、OTA に対する親和性はフェニルアラニンに対する親和性の 1/300 (OTA では $K_M=1.3$ mmol/L、フェニルアラニンでは $K_M=3.3$ μmol/L) であり、ラットの肝臓では 1/20 程度であった (OTA では $K_M=0.28$ mmol/L、フェニルアラニンでは $K_M=6$ μmol/L)。(参照 149, 151)

HTC 細胞を OTA 存在下でインキュベーションした結果、HTC 細胞内の OTA 及びその代謝物の濃度は、培地中濃度の 200~300 倍に増加したことから、OTA はフェニルアラニン tRNA 合成酵素との結合親和性は低くても、フェニルアラニンより容易に細胞内に濃縮されやすいため、阻害作用を示すと考えられた。(参照 150)

OTA はまた、フェニルアラニンを基質とする他の酵素にも作用する可能性はあるが、他の単離された酵素系の活性において、OTA の直接的影響の証拠は得られなかった。(参照 151)

フェニルアラニン代謝における OTA の影響が、ラットの初代培養肝細胞で検討された。OTA は 0.12~1.4 mmol/L の濃度でフェニルアラニンからチロシンへの加水分解を触媒するフェニルアラニン加水分解酵素及びその後のチロシン代謝に関与するホモゲンチジン酸酸化酵素を阻害した。OTA のフェニルアラニン加

水分分解酵素に対する IC_{50} は、0.43 mmol/L であった。OTA α にはこの阻害作用は認められなかった。(参照 152)

OTA は、ラット肝臓ミクロソームにおける NADPH 又はアスコルビン酸依存の脂質過酸化及び腎臓ミクロソームにおける NADPH 依存の脂質過酸化を増強することが、MDA 生成を指標とする試験により認められた。リン脂質小胞を用いた *in vitro* 試験により OTA は Fe^{3+} と 1 : 1 で結合し Fe^{3+} から Fe^{2+} への還元を促進することで脂質の酸化剤として作用し、過酸化脂質の生成を促進することが示唆された。ラット (Wistar、雄、一群2匹) に OTA を 6 mg/kg 体重で経口投与すると、過酸化脂質が増加し、過酸化脂質の生成を示すエタン排出は 7 倍増加した。(参照 153, 154)

ブタ (Hormel-Hanford ミニブタ、雄、頭数不明) の腎臓皮質組織片を、OTA と CIT (それぞれ 10^{-6} ~ 10^{-3} mol/L) のいずれか一方又は両方とインキュベーションした後、テトラエチルアンモニウムイオン及び p-アミノ馬尿酸イオンの輸送能、及び [3H]-ロイシンを用いたタンパク質合成活性が測定された。その結果、いずれにおいても OTA による阻害が認められた。(参照 155)

ラット (Wistar、雄、一群6匹) に OTA を 0.289 mg/kg 体重で 48 時間ごとに 3 週間強制経口投与する際、活性酸素を除去する抗酸化酵素スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 及びカタラーゼを同時に作用させることで、これらの OTA 誘発腎毒性への影響が検討された。なお、SOD は活性酸素を過酸化水素に変換し、生成した過酸化水素はカタラーゼにより更に分解される。試験期間中、OTA 投与の 1 時間前に SOD 及びカタラーゼを 20 mg/kg 体重で 48 時間おきに皮下注射した結果、OTA で誘発される腎毒性影響 (蛋白尿、クレアチニン血症並びに尿中乳酸脱水素酵素 (LDH)、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP) 及び γ GT 酵素活性の上昇等) のほとんどが有意に低下し、OTA の尿中排泄は増加した。(参照 156)

ラット (Wistar、雄、匹数不明) における OTA の腎臓への影響として、腎糸球体のろ過速度の減少、近位尿細管以降における水、 Na^+ 、 K^+ 及び Cl^- 排泄の増加、並びに尿流量に対する浸透圧クリアランス依存性の増加が認められた。さらに、OTA は、*in vitro* において MDCK (イヌ腎臓由来腎臓細胞) における細胞膜アニオン伝導を阻害した。(参照 157)

(3) 吸収、分布、代謝、排泄に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）

・ *in vitro*試験

Caco-2 細胞 (HTB-37) 及び HepG2 細胞 (HB-8065) を共培養して 0、5、15 又は 45 μ M の OTA で 24 時間インキュベーションして細胞生存率を MTS 試験及び経上皮電気抵抗測定した結果、用量及びばく露時間に依存して細胞毒性がみられた。Caco-2 細胞では 45 μ M で 24 時間ばく露した場合の細胞死は、33%であった。HepG2 細胞の毒性は、Caco-2 細胞に比較して低かった。単層の Caco-2 細胞に OTA をばく露した結果、フェノールレッドの透過率が用量及びばく露時間に依存して増加した。生成された OTA 代謝物の量を評価した結果、Caco-2 細胞では、HepG2 細胞よりも多くの代謝物 (主に OTA-メチルエステル) が検出された。代謝物の量と細胞毒性は、正の相関を示した。生成された OTA 代謝物は、オクラトキシン B (OTB)、OTA メチルエステル、OTA エチルエステル及び

OTA グルタチオン抱合体（OTA-GSH）であった。OTA メチルエステルは、Caco-2 細胞及び HepG2 細胞の両方において検出された主要な代謝物だった。なお、OTβ、OTα、OTα メチルエステル、OTα エチルエステルは検出されなかった。（文献リスト No.183）

HK-2 細胞を 0、25、50、100、200 又は 400 nM の OTA で 48 時間インキュベーションした結果、OTA は細胞生存率を低下させた。また、RNAisoPlus を用いて総 RNA を抽出し、cDNA synthesis kit を用いて cDNA を合成してリアルタイムサイバーグリーン法を用いて測定した結果、OTA がアрил炭化水素受容体（AhR）及びプレグナン X 受容体（PXR）遺伝子を誘導し、第 I 相酵素の CYP4501A1（CYP1A1）、CYP1A2 及び CYP3A4 遺伝子を誘導した。ヘムオキシゲナーゼ-1、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸-キノンオキシドリダクターゼ-1 及びグルタミン酸システインリガーゼ触媒サブユニットなどの第 II 相酵素の mRNA 発現は、OTA 処理による NF-E2 関連因子 2（NRF2）核転移の活性化によって増強された。（文献リスト No.277）

胃又は腸における吸収及び排泄を知る目的で NCI-N87 細胞（ヒト胃由来細胞株）及び Caco-2 細胞（ヒト結腸腺癌由来細胞株）を用いた胃腸の粘膜から基底膜側、及び基底膜から粘膜側への双方向輸送のモデルシステムを構築した。1.24 μM の OTA を 3 時間インキュベーションして頂端から基底外側への移行及び基底外側から頂端への移行の比率を計算した結果、それぞれ NCI-N87 細胞で 41.2 ± 10.6% 及び 0%、Caco-2 細胞で 0.29 ± 0.07% 及び 0% の見かけの透過率（Papp ; apparent permeability）を示した。（文献リスト No.475）

液体ヨーグルト及びコーンクッキーの 10 : 1 の混合物（30 g）に 9 μg の OTA を添加して試料にした。上部消化管モデルとして、試料 10 g にヒトアミラーゼを含む模擬唾液（150 U/mL⁸）を 2 mL 添加して 37°C で 2 分間消化し、模擬胃液（0.925 mL の 1.5 M 塩酸に 6.3 μL の 0.3 M 塩化カルシウムと 1.57 mL の水及び 1.125 mL の酵素液（ペプシン 4000 U/mL⁹）を混合して 37°C で 85 分間消化した。さらに模擬腸液（模擬胃液を 1N の水酸化ナトリウム 200 μL で pH を 7 に調製）及び胆汁抽出物を混合し 37°C で 2 時間消化した。遠心分離した吸収消化される物質を含む画分（バイオアクセス可能画分）の OTA 含有量は 72.4% だった。ラクトバチルス・カゼイ菌（BL23）及びビフィドバクテリウム・ラクティス菌（ATCC 27536）にバイオアクセス非可能画分を 1% 又は 2% 添加して 37°C で 24 時間嫌気培養した結果、1% 群では菌の増殖速度に影響し、2% 群では菌の増殖パラメータが増加した。さらにバイオアクセス非可能画分をヒト（健常ボランティア、n=5）の糞便に混合した結果、総細菌量が増加して腸内細菌叢の構成が変化した。糞便上清は免疫反応において中心的役割を果たす転写因子の NF-κB の活性化経路を誘発しなかった。（文献リスト No.476）

ラット（Wistar、雌雄、各 3 匹）、ニワトリ（Avian、雌雄、各 3 羽）、ブタ（Changbai、雌雄、各 3 頭）、ヤギ（系統不明、雌雄、各 2 頭）、ウシ（系統不明、雌雄、各 1 頭）及びヒトの肝ミクロソームが OTA を代謝した結果、

⁸ 37°C 1分間で 1 μM のでんぷんを加水分解できる酵素活性を 1 U（ユニット）とする。

⁹ pH2.0 において 37°C 1分間で 280 nm の蛍光吸収を 0.001 増加させる酵素活性を 1 U とする。

UPLC-Q/TOF-MS（Ultra-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole/Time-of-Flight hybrid Mass Spectrometry）法を用いて8種類の代謝物が同定され、そのうちフェニルアラニン部分がヒドロキシル化された3つの代謝物（9'-OH-OTA、7'-OH-OTA及び5'-OH-OTA）を新たに同定した。他の5つの代謝物（4(*S*)-OH-OTA、4(*R*)-OH-OTA、OTB、4(*R*)-OH-OTB及び4(*S*)-OH-OTB）はこれまでの報告と一致した。ニワトリ及びヒトの肝ミクロソームは、OTAを多量の7'-OH-OTAに代謝した。（文献リスト No.592）

・ *in vivo*試験

マウス（ICR、雄、一群6匹）に0、0.2、1又は3 mg/kg 体重/日のOTAを6週間（5日/週）経口投与後、採取した腎臓からRNAisoPlusを用いて総RNAを抽出し、cDNA synthesis kitを用いてcDNAを合成してリアルタイムサイバーグリーン法を用いて測定した。さらに、ウェスタンブロット解析した結果、第I相及び第II相酵素のmRNA及びタンパク質の増加をみた。KIM-1（Kidney Injury Molecule 1）は、低用量群では増加しなかったが、中用量及び高用量群で増加した。（文献リスト No.277）

マウス（Balb/c、雄、一群4匹）に0、0.21、0.5又は1.5 mg/kg 体重/日のOTAを28日間経口投与し、直腸から糞便を採取し、16SrRNA遺伝子シーケンシングとメタゲノミクスを用いて糞便中の細菌叢を解析した結果、低用量及び中用量群は対照群と比較して、Bacteroidetes 門の相対存在量は増加し、Firmicutes 門の相対存在量は減少した。高用量群ではBacteroidetes 門とFirmicutes 門の相対存在量は、対照群の相対存在量と同様だった。Cyanobacteria 門は高用量群で対照群に比較して減少したが、低用量群及び中用量群では明らかな変化は見られなかった。科レベルでは、6つの細菌科が変化した。未分類のBacteroidales 科は、全用量群で増加した。Porphyromonadaceae 科は、全用量群で増加した。未分類のCyanobacteria 科は、高用量群のみで減少した。Streptococcaceae 科は、低用量及び中用量群で増加した。Enterobacteriaceae 科は、低用量及び中用量群で増加した。Ruminococcaceae 科は、中用量群で減少した。（文献リスト No.226）

75mg/kg 体重/日のチオアセトアミドを8週間腹腔内投与して非アルコール性脂肪性肝炎（NASH；nonalcoholic steatohepatitis）を誘発したNASHマウス（C57BL/6J、雄、一群4匹）の3日後及び健常マウス（C57BL/6J、雄、一群4匹）に12.5 mg/kg 体重のOTAを単回経口投与した結果、NASHマウスの体重は、健常マウスに比較して44%軽く、腎臓重量及び肝臓重量はそれぞれ11%及び24%重かった。臓器及び体重の変化は、腎近位尿細管細胞の空胞化、変性、壊死の減少と一致していたが、OTA誘発性肝病変は認められなかった。NASHマウスにおけるOTAばく露量は、健常マウスと比較して 5.65 ± 1.10 から 7.95 ± 0.61 mg*h/mL/kg 体重に増加し、腎排泄は $5.55\% \pm 0.37\%$ から $13.11\% \pm 3.10\%$ に増加した。NASHマウスにおけるOTAの総尿中排泄量は 24.41 ± 1.74 µg から 40.07 ± 9.19 µg に増加し、腎臓残留OTAは約30%減少した。NASHマウスにおける腎臓OATアイソフォーム発現（OAT1～5）は、近位尿細管細胞によるOTA取り込みの減少に伴い約50%減少した。これらの結果、NASHマウスがOTAの

腎臓分泌及び再吸収が減衰し、OTA の尿中排泄量が増加して腎臓へのばく露（残留）量が減少した。NASH マウスでは、腎臓のすべての OAT アイソフォームが減少し、肝臓では OAT2 のみが減少した。腎基底外側部の OTA 取り込みトランスポーターである OAT1 及び OAT3 は、NASH マウスでそれぞれ 0.37 ± 0.07 から 0.19 ± 0.09 pmol/mg 及び 1.02 ± 0.43 から 0.29 ± 0.13 pmol/mg に減少した。NASH マウスの腎臓と肝臓でも、OAT2 の発現はそれぞれ 2.20 ± 0.19 pmol/mg から 1.22 ± 0.46 pmol/mg 及び 3.03 ± 0.41 pmol/mg から 2.39 ± 0.30 pmol/mg に減少した。NASH マウスでは、健常マウスと比較して、頂端に発現している腎臓 OAT5 が 1.12 ± 0.09 pmol/mg から 0.49 ± 0.19 pmol/mg に減少した。P 糖タンパク質 (P-gp) は、NASH マウスの腎臓組織で、低濃度から約 1.25 pmol/mg に増加した。さらに、NASH マウスでは腎臓 MRP2 が健常マウスと比較して約半分に減少したが、肝臓 MRP2 は NASH マウスで増加した。能動的な有機アニオンの輸出を促進する BCRP、MRP3 及び MRP4 は、NASH マウスと健常マウスの間で変化しなかった。（文献リスト No.234）

ラット (F344、雌雄、一群 6 匹) に 0、0.21 又は 0.50 mg/kg 体重/日の OTA を 7 又は 21 日間経口投与した結果、腎臓において ATP のエネルギーを用いずに共輸送、逆輸送及び単輸送をするトランスポーターの SLC (Solute-carrier) ファミリーの SLC22 ファミリーで近位尿細管基底側に存在する OAT2 及び OAT5 が雄より雌で多く発現した。消化管における両親媒性薬物の吸収に関与する SLCO1 ファミリーの OATP1 (Organic Anion Transporting Polypeptide 1) が雌で発現しなかった。OTA は、OAT をダウンレギュレーションしたが、雌の OAT3 遺伝子発現には影響しなかった。OAT のダウンレギュレーションは雄が雌より遅かった。ATP の加水分解エネルギーを利用した能動輸送を行う ABC (ATP-binding cassette transporter) ファミリーで細胞内から細胞外に排泄及び腸管吸収に関与する多選択性トランスポーターの BCRP の発現量は、投与 7 日後で雄より雌が少なく、投与 21 日後で雄が減少して雌が増加した。多剤耐性タンパク質の MRP2 の発現は雄が雌より早く、投与 21 日後の雄の OATP1 がダウンレギュレーションした。これらの結果として、用量及び投与期間に依存して、血漿、肝臓及び腎臓の OTA 濃度が増加した。また、投与 7 日後の血漿及び肝臓の OTA 濃度が雄よりも雌で高値を示した。（文献リスト No.389）

ラット (Wistar、雌雄、各 3 匹) に 5 mg/kg 体重の OTA を単回経口投与して尿と糞便を採取し試料として測定した結果、8 種類の代謝物が排泄された。8 種類の代謝物は、OTA の 5 種類の水酸化代謝物、OTA の脱塩素化代謝物である OTB、および 2 種類の OTB の水酸化代謝物が含まれた。尿中には、遊離化合物の OTA が $64 \pm 4.0\%$ 検出された。また、4(R)-OH-OTA が主な代謝物であり、4(S)-OH-OTA はごく微量しか検出されなかった。OTB の量が多く 2 つのヒドロキシル化 OTB が検出された。OTA のフェニルアラニン部分が切断されて形成された OTa が、ラットの糞便中に相当量検出されるが同定できなかった。OTA のグルクロン酸抱合体は検出されなかった。（文献リスト No.592）

ラット (F344、雄、一群 6 匹) に 0、0.070、0.210 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間 (5 日/週) 経口投与して投与 0 日目及び 28 日目の糞中の細菌の DNA を抽出し、16S rRNA シーケンス及びショットガンシーケンスを実施し、ブレイ・

カーティス指数を計算し、これらのデータを NMDS プロットした結果、OTA 投与により腸内細菌叢の多様性が減少し、乳酸菌の相対的存在量が増加した。シグナル伝達、炭水化物輸送、トランスポザーゼ、アミノ酸輸送システム、ミスマッチ修復など、腸内細菌叢の機能遺伝子の変化が観察された。乳酸菌選択培地を用いて糞便サンプルから分離した乳酸菌がラクトバチルス・プランタラム PFK2 株と 99.8%の相同性を有していた。薄層クロマトグラフィーにより、この株は OTA を吸収はできるが分解はできないことが示された。（文献リスト No.190）

ラット（F344、雄、一群 6 匹）に 0、0.07 又は 0.210 mg/kg 体重/日の OTA を 2、4、13 又は 26 週間（5 日/週）経口投与し尿及び血漿を分析した結果、血清中糖タンパク質、グルコース、アミノ酸及び乳酸、イソ酪酸、アラニン、TMAO（Trimethylamine-oxide）、スレオニン、クレアチニンなどのカルボン酸の濃度に投与群と対照群で相違があった。ただし、用量依存及びばく露時間依存性が確認できなかった。尿中代謝物の変化は、D-グルコース及びミオイノシトールが増加、ならびにヘキサندیオイック酸及びペンタンディオイック酸が減少した。これらは、PCA（Principal Component Analysis）モデルにおいて時間依存的反応を示した。（文献リスト No.575）

ラット（Wistar、雄、一群 5 匹）に 0、0.125 又は 0.250 mg/kg 体重/日の OTA を 21 日間胃内投与後に腎臓を摘出してサンプルとした。ラットの有機アニオントランスポーターである OAT1 のタンパク質発現は、0.125 及び 0.250 mg/kg 体重/日群でそれぞれ約 30%減少及び約 50%減少した。OAT2 タンパク質発現は 0.250 mg/kg 体重/日群で 22%減少した。OAT3 及び OAT5 タンパク質発現は投与により変動しなかった。（追加確認文献 No.09）

ウシ（ホルスタイン、搾乳牛、一群 4 頭（対照群 1 頭））に 0 又は 30 µg/kg 体重の OTA を単回経口投与した結果、OTA 及び OTa が尿中に検出され、最大濃度はそれぞれ 1.8 ng /mL 及び 324.6 ng/mL であったが、乳、血漿、その他の組織中には検出されなかった。さらに、上海の複数のスーパーマーケットから無作為に採取した 100 個の牛乳サンプルも分析したが、陽性サンプルは検出されなかった。（文献リスト No.630）

ウシ（ホルスタイン、搾乳牛、42~104 か月齢、520~762 kg、18.4~32.3 kg 乳/日/頭、一群 3 頭）に OTA を含まない飼料で 7 日間飼育後、0.005、0.050、0.1 mg/kg 飼料の OTA を 28 日間混餌投与し、さらに 7 日間 OTA を含まない飼料で飼育した結果、0.050 mg/kg 飼料投与群の 1 頭の血漿中に 0.2 µg /kg の濃度で OTA が検出されたが、他のウシの血漿中には検出されなかった。0.1 mg/kg 飼料投与群の 1、7、10、14 及び 21 日目の 1~2 頭の血漿中に 0.1 µg/kg の濃度で OTA が検出された。試験期間中に搾乳した乳中からは OTA が検出されなかった。さらに、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び空腸から OTA を検出しなかった。

（文献リスト No.200）

（4-3）実験動物等における体内動態のまとめ（案）

【事務局より（第66回調査会）】

第65回調査会における審議を踏まえ、黄色ハイライト部分を修正しております。

OTA は、消化管内微生物、消化酵素及び肝ミクロソームによって、4(*S*)-OH-OTA、4(*R*)-OH-OTA、4(*R*)-OH-OTB、OTB、4(*S*)-OH-OTB、9'-OH-OTA、7'-OH-OTA、5'-OH-OTA及びOTaに代謝分解される。特にウシなどの反すう動物においては、経口摂取されたOTAの大部分が、吸収される前に第1胃の細菌叢でOTaに代謝分解される。また、OTAが腸内細菌叢に影響する報告もある。OTAは消化管のうち、胃及び小腸から効率よく吸収される。消化管からの吸収後、多くの動物種においては、血液を経由して腎臓及びその他の組織に分布することが認められている。血漿中ではほとんどのOTA は、アルブミン等のタンパク質と結合していることが示されている。ラットとブタにおける投与実験の結果から、OTA投与後の組織中OTA濃度は、ラットにおいては腎臓と肝臓において同程度又は肝臓よりも腎臓における方が高く、ブタにおいては肝臓よりも腎臓の方が高い値であった。腎臓におけるOTAの濃度は、腎臓のOAT有機アニオントランスポーターアイソフォームの発現変化が関与していると考えられている。OTAの一部は、腎臓及び肝臓でCYPにより酸化されるが、OTa及び少量の酸化代謝物は、全てOTAより毒性が低いことが認められている。

OTAは、尿及び糞中に排泄され、種間におけるこれら各経路の相対的寄与率は、OTA の腸肝循環の程度や血清中タンパク質との結合の程度により影響されると考えられる。これらの要因は、OTAの半減期の長短にも関与すると考えられる。半減期は、マウスでは1～1.5日、ラットでは2～11日、ブタで4～6日、サバンナモンキーでは約20日及びヒトでは約35日であることが報告されている。

【渋谷専門委員（第65回調査会）】

今回ご確認いただいた文献においてOTAの乳への移行が確認できなかった理由については言及しなくても良いか。

【小澤専門参考人（第66回調査会）】

今回、OTAの乳への移行が確認できなかった理由については、文献リストNo.630から（Table.5にもあるように）、ウシへの投与量が低かったためと考えられる。なお、本項目では、全体の統一性を考慮し、事実ベースの記載で良いと考える。

【事務局より（第66回調査会）】

先生方からいただいたご意見を踏まえ、記載を修正しました。（水色ハイライト部分）

乳への移行は、ラット及び、ウサギ及びウシで確認されている。また、ウシの乳への移行の有無が報告されている。鶏卵への移行は、ニワトリにOTA を大量投与した場合に認められている。

2. 実験動物等における毒性

毒性データの取りまとめに当たっては、主に精製した化合物を投与したデータを用いることとした。また、食品中の OTA に関する評価であることから、経口投与のデータを中心に取りまとめた。

（１）急性毒性

各動物種と各ばく露経路におけるLD₅₀値を表5に示した。イヌ及びブタはOTAに感受性の高い種であり、ラット及びマウスは感受性の低い種である。

表5 各動物種におけるオクラトキシンAのLD₅₀値

種	LD ₅₀ 値 (mg/kg 体重)		
	経口投与	腹腔内投与	静脈内投与
マウス	46～58	22～40	26～34
ラット	20～30	13	13
ラット(新生児)	3.9	n.d.	n.d.
イヌ	0.2	n.d.	n.d.
ブタ	1	n.d.	n.d.
ニワトリ	3.3	n.d.	n.d.

n.d.:データなし

(参照 74, 105)

ラット（Long-Evans 及び Sprague-Dawley、雄、一群各 10 匹）に、OTA が 0、17 又は 22 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与され、投与 48 時間後まで観察された。病理組織学的検査及び電子顕微鏡下での観察により、投与 12～24 時間後には、全ての投与群で膀胱、胃、腸管、心内膜下、脾臓及び肝臓に多数の局所出血が認められ、脾臓、脳の脈絡叢、肝臓、腎臓及び心臓における線維素性血栓が認められた。これらの所見は、OTA 投与によって播種性血管内凝固症（DIC）が誘発されたことを示していた。その原因は、内因性及び外因性の血液凝固活性化によるものと推定されている。また、肝臓における肝細胞及びリンパ球の壊死、消化管の絨毛の萎縮を伴う壊死性腸炎（最も重度な影響は空腸にあった）並びにネフローゼがみられた。当該研究では、心筋の変化は、血栓形成とその後の虚血障害に関連したものと考えられた(参照 158)。また、新生児ラットは、成熟ラットよりも感受性が高いと考えられている(参照 105)。

【大城専門委員（第58回調査会）】

48ページ24～49ページ2行目は、内容として「代謝」の項目に移動しても良いのではないかと。（「代謝」の項目へ移動）

~~Swissマウス（雄、一群5～10匹）に、薬物代謝酵素を誘導するフェノバルビタール（80 mg/kg 体重）を5日間、又は3-メチルコラントレン（20 mg/kg 体重）を2日間、それぞれ経口投与して前処理した後に、OTAを強制経口投与した場合には、前処理によりOTAのLD₅₀値が増加するなどOTAの急性毒性が低下した。一方、ミクロソームのモノオキシゲナーゼ阻害剤であるピペロニルブトキシド（1,400 mg/kg 体重）を投与した場合には、OTAの投与144時間後のLD₅₀は40 mg/kg 体重から18.9 mg/kg 体重に減少した。（参照 159）~~

~~11又は25 mg/kg 体重のOTAを胃内投与したウシ（ホルスタイン、5週齢、一群1頭）は、投与後24時間以内に死亡したが、13.3 mg/kg 体重のOTAを胃内投与したウシ（ホルスタイン、妊娠3～6か月、一群1頭）は、一過性の病状を示~~

~~すにとどまった。この研究結果より、ウシにおける致死的な単回投与量は 13 mg/kg を数 mg/kg 上回るとされた。(参照 125)~~

（２）亜急性毒性

【事務局より】

- ・「13 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）」に関する記載を「（３）慢性毒性・発がん性」のから移動し、表 6 と本文（②ラットの項目）に追記しております。（第 58 回調査会）
- ・川口専門参考人より用語及び記載についてご修正又はご意見を頂きましたので、評価書全体を通じて修正及び検討してまいります。（第 59 回調査会）

【川口専門参考人（第 59 回調査会）】

全体を通して用語等の修正。表 6 の参照 175 の記載について、「腎臓に腫大及び退色」は肉眼所見のため、その取り扱い（重量変化を伴っているか、病理組織所見を伴っているか等）について協議が必要。

OTA の亜急性毒性試験の結果を表 6 に示した。

表 6 オクラトキシンAの亜急性毒性試験の結果

動物種等 (動物数/ 群)	投与 方法 ・期間	投与量		所見	LOAE L mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
マウス、 Swiss、雄 (10)	経口、 45日		0、1.5、 3.0 (0、 0.050、 0.10mg/ 匹/日)	- 肝臓及び腎臓で DNA、RNA、総タンパク質量及び酸性・塩基性・中性タンパク質量が濃度依存的に減少。 - 精巢内酵素活性の低下。	1.5			(参照 160)
ラット、 Wistar、 雄、離乳 後(10)	混餌、 14 日、	0、2.4、 4.8、 9.6、24	0、 0.24、 0.48、 0.96、 2.4 ^(*)	- 体重増加の抑制。 - BUN 濃度の上昇。 - 腎臓重量の増加、尿量の減少、腎障害。	0.96	0.48	指標： 腎臓重量 の増加	(参照 161)
ラット、 Wistar 雌雄、離 乳後(15)	混餌、 90日、	0、0.2、 1.0、5	0、 0.015、 0.075、 0.37 ^(*)	- 体重増加の抑制、腎臓重量の増加。 - BUN に変化なし。 - 腎臓近位尿細管上皮細胞の剥離、近位尿細管の基底膜¹⁰肥厚。 - 全ての投与群で腎臓近位尿細管で好酸性変性細胞及び巨大核細胞の増加。	0.015		指標： 腎近位尿 細管の形 態変化	

¹⁰ 上皮とそれを裏打ちする組織との間にある膜構造

ラット、 Wistar 雄(5)	経口、 3 日		0、5、 15	- 腎臓皮質への PAH 取り込みが減少。 - 近位尿細管の基底膜肥厚。	5			(参照 162)
ラット、 Wistar、 雄 (10)	経口、 10 日		0、0.5、 1、2	2 mg/kg 投与群では非投与の対照群に比べて有意な尿量の増加。 2 mg/kg 投与群で血中総タンパク質濃度の上昇。	2	1		(参照 163)
ラット、 Sprague- Dawley、 雄(6)	経口、 2 日		0、2	腎臓皮質におけるビルビン酸塩からの糖新生は 26%減少し、PEPCK 活性は約 55%低下。				(参照 164)
ラット、 Sprague- Dawley、 雄	経口、 5 日		0、2、 2.5	腎臓で、PEPCK 及び総 mRNA 量の減少。				(参照 165、 166)
ラット、 Wistar 雄(3)	混餌、 56~8 4 日	0、2	0、 0.145	腎臓における ALP ロイシンアミノペプチターゼ及びγGT 酵素活性の低下と共に尿中におけるこれらの酵素活性の増加。				(参照 167)

1

動物種 等（動物 数/群）	投与 方法 ・期間	投与量		所見	LOAE L mg/kg 体重	NOAE L mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ラット、 F344、雄 (3)	経口、 14 日、 週 5 日		0、0.25、 0.5、1、 2	- 腎臓近位尿細管におけるアポトーシスの増加、巨大核細胞の増加。 - 腎臓における増殖細胞核抗原発現の増加。 - トリメチルアミノオキシドの排泄増加。			近位尿細管への毒性とは異なる変化	(参照 168)
ラット、 Wistar、 雄 (5)	経口、 28 日	0、0.2	0、0.02	- 血清中のクレアチニン、BUN、ALP、ALT、MDA 濃度の有意な上昇、血清の抗酸化作用の有意な低下。 - 腎臓近位尿細管の変性。				(参照 169)
ラット、 Wistar、 雄 (10)	混餌、 30 日	0、4	0、0.4	チロキシン及びプロラクチンの血中濃度の有意な上昇。トリヨードサイロニン、テストステロン、インスリン及びコルチゾールの血中濃度の有意な低下。				(参照 170)
ラット、 F344、雌 雄(10)	経口、 13週、 週5日		0、 0.0625 、 0.125、 0.25、 0.5、1	- 腎臓に巨大核細胞の出現 - 腎皮質内帯及び腎髄質外層外帯の尿細管上皮細胞の萎縮	0.0625			(参照191)

ニワトリ、肉用鶏、雄(10)	混餌、3週	0、4		- 致死率は 42.5%。 - 飼料に L-フェニルアラニンを 0.8 又は 2.4%添加した場合、致死率はそれぞれ12.5%と 15.0%に減少。				(参照 171)
ニワトリ、Cobb、性別不明(32)	混餌、14日以上	0、2		- 肝臓における単核細胞浸潤、凝固壊死、充出血、クッパー細胞の過形成、肝細胞の硝子様腫大硝子様変性及び腫大。 - 腎臓では、局所の出血、尿細管上皮変性、尿細管肥大、壊死、間質性腎炎、糸球体の萎縮。 - ファブリキウス嚢では、軽度の萎縮、髄質リンパ球の減少、間質結合組織の増生。 - 脾臓や胸腺ではリンパ球の減少。				(参照 172)
ニワトリ、Starbro、性別不明(30)	混餌、42日	0、0.5、1		- 腎臓と肝臓の相対重量増加。 - LDH、γGT 及び AST の上昇。 - 腎臓近位尿細管上皮細胞の重度な壊死。				(参照 173)
ニワトリ、Hisex Brown、産卵鶏、47週齢(7)	混餌、3週	0、2		肝臓の相対重量の有意な増加。				(参照 114)

1

動物種等 (動物数/ 群)	投与方法 ・期間	投与量		所見	LOAE L mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ウサギ、New Zealand White、性別不明、6-8週齢(4)	混餌、60日	0、0.75	0、0.0225	- 腎臓近位尿細管上皮細胞でミトコンドリアクリステの消失。 - 腎臓近位尿細管上皮細胞で刷子縁の消失、微絨毛の萎縮、細胞小器官の消失を伴う空胞形成。 - 腎臓近位尿細管上皮細胞で巨大核の形成及び核小体の消失。	0.0225			(参照 174)

ウサギ、 New Zealand White、雄 (8)	混餌、 30 又 は 60 日	0、1	0、0.03	▪ 体重増加の抑制及び生存率の低下。 ▪ 30 日間及び 60 日間投与で腎臓における SOD 活性及びカタラーゼ活性並びに60日間投与で肝臓中MDA 活性の上昇。 ▪ 投与期間依存的に、腎臓に腫大及び退色がみられた。	0.03			(参照 175)
イヌ、ビ ーグ ル、雄 (3~6)	経口、 14 日		0、0.1、 0.2	▪ 腎機能に変化なし。 ▪ 全ての投与群で腎臓尿細管壊死及び近位尿細管上皮細胞における細胞質空胞化及びミエロイド小体の形成。 ▪ 胸腺と扁桃腺のリンパ系組織の壊死。				(参照 176, 177, 178)
ブタ、雌 (2~8)	経口、 5~6 日		0、1、2	▪ 尿量増加、尿比重低下 ▪ 尿中タンパク量増加、LDH、GOT、ICDH 活性の上昇。 ▪ 血中 タンパク量 及び BUN の増加。 ▪ 腎臓近位尿細管及び近位尿細管上皮細胞の壊死。				(参照 179)
ブタ、 デンマ ークラ ンドレ ース、雌 (6~11)	混餌、 4 か月	0、0.2、 1、4	0、 0.008、 0.04、 0.16	▪ 0.2 mg/kg 飼料以上で TmPAH の減少及び TmPAH/Cin の減少。 ▪ 1 mg/kg 飼料以上で尿の濃縮能の減少及び尿中タンパク量の増加。 ▪ 1 mg/kg 飼料以上で GLDH 活性の有意な減少及び 4 mg/kg 飼料群で LAP 活性の有意な減少。 ▪ 0.2 mg/kg 飼料群の 9 匹中 4 匹、1 mg/kg 飼料 (40 µg/kg 体重/日) 以上の投与群では全ての個体に腎臓近位尿細管細胞の刷子縁縮小、核濃縮及び核分裂像がみられ、尿細管内には剥離した尿細管上皮細胞が認められた。	0.008		自然汚染 大麦	(参照 180)

動物種等 (動物数/ 群)	投与 方法 ・期間	投与量		所見	LOAE L mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					

ブタ、デンマークランドレース、雌、8～10週齢(3)	混餌、5日	0、5	0、0.4	- 腎臓近位尿細管上皮細胞の壊死。 - 腎臓近位尿細管でNADH-テトラゾリウム還元酵素、コハク酸脱水素酵素活性の低下。				(参照 181)
	混餌、3か月	0、1	0、0.08	- 腎臓近位尿細管上皮細胞に局所的な萎縮及び壊死。 - 局所的な腎臓間質の線維化。 - 腎臓近位尿細管でNADH-テトラゾリウム還元酵素、コハク酸脱水素酵素、AP活性の低下。				
ブタ、雌雄不明、25、32、又は50 kg (10又は12)	混餌、～8週、若しくは70又は90 kgまで	0.01、1.38又は2.33	0、0.0552又は0.0932	若齢のブタでは、老齢のブタに比べ腎臓重量の増加、腎臓近位尿細管の構造変化等の毒性に対する感受性が高かった。			自然汚染大麦	(参照 182)
ブタ、デンマークランドレース、雌、25～38 kg(4)	経口、5日		0、0.8	腎臓近位尿細管下部における尿細管上皮細胞の剥離。				(参照 104)
ブタ(6)種、雌雄不明	経口、5週	0.2、1	0.008、0.041	0.2 mg/kg 飼料投与より用量依存的に腎臓皮質のPEPCK活性及びγGT活性が有意に低下。				(参照 183)
ブタ、デンマークランドレース・デュロック交雑種、雌、8～12週齢(3)	混餌、5週	0、0.2、1	0、0.008、0.04(*)	- TmPAH、TmPAH/Clnの減少。 - 糖排出の用量依存的増加 1 mg/kg 飼料投与群において腎臓皮質におけるPEPCK活性及びγGT活性が有意に減少。				(参照 184)
ブタ(各3)	混餌、90日	0、0.09、0.13、0.18(最初3か月)、0、0.13、0.305、0.79(続く2か月)	0.0036、0.0052、0.0072(最初3か月)、0、0.0052、0.0122、0.0316(続く2か月)	全ての用量で、腎臓近位尿細管上皮細胞に顆粒状硝子顆粒、一部硝子滴変性、空胞状変性などの退行性変性が主に認められ、後期には間質に増殖性変化。			A. ochraceus を接種した大麦	(参照 185)

ブタ、ランドレースとブルガリアンホワイトの交雑種、雌雄(3)	混餌、1年	0、0.8	0、0.032	軽度の腎症、組織学的には腎臓近位尿細管上皮細胞の退行性変性及び間質の増殖性変化間質における線維芽細胞性結合組織の限局性増殖及び単核炎症細胞の限局性浸潤。				(参照 186)
--------------------------------	-------	-------	---------	---	--	--	--	----------

(*)JECFA 換算

① マウス

マウス（Swiss、雄、一群 10 匹）に 0、0.050 又は 0.100 mg /動物/日の OTA を 45 日間経口投与した結果、OTA 投与群の肝臓及び腎臓で、DNA、RNA、総タンパク質量及び酸性・塩基性・中性タンパク質量が濃度依存的に有意に減少した（参照 160）。同じ条件で OTA を投与した結果、精巣における脂質過酸化反応が有意に亢進した。非酵素性の抗酸化物質であるグルタチオン及び総アスコルビン酸濃度の低下、並びに酵素性の抗酸化物質である SOD、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンレダクターゼ及びグルタチオントランスフェラーゼ（GST）の活性は、精巣中で有意に低下した。（参照 187）

② ラット

ラット（Wistar、雄、一群 10 匹）に 0、2.4、4.8、9.6 又は 24 mg/kg 飼料（0、0.24、0.48、0.96 又は 2.4 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の精製 OTA を離乳後に 2 週間混餌投与する反復投与毒性試験が実施された。9.6 mg/kg 飼料以上の投与群で、体重増加の抑制及び飼料摂取量の減少が認められた。24 mg/kg 飼料投与群では、腎臓の相対重量が増加した。血清中尿素窒素（BUN）は、用量依存的に増加した。全ての投与群で尿量が有意に減少し、比重は有意に増加した。尿の pH は、非投与の対照群の 7.0 に対し、全ての投与群で 6.5 であった。組織学的検査では、全ての投与群に用量依存的に腎臓に病変が認められ、近位尿細管上皮細胞に好酸性の顆粒及び細胞核の濃縮が認められた。また、全ての投与群でヘンレループ下降脚に尿細管上皮細胞肥大が認められた。24 mg/kg 飼料投与群ではヘンレループ、遠位尿細管及び上部集合管に細胞の剥離が認められた（参照 161、74）。ラット（Wistar、雌雄、一群各 15 匹）に 0、0.2、1 又は 5 mg/kg 飼料（0、0.015、0.075 又は 0.37 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の OTA を含む飼料を離乳後から 90 日間投与する反復投与毒性試験が実施された。

試験終了後に各群 8 匹をと殺し、残りのラットには回復期間として引き続き OTA を含まない飼料を 90 日間投与した。5 mg /kg 飼料 OTA 投与群で雌雄とも体重増加が抑制された。1 mg/kg 飼料以上の投与群において投与期間後に、腎臓の相対重量は雌雄共に非投与群と比較して減少したが、90 日間の回復期間後には、5 mg/kg 飼料 OTA 投与群の雄を除いて OTA 非投与群と同じ値まで回復した。投与期間後には、全ての投与群において近位尿細管上皮細胞における巨大核細胞及び好酸性変性細胞の増加が認められた。5 mg/kg 飼料 OTA 投与群において近位尿細管上皮細胞の剥離及び尿細管基底膜の肥厚が認められ、90 日間の回復期間後も尿細管基底膜肥厚は残存した。腎臓の肉眼的観察では投与後及び回復期間後共に正常であった。尿パラメータ及び BUN などの血液パラメータは、いずれの投与群においても変化が認められなかった。（参照 161、74）

ラット（Wistar、雄、一群5匹）に0、5又は15 mg/kg 体重/日の OTA が3日間経口投与され、最終投与24時間後にと殺された。血中パラアミノ馬尿酸（PAH）濃度は、非投与群に比べてOTA投与群で有意に増加した。腎臓皮質切片を用いて *in vitro* における PAH の取り込み能を調べた結果、OTA 投与群では非投与群に比べて PAH の取り込みが有意に減少した。組織学的検査では、OTA 投与群において近位尿細管基底膜の肥厚及び尿細管細胞内に楕円形に膨張したミトコンドリアが認められた。（参照 162）

ラット（Wistar、雄、一群10匹）にOTAを0、0.5、1又は2 mg/kg 体重/日で10日間経口投与する反復経口投与毒性試験が実施された。2 mg/kg 体重/日投与群では BUN 濃度の低下とともに、尿量の増加が認められた。血中総タンパク質濃度及びBUN濃度はOTA非投与群より高くなったが、総脂質及びコレステロール濃度は低下した。血中グルコース濃度に変化はなかった。（参照 163）

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群6匹）に0又は2 mg/kg 体重/日のOTAが2日間経口投与され、腎臓における糖新生への影響が調べられた。腎臓皮質におけるピルビン酸からの糖新生は、OTA 非投与群に比べてOTA 投与群では26%減少し、糖新生を制御する酵素の一つであるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ（PEPCK）活性は約46%低下した。肝臓では PEPCK 活性の低下は認められなかった。PEPCK の mRNA 量は腎臓で減少したが、肝臓では減少しなかった。（参照 164）

また、ラット（Sprague-Dawley、雄、一群3匹）に0、2又は25 mg/kg 体重/日のOTAを5日間強制経口投与すると総 mRNA の量は、腎臓で50%減少したが、肝臓では変化しなかった。（参照 165, 166）

ラット（Wistar、雄、一群3匹）に0又は2 mg/kg 飼料（0又は0.145 mg/kg 体重/日に相当）のOTAを8～12週間混餌投与する反復投与毒性試験が実施された。投与量は、食品及び飼料中にみられる自然汚染の範囲に設定された。腎臓における障害部位を調べるために、1週間毎に腎臓及び尿における酵素活性が測定された。腎臓におけるALP、ロイシンアミノペプチターゼ及び γ GTの活性は投与1週間後より有意に低下し、腎臓における酵素活性の低下に付随して尿中にこれらの酵素が認められた。ロイシンアミノペプチターゼ及び γ GTは近位尿細管の刷子縁に存在し、その部位に損傷があることを示す初期のマーカーであるLDHの溶出は、投与開始4～5週目にOTA投与群では尿中の酵素活性が最高値となり、OTA非投与群と比較して70%から100%増加した。酵素活性は6週目には減少し、8週目に再び増加した。著者らは、この結果より尿細管の損傷と再生が繰り返されていると考えた。PAHクリアランスは、OTA投与開始から2週目にOTA非投与群に比較して56%減少した。12週間後には、PAHクリアランスは回復し、OTA非投与群に比べ8%の減少であった。N-アセチル β -D-

グルコシダーゼ活性は 2 週間後から尿中で上昇した。この酵素はリソソームに存在する酵素であり、壊死した細胞のリソソームより放出されたと考えられた。腎臓における *N*-アセチルβ-D-グルコシダーゼ活性は OTA の影響を受けなかった。(参照 167)

ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重/日 の OTA を 1 週間に 5 日、2 週間強制経口投与する反復投与毒性試験が実施された。用量依存的に血中、肝臓及び腎臓における OTA 濃度が上昇した。組織学的検査において全ての投与群の腎臓近位尿細管の S3 セグメントに 用量依存的に巨大核及び核異形を有する細胞の増加が認められたことから、著者は、DNA 合成後の細胞質分裂に異常が生じたことで多核の細胞が増加すると考察している。2 mg/kg 体重/日投与群では腎臓髄質外層外帯に細胞配列等の組織障害が認められ、非投与群に比べて分裂期にある細胞数が明らかに多く、基底膜上又は基底膜から剥離したアポトーシスの細胞が管腔内に認められた。OTA 投与群の腎臓で、増殖細胞核抗原 (PCNA) が用量に依存して増加し、細胞が増殖していることが示されたが、肝臓の PCNA に増加はみられなかった。OTA 投与群の腎臓及び肝臓から抽出した DNA に、酸化ストレスの指標である 8-OHdG の増加は認められなかった。1 mg/kg 体重/日以上 の OTA 投与群では、非投与群より尿量が明らかに増加し、尿中トリメチルアミンオキシドが増加した。尿中グルコース濃度の上昇など近位尿細管に毒性を示す物質にみられる典型的な変化は認められず、著者らはこれらの結果は OTA による腎毒性には特有のメカニズムが関与している可能性を示唆すると考えた。(参照 168)

ラット (Wistar、雄、一群 5 匹) に 0 又は 0.2 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間経口投与した。OTA 投与群では、病理組織検査の結果、近位尿細管に変性が認められ、腎組織のうっ血及び炎症細胞の浸潤等 OTA 特異的な腎毒性がみられた。生理学的検査の結果、OTA 投与群では血清中のクレアチニン、BUN、ALP、ALT 及び MDA 濃度が溶媒投与の対照群に比べて有意に高く、血清の抗酸化作用は有意に低かった。(参照 169)

ラット (Wistar、雄、一群 10 匹) に 0 又は 4 mg/kg 飼料 (0 又は 0.4 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算¹¹⁾) の OTA を 30 日間混餌投与し、ホルモンに及ぼす影響が調べられた。OTA 投与群では、チロキシシン (T4) 及びプロラクチンの血中濃度が、溶媒を投与した対照群に比べて有意に増加し、トリヨードサイロニン (T3)、テストステロン、インスリン及びコルチゾールの血中濃度は有意

¹¹ 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)	1ppm飼料時摂取量 (mg/kg 体重/日)
ラット	0.1	10	0.100

に減少した。(参照 170)

【渋谷専門委員（第 60 回調査会）】

13 行目（黄色ハイライト部分）について、16 日間投与試験の結果が含まれているため、修正すべき。

【佐藤専門委員（第 58 回調査会）】

14～15 行目（黄色ハイライト部分）の修正のご提案。

ラット（F344/N、雌雄、一群各 10 匹）に、0、0.0625、0.125、0.25、0.5 又は 1 mg/kg 体重/日の OTA（純度 98%）を 13 週間、1 週間に 5 日の頻度で強制経口投与する試験が米国国家毒性プログラム（NTP）において実施された。試験の結果、腎毒性が明らかに認められた。また、腎臓、心臓及び脳の相対重量の増加、胸腺の萎縮、胃上皮の壊死、副腎における出血、骨髓細胞の減少等がみられた。OTA を投与した全てのラットの腎臓に巨大核細胞がみられ、皮髄境界部と髄質皮質内帯及び髄質外層外帯の尿細管部分の直部尿細管上皮細胞の萎縮も認められた。0.125 mg/kg 体重/日以上での投与量群では、尿細管上皮細胞の壊死及び変性がみられた。発がん性は認められなかった。(参照 191)

③ ニワトリ

ニワトリ（肉用鶏、雄、一群 10 羽）に 0 又は 4 mg/kg 飼料の OTA を 3 週間投与する反復投与毒性試験が実施された。OTA 投与群では、非投与群に比べて体重が減少し、飼料効率が低下した。肝臓や腺胃、筋胃及び心臓の相対重量は増加し、ファブリキウス嚢の相対重量は減少した。致死率は 42.5%であった。飼料に L-フェニルアラニン を 0.8 又は 2.4% 添加した場合、致死率はそれぞれ 12.5%又は 15.0%に減少した。(参照 171)

ニワトリ（Cobb、性別不明、一群 32 羽）に 0 又は 2 mg/kg 飼料の OTA を 14 日以上混餌投与した結果、肝臓では肝細胞の硝子様腫大、単核細胞の浸潤、クッパー細胞の過形成（hyperplasia）、凝固壊死及び充出血がみられた。腎臓では、局所の出血、尿細管上皮変性、尿細管腫大、壊死及び間質性腎炎が認められ、糸球体の萎縮もみられた。ファブリキウス嚢では、軽度の萎縮、髄質リンパ球の減少及び間質結合組織の増生がみられ、脾臓や胸腺でもリンパ球が減少した。(参照 172)

ニワトリ（Starbro、性別不明、一群 30 羽）に 0、0.5 又は 1 mg/kg 飼料の OTA が 42 日間混餌投与された。その結果、腎臓と肝臓の相対重量増加は OTA 投与群で認められたが、ファブリキウス嚢と脾臓の相対重量への有意な影響は見られなかった。血清の LDH、 γ GT 及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の上昇並びに腎臓近位尿細管上皮細胞の壊死が認められた。(参照

173)

ニワトリ（Hisex Brown、産卵鶏、47 週齢、一群 7 羽）に 0 又は 2 mg/kg 飼料の OTA が 3 週間混餌投与された。OTA 非投与の対照群では肝臓中に OTA は検出できなかった（<0.05 µg/kg）が、OTA 投与群では肝臓中 OTA 濃度は 15.1 µg/kg であった。対照群と比較して投与群では相対肝臓重量が有意に増加した。（参照 114）

④ ウサギ

ウサギ（New Zealand White、性別不明、一群 4 匹）に、OTA を 0 又は 0.75 mg/kg 飼料（0 又は 0.0225 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算¹²）が 60 日間投与された。腎臓近位尿細管上皮に巨大核細胞及び細胞の基底膜からの剥離が認められた。また、刷子縁の消失、微絨毛の萎縮、細胞小器官の消失を伴う細胞質空胞形成、核小体の消失及びミトコンドリアの内部構造であるクリステの消失が認められた。（参照 174）

ウサギ（New Zealand White、雄、一群 8 匹）に OTA を 0 又は 1 mg/kg 飼料（0 又は 0.03 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁶）が 30 又は 60 日間投与された。OTA 投与群では体重増加の抑制及び生存率の低下がみられた。生理学的検査では、30 日及び 60 日 OTA 投与群の腎臓における SOD 活性及びカタラーゼ活性並びに 60 日 OTA 投与群の肝臓における MDA が非投与の対照群に比べて上昇した。腎臓は OTA 投与 30 日後には僅かに腫大し、退色していた。表面全体に白色から変色した病巣がみられた。投与 60 日後には、腎臓は更に腫大及び退色していた。電子顕微鏡による組織学的観察の結果、OTA 投与群ではミトコンドリアの変形及びクリステの消失が認められた。（参照 175）

⑤ イヌ

イヌ（ビーグル、雄、一群 3～6 匹）に、0.1 又は 0.2 mg/kg 体重/日の OTA がカプセルを用いて 14 日間経口投与された。これらの投与レベルでは腎機能に変化は認められなかった。組織学的検査により、尿細管壊死及び近位尿細管上皮細胞における細胞質空胞化及びミエロイド小体と呼ばれる層状構造物の形成が全ての投与群で認められた。胸腺と扁桃腺のリンパ系組織の壊死も全ての投与群で認められた。（参照 176, 177, 178）

¹² 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)	1ppm飼料時摂取量 (mg/kg 体重/日)
ウサギ	2.0	60	0.030

⑥ ブタ

ブタは、OTA の腎臓毒性について最も感受性の高い種の一つであり、雌ブタの近位尿細管に特異的な形態的及び機能的変化が報告されている。(参照 104, 181, 188)

ブタ（SPF、雌、一群 2~8 頭）に 0、1 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA が 5~6 日経口投与された結果、多飲多尿、尿比重の低下、尿中タンパク質濃度及び糖濃度の上昇並びに血中タンパク質濃度及び BUN 濃度の上昇が認められた。尿における LDH、AST 及びイソクエン酸脱水素酵素（ICDH）活性は上昇した。組織学的検査により、尿細管及び集合管の上皮に水腫が認められた。近位尿細管の上皮細胞に壊死がみられ、近位尿細管腔内には壊死した細胞片及び基底膜から剥離した細胞が認められた。また、腸管上皮細胞及び粘膜固有層に壊死が認められ、単球及び好中球の浸潤がみられた。(参照 179)

ブタ（デンマークランドレース、雌、一群 6 又は 11 頭）に OTA で自然汚染された大麦（OTB、OTC、オクラトキシンエステル、CIT、ビリジカタムトキシン及びアフラトキシンは不検出）を添加した飼料を用いて、0、0.2、1 又は 4 mg/kg 飼料（0、0.008、0.040 又は 0.160 mg/kg 体重/日に相当）の OTA を毎日給与し、投与開始後 9 日目及び 68 日目に各群のブタを 1 匹ずつと殺し、残りのブタには 20 kg から 90 kg に増体重する 4 か月間、上記飼料が給与された。尿及び血液は、試験開始 1 週間前、試験開始後 1 週間目及びその後は 3 週間ごとに採取された。血液の pH、糖濃度、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値、クレアチニン濃度、BUN、ナトリウム濃度、カリウム濃度、塩素濃度、白血球数、LDH 活性、グルタミン酸脱水素酵素（GLDH）活性、LAP 活性及びブタ低分子タンパク（ α -porcine low-molecular-weight）並びに尿の pH、比重、浸透圧、ナトリウム濃度、カリウム濃度、塩素濃度、クレアチニン濃度、糖濃度、タンパク質、イヌリン及び PAH 濃度が検査された。肝臓及び腎臓の LDH 活性、GLDH 活性、LAP 活性、ヘキソキナーゼ活性、AST 活性並びにグルコース 6 リン酸脱水素酵素（G-6-PD）活性が測定された。0.2、1、又は 4 mg/kg 飼料の OTA 汚染飼料を給与した各群における OTA 投与量は、それぞれ 0.0072~0.0086 mg/kg 体重/日、0.0362~0.0433 mg/kg 体重/日又は 0.1450~0.1736 mg/kg 体重/日であった。OTA 投与により腎毒性が認められた。初期に認められた腎毒性は、飲水量の増加と LAP を含む尿量の増加で、0.160 mg/kg 体重/日投与群において投与後 2 週間で尿に LAP が認められた。LAP は近位尿細管の刷子縁に分布しており、この部位が損傷を受けたことが示唆された。尿中タンパク質は、0.040 及び 0.160 mg/kg 体重/日の投与群で投与開始 20 日後より有意に増加した。OTA の用量に依存して、非投与の対照群と比較して 0.008 mg/kg 体重/日投与群から PAH の尿細管最大排泄量（TmPAH）及び TmPAH のイヌリンクリアランスに対する割合が有意に減少し、尿濃縮能が低下することが認められた。

0.040 mg/kg 体重/日以上 of OTA 投与群で GLDH 活性の有意な減少及び 0.160 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で LAP 活性の有意な減少が認められた。0.008 mg/kg 体重/日の OTA 投与群から尿糖の用量依存的な増加がみられ、近位尿細管における糖の再吸収が阻害されていた。この増加は 0.040 mg/kg 体重/日の用量以上では有意であった。と殺後は、剖検及び病理組織学的検査が実施された。90 kg 体重時の腎臓の剖検所見では、0.160 mg/kg 体重/日の OTA 投与群において腫大、灰黄色化及び硬化がみられた。顕微鏡所見として 0.008 mg/kg 体重/日の OTA 投与群の 9 匹中 4 匹及び 0.040 mg/kg 体重/日の用量以上の全てのブタにおいて近位尿細管上皮細胞の刷子縁縮小、細胞核の濃縮及び分裂像がみられ、尿細管内には剥離した尿細管上皮細胞が認められた。0.040 及び 0.160 mg/kg 体重/日の OTA 投与群においては、全てのブタの腎臓に病変が認められた(参照 180)。以上より、0.008 mg/kg 体重/日が当該試験の LOAEL と判断された。

ブタ (SPF、性別不明、一群 10 又は 12 頭) に 0.01 又は 1.38 mg/kg 飼料 (25 kg 体重のブタには 0 又は 0.0552 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算¹³⁾) の OTA を自然汚染大麦を用いてを 8 週間、その他のブタにはそれぞれ 32 から 70 又は 50 から 90 kg 体重になるまで 0.01 又は 2.33 mg/kg 飼料 (0 又は 0.0932 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁷⁾) の OTA を投与した。OTA 投与群には腎臓重量の増加、近位尿細管の構造変化、尿細管の萎縮及び間質の線維化が認められた。25 kg のブタでは、50 kg のブタに比べ OTA の毒性に対する感受性が強く、若齢時に引き起こされた腎臓の病変は、OTA を含まない飼料に替えても治癒しなかった。(参照 182)

ブタ (デンマークランドレース、雌、一群 3 頭) に、0 又は 5 mg/kg 飼料 (約 0.4 mg/kg 体重/日) の OTA を 5 日間及び、0 又は 1 mg/kg 飼料 (約 0.08 mg/kg 体重/日) の OTA を 3 か月間混餌投与し、腎臓における各種脱水素酵素及びリン酸化酵素の活性が調べられた。5 mg /kg 飼料の OTA を 5 日間投与した群では、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管上皮細胞の剥離及び局所的な壊死がみられた。また、近位尿細管で NADH テトラゾリウム還元酵素活性の低下及びコハク酸テトラゾリウム還元酵素活性の低下が認められた。1 mg/kg 飼料の OTA を 3 か月間投与した群では、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管上皮細胞に局所的な萎縮及び壊死並びに間質の線維化が認められた。近位尿細管で NADH テトラゾリウム還元酵素、コハク酸テトラゾリウム還元酵素及び ALP の

¹³ 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)	1ppm飼料時摂取量 (mg/kg 体重/日)
ブタ	60	2,400	0.040

酵素活性が低下したことから、著者らは、近位尿細管上皮細胞でエネルギーを産生するミトコンドリアに機能障害が生じたと考えた。（参照 181）

ブタ（デンマークランドレース、雌、一群4頭）に0又は0.8 mg/kg 体重/日のOTAが5日間経口投与された結果、近位尿細管下部で、尿細管上皮細胞の剥離が認められた。遠位尿細管及び集合管には変化がみられなかった。（参照 104）

ブタ（系統不明、性別不明、一群 6 頭）に0.2 又は1 mg/kg 飼料（0.008 又は0.041 mg/kg 体重/日：JECFA 換算）のOTAが5週間投与された。用量依存的なPEPCKの減少が認められた。（参照 183、74）

ブタ（デンマークランドレース・デュロック交雑種、雌、一群 3 頭）に0、0.2 又は1 mg/kg 飼料（0、0.008 又は0.04 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁷⁾）のOTAが5週間経口投与され、腎臓への影響が調べられた。OTA投与によりTmPAHの有意な減少、TmPAH/Clnの減少並びに糖排出の増加及び用量依存的な近位尿細管の機能障害が認められた。1 mg/kg 飼料投与群において、腎臓皮質におけるPEPCK活性及びミトコンドリアのγGT活性がOTA非投与群に比べて有意に低下したが、肝臓のPEPCK活性は変化しなかった（参照 184）。

【事務局より（第58回調査会）】

31行目～35行目は投与期間が1年間であるため、「慢性毒性」の項目へ移動しております。

ブタ（SPF、雌雄、一群各 3 頭）に0、0.090、0.130 又は0.180 mg/kg 飼料（0、0.0036、0.0052 又は0.0072 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁷⁾）のOTAを3か月、続く2か月間には0、0.130、0.305 又は0.790 mg/kg 飼料のOTAを投与する反復投与毒性試験（一群各 2 頭）が実施された。試験にはOTAとペニシリン酸を産生する*A. ochraceus*を接種した大麦が用いられた。組織学的、血液学的及び生化学的パラメータの変化が全投与群で認められた。投与3か月後にはアシドーシスの傾向が、5か月後及び試験終了1か月後では呼吸性アシドーシスが認められ、尿のpHは有意に低下していた。投与3か月目には主に0.790 mg/kg 飼料投与群において、更に5か月目には全ての投与群において近位尿細管上皮細胞に硝子顆粒、一部硝子滴変性顆粒状及び空胞変性などの退行性変性が認められ、間質では線維芽細胞の増殖がみられた（参照 185）。

~~追加試験として、ブタ（ランドレースとブルガリアンホワイトの交雑種、雌雄、一群各3頭）にOTAを1年間800 µg/kgの濃度で混餌投与した結果、近位尿細管上皮細胞の退行性変性並びに間質への炎症性単球浸潤及び間質線維芽細胞の異常な増殖が確認された。OTA非投与の対照群ではこれらの異常は観察されなかった（参照 186）。~~

（３）急性毒性・亜急性毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見（案）

急性毒性・亜急性毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の結果を表●に示した。

【事務局より（第66回調査会）】

第65回調査会での審議を踏まえ、表及び本文の黄色ハイライト部分（64、67ページ）を修正しております。

表● オクラトキシンAの亜急性毒性試験の結果（案）

動物種等 (動物数/ 群)	投与方法 ・期間	投与量		所見	LOAE L mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
マウス、 ICR、雄 (5)	経口、12 週間 (5日/ 週)		0、0.2、 1.0	・高用量群で血清 BUN及びクレアチニ ンの増加 ・用量依存的に腎尿細 管の炎症及び腎線維 化	0.2			文献リスト No.414
マウス、 C57BL/6 N、雄 (6)	飲水、7 日間		0、0.5、 1、2、4、 8相当	・8 mg/kg体重/日投与 群で50%の尿細管壊 死と肝細胞アポトー シス ・4 mg/kg 体重/日以上 投与群腎臓尿細管壊 死 ・2 mg/kg 体重/日以上 投与群で体重減少、 肝細胞膨化 ・1 mg/kg 体重/日以上 投与群で近位尿細管 上皮細胞の管腔内へ の剥離		0.5		文献リスト No.479
マウス、 CD-1、雄 (12)	経口、 35日		0、3.5	・体重増加抑制、肝臓 脂肪変性及び核の不 規則形状、TBIL及び GCT増加	3.5		参考資料	文献リスト No.161
マウス、 CD-1、雄 (12)	経口、 35日		0、3.5	・体重減少、腎相対重 量減少、腎臓の部分 的な尿細管細胞の変 性、浮腫、出血、軽 度の間質の膠原線維 の増生	3.5		参考資料	文献リスト No.557
マウス、 C57、性 別不明 (20)	経口、 27日		0、5	・背部被毛の荒れ、精 神状態悪化、尿量増 加、肺相対重量増 加、充血、出血、滲 出、肺泡破裂、肺間 質の拡大、広範な炎 症細胞浸潤、泡沫状 マクロファージの集 簇、アポトーシス増	5		参考資料	文献リスト No.582

				加				
ラット、 Wistar、 雌雄、 (各5)	経口、 28日		0、 0.025、 0.1	・ 0.1 mg/kg 体重/日投 与群で雄の血清尿素 減少、腎臓尿細管壊 死及びメサンギウム 増生、脾臓のリンパ 球減少		0.025		文献リスト No.229
ラット、 Wistar、 雄、 (6)	経口、7 日		0、1、4	・ 全投与群で体重増加 抑制 ・ 全投与群で腎臓及び 肝臓の相対重量増加 ・ 全投与群の血清中 ALB、TP、BUN及 びCREA増加 ・ 全投与群で近位尿細 管上皮細胞の壊死又 は変性 ・ 用量依存的に腎尿細 管上皮細胞でKim-1 増加 ・ 用量依存的に腎臓の Kim-1、Cox-2、 Lcn2 及び Clu の mRNA発現増加		1		文献リスト No.652
ラット、 F344、雌 雄 (10)	混餌、 70日	0、 0.16、 0.4、 1.0、2.5	雄： 0、 0.0089、 0.0217、 0.0552、 0.1418 雌： 0、 0.0119、 0.0339、 0.0733、 0.167 (相当)	・ 0.40-16 mg/kg 飼料 以上群の雌雄、2.5 mg/kg 飼料群の雌の 腎臓に尿細管変性	0.0217 0.0089 (相当)	0.0089 (相当)		文献リスト No.048
ラット、 F344、雌 雄 (16)	混餌、 138日	0、 0.026、 0.064、 0.16、 0.4、1.0	F ₀ 雄： 0、 0.0014、 0.0033、 0.0084、 0.0210、 0.0520 F ₀ 雌： 0、 0.0021、 0.0055、 0.0135、 0.0317、 0.0796 (相当)	・ 0.16 mg/kg 飼料以 上群の雄でナトリウ ム減少	0.0084 (相当)	0.0033 (相当)		ご提供文献 No.1

① マウス

マウス（ICR、雄、一群5匹）に0、0.2又は1.0 mg/kg 体重/日のOTAを12週間（5日/週）経口投与した結果、高用量群で血清BUN及びクレアチニンの増加を示した。また、0.2 mg/kg 体重/日以上で腎尿細管の炎症及び腎臓の線維化がみられた。（文献リストNo.414）

マウス（C57BL/6N、雄、一群6匹）に0、0.5、1、2、4又は8 mg/kg 体重/日のOTAを7日間経口投与した結果、用量依存的に体重が減少した。腎臓の組織学検査では、1 mg/kg 体重/日相当以上投与群で近位尿細管上皮細胞の管腔内への剥離、4 mg/kg 体重/日相当群で近位尿細管に一致して尿細管細胞壊死、8 mg/kg 体重/日相当群で腎臓の50%以上で尿細管の壊死がみられた。肝臓では、2 mg/kg 体重/日相当以上投与群で、膨化した2核肝細胞がみられ、8 mg/kg 体重/日相当群では多数の肝細胞で膨化とアポトーシスがみられた。血清生化学検査では、2 mg/kg 体重/日相当以上投与群でクレアチニンが増加し、4 mg/kg 体重/日相当以上投与群で肝機能マーカー（AST）が増加した。8 mg/kg 体重/日相当投与群でLDH及びBUNが増加した。（文献リストNo.479）

<参考資料¹⁴>

マウス（CD-1、雄、一群12匹）に3.5 mg/kg 体重/日のOTAを35日間経口投与した結果、体重増加抑制、腎臓の相対重量減少、血清クレアチニン増加、腎臓の部分的な尿細管上皮細胞の変性、水腫及び出血が観察され、軽度の間質の膠原線維の増生がみられた。一方、肝重量に大きな変化はなかったが、肝細胞核が不規則な形状を示した。さらに、肝障害マーカー（総ビリルビン及びγ-GT）が増加した。肝臓の代謝物は、9種のアップレギュレーションと11種のダウンレギュレーションを示した。血清代謝物は29種のアップレギュレーション及び14種のダウンレギュレーションを示した。これらは、HepG2細胞に0.05 mg/LのOTAをばく露した際の生体膜を構成するリン脂質から産生されるリゾリン脂質の発現パターンと類似した。（文献リストNo.161、No.557）

<参考資料¹⁵>

マウス（C57、性別不明、一群20匹）に0又は5 mg/kg 体重/日のOTAを27日間経口投与した結果、背部の被毛が荒れ、精神状態は悪く、尿量が増加した。肺の相対重量増加、組織学的に肺のうっ血、肺胞内出血、肺水腫、肺胞破裂、肺間質の拡大、広範な炎症細胞浸潤及び泡沫状マクロファージの集簇及び、アポトーシス増加がみられた。

¹⁴ 単一用量の投与であり、用量反応の確認ができないことから参考資料とした。

¹⁵ 単一用量の投与であり、用量反応の確認ができないことから参考資料とした。

肺における酸化指数であるマロンジアルデヒド（MDA）の増加及び総スーパーオキシドディスムターゼ（T-SOD）、グルタチオン（GSH）の低下、炎症マーカーであるインターロイキン-1 β （IL-1 β ）、インターロイキン-6（IL-6）、腫瘍壊死因子 α （TNF- α ）の増加、その他、Nrf2制御因子であるKeap-1、Toll様受容体4（TLR4）、骨髄分化因子88（MYD88）及び核内因子 κ B（NF- κ B）の増加NF-E2関連因子（Nrf2）、ヘム・オキシゲナーゼ-1（HO-1）及びマンガンスーパーオキシドジスムターゼ（Mn-SOD）の減少がみられた。（文献リストNo.582）

② ラット

ラット（Wistar、雌雄、一群各5匹）に0、0.025又は0.1 mg/kg 体重/日のOTAを28日間経口投与した結果、低用量及び高用量投与群の雌で血清グルコースが、高用量投与群の雌でALPが低下した。また、組織学的に、高用量群の腎臓に尿細管変性・壊死及び糸球体係蹄のメサングウム細胞増生、脾臓に白脾髄領域でのリンパ球の減少がみられた。（文献リストNo.229）

ラット（Wistar、雄、一群6匹）に0、1又は4 mg/kg 体重/日のOTAを7日間経口投与した結果、高用量群で投与4日目から体重が低下し、低用量群で投与5及び6日目で対照群に比較して体重が低下した。また、低用量以上の群で腎臓及び肝臓の相対重量が増加した。さらに低用量以上の群で血清中のALB、TP、BUN及びCREAの増加、高用量群でAST、ALP、GLU、TG及びLDHの増加がみられた。近位尿細管上皮細胞の壊死又は変性が、低用量群から認められ、用量の増加とともにその分布が拡大した。一方、肝臓では病理学的変化は認められなかった。免疫組織化学的検査では、細胞周期に関連するPCNA及び腎障害マーカーのKim-1が腎尿細管上皮細胞で用量依存的に増加した。腎臓において、Kim-1、Cox-2、Lcn2、およびCluのmRNA発現が用量依存的に増加した。腎臓と肝臓において、酸化ストレス指標（ROS、SOD及びGSH）の用量に応じた変動は認めずDNA損傷は認められなかった。（文献リストNo.652）

ラット（F344、雌雄、一群各10匹）に0、0.16、0.4、1.0又は2.5 mg/kg 飼料のOTAを70日間（交配前2週間、交配2週間、交配後42日間（妊娠期間・哺乳期間））混餌投与（F₀雄：0、0.0089、0.0217、0.0552又は0.1418 mg/kg 体重/日相当、F₀雌：0、0.0119、0.0339、0.0733又は0.167 mg/kg 体重/日相当）した。F₀雄では、1.0 mg/kg 飼料以上群では、腎臓の相対重量が対照群と比較して低下した。また、2.5 mg/kg 飼料群において、血漿中のアルブミン、ナトリウム及び総ビリルビンが増加した。F₀雌では、2.5 mg/kg 飼料群において投与終了時の体重が低下し、腎臓の相対重量と卵巣の絶対重量が低下した。また、血漿コレステロール、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、赤血球分布幅、単球、好中球の値がいずれも低下した。病理組織学検査では、

0.16 mg/kg 飼料以上群の雌雄の腎臓に尿細管変性が認められ、その重症度は雌で2.50.16 mg/kg 飼料以上群(1.0 mg/kg 飼料群を除く)、雄では0.4 mg/kg 飼料以上群で増加した。（文献リストNo.048）

ラット（F344、雌雄、一群各16匹）に0、0.026、0.064、0.16、0.4又は1.0 mg/kg 飼料のOTAを138日間（交配前2週間、交配2週間、妊娠21日間、哺育21日間及び離乳後69日間）混餌投与（F₀雄：0、0.0014、0.0033、0.0084、0.0210又は0.0520 mg/kg 体重/日相当、F₀雌：0、0.0021、0.0055、0.0135、0.0317又は0.0796 mg/kg 体重/日相当）した。1.0 mg/kg 飼料群のF₀雄で腎髄質外層外帯の近位尿細管上皮細胞にアポトーシス増加及び変性が認められた。F₀雄の白血球数及びリンパ球数が1.0 mg/kg 飼料群で増加し、ヘマトクリット値、好中球割合及び赤血球分布幅が1.0 mg/kg 飼料群で、塩素が0.064及び0.4 mg/kg 飼料以上群で、ナトリウムが0.16 mg/kg 飼料以上群で減少した。F₀雌では、OTA投与に起因する毒性変化は認めなかった。（ご提供文献No.1）

（3.4）慢性毒性・発がん性

【事務局より（第58回調査会）】

佐藤専門委員より、用語の修正についてご修文及びご提案を頂きましたので、評価書全体を通じて修正を行ってまいります。

【佐藤専門委員（第58回調査会）】

ひらがなで記載の「がん」は学術論文におきましては違和感のある表現でございますので、文中の「がん」は「腫瘍」に変更されることをご提案させていただきます。（一部すでに修正済み：71～80ページの水色ハイライト部分）

OTA の慢性毒性・発がん性試験の結果を表 7 に示した。

表 7 オクラトキシンAの慢性毒性・発がん性試験の結果

動物種(動物数/群)	投与方法・期間	投与量		所見	LOAEL mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参考文献
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					

マウス、 ddY、雄 (16)	混餌、5 ～30 週	50	7	・OTA 投与10週間以下のマウスでは腎臓及び肝臓の腫瘍は発生なし。 ・腎細胞腫瘍の発生頻度は、15、20、25及び30週間投与群で、それぞれ3/15、1/14、2/15及び4/17。 ・肝細胞癌の投与25 週間（5/15）と30週間（6/17）投与で増加。	7		マウスは投与開始から70週間観察された。	(参照 189)
マウス、 ddY、雄 (10)	混餌、44 週	0、40	0、5.6	・生存した9匹のうち、5匹に肝細胞癌、9匹に腎臓の嚢胞性腺腫、2匹に結節性腎細胞腫瘍形成。	5.6			(参照 60)
マウス、 DDD、雄 (20)	混餌、70 週	25	3.5	・全てに腎臓の嚢胞性腺腫、6匹に腎細胞腫瘍、8匹に肝細胞癌形成。	3.5			(参照 189)
マウス、 B6C3F1、 雌雄（各 45～50）	混餌、24 か月	0、1、40	0、0.15、 6	・40 mg/kg 飼料投与群の雄マウスに腎臓の良性（発生頻度53%）と悪性の腫瘍（29%）発生が認められた。	6		OTB を7%及びベンゼンを9%含む飼料。	(参照 190)
ラット、 F344/N、 雌雄（各 80～81）	強制経 口、9 か 月、15 か 月、2 年、週 5 回		0、 0.021、 0.07、0.21	・2年後の腎腫瘍の発生頻度は、0、21、70、210 µg/kg 群の雄ではそれぞれ1/50、1/51、20/50、36/51、雌では0/50、0/51、2/50、8/50。	0.07	0.021	9及び15か月後に各群雌雄各15匹をと殺。	(参照 191)

動物種 (動物数 /群)	投与方法・期 間	投与量		所見	LOAEL mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参考文献
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ラット、 F344/N、 雄(5)	強制経 口、90 日、週 5 回		0、 0.021、 0.070、 0.21	・ 0.07 mg/kg 体重投 与以上で腎臓髄質外 層外帯の近位尿細管 の単細胞死、顕著な 巨大核細胞。	0.07	0.021		(参 照 192)
Dark Agouti ラッ ト、 雄、 8 週 (5)	混餌、 3、 6 又 は 9 か 月投与後 2 年まで 観察及び 投与。	5 (3、 6 又は 9 か 月 投 与) 又 は 0.4 (2 年 間)	0.009~0. 25	・ 5 ppmのOTA投与群 における発がん率は 20%。6か月投与群 の、1匹に両側の腎臓 に腫瘍、9か月投与群 の、20 匹中 4 匹の片 側の腎臓に腫瘍が認 められた。 ・ 400 ppbのOTAを2 年間混餌投与した群 に発がんは認められ なかった。			人工培 養によ るOTA (OTB が5~ 10%混 入)。	(参 照 193)
ラット、 F344、 雄 (34)	混餌、 2年		0.05 -(ラッ ト=333- g)-、そ の後は 100 µg/ ラット/ 日	・ 34匹中4匹 (12%) に腎臓がんがみら れ、この割合は NTPの同用量の OTA強制投与結果 (30%) より少なか った。				(参 照 194)
ブタ、デン マークラン ドレー ス、雌、 8~10週 齢(6)	混餌、 2年	0、 1	0、0.041 mg/kg 体重(*)	・ 腎臓尿細管の萎縮と 局所的な間質の線維 化。 ・ 損傷を受けた腎臓で 萎縮した尿細管に 単核細胞の浸潤。 ・ 腎臓近位尿細管で NADH-テトラゾリ ウム還元酵素、コハ ク酸脱水素酵素活性 の減少。				(参 照 181)

(*)JECFA 換算

① 44 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）

マウス（ddY、雄、一群 10 匹）に 0 又は 40 mg/kg 飼料（0 又は約 5.6 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の OTA を 44 週間混餌投与する反復投与毒性試験が実施された。試験終了後 5 週間は回復期間として観察された。OTA 投与群では 9 匹が生存し、そのうちの 5 匹に肝細胞腫瘍、9 匹に腎嚢胞性腺腫及び 2 匹には結節性の腎細胞腫瘍が認められた。肝臓や腎臓の腫瘍は OTA 非投与の対照群では認められなかった(参照 60)。この種のマウス対照群に関してのこれら腫瘍の自然発生頻度に関するデータは示されていない。観察された肝臓腫瘍が良性か悪性かは、明確に示されていない

(参照 74)。

② 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）

【佐藤専門委員（第 58 回調査会）】

70 ページ 10～13 行目及び 71 ページ 3～7 行目（黄色ハイライト部分）の修正のご提案。

同じ研究室で 2 種類の反復投与毒性試験が実施された。マウス（DDD、雄、6 週齢、一群 20 匹）に 25 mg/kg 飼料（約 3.5 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の OTA を 70 週間投与された結果、OTA 投与マウス 20 匹は全て生存したが、全ての動物に腎嚢胞腺腫が、うち 6 匹に腎細胞腫瘍が認められた。また、20 匹のうち 8 匹に肝細胞癌が認められた全てに腎臓の腎細胞癌が認められたが生存し、そのうち 6 匹には結節性の腎細胞腫瘍が、8 匹には肝細胞癌が認められた。OTA 非投与の対照マウスのうち 17 匹が生存し、1 匹に肝細胞癌が認められた。毒性所見として、腎臓に複数の嚢胞形成、リンパ球の浸潤を伴うネフロンの変形及び線維化又は尿細管上皮細胞の変性が報告された。マウス（ddY、雄、一群 16 匹）を用いた 70 週間の毒性試験では、50 mg/kg 飼料（約 7 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の OTA を 0、5、10、15、20、25 又は 30 週間投与され、いずれの群も回復期間として投与開始後 70 週目まで OTA 無添加の飼料で飼育された。腎臓及び肝臓の腫瘍は、OTA 非投与の対照群及び OTA 投与 10 週間以下のマウスでは認められなかった。肺がんも認められたが、これは非投与群でも発生し、OTA 投与群において用量依存性が認められないことより OTA 特異的に発生する腫瘍とは考えられなかった。腎細胞癌の発生頻度は、OTA を 15、20、25 又は 30 週間投与した場合、それぞれ 3/15、1/14、2/15 又は 4/17 であった。腎臓における嚢胞性腺腫の発生は認められなかった。肝細胞癌の発生頻度の有意な増加が、OTA 投与 25 週間（5/15）と 30 週間（6/17）投与群に認められた。当該研究結果における腫瘍発生頻度を表 8 に示した(参照 189)。

表 8 オクラトキシンAを摂取したマウス（ddY、雄）の腫瘍発生頻度

投与期間 (週)	一群匹数	肝細胞癌(%)	腎細胞癌(%)	肺がん(%)
0	15	0	0	4 (26.7)
5	16	0	0	8 (50.0)
10	15	0	0	3 (20.0)
15	15	0	3 (20.0)	11 (73.3)
20	14	2 (14.3)	1 (7.1)	6 (42.9)
25	15	5 (33.3)	2 (13.3)	4 (26.7)
30	17	6 (35.3)	4 (23.5)	8 (47.1)

これらの試験において、OTA 投与により、乳頭状の嚢胞性腺腫（良性）及び異形細胞や浸潤性増殖を含む solid（塊状）タイプ腎細胞癌の 2 つのタイプの腎臓腫瘍が識別され、後者は JECFA では悪性であると評価された結節性腎細胞癌の 2 つのタイプの腎臓腫瘍が識別された。これらは、異形細胞を含み浸潤性の増殖が認められるため、JECFA では悪性であると評価された。腎臓又は肝臓腫瘍に起因した転移は認められなかった。（参照 4, 189）

③ 24か月間発がん性試験（マウス、混餌投与）

マウス（B6C3F1、雌雄、離乳後、一群各 45～50 匹）に 0、1 又は 40 mg/kg 飼料（0、0.15 又は 6 mg/kg 体重/日：事務局換算¹⁶）の OTA を 24 か月間混餌投与する反復投与毒性試験が実施された。試験に使用された粗精製 OTA は約 84%の OTA、7%の OTB 及び 9%のベンゼンを含むものであった。40 mg/kg 飼料の OTA 投与群において、体重増加が雌で 25%及び雄で 33%抑制され、全ての雄に、尿細管上皮の増生（hyperplasia）を伴う腎尿細管の嚢胞性拡張を特徴とする腎障害が認められた。同投与量の雌においても OTA 非投与の対照群と比較すると腎炎の発症率が高かったが、雄の方が雌より症状が重かった。対照群又は 1 mg/kg 飼料の OTA 投与群では、雌雄ともに腎臓にがん腫瘍は認められなかった。40 mg/kg 飼料の OTA 投与群の雄マウスで、21 か月目以降に腎臓に良性の腎細胞腺腫と主に尿細管上皮細胞に悪性の腎細胞癌がんが認められ、それらの発生頻度は、それぞれ 50 匹中 26 匹（52%）及び 14 匹（28%）であった。良性の腎細胞腺腫が発生した 26 匹中 9 匹に悪性の腎細胞癌がんが認められた。転移は認められなかった。同投与量の雌マウスの腎臓に腫瘍は認められなかった（参照 74, 190）。肝細胞癌の発生頻度は、対照群と比較して雌マウスに統計的に有意な増加がみられた。試験に使用した OTA には、既知の発がん物質であるベンゼンを不純物として 9%含んでいることを考慮すると、著者らは、その相乗作用の可能性は否定できないと考えた。当該研究結果における腫瘍発生頻度を表 9 に示した（参照 190）。

表 9 オクラトキシンAを摂取したマウス（B6C3F1）の腫瘍発生頻度

投与群 (mg/kg 飼料)	一群匹数	腎腺腫	腎細胞癌	肝細胞腺腫	肝細胞癌
----------------------	------	-----	------	-------	------

¹⁶ 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)	1ppm飼料時摂取量 (mg/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	0.150

雄					
0	50	0	0	1	0
1	47	0	0	5	3
40	50	26	14	6	4
雌					
0	47	0	0	0	0
1	45	0	0	1	1
40	49	0	0	2	5

この試験において試験開始 18 か月後の生存率は、対照群、1 mg/kg 飼料及び 40 mg/kg 飼料の OTA 投与群においてそれぞれ 65%、75%及び 98%であり、腎細胞癌による生存率の低下は認められなかった。対照群及び 1 mg/kg 飼料の OTA 投与群では 4 か月目から致命的な閉塞性の泌尿器疾患の発生がみられた(参照 190)。40 mg/kg 飼料の OTA 投与群で生存率が高くなった原因は、OTA によるグラム陽性細菌の生育阻害効果及び OTA が誘発した近位尿細管損傷の結果としての多尿症によると推定されている(参照 195)。本結果については、同居マウスからの攻撃による傷害が、慢性の尿路疾患に関与した可能性も指摘されている(参照 196)。

【事務局より（第58回調査会）】

- ・「④13週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）」は「（2）亜急性毒性」の「②ラット」の項目へ移動しております。
- ・⑤、⑥及び⑦は2年間発がん性試験の途中結果であるため、「2年間発がん性試験（ラット、強制経口投与）」内にまとめて記載する修正をしております。また、一部の文章（黄色ハイライト部分：74ページ26～28行目及び75ページ35～37行目）は渋谷専門委員及び佐藤専門委員にご修正いただいております。

~~④ 13週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）~~

~~F344/N ラット（雌雄、一群各 10 匹）に、0、0.0625、0.125、0.25、0.5 又は 1 mg/kg 体重の OTA（純度 98%）を 13 週間、1 週間に 5 回の頻度で強制投与する予備試験が米国国家毒性プログラム（NTP）において実施された。試験の結果、腎毒性が明らかに認められた。また、腎臓、心臓及び脳の相対重量の増加、胸腺の萎縮、胃上皮の壊死、副腎における出血、骨髓細胞の減少等が認められた。OTA を投与した全てのラットの腎臓に巨大核細胞がみられ、皮質内帯及び髓質外層外帯の尿細管部分の尿細管上皮細胞の萎縮も認められた。0.125 mg/kg 体重以上の投与量群では、尿細管上皮細胞の壊死及び変性がみられた。発がんは認められなかった。（参照 191）~~

~~⑤ 9か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与）~~

~~F344/N ラット（雌雄、一群各 15 匹）に、0、21、70 又は 210 µg/kg 体重の OTA（純度 98%）を 9 か月、1 週間に 5 回の頻度で強制経口投与する毒性及び発がん性試験が NTP において実施された。試験の結果、70 及び 210 µg/kg 体重の OTA 投与群の雌雄全てに、巨大核又は倍数体の核と突起状の核小体を持つ大きな尿細管上皮細胞（有核細胞肥大）が認められた。有核細胞肥大は尿細管上皮に広く分布し、特に皮髄境界上部の近位尿細管に多くみられ、投与量の増加に伴って増加した。210 µg/kg 体重投与群の雄 1 匹に尿細管細胞腺腫が認められた。雌雄ラットに尿細管細胞の過形成がみられ、過形成病変部位には、好塩基性尿細管が観察された。（参照 191）~~

~~⑥ 15か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与）~~

~~F344/N ラット（雌雄、一群各 15 匹）に、0、21、70 又は 210 µg/kg 体重の OTA（純度 98%）を 15 か月、1 週間に 5 回の頻度で強制経口投与する毒性及び発がん性試験が NTP において実施された。試験の結果、70 及び 210 µg/kg 体重の OTA 投与群の雌雄全てに巨大核細胞が認められた。尿検査では、投与 3 日後から尿濃縮能の低下が雌雄ともにみられた。尿量が増加し、210 µg/kg 体重投与群では、比重の低下がみられた。近位尿細管細胞の刷子縁にある有機アニオン輸送システムの機能障害により尿濃縮能の低下が認められることが示されている。210 µg/kg 体重投与群の雄 2 匹及び 70 µg/kg 体重投与群の雄 1 匹に腎細胞癌並びにそれぞれの投与群の雄に 1 匹ずつ腎細胞腺腫が認められた。（参照 191）~~

【事務局より（第58回調査会）】

「2年間発がん性試験（ラット、強制経口投与）」の後に記載があったため、移動しました。

~~④90日間発がん性試験（ラット、強制経口投与）~~

~~低用量 OTA 投与がラット腎臓における発がんに与える影響を検証する目的で、ラット（F344/N、雄、一群 5 匹）に OTA が 0、0.021、0.070 又は 0.210 mg/kg 体重/日の濃度（NTP による 2 年間試験で用いられた投与量）で、14、28 又は 90 日間、1 週間に 5 日強制経口投与された。血液検査及び尿検査の結果は、高用量で血中クレアチニンの上昇及び尿中のリソソーム N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) 活性が僅かであるが有意に上昇したことを除いては腎毒性を示す指標はみられなかった。組織検査において、0.070 mg/kg 体重/日以上投与群で、OTA 誘発腫瘍の発生部位である腎臓髄質外層外帯の近位尿細管に巨大核細胞及び壊死などの変化が認められた。また、0.070 mg/kg 体重/日以上投与群において用量及び時間依存的に異常な細胞増殖が認められ、その範囲は髓放線~~

から髄質外層外帯に認められた。0.021 mg/kg 体重/日投与群の腎臓と肝臓には影響がみられなかった。この試験の NOAEL は 0.021 mg/kg 体重/日であった。OTA で誘発される細胞増殖の促進と腫瘍形成との間に明らかな相関がみられたことから、著者らは細胞増殖の促進が OTA の発がん性に主要な役割を果たしていると考えた。(参照 192)

⑤⑦2年間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

ラット（F344/N、雌雄、一群各 80~81 匹）に、0、0.021、0.070 又は 0.210 mg/kg 体重/日の OTA（純度 98%）を一週間に 5 日の頻度で 2 年間強制経口投与する毒性及び発がん性試験が NTP において実施された。試験の結果、以下に記したように、OTA は F344/N 雄及び雌ラットにおいて明らかな発がん性を示した。(参照 191)

ラットは毎日 2 回観察され、最初の 13 週間は毎週、その後は毎月体重と摂餌量が記録された。飼料及び水は自由摂取とされた。~~各群雌雄それぞれ 15 匹のラットが、9 及び 15 か月後にと殺された。~~0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群において、雄ラットでは 18~77 週間の間に、雌のラットでは 6~89 週間の間に体重が 4~7%減少した。一般状態に変化はみられなかった。血液学的検査及び血清の化学分析の結果、生物学的に有意な影響は認められなかった。~~投与 15 か月以降で OTA 投与により~~尿量の増加と比重の低下が認められ、尿を濃縮する能力に僅かな変化がみられたが、腎機能の変化は伴わなかった。各群雌雄それぞれ 15 匹のラットが、9 及び 15 か月後にと殺された。9 か月間投与後の 0.210 mg/kg 体重投与群の雄 1 匹に尿細管腎細胞腺腫が認められた。また、雌雄ラットに尿細管細胞の過形成がみられ、過形成病変部位には、好塩基性尿細管が観察された。9 か月、15 か月間及び 2 年間投与後の 0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日投与群の雌雄全例の腎臓の尿細管上皮に、巨大核と呼ばれる大型不整形の濃染した核を有する尿細管上皮細胞が広く分布し、特に皮髄境界上部の近位尿細管に多くみられ、投与量の増加に伴って増加した。

0、0.021、0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で、雄における腎細胞腺腫の発生頻度は、15 か月後で 0/15 (0%)、0/15 (0%)、1/15 (7%) 及び 1/15 (7%)、2 年後で 1/50 (2%)、1/51 (2%)、6/51 (12%) 及び 10/50(20%) 並びに腎細胞癌の発生頻度は、15 か月後で 0/15 (0%)、0/15 (0%)、1/15 (7%) 及び 2/15 (14%)、2 年後で 0/50 (0%)、0/51 (0%)、16/51 (31%) 及び 30/50 (60%) であった。2 年後の 0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で、腎細胞腺腫と腎細胞癌を合わせた発生頻度は、それぞれ 20/51 (39%) 及び 36/50 (72%) であった。2 年後の 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群では、腎細胞腺腫及び腎細胞癌が複数個又は両側の腎臓に認められた。最終と殺の前に死亡又は瀕死の状態の雄の数は、投与量に依存して増加し、0.210 mg/kg 体重/日投与群では有意に増加した（0、0.021、0.070 又は 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与

群で、それぞれ 7、19、23 又は 26 匹)。0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群において、生存数の減少が腎臓腫瘍の存在に起因していると考えられ、死亡したラットのうち腎細胞癌が認められた割合はそれぞれの投与群で 15/23 (65%) 及び 18/26 (69%) であった。転移性のがんを有していたラットは、と殺前に死亡する例が多かった。転移性のがんを有していた割合は、と殺前に死亡したラットでは 0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日投与でそれぞれ 3/8 (38%) 及び 11/15 (73%) であったが、最終日にと殺されたラットでは、それぞれ 0/7 (0%) 及び 3/15 (20%) であった。一方で、OTA を 0.021 mg/kg 体重/日投与した群の雄ラットでは、生存率の減少が OTA を 0.070 又は 0.210 mg/kg 体重/日投与した群と同様であったにもかかわらず、腎臓にがんは認められなかった。2 年後の雌の腎細胞腺腫と腎細胞癌の合計頻度は、0、0.021、0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で、それぞれ 0/50 (0%)、0/51 (0%)、2/50 (4%) 及び 8/50 (16%) であった。ラットにおいて OTA により誘発された腎細胞癌は、主に肺及びリンパ節に転移した。OTA を 0.210 mg/kg 体重/日投与した雌ラットでは、多発性の乳腺線維腺腫が認められた。乳腺線維腺腫の発生頻度は、対照及び低用量投与群の 4~5/50 (8~10%) と比較すると 14/50 (28%) と高かった。非腫瘍性の毒性病変は主として腎臓に関係するものであった。~~13 週間の予備試験ラット並びに 9、15 及び 24 か月の毒性試験ラットにおいて、70 及び 210 µg/kg 体重の OTA 投与群の雌雄に、巨大核又は倍数体の核と突起状の核小体を持つ大きな尿細管上皮細胞（有核細胞肥大）が認められた。~~(参照 191)

JECFA において、この NTP 試験結果について検討された。雄ラットにおける腎細胞癌発生頻度が、0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群でそれぞれ 16/51 (31%) 及び 30/50 (60%) であり、それ以下の低用量投与群ではがんが認められなかったことが着目された。雌ラットの腎細胞癌発生頻度は低く、0.021、0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日の OTA 投与群でそれぞれ 0/50、1/50 及び 3/50 であった。腎臓細胞腺腫は、全ての投与群の雄で認められ、投与量に応じて発生頻度が増加した。雌ラットにおける腎臓細胞腺腫は 0.070 及び 0.210 mg/kg 体重/日投与群でのみ認められた。乳腺線維腺腫は、全ての用量の OTA 投与ラットの 45~46% で認められ、OTA 非投与の対照群より有意に高い発生頻度であった。更に、NTP の試験における腎臓標本がレビューされ、障害部位 は、髓質外層外帯にある近位尿細管 S3 セグメントであることが確認された。2 年間慢性・発がん性試験における組織学的所見として、**巨大核細胞及び肥大した有核細胞の増加による巨大核と呼ばれる大型不整形の濃染した核を有する細胞の増加による**尿細管 S3 セグメントの萎縮と組織障害が認められた。この変化は、雌雄ともに明らかな用量反応関係を示した。16 日間及び 13 週間試験において髓質外層外帯を含む尿細管における局所的な細胞死、細胞分裂の活性化及び尿細管過形成を伴った好塩基性細胞の増加が認められた。

これらの損傷部位と2年間試験の発がん部位に相関が認められ、発がんのメカニズムに關与する可能性も考えられたが、組織学的な所見のみでは不十分とされた。髓質外層外帯に關わるこのほかの非腫瘍性の主な障害は、拡張した異型尿細管、色素嫌性尿細管及び嚢胞性尿細管であり、嚢胞性尿細管は雄より雌ラットに顕著に認められた。低用量（マイクログラムオーダー）のOTAが、腎細胞癌を高頻度で誘発し（高用量群雄の74%）、腎細胞癌は腺腫より多く認められた。腎細胞癌は比較的迅速に発症し、悪性で急速に進行した。通常とは異なって、未分化の表現型を示す傾向が認められ、比較的高頻度で転移し、明らかに死亡の原因と考えられるケースもあった。これらOTAで誘発されるがんの各特徴は、非遺伝毒性発がん物質であるd-リモネンやクロロホルムなどに誘発される腎臓腫瘍にみられる特徴とは異なっている。未分化で活発な性質を持つ傾向は、フモニシンB₁で腎尿細管に誘発されるがんと類似性があった。フモニシン誘発の腫瘍は、スフィンゴ脂質代謝の変化を介した間接的なものと推定されている。OTAがDNAに直接作用している可能性も考えられたが、JECFAではOTAの腫瘍の誘発メカニズムが、DNAとの直接的な反応によるかどうかは不明であるとされた。（参照 74）

NTPの試験結果をまとめ、表10～表12に示した。当該試験における雄ラットの腎腫瘍を指標としたNOAELは0.021 mg/kg 体重/日、LOAELは0.070 mg/kg 体重/日であった。

表10 雄のラットにおけるオクラトキシンAによる巨大核及び発がん性のLOAEL及びNOAEL

動物種	影響	試験期間	LOAEL (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)
ラット(雄) ^a	近位尿細管細胞	90日間	0.0625	設定せず
	の巨大核	9及び15か月間	0.070	0.021
	腎臓腫瘍	2年間	0.070	0.021

a：5日/週で強制経口投与 NTP（1989）より（参照 191）

表11 オクラトキシンAにばく露した雄ラットにおける巨大核の発生頻度

OTA 投与量 (mg/kg 体重/日) ^a	0	0.021	0.070	0.210
巨大核(%)	0/50	1/51(2)	51/51(100)	50/50(100)

a：5日/週で2年間強制経口投与 NTP(1989)より（参照 191）

表12 オクラトキシンAにばく露した雄ラットにおける腎臓腫瘍の発生頻度

OTA 投与量 (mg/kg 体重/	0	0.021	0.070	0.210
-----------------------	---	-------	-------	-------

日) ^a				
腺腫(%)	1/50(2)	1/51(2)	6/51(12)	10/50(20)
生命表検定	$P<0.001$	$P=0.669$	$P=0.023$	$P<0.001$
ロジスティック回帰テスト	$P<0.001$	$P=0.669$	$P=0.053$	$P=0.004$
がん(%)	0/50	0/51	16/51(31)	30/50(60)
生命表検定	$P<0.001$	-	$P<0.001$	$P<0.001$
ロジスティック回帰テスト	$P<0.001$	-	$P<0.001$	$P<0.001$
腺腫及び/又はがん(%)	1/50(2)	1/51(2)	20/51(39)	36/50(72)
生命表検定	$P<0.001$	$P=0.669$	$P<0.001$	$P<0.001$
ロジスティック回帰テスト	$P<0.001$	$P=0.669$	$P<0.001$	$P<0.001$

a : 5 日/週で2年間強制経口投与 NTP (1989) より (参照 191)

リスク評価のための追加情報を得るために JECFA では、NTP のラット OTA 発がん性試験データ(参照 191)を用いてベンチマークドーズ (BMD) 法¹⁷により、定量的な評価が実施された。腎臓を標的とした発がんに対する性及び種感受性として、雄ラット腎臓における腫瘍とがんの組合せ発生頻度 (表 12) が用量-反応モデリングの最も適当なデータとされた。

シミュレーションには米国環境保護局 (EPA) の BMD Softwear ver.1.4.1(参照 197)が用いられた対照群のバックグラウンド発生頻度と比較した腫瘍及びがんの発生頻度の 10%増加に対しての BMD₁₀ とその 95% 信頼下限値である BMDL₁₀ の値が、250 回の繰り返し計算 (イテレーション) を行うことにより推定された。使用したモデルの BMD₁₀ と BMDL₁₀ の値を、関係する統計値とともに表 13 に示した。

算出された OTA の BMD₁₀ 値は 0.018~0.033 mg/kg 体重/日、BMDL₁₀ 値は 0.015~0.025 mg/kg 体重/日の範囲であった。適合したモデル¹⁸の BMD₁₀ 値は 0.030 mg/kg 体重/日付近、BMDL₁₀ 値は 0.025

¹⁷ BMD手法は、対照群に対し5%又は10%で代表的に選ばれた軽度であるが確認可能な反応 (ベンチマーク反応) を引き起こすことが感知できる範囲及び推定量を含む実験データに適合する数学モデルに基づいている。用量-反応評価において、定量的な低濃度の分析が可能なことより、健康影響のためNOAELとLOAEL手法の代案として提唱された (国際化学物質安全性プログラム)。BMDの下限値 (BMDL) は、BMDの95%信頼区間片側に相当する下限を意味している。下限値を用いることは、その試験の持つ不確かさを考慮に入れ、選択したベンチマーク反応が限度を超えないことを保証 (95%信頼水準) することになる。

¹⁸ モデルの尤度比検定の結果であるp-値が有意に0.1より大きく、X²値が小さいほどモデルの適合度が良好と考えられる。

mg/kg 体重/日であった。したがって、求められた BMDL₁₀ 値は、現行の根拠となっているブタにおける腎毒性を指標とした LOAEL 0.008 mg/kg 体重/日と比較し、暫定耐容週間摂取量（PTWI）設定のために参照する出発点（Point of departure: POD）として低い値とはならなかった。（参照 198）

表 1 3 NTPの試験からのラット（F344/N、雄）における腎臓腫瘍発生頻度に基づくBMD₁₀及び BMDL₁₀算出（JECFA）

モデル	対数 (尤度)	p-値	AIC	χ ²	P-値	BMD ₁₀ mg/kg 体 重/ 日	BMDL ₁₀ mg/kg 体 重/ 日
Full model	-71.61						
Gamma multi-hit	-76.36	0.02	158.7	4.91	0.03	0.030	18
Log-logistic	-75.57	0.05	157.1	3.46	0.06	0.032	0.021
Multistage	-77.29	0.01	160.6	5.96	0.01	0.024	0.015
Log-probit	-75.05	0.09	156.1	2.64	0.1	0.033	0.025
Quantal-linear	-77.74	0.02	159.5	5.99	0.05	0.018	0.015
Weibull	-76.68	0.01	159.4	5.27	0.02	0.028	0.017
Reduced model	-120.77	<0.001					

AIC:赤池情報量規準の略でモデルの選択基準、一般に小さいほうが良いモデルとされる。

NTP（1989）のデータより。OTA を 5 日/週で 2 年間強制経口投与。表の一部を改変。（参照 198）

食品安全委員会では、実験動物における発がん影響についてこの後に公表された毒性試験結果も含めてレビューした結果、NTP におけるラットを用いた試験は、発がん性試験として用量相関が示され、最も低い投与量で発がん影響が認められていることが確認された。BMD 法の適用に当たっては、NTP のラットへの 2 年間投与試験は週 5 日投与であることから、一日当たりの平均投与量として 5/7 倍の投与量補正を行うこととした。改訂された EPA の BMD Softwearver.2.3.1 において全てのモデル（Restriction に関する設定がある場合は on 及び off の両条件）を用いて解析した結果、LogProbit（Restriction : on）及び LogProbit（Restriction : off）の両モデルが適合した。両適合モデルのうち最も低い BMDL₁₀ を算出したのは、LogProbit（Restriction : off）モデルとなり、BMD₁₀ は 0.0237 mg/kg 体重/日、BMDL₁₀ は 0.0161 mg/kg 体重/日であった（表 14）

表 1 4 NTPの試験からのラット（F344/N、雄）における腎臓腫瘍発生頻度に基づくBMD₁₀及びBMDL₁₀算出（食品安全委員会）

モデル	Power parameter	Slope parameter	AIC	p 値	許容	BMD ₁₀ mg/kg 体 重/ 日	BMDL ₁₀ mg/kg 体 重/ 日
-----	--------------------	--------------------	-----	-----	----	---	--

Gamma	restricted		158.866	0.0253		0.0221248	0.0130134
	unrestricted		158.866	0.0253		0.0221248	0.0130134
Logistic		not restricted	168.437	0.0003		0.0374076	0.0306388
LogLogistic	restricted	restricted	157.279	0.05972		0.0027799	0.0148076
	unrestricted	restricted	157.279	1.1597		0.0227799	0.0148076
LogProbit	restricted	restricted	156.201	0.1004	OK	0.0237466	0.0181891
	unrestricted	not restricted	156.201	0.1004	OK	0.0237466	0.016092
Multistage	restricted(2)		160.789	0.0135		0.0174057	0.0110617
	restricted(3)		160.789	0.0135		0.0174057	0.0110617
	Unrestricted(2)		160.789	0.0135		0.0174057	0.0105968
	Unrestricted(3)		155.253			0.0271372	0.0207351
Probit		not restricted	166.647	0.0005		0.0351238	0.0291336
Weibull	restricted		159.52	0.0203		0.0204683	0.012051
	not restricted		159.52	0.0203		0.0204684	0.0120357
Quantal-linear			159.753	0.0464		0.0132651	0.0105944

【事務局より（第58回調査会）】

「24か月間発がん性試験（マウス、混餌投与）」の後に移動しました。

~~⑧90日間発がん性試験（ラット、強制経口投与）~~

~~低用量 OTA 投与がラット腎臓における発がんに与える影響を検証する
目的で、F344/N ラット（雄、一群 5 匹）に OTA が 0、21、70 又は 210
μg/kg 体重/日の濃度（NTP による 2 年間試験で用いられた投与量）で、
14、28 又は 90 日間、5 日/週で強制経口投与された。血液検査及び尿検査の
結果は、高用量で血中クレアチニンの上昇及び尿中のリソソーム
N-acetyl-β-D-glucosaminidase（NAG）活性が僅かであるが有意に
上昇したことを除いては腎毒性を示す指標はみられなかった。組織検査に
おいて、70 μg/kg 体重以上の投与群で、OTA 誘発腫瘍の発生部位であ
る腎臓髓質外層外帯の近位尿細管に巨大核細胞及び壊死などの変化が認め
られた。また、70 μg/kg 体重以上の投与群において用量及び時間依存的
に異常な細胞増殖が認められ、その範囲は髓放線から髓質外層外帯に認めら
れた。21 μg/kg 体重/日投与群の腎臓と肝臓には影響がみられなかった。
この試験の NOAEL は 21 μg/kg 体重/日であった。OTA で誘発される細
胞増殖の促進と腫瘍形成との間に明らかな相関がみられたことから、著者~~

らは細胞増殖の促進が OTA の発がん性に主要な役割を果たしていると考えた。(参照 192)

⑥⑨2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

ラット（Dark Agouti、雄、一群 5 匹）に 5 mg/kg 飼料（0.25 mg/kg 体重/日に相当）の用量で OTA を 3、6 又は 9 か月投与し、2 年間観察すると共に 0.4 mg/kg 飼料（0.02 mg/kg 体重/日に相当）の用量で OTA を 2 年間投与する慢性毒性試験が実施された。試験には人工培養物（OTB を 5～10% 含む。ペニシリン酸と CIT は含まず。）が用いられた。5 mg/kg 飼料の OTA 投与群における発がん率は 20% であった。6 か月投与群では 1 匹の両側の腎臓にがん腫瘍が、9 か月投与群では 20 匹中 4 匹の片側の腎臓にがん腫瘍が認められた。OTA 投与終了後腫瘍発生までの潜伏期間は、35～97 週であった。0.4 mg/kg 飼料の OTA を 2 年間混餌投与した群に発がん性は認められず、Dark Agouti ラットにおいては無毒性量と考えられた。本実験の OTA 用量は、NTP 試験の無毒性用量の約 2 倍に設定され、平均用量は 0.050 mg/kg 体重/日から始まり、成体後期では 0.020～0.030 mg/kg 体重/日であった。(参照 193)

⑦⑩2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

ラット（F344、雄、一群 64 匹）に体重が 333 g になるまでは 0.300 mg/kg 体重/日、その後は 0.100 mg/匹/日の用量で 2 年間 OTA（OTB を OTA の 5～10% 含む。ペニシリン酸と CIT は含まず。）が混餌投与された。最後の 18 か月は、血中 OTA 濃度は 0.008 µg/L と一定の値となった。腎細胞癌は投与 75 週目から認められ、ほとんどが片方の腎臓に発生した。腎細胞癌は明らかに腎実質に発生していたが、腎盂かどうか不明なケースが 2 匹にみられた。腎腫瘍は 1 匹に認められ、白血病も発症していた。2 年間における腎腫瘍の発生率は 25%（16/64）及び腎細胞癌の発生率は 20% であった。OTA 非投与の対照群（30 匹）の腎臓にがんはみられなかった。当該試験では、ラットの体重が 333 g になるまでは NTP における発がん性試験の高投与量の 2 倍となる用量の OTA が混餌投与されたが、腎細胞癌の発生率は強制経口投与による NTP 発がん性試験の高投与量群より有意に少なかった。(参照 199)

⑧⑪2年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

ラット（F344、雄、一群 34 匹）に 2 年間 OTA（OTB を 5～10% 含む。ペニシリン酸と CIT は含まず。）が混餌投与された。ラットの体重が 175 g になるまでの OTA 用量は 0.05 mg/kg 体重/日であった。腎臓にがんがみられたのは 34 匹中 4 匹（12%）であり、NTP における同じ用量の OTA 強制経口投与による発がん性試験結果（30%）より少なかった。(参照 194)

【事務局より（第58回調査会）】

「⑨1年間慢性毒性試験（ブタ、混餌投与）」は、投与期間が1年間であるため、「（2）亜急性毒性」の項目より移動したものです。

⑨1年間慢性毒性試験（ブタ、混餌投与）

ブタ（ランドレース・ブルガリアンホワイト交雑種、雌雄、一群各3頭）に 0.800 mg/kg 飼料のOTAを1年間混餌投与した結果、近位尿細管上皮細胞の退行性変性並びに間質への炎症性単球浸潤及び間質線維芽細胞の増殖が確認された。OTA非投与の対照群ではこれらの異常は観察されなかった(参照 186)。

⑩⑫2年間発がん性試験（ブタ、混餌投与）

ブタ（デンマークランドレース、雌、一群 6 頭）に 1 mg/kg 飼料のOTA（0.025～0.050 mg/kg 体重/日に相当（参照 105）、EFSA の評価（参照 200）では 0.040 mg/kg 体重/日としている）が 2 年間混餌投与された。発がんは認められなかった。投与開始 3 か月後には、いくつかのネフロンにおいて近位尿細管上皮細胞に局所的な萎縮及び間質の線維化が認められた。この腎症は進行性で、2 年後には同様の所見が更に広範囲にみられ、近位尿細管に構造変化及び壊死が生じ、萎縮した尿細管の上皮細胞間に単球の浸潤が認められた。腎不全は認められなかった。近位尿細管では NADPH テトラゾリウム還元酵素、LDH、G-6-PD 及びαグリセロールフォスファターゼの酵素活性が局所的に低下し、これらの酵素活性の低下の範囲は、局所的な尿細管萎縮の範囲と一致していた。（参照 105, 181）

（4-5）生殖発生毒性

いくつかの発生毒性影響についての試験では、OTA が胎盤を通過し、ラット及びマウスに対する胎児毒性及び催奇形性が示されている。OTA の生殖発生毒性試験の主なものを表 15 にまとめた。

表 15 オクラトキシンAの生殖発生毒性試験の結果

動物種等 (動物数/群)	試験、投与方法、期間	投与量		作用	LOAEL (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)	参考文献
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日				
マウス、CBA、妊娠(10)	発生毒性、強制経口、妊娠 8、9 日 妊娠 -2 日、妊娠2～14 日目		0、1、2、4 (コーン油)	・全ての投与群で胎児に影響。 ・妊娠 8 又は 9 日目投与群で胎児の顔面上部構造の無形成と形成異常。			(参照 201)

マウス、 CD-1、 妊娠 (10~13)	発生毒性、 強制経口投 与、妊娠8 日目に投与 し、18日 目に検査		0、2、3 (タン パク質 (カゼイ ン)量を 調整)	・胎児頭蓋顔面の 奇形。	2		(参照 202)
マウス、 ICR、 妊娠 (6)	発生毒性、 腹腔内、 妊娠10日 目に投与		0、3	・小脳症。	3		(参照 203)
マウス、 遺伝的 多指症/ 無嗅脳 症マウ ス、妊 娠	発生毒性、 腹腔内、 妊 娠 7.5 日 目 に 投 与		2 (NaHCO 3 溶液)	・神経管欠損。	2		(参照 204)

動物種等 (動物数/群)	試験、投与方法、期間	投与量		作用	LOAEL (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)	参考文献
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日				
ラット、 Wistar 、妊娠 (12~20)	発生毒性、腹腔内、妊娠8日目から投与		8及び9日目に2.5、8~11日目に1.2、8~13日目に0.83又は8~15日目に0.63	・数回の投与及び妊娠初期に分けて投与された。母動物に最も影響。 ・胎児の吸収胚の増加、平均胎子数、平均胎児体重、胎盤の平均重量減少。	5*		(参照205)
ラット、 Wistar 、妊娠	発生毒性、強制経口、妊娠8~15日目		8及び9日目に2.5、8~11日目に1.2、8~13日目に0.83又は8~15日目に0.63	・催奇形性、胎児数、胎児重量減少。	N/A		(参照206)
ラット、 Sprague-Dawley 、妊娠 (10)	発生毒性、強制経口、妊娠6~15日目		0、0.25、0.50、0.75、1、0、2、4又は8	・急性毒性では腎不全。 ・全ての投与群で胚の吸収又は体重減少。	0.25		(参照207)
ラット、 Wistar ラ、雄(5~10)	生殖毒性、胃内、2、4、6又は8週間	2	0.289	・精巣の α -アミラーゼ、ALP及び γ GT活性の増加。 ・精子形成不全	0.289		(参照208)
ラット、 Sprague-Dawley 、妊娠 (6~9)	発生毒性、強制経口、妊娠6~15日目		0、1	・胎児の骨格、肺、腎臓奇形。	1		(参照209)
ラット、 Wistar 、妊娠 (10)	発生毒性、胃内、妊娠6~15日目		0、0.125、0.25、0.50、0.75	・0.5 mg/kg 投与以上で有意な催奇形性、胚吸収の増加。 ・0.25 mg/kg 投与以上で有意な胎児数減少。	0.25		(参照210)
ラット、 Wistar 、妊娠(10)	発生毒性、強制経口、妊		0、2.0、2.5、2.75、	・外水頭症、頭蓋骨不完全閉鎖、臍帯ヘルニ	2.75		

	妊 6～15 日目		3.0、 3.5、4.0	ア、内水頭症、 小眼症、腎盂拡張、 腎臓形成不全。			(参照 211)
ウサギ New Zealand White、 妊娠(5)	発生毒性、 強制経口、 妊6～18日		0、 0.025、 0.05、 0.10	・胎児体重と生存 胎児数減少、催奇 形性。	0.10		(参照 212)
Holstein 、妊娠 3・6 か月目 (1)	胃内投与		0.2、 0.75、 1.66	・流産又は胎児死 亡は認められな かった。		1.66	(参照 125)

* : mg/kg 体重/試験期間中

① マウス

マウス（CBA、妊娠、一群 10 匹）に 0、1、2 又は 4 mg/kg 体重のコーン油に溶解した OTA を妊娠 8 又は 9 日目（膈栓形成を 1 日目とする。以下同じ。）に投与される発生毒性試験が実施された。妊娠 19 日目にと殺し、母体及び胎児の生死、生存胎児の体重、肉眼的観察並びに骨格が検査された。4 mg/kg 体重の OTA を妊娠 8 又は 9 日目に投与した群における胎児の死亡率はそれぞれ 17.3 又は 22.2%であった。生存胎児の体重は、用量依存的に減少し、溶媒を妊娠 8 又は 9 日目に投与した対照群ではそれぞれ 1.04 ± 0.02 g 又は 1.09 ± 0.02 g であったが、4 mg/kg 体重の OTA を妊娠 8 又は 9 日目に投与した群ではそれぞれ 0.93 ± 0.02 g 又は 0.62 ± 0.02 g であった。4 mg/kg 体重の OTA 投与群に認められた主な異常の頻度は、妊娠 8 又は 9 日目の OTA 投与群で脳ヘルニアがそれぞれ 10.4% (7/67) 又は 89.3% (50/56)、小眼球症が 6% (4/67) 又は 26.8% (15/56)、眼瞼開裂が 6% (4/67) 又は 16.1% (9/56) 並びに奇形のあご及び舌突出が 1.5% (1/67) 又は 41.1% (23/56) であった。半数の胎児について更に骨格を調べた結果、椎骨及び胸骨における癒合が認められた。これらの胎児の異常は、頭蓋骨の骨格と側部壁の骨の位置及び大きさの配置異常による脳頭蓋の閉鎖の不具合から起こると考察された。さらに、交尾 2 日前、妊娠 2、4、6、7、10、11、12、13、14 又は 16 日目に 4 mg/kg 体重の OTA を強制経口投与し、妊娠 19 日目に母体及び胎児が観察された結果、胎児への影響は全ての投与群で認められた。妊娠 7 日目投与群で胚致死数の有意な増加が、妊娠 10、11、13 及び 14 日目投与群で有意な胎児体重の減少が認められた。妊娠 9 日目投与群では、形成阻害への影響が明らかに認められた。(参照 201)

マウス（CD-1、雌、一群 10～13 匹）に精製タンパク質食としてカゼインを 26%、16%、8%又は 4%を含有する飼料を交配中及び妊娠中に摂取させて、OTA の催奇形性作用におけるタンパク質欠乏の影響が調べられた。

0、2 又は 3 mg/kg 体重の OTA を妊娠 8 日目に単回強制経口投与し、母動物は妊娠 18 日目にと殺された。OTA 投与は、母動物の摂餌量に影響しなかった。OTA 非投与群の母動物は、いずれのタンパク質食でも死亡例はなかったが、3 mg/kg 体重の OTA 投与群において、26%、16%、8% 及び 4% のタンパク質食を含有する飼料を摂取させた群の OTA 投与後 48 時間以内の母動物の死亡数は、それぞれ 5、4、1 及び 14 匹であった。胎児の生存率は、8% 及び 4% のタンパク質食摂取群において OTA 投与により有意に減少した。OTA 非投与の対照群のうち 26% タンパク質食摂取群及び 16% タンパク質食摂取群に胎児の外表奇形はみられなかった。OTA の用量依存的に外表奇形の増加が認められ、その発生頻度はタンパク含有量が少ないほど増加した。4% のタンパク質食摂取群で主に見られる肉眼的奇形は、脳外症、口唇裂、顔面裂、無眼球症、骨格異常であった。（参照 202）

マウス（ICR、妊娠、匹数不明）に 0 又は 3 mg/kg 体重の OTA を妊娠 10 日目腹腔内投与した結果産まれた雄マウス（一群 6 匹）の脳重量は、OTA を投与しない母動物から産まれた雄マウスより有意に軽く、大脳皮質の厚さは有意に薄かった。発生した小脳症について、6 週齢でニューロン及びシナプスの定量的評価を行ったところ、体性感覚皮質において、OTA にばく露された群では、OTA 非投与の対照群よりニューロン当たりのシナプス数が少なく、神経細胞樹状突起の発育不良を示していた。（参照 203）

多指症/無嗅脳症（*Pdn/Pdn*）マウスには神経管欠損（NTD）が 13.2 % の割合で認められた。*Pdn/+* の雌雄を交雑した後、妊娠 7.5 日目に 2 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与した結果、NTD の発生頻度は 51.6 % に増加した。（参照 204）

② ラット

ラット（Sprague-Dawley、妊娠、一群 10 匹）に 0、0.25、0.50、0.75、1、2、4 又は 8 mg/kg 体重の OTA を妊娠 6、7、8、9、10、11、12、13、14 及び 15 日目に強制経口投与された。OTA による急性毒性では腎不全が特徴的であり、4 及び 8 mg/kg 体重投与群では、それぞれ母動物 1 匹及び 10 匹が死亡し、胚は吸収されていた。1 及び 2 mg/kg 体重投与群では、母動物に毒性兆候は見られなかったが、胚は吸収された。0.75 mg/kg 体重の OTA 投与群では、妊娠 20 日目の母動物で胎児の吸収率が増加した。0.25、0.50 及び 0.75 mg/kg 体重投与群の妊娠 20 日目の全ての胎児の体重がコントロール群より低かった。0.75 及び 1.0 mg/kg 体重投与群の胎児は発育不良で、鼻の変形は、それぞれ 96 匹中 5 及び 28 匹中 16 匹に認められた。1.0 mg/kg 体重投与群の妊娠 20 日目ののは全ての胎児が開眼していた。その他の主な変化としては、0.25 mg/kg 体重以上投与群で用量依存的な胎児の肋骨の湾曲及び胸骨分節の形成不全がみられた。（参照 207）

ラット（Wistar、雄、一群 5~10 匹）に 0.289 mg/kg 体重の OTA が 48 時間毎に 2、4、6 又は 8 週間強制経口投与された。精巣内の α -アミラーゼ、ALP 及び γ GT 活性が増加し、精子形成不全が認められた。（参照 208）

ラット（Wistar、妊娠、一群 12~20 匹）の妊娠 8 及び 9 日目に 2.5 mg/kg 体重の OTA、妊娠 8、9、10 及び 11 日目に 1.25 mg/kg 体重の OTA、妊娠 8、9、10、11、12 及び 13 日目に 0.83 mg/kg 体重の OTA、妊娠 8、9、10、11、12、13、14 及び 15 日目に 0.63 mg/kg 体重の OTA 又は OTA 溶解液（0.16 mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液）を投与した。同様の方法で、ラット（一群 20 匹）に 2.5 mg/kg 体重の OTA を妊娠 8 又は 9 日目に単回経口投与、並びに 1.67 mg/kg 体重の OTA を妊娠 8、9 又は 10 日目に単回経口投与する発生毒性試験が実施された。ラットは全て妊娠 20 日目にと殺された。各群の雌 1 匹当たりの着床数に有意差はなかった。OTA 総投与量が同じであっても、数回の投与及び妊娠初期に分けて投与された雌が、最も影響を受けた。雌 1 匹当たりの胚吸収の数は、一日当たりの用量に依存して増加がみられ、雌 1 匹当たりの平均胎児数、胎児体重及び胎盤重量の減少に同様の用量依存性が認められた。1.2 mg/kg 体重以上投与群で、胎児の出血並びに先天性胸腹臓器ヘルニア（celosemia）がみられ、著者らは、奇形の影響と考察している（参照 74, 205）。また、同様に OTA を 1.25 又は 2.5 mg/kg 体重/日の用量で計 5 mg/kg 体重投与し、生後 82 日後まで出生児ラットを観察する発生毒性試験が同じ研究グループによって実施された。出生ラットの平均数、4 日後に生存していたラットの平均数及び生存率に用量に依存した減少が認められたが、離乳時生存率には認められなかった。OTA を 2.5 mg/kg 体重で 2 回投与した群では、82 日目の雄と雌の出生児の平均体重が、それぞれ 12 又は 8%減少した。また、出生 15 日目に雄の 26%に水頭症が観察され、そのうち 40%は生後 20 日までに死亡した。（参照 206）

ラット（Sprague-Dawley、妊娠、一群 6~9 匹）に 0 又は 1 mg/kg 体重の OTA を妊娠 6~15 日目に経口投与し、妊娠 20 日目にと殺して母動物と胎児が観察された。投与群の胎児体重の減少と吸収胚数の増加が認められたが、母動物に明らかな悪影響は見られなかった。OTA のばく露を受けた胎児には、頭蓋骨の骨化不全、胸骨欠損及び尾椎欠損がそれぞれ 30 匹中 6 匹（20%）、4 匹（13.3%）及び 2 匹（6.7%）認められた。腎臓及び肺の奇形がそれぞれ 15 匹中 6 匹（40%）及び 3 匹（20%）認められた。抗酸化作用のある L-メチオニンを 43.0 mg/kg 体重の用量で OTA と同時に投与すると、OTA 非投与の対照群とほぼ同様の結果となった。（参照 209）

ラット（Wistar、妊娠、一群 10 匹）に 0、0.125、0.25、0.50 又は 0.75 mg/kg 体重の OTA を妊娠 6~15 日目に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。0.25 mg/kg 体重以上投与群で、用量に依存して生存胎児数が減少し、0.75 mg/kg 体重投与群では有意に減少した。胎児体重と頭殿

長も用量に依存して減少し、胎児の体重増加は 0.50 mg/kg 体重以上投与群で有意に減少した。外表奇形、骨格及び臓器の異常が、用量に依存して増加し、0.5 mg/kg 体重以上投与群で統計的に有意な増加であった。外表奇形には、脳ヘルニア、頭蓋骨の閉鎖不全、小顎症、小肢症、尾の湾曲、脊柱側湾症及び後部矮小等が認められた。骨格異常には、多数の骨の不完全骨化及び融合又は分岐肋骨が認められた。臓器の異常には、水頭症、小眼症、腎盂拡張、停留精巣等が認められた。胎児の肝臓、腎臓、脳及び眼の組織学的検査において、0.25 mg/kg 体重以上投与群の胎児に、水腫、腎臓の線維化及び尿細管上皮細胞の変性、肝細胞変性、胆管増殖、小脳の不完全形成並びに水晶体及び網膜の欠損などの発生頻度の増加が認められた。(参照 210, 213)

ラット (Wistar、妊娠、一群 10 匹) に 0、2.0、2.5、2.75、3.0、3.5 又は 4.0 mg/kg 体重の OTA を妊娠 6、7、8、9、10、11、12、13、14 又は 15 日目に単回経口投与された。妊娠 20 日目にと殺して母動物と胎児が観察された。OTA は胎児に骨格及び臓器の異常を誘発し、2.75 mg/kg 体重以上投与群で催奇形性が認められた。催奇形性に対し最も感受性の高い時期は、妊娠 6 日目と 7 日目であった。(参照 211)

③ ウサギ

ウサギ (New Zealand White、妊娠、一群 5 匹) に 0.025、0.05 又は 0.10 mg/kg 体重の OTA を妊娠 6 から 18 日目まで経口投与する発生毒性試験が実施された。0.10 mg/kg 体重投与群で、胎児体重及び生存胎児数に有意な減少があった。胎児には、水頭症、小眼症、球節の突き出し、尾の未発達又は無発育、波状肋骨、腎臓の無形成並びに頭蓋骨及び背骨の骨化不良の発生頻度が増加した。肝臓、腎臓、脳及び眼の組織学的検査により、胎児の肝臓及び腎臓に用量依存的な障害の増加が認められた。(参照 212)

④ ウシ

ウシ (ホルスタイン、妊娠、一群 1 頭) の妊娠 3～6 か月目に 0.2、0.75 又は 1.66 mg/kg 体重/日の OTA が 4 又は 5 日間胃内投与された。流産又は胎児死亡はみられなかった。(参照 125)

(6) 生殖発生毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見 (案)

生殖発生毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の結果を表●に示した。

表● オクラトキシンAの生殖発生毒性試験の結果 (in vitro試験) (案)

生物種	ばく露期間	ばく露量	作用	LOAEL (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)	参照
羊卵丘卵母	24時間	0、0.0001、	・ 10 µMで卵丘膨化率	1 µM	0.1 µM	文献リスト

細胞複合体		0.001、0.01、0.1、1、10 μ M	と卵母細胞核成熟率の低下 ・ 1 μ Mで卵丘膨化率と卵母細胞核成熟率が低下しGV期の卵母細胞の割合が増加 ・ 卵母細胞の正常受精率は用量依存的に低下し異常受精卵母細胞は低用量群で増加 ・ 10 μ M群で2~4細胞期で停止率増加			No.103
ICRマウス 桑実胚（妊娠3日目に子宮洗浄回収）、胚盤胞（妊娠4日目に子宮角洗浄回収）	24時間	0、1、10 μ M	・ 10 μ M処理胚盤胞でアポトーシス増加、総細胞数及び内部細胞塊細胞減少 ・ 10 μ M群で桑実胚の胚盤胞への発育割合低下（対照群83%、10 μ M群30.4%）		1 μ M	文献リスト No.216
ブタの顆粒膜細胞	24時間	0、20、40 μ M	・ 生細胞数は用量依存的に減少 ・ G2/M期割合が用量依存的に増加 ・ 40 μ M群でATR、BRCA1、RAD51タンパク質が増加。 ・ 20及び40 μ M群で、 γ -H2AX、XRCC1、RPA2及びP53タンパク質が増加。PCNAタンパク質が低下。	20 μ M		文献リスト No.622

1

2

表● オクラトキシンAの生殖発生毒性試験の結果（*in vivo*試験）（案）

動物種等 （動物数 /群）	試験、投与方法、期間	投与量		作用	LOAEL (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日				
ラット、 F344、雌 雄（10）	生殖発生、 混餌、交配 前2週間、交 配2週間、妊 娠期間・哺 乳期間（42 日間）	0、0.16、 0.4、1.0、 2.5	雄： 0、 0.0089、 0.0217、 0.0552、 0.1418 雌： 0、 0.0119、 0.0339、 0.0733、 0.167 （相当）	・ 0.16 mg/kg 飼料 以上群のF ₁ 雄で尿 細管変性	0.0119 （相当）		文献リスト No.048

ラット、 F344、雌 雄（16）	生殖発生、 混餌、交配 前2週間、交 配2週間、妊 娠期間・哺 乳期間（42 日間）、離 乳後69日間	0、 0.026、 0.064、 0.16、 0.4、1.0	生後90日 F ₁ 雄： 0、 0.0021、 0.0052、 0.0130、 0.032、 0.0837 F ₁ 雌： 0、 0.0022、 0.0056、 0.0130、 0.0342、 0.0870 （相当）	・生後90日のF ₁ 雌で 0.16 mg/kg 飼料 以上群の多卵性卵 胞数及び総卵胞数 に対する割合上昇	0.0130 （相当）	0.0056 （相当）	ご提供論文 No.1
-------------------------	--	--	--	---	----------------	----------------	---------------

・ *in vitro* 試験

生後 6 か月未満の羊の卵巢から卵丘卵母細胞複合体を分離して、0、0.0001、0.001、0.01、0.1、1 又は 10 μ M の OTA でインキュベーションした結果、10 μ M 群で卵丘の膨化率及び卵母細胞核の成熟率の低下を誘発し、アポトーシスを起こした卵丘細胞の割合が増加した。また、胚は 2～4 細胞期で分裂が停止した。1 μ M 群では卵丘の膨化率及び卵母細胞核の成熟率が低下し、卵核胞（Germinal Vesicle）期の卵母細胞の割合が増加した。（文献リスト No.103）

マウス（ICR）の胚盤胞を 0、1、5 又は 10 μ M の OTA に 24 時間インキュベーションして TUNEL 染色した結果、10 μ M 群でアポトーシスを誘発し対照群の 9 倍の胚盤胞の細胞が死滅した。また、桑実胚の胚盤胞への発育割合は、対照群の 83%に対して 10 μ M 群で 30.4%に減少した。各群の胚盤胞をそれぞれ 300～320 個採取して 8 日間インキュベーションした結果、フィブロネクチンコートディッシュへの着床率に各群で違いが無かった。各群の胚を偽妊娠 4 日目のマウス（ICR の雌を C57BL/6J の精管切除雄で偽妊娠させた）に移植した結果、10 μ M 群は着床率で対照群と差が無かったが胚の吸収率が増加した。また、各群で胎盤重量に差が無かったが、10 μ M 群の胎児体重が低下した。各群の胚盤胞について蛍光色素 DCF-DA により ROS 含量を測定したところ、10 μ M 群で増加がみられた。抗 Bax 及び抗 Bcl-2 免疫染色した結果、処理群でそれぞれアポトーシス促進因子の Bax の発現が増加し、アポトーシスを阻害する Bcl-2 の発現が減少した。また、10 μ M 群でミトコンドリア染色色素の DiOC6 取込みが抑制された。（文献リスト No.216）

ブタの顆粒膜細胞を 0、20 又は 40 μ M の OTA で 24 時間インキュベーションした結果、それぞれの生存細胞率が 100、87.67 及び 74.16%で処理群の G2/M 期割合が増加した。40 μ M 群でセリン／スレオニンキナーゼの ATR（Ataxia Telangiectasia and Rad3-related）の免疫染色強度、

DNA2 本鎖切断修復の BRCA1 の免疫染色強度及びタンパク質発現レベル並びに RAD51 の免疫染色による陽性細胞率及びタンパク質発現レベルが増加した。また、20 及び 40 μ M 群で DNA2 本鎖切断マーカーの γ -H2AX の免疫染色による陽性細胞率とタンパク質発現レベル、DNA1 本鎖切断修復の XRCC1、DNA 修復タンパク質の PARP1 及び RNA 損傷関連タンパク質の RPA2 及び p53 のタンパク質発現レベルが増加した。一方、DNA 合成酵素活性促進因子の PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) のタンパク質発現レベルが 20 及び 40 μ M 群で低下した。（文献リスト No.622）

・ *in vivo* 試験

ラット（F344、雌雄、一群各 10 匹）に 0、0.16、0.4、1.0 又は 2.5 mg/kg 飼料の OTA を 70 日間（交配前 2 週間、交配 2 週間、交配後 42 日間（妊娠期間・哺乳期間））混餌投与（F₀ 雄：0、0.0089、0.0217、0.0552 又は 0.1418 mg/kg 体重/日相当、F₀ 雌：0、0.0119、0.0339、0.0733 又は 0.167 mg/kg 体重/日相当）した。F₀ 雌では、2.5 mg/kg 飼料群において、卵巣の絶対重量が低下した。その他の F₀ の雌雄における毒性所見は、亜急性毒性の項に示した。

また、妊娠した F₀ の匹数に、OTA 投与による影響はなかった。ただし、2.5 mg/kg 飼料群において、対照群と比較して、母動物 1 匹当たりの胚吸収数（子宮内膜胚吸収部位）が多く、生後 0 日及び生後 4 日の生存 F₁ 数が少なかった。一腹あたりの F₁ の雌雄比は OTA 投与の影響を受けなかった。2.5 mg/kg 飼料群の出生した F₁ が生後 4 日までにすべて死亡しているので、生後 21 日における F₁ の解析は、0、0.16、0.4 又は 1.0 mg/kg 飼料群で行った。1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雄の 4、7、14 及び 21 日齢の平均体重は、対照群に比較して低下していた。4 日齢における肛門性器間距離（AGD）又は AGD/体重立方根値には、OTA 投与の影響はなかった。4 日齢における頭殿長（CRL）は、1.0 mg/kg 飼料群で低下した。F₁ 雌では、1.0 mg/kg 飼料群の平均体重が 4 及び 7 日齢において対照群と比較して低下した。AGD、AGD/体重立方根値及び CRL は OTA 投与により変動しなかった。21 日齢において、1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雄では、肝臓及び腎臓の相対重量及び精巣の絶対重量が対照群と比較して低下した。血漿 BUN は、全ての OTA 投与群の F₁ 雄で上昇した。血漿コレステロールは、1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雄で対照群と比較して上昇した。F₁ 雌では、対照群と比較して、1.0 mg/kg 飼料群では肝臓の相対重量が低下し、血漿コレステロール値が高値を示した。腎臓の相対重量は、0.4 mg/kg 飼料群及び 1.0 mg/kg 飼料群で低値を示した。病理組織学検査では、21 日齢の F₁ 雌雄の腎臓に病変がみられ、尿細管変性の重症度及び発生頻度が、0.16 mg/kg 飼料以上群の F₁ 雄及び 0.4 mg/kg 飼料以上群の F₁ 雌において増加した。生後 21 日に、OTA ばく露により腎臓に見られた最も低いスコア

（Severity Score 1）の病理学的変化として、OSOM（腎髄質外層外帯）及び髓放線に軽度巨核を示す上皮細胞が多数みられた。1.0 mg/kg 飼料群では、OSOM 及び髓放線の近位尿細管 S3 セグメントの上皮に軽度の好塩基性化、配列不整、及び軽度の空胞化がみられた。尿細管腔内には多数のアポトーシス小体が見られた。巨大核形成もみられ、有糸分裂は軽度増加した。皮質では萎縮尿細管が多巣性に認められ、萎縮尿細管の周囲間質では線維芽細胞が軽度増加した。（文献リスト No.048）

ラット（F344、雌雄、一群各 16 匹）に 0、0.026、0.064、0.16、0.4 又は 1.0 mg/kg 飼料の OTA を 138 日間（交配前 2 週間、交配 2 週間、妊娠 21 日間、哺育 21 日間及び離乳後 69 日間）混餌投与（F₀ 雄：0、0.0014、0.0033、0.0084、0.0210 又は 0.0520 mg/kg 体重/日相当、F₀ 雌：0、0.0021、0.0055、0.0135、0.0317 又は 0.0796 mg/kg 体重/日相当、F₁ 雄 90 日齢：0、0.0021、0.0052、0.0130、0.032 又は 0.0837 mg/kg 体重/日相当、F₁ 雌 90 日齢：0、0.0022、0.0056、0.0130、0.0342 又は 0.0870 mg/kg 体重相当）した。

血漿中テストステロンは 1.0 mg/kg 飼料群の F₀ 雄で減少し、0.4 及び 1.0 mg/kg 飼料群の F₀ 雄ラットでは精子の進路速度、進行速度及び軌跡速度が低下したが、OTA 投与による妊娠ラットの匹数又は出産ラットの匹数に影響は無かった。1.0 mg/kg 飼料群の母動物 1 匹あたりの着床数は対照群と比較して多く、着床から生後 4 日までに母動物 1 匹あたりの失われた F₁ の数も多かったが、生後 4 日における児の数は対照群とほぼ同じであった。この他の F₀ の雌雄における毒性所見は、亜急性毒性の項に示した。

0.4 及び 1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雄ラットの性成熟（包皮分離）が遅延した。また、1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雄の生後 41 日から 90 日の体重が低下し、0.4 及び 1.0 mg/kg 飼料群の F₁ 雌雄の腎臓相対重量が減少した。病理組織学的には、0.4 及び 1.0 mg/kg 飼料群の生後 90 日の F₁ 雌雄に腎髄質外層外帯の近位尿細管上皮細胞の核大小不同、巨大核形成及びアポトーシスが増加した。血液生化学においては、F₁ 雌の塩素が 0.064 及び 0.4 mg/kg 飼料以上群で低下し、F₁ 雄のナトリウムと F₁ 雌のコレステロールが 0.4 及び 1.0 mg/kg 飼料群で低下した。生後 90 日の F₁ 雌の 0.16 mg/kg 飼料以上群の多卵性卵胞（Multi-oocyte follicle）数及び総卵胞数に対するその割合が上昇した。（ご提供文献 No.1）

（5-7）遺伝毒性

遺伝毒性試験の結果を表 16 及び表 17 にまとめた。

表 16 オクラトキシンAの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表 16-1 微生物を用いた突然変異試験

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化	年	参考文献
----	----	-------	-------	---	------

			活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA1535、TA100、TA1537、TA98株)	0.1、1、10、100 µg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1978	(参照 214)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA1537、TA1538株)	0.5、5、50、500 µg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1980	(参照 215)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA100、TA1538、TA1537、TA98株)	50、100、200、400、600 µg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1985	(参照 216)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA100、TA98、TA97株)	1、3.3、10、33、100 µg/プレート	ハムスター及びラットの肝臓 S9 mix	—	—	1989	(参照 191)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA102株)	37、111.1、333.3、991.2 µg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1991	(参照 217)

1

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA100、TA1538、TA1537、TA98株)	0.2 µmol /2 mL	OTAをラット初代培養肝細胞とインキュベーションした調製培地、2時間	n.d.	+ (TA1535、TA100、TA1538株) — (TA1537、TA98株)	1991	(参照 218)

復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA1535、TA1538、TA98株)	0、121、403、1210 µg/プレート (0、0.3、1、3 µM/プレート)	・マウス腎臓 S9+アラキドン酸で陽性 (TA1535株)。 ・マウス腎臓 S9+アラキドン酸で用量依存的に陽性 (TA1538、TA98株)。	—	+	1999	(参照130)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA2638株)	10～200 µg/プレート	ラット腎臓ミクロソーム/細胞質+NADPH+GSH、ラット肝臓細胞質、ラット肝臓GSH S-転換酵素粗抽出物、ラット肝臓 S9+NADPH+GSH、ヒトCYP3A4、HRP+過酸化水素	—	—	2001	(参照129)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA98株)	2.5、5、10、25、50 µg/プレート	ヒト肝臓がん由来HepG2細胞 S9 mix	—	—	2002	(参照219)
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA100、TA102、TA1538、TA1537、TA1535、TA97a株)	0.01、0.04、0.05、0.1、0.2、0.25、0.5 µM/プレート	ラット肝臓 S9 mix (市販) 又はラット初代培養肝細胞とOTAをインキュベーションした上清	—	—	2003	(参照221)
復帰突然変異試験	<i>Escherichia coli</i> (WP2、WP2 <i>uvrA</i> 株)	0.1～1000 µg/mL	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1985	(参照216)
突然変異試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (D3株)	非活性化：100 µg/mL 活性化：50 µg/mL プレート	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1978	(参照215)

1 +：陽性、—：陰性、n.d.:データ無し

表 16-2 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
遺伝子変異試験 (H PRT)	C3Hマウス乳腺癌細胞由来 FM3A	5、10 µg/mL		—	n.d.		1977	(参照 222)
マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK+/-	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、12.5 µg/mL	ラット肝臓 S9 mix	—	—	・ 25 µg/mL以上は細胞毒性。	1985	(参照 216)

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
遺伝子変異試験 (pSV .SP ORT lacZ)	マウス胎児線維芽細胞由来 NIH/3T3 (ヒトCYP発現)	2、10、50、100 µg/mL	ヒトCYPを発現させた細胞	—	+	・ CYP1A1、CYP1A2、CYP2C10、CYP3A4 はOTAによる変異を誘導 ・ CYP2D6及びCYP2E1は変異を誘導しなかった。	1996	(参照 223)
遺伝子変異試験 (H PRT)	チャイニーズハムスター V79細胞	0.1、0.25、0.5、1、2.5、5、10、50、100 µM	ラット肝臓 S9 mix	—	—		2003	(参照 221)
遺伝子変異試験 (H PRT)	チャイニーズハムスター V79細胞	35、80、187、483 µM (3時間)	ラット肝臓及び腎臓 S9 mix	(+)	(+)	・ 用量相関性のない弱い反応。	2007	(参照 224)
マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 LY5178/T K+/-	3、81、188、438 µM (3時間)	ラット腎臓 S9 mix	(+)	(+)	・ 188 µM以上 (—S9) 又は3～188 µM (+S9) で弱い反応。		

+：陽性、—：陰性、(+):弱陽性、n.d.:データ無し

表 1 6-3 哺乳類培養細胞を用いた小核試験/染色体異常試験

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
小核試験	ヒツジ精嚢小胞細胞由来OSV細胞	12、18、24、30 μ M		+	n.d.	・ 12 μ Mから用量依存的に陽性。 ・ キネトコア染色によりOTAの作用は主に構造異常。	1997	(参照 225)
小核試験	シリアンハムスター胚初代培養SHE細胞	5、10、15、20 μ M		+	n.d.	・ 5～15 μ Mで用量依存性あり。20 μ Mは細胞毒性あり。 ・ OTAインキュベーション36時間で影響が最も強く認められた。 ・ キネトコア染色によりOTAの作用は構造異常。 ・ 細胞内カルシウムの変化による誘発効果、アクチンフィラメントに作用。	1999	(参照 226)

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
小核試験	ヒト肝臓がん由来HepG2細胞	25 μ g/mL (1時間又は 24時間培養)		+	n.d.	・ 時間依存的な小核を有する細胞数の増加。	2002	(参照 219)
		5、10、25、50 μ g/mL (24 時間培養)		+	n.d.	・ 5～25 μ g/mLで小核を有する細胞数の用量依存的増加。		
染色体異常試験	チャイニーズハムスターCHO細胞	30、50、100、160、300 μ g/mL	ラット肝臓 S9 mix	—	—		1989	(参照 191)
染色体異常試験	ヒトリンパ細胞 (6名健康女性)	0.015 μ M	ラット肝臓 S9 mix	+	+	・ 数的異常及び構造異常。 ・ 数的異常ではX染色体のトリソミーが多い (バルカン風土病腎症) によくみられる。)	1990	(参照 227)
染色体異常試験	ウシリンパ球	0.1、0.5、1、2 μ M		+	n.d.	・ 0.1 μ Mから用量依存的な染色体切断、染色分体切断、フラグメンテーション、ギャップの増加。 ・ 0.1 μ M で2～3 倍、2 μ M で 4～5 倍。	2004	(参照 228)

染色体異常試験	チャイニー ズハムスター V79細胞	24.8、53.2、 114.9、247.6、 532.4、1149.0、 2476.4 μ M	ラット肝臓又は 腎臓 S9 mix	—	—	・ 2476.4 μ Mは細胞毒性。	2008	(参照 229)
	ヒトリンパ 細胞(健常男性1名)		ラット肝臓 S9 mix	—	—	・ 532.4 μ M以上で細胞毒性。		

+： 陽性、－： 陰性、n.d.:データ無し

表 16-4 インディケーター試験

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
Recアッセイ	<i>Bacillus subtilis</i> H17(<i>rec^r</i>)、 M45(<i>rec^r</i>)	20～100 μ g/disc		—	n.d.		1975	(参照 230)
SOS試験	<i>E. coli</i>			—	n.d.		1986	(参照 87)
SOS試験	<i>E. coli</i> PQ37	1、2、4 mM		+	n.d.	・ ビタミンEの水溶性型であるトロロックスC (Trolox C) は、OTAの遺伝毒性を完全に消失させた。	1994	(参照 231)
DNA一本鎖切断試験	BALB/c雄マウス初代培養脾臓細胞	10 μ g/mL		+	n.d.	・ 48時間インキュベーションでDNA一本鎖切断。	1985	(参照 232)
DNA一本鎖切断試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞、	25、50、100、200 μ g/mL		+	n.d.	・ 200 μ g/mLで陽性。	1986	(参照 233)
	ラット線維芽細胞	25、50、100、200 μ g/mL		—	n.d.			
試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参考文献
			活性化に用いた物質	無	有			
コメットアッセイ	ヒト肝臓がん由来 HepG2	2.5、5、10、25 μ g/mL		+	n.d.	・ 用量依存的に増加。	2002	(参照 219)
コメットアッセイ	イヌ腎臓 MDCK細胞	0.0001、0.01、0.1、1、10、100、500 μ M	ラット肝臓 S9 mix	+	+	・ S9 mixはDNA損傷を増強。 ・ 濃度依存的に一本鎖切断を誘導。	2003	(参照 234)

コメット アッセイ	チャイニー ズハムスタ ー肺由来V79 細胞	500、1000、2000 μM（1時間） 0.25、0.5、1、2.5 μM（24時間）		+	n.d.	・ 2.5 μM以上24 時間 で生存率低下、アポト ーシス増加。 ・ 1時間のOTA処理で 500 μM以上で増加傾 向、2000 μMでFpg 存在下で有意にDNA 損傷の増加。 ・ 24時間の0.5 μM以上 のOTA濃度で有意に DNA損傷増加し、 Fpg処理により全ての 用量で増加。	2005	(参照 235)
コメット アッセイ	サバンナモ ンキー腎臓由 来CV-1 細胞	500、1000、2000 μM（1 時間） 0.25、0.5、1、 2.5、5 μM（24 時間）		+	n.d.	・ 生存率の明らかな低 下なし。 ・ 1μM以上でアポト ーシス増加。 ・ 1 時間の OTA 処理で 1000 μMで有意に DNA 損傷の増加、Fpg 及びEndoIII 処理によ り全ての用量で増加。 ・ 24 時間では OTA に よる DNA 損傷の増加 は認められなかった が、Fpg 処理により全 ての用量で増加。	2005	(参照 235)
コメット アッセイ	雄ラット初 代培養腎細 胞	25、50、100 μM		+	n.d.	・ OTA による DNA 損 傷の増加は認められな かった。 ・ Fpg 及び EndoIII 存 在下では DNA 損傷増 加。	2005	(参照 235)
コメット アッセイ	ヒト CYP2C9 又 は CYP3A4 を発現させ た NIH/3T3 細胞	10、25、50、100、 150、200 μM (8h)	ヒトCYP2C9又 はCYP3A4	-	+	・ 非発現細胞ではOTA の影響ほとんどなし。 ・ CYP2C9発現により 200 μMで陽性。	2006	(参照 236)
コメット アッセイ	ヒト初代培 養尿路上皮 細胞	100 μM（3h）		±	n.d.	・ 個人差あり。	2006	(参照 237)

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参照文 献
			活性化に用 いた物質	無	有			
コメット アッセイ	ヒト腎臓由 来HK-2細胞	50 μM（6及び24 時間）		+	n.d.	・ 6時間では陰性。 ・ 24時間で陽性で、細 胞毒性の影響あり。 ・ Fpg及びEndoIII処理 の結果は陽性。DNAの 酸化的ダメージを示 唆。	2007	(参照 238)

コメント アッセイ	ヒト腎臓由来HK-2細胞	50、100、200、 400、600 μ M（6 時間）	ラット肝臓 S9 mix	—	±	・ 3時間ではS9の有無にかかわらず陰性。 ・ EndoIII及びFpgにより酸化DNA損傷、 S9存在下のFpgでは有意に増加。	2007	(参照 239)
DNA損傷 試験	チャイニーズ ハムスター CHO細胞	0.2、0.8、1 mM、 （3 時間）		+	n.d.	・ 用量依存的に増加。	2009	(参照 240)
不定期 DNA合成 試験	ACIラット初 代培養肝細胞	1、10 μ M（20時 間）		+	n.d.	・ 10 μ Mで細胞毒性。	1984	(参照 241)
	C3H マウス 初代培養肝 細胞	10、100 μ M （20時間）		+	n.d.	・ 100 μ Mで細胞毒性。	1984	
不定期 DNA合成 試験	F344雄ラッ ト初代培養 肝細胞	0.0000025、 0.000005、 0.00025、 0.0005、0.0025、 0.005、0.025、 0.05 μ g/mL		—	n.d.	・ 0.025 μ g/mL以上 で細胞毒性。	1985	(参照 216)
不定期 DNA合成 試験	F344ラット 肝細胞	0.01、0.1、0.5、 0.75、1 μ M		+	n.d.	・ 1 μ M以上は細胞毒 性。 ・ 0.75~1 μ Mで弱い陽 性。	1997	(参照 242)
	ブタ膀胱上 皮細胞	0.25、0.5、0.75、 1、1.5、3、5 μ M		+	n.d.	・ 0.5~1 μ Mで用量依 存的に増加 ・ 1 μ M以上は細胞毒 性。		
不定期 DNA合成 試験	ヒト尿路上 皮細胞	0.05、0.1、0.25、 0.5、0.75、1、 1.5、2 μ M（24 時間）		+	n.d.		1998	(参照 243)
不定期 DNA合成 試験	ヒト初代培 養尿路上皮 細胞(胎児か ら66歳まで4 例)	0.01、0.025、 0.05、0.1、0.25、 0.5、0.75、1、 1.5、2 μ M（24 時 間）		+	n.d.	・ 0.5 μ M以上では全 ての細胞で細胞毒性 ・ 0.05 μ MでDNAの修 復率は最大 ・ 成人由来培養細胞で 0.05~0.5 μ MのOTA 濃度範囲において陽 性。	2000	(参照 244)
姉妹染色 分体交換 試験	ヒト末梢血 リンパ細胞	5~10 μ g/mL		—	n.d.	・ 10 μ g/mLで有糸分 裂阻害。	1984	(参照 245)
姉妹染色 分体交換 試験	チャイニーズ ハムスター CHO細胞	5、16、50、160、 500 μ g/mL（2 時間）	ラット肝臓 S9 mix	—	+	・ S9存在下で弱い陽 性、用量依存性 ・ 500 μ g/mLは細胞毒 性。	1989	(参照 191)

試験	対象	OTA濃度	代謝活性化			備考	年	参照文 献
			活性化に用 いた物質	無	有			

姉妹染色 分体交換 試験	ヒトリンパ 細胞	0.001、0.01、0.1、 1、10 μM	OTAをラット 初代培養肝細胞とインキュ ベーションし た調製培地	+	+	・ OTA 0.01~0.1 μM で陽性 ・ 10 μM で細胞毒性。	1991	(参照 218)
姉妹染色 分体交換 試験	ウシリンパ 球	0.1~2 μM		+	n.d.	・ 細胞生存率の減少、 アポトーシスの増加	2004	(参照 228)
姉妹染色 分体交換 試験	チャイニー ズハムスタ ーV79細胞	24.8、53.2、 114.9、247.6、 532.4、1149.0、 2476.4 μM	ラット肝臓及 び腎臓 S9 mix	—	—	・ 2476.4 μM は細胞毒 性。	2008	(参照 229)
	ヒトリンパ 細胞		ラット肝臓及 び腎臓 S9 mix	—	—	・ 532.4 μM は細胞毒 性。		

+： 陽性、—：陰性、n.d.：データなし

1 表 17 オクラトキシン A の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	対象	OTA用量、投与方法、期間	結果	備考	年	参考文献
染色体異常試験	Swissマウス、骨髄細胞、精母細胞	1 µg/kg 体重/日、経口、14日間	+	・ 有糸分裂及び減数分裂における染色体異常。 ・ ビタミンA投与（132 IU/kg 体重/日）はOTAの影響を有意に抑えた。	1994	(参照 246)
染色体異常試験	Swissマウス、骨髄細胞、精母細胞	1 µg/kg 体重/日、経口、45日間	+	・ 有糸分裂及び減数分裂における染色体異常。 ・ ビタミンC投与（10 mg/kg 体重/日）はOTAの影響を有意に抑えた。	1994	(参照 247)
染色体異常試験	F344ラット、雄	0、250、500、1000、2000 µg/kg 体重、5回/週、強制経口、2週間	—	・ 脾臓細胞において染色分体と染色体欠失の染色体異常の僅かな増加、統計的な有意差なし。	2005	(参照 248)
染色体異常試験	BALB/c雄マウス	0.6、1.2、2.4 mg/kg 体重、腹腔内、24時間後にと殺	+	・ 骨髄細胞において用量依存的に染色体構造異常。	2008	(参照 249)
姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスター、雄	0、25、50、100、200、400 mg/kg体重、経口	—	・ 100 mg/kg 体重以上で細胞毒性。	1985	(参照 216)
DNA 損傷試験（アルカリ溶出法）	BALB/cマウス、脾臓細胞	2.5 mg/kg 体重、単回、腹腔内	+	・ 24時間後に脾臓、腎臓、肝臓で DNA 損傷が認められた。 ・ 48時間後には腎臓では回復したが肝臓ではより強い影響が認められた。	1985	(参照 232)
DNA 損傷試験（アルカリ溶出法）	Wistarラット、雄	0.29 mg/kg 体重、強制経口、48 時間毎に12週	+	・ 腎臓と肝臓で一本鎖切断。	1986	(参照 250)

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

試験	対象	OTA用量、投与方法、期間	結果	備考	年	参考文献
コメット アッセイ	F344ラ ット、雄	0、250、500、 1000、2000 μg/kg 体重、強 制経口、1週間に 5回、2週間	+	・肝臓及び脾臓で500 μg/kg 体重以上で用量依存的なDNA損傷。 ・腎臓では250 μg/kg 体重以上でDNA損傷、用量依存性なし。 ・Fpg処理により腎臓におけるDNA損傷が増加したが、脾臓及び骨髓細胞ではFpgの影響は認められなかった。 ・骨髓では500 μg/kg 体重以上でDNA損傷が増加し、末梢血では陰性。	2005	(参照 248)
コメット アッセイ	F344ラ ット、 雄	0、0.03、0.1、 0.3 mg/kg 体重/ 日、経口、4週間	+	・Fpg処理により全ての投与群で腎臓及び肝臓にDNA損傷がみられた。 ・タンパク質の酸化は認められなかった。	2005	(参照 251)
コメット アッセイ	Wistar ラット、 雌	0.5 mg/kg 体 重/日、腹腔 内、7、14、21 日間	+	・腎臓、7日間投与以後投与回数に依存して陽性。	2006	(参照 252)
トランスジ ェニックげ っ歯類遺伝 子変異試験	F344 <i>gpt</i> <i>delta</i> ラ ット、雌 雄	0、0.36~0.38 mg/kg 体重/ 日、混餌、4週 間・13週間	+	・腎臓における<i>gpt</i>アッセイは陰性。 ・腎臓髓質外層外帯でSpi変異体頻度の有意な増加。	2011	(参照 253)

+：陽性、－：陰性

① 遺伝子突然変異

・ *in vitro* 試験（表 16－1、16－2）

細菌を用いたほとんどの復帰突然変異試験（Ames 試験）では、代謝活性化の有無にかかわらず OTA ばく露の影響は認められなかった。

サルモネラ菌 *S. typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA100、TA98 又は TA97 株を用いた細菌の復帰突然変異試験（0.1~500 μg OTA/プレート）の結果は、ラット又はハムスター肝臓 S9 又は HepG2 細胞（ヒト肝臓がん由来培養細胞）由来 S9 による代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった(参照 191, 214, 215, 219)。Wistar ラット初代培養肝細胞を 100 μM の OTA と 24 時間培養した後の培養液（0.2 μmol OTA /2 mL）を用いた細菌の復帰突然変異試験で、*S. typhimurium* TA1535、TA1538 及び TA100 株において陽性の結果が得られた(参照 218)が、同じ条件を用いて 実施された別の試験では、*S. typhimurium* TA100、TA1535、TA97a、TA102、TA1537 及び TA1538 株において陰性であった(参照 221)。また、NADP の代わりにアラキドン酸を添加したマウス腎臓ミクロソーム存在下で実施された試験では、*S. typhimurium* TA98（403~1210 μg OTA/プレート）、TA1535 及び TA1538 株（121~1210 μg OTA/プレート）では陽性であった。OTA を添加していない条件下では、マ

ウス腎臓ミクロソーム及びアラキドン酸の有無にかかわらず陰性であった。著者は、腎臓ミクロソームによるアラキドン酸依存的な OTA の酸化代謝物が突然変異を誘導する可能性があると考えた(参照 130)。酸化ストレスに対し感受性がある *S. typhimurium* TA102 及び TA2638 株を用いた OTA の復帰突然変異試験において、ラットの肝臓若しくは腎臓のミクロソーム若しくはホモジネート、Aroclor 1254 若しくはデキサメゾンで CYP を誘導したラット肝臓 S9 又はヒト CYP3A4 を用いた代謝活性化の有無にかかわらず、結果は陰性であった(参照 129, 217)。

大腸菌 *E. coli* WP2 及び WP2uvrA 株並びに酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D3 株を用いた OTA の遺伝子突然変異試験の結果、S9 による代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。(参照 215, 216)

哺乳類培養細胞を用いた OTA の遺伝子突然変異試験では、L5178Y 細胞（マウス胸腺リンパ腫由来細胞株）を用いたマウスリンフォーマ TK 試験及び V79 細胞（チャイニーズハムスター肺由来細胞株）を用いたヒポキサンチン-グアニン-ホスホリボシルトランスフェラーゼ（HPRT）突然変異試験においては、Aroclor 1254 で誘導したラット肝臓 S9 による代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった(参照 216, 221)。FM3A 細胞（C3H マウス乳腺癌由来細胞株）を用いた HPRT 突然変異試験においては陰性であった(参照 222)。一方、ヒト CYP（CYP1A1、CYP1A2、CYP2C10、CYP2D6、CYP2E1 又は CYP3A4）を導入した NIH/3T3 細胞（マウス胎児線維芽由来細胞株）における pSV.SPORTlacZ 変異では陽性の結果が認められた(参照 223)。また、L5178Y 細胞を用いたマウスリンフォーマ TK 試験及び V79 細胞を用いた HPRT 突然変異試験で弱い陽性が認められたとする結果が報告されているが、当該結果について著者は、これらの細胞で自然発生する酸化的 DNA 損傷を OTA が増強している結果であると考察している(参照 224)。

・ *in vivo* 試験（表 17）

ラット（F344-Tg(*gpt* delta)、雌雄、一群各 5 匹）に 0 又は 5 mg/kg 飼料(雄：0.36 mg/kg 体重/日、雌：0.38 mg/kg 体重/日) の OTA を 13 週間混餌投与し、腎臓を試料として、主に塩基置換変異などの点突然変異を検出する突然変異試験¹⁹（*gpt* アッセイ）及び主に欠失変異を検出する突然変異試験（Spi アッセイ）を実施した。その結果、点突然変異体頻度の有意な増加は認められず、腎

¹⁹ *gpt*トランスジェニックげっ歯類（生体内における遺伝子突然変異誘発性を調べる目的で、*gpt*遺伝子及びred/gam（Spi-）を持つラムダファージが体細胞染色体上に挿入されているラット又はマウス）を用いる遺伝子突然変異試験では、*gpt*アッセイ（点突然変異を検出）及びSpi-アッセイ（欠失変異を検出）の2種類の検出系が適用できる。これらの試験では、*gpt*遺伝子をレポーターとして、部位特異的な点突然変異（塩基置換変異とフレームシフト）の検出が、Spi-セレクションでは約10 kb以下の欠失変異の検出が可能である。

臓から抽出した DNA 中の 8-OHdG は、OTA 非投与の対照群と OTA 投与群で有意な差がなかった。一方、投与 4 週目に発がん部位である髄質外層外帯特異的に、OTA 非投与の対照群と比べて Spi-変異体頻度の有意な増加がみられ、DNA の欠失が誘発されていることが示された。著者らは、ラットにおける OTA の発がん作用には DNA 損傷が関与していると考えた。（参照 253）

② 染色体異常試験及び小核試験

・ *in vitro* 試験（表 16-3）

ヒトリンパ細胞（健常者、女、6 名）を用いた染色体異常試験において、染色体数の異常及び染色体の構造異常が観察された（参照 227）。また、ウシ（系統不明、性別不明、5 頭）リンパ細胞を用いた染色体異常試験において OTA は陽性であった（参照 228）。V79 細胞及びヒトリンパ細胞（健常者、男、1 名）を用いた染色体異常試験では陰性であった。いずれの染色体異常試験においてもラット肝臓及び腎臓 S9 による代謝活性化の影響は認められなかった（参照 229）。小核試験では、OSV 細胞（ヒツジ精嚢小胞細胞由来細胞株）、SHE 細胞（シリアンハムスター胚初代培養細胞）及び HepG2 細胞（ヒト肝細胞癌由来細胞株）を用いた試験で陽性であった。SHE 細胞において OTA の作用を調べた結果、細胞内カルシウム濃度上昇と共に細胞の収縮とアクチンの重合阻害が認められた。（参照 219, 225, 226, 246, 247）

姉妹染色分体交換試験において、肝臓又は腎臓由来の S9 mix により活性化された CHO 細胞（チャイニーズハムスター卵巢由来細胞株）及びヒトリンパ細胞並びにウシリンパ細胞において OTA は陽性の結果であった（参照 191, 218, 228）。一方、CHO 細胞及び V79 細胞を用いた別の姉妹染色分体交換試験ではラット肝臓由来 S9 mix の有無にかかわらず結果は陰性であった（参照 216, 229）。ヒトのリンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験の結果も陰性であった。（参照 245）

・ *in vivo* 試験（表 17）

チャイニーズハムスター（近親交配、雄、一群 3 匹）に 0、25、50、100、200 又は 400 mg/kg 体重の OTA を強制経口投与した姉妹染色分体交換試験の結果は陰性であった。（参照 216）

マウス（Swiss、性別不明、匹数不明）に 1 µg/kg 体重/日の OTA を 14 日間又は 45 日間経口投与した骨髓細胞及び精母細胞を用いた染色体異常試験の結果、OTA は染色体異常を誘発した。マウスに OTA と同時に抗酸化剤であるアスコルビン酸又はビタミン A を経口投与するとこれらの OTA の影響は、軽減された。（参照 246, 247）

マウス（BALB/c、雄、匹数不明）に 0.6、1.2 又は 2.4 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与し、24 時間後にと殺して分離した骨髓細胞の染色体に、用量依存

的に癒合、切断、リング形成及び欠失といった異常が認められた。(参照 249)

③ DNA損傷及び修復

・ *in vitro* 試験（表 16-4）

細菌を用いた Rec アッセイ及び SOS 試験において、DNA 損傷の結果として生じる DNA 修復を示す証拠は得られなかったとする報告及び得られたとする報告がある。後者の報告において認められた OTA の遺伝毒性は、水溶性ビタミン E により防止された。BALB/c マウス初代培養脾細胞及び CHO 細胞を用いた哺乳類培養細胞の *in vitro* 試験の結果、DNA 一本鎖切断が認められている。(参照 87, 230, 231, 232, 233, 254)

in vitro 不定期 DNA 合成試験により、損傷した DNA の修復がラット及びマウスの初代培養肝細胞、ブタ膀胱上皮細胞並びにヒト尿路上皮細胞に認められた。(参照 216, 241, 242, 243, 244)

マウス線維芽細胞、CHO 細胞、MDCK 細胞及び HepG2 細胞を用いる *in vitro* コメットアッセイでは陽性の結果が得られた(参照 219, 234, 236, 240)。ホルムアミドピリミジン DNA グリコシラーゼ (Fpg) 又はエンドヌクレアーゼ III (EndoIII) による処理を組み込んだコメットアッセイ²⁰により、V79 細胞、CV-1 細胞（サバンナモンキー腎臓由来細胞株）、HK-2 細胞（ヒト腎臓由来細胞株）において OTA ばく露による DNA の損傷が有意に増加した。また、V79 細胞と HK-2 細胞については、OTA ばく露によって細胞内活性酸素種 (ROS) が増加することも認められた。これらの結果は、OTA が DNA 塩基の酸化修飾を誘発していることを示唆するものと考えられた(参照 235, 238, 239)。

NIH/3T3 細胞において、コメットアッセイにより示された OTA 依存的な DNA 損傷の増加と ROS の増加との間には相関が認められた(参照 236)。また、HK-2 細胞を ROS のスカベンジャーである抗酸化剤の N-アセチル-L- システインで処理すると DNA 損傷が低減した(参照 235)。

ヒト初代培養尿路上皮細胞を 100 μ M の OTA と共に 3 時間培養するコメットアッセイの結果、22 サンプルで陰性、28 サンプルで陽性であり、OTA がヒト DNA に及ぼす影響には個体差が認められた。(参照 237)

・ *in vivo* 試験（表 17）

マウス (BALB/c、雄、匹数不明) に 2.5 μ g/kg 体重の OTA を腹腔内投与した試験では、脾臓、肝臓及び腎臓の細胞を用いたアルカリ溶出法による DNA 損傷解析の結果、投与 24 時間後に DNA 一本鎖切断が認められた。腎臓では 48 時間後、肝臓では 72 時間後に DNA 一本鎖切断は修復された。(参照 232)

²⁰ Fpg 又は EndoIII は、それぞれ DNA の酸化されたプリン塩基又は酸化されたピリミジン塩基を認識して除去し、abasic site ができる。それがコメットアッセイにより DNA 損傷として観察される。

ラット（Wistar、雄、匹数不明）に 0.29 µg/kg 体重の OTA が 48 時間毎に 12 週間経口投与された。最終投与直後に摘出された肝臓及び腎臓には DNA 一本鎖切断が認められた。（参照 250）

ラット（F344、雄、一群 3 匹）に、0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA を 1 週間に 5 日、2 週間強制経口投与し、最終投与 72 時間後にと殺した。コメットアッセイにより、肝臓、脾臓及び骨髓細胞では 0.5 mg/kg 体重/日以上並びに腎臓では 0.25 mg/kg 体重/日以上での投与群において用量依存的な DNA 損傷の増加が認められた。コメットアッセイにおいて、Fpg 処理により、腎臓及び肝臓の細胞の DNA 損傷の増加が認められた。（参照 248）

ラット（F344、雄、一群 5 匹）に 0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg 体重/日の OTA が 4 週間経口投与され、最終投与 24 時間後にと殺された。肝臓及び腎臓の細胞を用いてコメットアッセイを実施した結果、Fpg による処理を組み込んだ場合に全ての OTA 用量で DNA 損傷の促進が認められた（参照 251）。ラット（Wistar、雌、一群 5 匹）に 0.5 mg/kg 体重/日の OTA が 7、14 又は 21 日間腹腔内投与され、最終投与 24 時間後にと殺し、腎臓を試料としてコメットアッセイした結果、全ての群で陽性であった（参照 252）。

（８）遺伝毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見（案）

遺伝毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の結果を表●に示した。

表● 哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

試験	対象	濃度、処理時間等	結果		備考	年	参考文献
			代謝活性化無	代謝活性化有			
マウスリンフォーマ TK 試験	L5178Y <i>tk</i> ^{+/+} マウスリンパ腫細胞	0、5、10、25、50、100 µM 4時間	+	+		2014	文献リスト No.015

+：陽性、－：陰性

表● 哺乳類培養細胞を用いた小核試験/染色体異常試験

試験	対象	濃度、処理時間等	結果		備考	年	参考文献
			代謝活性化無	代謝活性化有			
小核試験	CHO-K1-BH4 チャイニーズハムスター卵巣細胞	0、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、22.5、25µM 24時間	+	n.d.	・ MicroFlow kit 利用 ・ 15 µM で陽性（より高濃度は高細胞毒性）	2011	専門参考人提供文献 No.2
小核試験	TK6 ヒトリンパ芽球細胞	0、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、	+	n.d.	・ MicroFlow kit 利用 ・ 15 µM のみ	2011	専門参考人提供文献 No.2

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

	胞	22.5、25 μ M 27時間 0、10、15、20 μ M 2、4、8、10、12、27時間	+	n.d.	で陽性（より高濃度は高細胞毒性） ・15、20 μ Mは、いずれかの処理時間で陽性		
小核試験	SHSY5Y ヒト神経芽腫細胞	0、10、15、30 μ M 24時間	—	n.d.	・MicroFlow kit利用 ・MTTによる濃度設定	2020	文献リスト No.029
小核試験	HT22 マウス海馬神経細胞	0、10、15、30 μ M 24時間	+	n.d.	・MicroFlow kit利用 ・MTTによる濃度設定	2020	文献リスト No.029
小核試験	ヒト末梢血リンパ球	0、0.075、0.15、1.5、5.0 μ M 48時間	+	n.d.		2014	文献リスト No.181
小核試験	HepG2 ヒト肝細胞	0、3.12、6.25、12.5、25 μ M 48時間	+	n.d.	・陽性対照なし ・MTTによる濃度設定	2019	文献リスト No.240
染色体異常試験	Het-1A ヒト食道上皮細胞	0、2.5、5、10、20 μ M 24時間	+	n.d.	陽性対照なし ・ギャップ及び倍数体もまとめて評価 ・観察は100細胞/濃度	2015	文献リスト No.307
染色体異常試験	GES-1 ヒト胃粘膜上皮細胞	0、10 μ M 6、12、24、48時間	+	n.d.	・単一濃度 ・陽性対照なし ・ギャップ及び倍数体もまとめて評価 ・観察は100細胞/濃度 ・6時間以降経時的に有意な増加	2024	文献リスト No.233

1 +: 陽性、—: 陰性、n.d.:データ無し

2

3

表● インディケーター試験

試験	対象	濃度、処理時間等	結果		備考	年	参考文献
			代謝活性化無	代謝活性化有			
SOS/umu試験	<i>S. typhimurium</i> (TA 1535/pSK1002株)	0、1、2、4、8、16、31、63 μ g/mL 4時間 ラット肝臓S9	—	—		2022	文献リスト No.019

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

		及び腎臓S9					
コメット アッセイ	L5178Y <i>tk</i> ⁺ マウスリンパ腫細胞	0、5、10、25、50、100 μ M 4時間	＋（標準法、FPG法）	＋		2014	文献リスト No.015
コメット アッセイ	HT22 マウス海馬神経細胞	0、10、15、30 μ M 24時間 FPG法：10 μ M、30分～72時間	－（標準法） ＋（FPG法）	n.d.		2020	文献リスト No.029
コメット アッセイ	SHSY5Y ヒト神経芽腫細胞	0、10、15、30 μ M 24時間 FPG法：10 μ M、30分～72時間	－（標準法） ＋（FPG法）	n.d.		2020	文献リスト No.029
コメット アッセイ	CHO-K1-BH4 チャイニーズハムスター卵巢細胞	0、5、10、20、30、40、50 μ M 4時間	－（標準法） ＋（FPG法）	n.d.		2011	ご提供文献 No.2
コメット アッセイ	TK6 ヒトリンパ芽球細胞	0、5、10、20、30、40、50 μ M 4時間	＋（標準法、FPG法）	n.d.		2011	専門参考人 提供文献 No.2
コメット アッセイ	ヒト末梢血リンパ球	0、0.075、0.15、1.5、5.0、15 μ M 3時間	＋	n.d.	・用量依存性なし	2014	文献リスト No.181
コメット アッセイ	Het-1A ヒト食道上皮細胞	0、2.5、5、10、20 μ M	＋	n.d.		2015	文献リスト No.307
コメット アッセイ	GES-1 ヒト胃粘膜上皮細胞	0、10 μ M 6、12、24、48時間	＋	n.d.	・単一用量 ・陽性対照なし ・6時間以降経時的増加	2024	文献リスト No.233

1 +：陽性、－：陰性、n.d.:データ無し

2

3

表● オクラトキシン A の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	種、性	投与量、投与方法/期間、採取時期	結果	備考	年	参考文献
小核試験	Balb/cマウス、雄	0、0.85 mg/kg 体重、単回腹腔内投与 24時間後 骨髄	＋	・単一用量	2015	文献リスト No.060

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

小核試験	F344ラット、雄	0、0.5 mg/kg 体重、単回経口投与 3、24時間後 骨髄	－	・ 単一用量	2015	文献リスト No.079
コメットアッセイ	Balb/cマウス、雄	0、0.85 mg/kg 体重、単回腹腔内投与 24時間後 リンパ球	＋	・ 単一用量	2015	文献リスト No.060
コメットアッセイ	<i>p53</i> (<i>gpt</i> delta transgenic [<i>p53</i> ^{+/+}], [<i>p53</i> ^{-/-}])マウス、雄	0、5 mg/kg 体重/日、3日間経口投与 3時間後 腎臓	＋([<i>p53</i> ^{+/+}]) ＋([<i>p53</i> ^{-/-}])	・ 単一用量	2015	文献リスト No.266
コメットアッセイ	F344ラット、雄	0、0.5 mg/kg 体重、単回経口投与 3、24時間後 肝臓、腎臓	－（標準法：肝臓及び腎臓、 FPG法：肝臓） ＋（FPG法：腎臓）	・ 単一用量	2015	文献リスト No. 079
コメットアッセイ	F344/NS1c-Tg (<i>gpt</i> delta) ラット、雄	0、0.070、0.210、0.630 mg/kg 体重/日、4週間経口投与、3時間後 腎臓髄質外層	＋	・ 0.210 mg/kg 体重/日群で γ -H2AXタンパク増加	2014	文献リスト No.265
コメットアッセイ	SDラット、雄	0、0.5mg/kg体重/日、14日間経口投与、24時間後 肝臓、腎臓、リンパ球	＋（肝臓及び腎臓） －（リンパ球）	・ 単一用量（当該用量選択理由不明だが体重減少を観察）	2013	文献リスト No.028
トランスジェニックげっ歯類遺伝子変異試験	<i>p53</i> (<i>gpt</i> delta transgenic [<i>p53</i> ^{+/+}], [<i>p53</i> ^{-/-}])マウス、雄	0、5 mg/kg 体重/日、4週間（5日/週）経口投与、72時間後 腎臓	<u>Spi</u> -アッセイ －([<i>p53</i> ^{+/+}]) ＋([<i>p53</i> ^{-/-}])	・ <i>p53</i> ^{-/-} マウスのみSpi-突然変異頻度増加 ・ <i>p53</i> ^{-/-} で <i>p53</i> ^{+/+} マウスよりも γ -H2AX陽性細胞増加 ・ 単一用量	2015	文献リスト No.266
トランスジェニックげっ歯類遺伝子変異試験	<i>p53</i> (<i>gpt</i> delta transgenic [<i>p53</i> ^{+/+}], [<i>p53</i> ^{-/-}])マウス、雄	0、1、5 mg/kg 体重/日、4週間経口投与 腎臓	<u><i>gpt</i></u> アッセイ －([<i>p53</i> ^{+/+}]) －([<i>p53</i> ^{-/-}]) <u>Spi</u> -アッセイ －([<i>p53</i> ^{+/+}]) ＋([<i>p53</i> ^{-/-}])	・ OTA特異的 <i>gpt</i> 変異スペクトル確認できず ・ [<i>p53</i> ^{-/-}]5mg/kg体重/日群のみでSpi-突然変異頻度増加	2013	参照304

第66回かび毒・自然毒等専門調査会
OTA評価書（案）

トランスジェニックげっ歯類遺伝子変異試験	F344/NSIc-Tg (<i>gpt</i> delta) ラット、雄	0、0.210 mg/kg 体重/日相当、4 週間経口投与 腎臓髄質外層	Spi-アッセイ +	・単一用量	2014	文献リスト No.265
----------------------	--	--------------------------------------	---------------	-------	------	-----------------

+：陽性、－：陰性

・ *in vitro* 試験

L5178Y tk^{+} 細胞（マウスリンパ腫細胞株）に 0、5、10、25、50 又は 100 μ M の OTA で 4 時間処理したマウスリンフォーマ試験では、ラット肝 S9 の有無に拘わらず 25 μ M 以上で陽性を示した。また、コメットアッセイでは、標準法及び FPG 法ともに S9 の有無に拘わらず 5 μ M 以上から用量依存的に DNA 損傷が増加した。（文献リスト No.015）

HepG2 細胞（ヒト肝細胞癌由来株）に 0、3.12、6.25、12.5 又は 25 μ M の OTA で 48 時間処理した小核試験では、25 μ M で陽性を示した。（文献リスト No.240）

HT22 細胞（マウス海馬神経細胞由来株）及び SHSY5Y 細胞（ヒト神経芽細胞腫由来株）を 0、10、15 又は 30 μ M の OTA で 24 時間処理した小核試験では、HT22 細胞は 15 及び 30 μ M で陽性を示したが、SHSY5Y 細胞は陰性であった。また、コメットアッセイにおいて、両細胞を同様に処理した標準法では、両細胞共に陰性であったが、両細胞を 10 μ M の OTA で 30 分～72 時間処理した FPG 法では、両細胞共に酸化的 DNA 損傷を示した。（文献リスト No.029）

ヒト末梢血リンパ球を 0、0.075、0.15、1.5 又は 5.0 μ M の OTA で 48 時間処理した小核試験では、1.5 及び 5 μ M で陽性を示した。また、0、0.075、0.15、1.5、5.0 又は 15 μ M の OTA で 3 時間処理したコメットアッセイでは、0.075 μ M から有意な DNA 損傷の増加が認められたが、用量依存性は認められず、15 μ M では有意ではなかった。（文献リスト No.181）

CHO-K1-BH4 細胞（チャイニーズハムスター卵巢由来株）及び TK6 細胞（ヒトリンパ芽球由来株）を 0、5、10、20、30、40 又は 50 μ M の OTA で 4 時間処理したコメットアッセイでは、CHO-K1-BH4 細胞において標準法では陰性であったが、FPG 法による酸化的 DNA 損傷が 20、40 及び 50 μ M で有意に増加した。また、TK6 細胞において通常の DNA 損傷及び酸化的 DNA 損傷はそれぞれ 20 μ M 以上及び 30 μ M 以上で有意に増加した。また、0、5、7.5、10、12.5、15、17.5、20、22.5 又は 25 μ M の OTA で CHO-K1-BH4 細胞を 24 時間及び TK6 細胞を 27 時間処理した小核試験では、両細胞共に 15 μ M で陽性を示したが、より高濃度では細胞毒性が試験推奨限界値を超えていた。さらに、両細胞共に異数性を示す低 2 倍体細胞の陽性反応が 12.5 μ M でみられた。追加検討として、0、10、15 又は 20 μ M の OTA で TK6 細胞を 2、4、8、10、12、27 時間処理した小核試験では、15 及び 20 μ M ではいずれかの処理時間で陽性

であった。（ご提供文献 No.2）

Het-1A 細胞（ヒト食道上皮細胞由来株）を 0、2.5、5、10 又は 20 μM の OTA で 24 時間処理した染色体異常試験では、2.5 μM から異常頻度の有意な増加が観察された。また、同様に処理したコメットアッセイでは、2.5 μM から DNA 損傷が用量依存的に有意に増加した。（文献リスト No.307）

GES-1 細胞（ヒト胃粘膜上皮細胞由来株）を 0 又は 10 μM の OTA で 6、12、24 又は 48 時間処理した染色体異常試験では、6 時間以降経時的に染色体異常頻度の有意な増加がみられた。同様の処理をしたコメットアッセイでも 6 時間以降経時的に DNA 損傷の有意な増加がみられた。（文献リスト No.233）

Salmonella typhimurium TA1535/pSK1002 を 0、1、2、4、8、16、31 又は 63 $\mu\text{g/mL}$ の OTA で 4 時間処理した SOS/umu 試験では、ラットの肝臓又は腎臓の S9 の有無に拘わらず OTA は陰性であった。（文献リスト No.019）

・ *in vivo* 試験

ラット（F344、雄、一群 5 匹）0 又は 0.5 mg/kg 体重の OTA を単回経口投与した 3 及び 24 時間後の骨髄を用いた小核試験では、小核の誘発は認められなかった。また、同様の処理をした 3 及び 24 時間後の肝臓及び腎臓を用いたコメットアッセイでは、いずれも DNA 損傷の増加を示さなかったが、FPG 法では酸化了的 DNA 損傷の増加が 3 及び 24 時間後の腎臓で検出された。（文献リスト No.079）

ラット（SD、雄、一群 6 匹）に 0 又は 0.5 mg/kg 体重/日の OTA を 14 日間経口投与して最終投与 24 時間後の静脈血リンパ球、腎臓及び肝臓を用いたコメットアッセイの結果、腎臓及び肝臓では DNA 損傷が増加したが、静脈血のリンパ球では、投与による影響が無かった。（文献リスト No.028）

ラット（F344/NSlc-Tg (*gpt delta*)、雄、一群 10 匹）に *A. ochraceus* (BD-5) 培養後純度 95%以上に精製した OTA を 0、0.070、0.210 又は 0.630 mg/kg 体重/日で 4 週間経口投与した。最終投与 3 時間後に各群 5 匹の腎臓髓質外層を採取してコメットアッセイを行った結果、いずれの投与群でも有意な DNA 損傷の増加が認められた。さらに、各群 4 匹の腎臓髓質外層についてのウェスタンブロット解析により、 γ -H2AX タンパクの発現増加が 0.210 mg/kg 体重/日以上群で認められた。また、同系統のラット（一群 10 匹）に精製した OTA を 0 又は 5 mg/kg 飼料（0.210 mg/kg 体重/日相当）で 4 週間混餌投与した。腎臓髓質外層を試料として突然変異試験（Spi-アッセイ）を実施した結果、投与群において Spi-変異頻度の有意な増加が認められた。（文献リスト No. 265）

マウス（p53 発現 *gpt delta* transgenic [*p53*^{+/+}]及び p53 欠損 *gpt delta* transgenic [*p53*^{-/-}]、雄、一群 5 匹）に 0 又は 5 mg/kg 体重/日の OTA を 3 日間経口投与した。最終投与 3 時間後に腎臓を採取してコメットアッセイを行った

結果、p53 の発現状況にかかわらず DNA 損傷の増加がみられた。また、マウス (p53^{+/+}及び p53^{-/-}、雄、一群 5 匹あるいは 10 匹) に 0 又は 5 mg/kg 体重/日の OTA を 4 週間 (5 日/週) 経口投与し、最終投与の 72 時間後に腎臓を摘出した。免疫組織化学染色を施したところ、p53 の発現状況にかかわらず γ -H2AX 陽性細胞の割合が増加したが、その程度は p53 欠損マウスが強かった。さらに、突然変異試験 (Spi-アッセイ) を実施した結果、p53 欠損マウスでのみ Spi-突然変異頻度が増加した。(文献リスト No. 266)

マウス (Balb/c、雄、一群 4 匹) に 0 又は 0.85 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与し、24 時間後に採取した血液を用いたコメットアッセイ及び骨髓を用いた小核試験を行った。その結果、陰性対照群と比較して、投与群のリンパ球の DNA 損傷及び骨髓中の MNPCE (小核を有する多染性赤血球) が増加した。(文献リスト No.060)

マウス (p53 発現 *gpt delta transgenic* [p53^{+/+}]及び p53 欠損 *gpt delta transgenic* [p53^{-/-}]、雄、一群 5 匹) に 0、1 又は 5 mg/kg 体重/日の OTA を 4 週間経口投与した。腎臓を試料とした *gpt* 突然変異頻度 (*gpt* アッセイ) は、p53 の発現状況にかかわらずいずれのマウスにおいても増加がみられなかった。また、OTA 特異的 *gpt* 変異スペクトルも観察されなかった。一方、Spi-突然変異頻度 (Spi-アッセイ) は、p53 欠損マウスにおける 5 mg/kg 群で増加したが、p53 発現マウスでは増加はみられなかった。(参照 304)

【事務局より (第66回調査会)】

神経毒性及び免疫毒性の構成について、他の項目に合わせる形で変更しております。

~~(6.9) その他 (神経毒性、免疫毒性)~~

~~① 神経毒性~~

~~① マウス~~

マウス (Swiss ICR、雌雄、一群各 8 匹 (対照群のみ 20 匹)) に 0~6 mg/kg 体重の OTA を腹腔内単回投与して 24 時間後に線条体のドーパミンを測定した結果、ドーパミンが OTA の用量に依存して減少した。酸化ストレス、酸化的 DNA 損傷及び酸化的 DNA 修復の一過性阻害も、小脳、大脳皮質、海馬、中脳、尾状核/被殻及び脳橋/髄質に認められた。(参照 255)

~~② ラット~~

ラット (Wistar、雄、一群 4 匹) に 0 又は 0.290 mg/kg 体重の OTA が 48 時間毎に 1~6 週間、強制経口投与された。4 週間後に OTA を投与したラットの体重が僅かに減少したが、摂餌量及び摂水量は、OTA 非投与の対照群と有意差はなかった。脳中の OTA は時間依存的に蓄積され、6 週間後の OTA 濃度は

およそ 0.100 µg/g となった。摂取 4 週間後には脳内の遊離チロシンが有意に減少し、遊離フェニルアラニンが有意に増加し、タンパク質合成阻害が生じていると考えられた。組織学的観察の結果、海馬組織の損傷が認められた。（参照 256）

ラット（F344、雌、一群 10 匹）に 0 又は 0.120 mg/kg 体重/日の OTA が 10、20 又は 35 日間強制経口投与され、脳における OTA の作用が調べられた。10 日間及び 20 日間の OTA 投与により、大脳皮質、小脳及び海馬の 3 つの脳領域において可溶性画分及び膜結合画分の LDH 及び N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼの活性並びにエクト-5'-ヌクレオチダーゼ、エクト-Ca²⁺/Mg²⁺ ATPase、アラニンアミノペプチダーゼ及びγGT の活性が変化した。10 日間又は 20 日間の OTA 投与でγGT 活性は、3 つの脳領域において OTA 非投与の対照群に比べ有意に増加した。35 日間の OTA 投与では、ほとんどの酵素活性が対照群と同じレベルとなった。（参照 257）

ラット（SPFWAG/MBL、雌、一群 10 匹）の 12 週齢（若齢）及び 27～30 か月齢（老齢）に、0、0.070、0.340 又は 1.680 mg/kg 体重/日の OTA が 4 週間強制経口投与された。両群の 1.680 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で、OTA 非投与の対照群に比べ有意な死亡率増加がみられた。OTA 投与群で脳白質（小脳髄質及び脳幹の腹側部）の空胞形成変性が認められ、若齢ラットの 0.340 mg/kg 体重/日以上、OTA 投与群と老齢ラットの 0.070 mg/kg 体重/日以上、OTA 投与群において、対照群と比べ統計的に有意な増加がみられた。（参照 258）

ラット（Wistar、雄、一群 8 匹）に 0.289 mg/kg 体重/日の OTA 又は OTA 及び活性酸素のスキャベンジャーであるメラトニン（10 mg/kg 体重/日）が飲水により 1 週間経口投与され、海馬の N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）受容体サブユニット 2A（NR2A）及び 2B（NR2B）タンパク質の発現が調べられた。溶媒のみを投与された対照群と比較して OTA 投与ラットでは、NR2A 及び NR2B に有意な減少が認められた。海馬の NMDA レセプターは記憶や学習過程に関与するため、認知機能に影響する可能性が考えられた。メラトニンは、OTA により引き起こされる NR2A 及び NR2B 減少を阻害した。（参照 259）

（10）神経毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見（案）

・ *in vitro* 試験

α-シヌクレインを過剰発現させた SH-SY5Y 細胞（ヒト神経芽腫由来株）及び Caco-2 細胞（ヒト大腸がん由来株）を 0 又は 0.025～0.2 µM の OTA で処置した結果、神経変性疾患の原因物質である α-シヌクレインの半減期が延長した。α-シヌクレインのターンオーバーの減少は、0.1 µM 群及び 0.2 µM 群のリソソーム取込みタンパク質の LAMP-2A の減少及び 0.2 µM 群の lamp-2a

mRNA の減少と関連した。SH-SY5Y 細胞において 6 種の miRNA (hsa-miR-4792、hsa-miR-3196、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-6087、hsa-miR-24-2-5p、hsa-miR-513c-3p) が発現増加、4 種の miRNA (hsa-miR-1271-5p、hsa-miR-3607-5p、hsa-miR-99b-5p、hsa-miR-501-3p) が発現低下した。（文献リスト No.227）

・ *in vivo* 試験 マウス

マウス (Balb/c、雄、一群 9 匹 ; 4.5 mg/kg 体重/日群のみ 4 匹) に 0、0.21、0.5、1.5 又は 4.5 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間経口投与した結果、1.5 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加が抑制した。4.5 mg/kg 体重/日投与群の 1 匹が死亡した。血漿中の OTA 濃度は、用量に依存して増加した。1.5 mg/kg 体重/日以上投与群で脳中 OTA を検出し、定量した。線条体のドーパミン作動性神経支配と黒質緻密部のチロシン水酸化酵素及びドーパミン作動性ニューロン数に影響はなかった。

また、マウス (Balb/c、雄、一群 10 匹) に 0、0.21 又は 0.5 mg/kg_体重/日の OTA を 28 日間経口投与し、最終投与後 27 週間通常飼育した。血漿及び脳中に OTA を検出できず体重増加抑制もなかった。一方、投与群で運動能力 (ワイヤーハンギング試験、背地走性試験) が低下した。また、線条体のチロシン水酸化酵素は、低用量群及び高用量群で、それぞれ前部が 18.6 及び 17.7%、中部が 18.3 及び 26.8%及び後部が 19.7 及び 31.8%減少した。中脳の容積変化はなかったが低用量群で黒質緻密部のチロシン水酸化酵素陽性ドーパミンニューロン数が 26%減少した。投与群の中脳の α -シヌクレイン量は、0.21 mg/kg 体重/日群で 50%の有意な増加を示したが、0.5 mg/kg 体重/日群では有意な増加を示さなかった。免疫染色による黒質緻密部におけるリン酸化 α -シヌクレインは、用量依存的に増加 (低用量群で 1.5 凝集体/切片、高用量群で 2.5 凝集体/切片) した。脳幹及び皮質における α -シヌクレインは、投与群で有意な増加を示さなかった。中脳における α -シヌクレイン分解の CMA 経路の LAMP-2A は、用量依存的に減少 (低用量群で 20%減少、高用量群で 50%減少) したが、Hsc70 は、投与による影響を示さなかった。腸管のリン酸化 α -シヌクレインは、筋層間膜、粘膜下神経叢及び筋層で増加した。LAMP-2A は、減少 (低用量で 33%減少、高用量群で 32%減少) した。Hsc70 は、投与による影響を示さなかった。（文献リスト No.227）

ラット

ラット (SD、妊娠、一群 12 匹) に 0、0.12、0.6 又は 3.0 mg/kg 飼料の OTA を妊娠 6 日目から出産後 21 日目まで混餌投与した。各群の F₀ の OTA ばく露

は、それぞれ妊娠期間中が 0、0.008、0.0393 又は 0.2036 mg/kg 体重/日相当で、授乳期間中が 0、0.0161、0.0760 又は 0.3786 mg/kg 体重/日相当であった。予備試験では、0 又は 3.0 mg/kg 飼料群の F₁ の生後 14 日における胃内容物 OTA 濃度は、それぞれ 0.005 mg/kg 未満（検出限界未満）又は 1 mg/kg であった。生後 22 日以後の F₁（各群雄 27 匹、雌 10 匹）は OTA を含まない通常飼料で生後 77 日まで飼育された。

F₁28 日齢の雌雄及び 35 日齢の雄の体重が対照群に比較して低下した。病理組織検査では、母動物の腎臓の髓質外層外帯において、0.6 mg/kg 飼料以上群の近位尿細管上皮細胞に細胞質空胞変性を、3.0 mg/kg 飼料群に巨大核を観察した。F₁ 雄における海馬神経新生影響の検索で、3.0 mg/kg 飼料群の 21 日齢時で、神経新生部位である顆粒細胞層下帯（SGZ）における PAX6 陽性細胞及び TBR2 陽性細胞、歯状回門部における SST 陽性ニューロン及び CHRNA2 陽性ニューロンが対照群に比較して減少した。3.0 mg/kg 飼料群の F₁ 21 日齢の SGZ における MDA 陽性細胞は対照群に比較して増加した。3.0 mg/kg 飼料群の F₁21 日齢の歯状回における転写産物は、*Eomes* の発現及び GABA 作動性ニューロン亜集団に関連する遺伝子が増加した。3.0 mg/kg 飼料群 F₁ の雄において神経栄養因子遺伝子の *Bdnf* 及びグルタミン酸受容体関連遺伝子の *Gria1*、*Gria2* 及び *Grin2a*、セロトニン合成酵素及びセロトニン受容体関連遺伝子の *Tph2*、*Htr1a* 及び *Htr4* 並びに DNA 修復関連遺伝子の *Ogg1*、*Sirt1* 及び *Tp53* が対照群と比較して増加した。一方、コリン作動性受容体関連遺伝子の *Chrn2* は、対照群と比較して減少した。21 日齢時に観察された海馬歯状回の変化は 77 日齢時には回復した。（ご提供文献 No.3）

（11）② 免疫毒性

・ *in vitro* 試験

ヒト（健常者、性別不明、27～33 歳、人数不明）末梢血から分離した単核球を *in vitro* で OTA と培養した結果、酸化ストレスの指標である ROS 及び 8-OHdG が産生された。DNA 損傷応答に係る γ -H2AX 発現の増加及びコメットアッセイの結果は、OTA による DNA 損傷が生じていることを示していた。抗酸化剤である N-アセチル-L-システイン（NAC）で前処理すると、OTA に誘導される ROS が減少し、DNA 損傷も抑制された。CDK4 及びサイクリン D1 タンパク質の発現が減少し、G1 期遅延の誘導とともにアポトーシスが認められた。これらの結果は、ヒト免疫細胞に対する OTA の毒性が ROS 産生、酸化的 DNA 損傷及び G1 期遅延及びアポトーシスが関与していることを示していた。（参照 260）

・ *in vivo* 試験

1 マウス

2 マウス（Swiss、雌、一群 30 匹）に 0 又は 5 mg/kg 体重/日の OTA が 50 日
3 間腹腔内投与され、免疫毒性が調べられた。体重増加、脾臓重量、脾臓リンパ
4 球数、抗 *Brucella abortus* 抗体産生能及び ConA 刺激による脾臓リンパ球の幼
5 若化反応において有意差は認められなかった。（参照 261）

6 マウス（BALB/c、雌、一群 8 匹）に、0、0.006、0.250 又は 2.600 mg/kg
7 飼料（0、0.001、0.040 又は 0.400 mg/kg 体重/日に相当）の OTA を 28 又
8 は 90 日間混餌投与された。0.250 mg/kg 飼料以上の OTA 投与群で 28 日目及
9 び 2.600 mg/kg 飼料の OTA 投与群で 90 日目に腎臓重量が減少した。腎臓中の
10 OTA 濃度は、用量に相関した。体重及びリンパ器官重量に OTA の影響はなかつ
11 た。白血球数に差は認められなかったが、2.600 mg/kg 飼料の OTA 投与群で
12 90 日目に、OTA 非投与の対照群に比べ脾細胞の数に有意な減少（約 20%）が
13 認められた。28 日目の血中又は胸腺中の T リンパ球に変化はみられなかった。
14 90 日目に、0.250 mg/kg 飼料以上の OTA 投与群で対照群に比べて未分化細胞
15 である CD4⁺/CD8⁺細胞の有意な増加並びに成熟 CD4⁺及び CD8⁺細胞の割合の減
16 少が認められ、これは OTA が T 細胞の後期の分化へ影響することを示すと考え
17 られた。24 日目に各群 10 匹のマウスにヒツジ赤血球（SRBC）を腹腔内投与し、
18 28 日目に脾細胞を用いてプラーク法により抗 SRBC 抗体産生能が調べられた
19 結果、用量依存的な抗体産生能の低下が認められた。一方、OTA は、インフル
20 エンザウイルス PR8 株抗原で免疫したマウスの血清中抗体価に影響を及ぼさな
21 かった。これらの結果は、OTA ばく露がマウスの特定の免疫機能を変化させ、
22 脾臓が OTA に感受性の高い免疫組織であることが示された。（参照 262）

23 マウス（BALB/c、雌、一群 3 匹）に OTA が 0.00018（対照群）、0.030 又は
24 0.200 mg/kg 飼料、平均で 0.005～0.030 mg/kg 体重/日の OTA 摂取量になるよ
25 うに交尾前 2 週間混餌投与された。出生後の児動物は、全て対照群の母動物に
26 哺育された。児動物は生後 14 又は 28 日目にと殺され、免疫毒性試験が実施さ
27 れた。14 日目の児動物において脾臓重量、胸腺重量及びそれぞれの細胞数に
28 差は認められなかった。28 日目では、0.200 mg/kg 飼料の OTA 投与群の児動
29 物において胸腺重量及び細胞数は対照群の児動物に比べてそれぞれ 20%及び
30 67%増加した。0.200 mg/kg 飼料の OTA 投与群の児動物では、脾臓 T 細胞の
31 CD4⁺及び CD8⁺細胞の割合が対照群の児動物に比べて減少傾向にあったが、T 細
32 胞の細胞数及び脾臓の細胞数に変化は認められなかった。児動物の脾臓又は胸
33 腺リンパ球のマイトジェンに対する増殖反応、コンカナバリン A（Con A）刺
34 激培養細胞のインターロイキン-2(IL-2)の生成、ヒツジ赤血細胞及びウィルス
35 抗原 PR8 に対する抗体反応並びにナチュラルキラー（NK）細胞活性への影響
36 は認められなかった。母動物への OTA 投与は、児動物の免疫機能を抑制しな
37 かった。（参照 262）

ラット

ラット（Sprague-Dawley、雌、一群4～5匹）の0、0.010、0.050又は0.250 mg/kg 体重の OTA が授乳 11 日目に単回投与され、授乳 14 日目の児動物について免疫毒性試験が実施された。OTA 非投与の母動物に授乳された児動物を対照群とした。母動物及び児動物において OTA の血中濃度は OTA の用量に依存して増加し、乳を通して OTA が児動物に移行したと考えられた。児動物のリンパ器官重量は OTA 投与により変化しなかった。0.250 mg/kg 体重の OTA 投与群では、児動物の脾細胞を用いたリポポリサッカライド (LPS) 刺激後の増殖反応は、対照群に比べて有意に減少した。一方、0.010～0.050 mg/kg 体重投与群では、児動物の脾細胞及び胸腺細胞の Con A 刺激後の増殖反応は対照群に比べて有意に増加した。(参照 263)

ラット（Sprague-Dawley、雌、一群 4～5 匹）に 0 又は 0.050 mg/kg 体重/日の OTA が 1 週間に 5 日の頻度で、交尾前 2 週間及び妊娠期間中に反復投与され、授乳中は同量の OTA が毎日投与された。OTA 非投与群又は投与群の母動物から産まれた児動物は交差哺育され、OTA にばく露していない対照群、出生前ばく露群、出生後ばく露群及び出生前後ばく露群の 4 群に分類された。児動物において授乳 14 日目、22 日目又は 13 週目における免疫応答が調べられた。対照群、出生前ばく露群、出生後ばく露群及び出生前後ばく露群における授乳 14 日目の OTA 血中濃度は、それぞれ 4.1 ± 0.8 、 130 ± 14 、 640 ± 86 及び 860 ± 100 $\mu\text{g/L}$ であった。児動物の体重及びリンパ器官重量に変化は認められなかった。OTA 出生前ばく露群では、Con A の有無に係わらず、脾細胞の増殖反応が対照群に比較して有意に低かった。5 週目にインフルエンザ PR8 ウィルス抗原で免疫し、その 18 日後に ELISA 法により血清中の抗 PR8 抗体価を検査した結果、対照群の 10.7 ± 0.45 に対し出生前ばく露群は 10.0 ± 0.36 と、抗体価の低下が認められた。13 週目における脾細胞の NK 細胞活性に、OTA の影響は認められなかった。本論文では、OTA の出生前ばく露は免疫抑制を誘発し、出生後のばく露はリンパ球のマイトジェン刺激による増殖を促進すると結論付けている。(参照 263)。なお、JECFA では、本試験について、投与した OTA についての詳細な情報がなかったことを指摘している(参照 74)。

ラット（SPF WAG、雄、一群 10 匹）の 12 週齢（若齢）及び 27～30 か月齢（老齢）ラットに、OTA を 0、0.070、0.340 又は 1.680 mg/kg 体重/日で 4 週間強制経口投与し、加齢による OTA の免疫毒性への影響が調べられた。1.680 mg/kg 体重/日投与群で両群に有意な死亡率増加がみられた。高用量の老齢ラット群では、死亡のために免疫パラメータの試験ができなかった。両群の 0.340 mg/kg 体重/日投与群及び若齢の 1.680 mg/kg 体重/日投与群で、それぞれ OTA 非投与の対照群に比べて血中免疫グロブリン G の減少が認められた。

若齢ラットの脾臓T細胞の比率では、用量依存性の減少を誘発し、1.680 mg/kg 体重/日投与群で統計的に有意な減少が認められた。(参照 258)

ラット（Wistar、雄、一群10匹）に0、0.050、0.150又は0.450 mg/kg 体重/日のOTAを28日間経口投与し、免疫毒性試験が実施された。この試験は、OECD ガイドライン 407（1995 年）²¹にしたがって実施された。全てのOTA投与群でYac-1細胞（マウスリンパ腫由来細胞株）に対するNK細胞活性が用量依存的に有意に減少し、0.450 mg/kg 体重/日投与群では、NK細胞活性は完全に抑制された。と殺4日前にHRBCで免疫したラットの脾細胞を用いてHRBCに対する抗体産生能が試験された結果、抗体産生能は用量依存的に減少したが、統計的に有意ではなかった。細胞障害性T細胞活性は、0.050 mg/kg 体重/日投与群でのみ低下した。マクロファージの溶菌活性は、0.050 及び0.450 mg/kg 体重/日投与群でOTA非投与の対照群に比べ有意に減少したが、0.150 mg/kg 体重/日投与群では減少はなかった。病理組織観察において、胸腺及び脾臓に変化は認められなかった。(参照 264)

ラット（F344、雌雄、一群5匹）に0、1又は4 mg/kg 体重/日のOTAを1週間に5日の頻度で、16日間投与された結果、用量依存的に胸腺の相対重量減少及び萎縮が認められた(参照 191)。また、ラット（Wistar、雄、一群10匹）にOTAが15~40 mg/kg 体重で単回投与された結果、脾臓及びリンパ節内の胚中心に壊死が認められた。(参照 265)

ニワトリ

ニワトリ（系統不明、雌雄、一群10~22羽）に0、2又は4 mg/kg 飼料のOTAを20日間投与された。OTA投与群では、胸腺、脾臓及び腸管パイエル板組織のリンパ球細胞数が減少した。(参照 266)

ニワトリ（Lohman B-975、性別不明、羽数不明）に0又は5 mg/kg 飼料のOTAを56日間混餌投与された結果、OTA投与群では、血漿中の $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 β 及び γ -グロブリン量が減少した。(参照 267)

ニワトリ（Hubbard、雄、一群10羽）に0、2又は4 mg/kg 飼料のOTAを20日間混餌投与された結果、OTA投与群では用量依存的にリンパ組織及び血清中のIgG、IgA及びIgMが減少し(参照 268)、OTAが2 mg/kg 飼料で5~6週間投与された結果、補体価が僅かに減少した(参照 269)。

13日齢の発育鶏卵（Hyline W-36、一群15個）に0又は0.0025 mg/卵のOTAが注射され、20日齢の鶏胚において免疫試験が実施された。OTA投与群では、溶媒を注射された対照群に比べファブリキウス嚢中IgGが有意に減少し、IgMが有意に増加した。同様にOTAにばく露された卵から孵化した1、2又は4週

²¹ OECD（経済協力開発機構）が化学物の安全性確保のために定めた、28日反復毒性試験のテストガイドライン

1 齢のニワトリにβ溶血性大腸菌を用いた免疫応答試験では OTA の影響は認めら
2 れず、OTA の免疫グロブリンへの影響は一過性であると考えられた。(参照
3 270)

4 ニワトリ（系統不明、肉用鶏、性別不明、一群 10～25 羽）に 0、0.5 又は 2
5 mg/kg 飼料の OTA を 21 日間混餌投与した結果、OTA 非投与の対照群と比較し
6 OTA 投与群では、血清総タンパク質、リンパ球数、胸腺重量、ファブリキウス
7 嚢重量及び脾臓重量が低値を示した。(参照 271)

8 9 ウサギ

10 ウサギ（New Zealand White、雄、一群 8 匹）に 0 又は 1 mg/kg 飼料の OTA
11 を 30 又は 60 日間混餌投与された。OTA 投与群では液性免疫が抑制された。細胞
12 性免疫への影響は認められなかった。(参照 175)

13 14 (12) 免疫毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見（案）

15 ・ *in vitro* 試験

16 3D4/21 細胞（ブタ肺胞マクロファージ由来株）を 0、0.5、1、1.5、2、2.5、
17 3、3.5 又は 4 mg/L の OTA で 24、48 又は 72 時間インキュベーションした結
18 果、細胞生存率は 24、48 及び 72 時間でそれぞれ 4、2.5 及び 2 mg/L 以上群
19 で減少した。LDH の放出は、それぞれ 3.5、2.5 及び 1.5 mg/L 以上群で増加し
20 た。また、3D4/21 細胞を 0 又は 1.0 mg/L で 24、48 又は 72 時間インキュベ
21 ーションした結果、抗炎症サイトカインの IL-10 及び TGF-β が 48 時間群で増
22 加した。炎症誘発サイトカインの TNF-α 及び IL-6 は 24 時間後に最も増加し、
23 その後、経時的に減少した。遊走実験では、24 時間インキュベーションした
24 後に膜を通過する細胞数が増加したが、48 時間以上群で通過細胞数が減少し
25 た。貪食能力も 24 時間群で増加したが、48 時間以上群で減少した。（文献リ
26 スト No.493）

27 28 【事務局より（第66回調査会）】

29 以下の項目については、構成の関係による記載箇所の変更に伴い、削除しており
30 ます。

31 ~~—(●) 神経毒性に係る OTA 評価書第 1 版以降の追加知見（案）—~~

32 ~~—・ *in vitro* 試験~~

33 ~~α-シヌクレインを過剰発現させた SH-SY5Y 細胞（ヒト神経芽腫由来株）~~
34 ~~及び Caco-2 細胞（ヒト大腸がん由来株）を 0 又は 0.025～0.2 μM の OTA で~~
35 ~~処置した結果、神経変性疾患の原因物質である α-シヌクレインの半減期が延~~
36 ~~長した。α-シヌクレインのターンオーバーの減少は、0.1 μM 群及び 0.2 μM~~
37 ~~群のリソソーム取込みタンパク質の LAMP-2A の減少及び 0.2 μM 群の lamp-~~

~~2a mRNA の減少と関連した。SH-SY5Y 細胞において 6 種の miRNA (hsa-miR-4792、hsa-miR-3196、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-6087、hsa-miR-24-2-5p、hsa-miR-513e-3p) が発現増加、4 種の miRNA (hsa-miR-1271-5p、hsa-miR-3607-5p、hsa-miR-99b-5p、hsa-miR-501-3p) が発現低下した。（文献リスト No.227）~~

~~→ *in vivo* 試験~~

~~マウス (Balb/c、雄、一群 9 匹；4.5 mg/kg 体重/日群のみ 4 匹) に 0、0.21、0.5、1.5 又は 4.5 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間経口投与した結果、1.5 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加が抑制した。4.5 mg/kg 体重/日投与群の 1 匹が死亡した。血漿中の OTA 濃度は、用量に依存して増加した。1.5 mg/kg 体重/日以上投与群で脳中 OTA を検出し、定量した。線条体のドーパミン作動性神経支配と黒質緻密部のチロシン水酸化酵素及びドーパミン作動性ニューロン数に影響はなかった。~~

~~また、マウス (Balb/c、雄、一群 10 匹) に 0、0.21 又は 0.5 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間経口投与し、最終投与後 27 週間通常飼育した。血漿及び脳中に OTA を検出できず体重増加抑制もなかった。一方、投与群で運動能力 (ワイヤーハンギング試験、背地走性試験) が低下した。また、線条体のチロシン水酸化酵素は、低用量群及び高用量群で、それぞれ前部が 18.6 及び 17.7%、中部が 18.3 及び 26.8% 及び後部が 19.7 及び 31.8% 減少した。中脳の容積変化はなかったが低用量群で黒質緻密部のチロシン水酸化酵素陽性ドーパミンニューロン数が 26% 減少した。投与群の中脳の α -シヌクレイン量は、0.21 mg/kg 体重/日群で 50% の有意な増加を示したが、0.5 mg/kg 体重/日群では有意な増加を示さなかった。免疫染色による黒質緻密部におけるリン酸化 α -シヌクレインは、用量依存的に増加 (低用量群で 1.5 凝集体/切片、高用量群で 2.5 凝集体/切片) した。脳幹及び皮質における α -シヌクレインは、投与群で有意な増加を示さなかった。中脳における α -シヌクレイン分解の CMA 経路の LAMP-2A は、用量依存的に減少 (低用量群で 20% 減少、高用量群で 50% 減少) したが、Hse70 は、投与による影響を示さなかった。腸管のリン酸化 α -シヌクレインは、筋層間膜、粘膜下神経叢及び筋層で増加した。LAMP-2A は、減少 (低用量で 33% 減少、高用量群で 32% 減少) した。Hse70 は、投与による影響を示さなかった。（文献リスト No.227）~~

~~ラット (SD、妊娠、一群 12 匹) に 0、0.12、0.6 又は 3.0 mg/kg 飼料の OTA を妊娠 6 日目から出産後 21 日目まで混餌投与した。各群の F₀ の OTA ばく露は、それぞれ妊娠期間中が 0、0.008、0.0393 又は 0.2036 mg/kg 体重/日相当で、授乳期間中が 0、0.0161、0.0760 又は 0.3786 mg/kg 体重/日相~~

当であった。予備試験では、0又は3.0 mg/kg 飼料群のF₁の生後14日における胃内容物OTA濃度は、それぞれ0.005 mg/kg 未満（検出限界未満）又は1 mg/kgであった。生後22日以後のF₁（各群雄27匹、雌10匹）はOTAを含まない通常飼料で生後77日まで飼育された。

F₁28日齢の雌雄及び35日齢の雄の体重が対照群に比較して低下した。病理組織検査では、母動物の腎臓の髓質外層外帯において、0.6 mg/kg 飼料以上群の近位尿細管上皮細胞に細胞質空胞変性を、3.0 mg/kg 飼料群に巨大核を観察した。F₁雄における海馬神経新生影響の検索で、3.0 mg/kg 飼料群の21日齢時で、神経新生部位である顆粒細胞層下帯（SGZ）におけるPAX6陽性細胞及びTBR2陽性細胞、歯状回門部におけるSST陽性ニューロン及びCHRNA2陽性ニューロンが対照群に比較して減少した。3.0 mg/kg 飼料群のF₁21日齢のSGZにおけるMDA陽性細胞は対照群に比較して増加した。3.0 mg/kg 飼料群のF₁21日齢の歯状回における転写産物は、*Eomes*の発現及びGABA作動性ニューロン亜集団に関連する遺伝子が増加した。3.0 mg/kg 飼料群F₁の雄において神経栄養因子遺伝子の*Bdnf*及びグルタミン酸受容体関連遺伝子の*Gria1*、*Gria2*及び*Grin2a*、セロトニン合成酵素及びセロトニン受容体関連遺伝子の*Tph2*、*Htr1a*及び*Htr4*並びにDNA修復関連遺伝子の*Ogg1*、*Sirt1*及び*Tp53*が対照群と比較して増加した。一方、コリン作動性受容体関連遺伝子の*Chrn2*は、対照群と比較して減少した。21日齢時に観察された海馬歯状回の変化は77日齢時には回復した。（ご提供文献No.3）

（●）免疫毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）

・*in vitro*試験

3D4/21細胞（ブタ肺胞マクロファージ由来株）を0、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5又は4 mg/LのOTAで24、48又は72時間インキュベーションした結果、細胞生存率は24、48及び72時間でそれぞれ4、2.5及び2 mg/L以上群で減少した。LDHの放出は、それぞれ3.5、2.5及び1.5 mg/L以上群で増加した。また、3D4/21細胞を0又は1.0 mg/Lで24、48又は72時間インキュベーションした結果、抗炎症サイトカインのIL-10及びTGF- β が48時間群で増加した。炎症誘発サイトカインのTNF- α 及びIL-6は24時間後に最も増加し、その後、経時的に減少した。遊走実験では、24時間インキュベーションした後に膜を通過する細胞数が増加したが、48時間以上群で通過細胞数が減少した。貪食能力も24時間群で増加したが、48時間以上群で減少した。（文献リストNo.493）

（7-1-3）腫瘍形成の機序等

① OTAの腎毒性とトランスポーター

本評価書のⅡ. 1. (1) ⑤排泄に記載してあるように、OTAが腎臓において有機アニオントランスポーターを介して膜輸送されることが示されており、腎臓近位尿細管に選択的な OTA の毒性作用は、OTA が近位尿細管細胞の刷子縁又は側底膜にある有機アニオン輸送システムにより細胞内外に移行することと関連するという仮説が提唱されている(参照 138, 140, 272, 273, 274)。

ラット (Wistar、雄、匹数不明) 腎臓尿細管に挿入したキャピラリーを通じて尿細管への³H-OTA の再吸収が調べられた。管腔内が生理的条件に近い pH8 の場合には主に近位尿細管、ヘンレのループ上行脚及び集合管で OTA の再吸収が認められ、管腔内を pH6 と低くすると、上記の部位のほかに近位尿細管における再吸収の割合が多かった。近位尿細管では有機アニオントランスポーターの OAT-K1、H⁺ジペプチド共輸送体 (H⁺-dipeptide cotransporters) が OTA の再吸収に関与していると考えられた(参照 274, 275)。*in vitro* で OAT-K2、OAT1、OAT3、OAT5 並びにヒト OAT1、OAT3 及び OAT4 も OTA を輸送することが示されている(参照 276, 277, 278, 279, 280)。また、多剤耐性タンパク質である MRP2 及び MRP1 は、近位尿細管のそれぞれ刷子縁及び側底膜に存在しているが、これらのタンパク質も OTA を輸送することが示唆されている(参照 281)。

ラット (Sprague-Dawley、雄、匹数不明) の尿細管を部位別に OTA と共に *in vitro* でインキュベーションすると、細胞内 ATP が用量依存的に減少した。近位尿細管の中間 (S2) 及び末端 (S3) セグメントが、OTA の毒性影響に対し最も感受性が高かった。OTA のこの作用が OAT1 及び OAT3 阻害剤であるプロベネシドによって抑制されたことより、OTA は近位尿細管側底膜のこれら有機アニオン輸送経路を通して細胞内に入ると考えられた(参照 273, 282)。

ラット (Sprague-Dawley、雌雄、一群各 5 匹) において肝臓、腎臓、肺、十二指腸、空腸、回腸、大腸、小脳及び大脳皮質における mRNA 発現を調べた結果、OAT1 及び OAT3 は腎臓特異的に発現し、雌ラットと比較すると雄ラットに有意に多く発現していた(参照 283)。C57BL/6 マウス及び 129J マウス OAT1 の mRNA の発現量は、雌よりも雄が多かったが、OAT2 の mRNA の発現量には性差が認められず、OAT3 の mRNA については 129J マウスでは雌の方が雄よりも高い発現を示したが、C57BL/6 マウスでは性差がみられなかった。(参照 284)。ラット (Wistar、雌雄、一群 4 匹) の腎臓皮質において、免疫組織化学により OAT1 は、近位尿細管の主に S2 セグメントの側底膜に、OAT3 は、S1 及び S2 セグメントの側底膜に認められ、雄ラットに多く発現していた。去勢した雄ラットでは OAT1 の発現が低下し、このラットにアンドロゲンを投与することによって OAT1 の発現が増加した一方、エストロゲンの投与により OAT1 の発現は更に低下した(参照 285)。これらの結果は、OTA が雄ラットの腎

臓尿細管に吸収されやすいことを示唆しており、部位特異的な OTA の蓄積が OTA の感受性に関与していると考えられた(参照 286)。

② OTAの発がん性メカニズム

げっ歯類に OTA を投与すると雄に腎細胞癌が認められる。OTA による発がん機序として、OTA の活性代謝物による DNA 付加体の形成及び DNA 損傷等の遺伝毒性のほか、非遺伝毒性のメカニズムとして酸化ストレス、細胞周期の破たん、細胞増殖とアポトーシスの変化、MAP キナーゼ等のシグナル伝達の変化、ミトコンドリアの機能低下、タンパク合成阻害等の作用が考えられている。以下にそれらに関する要約を示した。

a. 遺伝毒性発がん物質としてのメカニズム性に係る知見

(a) OTAの代謝活性化とDNA付加体の形成

DNA 付加体は、生体異物や内因生成物質が共有結合により直接 DNA に結合して生じる。付加体形成により DNA の合成が阻害されて細胞死又は突然変異が誘発されるため、DNA 付加体の形成は、発がんのリスク要因とされている。OTA 又はその代謝物が直接 DNA に結合するかについては様々な報告があり、以下にまとめた。

▪ *in vitro* 試験

NADPH、アラキドン酸等の存在下でマウス、ラット、ウサギ及びブタの肝臓又は腎臓ミクロソームを用いて DNA 付加体形成に関与する OTA の代謝活性化が ³²P-ポストラベル法により調べられている。代謝活性化しない条件下では OTA と DNA の付加体と想定されたスポットはみられなかったが、OTA を CYP 又はペルオキシダーゼで代謝活性化すると同スポットが認められた。(参照 54, 287, 288)

OTA と DNA 又は OTA と DNA モノヌクレオチドを、マウス (Swiss、雄、匹数不明) 又は ウサギ (Fauves de Bourgogne、雌、匹数不明) の腎臓ミクロソーム存在下で NADPH 又はアラキドン酸を添加してインキュベーションした後、生成物を ³²P-ポストラベル法により解析した。TLC 上に検出されたスポットは DNA 付加体と推測され、スポット強度を基に、推定した DNA を基質とした場合の DNA 付加体の形成頻度の最大値は、126 付加体/10⁹であった。DNA の 4 種のモノヌクレオチドを用いた場合、主にデオキシグアニンを用いた場合にスポットがみられた(参照 289)。

OTA、OTBr²²又は OTHQ とインキュベーションした WI26 細胞 (ヒト気管

²² ブロムオクラトキシン。オクラトキシンC5位の塩素が臭素に置換した化合物

1 支上皮細胞株) 及び HK2 細胞 (ヒト腎臓由来細胞株) の DNA を用いた ^{32}P -ポス
2 トラベル法による解析ではスポットが検出されたが、OTB とインキュベーシ
3 ョンしたこれら細胞株の DNA についてはスポットが検出されなかった。このこ
4 とから著者らは OTB には直接的な遺伝毒性がないとした。(参照 290)

5 ^{32}P -ポストラベル法で観察されるスポットは、主にデオキシグアニンの C8 と
6 OTA の 5 位塩素が脱落して結合した C-C8-dG-OTA であることが推察されて
7 いる。OTA に光照射すると酸化的脱塩素反応が起こり、OTQ/OTHQ
8 酸化還元対が生成する。(参照 139, 291, 292)。OTA とヌクレオシドを混合して
9 光照射すると OTHQ、OTB と共に C-C8-dG-OTA 及び O-C8-dG-OTA²³が生成
10 することが NMR、UV 及びマススペクトルによって確認されており(参照 139,
11 292, 293, 294)、OTA と DNA を *in vitro* で光酸化した場合、主な生成物は C-C8-
12 dG-OTA であることが LC-MS により示された(参照 293)。C-C8-dG-OTA は、
13 OTA 及び DNA を鉄 (II) イオン、銅イオン又は西洋ワサビペルオキシダーゼ
14 (HRP) / H_2O_2 の存在下でインキュベーションした系においても認められた
15 (参照 139, 292)。

16 OTHQ を用いた ^{32}P -ポストラベル法による解析では、代謝活性化のない条件
17 下で TLC 上にスポットが認められ、その位置が *in vitro* でブタ腎臓ミクロソーム
18 等により代謝活性化された OTA にみられる主なスポットと同じような位置
19 であったことから、OTA が代謝により酸化されて OTHQ となり、DNA と付加
20 体を形成する可能性が考えられた。(参照 295)

21 一方、 ^{32}P -ポストラベル法は、非特異的試験法であるため、TLC 上に観察さ
22 れるスポットには OTA 分子又はその代謝物分子が含まれない可能性があり、
23 検出されたスポットのいくつかは、OTA で誘発された 酸化ストレス等による細
24 胞毒性の影響であるとも考えられている(参照 296, 297)。

25 また、NADPH、GST、HRP、大豆リポキシゲナーゼ等を添加した CYPs 単離
26 酵素又はラット、ヒトの腎臓及び肝臓ミクロソームを用いて OTA の代謝物を
27 HPLC 及び LC-MS/MS により解析した試験では、OTA 由来の活性キノン
28 OTQ/OTHQ は検出されず、ラット肝臓ミクロソーム及びヒト CYP3A4 を
29 用いた結果、4(*R*)-OH-OTA 及び 4(*S*)-OH-OTA が極めて少量検出された。(参
30 照 94, 130)

31 更に、雄ラット肝臓ミクロソーム、雄マウス腎臓ミクロソーム、雄ラット腎
32 臓ミクロソーム、プロスタグランジン H 合成酵素又は HRP 存在下で ^{32}P -ポス
33 トラベル法及び ^3H -OTA を用いた *in vitro* 試験において OTA 及び OTA 代謝物
34 の DNA 付加体形成は認められなかった(参照 94)。ラット又はヒト初代培養肝細
35 胞を ^3H -OTA とインキュベーションした結果、 ^3H -OTA と DNA の結合は認

²³ デオキシグアニンのC8とOTAの8位水酸基を介して結合した化合物

められなかった(参照 134)。

▪ *in vivo* 試験

マウス (Swiss、雄、匹数不明) に 0.6、1.2 又は 2.5 mg/kg 体重の OTA を単回投与し、³²P-ポストラベル法を用いて調べた結果、腎臓、肝臓及び脾臓に OTA 投与 24 時間後から TLC 上に DNA 付加体と考えられるスポットが認められた。スポットの数は腎臓で多く認められ、2.5 mg/kg 体重投与群では 72 時間後まで腎臓及び肝臓で時間依存的にシグナルの増強がみられた。0.6 及び 1.2 mg/kg 体重投与群では 48 時間後にスポットの数がピークとなり、72 時間後にはほとんどが消失したことより、DNA 付加体が修復されたと考えられた。スポットの強度より、DNA 付加体の頻度は、7~40 付加体/10⁹ヌクレオチドと推計された(参照 298)。

OTA を投与されたブタ (系統不明、性別不明、頭数不明) に 0.02 mg/kg 体重/日の OTA を 3 週間混餌投与の腎臓髄質並びにラット (Dark Agouti、雄、匹数不明) に (0.4 mg/kg 体重/日の OTA を週 3 日 2 年間強制経口投与又は約 8.3 mg/kg 体重/日の OTA を 3 日間強制経口投与及びラット (F344、雄、匹数不明) に 6.8 mg/kg 体重/日の OTA を 3 日間強制経口投与した腎臓より抽出した DNA を用いた ³²P-ポストラベル法による解析では、TLC 上の DNA 付加体と想定されるスポットの位置が、標準物質として用いられた C-C8-dG-OTA に相当する位置に認められ、検出されたスポットは C-C8-dG-OTA であると推察された(参照 293, 294)。

³²P-ポストラベル法によりマウス (BALB/c、雄、一群 5 匹) に 0.003.5~1.056 mg/kg 体重の OTA を、強制経口投与して、精巣にスポット形成が認められたとの報告がある(参照 135)。また、妊娠 17 日目のマウス (SWR/J、妊娠、一群 2 匹) に、2.5 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与し、出生 1 日目の雄児動物の精巣及び腎臓を用いた ³²P-ポストラベル法によるスポット強度の解析から、それぞれ 5.2/10⁹ 及び 4.2/10⁹ヌクレオチドの DNA 付加体スポットが生じたと推計された。TLC 上のスポットは標準として用いた C-C8-dG-OTA のスポットと同じ位置に認められたという報告がある(参照 135)。

一方、³²P-ポストラベル法により、スポット形成が確認できなかった報告もあり、以下に述べるように *in vivo* における付加体形成については HPLC 法及び LC-MS/MS 法では確認されていない。

ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 0 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA が週 5 日、2 週間強制経口投与する付加体形成試験が実施された。ラットは OTA 最終投与 72 時間後にと殺された。LC-MS/MS 法及び ³²P-ポストラベル法を用いて OTA の代謝物を調べた結果、尿に微量の OTHQ が検出され、血漿、腎臓及び肝臓には OTA は検出されたが、OTA の代謝物及び OTA に関連した DNA 付加体は認

められなかった。(参照 137, 248)

0 又は 210 µg/kg 体重/日の OTA を 90 日間経口投与したラット (F344、雄、一群 5 匹) の腎臓並びに 0、0.250、0.500、1.000 又は 2.000 mg/kg 体重/日の OTA を 2 週間投与したラット (F344、雄、一群 3 匹) の腎臓における DNA 付加体の有無が安定同位体希釈 LC-MS/MS 法により調べられた(参照 299)。OTA の生体における排出速度及び単回投与後に ³²P-ポストラベル法により検出された腎臓における付加体と想定されるスポット形成の結果(参照 300, 301)を考慮して、ラットは OTA 最終投与の 72 時間後にと殺された。OTA の DNA 付加体 (C-C8-dG-OTA) は、OTA を 90 日間投与したラットの腎臓からは検出されず (検出限界は 3.5 ~6.0 C-C8-dG-OTA /10⁹DNA ヌクレオチド)、また、OTA を 2 週間投与したラットの腎臓からも検出されなかった (検出限界は 1.6 ~6.08 C-C8-dG-OTA /10⁹DNA ヌクレオチド)。著者らは、以上の結果は、OTA の発がん性を含む腎臓への影響の機序に DNA 付加体形成が含まれないことを示唆するとした(参照 299)。この解析について、LC-MS/MS のクロマトグラフ上のピークは、OTA と DNA の共有結合を否定するものではないという見解もある(参照 302)。

ラット(F344、雄、一群 4 匹)に [³H]-OTA (1 mg/kg 体重に相当) を経口投与する *in vivo* 試験の結果、投与 24 時間後に腎臓 DNA と [³H]-OTA の結合は検出されなかった。検出限界は、2.7 分子付加体/10⁹DNA ヌクレオチドであった。同じサンプルを用いて ³²P-ポストラベル法により解析した結果、OTA 非投与の対照群に対し、OTA 投与群ではスポット強度が増加したが、この ³²P-ポストラベル法で検出された OTA 投与によるスポットの増加は、OTA が直接 DNA に結合した結果ではないと考えられた(参照 94)

ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 0 又は 0.500 mg/kg 体重の [¹⁴C]-OTA が単回経口投与され、72 時間後にと殺された。肝臓と腎臓から単離した DNA について AMS (加速質量分析) により ¹⁴C 濃度を測定した結果、投与による ¹⁴C 濃度の増加が認められなかったことから、DNA 付加体は不検出 (検出限界=3 付加体/10⁹ ヌクレオチド) とされた。(参照 137)。なお、EFSA では、この試験結果を解析する上での問題点として、ほかの試験では OTA ばく露の 24 時間後に、DNA が単離されているのに対し、この試験では [¹⁴C]-OTA を比較的低濃度で単回投与した 72 時間後に DNA が単離されているため、DNA 付加体が修復された可能性があることを指摘している。(参照 200)

(b) OTA の *in vivo* 変異原性

ラット (F344/N -Tg (*gpt* delta) 、雌雄、一群 5 匹) に 0 又は 5 mg/kg 飼料 (雄 : 0.36 mg/kg 体重/日、雌 : 0.38 mg/kg 体重/日) の OTA を 13 週間混餌投与し、腎臓の病理組織学的検査及び変異原性試験が実施された。OTA 投与群の

雄雌ともに投与後 4 週間目には腎臓髄質外層外帯における近位尿細管上皮細胞にアポトーシス、巨大核細胞及び空胞化が認められた。雄ラットの腎臓より DNA を抽出してレポーター遺伝子の点突然変異及び欠失変異を調べた結果、OTA 投与群と非投与群に差はみられなかったが、腎臓髄質外層外帯を分離して抽出した DNA では、非投与群に比べて Spi-変異体頻度が有意に増加しており、髄質外層外帯特異的に欠失変異が生じていることが示された。皮質では、OTAによる欠失変異の誘導は認められず、皮質及び髄質外層外帯共に点突然変異頻度には差がなかった。(参照 253)。

同じグループにより、腎臓髄質外層外帯における OTA の作用メカニズムを分子病理学的解析により調べる目的でラット (F344/N-Tg (*gpt delta*))、雄、一群 5 匹) に同用量の OTA を 4 週間投与して皮質及び髄質外層外帯における網羅的遺伝子発現変化が比較された。OTA 投与により髄質外層外帯特異的に発現が増加したのは、DNA 二本鎖切断修復 (*Chk1*、*Rad18*、*Brip1*、*Brcc3* 等)、細胞周期促進、DNA 損傷応答を介した G₂/M 期停止誘発、*Bcl-2* ファミリー遺伝子及びがん抑制遺伝子 *p53* に係る遺伝子群であった。OTA ばく露によって髄質外層外帯に DNA 二本鎖切断が起こり、DNA 二本鎖切断修復、特に相同組換えに関連した遺伝子の発現が誘導されることにより相同組換えを介した修復過程で欠失変異が生じていると推測された。OTA による細胞周期促進及び G₂/M 期停止誘発関連遺伝子の発現増加は、細胞周期の調節異常を示唆しており、巨大核細胞の誘導に関与していると考えられた。(参照 303)

【追加知見】ラット (F344/NSlc-Tg (*gpt delta*))、雄、一群10匹) に0、0.070、0.210又は0.630 mg/kg体重/日のOTAを4週間経口投与し、OTAの発がん標的部位である腎髄質外層を採取して試料とした。Spi-アッセイの結果は、著者らの以前の研究と同様であり、*red/gam*遺伝子における大規模な (>1 kb) 欠失変異を示した。腎髄質外層での *in vivo* コメットアッセイとDNA損傷/修復関連mRNA及びタンパク質発現の解析をした結果、コメットアッセイ陽性とウエスタンブロットと免疫組織化学染色によるγ-H2AX陽性細胞数及びタンパク質レベルの増加を認め、発がん標的部位でのDNAの二本鎖切断誘発が示唆された。相同組み換え修復関連遺伝子の*Rad51*は、0.630 mg/kg 体重/日群で増加し、*Rad51*タンパク質レベルも投与群で増加した。*Rad18*遺伝子も0.630 mg/kg 体重/日群で増加した。*Brip1*遺伝子は、0.070 mg/kg 体重/日以上群で増加した。非相同末端結合関連遺伝子 (*Xrcc5*、*Xrcc6*及び*Lig4*) は増加しなかった。細胞周期関連遺伝子では、G₂/M期で停止に関与する*Chk1*遺伝子が0.070 mg/kg 体重/日以上群で増加、*Wee1*遺伝子が0.630 mg/kg 体重/日群で増加した。S/G₂期に関与する*Ccna2*遺伝子が0.630 mg/kg 体重/日群で増加、*Cdk1*遺伝子が0.210 mg/kg 体重/日以上群で増加した。

結論として、本研究では発がん用量のOTAが*gpt delta*ラットのDNAの発が

1 ん標的部位にDNAの二本鎖切断を誘発することを明確に示した。OTA誘発
2 DNA二本鎖切断は主に相同組み換えによって修復され、結果として大規模な
3 欠失変異につながると考えられた。（文献リストNo.265）

4 OTAにより腎臓髄質外層外帯特異的にがん抑制遺伝子 *p53* に係る遺伝子群の
5 発現が誘導されたことより、OTAの誘導するDNA損傷、アポトーシス及び巨
6 大核誘発への *p53* の関与を調べる目的で、マウス（*p53* 発現 *gpt delta*
7 *transgenic* [*p53*^{+/+}]及び *p53* 欠損 *gpt delta transgenic* [*p53*^{-/-}])、雄、一群各
8 5匹)に0、1又は5 mg/kg 体重/日のOTAが4週間強制投与された。OTA投与
9 により、*p53* 発現マウスの腎臓における *p53* の発現が誘導されることが確認さ
10 れた。マウスの発がん用量である5 mg /kg OTA投与群において、*p53* 欠損マ
11 ウスでは *p53* 発現マウスに比べアポトーシス及び巨大核の出現が髄質外層外帯
12 に増加し、皮質にも認められた。変異原性試験の結果、5 mg /kg 体重/日投与
13 群の腎臓において *p53* 発現及び欠損マウス共に点突然変異は認められなかった
14 が、Spi-変異の頻度は *p53* 欠損マウスで有意に増加した。著者らは、OTAが
15 DNAの二本鎖切断修復における相同組換えを介してDNA欠失を誘導する可能
16 性があり、*p53* はこの過程でOTAの遺伝毒性作用を抑制していると考えた。
17 (参照 304)

18 19 b. 非遺伝毒性発がん性に係る知見物質としてのメカニズム

20 (a)酸化ストレス

21 OTAが*in vitro*及び*in vivo*でROS産生等を介したDNA、タンパク質及び脂
22 質の酸化を引き起こすことが報告されている。また、*in vitro*及び*in vivo*のコ
23 メットアッセイにおいて、OTAの用量依存的にDNA損傷が認められており、
24 酸化されたプリン塩基又は酸化されたピリミジン塩基を認識して除去するFpg
25 又はEndoIII処理によりDNA損傷の促進がみられた結果は、OTAがDNA塩
26 基の酸化修飾を誘発していることを示唆していた（(5) 遺伝毒性参照）。OTA
27 による酸化ストレスは、動物実験において低投与量から認められ、長期間の腎
28 毒性及び酸化ストレス等によるエピジェネティックなメカニズムがラット腎臓
29 における腫瘍誘発に重要な役割を果たすとする報告もある。ROSの産生の原
30 因としては、Feイオン、キノン、酸化ストレス応答の低下、NO合成酵素のひ
31 とつであるiNOS発現の増加等が報告されている。また、腎臓には、ペルオキ
32 シダーゼが豊富に存在するため、³²P-ポストラベル法により観察されるDNA付
33 加体形成はOTAそのものではなく、脂質過酸化反応（LPO）が関与している
34 可能性も考えられる。LPOによるDNA損傷として、DNA中の2'-デオキシグア
35 ノシンの8位の酸化による8-OHdG及びエテノ塩基などの環外DNA付加体の
36 生成並びに脂質の過酸化分解物であるMDAとグアニンの反応による付加体が
37 知られている。（参照 235, 305, 306, 307, 308, 309）

OTAによる脂質酸化物の構造活性について、OTAと Fe^{3+} 複合体によるROS産生が関与している報告がある一方、 Fe^{3+} との複合体を形成しないO-アセチルフェニルOTAで脂質酸化が認められることより、これらはOTAの作用には関与しないという報告もある。(参照 310, 311)

・ *in vitro* 試験

LLC-PK1細胞（ブタ腎臓近位尿細管由来細胞株）をOTAの存在下でインキュベーションし、酸化ストレス応答が調べられた。OTAは、濃度依存的にROSの産生を増加し、15 μM のOTAでインキュベーションすると明らかに8-オキソグアニン²⁴の生成が認められた抗酸化剤であるNACによってこの8-オキソグアニンの生成は抑制された。(参照 312)

腎臓におけるOTAの作用メカニズムを調べる目的でHK-2細胞を50 μM のOTAと6又は24時間インキュベーションし、網羅的な遺伝子発現の変化が解析された。細胞生存率は6時間後に83%、24時間後に53%であった。6時間後にDNAの酸化的損傷の増加と共にROSの産生が増加し、ROSの産生に関与するミトコンドリア電子伝達系酵素のmRNA発現上昇が認められた。24時間後には、ROSレベル及び酸化的DNA損傷の増加と共に酸化ストレス応答系の遺伝子発現の増加が認められた。DNA切断や付加体形成などのDNA損傷により発現が誘導される細胞周期調節又はアポトーシス関連遺伝子の発現上昇は検出されなかった。(参照 238)

【追加知見】 HEK293細胞（ヒト胎児腎細胞由来株）を0、0.125、0.25又は0.5 μM のOTAで24又は48時間インキュベーションした結果、低酸素誘導因子1 α （HIF1 α ）タンパク質レベルが24時間後に0.125 μM 群で増加して、48時間後に0.125及び0.25 μM で低下した。HIF1 α のmRNAの増減は、HIF1 α のタンパク質の増減と相関しなかった。ヒートショックタンパク90 kDa（HSP90）は24時間後に全てのOTA濃度で増加した。48時間後は、0.125 μM でのみ増加した。ピルビン酸脱炭酸酵素1（PDK1）は、24時間後に0.25及び0.5 μM で増加し、48時間後に0.25 μM で低下した。血管内皮細胞増殖因子（VEGF）のmRNAは、24時間後に0.25及び0.5 μM で低下し、48時間後に0.125及び0.5 μM で増加した。トランスフォーミング増殖因子 β （TGF- β ）のmRNAが48時間後の0.125 μM で増加した。エリスロポエチン（EPO）は、24時間後に用量非依存的な発現変動を示したが、0.5 μM で減少した。一方、48時間後には0.5 μM で増加した。細胞内ATP量は、24時間後の0.125 μM 及び48時間後の0.25 μM で増加した。

以上、ヒト腎細胞におけるOTAと低酸素応答との新規な相互作用を示した。

²⁴ グアニンの8位が酸化されると8-オキソグアニンとなる。ROSによるDNA酸化損傷のマーカーとされている。

HEK293細胞では、24時間のOTAばく露により酸化的・代謝的ストレスの増大と潜在的な低酸素状態が生じ、より長時間ばく露によりVEGF、TGF- β 、EPOなどの成長因子遺伝子の発現が亢進し、これらの変化はOTAの毒性および発がん機構への関与を示唆した。（文献リストNo.427）

【追加知見】 LLC-PK1細胞（ブタ近位尿細管細胞由来株）を0又は100 μ MのOTAで24時間インキュベーションして細胞生存アッセイを実施し、0又は25 μ MのOTAで24時間インキュベーションしてその他のアッセイを実施した。25 μ MのOTAばく露でEPOのmRNA発現が低下し、TGF- β 1及び β 2のmRNA発現が増加した。また、Nrf2、NAD(P)Hキノン酸化還元酵素1（NQO1）及びHO-1のmRNA発現が低下した。化学的にNrf2を活性化するプロスタグランジンJ2の10 μ M濃度での6時間前処理により、OTAに起因するTGF- β 1 mRNAの発現増加が抑制されたが、OTAに起因するEPO、HO-1及びTGF- β 2のmRNA発現の増減は影響を受けなかった。一方、アデノウイルスによるNrf2の過剰発現は、OTAに起因するTGF- β 2、HO-1及びEPOのmRNAの発現変化を抑制ないし反転させた。また、HO-1の阻害剤であるスズプロトポルフィリンIX（SnPPIX）は、OTAに起因するTGF- β 1及び β 2のmRNAの発現増加を増強させた。アデノウイルスを用いたHO-1過剰発現は、OTAに起因するTGF- β 1及び β 2のmRNAの発現増加を軽減させた。100 μ MのOTAばく露で細胞生存率が低下し、アデノウイルスによるNrf2又はHO-1の過剰発現は、OTAに起因する細胞生存率低下を軽減させた。一方、SnPPIXによるHO-1阻害は、100 μ MのOTAに起因する細胞生存率の低下を増強させた。100 μ MのOTAでインキュベーション前に250 μ Mのデフェロキサミン（DFO）で30分又は1,000 μ MのN-アセチルシステイン（NAC）で1時間前処理した結果、OTAに起因するROS産生増加を軽減させた。NAC処理はOTAによって誘発された細胞生存率低下及び細胞毒性増加を軽減させた。DFO又はNAC処理は、OTAに起因するTGF- β 1及びTGF- β 2のmRNAの発現増加を抑制させた。OTAはmiR-17、miR-192及びmiR-200b等のmiRNAの発現を減少させたが、miR-29a、miR-34a及びmiR-129-5pには影響を与えなかった。対照的に、OTAはmiR-132、miR-29b、miR-29c及びmiR-200cの発現を誘導した。LLC-PK1細胞に、特異的なアンタゴミル（抗miR-132または抗miR-200c）をトランスフェクトし、24時間後に25 μ M OTAでさらに24時間処理した結果、miR-132の阻害はOTAによるNrf2 mRNAの低下を抑制し、miR-132ないしmiR-200cの阻害はともに、OTAによるTGF- β 2発現の増加を抑制し、OTA誘導性ROS産生を阻害した。

以上より、OTAのブタ近位尿細管上皮由来の細胞に対する毒性が、Nrf2およびHO-1の抑制による抗酸化応答の減少を介して生じ、ROS産生の増加とそれに伴う線維化に寄与するTGF- β 発現の増加を誘導することを示した。OTAによるROS誘導には、鉄およびグルタチオン恒常性の破綻も関与する可能性が

示された。また、Nrf2の発現誘導を伴わない活性化は防御効果が限定的であった。さらに、miR-132の発現誘導がOTAによるNrf2減少に重要であり、HO-1発現減少はmiR-132によるNrf2減少とmiR-200c増加によるHO-1抑制という独立した2機構で生じることが判明した。miR-132およびmiR-200cの同時阻害により、OTA誘導性のROS産生の増加とTGF- β 発現増加は抑制された。これらの結果は、OTAによる抗酸化応答抑制の重要性と、その新規機構としてmiR-132およびmiR-200cの関与を示した。（文献リストNo.488）

RL-34 細胞（ラット肝細胞由来細胞株）、ラット初代培養肝細胞又はラットNRK細胞（腎臓近位尿細管上皮細胞由来細胞株）を1.5～6 $\mu\text{mol/L}$ のOTAとインキュベーションする *in vitro* 試験の結果、解毒及び酸化ストレス応答に関与している転写因子 Nrf2 の活性阻害と共に、DNA の酸化的損傷による塩基脱落部位の増加が認められた。Nrf2 経路の活性化剤である Cafestol 及び Kahweol を用いた前処理によりこれらの OTA の影響が防止されることから、OTA が酸化ストレスに対する生体の抗酸化作用を阻害していることが示唆された。（参照 313）

【追加知見】 Vero細胞（アフリカミドリザル腎臓上皮細胞由来株）を0又は10 μM （IC₂₀）のOTAで24時間インキュベーションした結果、10 μM のOTAでLDH放出及び亜硝酸塩産生が増加した。10 μM のケルセチン前処理は、これらの変化を抑制した。また、10 μM のOTAで10、15、30、45又は60分間インキュベーションした結果、15分後に細胞内カルシウム濃度が増加した。また、OTAによるROS産生もインキュベーション開始15分で始まり30分後にピークを示し、その後経時的に減少した。ケルセチンによる前処理は、細胞内カルシウム濃度増加及びROS産生を抑制した。OTAによる脂質過酸化及びタンパク質カルボニル化の増加もケルセチンの前処理で抑制された。さらに、OTAによる細胞内のGSH濃度減少も、ケルセチン前処理で抑制された。OTA処理で抗酸化酵素の発現減少を生じることが知られているが、これらの抗酸化酵素をコードする遺伝子群の発現誘導により細胞内レドックス環境を制御するNrf2は、OTA処理で発現が減少し、ケルセチン前処理で増加した。ケルセチンはOTA誘発性のミトコンドリア膜電位の低下を減弱させた。OTA処理細胞では、subG1期細胞の割合が対照細胞に較べて飛躍的に増加した。ケルセチン前処理細胞では、OTA処理群と比較してsubG1期細胞の割合が大幅に減少した。走査電子顕微鏡像では、OTA処理細胞は膜ブレブ形成などのアポトーシス特性を示したが、ケルセチン前処理によってOTAによる膜ブレブ形成が減少した。アポトーシスの初期像と後期像を染色するアクリジン・オレンジとエチジウム・ブロマイドの二重染色をした結果、OTA処理により、緑色蛍光を呈するアポトーシス初期細胞及び黄橙色蛍光を示すアポトーシス後期細胞が増加した。ケルセチン前処理では、正常な形態を有する無傷の核が観察された。OTA処

理によりCaspase-9、Caspase-3、及びpoly-ADP ribose polymerase (PARP)のタンパク質発現が増加したが、ケルセチン前処理により阻害された。コメントアッセイの結果、OTA処理によりDNA損傷が増加したが、ケルセチン前処理によってOTA誘発性DNA損傷が減少した。小核試験の結果、OTA処理により小核出現頻度が増加したが、ケルセチン前処理によってOTA誘発の小核出現頻度が減少した。

本研究の結果から、OTAはVero細胞において酸化ストレスおよびアポトーシスを誘導するが、高い抗酸化能をもつケルセチンの存在下ではこれらの作用が抑制されることが明らかとなった。OTAは細胞生存率の低下およびLDH放出の増加を引き起こしたが、ケルセチンはこれらを回復させることで細胞保護作用を示した。また、OTAはROS産生、細胞内カルシウム濃度の上昇および脂質過酸化を誘発することにより酸化ストレスを惹起したが、ケルセチンはこれらを抑制することでOTA誘発性酸化ストレスを軽減した。これは、OTAによって生じるフリーラジカルがケルセチンにより捕捉されることを示している。さらに、OTAはNrf2転写経路を抑制するが、ケルセチンは同経路を活性化することでOTAによる抗酸化防御機構の抑制を改善した。加えて、OTAはCaspase-9、Caspase-3、PARPの発現増加およびDNA断片化を介してアポトーシスを誘導するが、ケルセチンはこれらを抑制することでOTA誘発性アポトーシスを防いだ。さらに、OTAはDNA損傷および小核形成を引き起こすが、ケルセチンはこれらを低減し、OTAに対する抗遺伝毒性作用を示した。（追加確認文献No.13）

LLC-PK1細胞をOTAの存在下でインキュベーションし、Nrf2タンパク質の核内移行及びトランス活性、Nrf2遺伝子並びにその標的であるGST及び γ GCS各遺伝子の発現に及ぼすOTAの影響が調べられた。OTA (25 μ M) は、Nrf2タンパク質の核内移行とトランス活性を低下させ、各遺伝子の発現を抑制した(参照 314)。同細胞中のROSレベル（フローサイトメトリーで測定）の増加がOTA (1~2.5 μ M) によって、GSTとグルタチオンペルオキシダーゼの活性低下がOTA (10~25 μ M) によってそれぞれ引き起こされた(参照 315)。

HEC293細胞（ヒト胎児腎臓由来細胞株）を20 μ MのOTAと2時間インキュベーションすると、ミトコンドリア膜電位差 ($\Delta \Psi_m$) の減少、ROS産生及び細胞死が誘導された。プロテオーム解析により、網羅的にミトコンドリアにおけるタンパク質発現の変化を調べた結果、ミトコンドリア電子伝達系、タンパク合成の阻害、ストレス応答の誘導、細胞死等に係る66種類のタンパク質の発現変動が認められ、OTAのアポトーシス誘導に関与していると考えられた。抗酸化物質であるNACはOTAによるROS産生及び $\Delta \Psi_m$ の減少を抑制し、OTAによるミトコンドリアタンパク質発現誘導のほとんどを防いだ。これらの結果より、著者らはOTAの毒性には、ミトコンドリアを介したROS産生及び

1 アポトーシスが関与していると考えた。（参照 316）

2 【追加知見】HK2細胞（ヒト近位尿細管上皮細胞由来株）及びLLC-PK1細胞
3 （ブタ近位尿細管上皮細胞由来株）を0.00195～3 μM のOTAで6、24、48又
4 は72時間インキュベーションした。HK2細胞の IC_{50} は、24、48及び72時間イ
5 ンキュベーションでそれぞれ2、0.382及び0.125 μM であった。LLC-PK1細胞
6 の IC_{50} は、それぞれ3以上、2及び1 μM であった。どちらの細胞もROS産生が
7 増加した。ROSから細胞を保護する抗酸化物質のトリペプチドである還元型グル
8 タチオン（GSH）は、HK2細胞で48及び72時間後にそれぞれ20及び15%減
9 少した。ブタ由来のLLC-PK1細胞ではGSHレベルは変化しなかった。ROSの
10 解毒に関わる抗酸化酵素のカタラーゼ（CAT）、グルコース-6-リン酸デヒド
11 ロゲナーゼ（G6PD）、グルタチオンペルオキシダーゼ1（GPX1）、グルタチ
12 オン還元酵素（GSR）及びスーパーオキシサイドディスムターゼ1（SOD1）の
13 遺伝子発現を両細胞で測定した結果、LLC-PK1細胞でG6PD遺伝子が6及び72
14 時間後に発現低下、GPX1遺伝子が72時間後に発現低下した。HK2細胞におい
15 ては、GPX1遺伝子のみが72時間後に発現低下し、CAT、GSR及びSOD1遺伝
16 子はむしろ発現増加した。

17 以上より、ナノモル濃度のOTAはヒト由来のHK-2細胞とブタ由来のLLC-
18 PK1細胞に異なる反応性を示し、OTAはHK-2細胞において酸化ストレス誘導
19 に関与することが見出された。（文献リストNo.165）

20 【追加知見】HEK293細胞（ヒト胎児腎細胞由来株）を0、0.01、0.1 μM の
21 OTAで8時間インキュベーションした結果、アポトーシスシグナル調節キナー
22 ゼ1（ASK1）活性は、OTAの処理後1時間でピークに達し、その後経時的に減
23 少した。RNA干渉法により遺伝子発現を阻害するShort Hairpin RNA
24 （shRNA）を用いてASK1の発現を阻害した結果、ASK1の発現レベルが54%
25 減少した。DCFH-DA蛍光染色によって検出されるROS産生はASK1 shRNA
26 細胞で減少した。また、ASK1 shRNA細胞でアポトーシス初期の特徴である
27 ミトコンドリア膜電位（ $\Delta\psi\text{m}$ ）の低下が亢進した。iTRAQ定量プロテオミク
28 ス解析の結果、OTAばく露により特定のゲノム配列に一致しない配列を持つ
29 スクランブルshRNA細胞で33個（13個が発現増加、20個が発現低下）、
30 ASK1 shRNA細胞で24個（8個が発現増加、16個が発現低下）のタンパク質発
31 現変化を示した。ASK1が関与するDAVID機能注釈によるパスウェー解析によ
32 り、24時間のOTAの持続的ばく露によりmRNAスプライシング、ヌクレオチ
33 ド代謝、細胞周期、DNA修復、脂質及びリポタンパク質代謝が影響を受け、
34 その全ての代謝経路に対するASK1の関与が示唆された。スプライセオソーム
35 経路に関連するタンパク質のほとんどはOTAばく露により発現低下したが、
36 その中にG2/M期進行の調節因子である細胞分裂周期5様タンパク質（CDC5L）
37 が見出された。

以上より、OTAは酸化ストレス誘導を介してASK1を活性化し、さらにASK1自身がROS産生の増幅にも関与して毒性を発揮することが示された。活性化されたASK1は、DNA損傷（ヌクレオチド代謝障害）、細胞周期チェックポイント、DNA修復機構、RNA合成阻害など複数の経路を通じてアポトーシスを誘導した。DNA損傷が生じると細胞周期チェックポイントが修復機構を起動し、修復に失敗した場合にはアポトーシスが活性化された。同時に、DNA損傷はRNA合成を抑制し、抗アポトーシス遺伝子の発現低下を引き起こした。（文献リストNo.297）

そのほか、HepG2、Caco-2等の培養細胞及びラット初代培養尿細管細胞等を用いた *in vitro* 実験によって、OTAの毒性に対する酸化ストレスの関与が示唆されたとする知見が報告されている。（参照 310, 312, 318, 319）

・ *in vivo* 試験

ラット（Wistar、雄、一群6匹）に0又は0.289 mg/kg 体重のOTAが48時間毎に3週間経口投与された。OTA投与1時間前にSOD及びカタラーゼを皮下注射すると酵素尿、蛋白尿、クレアチニン血症及びOTAの尿中排泄を指標としたOTAの腎毒性が軽減された。これらの結果は、*in vivo*のOTA腎毒性にスーパーオキシドラジカルと過酸化水素が関与していることを示唆していた。（参照 156）

³²P-ポストラベル法を用いて、酸化ストレスがDNA付加体スポット形成に及ぼす影響が調べられた。抗酸化剤であるビタミンA、ビタミンC又はビタミンEをマウス（Swiss、雄、匹数不明）に前投与するとスポットの数が減少したことが報告されている。（参照 317）

ラット（Dark Agouty 又は Lewis、雄、一群20匹）に0.4 mg/kg 体重/日のOTAが1週間に3日の頻度で2年間強制経口投与された。OTAの腎毒性における酸化ストレスの関与を調べる目的で抗酸化剤2-メルカプトエタンスルホン酸（MESNA）²⁵を前投与すると、腎臓におけるOTA誘導性の巨大核細胞が有意に減少すると共に³²P-ポストラベル法で検出されたDNA断片の数と強度が減少した。一方、腎腺癌を発症したラットは、OTA投与群では6/20であったが、OTA及びMESNA投与群では8/20であり、MESNAは腎腺癌の発生頻度減少には効果を示さなかった。著者らは、OTAの巨大核細胞誘導と発がん作用は異なるメカニズムによると考えた。（参照 300）

ラット（Wistar、雄、一群8匹）に0.289 mg/kg 体重/日のOTA又は0.289 mg/kg 体重/日のOTA及び活性酸素のスキャベンジャーであるメラトニンを10 mg/kg 体重/日で30日間飲水投与した結果、メラトニン投与群の病理組織学検

²⁵ MESNAは腎臓で遊離チオール基を増加させることで酸化ストレスを防ぎ、LPO産生物を減少させる。

査では OTA で誘発される肝毒性及び腎毒性が軽減された。(参照 320)

赤ワイン中の抗酸化性フラボノイドが OTA の毒性に及ぼす影響を調べる目的で、赤ワインに OTA を溶解し、ラット (Wistar、雄、一群6匹) に 289 µg/kg 体重/日の OTA が 1 日おきに 14 日間強制経口投与された。OTA のみの投与では腎臓の脂質ヒドロペルオキシド (LOOH) の増加、還元型グルタチオン (GSH) /酸化型グルタチオン (GSSG) の低下及び SOD 活性の低下がみられたが、OTA と共に赤ワインを投与することによってこれらの変化が抑制された。(参照 321)

ラット (Sprague-Dawley、雄、一群 10 匹) に 0.2 mg/kg 飼料の OTA を 4 週間混餌投与し、腎臓、肝臓及び脳における DNA の断片化、非タンパク質チオール基 (RSH)、LOOH レベル及びヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) 発現が調べられた。OTA 投与群の腎臓、肝臓及び脳より抽出された DNA を電気泳動した結果スミアが認められ、DNA 損傷が生じていることを示唆していた。OTA 投与群のラットは OTA 非投与の対照群に比較して、腎臓及び肝臓の RSH 含量が有意に減少し、全ての組織の LOOH が有意に増加した。これらの OTA の影響は抗酸化剤であるシアニジン 3-O-β-D-グルコシド (C3G) の共投与により抑制された。OTA 投与により腎臓及び肝臓において活性酸素の消去を触媒する HO-1 が有意に誘導された。著者らは、酸化ストレスが OTA の作用に関与していると考えた。(参照 322)

ラット (F344、雄、一群5匹) に OTA を 21 日又は 12 か月間混餌投与する毒性試験が実施された。体重が 333 g になるまでは 0.300 mg/kg 体重/日、その後は 0.100 mg/匹/日の OTA を投与した。酸化ストレス応答に関与する GSH 関連酵素であるγ-グルタミルシステイン合成酵素 (GCLC)、GSTP1、GSTA5 及び GSTM1 の発現が OTA 投与群のラット腎臓でいずれの時期においても減少していた。ラット初代培養肝細胞及び NRK 細胞を用いた *in vitro* 試験においても、細胞毒性を生じる濃度より低い濃度の OTA によってこれらタンパク質の発現の抑制が認められた。これらの遺伝子の DNA の調節領域に結合して遺伝子発現を増加させる転写因子 Nrf2 への OTA の影響をラット初代培養肝細胞及び RL-34 細胞 (ラット肝細胞由来細胞株) を用いて調べた結果、OTA は、Nrf2 と DNA 調節領域の結合を抑制し、Nrf2 の転写活性を低下させた。同じ培養条件において DNA の塩基脱落が認められ、DNA の酸化損傷が引き起こされていることが示された。12 か月間 OTA を投与した群のラット腎臓においても、OTA 非投与の対照群に比べて DNA の塩基脱落部位が有意に増加した。これらの OTA により引き起こされた変化は、Nrf2 経路の活性化剤により阻害されることが、上記細胞を用いた *in vitro* の試験系で認められた。以上より、著者らは、Nrf2 が抑制されることによって、酸化ストレスに対する細胞の防御作用が低下することが、OTA の腎毒性及び発がんのメカニズムであろうと考えた。(参照 313)

ラット（Wistar、雄、一群 6 匹）に 0、0.000005 mg/kg 体重/日又は 0.050 mg/kg 体重/日の OTA が 15 日間強制経口投与された。酸化ストレスの指標となる MDA 及びカルボニル化タンパク質（PCs）の濃度が肝臓では 0.050 mg/kg 体重/日投与群で有意に高く、腎臓では、0.000005 mg/kg 体重/日投与以上の群で OTA 非投与の対照群に比べて有意に増加していたが、用量反応性はみられなかった。カタラーゼ及び SOD 活性には変化は認められなかった。（参照 323）

ラット（Sprague-Dawley、雄、一群 6 匹）に 0 又は 0.5 mg/kg 体重/日の OTA を 14 日間強制経口投与し、腎臓における病理組織検査が実施された。OTA 投与群の腎臓においてカタラーゼ活性の低下、SOD 活性の上昇及び GSH 濃度の低下がみられ、酸化ストレスが誘導されたことを示していた。OTA 投与群では OTA 非投与の対照群に比べ、腎臓皮質及び髄質におけるアポトーシス細胞がそれぞれ 10 倍及び 3 倍に増加した。腎臓の MDA 濃度に変化はみられなかった。OTA と共に抗酸化剤のリコペンを 5 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与すると OTA の GSH 及びアポトーシスへの影響が軽減された。（参照 324）

【追加知見】マウス（CD1、雄、一群7匹）に0、1又は10 mg/kg体重/日の OTAを単回又は3日間反復経口投与した。また、0又は0.5 mg/kg体重/日の OTAを21日間反復経口投与した。血漿中のOTA濃度は、1及び10 mg/kg体重/日単回投与群でそれぞれ0.84及び2.72 µg/mL、3日間投与群でそれぞれ0.27及び1.97 µg/mLであった。0.5 mg/kg体重/日21日間投与群では、0.23 µg/mLであった。単回投与では両用量群で腎臓相対重量が増加した。脾臓相対重量は10 mg/kg体重/日投与群でのみ増加した。一方、3日間経口投与群では脾臓相対重量が低下した。21日間のOTA投与では腎臓相対重量が低下した。腎臓の病理組織検査では、3日間投与群で腎皮質内側に尿細管変性を認め、尿細管上皮の散発的壊死と壊死細胞の尿細管腔への剥離、尿細管細胞の多発性の巣状壊死、細胞サイズの縮小、アポトーシス小体の分散、及び核内のクロマチン凝集が観察された。21日間投与群では、尿細管上皮細胞の再生が見られた。腎臓中の GSH濃度は、OTAの1及び10 mg/kg 体重/日の単回投与群（1日後）において低下したが、3回投与群（3日後）では変化しなかった。OTAの0.5 mg/kg 体重/日の21日間反復投与群でもGSH濃度が低下した。腎臓中の酸化型グルタチオン（GSSG）濃度も、OTAの1及び10 mg/kg 体重/日の単回投与群（1日後）で低下したが、3回投与群（3日後）では変化しなかった。逆に、OTAの0.5 mg/kg 体重/日の21日間反復投与群では上昇した。これらの群のうち、10 mg/kg体重/日3日間投与群で腎皮質のグルタチオンペルオキシダーゼ（GPx）活性が低下したが、グルタチオン還元酵素（GR）には変動を認めなかった。10 mg/kg体重/日単回投与群と1及び10 mg/kg体重/日3日間投与群でグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（Gsta）mRNAが低下した。また、1及び10 mg/kg 体重/日3日間及び0.5 mg/kg 体重/日の21日間投与群ではグルタチオンペルオキ

シダーゼ1 (*Gpx1*) 遺伝子mRNAが低下した。一方、グルタチオンペルオキシダーゼ2 (*Gpx2*) 遺伝子mRNAは3日間投与群の両用量で低下するものの単回投与群では用量依存的に増加した。OTAの単回投与群（1日後）、3回投与群（3日後）のいずれの用量、及び21日間反復投与群において、酸化ストレスで活性化する転写因子Nrf2のmRNAレベルが増加した。一方、Nrf2のタンパク質レベルは単回投与群（1日後）の両用量で低下するものの、3回投与群（3日後）の10 mg/kg体重/日用量で上昇した。21日間のOTA投与では、Nrf2のタンパク質レベルは変動しなかった。これに対し、Nrf2活性化因子の*Keap1*のmRNAレベルはOTAの単回投与群（1日後）の高用量と3回投与群（3日後）の両用量で低下した。しかし、NRF2 Ser40リン酸化タンパク質（NRF2 Ser40-P）のレベルは単回投与群（1日後）及び21日間のOTA投与では増加は認められなかった。抗酸化反応としてNQO1 mRNAレベルがOTAの単回投与群（1日後）、3回投与群（3日後）のいずれの用量においても低下し、グルタチオンシンセターゼ (*Gss*) mRNAレベルも単回投与群、3回投与群の10 mg/kg体重用量で低下した。熱及び酸化ストレスで誘導されるタンパクのヘムオキシゲナーゼ1 (*HO-1*) mRNAレベルが3回投与群の10 mg/kg体重用量で増加した。*Sod1* mRNAレベルは単回投与群の10 mg/kg体重で増加したものの、3日間投与群では両用量で低下した。*Sod2* mRNAレベルは3回投与群の10 mg/kg体重用量で低下した。抗酸化作用に機能するがん抑制遺伝子産物として知られるHECTドメインとアンキリンリピートを含むE3ユビキチンタンパク質リガーゼ1 (HACE1) のmRNAレベルとHECTドメインタンパク質が単回投与群の10 mg/kg体重用量で増加した。3日間投与群では両用量で低下した。また、HACE1の分解標的であるグアノシン三リン酸フォスファターゼ (GTPases1) *Rac1* mRNAレベルが3日間投与群の10 mg/kg体重/日用量で増加した。

本研究の結果から、OTAは腎臓においてフリーラジカル生成を引き起こすことが明らかとなった。しかし、この過程は投与量よりもむしろばく露期間に強く依存していた。フリーラジカル生成はKEAP1/NRF2/ARE経路を活性化するが、その活性化様式は時間および用量に依存した。OTAばく露によりNrf2 mRNAレベルは増加し、Gss及びNQO1などの抗酸化応答配列 (ARE) をプロモーターに有する抗酸化関連遺伝子群の活性化が示唆されたものの、核内へ移行してAREを活性化するNRF2 Ser40-Pのレベル増加は認められなかった。NRF2依存性遺伝子のmRNAレベルが低かったことから示されるように、AREの活性化不全は抗酸化防御機構の不全を招き、その結果として酸化ストレスが生じ、最終的に細胞傷害へとつながった。（文献リストNo.129）

OTA が精巣で過酸化脂質の生成を誘導することが報告されている。マウス（系統不明、雄、一群 10 匹）に0、0.05 又は0.1 mg/匹/日のOTAが45日間経口投与された。マウス精巣中において過酸化脂質の分解物であるMDAが用量依

1 存的に有意に増加した。また、SOD、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンレダクターゼ及び GST の活性が用量依存的に低下し、0.1 mg/匹/日の OTA 投与群では有意に低下した。(参照 187)

2 ラット (Sprague-Dawley albino、雄、一群 10 匹) に 0 又は 0.2 mg/kg 飼料の OTA を 4 週間混餌投与し、NO 産生調節に関与する DDAH 及び NO 合成酵素 (NOS) 誘導への影響が調べられた。OTA 投与群では肝臓と腎臓に NO 合成酵素 NOS アイソフォームの一つである iNOS タンパク質の発現が認められた。腎臓には更に NOS 合成酵素アイソフォームの eNOS 及び内因性の NOS 阻害物質を分解する DDAH-1 タンパク質の過剰発現が認められた。抗酸化作用を有する C3G を同時投与すると、これらの影響は軽減した。(参照 325)

3 一方、以下のように *in vitro* 及び *in vivo* において、OTA による酸化ストレスが認められなかった報告もある。

4 ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 0、0.3、1 又は 2 mg/kg 体重の OTA (を強制経口投与後 4、8、24 及び 48 時間目の血漿、腎臓及び肝臓中の MDA を GC-MS で測定した結果、いずれの MDA 濃度にも増加が認められなかった。また、1 mg/kg 体重投与後、腎臓 DNA 中の 8-OHdG レベルにも増加が認められなかった。(参照 326)

5 ラット初代培養肝細胞及び NRK 細胞と OTA をインキュベーションし、NO 産生に係る酵素への影響を調べた結果、HO-1 及び iNOS タンパク質レベルの OTA 用量依存的増加が認められた。NO のタンパク質及び DNA への影響をそれぞれチロシン残基のニトロ化及び 8-ニトログアニンを指標に調べた結果、OTA はタンパク質及び DNA のニトロ化を誘導したが、NO の合成阻害は OTA に誘導された 8-ニトログアニン量に変化を及ぼさず、OTA の DNA への影響に NO は関与していないと考えられた。(参照 309)

6 ラット (F344、雄、一群 3 匹) に 0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA を 1 週間に 5 日、2 週間経口投与した腎臓において、LC-MS/MS により LPO 関連付加体生成を検討する試験が実施された。ラットは最終投与 72 時間後にと殺された。尿中には OTA の代謝物は検出されなかった。酸化ストレスのマーカーである、MDA 及び 4-ヒドロキシアルケナール並びに DNA における 8-OHdG、1,N⁶-エテノデオキシアデノシン及び 1,N²-プロパノデオキシグアニン付加体について定量した結果、OTA 投与による腎臓及び肝臓におけるこれらの付加体の増加は認められなかった。(参照 168)

7 ラット (F344/N-Tg (*gpt delta*)、雌雄、一群 5 匹) に 0 又は 5 mg/kg 飼料 (雄 : 0.36 mg/kg 体重/日、雌 : 0.38 mg/kg 体重/日) の OTA を 13 週間混餌投与し、腎臓髄質外層外帯における 8-OHdG を測定した結果、非投与群及び投与群に差は認められなかった。また、OTA 投与群では髄質外層外帯特異的に遺伝子欠失が認められた。このことから、著者らは DNA の欠失変異には酸化スト

レスは関与していないと考えた。(参照 253)

(b)細胞有糸分裂阻害等

・ *in vitro* 試験

IHKE 細胞（ヒト腎臓上皮細胞由来細胞株）を 0～0.050 mM の OTA と 12 時間又は 24 時間インキュベーションした結果、0.001 mM 以上の濃度で 24 時間後に有意な細胞数の減少並びに時間及び用量依存的なアポトーシスの増加が認められた。OTA 処理群では、多倍染色体を有する巨大核細胞が認められ、染色体の不分離を示す染色分体橋も観察された。巨大核を含めた染色体異常は 24 時間後に OTA 非処理の対照群では $1.97 \pm 0.16\%$ であったのに対し、0.010 mM 及び 0.050 mM OTA 処理でそれぞれ $4.36 \pm 1.15\%$ 及び $7.25 \pm 1.16\%$ と有意に増加した。0.010 mM 以上の OTA 濃度では、有糸分裂後期及び終期にある細胞の割合が有意に減少した。 α チューブリンの免疫組織化学より、OTA が紡錘糸形成を阻害していることが示唆され、*in vitro*において OTA が用量依存的に微小管の形成を阻害することが示された。一方、細胞生存に係る NF κ B シグナルは OTA により増強されていた。これらの結果から、著者らは、OTA は紡錘体形成を阻害し、有糸分裂の中期から後期への移行に障害がおき、巨大核細胞及び細胞分裂異常に関与していると考えた。(参照 327)

V79 細胞又はヒト末梢血リンパ細胞において、OTA は染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験及び小核試験では陰性であったが、これらの細胞をOTA と 3時間インキュベーションすると、凝縮して倍加した染色体及び部分的に不規則に分離した染色分体が認められる細胞数が明らかに増加した。これらの結果から、OTAはDNA複製後の細胞分裂を阻害していると考えられた。また、V79 細胞をOTAと24時間インキュベーションしたときのIC₅₀の濃度において、OTAが細胞周期に及ぼす影響をフローサイトメトリーを用いて調べた結果、G₂/M期の移行阻害が観察された。DNAの複製阻害は認められなかった。(参照 224, 229)

CHO 細胞を 0、0.2、0.8 又は 1 mM の OTA とインキュベーションすると、多倍染色体を有する細胞が用量依存的に増加した。0.05 mM～1 mM の OTA 用量で細胞分裂の過程において DNA のもつれを解消する TopoII の活性が用量依存的に減少していたことより、OTA が細胞分裂を阻害していると推測された。(参照 240)

IHKE 細胞を 0、0.001、0.005、0.010、0.025 又は 0.050 mM の OTA とインキュベーションすると、0.005 mM 以上の濃度で有糸分裂の阻害が認められ、0.025 mM 以上の濃度で姉妹染色分体の異常な凝縮及びコヒーシンの欠如による姉妹染色分体の分離と共に、染色体の構造タンパク質であるヒストンのアセチル化の低下が認められた。核ホモジネートを用いて測定した核内ヒストンA

セチル基転移酵素（HAT）活性は、OTAの濃度依存的に低下し（ $IC_{50}=0.0245$ mM）、姉妹染色分体を接着しているコヒーシンの誘導に必要とされているH3Thr3²⁶のリン酸化が消失した。ヒストンのアセチル化は、転写活性化を誘導し、有糸分裂、DNAの修復等に重要な役割を果たしていることが知られており、著者らは、HATの阻害がOTAの一次的な細胞内標的であり、これが発がん作用に関与していると考えた。（参照 328）

OTAはGES-1細胞（ヒト胎児消化管粘膜上皮細胞由来細胞株）にG₂期遅延を誘導した。GES-1細胞をOTAと24時間インキュベーションすると、細胞周期を制御するCdc25c、Cdc2及びサイクリンB1のタンパク質発現が抑制され、Cdc25c及びCdc2のリン酸化が促進された。これらの結果、G₂期遅延が誘導されると考えられた。細胞増殖及び細胞生存に関与するMAPキナーゼ（MAPK）ファミリーメンバーのERK及び細胞外シグナル制御キナーゼ38（p38）の発現をsiRNAにより抑制するとG₂期遅延にある細胞の割合が有意に減少したことより、OTAの細胞周期への影響はこれらのシグナルを介していると考えられた。（参照 329）

【追加知見】 HEK293細胞（ヒト胎児腎細胞由来株）を0、12.5、25又は50 μ MのOTAで24時間インキュベーションした結果、OTAばく露により12.5 μ Mから用量依存的に細胞生存率とミトコンドリア膜電位が低下し、ROS産生が増加した。また、OTAばく露によりコメットアッセイにおいてDNA損傷が認められ、DNA二本鎖切断マーカーの γ -H2AXのタンパク質発現が増加した。OTAばく露により細胞周期の分布に変化を示し、用量依存的にG₀/G₁期細胞とG₂/M期細胞が減少し、S期細胞が増加した。また、OTAばく露によりアポトーシスの形態学的証拠である染色体凝縮を観察し、Hoechst 33342染色により用量に依存して核の縮小と鮮やかな青色を示すアポトーシス像が増加し、切断型の活性化Caspase-3も用量依存的に増加した。OTAばく露の全ての濃度で細胞周期のS期への進入と進行に関わるサイクリンA2、サイクリンE1及びサイクリン依存性キナーゼ2（CDK2）のmRNAレベル及びタンパク質の発現量が無処置対照群に比較して減少した。

以上より、HEK293細胞においてOTAばく露により用量依存的に細胞内ROS産生の増加、ミトコンドリア膜電位の低下、DNA損傷が引き起こされることが示された。さらに、OTAはS期での細胞周期停止およびアポトーシスを誘導した。これらの結果から、OTAはDNA損傷とそれに続くS期停止を介して細胞増殖を有意に抑制することが明らかとなった。S期停止は、サイクリンA2、サイクリンE1、CDK2といったS期関連タンパク質の発現低下に起因する可能性が示唆された。このOTA誘発性S期停止は、OTAによる腎毒性と発がんの機序

²⁶ ヒストンH3タンパク質のN末端側から3番目のスレオニン

の一端を示すものと考えられた。（文献リストNo.588）

【追加知見】HK-2細胞（ヒト近位尿細管上皮細胞由来株）を用いて、チミジンアナログの5-ヨード-2'-デオキシウリジン（IdU）を添加して、20分間インキュベーション後に、引き続き0、10、25又は50 μM のOTAを添加して1時間インキュベーションを行って複製DNAを標識した後に、別のチミジンアナログである5-クロロ-2'-デオキシウリジン（CldU）を含む培養液で40分間インキュベーションすることにより新たに合成されたDNAを標識し、両標識の長さ（トラック）を比較するDNAファイバーアッセイを実施した結果、全てのOTAの処理濃度で複製DNAフォーク速度が低下したが、フォーク停止はほとんど認められなかった。さらに、OTA（10 μM ）はゲノム全体で均一にトラック長を短縮させ、DNA複製を全体的に遅延させることが示された。

また、過剰なチミジン添加を二回繰り返すチミジン二重阻害法により、細胞を後期G₁/S期に同期させた後に、引き続きS期に5-エチニル-2'-デオキシウリジン（EdU）と0、10、25又は50 μM のOTAで4時間インキュベーションした結果、OTAの濃度依存的にEdUの取り込みが減少し、DNA合成が抑制された。

HK-2細胞を0、1、5、10、25又は50 μM のOTAで1又は4時間処理した結果、ウェスタンブロット法にて1時間処理では γ -H2AXの誘導を認めなかったものの、4時間処理で濃度依存的な増加を認めた。免疫蛍光解析では、核内の γ -H2AXフォーカスは主にCldU陽性のS期細胞に出現し、DNA複製との関連が示された。また、チミジン二重阻害処理により、細胞を後期G₁/S期に同期させた後に、引き続きS期に0、10、25又は50 μM のOTAで4時間インキュベーションした結果、用量依存的に γ -H2AX誘導が増加した（増加は50 μM 群で有意）。一方、HK-2細胞をCDK1阻害剤のRO3306で24時間処理してG₂期後期に同期させ後に、引き続きM期（有糸分裂期）に0、10、25又は50 μM のOTAで4時間インキュベーションした結果、 γ -H2AXの誘導に影響はなかった。また、HK-2細胞を0又は50 μM のOTAで1時間インキュベーション後にEdUを添加し30分間インキュベーションしてクロマチン線維を免疫蛍光抗体法にて染色した結果、新たに複製されたクロマチン線維に沿って γ -H2AXの誘導が確認され、DNA複製ストレスとの関連が支持された。

HK-2細胞をチミジン二重阻害法により後期G₁/S期に同期させた後に、S期に0、10、25又は50 μM のOTAで4時間処理し、さらに17時間の経過により有糸分裂を経てG₁期に至った細胞で、50 μM OTAで γ -H2AXと共に53BP1の核内フォーカスが増加した。以上の結果は、OTAによりS期に生じたDNA損傷がG₂期およびM期で完全に修復されず、次のG₁期まで持ち越される可能性が示唆された。

HK-2細胞を細胞周期を同期させずに、又はチミジン二重阻害により後期G₁/S期で停止させた後のS期に0、1、5、10、25又は50 μM のOTAで1-4時間

インキュベーションした結果、DNA損傷反応経路としてATR-Chk1の活性化は認められず、ATM-Chk2もわずかな活性化を示したのみであった。さらに、細胞周期制御因子Wee1およびCDC25Cにも変化は見られず、OTAによる複製ストレスはDNA複製チェックポイントを十分に活性化しない可能性が示された。

後期G1/S期に細胞周期停止させたHK-2細胞において、2回目のチミジン阻害処理時の最後の1時間にキナーゼ阻害剤を添加し、S期に移行後、それぞれの阻害剤の存在下で50 μ MのOTAを添加して4時間インキュベーションした結果、ATR²⁷の阻害剤であるVE-821ではOTA誘導 γ -H2AX発現は抑制されず、ATM²⁸の阻害剤であるKU-55933では γ -H2AXがわずかに減少したのみであった。それに対して、DNA-PKcs²⁹の阻害剤であるNU-7026では γ -H2AXシグナルが顕著に減少し、DNA-PKcsリン酸化（Ser2056）はOTA濃度依存的に増加した。

以上の結果から、OTAはS期においてDNA複製フォークの進行を遅延させ、DNA合成を抑制することが示され、DNA複製の阻害がOTA遺伝毒性の初期イベントである可能性が示唆された。OTAによる γ -H2AXの増加は主にDNA複製に依存して生じることが確認されたが、通常のDNA損傷応答であるATR-Chk1およびATM-Chk2チェックポイントは十分に活性化されなかった。その結果、DNA損傷細胞やDNA複製中の細胞が有糸分裂へ進行し、染色体分離異常やゲノム不安定性を引き起こす可能性がある。また、 γ -H2AX誘導にはDNA-PKcsが主要な役割を果たすことが示唆された。このことから、OTAによる遺伝毒性はDNA複製ストレスに起因する可能性が示唆された。（ご提供文献No.4）

OK 細胞（オポッサム腎臓上皮細胞株）、WI26 細胞及び HK2 細胞を用いて OTA、OTBr 又は OTHQ が細胞増殖に及ぼす影響が調べられた。OK 細胞に対しては OTA、OTBr、OTB 及び OTHQ の順に毒性が強く、WI26 細胞に対しては OTA の毒性が最も強く、ついで OTBr と OTB が同程度、OTHQ には毒性が認められず、HK2 細胞に対しては OTA のみに毒性が認められた。（参照 290）

・ *in vivo* 試験

ラット（F344、雄、匹数不明）に 0.021、0.070 又は 0.210 mg/kg 体重/日の

²⁷ DNA一本鎖切断や複製ストレスを検知し、チェックポイント機構で細胞周期を停止させる重要なDNA損傷応答因子

²⁸ DNAの二本鎖切断（DSB）などのゲノムストレスを感知し、修復や細胞周期の停止を行うDNA損傷応答因子

²⁹ DNA-DSBを修復する非相同末端結合経路で中心的な役割を果たす酵素であるDNA依存性プロテインキナーゼの触媒サブユニット

OTA を、14 日間又は 90 日間（5 日/週投与）強制経口投与した後に腎臓を採取し、定量的リアルタイム PCR アレイで細胞周期及び有糸分裂に関わる遺伝子の発現を、また、免疫組織化学法及びウェスタンブロット法で関連タンパク質の発現が調べられた。投与 90 日後に、0.070 mg/kg 体重/日以上 of OTA 投与群で有糸分裂の主要制御因子（PLK1、Aurora B、Cdk1^{Cdc2}、サイクリン E1 等のサイクリン、CDK 阻害因子、TopoII、サバイビン等）が OTA により過剰に発現した。投与 14 日目の 210 µg/kg 体重/日の OTA 投与群には、90 日後と比較して程度は低いながらこれら遺伝子の過剰発現が認められたが、70 µg/kg 体重/日投与群では認められなかった。遺伝子発現の変化と一致し、髄質外層外帯の近位尿細管細胞におけるタンパク質発現（Cdk1^{cdc2}、p21^{WAF1/CIP1}、TopoII 及びサバイビン）にも投与後日数と投与量に依存した変化が認められ、Aurora B のターゲットであるヒストン H3Ser10³⁰のリン酸化が亢進されていたことから、有糸分裂過程の細胞にアポトーシスが誘導されていることが示唆された。これらの結果より著者らは、OTA による発がんの初期から有糸分裂の主要制御因子等の関連遺伝子とタンパク質の異常発現を示し、有糸分裂の障害と染色体の不安定性が引き起こされると考えた。（参照 330）

ラット（F344/N、雄、一群 10 匹）に発がん用量である 0.210 mg/kg 体重/日の OTA を 28 日間経口投与すると、近位尿細管に巨大核細胞、細胞増殖及びアポトーシスが認められた。発がん部位である腎臓髄質外層外帯における細胞周期への影響を調べた結果、OTA 投与群では DNA 損傷応答に係る Cdc2 及び γH2AX タンパク質の細胞核内における増加並びに G₂/M 期の移行阻害に関与する Chk-2 タンパク質のリン酸化が認められた。網羅的な遺伝子発現解析の結果、ユビキチン D (Ubd)の遺伝子発現が有意に増加していた。Ubd は、M 期の紡錘体（スピンドル）チェックポイントに重要である Mad2 と結合することが示されており、Mad2 を阻害することにより染色体不安定性を誘導する可能性が示されている（参照 331）。OTA 投与により Ubd の発現が M 期のみならず G₂ 期にも認められたことより、著者らは、G₂ 期に Ubd の発現が高い細胞においては、G₂ 期に続く M 期の紡錘体（スピンドル）チェックポイント監視機構が破綻して染色体不安定性を誘導し、OTA の発がん作用に関与していると考えた。（参照 332, 333）

【追加知見】 マウス（p53発現 *gpt* delta transgenic [*p53*^{+/+}]及びp53欠損 *gpt* delta transgenic [*p53*^{-/-}]、雄、一群5匹）に0又は5 mg/kg 体重/日のOTAを3日間経口投与し、腎臓を試料としたコメットアッセイで投与群のDNA損傷を検討した。DNA損傷の程度は、*p53*^{-/-}及び*p53*^{+/+}マウスで差が無かった。マウス（*p53*^{+/+}及び*p53*^{-/-}、雄、一群10匹）に同用量のOTAを4週間（5日/週）経口

³⁰ ヒストンH3タンパク質のN末端側から10番目のセリン

投与した結果、*p53*^{-/-}及び*p53*^{+/+}マウスの投与群で体重及び腎重量が低下した。また、*p53*^{-/-}及び*p53*^{+/+}マウスで腎臓の髄質外層外帯でアポトーシス及び巨大核形成の割合が増加し、その程度は*p53*^{-/-}マウスよりも*p53*^{+/+}マウスで増加した。アポトーシス細胞の核でCaspase-3を確認した。OTAを投与した*p53*^{+/+}マウスの尿細管上皮細胞の核で γ -H2AXの核陽性像を示す尿細管上皮細胞数が増加したが、*p53*^{-/-}マウスでの γ -H2AX陽性細胞数はOTA投与により更に増加した。OTAを投与した*p53*^{-/-}及び*p53*^{+/+}マウスで発現変動に差を認めた細胞周期停止関連（*Cdkn1a*及び*Pkmyt1*など）、細胞周期進行関連（*Ccne1*及び*Plk1*など）、DNA二本鎖切断修復（*Rad51*及び*Bard1*など）、トランス損傷合成（*Polk*など）及びプロアポトーシス遺伝子（*Bax*及び*Hrk*など）を含む1,073個の遺伝子が認められた。その特徴的な遺伝子発現の違いから判断して、OTA投与*p53*^{+/+}マウスの腎臓では*p53*依存的に*p21*タンパク質をコードする*Cdkn1a*発現が増加して、G1/S期での細胞周期停止が示唆された。一方、OTA投与*p53*^{-/-}マウスの腎臓では*Pkmyt1*の発現が増加しG2/M期での細胞周期停止が示唆された。*p53*^{-/-}マウスでは更に、*p53*^{+/+}マウスと比較して、細胞周期進行関連遺伝子（*Ccne1*、*Ccnb1*、*Cdk1*、*Plk1*、*Aurka*）や相同組換え（HR）関連遺伝子（*Rad51*、*Rad54l*、*Bard1*、*Brip1*）が大きく発現増加した。*Polk* mRNAの発現は、*p53*^{+/+}マウスのみで増加した。また、*p53*依存的なプロアポトーシス遺伝子である*Bax*は*p53*^{+/+}マウスのみで発現増加し、それ以外のプロアポトーシス遺伝子（*Bak1*、*Bbc3*、*Hrk*）は*p53*遺伝子の有無にかかわらずOTA投与により増加した。さらに、マウス（*p53*^{+/+}及び*p53*^{-/-}、雄、一群5匹）に同用量のOTAを4週間（5日/週）経口投与し、腎臓を試料としてSpi-アッセイを実施した結果、OTA投与*p53*^{-/-}マウスでのみSpi-突然変異体頻度が増加し、塩基欠失、塩基置換、塩基挿入が増加した。

結論として、OTAはラットでの観察と同様に、マウスの腎臓の発がん標的部位でDNA二本鎖切断を誘発した。*p53*はDNA二本鎖切断の形成とそれに続く遺伝子変異を防ぎ、これはおそらく*p53/p21*を介した細胞周期制御に起因するものであった。（文献リストNo.266）

(c) その他

NRK-52E細胞（ラット近位尿細管由来細胞株）に0.000100又は0.001 mmol/L濃度のOTAをばく露すると、上皮堅牢性の喪失又は壊死による細胞数減少及びアポトーシス増加など、慢性の間質性腎症に特有の変化が確認された。OTAは、炎症マーカーであるNF κ Bの活性化、線維症のマーカーであるコラーゲン分泌及び上皮間葉転換のマーカーである α -平滑筋アクチンの生成を誘発した。また、用量依存的に、細胞外シグナル制御キナーゼであるセリン/スレオニンキナーゼ1/2 (ERK 1/2)、JNK及び*p38*も誘導した。（参照 334）

ヒト腎臓尿細管細胞及び肺線維芽細胞の初代培養細胞を用いて OTA の毒性が調べられた。細胞と 0.0003~0.0010 $\mu\text{mol/L}$ の OTA が 2、5 又は 14 日間インキュベーションされた。カスパーゼ-3 活性及び LDH 活性が、それぞれアポトーシス及び壊死細胞の指標として測定された。尿細管細胞は、カスパーゼ-3 と LDH 放出の増加に関して、線維芽細胞より約 10 倍高い感受性を示し、低濃度 (0.0003~0.010 mmol/L) の OTA に 14 日間ばく露することにより、細胞の肥大化が認められた。尿細管細胞特異的に NF κ B 活性の増加と共に線維症のマーカーであるコラーゲン III 及びフィブロネクチン分泌が増加した。(参照 334, 335, 336)

OTA によるエピジェネティックな遺伝子発現の変化及びシグナル伝達系の変化が、OTA の発がん性に関与していることを示唆している報告がある。F344 ラット（雄、一群 4 匹）に体重が 333 g になるまでは 300 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日、その後は 0.100 mg/匹/日 の OTA を 7 日間、21 日間又は 12 か月間混餌投与し、腎臓におけるタンパク質キナーゼ (PKC) 及びヒストンデアセチラーゼ (HDAC) のタンパク質の発現が調べられた。OTA 非投与の対照群と比較して、OTA 投与群では 21 日目以降 PKC のリン酸化が有意に増加し、PKC の下流シグナル因子である ERK 1/2 等の活性化と相関していた。インスリン様成長因子-1 受容体 (IGF-1r) と IGF-1 によって活性化されるイノシトールリン脂質依存性キナーゼ-1 系 (PDK1) の発現増加が OTA 投与 7 日目及び 21 日目で認められたことから、これらが PKC の上流で作用している可能性が考えられた。また、OTA 投与群では HDAC3 タンパク質の発現が促進されて、HDAC の活性化が認められた。著者らは、HDAC3 を介したヒストン脱アセチル化による遺伝子発現抑制がシグナル伝達を活性化し、細胞増殖、アポトーシス抑制等を介した発がんに関与していると考えた。(参照 337)

結節性硬化症 2 腫瘍抑制遺伝子 (*Tsc2*) 中に優性の生殖細胞系列変異に対し異型接合を持つラット (*Eker*、性別不明、匹数不明) 及び野生型ラット (性別不明、匹数不明) に、210 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日の OTA が 1、3、7 又は 14 日間強制経口投与された。腎臓の皮質又は髄質外層外帯における病理組織、細胞増殖活性及び遺伝子発現プロファイルが調べられた。OTA は、皮質に軽度の病理組織変化 (前腫瘍性病変) を誘発し、野生型ラットでは 14 日目に、*Eker* ラットでは 7 日目から有意に細胞増殖の増加を引き起こした。OTA 投与群では、代謝酵素遺伝子 (*CYP4A12*)、DNA 修復遺伝子 (*SUPT16H*)、酸化ストレス応答遺伝子 (*SEPP1*) 等の遺伝子発現が促進される一方、ラパマイシンシグナル経路の標的であるフォスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) - AKT-*Tsc2* の多数の遺伝子の発現が抑制された。*Eker* ラットは、全ての影響に対し、野生ラットより OTA に対する感受性が高かった。当該研究では、影響の全体傾向から、*Tsc2* の、OTA の毒性への関与が示唆されている。(参照 338)

OTAの毒性の解明を目的として、cDNAアレイ解析及びプロテオーム解析により、*in vitro* 及び *in vivo* で網羅的な遺伝子発現又はタンパク質レベルの変化が調べられている。

ラット（Wistar、雄、一群 10 匹）に 0、1 又は 10 mg/kg 体重の OTA を経口投与し、24 時間後又は 72 時間後にと殺し、腎臓の組織学的検査が実施された。両用量とも 72 時間後にと殺したラットの主に皮質及び髄質外層に変性病変が認められた。壊死を起こした尿細管上皮細胞が、尿細管内に剥離していた。腎臓皮質における遺伝子発現の変化をマイクロアレイにより解析した結果、DNA 損傷（GADD153 及び GADD45）、アポトーシス（アネキシン V）及び炎症反応（ $\alpha_2\mu$ グロブリン、セルロプラスミン及びカテプシン S）に関係している遺伝子の発現に OTA 依存的な増加がみられた。（参照 339）

ラット（F344、雄、初期体重 175 g、一群 5 匹）に体重が 333 g になるまでは 0.3 mg/kg 体重/日、その後は 0.100 mg/匹/日の OTA を投与した。肝臓及び腎臓の遺伝子発現プロファイルが、OTA 投与開始後 7 日、21 日、4 か月、7 か月及び 12 か月目に調べられた。OTA 投与群の腎臓では、転写因子である Nrf2 によって発現が制御される解毒及び酸化ストレス応答に関与している多くの遺伝子（GST、NAD(P)H キノン還元酵素（NQO1）等）並びに脂肪酸代謝及び CYP に関与する遺伝子の発現が抑制され、これらのタンパク質の発現も抑制された。腎臓において、OAT、ナトリウム依存性リン酸トランスポーター（NaPi-2）などのトランスポーター遺伝子及び細胞外カルシウム恒常性維持を制御するレギュカルシンの遺伝子の発現が OTA 投与により抑制された。著者らは、カルシウム恒常性維持の変化並びに転写因子である HNF4 α 及び Nrf2 による遺伝子発現の抑制等のエピジェネティックな遺伝子機能の変化が酸化ストレスに対する細胞内防御を阻害し、OTA の発がん性に関与していると考えた。（参照 340）

【追加知見】 HK2細胞（ヒト尿細管上皮細胞由来株）を0、0.1、1又は10 μ MのOTAで24又は48時間インキュベーションした。10 μ Mでは、細胞生存率が低下し、Caspase-3/7活性が増加してPoly（ADP-Ribosyl）Polymerase（PARP）の切断がみられた。このOTA濃度でヨウ化プロピジウム（PI）染色とフローサイトメトリーを用いて解析した結果、PIヒストグラムのsubG0/G1期における低二倍体細胞の割合が増加した。OTAはPI3Kの触媒サブユニットであるp110 α の発現を用量依存的に増加させた。10 μ MではAktのSer473及びThr308残基のリン酸化を増加させ、このAktの活性化に一致して不活性型のGSK-3 β のSer9のリン酸化が増加した。PI3K/Akt経路の負の調節因子であるPTENのSer380リン酸化も減少した。さらに、発がんに関与するシグナル伝達経路であるMAPKのリン酸化ERK1/2が10 μ Mで増加した。

PI3K/Akt経路抑制剤であるウォルトマニンでHK2細胞を前処理した結果、

10 μ MのOTAにより誘発されたAkt活性を阻害したが、ERK1/2リン酸化を増加させてOTAによる細胞生存率低下を促進した。MEK/ERK1/2経路抑制剤であるU0126でHK2細胞を前処理した結果、10 μ MのOTAにより誘発されたAkt活性に影響を与えなかったが、OTAによる細胞生存率低下を改善した。また、U0126処理は、OTAにより誘発された低二倍体アポトーシスの割合を低下させた。更に、OTAの10 μ Mで増加したCaspase-3/7活性は、ウォルトマニン処理で増加し、U0126処理で低下した。

ヘムアグルチニンでタグ付けされたドミナントネガティブMEK1（MEK1-DN）、キナーゼ不活性MEK1（MEK1-KD）、野生型MEK1（MEK1-WT）又は空ベクターを細胞に導入した結果、MEK1-DN及びMEK1-KD導入細胞はMEK1/2伝達経路を阻害し、MEK1-WT及び空ベクター群に比較してOTAにより誘発された細胞生存率低下を改善した。

また、HK-2細胞を10 μ MのOTAで3、6、12又は24時間インキュベーションした結果、c-MET受容体型チロシンキナーゼ（RTK）のリン酸化が増加した。RTKアレイでリン酸化が検出された他のキナーゼとして、Akt、Erk、Src及びrpS6が見出された。c-MET受容体のリン酸化はOTA処理によって増加し、処理の6時間後及び12時間後でピークに達した。c-MET受容体特異的阻害剤のPHA-665752で処理すると、OTA誘導性c-MET受容体及びAktリン酸化が低下したがERK1/2活性は影響を受けなかった。この薬理学的なc-MET受容体阻害は、OTAにより誘発される細胞死をウォルトマニンによって誘発されるPI3K阻害と同等レベルに増強した。

以上より、OTAはHK-2細胞において相反する2つのシグナル経路を活性化することが示された。OTAは受容体型RTKであるc-Metを介してPI3K/Akt経路を活性化し、アポトーシスシグナル伝達抑制により損傷細胞の生存を図ると考えられる。これはOTA応答に新たに関与する経路である。一方、OTAによるMEK/ERK1/2の活性化は、機序は未解明であるもののアポトーシスを誘導した。本研究では、持続的なMEK/ERK1/2活性化がアポトーシスを媒介する一方、c-Metを介したPI3K/Akt活性化が抗アポトーシス性の生存シグナルを支持するというモデルが提唱された。これらの結果は、OTAによって障害を受けたヒト近位尿細管上皮細胞が、生存経路へと導かれる可能性を示し、ヒト腎臓におけるOTAの腫瘍促進・発がん機構の一端を示唆した。（文献リストNo.376）

【追加知見】 OTAを化学的に固定したビーズ（OTAカラム）を作製し、HK-2細胞（ヒト近位尿細管上皮細胞由来株）の細胞溶解液に含まれるOTA結合タンパク質を回収して定量的ラベルフリー質量分析法にて分子種を同定した。

DAVIDを用いた遺伝子オントロジー・エンリッチメント解析により、OTA相互作用タンパク質の高度に濃縮されたサブグループとして最も高いエンリッ

チメントスコアと最も高いエンリッチメント倍率をGTP結合タンパク質が示した。GTP結合タンパク質の約73%が低分子量GTPaseのRasスーパーファミリーで、その中で、Ras、Rho、Rab、Sar1/Arf及びRanの5つのサブファミリーの代表タンパク質が同定され、大部分はRabサブファミリーとRasサブファミリーに属していた。

OTAと標的タンパク質との相互作用を解析するため、分子ドッキング解析および分子動力学シミュレーション（MD）解析を行い、タンパク質-リガンド複合体の結合様式と安定性を評価した結果、OTAがRabサブファミリーに属するRab5a、Rab7a及びRab11a、Rasサブファミリーに属するRras、RanサブファミリーのRan、Rhoサブファミリーに属するRhoA及びSar1/Arfサブファミリーに属するRhoAのヌクレオチド結合ポケット（GDP/GTP結合部位）に結合可能であることが示された。

二乗平均平方根（RMSD）解析の結果、OTAはGDP結合状態のRab5aとの複合体では安定したが、GTP結合状態のRab5aとの複合体では分離した。一方、Rab7aおよびRab11aとの複合体では、GTP/GDP結合状態に関係なく相互作用する可能性を示した。

以上より、OTAの潜在的な分子標的として低分子量GTPaseが同定された。これにより、OTAの毒性および発がん機構において低分子量GTPaseの機能異常の関与が示唆された。（ご提供文献No.5）

【追加知見】 OTAが近位尿細管上皮細胞において小核を誘発するかどうかを検討するため、ラット腎由来NRK-52E近位尿細管上皮細胞を用い、最長21日間のOTAの処理後にin vitro小核試験を実施した結果、細胞生存性が許容される用量レベルから小核形成細胞の頻度が増加した。

ラット（F344/N、雄、一群12匹）に0、0.070又は0.210 mg/kg 体重/日のOTA（巨大核を誘発する腎発がん物質）を4又は13週間経口投与又は3-MCPD（巨大核を誘発しない腎発がん物質）を400 ppm飲水投与（32.5 mg/kg 体重/日 相当）した。この他、近位尿細管上皮に巨大核を誘発する腎発がん物質（TCP、MON）、巨大核を誘発しない腎発がん物質（TCEP、KBrO₃）、巨大核を誘発するが腎発がんを誘発しない物質（PNBA）、及び非発がんの腎毒性物質（APAP）の4又は13週間経口投与群を設定した。

巨大核の発生頻度はOTA高用量群の4及び13週目で増加した。TCP、MON群でも巨大核誘発が確認されたが、TCEP、KBrO₃、APAP群では巨大核形成が認められなかった。OTA13週投与の高用量群で発現増加（2倍以上）した遺伝子の中から3-MCPD群で発現増加（2倍以上）した遺伝子を除外した結果、2,145遺伝子がOTA高用量群で特異的に発現増加した。更にこれらの遺伝子について「分裂（または分裂期）」、「微小管」、「動原体」、「紡錘体」、「染色体」、「増殖」、「アポトーシス」又は「死」をキーワードとした遺伝

子オントロジー解析の結果、17遺伝子オントロジーが見出された。一方、OTA高用量群で特異的に発現低下した1,283遺伝子の中で濃縮した110遺伝子オントロジーは、上記のキーワードと関連しなかった。OTAは紡錘体形成チェックポイントの破綻を誘発して染色体不安定性に導く細胞周期制御を標的とする可能性が指摘されているため、OTA特異的に発現が増減した遺伝子の中から染色体不安定性に関連することが報告されている32遺伝子を確認し、これらの遺伝子の定量RT-PCRによる検証解析を実施した結果、OTA特異的に発現上昇し、MCPDでは発現変動しなかった12遺伝子（*Nuf2*、*Ska2*、*Kif11*、*Kif15*、*Kif18a*、*Kif20a*、*Kif26b*、*Lgals3*、*Rad51*、*Rad51ap1*、*Myc*及び*Cdkn1a*）を得た。次いで、腎臓における*in vivo*小核検出を実施した結果、近位尿細管細胞の細胞内DNAを染色するフォイルゲン陽性小核割合は、OTA高用量群の13週目でも変化は認められなかった。一方、腎髄質外層外帯における γ -H2AX陽性小核を有する近位尿細管細胞は、OTA高用量群の13週目で増加した。TCP、MON群でも γ -H2AX陽性小核陽性細胞が4週目及び／ないし13週目で増加した。さらに、OTA高用量群で腎組織サンプルにおける γ -H2AX及びN-カドヘリンの二重免疫組織化学染色を実施した結果、小核が単一細胞内の主要な核と共局在することが示された。髄質外層外帯におけるPCNA陽性細胞数は、OTA高用量群の4週及び13週目とOTA低用量群の13週目に増加した。TCP、MON群でも4週及び13週目にPCNA陽性細胞数が増加した。

以上の結果から、OTAがラット近位尿細管上皮由来細胞において、細胞生存能が許容される用量から長期間ばく露した後でも、*in vitro*で小核形成を誘発することが明らかになった。*In vivo*小核アッセイでは、OTA投与の用量および期間依存的に γ -H2AX陽性小核を有する近位尿細管上皮細胞が増加することが明らかになった。OTA特異的遺伝子発現プロファイリングでは、染色体不安定性誘導に関与する可能性のある遺伝子の発現変化が明らかになった。さらに、 γ -H2AX陽性小核形成は、巨大核を誘発する腎発がん物質に共通して増殖活性亢進を伴って認められた。これらの結果は、OTA投与による γ -H2AX陽性小核形成が、増殖性病変の形成に先立って生じる染色体不安定性および巨大核の誘発と関連している可能性が示唆された。（文献リストNo.374）

【追加知見】ラット（F344、雄、一群12匹）に0又は0.21 mg/kg 体重/日のOTA（巨大核を誘発する腎発がん物質）を13週間（5日/週）経口投与又は3-クロロ-1,2-プロパンジオール（3-MCPD）（巨大核を誘発しない腎発がん物質）を13週間飲水投与（400 ppm）し、近位尿細管上皮細胞においてDNAメチル化アレイ及びRNAシーケンシング解析を行った。OTA投与によって発現増加（2倍以上）した3,066遺伝子から3-MCPD投与によって発現増加（1倍以上）した遺伝子を除いたOTA特異的に発現増加した1,203遺伝子を特定した。その中の41遺伝子が低メチル化していた。また、OTA投与によって発現低下した

3,346遺伝子から3-MPCD投与によって発現低下した遺伝子を除いたOTA特異的に発現低下した963遺伝子を特定した。その中の27遺伝子が高メチル化していた。OTA特異的なメチル化・発現の変動を示したこれら遺伝子を遺伝子オントロジー解析した結果、高メチル化して発現低下した遺伝子には、発がん過程における代謝リプログラミングに関連する遺伝子（*Clpx*、*Mrpl54*、*Mrps34*、*Slc25a23*）が含まれていた。低メチル化して発現増加した遺伝子には、細胞周期停止に関与する*Cdkn1a*に代表される「ヒ素含有物質に対する応答」や細胞増殖促進を増強する*Osm*に代表される「IL-17産生の正の制御」などの遺伝子が含まれていた。その他、OTA特異的にメチル化・発現の変動を示した遺伝子として、NF- κ Bを介した炎症に関与する*Lrrc14*、DNA修復に関連する*Gen1*、染色体異常に関連する*Has1*及び腫瘍の発生と進行に関与する*Anxa3*などが見出された。

以上より、3-MCPDに対して同様の発現変動を示す遺伝子を除外することで、OSOM尿細管においてOTA特異的に誘導される遺伝子をDNAメチル化および遺伝子発現の包括的解析により同定した結果、代謝リプログラミング、NF- κ B経路を介した炎症、DNA修復に関与する遺伝子は高メチル化・発現低下を示し、一方で、細胞周期停止、細胞増殖促進、染色体異常、腫瘍の発生・進展に関与する遺伝子は低メチル化・発現上昇を示した。以上、メチル化と遺伝子発現に関する網羅的解析により、13週間のOTAばく露を行ったラットの腎尿細管において発がん過程に関与する多様なOTA特異的遺伝子が同定された。

（文献リストNo.373）

【追加知見】 ラット（F344/N、雄、一群12匹）に0、0.070又は0.210 mg/kg 体重/日のOTA（近位尿細管上皮細胞において巨大核を誘発するラットの腎発がん物質）又は350 mg/kg体重/日のリン酸トリス（2-クロロエチル）(TCEP; 巨大核を誘発しない腎発がん物質）又は125 mg/kg 体重/日の1,2,3-トリクロロプロパン（TCP; 巨大核を誘発する腎発がん物質）を4又は13週間（5日/週）経口投与、400 mg/Lの3-MCPD（巨大核を誘発しない腎発がん物質）又は500 mg/L（32.5±14.1 mg/kg 体重/日 相当）の臭素酸カリウム（KBrO₃; 巨大核を誘発しない腎発がん物質）を4又は13週間飲水投与した。また、3,000 mg/kg飼料のモノロン（MON; 巨大核を誘発する腎発がん物質）、10,000 mg/kg飼料のp-ニトロ安息香酸（PNBA; 巨大核を誘発するが腎発がんを誘発しない物質）又は12,500 mg/kg飼料のアセトアミノフェン（APAP; 巨大核を誘発しない非腎発がん物質）を4又は13週間混餌投与した。

腎髄質外層外帯でのDNAメチル化アレイを用いたメチル化DNA解析で得られたOTA特異的エピジェネティック変化を示す遺伝子について、メチル化DNA濃縮PCRによるメチル化検証解析を実施した結果、OTA高用量群で*Gen1*の高メチル化及び*Anxa3*、*Cdkn1a*及び*Osm*の低メチル化を示した。

腎髄質外層外帯を試料としたmRNA発現の定量RT-PCRの結果、*Gen1*の発現は、OTA高用量群の4週後で低下、TCP群の13週後で増加、KBrO₃群の4週後で低下した。*Anxa3*の発現は、OTA高用量群の4及び13週後で増加、TCP群の4週後で低下、MON群及びAPAP群の13週後で増加した。*Cdkn1a*の発現は、OTA高用量群、TCP群、MON群、の4及び13週後、TCEP群、KBrO₃群及びAPAP群の4週後、PNBA群の13週後で増加した。*Osm*の発現は、OTA高用量群の4及び13週後、KBrO₃群の4週後で増加した。

13週後にこれらの4遺伝子の関連遺伝子について定量RT-PCR解析を実施した。*Gen1*関連遺伝子解析の結果、*H2ax*の発現レベルがOTA低用量及び高用量群で増加した。*Rad51*の発現レベルはOTA低用量と高用量群、TCP群及びTCEP群で増加した。*Brca1*の発現レベルはOTA高用量群及びTCP群で増加した。*Rad50*及び*Zfp365*の発現レベルはOTA高用量群で増加した。*Xrcc6*の発現レベルはOTA高用量群、KBrO₃群及びPNBA群で減少し、TCP群で増加した。*Xrcc5*の発現レベルはTCP群、PNBA群及びAPAP群で増加した。*Lig4*の発現レベルはOTA高用量群で減少、MON群で増加した。*Prkdc*の発現レベルはAPAP群で増加した。*Xrcc4*の発現レベルはMON群及びTCEP群で減少した。*Anxa3*関連遺伝子解析では、*Hbegf*及び*Egfr*の発現レベルはOTA高用量群で増加した。*Cdkn1a*関連遺伝子の解析では、*Il1b*、*Il7*及び*Mmp9*の発現レベルがOTA高用量群で増加し、TCP群で減少した。*Il1b*の発現レベルは、PNBA群で増加した。*Il7*の発現レベルはAPAP群で増加した。*Il6*及び*Hgf*の発現レベルはOTA高用量群で増加した。*Hgf*の発現レベルはKBrO₃群で増加した。*Osm*関連遺伝子解析では、*Osmr*及び*Socs3*の発現レベルがOTA低用量群と高用量群で増加し、TCEP群で減少した。*Osmr*の発現レベルは、更にMON群で増加した。*Ccne1*及び*Myc*の発現レベルは、OTA高用量群及びTCP群で増加した。*Myc*の発現レベルは更にMON群で増加した。*Fos*の発現レベルはOTA高用量群で増加した。

腎髄質外層外帯を免疫組織化学解析した結果、GEN1タンパク質陽性尿細管上皮細胞数がOTA高用量群の4及び13週後で減少した。ANXA3タンパク質陽性尿細管上皮細胞数は、OTA高用量群の4及び13週後で増加、TCP群の4週後で減少した。*Cdkn1a*の翻訳産物であるp21^{WAF1/CIP1}タンパク質陽性尿細管上皮細胞数は、OTA高用量群及びTCP群の4週後並びにOTA低用量群と高用量群及びTCP群の13週後で増加した。 γ -H2AXタンパク質陽性尿細管上皮細胞数は、OTA高用量群の4週後で増加、OTA高用量群及びTCP群の13週後で増加した。RAD51タンパク質陽性尿細管上皮細胞数は、OTA低用量群と高用量群及びTCP群の4週後及びOTA高用量群とTCP群の13週後で増加した。TP53BP1タンパク質陽性尿細管上皮細胞数は、OTA高用量群の4及び13週後及びMON群の13週後で増加した。また、TUNEL染色陽性尿細管上皮細胞数は、OTA高用

量群の4週後及びOTA低用量群と高用量群の13週後で増加した。

以上の解析の結果、OTAのラットへのばく露により見出されたp21^{WAF1/CIP1}陽性近位尿細管上皮での巨大核細胞の増加は、巨大核と共に小核を形成する腎発がん物質に共通して認められたことから、小核形成を反映し、その結果として染色体不安定性が促進される可能性が示唆された。さらに、OTAによる*Cdkn1a*関連遺伝子の発現増加は、発がん環境の形成を促進する細胞老化関連分泌形質の獲得を示唆した。一方で、OTAはGEN1陽性近位尿細管上皮細胞の減少と、*Anxa3*および*Osm*の発現上昇を特異的に引き起こした。これらの結果から、OTAは自身が誘発するDNA二本鎖切断の修復経路を*Gen1*の発現抑制によって阻害するとともに、*Anxa3*および*Osm*の発現上昇を介して細胞増殖を促進し、増殖性病変形成以前の早期段階からOTA誘発性腎発がんにおける染色体不安定性の悪化に寄与する可能性が示唆された。（文献リストNo.375）

近位尿細管細胞の *in vitro* モデルとしてヒト腎臓皮質近位尿細管上皮細胞由来細胞株である RPTEC/TERT1 細胞及び HK-2 細胞、ラット腎臓尿細管由来細胞株である NRK-52 細胞並びにヒト及びラットの初代培養近位尿細管細胞を OTA とインキュベーション後、遺伝子発現の変化が cDNA アレイ解析により調べられた。また、ラットに 3 mg/kg 体重/日の OTA を1、3又は7日間投与し、OTA による腎臓の遺伝子発現の変化が同様に調べられた。それぞれのモデルにおける遺伝子発現の変化をクラスター解析した結果、ヒト初代培養近位尿細管細胞モデルとラット *in vivo* モデルの結果が最も近いクラスターとなった。OTA の作用は、細胞骨格、ヌクレオソーム制御、転写、ユビキチン化及び細胞周期等に係るシグナル伝達経路に関する遺伝子発現に及んでおり、最も影響が大きかったのはヌクレオソーム制御に関与する遺伝子発現であった。ヌクレオソーム制御、転写及びユビキチン化に関与する遺伝子発現には、促進されるもの及び抑制されるものの両方がみられた。がんの発症に係る遺伝子の多くは発現が促進されていたが、溶質輸送体ファミリー遺伝子及び Ras 関連遺伝子は発現が抑制された。酸化ストレスにより活性化される Nrf2 シグナル伝達経路の変化はみられなかった。全てのモデルにおいて細胞骨格系に属するアクチンリモデリング遺伝子であるアドベリンの産生が最も亢進されていた。著者らはこれらの結果から、OTA の発がん作用機序はエピジェネティックであることを示唆していると考えた。（参照 341）

【追加知見】 HK-2 細胞（ヒト近位尿細管上皮細胞由来株）を 0 又は 0.2 μM の OTA で 48 時間インキュベーションを行い、RNA-seq によるトランスクリプトーム解析を実施した結果、投与群の発現変動遺伝子は 3,193（発現増加：2,224 遺伝子、発現低下：969 遺伝子）遺伝子であった。これらは、機能アノテーション解析の結果、低酸素、上皮間葉転換、アポトーシス及び異物代謝経路に関連していた。RT-qPCR による発現検証解析では、RNA-seq 解析と同様

の遺伝子発現パターンを示した。上皮間葉転換マーカーの E-カドヘリン及び
フィブロネクチン、アポトーシスマーカーの Caspase-3 及び Bax さらに腎障
害分子-1 (KIM-1) の発現は、siRNA を用いて芳香族炭化水素受容体 (AhR)
の発現を阻害することで抑制され、関連する転写因子である Smad2/3 及び低
酸素誘導因子の HIF-1 が発現低下した。トランスフォーミング増殖因子 β
(TGF- β) 伝達経路の主要な転写因子である Smad2/3 の siRNA による抑制は、
フィブロネクチン、Caspase-3、Bax 及び KIM-1 の発現を低下させた。HIF-1
の siRNA による抑制は、フィブロネクチン、Caspase-3、Bax 及び KIM-1 の発
現を増加させた。

以上より、OTA は腎臓において上皮間葉転換およびアポトーシスを誘導し、
これらが腎障害を引き起こすことが示された。さらに、OTA による上皮間葉
転換、アポトーシス、腎障害は AhR-Smad2/3-HIF-1 経路と関連して生じる
可能性が示された。（文献リスト No.415）

p53 が OTA の発がん性に及ぼす影響を調べるために、マウス (*p53* 発現 *gpt*
delta transgenic [*p53*^{+/+}] 及び *p53* 欠損 *gpt delta transgenic* [*p53*^{-/-}]、雄、一
群 各 5 匹) に 0、1 又は 5 mg/kg 体重/日の OTA が 4 週間強制経口投与された。
病理学的検査の結果、5 mg/kg 体重/日の OTA 投与群で腎臓髄質外層外帯に巨
大核細胞及びアポトーシス細胞が認められ、*p53* 欠損 マウスの巨大核細胞の発
現頻度は *p53* 発現マウスより高かった。また、*p53* 欠損 マウスでは、髄質内帯
の尿細管上皮細胞にも巨大核細胞及びアポトーシス細胞が認められた。*p53* 欠
損マウスで観察されたアポトーシスの増加は、OTA の誘導するアポトーシスに
p53 非依存的な経路が関与している可能性を示唆していると考えられた。（参
照 304）

【追加知見】 マウス (C57BL/6N、雄、一群6匹) に0、0.5、1、2、4又は8
mg/kg 体重/日のOTAを7日間経口投与した結果、用量依存的に体重が減少した。
腎臓の組織学検査では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で近位尿細管上皮細胞の管
腔内への脱落、4 mg/kg 体重/日以上投与群で近位尿細管に一致して上皮細胞壊
死、8 mg/kg 体重/日群で尿細管壊死が腎臓の50%以上の領域でみられた。肝臓
では、2 mg/kg 体重/日以上投与群で腫大した2核肝細胞がみられ、8 mg/kg 体
重/日群では多数の肝細胞で腫大・変性とアポトーシスがみられた。血清生化学
検査では、2 mg/kg 体重/日以上投与群でクレアチニン (CRE) が増加し、4
mg/kg 体重/日以上投与群で肝機能マーカー (AST) が増加した。8 mg/kg 体
重/日投与群でLDH及びBUNが増加した。

肝臓及び腎臓における組織障害メカニズム解析試験では、両組織において用
量依存的にCaspase-3及び切断型活性化Caspase-3とBaxの発現レベルが増加
した。これに対応して、1 mg/kg 体重/日以上投与群でTUNEL陽性細胞が用量
依存的に増加した。更に、ネクロプトーシスのマーカーである受容体相互作用

タンパク質キナーゼ3（RIPK3）及び混合系統キナーゼドメイン様（MLKL）タンパク質の発現レベルが8 mg/kg 体重/日投与群で増加した。酸化ストレス物質の4-ヒドロキシノネナール（HNE）及びミトコンドリア分裂制御因子のdynamamin-related protein I（DRP1）の発現レベルが8 mg/kg 体重/日群の肝臓で、4 mg/kg 体重/日以上群の腎臓で増加した。ミトコンドリア分裂因子のMFFの発現レベルが4 mg/kg 体重/日以上群の肝臓で、8 mg/kg 体重/日群の腎臓で増加した。一方、ミトコンドリア形態制御因子のOPA1の発現レベルが2 mg/kg 体重/日以上群の肝臓で、8 mg/kg 体重/日群の腎臓で減少した。また、GSHは肝臓では変化しなかったが、腎臓の8 mg/kg 体重/日投与群で減少した。GSH/GSSG比は、1 mg/kg 体重/日以上投与群の肝臓と腎臓で減少した。電子顕微鏡検査では、8 mg/kg 体重/日群の肝臓及び腎臓でミトコンドリアの長さや幅が短縮した。フェロトーシス抑制する抗酸化酵素のGPX4が2 mg/kg 体重/日以上の肝臓及び腎臓で用量依存的に減少した。

本研究では、OTAのマウス急性期毒性として、肝臓および腎臓の障害を組織学的および生化学的に特徴づけた。さらにこれらのOTA毒性が、酸化ストレス、ミトコンドリア機能障害、ならびにフェロトーシスやネクロプトーシスを含む複数の細胞死機構の関与によって引き起こされることを明らかにした。（文献リストNo.479）

【追加知見】マウス（C57BL/6、雄、一群6匹）に0又は0.8 mg/kg 体重/日のOTAを7日間経口投与し、試料として血清及び腎臓を採取した。OTA投与により、血清BUN、CRE及び尿酸が上昇、腎臓の*Ntn-1*、*Kim-1*、*TNF-α*、*IL-1β*及び*IL-6*のmRNAが発現増加並びに*IL-10*のmRNAが発現低下した。腎臓では更に、ファルネソイドX受容体（FXR）タンパク質及びmRNAが発現低下、マロンジアルデヒド（MDA）濃度が増加、GSH濃度低下及びHNE産生が増加した。また、鉄含有量、*Acs14*、*TFR1*及び*HO-1*のmRNA及びタンパク質が発現増加、GPX4及びFTHのタンパク質及びmRNAが発現低下した。病理組織学的検索では、尿細管内腔への壊死細胞の剥離、尿細管の拡張及び蛋白円柱、尿細管上皮の刷子縁構造の消失、リンパ球や好中球などの炎症細胞の浸潤を観察した。腎臓の免疫蛍光染色の結果、コレステロール代謝に関わる核内受容体のFXRが減少した。また、ミトコンドリアの縮小、ミトコンドリア膜の破裂、ミトコンドリアクリステの消失及びミトコンドリアの空胞化を観察した。

マウス（C57BL/6、雄、一群6匹）に0又は0.8 mg/kg 体重/日のOTAを3日間経口投与並びに30 mg/kg 体重/日のFXR活性剤のGW4064を3日間胃内投与後に0.8 mg/kg 体重/日のOTAを3日間経口投与し、試料として血清及び腎臓を採取した。OTA投与前の3日間のGW4064投与の結果、GW4064はOTA誘発性の腎障害を軽減し、血清BUN、CRE及び尿酸レベルを低下させ、*Ntn-1*、*Kim-1*、*TNF-α*、*IL-1β*及び*IL-6*のmRNAの発現低下と*IL-10*のmRNAの発現増加を

誘導し、尿細管上皮細胞の刷子縁消失、尿細管拡張、及び蛋白円柱の出現を改善して好中球指標であるLy6G陽性領域割合を減少した。マウスに5 mg/kg体重/日のフェロトーシス阻害剤のフェロスタチン-1 (Fer-1) をOTA投与前に3日間腹腔内投与した後に0.8 mg/kg 体重/日のOTAを3日間経口投与し、試料として血清及び腎臓を採取した結果、血清BUN、CRE及び尿酸並びに腎臓における*Ntn-1*、*Kim-1*、*TNF-α*、*IL-1β*、*IL-6*及び*IL-10*のmRNA発現の増加、さらに腎臓の病理学的変化の軽減及び腎臓好中球浸潤が減少した。

HK-2（ヒト近位尿細管上皮細胞由来株）を0、1.0、2.0又は4.0 mg/LのOTAで24時間インキュベーション又は2 μMのFer-1又は1 μMのGW4064で12時間前処理後に2.0 mg/LのOTAで24時間インキュベーションした。OTAの単独ばく露によって、用量依存的に細胞生存率が低下し、LDH放出が増加した。また、2.0 mg/L以上の用量でTNF-α及びIL-1βタンパク質発現が増加したが、IL-10タンパク質発現が低下した。FXR及びFTHタンパク質発現レベルが2.0 mg/L以上群で、GSH含量並びにGPX4が1.0 mg/L以上群で低下し、MDAレベル並びにAcsl4、TFR1及びHO-1タンパク質発現レベルが2.0 mg/L以上群で、細胞内ROSレベルが1.0 mg/L以上群で増加した。Fe²⁺は2.0 mg/L以上群で用量依存的に増加した。GW4064の1 μM処理により、細胞生存率の増加、LDH放出の減少、TNF-α及びIL-1βタンパク質レベルの低下及びIL-10タンパク質の増加を示して、OTA誘発性細胞毒性及び炎症を軽減した。また、OTA誘発性のFXR、GPX4及びFTHの減少並びにAcsl4、TFR1及びHO-1タンパク質及びmRNA発現レベルの増加を改善した。MDA、細胞内ROSレベル及び鉄含量の増加及びGSH含量の減少も回復した。さらに、HNE陽性領域の増加を軽減した。NAC前処理はOTA誘発性のROS産生、LDH活性の上昇及び細胞生存率の低下を抑制した。Fer-1処理は、OTAによって誘発される細胞生存率低下及びIL-10タンパク質の低下並びにLDH活性、TNF-α及びIL-1βタンパク質の発現増加を回復させた。

結論として、OTAばく露はFXRの発現を抑制し、その結果として脂質過酸化、フェロトーシス、および腎毒性を誘導することが明らかになった。このことは、OTA誘発性腎毒性においてFXRがフェロトーシスを制御することを通じて重要な役割を果たすことを示唆した。（文献リストNo.506）

【追加知見】 ラット（Wistar、雄、一群6匹）に0又は0.210 mg/kg体重/日のOTAを270日間（5日/週）経口投与した結果、投与による体重及び腎重量に影響は認められなかった。また、OTA投与は、総タンパク質、アルブミン及びグロブリン値にも影響を与えなかった。腎臓の病理組織学的検査では、OTA投与群で糸球体の縮小、近位尿細管上皮の変性、尿細管の細胞数の増加、巨大核の形成、及び尿細管管腔内のタンパク質円柱の形成がみられた。Massonトリクローム染色では、糸球体、間質及び尿細管基底膜の周囲にコラーゲン沈

着がみられた。PAS染色では、刷子縁の消失を伴う萎縮尿細管の増加、基底膜の肥厚、ならびに尿細管におけるグリコーゲンの顕著な沈着が認められた。加えて、IV型コラーゲン、フィブロネクチン、およびPCNAの免疫組織化学染色においても、OTA投与ラットの腎組織では溶媒対照ラットと比較して、これらの線維化促進マーカーの発現増加が認められた。加えて、OTA投与群で尿中への高濃度のエクソソーム分泌を示した。PKH-67蛍光標識した尿中エクソソームを単離してNRK52E細胞（正常ラット腎細胞）とインキュベーションした結果、エクソソームが細胞に取り込まれ核膜近傍に局在した。そこで、NRK52E細胞を0、5、10、20、30又は40 mg/Lの濃度の対照ラットの尿中エクソソーム（NEx）又はOTA投与ラットの尿中エクソソーム（OEx）で72時間インキュベーションした。OExに曝露された細胞は30 mg/Lまでの濃度では細胞毒性を示さず、20及び30 mg/LのOEx濃度で生存細胞の増加が認められた。OEx 40 mg/Lの濃度では10%の細胞死を誘導した。細胞数を反映する総タンパク質量も、20及び30 mg/LのOEx濃度で10~15%増加した。NExへの曝露は30 mg/Lまでの濃度では細胞増殖を誘導しなかったが、40 mg/Lでは、NExは8%の細胞死を誘発した。また、NRK52E細胞を0、10、20又は30 mg/LのNEx又はOExの尿中エクソソームで72時間インキュベーションした結果、OExばく露細胞では、増殖マーカーのCD44及びPCNAが用量依存的に発現増加した。OExばく露細胞は、OEx無処理細胞に比較してNRK52E細胞のコロニー形成能及び創傷治癒能が上昇した。さらに、両エクソソームでNRK52E細胞を7日間インキュベーションした結果、OExばく露細胞は、免疫蛍光染色で用量依存的にフィブロネクチンの発現及び局在が増加した。ウエスタンブロット解析ではフィブロネクチン及びI型コラーゲンの発現が用量依存的に増加し、フィブロネクチンの増加は20 mg/L群からOEx無処理細胞に比して有意であった。なお、NExでインキュベーションしたNRK52E細胞では、フィブロネクチン及びI型コラーゲンの発現に影響はなかった。また、OExでインキュベーションしたNRK52E細胞でTGF- β 1、TGF- β R1、p-Smad2、p-Smad3、p-Smad2/Smad2比及びp-Smad3/Smad3比が増加した。しかし、Smad2及びSmad3の発現レベルは変動しなかった。OExばく露細胞では α -SMAの発現及び局在も増加し、ビメンチン及びSlugのmRNA及びタンパク質の発現が増加した。NRK52E細胞を10 μ MのTGF- β R1阻害剤であるSB431542で60分間インキュベーションした後、30 mg/Lの両エクソソームで72時間インキュベーションした。インキュベーション後、p-Smad 2、p-Smad 3、PCNA、フィブロネクチン及びI型コラーゲンの発現についてウエスタンブロット法を用いて測定し、PCNAとフィブロネクチンに関しては免疫蛍光染色も用いて測定した結果、TGF- β R1阻害剤の前処理は、OTA投与ラットの尿中エクソソーム誘導性のp-Smad2、p-Smad3、PCNA、フィブロネクチン及びI型コラーゲンの発現

を阻害した。

本研究の結果は、ラットへのOTAばく露がエクソソームの生成と尿中への分泌を増加させることを示唆しており、OTAばく露ラットの尿由来エクソソームは、TGF- β 1/Smad2/3シグナル伝達経路の活性化を介して、正常腎尿細管上皮細胞に線維化促進性変化を引き起こす可能性が示唆された。（文献リストNo.105）

【追加知見】 H9細胞（ヒトCD4⁺Tリンパ腫由来株）を0、1、5、10又は20 μ MのOTAで0、3、6、12又は24時間ばく露した後、それぞれ一定数の細胞を24時間インキュベーションした結果、OTA濃度及びばく露時間に依存して細胞生存率が低下した。24時間ばく露のLC₅₀は、13.75 μ Mであった。また、DNAラダー形成は用量依存的に増加し、5 μ M群以上で明確となり、20 μ M群では高分子量のゲノムDNAの完全な消失を伴う強いDNA断片化が見られた。細胞は、アポトーシスの特徴である核の三日月形変形、収縮、縮小、細胞質の高密度化、細胞小器官の密集、ミトコンドリアの膨化、核の濃縮、細胞膜のブルーム形成、出芽による核崩壊を示した。初期アポトーシスを示すアネキシンV（AV）陽性で死細胞のDNAに結合するヨウ化プロピジウム（PI）陰性を示す細胞の割合は、0、1、5、10又は20 μ M群でそれぞれ1.7、2.7、5.0、6.7及び3.2%であった。非アポトーシス死細胞を示すAV陰性でPI陽性を示す細胞の割合は、それぞれ2.0、2.1、3.8、12.5及び23.7%であった。壊死を示すAV陽性でPI陽性を示す細胞の割合は、10.7、10.6、18.0、23.8及び20.8%であった。また、JC-1染色により、1、5及び10 μ Mにおいてミトコンドリア膜電位の低下を確認した。アポトーシスを誘導するCaspase-3は、対照群に比較して1、5、10及び20 μ M群で、それぞれ1、5.6、7.8及び8.2倍に増加した。また、同細胞を1 μ MのOTAで1、3、6、9、12、又は24時間ばく露した結果、アポトーシスは観察されなかったが、p38、ERK1/2及びJNKのリン酸化が誘導され、6時間目をピークとして18時間維持された。次に、同細胞を0、1、5又は10 μ MのOTAで12時間ばく露した結果、10 μ MではサバイビンmRNAの発現を低下させたが、1 μ M及び5 μ MではサバイビンmRNA発現は変動しなかった。24時間ばく露した結果、5 μ M以上でサバイビンmRNA発現が抑制された。サイトカインのIL-2は、1、5及び10 μ Mばく露の12時間後で、それぞれ11、8及び72%減少し、24時間後で、それぞれ73、84及び81%減少した。腫瘍壊死因子のTNF- α のmRNAは、10 μ Mばく露の12時間後に2倍、24時間後に8倍に増加した。また、アポトーシス促進因子のCaspase-8の活性は、10 μ Mばく露の3時間後から24時間後まで経時的に増加した。

以上より、OTAはヒト由来CD4⁺T細胞にアポトーシスを誘導した。OTAはミトコンドリア機能を破綻させることによりMAPKの活性化とアポトーシスを誘導し、サバイビン、IL-2、TNF- α の発現を変化させた。これらの変化は

OTAによる免疫毒性機序を説明できる。特徴的な所見として、OTAはCD4⁺T細胞にCaspase-8を活性化させたことから、T細胞がTNF- α をオートクラインすることで細胞死受容体経路を活性化することが示唆された。（文献リスト No.094）

（8-14）毒性試験のまとめ

【事務局より（第66回調査会）】
資料3をご確認ください。

実験動物を用いた亜急性毒性試験では、OTAを投与した実験動物全てに尿細管の部位特異的な腎毒性が認められた。腎臓髄質外層外帯の近位尿細管S3セグメントには、巨大核細胞及び肥大した細胞がみられ、尿細管の萎縮及び組織破壊も観察された。ラットにおいて、雌雄いずれも用量及び投与期間依存的にこれらの所見の増強が認められた。OTAは腎臓において有機アニオントランスポーターを介して膜輸送されることが示されており、近位尿細管に選択的なOTAの毒性作用は、OTAが近位尿細管細胞の刷子縁又は側底膜にある有機アニオン輸送システムにより細胞内外に移行することと関連すると考えられている。実験動物による亜急性毒性試験において、最も低い用量で毒性が認められたのはブタ（雌）で、120日間0.008、0.040又は0.160 mg/kg体重/日相当のOTAを混餌投与した結果、用量依存的にT_mPAH及びT_mPAHのイヌリンクリアランスに対する割合の減少並びに尿糖が増加した。0.008 mg/kg体重/日相当のOTA投与群では9頭中4頭、40 mg/kg体重/日相当以上のOTA投与群では、全てのブタに尿細管における退行性変性が観察された。ブタにおけるLOAELは0.008 mg/kg体重/日であった。

慢性毒性・発がん性試験では、げっ歯類にOTAを経口投与すると主に腎臓髄質外層外帯に腎細胞腺腫及び腎細胞癌が雄に多く発生した。ラットに0、0.021、0.070又は0.210 mg/kg体重/日のOTAを週5回強制経口投与したNTPにおける2年間発がん性試験では、0.070 mg/kg体重/日以上で雄ラットの腎臓に腫瘍が認められた。NOAELは0.021 mg/kg体重/日（週5日投与、0.015 mg/kg体重/日に相当）であった。また、このNTP試験のデータを基にBMD法を用いて解析した結果、適合モデルのうち最も低いBMDL₁₀は、0.0161 mg/kg体重/日（LogProbit（Restriction：off））であり、上記NOAELより高い値であった。ブタを用いた慢性毒性試験では、0.040 mg/kg体重/日のOTAを2年間投与した結果、尿細管萎縮や間質の線維化等、進行性の腎障害がみられたが、がんの誘発は認められなかった。

生殖発生毒性及び免疫毒性は、いずれも腎臓への影響と比べると1～2桁高い用量で観察された。

1 遺伝毒性試験の結果、Ames 試験では代謝活性化の有無にかかわらずほとんど
2 が陰性であり、大腸菌を用いた SOS 試験及び哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突
3 然変異試験の結果のほとんども陰性であった。一方、哺乳類の培養細胞におい
4 て OTA が一本鎖 DNA 切断を誘導することが示されており、OTA を投与した
5 マウス又はラットの脾臓、肝臓、腎臓等においてもコメットアッセイの結果は
6 陽性であった。コメットアッセイでみられる DNA 損傷の量は抗酸化剤によって
7 抑制されることが示されている。DNA 修復を示す不定期 DNA 合成では、ラッ
8 ト肝細胞、ブタ膀胱上皮細胞、ヒト尿路上皮細胞において陽性であった。姉妹染色
9 分体交換が *in vitro* のいくつかの試験でみられたが、*in vivo* の試験では陰性であ
10 った。小核試験は、*in vitro*、*in vivo* 共に陽性であった。*in vitro* の染色体異常試
11 験では、陽性及び陰性の結果が共に得られているが、ラットに発がん用量を経
12 口投与した試験では陰性、マウスに腹腔内投与した試験では陽性であった。ト
13 ランスジェニックラット (*gpt delta*) を用いた *in vivo* 遺伝毒性試験では、腎
14 臓髓質外層外帯に DNA の欠失変異がみられたが、それがこの部位で発生する
15 がんの原因であるとする証拠は得られていない。また、同部位における点突然
16 変異は検出されなかったことが報告されている。

17 OTA の遺伝毒性発がん物質としてのメカニズムに関して、OTA あるいはその
18 代謝物が DNA に直接作用するか否かを調べる目的で以下のようにさまざまな
19 試験が実施されている。動物に OTA を投与した *in vivo* における DNA 付加体
20 形成試験において、ポストラベル法により DNA 付加体は検出されなかった報告
21 がある。一方、ポストラベル法により *in vitro* 及び *in vivo* において、DNA 付加
22 体が検出されたとする報告があるが、その構造解析はされておらず、検出され
23 とされる付加体が OTA 又は OTA 代謝物と DNA が共有結合したものであるとの
24 確認はされていない。更に、 $[^3\text{H}]$ 又は $[^{14}\text{C}]$ でラベルした OTA をラットに投与
25 した *in vivo* 試験において検出感度はポストラベリング法と同等であったが、
26 付加体形成は認められていない。

27 OTA の非遺伝毒性発がん物質としてのメカニズムに関して、細胞周期の破
28 たん、タンパク質合成酵素阻害、細胞増殖とアポトーシスの変化、酸化ストレ
29 ス、ミトコンドリアの機能低下、MAP キナーゼ等のシグナル伝達の変化、フェ
30 ニルアラニン tRNA 合成酵素、ヒストン等のアセチル化阻害等のエピジェネテ
31 ィックなメカニズムなど、がんに関与する様々な原因が多数報告されている。

32 以上の知見より、OTA 又は OTA 代謝物が DNA 付加体を形成する遺伝毒性発
33 がん物質ではなく、間接的に DNA に作用する非遺伝毒性発がん物質と考えるこ
34 とが妥当であると判断された。そこで、発がん性については、「ヒトに対する経
35 口発がんリスク評価に関する手引き（清涼飲料水を対象）」（平成 20 年 9 月 2 日
36 化学物質・汚染物質専門調査会決定）の考え方を参考に、*in vitro* 遺伝毒性試
37 験では陽性であるが、*in vivo* 遺伝毒性試験で DNA への直接的な作用が確認され

ず、「発がん性に対する遺伝毒性の関与が不確実」と考えられることから、発がん影響に関しては、NTPにおける2年間発がん性試験に基づくNOAELを基に算出し、BMD法の適用は行わないこととし、TDIを設定することとした。（参考資料2参照）

3. ヒトにおける知見

【事務局より（第66回調査会）】
資料4をご確認ください。

（1）各国におけるばく露量

① 血液中 OTA 濃度

OTAは、ヒトでおよそ35日の半減期を有することが示されており(参照91)、過去数週間におけるばく露の簡便なバイオマーカーとしてOTAの血中濃度が疫学的研究に幅広く使用されている(参照74)。

2001年のJECFAの報告によると、欧州12か国、アフリカ2か国、カナダ及び日本において1977年から1998年の間にそれぞれOTA陽性と報告された健常者計3,717名の血液中OTA濃度範囲は、0.1～40 ng/mL（最大値160 ng/mLを除く。）であった(参照74, 198)。日本では、1992～1996年に東京においてOTA濃度が調査され、OTAが検出されたのは184名中156名（85%）、平均値は0.068 ng/mL、濃度範囲は0.004～0.28 ng/mLであった(参照342)。

EFSAの意見書には、1995～2002年に報告されたイタリア、クロアチア、ノルウェー、スウェーデン、モロッコ及びレバノンにおける健常者計2,322名の血中OTA濃度が記されている。OTAの検出率の範囲は33%～100%で、レバノン（検出限界0.1 ng/mL）で少なく、ノルウェー及びスウェーデン（検出限界0.01 ng/mL）で多かった。血中OTA濃度の平均の範囲は0.17 ng/mL（レバノン）～0.56 ng/mL（イタリア、検出限界0.1 ng/mL）であった。EFSAは、これらの結果より、2001年にJECFAで報告された結果等と比較すると血中OTA濃度が減少傾向にあると述べている。（参照200）

その後の報告結果を表18に要約した。

ポーランドで、1998年10月から1999年4月にかけて30名の妊娠女性を対象に母体の血清中及びさい帯血血清中のOTA濃度が測定された。母体血清中及びさい帯血血清中のOTA平均濃度には、有意差が認められた。母体血清中とさい帯血血清中のOTA濃度には相関がみられ、平均濃度比は1.96であった。（参照343）

2002年にポルトガルの都市コインブラ及びその周辺の2つの農村の計3地区に住む健常者104名から血液が採取され、血清のOTA濃度が調べられた。全ての検体から定量下限値以上のOTAが検出され、地区ごとの平均は

0.42~0.78 µg/L、全体の濃度範囲は 0.14~2.49 µg/L で、男女間の差は認められなかった。一方の農村における平均濃度は他の 2 地区に比べて有意に高かった。OTA の定量限界は、血清で 0.1 µg/L 及び全血液で 0.05 µg/L であった。(参照 344)

チリの 2 つの農業地帯の 88 名の健常な男女から採取した血漿中の OTA 濃度が分析された。コルブンで 2004 年 3 月と 7 月に採取された検体の 54%及びサン・ビセンテ・デ・タグアタグアで 2004 年 10 月に採取された検体の 91%が OTA 陽性で、検出範囲はそれぞれ、0.07~2.75 及び 0.22~2.12 ng/mL、平均値はそれぞれ 0.44 及び 0.77 ng/mL であった。両地帯の血漿中 OTA 濃度には有意な差が認められた。また、サン・ビセンテ・デ・タグアタグアでは女性の血漿中 OTA 濃度が男性より有意に高かった。両地域の平均血漿中 OTA 濃度から OTA 摂取量が推計され、コルブン及びサン・ビセンテ・デ・タグアタグアでそれぞれ 0.84 及び 1.40 ng/kg 体重/日であった。OTA の検出限界は 0.1 ng/mL であった。(参照 345)

アルゼンチンでブエノスアイレス州の 2 地区における 435 名のヒト血漿中の OTA 濃度が調べられた。2004 年 2 月にマル・デル・プラタ並びに 2005 年 4 月及び 7 月にヘネラル・ロドリゲスで採取された検体のそれぞれ 63.8%及び 62.3%から OTA が検出され、平均はそれぞれ 0.15 ng/mL 及び 0.43 ng/mL であった。OTA の検出限界は 0.012 ng/mL であった。(参照 346)

トルコの地中海地方及び黒海地方の 2 地域で、6 歳から 80 歳までの 239 名を対象に 2007 年 7 月及び 2008 年 1 月に、血清中 OTA 濃度が測定された。食事に関するアンケートより、黒海地方ではトウモロコシを含む穀物類の摂取が地中海地方より多く、地中海地方では野菜、フルーツ及び肉の摂取が黒海地方より多かった。OTA 血清中濃度は、いずれの地域においても冬期に比べて夏期の方が有意に高く、全体の平均はそれぞれ 0.137 ± 0.013 及び 0.312 ± 0.034 ng/mL であった。平均血清中濃度に地域差及び男女差は認められなかった。血清中 OTA 濃度の最高値は夏期の黒海地方の子供の検体で測定された 1.496 ng/mL であった。黒海地方では夏期、冬季共に子供（15 検体）の血中 OTA 濃度が大人（96 検体）及び老人（8 検体）に比べて有意に高かった(参照 347)。

スペインのリエイダ地方の 9 地区で 2008 年 3 月から 5 月にかけて 279 名の男女から血液を採取して OTA 濃度を調べた結果、275 名に OTA が検出され、平均値は 0.86 ± 1.07 ng/mL、95 パーセンタイル値は 2.51 ng/mL であった。血漿中 OTA 濃度に男女差及び地域差は認められなかったが、18~29 歳、30~44 歳及び 45 歳以上と年齢を 3 区分すると、血清 OTA 濃度は 45 歳以上 > 18~29 歳 > 30~44 歳の順で、45 歳以上と 30~44 歳のグループでは有意差が認められた。(参照 348)

スペインで 2008 年 7 月から 11 月にかけて 168 名の男女を対象に実施され

た試験では、対象者全員から OTA が検出され、血漿中 OTA 濃度の平均は 1.09 ±0.95 µg/L、濃度範囲は 0.15~5.71 µg/L であった。男性の方が女性より血清中 OTA 濃度が高い傾向にあった。(参照 349)

表 18 健常者の血液中オクラトキシン A 濃度

国名	採取期間	陽性数と割合(%)	検出限界 (ng/mL)	平均血中濃度 (ng/mL)	濃度範囲 (ng/mL)	引用文献	報告年
日本	1992~1996	156/184 (85)		0.068	0.004~0.28	(参照 342)	1998
ドイツ	1995~1998	1596/1732 (92)	0.06	0.23	0.06~2.03	(参照 52)	2002
英国	1999	50/50 (100)	0.2	1.10	0.2~3.11	(参照 52)	2002
ポーランド	1998~1999	30/30 (100)	0.02	1.14	0.14~3.41	(参照 343)	2006
ポルトガル	2002	104/104 (100)	0.1 (LOQ)	0.42~0.78	0.14~2.49	(参照 344)	2008
チリ	2004	62/88 (70)	0.1	0.44~0.77	0.07~2.75	(参照 345)	2006
アルゼンチン	2004	127/199 (64)	0.012	0.15	0.012~47.6	(参照 346)	2008
	2005	147/236 (62)		0.43	0.019~74.8		
トルコ	2007 夏期	116/119 (97)	0.025	0.312	0.0279~1.496	(参照 350)	2010
	2008 冬期	92/120 (77)		0.137	0.0306~0.887		
スペイン	2008	275/279 (99)	0.075	0.86	0.11~8.68	(参照 348)	2009
スペイン	2008	168/168 (100)	0.01	1.09	0.15~5.71	(参照 349)	2010

② 尿中OTA濃度

感度の高い測定方法を用いて、尿中の OTA 濃度の測定が可能になり、尿中 OTA 濃度と OTA ばく露について報告されている（表 19）。

イタリアで、41 名から 1 日分の尿を採取し、OTA 濃度が調べられた。尿中 OTA の検出限界は 0.005 ng/mL で、健常者の 38 検体中 22 検体中に OTA が検出された。検出された OTA の濃度範囲は 0.012~0.046 ng/mL であった。間質性腎炎患者 3 名の尿を調べたところ、全ての尿に OTA が検出され、最高値は 0.140 ng/mL であった。(参照 351)

英国で 30 日間 50 名を対象に陰膳方式を用いたトータルダイエットスタディが実施され、食事、血液及び尿中の OTA を測定することにより、OTA の摂取量とそのバイオマーカーとの関連が調べられた。血液は試験開始 30 日前、試験開始時及び試験中に 1 週間に 1 回採取され、尿は試験前日及び試験中に 1 週間に 1 回、1 日分が採取された。検出限界は食品、血液及び尿においてそれぞれ

れ 0.001 ng/g、0.1 ng/mL 及び 0.01 ng/mL であった。OTA 摂取量は、平均して 0.94 ng/kg 体重/日、範囲は 0.26～3.54 ng/kg 体重/日と推計された。試験開始 30 日前を含め全ての血液検体から OTA が検出され、OTA 濃度範囲は試験開始 30 日前に 0.15～2.17 ng/mL 及び試験中は 0.4～3.11 ng/mL であった。尿 50 検体中 46 検体から OTA が検出され、その範囲は 0.01～0.058 ng/mL であった。OTA 摂取量と血液中 OTA 濃度には相関が認められなかったが、OTA 摂取量と尿中 OTA 濃度に統計的な相関が認められた。(参照 352)

2003 年 4 月にハンガリーの 3 地方の 5 地区に住む健常者 88 名の尿中 OTA 濃度が調べられた。尿は 24 時間採取された。61%の検体から OTA が検出され、平均濃度は 0.013 ng/mL、その範囲は 0.006～0.065 ng/mL であった。調べられた 3 地方のうち、1 地方における尿中 OTA 濃度は、他の 2 地方に比べて高かった。いずれも男女間に差は認められなかった。(参照 353)

2004 年 11 月にポルトガル（コインブラ）の健常者から採取した尿 60 検体中 42 検体から OTA が検出された。平均濃度は 0.038 ng/mL、その範囲は 0.021～0.105 ng/mL であった。定量限界は 0.02 ng/mL であった。(参照 354)

ポルトガルの 6 地区より女性 50 名、男性 45 名の合計 95 名の尿を 2007 年の冬期及び 2008 年の夏期に採取し、OTA 濃度を調べるコホートスタディが実施された。夏期に比べて冬期の OTA ばく露は有意に高く、性差による違いは夏期にのみ認められた。検出限界は、0.0024 ng/mL であった。(参照 355)

表 19 健常者の尿中オクラトキシン A 濃度

国名	採取期間	陽性数と割合(%)	検出限界 (ng/mL)	平均尿中濃度 (ng/mL)	濃度範囲 (ng/mL)	引用文献	報告年
イタリア		22/38(58)	0.005		0.012～0.046	(参照 351)	2000
英国		46/50(92)	0.01		0.01～0.058	(参照 352)	2001
ハンガリー	2003	54/88(61)	0.004	0.013	0.006～0.065	(参照 353)	2005
ポルトガル	2004	42/60(70)	0.02	0.038	0.021～0.105	(参照 354)	2006
(LOQ)							
ポルトガル	2007 冬	女性 43/50(86)	0.0024	0.021	n.d.～0.062	(参照 355)	2012
	2008 夏	42/50(84)		0.016	n.d.～0.040		
	2007 冬	男性 40/45(89)		0.023	n.d.～0.071		
	2008 夏	35/45(78)		0.016	n.d.～0.039		

③ 母乳中OTA濃度

母乳中からの OTA の検出が、各地で報告されている。

JECFA によると、1988 年から 2006 年までに報告された欧州 6 か国、アメリカ 2 か国、ブラジル及びオーストラリアにおける母乳中の陽性割合は、それぞれ 11%～100%、72%～87%、4%及び 2%であった。(参照 198)

2002 年の Scientific Cooperation (SCOOP Task 3.2.7)³¹⁾によると、ヒトの母乳 324 検体（ドイツ、イタリア、ノルウェー、スウェーデン）中の OTA 濃度の範囲は 0.01～0.24 µg/L、最高値は 2.35 µg/L、平均値は 0.09 又は 0.18 µg/L³²⁾であった(参照 52)。その他の知見を表 20 に示した。

ポーランドにおいて、1998 年 10 月から 1999 年 4 月にかけて 30 人の女性から母体の血液及び母乳が採取され、OTA 濃度が測定された。検出限界は血清及び母乳においてそれぞれ 0.02 及び 0.005 ng/mL であった。母乳中の OTA は 13 検体中 5 検体から検出された。母親血清中に対する母乳中の OTA 濃度比は、平均して 0.0058 であり、当該調査の結果、母体血清中と母乳中の OTA 濃度に相関が認められたことが報告されている。(参照 343)

イタリアで 2007 年 1 月から 6 月までに 130 名（イタリア名 92 名及びイタリア国籍でない人 38 名）の妊娠女性を対象に、さい帯血中及び乳中の OTA 濃度並びにアンケートによる食習慣が調べられた。母体のさい帯血検体の 99% に OTA が検出され、平均±標準偏差は 499.8±553.8 ng/L、範囲は 84～4,835 ng/L であった（検出限界：25 ng/L）。母乳中の 79% に OTA が検出され、平均±標準偏差は 10±15.6 ng/L であった（検出限界：0.5 ng/L）。いずれの OTA 濃度においてもイタリア人とイタリア国籍でない人との間に有意な差はみられなかった。さい帯血中 OTA 濃度と乳中の OTA 濃度との間に相関は認められなかったが、乳中に OTA が検出された検体において、さい帯血中 OTA 濃度とさい帯血中及び母乳中の OTA 濃度比との間に正の相関が認められた。さい帯血中濃度から推計された OTA 摂取量は、イタリア人とイタリア国籍でない人において、それぞれ 1.02±1.20 及び 0.87±0.78 ng/kg 体重/日であった。豚肉、ソフトドリンク、菓子及び赤ワインの摂取量とさい帯血中 OTA 濃度に相関が認められた。また、豚肉、ソフトドリンク、菓子及び種実類等から精製される油の摂取量と乳中の OTA 濃度に相関が認められた。(参照 356)

ドイツの 2 都市（ノルトライン-ヴェストファーレン及びニーダーザクセン）で 90 名の女性から母乳が採取され、OTA 濃度が測定された。母乳の 50% 以上に OTA が検出された（検出限界：10 ng/L）。OTA の平均濃度及び検出範囲はノルトライン-ヴェストファーレンでそれぞれ 24.4±21.1 ng/L 及び 10～100 ng/L、ニーダーザクセンではそれぞれ 14.4±15.1 ng/L 及び 10～78 ng/L であった。(参照 357)

OTA のヒト乳への分泌は、ATP 依存性のトランスポーターである乳がん耐性タンパク質（BCRP）により仲介されることが示唆されている。BCRP は、

³¹⁾ EU加盟国における食事経由のOTAばく露量評価

³²⁾ 平均値は以下の 2 つの方法で算出されている：①LOD以下の検体にLOD/2値を適用して平均を算出し、LODとLOQの間に検体については可能であれば測定値を用いた場合、又は②LOQ以下の検体にLOQ/2値を適用して平均を算出した場合

ヒトなどの種において、授乳期に高度に発現し各種薬剤や生体異物の乳中への分泌に参与している。(参照 358, 359, 360)

表 20 母乳中のオクラトキシン A 存在量

国名	採取期間	陽性数と割合(%)	検出限界 (ng/mL)	平均 OTA 濃度 (ng/mL)	濃度範囲 (ng/mL)	引用文献	報告年
ポーランド	1998~1999	5/13 (38)	0.005	0.0056	0.0053~0.017	(参照 343)	2006
イタリア	2007	45/57 (78.9)	0.0005	0.01	0.0011~0.0751	(参照 356)	2011
ドイツ		46/90 (51)	0.01	0.0244 0.0144	0.01~0.1 0.01~0.078	(参照 357)	2013

④ OTAばく露のバイオマーカー

尿中 β 2-マイクログロブリンレベルの上昇が、腎臓尿細管機能障害と関連して報告されている。食事からの OTA ばく露が高い地域として知られるチュニジアに住む原因不明の慢性間質性腎症（chronic interstitial nephropathy:CIN）患者 40 名、病因の明らかな CIN 患者 60 名及び健常者 40 名の血中 OTA 濃度及び β 2-マイクログロブリン濃度が測定された。血中 OTA 濃度は原因不明の CIN 患者において健常者及び原因の明らかな CIN 患者より有意に高く、尿中 β 2-マイクログロブリン濃度は、病因にかかわらず CIN 患者において健常者より有意に高かった。(参照 361)

最低 4 か月間母乳で育てられた乳児の腎機能を調べる目的で、エジプトにおいて母親と乳児の血清中及び母乳中の OTA 濃度並びに乳児の尿中 β 2-マイクログロブリンが調べられた。50 名の母親中 36 名（72%）の血清及び乳中から OTA が検出され、平均濃度及び標準偏差はそれぞれ 4.28 ± 3.97 ng/mL 及び 1.89 ± 0.98 ng/mL であった。血清中に 2 ng/mL 以上の OTA が検出された乳児は、血清中 2 ng/mL 未満の乳児より、尿中 β 2-マイクログロブリン濃度及び微量アルブミン尿の程度が一変量解析の結果有意に高かった。多変量ロジスティック回帰分析の結果、乳児血清中の OTA 濃度と β 2-マイクログロブリン濃度に有意な相関が認められた。(参照 362)

⑤ OTAばく露量の推定

欧州における食品中の OTA の汚染実態、血中 OTA 濃度からの OTA 推定摂取量、食事からの推定 OTA 摂取量及びヒトの OTA ばく露源となる食品について 2002 年の（SCOOP Task 3.2.7）に報告されている。欧州 13 か国の食品 32 品目、計 18,599 検体について OTA 濃度が調べられた結果、48.8%に汚染がみられた。穀類及び穀類製品 5,180 検体中 2,825 検体（54.5%）に OTA が検出され、濃度範囲は LOD~8.7 μ g/kg、平均は 0.294 μ g/kg（うち陽性平均は

0.484 μ g/kg)であった。このうち、米については、63 検体中 4 検体 (6.3%) に OTA が検出され、濃度範囲は LOD $\sim$ 1.4 μ g/kg、平均は 0.217 μ g/kg うち陽性平均は 0.725 μ g/kg)であった。(参照 52)

ヒトへの OTA のばく露源として最も割合が高いのは穀類及び穀類製品で、全体の 44%を占めると考えられた。続いてワインが 10%、コーヒーが 9%、ビールが 7%、ココアが 5%であった(参照 52)。畜産物については、高用量の OTA を含む飼料を摂取したブタの主に血液及び腎臓に OTA 汚染が認められている(参照 89, 107)。また、加工過程において、熟成中のハムの表面に *P. nordicum* 等による OTA 汚染が報告されている(参照 65, 363)。しかし、畜産物を介したばく露は、血液由来食品等を多く摂取する一部の地域ではヒトの OTA 総ばく露量の 10%程度となる可能性も考えられるが、ほとんどはヒトにおける OTA ばく露量の 3%を超えない結果となった。

欧州における OTA の汚染実態及び欧州各国の食品摂取量を基に、OTA ばく露推計には穀物及び穀物製品、砂糖及び菓子、温かい飲料、ビール、ワイン、畜産物並びにフルーツジュースの計 7 品目の食品の汚染実態及び摂取量が用いられた。4つのシナリオによる OTA ばく露量が推計された結果、成人の消費者における平均的な OTA 摂取量は、2 $\sim$ 3 ng/kg 体重/日であった。高リスクの消費者 (97.5 パーセンタイル値) では 6 $\sim$ 8 ng/kg 体重/日の OTA 摂取量となり、一週間に換算すると 40 $\sim$ 60 ng/kg 体重であった(参照 200)。

欧州 6 か国より報告された健常者 2,712 検体の血清及び血液中の OTA 濃度の平均は 0.34 μ g/L (うち陽性平均は 0.35 μ g/L) であった。血液中の OTA 濃度を用いて Klaassen による計算式³³⁾により算出された OTA の一日摂取量は 0.41 μ g/L $\sim$ 2.34 μ g/L であった。ドイツ、スウェーデン及びノルウェーでは血中 OTA 濃度から推計された OTA 摂取量は、OTA 汚染実態と摂取量から推計された OTA 摂取量より低かった。一方、スペイン及び英国はその反対の結果となった。(参照 52)

2002 年の (SCOOP Task 3.2.7) の調査結果より、乳児における OTA ばく露量が推計されている。調査されたヒトの母乳 324 検体の平均濃度より、乳児の一日の母乳摂取を 600 mL として推計すると、乳児における母乳からの OTA ばく露の範囲は 1.00 $\sim$ 24.00 ng/kg 体重/日となった。(参照 52)

2007 年の JECFA において、欧州の穀物 OTA 汚染状態及び穀物摂取量から、食事からの OTA ばく露量はおおよそ 8 $\sim$ 17 ng/kg 体重/週と推定された。大多数

³³⁾ OTAばく露量の推定に以下のKlaassenによる計算式が用いられた。

$$K_0 = Cl_p \times C_p / A = 1.97 C_p$$

K_0 : 一日摂取量 (ng/kg 体重/日)、 Cl_p : 血漿クリアランス、 C_p : 血漿OTA濃度 (血清OTA濃度と同等とされた)、 A : 生物学的利用能

の穀物検体における OTA 汚染レベルは 5 µg/kg 以下であった。(参照 198)

チリの 2 つの農業地帯の 88 名の健常な男女から採取した血液中の OTA 濃度が分析された。サンプル採取と並行して、血液提供者に最近 3 か月間の食品摂取に関するアンケート調査が実施され、穀物類、豚肉又は鳥肉摂取量と血清中の OTA 濃度の関係が調べられたが、明らかな相関はみられなかった。(参照 345)

トルコの地中海地方及び黒海地方の 2 地域で、6 歳から 80 歳までの健常者 239 名を対象に 2007 年 7 月及び 2008 年 1 月に、血液が採取された。Breitholtz の推計式(参照 364)³⁴⁾を用いて血清中 OTA 濃度より推計された OTA 摂取量の範囲は 0.0144~2.005 ng/kg 体重/日、平均は冬期及び夏期にそれぞれ 0.182 及び 0.408 ng/kg 体重/日であった。(参照 347)

スペインのレイダ地方の 9 地区で 2008 年 3 月から 5 月にかけて 279 名の男女から血液を採取し、同時に OTA のばく露源を調べる目的で食事に関するアンケートが実施された。OTA が含まれると考えられる穀物、ドライフルーツ、カカオ等 7 分類の食品摂取量と血漿中 OTA 濃度に相関はみられなかった。Klaassen の推計式を用いて血漿中 OTA 濃度から推計された OTA 摂取量は 1.69 ng/kg 体重/日であり、摂取食品頻度及び文献による食品別平均 OTA 汚染量から推計された OTA 摂取量は 1.96 ng/kg 体重/日であった。(参照 348)

スペインで 2008 年 7 月から 11 月にかけて 168 名の男女から血液を採取し、血漿中 OTA 濃度が測定された。Breitholtz 又は Klaassen の推計式を用いて試算された OTA 摂取量は 1.47 ± 1.25 又は 2.16 ± 1.88 ng/kg 体重/日であった。試験期間中に実施された、摂取した食事に関するアンケート結果を基に、穀物製品、肉類、ビール、ワイン等を含む 26 の食品グループと血清 OTA 濃度について回帰解析が実施された。特定の食品と血漿 OTA 濃度との間に有意な関係は認められず、著者らは OTA のばく露は様々な食品に由来すると考えた。(参照 349)

(2) 疫学研究

OTA は、バルカン地方にみられるバルカン風土病腎症 (BEN : Balkan Endemic Nephropathy) 及び北アフリカの尿路上皮腫瘍 (UTT : Urinary Tract Tumors) の発症に関与している可能性が報告されている。BEN の病因は明らかになっていないが、環境的病因として、OTA のほかに小麦に混入するウマノスズクサ属植物 (*Aristolochia clematitis*) の種子の成分で発がん物質であるアリストロキア酸の摂取、低品位炭から飲料用井戸水に浸出した発が

³⁴⁾ Breitholtz の推計式

OTA 摂取量 (ng/kg 体重/日) = $C_p \times 1.34$

C_p : 血清 OTA 濃度 (ng/mL)

ん性有機化合物（多環芳香族炭化水素等）の摂取、ウィルス感染等の可能性が挙げられている。(参照 365)

OTA のヒトにおける発がん性については、十分な疫学的証拠がない。

① バルカン風土病腎症

BEN は致命的なヒトの腎臓病であり、バルカン半島中部を流れるダニューブ川沿いのボスニア・ヘルツェゴビナ、ブルガリア、クロアチア、ルーマニア及びセルビア地域の主に農村部にみられ、疫学的に地域特異性が認められている。BEN は、男性より女性にやや多くみられ、男女比は約 1:1.5 と報告されており、死亡頻度は女性の方が高い。1950 年代の疾病の罹患率は 2～10%と報告されている。(参照 366, 367, 368)

クロアチアの風土病多発地域において実施された 1975～1990 年の間における患者の系統的フィールド調査の結果では、罹患率は 0.5～4.4%であった。近年は減少の傾向がみられる。(参照 366, 369)

BEN は、風土病多発地域のいくつかの農村の住民に発症がみられるが、患者のいる農村の近隣にある農村で発症者がみられないケースがあることが地理的特徴のひとつである。ユーゴスラビアにおける疫学的研究より、BEN は農民に多く発症し、家族に集合的に発症する傾向があるが遺伝性ではないこと、風土病が多発していない地域から風土病多発地域への移住でも発症することが示されている(参照 366, 370, 371)。

BEN には急性の症状はなく、発症年齢は主に 30～50 歳で、まれに 10～19 歳の患者の報告もある(参照 372)。病理組織学的には、尿細管上皮細胞の重度の傷害と皮質における広範な間質線維症を伴う間質性及び両側性の非炎症性及び非閉塞性腎症であり、ゆっくり進行して腎臓が次第に萎縮し腎不全に至る(参照 365, 367, 373)。初期症状として尿中にタンパク、糖等が検出され、尿濃縮の異常のほか、貧血がみられる。進行は遅く、数年間の腎臓疾患の後、腎不全となる。腎臓は病気の進行につれて萎縮し、間質が線維化し、末期には腎臓重量が劇的に減少する。病理学的には、遠位尿細管病変、血管病変及び腎臓糸球体病変と共に尿細管間質性疾患並びに腎皮質の萎縮及び硬化が認められる(参照 374, 375, 376)。病変が最初に現れる部位については、遠位尿細管、血管又は糸球体と諸説あり、BEN の病因は現在のところ不明である(参照 365, 376)。

腎盂や尿道などの尿路上部の上皮腫瘍の発生頻度が BEN 患者で高いこと、また、風土病が多発していない地域より風土病多発地域において高いことが報告されている(参照 373, 375, 377, 378)。クロアチアの風土病多発地域において、尿路上皮がんの罹患率は、風土病が多発していない地域の 5.1 倍であった(参照 379)。悪性腫瘍のうち、移行上皮細胞癌が症例中 95%ともっとも高頻度で、扁平上皮細胞癌は症例の 5%であった。1970～1997 年にベオグラードの泌尿器

科で、上部尿路腫瘍の治療を受けた 766 患者の検査結果において、これら腫瘍の発生頻度は、ユーゴスラビア（セルビア）の風土病多発地域とその可能性のある地域からの患者が 68%、それ以外の地域が 32%であった。女性において腫瘍発生頻度が高かった。両側性腫瘍の発生頻度は風土病多発地域の患者では 13%、風土病が多発していない地域では 2%であった(参照 380)。

これらの疫学的研究結果は、バルカン地方における慢性間質性腎炎又は上部尿路腫瘍の病因に環境要因が深くかかわっていることを示唆している。(参照 378, 381)

② バルカン風土病腎症とオクラトキシン A

BEN の病因仮説として、汚染された食品を摂取することによる OTA ばく露が高いことが挙げられている。BEN 患者の腎臓における病理組織学的特徴が、OTA を投与したブタと似ていたこと及び風土病多発地域と生産される穀物の OTA 汚染が比較的高頻度である地域とが地理的に重なっていること、風土病が多発している村の住民の血液試料から OTA が検出され、風土病が多発していない地域より統計的に有意に高濃度であったことが報告されている(参照 370, 382, 383, 384)。

1970 年代にクロアチア又はブルガリアの風土病多発地域で採取した穀類の試料中の OTA 汚染頻度は 8%~9%と、風土病が多発していない地域の約 3%と比較すると数倍高い頻度で汚染が認められた。1980 年 3 月から 4 月にかけてユーゴスラビアの風土病が多発している村及び風土病患者がいない村の住民からそれぞれ 395 及び 202 検体の血液が採取され、OTA 濃度が測定された。風土病が多発している村では、約 7%の検体が OTA 陽性であり、平均 OTA 濃度は 7.6 ng/g、最大濃度は 40 ng/g であった。風土病患者がいない村では、OTA 陽性率は 5.95%、平均濃度は 5.4 ng/g、最大濃度は 8 ng/g であった。この試験の検出限界は 1~2 ng/g であった。(参照 384)

ブルガリアの BEN 患者の多い地方の 2 地区で、20~30 歳の志願者計 19 人を対象に 1 か月間トータルダイエットスタディが実施された。穀物による OTA 摂取量は、検出限界 (0.07 µg/kg) から 2.6 µg/kg、一週間の平均 OTA 摂取量は 1.86~97.2 µg/kg 体重であった。(参照 48)

ブルガリアのヴラツァ市の風土病多発地域において、BEN と泌尿器系腫瘍、特に腎盂と尿細管の腫瘍との間に、疫学的類似性が認められた。それぞれの発症地域は地理的に相関があり、BEN と泌尿器系腫瘍の発症に相関が認められた。患者は女性と中年層に多く、家族で集合的な症例がある傾向が示された。ある地方の村では、100,000 人当たりの年齢補正した発症人数は、腎盂及び尿管腫瘍では男性 43.5、女性 74.2 であり、膀胱腫瘍については、男性 38.7、女性 24.6 であった。(参照 377)

OTA と腎臓病との関連は、アフリカ北部でも報告されている。チュニジアにおいて一般人の血液中 OTA の濃度範囲は、0.7～7.8 ng/mL で、慢性の腎障害患者では 12～55 ng/mL であった。(参照 385)

以上のように、バルカン諸国の風土病多発地域とそれ以外の地域における血中濃度を比較することにより、バルカン地方特有な腎症の発生と OTA ばく露との関係が調べられている。一方、風土病多発地域では、OTA による食品汚染がその他の地域より広がっているが、その地域に住む人々の OTA 血中濃度には顕著な上昇がみられず、風土病多発地域と同じ程度の OTA の血中濃度が、BEN のない国々で認められている。また、食事からのばく露の比較的高い地域においても、ヒトの OTA 血中濃度はラットを用いた長期間試験³⁵⁾と比較すると少なくとも 2 桁ほど低いことが指摘されている(参照 321, 376)。さらに、OTA を投与したマウスにおける腎細胞癌の発生部位は腎臓髄質外層外帯であるのに対し、ヒトでは腎盂及び尿道であり、また、標的となる細胞がマウスでは尿細管上皮細胞であるのに対し、ヒトでは移行上皮細胞である。このように、OTA を投与したげっ歯類にみられる腎臓のがんとヒトの BEN に関連した腎臓のがんでは発生部位及び標的細胞に違いもみられる(参照 376)。

一方、風土病多発地域及びその他地域の尿路上皮癌と腎症の患者から採取した腎臓の組織を ³²P-ポストラベル法で解析した結果、60 サンプルのうち 30% の組織に C-C8-dG-OTA を含め、OTA に関連した DNA 付加体が検出されたのに対し、次の③で記載するアリストロキア酸に関連した DNA 付加体は検出されなかった(参照 386)。従って、BEN に OTA が何らかの形でかかわっている可能性も否定できない(参照 387)。

③ バルカン風土病腎症とアリストロキア酸等

近年、アリストロキア酸が BEN の病因である可能性について報告されている。BEN で認められる腎症が病態生理学的及び組織病理学的にウマノスズクサ属植物の慢性中毒により起こるアリストロキア酸腎症と似ており、バルカン地方の小麦畑に生育しているウマノスズクサ属植物の種子が小麦に混入することにより小麦粉がアリストロキア酸に汚染されて BEN の病因となっている可能性が指摘されていた(参照 388)。アストロキア酸は、腎毒性、発がん性、変異原性等を有することが示されており、マススペクトロメトリーによりアリストロキア酸が DNA に結合したアリストラクタム-DNA 付加体の構造が確認され、アリストラクタム-DNA 付加体が BEN 患者の腎臓髄質及び尿路上皮がん

³⁵⁾ NTPにおけるラットを用いた発がん毒性試験の結果、腎毒性及び腎臓に腫瘍を誘発したラットの血中平均OTA濃度は、非発がん用量であった強制投与による21 ng OTA/kg 体重90日間試験において258.2 ng/mLであり、同試験の発がん用量の70 ng OTA /kg 体重用量では944.7 ng/mLであった。

に検出されたこと、アリストロキア酸が病因となる尿路上皮がん患者にみられる *p53* 変異スペクトルが、BEN 患者の腎臓皮質及び尿路上皮がんで見られた *p53* 変異スペクトルと関連していたこと等がその理由として挙げられている(参照 369, 389)。

風土病発生村落近傍の質の悪い石炭の風化により、水溶性の多環芳香族炭化水素と芳香族アミンが生成し、それらは、鎮痛薬腎症に因果関係のあるアセトアミノフェンの代謝物に類似していることから、BEN の病因には複数の要因が作用している可能性も考えられている。(参照 390)

なお、BEN における微量元素（カドミウム、ヒ素、鉛、セレン等）の病因説については、2 年間のフォローアップ研究で有意な影響がないとの報告がある(参照 391)。

(3) ヒトにおける知見のまとめ

OTA の血中濃度は、ヒトにおけるばく露の信頼できるバイオマーカーであると考えられる。2001 年の JECFA 評価において、欧州を中心とする 16 か国で実施された実態調査により得られた健常者からの血中濃度は、0.1～40 ng/mL であった（最大値 160 ng/mL を除く。）。その後の欧州 4 か国を含む 6 か国の調査では、OTA の血中濃度は、0.17～0.56 ng/mL であり、初期の調査と比較して、血中濃度の値が減少傾向にあることを示していた。

OTA のヒトへのばく露と BEN 及び泌尿器系腫瘍との疫学的な関連についての知見は、アリストロキア酸等の他の環境要因と共に、OTA もこれらのヒトの疾病の要因である可能性が示唆されている。しかし、OTA をそれらヒトの疾病の原因物質と結論付けることのできる十分な根拠は得られていない。

4. 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、1990 年に OTA の評価を実施し、ブタにおける 90 日間混餌投与試験の結果、腎臓の機能低下が認められた最小毒性量（LOAEL）8 µg/kg 体重/日を根拠として、不確実係数 500（種差及び個体差：各 10、LOAEL の採用に伴う追加：5）を用いて、PTWI を 112 ng/kg 体重/週と設定した。1995 年にこの PTWI は 100 ng/kg 体重/週と四捨五入された(参照 4)。

JECFA は、2001 年に OTA を再評価した。OTA の発がん作用機序について、遺伝毒性作用、非遺伝毒性作用等の新しい知見が検討されたが、結論は出なかった。OTA の腎毒性及び発がん性の作用機序について遺伝毒性及び非遺伝毒性の面から検討されたが、依然不明のままであった。いくつかの哺乳類動物種における低用量での悪影響である腎毒性が、ヒトにも同様に起こりうると考えられ、PTWI を 100 ng/kg 体重/週に据え置いた。なお、この値は、発がんに最も

感受性の高い雄ラットにおける NOEL を参照すると係数 1,500 に相当する。穀物及び穀物加工品における OTA 実態調査より、5 ng/g 以上の OTA 汚染頻度はそれぞれ 1.2%及び 0.3%並びに 20 ng/g 以上の OTA 汚染頻度はそれぞれ 0.3%及び 0.05%であった。これらのデータ及び欧州型の食品摂取量を基に、穀物及び穀物加工品における OTA 規制値を 5 又は 20 ng/g とした場合の健康影響を定量的な方法を用いて評価した結果、95 パーセントイルにおける推定 OTA 摂取量は、それぞれ 84 又は 92 ng/kg 体重/週であり、いずれも現行の PTWI より低い値であった。PTWI 以下の摂取量についての明らかなリスクはないと考えられた。(参照 74)

2007 年の JECFA における再評価では、OTA の毒性作用機序が検討され、酸化ストレス、細胞増殖等の非遺伝毒性作用の知見が多く確認された。OTA の DNA への作用については、OTA 又は OTA の代謝物が直接 DNA に共有結合し、DNA 付加体によって直接的に遺伝毒性が発現するとの証拠は確認できなかったことより、これまで設定されている PTWI の 100 ng/kg 体重/週を変更する科学的証拠はないとされた。リスク評価のための追加情報を得るために JECFA では、NTP のラット OTA 発がん性試験データを用いて BMD 法により、定量的な評価を実施した。求められた BMDL₁₀ 値は、現行の根拠となっているブタにおける腎毒性を指標とした LOAEL 8µg/kg 体重/日と比較し、PTWI 設定のために参照する POD として低い値とはならなかった。(参照 198)

(2) 国際がん研究機関 (IARC)

IARC では、1993 年に OTA の発がん性について評価を行っている。(参照 3)

OTA の経口投与により、マウスの雌雄で肝細胞腫瘍の発生頻度が増加し、雄マウスと雌雄ラットにおいて、腎細胞腺腫及び腎細胞癌の発生頻度が増加した。OTA は、いくつかの動物種において、腎毒性、腎障害及び免疫抑制作用を誘発した。

ヒトにおいては、OTA のばく露量とバルカン地方の風土病とされる BEN との関連性が示唆されている。バルカン地方では、腎障害と尿路上部に発生するがんが風土病としてみられるが、これらの患者における OTA の血中濃度が、罹患していない対照群の血中濃度より高かったとする報告がある。しかし、OTA のヒトにおける発がんへの影響については、利用できる適当なデータはなかったとされた。

以上より、IARC では OTA はグループ 2B（ヒトに対し発がん性の可能性がある）と評価された。

【事務局より（第 66 回調査会）】

欧州食品安全機関 (EFSA) 及びカナダ保健省 (Health Canada) での評価につい

て、更新又は追加をしております。

（３）欧州食品安全機関（EFSA）

~~EFSA は、2006 年に OTA の評価を実施し、以下の結果を公表している。（参
照 200）~~

~~初期の疫学的データからは、OTA は、バルカン半島の特定地域における腎
臓疾患及び腎臓がんの発症に関与している可能性が示唆された。しかし、これ
らの疫学データは不完全であり、OTA がヒトに対して腎臓を標的とした発が
ん物質であるとする証拠はなかった。発がん性試験においては、OTA は試験
された全ての動物種に腎毒性を示し、特徴的な巨大核及び進行性腎症を誘発し
た。腎障害の程度は用量依存的であり、OTA が腎臓組織に蓄積するため、ば
く露期間とも関連していた。~~

~~以上の知見に加え、最近の知見から、部位特異的な腎毒性並びに DNA 損傷
及び遺伝毒性として認められる OTA の毒性について、細胞の酸化的損傷が関
与している可能性が示されていること、また、OTA-DNA 付加体が最新の化学
的測定法で確認できていないことから、EFSA は、閾値に基づく手法を使用し
て OTA のリスク評価を実施した。ブタにおける初期の腎毒性マーカーに基づ
く LOAEL の 8 µg/kg 体重/日及び不確実係数 450（トキシコダイナミクス³⁶⁾
の種差：2.5、半減期に基づく薬物動態種差：6、個体差：10、LOAEL の採用
に伴う追加：3）を用いて、OTA に対する耐容週間摂取量（TWI）120 ng/kg
体重が設定された。~~

~~ヨーロッパにおける食事からの OTA ばく露に関し、最近の分析では、現在
の OTA の週間ばく露量は平均で 15～20 ng/kg 体重、OTA を含有する食品を
高摂取する層については 40～60 ng/kg 体重であった。~~

~~EFSA は、2006 年に OTA の評価を実施し、ブタにおける 90 日間混餌投与
試験の結果、腎毒性の早期マーカーに対する最小毒性量（LOAEL）8 µg/kg
体重/日を根拠として、不確実係数 450（種差：2.5、個体差：10、動態の差
（半減期）：6、LOAEL の採用に伴う追加：3）を用いて、耐容週間摂取量
（TWI）を 120 ng/kg 体重/週と設定した。また、初期の疫学的データからは、
OTA は、バルカン半島の特定地域における腎臓疾患及び腎臓がんの発症に関
与している可能性が示唆されたが、これらの疫学データは不完全であり、OTA
がヒトに対して腎臓を標的とした発がん物質であるとする証拠はなかったとし
ている。（参照 200）~~

~~EFSA は、2020 年に OTA の再評価を実施し、以下の結果を公表している。
（文献リスト No.119）~~

³⁶⁾ 化学物質の生体との反応性。化学物質が体内で生体の標的分子に達した後、影響発現に至る反
応。

OTA は様々な動物種に腎毒性を示し、げっ歯類において腎腫瘍を引き起こす。OTA は、*in vitro* 及び *in vivo* の両方で遺伝毒性を示すが、メカニズムは不明である。腫瘍形成には、直接的および間接的な遺伝毒性作用と非遺伝毒性作用が寄与している可能性がある。腎臓発がん性の作用機序の不確実性から、健康に基づくガイダンス値（HBGV）の設定は不適切とし、2006 年に設定した 120 µg/kg 体重/週の TWI を有効とせず、ばく露マージン（MOE）アプローチを適用した。非腫瘍性影響に関しては、ブタで観察された腎臓病変から、BMDL₁₀ は 4.73 µg/kg 体重/日と算出した。腫瘍性影響に関しては、ラットで観察された腎臓腫瘍から、BMDL₁₀ は 14.5 µg/kg 体重/日と算出された。

慢性食事性ばく露量の推定では、平均値と 95 パーセンタイル値はそれぞれ 0.6～17.8 ng/kg 体重/日、2.4～51.7 ng/kg 体重/日であった。BMDL₁₀ とばく露量との比較では、非腫瘍性のエンドポイントにおいて、ほとんどの消費者グループで MOE が 200 を超え、健康への懸念は低いことが示された。ただし、若年層の高摂取者における MOE は、健康への懸念を示唆した。腫瘍性のエンドポイントにおいては、ほぼすべてのばく露シナリオで MOE が 10,000 未満を示した。遺伝毒性が直接的なものである場合、これは健康への懸念の可能性を示唆するが、この評価には不確実性があり、リスクが過大評価されている可能性がある。

（４）カナダ保健省（Health Canada）

カナダ保健省は、2010 年に実施した食品中の OTA に係る健康リスク評価を更新し、2025 年に以下の結果を公表している。（参照 1013）

本評価では、カナダ国内における最新のデータ（小売食品中の OTA 汚染、消費パターンに関する情報）及び OTA に関する科学的情報を活用した。

以前の評価において、OTA が BEN の原因に関与していると示唆したが、近年、BEN はアリストロキア酸へのばく露と関連している可能性が高く、OTA は関与していないという科学的コンセンサスが得られている。

様々な実験動物において、OTA は腎毒性、肝毒性、神経毒性、催奇形性（通常は母体毒性量）、免疫毒性及び発がん性を示すことが確認されており、これらの影響の程度には、種差及び性差が報告されている。カナダ保健省（2010 年実施）、JECFA 及び EFSA は、OTA による最も敏感で重大な影響は、腎毒性と腎臓における発がん性であり、腎毒性は発がん性よりも低い用量で発生すると評価した。

OTA による人への健康被害を特徴づけるための重要な研究及びエンドポイントに関して、国際的にも概ね合意が得られている研究として、OTA ばく露による関連性が高く感度の高い非腫瘍性

影響については短期毒性試験におけるブタの腎毒性が、腫瘍性影響について

は2年間の慢性毒性試験における雄ラットの腎腫瘍が特定されている。OTAの遺伝毒性に閾値が存在するか、あるいはエピジェネティックなメカニズムと直接的なメカニズムの組み合わせが腫瘍形成に寄与しているかについて、依然として不確実性が残るため、HBGVを設定することは適切ではないとされ、代わりにMOEアプローチが推奨された。さらに、この不確実性を踏まえ、生涯未満及び生涯ばく露のシナリオにおいて、非腫瘍性影響及び腫瘍性影響の特性評価を行うことが適切であるとされた。

OTAの生涯未満にわたる食事由来ばく露に関連する潜在的な健康リスクとして、ブタで観察された腎毒性のBMDL₁₀である0.9 µg/kg体重/日及び推定ばく露量（平均、90パーセンタイル、95パーセンタイル）からMOEを算出した。平均ばく露および高ばく露群（90パーセンタイル、95パーセンタイル）のMOEが約165～1270の範囲であった。

同様に、OTAの生涯にわたる食事由来ばく露に関連する潜在的な健康リスクとして、雄ラットにおける腎腫瘍のBMDL₁₀である16.1 µg/kg体重/日及び推定生涯ばく露量からMOEを算出した結果、MOEは約7900～19000の範囲であった。加重平均による生涯ばく露推定値の上限値に保守的な値が含まれていることを考慮すると、生涯にわたるOTAの食事性ばく露は健康への懸念が低いと予想される。

【事務局より（第66回調査会）】

以降の項目については、次回以降の調査会においてご審議いただく予定です。なお、内容は第1版のままとなっております。

5. 日本におけるばく露状況

（1）汚染実態

1996年に日本で流通しているワイン、ビール、焼酎、泡盛、日本酒、コーヒー、ブドウジュース、醤油等の飲料及び発酵製品12品目中のOTA濃度について調査が実施された。検出限界は、レギュラーコーヒー及びインスタントコーヒーで60 ng/kg、その他の品目では3 ng/Lであった。缶コーヒー10検体中9検体で平均28 ng/LのOTAが検出され、最大値は133 ng/Lであった。インスタントコーヒー³⁷⁾12検体中12検体で平均18 ng/LのOTAが検出され、最大値は63 ng/Lであった。レギュラーコーヒー10検体は検出限界未満であった。赤ワインは、検査された36検体中15検体からOTAが検出され、イタリア産（5検体全て）、フランス産（7検体全て）及び日本産（13検体中3検体）にそれぞれ平均47、77及び4 ng/LのOTAが検出された。アメリカ産、オーストラリア産、チリ産及び南アフリカ産のワインは検出限界未満であった。白

³⁷⁾ 20 gを140 mLに溶かして試料とされた。

1 ワイン（5 検体中 1 検体）、ロゼワイン（5 検体中 3 検体）及びブレンドワイン
2 （7 検体中 2 検体）からそれぞれ平均 6、24 及び 6 ng/L の OTA が検出され
3 た。また、国産ビール（14 検体中 10 検体）及び輸入ビール（6 検体中 3 検体）
4 からそれぞれ平均 10 及び 14 ng/L の OTA が検出された。ブドウジュースで
5 は、赤ブドウジュース 9 検体中 2 検体から平均 6 ng/L の OTA が検出された。
6 白ブドウジュース 3 検体は、検出限界未満であった。醤油 5 検体全てから平均
7 6.82 ng/L の OTA が検出された。焼酎、泡盛、日本酒等計 15 検体では検出限
8 界未満であった。（参照 342）

9 日本において国産の赤ワイン 31 検体及び白ワイン 28 検体を用いて OTA が
10 測定された。それぞれ 5 検体から OTA が検出され、最高値は 0.03 及び 0.022
11 µg/L であった。検出限界は、赤ワイン及び白ワインでそれぞれ 0.0058 及び
12 0.0054 µg/L であった。（参照 392）

13 2004 年から 2009 年にかけて厚生労働科学研究として OTA が汚染する可能
14 性のある 29 品目、2,093 検体について食品中の OTA 汚染実態調査が実施され
15 た。米を含む穀類については毎年収穫後に検体が採取された。29 品目中 20 品
16 目に定量下限以上の OTA が検出され、汚染率が最も高かったのはココアの
17 98.7%（陽性数/検体数：77/78）であり、以下、インスタントコーヒー98.4%
18 （124/126）、チョコレート 86.7%（137/158）、パスタ 80.6%（125/155）、ビ
19 ール 78.5%（95/121）、日本蕎麦 75.3%（137/182）、レーズン 63.4%（59/93）、
20 缶コーヒー57.9%（44/76）、そば粉 57.5%（23/40）、焙煎コーヒー54.8%
21 （46/84）、小麦粉 50.5%（111/220）、コリアンダー45.2%（14/31）、ライ麦
22 44.0%（22/50）、ワイン 31.7%（39/123）、生コーヒー豆 28.6%（6/21）、オー
23 トミール 28.0%（21/75）、乾燥イチジク 14.8%（4/27）、大麦 8.0%（2/25）、
24 紅茶 4%（1/25）及びコーングリッツ 2.5%（1/44）であった。平均値が比較的
25 高かったのは、コリアンダー及びココアでそれぞれ 1.58 及び 0.84 µg/kg であ
26 った。最大値はオートミール、レーズン及びコリアンダーでそれぞれ 13.30、
27 12.50 及び 9.67 µg/kg と他の品目に比較すると高かった。米 110 検体、せんべ
28 い 21 検体、スイートコーン 50 件体、ポップコーン 15 検体、コーンフレーク
29 45 検体、キビ 10 検体、ウーロン茶 26 検体、ブドウジュース 44 件体及びかつ
30 お節 22 検体において OTA は定量限界未満であった。定量限界は、ビールで
31 0.01 µg/kg、ブドウジュース及びワインで 0.05 µg/kg、その他の食品では 0.1
32 µg/kg であった。（参照 393, 394）

33 2005～2008 年度に内閣府食品安全委員会食品安全確保総合調査として国内
34 で市場に流通している食品中のうち汚染実態調査がほとんど実施されていない
35 食品を中心に、OTA が汚染する可能性のある 18 品目、計 782 検体の食品につ
36 いて OTA 汚染実態調査が実施された。18 品目の内訳は、オリーブ、種子等、
37 養殖魚及び輸入養殖エビ、健康食品、食肉製品（生、加工品）、乳製品（牛乳、

加工品）、卵（生、加工品）、血液及び内臓（生、加工品）、料理用ハーブ類、飲料、ベビーフード及び幼児向け食品、菓子類、豆類及び豆を用いた製品、キャッサバ、野菜及び野菜を用いた製品、果物及び果物を用いた製品（ドライフルーツを含む。）、シリアル並びにその他加工品であった。OTA は HPLC により定量され、定量限界は幼児向け食品において 0.05 ng/g、その他の食品では 0.5 ng/g であった。OTA が検出されたのは 782 検体のうち 9 検体で検出率は 1.15%と低かった。OTA 汚染の最高値は 2008 年に購入された料理用ハーブ類の 110 ng/g であった。そのほか、2005 年に購入された飲料 5 検体中 1 検体のココアに 0.7 ng/g、2006 年に購入された料理用ハーブ類 10 検体のうち 1 検体に 0.8 ng/g、2008 年に購入された健康食品 45 検体中 5 検体及びその他加工品にそれぞれ 0.5～6.4 ng/g 及び 1.0 ng/g の OTA が検出された。食肉製品（生、加工品）及び血液及び内臓（生、加工品）計 172 検体において、OTA は検出限界未満であった。（参照 395, 396, 397）

2005～2009 年度に農林水産省による国産穀類の OTA 含有実態調査が実施されている。調査の結果、2005 年度の小麦 1 検体で定量限界を超える OTA が検出されているが、その他の全ての検体では、定量限界未満であった（表 21）。

表 2 1 国産穀類のオクラトキシン A 含有実態調査の結果（2005～2009 年度）

品目	年度	調査 点数	定量限界 (mg/kg)	定量限界未 満の点数		最 大 値 (mg/kg)	平均値	平 均 値
					割合		(mg/kg) ①	(mg/kg) ②
米 (玄米)	2005	98	0.00030	98	100%	<0.00030	0	0.00008 2
	2006	100	0.00030	100	100%	<0.00030	0	0.00008 0
	2007	100	0.00030	100	100%	<0.00030	0	0.00008 0
	2008	100	0.00012	100	100%	<0.00012	0	0.00005 0
	2009	100	0.00017	100	100%	<0.00017	0	0.00007 0
小麦 (玄麦)	2005	99	0.00020	98	99%	0.0007 1	0.000007	0.00008 4
	2006	100	0.00020	100	100%	<0.00020	0	0.00007 0
	2007	100	0.00020	100	100%	<0.00020	0	0.00007 0
	2008	100	0.00014	100	100%	<0.00014	0	0.00006 0
	2009	101	0.00016	101	100%	<0.00016	0	0.00007 2

大麦 (精麦)	2008	20	0.00009	20	100%	<0.00009	0	0.00004 0
ハトムギ (精白)	2008	10	0.0003	10	100%	<0.0003	0	0.00010
そば粉	2008	20	0.00023	20	100%	<0.00023	0	0.00009 0
ひえ (精白)	2008	10	0.00011	10	100%	<0.00011	0	0.00004 0
きび (精白)	2008	10	0.00013	10	100%	<0.00013	0	0.00005 0
あわ (精白)	2008	10	0.00013	10	100%	<0.00013	0	0.00005 0

注 1：本表は農林水産省「平成 14－23 年度 国産穀類のかび毒含有実態調査の結果」(参照 398)から食品安全委員会にて作成。

注 2：全ての品目において定量限界未満の試料数が 60%を超えていたことより、以下のように GEMS/Food が示す方法に従い、平均値①及び②を算出した。

平均値①：定量限界未満の濃度を「0」として算出。

平均値②：検出限界未満の濃度を検出限界とし、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界として算出。

東京において、184 人の健常者（男性 130 名、女性 54 名）の血清中の OTA 濃度が調べられた。1992 年、1994 年、1995 年及び 1996 年に採取したヒト血清の OTA 陽性率はそれぞれ 96%、38%、93%及び 98%で、全体の 85%が OTA 陽性であった。陽性検体の平均値は 68 pg/mL、その範囲は 4～278 pg/mL であった。調査の結果、OTA は、主にワイン、ビール等のアルコール飲料、コーヒー及び醤油より摂取されたと著者らは考えた。(参照 342)

(2) ばく露量の推定

2010 年度に厚生労働科学研究として、年齢層別（1～6 歳、7～14 歳、15～19 歳及び 20 歳以上の 4 階層）の食品摂取量及び前述の 2004 年から 2009 年にかけての OTA 汚染実態調査結果より、OTA の基準値を設定しない場合又は基準値を 5 µg/kg と設定するシナリオを想定して、日本人における OTA ばく露量がモンテカルロ法を用いたシミュレーションにより推計された。OTA が含有されると考えられて検査された食品 29 品目中、OTA 汚染が少なかった食品を除く 15 品目について、年齢層別に食品摂取量を調査し、摂取量が全体の 1%未満の品目についてはシミュレーションの対象外とした。その結果、焙煎コーヒー、缶コーヒー、インスタントコーヒー、日本蕎麦、小麦粉、チョコレート、ココア、ビール及びレーズンの 9 品目についてばく露量推計に用いるサンプルデータが作成された。OTA ばく露量の推計結果を表 22 に示した。年齢区分別では、体重当たり一日ばく露量は、1～6 歳までの階層で最も高く、

1 その後、年齢が上がるにしたがって体重当たりの一日ばく露量は低下するが、
2 20 歳以上の階層では再び上昇した。OTA の汚染量が 5 $\mu\text{g/kg}$ を超える食品は
3 ほとんどなく、また平均的な値を示す 50 パーセンタイル値の範囲は 0.08～
4 0.14 ng/kg 体重/日、高リスクの消費者（95 パーセンタイル値）の範囲は 1.20
5 ～2.21 ng/kg 体重/日であった。（参照 393, 399）日本においては、現状では高リ
6 スクの消費者においても、OTA ばく露量は低い推計結果となったが、OTA の
7 主な産生菌は異なる生育条件で異なる種類の農作物及び食品等に生育し、OTA
8 の汚染の程度は、気候等の影響を受けやすいことに留意が必要である。

表 2 2 モンテカルロ・シミュレーション法による市販食品に由来する
OTA ばく露量の推定 (ng/kg 体重/日)

シナリオ*	50 パーセン タイル	90 パーセン タイル	95 パーセン タイル
1- 6 才 規制* なし : upper bound	0.14	1.37	2.21
1- 6 才 規制 なし : lower bound	0.14	1.37	2.21
1- 6 才 規制 あり : upper bound	0.14	1.37	2.21
1- 6 才 規制 あり : lower bound	0.14	1.37	2.21
7-14 才 規制 なし : upper bound	0.11	0.99	1.56
7-14 才 規制 なし : lower bound	0.10	0.99	1.56
7-14 才 規制 あり : upper bound	0.11	0.99	1.56
7-14 才 規制 あり : lower bound	0.10	0.99	1.56
15-19 才 規制 なし : upper bound	0.09	0.78	1.20
15-19 才 規制 なし : lower bound	0.08	0.78	1.20
15-19 才 規制 あり : upper bound	0.09	0.78	1.20
15-19 才 規制 あり : lower bound	0.08	0.78	1.20
20 才以上 規制 なし : upper bound	0.11	0.90	1.49
20 才以上 規制 なし : lower bound	0.08	0.89	1.49
20 才以上 規制 あり : upper bound	0.11	0.90	1.49
20 才以上 規制 あり : lower bound	0.08	0.88	1.48

*以下 4 つのシナリオが OTA ばく露量の推定に用いられた

- ・ 定量限界未満は定量限界値の二分の一 (upper bound) とし、規制なし。
- ・ 定量限界未満はゼロ (lower bound) とし、規制なし。
- ・ 定量限界未満は定量限界値の二分の一 (upper bound) とし、規制の基準値は 5 µg/kg。
- ・ 定量限界未満はゼロ (lower bound) とし、規制の基準値は 5 µg/kg。

(3) 加工・調理による OTA の減衰

ワイン、コーヒー及び穀類において、加工・調理による OTA 濃度への影響が調べられている。

① ワイン

ワイン醸造過程により、原料ブドウ液中の OTA 初期濃度とは無関係に、ワ

イン中の OTA 濃度が一貫して減少することが示されている(参照 400, 401, 402)。
A. carbonarius 胞子を樹上のブドウ果実に接種し、果実中に OTA を産生させた。ワインに移行した OTA はブドウ果汁中 OTA の 8.1%であり、ブドウ果汁中の OTA 濃度は、OTA のワインへの移行に影響しなかった。(参照 400)

酵母 (*Saccharomyces*) がワイン又は果汁の OTA 含有量に及ぼす影響について酵母 20 菌株を用いて調査された。ワイン醸造中に除去できる自然汚染 OTA の割合は菌株間にかなりの変動が認められ、残留した OTA は 10~60%であった。ブドウ果汁に OTA を添加して発酵させた場合に残留した OTA は、17~32%であった。(参照 403)。

ブドウ園からワイン醸造にいたる OTA リスク管理についての重要管理点 (CCP) が示され、特にワインからの OTA 除去に対する活性炭、ベントナイトなど種々の吸着材の効果とともにワインの品質、ポリフェノール含量への影響が検討されている(参照 26, 402, 404)。

これらの研究における低減率は文献によりかなり異なるが、ワイン醸造が、工程中に OTA を相当量減少させることが示されている。

② コーヒー

A. ochraceus 又は *A. carbonarius* は主に収穫直後のコーヒー果実に感染し OTA を産生する。乾燥処理が迅速で効果的であれば、OTA は産生しないことが示されている。(参照 74)

焙煎工程がコーヒー豆中の OTA 濃度を減少させるという一般的な一致はあるものの、報告された減少率は大きく変動している。焙煎温度が、結果に影響する主要な因子と考えられる。450℃の焙煎温度を用いた試験では、焙煎時間を 3 段階に設定してコーヒーの最終温度を 175℃、185℃又は 204℃とする試験を行い、軽い焙煎 (175℃) では、1 試料で OTA の減少は起きなかったが、他の 3 試料で 60~80%の減少がみられた。深い焙煎 (204℃) では、全試料で 90%以上の減少がもたらされた。この工程は、代表的なエスプレッソコーヒーの淹れ方に相当する。(参照 405)

人工的に汚染させたコーヒー豆 (OTA 30 µg/kg) を用いて、焙煎により 31%、抽出までに 72%、トルコ風コーヒーの調製により 88%、それぞれ OTA が減少したことが報告されている。(参照 406)

また、9 検体の自然汚染したベトナムコーヒー豆を 260℃で 5 分間焙煎すると、13~93%の範囲で OTA が減少した。この焙煎コーヒー豆からエスプレッソコーヒーを調製した場合、OTA に更に 16~71%の減少が起き、モカコーヒーの調製では 17~56%の減少があり、ドリップコーヒーでは 1.2~25%の減少が認められた。(参照 407)

コーヒー豆の焙煎は、コーヒー中の OTA を低減するが、減少は変動しやすい

く、完全に予測できないという結論になる。

わが国では坪内らによって、コーヒー豆の選別による OTA の低減効果が検討されている。(参照 408)

③ カカオ

ココアやチョコレートなどカカオ豆の加工品について OTA 検出率が高いことが報告されている。カカオ豆に OTA 産生菌を接種し、焙煎、脱殻、破碎、圧搾及び添加物の添加といった加工段階を経て、OTA 濃度がどのように推移するかの試験が行われ、加工処理後のチョコレート製品における OTA 減少率が平均 91%になり、製造段階での OTA 低減が示された。(参照 409)

④ 穀類(製粉、加工・調理)

A. ochraceus が産生する OTA で汚染される可能性のある主な食品は、貯蔵食物である。穀物を十分に乾燥し乾燥状態を維持することが重要である。(参照 74)

試験室の管理条件において *P. verrucosum* を接種して調製した OTA 汚染全粒小麦を用いて、洗浄、粒外皮のすり落とし、製粉工程における OTA の消長が追跡された。全粒粉と精白小麦粉の両方を用いたパンを焼いた。外皮すり落としで、小麦に存在する OTA が最大で 44%まで除去され、パン焼き工程では、少量の追加減少があったのみであった。洗浄、すり落とし及びフスマの除去を組み合わせることにより、白パンにおいて 75%の OTA 低減が報告されている。(参照 410)

小麦粉に含まれる OTA の製パン工程での消長について、焼成による OTA の平均低減率は 33%で、同時に行ったトリコテセン類（デオキシニバレノール、3-アセチルデオキシニバレノール及びニバレノール）の低減率（48～77%）と比較し、焼成に対する OTA の安定性が指摘された。パン生地発酵ではトリコテセン類と比較し、OTA はかなり低減（30～34%）するものの、パンの焼成段階での低減率はトリコテセン類と比較して変化が少なかった。(参照 411)

OTA で汚染した全粒小麦の押し出し加工により、商業的手順で使用されるような最も苛酷な条件でさえ、OTA は 40%しか減少しなかった(参照 412, 413)。この低減率は、以前、フモニシン、アフラトキシン及びゼアラレノンで報告されたものよりずっと低かった(参照 413)。

コメの調理による OTA の減少については、圧力炊飯の残存率が 60%で通常の炊飯の 72%に比較して効果的であることが報告されている。(参照 414)

IV. 食品健康影響評価

食品安全委員会が自らの判断で行う食品健康影響評価として、オクラトキシンA（OTA）の食品健康影響評価を実施した。

OTAは、*A. ochraceus*、*P. verrucosum*等の数種の菌によって産生され、穀類、コーヒー、ココア、ビール、ワイン等様々な食品におけるOTA汚染が報告されている。コーデックス委員会では、小麦、大麦及びライ麦におけるOTAの最大基準値（5 µg/kg）を設定している。

OTAは消化管内微生物及び消化酵素により一部分解されてOTαとなる。消化管から吸収されたOTAは、多くの動物種において血液を経由して主に腎臓に分布する。血漿中においてはほとんどのOTAは、アルブミン等のタンパク質と結合している。OTAの一部は、腎臓及び肝臓でCYPにより酸化されるが、これらOTAの酸化物及びOTαの毒性はOTAより低いことが示されている。OTAの半減期は、マウスでは1～1.5日、ラットでは2～11日、ブタで4～6日、サバンナモンキーでは約20日との報告がある。

亜急性毒性試験では、OTAを投与した実験動物種の全てにおいて尿細管部位特異的な腎毒性が認められた。腎臓髄質外層外帯の近位尿細管S3セグメントには、巨大核細胞及び肥大した細胞がみられ、尿細管の萎縮及び組織破壊もみられた。ラット及びブタにおいて、これら腎臓へのOTAの影響は用量及び投与期間依存的であることが示されている。最も低い用量で毒性が認められたのはブタ（雌）で、120日間OTAを混餌投与した結果、腎臓における尿濃縮能の低下及び尿細管上皮細胞における退行性変性が認められ、LOAELは8 µg/kg 体重/日であった。

慢性毒性・発がん性試験では、げっ歯類にOTAを経口投与すると主に雄の腎臓髄質外層外帯に腫瘍が発生した。NTPで実施された2年間発がん性試験の結果、用量に依存して雄ラットの腎臓に腫瘍が認められた。LOAEL及びNOAELは、雄ラットで70 µg/kg 体重及び21 µg/kg 体重（いずれも週5回投与、それぞれ50 µg/kg 体重/日及び15 µg/kg 体重/日に相当）であった。一方、ブタを用いた慢性毒性試験では、40 µg/kg 体重/日のOTAを2年間投与した結果、尿細管萎縮や間質の線維化等、進行性の腎障害はみられたが、がんの誘発は認められなかった。

遺伝毒性試験では、遺伝子の点突然変異は検出されていないが、培養細胞を用いた試験で染色体異常が検出されている。また、トランスジェニックラット

1 (*gpt delta*) を用いた *in vivo* 遺伝毒性試験では腎臓髄質外層外帯にDNAの欠失
2 変異が検出されているが、同部位に点突然変異は認められなかった。

3
4 OTA又はその代謝物がDNAと共有結合して付加体を形成するか否かについ
5 ては不明である。培養細胞を用いた試験並びにげっ歯類及びブタへのOTA投与
6 によりDNA付加体が検出されたとする報告もあるが、現時点ではその構造が
7 特定されていない。一方、同様の試験でDNA付加体が検出されなかったとの
8 報告もあり、また、放射ラベルしたOTAを投与した試験では、OTAのDNA付
9 加体は検出されなかった。以上より、OTAはラットの腎臓髄質外層外帯に欠失
10 変異を誘発するものの、その変異がDNAへの直接的な作用に起因することを
11 示す証拠はない。したがって、OTAを遺伝毒性発がん物質と結論することはで
12 きないと考えた。OTAの非遺伝毒性発がん物質としてのメカニズムに関しては、
13 細胞周期の破たん、細胞増殖とアポトーシスの変化、酸化ストレス、ミトコン
14 ドリアの機能低下、MAPキナーゼ等のシグナル伝達の変化、フェニルアラニ
15 ンtRNA合成酵素、タンパク合成酵素阻害、ヒストン等のアセチル化阻害等、
16 がんに結びつく様々な原因が寄与しているとする報告が多数ある。これらの知
17 見より、食品安全委員会では、OTA又はOTA代謝物がDNA付加体を形成する
18 遺伝毒性発がん物質ではなく、DNAに間接的に作用する非遺伝毒性発がん物
19 質と考えることが妥当であると判断された。

20
21 ヒトへの影響に関して、バルカン風土病腎症及び泌尿器系腫瘍との疫学的な
22 関連についての知見は、アリストロキア酸等の他の環境要因と共に、OTAもこ
23 れらのヒトの疾病の要因である可能性が示唆されている。しかし、OTAをそれ
24 らのヒトの疾病の原因物質であると結論付けることのできる十分な根拠は得ら
25 れていない。

26
27 以上を踏まえ、食品安全委員会は、OTAはDNAに間接的に作用する非遺伝
28 毒性発がん物質であり、TDIを設定することが可能であると考えた。なお、
29 OTAのヒトを対象とした知見は限られており、用量反応関係の検討に利用可能
30 な知見がないことから、動物試験の結果に基づいた評価を実施した。

31 非発がん毒性に関して、各試験から得られたLOAELの最小値は、ブタの亜急
32 性毒性試験における8 µg/kg 体重/日であった。このLOAELに、不確実係数500
33 （種差10、個体差10、不可逆的な腎障害を指標としたLOAEL使用5）を適用し
34 て、OTAの非発がん毒性に関するTDIを16 ng/kg 体重/日と設定した。

35 発がん性に関しては、発がん性に関するNOAELを基にTDIを設定することと
36 し、NTPのラットの2年間発がん性試験において、NOAELは21 µg/kg 体重
37 （週5回投与、15 µg/kg 体重/日に相当）であったことから、このNOAELに不確

実係数1000（種差10、個体差10、発がん性10）を適用して、OTAの発がん性に関するTDIを15 ng/kg 体重/日と設定した。

日本におけるばく露量を推定する目的で、流通している食品中のOTA汚染実態調査が2004年～2010年に行われた結果、ココア、インスタントコーヒー、チョコレート、パスタ、日本蕎麦、レーズン、缶コーヒー、焙煎コーヒー及び小麦粉から50%以上の頻度でOTAが検出された。モンテカルロ法を用いたシミュレーションにより推計された年齢層別の体重当たりの一日OTAばく露量は、1～6歳までの階層で最も多かったが、平均的な値を示す50パーセンタイルでは0.14 ng/kg 体重/日、高リスクの消費者（95パーセンタイル値）でも2.21 ng/kg 体重/日であった。なお、2005年～2008年に行われた食品中のOTAの汚染実態調査の結果、食肉製品においては検出限界未満であった。

以上のばく露量の推計結果より、現状においては、OTAのばく露量は高リスク消費者においても今回設定したTDIを下回っていると推定されることから、食品からのOTAの摂取が一般的な日本人の健康に悪影響を及ぼす可能性は低いものと考えられる。

なお、OTAの主な産生菌は異なる生育条件では異なる種類の農作物及び食品に生育し、また、OTAの汚染の程度は、気候等の影響を受けやすいことから、リスク管理機関において汚染状況についてのモニタリングを行うとともに、規格基準について検討することが望ましいと考える。

＜今後の課題＞

- OTA の腎臓における発がんメカニズムに関するデータの収集
- OTA のバイオマーカーによる我が国のばく露評価（血液中の OTA 及び代謝物濃度の測定）
- OTA の健康影響についての疫学的データの収集
- 食品等の OTA 汚染実態データの収集

<略称>

略称	名称
4-OH-OTA	4- ヒドロキシオクラトキシンA
8-OHdG	8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスアミナーゼ
AMP	アデニル酸
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BEN	バルカン風土病腎症
BMD	ベンチマーク ドーズ
BMDL	BMD の信頼下限値
BMDL ₁₀	頻度が 10%増加する BMD の信頼下限値
BUN	血中尿素窒素
C3G	シアニジン-O-β-グルコシド
Con A	コンカナバリン A
CYP	シトクロム P450
DNA	デオキシリボ核酸
EFSA	欧州食品安全機関
EndoIII	エンドヌクレアーゼ III
EPA	米国環境保護庁
ERK 1/2	細胞外シグナル制御キナーゼ 1/2
Fpg	ホルムアミドピリミジン DNA グリコシラーゼ
GOT	グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ
GSH	還元型グルタチオン
GST	グルタチオントランスフェラーゼ
γGT	γグルタミルトランスフェラーゼ
HDAC	ヒストンデアセチラーゼ
HO-1	ヘムオキシゲナーゼ-1
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPRT	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IARC	国際がん研究機関
ICDH	イソクエン酸脱水素酵素
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LAP	ロイシンアミノペプチダーゼ
LC-MS/MS	液体クロマトグラフタンデム質量分析計
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最小毒性量

LOOH	脂質ヒドロペルオキシド
LPO	脂質過酸化反応
MDA	マロンジアルデヒド

略称	名称
mRNA	伝令 RNA（リボ核酸）
NAC	N-アセチル-L-システイン
NADPH	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NK	ナチュラルキラー
NMR	核磁気共鳴
NOAEL	無毒性量
NTP	米国国家毒性プログラム
OAT1	有機アニオントランスポーター1
OTA	オクラトキシン A
OTB	オクラトキシン B
OTC	オクラトキシン C
OTHQ	オクラトキシンハイドロキノン
OTQ	オクラトキシンキノン
OT α	オクラトキシン α
PAH	パラアミノ馬尿酸
PB	フェノバルビタール
PCNA	増殖細胞核抗原
PCs	カルボニル化タンパク質
PEPCK	ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ
PKC	タンパク質キナーゼ
POD	Point of departure(健康栄養評価基準値等を設定する際の毒性反応曲線の基準となる出発点の値)
PTWI	暫定最大耐容一週間摂取量
RNA	リボ核酸
ROS	活性酸素種
RSH	非タンパク質チオール基
SCOOP	Scientific Cooperation
SOD	スーパーオキシドジスムターゼ
TDI	耐容一日摂取量
TmPHA	パラアミノ馬尿酸の尿細管最大排泄量
tRNA	転移 RNA（リボ核酸）
Ubd	ユビキチン D
UDS	不定期 DNA 合成

＜参照＞

- 1 FAO. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003: FAO
Food and Nutrition Papers 81. 2004; 1-165
- 2 EC. Commission Regulation (EC) No 1126/2007.
http://www.fsai.ie/uploadedFiles/Commission_Regulation_EC_No_1126_2007.pdfEC. 2007
- 3 IARC. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to
humans; Vol.56: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and
Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. 1993; 489-
521
- 4 FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 1991.
Evaluation of certain food additives and contaminants (Thirty-seventh report of the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report
Series, No 806, 1991, and corrigenda. World Health Organization, Geneva,
Switzerland.
- ~~5 C. W. Hesseltine, E. E. Vandegrift, D. I. Fennell, M. L. Smith and O. L.
Shotwell. Aspergilli as ochratoxin producers. Mycologia. 1972; 64: 539-550~~
- 6 J. C. Frisvad, J. M. Frank, J. A. M. P. Houbaken, A. F. A. Kuijpers and R.
A. Samson. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section
Circumdati. Stud. Mycol. 2004; 50: 23-43
- 7 S. Natori, S. Sakaki, H. Kurata, S. Udagawa, M. Ichinoe, M. Saito and M.
Umeda. Chemical and cytotoxicity survey on the production of ochratoxins
and penicillic acid by *Aspergillus ochraceus* Wilhelm. Chem.Pharm.Bull.
1970; 18: 2259-2268
- 8 宮木高明, 山崎幹夫, 堀江義一, 宇田川俊一. 米に着生する有害糸状菌の検索と
分布について. 食衛誌. 1970; 11: 373-380
- 9 M. Yamazaki, Y. Maebayashi and K. Miyaki. Production of ochratoxin A by
Aspergillus ochraceus isolated in Japan from moldy rice. Appl.Microbiol.
1970; 20: 452-454
- 10 堀江義一. オクラトキシシン生産菌について. Proc. Jpn. Assoc.
Mycotoxicol. 1983; 18: 2-5
- 11 W. v. Walbeek, P. M. Scott, J. Harwig and J. W. Lawrence. *Penicillium*
viridicatum Westling: A new source of ochratoxin A. Can. J. Microbiol.
1969; 15: 1281-1285
- 12 A. Ciegler, D. I. Fennell, G. A. Sansing, R. W. Detroy and G. A. Bennett.

- 1 Mycotoxin-producing strains of *Penicillium viridicatum*: Classification into
2 subgroups. Appl.Microbiol. 1973; 26: 271-278
- 3 13 J. I. Pitt. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states
4 *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, Inc., London. 1979
- 5 14 J. I. Pitt. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and
6 production of ochratoxin A. Appl. Environ. Microbiol. 1987; 53: 266-269
- 7 15 T. O. Larsen, A. Svendsen and J. Smedsgaard. Biochemical
8 characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus
9 *Penicillium*. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67: 3630-3635
- 10 16 S. Sonjak, M. Licen, J. C. Frisvad and N. Gunde-Cimerman. Salting of dry-
11 cured meat - A potential cause of contamination with the ochratoxin A-
12 producing species *Penicillium nordicum*. Food Microbiol. 2011; 28: 1111-
13 1116
- 14 17 M. Schmidt-Heydt, E. Graf, D. Stoll and R. Geisen. The biosynthesis of
15 ochratoxin A by *Penicillium* as one mechanism for adaptation to NaCl rich
16 foods. Food Microbiol. 2012; 29: 233-241
- 17 18 F. E. Escher, P. E. Koehler and J. C. Ayres. Production of ochratoxins A and
18 B on country cured ham. Appl Microbiol. 1973; 26: 27-30
- 19 19 A. Rodriguez, M. Rodriguez, A. Martin, J. Delgado and J. J. Cordoba.
20 Presence of ochratoxin A on the surface of dry-cured Iberian ham after
21 initial fungal growth in the drying stage. Meat Sci. 2012; 92: 728-734
- 22 20 堀江義一. *Aspergillus carbonarius* (*Aspergillus* section *Nigri*) の
23 ochratoxin A 生産性. 日菌報. 1995; 36: 73-76
- 24 21 L. Sage, D. Garon and F. Seigle-Murandi. Fungal microflora and
25 ochratoxin A risk in French vineyards. J. Agric. Food Chem. 2004; 52: 5764-
26 5768
- 27 22 P. Battilani, P. Giorni and A. Pietri. Epidemiology of toxin-producing fungi
28 and ochratoxin A occurrence in grape. Eur.J.Pl.Pathol. 2003; 109: 715-722
- 29 23 P. Battilani, P. Giorni, T. Bertuzzi, S. Formenti and A. Pietri. Black
30 aspergilli and ochratoxin A in grapes in Italy. Int.J.Food Microbiol. 2006;
31 111: S53-S60
- 32 24 G. Perrone, G. Mule, A. Susca, P. Battilani, A. Pietri and A. Logrieco.
33 Ochratoxin A production and amplified fragment length polymorphism
34 analysis of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tubingensis* and
35 *Aspergillus niger* strains isolated from grapes in Italy. Appl. Environ.

- 1 Microbiol. 2006; 72: 680-685
- 2 25 P. V. Martinez-Culebras and D. Ramon. An ITS-RFLP method to identify
- 3 black *Aspergillus* isolates responsible for OTA contamination in grapes
- 4 and wine. Int.J.Food Microbiol. 2007; 113: 147-153
- 5 26 A. Visconti, G. Perrone, G. Cozzi and M. Solfrizzo. Managing ochratoxin A
- 6 risk in the grape-wine food chain. Food Addit.Contam. 2008; 25: 193-202
- 7 27 H. M. L. J. Joosten, J. Goetz, A. Pittet, M. Schellenberg and P. Bucheli.
- 8 Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries.
- 9 Int.J.Food Microbiol. 2001; 65: 39-44
- 10 28 M. H. Taniwaki, J. I. Pitt, A. A. Teixeira and B. T. Iamanaka. The source
- 11 of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to
- 12 processing methods. Int.J.Food Microbiol. 2003; 82: 173-179
- 13 29 A. I. Kouadio, N. G. Agbo, A. Lebrihi, F. Mathieu and M. Dosso. Effect of
- 14 the frequency of the mixing of coffee cherries put out for drying on the
- 15 kinetics of drying and the relationship to ochratoxin A production. Food
- 16 Addit.Contam. 2006; 23: 295-304
- 17 30 S. L. Leong, L. T. Hien, T. V. An, N. T. Trang, A. D. Hocking and E. S. Scott.
- 18 Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans.
- 19 Lett.Appl.Microbiol. 2007; 45: 301-306
- 20 31 G. Perrone, A. Susca, G. Cozzi, K. Ehrlich, J. Varga, J. C. Frisvad, M.
- 21 Meijer, P. Noonim, W. Mahakarnchanakul and R. A. Samson. Biodiversity
- 22 of *Aspergillus* species in some important agricultural products. Stud.
- 23 Mycol. 2007; 59: 53-66
- 24 32 A. Medina, R. Mateo, L. Lopez-Ocana, F. M. Valle-Algarra and M. Jimenez.
- 25 Study of Spanish grape mycobiota and ochratoxin A production by isolates
- 26 of *Aspergillus tubingensis* and other members of *Aspergillus* section
- 27 *Nigri*. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 4696-4702
- 28 33 P. V. Martinez-Culebras, A. Crespo-Sempere, M. Sanchez-Hervas, P.
- 29 Elizaquivel, R. Aznar and D. Ramon. Molecular characterization of the
- 30 black *Aspergillus* isolates responsible for ochratoxin A contamination in
- 31 grapes and wine in relation to taxonomy of *Aspergillus* section *Nigri*.
- 32 Int.J.Food Microbiol. 2009; 132: 33-41
- 33 34 R. A. Samson, J. A. M. P. Houburken, A. F. A. Kuijpers, J. M. Frank and J.
- 34 C. Frisvad. New ochratoxin A or sclerotium producing species in
- 35 *Aspergillus* section *Nigri*. Stud. Mycol. 2004; 50: 45-61
- 36 35 K. J. v. d. Merwe, P. S. Steyn, L. Fourie, D. B. Scott and J. J. Theron.

- 1 Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh.
2 Nature. 1965; 205: 1112-1113
- 3 36 D. B. Scott. Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products.
4 Mycopathol.Mycol.Appl. 1965; 25: 213-222
- 5 37 O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine and M. L. Goulden. Ochratoxin A:
6 Occurrence as natural contaminant of a corn sample. Appl.Microbiol. 1969;
7 17: 765-766
- 8 38 O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine, M. L. Goulden and E. E. Vandegraft.
9 Survey of corn for aflatoxin, zearalenone, and ochratoxin. Cereal
10 Chemists, inc., 1970; 47: 700-707
- 11 39 P. M. Scott, W. v. Walbeek, J. Harwig and D. I. Fennell. Occurrence of a
12 mycotoxin, ochratoxin A, in wheat and isolation of ochratoxin A and
13 citrinin producing strains of *Penicillium viridicatum*. Can.J.Plant Sci.
14 1970; 50: 583-585
- 15 40 P. M. Scott, W. v. Walbeek, B. Kennedy and D. Anyeti. Mycotoxins
16 (ochratoxin A, citrinin and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains
17 and other agricultural products. J. Agric. Food Chem. 1972; 20: 1103-1109
- 18 41 P. Krogh, B. Hald and E. J. Pedersen. Occurrence of ochratoxin A and
19 citrinin in cereals associated with mycotoxic porcine nephropathy. Acta
20 Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 1973; 81: 689-695
- 21 42 M. Nakajima, H. Tsubouchi, M. Miyabe and Y. Ueno. Survey of aflatoxin
22 B₁ and ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance
23 liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. Food
24 Agric.Immun. 1997; 9: 77-83
- 25 43 R. Mateo, A. Medina, E. M. Mateo, F. Mateo and M. Jimenez. An overview
26 of ochratoxin A in beer and wine. Int.J.Food Microbiol. 2007; 119: 79-83
- 27 44 B. Zimmerli and R. Dick. Ochratoxin A in table wine and grape-juice:
28 Occurrence and risk assessment. Food Addit.Contam. 1996; 13: 655-668
- 29 45 P. Krogh. Causal associations of mycotoxic nephropathy. Acta Pathol.
30 Microbiol. Scand. Sect. A. 1978; 269: 1-28
- 31 46 A. Pfohl-Leszkowicz, T. Petkova-Bocharova, I. N. Chernozemsky and M.
32 Castegnaro. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract
33 tumours: A review on aetiological causes and the potential role of
34 mycotoxins. Food Addit.Contam. 2002; 19: 282-302
- 35 47 M. M. Abouzied, A. D. Horvath, P. M. Podlesny, N. P. Regina, V. D.

- 1 Metodiev, R. M. Kamenova-Tozeva, N. D. Niagolova, A. D. Stein, E. A.
2 Petropoulos and V. S. Ganev. Ochratoxin A concentrations in food and feed
3 from a region with Balkan Endemic Nephropathy. Food Addit.Contam.
4 2002; 19: 755-764
- 5 48 T. Vrabcheva, T. Petkova-Bocharova, F. Grosso, I. Nikolov, I. N.
6 Chernozemsky, M. Castegnaro and S. Dragacci. Analysis of ochratoxin A in
7 foods consumed by inhabitants from an area with Balkan Endemic
8 Nephropathy: A 1 month follow-up study. J. Agric. Food Chem. 2004; 52:
9 2404-2410
- 10 49 C. A. D. R. Rosa, V. Palacios, M. Combina, M. E. Fraga, A. D. O. Rekson,
11 C. E. Magnoli and A. M. Dalcero. Potential ochratoxin A producers
12 from wine grapes in Argentina and Brazil. Food
13 Addit.Contam. 2002; 19: 408-414
- 14 50 矢崎廣久, 高橋治男, 七山悠三. 貯蔵肉の *Penicillium verrucosum* var.
15 *verrucosum* による自然汚染とマイコトキシン生産性について. Proc. Jpn.
16 Assoc. Mycotoxicol. 1980; 10: 29-31
- 17 51 杉本貞三, 南沢正敏, 高野和子, 笹村靖子, 鶴田理. *Penicillium*
18 *viridicatum* と *Aspergillus versicolor* による貯蔵米のオクラトキシンA、シ
19 トリニン、およびステリグマトシスチンの自然汚染について. 食衛誌. 1977;
20 18: 176-181
- 21 52 EC. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU
22 member states. Reports on tasks for scientific cooperation, Task
23 3.2.7. http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf. 2002
- 24 53 Q. Wu, V. Dohnal, L. Huang, K. Kuca, X. Wang, G. Chen and Z. Yuan.
25 Metabolic pathways of ochratoxin A. Curr Drug Metab. 2011; 12: 1-10
- 26 54 A. Pfohl-Leszkowicz and R. A. Manderville. Ochratoxin A: An overview on
27 toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Nutr. Food Res.
28 2007; 51: 61-99
- 29 55 S. Suzuki, T. Satoh and M. Yamazaki. The pharmacokinetics of ochratoxin
30 A in rats. Jpn.J. Pharmacol. 1977; 27: 735-744
- 31 56 M. S. Madhyastha, R. R. Marquardt and A. A. Frohlich. Hydrolysis of
32 ochratoxin A by the microbial activity of digesta in the gastrointestinal tract
33 of rats. Arch.Environ.Contam.Toxicol. 1992; 23: 468-472
- 34 57 C. E. Hansen, S. Dueland, C. A. Drevon and F. C. Stormer. Metabolism of
35 ochratoxin A by primary cultures of rat hepatocytes. Appl. Environ.
36 Microbiol. 1982; 43: 1267-1271

- 1 58 S. M. Madhyastha, R. R. Marquardt, A. A. Frohlich, G. Platford and D.
2 Abramson. Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth
3 and production of toxins by *Aspergillus alutaceus* and *Penicillium*
4 *verrucosum*. J. Agric. Food Chem. 1990; 38: 1506-1510
- 5 59 F. C. Stomer, O. Storen, C. E. Hansen, J. I. Pedersen and A. J. Aasen.
6 Formation of (4*R*)- and (4*S*)-4-hydroxyochratoxin A and 10-
7 hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes. Appl.
8 Environ. Microbiol. 1983; 45: 1183-1187
- 9 60 M. Kanisawa and S. Suzuki. Induction of renal and hepatic tumors in mice
10 by ochratoxin A, a mycotoxin. Gann. 1978; 69: 599-600
- 11 61 K. Moroi, S. Suzuki, T. Kuga, M. Yamazaki and M. Kanisawa. Reduction
12 of ochratoxin A toxicity in mice treated with phenylalanine and
13 phenobarbital. Toxicol.Lett. 1985; 25: 1-5
- 14 62 P. Galtier, J. L. Charpentreau, M. Alvinerie and C. Labouche. The
15 pharmacokinetic profile of ochratoxin A in the rat after oral and
16 intravenous administration. Drug Metabol. Dispos. 1979; 7: 429-434
- 17 63 H. Pettersson, K. H. Kiessling and P. Ciszuk. Degradation of ochratoxin A
18 in rumen. In: Proceedings, V International IUPAC Symposium Mycotoxins
19 and Phycotoxins, September 1-3, 1982, Vienna, Austria. 1982; Austrian
20 Chemical Society: 313-316
- 21 64 K. Hult, A. Teiling and S. Gatenbeck. Degradation of ochratoxin A by a
22 ruminant. Appl. Environ. Microbiol. Appl. Environ. Microbiol. 1976; 32:
23 443-444
- 24 65 G. Battaccone, A. Nudda and G. Pulina. Effects of ochratoxin A on livestock
25 production. Toxins. 2010; 2: 1796-1824
- 26 66 K. H. Kiessling, H. Pettersson, K. Sandholm and M. Olsen. Metabolism of
27 aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact
28 rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. Appl. Environ.
29 Microbiol. 1984; 47: 1070-1073
- 30 67 M. J. Pitout. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes.
31 Biochem.Pharmacol. 1969; 18: 485-491
- 32 68 R. W. Parker, T. D. Phillips, L. F. Kubena, L. H. Russell and N. D.
33 Heidelbaugh. Inhibition of pancreatic carboxypeptidase A: A possible
34 mechanism of interaction between penicillic acid and ochratoxin A. J.
35 Environ. Sci. Health. 1982; B17: 77-91
- 36 69 S. Kumagai and K. Aibara. Intestinal absorption and secretion of

- 1 ochratoxin A in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1982; 64: 94-102
- 2 70 S. Kumagai. Effects of plasma ochratoxin A and luminal pH on the jejunal
3 absorption of ochratoxin A in rats. Food Chem. Toxicol. 1988; 26: 753-758
- 4 71 O. Storen, P. Helgerud, H. Holm and F. C. Stormer. Formation of (4R)-4-
5 hydroxyochratoxin A and ochratoxin α from ochratoxin A by rats. In:
6 Proceedings, V International IUPAC Symposium Mycotoxins and
7 Phycotoxins, September 1-3, 1982, Vienna, Austria, Austrian Chem. Soc.,
8 Vienna. 1982; 321-324
- 9 72 R. Fuchs, B. Radic, M. Peraica, K. Hult and R. Plestina. Enterohepatic
10 circulation of ochratoxin A in rats. Period.Biol. 1988; 90: 39-42
- 11 73 A. Roth, K. Chakor, E. E. Creppy, A. Kane, R. Roschenthaler and G.
12 Dirheimer. Evidence for an enterohepatic circulation of ochratoxin A in
13 mice. Toxicology. 1988; 48: 293-308
- 14 74 FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation), 2001.
15 Ochratoxin A. In: Safety evaluation of certain mycotoxins in food, Prepared by the
16 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
17 WHO Food Additives Series 47, pp 281-387. World Health Organisation, Geneva,
18 Switzerland.
- 19 75 P. Galtier, M. Alvinerie and J. L. Charpentreau. The pharmacokinetic
20 profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens. Food Cosmet. Toxicol.
21 1981; 19: 735-738
- 22 76 S. Hagelberg, K. Hult and R. Fuchs. Toxicokinetics of ochratoxin A in
23 several species and its plasma-binding properties. J. Appl. Toxicol. 1989;
24 9: 91-96
- 25 77 P. Galtier. Contribution of pharmacokinetic studies to mycotoxicology -
26 ochratoxin A. Vet. Sci. Commun. 1978; 1: 349-358
- 27 78 S. Kumagai. Ochratoxin A: Plasma concentration and excretion into bile
28 and urine in albumin-deficient rats. Food Chem. Toxicol. 1985; 23: 941-943
- 29 79 P. Galtier, R. Camguilhem and G. Bodin. Evidence for *in vitro* and *in vivo*
30 interaction between ochratoxin A and three acidic drugs. Food Cosmet.
31 Toxicol. 1980; 18: 493-496
- 32 80 R. Stojkovic, K. Hult, S. Gamulin and R. Plestina. High affinity binding of
33 ochratoxin A to plasma constituents. Biochem.Int. 1984; 9: 33-38
- 34 81 T. Kuiper-Goodman and P. M. Scott. Risk Assessment of the Mycotoxin
35 Ochratoxin A. Biomed. Environ. Sci. 1989; 2: 179-248

- 1 82 D. R. Dietrich, A. H. Heussner and E. O'Brien. Ochratoxin A: comparative
2 pharmacokinetics and toxicological implications (experimental and
3 domestic animals and humans). Food Addit.Contam. 2005; 22: 45-52
- 4 83 Y. Fukui, K. Hoshino, Y. Kameyama, T. Yasui, C. Toda and H. Nagano.
5 Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse
6 embryonic brain. Food Chem. Toxicol. 1987; 25: 17-24
- 7 84 P. Galtier, B. Boneu, J. L. Charpentreau, G. Bodin, M. Alvinerie and J. More.
8 Physiopathology of haemorrhagic syndrome related to ochratoxin A
9 intoxication in rats. Food Cosmet.Toxicol. 1979; 17: 49-53
- 10 85 M. B. Ballinger, T. D. Phillips and L. F. Kubena. Assessment of the
11 distribution and elimination of ochratoxin A in the pregnant rat. J.Food
12 Saf. 1986; 8: 11-24
- 13 86 H. Zepnik, W. Volkel and W. Dekant. Toxicokinetics of the mycotoxin
14 ochratoxin A in F344 rats after oral administration.
15 Toxicol.Appl.Pharmacol. 2003; 192: 36-44
- 16 87 Y. Auffray and P. Boutibonnes. Evaluation of the genotoxic activity of some
17 mycotoxins using *Escherichia coli*, in the SOS spot test. Mutat.Res. 1986;
18 171: 79-82
- 19 88 A. Vettorazzi, E. Gonzalez-Penas, I. F. Troconiz, L. Arbillaga, L. A.
20 Corcuera, A. G. Gil and A. L. d. Cerain. A different kinetic profile of
21 ochratoxin A in mature male rats. Food Chem. Toxicol. 2009; 47: 1921-1927
- 22 89 H. P. Mortensen, B. Hald and A. Madsen. Feeding experiments with
23 ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 5. Ochratoxin A in pig
24 blood. Acta Agric.Scand. 1983; 33: 235-239
- 25 90 O. Sreemannarayana, A. A. Frohlich, T. G. Vitti, R. R. Marquardt and D.
26 Abramson. Studies of the tolerance and disposition of ochratoxin A in
27 young calves. J.Anim.Sci. 1988; 66: 1703-1711
- 28 91 I. Studer-Rohr, J. Schlatter and D. R. Dietrich. Kinetic parameters and
29 intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. Arch.
30 Toxicol. 2000; 74: 499-510
- 31 92 R. Fuchs, L.E. Appelgren and K. Hult. Distribution of ¹⁴C-ochratoxin A in
32 the mouse monitored by whole-body autoradiography. Pharmacol. Toxicol.
33 1988; 63: 355-360
- 34 93 A. Breitholtz-Emanuelsson, R. Fuchs, K. Hult and L. E. Appelgren.
35 Synthesis of ¹⁴C-ochratoxin A and ¹⁴C-ochratoxin B and a comparative
36 study of their distribution in rats using whole body autoradiography.

- Pharmacol.Toxicol. 1992; 70: 255-261
- 94 J. C. Gautier, J. Richoz, D. H. Welte, J. Markovic, E. Gremaud, F. P. Guengerich and R. J. Turesky. Metabolism of ochratoxin A: Absence of formation of genotoxic derivatives by human and rat enzymes. Chem. Res. Toxicol. 2001; 14: 34-45
- 95 S. C. Lee, J. T. Beery and F. S. Chu. Immunohistochemical fate of ochratoxin A in mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1984; 72: 218-227
- 96 G. Schwerdt, K. Bauer, M. Gekle and S. Silbernagl. Accumulation of ochratoxin A in rat kidney in vivo and in cultivated renal epithelial cells in vitro. Toxicology. 1996; 114: 177-185
- 97 N. Aoudia, E. K. Tangni and Y. Larondelle. Distribution of ochratoxin A in plasma and tissues of rats fed a naturally contaminated diet amended with micronized wheat fibres: effectiveness of mycotoxin sequestering activity. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 871-878
- 98 N. Aoudia, P. Callu, F. Grosjean and Y. Larondelle. Effectiveness of mycotoxin sequestration activity of micronized wheat fibres on distribution of ochratoxin A in plasma, liver and kidney of piglets fed a naturally contaminated diet. Food Chem Toxicol. 2009; 47: 1485-1489
- 99 A. Vettorazzi, I. F. de Troconiz, E. Gonzalez-Penas, L. Arbillaga, L. A. Corcuera, A. G. Gil and A. L. de Cerain. Kidney and liver distribution of ochratoxin A in male and female F344 rats. Food Chem Toxicol. 2011; 49: 1935-1942
- 100 A. Mally, H. Keim-Heusler, A. Amberg, M. Kurz, H. Zepnik, P. Mantle, W. Volkel, G. C. Hard and W. Dekant. Biotransformation and nephrotoxicity of ochratoxin B in rats. Toxicol Appl Pharmacol. 2005; 206: 43-53
- 101 P. G. Mantle. Interpretation of the pharmacokinetics of ochratoxin A in blood plasma of rats, during and after acute or chronic ingestion. Food Chem. Toxicol. 2008; 46: 1808-1816
- 102 V. Zlender, D. Breljak, M. Ljubojevic, D. Flajs, D. Balen, H. Brzica, A. M. Domijan, M. Peraica, R. Fuchs, N. Anzai and I. Sabolic. Low doses of ochratoxin A upregulate the protein expression of organic anion transporters Oat1, Oat2, Oat3 and Oat5 in rat kidney cortex. Toxicol Appl Pharmacol. 2009; 239: 284-96
- 103 K. Hult, E. Hokby, U. Hagglund, S. Gatenbeck, L. Rutqvist and G. Sellyey. Ochratoxin A in pig blood: method of analysis and use as a tool for feed studies. Appl. Environ. Microbiol. 1979; 38: 772-776

- 1 104 F. Elling, J. P. Nielsen, E. B. Lillehoj, M. S. Thomassen and F. C. Stømer.
2 Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: Enzyme and ultrastructure
3 changes after short-term exposure. *Toxicology*. 1985; 23: 247-254
- 4 105 J. Harwig, T. Kuiper-Goodman and P. M. Scott. Microbial food toxicants:
5 Ochratoxins. In: Rechcigl, M., ed., *Handbook of Foodborne Diseases of*
6 *Biological Origin*, Boca Raton, FL: CRC Press. 1983; 193-238
- 7 106 P. Krogh, F. Elling, B. Hald, A. E. Larsen, E. B. Lillehoj, A. Madsen and H.
8 P. Mortensen. Time-dependent disappearance of ochratoxin A residues in
9 tissues of bacon pigs. *Toxicology*. 1976; 6: 235-242
- 10 107 A. Madsen, H. P. Mortensen and B. Hald. Feeding experiments with
11 ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. I. Influence on pig
12 performance and residues. *Acta Agric. Scand.* 1982; 32: 225-239
- 13 108 B. J. Shreeve, D. S. P. Patterson and B. A. Roberts. The 'carry-over' of
14 aflatoxin, ochratoxin and zearalenone from naturally contaminated feed to
15 tissues, urine and milk of dairy cows. *Food Cosmet Toxicol.* 1979; 17: 151-
16 152
- 17 109 M. A. Stander, T. W. Nieuwoudt, P. S. Steyn, G. S. Shephard, E. E. Creppy
18 and V. Sewram. Toxicokinetics of ochratoxin A in vervet monkeys
19 (*Cercopithecus aethiops*). *Arch. Toxicol.* 2001; 75: 262-269
- 20 110 J. Fink-Gremmels. Conclusion from the workshops on ochratoxin A in food:
21 recent developments and significance. Organized by ILSI Europe in Baden
22 (Austria), 29 June-1 July 2005. *Food Addit. Contam.* 2005; 22(suppl.1): 1-5
- 23 111 W. Follmann and S. Lucas. Effects of the mycotoxin ochratoxin A in a
24 bacterial and a mammalian in vitro mutagenicity test system. *Arch. Toxicol.*
25 2003; 77: 298-304
- 26 112 P. Krogh, F. Elling, B. Hald, B. Jylling, V. E. Petersen, E. Skadhauge and
27 C. K. Svendsen. Experimental avian nephropathy.
28 *Pathol. Microbiol. Scand. A.* 1976; 84: 215-221
- 29 113 T. Juskiewicz, J. Piskorska-Pliszczyńska and H. Wisniewska. Ochratoxin
30 A in laying hens: Tissue deposition and passage into eggs. "In: *Mycotoxins*
31 *and Phycotoxins. Proceedings of the V international IUPAC Symposium,*
32 *Vienna, Technical University, 1-2 September.*". 1982; 122-125
- 33 114 M. Denli, J. C. Blandon, M. E. Guynot, S. Salado and J. F. Perez. Efficacy
34 of a new ochratoxin-binding agent (Ocratox) to counteract the deleterious
35 effects of ochratoxin A in laying hens. *Poult. Sci.* 2008; 87: 2266-2272
- 36 115 R. Fuchs, L.E. Appelgren, S. Hagelberg and K. Hult. Carbon-14-

- 1 ochratoxin A distribution in the Japanese quail. (*Coturnix coturnix*
2 *japonica*) monitored by whole body autoradiography. Poult. Sci. 1988; 67:
3 707-714
- 4 116 J. Piskorska-Pliszczyńska and T. Juszkievicz. Tissue deposition and
5 passage into eggs of ochratoxin A in Japanese quail. J. Environ. Pathol.
6 Toxicol. Oncol. 1990; 10: 8-10
- 7 117 A. Breitholtz-Emanuelsson, I. Palminger-Hallen, P. O. Wholin, A.
8 Oskarsson, K. Hult and M. Olsen. Transfer of ochratoxin A from lactating
9 rats to their offspring: A short-term study. Nat.Toxins. 1993; 1: 347-352
- 10 118 L. E. Appelgren and R. G. Arora. Distribution of ¹⁴C-labelled ochratoxin A
11 in pregnant mice. Food Chem. Toxicol. 1983; 21: 563-568
- 12 119 L. E. Appelgren and R. G. Arora. Distribution studies of ¹⁴C-labelled
13 aflatoxin B₁ and ochratoxin A in pregnant mice. Vet Res.Comm. 1983;
14 7: 141-144
- 15 120 I. P. Hallen, A. Breitholtz-Emanuelsson, K. Hult, M. Olsen and A.
16 Oskarsson. Placental and lactational transfer of ochratoxin A in rats.
17 Nat.Toxins. 1998; 6: 43-49
- 18 121 E. V. Ferrufino-Guardia, E. K. Tangni, Y. Larondelle and S. Ponchaut.
19 Transfer of ochratoxin A during lactation: Exposure of suckling via the milk
20 of rabbit does fed a naturally-contaminated feed. Food Addit.Contam.
21 2000; 17: 167-175
- 22 122 D. S. P. Patterson, B. A. Roberts and B. J. Small. Metabolism of ochratoxins
23 A and B in the pig during early pregnancy and the accumulation in body
24 tissues of ochratoxin A only. Food Cosmet.Toxicol. 1976; 14: 439-
25 442
- 26 123 H. P. Mortensen, B. Hald, A. E. Larsen and A. Madsen. Ochratoxin A
27 contaminated barley for sows and piglets. Pig performance and residues in
28 milk and pigs. Acta Agric.Scand. 1983; 33: 349-352
- 29 124 H. Barnikol and A. Thalmann. [Clinical observations in the pig in relation
30 to the mycotoxins ochratoxin A and zearalenone.]. [in German]. Tierarztl.
31 Umsch. 1988; 43: 74-82
- 32 125 W. E. Ribelin, K. Fukushima and P. E. Still. The toxicity of ochratoxin to
33 ruminants. Can. J. Comp. Med. 1978; 42: 172-176
- 34 126 F. C. Stomer, C. E. Hansen, J. I. Pedersen, G. Hvistendahl and A. J. Aasen.
35 Formation of (4*R*)- and (4*S*)-4-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by
36 liver microsomes from various species. Appl. Environ. Microbiol. 1981; 42:

- 1 1051-1056
- 2 127 R. D. Hutchison, and P. S. Steyn. The isolation and structure of 4-
3 hydroxyochratoxin A and 7-carboxy-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-
4 methylisocoumarin from *Penicillium viridicatum*. *Tetrahedron Lett.* 1971;
5 43: 4033-4036.
- 6 128 R. F. Omar, H. V. Gelboin and A. D. Rahimtula. Effect of cytochrome p450
7 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A.
8 *Biochem.Pharmacol.* 1996; 51: 207-216
- 9 129 H. Zepnik, A. Pahler, U. Schauer and W. Dekant. Ochratoxin A-
10 induced tumor formation: is there a role of reactive ochratoxin A
11 metabolites? *Toxicol.Sci.* 2001; 59: 59-67
- 12 130 S. Obrecht-Pflumio, T. Chassat, G. Dirheimer and D. Marzin. Genotoxicity
13 of ochratoxin A by *Salmonella* mutagenicity test after bioactivation by
14 mouse kidney microsomes. *Mutat. Res.* 1999; 446: 95-102
- 15 131 P. Galtier and M. Alvinerie. *In vitro* transformation of ochratoxin A by
16 animal microbial floras. *Ann Rech Vet.* 1976; 7: 91-98
- 17 132 R. Fuchs, K. Hult, M. Peraica, B. Radic and R. Plestina. Conversion of
18 ochratoxin C into ochratoxin A in vivo. *Appl Environ Microbiol.* 1984; 48:
19 41-42
- 20 133 H. L. Trenk, M. E. Butz and F. S. Chu. Production of ochratoxins in
21 different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. *Appl Microbiol.* 1971;
22 21: 1032-1035
- 23 134 K. Gross-Steinmeyer, J. Weymann, H. G. Hege and M. Metzler. Metabolism
24 and lack of DNA reactivity of the mycotoxin ochratoxin A in cultured rat
25 and human primary hepatocytes. *J.Agric.Food Chem.* 2002; 50: 938-945
- 26 135 J. E. Jennings-Gee, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. S. Miller, A. Pfohl-
27 Leszkowicz and G. G. Schwartz. Ochratoxin A: *In utero* exposure in mice
28 induces adducts in testicular DNA. *Toxins.* 2010; 2: 1428-1444
- 29 136 O. Storen, H. Holm and F. C. Stormer. Metabolism of ochratoxin A by rats.
30 *Appl. Environ. Microbiol.* 1982; 44: 785-789
- 31 137 A. Mally, H. Zepnik, P. Wanek, E. Eder, K. Dingley, H. Ihmels, W. Volkel
32 and W. Dekant. Ochratoxin A: lack of formation of covalent DNA adducts.
33 *Chem.Res.Toxicol.* 2004; 17: 234-242
- 34 138 P. P. Sokol, G. Ripich, P. D. Holohan and C. R. Ross. Mechanism of
35 ochratoxin A transport in kidney. *J,Pharmacol.Exp.Ther.* 1988; 246: 460-

- 1 465
- 2 139 J. Dai, G. Park, J. L. Perry, Y. V. Il'ichev, D. A. J. Bow, J. B. Pritchard, V.
3 Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, R. A. Manderville and J. D. Simon. Molecular
4 aspects of the transport and toxicity of ochratoxin A. *Acc.Chem.Res.* 2004;
5 37: 874-881
- 6 140 M. Tsuda, T. Sekine, M. Takeda, S. H. Cha, Y. Kanai, M. Kimura and H.
7 Endou. Transport of ochratoxin A by renal multispecific organic anion
8 transporter 1. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999; 289: 1301-1305
- 9 141 S. Subramanian, A. Kanthasamy, N. Balasubramanian, N. Sekar and S.
10 Govindasamy. Ochratoxin A toxicity on carbohydrate metabolism in rats.
11 *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1989; 43: 180-184
- 12 142 A. D. Rahimtula and X. Chong. Alterations in calcium homeostasis as a
13 possible cause of ochratoxin A nephrotoxicity. In: Castegnaro,M.,
14 Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds,
15 *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours (IARC*
16 *Scientific Publications No. 115)* Lyon: IARCPress. 1991; 207-214
- 17 143 R. C. Braunberg, O. Gantt, C. Barton and L. Friedman. *In vitro* effects of
18 the nephrotoxins ochratoxin A and citrinin upon biochemical function of
19 porcine kidney. *Arch.Environ.Contam.Toxicol.* 1992; 22: 464-470
- 20 144 E. E. Creppy, A. A. Lugnier, G. Beck, R. Roschenthaler and G. Dirheimer.
21 Action of ochratoxin A on cultured hepatoma cells-reversion of
22 inhibition by phenylalanine. *FEBS Lett.* 1979; 104: 287-290
- 23 145 E. E. Creppy, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Inhibition of protein
24 synthesis in mice by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine.
25 *Food Chem. Toxicol.* 1984; 22: 883-886
- 26 146 E. E. Creppy, A. A. J. Lugnier, F. Fasiolo, K. Heller, R. Roschenthaler and
27 G. Dirheimer. In vitro inhibition of yeast phenylalanyl-tRNA synthetase
28 by ochratoxin A. *Chem.Biol.Interact.* 1979; 24: 257-261
- 29 147 E. E. Creppy, M. Schlegel, R. Roschenthaler and G. Dirheimer.
30 Phenylalanine prevents acute poisoning by ochratoxin A in mice.
31 *Toxicol.Lett.* 1980; 6: 77-80
- 32 148 A. Roth, E. E. Creppy, A. Kane, H. Bacha, P. S. Steyn, R. Roschenthaler
33 and G. Dirheimer. Influence of ochratoxin B on the ochratoxin A inhibition
34 of phenylalanyl-tRNA formation in vitro and protein synthesis in
35 hepatoma tissue culture cells. *Toxicol.Lett.* 1989; 45: 307-313
- 36 149 E. E. Creppy, D. Kern, P. S. Steyn, R. Vleggaar, R. Roschenthaler and G.

- 1 Dirheimer. Comparative study of the effect of ochratoxin A analogues on
2 yeast aminoacyl-tRNA synthetases and on the growth and protein
3 synthesis of hepatoma cells. *Toxicol.Lett.* 1983; 19: 217-224
- 4 150 E. E. Creppy, F. C. Stormer, D. Kern, R. Roschenthaler and G. Dirheimer.
5 Effects of ochratoxin A metabolites on yeast phenylalanyl-tRNA
6 synthetase and on the growth and in vivo protein synthesis of hepatoma
7 cells. *Chem. Biol. Interactions.* 1983; 47: 239-247
- 8 151 R. Roschenthaler, E. E. Creppy and G. Dirheimer. Ochratoxin A: On the
9 mode of action of a ubiquitous mycotoxin. *Toxin Reviews.* 1984; 3: 53-86
- 10 152 E. E. Creppy, K. Chakor, M. J. Fisher and G. Dirheimer. The mycotoxin
11 ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat
12 hepatocytes and in vivo. *Arch.Toxicol.* 1990; 64: 279-284
- 13 153 A. D. Rahimtula, J. C. Bereziat, V. Bussacchini-Griot and H. Bartsch. Lipid
14 peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity.
15 *Biochem.Pharmacol.* 1988; 37: 4469-4477
- 16 154 R. F. Omar, B. B. Hasinoff, F. Mejilla and A. D. Rahimtula. Mechanism of
17 ochratoxin A stimulated lipid peroxidation. *Biochem.Pharmacol.* 1990; 40:
18 1183-1191
- 19 155 R. C. Braunberg, C. Barton, O. O. Gantt and L. Friedman. Interaction of
20 cetrinin and ochratoxin A. *Nat.Toxins.* 1994; 2: 124-131
- 21 156 I. Baudrimont, A. M. Betbeder, A. Gharbi, A. Pfohl-Leszkowicz, G.
22 Dirheimer and E. E. Creppy. Effect of superoxide dismutase and catalase
23 on the nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin
24 A in rats. *Toxicology.* 1994; 89: 101-111
- 25 157 M. Gekle, H. Oberleithner and S. Silbernagl. Ochratoxin A impairs
26 “postproximal” nephron function in vivo and blocks plasma membrane
27 anion conductance in Madin-Darby canine kidney cells in vitro. *Pflugers*
28 *Arch.* 1993; 425: 401-408
- 29 158 M. A. Albassam, S. I. Yong, R. Bhatnagar, A. K. Sharma and M. G. Prior.
30 Histopathologic and electron microscopic studies on the acute toxicity of
31 ochratoxin A in rats. *Vet. Pathol.* 1987; 424: 427-435
- 32 159 K. Chakor, E. E. Creppy and G. Dirheimer. In vivo studies on the
33 relationship between hepatic metabolism and toxicity of ochratoxin A.
34 *Arch.Toxicol.Suppl.* 1988; 12: 201-204
- 35 160 R. Verma and D. Chakraborty. Alterations in DNA, RNA and protein
36 contents in liver and kidney of mice treated with ochratoxin and their

- amelioration by *Emblica officinalis* aqueous extract. Acta Pol. Pharm.
2008; 65: 3-9
- 161 I. C. Munro, C. A. Moodie, T. Kuiper-Goodman, P. M. Scott and H. C. Grice.
Toxicologic changes in rats fed graded dietary levels of ochratoxin A.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 1974; 28: 180-188
- 162 S. Suzuki, Y. Kozuka, T. Satoh and M. Yamazaki. Studies on the
nephrotoxicity of ochratoxin A in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1975; 34:
479-490
- 163 F. Hatey and P. Galtier. [Short term toxicity of ochratoxin A in rats; some
biochemical manifestations of intoxication .]. [in French]. Ann. Rech. Vet.
1977; 8: 7-12
- 164 H. Meisner and P. Selanik. Inhibition of renal gluconeogenesis in rats by
ochratoxin. Biochem. J. 1979; 180: 681-684
- 165 H. Meisner and L. Polsinelli. Changes of renal mRNA species abundance
by ochratoxin A. Biochem. Pharmacol. 1986; 35: 661-665
- 166 H. Meisner, M. A. Cimbala and R. W. Hanson. Decrease of renal
phosphoenolpyruvate carboxykinase RNA and poly(A)⁺ RNA level by
ochratoxin A. Arch. Biochem. Biophys. 1983; 223: 264-270
- 167 A. Kane, E. E. Creppy, R. Rösenthaller and G. Dirheimer. Changes in
urinary and renal tubular enzymes caused by subchronic administration of
ochratoxin A in rats. Toxicology. 1986; 42: 233-243
- 168 A. Mally, W. Volkel, A. Amberg, M. Kurtz, P. Wanek, E. Eder, G. Hard and
W. Dekant. Functional, biochemical and pathological effects of repeated
oral administration of ochratoxin A to rats. Chem. Res. Toxicol. 2005; 18:
1242-1252
- 169 H. Malekinejad, A. A. Farshid and N. Mirzakhani. Liquorice plant extract
reduces ochratoxin A-induced nephrotoxicity in rats. Exp Toxicol Pathol.
2011; 63: 125-130
- 170 Kumar SN, Telang AG, Singh KP, Jain AK, Afroz M and Patil RD.
Experimentally induced toxicity of ochratoxin A and endosulfan in male
Wistar rats: A hormonal disorder. J. Animal and Veterinary Advances.
2011; 10: 1750-1755
- 171 R. M. Gibson, C. A. Bailey, L. F. Kubena, W. E. Huff and R. B. Harvey.
Impact of L-phenylalanine supplementation on the performance of three-
week-old broilers fed diets containing ochratoxin A. 1. Effects on body
weight, feed conversion, relative organ weight, and mortality. Poult. Sci.

- 1990; 69: 414-419
- 172 S. Gupta, N. Jindal, R. S. Khokhar, R. K. Asrani, D. R. Ledoux and G. E. Rottinghaus. Individual and combined effects of ochratoxin A and *Salmonella enterica* serovar Gallinarum infection on pathological changes in broiler chickens. Avian Pathol. 2008; 37: 265-272
- 173 N. Q. Hanif, G. Muhammad, M. Siddique, A. Khanum, T. Ahmed, J. A. Gadahai and G. Kaukab. Clinico-pathomorphological, serum biochemical and histological studies in broilers fed ochratoxin A and a toxin deactivator (Mycofix® Plus). Br. Poult. Sci. 2008; 49: 632-642
- 174 M. Kumar, P. Dwivedi, A. K. Sharma, N. D. Singh and R. D. Patil. Ochratoxin A and citrinin nephrotoxicity in New Zealand White rabbits: An ultrastructural assessment. Mycopathologia. 2007; 163: 21-30
- 175 P. C. Prabu, P. Dwivedi and A. K. Sharma. Toxicopathological studies on the effects of aflatoxin B₁, ochratoxin A and their interaction in New Zealand White rabbits. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65: 277-286
- 176 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and E. J. Hinsman. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs III. Terminal renal ultrastructural alterations. Vet. Pathol. 1977; 14: 392-406
- 177 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and J. Tuite. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs. I. Clinical and clinicopathological features. Vet. Pathol. 1977; 14: 154-172
- 178 D. N. Kitchen, W. W. Carlton and J. Tuite. Ochratoxin A and citrinin induced nephrosis in beagle dogs. II. Pathology. Vet. Pathol. 1977; 14: 261-272
- 179 G. M. Szczech, W. W. Carlton, J. Tuite and R. Caldwell. Ochratoxin A toxicosis in swine. Vet Pathol. 1973; 10: 347-364
- 180 P. Krogh, N. H. Axelsen, F. Elling, N. Gyrd-Hansen, B. Hald, J. Hyldgaard-Jensen, A. E. Larsen, A. Madsen, H. P. Mortensen, T. Moller, O. K. Petersen, U. Ravnskov, M. Rostgaard and O. Aalund. Experimental porcine nephropathy. Changes of renal function and structure induced by ochratoxin A-contaminated feed. Acta Pathol Microbiol Scand Suppl. 1974; 0: 1-21
- 181 F. Elling. Ochratoxin A-induced mycotoxic porcine nephropathy: alterations in enzyme activity in tubular cells. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 1979; 87: 237-243
- 182 F. Elling. Feeding experiments with ochratoxin A-contaminated barley to

- bacon pigs. IV. Renal lesions. Acta. Agric. Scand. 1983; 33: 153-159
- 183 H. Meisner and P. Krogh. Phosphoenolpyruvate carboxykinase as a selective indicator of ochratoxin A induced nephropathy. Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1986; 14: 199-206
- 184 P. Krogh, N. Gyrd-Hansen, B. Hald, S. Larsen, J. P. Nielsen, M. Smith, C. Ivanoff and H. Meisner. Renal enzyme activities in experimental ochratoxin A-induced porcine nephropathy: diagnostic potential of phosphoenolpyruvate carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. J. Toxicol. Environ. Health. 1988; 23: 1-14
- 185 S. D. Stoev, S. Vitanov, G. Anguelov, T. Petkova-Bocharova and E. E. Creppy. Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. Vet. Res. Commun. 2001; 25: 205-223
- 186 S. D. Stoev, M. Paskalev, S. MacDonald and P. G. Mantle. Experimental one year ochratoxin A toxicosis in pigs. Exp. Toxicol. Pathol. 2002; 53: 481-487
- 187 R. Verma and D. Chakraborty. *Emblica officinalis* aqueous extract ameliorates ochratoxin-induced lipid peroxidation in the testis of mice. Acta Pol. Pharm. 2008; 65: 187-194
- 188 P. Krogh and F. Elling. Mycotoxic nephropathy. Vet. Sci. Commun. 1977; 1: 51-63
- 189 M. Kanisawa. Synergistic effect of citrinin on hepatorenal carcinogenesis of Ochratoxin A in mice. In: Kurata, H. and Ueno, Y., Toxigenic Fungi - Their Toxins and Health Hazard. Tokyo: Kodansha and Amsterdam: Elsevier. 1984; 245-254
- 190 A. M. Bendele, W. W. Carlton, P. Krogh and E. B. Lillehoj. Ochratoxin A carcinogenesis in the (C57BL/6J × C3H)F₁ mouse. J. Natl. Cancer Inst. 1985; 75: 733-742
- 191 NTP. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of ochratoxin A (CAS NO. 303-47-9) in F344/N rats (gavage studies). NIH Publication No. 88-2813 (G. Boorman, Ed.), Research Triangle Park, NC U.S. Department of Health and Human Services National Institutes of Health. 1989
- 192 E. Rached, G. C. Hard, K. Blumbach, K. Weber, R. Draheim, W. K. Lutz, S. Ozden, U. Steger, W. Dekant and A. Mally. Ochratoxin A: 13-week oral toxicity and cell proliferation in male F344/N rats. Toxicol. Sci. 2007; 97:

- 1 288-298
- 2 193 P. G. Mantle. Minimum tolerable exposure period and maximum
3 threshold dietary intake of ochratoxin A for causing renal cancer in male
4 Dark Agouti rats. Food Chem Toxicol. 2009; 47: 2419-2424
- 5 194 P. Mantle and E. Kulinskaya. Lifetime, low-dose ochratoxin A dietary
6 study on renal carcinogenesis in male Fischer rats. Food Addit Contam
7 Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010; 27: 1566-1573
- 8 195 A. M. Bendele and W. W. Carlton. Incidence of obstructive uropathy in male
9 B6C3F₁ mice on a 24-month carcinogenicity study and its apparent
10 prevention by ochratoxin A. Lab. Anim. Sci. 1986; 36: 282-285
- 11 196 C. N. Rao. Obstructive uropathy in group caged male B6C3F₁ mice on a 24-
12 month carcinogenicity study. Lab. Anim. Sci. 1987; 37: 8-9
- 13 197 USEPA. Benchmark dose software (BMDS) version 1.4.1.
14 <http://www.epa.gov/ncea/bmds/about.html>. 2007
- 15 198 FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation), 2008.
16 Ochratoxin A. In: Safety evaluation of certain food additives and contamination,
17 Prepared by the 68th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
18 Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 59, pp 354-437. World Health
19 Organisation, Geneva, Switzerland.
- 20 199 P. Mantle, E. Kulinskaya and S. Nestler. Renal tumourigenesis in male
21 rats in response to chronic dietary ochratoxin A. Food Addit. Contam. 2005;
22 22 : 58-64
- 23 200 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain
24 on a request from the Commission related to ochratoxin A in food. the EFSA
25 Journal. 2006; 365: 1-56
- 26 201 R. G. Arora and H. Frölén. Interference of mycotoxins with prenatal
27 development of the mouse. II. Ochratoxin A induced teratogenic effects in
28 relation to the dose and stage of gestation. Acta Vet. Scand. 1981; 22: 535-
29 552
- 30 202 J. Singh and R. D. Hood. Maternal protein deprivation enhances the
31 teratogenicity of ochratoxin A in mice. Teratology. 1985; 32: 381-388
- 32 203 Y. Fukui, S. Hayasaka, M. Itoh and Y. Takeuchi. Development of neurons
33 and synapses in ochratoxin A-induced microcephalic mice: A quantitative
34 assessment of somatosensory cortex. Neurotox. Teratol. 1992; 14: 191-196
- 35 204 R. Katagiri, M. Kurome, Y. Teshima, E. Ueta and I. Naruse. Prevention of

- ochratoxin A-induced neural tube defects by folic acid in the genetic polydactyly/arhinencephaly mouse, *Pdn/Pdn*. *Congenit. Anom.* . 2007; 47: 90-96
- 205 J. Moré and P. Galtier. [Toxicity of ochratoxin A. I. Embryotoxic and teratogenic effect in rats.] [in French]. *Ann. Rech.Vet.* 1974; 5: 167-178
- 206 J. Moré and P. Galtier. [Toxicity of ochratoxin A. II. Effect of treatment on the progeny (F₁ and F₂) of intoxicated rats.][in French]. *Ann. Rech.Vet.* 1975; 6: 379-389
- 207 M. H. Brown, G. M. Szczech and B. P. Purmalis. Teratogenic and toxic effects of ochratoxin A in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1976; 37: 331-338
- 208 A. Gharbi, O. Trillon, A. M. Betbeder, J. Counord, M. F. Gauret, A. Pfohl-Leszkowicz, G. Dirheimer and E. E. Creppy. Some effects of ochratoxin A, a mycotoxin contaminating feeds and food, on rat testis. *Toxicology.* 1993; 83: 9-18
- 209 M. A. Abdel-Wahhab, S. A. Nada and M. S. Arbid. Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. *J. Appl. Toxicol.* 1999; 19: 7-12
- 210 P. B. Wangikar, P. Dwivedi and N. Sinha. Effect in rats of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁. I. Maternal toxicity and fetal malformations. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 2004; 71: 343-351
- 211 R. D. Patil, P. Dwivedi and A. K. Sharma. Critical period and minimum single oral dose of ochratoxin A for inducing developmental toxicity in pregnant Wistar rats. *Reprod. Toxicol.* 2006; 22: 679-687
- 212 P. B. Wangikar, P. Dwivedi, N. Sinha, A. K. Sharma and A. G. Telang. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁. with special reference to microscopic effects. *Toxicology.* 2005; 215: 37-47
- 213 P. B. Wangikar, P. Dwivedi, A. K. Sharma and N. Sinha. Effect in rats of simultaneous prenatal exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁. II. Histopathological features of teratological anomalies induced in fetuses. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 2004; 71: 352-358
- 214 F. C. Wehner, P. G. Thiel, S. J. v. Rensburg and I. P. C. Demasius. Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins. *Mutat.Res.* 1978; 58: 193-203
- 215 M. H. Kuczuk, P. M. Benson, H. Heath and A. W. Hayes. Evaluation of the

- mutagenic potential of mycotoxins using *Salmonella typhimurium* and *Saccharomyces cerevisiae*. Mutat.Res. 1978; 53: 11-20
- 216 A. M. Bendele, S. B. Neal, T. J. Oberly, C. Z. Thompson, B. J. Bewsey, L. E. Hill, M. A. Rexroat, W. W. Carlton and G. S. Probst. Evaluation of ochratoxin A for mutagenicity in a battery of bacterial and mammalian cell assays. Food Chem. Toxicol. 1985; 23: 911-918
- 217 F. E. Würgler, U. Friederich and J. Schlatter. Lack of mutagenicity of ochratoxin A and B, citrinin, patulin and cneistine in *Salmonella typhimurium* TA102. Mutat.Res. 1991; 261: 209-216
- 218 A. Hennig, J. Fink-Gremmels and L. Leistner. Mutagenicity and effects of ochratoxin A on the frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation. In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urrinary Tract Tumours, Lyon, France, International Agency for Research on Cancer.(IARC Scientific Publication No. 115). 1991; 255-260
- 219 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Gann, B. J. Majer, M. Eisenbauer and S. Knasmüller. Genotoxic effects of ochratoxin A in human-derived hepatoma (HepG2) cells. Food Chem. Toxicol. 2002; 40: 1085-1090
- ~~220 H. Bartsch, C. Malaveille, A. M. Camus, G. Martel-Planche, G. Brun, A. Hautefeuille, N. Sabadie, A. Barbin, T. Kuroki, C. Drevon, C. Piccoli and R. Montesano. Validation and comparative studies on 180 chemicals with *S.typhimurium* strains and V79 Chinese hamster cells in the presence of various metabolizing systems. Mutat.Res. 1980; 76: 1-50~~
- 221 W. Follmann and S. Lucas. Effects of the mycotoxin ochratoxin A in a bacterial and a mammalian in vitro mutagenicity test system. Arch.Toxicol. 2003; 77: 298-304
- 222 M. Umeda, T. Tsutsui and M. Saito. Mutagenicity and inducibility of DNA single-strand breaks and chromosome aberrations by various mycotoxins. Gann. 1977; 68: 619-625
- 223 E. M. d. Groene, I. G. A. M. Hassing, M. J. Blom, W. Seinen, J. Fink-Gremmels and G. J. Horbach. Development of human cytochrome P450-expressing cell lines: Application in mutagenicity testing of ochratoxin A. Cancer Res. 1996; 56: 299-304
- 224 N. Palma, S. Cinelli, O. Sapora, S. H. Wilson and E. Dogliotti. Ochratoxin A-induced mutagenesis in mammalian cells is consistent with the

- production of oxidative stress. Chem Res Toxicol. 2007; 20: 1031-1037
- 225 G. H. Degen, M. M. Gerber, S. Obrecht-Pflumio and G. Dirheimer. Induction of micronuclei with ochratoxin A in ovine seminal vesicle cell cultures. Arch. Toxicol. 1997; 71: 365-371
- 226 E. Dopp, J. Müller, C. Hahnel and D. Schiffmann. Induction of genotoxic effects and modulation of the intracellular calcium level in Syrian hamster embryo(SHE) fibroblasts caused by ochratoxin A. Food Chem. Toxicol. 1999; 37: 713-721
- 227 Y. Manolova, G. Manolov, L. Parvanova, T. Petkova-Bocharova, M. Castegnaro and I. N. Chernozemsky. Induction of characteristic chromosomal aberrations, particularly X-trisomy, in cultured human lymphocytes treated by ochratoxin A, a mycotoxin implicated in Balkan endemic nephropathy. Mutat.Res. 1990; 231: 143-149
- 228 M. B. Lioi, A. Santoro, R. Barbieri, S. Salzano and M. V. Ursini. Ochratoxin A and zearalenone: a comparative study on genotoxic effects and cell death induced in bovine lymphocytes. Mutat. Res. 2004; 557: 19-27
- 229 P. Mosesso, S. Cinelli, J. Pinero, R. Bellacima and G. Pepe. In vitro cytogenetic results supporting a DNA nonreactive mechanism for ochratoxin A, potentially relevant for its carcinogenicity. Chem. Res. Toxicol. 2008; 21: 1235-1243
- 230 Y. Ueno and K. Kubota. DNA-attacking ability of carcinogenic mycotoxins in recombination-deficient mutant cells of *Bacillus subtilis*. Cancer Res. 1976; 36: 445-451
- 231 C. Malaveille, G. Brun and H. Bartsch. Structure-activity studies in *E. coli* strains on ochratoxin A (OTA) and its analogues implicate a genotoxic free radical and a cytotoxic thiol derivative as reactive metabolites. Mutat. Res. 1994; 307: 141-147
- 232 E. E. Creppy, A. Kane, G. Dirheimer, C. Lafarge-Frayssinet, S. Mousset and C. Frayssinet. Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. Toxicol. Lett. 1985; 28: 29-35
- 233 R. Stetina and M. Votava. Induction of DNA single-strand breaks and DNA synthesis inhibition by patulin, ochratoxin A, citrinin, and aflatoxin B₁, in cell lines CHO and AWRP. Folia Biol. 1986; 32: 128-144
- 234 S. Lebrun and W. Föllmann. Detection of ochratoxin A-induced DNA damage in MDCK cells by alkaline single cell gel electrophoresis (comet assay). Arch.Toxicol. 2002; 75: 734-741

- 1 235 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, J. Schlatter, K. Wurth and C. Janzowski.
2 Ochratoxin A: induction of (oxidative) DNA damage, cytotoxicity and
3 apoptosis in mammalian cell lines and primary calls. *Toxicology*. 2005; 206:
4 413-425
- 5 236 Y. Simaro Doorten, S. Nijmeijer, L. d. Nijs-Tjon and J. Fink-Gremmels.
6 Metabolism-mediated ochratoxin A genotoxicity in the single-cell gel
7 electrophoresis (comet) assay. *Food Chem. Toxicol.* 2006; 44: 261-270
- 8 237 S. Lebrun, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann. Glutathione S-
9 transferase polymorphisms and ochratoxin A toxicity in primary human
10 urothelial cells. *Toxicology*. 2006; 224: 81-90
- 11 238 L. Arbillaga, A. Azqueta, J. H. M. v. Delft and A. L. d. Cerain. *In vitro* gene
12 expression data supporting a DNA non-reactive genotoxic mechanism for
13 ochratoxin A. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 2007; 220: 216-224
- 14 239 L. Arbillaga, A. Azqueta, O. Ezpeleta and A. L. d. Cerain. Oxidative DNA
15 damage induced by ochratoxin A in the HK-2 human kidney cell line:
16 Evidence of the relationship with cytotoxicity. *Mutagenesis*. 2007; 22: 35-42
- 17 240 S. Cosimi, L. Orta, S. Mateos and F. Cortés. The mycotoxin ochratoxin A
18 inhibits DNA topoisomerase II and induces polyploidy in cultured CHO
19 cells. *Toxicol. In Vitro*. 2009; 23: 1110-1115
- 20 241 H. Mori, K. Kawai, F. Ohbayashi, T. Kuniyasu, M. Yamazaki, T. Hamasaki
21 and G. M. Williams. Genotoxicity of a variety of mycotoxins in the hepacyte
22 primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. *Cancer*
23 *Res.* 1984; 44: 2918-2923
- 24 242 A. Dorrenhaus and W. Föllmann. Effects of ochratoxin A on DNA repair in
25 cultures of rat hepatocytes and porcine urinary bladder epithelial cells.
26 *Arch.Toxicol.* 1997; 71: 709-713
- 27 243 A. Flieger, A. Dorrenhaus, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann.
28 Genotoxic effect of the mycotoxin ochratoxin A in cultured human
29 urothelial cells. *Occup.Hyg.* 1998; 4: 297-307
- 30 244 A. Dorrenhaus, A. Flieger, K. Golka, H. Schlze, M. Albrecht, G. H. Degen
31 and W. Föllmann. Induction of unscheduled DNA synthesis in primary
32 human urothelial cells by the mycotoxin ochratoxin A. *Toxicol.Sci.* 2000;
33 53: 271-277
- 34 245 R. Cooray. Effects of some mycotoxins on mitogen-induced blastogenesis
35 and SCE frequency in human lymphocytes. *Food Chem. Toxicol.* 1984; 22:
36 529-534

- 1 246 D. Kumari and S. P. Sinha. Effect of retinol on ochratoxin-produced
2 genotoxicity in mice. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 471-475
- 3 247 S. Bose and S. P. Sinha. Modulation of ochratoxin-produced genotoxicity
4 in mice by vitamin C. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 533-537
- 5 248 A. Mally, G. Pepe, S. Ravoori, M. Fiore, R. C. Gupta, W. Dekant and P.
6 Mosesso. Ochratoxin A causes DNA damage and cytogenetic effects but no
7 DNA adducts in rats. Chem.Res.Toxicol. 2005; 18: 1253-1261
- 8 249 A. Bouslimi, C. Bouaziz, I. Ayed-Boussema, W. Hassen and H. Bacha.
9 Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability
10 and DNA fragmentation in cultured Vero cells and on chromosome
11 aberrations in mice bone marrow cells. Toxicology. 2008; 251: 1-7
- 12 250 A. Kane, E. E. Creppy, A. Roth, R. Rösenthaller and G. Dirheimer.
13 Distribution of the [³H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A
14 ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver
15 and kidneys. Arch.Toxicol. 1986; 58: 219-224
- 16 251 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, C. Janzowski, J. Kiossev, J. R. Latendresse, J.
17 Schlatter and R. J. Turesky. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage
18 in liver and kidney after oral dosing to rats. Mol. Nutr. Food Res. 2005; 49:
19 1160-1167
- 20 252 D. Zeijezic, A.-M. Domijan and M. Peraica. DNA damage by ochratoxin A in
21 rat kidney assessed by the alkaline comet assay. Braz. J. Med. Biol. Res.
22 2006; 39: 1563-1568
- 23 253 D. Hibi, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, M. Watanabe, Y. Sugita-Konishi, T.
24 Yanai, T. Nohmi, A. Nishikawa and T. Umemura. Site-specific *in vivo*
25 mutagenicity in the kidney of *gpt* delta rats given a carcinogenic dose of
26 ochratoxin A. Toxicol Sci. 2011; 122: 406-414
- 27 254 J. Reiss. Detection of genotoxic properties of mycotoxins with the SOS
28 chromotest. Naturwissenschaften. 1986; 73: 677-678
- 29 255 V. Sava, O. Reunova, A. Velasquez, R. Harbison and J. Sanchez-Ramos.
30 Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin-A.
31 Neurotoxicology. 2006; 27: 82-92
- 32 256 A. Belmadani, G. Tramu, A. M. Betbeder and E. E. Creppy. Subchronic
33 effects of ochratoxin A on young adult rat and partial prevention by
34 aspartame, a sweetener. Hum. Exp. Toxicol. 1998; 17: 380-386
- 35 257 T. Zanic-Grubisic, A. Santini, I. Cepelak, K. Barisic, D. Juretic and S.
36 Pepeljnjak. Influence of ochratoxin A treatment on the activity of

- 1 membrane bound enzymes in rat brain regions. Biol. Chem. Hoppe Seyler.
2 1996; 377: 121-127
- 3 258 P. M. Dortant, G. W. M. Peters-Volleberg, H. V. Loveren, R. R. Marquardt
4 and G. J. A. Speijers. Age-related differences in the toxicity of ochratoxin A
5 in female rats. Food Chem. Toxicol. 2001; 39: 55-65
- 6 259 N. Delibas, I. Altuntas, Z. Yonden and N. Ozcelik. Ochratoxin A reduces
7 NMDA receptor subunits 2A and 2B concentrations in rat hippocampus:
8 partial protective effect of melatonin. Hum. Exp. Toxicol. 2003; 22: 335-339
- 9 260 J. Liu, Y. Wang, J. Cui, L. Xing, H. Shen, S. Wu, H. Lian, J. Wang, X. Yan
10 and X. Zhang. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage and G1 phase
11 arrest in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. Toxicol Lett.
12 2012; 211: 164-171
- 13 261 M. G. Prior and C. S. Sisodia. The effects of ochratoxin A on the immune
14 response of Swiss mice. Can. J. Comp. Med. 1982; 46: 91-96
- 15 262 A. Thuvander, A. Breitholtz-Emanuelsson, D. Brabencova and I.
16 Gadhasson. Prenatal exposure of Balb/c mice to ochratoxin A: Effects on
17 the immune system in the offspring. Food Chem. Toxicol. 1996; 34: 547-554
- 18 263 A. Thuvander, E. Funseth, A. Breitholtz-Emanuelsson, I. P. Hallen and A.
19 Oskarsson. Effects of ochratoxin A on the rat immune system after
20 perinatal exposure. Nat. Toxins. 1996; 4: 141-147
- 21 264 L. Alvarez, A. G. Gil, O. Ezpeleta, J. A. Garcia-Jalon and A. L. d. Cerain.
22 Immunotoxic effects of ochratoxin A in Wistar rats after oral
23 administration. Food Chem. Toxicol. 2004; 42: 825-834
- 24 265 M. Kanisawa, S. Suzuki, Y. Kozuka and M. Yamazaki. Histopathological
25 studies on the toxicity of ochratoxin A in rats I . Acute oral toxicity. Toxicol.
26 Appl. Pharmacol. 1977; 42: 55-64
- 27 266 P. Dwivedi and R. B. Burns. Pathology of ochratoxicosis A in young broiler
28 chicks. Res.Vet.Sci. 1984; 36: 92-103
- 29 267 V. Rupic, B. Liker, S. Muzic, C. Bogdanic and I. Balzer. [The effects of
30 ochratoxin A in feed on the blood content of lipids and proteins in
31 chickens.]. [in Serbo-Croatian]. Arh. Hig. Rada. Toxikol. 1978; 29: 139-
32 145
- 33 268 P. Dwivedi and R. B. Burns. Effect of ochratoxin A on immunoglobulins in
34 broiler chicks. Res. Vet. Sci. 1984; 36: 117-121
- 35 269 M. L. Campbell. Jr, J. D. May, W. E. Huff and J. A. Doerr. Evaluation of

- immunity of young broiler chickens during simultaneous aflatoxicosis and ochratoxicosis. Poult. Sci. 1983; 62: 2138-2144
- 270 R. B. Harvey, L. F. Kubena, S. A. Naqi, J. E. Gyimah, D. E. Corrier, B. Panigrahy and T. D. Phillips. Immunologic effects of low levels of ochratoxin A in ovo: Utilization of a chicken embryo model. Avian Dis. 1987; 31: 787-791
- 271 G. S. Singh, H. V. S. Chauhan, G. J. Jha and K. K. Singh. Immunosuppression due to chronic ochratoxicosis in broiler chicks. J.Comp.Pathol. 1990; 103: 399-410
- 272 C. Friis, R. Brinn and B. Hald. Uptake of ochratoxin A by slices of pig kidney cortex. Toxicology. 1988; 52: 209-217
- 273 H. Endou, C. Koseki, H. Yamada and T. Obara. Evaluation of nephrotoxicity using isolated nephron segments. Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1986; 14: 207-216
- 274 A. Dahlmann, W. H. Dantzler, S. Silbernagl and M. Gekle. Detailed mapping of ochratoxin A reabsorption along the rat nephron *in vivo*: the nephrotoxin can be reabsorbed in all nephron segments by different mechanisms. J Pharmacol Exp Ther. 1998; 286: 157-162
- 275 M. Zingerle, S. Silbernagl and M. Gekle. Reabsorption of the nephrotoxin ochratoxin A along the rat nephron *in vivo*. J Pharmacol Exp Ther. 1997; 280: 220-224
- 276 A. Takeuchi, S. Masuda, H. Saito, T. Abe and K. Inui. Multispecific substrate recognition of kidney-specific organic anion transporters OAT-K1 and OAT-K2. J Pharmacol Exp Ther. 2001; 299: 261-267
- 277 N. Anzai, P. Jutabha, A. Enomoto, H. Yokoyama, H. Nonoguchi, T. Hirata, K. Shiraya, X. He, S. H. Cha, M. Takeda, H. Miyazaki, T. Sakata, K. Tomita, T. Igarashi, Y. Kanai and H. Endou. Functional characterization of rat organic anion transporter 5 (*Slc22a19*) at the apical membrane of renal proximal tubules. J Pharmacol Exp Ther. 2005; 315: 534-544
- 278 H. Kusuhara, T. Sekine, N. Utsunomiya-Tate, M. Tsuda, R. Kojima, S. H. Cha, Y. Sugiyama, Y. Kanai and H. Endou. Molecular cloning and characterization of a new multispecific organic anion transporter from rat brain. J Biol Chem. 1999; 274: 13675-13680
- 279 K. Y. Jung, M. Takeda, D. K. Kim, A. Tojo, S. Narikawa, B. S. Yoo, M. Hosoyamada, S. H. Cha, T. Sekine and H. Endou. Characterization of ochratoxin A transport by human organic anion transporters. Life Sci.

- 2001; 69: 2123-2135
- 280 E. Babu, M. Takeda, S. Narikawa, Y. Kobayashi, A. Enomoto, A. Tojo, S.
H. Cha, T. Sekine, D. Sakthisekaran and H. Endou. Role of human organic
anion transporter 4 in the transport of ochratoxin A. Biochim Biophys Acta.
2002; 1590: 64-75
- 281 I. Leier, J. Hummel-Eisenbeiss, Y. Cui and D. Keppler. ATP-dependent
para-aminohippurate transport by apical multidrug resistance protein
MRP2. Kidney Int. 2000; 57: 1636-1642
- 282 K. Y. Jung and H. Endou. Nephrotoxicity assessment by measuring cellular
ATP content. II. Intranephron site of ochratoxin A nephrotoxicity. Toxicol.
Appl. Pharmacol. 1989; 100: 383-390
- 283 S. C. N. Buist, N. J. Cherrington, S. Choudhuri, D. P. Hartley and C. D.
Klaassen. Gender-specific and developmental influences on the expression
of rat organic anion transporters. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002; 301: 145-
151
- 284 S. C. N. Buist and C. D. Klaassen. Rat and mouse differences in gender-
predominant expression of organic anion transporter (Oat1-3; *Slc22a6-8*)
mRNA levels. Drug Metab. Dispos. 2004; 32: 620-625
- 285 M. Ljubojevic, C. M. Herak-Kramberger, Y. Hagos, A. Bahn, H. Endou, G.
Burckhardt and I. Sabolic. Rat renal cortical OAT1 and OAT3 exhibit
gender differences determined by both androgen stimulation and estrogen
inhibition. Am J Physiol Renal Physiol. 2004; 287: F124-138
- 286 A. Mally. Ochratoxin a and mitotic disruption: mode of action analysis of
renal tumor formation by ochratoxin A. Toxicol Sci. 2012; 127: 315-330
- 287 C. E. Adlouni, E. Pinelli, B. Azemar, D. Zaoui, P. Beaune and A. Pfohl-
Leszkowicz. Phenobarbital increases DNA adduct and metabolites formed
by ochratoxin A: Role of CYP 2C9 and microsomal glutathione-S-
transferase. Environ. Mol. Mutag. 2000; 35: 123-131
- 288 A. Pfohl-Leszkowicz, E. Pinelli, H. Bartsch, U. Mohr and M. Castegnaro.
Sex- and strain-specific expression of cytochrome P450s in ochratoxin A-
induced genotoxicity and carcinogenicity in rats. Mol. Carcinog. 1998; 23: 76-
85
- 289 S. Obrecht-Pflumio and G. Dirheimer. In vitro DNA and dGMP adducts
formation caused by ochratoxin A. Chem. Biol. Interactions. 2000; 127: 29-
44
- 290 K. Hadjeba-Medjdoub, M. Tozlovanu, A. Pfohl-Leszkowicz, C. Frenette, R.

- 1 J. Paugh and R. A. Manderville. Structure-activity relationships imply
2 different mechanisms of action for ochratoxin A-mediated cytotoxicity and
3 genotoxicity. *Chem Res Toxicol.* 2012; 25: 181-190
- 4 291 R. A. Manderville. A case for the genotoxicity of ochratoxin A by
5 bioactivation and covalent DNA adduction. *Chem. Res. Toxicol.* 2005; 18:
6 1091-1097
- 7 292 J. Dai, M. W. Wright and R. A. Manderville. Ochratoxin A forms a carbon-
8 bonded C8-deoxyguanosine nucleoside adduct: implications for C8
9 reactivity by a phenolic radical. *J Am Chem Soc.* 2003; 125: 3716-3717
- 10 293 P. G. Mantle, V. Faucet-Marquis, R. A. Manderville, B. Squillaci and A.
11 Pfohl-Leszkowicz. Structures of covalent adducts between DNA and
12 ochratoxin A: A new factor in debate about genotoxicity and human risk
13 assessment. *Chem Res Toxicol.* 2010; 23: 89-98
- 14 294 V. Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, J. Dai, M. Castegnaro and R. A.
15 Manderville. Evidence for covalent DNA adduction by ochratoxin A
16 following chronic exposure to rat and subacute exposure to pig. *Chem. Res.*
17 *Toxicol.* 2004; 17: 1289-1296
- 18 295 M. Tozlovanu, V. Faucet-Marquis, A. Pfohl-Leszkowicz and R. A.
19 Manderville. Genotoxicity of the hydroquinone metabolite of ochratoxin A:
20 Structure-activity relationships for covalent DNA adduction.
21 *Chem.Res.Toxicol.* 2006; 19: 1241-1247
- 22 296 A. Mally and W. Dekant. DNA adduct formation by ochratoxin A: review of
23 the available evidence. *Food Addit. Contam.* 2005; 22: 65-74
- 24 297 R. J. Turesky. Perspective: ochratoxin A is not a genotoxic carcinogen.
25 *Chem. Res. Toxicol.* 2005; 18: 1082-1090
- 26 298 A. Pfohl-Leszkowicz, K. Chakor, E. E. Creppy and G. Dirheimer. DNA
27 adduct formation in mice treated with ochratoxin A. In: Castegnaro,M.,
28 Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch,H., eds,
29 *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours.* Lyon,
30 France, Internationak Agency for Research on Cancer (IARC Scientific
31 Publications No. 115). 1991; 245-253
- 32 299 T. Delatour, A. Mally, J. Richoz, S. Ozden, W. Dekant, H. Ihmels, D. Otto,
33 D. Gasparutto, M. Marin-Kuan, B. Schilter and C. Cavin. Absence of 2'-
34 deoxyguanosine-carbon 8-bound ochratoxin A adduct in rat kidney DNA
35 monitored by isotope dilution LC-MS/MS. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008; 52:
36 472-482

- 1 300 A. Pfohl-Leszkowicz, H. Bartsch, B. Azemar, U. Mohr, J. Esteve and M.
2 Castegnaro. MESNA protects rats against nephrotoxicity but not
3 carcinogenicity induced by ochratoxin A, implicating two separate
4 pathways. *Med. Biol.* 2002; 9: 57-63
- 5 301 A. Pfohl-Leszkowicz, Y. Grosse, A. Kane, E. E. Creppy and G. Dirheimer.
6 Differential DNA adduct formation and disappearance in three mouse
7 tissues after treatment with the mycotoxin ochratoxin A. *Mutat Res.* 1993;
8 289: 265-273
- 9 302 A. Pfohl-Leszkowicz, W. Gabryelski and R. A. Manderville. Formation of
10 2'-deoxyguanosine-carbon 8-bound ochratoxin A adduct in rat kidney DNA.
11 *Mol Nutr Food Res.* 2009; 53: 154-155; author reply 156-157
- 12 303 D. Hibi, A. Kijima, K. Kuroda, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, M. Nakajima, Y.
13 Sugita-Konishi, T. Yanai, T. Nohmi, A. Nishikawa and T. Umemura.
14 Molecular mechanisms underlying ochratoxin A-induced genotoxicity:
15 global gene expression analysis suggests induction of DNA double-
16 strand breaks and cell cycle progression. *J Toxicol Sci.* 2013; 38: 57-69
- 17 304 D. Hibi, A. Kijima, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, Y. Sugita-Konishi, T. Yanai,
18 A. Nishikawa and T. Umemura. Effects of p53 knockout on ochratoxin A-
19 induced genotoxicity in p53-deficient gpt delta mice. *Toxicology.* 2013; 304:
20 92-99
- 21 305 J. A. Swenberg and R. R. Maronpot. Chemically induced cell proliferation
22 as a criterion in selecting doses for long-term bioassays. In: *Chemically*
23 *Induced Cell Proliferation: Implications for Risk Assessment*, New York:
24 Wiley-Liss. 1991; 245-251
- 25 306 D. R. Dietrich and J. A. Swenberg. Renal carcinogenesis. In: Hook, J.B. and
26 Goldstein, R.S., eds, *Toxicology of the Kidney.*, New York: Raven Press.
27 1993; 495-537
- 28 307 G. C. Hard. Mechanisms of chemically induced renal carcinogenesis in the
29 laboratory rodent. *Toxicol. Pathol.* 1998; 26: 104-112
- 30 308 M. Marin-Kuan, V. Ehrlich, T. Delatour, C. Cavin and B. Schilter. Evidence
31 for a role of oxidative stress in the carcinogenicity of ochratoxin A. *J Toxicol.*
32 2011; 2011: 645361
- 33 309 C. Cavin, T. Delatour, M. Marin-Kuan, F. Fenaille, D. Holzhauser, G.
34 Guignard, C. Bezencon, D. Piguet, V. Parisod, J. Richoz-Payot and B.
35 Schilter. Ochratoxin A-mediated DNA and protein damage: roles of
36 nitrosative and oxidative stresses. *Toxicol Sci.* 2009; 110: 84-94

- 1 310 D. Hoehler, R. R. Marquardt, A. R. McIntosh and G. M. Hatch. Induction
2 of free radicals in hepatocytes, mitochondria and microsomes of rats by
3 ochratoxin A and its analogs. *Biochim. Biophys. Acta.* 1997; 1357: 225-233
- 4 311 H. Xiao, S. Madhyastha, R. R. Marquardt, S. Li, J. K. Vodela, A. A. Frohlich
5 and B. W. Kemppainen. Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form
6 and several of its analogs: Structure-activity relationships. *Toxicol. Appl.*
7 *Pharmacol.* 1996; 137: 182-192
- 8 312 G. J. Schaaf, S. M. Nijmeijer, R. F. Maas, P. Roestenberg, E. M. d. Groene
9 and J. Fink-Gremmels. The role of oxidative stress in the ochratoxin A-
10 mediated toxicity in proximal tubular cells. *Biochim Biophys Acta.* 2002;
11 1588: 149-158
- 12 313 C. Cavin, T. Delatour, M. Marin-Kuan, D. Holzhauser, L. Higgins, C.
13 Bezencon, G. Guignard, S. Junod, J. Richoz-Payot, E. Gremaud, J. D.
14 Hayes, S. Nestler, P. Mantle and B. Schilter. Reduction in antioxidant
15 defences may contribute to ochratoxin A toxicity and carcinogenicity.
16 *Toxicol.Sci.* 2007; 96: 30-39
- 17 314 C. Boesch-Saadatmandi, A. E. Wagner, A. C. Graeser, C. Hundhausen, S.
18 Wolfram and G. Rimbach. Ochratoxin A impairs Nrf2-dependent gene
19 expression in porcine kidney tubulus cells. *J Anim Physiol Anim Nutr*
20 *(Berl).* 2009; 93: 547-554
- 21 315 C. Boesch-Saadatmandi, A. Loboda, A. Jozkowicz, P. Huebbe, R. Blank, S.
22 Wolfram, J. Dulak and G. Rimbach. Effect of ochratoxin A on redox-
23 regulated transcription factors, antioxidant enzymes and glutathione-S-
24 transferase in cultured kidney tubulus cells. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46:
25 2665-2671
- 26 316 X. L. Shen, Y. Zhang, W. Xu, R. Liang, J. Zheng, Y. Luo, Y. Wang and K.
27 Huang. An iTRAQ-based mitoproteomics approach for profiling the
28 nephrotoxicity mechanisms of ochratoxin A in HEK 293 cells. *J Proteomics.*
29 2013; 78: 398-415
- 30 317 Y. Grosse, L. Chekir-Ghedira, A. Huc, S. Obrecht-Pflumio, G. Dirheimer,
31 H. Bacha and A. Pfohl-Leszkowicz. Retinol, ascorbic acid and alpha-
32 tocopherol prevent DNA adduct formation in mice treated with the
33 mycotoxins ochratoxin A and zearalenone. *Cancer Lett.* 1997; 114: 225-229
- 34 318 M. C. Guerra, F. Galvano, L. Bonsi, E. Speroni, S. Costa, C. Renzulli and
35 R. Cervellati. Cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside, a natural free-radical
36 scavenger against aflatoxin B1- and ochratoxin A-induced cell damage in a

- human hepatoma cell line (Hep G2) and a human colonic adenocarcinoma cell line (CaCo-2). *Br J Nutr.* 2005; 94: 211-220
- 319 A. Russo, L. L. Fauci, R. Acquaviva, A. Campisi, G. Raciti, C. Scifo, M. Renis, G. Galvano, A. Vanella and F. Galvano. Ochratoxin A-induced DNA damage in human fibroblast: protective effect of cyanidin 3-O-beta-D-glucoside. *J Nutr Biochem.* 2005; 16: 31-37
- 320 G. Aydin, N. Ozcelik, E. Cicek and M. Soyoz. Histopathologic changes in liver and renal tissues induced by ochratoxin A and melatonin in rats. *Hum.Exp.Toxicol.* 2003; 22: 383-391
- 321 A. A. E. Bertelli, M. Migliori, C. Filippi, N. Gagliano, E. Donetti, V. Panichi, V. Scalori, R. Colombo, C. Mannari, J. P. Tillement and L. Giovannini. Effect of ethanol and red wine on ochratoxin A-induced experimental acute nephrotoxicity. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 6924-6929
- 322 C. D. Giacomo, R. Acquaviva, A. Piva, V. Sorrenti, L. Vanella, G. Piva, G. Casadei, L. L. Fauci, A. Ritieni, M. Bognanno, L. D. Renzo, M. L. Barcellona, M. Morlacchini and F. Galvano. Protective effect of cyanidin 3-O-beta-D-glucoside on ochratoxin A-mediated damage in the rat. *Br. J. Nutr.* 2007; 98: 937-943
- 323 A. M. Domijan, M. Peraica, A. L. Vrdoljak, B. Radić, V. Zlender and R. Fuchs. The involvement of oxidative stress in ochratoxin A and fumonisin B₁ toxicity in rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 1147-1151
- 324 S. S. Palabiyik, P. Erkekoglu, N. D. Zeybek, M. Kizilgun, D. E. Baydar, G. Sahin and B. K. Giray. Protective effect of lycopene against ochratoxin A induced renal oxidative stress and apoptosis in rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2013; 65: 853-861
- 325 V. Sorrenti, C. D. Giacomo, R. Acquaviva, M. Bognanno, E. Grilli, N. D'Orazio and F. Galvano. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase/nitric oxide synthase pathway in liver and kidney: protective effect of cyanidin 3-O-beta-D-glucoside on ochratoxin-A toxicity. *Toxins* . 2012; 4: 353-363
- 326 J. C. Gautier, D. Holzhaeuser, J. Markovic, E. Gremaud, B. Schilter and R. J. Turesky. Oxidative damage and stress response from ochratoxin a exposure in rats. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30: 1089-1098
- 327 E. Rached, E. Pfeiffer, W. Dekant and A. Mally. Ochratoxin A: apoptosis and aberrant exit from mitosis due to perturbation of microtubule dynamics? *Toxicol. Sci.* 2006; 92: 78-86

- 1 328 K. Czakai, K. Muller, P. Mosesso, G. Pepe, M. Schulze, A. Gohla, D. Patnaik,
2 W. Dekant, J. M. Higgins and A. Mally. Perturbation of mitosis through
3 inhibition of histone acetyltransferases: the key to ochratoxin A toxicity
4 and carcinogenicity? *Toxicol Sci.* 2011; 122: 317-329
- 5 329 Y. Wang, J. Liu, J. Cui, L. Xing, J. Wang, X. Yan and X. Zhang. ERK and
6 p38 MAPK signaling pathways are involved in ochratoxin A-induced
7 G2 phase arrest in human gastric epithelium cells. *Toxicol Lett.* 2012; 209:
8 186-192
- 9 330 M. Adler, K. Müller, E. Rached, W. Dekant and A. Mally. Modulation of key
10 regulators of mitosis linked to chromosomal instability is an early event in
11 ochratoxin A carcinogenicity. *Carcinogenesis.* 2009; 30: 711-719
- 12 331 C. B. Lim, D. Zhang and C. G. Lee. FAT10, a gene up-regulated in various
13 cancers, is cell-cycle regulated. *Cell Div.* 2006; 1: 20
- 14 332 E. Taniai, H. Hayashi, A. Yafune, M. Watanabe, H. Akane, K. Suzuki, K.
15 Mitsumori and M. Shibutani. Cellular distribution of cell cycle-related
16 molecules in the renal tubules of rats treated with renal carcinogens for 28
17 days: relationship between cell cycle aberration and carcinogenesis. *Arch*
18 *Toxicol.* 2012; 86: 1453-1464
- 19 333 E. Taniai, A. Yafune, H. Hayashi, M. Itahashi, Y. Hara-Kudo, K. Suzuki,
20 K. Mitsumori and M. Shibutani. Aberrant activation of ubiquitin D at G₂
21 phase and apoptosis by carcinogens that evoke cell proliferation after 28-
22 day administration in rats. *J Toxicol Sci.* 2012; 37: 1093-1111
- 23 334 C. Sauvant, H. Holzinger and M. Gelke. The nephrotoxin ochratoxin A
24 induces key parameters of chronic interstitial nephropathy in renal
25 proximal tubular cells. *Cell physiol. Biochem.* 2005; 15: 125-134
- 26 335 G. Schwerdt, H. Holzinger, C. Sauvant, M. Königs, H.-U. Humpt and M.
27 Gekle. Long-term effects of ochratoxin A on fibrosis and cell death in
28 human proximal tubule of fibroblast cells in primary culture. *Toxicology.*
29 2007; 232: 57-67
- 30 336 C. Sauvant, H. Holzinger, S. Mildemberger and M. Gekle. Exposure to
31 nephrotoxic ochratoxin A enhances collagen secretion in human renal
32 proximal tubular cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49: 31-37
- 33 337 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguët, T. Delatour,
34 P. Mantle, C. Cavin and B. Schilter. MAPK-ERK activation in kidney of
35 male rats chronically fed ochratoxin A at a dose causing a significant
36 incidence of renal carcinoma. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2007; 224: 174-181

- 1 338 K. Stemmer, H. Ellinger-Ziegelbauer, H. J. Ahr and D. R. Dietrich.
2 Carcinogen-specific gene expression profiles in short-term treated Eker
3 and wild type rats indicative of pathways involved in renal tumorigenesis.
4 Cancer Res. 2007; 67: 4052-4068
- 5 339 A. Luhe, H. Hildebrand, U. Bach, T. Dingermann and H. J. Ahr. A new
6 approach to studying ochratoxin A (OTA)-induced nephrotoxicity:
7 expression profiling *in vivo* and *in vitro* employing cDNA microarrays.
8 Toxicol Sci. 2003; 73: 315-328
- 9 340 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguet, R.
10 Mansourian, J. Holzwarth, M. Grigorov, T. Delatour, P. Mantle, C. Cavin
11 and B. Schilter. A toxicogenomics approach to identify new plausible
12 epigenetic mechanisms of ochratoxin A carcinogenicity in rat. Toxicol.Sci.
13 2006; 89: 120-134
- 14 341 P. Jennings, C. Weiland, A. Limonciel, K. M. Bloch, R. Radford, L.
15 Aschauer, T. McMorro, A. Wilmes, W. Pfaller, H. J. Ahr, C. Slattery, E. A.
16 Lock, M. P. Ryan and H. Ellinger-Ziegelbauer. Transcriptomic alterations
17 induced by ochratoxin A in rat and human renal proximal tubular in vitro
18 models and comparison to a rat in vivo model. Arch Toxicol. 2012; 86: 571-
19 589
- 20 342 Y. Ueno. Residue and risk of ochratoxin A in human plasma and beverages
21 in Japan. Mycotoxins. 1998; 47: 25-32
- 22 343 J. Postupolski, K. Karlowski and P. Kubik. Ochratoxin A in maternal and
23 foetal blood and in maternal milk. Roczn.Panstw.Zakl.Hig.. 2006; 57: 23-30
- 24 344 C. M. Lino, M. L. Baeta, M. Henri, A. M. P. Dinis, A. S. Pena and M. I. N.
25 Silveira. Levels of ochratoxin A in serum from urban and rural Portuguese
26 populations and estimation of exposure degree. Food Chem Toxicol. 2008;
27 46: 879-885
- 28 345 K. Munoz, M. Vega, G. Rios, S. Munoz and R. Madariaga. Preliminary study
29 of ochratoxin A in human plasma in agricultural zones of Chile and its
30 relation to food consumption. Food Chem. Toxicol. 2006; 44: 1884-1889
- 31 346 A. M. Pacin, E. V. C. Bovier, E. Motta, S. L. Resnik, D. Villa and M. Olsen.
32 Survey of Argentinean human plasma for ochratoxin A. Food
33 Addit.Contam. 2008; 25: 635-641
- 34 347 P. Erkekoglu, S. Sabuncuoglu, S. Aydin, G. Sahin and B. Giray.
35 Determination of seasonal variations in serum ochratoxin A levels in
36 healthy population living in some regions of Turkey by enzyme-linked

- 1 immunosorbent assay. *Toxicon*. 2010; 55: 507-513
- 2 348 M. B. Coronel, V. Sanchis, A. J. Ramos and S. Marin. Assessment of the
3 exposure to ochratoxin A in the province of Lleida, Spain. *Food Chem*
4 *Toxicol*. 2009; 47: 2847-2852
- 5 349 A. Medina, E. M. Mateo, R. J. Roig, A. Blanquer and M. Jimenez.
6 Ochratoxin A levels in the plasma of healthy blood donors from Valencia
7 and estimation of exposure degree: comparison with previous national
8 Spanish data. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk*
9 *Assess*. 2010; 27: 1273-1284
- 10 350 A. Stachurska, M. Kozakowska, A. Jozkowicz, J. Dulak and A. Loboda.
11 Aristolochic acid I and ochratoxin A differentially regulate VEGF
12 expression in porcine kidney epithelial cells-The involvement of SP-1 and
13 HIFs transcription factors. *Toxicol Lett*. 2011; 204: 118-126
- 14 351 M. Pascale and A. Visconti. Rapid method for the determination of
15 ochratoxin A in urine by immunoaffinity column clean-up and high-
16 performance liquid chromatography. *Mycopathologia*. 2001; 152: 91-95
- 17 352 J. Gilbert, P. Brereton and S. MacDonald. Assessment of dietary exposure
18 to ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of
19 urine and plasma samples. *Food Addit. Contam*. 2001; 18: 1088-1093
- 20 353 B. Fazekas, A. Tar and M. Kovacs. Ochratoxin A content of urine samples
21 of healthy humans in Hungary. *Acta Vet. Hung*. 2005; 53: 35-44
- 22 354 A. Pena, M. Seifrtova, C. Lino, I. Silveira and P. Solich. Estimation of
23 ochratoxin A in Portuguese population: new data on the occurrence in
24 human urine by high performance liquid chromatography with
25 fluorescence detection. *Food Chem. Toxicol*. 2006; 44: 1449-1454
- 26 355 S. C. Duarte, M. R. Alves, A. Pena and C. M. Lino. Determinants of
27 ochratoxin A exposure--a one year follow-up study of urine levels. *Int J Hyg*
28 *Environ Health*. 2012; 215: 360-367
- 29 356 G. Biasucci, G. Calabrese, R. D. Giuseppe, G. Carrara, F. Colombo, B.
30 Mandelli, M. Maj, T. Bertuzzi, A. Pietri and F. Rossi. The presence of
31 ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with
32 maternal dietary habits. *Eur J Nutr*. 2011; 50: 211-218
- 33 357 K. Munoz, K. M. Wollin, H. Kalhoff and G. H. Degen. [Occurrence of the
34 mycotoxin ochratoxin a in breast milk samples from Germany]. [in German].
35 *Gesundheitswesen*. 2013; 75: 194-197
- 36 358 J. W. Jonker, G. Merino, S. Musters, A. E. v. Herwaarden, E. Bolscher, E.

- 1 Wagenaar, E. Mesman, T. C. Dale and A. H. Schinkel. The breast cancer
2 resistance protein BCRP (ABCG2) concentrates drugs and carcinogenic
3 xenotoxins into milk. *Nat.Med.* 2005; 11: 127-129
- 4 359 J. Schrickx, Y. Lektarau and J. Fink-Gremmels. Ochratoxin A secretion by
5 ATP-dependent membrane transporters in Caco-2 cells. *Arch.Toxicol.*
6 2006; 80: 243-249
- 7 360 A. E. v. Herwaarden, E. Wagenaar, B. Karnekamp, G. Merino, J. W. Jonker
8 and A. H. Schinkel. Breast cancer resistance protein (Bcrp1/Abcg2)
9 reduced systemic exposure of the dietary carcinogens aflatoxin B1, IQ and
10 Trp-P-1 but also mediates their secretion into breast milk. *Carcinogenesis.*
11 2006; 27: 123-130
- 12 361 W. Hassen, S. Abid, A. Achour, E. Creppy and H. Bacha. Ochratoxin A and
13 beta2-microglobulinuria in healthy individuals and in chronic nephropathy
14 patients in the centre of Tunisia: a hot spot of ochratoxin A exposure.
15 *Toxicology.* 2004; 199: 185-193
- 16 362 A. M. Hassan, H. A. Sheashaa, M. F. A. Fattah, A. Z. Ibrahim, O. A. Gaber
17 and M. A. Sobh. Study of ochratoxin A as an environmental risk that causes
18 renal injury in breast-fed Egyptian infants. *Pediatr. Nephrol.* 2006; 21:
19 102-105
- 20 363 L. Iacumin, L. Chiesa, D. Boscolo, M. Manzano, C. Cantoni, S. Orlic and G.
21 Comi. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry
22 sausages. *Food Microbiol.* 2009; 26: 65-70
- 23 364 A. Breitholtz, M. Olsen, A. Dahlback and K. Hult. Plasma ochratoxin A
24 levels in three Swedish populations surveyed using an ion-pair HPLC
25 technique. *Food Addit Contam.* 1991; 8: 183-192
- 26 365 V. Stefanovic, D. Toncheva, S. Atanasova and M. Polenakovic. Etiology of
27 Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer.
28 *Am.J.Nephrol.* 2006; 26: 1-11
- 29 366 S. Ceovic, A. Hrabar and M. Saric. Epidemiology of Balkan endemic
30 nephropathy. *Food Chem. Toxicol.* 1992; 30: 183-188
- 31 367 M. Radonic, Z. Radosevic and V. Zupanic. Endemic nephropathy in
32 Yugoslavia. "In: The kidney, Baltimore: Williams & Wilkins". 1966; 503-
33 522
- 34 368 C. A. Tatu, W. H. Orem, R. B. Finkelman and G. L. Feder. The etiology of
35 Balkan endemic nephropathy: still more questions than answers. *Environ*
36 *Health Perspect.* 1998; 106: 689-700

- 1 369 A. P. Grollman and B. Jelakovic. Role of environmental toxins in endemic
2 (Balkan) nephropathy. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2007; 18: 2817-2823
- 3 370 T. Petkova-Bocharova, I. N. Chernozemsky and M. Castegnaro. Ochratoxin
4 A in human blood in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary
5 system tumours in Bulgaria. *Food Addit.Contam.* 1988; 5: 299-301
- 6 371 M. Castegnaro, H. Bartsch and I. Chernozemsky. Endemic nephropathy
7 and urinary tract tumors in the Balkans. *Cancer Res.* 1987; 47: 3608-3609
- 8 372 I. S. Stoyanov, I. N. Chernozemsky, I. G. Nicolov, I. I. Stoichev and T. K.
9 Petkova-Bocharova. Epidemiologic association between endemic
10 nephropathy and urinary system tumours in an endemic region.
11 *J.Chron.Dis.* 1978; 31: 721-724
- 12 373 M. Vukelic, B. Sostaric and M. Belicza. Pathomorphology of Balcan
13 endemic nephropathy. *Food Chem. Toxicol.* 1992; 30: 193-200
- 14 374 G. Borso. Characteristecs of clinical data on endemic nephropathy. "In:
15 Cvorisec,D., Ceovic,S. and Stavljenic-Rucavina,A., eds, *Endemic*
16 *Nephropathy in Croatia*, Zagreb: Academia Croatia Scientiarum
17 *Medicarum*". 1996; 73-75
- 18 375 M. Vukelic, B. Sostaric and R. Fuchs. Some pathomorphological features of
19 Balcan endemic nephropathy in Croatia. "In: Castegnaro,M., Plestina,R.,
20 Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. & Bartsch,H., eds, *Mycotoxins, Endemic*
21 *Nephropathy and Urinary Tract Tumours* . (IARC Scientific Publication
22 No. 115), Lyon: IAPCPress". 1991; 37-42
- 23 376 A. Mally, G. C. Hard and W. Dekant. Ochratoxin A as a potential etiologic
24 factor in endemic nephropathy: lessons from toxicity studies in rats. *Food*
25 *Chem. Toxicol.* 2007; 45: 2254-2260
- 26 377 I. G. Nicolov, I. N. Chernozemsky, T. Petkova-Bocharova, I. S. Stoyanov
27 and I. I. Stoichev. Epidemiologic characteristics of urinary system tumors
28 and Balkan nephropathy in an endemic region of Bulgaria. *Eur.J.Cancer.*
29 1978; 14: 1237-1242
- 30 378 S. Ceovic and M. Miletic-Medved. Epidemiological features of endemic
31 nephropathy in tha focal area of Brodska Posavina, Croatia. "In:
32 Cvorisec,D., Ceovic,S. and Stavljenic-Rukavina,A., eds, *Endemic*
33 *Nephropathy in Croatia*. Zagreb: Academia Croatia Scientiarum
34 *Medicarum*". 1996; 7-21
- 35 379 B. Sostaric and M. Vukelic. Characteristics of urinary tract tumours in the
36 area of Balkan endemic nephropathy in Croatia. "In: Castegnaro,M.,

- 1 Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds,
2 Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours (IARC
3 Scientific Publications No. 115), Lyon: IARCPress". 1991; 29-35
- 4 380 M. Djokic, J. Hadzi-Djokic, J. Nikolic, D. Dragicevic and D. Radivojevic.
5 [Comparison of upper urinary tract tumors in the region of Balkan endemic
6 nephropathy with those in other Yugoslav regions.][in French]. Prog. Urol.
7 1999; 9: 61-68
- 8 381 A. Schiller, P. Gusbeth-Tatomir, N. Pavlovic, D. Ferluga, G. Spasovski and
9 A. Covic. Balkan endemic nephropathy: a still unsolved puzzle. J.Nephrol.
10 2008; 21: 673-680
- 11 382 R. Plestina, S. Ceovic, S. Gatenbeck, V. Habazin-Novak, K. Hult, E. Hokby,
12 P. Krogh and B. Radic. Human exposure to ochratoxin A in areas of
13 Yugoslavia with endemic nephropathy. J Environ Pathol Toxicol Oncol.
14 1990; 10: 145-148
- 15 383 M. Pavlovic, R. Plestina and P. Krogh. Ochratoxin A contamination of
16 foodstuffs in an area with Balkan (endemic) nephropathy. Acta Pathol.
17 Microbiol. Scand. B. 1979; 87: 243-246
- 18 384 K. Hult, R. Plestina, V. Habazin-Novak, B. Radic and S. Ceovic. Ochratoxin
19 A in human blood and Balkan endemic nephropathy. Arch.Toxicol. 1982;
20 51: 313-321
- 21 385 K. Maaroufi, A. Achour, M. Hammami, M. e. May, A. M. Betbeder, F. Ellouz,
22 E. E. Creppy and H. Bacha. Ochratoxin A in human blood in relation to
23 nephropathy in Tunisia. Hum Exp Toxicol. 1995; 14: 609-614
- 24 386 A. Pfohl-Leszkowicz, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. Peraica, M.
25 Castegnaro and V. Stefanovic. New molecular and field evidences for the
26 implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy
27 and urinary tract tumor. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51: 1131-1146
- 28 387 M. Peraica, A. M. Domijan, M. Miletic-Medved and R. Fuchs. The
29 involvement of mycotoxins in the development of endemic nephropathy.
30 Wien Klin Wochenschr. 2008; 120: 402-407
- 31 388 M. E. De Broe. Chinese herbs nephropathy and Balkan endemic
32 nephropathy: toward a single entity, aristolochic acid nephropathy. Kidney
33 Int. 2012; 81: 513-515
- 34 389 A. P. Grollman, S. Shibutani, M. Moriya, F. Miller, L. Wu, U. Moll, N.
35 Suzuki, A. Fernandes, T. Rosenquist, Z. Medverec, K. Jakovina, B. Brdar,
36 N. Slade, R. J. Turesky, A. K. Goodenough, R. Rieger, M. Vukelic and B.

- 1 Jelakovic. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan)
2 nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104: 12129-12134
- 3 390 V. Stefanovic and M. Polenakovic. Fifty years of research in Balkan
4 endemic nephropathy: where are we now? Nephron Clin. Pract. 2009; 112:
5 c51-56
- 6 391 W. Karmaus, P. Dimitrov, V. Simeonov, S. Tsoleva, A. Bonev and R.
7 Georgieva. Metals and kidney markers in adult offspring of endemic
8 nephropathy patients and controls: a two-year follow-up study.
9 Environ.Health. 2008; 7:11
- 10 392 堀井幸江, 橋口知一, 伊木由香理, 須藤茂俊. LC/MS/MS による国産ワイン
11 中のオクラトキシン A の分析. J. ASEV Jpn. 2010; 21: 3-7
- 12 393 小西良子. 食品中のカビ毒および暴露評価に関する研究. 厚生労働科学研究費
13 補助金研究事業. 2010
- 14 394 Y. Sugita-Konishi, Y. Kamata, T. Sato, T. Yoshinari and S. Saito. Exposure
15 and risk assessment for ochratoxin A and fumonisins in Japan. Food Addit
16 Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2013; 30: 1392-1401
- 17 395 財団法人日本分析センター. 内閣府食品安全委員会. 平成 17 年度食品安全保
18 全総合調査. 食品中に含まれるカビ毒（オクラトキシン、アフラトキシン、ゼ
19 アラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2006
- 20 396 財団法人食品分析センター. 内閣府食品安全委員会. 平成 18 年度食品安全保
21 全総合調査. 食品中に含まれるカビ毒（オクラトキシン、アフラトキシン、ゼ
22 アラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2007
- 23 397 財団法人食品分析センター. 内閣府食品安全委員会. 平成 20 年度食品安全保
24 全総合調査. 食品中に含まれるカビ毒（オクラトキシン、アフラトキシン、ゼ
25 アラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2010
- 26 398 農 林 水 産 省 . 国 産 穀 類 の か び 毒 実 態 調 査 結 果 .
27 [http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidok](http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/tyosa/pdf/14_23.pdf)
28 [u/tyosa/pdf/14_23.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/tyosa/pdf/14_23.pdf).
- 29 399 H. Sakuma, Y. Watanabe, H. Furusawa, T. Yoshinari, H. Akashi, H.
30 Kawakami, S. Saito and Y. Sugita-Konishi. Estimated dietary exposure to
31 mycotoxins after taking into account the cooking of staple foods in Japan.
32 Toxins. 2013; 5: 1032-1042
- 33 400 A. Fernandes, N. Ratola, A. Cerdeira, A. Alves and A. Venancio. Changes
34 in ochratoxin A concentration during winemaking. Am. J. Enol. Viticult.
35 2007; 58: 92-96

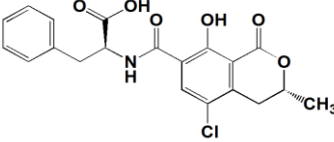
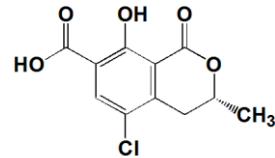
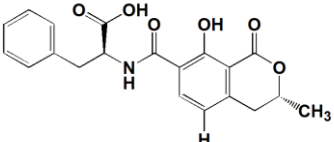
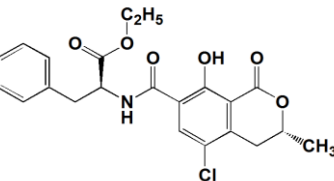
- 1 401 S.-L. Leong, A. D. Hocking and E. S. Scott. Effect of temperature and water
2 activity on growth and ochratoxin A production by Australian *Aspergillus*
3 *carbonarius* and *A.niger* isolates on a simulated grape juice medium.
4 Int.J.Food Microbiol. 2006; 110: 209-216
- 5 402 S.-L. Leong, A. D. Hocking and E. S. Scott. The effect of juice clarification,
6 static or rotary fermentation and fining on ochratoxin A in wine. Aust. J.
7 Grape Wine Res. 2006; 12: 245-251
- 8 403 A. Caridi, F. Galvano, A. Tafuri and A. Ritieni. Ochratoxin A removal
9 during winemaking. Enzyme Microb. Technol. 2006; 40: 122-126
- 10 404 H. M. Kurtbay, Z. Bekçi, M. Merdivan and K. Yurdakoç. Reduction of
11 ochratoxin A levels in red wine by bentonite, modified bentonites, and
12 chitosan. J. Agric. Food Chem. 2008; 56: 2541-2545
- 13 405 S. Romani, G. G. Pinnavaia and M. D. Rosa. Influence of roasting levels on
14 ochratoxin A content in coffee. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 5168-5171
- 15 406 E. A. Nehad, M. M. Farag, M. S. Kawther, A. K. M. Abdel-Samed and K.
16 Naguib. Stability of ochratoxin A (OTA) during processing and
17 decaffeination in commercial roasted coffee beans. Food Addit.Contam.
18 2005; 22: 761-767
- 19 407 A. P. d. Obanos, E. Gonzalez-Penas and A. L. d. Cerain. Influence of
20 roasting and brew preparation on the ochratoxin A content in coffee
21 infusion. Food Addit.Contam. 2005; 22: 463-471
- 22 408 坪内春夫. コーヒーのカビ毒汚染と選別による除去. 日本食品微生物学会雑誌.
23 1994; 11: 23
- 24 409 P. Manda, D. S. Dano, J. H. Kouadio, A. Diakite, B. Sangae-Tigori, M. J.
25 M. Ezoulin, A. Soumahoro, A. Dembele and G. Fourny. Impact of industrial
26 treatments on ochratoxin A content in artificially contaminated cocoa
27 beans. Food Addit.Contam. 2009; 26: 1081-1088
- 28 410 K. A. Scudamore, J. Banks and S. J. MacDonald. Fate of ochratoxin A in
29 the processing of whole wheat grains during milling and bread production .
30 Food Addit.Contam. 2003; 20: 1153-1163
- 31 411 M. Valle-Algarra, E. M. Mateo, A. Medina, F. Mateo, J. V. Gimeno-
32 Adelantado and M. Jimenez. Changes in ochratoxin A and type B
33 trichothecenes contained in wheat flour during dough fermentation and
34 bread-baking. Food Addit.Contam. 2009; 26: 896-906
- 35 412 K. A. Scudamore, J. N. Banks and R. C. E. Guy. Fate of ochratoxin A in the
36 processing of whole wheat grain during extrusion. Food Addit.Contam.

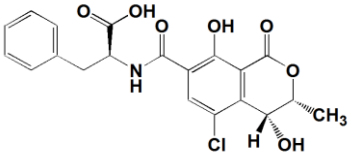
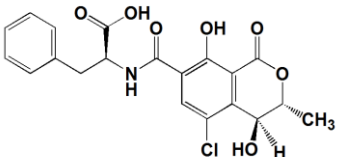
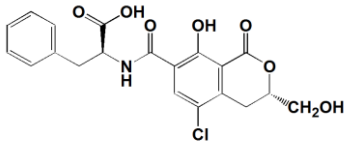
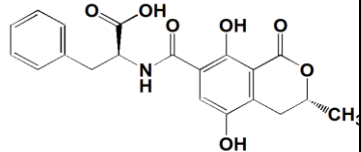
- 2004; 21: 488-497
- 413 M. Castells, S. Marin, V. Sanchis and A. J. Ramos. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. Food Addit.Contam. 2005; 22: 150-157
- 414 J. W. Park, S. H. Chung, C. Lee and Y. B. Kim. Fate of ochratoxin A during cooking of naturally contaminated polished rice. J Food Prot. 2005; 68: 2107-2111
- 1001 山田 修. 黒麹菌の系統解析とOTA非生産性. Mycotoxins. 2013; 63: 187-190
- 1002 Wei Li, Mario P. Wiesenfeidt, and Frank Glorius. Ruthenium-NHC-Diamine Catalyzed Enantioselective Hydrogenation of Isocoumarins. Journal of the American Chemical Society, 2017; 139(7): 2583-2585
- 1003 Domsch, Gams and Anderson. Compendium of Soil Fungi, second edition, Aspergillus P.Micheli ex Link 1809:Fr. IHW-Verlag, Eching. 2007; p.90.
- 1004 C. Jens, J. Frisvad, Mick Frank, Jos A.M.P. Houbroken, Angelina F.A. Kuijpers and A. Robert. Samson, New ochratoxin A producing species of Aspergillus section Circumdati. STUDIES IN MYCOLOGY. 2004; 50: 23-43
- 1005 馬場 浩. オクラトキシンA産生に関するAspergillus ochraceusの再同定. Mycotoxins. 2012; 62: 149-152
- 1006 P. Battilani, C. Barbano, S. Marin, V. Sanchis, Z. Kozakiewicz and N. Magan. Mapping of Aspergillus Section Nigri in Southern Europe and Israel based on geostatistical analysis. International Journal of Food Microbiology, 2006; 111: S72-S82
- 1007 P. Noonim W. Mahakarnchanakul K.F. Nielsen, J.C. Frisvad and R.A. Samson. Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A producing Aspergillus species from coffee beans grown in two regions of Thailand. International Journal of Food Microbiology, 2008; 128: 197-202
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.08.005>
- 1008 T. Geremew, D. Abate, S. Landschoot, G. Haesaert and K. Audenaert. Occurrence of toxigenic fungi and ochratoxin A in Ethiopian coffee for local consumption. Food Control. 2016; 69: 65-73

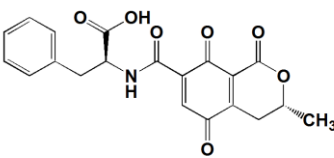
- 1 [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516301943?vi](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516301943?via%3Dihub)
2 [a%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516301943?via%3Dihub)
- 3 1009 F. Lund and J.C. Frisvad. *Penicillium verrucosum* in wheat and barley
4 indicates presence of ochratoxin A. J Appl Microbiol. 2003; 95(5): 1117-23.
5 doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02076.x.
- 6 1010 F.J. Cabañes. M.R. Bragulat and G. Castella. Ochratoxin A producing
7 species in the genus *Penicillium*. Toxins. 2010; 2(5): 1111–1120
8 <https://doi.org/10.3390/toxins2051111>
- 9 1011 S. Elmholt and P.H. Rasmussen. *Penicillium verrucosum* occurrence and
10 Ochratoxin A contents in organically cultivated grain with special
11 reference to ancient wheat types and drying practice. Mycopathologia.
12 2005; 159: 421–432 (2005).
- 13 1012 H. Takahashi and H. Yazaki. Production and contamination of ochratoxin
14 by *Penicillium* species. Mycotoxins. 2007; 57(1): 57–63.
15 https://www.jstage.jst.go.jp/article/myco/57/1/57_1_57/_pdf/-char/ja
- 16 1013 Health Canada. Health Risk Assessment for Dietary Exposure to
17 Ochratoxin A. Unclassified. December 2025: 1-29

<参考資料 1>

OTA及び主なOTA関連化合物の構造

化学物質、構造式	詳細	
OTA 	名称	<i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₆
	分子量	403.82
	CAS No.	303-47-9
OTα 	名称	<i>(3R)</i>-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-カルボン酸 <i>(3R)</i>-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-carboxylic acid
	分子式	C ₁₁ H ₉ ClO ₅
	分子量	256.64
	CAS No.	19165-63-0
OTB 	名称	<i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-3,4,5-トリヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-3,4,5-trihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₉ NO ₆
	分子量	369.37
	CAS No.	4825-86-9
OTC 	名称	<i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニンエチル <i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine ethyl ester
	分子式	C ₂₂ H ₂₂ ClNO ₆
	分子量	431.87
	CAS No.	4865-85-4

4(<i>R</i>)-OH-OTA 	名称	<i>N</i>-[[[(3<i>R</i>,4<i>R</i>)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-4,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[[(3<i>R</i>,4<i>R</i>)-5-chloro-3,4-dihydro-4,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl] carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₇
	分子量	419.82
	CAS No.	35299-87-7
4(<i>S</i>)-OH-OTA 	名称	<i>N</i>-[[[(3<i>R</i>,4<i>S</i>)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-4,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[[(3<i>R</i>,4<i>S</i>)-5-chloro-3,4-dihydro-4,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₇
	分子量	419.82
	CAS No.	82598-16-1
10-OH-OTA 	名称	<i>N</i>-[[[(3<i>R</i>)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-ヒドロキシメチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[[(3<i>R</i>)-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-hydroxymethyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl] carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₇
	分子量	419.82
	CAS No.	35299-87-7
OTHQ 	名称	<i>N</i>-[[[(3<i>R</i>)-3,4-ジヒドロ-5,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキシ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[[(3<i>R</i>)-3,4-dihydro-5,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₉ NO ₇
	分子量	385.37
	CAS No.	205034-32-8

OTQ 	名称	<i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-3,4,5,8-テトラヒドロ-3-メチル-1,5,8-トリオキソ-1<i>H</i>-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン <i>N</i>-[[<i>(3R)</i>-3,4,5,8-tetrahydro-3-methyl-1,5,8-trioxo-1<i>H</i>-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine
	分子式	C ₂₀ H ₁₇ NO ₇
	分子量	383.36
	CAS No.	

＜参考資料 2＞

ヒトに対する経口発がんリスク評価に関する手引き（清涼飲料水を対象）

（平成 20 年 9 月 2 日 化学物質・汚染物質専門調査会決定）

はじめに

これまで、清涼飲料水の安全性評価において、発がん性を示す物質については、遺伝毒性発がん物質と判断することが適切でない場合は一般毒性の NOAEL から TDI を求め、遺伝毒性発がん物質の可能性が高い場合は毒性学的閾値の設定ができないことから定量的な評価を行わないこととしていた。その最大の理由は、遺伝毒性発がん物質の評価法については国内外での合意が得られていないとの見解によるものであった。

遺伝毒性発がん物質は、他の物質（非発がん物質や非遺伝毒性発がん物質）に比べてヒトが暴露されたときのリスクが一般的に高く、その暴露量は他の物質より低く管理するか、理想的には限りなくゼロにすることが求められる。しかしながら、一元的なリスク管理では制御が困難な環境汚染物質においては、現実的に暴露を完全に避けることが困難な事態や、さらにこれまで未検出であった物質でも分析技術の進歩により検出可能になってきているという現実直面している。このため、遺伝毒性発がん物質についても食品安全委員会としての定量的な評価結果をリスク管理機関に答申することがより求められている。また、評価法に合意が得られていないとされている理由は、米国と欧州で異なった手法を用いているためであるが、近い将来に両者の手法が統一される可能性は極めて少ない。

以上のことから、現時点において遺伝毒性発がん物質の発がんリスクを求めることが適切であると考え、発がん性を有する物質の評価方法の全体の枠組みや考え方について整理した。（評価手順について別紙参照）

○発がんに対する遺伝毒性の関与を考慮し、TDI または発がんリスクの設定について検討する。

○非発がん影響と発がん影響の評価は独立して実施する。

○原則として、経口摂取に基づくリスク評価を行うこととするが、経口摂取の定量的評価に必要な場合は、経口摂取以外の暴露による有害性評価結果も十分に考慮する。

○発がん性のリスク計算に関しては、新しいデータが得られた場合、または明確に考え方を変えるべき根拠が生じた場合を除き、算出方法が公開／公認されている場合は原則として既存のリスク評価値を継承する。

1. 「発がん性に対する遺伝毒性の関与がない」と判断される場合の評価（Ⅰ）

（*in vitro* 遺伝毒性試験、*in vivo* 遺伝毒性試験のいずれも陰性の場合など）

■TDI を算出する。

○疫学研究または動物実験から発がん性に関する NOAEL を得ることができる場合
・不確実係数で割って TDI を求める。

【不確実係数の考え方】

- ①動物からヒトへの外挿として 10
- ②個体差として 10
- ③発がん性に対して 1-10

○発がん性に関する NOAEL を得ることができない場合はベンチマークドーズ法の適用を考慮する（National Toxicology Program [NTP] による 2 用量試験で低用量でも発がん性が認められる場合を想定）。

2. 「発がん性に対する遺伝毒性の関与が不確実」と判断される場合の評価（Ⅱ）

（*in vitro* 遺伝毒性試験では陽性であるが、*in vivo* 遺伝毒性試験のデータが不十分で判断できない場合など）

■TDI と数理モデルによる発がんユニットリスクを、併記あるいは一方を記載する。

（1）TDI の算出について

○疫学研究または動物実験から発がん性に関する NOAEL を得ることができる場合
・不確実係数で割って TDI を求める。

【不確実係数の考え方】

- ①動物からヒトへの外挿として 10
- ②個体差として 10
- ③発がん性に対して 1-10

なお、遺伝毒性のデータ不足などに対して係数を追加することがあり得る。

○発がん性に関する NOAEL を得ることができない場合はベンチマークドーズ法の適用を考慮する（NTP による 2 用量試験で低用量でも発がん性が認められる場合を想定）。

（2）数理モデルによる発がんユニットリスクの算出について

○発がんユニットリスクについては、我が国の水道水での評価値が妥当であればその値を参照する。「我が国の水道水での評価」で発がんリスクを記述していない場合は、EPA 等の他機関の既存の評価データの妥当性を考慮し、妥当であればその値を参照する。なお、新たな知見が得られた場合には、その知見について検討するこ

ととする（新規にリスク算出が必要な場合は、ベンチマークドーズを用いた数理モデル（直線外挿等）を検討する）。

○発がんユニットリスクの記載方法は、1mg/kg 体重/日の用量で生涯にわたり経口暴露した時の発がんリスクとして表記する(Linearized multistage model の場合は slope factor: q に相当する)。: ○○/ (mg/kg 体重/日)

○発がんユニットリスクの数値化とともに、遺伝毒性についての情報を記載する。また、参考として、発がんリスクレベル 10^{-4} ~ 10^{-6} に相当する摂取量を記載する。

3. 「発がん性に対する遺伝毒性の関与が強く疑われる、または、関与がある」と判断される場合の評価（Ⅲ）

（*in vitro* 遺伝毒性試験、*in vivo* 遺伝毒性試験のいずれでも明らかに陽性的場合など）

■原則として TDI を設定せず、数理モデルを用いて発がんユニットリスクを求める。

○発がんユニットリスクについては、我が国の水道水での評価値が妥当であればその値を参照する。「我が国の水道水での評価」で発がんリスクを記述していない場合は、EPA 等の他機関の既存の評価データの妥当性を考慮し、妥当であればその値を参照する。なお、新たな知見が得られた場合には、その知見について検討することとする（新規にリスク算出が必要な場合は、ベンチマークドーズを用いた数理モデル（直線外挿等）を検討する）。

○発がんユニットリスクの記載方法は、1mg/kg 体重/日の用量で生涯にわたり経口暴露した時の発がんリスクとして表記する(Linearized multistage model の場合は slope factor: q に相当する)。: ○○/ (mg/kg 体重/日)

○発がんユニットリスクの数値化とともに、遺伝毒性についての情報を記載する。また、参考として、発がんリスクレベル 10^{-4} ~ 10^{-6} に相当する摂取量を記載する。

ヒトに対する経口発がんリスク評価手順
(清涼飲料水を対象)

