

## 1 神経毒性に係るOTA評価書第1版以降の追加知見（案）

2  
3 ・ *in vitro*試験

4 （文献リストNo.227）

5  $\alpha$ -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  
6 びCaco-2細胞（ヒト大腸がん由来株）を0又は0.025～0.2  $\mu$ MのOTAで処置し  
7 た結果、神経変性疾患の原因物質である $\alpha$ -シヌクレインの半減期が延長した。  
8  $\alpha$ -シヌクレインのターンオーバーの減少は、0.1  $\mu$ M群及び0.2  $\mu$ M群のリソソ  
9 ーム取込みタンパク質のLAMP-2Aの減少及び0.2  $\mu$ M群のlamp-2a mRNAの  
10 減少と関連した。SH-SY5Y細胞において6種のmiRNA（hsa-miR-4792、hsa-  
11 miR-3196、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-6087、hsa-miR-24-2-5p、hsa-miR-  
12 513c-3p）が発現増加、4種のmiRNA（hsa-miR-1271-5p、hsa-miR-3607-5p、  
13 hsa-miR-99b-5p、hsa-miR-501-3p）が発現低下した。

14  
15 ・ *in vivo*試験

16 （文献リストNo.227）

17 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、  
18 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  
19 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  
20 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/  
21 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  
22 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  
23 数に影響はなかった。

24 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  
25 OTAを28日間経口投与し、最終投与27週間通常飼育した。血漿及び脳中に  
26 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（ワーヤ  
27 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  
28 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  
29 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つ  
30 たが低用量群で黒質緻密部のチロシン水酸化酵素及びドーパミンニューロン  
31 数が26%減少した。投与群の中脳の $\alpha$ -シヌクレイン量は、0.21 mg/kg 体重/日  
32 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  
33 なかった。免疫染色による黒質緻密部におけるリン酸化 $\alpha$ -シヌクレインは、  
34 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）  
35 した。脳幹及び皮質における $\alpha$ -シヌクレインタンパク質は、投与群で有意な増

1 加を示さなかった。中脳における $\alpha$ -シヌクレイン分解のCMA経路のLAMP-2A  
2 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、  
3 Hsc70は、投与による影響を示さなかった。腸管のリン酸化 $\alpha$ -シヌクレイン  
4 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  
5 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  
6 なかった。

7  
8 (ご提供文献No.3)

9 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  
10 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F<sub>0</sub>のOTAばく露は、  
11 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  
12 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  
13 験では、0又は3.0 mg/kg 飼料群のF<sub>1</sub>の生後14日における胃内容物OTA濃度は、  
14 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  
15 以後のF<sub>1</sub>（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  
16 飼育された。

17 F<sub>1</sub>28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。3.0  
18 mg/kg 飼料群のF<sub>1</sub>21日齢の雄の脳の相対重量が増加したが、F<sub>1</sub>77日齢の雌雄  
19 の脳重量は対照群との差を示さなかった。病理組織検査では、3.0 mg/kg 飼料  
20 群の母動物の腎臓の髄質外層外帯の近位尿細管上皮細胞に巨大核を観察した  
21 が、その変化は軽微であった。また、0.6及び3.0 mg/kg 飼料群の髄質外層外  
22 帯の近位尿細管上皮細胞に細胞質空胞変性を観察した。3.0 mg/kg 飼料群の  
23 F<sub>1</sub>21日齢の雄の脳で、顆粒細胞下帯におけるPAX6陽性細胞及びTBR2陽性細  
24 胞、歯状回門部におけるSST陽性ニューロン及びCHRN2陽性ニューロンが  
25 対照群に比較して減少した。3 mg/kg 飼料群のF<sub>1</sub>21日齢のSGZにおけるMDA  
26 陽性細胞は対照群に比較して増加した。3 mg/kg 飼料群のF<sub>1</sub>21日齢の雄の歯  
27 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  
28 に関連する遺伝子が増加した。3 mg/kg 飼料群F<sub>1</sub>において神経栄養因子及び  
29 神経栄養因子受容体遺伝子の*Bdnf*及びグルタミン酸受容体関連遺伝子の  
30 *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  
31 伝子の*Tph2*、*Htr1a*及び*Htr4*並びにDNA修復関連遺伝子の*Ogg1*、*Sirt1*及び  
32 *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  
33 *Chrn2*は、対照群と比較して減少した。