

OTAの安全性に係る知見概要(実験動物等における体内動態)

資料3-1

評価書2014(第1版)	評価書(第2版) 追加知見
微生物及び消化酵素により一部OT α に分解	Caco-2(ヒト結腸腺癌由来細胞)でOTB、OTAメチルエステル、OTAエチルエステル及びOTA-GSHに代謝。【No.183】 HK-2(ヒト腎臓由来細胞)及びマウスで第I相及びII相酵素のmRNA発現を誘導。【No.277】 ラット、ニワトリ、ブタ、ヤギ、ウシ及びヒトの肝ミクロソームでOTAの代謝物として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を同定。【No.592】
消化管:特に小腸から効率よく吸収	粘膜から基底膜移行はCaco-2(ヒト結腸腺癌由来細胞)よりもNCI-N87(ヒト胃由来細胞)で大。【No.475】
血漿中:アルブミン等のタンパク質と結合	
ラット:腎臓と肝臓において同程度又は肝臓よりも腎臓で高濃度に蓄積 ブタ:肝臓よりも腎臓で高濃度に蓄積	ラットの腎臓で有機アニオントランスポーターのうちOAT1及びOAT2が減少。【追加No.09】 マウスを用いた非アルコール性脂肪性肝炎モデルで腎臓のOATアイソフォーム発現が変化し、OTAの腎排泄が増加して腎臓へのばく露量減少。【No.234】 ラット腎臓でのトランスポーター解析の結果、近位尿細管基底側のSLC22ファミリー(OAT2、OAT5)が雄より雌で高発現。消化管での機能が知られるSLC01ファミリーのOATP1が雄のみで発現。OTAによるOATの発現低下は雄で遅発。ABCファミリーのBCRP1は、発現量及び時期に雌雄差有り。【No.389】
一部はCYPで酸化	
尿中及び糞中に排泄	ヨーグルトとコーンクッキーに混合したOTAのバイオアクセス可能画分のOTA含有量は72.4%であったが、バイオアクセス非可能画分をヒトの糞便に混合した結果、腸内細菌叢の構成が変化。【No.476】 マウスの糞便中の細菌叢変化。【No.226】 ラットの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。【No.190】
半減期	
乳(ラット、ウサギ、ウシ)、鶏卵(大量投与の場合)への移行	搾乳牛の乳、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び空腸から検出無し。【No.200】【No.630】
	尿中代謝物(D-グルコース、ミオイノシトール、ヘキサندیオイック酸、ペンタンディオイック酸)に変化【No.575】

OTAの安全性に係る知見概要(実験動物等における毒性:急性毒性～生殖発生毒性)

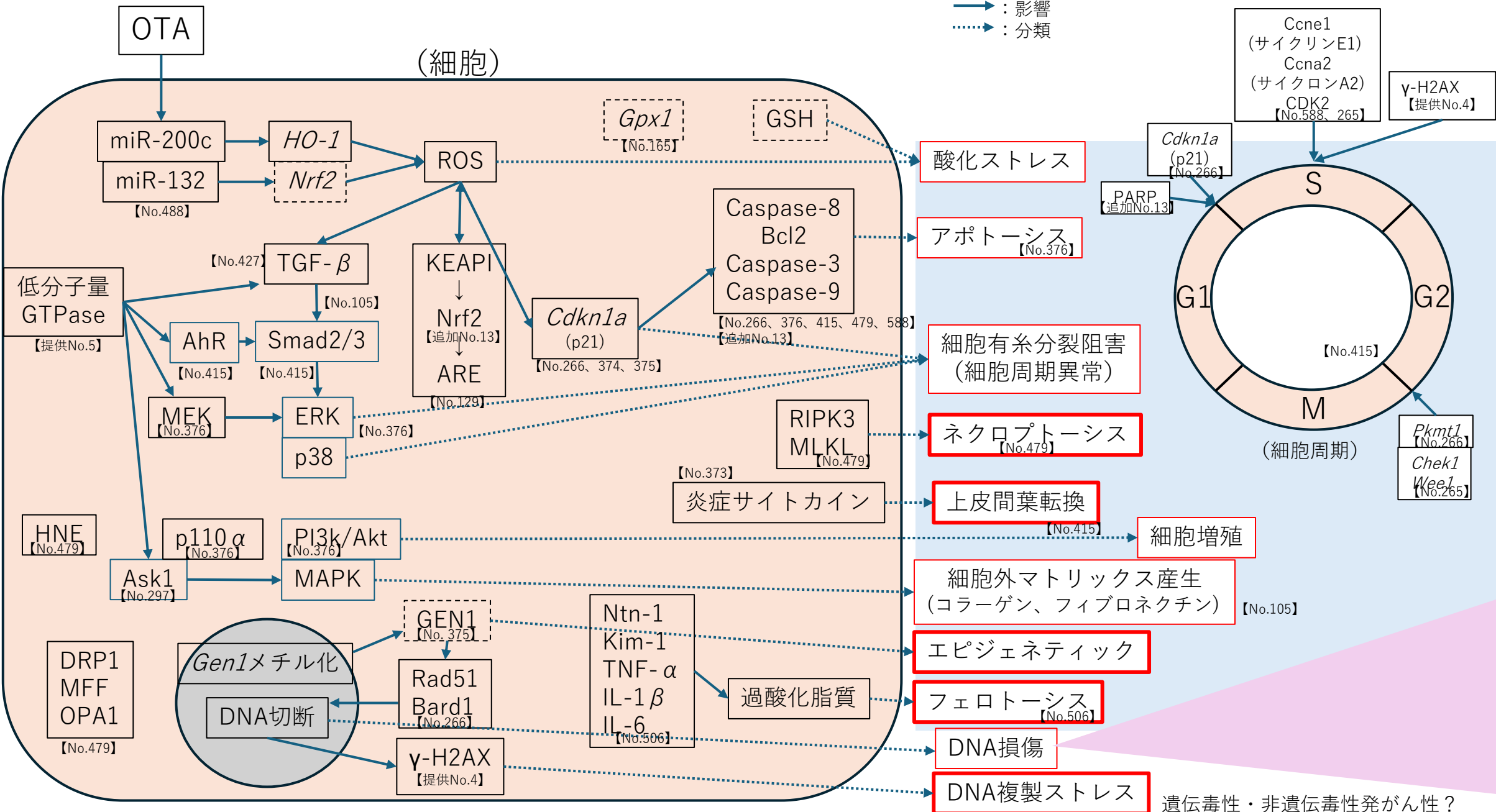
	評価書2014(第1版)	評価書(第2版) 追加知見
急性毒性	LD ₅₀ (経口投与) マウス:46~58 mg/kg 体重、ラット:20~30 mg/kg 体重、イヌ:0.2 mg/kg 体重、ブタ:1 mg/kg 体重	-
亜急性毒性	ブタ(LOAEL):0.008 mg/kg 体重/日相当 尿細管退行性変化 他(自然汚染大麦) ※非発がん毒性に係るTDI設定根拠	マウス(LOAEL) ・0.2 mg/kg体重/日:腎線維化 他【No.414】 ・3.5 mg/kg 体重/日:肝脂肪変性 他【No.161】/尿細管細胞変性 他【No.557】 ・5 mg/kg 体重/日:肺胞破裂 他【No.582】 マウス(NOAE) ・0.5 mg/kg 体重/日:近位尿細管上皮細胞剥離 他【No.479】 ラット(LOAEL) ・0.0089 mg/kg 体重/日相当:尿細管変性 他【No.048】 ラット(NOAE) ・1 mg/kg 体重/日:腎尿細管上皮細胞Kim-1増加 他【No.652】 ・0.0033 mg/kg 体重/日相当:血清Na減少 他【ご提供No.1】 ・0.025 mg/kg 体重/日:腎臓尿細管壊死 他【No.229】
慢性毒性・発がん性	ラット(NOAE):0.015 mg/kg 体重/日相当 腎臓腫瘍 他 ※発がん毒性に係るTDI設定根拠	悪性腫瘍:腎細胞がん 前がん病変:腎細胞腺腫 (腎臓腫瘍は雄の発生率が高い)
生殖発生毒性	ウサギ(LOAEL):0.10 mg/kg体重/日 胎児発育不良、催奇形性	In vitro ・1μM:羊卵丘膨化率低下 他【No.103】 ・10μM:マウス桑実胚の発育低下 他【No.216】 ・20μM:ブタ顆粒膜細胞のp53タンパク増加 他【No.622】 In vivo ラット:(LOAEL) ・0.0119 mg/kg 体重/日相当:F ₁ 雄の尿細管変性【No.048】 ラット:(NOAE) ・0.0056mg/kg体重/日相当:F ₁ 雌の多卵性卵胞数及び総卵胞数に対する割合上昇【ご提供No.1】

OTAの安全性に係る知見概要(実験動物等における毒性:神経毒性~遺伝毒性)

	評価書2014(第1版)		評価書(第2版) 追加知見	
神経毒性	ラット(LOAEL):0.070 mg/kg体重/日 脳白質の空胞形成		<i>In vitro</i> ・0.100 μM以上:SH-SY5Y細胞で6種のmiRNAが発現増加し4種のmiRNAが発現低下して、α-シヌクレインの半減期延長 他【No.227】 ・0.080 μM:Caco-2細胞でα-シヌクレインの半減期延長 他【No.227】 <i>In vivo</i> マウス(LOAEL) ・0.21 mg/kg 体重/日:中脳のCAM経路のLAMP-2A減少によるα-シヌクレイン量増加 他【No.227】 マウス(NOAEI) ・0.5 mg/kg 体重/日:体重増加抑制 他【No.227】 ラット(NOAEI) ・0.0393 mg/kg 体重/日相当(妊娠期間)、0.0760 mg/kg 体重/日相当(授乳期間):21日齢で、歯状回門部SST陽性ニューロン減少 他【ご提供No.3】	
免疫毒性	ラット(LOAEL):0.050 mg/kg 体重/日 免疫応答の抑制		<i>In vitro</i> ・ブタ肺胞マクロファージ由来の3D4/21細胞で1 mg/L:炎症サイトカイン増加 他【No.493】 ・ヒトCD4+Tリンパ腫由来細胞でOTA濃度及びばく露時間に依存してアポトーシス増加【No.094】	
遺伝毒性	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
	遺伝子突然変異 Ames試験:概ね陰性 染色体異常 染色体異常試験:陽性/陰性 小核試験:陽性 姉妹染色分体交換試験:陽性/陰性 DNA損傷/修復 Recアッセイ:陰性 SOS試験:陽性/陰性 DNA一本鎖切断:陽性/陰性 不定期DNA合成:陽性/陰性 コメットアッセイ:陽性/陰性	遺伝子突然変異 TGR遺伝子突然変異試験 gptアッセイ:陰性 Spi-アッセイ:陽性 染色体異常 小核試験:陽性 染色体異常試験:マウス陽性、ラット陰性 DNA損傷/修復 DNA一本鎖切断:陽性(脾・腎・肝) コメットアッセイ: 腎臓・肝臓(FPG法)陽性 脾臓(FPG法)陰性 腎臓・肝臓・脾臓(標準法)陽性	遺伝子突然変異 Ames試験:- 遺伝子突然変異試験:陽性 染色体異常 染色体異常試験:陽性 小核試験:陽性/陰性 DNA損傷/修復 コメットアッセイ: FPG法;陽性 標準法;陽性/陰性	遺伝子突然変異 TGR遺伝子突然変異試験 gptアッセイ:陰性 Spi-アッセイ:p53-/-、+/+:陽性/陰性 染色体異常 小核試験:陽性・陰性 DNA損傷/修復 コメットアッセイ: p53(gpt delta+/+,-/-)腎臓:陽性 肝臓(FPG法):陰性 肝臓(標準法):陽性/陰性 腎臓(FPG法):陽性 腎臓(標準法):陽性/陰性 リンパ球:陽性・陰性

OTAの腫瘍形成の機序等に係る仮説 (参考イメージ)

- : 増加又は活性化
- (点線) : 減少又は活性低下
- (実線) : 影響
- (点線) : 分類
- (赤) : 分類名 (太枠は第1版にはない新たな分類)



非遺伝毒性発がん性?

遺伝毒性発がん性?

遺伝毒性・非遺伝毒性発がん性?

OTAの安全性に係る知見概要(実験動物等における毒性:腫瘍形成の発現機序等)

		評価書2014 (第1版)	評価書 (第2版) 追加知見
遺伝毒性発がん性	DNA付加体	<ul style="list-style-type: none"> ・³²P-ポストラベル法にて陽性又は陰性結果。 ・OTAまたは代謝物のDNA付加体形成の直接証拠はない。 	
	代謝物	<ul style="list-style-type: none"> ・CYPによる4(R)-OH-OTA及び4(S)-OH-OTAの少量生成。CYP誘導により腎毒性は低減。 ・酸化的脱塩素反応によるキノン/ハイドロキノン形成の可能性。 	
	DNA損傷	<ul style="list-style-type: none"> ・トランスジェニックラットを用いたSpiアッセイにて発がん部位特異的にDNAの欠失変異。(gptアッセイは陰性) 	<ul style="list-style-type: none"> ・相同組換修復に関わる<i>Rad51</i>、<i>Rad54l</i>、<i>Bard1</i>、<i>Brip1</i>のmRNA発現増加によるDNA二本鎖切断修復。【No. 265,266】 ・<i>Polk</i> mRNA発現増加によるトランス損傷合成。【No.266】 ・γ-H2AX陽性小核陽性細胞が巨大核誘発に関連して増殖活性亢進を伴って増加。【No.374】
非遺伝毒性発がん性	酸化ストレス	<ul style="list-style-type: none"> ・酸化ストレスマーカー増加、過酸化水素生成、酸化的DNA損傷 ・酸化ストレス応答の抑制。 ・抗酸化物質によるDNA損傷、毒性軽減。 	<ul style="list-style-type: none"> ・Nrf2転写経路の抑制を介した抗酸化防御機構の抑制によるDNA損傷および小核形成の誘導【追加No.13】 ・miR-132発現増加によって<i>Nrf2</i> mRNA発現が減少し、抗酸化応答を抑制。【No.488】 ・miR-132とmiR-200c発現増加による線維化に寄与するTGF-β1とβ2のmRNA増加。【No.488】 ・miR-200c発現増加による<i>HO-1</i> mRNA発現が減少し、抗酸化応答を抑制。【No.488】 ・HK2細胞で<i>Gpx1</i> mRNA発現低下によってGSH減少し、酸化ストレス応答性増加。【No.165】 ・LLC-PK1細胞でG6PD mRNAと<i>Gpx1</i> mRNA発現低下による酸化ストレス応答性増加。【No.165】 ・酸化ストレス誘導を介してASK1を活性化し、アポトーシス及びG2/M期停止増加。【No.297】 ・AhR-HIF-1経路の活性化を介した、アポトーシスの誘導。【No.415】 ・AhR-Smad2/3経路の活性化を介した、E-カドヘリン及びフィブロネクチン発現増加による上皮間葉転換の誘導。【No.415】 ・AhR-Smad2/3経路の活性化を介したKIM-1発現増加による、近位尿細管損傷修復反応増加。【No.415】 ・フリーラジカル産生によるKEAP1/NRF2/ARE経路活性化ないしAREの活性化不全【No.129】

非遺伝毒性発がん性	細胞有糸分裂阻害	<ul style="list-style-type: none"> ・NFκB経路増加による有糸分裂傷害。 ・Chk-2リン酸化によるG2/M期の移行阻害。 ・Cdc25c及びCdc2リン酸化によるG2期遅延。 ・PLK1、AuroraB、Cdk1^{cdc2}、サイクリンE1、Topo II、サバイビン等過剰発現。 	<ul style="list-style-type: none"> ・ <i>Ccne1</i>, <i>Plk1</i>のmRNA発現増加によって、細胞周期進行。【No.266】 ・サイクリンA2、サイクリンE1、CDK2の発現低下によるS期停止。【No.588】 ・ <i>Ccna2</i>, <i>Cdk1</i>のmRNA発現増加によるS/G2期にある細胞の増加。【No.265】 ・ <i>Pkmyt1</i>, <i>Chek1</i>及び <i>Wee1</i>のmRNA発現増加によるG2/M期停止・減少。【No.265, 266】 ・ G0/G1期細胞とG2/M期細胞が減少し、S期細胞が増加。【No.588】 ・ p53依存的にp21タンパク質をコードする <i>Cdkn1a</i> のmRNA発現が増加して、G1/S期での細胞周期停止。【No.266】 ・ S期におけるDNA複製ストレス誘導によるγ-H2AX誘導。【提供No.4】
	その他	<ul style="list-style-type: none"> ・カルシウム恒常性維持、HNF4α、Nrf2の制御系遺伝子下方制御。 ・MAPK、各種キナーゼ活性化。 ・アポトーシス増加。 	<ul style="list-style-type: none"> ・ AhR-Smad2/3経路が活性化し、Caspase-3及びBax発現の増加によってアポトーシス増加。【No.266, 415, 479, 588】 ・ PARP切断によるアポトーシス増加。【追加No.13】 ・ Caspase-9タンパク質発現の増加によってアポトーシス促進。【追加No.13】 ・ MEK/ERK1/2活性化によってCaspase-3/7活性化およびMEK/ERK1/2経路活性化してアポトーシス、低二倍体細胞増加。【No.376】 ・ <i>Bax</i>, <i>Hrk</i>, <i>Bak1</i>, <i>Bbc3</i>, <i>Hrk</i>のmRNA発現増加によって、プロアポトーシス誘導【No.266】 ・ P110α増加によってPI3K/Akt経路を活性化し、抗アポトーシスする。【No.376】 ・ 低酸素誘導とそれに引き続くVEGF、TGF-β、EPOなどの成長因子遺伝子の発現亢進【No.427】 ・ 低分子量GTPase結合によって、各種伝達経路に影響。【提供No.5】
		評価書2014（第1版）	評価書（第2版）追加知見【抜粋】
追加分類	エピジェネティク		<ul style="list-style-type: none"> ・ Gen1の高メチル化によってGEN1減少し、DNA 2本鎖切断の相同組み換え修復抑制。【No.375】 ・ <i>Cplx</i>, <i>Mrps34</i>, <i>Mrpl54</i>, <i>Slc25a23</i>高メチル化によって発がん代謝リプログラミング。【No.373】 ・ <i>Cdkn1a</i>低メチル化によってp21^{WAF1/CIP1}増加し、巨大核細胞の生存ないしSASP誘導。【No.375】 ・ 尿中エクソソームによってP-Smad2及び3が増加し、TGF-β 1/Smad2/3が活性化し、フィブロネクチン及びコラーゲンが増加して腎線維化を誘導。【No.105】
	フェロトーシス		<ul style="list-style-type: none"> ・ FXRの発現を抑制し、脂質過酸化、フェロトーシス、および腎毒性を誘導。【No.506】
	ネクロプトーシス		<ul style="list-style-type: none"> ・ RIPK3, MLKLの発現増加によって、ネクロプトーシスを誘導。【No.479】

OTAによる腫瘍形成の機序等に関する ポイント

- DNA損傷に対するDNA修復酵素に影響
- 染色体異常及び小核誘発を確認
- 細胞周期に影響
- 酸化ストレスによる影響
- DNA付加体の存在は現時点で確認されず
- ラットの腎臓に遺伝子欠失変異を誘発