参考資料２

かび毒評価書

オクラトキシンＡ

２０１４年１月

食品安全委員会

目　次

頁
＜審議の経緯＞ 3
＜食品安全委員会委員名簿＞ 3
＜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＞ 4
要　約 6
Ⅰ. 背景 7
１.経緯 7
２.現行規制等 7
　1 国内規制等 7
　（２）諸外国等の規制又はガイドライン値 7
II. 評価対象物質の概要 9
１. 名称、分子式、分子量、構造式 9
２. 物理化学的特性 10
３. 産生生物 10
４. 発見の経緯 14
III. 安全性に係る知見の概要 15
１. 実験動物等における体内動態 15
　（１）吸収、分布、代謝、排泄 16
　① 消化管での代謝・変換 16
　② 吸収 17
　③ 分布 18
　④ 代謝 26
　⑤ 排泄 28
　（２）酵素及び他の生化学的パラメータへの影響 30
　（３）実験動物等における体内動態のまとめ 32
２. 実験動物等における毒性 33
　（１）急性毒性 33
　（２）亜急性毒性 34
　① マウス 39
　② ラット 39
　③ ニワトリ 42
　④ ウサギ 42
　⑤ イヌ 43
　⑥ ブタ 43
　（３）慢性毒性・発がん性 46
　① 44 週間発がん性試験（マウス、混餌投与） 47
　② 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与） 47
　③ 24 か月間発がん性試験（マウス、混餌投与） 48
　④ 13 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与） 50
　⑤ 9 か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与） 50
　⑥ 15 か月間発がん性試験（ラット、強制経口投与） 50
　⑦ 2 年間発がん性試験（ラット、強制経口投与） 51
　⑧ 90 日間発がん性試験（ラット、強制経口投与） 55

⑨ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与） 56
⑩ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与） 56
⑪ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与） 56
⑫ 2 年間発がん性試験（ブタ、混餌投与） 57
（４）生殖発生毒性 57
① マウス 59
② ラット 60
③ ウサギ 62
④ ウシ 62
（５）遺伝毒性 62
① 遺伝子突然変異 69
② 染色体異常試験及び小核試験 70
③ DNA 損傷及び修復 72
（６）その他（神経毒性、免疫毒性） 73
① 神経毒性 73
② 免疫毒性 74
（７）腫瘍形成の機序等 78
① OTA の腎毒性とトランスポーター 78
② OTA の発がん性メカニズム 79
（８）毒性試験のまとめ 94
３．ヒトにおける知見 96
（１）各国における 暴露量 96
① 血液中 OTA 濃度 96
② 尿中 OTA 濃度 98
③ 母乳中 OTA 濃度 99
④ OTA 暴露のバイオマーカー 101
⑤ OTA 暴露量の推定 101
（２）疫学研究 103
（３）ヒトにおける知見のまとめ 107
４．諸外国における評価 107
（１）FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA） 107
（２）国際がん研究機関（IARC） 108
（３）欧州食品安全機関（EFSA） 108
５．日本における暴露状況 109
（１）汚染実態 109
（２）暴露量の推定 112
（３）加工・調理による OTA の減衰 113
Ⅳ．食品健康影響評価 116
＜略称＞ 119
＜参照文献＞ 121
＜参考資料１＞ 158
＜参考資料２＞ 160

＜審議の経緯＞

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）

＜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

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

＜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
高鳥浩介（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	山﨑寛治
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
高鳥浩介（座長代理**）	長島裕二
荒川　修	伏谷伸宏
大島泰克	宮﨑　茂
川原信夫	矢部希見子
久米田裕子	山浦由郎
合田幸広	山﨑寛治
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***）	高鳥浩介
宮﨑　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	山﨑寛治
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

宮﨑　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	山﨑寛治
渋谷　淳	渡辺麻衣子

****2013 年 10 月 15 日から

＜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

要　約

食品安全委員会は、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。

評価に用いた試験成績は、体内動態、急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、発がん性、生殖発生毒性、遺伝毒性、神経毒性、免疫毒性等に関するものである。

OTA は、*A. ochraceus*、*P. verrucosum* 等の数種の菌によって主に貯蔵食物で産生されるかび毒で、穀類、コーヒー、ココア、ビール、ワイン等様々な食品で OTA による食品汚染が報告されている。

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腎毒性が認められた。腎臓髄質外層外帯の近位尿細管には、部位特異的に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。

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。

遺伝毒性試験では、*in vitro*及び*in vivo*においてOTAにより染色体異常が認められているが、遺伝子の点突然変異は検出されていない。

各種毒性試験について検討した結果、食品安全委員会は、OTA は DNA に間接的に作用する非遺伝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。

OTA の非発がん毒性について、各試験において最も低い用量で認められた影響は、ブタの 120 日間亜急性毒性試験における腎臓の尿濃縮能の低下及び尿細管上皮細胞の退行性変性であり、最小毒性量（LOAEL）は 8 μg/kg 体重/日であったことから、不確実係数 500（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）を適用して、TDI を 16 ng/kg 体重/日と設定した。

発がん性に関しては、発がん性に関する NOAEL を基に TDI を設定することとし、米国国家毒性プログラム（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（週 5 回投与、15 μg/kg 体重/日に相当）であったことから、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。

日本における暴露量を推計した結果、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。現状においては、OTA の暴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。

Ⅰ. 背景

1. 経緯

食品安全委員会は、リスク管理機関から依頼を受けて食品健康影響評価を行うほか、自らの判断で食品健康影響評価を行う役割を有している。

この候補案件については、国民の健康への影響が大きいと考えられるもの、危害要因等の把握の必要性が高いもの及び評価ニーズが特に高いと判断されるものの中から、食品健康影響評価の優先度が高いと考えられるものを企画等専門調査会が選定し、国民からの意見・情報の募集などを行った上で、食品安全委員会が決定している。

2009 年 3 月に食品安全委員会では、「オクラトキシン A」、「デオキシニバレノール及びニバレノール」及び「食品中のヒ素（有機ヒ素、無機ヒ素）」を、自ら食品健康影響評価を行う案件として決定し、「オクラトキシン A」及び「デオキシニバレノール及びニバレノール」については、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。

「オクラトキシン A」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）において「デオキシニバレノール及びニバレノール」の調査会での取りまとめが終了したことから、同専門調査会から審議を開始するに至った。

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オクラトキシン A（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は行われていない。

（2）諸外国等の規制又はガイドライン値

OTA のヒト暴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（オクラトキシン A、ゼアラレノン、フモニシン及びトリコテセン類に関する付属書を含む）」（CAC/RCP 51-2003）、「ワインのオクラトキシン A による汚染の防止及び低減に関する実施規範」(CAC/RCP 63-2007)、「コーヒーのオクラトキシン A による汚染の防止及び低減に関する実施規範」（CAC/RCP 69-2009）及び「ココアのオクラトキシン A による汚染の防止及び低減に関する実施規範」(2013) 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、穀類以外の食品についても基準値（EC 規則 No.1881-2006）が

設定されている （表 1)。(参照 2)

表 1　EU の OTA 基準値(EC Regulation No.1881/2006) (参照 2)

食　品	最大基準値 (μg/kg)
未加工穀類（コメ及びソバを含む)	5.0
穀類加工品(ベビーフード及び幼小児向け穀類加工食品､乳児向け医療用食品並びに小売以外の小麦グルテンを除く)	3.0
干しブドウ	10.0
焙煎したコーヒー豆及び粉　(水溶性コーヒーを除く)	5.0
水溶性コーヒー（インスタントコーヒー)	10.0
ワイン（15%以上のリキュール)、果実ワイン	2.0
アロマワイン、ワインベース飲料	2.0
ブドウジュース	2.0
ベビーフード及び幼小児向け穀類加工食品	0.50
乳児向け医療用食品	0.50
香辛料 コショウ類 ナツメグ ショウガ ターメリック	15
トウガラシ類 （唐辛子、唐辛子粉、カイエンペッパー、 パプリカ）	30 （2014 年 12 月 31 日まで） 15 （2015 年 1 月 1 日から）
上記香辛料を含む混合物	15
甘草 甘草根、お茶用等 甘草抽出液(飲料及び菓子類用)	 20 80

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-[[(3*R*)- 5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-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-[[(3*R*)- 5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-2-benzopyran-7-yl]carbonyl]-L-phenylalanine

IUPAC

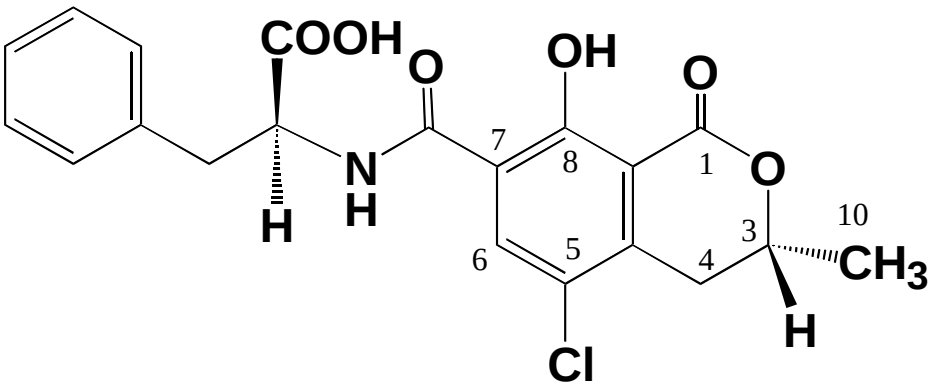
和　名：(2*S*)-2-[[(3*R*)-5-クロロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-3,4-ジヒドロイソクロメン-7-カルボニル]アミノ]-3-フェニルプロパン酸

英　名：(2*S*)-2-[[(3*R*)-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) 比旋光度：$[\alpha]^{2}_{D}{}^{1}$ －46.8° [c=2.65 mmol/L(1.07 g/L)クロロホルム溶液]

(d) 分光学データ：IR スペクトル、UV スペクトル、MS スペクトル及びプロトン核磁気共鳴（NMR）スペクトルの報告がある。

(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 pKa=7.1 である。(参照 3)

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）、オクラトキシンα（OTα）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。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* 節である *A. ochraceus*、*A. westerdijkiae* 及び *A. steynii*、*Flavi* 節である *A. alliaceus*、*Nigri* 節である *A. carbonarius*、*A. niger* 種複合体（特に *A. niger*、*A. tubingensis*）並びに *Penicillium* 属の *P. verrucosum* 及び *P. nordicum* 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。

これら *Aspergillus* 及び *Penicillium* に属する OTA 産生菌の分類については、それぞれ複雑な経緯を経て現在の種名に至っている。

Aspergillus 属 *Circumdati* 節については、まず南アフリカで *A. ochraceus* において OTA 産生能が確認された後、1972 年に米国 (参照 5)にて、当時知られていた *A. ochraceus* 菌群（*Circumdati* 節）の 9 種中 7 種（*A. ochraceus*、*A. melleus*、*A. ostianus*、*A. petrakii*、*A. sclerotiorum*、*A. sulphureus* 及び *A. alliaceus*）について OTA 産生能が報告されている。この 7 種のうち *A. alliaceus* については、その後に *A. flavus* などのアフラトキシン産生菌が所属する *Flavi* 節に移されている。なお、*A. melleus*、*A. ostianus* 及び *A. petrakii* の 3 種は、最近の検証で OTA 産生能を持たないことが確認されている。また、*A. sclerotiorum* 及び *A. sulphureus* については、食品での検出頻度がやや低く OTA の産生量も僅かであるため、食品中の OTA 汚染濃度への寄与が少な

いと考えられている(参照 6)。

生コーヒー豆の OTA 汚染に関与するとされる *A. westerdijkiae* 及び *A. steynii* はかつて *A. ochraceus* に含まれており、最近になって形態的な特徴の僅かな違いとともに、生育温度の差異によって、*A. ochraceus* と区別されるようになった(参照 6)。したがって、これまでの多くの OTA 自然汚染に関する報告では、*A. ochraceus* の種名の中に *A. westerdijkiae*、*A. steynii* が含まれている可能性がある。なお、南アフリカから報告された OTA 産生菌は、再同定された結果 *A. westerdijkiae* と一致したといわれている。日本では、アズキ及び唐辛子粉から分離した *A. ochraceus* から最初に OTA 産生が報告され(参照 7)、次いで、 国産米から分離した *A. ochraceus* について OTA 産生が認められている(参照 8, 9, 10)。

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 *P. viridicatum* の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、生育速度や集落の色調などの形質並びに OTA 及びシトリニンの産生性及び分離源（基質）から 3 群に分け、OTA とシトリニンを産生しない *P. viridicatum* I 型、OTA とシトリニンの産生を主とし穀類、豆類、種実類等の植物を基質とする菌群を *P. viridicatum* II 型、OTA のみの産生を主とし熟成ハムを基質とする菌群を *P. viridicatum* III 型と分類した(参照 12)。

1979 年になり、*P. viridicatum* III 型は *P. verrucosum* に移された(参照 13)。1987 年には、II 型についても *P. verrucosum* が正当名とされた(参照 14)。したがって、この段階では、OTA を産生する *P. viridicatum* は *P. verrucosum* に一括されることとなった。ところが、2001 年になり *P. verrucosum* の OTA 産生菌について、二次代謝物のプロフィールを基に再検討された結果、*P. viridicatum* II 型に相当する OTA･シトリニン産生菌を *P. verrucosum* のままとし、III 型に相当する OTA のみを産生する菌を別種の *P. nordicum* とすることとされた(参照 15)。なお、両種は酵母エキス･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* 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、生態的な違いを含めて、*P. verrucosum* は主に温帯地域の寒冷地で生産される穀類の OTA 汚染源であり、*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。*P. nordicum* は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)。YES 培地に 0～8%の塩を添加して OTA 産生を調べた結果、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* 等が汚染することが報告されている(参照 18, 19) 。

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 産生における高温と多湿環境の影響及び紫外線に対する強い抵抗性等の生理学的特性が共通している。したがって、しばしば汚染実態調査等においては、黒色コウジカビ菌群（black aspergilli）として扱われている。この菌種の中で、*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 年が最初であり(参照 20)、これ以降ブドウ、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るようになった。

2000 年以降、ワイン用ブドウ液及びワインの OTA 自然汚染に関連して、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* 菌株がいずれも強力な OTA 産生能を示した。(参照 21, 22, 23, 24, 25, 26)

一方、コーヒー作物では、南米、東南アジア及びアフリカの海抜 800 m 以下の熱帯地域で栽培されるロブスタ種に *A. carbonarius* の感染が報告されている。コーヒー果実での *A. carbonarius* 感染の気象条件は、高温と降雨による多湿にあり、同じ熱帯圏のコーヒー生産地でも海抜 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* 等の耐乾性菌が OTA 汚染の主原因となっている。しかしながら、ブドウ又はコーヒー栽培で OTA 産生菌が発生する地域であっても、穀類、トウモロコシ、種実類などの農作物では *A. carbonarius* の検出率が低く、OTA 汚染への関与は低い。(参照 27, 28, 29, 30, 31)

A. niger 種複合体（*A. niger* aggregate） は、*A. carbonarius* と共に熱帯圏のブドウ及び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、温帯にも広く分布しする。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。また、*A. niger* 種複合体には、*A. niger* のほか、*A. awamori*、*A. foetidus*、*A. tubingensis* 等が含まれる。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ため、これまでの OTA 汚染関連報告では、*A. niger* 種複合体として一括され、種複合体にまとめることは実用上差し支えないとの見解があった。しかし最近ではワイン用ブドウからの分離株の同定において遺伝的多様性による系統解析が導入され、*A. niger* と *A. tubingensis* を識別する調査結果も多数報告されている。(参照 24, 32, 33)

OTA 自然汚染に関して、*A. carbonarius* と *A. niger* 種複合体あるいは *A. tubingensis* のいずれが最も OTA 汚染濃度に寄与しているかを判定することは難しい。地中海沿岸の 6 か国のブドウ栽培における黒色コウジカビ菌群の分布とブドウの OTA 汚染との関連性を調査した結果から、次のような点が明らかになっている。

i) *A. niger* 種複合体は、ブドウ果実の成熟段階の全てにおいて主体となる菌群である。

ii) *A. carbonarius* の発生率は、*A. niger* 種複合体より 2～3 倍低く、成熟期から収穫期にかけて増加する。

iii) *A. carbonarius* の発生率は高温と降雨による湿度の増加といった条件に影響され、地理的分布を調べると、イスラエルからヨーロッパ南部のフランス、スペインに向かって発生が増加し、気象との相関がみられる。(参照 23, 26)

ブドウから分離された *A. carbonarius*、*A. tubingensis* 及び *A. niger* の OTA 産生を比較するために培養試験を行った結果では、*A. carbonarius* に短期間で大量の OTA を産生する菌株が非常に多く認められ、野外での検出率は *A. niger* 種複合体よりも低いが、*A. carbonarius* がブドウの OTA 汚染における主要な菌であった。(参照 23)

このほかに、*Nigri* 節には、*A. lacticoffeatus*、*A. sclerotioniger* 等の OTA 産生菌が知られているが、ブドウや生コーヒー豆中の OTA 汚染への関与についての十分な情報が得られていない。(参照 34)

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
Aspergillus 属		
Circumdati 節		
A. ochraceus	穀類、穀類加工品、トウモロコシ、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
A. westerdijkiae	コメ、コムギ、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
A. steynii	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
Flavi 節		
A. alliaceus[*1]	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

菌種	主な汚染食品	地理的分布
Aspergillus 属		
Nigri 節*2		
A. niger 種複合体*3	穀類、穀類加工品、トウモロコシ、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
A. carbonarius	穀類、トウモロコシ、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
Penicillium 属		
Viridicata 節		
P. verrucosum	穀類、穀類加工品、トウモロコシ、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
P. nordicum	コムギ、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

*1：完全時代は *Petromyses alliaceus*

*2：黒色コウジカビ菌群（black aspergilli）

*3：*A. niger* 種複合体には、*A. awamori* （*A. citricus*），*A. foetidus*, *A. niger*，*A. tubingensis* などが含まれる。

４．発見の経緯

OTA は、1960 年代の初めに南アフリカにおける病因不明の疾患に関する調査研究の過程において、毒素産生かびの探索中にトウモロコシから分離された *Aspergillus ochraceus*（2004 年に *A. westerdijkiae* と再同定）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)

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汚染例が報告された(参照 39, 40, 41)。

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発酵生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)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であると提唱されていた(参照 45, 46, 47, 48)。これらの状況から、これまでに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)。

III. 安全性に係る知見の概要

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。

１．実験動物等における体内動態

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 OTαに加水分解される(参照 4)。肝臓及び腎臓では、OTA は水酸化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るとする報告がある(参照 53, 54)。主な OTA の関連化合物を参考資料１に示した。

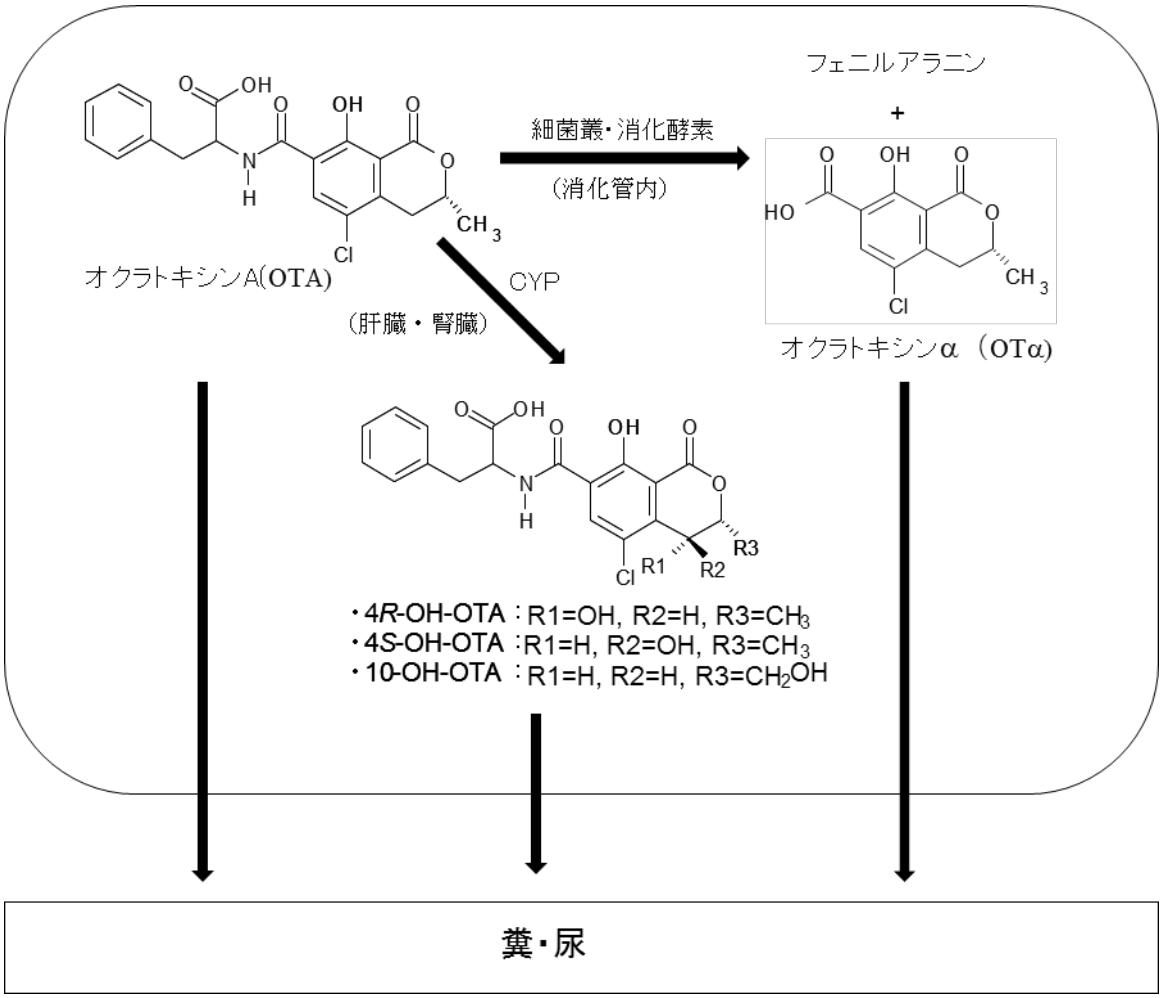


図 1　オクラトキシン A の主な代謝経路

（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、ラット腎臓(参照 55)、ラット肝臓(参照 57, 58)又はウサギ肝臓(参照 59, 60)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。

ddY マウス（雄、一群 5 匹）に 15mg/kg 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)

Sprague-Dawley ラット（雄、一群 12 匹）に、2.7 mg/kg 体重の[^{14}C]-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)

Sprague-Dawley ラット（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 68±6 μg 及び 41±6 μg であった。一方、ネオマイシン投与群では 111±14 μg 及び 21±2 μg 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)。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(雌雄及び頭数不明)に 5mg/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は、ウシ及びラットにおいて、膵液に含まれる酵素であるカルボキシペプチダーゼ A とキモトリプシンであるこ

とが示された (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

OTA の吸収部位を調べるために、Wistar ラット（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 の OTA 溶液を注入した。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, 70)

Wistar ラット（雄、匹数不明）の十二指腸内に 0.33mg/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)

Wistar ラット（雄、一群 15 匹）に 2 mg/kg の OTA を経口投与すると、胆汁中に OTA が認められた。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 投与後の胆汁を 24 時間採取し、別のラット（雄、一群 6 匹）の胃又は十二指腸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 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)

Swiss マウス（雄、一群 5 匹）に OTA の加水分解物であるフェニルアラニンを 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, 74)

b. バイオアベイラビリティ

ラットに 3.6 mg/匹（約 15 mg/kg 体重に相当）の[^{14}C] - OTA を経口投与した結果、バイオアベイラビリティ [1)] は 56%であった(参照 55)。ブタに 0.5 mg/kg 体重並びにウサギ及びニワトリに 2 mg/kg 体重の OTA 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)。コイ、日本ウズラ、NIH-Bethesda マウス（雄）、Wistar ラット（雄）及びサルに 50 ng/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)。

1) 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。

③ 分布

a. 血漿タンパク質との結合

OTA は吸収後、血液中で容易に血清アルブミンと結合し、未結合分画は、ヒト及びラットで 0.02%、サルで 0.08%、マウス及びブタで 0.1%、日本ウズラで 0.2%、コイで 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、ニワトリ及びラットの血清アルブミンに結合する OTA の結合定数は、それぞれ 7.1×10^4 mol^{-1}、5.1×10^4 mol^{-1} 及び 4.0×10^4 mol^{-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、長期間にわたって血液中へ放出される。(参照 74, 75)

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、アルブミン欠損ラット（雌、一群 3～4 匹）及びその野生型の Sprague-Dawley ラット（雌、一群 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 μg/ml 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 μg/ml 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)

Wistar ラット（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 体重投与群において LD_{50} 値が 33 から 21 mg/kg へと有意に減少した。(参照 79)

OTA と結合するヒト又はブタ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 2.3×10^{10} mol^{-1} であり、ブタ由来の未同定高分子が 0.59×10^{10} mol^{-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 ng/ml で飽和した。血漿中アルブミンは血漿中 OTA 濃度が数 100 μg/ml 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 83)
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、ニワトリでは 0.33 時間後(参照 75)、ラットでは 4～8 時間後(参照 55, 77)、ウサギでは 1 時間後(参照 75)、ブタでは 10 時間後 (参照 75)及び子ウシでは 2～4 時間後(参照 90)に認められた。また、ラットにおける腎臓、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)。

C57B1 マウス（雌雄、一群各 4 匹）に[^{14}C]-OTA を約 200 ng/g 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ー法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)

Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に[^{14}C]-OTA が 86 ng/g 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)

F344 ラット(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 時間後に OTA が血漿中に 14.0%、肝臓に 1.3%、腎臓に 0.3%認められた。肝臓及び腎臓では 88%以上が未代謝の OTA であった。(参照 94)

Swiss マウス（雄、一群 5 匹）に 0.11μg の[^{3}H]-OTA を含む 6.61μg 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[^{3}H]-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

チ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)

ICR Swiss マウス（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。集合管と髄放線に OTA は認められなかった。(参照 95)

Wistar ラット（雄、2 歳及び 6 週齢）に 0.5mg/kg 体重の OTA を一日一回 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 歳齢）では、腎臓の乳頭部並びに髄質内層及び皮質の OTA 濃度が高く、髄質外層の 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、次いで髄質内層であり、髄質外層及び皮質の濃度は低かった。(参照 96)

Wistar/AF EOPS ラット（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 146.1 μg/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±31.4ng/g 及び 73.7±31.3ng/g であった。(参照 97)

ブタ（4 週齢、交雑種去勢雄及び雌）に、OTA 汚染飼料（120 ng/g 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 ng/g 及び 1.02 ng/g と、肝臓よりも腎臓で高い傾向が認められた。(参照 98)

F344 ラット（雌雄、10 及び 15 週齢）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、両組織中の 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（Cmax）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。F344 ラット（雄、8 週齢、一群 10 匹）に OTA（0.5mg/kg 体重/日）を 7 又は 21 日間、一日一回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)。

F344 ラット（雌雄、一群各 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と殺し、血液、肝臓及び腎臓を採取し、HPLC 又は液体クロマグラフタンデム質量分析計（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 μmol/L、雌では 24 時間後に 6.0 μmol/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。OTαの血漿中濃度は 10～15 nmol/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 12 pmol/g 組織以下であった。腎臓の OTA 濃度は投与 24 時間後に、雄で 480 pmol/g 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（2 pmol/g）未満であった。OTαは肝臓及び腎臓中には認められなかった。(参照 86, 99)

F344 ラット（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/回（一週間に 5 回）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±0.8 nmol/ml、232.6±44.7 pmol/g 及び 245.0±44.7 pmol/g、2 週間投与後 72 時間目には、それぞれ 0.7±0.2 nmol/ml、42.3±29.4 pmol/g 及び 61.8±28.5 pmol/g 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±0.4 nmol/ml、271.9±92.9 pmol/g 及び 0.7±1.1 pmol/g 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)。

F344 ラット（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 50 μg/ml 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（285 μg/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 6～8 μg/ml と安定的に推移した。(参照 101)

F344 ラット（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ついて動態に基づく説明は難しいと考えられた。(参照 88)

Wistar ラット（雄、一群 4 匹）に、50、125、250 又は 500 μg/kg 体重の OTA が 1 日おきに 10 日間投与され、腎臓髄質外層外帯の近位尿細管（S3 セグメント）の尿細管上皮細胞刷子縁又は側底膜[2)]にある有機アニオン輸送システムへの影響が調べられた。S3 セグメントは、50 μg/kg 体重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、刷子縁に認められる有機アニオントランスポーターの OAT2 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、これらのタンパク質の発現は、OTA 投与により 250 μg/kg 体重までは増加し、500 μg/kg 体重では低下した。250 及び 500 μg/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かった。(参照 102)

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り低かった。(参照 103)

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 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 ng/g、腎臓に 283 ng/g 検出された。(参照 104)

ブタ（デンマークランドレース、雌、一群 5 頭）に 1 mg/kg 飼料及びニワトリに 0.3～1 mg/kg 飼料の OTA を混餌投与し、組織分布に関する結果をまとめたところ、組織中 OTA 濃度は腎臓＞肝臓＞筋肉＞脂肪組織の順(参照 105, 106)であり、ブタ（雌雄及び頭数不明）を用いた 6 週～3 か月の反復投与試験の結果では、腎臓＞筋肉＞肝臓＞脂肪組織の順であった(参照 89, 107)。

ブタ（雌雄不明、一群 10 頭）に 0、25、50、100 又は 200 μg/kg 飼料（それぞれ 0、0.9、1.7、3.4 又は 6.9 μg/kg 体重/日）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 が検出された。(参照 107)

---

2) 極性をもつ細胞の側面と底部側の細胞膜を併せた名称

ブタ（交雑種去勢雄及び雌、4 週齢、一群 24 頭）に、OTA 汚染飼料（120 ng/g 飼料）を 4 週間給与した後に腎臓及び肝臓各組織中 OTA 濃度を測定した結果、平均濃度は腎臓で 12.49 ng/g、肝臓で 1.02 ng/g と、肝臓よりも腎臓で高い傾向が認められた。(参照 98)

ウシ（ジャージー、雌、一群 1 頭）に 0.317～1.1 mg/kg 飼料の OTA を 11 週間経口投与した結果、一頭の腎臓に OTA が認められたが、筋肉、肝臓、血液及び尿において OTA は検出限界未満であった。(参照 108)

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[^{3}H]-OTA（0.14 MBq）がヒト（男性志願者、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[^{3}H]-OTA の 84.5%以上が血漿中に認められた。6 日後には血中の[^{3}H]-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（男女志願者、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 ng/ml 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 110, 111)

c. 卵、乳汁、胎盤及び胎児への移行

ニワトリ（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 [3]）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 週間混餌投与された。分析した卵の OTA 残留量は検出限界（0.05 μg/kg）未満であった。(参照 114)

日本ウズラ（産卵用、一群 5 羽）に [^{14}C]-OTA を 70 μg/kg 体重の用量で静脈内投与すると、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 時間後には卵アルブミン中に OTA が検出された。(参照 115)

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 μg/kg、20 mg/kg 体重投与で 34 μg/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 μg/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)

Sprague-Dawley ラット（雌、一群 4～5 匹）の授乳期に OTA を 10、50 又は 250 μg/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)

C57B1 マウス（雌、一群 2～4 匹）に 120～170 mg/kg の[^{14}C]-OTA を静脈内投与し、全身オートラジオグラフィー法による解析が行われた。[^{14}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た。OTA 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 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)

---

[3] 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)	摂取量(mg/kg 体重/日)
ヒナ鳥	0.04	50	0.125

妊娠 11 日目及び 13 日目 の Slc:ICR マウス（雌、一群 5～13 匹）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。母動物の血漿中及び臓器中の 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 時間では母動物血漿中濃度の 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)

Sprague-Dawley ラット（雌、一群 39 匹）に 0 又は 50 μg/kg 体重の 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 回、その後 3 週間に渡る授乳期に週 7 回強制経口投与され、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 に暴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暴露群、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暴露群及び OTA 投与群の母動物から産まれ、OTA 投与群の母動物に哺育された出生前後暴露群の 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±13 μg/L 及び 4.0±5 μg/kg、出生前暴露群でそれぞれ 130±14 μg/L 及び 42±7 μg/kg、出生後暴露群でそれぞれ 640 ±86 μg/L 及び 180±63 μg/kg であった。出生前後暴露群の児動物の OTA 濃度が最も高く、血漿及び腎臓における OTA 濃度は 860±100 μg/L 及び 240±52 μg/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)

妊娠 12 日目の Sprague-Dawley ラット（雌、一群 4 匹）に 2.5 mg/kg の [^{3}H]-OTA を皮下投与して各臓器への分布が調べられた。胎児において OTA は、投与 48～72 時間後に最高濃度が認められ、投与量の約 0.1%であった。(参照 85)

ウサギ（Blanc de Termonde、雌、一群 4 匹）に、190 ng/g 飼料（16 μg/kg 体重に相当）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(ng/L)	乳(ng/L)	腎臓(ng/kg)
母動物	3,144 ± 704	49 ± 11	1,241 ± 366
児動物	51 ± 24.8	－	41 ± 25.7

(参照 121)

ブタ（雌、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 0.04～0.06 μg/g 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、妊娠期間中に OTA が 7～16 μg/kg 体重/日で混餌投与されたブタ（デンマークランドレース、雌、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 193.1 μg/kg 飼料、ゼアラレノン 152.9 μg/kg 飼料）を摂取した雌ブタから胎児に 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 ng/ml であったが、児動物（6 頭）の出生時の血中濃度は 0.075～0.12 ng/ml 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と考えられており、ウシ（ジャージー、雌、一群 1 頭）に 0.317～1.1 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整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 及び質量分析器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。

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) 。

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)

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NMR及び質量分析計で確認された(参照 59)。反すう動物胃液中で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)。Wistarラット（雄、匹数不明）に50 ng/gのOTA又は53.5 ng/g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に変換されると考えられた(参照 132)。*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(参照 133)。

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[^{3}H]-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)

OTA を BALB/c マウス（雄、一群 5 匹）に 0.5、1.4、8 又は 20 μg/kg 体重/日の用量で 4 週間経口投与後、腎臓及び精巣における OTA 代謝物を HPLC で解析した結果、両臓器に共通に、OTB、OTHQ-GSH、OTA-GSH、OTα、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ことが報告されている。(参照 135)

⑤ 排泄

ラットの血中 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)。ddY マウス（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、OTαは1/4に減少した(参照 61) 。

Wistar ラット（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)

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 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)

Wistar ラット（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 OTαとして尿及び糞中に排泄された。相対的に OTA より OTαの排泄量が多かった。また、微量の OTαが胆汁から検出された。(参照 55)

Wistar ラット（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 OTα 、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)

アルビノラット（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、OTα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 OTαが検出された。(参照 136)

F344 ラット（雄、一群 4 匹）に 1 mg/kg 体重の[^{3}H]−OTA を経口投与した結果、24 時間の観察期間中、尿中に 14±1%及び糞中に 18.0±2.6%排出された。尿中には投与量の 85%の OTα及び 3.9%の OTA、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。糞中には OTA 及び OTαともに検出されなかった。(参照 94)

F344 ラット（雌雄、一群 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 OTα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 OTα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)

F344 ラット（雄、一群 3 匹）に 2 mg/kg 体重の OTA を 1 週間に 5 回、2 週間強制経口投与し、最終投与 24 時間後に採取した尿を LC-MS/MS で分析した結果、OTα、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（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 OTαとして排出され、OTα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 の平均の総体重当たりクリアランスは、0.22 ml/h/kg 体重であった。(参照 109)

ヒト（男性志願者、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}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、放射性物質の 14～20%が遊離 OTA よりも速く溶出され、これは OTA 代謝物又はグルクロン酸抱合体と考えられた。投与後 6 日間の観察期間中に投与量の

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（雌雄不明、一群 15 匹）に 100 μg/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シュリンの合成又は放出の阻害による糖分解、グリコーゲン生成の抑制並びに糖新生及びグリコーゲン分解の促進によると考えられた。(参照 141)

Sprague-Dawley ラット（雄、一群 5～6 匹）に OTA を 10 mg/kg 体重の単回又は 0.5～2 mg/kg 体重で 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に増加が認められた。4 mg/kg 体重で 4 日間投与した群ではカルシウムポンプ活性は低下した。(参照 142)

ブタ腎臓皮質細胞を用いて OTA によるタンパク質、RNA 及び DNA の生合成阻害を調べた結果、OTA によるこれらの高分子化合物生合成の阻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阻害、150 分後に RNA 合成阻害が認められた。OTA 添加後 5 時間の間に、DNA の合成阻害は認められなかった。この結果より、OTA のタンパク質合成阻害に伴って RNA の合成が阻害されることが確認された。(参照 144)

Balb-c マウス（雌雄不明、一群 15 匹）に 1 mg/kg 体重又はそれ以上の 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阻害が認められた。1 mg/kg 体重の OTA 投与 5 時間後のタンパク質合成阻害の程度は、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 のタンパク質合成阻害は 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阻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有する 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、ddY マウス（雄、一群 7～10 匹）における OTA の経口投与による LD_{50} 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 LD_{50} は 71 mg/kg 体重となった(参照 61)。また、Swiss マウス（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*R*-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解酵素に対する IC_{50} は、0.43 mmol/L であった。OTα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。Wistar ラット（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)

ブタの腎臓皮質組織片を、OTA とシトリニン（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[^{3}H]-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)

Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に OTA を 289 μg/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γGT 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* においてイヌ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）実験動物等における体内動態のまとめ

OTA は、消化管内微生物及び消化酵素によって一部 OTαに分解される。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 OTαに分解される。OTA は消化管のうち、特に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、豚においては肝臓よりも腎臓の方が高い値であった。OTA の一部は、腎臓及び肝臓で CYP により酸化されるが、OTα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。

乳への移行は、ラット、ウサギ及びウシで確認されている。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

各動物種と各暴露経路における LD_{50} 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 LD_{50} 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)

Long-Evans ラットと Sprague-Dawley ラット（雄、一群 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)。

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 LD_{50} 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 LD_{50} 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

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	LOAEL 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、1.5~1.7、3~3.3	▪ 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。 ▪ 精巣内酵素活性の低下。	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 [4]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	
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	▪ 腎臓皮質におけるピ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、1~5 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、56~84 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)

[4] 上皮とそれを裏打ちする組織との間にある膜構造

動物種等(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	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ラット、F344、雄(3)	経口、14 日、週 5 回		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。 ・トリメチルアミン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)
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、肉用鶏、雌雄(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。 ・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、肉用鶏(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、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)

動物種等(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	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ウサギ、New Zealand White 、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、微繊毛の萎縮、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。	0.75			(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(8)	経口、5~6 日		0、1	・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、ランドレース、雌(9)	混餌、3~4 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	LOAEL mg/kg 体重	NOAEL mg/kg 体重	備考	参照
		mg/kg 飼料	mg/kg 体重/日					
ブタ、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、25、32、又は 50 kg、雌雄不明（10 又は 12）	混餌、～8 週、又は 70~90 kg まで	0、1.38 又は 2.33	0、0.0552、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、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、0.2、1	0.008、0.04	・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、ランドレース、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、ランドレースとブルガリアンホワイトの交雑種 雌雄（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、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、雌雄	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。				(参照 186)

(*)JECFA 換算

① マウス

Swiss マウス（雄、一群 10 匹）に 0、50 又は 100 μg /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

Wistar ラット（雄、一群 10 匹）に 0、2.4、4.8、9.6 又は 24 mg/kg 飼料/日（0、0.24、0.48、0.96 又は 2.4 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）の粗精製 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/日以上の投与群で、体重増加の抑制及び飼料摂餌量の減少が認められた。24 mg/kg 飼料/日投与群では、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細胞肥大が認められた。24 mg/kg 飼料/日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)

Wistar ラット（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 を含む半精製飼料を離乳後から 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)

Wistar ラット（雄、一群 5 匹）に 3 日間 0、5 又は 15 mg/kg 体重/日の OTA が経口投与され、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)

Wistar ラット（雄、一群 10 匹）に OTA を 0、0.5、1 又は 2 mg /kg 体重で 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 体重の OTA 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)

Sprague-Dawley ラット（雄、一群 4～6 匹）に 0 又は 2 mg/kg 体重/日の OTA が 2～5 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 55%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。また、Sprague-Dawley ラット（雄、一群 6 匹）に 3~5 日間 OTA を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 164, 165, 166)

Wistar ラット（雄、一群 3 匹）に 0 又は 2 mg/kg 飼料（0 又は 145 μg/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γGT 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γGT 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)

F344 ラット（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)

Wistar ラット（雄、一群 5 匹）に 0 又は 0.2 mg/kg 体重の 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)

Wistar ラット（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 [5)]）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に減少した。(参照 170)

[5)] 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)	摂取量(mg/kg 体重/日)
ラット	0.1	10	0.100

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。肝臓や前胃、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（肉用鶏、雌雄、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（肉用鶏、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、γGT 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（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

New Zealand White ウサギ（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 [6)]）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)

New Zealand White ウサギ（雄、一群 8 匹）に OTA を 0 又は 1 mg/kg 飼

6) 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)	摂取量(mg/kg 体重/日)
ウサギ	2.0	60	0.030

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

ビーグル犬（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)

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（雌、一群 8 頭）に 1 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（ランドレース、雌、一群 6～11 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、シトリニン、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、8、40 又は 160 μg/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 20kg から 90kg 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 の OTA 汚染飼料を給与した各群における給与期間中の体重当たり一日 OTA 投与量は、それぞれ 7.2～8.6 μg/kg、36.2～43.3 μg/kg 又は 145.0～173.6 μg/kg 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、160 μg/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、40 及び 160 μg/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 8 μg/kg 体重/日投与群から PAH の尿細管最大排泄量（Tm_{PAH}）及び Tm_{PAH} 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。40 μg/kg 体重/日以上の OTA 投与群で GLDH 活性の有意な減少及び 160 μg/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。8 μg/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 40 μg/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、160 μg/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 8 μg/kg 体重/日の OTA 投与群の 9 匹中 4 匹及び 40 μg/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。40 及び 160 μg/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、8 μg/kg 体重/日が当該試験の LOAEL と判断された。

ブタ（25、32 又は 50 kg のブタ、雌雄不明、一群 10 又は 12 頭）に自然汚染大麦を用いて 25 kg のブタには 0 又は 1.38 mg/kg 飼料（0.0552 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算 [7)]）を 8 週間、その他のブタにはそれぞれ 70 又は 90 kg になるまで 0 又は 2.33 mg/kg 飼料（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、

[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)	摂取量(mg/kg 体重/日)
ブタ	60	2,400	0.040

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（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（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（種及び雌雄不明、一群 6 頭）に 0、0.2 又は 1 mg/kg 飼料（0、0.008 又は 0.04 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 及びγGT 活性の減少が認められた。(参照 183)

ブタ（ランドレース、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 T_{mPAH} の有意な減少、T_{mPAH}/C_{ln} 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阻害が認められた。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)。

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 0、90、130 又は 180 μg/kg 飼料（0、3.6、5.2 又は 7.2 μg/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、130、305 又は 790 μg/kg 飼料の OTA を投与する反復投与毒性試験が実施された。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 790 μg/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）慢性毒性・発がん性

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	参照文献
		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	40	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 50)	混餌、24 か月	1、40	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)	強制経口、9 か月、15 か月、2 年、週 5 回		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	参照文献
		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	混餌、3、6 又は 9 か月投与後 2 年まで観察及び年間投与。	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 mg/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､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）

ddY マウス（雄、一群 10 匹）に 0 又は 40 mg/kg（約 5.6 mg/kg 体重/日に相当 : JECFA 換算）の OTA を含む飼料を 44 週間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かった。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かった(参照 74) 。

② 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）

同じ研究室で更に 2 種類の反復投与毒性試験が実施された。DDD マウス

（6 週齢雄、一群 20 匹）に 25 mg/kg の OTA を含む飼料（約 3.5 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）が 70 週間投与された結果、OTA 投与マウス 20 匹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。ddY マウス（雄、一群 16 匹）を用いた 70 週間の毒性試験では、50 mg/kg の OTA（約 7 mg/kg 体重/日に相当：JECFA 換算）を含む飼料が 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 ddy 雄マウスの腫瘍発生頻度

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、異型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）

B6C3F1 マウス（雌雄、離乳後、一群各 45～50 匹）に 0、1 又は 40 mg/kg

の OTA を含む飼料（0、0.15 又は 6 mg/kg 体重/日：事務局換算[8)]）を 24 か月間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腺腫と主に尿細管上皮細胞に悪性のがんが認められ、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。良性の腺腫が発生した 26 匹中 9 匹に悪性のがんが認められた。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 B6C3F1 マウスの腫瘍発生頻度

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
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

8) 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)	摂取量(mg/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	0.150

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)。

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、骨髄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、皮質内帯及び髄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)

⑦ 2 年間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

F344/N ラット（雌雄、一群各 50 匹）に、0、21、70 又は 210 μg/kg 体重の OTA（純度 98%）を一週間に 5 回の頻度で 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。210 μg/kg 体重の 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。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。0、21、70 及び 210 μg/kg 体重の OTA 投与群で、雄における腎細胞腺腫の発生頻度は 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、0/50（0%）、0/51（0%）、16/51（31%）及び 30/50（60%）であった。70 及び 210 μg/kg 体重の 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。210 μg/kg 体重の 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、210 μg/kg 体重投与群では有意に増加した（0、21、70 又は 210 μg/kg 体重の OTA 投与群で、それぞれ 7、19、23 又は 26 匹）。70 及び 210 μg/kg 体重の 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 70 及び 210 μg/kg 体重投与でそれぞれ 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 21 μg/kg 体重投与した群の雄ラットでは、生存率の減少が OTA を 70 又は 210 μg/kg 体重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。雌では、腎細胞腺腫と腎細胞癌の合計頻度は、0、21、70 及び 210 μg/kg 体重の OTA 投与群で、それぞれ 0/51（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 210 μg/kg 体重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、70 及び 210 μg/kg 体重の 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、21、70 及び 210 μg /kg 体重の OTA 投与群でそれぞれ 0/50、1/50 及び 3/50 であった。腎臓腺腫は、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腺腫は 70 及び 210 μg/kg 体重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、髄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 週間試験において髄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関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。髄質外層外帯に関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 B_1 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 21 μg/kg 体重、LOAEL は 70 μg/kg 体重であった。

表１０　雄のマウスと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 (μg/kg 体重)	NOAEL (μg/kg 体重)
ラット(雄)[a]	近位尿細管細胞の巨大核	90 日間	62.5	設定せず
		9 及び 15 か月間	70	21
	腎臓腫瘍	2 年間	70	21

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 に暴露した雄ラットにおける巨大核の発生頻度

OTA 投与量 (μg/kg 体重)[a]	0	21	70	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 に暴露した雄ラットにおける腎臓腫瘍の発生頻度

OTA 投与量 (μg/kg 体重/日)[a]	0	21	70	210
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[9]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 ソフトウェア 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 BMD_{10} とその 95%信頼下限値である $BMDL_{10}$ 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 BMD_{10} と $BMDL_{10}$ 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 BMD_{10} 値は 18～33 μg/kg 体重/日、$BMDL_{10}$ 値は 15 ～ 25 μg/kg 体重/日の範囲であった。適合したモデル[10] の BMD_{10} 値は 30 μg/kg 体重/日付近、$BMDL_{10}$ 値は 25 μg/kg 体重/日であった。したがって、求められた $BMDL_{10}$ 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、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１３　NTP の試験からの雄 F344 ラットにおける腎臓腫瘍発生頻度に基づく BMD_{10} 及び $BMDL_{10}$ 算出（JECFA）

モデル	対数(尤度)	p-値	AIC	χ^2	P-値	BMD_{10} μg/kg 体重/日	$BMDL_{10}$ μg/kg 体重/日
Full model	-71.61						
Gamma multi-hit	-76.36	0.02	158.7	4.91	0.03	30	18
Log-logistic	-75.57	0.05	157.1	3.46	0.06	32	21
Multistage	-77.29	0.01	160.6	5.96	0.01	24	15
Log-probit	-75.05	0.09	156.1	2.64	0.1	33	25
Quantal-linear	-77.74	0.02	159.5	5.99	0.05	18	15
Weibull	-76.68	0.01	159.4	5.27	0.02	28	17
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)

[9] 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。

[10] 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、X^2 値が小さいほどモデルの適合度が良好と考えられる。

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 ソフトウェア ver.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 $BMDL_{10}$ を算出したのは、LogProbit（Restriction : off）モデルとなり、BMD_{10} は 23.7 μg/kg 体重/日、$BMDL_{10}$ は 16.1 μg/kg 体重/日であった（表 14）

表１４　NTP の試験からの雄 F344 ラットにおける腎臓腫瘍発生頻度に基づく BMD_{10} 及び $BMDL_{10}$ 算出（食品安全委員会）

モデル	Power parameter	Slope parameter	AIC	p 値	許容	BMD_{10} μg/kg 体重/日	$BMDL_{10}$ μg/kg 体重/日
Gamma	restricted		158.866	0.0253		22.1248	13.0134
	unrestricted		158.866	0.0253		22.1248	13.0134
Logistic		not restricted	168.437	0.0003		37.4076	30.6388
LogLogistic	restricted	restricted	157.279	0.05972		2.7799	14.8076
	unrestricted	restricted	157.279	1.1597		22.7799	14.8076
LogProbit	restricted	restricted	156.201	0.1004	OK	23.7466	18.1891
	unrestricted	not restricted	156.201	0.1004	OK	23.7466	16.092
Multistage	restricted(2)		160.789	0.0135		17.4057	11.0617
	restricted(3)		160.789	0.0135		17.4057	11.0617
	Unrestricted(2)		160.789	0.0135		17.4057	10.5968
	Unrestricted(3)		155.253			27.1372	20.7351
Probit		not restricted	166.647	0.0005		35.1238	29.1336
Weibull	restricted		159.52	0.0203		20.4683	12.051
	not restricted		159.52	0.0203		20.4684	12.0357
Quantal-linear			159.753	0.0464		13.2651	10.5944

⑧ 90 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、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、その範囲は髄放線から髄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)

⑨ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

Dark Agouti ラット（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。ペニシリン酸とシトリニンは含まず。）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が、9 か月投与群では 20 匹中 4 匹の片側の腎臓にがんが認められた。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 50 μg/kg 体重/日から始まり、成体後期では 20～30 μg/kg 体重/日であった。(参照 193)

⑩ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

F344 ラット（雄、一群 64 匹）に体重が 333 g になるまでは 300 μg/kg 体重/日、その後は 100 μg/匹/日の用量で 2 年間 OTA（OTB を OTA の 5～10%含む。ペニシリン酸とシトリニンは含まず。）が混餌投与された。最後の 18 か月は、血中 OTA 濃度は 8 μg/ml 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 193, 194, 199)

⑪ 2 年間発がん性試験（ラット、混餌投与）

F344 ラット（一群 34 匹）に 2 年間 OTA（OTB を 5～10%含む。ペニシリン酸とシトリニンは含まず。）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)

⑫ 2 年間発がん性試験（ブタ、混餌投与）

ブタ（雌、一群 3 頭）に 1 mg/kg 飼料/日の OTA（25～50 mg/kg 体重/日に相当、EFSA の評価(参照 200)では 40 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）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)	参照文献
		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		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、混餌、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	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 (NaHCO3 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)	参照文献
		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。	4		(参照 205)
ラット、Wistar、妊娠	発生毒性、強制経口、妊娠 8～15 日		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		0.25、0.50、0.75、1、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)	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γGT 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		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		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、妊娠 6～15 日		0、2.0、2.5、2.75、3.0、3.5、4.0	・外水頭症、頭蓋骨不完全閉鎖、臍帯ヘルニア、内水頭症、小眼症、腎盂拡張、腎臓形成不全。	2.75		(参照 211)
ウサギ New Zealand White、妊娠(5)	発生毒性、強制経口、妊娠 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)

① マウス

妊娠 8 又は 9 日目（膣栓形成を 1 日目とする。以下同じ。）の CBA マウス（一群 10 匹）にコーン油に溶解した OTA が 0、1、2 又は 4 mg/kg 体重で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)

CD-1 マウス（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。妊娠 8 日目に、0、2 又は 3 mg/kg 体重の OTA を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 OTA 投与により主に唇顎口蓋裂及び骨格異常がみられ、4%のタンパク質食摂取群では四肢及び尾に外見の奇形が認められた。(参照 202)

妊娠 10 日目の ICR マウスに 3 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与した結

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少なく、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 に暴露された群では、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 日に 2 mg/kg 体重の OTA を腹腔内投与した結果、神経管欠損の発生頻度は 51.6 %に増加した。(参照 204)

② ラット

Sprague-Dawley 妊娠ラット（一群 10 匹） に 0.25、0.50、0.75、1、2、4 又は 8 mg/kg 体重の用量で、妊娠 6～15 日目まで毎日 OTA が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 又は 8 mg/kg 体重の OTA 投与群では、それぞれ母動物 1 匹又は 10 匹が死亡し、胚は吸収されていた。1 又は 2 mg/kg の OTA 投与では、母動物に毒性兆候は見られなかったが、胚は吸収された。0.25、0.50 又は 0.75 mg/kg の OTA 投与では、妊娠 20 日目に 0.75 mg/kg 投与群の母動物で胎児の吸収率が増加した。0.25、0.50 又は 0.75 mg/kg 投与群の母動物から得た妊娠 20 日目の胎児は全てコントロールより体重が低かった。0.75 又は 1.0 mg/kg 投与群の母動物から得た胎児は発育不良で、鼻の変形は、それぞれ 96 匹中 5 匹又は 28 匹中 16 匹に認められた。1.0 mg/kg 投与では全てが開眼していた。その他の主な変化としては、0.25 mg/kg 以上の OTA 投与量で用量依存的な肋骨の湾曲及び胸骨分節の形成不全がみられた。(参照 207)

Wistar ラット（雄、一群 5 匹）に 289 mg/kg 体重の用量で 2、4、6 又は 8 週間 OTA が 48 時間毎に強制経口投与された。精巣内のα-アミラーゼ、ALP 及びγGT 活性が増加し、精子形成不全が認められた。(参照 208)

妊娠 6～15 日目の Wistar ラット（一群 12～20 匹）の 5 群に、0.16 mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液として、総量 5 mg/kg 体重の OTA が強制経口投与された。各群の詳細は、妊娠 8 及び 9 日目に 2.5 mg/kg 体重/日の OTA 投与群、妊娠 8～11 日目に 1.25 mg/kg 体重/日の OTA 投与群、妊娠 8～13 日目に 0.83 mg/kg 体重/日の OTA 投与群、妊娠 8～15 日目に 0.63 mg/kg 体重/日の OTA 投与群並びに OTA 非投与の対照群であった。同様の方法で、ラット（一群 20 匹）に妊娠 8 及び 9 日目に 2.5 mg/kg 体重の OTA を単回経口投与、並びに妊娠 8、9 及び 10 日目に 1.67 mg/kg 体重の OTA を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、一日の用量に依存する増加がみられ、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に用量依存性が認められた。1.2 mg/kg 体重/日投与以上の投与群で、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) 。同じグループで、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実施された。用量に依存した減少が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。同じ群で、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)

妊娠 6～15 日目の Sprague-Dawley ラット（一群 6～9 匹）に OTA を 0 又は 1 mg/kg 体重/日で経口投与し、妊娠 20 日目にと殺して母動物と胎児が観察された。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 の暴露を受けた胎児には、頭蓋骨の骨化不全、胸骨欠損又は尾椎欠損がそれぞれ 30 匹中 6 匹（20%）、4 匹（13.3%）又は 2 匹（6.7%）認められた。腎臓又は肺の奇形がそれぞれ 15 匹中 6 匹（40%）又は 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)

妊娠 6～15 日目の Wistar ラット（一群 10 匹）に OTA を 0、0.125、0.25、0.50 又は 0.75 mg/kg 体重/日で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/日以上の OTA 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/日の OTA 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/日以上の OTA 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、全ての OTA 投与群において用量に依存して増加し、OTA 0.5 mg/kg 体重/日の用量以上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/日以上の OTA を投与された母動物の胎児に、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)

妊娠 6～15 日の Wistar ラット(一群 10 匹)に 0、2.0、2.5、2.75、3.0、3.5 又は 4.0 mg/kg 体重/日の OTA が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/日以上の用量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

妊娠 6～18 日目の New Zealand White ウサギ（一群 5 匹）に 0.025、0.05 又は 0.10 mg/kg 体重/日の OTA を経口投与する発生毒性試験が実施された。0.10 mg/kg 体重/日投与群で、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

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 が胃内投与された。流産又は胎児死亡はみられなかった。(参照 125)

（５）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　細菌を用いた突然変異試験

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			年	参照文献
			活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA1535	0.1、1、10、100 μg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	−	−	1978	(参照 214)
	TA100			−	−		
	TA1537			−	−		
	TA98			−	−		
復帰突然変異	TA1535	0.5、5、50、500 μg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	−	−	1980	(参照 215)
	TA1537			−	−		
	TA1538			−	−		
復帰突然変異	TA1535	50、100、200、400、600 μg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	−	−	1985	(参照 216)
	TA100			−	−		
	TA1538			−	−		
	TA1537			−	−		
	TA98			−	−		
復帰突然変異	TA1535	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)
	TA100			−	−		
	TA98			−	−		
	TA97			−	−		
復帰突然変異	TA102,	37、111.1、333.3、991.2 μg/プレート	ラット肝臓 S9 mix	−	−	1991	(参照 217)

試験	生物種	OTA 濃度	代謝活性化			年	参照文献
			活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA1535	0.2 μM/2ml	OTA をラット初代培養肝細胞と培養した調整培地、2 時間	n.d.	+	1991	(参照 218)
	TA100	0.2 μM/2ml		n.d.	+		
	TA1538	0.2 μM/2ml		n.d.	+		
	TA1537	0.2 μM/2ml		n.d.	−		
	TA98	0.2 μM/2ml		n.d.	−		
復帰突然変異	TA1535	0、121、403、1210 μg/プレート（0、0.3、1、3 mM/プレート）	マウス腎臓 S9＋アラキドン酸で陽性。	−	+	1999	(参照 130)
	TA1538		マウス腎臓 S9＋アラキドン酸で用量依存的に陽性。	−	+		
	TA98		マウス肝臓 S9＋アラキドン酸で用量依存的に陽性。	−	+		
復帰突然変異	TA100	10～200 mg/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)
	TA2638			−	−		
復帰突然変異	TA100	2.5、5、10、25、50 mM/L	ヒト肝臓がん由来 HepG2 細胞 S9mix	−	−	2002	(参照 219)
	TA98			−	−		
復帰突然変異	TA100	0.01、0.04、0.05、0.1、0.2、0.25、0.5 mM/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(参照 220)と同じ条件）	−	−	2003	(参照 221)
	TA102			−	−		
	TA104			−	−		
	TA1538			−	−		
	TA1537			−	−		
	TA98			−	−		
	TA1535			−	−		
	TA97a			−	−		
復帰突然変異	*Escherichia coli* WP2	0.1～1000 mg/ml	ラット肝臓 S9 mix	−	−	1985	(参照 216)
	WP2*uvrA*-	0.1～1000 mg/ml	ラット肝臓 S9 mix	−	−		
復帰突然変異	*S. cerevisiae D3*	0.1~100 mg/plate	ラット肝臓　S9 mix	−	−	1978	(参照 214)

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	生物種	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			
復帰突然変異	C3H マウス乳腺細胞	5、10 mg/ml		−	n.d.	・pSV.SPORTlacZ を用いた復帰突然変異試験。	1977	(参照 222)
前進突然変異	マウス L5178Y TK+/-	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10、12.5 mg/ml	ラット肝臓 S9 mix	−	−	・25 mg/ml 以上は細胞毒性。	1985	(参照 216)

試験	生物種	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			
遺伝子変異	マウス胎児線維芽細胞由来 NIH/3T3(ヒト CYP 発現)	2、10、50、100 mg/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)
前進突然変異（HPRT 突然変異アッセイ）	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 mM	ラット肝臓 S9 mix	－	－		2003	(参照 221)
前進突然変異（HPRT 突然変異アッセイ）	チャイニーズハムスター V79 細胞	35、80、187、483 mM（3 時間）	ラット肝臓及び腎臓 S9 mix	(+)	(+)	・用量相関性はない弱い染色体異常。 ・代謝は関係なし。	2007	(参照 224)
前進突然変異（マイクロタイター法)	マウスリンフォーマ LY5178/TK+	3、81、188、438 mM（3 時間）	ラット腎臓 S9 mix	(+)	(+)	・81 mM 以上（－S9）又は 3～188 mM（＋S9）で弱い染色体異常。		

n.d.:データ無し

表１６−３　哺乳類由来細胞を用いた染色体異常試験

試験	生物種	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			
小核試験	ヒツジ精嚢小胞細胞由来 OSV 細胞	12、18、24、30 μM/L		＋		・12 μM/L 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	ハムスター胚由来 SHE 細胞	5、10、15、20 μM/L		＋	n.d.	・5～15 μM/L で用量依存性あり。20 μM/L は細胞毒性あり。 ・OTA 培養 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	生物種	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			
小核試験	ヒト肝臓がん由来 HepG2 細胞	25 μg/ml（1 時間又は 2 時間培養）				・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 μg/ml (24 時間培養)		＋	n.d.	・5～25 μg/ml で小核を有する細胞数の用量依存的増加。		
染色体異常	CHO 細胞	30、50、100、160、300 μg/ml		－	－		1989	(参照 191)
染色体異常	ヒトリンパ細胞（6 名健常女性）	0.015 μM/L	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（BEN によくみられる。）	1990	(参照 227)
染色体異常	ウシリンパ球	0.1、0.5、1、2 μM/L		＋	n.d.	・0.1 μM/L 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 μM/L で 2～3 倍、2 μM/L で 4～5 倍。	2004	(参照 228)
染色体異常	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/L	ラット肝臓又は腎臓 S9 mix	－	－	・2476.4 μM 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	－	－	・532.4μM以上で細胞毒性。		

n.d.:データ無し

表１６−４　インディケーター試験

試験	生物種	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			
SOS 試験	*B.subtilis rec*	20～100 mg/disc		－			1975	(参照 230)
SOS 試験	*E.coli*			－	n.d.		1986	(参照 87)
SOS 試験	*E.coli* PQ37	1、2、4 mM		＋		・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	BALB/c 雄マウス初代培養脾臓細胞	10 μg/ml		＋	n.d.	・48 時間培養で DNA 一本鎖切断。	1985	(参照 232)
DNA 一本鎖切断	チャイニーズハムスター卵巣細胞、	25、50、100、200 μg/ml		＋	n.d.	・200 μg/ml で陽性。	1986	(参照 233)
	ラット線維芽細胞			－	n.d.			

試験	生物種	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			
DNA 損傷(コメットアッセイ)	ヒト肝臓がん由来 HepG2	5、10、15、20、25、30 μM/L		＋	n.d.	・用量依存的に陽性。	2002	(参照 219)
DNA 損傷(コメットアッセイ)	イヌ腎臓 MDCK 細胞	0.001、0.01、0.1、10、100、500 μM	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)
DNA 損傷(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/L（1 時間） 0.25、0.5、1、2.5 μM/L（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 mM/L 以上で増加傾向、2000 mM/L で Fpg 存在下で有意に DNA 損傷の増加。 ・24 時間の 0.5 mM/L 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)
DNA 損傷(コメットアッセイ)	サバンナモンキー腎臓由来 CV-1 細胞			＋	n.d.	・生存率の明らかな低下なし。 ・1mM/L 以上でアポトーシス増加。 ・1 時間の OTA 処理で 1000 μM/L 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。		
DNA 損傷(コメットアッセイ)	雄ラット初代培養腎細胞	25、50、100 μM/L		＋	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)
DNA 損傷(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 mM（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)
DNA 損傷(コメットアッセイ)	ヒト初代培養尿路上皮細胞	100 μM/L（3h）		±	n.d.	・個人差あり。	2006	(参照 237)

試験	生物種	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			
DNA 損傷(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)
DNA 損傷(コメットアッセイ)	ヒト腎臓由来 HK-2 細胞	50、100、200、400、600 mM（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 により酸化的 DNA 損傷、S9 存在下の Fpg では有意に増加。	2007	(参照 239)
DNA 損傷	CHO 細胞	0.2、0.8、1 mM、（3 時間）		＋	n.d.	・用量依存的に陽性。	2009	(参照 240)
不定期 DNA 合成試験	ACI ラット初代培養肝細胞	0.1、1 mM（0.4、4）		＋	n.d.	・1 mM で細胞毒性。	1984	(参照 241)
	C3H マウス初代培養肝細胞	1、10 mM （4、40）		＋	n.d.	・10 mM 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 μg/ml		－	n.d.	・0.025 μM 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 μM		＋	n.d.	・1 μM 以上は細胞毒性。 ・0.75~1 μM 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 μM		＋	n.d.	・0.5~1 μM で用量依存的に増加 ・1 μM 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、1.52 μM/L（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)	0.05、0.1、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2 μM/L（24 時間）		＋	n.d.	・0.5 μM/L 以上では全ての細胞で細胞毒性 ・0.05 μM/L で DNA の修復率は最大 ・成人由来培養細胞で 0.05~0.5 μM/L の OTA 濃度範囲において陽性。	2000	(参照 244)
姉妹染色分体交換	ヒト末梢血リンパ細胞(PHA 刺激)	5~10 μg/ml		－	n.d.	・10 μg/L で有糸分裂阻害。	1984	(参照 245)
姉妹染色分体交換	CHO 細胞	5、16、50、160、500 μg/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 μg/ml は細胞毒性。	1989	(参照 191)

試験	生物種	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	ヒトリンパ細胞	0.001、0.01、0.1、1、10 μM/L	OTA をラット初代培養肝細胞と培養した調整培地	＋	＋	・OTA 0.01~0.1 μM/L で陽性 ・10 μM/L で細胞毒性。	1991	(参照 218)
姉妹染色分体交換	ウシリンパ球	0.1~2 μM/L	マイトジェンで 72h 刺激後。	＋	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	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

表１７　オクラトキシン A の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	生物種	OTA 濃度、投与方法、期間	結果	備考	年	参照文献
小核試験	Swiss マウス	1 μg/kg 体重、混餌、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	マウス骨髄細胞、精子細胞	1 μg/kg 体重/日、混餌、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（DNA に直接結合しない物質でみられる異常）。	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構造的染色体異常（癒合、切断、リング形成、欠失）。	2008	(参照 249)
姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター、雄、一群 3 匹	0、25、50、100、200、400 mg/kg 体重、経口	－	・100 mg/kg 以上で細胞毒性。	1985	(参照 216)
DNA 損傷、一本鎖切断、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、一本鎖切断、アルカリ溶出法	Wistar ラット、雄、一群 10 匹	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)

試験	生物種	OTA 濃度、投与方法、期間	結果	備考	年	参照文献
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 以上で用量依存的な DNA 損傷。 ・腎臓では 250 μg/kg 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、脾臓及び骨髄細胞では Fpg の影響は認められなかった ・骨髄では 500 μg/kg 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、一群 5 匹	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、一群 5 匹	0.5 mg/kg 体重、腹腔内、7 , 14 , 21 日間、	＋	・腎臓、7 日から陽性。 ・腎臓組織では OTA 濃度に依存した。 ・DNA 損傷。	2006	(参照 252)
レポーター遺伝子アッセイ	F344 *gpt* delta ラット、雌雄、一群 5 匹	0.36~0.38 mg/kg 体重混餌、4 週間・13 週間	＋	・腎臓髄質外層外帯で Spi⁻変異体頻度の有意な増加がみられ、腎臓髄質外層外帯特異的に DNA の欠失が誘発されていることを示していた。	2011	(参照 253)

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 暴露の影響は認められなかった。

サルモネラ菌株 *S.* TyphimuriumTA1535、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/L の OTA と 24 時間培養した後の培養液（200 nM OTA /2ml）を用いた細菌の復帰突然変異試験で、*S.* TyphimuriumTA1535、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.* TyphimuriumTA100、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。著者らは、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、Aloclor 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 WP2*uvr*A 株並びに酵母菌 *S. cervisiae 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 214, 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、Aloclor 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, 222)。C3H 細胞を用いた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）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突然変異を 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）

F344/NS1c-Tg（*gpt* delta）[11]ラット（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、腎臓における遺伝毒性が調べられた結果、点突然変異体頻度の有意な増加は認められなかった。腎臓から抽出した 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。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（健常女性 6 名に由来）を用いた染色体異常試験におい

[11] 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。*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）が検出でき、Spi-セレクションでは約 10 kb 以下の欠失変異が検出できる。

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(健常男性 1 名に由来)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（ハムスター胚由来細胞株）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巣由来細胞株）及びヒトリンパ細胞並びにマイトジェンで刺激した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)。マイトジェンである PHA で刺激した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に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)

1 μg/kg 体重/日の用量で 14 日間 OTA を混餌投与したマウスの骨髄細胞並びに同じ用量で 45 日間投与したマウスの骨髄細胞及び精子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 を混餌投与するとこれらの OTA の影響は、軽減された。(参照 246, 247)

BALB/c マウスに 0.6 、1.2 又は 2.4 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、24 時間後にと殺して分離した骨髄細胞の染色体に、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)

F344/NS1c-Tg（*gpt* delta）ラット（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、腎臓における遺伝毒性が調べられた。*in vivo* における遺伝毒性を調べた結果、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。(参照 253)

③ DNA 損傷及び修復

・*in vitro* 試験（表 16－4）

細菌を用いた 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（イヌ腎臓由来細胞株）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 [12)]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 暴露による 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 暴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 μM 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）

BALB/c マウスに 2.5 μg/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)

0.29 μg/kg 体重の OTA が 48 時間毎に 12 週間経口投与された Wistar ラ

[12)] 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。

ットから、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)

F344 ラット（雄）に、0、0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重の OTA を 1 週間に 5 回、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、脾臓及び骨髄細胞では 0.5 mg/kg 体重以上並びに腎臓では 0.25 mg/kg 体重以上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)

0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg 体重の 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 F344 ラット（雄）の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)。0.5 mg/kg 体重の OTA が 7、14 又は 21 日間腹腔内投与され、最終投与 24 時間後にと殺された Wistar ラット（雌）においても、肝臓、腎臓及び脾臓の細胞のコメットアッセイの結果は全て陽性であった(参照 252) 。

（６）その他（神経毒性、免疫毒性）

① 神経毒性

マウス

Swiss ICR マウス（雄、一群 4～6 匹）に、OTA を 3～6 mg/kg 体重で腹腔内単回投与 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)

ラット

Wistar ラット（雄、一群 4 匹）に 0 又は 290 μg/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 100 ng/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は有意に増加し、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)

F344 ラット（雌、一群 10 匹）に 0 又は 120 μg/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)

SPF Wag ラット（雌、一群 10 匹）の若齢（12 週齢）及び老齢（27～30 か月齢）ラットに、0、70、340 又は 1,680 μg/kg 体重の OTA が 4 週間強制経口投与された。両群の 1,680 μg/kg 体重の 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）の空胞形成が認められ、若齢ラットの 340 μg/kg 体重/日以上の OTA 投与群と老齢ラットの 70 μg/kg 体重/日以上の 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)

Wistar ラット（雄、一群 8 匹）に 289 μg/kg 体重/日の OTA 又は OTA 及び活性酸素のスカ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)

② 免疫毒性

***in vitro* 試験**

ヒト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、OTA のヒト免疫細胞に対する OTA の毒性に、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**

マウス

Swiss マウス（雌、一群 30 匹）に 0 又は 4 mg/kg 飼料の OTA が投与され、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若化

反応において有意差は認められなかった。(参照 261)

BALB/c マウス（雌、一群 8 匹）に、0、6、250 又は 2,600 μg/kg の OTA を含む飼料が 28 又は 90 日間投与された（0、1、40 又は 400 μg/kg 体重/日に相当）。250 μg/kg 飼料以上の OTA 投与群で 28 日目及び 2,600 μg/kg 飼料 OTA 投与群で 90 日目に腎臓重量が減少した。腎臓中の OTA 濃度は、用量に相関した。体重及びリンパ器官重量に OTA の影響はなかった。白血球数に差は認められなかったが、2,600 μg/kg 飼料の OTA 投与群で 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。90 日目に、250 μg/kg 飼料以上の OTA 投与群で対照群に比べて未分化細胞である $CD4^+/CD8^+$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、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、インフルエンザウイルス PR8 株抗原で免役したマウスの血清中抗体価に影響を及ぼさなかった。これらの結果は、OTA 暴露がマウスの特定の免疫機能を変化させ、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)

雌の BALB/c マウス（雌、一群 3 匹）に、交尾前 2 週間にわたり、OTA が 0.18（対照群）、30 又は 200 μg/kg 飼料、平均で 5～30 μg/kg 体重/日の OTA 摂取量になるように混餌投与された。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差は認められなかった。28 日目では、200 μg/kg 飼料の OTA 投与群の児動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 67%増加した。200 μg/kg 飼料の OTA 投与群の児動物では、脾臓 T 細胞の $CD4^+$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かった。 (参照 262)

ラット

授乳 11 日目の Sprague-Dawley ラット（雌、一群 4～5 匹）に 0、10、50 又は 250 μg/kg 体重の OTA が単回投与され、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。250 μg/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、10～50 μg/kg 体重/日投与群では、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)

Sprague-Dawleyラット（雌、一群4～5匹）に1週間に5回の頻度で、0又は50 μg/kg 体重のOTAが交尾前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に暴露していない対照群、出生前暴露群、出生後暴露群及び出生前後暴露群の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週における免疫応答が調べられた。対照群、出生前暴露群、出生後暴露群及び出生前後暴露群における授乳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 μg/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出生前暴露群では、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ウィルス抗原で免役し、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に対し出生前暴露群は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の出生前暴露は免疫抑制を誘発し、出生後の暴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)。

SPF Wagラット（雄、一群10匹）の若齢（12週齢）及び老齢（27～20月齢）ラットに、OTAを0、70、340又は1,680 μg/kg 体重で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 μg/kg 体重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340 μg/kg 体重/日投与群及び若齢の1,680 μg/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。(参照 258)

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 μg/kg 体重投与群で統計的に有意な減少が認められた。(参照 258)

Wistarラット（雄、一群10匹）に0、50、150又は450 μg/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）[13]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、450 μg/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、50 μg/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、50 及び 450 μg/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、150 μg/kg 体重/日の投与量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)

F344 ラット（雌雄、一群 5 匹）に 0、1 又は 4 mg/kg 体重の OTA が 1 週間に 5 回の頻度で、16 日間投与された結果、胸腺用量依存的に相対重量の減少及び萎縮が認められた(参照 191)。また、Wistar ラット（雄、一群 10 匹）に OTA が 5~50 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（雌雄、一群 10～22 羽）に 0、2 又は 4 mg/kg 飼料の OTA が 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)

ニワトリに 0 又は 5 mg/kg 飼料の OTA が 56 日間混餌投与された結果、OTA 投与群では、血漿中のα1、α2、β及びγ-グロブリン量が減少した。(参照 267)

ニワトリに 0、2 又は 4 mg/kg 飼料の OTA が 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（一群 15 個）に 0 又は 2.5 μg/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 に暴露された卵から孵化した 1、2 又は 4 週齢のニワトリに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 270)

---

[13] 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

ニワトリ（一群 10～25 羽）に OTA を 0、0.5 又は 2 mg/kg 飼料で 21 日間混餌投与した結果、OTA 非投与の対照群と比較し OTA 投与群では、血清総タンパク質、リンパ球数、胸腺重量、ファブリキウス嚢重量及び脾臓重量が減少した。(参照 271)

ウサギ

New Zealand White ウサギ（一群 8 匹）に OTA を 0 又は 1 mg/kg 含む飼料が 30 又は 60 日間投与された。OTA 投与群では液性免疫が抑制された。細胞性免疫への影響は認められなかった。(参照 175)

（７）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)。

Wistar ラット（雄）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 [^{3}H]-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、近位尿細管では H^+ ジペプチド共輸送体（H^+-dipeitide 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)。

Sprague-Dawley ラットの尿細管を部位別に OTA と共に *in vitro* で培養すると、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って細胞内に入ると考えられた(参照 273, 282) 。

Sprague-Dawley ラット（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)。Wistar ラット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

(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 ^{32}P-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、Swiss 雄マウス又は Fauves de Bourgogne 雌ウサギ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トした後に、生成物を ^{32}P-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/10^9 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、OTBr[14]又は OTHQ とインキュベートした WI26 細胞（ヒト気管支上皮細胞株）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 と培養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)

^{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 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いる。OTA に光照射すると酸化的脱塩素反応が起こり、OTQ/OTHQ 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光照射すると OTHQ、OTB と共に C-C8-dG-OTA 及び O-C8-dG-OTA[15] が生成することが 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, 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-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、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（HRP）/H_2O_2 の存在下でインキュベートした系においても認められた(参照 139, 292)。

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 と付加体を形成する可能性が考えられた。(参照 295)

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、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胞毒性の影響であるとも考えられている(参照 296, 297)。

また、NADPH、GST、HRP、大豆リポキシゲナーゼ等を添加した CYPs 単離酵素又はラット、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 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 OTQ/OTHQ は検出されず、ラット肝臓ミクロソーム及びヒト

---

[14] 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

[15] 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

CYP3A4 を用いた結果、4*R*- OH-OTA 及び 4*S*-OH-OTA が極めて少量検出された。(参照 94, 130)

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-ポストラベル法及び[^{3}H]-OTA を用いた *in vitro* 試験において OTA 及び OTA 代謝物の 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胞を [^{3}H]-OTA と培養した結果、[^{3}H]-OTA と DNA の結合は認められなかった(参照 134)。

- *in vivo* 試験

Swiss マウス（雄）に 0.6、1.2 又は 2.5 mg/kg 体重の用量で OTA を単回投与し、^{32}P-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/10^{9} ヌクレオチドと推計された(参照 298)。

OTA を投与されたブタ（0.02 mg/kg 体重/日、3 週間混餌投与）の腎臓髄質並びに Dark Agouti ラット（週 3 回 2 年間、0.4 mg/kg 体重/日、強制経口投与及び約 8.3 mg/kg 体重/日、3 日間、強制経口投与）及び F344 ラット（6.8 mg/kg 体重/日、3 日間、強制経口投与）の腎臓より抽出した DNA を用いた ^{32}P-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)。

^{32}P-ポストラベル法により BALB/c マウスへの OTA 投与（3.5～1056 μg/kg 体重、強制経口投与）によって、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 SWR/J マウスに、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 ^{32}P-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 5.2/10^{9} 及び 4.2/10^{9} 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、^{32}P-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 及び LC-MS/MS では確認されていない。

F344 ラット（雄、一群 3 匹）に 0 又は 2 mg/kg 体重の OTA が週 5 回、

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 ^{32}P-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 体重の OTA を 90 日間経口投与した F344 ラット（雄、一群 5 匹）の腎臓並びに 0、250、500、1,000 又は 2,000 μg/kg 体重の OTA を 2 週間投与した F344 ラット（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 ^{32}P-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 /10^{9}DNA 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 /10^{9}DNA 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)。

F344 ラット(雄、一群 4 匹)に[^{3}H]-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[^{3}H]-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/10^{9}DNA ヌクレオチドであった。同じサンプルを用いて ^{32}P-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 ^{32}P-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)

F344 ラット（雄、一群 3 匹）に 0 又は 500 μg/kg 体重の[^{14}C]-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 ^{14}C 濃度を測定した結果、溶媒のみを投与した対照群と比べ、投与による ^{14}C 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/10^9 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 暴露の 24 時間後に、DNA が単離されているのに対し、この試験では[^{14}C]-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

F344/NS1c-Tg（*gpt* delta）ラット（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 F344/NS1c-Tg（*gpt* delta）ラットに同用量の 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 二重鎖切断修復（*Chek1*、*Rad18*、*Bripa1*、*Brcc3* 等）、細胞周期促進、DNA 損傷応答を介した G_2/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。DNA 二重鎖切断修復、特に相同組換えに関連した遺伝子の発現が誘導されていることより、OTA 暴露により髄質外層外帯に DNA 二重鎖切断が起こり、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 G_2/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)

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大核誘発への p53 の関与を調べる目的で、*p53*KO*gpt* delta（*p53* KO）マウス及びその野生型の *gpt* delta マウス（WT）に 0、1 又は 5 mg/kg の OTA が 4 週間強制投与された。OTA 投与により、WT 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* KO マウスでは WT 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に増加し、皮質にも認められた。変異原性試験の結果、5 mg OTA/kg 投与群の腎臓において *p53* KO マウス及び WT マウス共に点突然変異は認められなかったが、Spi-変異の頻度は *p53* KO マウスで有意に増加した。著者らは、OTA が DNA の二重鎖切断修復における相同組換えを介して DNA 欠損を誘導する可能性があり、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。(参照

304)

b. **非遺伝毒性発がん物質としてのメカニズム**

（a）酸化ストレス

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、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 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 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、ペルオキシダーゼが豊富に存在するため、^{32}P-ポストラベル法により観察される DNA 付加体形成は 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 の存在下で培養し、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 で培養すると明らかに 8-オキソグアニン[16)]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 時間培養し、網羅的な遺伝子発現の変化が解析さ

16) 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。

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)

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 μmol/L の OTA と培養する *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 Kahweol1 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)

LLC-PK1 細胞を OTA の存在下で培養し、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γGCS 各遺伝子の発現に及ぼす OTA の影響が調べられた。OTA（25 μM）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）の低下が OTA（1～2.5 μM）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 μM）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 μM の OTA と 2 時間インキュベートすると、ミトコンドリア膜電位差（ΔΨm）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 ΔΨm 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 産生及びアポトーシスが関与していると考えた。(参照 316)

^{32}P-ポストラベル法を用いて、*in vitro* 及び *in vivo* で、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)

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

Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に 0 又は 289 μg/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)

Lewis ラット（雄、一群 20 匹）に 0.4 mg/kg 体重の OTA が 1 週間に 3 回の頻度で 2 年間投与された。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）[17]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 ^{32}P-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)

Wistar ラット（雄、一群 8 匹）に OTA が 289 μg/kg 体重の用量で、活性酸素のスカベンジャーであるメラトニンが 10 mg/kg 体重/日の用量で共投与された。病理組織検査の結果、メラトニンの投与群では 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、Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に 289 μg/kg 体重の用量の 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)

Sprague-Dawley ラット（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メアが認められ、DNA 損傷が生じていることを示唆

[17] 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。

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)

F344 ラット（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 300 μg/kg 体重/日、その後は 100 μg/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)

Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に 0、5 ng/kg 又は 50 μg/kg 体重の 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 50 μg/kg 体重投与群で有意に高く、腎臓では、5 ng/kg 体重投与以上の群で 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)

Sprague-Dawley ラット（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)

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（雌雄不明、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)

Sprague-Dawley albino ラット（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)

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。

F344 ラット（雄、一群 3 匹）に OTA（0、0.3、1 又は 2 mg/kg 体重）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、OTA（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)

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)

OTA を 0.25、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重で、5 日/週、2 週間経口投与した F344 ラット（雄、一群 3 匹）の腎臓において、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,N^6-エテノデオキシアデノシン及び 1,N^2-プロパノデオキシグアノシ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)

F344/NS1c-Tg（*gpt* delta）ラット（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。このラットでは、髄質外層外帯特異的に遺伝子欠失が認められていることより、DNA の欠失変異には酸化ストレスは関与していないと著者らは考えた。(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 0～50 μM の OTA と 12 時間又は 24 時間培養した結果、1 μM 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±0.16%であったのに対し、10 μM 及び 50 μM OTA 処理でそれぞれ 4.36±1.15%及び 7.25±1.16%と有意に増加した。10 μM 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 NFκB 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、姉妹染色体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 時間培養すると、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 時間培養したときの IC_{50} 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、G_2/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 と培養すると、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、1、5、10、25 又は 50 μM の OTA と培養すると、5 μM 以上の濃度で有糸分裂の阻害が認められ、25 μM 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アセチル基転移酵素（HAT）活性は、OTA の濃度依存的に低下し（IC50=24.5 μM）、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 H3Thr3 [18]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 G_2 期遅延を誘導した。GES-1 細胞を OTA と 24 時間培養すると、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、G_2 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 G_2 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)

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

F344 ラット（雄）に 21、70 又は 210 μg/kg 体重/日の OTA を、14 日間又は 90 日間（5 回/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、70 μg/kg 体重以上の 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

[18] 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

れ、Aurora B のターゲットであるヒストン H3Ser10[19]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に、有糸分裂の障害と染色体の不安定性の原因となる遺伝子とタンパク質の異常発現が引き起こされると考えた。(参照 330)

F344/NSIc ラット（雄、一群 10 匹）に発がん用量である 210 μg/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 G_2/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 G_2 期にも認めらたことより、著者らは、G_2 期に Ubd の発現が高い細胞においては、G_2 期に続く M 期の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)

（c）その他

NRK-52E 細胞（ラット近位尿細管由来細胞株）に 100 又は 1,000 nmol/L 濃度の OTA を暴露すると、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 NFκB 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 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 0.3～10 nmol/L の OTA が 2、5 又は 14 日間培養された。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（0.3～10 nmol/L）の OTA に 14 日間暴露することにより、細胞の肥大化が認められた。尿細管細胞特異的に NFκB 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,

[19] ヒストン H3 タンパク質の N 末端側から 10 番目のセリン

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 μg/kg 体重/日、その後は 100 μg/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。インシュリン様成長因子-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 酵素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)

野生型ラット及び、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 Eker ラットに、210 μg/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ィールが調べられた。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。

Wistar ラット（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)

F344 ラット（雄、初期体重 175 g、一群 5 匹）に体重が 333 g になるまでは 300 μg/kg 体重/日、その後は 100 μg/匹/日の OTA を投与した。肝臓及び腎臓の遺伝子発現プロフィールが、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 HNF4α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)

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 と培養後、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ビ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)

p53 が OTA の発がん性に及ぼす影響を調べるために、*p53*KO*gpt* delta マウス及び正常な *p53* 遺伝子を有する *gpt* delta マウス（いずれも雄、一

群 5 匹）に 0、1 又は 5 mg/kg 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 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*KO マウスの巨大核細胞の発現頻度は *p53* 遺伝子を正常に有するマウスより高かった。また、*p53*KO 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* KO 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)

（８）毒性試験のまとめ

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 8 、40 又は 160 μg/kg 体重/日の OTA を混餌投与した結果、用量依存的に Tm_{PAH} 及び Tm_{PAH} 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。8 μg/kg 体重/日の OTA 投与群では 9 頭中 4 頭、40 μg/kg 体重/日以上の 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 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、21、70 又は 210 μg /kg 体重の 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、70 μg /kg 体重以上の用量で雄ラットの腎臓に腫瘍が認められた。NOAEL は 21 μg /kg 体重（週 5 回投与、15 μg/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 $BMDL_{10}$ は、16.1 μg/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、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。

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

んどが陰性であり、酵母細胞を用いた SOS 試験及び哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突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、腎臓髄質外層外帯に 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変異は検出されなかったことが報告されている。

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、検出されたとされる付加体が OTA 又は OTA 代謝物と DNA が共有結合したものであるとの確認はされていない。更に、[^{3}H] 又は[^{14}C]でラベルした OTA をラットに投与した *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、付加体形成は認められていない。

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ィックなメカニズムなど、がんに結びつく様々な原因が多数報告されている。

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）の考え方を参考に、*in vitro* 遺伝毒性試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

（１）各国における 暴露量

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暴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)。

スペインのリェイダ地方の 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 暴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 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 暴露は有意に高く、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 (LOQ)	0.038	0.021~0.105	(参照 354)	2006
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、アフリカ 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（SCOOPTask 3.2.7）[20]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

[20] EU 加盟国における食事経由の OTA 暴露量評価

は 0.18 μg/L [21)]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、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関与している 。(参照 358, 359, 360)

---

21) 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② LOQ 以下の検体に LOQ/2 値を適用して平均を算出した場合

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 暴露のバイオマーカー

尿中 β2-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 暴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 β2-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 β2-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 β2-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 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 β2-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 β2-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 暴露量の推定

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 暴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 μg/kg、平均は 0.294 μg/kg（うち陽性平均は 0.484μg/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～1.4 μg/kg、平均は 0.217 μg/kg うち陽性平均は 0.725 μg/kg）であった。(参照 52)

ヒトへの OTA の暴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、畜産物を介した暴露は、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 総暴露量の 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 暴露量の 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 暴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 暴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、2～3 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 6～8 ng/kg 体重/日の OTA 摂取量となり、一週間に換算すると 40～60 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 μg/L（うち陽性平均は 0.35 μg/L）であった。血液中の OTA 濃度を用いて Klaassen による計算式[22)]により算出された OTA の一日摂取量は 0.41 μg/L～2.34 μg/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 暴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 暴露の範囲は 1.00 ～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 暴露量はおよそ 8～17 ng/kg 体重/週と推定された。大多数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

[22)] OTA 暴露量の推定に以下の Klaassen による計算式が用いられた。

$K_0 = ClpxCp/A = 1.97Cp$

K_0：一日摂取量（ng/kg 体重/日）、Clp：血漿クリアランス、Cp：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

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)[23)]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)

スペインのリェイダ地方の 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 の暴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 の暴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。

[23)] Breitholtz の推計式

OTA 摂取量（ng/kg 体重/日）＝Cp X 1.34

Cp：血清 OTA 濃度（ng/ml）

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 暴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 暴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、食事からの暴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 [24]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 ^{32}P-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みられた *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

[24] 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。

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、ヒトにおける暴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 のヒトへの暴露と 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 パーセンタイルにおける推定 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 $BMDL_{10}$ 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 の暴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。

（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、暴露期間とも相関していた。

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 [25]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 暴露に関し、最近の分析では、現在の OTA の週間暴露量は平均で 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。

５．日本における暴露状況

（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[26]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（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）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。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 6.82 ng/L の OTA が検出された。焼酎、泡盛、日本酒等計 15 検体では検出限界未満であった。(参

---

[25] 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。

[26] 20 g を 140 ml に溶かして試料とされた。

照 342)

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 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 0.0054 μg/L であった。(参照 392)

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 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%（124/126）、チョコレート 86.7%（137/158）、パスタ 80.6%（125/155）、ビール 78.5%（95/121）、日本蕎麦 75.3%（137/182）、レーズン 63.4%（59/93）、缶コーヒー57.9%（44/76）、そば粉 57.5%（23/40）、焙煎コーヒー54.8%（46/84）、小麦粉 50.5%（111/220）、コリアンダー45.2%（14/31）、ライ麦 44.0%（22/50）、ワイン 31.7%（39/123）、生コーヒー豆 28.6%（6/21）、オートミール 28.0%（21/75）、乾燥イチジク 14.8%（4/27）、大麦 8.0%（2/25）、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、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 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 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 μg/kg であった。(参照 393, 394)

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、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２１　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 (mg/kg) ①	平均値 (mg/kg) ②
					割合			
米（玄米）	2005	98	0.00030	98	100%	<0.00030	0	0.000082
	2006	100	0.00030	100	100%	<0.00030	0	0.000080
	2007	100	0.00030	100	100%	<0.00030	0	0.000080
	2008	100	0.00012	100	100%	<0.00012	0	0.000050
	2009	100	0.00017	100	100%	<0.00017	0	0.000070
小麦（玄麦）	2005	99	0.00020	98	99%	0.00071	0.000007	0.000084
	2006	100	0.00020	100	100%	<0.00020	0	0.000070
	2007	100	0.00020	100	100%	<0.00020	0	0.000070
	2008	100	0.00014	100	100%	<0.00014	0	0.000060
	2009	101	0.00016	101	100%	<0.00016	0	0.000072
大麦（精麦）	2008	20	0.00009	20	100%	<0.00009	0	0.000040
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	0.000090
ひえ（精白）	2008	10	0.00011	10	100%	<0.00011	0	0.000040
きび（精白）	2008	10	0.00013	10	100%	<0.00013	0	0.000050
あわ（精白）	2008	10	0.00013	10	100%	<0.00013	0	0.000050

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）暴露量の推定

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 暴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 品目について暴露量推計に用いるサンプルデータが作成された。OTA 暴露量の推計結果を表 22 に示した。年齢区分別では、体重当たりの一日暴露量は、1～6 歳までの階層で最も高く、その後、年齢が上がるにしたがって体重当たりの一日暴露量は低下するが、20 歳以上の階層では再び上昇した。OTA の汚染量が 5 μg/kg を超える食品はほとんどなく、また平均的な値を示す 50 パーセンタイル値の範囲は 0.08～0.14 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 1.20～2.21 ng/kg 体重/日であった。(参照 393, 399)日本においては、現状では高リスクの消費者においても、OTA 暴露量は低い推計結果となったが、OTA の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 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２２　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 暴露量の推定（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 暴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、破砕、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。パン生地の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（*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。

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、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、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質と考えることが妥当であると判断された。

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れていない。

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、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。

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（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。

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（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。

日本における暴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暴露量は、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。

以上の暴露量の推計結果より、現状においては、OTAの暴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暴露評価（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	ヒポキサンチンー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
OTα	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

＜参照文献＞

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. Vandegraft, 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. Houbraken, 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.Mycrobiol. 1970; 20: 452-454

10 堀江義一. オクラトキ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. Mycotoxin-producing strains of *Penicillium viridicatum*: Classification into subgroups. Appl.Microbiol. 1973; 26: 271-278

13 J. I. Pitt. The Genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, Inc., London. 1979

14 J. I. Pitt. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A. Appl. Environ. Microbiol. 1987; 53: 266-269

15 T. O. Larsen, A. Svendsen and J. Smedsgaard. Biochemical characterization of ochratoxin A-producing strains of the genus *Penicillium*. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67: 3630-3635

16 S. Sonjak, M. Licen, J. C. Frisvad and N. Gunde-Cimerman. Salting of dry-cured meat - A potential cause of contamination with the ochratoxin A-producing species *Penicillium nordicum*. Food Microbiol. 2011; 28: 1111-1116

17 M. Schmidt-Heydt, E. Graf, D. Stoll and R. Geisen. The biosynthesis of ochratoxin A by *Penicillium* as one mechanism for adaptation to NaCl rich foods. Food Microbiol. 2012; 29: 233-241

18 F. E. Escher, P. E. Koehler and J. C. Ayres. Production of ochratoxins A and B on country cured ham. Appl Microbiol. 1973; 26: 27-30

19 A. Rodriguez, M. Rodriguez, A. Martin, J. Delgado and J. J. Cordoba. Presence of ochratoxin A on the surface of dry-cured Iberian ham after initial fungal growth in the drying stage. Meat Sci. 2012; 92: 728-734

20 堀江義一. *Aspergillus carbonarius* (*Aspergillus* section *Nigri*)の ochratoxin A 生産性. 日菌報. 1995; 36: 73-76

21 L. Sage, D. Garon and F. Seigle-Murandi. Fungal microflora and ochratoxin A risk in French vineyards. J. Agric. Food Chem. 2004; 52: 5764-5768

22 P. Battilani, P. Giorni and A. Pietri. Epidemiology of toxin-producing fungi and ochratoxin A occurence in grape. Eur.J.Pl.Pathol. 2003; 109: 715-722

23 P. Battilani, P. Giorni, T. Bertuzzi, S. Formenti and A. Pietri. Black aspergilli and ochratoxin A in grapes in Italy. Int.J.Food Microbiol. 2006; 111: S53-S60

24 G. Perrone, G. Mule, A. Susca, P. Battilani, A. Pietri and A. Logrieco. Ochratoxin A production and amplified fragment length polymorphism analysis of *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger* strains isolated from grapes in Italy. Appl. Environ. Microbiol. 2006; 72: 680-685

25 P. V. Martinez-Culebras and D. Ramon. An ITS-RFLP method to identify black *Aspergillus* isolates responsible for OTA contamination in grapes and wine. Int.J.Food Microbiol. 2007; 113: 147-153

26 A. Visconti, G. Perrone, G. Cozzi and M. Solfrizzo. Managing ochratoxin A risk in the grape-wine food chain. Food Addit.Contam. 2008; 25: 193-202

27 H. M. L. J. Joosten, J. Goetz, A. Pittet, M. Schellenberg and P. Bucheli. Production of ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius* on coffee cherries. Int.J.Food Microbiol. 2001; 65: 39-44

28 M. H. Taniwaki, J. I. Pitt, A. A. Teixeira and B. T. Iamanaka. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. Int.J.Food Microbiol. 2003; 82: 173-179

29 A. I. Kouadio, N. G. Agbo, A. Lebrihi, F. Mathieu and M. Dosso. Effect of the frequency of the mixing of coffee cherries put out for drying on the kinetics of drying and the relationship to ochratoxin A production. Food Addit.Contam. 2006; 23: 295-304

30 S. L. Leong, L. T. Hien, T. V. An, N. T. Trang, A. D. Hocking and E. S. Scott. Ochratoxin A-producing Aspergilli in Vietnamese green coffee beans. Lett.Appl.Microbiol. 2007; 45: 301-306

31 G. Perrone, A. Susca, G. Cozzi, K. Ehrlich, J. Varga, J. C. Frisvad, M. Meijer, P. Noonim, W. Mahakarnchanakul and R. A. Samson. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. Stud. Mycol. 2007; 59: 53-66

32 A. Medina, R. Mateo, L. Lopez-Ocana, F. M. Valle-Algarra and M. Jimenez. Study of Spanish grape mycobiota and ochratoxin A production by isolates of *Aspergillus tubingensis* and other members of *Aspergillus* section *Nigri*. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71: 4696-4702

33 P. V. Martinez-Culebras, A. Crespo-Sempere, M. Sanchez-Hervas, P. Elizaquivel, R. Aznar and D. Ramon. Molecular characterization of the black *Aspergillus* isolates responsible for ochratoxin A contamination in grapes and wine in ration to taxonomy of *Aspergillus* section *Nigri*. Int.J.Food Microbiol. 2009; 132: 33-41

34 R. A. Samson, J. A. M. P. Houbraken, A. F. A. Kuijpers, J. M. Frank and J. C. Frisvad. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. Stud. Mycol. 2004; 50: 45-61

35 K. J. v. d. Merwe, P. S. Steyn, L. Fourie, D. B. Scott and J. J. Theron. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. Nature. 1965; 205: 1112-1113

36 D. B. Scott. Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products. Mycopathol.Mycol.Appl. 1965; 25: 213-222

37 O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine and M. L. Goulden. Ochratoxin A: Occurence as natural contaminant of a corn sample. Appl.Mycrobiol. 1969; 17: 765-766

38 O. L. Shotwell, C. W. Hesseltine, M. L. Goulden and E. E. Vandegraft. Survey of corn for aflatoxin, zearalenone, and ochratoxin. Cereal

Chemists, inc., 1970; 47: 700-707

39 P. M. Scott, W. v. Walbeek, J. Harwig and D. I. Fennell. Occurrence of a mycotoxin, ochratoxin A, in wheat and isolation of ochratoxin A and citrinin producing strains of *Penicillium viridicatum*. Can.J.Plant Sci. 1970; 50: 583-585

40 P. M. Scott, W. v. Walbeek, B. Kennedy and D. Anyeti. Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. J. Agric. Food Chem. 1972; 20: 1103-1109

41 P. Krogh, B. Hald and E. J. Pedersen. Occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals associated with mycotoxic porcine nephropathy. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. 1973; 81: 689-695

42 M. Nakajima, H. Tsubouchi, M. Miyabe and Y. Ueno. Survey of aflatoxin B_1 and ochratoxin A in commercial green coffee beans by high-performance liquid chromatography linked with immunoaffinity chromatography. Food Agric.Immun. 1997; 9: 77-83

43 R. Mateo, A. Medina, E. M. Mateo, F. Mateo and M. Jimenez. An overview of ochratoxin A in beer and wine. Int.J.Food Microbiol. 2007; 119: 79-83

44 B. Zimmerli and R. Dick. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: Occurrence and risk assessment. Food Addit.Contam. 1996; 13: 655-668

45 P. Krogh. Causal associations of mycotoxic nephropathy. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. A. 1978; 269: 1-28

46 A. Pfhol-Leszkowicz, T. Petkova-Bocharova, I. N. Chernozemsky and M. Castegnaro. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: A review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. Food Addit.Contam. 2002; 19: 282-302

47 M. M. Abouzied, A. D. Horvath, P. M. Podlesny, N. P. Regina, V. D. Metodiev, R. M. Kamenova-Tozeva, N. D. Niagolova, A. D. Stein, E. A. Petropoulos and V. S. Ganev. Ochratoxin A cconcentrations in food and feed from a region with Balkan Endemic Nephropathy. Food Addit.Contam. 2002; 19: 755-764

48 T. Vrabcheva, T. Petkova-Bocharova, F. Grosso, I. Nikolov, I. N. Chernozemsky, M. Castegnaro and S. Dragacci. Analysis of ochratoxin A in foods consumed by inhabitants from an area with Balkan Endemic Nephropathy: A 1 month follow-up study. J. Agric. Food Chem. 2004; 52: 2404-2410

49 C. A. D. R. Rosa, V. Palacios, M. Combina, M. E. Fraga, A. D. O. Rekson, C. E. Magnoli and A. M. Dalcero. Potential ochratoxin A

producers from wine grapes in Argentina and Brazil. Food Addit.Contam. 2002; 19: 408-414

50 矢崎廣久, 高橋治男, 七山悠三. 貯蔵肉の *Penicillium verrucosum* var. *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. Assoc. Mycotoxicol. 1980; 10: 29-31

51 杉本貞三, 南沢正敏, 高野和子, 笹村靖子, 鶴田理. *Penicillium viridicatum* と *Aspergillus versicolor* による貯蔵米のオクラトキシン A、シトリニン、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; 18: 176-181

52 EC. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states. Reports on tasks for scientific cooperation, Task 3.2.7. http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf. 2002

53 Q. Wu, V. Dohnal, L. Huang, K. Kuca, X. Wang, G. Chen and Z. Yuan. Metabolic pathways of ochratoxin A. Curr Drug Metab. 2011; 12: 1-10

54 A. Pfohl-Leszkowicz and R. A. Manderville. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51: 61-99

55 S. Suzuki, T. Satoh and M. Yamazaki. The pharmacokinetics of ochratoxin A in rats. Jpn.J. Pharmacol. 1977; 27: 735-744

56 M. S. Madhyastha, R. R. Marquardt and A. A. Frohlich. Hydrolysis of ochratoxin A by the microbial activity of digesta in the gastrointestinal tract of rats. Arch.Environ.Contam.Toxicol. 1992; 23: 468-472

57 C. E. Hansen, S. Dueland, C. A. Drevon and F. C. Stormer. Metabolism of ochratoxin A by primary cultures of rat hepatocytes. Appl. Environ. Microbiol. 1982; 43: 1267-1271

58 S. M. Madhyastha, R. R. Marquardt, A. A. Frohlich, G. Platford and D. Abramson. Effects of different cereal and oilseed substrates on the growth and production of toxihs by *Aspergillus alutaceus* and *Penicdlium verrucosum*. J. Agric. Food Chem. 1990; 38: 1506-1510

59 F. C. Stomer, O. Storen, C. E. Hansen, J. I. Pedersen and A. J. Aasen. Formation of (4*R*)- and (4*S*)-4-hydroxyochratoxin A and 10-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes. Appl. Environ. Microbiol. 1983; 45: 1183-1187

60 M. Kanisawa and S. Suzuki. Induction of renal and hepatic tumors in mice by ochratoxin A, a mycotoxin. Gann. 1978; 69: 599-600

61 K. Moroi, S. Suzuki, T. Kuga, M. Yamazaki and M. Kanisawa. Reduction of ochratoxin A toxicity in mice treated with phenylalanine and phenobarbital. Toxicol.Lett. 1985; 25: 1-5

62 P. Galtier, J. L. Charpenteau, M. Alvinerie and C. Labouche. The pharmacokinetic profile of ochratoxin A in the rat after oral and

intravenous administration. Drug Metabol. Dispos. 1979; 7: 429-434

63 H. Pettersson, K. H. Kiessling and P. Ciszuk. Degradation of ochratoxin A in rumen. In: Proceedings, V International IUPAC Symposium Mycotoxins and Phycotoxins, September 1-3, 1982, Vienna, Austrria. 1982; Austrian Chemical Society: 313-316

64 K. Hult, A. Teiling and S. Gatenbeck. Degradation of ochratoxin A by a ruminant. Appl. Environ. Microbiol. Appl. Environ. Microbiol. 1976; 32: 443-444

65 G. Battacone, A. Nudda and G. Pulina. Effects of ochratoxin A on livestock production. Toxins. 2010; 2: 1796-1824

66 K. H. Kiessling, H. Pettersson, K. Sandholm and M. Olsen. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 1984; 47: 1070-1073

67 M. J. Pitout. The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes. Biochem.Pharmacol. 1969; 18: 485-491

68 R. W. Paker, T. D. Phillips, L. F. Kubena, L. H. Russell and N. D. Heidelbaugh. Inhibition of pancreatic carboxypeptidase A: A possible mechanism of interaction between penicillic acid and ochratoxin A. J. Environ. Sci. Health. 1982; B17: 77-91

69 S. Kumagai and K. Aibara. Intestinal absorption and secretion of ochratoxin A in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1982; 64: 94-102

70 S. Kumagai. Effects of plasma ochratoxin A and luminal pH on the jejunal absorption of ochratoxin A in rats. Food Chem. Toxicol. 1988; 26: 753-758

71 O. Storen, P. Helgerud, H. Holm and F. C. Stormer. Formation of (4R)-4-hydroxyochratoxin A and ochratoxin α from ochratoxin A by rats. In: Proceedings, V International IUPAC Symposium Mycotoxins and Phycotoxins, September l-3,1982, Vienna, Austria, Austrian Chem. Soc., Vienna. 1982; 321-324

72 R. Fuchs, B. Radic, M. Peraica, K. Hult and R. Plestina. Enterohepatic circulation of ochratoxin A in rats. Period.Biol. 1988; 90: 39-42

73 A. Roth, K. Chakor, E. E. Creppy, A. Kane, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Evidence for an enterohepatic circulation of ochratoxin A in mice. Toxicology. 1988; 48: 293-308

74 FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation), 2001. Ochratoxin A. In: Safety evaluation of certain mycotoxins in food, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 47, pp 281–387. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.

75 P. Galtier, M. Alvinerie and J. L. Charpenteau. The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens. Food Cosmet. Toxicol. 1981; 19: 735-738

76 S. Hagelberg, K. Hult and R. Fuchs. Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. J. Appl. Toxicol. 1989; 9: 91-96

77 P. Galtier. Contribution of pharmacokinetic studies to mycotoxicology - ochratoxin A. Vet. Sci. Commun. 1978; 1: 349-358

78 S. Kumagai. Ochratoxin A: Plasma concentration and excretion into bile and urine in albumin-deficient rats. Food Chem. Toxicol. 1985; 23: 941-943

79 P. Galtier, R. Camguilhem and G. Bodin. Evidence for *in vitro* and *in vivo* interaction between ochratoxin A and three acidic drugs. Food Cosmet. Toxicol. 1980; 18: 493-496

80 R. Stojkovic, K. Hult, S. Gamulin and R. Plestina. High affinity binding of ochratoxin A to plasma constituents. Biochem.Int. 1984; 9: 33-38

81 T. Kuiper-Goodman and P. M. Scott. Risk Assessment of the Mycotoxin Ochratoxin A. Biomed. Environ. Sci. 1989; 2: 179-248

82 D. R. Dietrich, A. H. Heussner and E. O'Brien. Ochratoxin A: comparative pharmacokinetics and toxicological implications (experimental and domestic animals and humans). Food Addit.Contam. 2005; 22: 45-52

83 Y. Fukui, K. Hoshino, Y. Kameyama, T. Yasui, C. Toda and H. Nagano. Placental transfer of ochratoxin A and its cytotoxic effect on the mouse embryonic brain. Food Chem. Toxicol. 1987; 25: 17-24

84 P. Galtier, B. Boneu, J. L. Charpenteau, G. Bodin, M. Alvinerie and J. More. Physiopathology of haemorrhagic syndrome related to ochratoxin A intoxication in rats. Food Cosmet.Toxicol. 1979; 17: 49-53

85 M. B. Ballinger, T. D. Phillips and L. F. Kubena. Assessment of the distribution and elimination of ochratoxin A in the pregnant rat. J.Food Saf. 1986; 8: 11-24

86 H. Zepnik, W. Volkel and W. Dekant. Toxicokinetics of the mycotoxin ochratoxin A in F344 rats after oral administration. Toxicol.Appl.Pharmacol. 2003; 192: 36-44

87 Y. Auffray and P. Boutibonnes. Evaluation of the genotoxic activity of some mycotoxins using *Escherichia coli*, in the SOS spot test. Mutat.Res. 1986; 171: 79-82

88 A. Vettorazzi, E. Gonzalez-Penas, I. F. Troconiz, L. Arbillaga, L. A. Corcuera, A. G. Gil and A. L. d. Cerain. A different kinetic profile of

ochratoxin A in mature male rats. Food Chem. Toxicol. 2009; 47: 1921-1927

89 H. P. Mortensen, B. Hald and A. Madsen. Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 5. Ochratoxin A in pig blood. Acta Agric.Scand. 1983; 33: 235-239

90 O. Sreemannarayana, A. A. Frohlich, T. G. Vitti, R. R. Marquardt and D. Abramson. Studies of the tolerance and disposition of ochratoxin A in young calves. J.Anim.Sci. 1988; 66: 1703-1711

91 I. Studer-Rohr, J. Schlatter and D. R. Dietrich. Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. Arch. Toxicol. 2000; 74: 499-510

92 R. Fuchs, L.E. Appelgren and K. Hult. Distribution of ^{14}C-ochratoxin A in the mouse monitored by whole-body autoradiography. Pharmacol. Toxicol. 1988; 63: 355-360

93 A. Breitholtz-Emanuelsson, R. Fuchs, K. Hult and L. E. Appelgren. Synthesis of 14C-ochratoin A and 14C-ochratoxin B and a comparative study of their distribution in rats using whole body autoradiography. Pharmacol.Toxicol. 1992; 70: 255-261

94 J. C. Gautier, J. Richoz, D. H. Welti, 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

104 F. Elling, J. P. Nielsen, E. B. Lillehoj, M. S. Thomassen and F. C. Stømer. Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: Enzyme and ultrastructure changes after short-term exposure. Toxicology. 1985; 23: 247-254

105 J. Harwig, T. Kuiper-Goodman and P. M. Scott. Microbial food toxicants: Ochratoxins. In: Rechcigl, M., ed., Handbook of Foodborne Diseases of Biological Origin, Boca Raton, FL: CRC Press. 1983; 193-238

106 P. Krogh, F. Elling, B. Hald, A. E. Larsen, E. B. Lillehoj, A. Madsen and H. P. Mortensen. Time-dependent disappearance of ochratoxin A residues in tissues of bacon pigs. Toxicology. 1976; 6: 235-242

107 A. Madsen, H. P. Mortensen and B. Hald. Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. I. Influence on pig performance and residues. Acta Agric. Scand. 1982; 32: 225-239

108 B. J. Shreeve, D. S. P. Patterson and B. A. Roberts. The 'carry-over' of aflatoxin, ochratoxin and zearalenone from naturally contaminated feed to tissues, urine and milk of dairy cows. Food Cosmet Toxicol. 1979; 17: 151-152

109 M. A. Stander, T. W. Nieuwoudt, P. S. Steyn, G. S. Shephard, E. E. Creppy and V. Sewram. Toxicokinetics of ochratoxin A in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). Arch. Toxicol. 2001; 75: 262-269

110 J. Fink-Gremmels. Conclusion from the workshops on ochratoxin A in food: recent developments and significance. Organized by ILSI Europe in Baden (Austria), 29 June-1 July 2005. Food Addit.Contam. 2005; 22(suppl.1): 1-5

111 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

112 P. Krogh, F. Elling, B. Hald, B. Jylling, V. E. Petersen, E. Skadhauge and C. K. Svendsen. Experimental avian nephropathy. Pathol.Microbiol.Scand.A. 1976; 84: 215-221

113 T. Juszkiewicz, J. Piskorska-Pliszczynska and H. Wisniewska. Ochratoxin A in laying hens.: Tissue deposition and passage into eggs. "In: Mycotoxins and Phycotoxins. Proceedings of the V international IUPAC Symposium, Vienna, Technical University, 1-2 September.". 1982; 122-125

114 M. Denli, J. C. Blandon, M. E. Guynot, S. Salado and J. F. Perez. Efficacy of a new ochratoxin-binding agent (OcraTox) to counteract the deleterious effects of ochratoxin A in laying hens. Poult. Sci. 2008; 87: 2266-2272

115 R. Fuchs, L.E. Appelgren, S. Hagelberg and K. Hult. Carbon-14-ochratoxin A distribution in the Japanese quail. (*Coturnix coturnix japonica*) monitored by whole body autoradiography. Poult. Sci. 1988; 67: 707-714

116 J. Piskorska-Pliszczynska and T. Juszkiewicz. Tissue deposition and passage into eggs of ochratoxin A in Japanese quail. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. 1990; 10: 8-10

117 A. Breitholtz-Emanuelsson, I. Palminger-Hallen, P. O. Wholin, A. Oskarsson, K. Hult and M. Olsen. Transfer of ochratoxin A from lactating rats to their offspring: A short-term study. Nat.Toxins. 1993; 1: 347-352

118 L. E. Appelgren and R. G. Arora. Distribution of ^{14}C-labelled ochratoxin A in pregnant mice. Food Chem. Toxicol. 1983; 21: 563-568

119 L. E. Appelgren and R. G. Arora. Distribution studies of ^{14}C-labelled aflatoxin B_1 and ochratoxin A in pregnant mice. Vet Res.Commun. 1983; 7: 141-144

120 I. P. Hallen, A. Breitholtz-Emanuelsson, K. Hult, M. Olsen and A. Oskarsson. Placental and lactational transfer of ochratoxin A in rats. Nat.Toxins. 1998; 6: 43-49

121 E. V. Ferrufino-Guardia, E. K. Tangni, Y. Larondelle and S. Ponchaut. Transfer of ochratoxin A during lactation: Exposure of suckling via the milk of rabbit does fed a naturally-contaminated feed. Food Addit.Contam. 2000; 17: 167-175

122 D. S. P. Patterson, B. A. Roberts and B. J. Small. Metabolism of ochratoxins A and B in the pig during early pregnancy and the accumulation in body tissues of ochratoxin A only. Food

Cosmet.Toxicol. 1976; 14: 439-442

123 H. P. Mortensen, B. Hald, A. E. Larsen and A. Madsen. Ochratoxin A contaminated barley for sows and piglets. Pig performance and residues in milk and pigs. Acta Agric.Scand. 1983; 33: 349-352

124 H. Barnikol and A. Thalmann. [Clinical observations in the pig in relation to the mycotoxins ochratoxin A and zearalenone.].[in German]. Tierarztl. Umsch. 1988; 43: 74-82

125 W. E. Ribelin, K. Fukushima and P. E. Still. The toxicity of ochratoxin to ruminants. Can. J. Comp. Med. 1978; 42: 172-176

126 F. C. Stomer, C. E. Hansen, J. I. Pedersen, G. Hvistendahl and A. J. Aasen. Formation of (4*R*)- and (4*S*)-4-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by liver microsomes from various species. Appl. Environ. Microbiol. 1981; 42: 1051-1056

127 R. D. Hutchison, and P. S. Steyn. The isolation and structure of 4-hydroxyochratoxin A and 7-carboxy-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin from Penicillium viridicatum. Tetrahedron Lett. 1971; 43: 4033-4036.

128 R. F. Omar, H. V. Gelboin and A. D. Rahimtula. Effect of cytochrome p450 induction on the metabolism and toxicity of ochratoxin A. Biochem.Pharmacol. 1996; 51: 207-216

129 H. Zepnik, A. Pahler, U. Schauer and W. Dekant. Ochratoxin A-induced tumor formation: is there a role of reactive ochratoxin A metabolites? Toxicol.Sci. 2001; 59: 59-67

130 S. Obrecht-Pflumio, T. Chassat, G. Dirheimer and D. Marzin. Genotoxicity of ochratoxin A by *Salmonella* mutagenicity test after bioactivation by mouse kidney microsomes. Mutat. Res. 1999; 446: 95-102

131 P. Galtier and M. Alvinerie. *In vitro* transformation of ochratoxin A by animal microbial floras. Ann Rech Vet. 1976; 7: 91-98

132 R. Fuchs, K. Hult, M. Peraica, B. Radic and R. Plestina. Conversion of ochratoxin C into ochratoxin A in vivo. Appl Environ Microbiol. 1984; 48: 41-42

133 H. L. Trenk, M. E. Butz and F. S. Chu. Production of ochratoxins in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. Appl Microbiol. 1971; 21: 1032-1035

134 K. Gross-Steinmeyer, J. Weymann, H. G. Hege and M. Metzler. Metabolism and lack of DNA reactivity of the mycotoxin ochratoxin A in cultured rat and human primary hepatocytes. J.Agric.Food Chem. 2002; 50: 938-945

135 J. E. Jennings-Gee, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. S. Miller, A.

Pfohl-Leszkowicz and G. G. Schwartz. Ochratoxin A: *In utero* exposure in mice induces adducts in testicular DNA. Toxins. 2010; 2: 1428-1444

136 O. Storen, H. Holm and F. C. Stormer. Metabolism of ochratoxin A by rats. Appl. Environ. Microbiol. 1982; 44: 785-789

137 A. Mally, H. Zepnik, P. Wanek, E. Eder, K. Dingley, H. Ihmels, W. Volkel and W. Dekant. Ochratoxin A: lack of formation of covalent DNA adducts. Chem.Res.Toxicol. 2004; 17: 234-242

138 P. P. Sokol, G. Ripich, P. D. Holohan and C. R. Ross. Mechanism of ochratoxin A transport in kidney. J,Pharmacol.Exp.Ther. 1988; 246: 460-465

139 J. Dai, G. Park, J. L. Perry, Y. V. Il'ichev, D. A. J. Bow, J. B. Pritchard, V. Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, R. A. Manderville and J. D. Simon. Molecular aspects of the transport and toxicity of ochratoxin A. Acc.Chem.Res. 2004; 37: 874-881

140 M. Tsuda, T. Sekine, M. Takeda, S. H. Cha, Y. Kanai, M. Kimura and H. Endou. Transport of ochratoxin A by renal multispecific organic anion transporter 1. J Pharmacol Exp Ther. 1999; 289: 1301-1305

141 S. Subramanian, A. Kanthasamy, N. Balasubramanian, N. Sekar and S. Govindasamy. Ochratoxin A toxicity on carbohydrate metabolism in rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1989; 43: 180-184

142 A. D. Rahimtula and X. Chong. Alterations in calcium homeostasis as a possible cause of ochratoxin A nephrotoxicity. In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours (IARC Scientific Publications No. 115) Lyon: IARCPress. 1991; 207-214

143 R. C. Braunberg, O. Gantt, C. Barton and L. Friedman. *In vitro* effects of the nephrotoxins ochratoxin A and citrinin upon biochemical function of porcine kidney. Arch.Environ.Contam.Toxicol. 1992; 22: 464-470

144 E. E. Creppy, A. A. Lugnier, G. Beck, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Action of ochratoxin A on cultured hepatoma cells-reversion of inhibition by phenylalanine. FEBS Lett. 1979; 104: 287-290

145 E. E. Creppy, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Inhibition of protein synthesis in mice by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. Food Chem. Toxicol. 1984; 22: 883-886

146 E. E. Creppy, A. A. J. Lugnier, F. Fasiolo, K. Heller, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. In vitro inhibition of yeast phenylalanyl-tRNA synthetase by ochratoxin A. Chem.Biol.Interact. 1979; 24: 257-261

147 E. E. Creppy, M. Schlegel, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Phenylalanine prevents acute poisoning by ochratoxin A in mice. Toxicol.Lett. 1980; 6: 77-80

148 A. Roth, E. E. Creppy, A. Kane, H. Bacha, P. S. Steyn, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Influence of ochratoxin B on the ochratoxin A inhibition of phenylalanyl-tRNA formation in vitro and protein synthesis in hepatoma tissue culture cells. Toxicol.Lett. 1989; 45: 307-313

149 E. E. Creppy, D. Kern, P. S. Steyn, R. Vleggaar, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Comparative study of the effect of ochratoxin A analogues on yeast aminoacyl-tRNA synthetases and on the growth and protein synthesis of hepatoma cells. Toxicol.Lett. 1983; 19: 217-224

150 E. E. Creppy, F. C. Stormer, D. Kern, R. Roschenthaler and G. Dirheimer. Effects of ochratoxin A metabolites on yeast phenylalanyl-tRNA synthetase and on the growth and in vivo protein synthesis of hepatoma cells. Chem. Biol. Interactions. 1983; 47: 239-247

151 R. Roschenthaler, E. E. Creppy and G. Dirheimer. Ochratoxin A: On the mode of action of a ubiquitous mycotoxin. Toxin Reviews. 1984; 3: 53-86

152 E. E. Creppy, K. Chakor, M. J. Fisher and G. Dirheimer. The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and in vivo. Arch.Toxicol. 1990; 64: 279-284

153 A. D. Rahimtula, J. C. Bereziat, V. Bussacchini-Griot and H. Bartsch. Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. Biochem.Pharmacol. 1988; 37: 4469-4477

154 R. F. Omar, B. B. Hasinoff, F. Mejilla and A. D. Rahimtula. Mechanism of ochratoxin A stimulated lipid peroxidation. Biochem.Pharmacol. 1990; 40: 1183-1191

155 R. C. Braunberg, C. Barton, O. O. Gantt and L. Friedman. Interaction of ctrinin and ochratoxin A. Nat.Toxins. 1994; 2: 124-131

156 I. Baudrimont, A. M. Betbeder, A. Gharbi, A. Pfohl-Leszkowitcz, G. Dirheimer and E. E. Creppy. Effect of superoxide dismutase and catalase on the nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin A in rats. Toxicology. 1994; 89: 101-111

157 M. Gekle, H. Oberleithner and S. Silbernagl. Ochratoxin A impairs “postproximal” nephron function in vivo and blocks plasma membrane anion conductance in Madin-Darby canine kidney cells in vitro. Pflugers Arch. 1993; 425: 401-408

158 M. A. Albassam, S. I. Yong, R. Bhatnagar, A. K. Sharma and M. G. Prior. Histopathologic and electron microscopic studies on the acute toxicity of ochratoxin A in rats. Vet. Pathol. 1987; 424: 427-435

159 K. Chakor, E. E. Creppy and G. Dirheimer. In vivo studies on the relationship between hepatic metabolism and toxicity of ochratoxin A. Arch.Toxicol.Suppl. 1988; 12: 201-204

160 R. Verma and D. Chakraborty. Alterations in DNA, RNA and protein 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. Röschenthaler 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 cintaining 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 ultrastructual assessment. Mycopathologia. 2007; 163: 21-30

175 P. C. Prabu, P. Dwivedi and A. K. Sharma. Toxicopathological studies on the effects of aflatoxin B_1, 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)F_1 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: 288-298
193 P. G. Mantle. Minimum tolerable exposure period and maximum

threshold dietary intake of ochratoxin A for causing renal cancer in male Dark Agouti rats. Food Chem Toxicol. 2009; 47: 2419-2424

194 P. Mantle and E. Kulinskaya. Lifetime, low-dose ochratoxin A dietary study on renal carcinogenesis in male Fischer rats. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010; 27: 1566-1573

195 A. M. Bendele and W. W. Carlton. Incidence of obstructive uropathy in male $B6C3F_1$ mice on a 24-month carcinogenicity study and its apparent prevention by ochratoxin A. Lab. Anim. Sci. 1986; 36: 282-285

196 C. N. Rao. Obstructive uropathy in group caged male B6C3F1 mice on a 24-month carcinogenicity study. Lab. Anim. Sci. 1987; 37: 8-9

197 USEPA. Benchmark dose software (BMDS) version 1.4.1. http://www.epa.gov/ncea/bmds/about.html. 2007

198 FAO/WHO (Food and Agriculture Organisation/World Health Organisation), 2008. Ochratoxin A. In: Safety evaluation of certain food additives and contamination, Prepared by the 68th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 59, pp 354–437. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.

199 P. Mantle, E. Kulinskaya and S. Nestler. Renal tumourigenesis in male rats in response to chronic dietary ochratoxin A. Food Addit.Contam. 2005; 22 : 58-64

200 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Comission related to ochratoxin A in food. the EFSA Journal. 2006; 365: 1-56

201 R. G. Arora and H. Frölén. Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse. Ⅱ. Ochratoxin A induced teratogenic effects in relation to the dose and stage of gestation. Acta Vet. Scand. 1981; 22: 535-552

202 J. Singh and R. D. Hood. Maternal protein deprivation enhances the teratogenicity of ochratoxin A in mice. Teratology. 1985; 32: 381-388

203 Y. Fukui, S. Hayasaka, M. Itoh and Y. Takeuchi. Development of neurons and synapses in ochratoxin A-induced microcephalic mice: A quantitative assessment of somatosensory cortex. Neurotox. Teratol. 1992; 14: 191-196

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 (F_1 and F_2) 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 develpopmental 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 B_1. 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 B_1. 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 B_1. 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 cnestine 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. Knasmuller. 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 subtillis*. 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 B_1, in cell lines CHO and AWRF. 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

235 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, J. Schlatter, K. Wurth and C. Janzowski. Ochratoxin A: induction of (oxidative) DNA damage, cytotoxicity and apoptosis in mammalian cell lines and primary calls. Toxicology. 2005; 206: 413-425

236 Y. Simaro Doorten, S. Nijmeijer, L. d. Nijs-Tjon and J. Fink-Gremmels. Metabolism-mediated ochratoxin A genotoxicity in the single-cell gel electrophoresis (comet) assay. Food Chem. Toxicol. 2006; 44: 261-270

237 S. Lebrun, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann. Glutathione S-transferase polymorphisms and ochratoxin A toxicity in primary

human urothelial cells. Toxicology. 2006; 224: 81-90

238 L. Arbillaga, A. Azqueta, J. H. M. v. Delft and A. L. d. Cerain. *In vitro* gene expression data supporting a DNA non-reactive genotoxic mechanism for ochratoxin A. Toxicol.Appl.Pharmacol. 2007; 220: 216-224

239 L. Arbillaga, A. Azqueta, O. Ezpeleta and A. L. d. Cerain. Oxidative DNA damage induced by ochratoxin A in the HK-2 human kidney cell line: Evidence of the relationship with cytotoxity. Mutagenesis. 2007; 22: 35-42

240 S. Cosimi, L. Orta, S. Mateos and F. Cortés. The mycotoxin ochratoxin A inhibits DNA topoisomerase II and induces polyploidy in cultured CHO cells. Toxicol. In Vitro. 2009; 23: 1110-1115

241 H. Mori, K. Kawai, F. Ohbayashi, T. Kuniyasu, M. Yamazaki, T. Hamasaki and G. M. Williams. Genotoxicity of a variety of mycotoxins in the hepacyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. Cancer Res. 1984; 44: 2918-2923

242 A. Dorrenhaus and W. Föllmann. Effects of ochratoxin A on DNA repair in cultures of rat hepatocytes and porcine urinary bladder epithelial cells. Arch.Toxicol. 1997; 71: 709-713

243 A. Flieger, A. Dorrenhaus, K. Golka, H. Schulze and W. Föllmann. Genotoxic effect of the mycotoxin ochratoxin A in cultured human urothelial cells. Occup.Hyg. 1998; 4: 297-307

244 A. Dorrenhaus, A. Flieger, K. Golka, H. Schlze, M. Albrecht, G. H. Degen and W. Föllmann. Induction of unscheduled DNA synthesis in primary human urothelial cells by the mycotoxin ochratoxin A. Toxicol.Sci. 2000; 53: 271-277

245 R. Cooray. Effects of some mycotoxins on mitogen-induced blastogenesis and SCE frequency in human lymphocytes. Food Chem. Toxicol. 1984; 22: 529-534

246 D. Kumari and S. P. Sinha. Effect of retinol on ochratoxin-produced genotoxicity in mice. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 471-475

247 S. Bose and S. P. Sinha. Modulation of ochratoxin-produced genotoxicity in mice by vitamin C. Food Chem. Toxicol. 1994; 32: 533-537

248 A. Mally, G. Pepe, S. Ravoori, M. Fiore, R. C. Gupta, W. Dekant and P. Mosesso. Ochratoxin A causes DNA damge and cytogenetic effects but no DNA adducts in rats. Chem.Res.Toxicol. 2005; 18: 1253-1261

249 A. Bouslimi, C. Bouaziz, I. Ayed-Boussema, W. Hassen and H. Bacha. Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability and DNA fragmentation in cultured Vero cells and on

chromosome aberrations in mice bone marrow cells. Toxicology. 2008; 251: 1-7

250 A. Kane, E. E. Creppy, A. Roth, R. Röschenthaler and G. Dirheimer. Distribution of the [^{3}H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver and kidneys. Arch.Toxicol. 1986; 58: 219-224

251 H. G. Kamp, G. Eisenbrand, C. Janzowski, J. Kiossev, J. R. Latendresse, J. Schlatter and R. J. Turesky. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage in liver and kidney after oral dosing to rats. Mol. Nutr. Food Res. 2005; 49: 1160-1167

252 D. Zeijezic, A.-M. Domijan and M. Peraica. DNA damage by ochratoxin A in rat kidney assessed by the alkaline comet assay. Braz. J. Med. Biol. Res. 2006; 39: 1563-1568

253 D. Hibi, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, M. Watanabe, Y. Sugita-Konishi, T. Yanai, T. Nohmi, A. Nishikawa and T. Umemura. Site-specific *in vivo* mutagenicity in the kidney of *gpt* delta rats given a carcinogenic dose of ochratoxin A. Toxicol Sci. 2011; 122: 406-414

254 J. Reiss. Detection of genotoxic properties of mycotoxins with the SOS chromotest. Naturwissenschaftern. 1986; 73: 677-678

255 V. Sava, O. Reunova, A. Velasquez, R. Harbison and J. Sanchez-Ramos. Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin-A. Neurotoxicology. 2006; 27: 82-92

256 A. Belmadani, G. Tramu, A. M. Betbeder and E. E. Creppy. Subchronic effects of ochratoxin A on young adult rat and partial prevention by aspartame, a sweetner. Hum. Exp. Toxicol. 1998; 17: 380-386

257 T. Zanic-Grubisic, A. Santini, I. Cepelak, K. Barisic, D. Juretic and S. Pepeljnjak. Influence of ochratoxin A treatment on the activity of membrane bound enzymes in rat brain regions. Biol. Chem. Hoppe Seyler. 1996; 377: 121-127

258 P. M. Dortant, G. W. M. Peters-Volleberg, H. V. Loveren, R. R. Marquardt and G. J. A. Speijers. Age-related differences in the toxicity of ochratoxin A in female rats. Food Chem. Toxicol. 2001; 39: 55-65

259 N. Delibas, I. Altuntas, Z. Yonden and N. Ozcelik. Ochratoxin A reduces NMDA receptor subunits 2A and 2B concentrations in rat hippocampus: partial protective effect of melatonin. Hum. Exp. Toxicol. 2003; 22: 335-339

260 J. Liu, Y. Wang, J. Cui, L. Xing, H. Shen, S. Wu, H. Lian, J. Wang, X. Yan and X. Zhang. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage and G1 phase arrest in human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. Toxicol Lett. 2012; 211: 164-171

261 M. G. Prior and C. S. Sisodia. The effects of ochratoxin A on the immune response of Swiss mice. Can. J. Comp. Med. 1982; 46: 91-96
262 A. Thuvander, A. Breitholtz-Emanuelsson, D. Brabencova and I. Gadhasson. Prenatal exposure of Balb/c mice to ochratoxin A: Effects on the immune system in the offspring. Food Chem. Toxicol. 1996; 34: 547-554
263 A. Thuvander, E. Funseth, A. Breitholtz-Emanuelsson, I. P. Hallen and A. Oskarsson. Effects of ochratoxin A on the rat immune system after perinatal exposure. Nat. Toxins. 1996; 4: 141-147
264 L. Alvarez, A. G. Gil, O. Ezpeleta, J. A. Garcia-Jalon and A. L. d. Cerain. Immunotoxic effects of ochratoxin A in Wistar rats after oral administration. Food Chem. Toxicol. 2004; 42: 825-834
265 M. Kanisawa, S. Suzuki, Y. Kozuka and M. Yamazaki. Histopathological studies on the toxicity of ochratoxin A in rats Ⅰ. Acute oral toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1977; 42: 55-64
266 P. Dwivedi and R. B. Burns. Pathology of ochratoxicosis A in young broiler chicks. Res.Vet.Sci. 1984; 36: 92-103
267 V. Rupic, B. Liker, S. Muzic, C. Bogdanic and I. Balzer. [The effects of ochratoxin A in feed on the blood content of lipids and proteins in chickens.]. [in Serbo-Croatian]. Arh. Hig. Rada. Toxsikol. 1978; 29: 139-145
268 P. Dwivedi and R. B. Burns. Effect of ochratoxin A on immunoglobulins in broiler chicks. Res. Vet. Sci. 1984; 36: 117-121
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. Immnosuppression 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 carcigenocity 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. J. Paugh and R. A. Manderville. Structure-activity relationships imply different mechanisms of action for ochratoxin A-mediated cytotoxicity and genotoxicity. Chem Res Toxicol. 2012; 25: 181-190

291 R. A. Manderville. A case for the genotoxicity of ochratoxin A by bioactivation and covalent DNA adduction. Chem. Res. Toxicol. 2005; 18: 1091-1097

292 J. Dai, M. W. Wright and R. A. Manderville. Ochratoxin A forms a carbon-bonded C8-deoxyguanosine nucleoside adduct: implications for C8 reactivity by a phenolic radical. J Am Chem Soc. 2003; 125: 3716-3717

293 P. G. Mantle, V. Faucet-Marquis, R. A. Manderville, B. Squillaci and A. Pfohl-Leszkowicz. Structures of covalent adducts between DNA and ochratoxin A: A new factor in debate about genotoxicity and human risk assessment. Chem Res Toxicol. 2010; 23: 89-98

294 V. Faucet, A. Pfohl-Leszkowicz, J. Dai, M. Castegnaro and R. A. Manderville. Evidence for covalent DNA adduction by ochratoxin A following chronic exposure to rat and subacute exposure to pig. Chem. Res. Toxicol. 2004; 17: 1289-1296

295 M. Tozlovanu, V. Faucet-Marquis, A. Pfohl-Leszkowicz and R. A. Mandeville. Genotoxicity of the hydroquinone metabolite of ochratoxin A: Structure-activity relationships for covalent DNA adduction.

Chem.Res.Toxicol. 2006; 19: 1241-1247
296 A. Mally and W. Dekant. DNA adduct formation by ochratoxin A: review of the available evidence. Food Addit. Contam. 2005; 22: 65-74
297 R. J. Turesky. Perspective: ochratoxin A is not a genotoxic carcinogen. Chem. Res. Toxicol. 2005; 18: 1082-1090
298 A. Pfohl-Leszkowicz, K. Chakor, E. E. Creppy and G. Dirheimer. DNA adduct formation in mice treated with ochratoxin A. In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Lyon, France, Internationak Agency for Research on Cancer (IARC Scientific Publications No. 115). 1991; 245-253
299 T. Delatour, A. Mally, J. Richoz, S. Ozden, W. Dekant, H. Ihmels, D. Otto, D. Gasparutto, M. Marin-Kuan, B. Schilter and C. Cavin. Absence of 2'-deoxyguanosine-carbon 8-bound ochratoxin A adduct in rat kidney DNA monitored by isotope dilution LC-MS/MS. Mol. Nutr. Food Res. 2008; 52: 472-482
300 A. Pfohl-Leszkowicz, H. Bartsch, B. Azemar, U. Mohr, J. Esteve and M. Castegnaro. MESNA protects rats against nephrotoxicity but not carcinogenicity induced by ochratoxin A, implicating two separate pathways. Med. Biol. 2002; 9: 57-63
301 A. Pfohl-Leszkowicz, Y. Grosse, A. Kane, E. E. Creppy and G. Dirheimer. Differential DNA adduct formation and disappearance in three mouse tissues after treatment with the mycotoxin ochratoxin A. Mutat Res. 1993; 289: 265-273
302 A. Pfohl-Leszkowicz, W. Gabryelski and R. A. Manderville. Formation of 2'-deoxyguanosine-carbon 8-bound ochratoxin A adduct in rat kidney DNA. Mol Nutr Food Res. 2009; 53: 154-155; author reply 156-157
303 D. Hibi, A. Kijima, K. Kuroda, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, M. Nakajima, Y. Sugita-Konishi, T. Yanai, T. Nohmi, A. Nishikawa and T. Umemura. Molecular mechanisms underlying ochratoxin A-induced genotoxicity: global gene expression analysis suggests induction of DNA double-strand breaks and cell cycle progression. J Toxicol Sci. 2013; 38: 57-69
304 D. Hibi, A. Kijima, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, Y. Sugita-Konishi, T. Yanai, A. Nishikawa and T. Umemura. Effects of p53 knockout on ochratoxin A-induced genotoxicity in p53-deficient gpt delta mice. Toxicology. 2013; 304: 92-99
305 J. A. Swenberg and R. R. Maronpot. Chemically induced cell proliferation as a criterion in selecting doses for long-term bioassays.

In: Chemically Induced Cell Proliferation: Implications for Risk Assessment ,New York: Wiley-Liss. 1991; 245-251

306 D. R. Dietrich and J. A. Swenberg. Renal carcinogenesis. In: Hook, J.B. and Goldstein, R.S., eds, Toxicology of the Kidney., New York: Raven Press. 1993; 495-537

307 G. C. Hard. Mechanisms of chemically induced renal carcinogenesis in the laboratory rodent. Toxicol. Pathol. 1998; 26: 104-112

308 M. Marin-Kuan, V. Ehrlich, T. Delatour, C. Cavin and B. Schilter. Evidence for a role of oxidative stress in the carcinogenicity of ochratoxin A. J Toxicol. 2011; 2011: 645361

309 C. Cavin, T. Delatour, M. Marin-Kuan, F. Fenaille, D. Holzhauser, G. Guignard, C. Bezencon, D. Piguet, V. Parisod, J. Richoz-Payot and B. Schilter. Ochratoxin A-mediated DNA and protein damage: roles of nitrosative and oxidative stresses. Toxicol Sci. 2009; 110: 84-94

310 D. Hoehler, R. R. Marquardt, A. R. McIntosh and G. M. Hatch. Induction of free radicals in hepatocytes, mitochondria and microsomes of rats by ochratoxin A and its analogs. Biochim. Biophys. Acta. 1997; 1357: 225-233

311 H. Xiao, S. Madhyastha, R. R. Marquardt, S. Li, J. K. Vodela, A. A. Frohlich and B. W. Kemppainen. Toxicity of ochratoxin A, its opened lactone form and several of its analogs: Structure-activity relationships. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1996; 137: 182-192

312 G. J. Schaaf, S. M. Nijmeijer, R. F. Maas, P. Roestenberg, E. M. d. Groene and J. Fink-Gremmels. The role of oxidative stress in the ochratoxin A-mediated toxicity in proximal tubular cells. Biochim Biophys Acta. 2002; 1588: 149-158

313 C. Cavin, T. Delatour, M. Marin-Kuan, D. Holzhauser, L. Higgins, C. Bezencon, G. Guignard, S. Junod, J. Richoz-Payot, E. Gremaud, J. D. Hayes, S. Nestler, P. Mantle and B. Schilter. Reduction in antioxidant defences may contribute to ochratoxin A toxicity and carcinogenicity. Toxicol.Sci. 2007; 96: 30-39

314 C. Boesch-Saadatmandi, A. E. Wagner, A. C. Graeser, C. Hundhausen, S. Wolffram and G. Rimbach. Ochratoxin A impairs Nrf2-dependent gene expression in porcine kidney tubulus cells. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 2009; 93: 547-554

315 C. Boesch-Saadatmandi, A. Loboda, A. Jozkowicz, P. Huebbe, R. Blank, S. Wolffram, J. Dulak and G. Rimbach. Effect of ochratoxin A on redox-regulated transcription factors, antioxidant enzymes and glutathione-S-transferase in cultured kidney tubulus cells. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 2665-2671

316 X. L. Shen, Y. Zhang, W. Xu, R. Liang, J. Zheng, Y. Luo, Y. Wang and K. Huang. An iTRAQ-based mitoproteomics approach for profiling the nephrotoxicity mechanisms of ochratoxin A in HEK 293 cells. J Proteomics. 2013; 78: 398-415

317 Y. Grosse, L. Chekir-Ghedira, A. Huc, S. Obrecht-Pflumio, G. Dirheimer, H. Bacha and A. Pfohl-Leszkowicz. Retinol, ascorbic acid and alpha-tocopherol prevent DNA adduct formation in mice treated with the mycotoxins ochratoxin A and zearalenone. Cancer Lett. 1997; 114: 225-229

318 M. C. Guerra, F. Galvano, L. Bonsi, E. Speroni, S. Costa, C. Renzulli and R. Cervellati. Cyanidin-3-O-beta-glucopyranoside, a natural free-radical 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 B_1 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

328 K. Czakai, K. Muller, P. Mosesso, G. Pepe, M. Schulze, A. Gohla, D. Patnaik, W. Dekant, J. M. Higgins and A. Mally. Perturbation of mitosis through inhibition of histone acetyltransferases: the key to ochratoxin a toxicity and carcinogenicity? Toxicol Sci. 2011; 122: 317-329

329 Y. Wang, J. Liu, J. Cui, L. Xing, J. Wang, X. Yan and X. Zhang. ERK and p38 MAPK signaling pathways are involved in ochratoxin A-induced G2 phase arrest in human gastric epithelium cells. Toxicol Lett. 2012; 209: 186-192

330 M. Adler, K. Müller, E. Rached, W. Dekant and A. Mally. Modulation of key regulators of mitosis linked to chromosomal instability is an early event in ochratoxin A carcinogenicity. Carcinogenesis. 2009; 30: 711-719

331 C. B. Lim, D. Zhang and C. G. Lee. FAT10, a gene up-regulated in various cancers, is cell-cycle regulated. Cell Div. 2006; 1: 20

332 E. Taniai, H. Hayashi, A. Yafune, M. Watanabe, H. Akane, K. Suzuki, K. Mitsumori and M. Shibutani. Cellular distribution of cell cycle-related molecules in the renal tubules of rats treated with renal carcinogens for 28 days: relationship between cell cycle aberration and carcinogenesis. Arch Toxicol. 2012; 86: 1453-1464

333 E. Taniai, A. Yafune, H. Hayashi, M. Itahashi, Y. Hara-Kudo, K. Suzuki, K. Mitsumori and M. Shibutani. Aberrant activation of ubiquitin D at G_2 phase and apoptosis by carcinogens that evoke cell proliferation after 28-day administration in rats. J Toxicol Sci. 2012; 37: 1093-1111

334 C. Sauvant, H. Holzinger and M. Gelke. The nephrotoxin ochratoxin A induces key parameters of chronic interstitial nephropathy in renal proximal tubular cells. Cell physiol. Biochem. 2005; 15: 125-134

335 G. Schwerdt, H. Holzinger, C. Sauvant, M. Königs, H.-U. Humpt and

M. Gekle. Long-term effects of ochratoxin A on fibrosis and cell death in human proximal tubule of fibroblast cells in primary culture. Toxicology. 2007; 232: 57-67

336 C. Sauvant, H. Holzinger, S. Mildenberger and M. Gekle. Exposure to nephrotoxic ochratoxin A enhances collagen secretion in human renal proximal tubular cells. Mol. Nutr. Food Res. 2005; 49: 31-37

337 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguet, T. Delatour, P. Mantle, C. Cavin and B. Schilter. MAPK-ERK activation in kidney of male rats chronically fed ochratoxin A at a dose causing a significant incidence of ranal carcinoma. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2007; 224: 174-181

338 K. Stemmer, H. Ellinger-Ziegelbauer, H. J. Ahr and D. R. Dietrich. Carcinogen-specific gene expression profiles in short-term treated Eker and wild type rats indicative of pathways involved in renal tumorigenesis. Cancer Res. 2007; 67: 4052-4068

339 A. Luhe, H. Hildebrand, U. Bach, T. Dingermann and H. J. Ahr. A new approach to studying ochratoxin A (OTA)-induced nephrotoxicity: expression profiling *in vivo* and *in vitro* employing cDNA microarrays. Toxicol Sci. 2003; 73: 315-328

340 M. Marin-Kuan, S. Nestler, C. Verguet, C. Bezencon, D. Piguet, R. Mansourian, J. Holzwarth, M. Grigorov, T. Delatour, P. Mantle, C. Cavin and B. Schilter. A toxicogenomics approach to identify new plausible epigenetic mechanisms of ochratoxin A carcinogenecity in rat. Toxicol.Sci. 2006; 89: 120-134

341 P. Jennings, C. Weiland, A. Limonciel, K. M. Bloch, R. Radford, L. Aschauer, T. McMorrow, A. Wilmes, W. Pfaller, H. J. Ahr, C. Slattery, E. A. Lock, M. P. Ryan and H. Ellinger-Ziegelbauer. Transcriptomic alterations induced by ochratoxin A in rat and human renal proximal tubular in vitro models and comparison to a rat in vivo model. Arch Toxicol. 2012; 86: 571-589

342 Y. Ueno. Residue and risk of ochratoxin A in human plasma and beverages in Japan. Mycotoxins. 1998; 47: 25-32

343 J. Postupolski, K. Karlowski and P. Kubik. Ochratoxin A in maternal and foetal blood and in maternal milk. Rocz.Panstw.Zaki.Hig.. 2006; 57: 23-30

344 C. M. Lino, M. L. Baeta, M. Henri, A. M. P. Dinis, A. S. Pena and M. I. N. Silveira. Levels of ochratoxin A in serum from urban and rural Portuguese populations and estimation of exposure degree. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 879-885

345 K. Munoz, M. Vega, G. Rios, S. Munoz and R. Madariaga. Preliminary

study of ochratoxin A in human plasma in agricultural zones of Chile and its relation to food consumption. Food Chem. Toxicol. 2006; 44: 1884-1889

346 A. M. Pacin, E. V. C. Bovier, E. Motta, S. L. Resnik, D. Villa and M. Olsen. Survey of Argentinean human plasma for ochratoxin A. Food Addit.Contam. 2008; 25: 635-641

347 P. Erkekoglu, S. Sabuncuoglu, S. Aydin, G. Sahin and B. Giray. Determination of seasonal variations in serum ochratoxin A levels in healthy population living in some regions of Turkey by enzyme-linked immunosorbent assay. Toxicon. 2010; 55: 507-513

348 M. B. Coronel, V. Sanchis, A. J. Ramos and S. Marin. Assessment of the exposure to ochratoxin A in the province of Lleida, Spain. Food Chem Toxicol. 2009; 47: 2847-2852

349 A. Medina, E. M. Mateo, R. J. Roig, A. Blanquer and M. Jimenez. Ochratoxin A levels in the plasma of healthy blood donors from Valencia and estimation of exposure degree: comparison with previous national Spanish data. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010; 27: 1273-1284

350 A. Stachurska, M. Kozakowska, A. Jozkowicz, J. Dulak and A. Loboda. Aristolochic acid I and ochratoxin A differentially regulate VEGF expression in porcine kidney epithelial cells-The involvement of SP-1 and HIFs transcription factors. Toxicol Lett. 2011; 204: 118-126

351 M. Pascale and A. Visconti. Rapid method for the determination of ochratoxin A in urine by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. Mycopathologia. 2001; 152: 91-95

352 J. Gilbert, P. Brereton and S. MacDonald. Assessment of dietary exposure to ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. Food Addit.Contam. 2001; 18: 1088-1093

353 B. Fazekas, A. Tar and M. Kovacs. Ochratoxin A content of urine samples of healthy humans in Hungary. Acta Vet.Hung. 2005; 53: 35-44

354 A. Pena, M. Seifrtova, C. Lino, I. Silveira and P. Solich. Estimation of ochratoxin A in Portuguese population: new data on the occurrence in human urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Food Chem. Toxicol. 2006; 44: 1449-1454

355 S. C. Duarte, M. R. Alves, A. Pena and C. M. Lino. Determinants of ochratoxin A exposure--a one year follow-up study of urine levels. Int J Hyg Environ Health. 2012; 215: 360-367

356 G. Biasucci, G. Calabrese, R. D. Giuseppe, G. Carrara, F. Colombo, B. Mandelli, M. Maj, T. Bertuzzi, A. Pietri and F. Rossi. The presence of ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with maternal dietary habits. Eur J Nutr. 2011; 50: 211-218

357 K. Munoz, K. M. Wollin, H. Kalhoff and G. H. Degen. [Occurrence of the mycotoxin ochratoxin a in breast milk samples from Germany]. [in German]. Gesundheitswesen. 2013; 75: 194-197

358 J. W. Jonker, G. Merino, S. Musters, A. E. v. Herwaarden, E. Bolscher, E. Wagenaar, E. Mesman, T. C. Dale and A. H. Schinkel. The breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2) concentrates drugs and carcinogenic xenotoxins into milk. Nat.Med. 2005; 11: 127-129

359 J. Schrickx, Y. Lektarau and J. Fink-Gremmels. Ochratoxin A secretion by ATP-dependent membrane transporters in Caco-2 cells. Arch.Toxicol. 2006; 80: 243-249

360 A. E. v. Herwaarden, E. Wagenaar, B. Karnekamp, G. Merino, J. W. Jonker and A. H. Schinkel. Breast cancer resistance protein (Brcp1/Abcg2) reduced systemic exposure of the dietary carcinogens aflatoxin B1, IQ and Trp-P-1 but also mediates their secretion into breast milk. Carcinogenesis. 2006; 27: 123-130

361 W. Hassen, S. Abid, A. Achour, E. Creppy and H. Bacha. Ochratoxin A and beta2-microglobulinuria in healthy individuals and in chronic nephropathy patients in the centre of Tunisia: a hot spot of ochratoxin A exposure. Toxicology. 2004; 199: 185-193

362 A. M. Hassan, H. A. Sheashaa, M. F. A. Fattah, A. Z. Ibrahim, O. A. Gaber and M. A. Sobh. Study of ochratoxin A as an environmental risk that causes renal injury in breast-fed Egyptian infants. Pediatr. Nephrol. 2006; 21: 102-105

363 L. Iacumin, L. Chiesa, D. Boscolo, M. Manzano, C. Cantoni, S. Orlic and G. Comi. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. Food Microbiol. 2009; 26: 65-70

364 A. Breitholtz, M. Olsen, A. Dahlback and K. Hult. Plasma ochratoxin A levels in three Swedish populations surveyed using an ion-pair HPLC technique. Food Addit Contam. 1991; 8: 183-192

365 V. Stefanovic, D. Toncheva, S. Atanasova and M. Polenakovic. Etiology of Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer. Am.J.Nephrol. 2006; 26: 1-11

366 S. Ceovic, A. Hrabar and M. Saric. Epidemiology of Balkan endemic nephropathy. Food Chem. Toxicol. 1992; 30: 183-188

367 M. Radonic, Z. Radosevic and V. Zupanic. Endemic nephropathy in Yugoslavia. "In: The kidney, Baltimore: Williams & Wilkins". 1966;

503-522

368 C. A. Tatu, W. H. Orem, R. B. Finkelman and G. L. Feder. The etiology of Balkan endemic nephropathy: still more questions than answers. Environ Health Perspect. 1998; 106: 689-700

369 A. P. Grollman and B. Jelakovic. Role of environmental toxins in endemic (Balkan) nephropathy. J.Am.Soc.Nephrol. 2007; 18: 2817-2823

370 T. Petkova-Bocharova, I. N. Chernozemsky and M. Castegnaro. Ochratoxin A in human blood in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary system tumours in Bulgaria. Food Addit.Contam. 1988; 5: 299-301

371 M. Castegnaro, H. Bartsch and I. Chernozemsky. Endemic nephropathy and urinary tract tumors in the Balkans. Cancer Res. 1987; 47: 3608-3609

372 I. S. Stoyanov, I. N. Chernozemsky, I. G. Nicolov, I. I. Stoichev and T. K. Petkova-Bocharova. Epidemiologic association between endemic nephropathy and urrinary system tumours in an endemic region. J.Chron.Dis. 1978; 31: 721-724

373 M. Vukelic, B. Sostaric and M. Belicza. Pathomorphology of Balcan endemic nephropathy. Food Chem. Toxicol. 1992; 30: 193-200

374 G. Borso. Characteristecs of clinical data on endemic nephropathy. "In: Cvorisec,D., Ceovic,S. and Stavljenic-Rucavina,A., eds, Endemic Nephropathy in Croatia, Zagreb: Academia Croatia Scientiarum Medicarum". 1996; 73-75

375 M. Vukelic, B. Sostaric and R. Fuchs. Some pathomorphological features of Balcan endemic nephropathy in Croatia. "In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. & Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours . (IARC Scientific Publication No. 115), Lyon: IAPCPress". 1991; 37-42

376 A. Mally, G. C. Hard and W. Dekant. Ochratoxin A as a potential etiologic factor in endemic nephropathy: lessons from toxicity studies in rats. Food Chem. Toxicol. 2007; 45: 2254-2260

377 I. G. Nicolov, I. N. Chernozemsky, T. Petkova-Bocharova, I. S. Stoyanov and I. I. Stoichev. Epidemiologic characteristics of urinary system tumors and Balkan nephropathy in an endemic region of Bulgaria. Eur.J.Cancer. 1978; 14: 1237-1242

378 S. Ceovic and M. Miletic-Medved. Epidemiological features of endemic nephropathy in tha focal area of Brodska Posavina, Croatia. "In: Cvorisec,D., Ceovic,S. and Stavljenic-Rukavina,A., eds, Endemic

Nephropathy in Croatia. Zagreb: Academia Croatia Scientiarum Medicarum.". 1996; 7-21

379 B. Sostaric and M. Vukelic. Characteristics of urinary tract tumours in the area of Balkan endemic nephropathy in Croatia. "In: Castegnaro,M., Plestina,R., Dirheimer,G., Chernozemsky,I.N. and Bartsch,H., eds, Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours (IARC Scientific Publications No. 115), Lyon: IARCPress". 1991; 29-35

380 M. Djokic, J. Hadzi-Djokic, J. Nikolic, D. Dragicevic and D. Radivojevic. [Comparison of upper urinary tract tumors in the region of Balkan endemic nephropathy with those in other Yugoslav regions.][in French]. Prog. Urol. 1999; 9: 61-68

381 A. Schiller, P. Gusbeth-Tatomir, N. Pavlovic, D. Ferluga, G. Spasovski and A. Covic. Balkan endemic nephropathy: a still unsolved puzzle. J.Nephrol. 2008; 21: 673-680

382 R. Plestina, S. Ceovic, S. Gatenbeck, V. Habazin-Novak, K. Hult, E. Hokby, P. Krogh and B. Radic. Human exposure to ochratoxin A in areas of Yugoslavia with endemic nephropathy. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 1990; 10: 145-148

383 M. Pavlovic, R. Plestina and P. Krogh. Ochratoxin A contamination of foodstuffs in an area with Balkan (endemic) nephropathy. Acta Pathol. Microbiol. Scand. B. 1979; 87: 243-246

384 K. Hult, R. Plestina, V. Habazin-Novak, B. Radic and S. Ceovic. Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy. Arch.Toxicol. 1982; 51: 313-321

385 K. Maaroufi, A. Achour, M. Hammami, M. e. May, A. M. Betbeder, F. Ellouz, E. E. Creppy and H. Bacha. Ochratoxin A in human blood in relation to nephropathy in Tunisia. Hum Exp Toxicol. 1995; 14: 609-614

386 A. Pfohl-Leszkowicz, M. Tozlovanu, R. Manderville, M. Peraica, M. Castegnaro and V. Stefanovic. New molecular and field evidences for the implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy and urinary tract tumor. Mol. Nutr. Food Res. 2007; 51: 1131-1146

387 M. Peraica, A. M. Domijan, M. Miletic-Medved and R. Fuchs. The involvement of mycotoxins in the development of endemic nephropathy. Wien Klin Wochenschr. 2008; 120: 402-407

388 M. E. De Broe. Chinese herbs nephropathy and Balkan endemic nephropathy: toward a single entity, aristolochic acid nephropathy. Kidney Int. 2012; 81: 513-515

389 A. P. Grollman, S. Shibutani, M. Moriya, F. Miller, L. Wu, U. Moll, N. Suzuki, A. Fernandes, T. Rosenquist, Z. Medverec, K. Jakovina, B. Brdar, N. Slade, R. J. Turesky, A. K. Goodenough, R. Rieger, M. Vukelic and B. Jelakovic. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104: 12129-12134

390 V. Stefanovic and M. Polenakovic. Fifty years of research in Balkan endemic nephropathy: where are we now? Nephron Clin. Pract. 2009; 112: c51-56

391 W. Karmaus, P. Dimitrov, V. Simeonov, S. Tsolova, A. Bonev and R. Georgieva. Metals and kidney markers in adult offspring of endemic nephropathy patients and controls: a two-year follow-up study. Environ.Health. 2008; 7:11

392 堀井幸江, 橋口知一, 伊木由香理, 須藤茂俊. LC/MS/MS による国産ワイン中のオクラトキシン A の分析. J. ASEV Jpn. 2010; 21: 3-7

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補助金研究事業. 2010

394 Y. Sugita-Konishi, Y. Kamata, T. Sato, T. Yoshinari and S. Saito. Exposure and risk assessment for ochratoxin A and fumonisins in Japan. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2013; 30: 1392-1401

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、ゼアラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2006

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、ゼアラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2007

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、ゼアラレノン）の汚染実態調査報告書. . 2010

398 農林水産省. 国産穀類のかび毒実態調査結果. http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/kabidoku/tyosa/pdf/14_23.pdf.

399 H. Sakuma, Y. Watanabe, H. Furusawa, T. Yoshinari, H. Akashi, H. Kawakami, S. Saito and Y. Sugita-Konishi. Estimated dietary exposure to mycotoxins after taking into account the cooking of staple foods in Japan. Toxins. 2013; 5: 1032-1042

400 A. Fernandes, N. Ratola, A. Cerdeira, A. Alves and A. Venancio. Changes in ochratoxin A concentration during winemaking. Am. J. Enol. Viticult. 2007; 58: 92-96

401 S.-L. Leong, A. D. Hocking and E. S. Scott. Effect of temperature and water activity on growth and ochratoxin A production by Australian *Aspergillus carbonarius* and *A.niger* isolates on a simulated grape juice medium. Int.J.Food Microbiol. 2006; 110: 209-216

402 S.-L. Leong, A. D. Hocking and E. S. Scott. The effect of juice clarification, static or rotary fermentation and fining on ochratoxin A in wine. Aust. J. Grape Wine Res. 2006; 12: 245-251

403 A. Caridi, F. Galvano, A. Tafuri and A. Ritieni. Ochratoxin A removal during winemaking. Enzyme Microb. Technol. 2006; 40: 122-126

404 H. M. Kurtbay, Z. Bekçi, M. Merdivan and K. Yurdakoç. Reduction of ochratoxin A levels in red wine by bentonite, modified bentonites, and chitosan. J. Agric. Food Chem. 2008; 56: 2541-2545

405 S. Romani, G. G. Pinnavaia and M. D. Rosa. Influence of roasting levels on ochratoxin A content in coffee. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 5168-5171

406 E. A. Nehad, M. M. Farag, M. S. Kawther, A. K. M. Abdel-Samed and K. Naguib. Stability of ochratoxin A (OTA) during processing and decaffeination in commercial roasted coffee beans. Food Addit.Contam. 2005; 22: 761-767

407 A. P. d. Obanos, E. Gonzalez-Penas and A. L. d. Cerain. Infuluence of roasting and brew preparation on the ochratoxin A content in coffee infusion. Food Addit.Contam. 2005; 22: 463-471

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. 1994; 11: 23

409 P. Manda, D. S. Dano, J. H. Kouadio, A. Diakite, B. Sangae-Tigori, M. J. M. Ezoulin, A. Soumahoro, A. Dembele and G. Fourny. Impact of industrial treatments on ochratoxin A content in artificially contaminated cocoa beans. Food Addit.Contam. 2009; 26: 1081-1088

410 K. A. Scudamore, J. Banks and S. J. MacDonald. Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production . Food Addit.Contam. 2003; 20: 1153-1163

411 M. Valle-Algarra, E. M. Mateo, A. Medina, F. Mateo, J. V. Gimeno-Adelantado and M. Jimenez. Changes in ochratoxin A and type B trichothecenes contained in wheat flour during dough fermentation and bread-baking. Food Addit.Contam. 2009; 26: 896-906

412 K. A. Scudamore, J. N. Banks and R. C. E. Guy. Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grain during extrusion. Food Addit.Contam. 2004; 21: 488-497

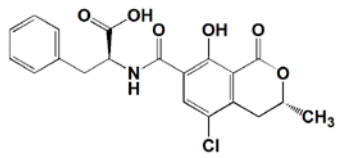
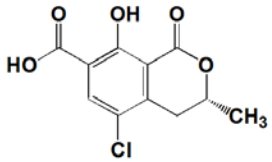
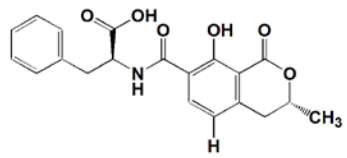
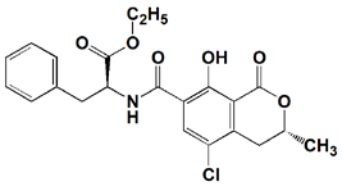
413 M. Castells, S. Marin, V. Sanchis and A. J. Ramos. Fate of mycotoxins

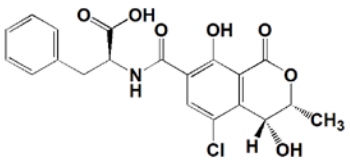
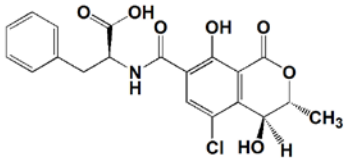
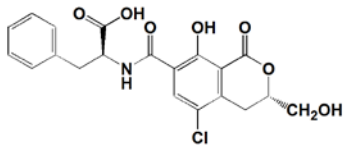
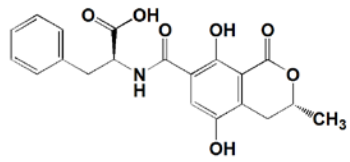
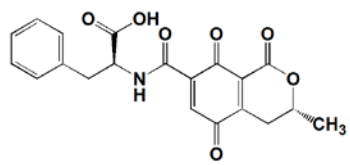
in cereals during extrusion cooking: a review. Food Addit.Contam. 2005; 22: 150-157

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

＜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	N-[[(3*R*)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]- L-フェニルアラニン N-[[(3*R*)-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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	(3*R*)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-カルボン酸 (3*R*)-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-2-benzopyran-7-carboxylic acid
	分子式	$C_{11}H_9ClO_5$
	分子量	256.64
	CAS No.	19165-63-0
OTB 	名称	N-[[(3*R*)-3,4,5-トリヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]- L-フェニルアラニン N-[[(3*R*)-3,4,5-trihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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	N-[[(3*R*)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-8-ヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-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 N-[[(3*R*)-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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*R*-OH-OTA 	名称	N-[[(3*R*,4*R*)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-4,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン N-[[(3*R*,4*R*)-5-chloro-3,4-dihydro-4,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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*S*-OH-OTA 	名称	N-[[(3*R*,4*S*)-5-クロロ-3,4-ジヒドロ-4,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン N-[[(3*R*,4*S*)-5-chloro-3,4-dihydro-4,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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	N-[[(3*R*)-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-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン N-[[(3*R*)-5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-hydroxymethyl-1-oxo-1H-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	N-[[(3*R*)-3,4-ジヒドロ-5,8-ジヒドロキシ-3-メチル-1-オキソ-1H-2-ベンゾピラン-7-イル]カルボニル]-L-フェニルアラニン N-[[(3*R*)-3,4-dihydro-5,8-dihydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-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	N-[[(3*R*)-3,4,5,8-テトラヒドロ-3-メチル-1,5,8-トリオキソ-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 N-[[(3*R*)-3,4,5,8-tetrahydro-3-methyl-1,5,8-trioxo-1H-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に直面している。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）

〇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。

〇非発がん影響と発がん影響の評価は独立して実施する。

〇原則として、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。

〇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の場合など）

■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。

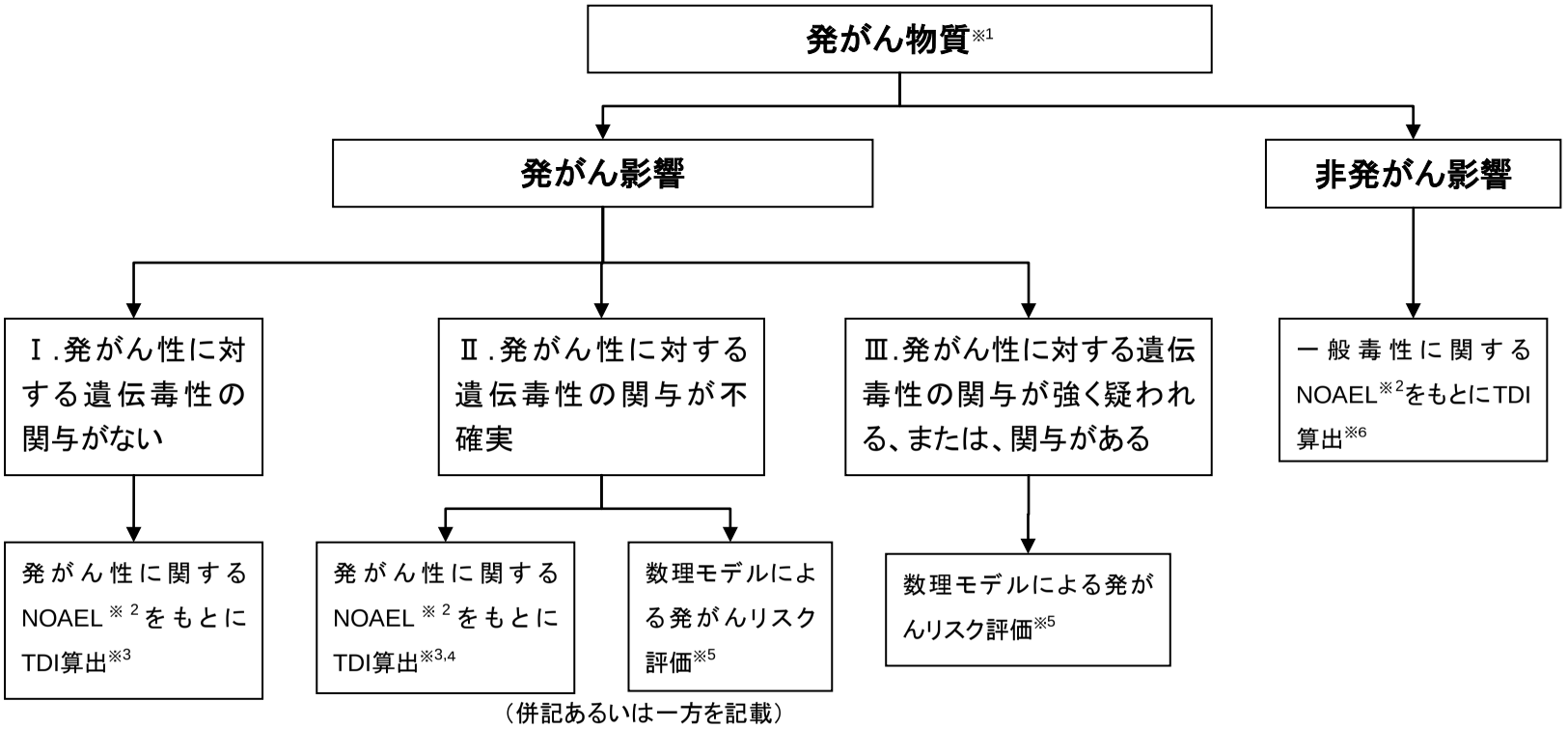
○発がんユニットリスクについては、我が国の水道水での評価値が妥当であればその値を参照する。「我が国の水道水での評価」で発がんリスクを記述していない場合は、EPA 等の他機関の既存の評価データの妥当性を考慮し、妥当であればその値を参照する。なお、新たな知見が得られた場合には、その知見について検討することとする（新規にリスク算出が必要な場合は、ベンチマークドーズを用いた数理モデル（直線外挿等）を検討する)。

○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。

別紙

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）



※1:基本的に経口摂取によるヒトの発がん性の可能性を否定できない物質を対象とする。

※2:NOAELが求められないときはベンチマークドーズ法を考慮

※3:不確実係数
①動物からヒトへの外挿→10
②個体差→10
③発がん性→1-10

※4: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

※5:1. 我が国の水質基準策定時における評価値の採用
2. EPA等他機関の評価値の採用
3. ベンチマークドーズ法で新規に評価値を算出

※6:不確実係数
①動物からヒトへの外挿→10
②個体差→10
③LOAEL使用、亜急性試験、毒性の重篤性等→1-10