

マウス体液性免疫及び細胞性免疫に及ぼすデオキシニバレノール (ボミトキシシン)の影響

一連の独立した 4 試験において、近交系雄スイス・ウェブスターマウスに対するボミトキシシン(デオキシニバレノール; DON)の準致死量(0.00、0.25、0.50 及び 1.00mg/kg b. w. /day)投与後の体液性免疫、細胞性免疫及び血清蛋白質に及ぼす影響を検討した。ボミトキシシンを基礎食に添加し(検出限界未満、食餌 g 当りボミトキシシン<0.05 μ g)、生後 21 日から 5 週間、マウスに投与した。第 2 試験では、5 週間のボミトキシシン投与後 40 日間基礎食を与えた。

1.00mg/kg のボミトキシシン投与後、対照群に比し、有意に血清中 α_1 及び α_2 -グロブリン値が低下した他、総血清アルブミン増加および食餌摂取量低下並びに体重増加を認めた。ボミトキシシン 0.50mg/kg 投与後、血清中 α_2 -及び β -グロブリンの有意な低下が認められる一方、第 4 週のみ有意な食餌摂取低下を認めた。同様に、本マウス群における体重増加は第 2 週に有意に抑制されたが、第 3 週で正常値まで上昇し、第 4 週及び第 5 週で対照群と並行関係を示した。ボミトキシシンの両値(0.50 及び 1.00mg/kg)とも対照群に比し、*L. monocytogenes* 添加後の死亡までの時間が用量関連性に短縮し、マイトジェンであるフィトヘムアグルチニン P(PHA-P)刺激の脾臓リンパ球培養の増殖能を高めた。ボミトキシシン 0.25mg/kg は、検討項目に対し有意な影響を示さなかった。上記及び過去の免疫学的試験に基づき、マウスにおける免疫学的影響に関する「影響なし」の合理的推定値は 0.25~0.50mg/kg b. w. /day であると思われる。

トリコテセンの作用機序

今回の考察で、著者は *Fusarium* 属、*Myrothecium* 属などの広範な真菌により産生される 30 種類のトリコテセン系マイコトキシンの毒性学的特徴および生物学的特徴をまとめた。12, 13-エポキシトリコテセンは、悪心、嘔吐、皮膚炎症、白血球減少、下痢、肺及び脳の出血、並びに骨髄の破壊を生じる。これらの毒性学的特徴は、カビの生えた穀物や食物の摂取により生じるヒトや家畜の主な中毒症状と一致しているため、日本のアカカビ中毒症及び豆殻中毒、米国のカビの生えたトウモロコシ中毒、欧州の食中毒性無白血球症 (ATA)、スタキボトリス中毒症及びデンドロギウム中毒症は、共通の毒物であるトリコテセンに起因している。経口投与したトリコテセンは、速やかに吸収され、ミクロソームのエステラーゼなどにより C-4 及び C-8 で脱アシル化されて便や尿中に排泄される。作用機序に対する生化学的アプローチにより、トリコテセンは真核細胞における蛋白質及び DNA 合成の強力な阻害物質であることが判明した。真核生物のポリソームやリボソームへの結合、及びその後のリボソームサイクルの不活化が、開始反応及び停止反応に対する阻害作用の原因である。微生物学的アプローチにより、トリコテセンは酵母菌に対し変異原性があるが、枯草菌に対する DNA 攻撃能や、ネズミチフス菌で復帰突然変異性を示さないことが判明した。トリコテセンのエポキシド環と蛋白の SH 基との反応性を、分子作用機序との関連において考察する。

一般毒性学

抄録なし

T-2 毒素および関連トリコテセン類の毒性学的特性

Fusarium、Trichoderma、Verrucaria などによって産生されるマイコトキシンである T-2 毒素および関連トリコテセン類の毒性学的特性を LD50 値、経皮毒性、血液学的変化、腫瘍原性に関して検討した。成体雄マウスにおける T-2 毒素の LD50 値 (mg/kg) は経口 : 10.5、腹腔内 : 5.2、皮下 : 2.1、静脈内 : 4.2 であり、ニバレノールの LD50 値は腹腔内 : 4.1、静脈内 : 6.3 であった。これらのデータから、T-2 毒素およびニバレノールの致死毒性はデオキシニバレノールの約 10 倍であることが明らかになった。新生仔および幼体は成体より感受性が高かった。T-2 毒素を用いた吸入試験の結果、T-2 毒素 33 ppb に対する 160 分間の曝露ならびに T-2 毒素 140 ppb に対する 30 分間の曝露は数日以内にマウスの死亡をもたらすのに十分であることが明らかになった。T-2 毒素ならびに大環状トリコテセン類 (ベルカリン A およびロリジン A) の経皮毒性は他のトリコテセン類より有意に高く、浮腫およびその他の経皮毒性は毛細血管に対するトリコテセンの直接攻撃によって誘発される。マウスでは皮膚組織に対するフザレノン-X の腫瘍原性は認められなかった。SH 化合物、プレドニゾン、フェノバルビタール、3-メチルコラントレンを用いてマウスの前処理を行った場合、T-2 毒素の LD50 値の変化は生じなかった。

食物中のトリコテセン類

抄録なし

枯草菌の組換え欠失変異細胞における発癌性マイコトキシンの DNA 攻撃能

30 種類のマイコトキシンおよび 5 種類の化学修飾したトキシンの DNA 攻撃能について、枯草菌 M45 の組換え欠失変異体 (*rec*⁻) 及び親株 H17 (*rec*⁺) を用いた *rec* アッセイにおいて試験した。

6 種類のアオカビ毒 (シトリニン、ペニシリン酸、パツリン、(-)・ルテオスカイリン、(+)・ルグロシン及び PR・トキシン)、5 種類のアスペルギルス毒 (アフラトキシン B₁ 及び G₁、ステリグマトシスチン、*O*-アセチルステリグマトシスチン、および *O*-アセチルジヒドロステリグマトシスチン)、並びに 2 種類のフザリウム毒 (ゼアラレノンおよびゼアラレノール・b) は、攻撃能を有していた。これらの 13 化合物のうち、以下の 8 種類のマイコトキシンの動物における発癌性が報告されている。シトリニン、ペニシリン酸、パツリン、(-)・ルテオスカイリン、(+)・ルグロシン、アフラトキシン B₁ および G₁、ステリグマトシスチンである。

rec 作用とマイコトキシンの *in vivo* 発癌性の間の相関について考察する。

フザリウム属由来のトリコテセン系マイコトキシンによるチオール 酵素の不活化

フザリウム属の 12,13-エポキシトリコテセン系マイコトキシンであるフザレノン-X、ネオソラニオールおよび T2 トキシンは、酵素分子を基質がない状態でマイコトキシンと共にプレインキュベートしたとき、*in vitro* で SH-酵素、例えば、クレアチンホスホキナーゼ、乳酸脱水素酵素及びアルコール脱水素酵素などの不活化を生じ、ジチオトレイトールを添加すると、この不活化が防止される。アルコール脱水素酵素と ^3H -標識フザレノン-X を含有する混合物をゲル濾過すると、分子比 4 : 1 で [^3H -フザレノン-X-アルコール脱水素酵素]複合体が生成され、ジチオトレイトールにより複合体生成が防止されることが判明した。これらの結果より、エポキシトリコテセンは SH-酵素蛋白のチオール残基と結合することが示唆される。

Fusarium nivale 栽培米から分離された毒性成分であるニバレノールによるウサギ網状赤血球における蛋白質合成阻害

Fusarium nivale の毒性代謝産物に関する生物学的検定法を見出すために、研究を行い以下の結果を得た。

1. ウサギ網状赤血球の蛋白質合成反応が *Fusarium nivale* 栽培米由来の毒性成分の分画に適用出来た。
2. 分離された毒素、ニバレノールは細胞のリボソームレベルで蛋白質合成を阻害した。

Fusarium nivale の毒性成分フザレノン-X—培養濾液

抄録なし

Fusarium nivale Fn 2B の細胞毒性マイコトキシンであるフザレノン-X の産生に影響を及ぼす環境要因

Fusarium nivale Fn 2B の細胞毒性マイコトキシンであるフザレノン-X を大量に調達するためにフザレノン-X の産生に影響を及ぼす環境要因について検討したところ、以下の結果が得られた。1) Czapek 培地上の F.nivale 静置培養を用いた場合、ペプトンまたは酵母エキスを添加したところ、マウスに対する培養濾液の致死毒性は上昇した。2) ペプトン添加 Czapek 培地 (PSC 培地) はフザレノン-X の大量産生に必要なすべての成分を含んでいた。3) PSC 培地を用いた場合、フザレノン-X の産生量は 27℃ で 6~8 日間培養したときに最大となり、それより低い温度では産生量が減少した。4) 米、大麦、小麦、トウモロコシはフザレノン-X の産生を助け、米粒において最高の毒性が観察された。

Fusaria のスシルペン代謝産物の皮膚壊死作用に関する比較試験

Fusarium nivale Fn 2B の培養濾液ならびに分離されたスシルペン代謝産物、ジアセトキシスシルペノール、ブテノリドの皮膚壊死作用について検討したところ、以下の結果が得られた：

1) *Fusarium nivale* の培養濾液およびその粗毒素を皮下注射したところ、出血および壊死が生じ、その後ウサギの脱毛した皮膚に痂皮が生じた。

2) 培養濾液の毒性成分の一つであるフザレノン・X ならびにジアセトキシスシルペノールはマウス、ウサギ、モルモットの皮膚組織に対する刺激性がきわめて高く、表皮の出血・壊死ならびに毛包および真皮の変性・壊死が生じた。同じく *F.nivale* 生育米から分離された毒性成分の一つであるニバレノールも動物の皮膚に対する影響が認められたが、その影響はフザレノン・X およびジアセトキシスシルペノールより小さかった。ブテノリドは皮膚に対する軽度の影響のみが認められた。

3) モルモットはこれらの毒素に対する皮膚感作性が試験対象の実験動物の中で最も高かった。

Fusaria 代謝産物に対する毒性学的アプローチ

Ⅲ. フザレノン-X の急性毒性

Fusarium nivale Fn 2B、*Fusarium epishaeria* Fn M、*Gibberella zeae* Ohoita-II 株のトリコテセンマイコトキシンであるフザレノン-X の毒性学的特性を解明するために、急性毒性および生物学的活性について検討し、ヒトおよび動物の *Fusaria* 中毒症について特に言及した：

- (1) 成体マウスにおけるフザレノン-X の LD₅₀ は 3.4 mg/kg (静脈内および腹腔内)、4.2 mg/kg (皮下)、4.5 mg/kg (経口) であった。新生仔マウスは感受性がきわめて高く、LD₅₀ 値の性差は認められなかった。
- (2) 試験対象の動物の中ではモルモットがフザレノン-X に対する感受性が最も高く、ネコおよび子ガモでは嘔吐が主要症状であった。
- (3) トリチウム標識フザレノン-X はマウスの組織に急速に分布し、代謝された形で尿中に排泄された。
- (4) 組織病理学的には、胃腸管、胸腺、リンパ節、脾臓、骨髄、卵巣、精巣の活発な分裂細胞において核崩壊および壊死を含む顕著な細胞障害が観察された。
- (5) マイコトキシンは植物種子の発芽ならびに原生動物の増殖を抑制したが、細菌、真菌、プロファージに対する影響は認められなかった。
- (6) 毒素の酵母細胞に対する変異原性が認められた。
- (7) 日本の赤カビ病穀粒中毒におけるフザレノン-X の毒性学的意義全般について考察した。

トリコテセン系マイコトキシンの毒性比較：動物細胞における蛋白質合成阻害

14 種類の 12-13-エポキシトリコテセン系マイコトキシンおよび関連抗生物質が、網状赤血球、Ehrlich 腹水腫瘍細胞、ラット肝臓および細菌における蛋白質および DNA の合成に及ぼす阻害作用を、全細胞及び無細胞系において検討し、以下の結果を得た。

1. 試験した 14 種類の化合物のうち、12 種類のトリコテセンがウサギ網状赤血球の全細胞による ^{14}C -ロイシンの取り込みを阻害した。阻害作用は、側鎖の化学修飾及び二重結合に応じて広範囲にわたり多様であった。

2. Ehrlich 腹水腫瘍細胞において、マイコトキシンは ^{14}C -ロイシン及び ^{14}C -チミジンの取り込みを阻害したが、 ^{14}C -ウラシルの取り込みに影響を及ぼさなかった。

3. ウサギ網状赤血球を低濃度のトリコテセンで処理したとき、顕著なポリリボソームの破壊が観察された。

4. 網状赤血球及びラット肝臓の遊離細胞系において、トリコテセンは、ピューロマイシンおよびシクロヘキシミドの阻害濃度よりも低い濃度で、ポリフェニルアラニンのポリ・U-依存性の合成を阻害し、50%阻害に必要なトリコテセンの種々の濃度は、マウスにおける致死量と関連していた。

5. 大腸菌の全細胞及び遊離細胞系において、フザレノン-X は蛋白合成を阻害しなかった。高濃度のマイコトキシンは、酵母菌 (*Geotrichum candidum*) の ^{14}C -アミノ酸の取り込みをわずかに阻害した。

6. トリコテセン系マイコトキシンの生化学的特徴を、その化学的特徴及び毒性学的特徴との関連において考察した。

ゼアラレノンの生体内運命および作用機序

卵巣摘出マウスにゼアラレノンを経口投与すると、子宮重量、RNA、蛋白質および DNA の増加が生じた。ゼアラレノンを予め投与したマウスから分離した子宮組織を *in vitro* でインキュベートすると、糖類、ヌクレオシド及びアミノ酸の子宮透過性が一次的に加速された。

雌ラットに経口投与した ^3H -ゼアラレノンは、大半が糞便経由で排泄された。化学分析により、代謝産物-I は糞便由来、代謝産物-II と 2 つのグルクロン酸抱合体は尿由来であることが判明した。トキシンは、脂肪組織、卵巣、子宮などに分布していた。

マウス、ラット、モルモット、ウサギおよびヒトの肝臓の 9.000 g の上澄分画は、NADH 又は NADPH 存在下で、マイコトキシンを代謝産物-I に生体内変換した。細胞質ゾルに局在しているこの生体内変換活性は、SKF によって阻害されることもフェノバルビタールによって誘導されることもなかった。代謝産物-I (依然としてマウスに対するエストロゲン活性を有している) は、ヒドロキシ化ゼアラレノンであると思われる。

発癌性マイコトキシンのネズミチフス菌における変異原性

15 種類のマイコトキシンと 2 つの化学的に修飾したトキシンを、ネズミチフス菌 TA98 および TA100 を用いて His⁺復帰変異試験において変異原性を試験した。ビスフラノイド系マイコトキシン、例えば、アフラトキシン B₁、アフラトキシン G₁、ステリグマトシスチンおよび *o*-アセチルステリグマトシスチンはルーチンの検査法で陽性であり、エポキシド系マイコトキシン、例えば、PR-トキシンやクロトシンは、強化 S-9 存在下（上澄分画、9000×g で 20 分間）で検査株をマイコトキシンとプレインキュベートしたときに限り陽性であった。（-）-ルテオスカイリンや（+）-ルグロシンなどのアントラキノイド肝癌誘発物質；シトリニン、ペニシリン酸およびパツリンなどのラクトン類；クロロペプチドおよびグリセオフルビンなどの塩素化発癌物質は、ルーチンおよびプレインキュベーションアッセイ法において陰性であった。トリコテセンやゼアラレノンなどの *Fusarium* 系マイコトキシンも、変異原性を立証することはできなかった。しかし、トリコテセン系マイコトキシンのうち、クロトシン、ビスエポキシドトリコテセンは、アフラトキシン B₁ の変異原性を増強した。*in vitro* でグルタチオンを S-9 混合物に添加すると、アフラトキシン B₁ の変異原性が増強され、種々の肝毒性物質をラットに事前に投与すると、アフラトキシン B₁ の S-9 依存性の変異原性は低下した。アフラトキシン B₁ 変異原性の臓器及び菌株の違いを検討し、ミクロソームオキシゲナーゼの活性を考察した。

ニバレノールの長期摂食がアフラトキシン B₁ により開始されたマウス肝臓癌形成に及ぼす影響

トリコセテンの一種であるニバレノールは、穀物や食品に広く発生するが、今回の 2 年間摂食試験により、雌マウスにおいて腫瘍原性作用はないことが判明した。ニバレノールが直接アフラトキシン-B₁ (AFB₁) により開始された肝臓癌形成の発生を変化させるかどうかを検討するために、1 週齢 C57B1/6×C3HF₁ マウスに、6 mg/kg bw の AFB を腹腔内注射し、6 週間後にニバレノールを 0、6 または 12 ppm 含有する飼料を 1 年間与えた。3 群全ての雄マウスで、肝細胞癌及び腺腫が発生したのに対し、雌の発生率は、AFB₁ 単独投与群で 31%、AFB₁ とニバレノールを 6 又は 12 ppm 投与した群は、それぞれ 20%及び 0%であった。これらの知見から、ニバレノールが、雌マウスにおいて、おそらくプロモーション段階に作用することにより、AFB₁ により開始された肝臓癌形成を直接抑制することが示唆される。

数種類のマイコトキシンによって誘発される HeLa 細胞の DNA 鎖切断

数種類のマイコトキシンの HeLa 細胞の DNA 破壊を誘発する能力について検討した。採用された技法を用いた限り、肝発癌性のアフラトキシン B₁ を用いて 24 時間にわたって処理したところ、アルカリ性ショ糖密度勾配と中性ショ糖密度勾配のいずれにおいても DNA 鎖切断が誘発されたが、トキシン除去後のさらなるインキュベーションによって回復した。ペニシリン酸およびパツリンを用いて 1 時間にわたって処理したところ、アルカリ性ショ糖密度勾配と中性ショ糖密度勾配のいずれにおいても DNA 鎖切断が誘発され、さらなるインキュベーションによっても回復しなかった。試験対象となったその他のマイコトキシンはルテオスカイリン、ルブラトキシン B、フザレノン-X であり、それらを用いて処理しても DNA 鎖切断はほとんど生じなかった。

種々のマイコトキシンによる変異原性および DNA 一本鎖切断と染色体異常の誘導能

種々のマイコトキシンの変異原性および変異原性マイコトキシンが DNA 一本鎖切断と染色体異常を生じる効率を、哺乳類細胞株を用いて検討した。アフラトキシン-B₁、ミコフェノール酸、パツリン、ペニシリン酸、およびステリグマトシスチンは、8-アザグアニン抵抗性変異体を誘導した。アフラトキシン-B₁、ミコフェノール酸、およびステリグマトシスチンは、高濃度において、DNA 一本鎖にほとんど影響を及ぼさなかった。パツリンおよびペニシリン酸の処理において、変異が誘導された濃度よりも高い濃度で、いくつかの切断があることが判明した。これらのマイコトキシンで処理することによる染色体異常の発生率は、変異原性作用とかなり良く相関していた。

カエトグロボシン-B、フザレノン-X、(－) ルテオスカイリン、およびオクラトキシン-A は、8-アザグアニン抵抗性変異体を誘導しなかった。

ゼアラレノンの構造

抄録なし

米国食品医薬品局

抄録なし

F344/N ラットおよび B6C3F1 マウスにおけるゼアラレノン (Cas No. 17924-92-4) の発癌性バイオアッセイ (給餌試験)

F344/N ラット雌雄 50 匹ずつの各群にはゼアラレノン 25 ppm または 50 ppm を含有する飼料を、B6C3F1 マウス雌雄 50 匹ずつの各群にはゼアラレノン 50 ppm または 100 ppm を含有する飼料をそれぞれ 103 週間にわたって給餌することによって、エストロゲン様マイコトキシンであるゼアラレノンの発癌性バイオアッセイを実施した。ラットおよびマウス雌雄 50 匹ずつの各群を対照群とした。摂食量データに基づく推定値から判断して、1 日量として低用量ラットには体重 1 kg 当たり約 1 mg、高用量ラットには体重 1 kg 当たり約 2 mg のゼアラレノンが投与された。推定 1 日量として低用量マウスには体重 1 kg 当たり約 7~10 mg、高用量マウスには体重 1 kg 当たり約 14~20 mg のゼアラレノンが投与された。

投与群ラットと対照群ラットの生存期間は雌雄ともに同等であった。投与群ラットの平均体重増加量は雌雄ともに対応する対照群ラットより少なかった。平均体重増加量の減少は用量依存的であった。投与群ラットの最終的な体重は対照群ラットと比べて 9%未満少なかった。雌雄の投与群ラットの平均 1 日飼料摂取量は対照群ラットの 91%~102%であった。

前立腺炎症、精巣萎縮、肝細胞質空胞化 (雄ラット)、ネフローゼ (雌雄ラット) はゼアラレノンに関連していた。低用量および高用量の雄ラットならびに低用量の雌ラットに網膜症および白内障が発現し、蛍光灯との近さとの関連が認められた。慢性試験では、ラットにおけるゼアラレノン関連の腫瘍発現率の上昇は認められなかった。

投与群マウスと対照群マウスの生存期間は雌雄ともに同等であった。高用量雄マウスおよび低用量雌マウスの平均体重増加量は対照群マウスより少なかった。投与群マウスの終了時体重は対照群マウスと比べて 8%未満少なかった。雌雄の投与群マウスの平均 1 日飼料摂取量は対照群マウスの 97%~99%であった。

骨髄線維症、子宮線維症、乳腺の嚢胞腺管は雌マウスに対するゼアラレノン投与に関連していた。雌マウスにおける肝細胞腺腫の発現率は用量依存的であり ($P \leq 0.003$)、高用量雌マウスにおける肝細胞腺腫の発現率は対照群マウスより有意に高かった ($P \leq 0.006$) (対照群: 0/50、低用量: 2/49、高用量: 7/49)。下垂体腺腫の発現に関して統計学的に有意な正の傾向が認められた (雄は $P \leq 0.022$ 、雌は $P \leq 0.001$)。高用量マウスにおけるこれら腫瘍の発生率は対照群マ

ウスと比べて有意に高かった（雄は $P \leq 0.032$: 0/40、4/45、6/44、雌は $P \leq 0.003$: 3/46、2/43、13/42）。

本バイオアッセイの条件下では、F344/N ラットにおけるゼアラレノンの発癌性は雌雄いずれについても認められなかった。下垂体腺腫を有する雌雄マウスの割合増加ならびに肝細胞腺腫を有する雌マウスの割合増加による裏付けがあることから、ゼアラレノンは B6C3F1 マウスに対する発癌性があると判断すべきである。

***Fusarium* 汚染トウモロコシから得られる催吐因子の単離**

ブタの嘔吐の原因となるマイコトキシンを、フザリウム汚染の飼料用トウモロコシから単離した。上記化合物は、トリコテセン(3, 7, 15-トリヒドロキシ-12, 13-エポキシ-トリコテ-9-エン-8-オン)として一定割合で同定され、慣用名はボミトキシンである。

Fusarium 由来マイコトキシンであるネズミチフス菌に対する変異原性の欠如

8種の *Fusarium* 属の毒素の変異原性(モノ-, ジ-およびトリアセトキシシルペノール、T2 トキシン、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、ゼアラレノン及びモニリホルミン)及び 2 種の陽性対照(アフラトキシン B₁ 及びステリグマトシスチン)のヒスチジン要求性 *Salmonella typhimurium* (ネズミチフス菌)(TA 98、100、1535 及び 1537)に対する変異原性を代謝活性あり及びなしで検討した。アフラトキシン B₁ 及びステリグマトシスチンとも *S.typhimurium* に対する変異原性を示したが、8 種の *Fusarium* 属の毒素はいずれも変異原性を示さなかった。T2 トキシンとジアセトキシシルペノールでの変異原性の欠如は、*in vivo* 発癌性試験で得られた陰性結果を裏付けるものである。その他 4 種の試験対象 12, 13-エポキシトリコロテセン類及び、ゼアラレノン並びにモニリホルミンのいずれも変異原性を認めなかったが、慢性毒性の詳細報告が得られなかったため、*in vivo* 試験との相関性を認めるまでに至らなかった。

新生児期にエストロゲン様マイコトキシンであるゼアラレノンに曝露した雌 C57BL/Crgl マウスにおける生殖器官の変化

新生児雌マウスに、5 日間毎日ゼアラレノン $1 \mu\text{g}$ (Z、穀類に存在する弱いエストロゲン様マイコトキシン) を注射すると、卵巢依存性生殖器官の変化が、8 ヶ月齢で生じた。Z 投与マウス 34 匹中 25 匹 (74%) に黄体がなかったことから、卵巢機能不全が示唆される。Z 投与マウスの 56% の子宮間質に濃いコラーゲン沈着があり、子宮腺が欠けていた。子宮内腔上皮の扁平上皮化生が、Z 投与マウスの 59% で発見され、変性した膣上皮が 32% で発見された (2 匹は形成異常病変)。卵巢摘出した Z 投与マウスは、卵巢摘出した対照マウスと区別がつかなかった。

デオキシニバレノールおよびその一酢酸塩：*Fusarium roseum* およ
びカビの生えた大麦由来の新規マイコトキシン

我々は、過去にニバレノール (IV) およびデオキシニバレノール (I、一時的に Rd トキシンと呼ばれていた)、テトラサイクリック 2,13-エポキシトリコテク-9-エン核を含有するセスキテルペン系マイコトキシンを、作物畑において *Fusarium* 属に主に感染した大麦から分離したことを報告した¹⁾。感染した大麦から分離した *Fusarium roseum* (No.117 株) の培養ブイヨンから、毒性代謝産物 I およびブテノリドを入手した¹⁾。この真菌のさらなる研究により、新たなトリコテセンであるデオキシニバレノール一酢酸 (II) を分離した。

本稿では、2つの新規マイコトキシンである I 及び II の構造を報告する。

自然罹病穀類中の毒性物質に関する研究（第3報）

新赤カビ毒：Deoxynivalenol および Deoxynivalenol Monoacetate

の急性毒性作用

デオキシニバレノール (I) およびそのモノアセテート (II) の急性毒性に対し、新規の *Fusarium roseum* (菌株 No. 117) 由来トリコテセン系マイコトキシンについて調査を行い、その結果として得たデータをニバレノール (III) とフサレノン (IV) のデータと比較した。

(1) 腹腔内投与した DDY マウスにおける I、II、III および IV の LD₅₀ 値は、雄ではそれぞれ 70、49、6.9、5.6 mg/kg であり、雌ではそれぞれ 77、47、6.2、5.2 mg/kg であった。経口投与では雄マウスの LD₅₀ 値は、I については 46 mg/kg、II については 34 mg/kg、IV については 5.5 mg/kg であった。毒素を投与したマウスの急性症状は、胃腸管出血および精巣のうっ血を伴う著しい拡張が認められた。

(2) C4 ヒドロキシ基を欠損するデオキシニバレノール (I および II) では、この官能基を有するあらゆる既知のトリコテセンと比べて、マウスに対する毒性は低かった。この事実は、C4 ヒドロキシ基が哺乳動物に対するトリコテセンの毒性に重要な役割を担っている可能性を示唆する。

(3) 10 日齢の雛アヒル (Pecking ducklings) の皮下投与の LD₅₀ 値は、I については 27 mg/kg、II については 37 mg/kg であった。両毒素の最小の嘔吐誘発量は約 10 mg/kg であった。

(4) イヌにおける嘔吐および下痢の I と II の最小皮下投与量はそれぞれ 0.1 および 0.2 mg/kg であった。用量と最初および最後の嘔吐時期との関連性、用量と嘔吐頻度との関連性が注目された。

(5) 4 種類の毒素は原生動物、*Tetrahymena pyriformis* W および哺乳動物の培養細胞に対する注目すべき細胞毒性を示した。同期分割のテトラヒメナ細胞における I、II、III および IV の中央抑制投与量は、それぞれ 4.6、29.0、8.8 および 5.0 μ g/ml であった。

Fusarium roseum No.117 (ATCC28114) のイネ培養物における飼料摂取拒絶の原則としてのデオキシニバレノールおよびその酢酸塩

ラットに飼料摂取拒絶を生じさせる *Fusarium roseum* No. 117 (ATCC28114) のトリコセテン産生株がイネ培養物中に形成する物質の解明を試みた。25℃で15日間インキュベーションした後、デオキシニバレノール (3 α , 7 α , 15-トリヒドロキシ-12, 13-エポキシトリコテク-9-エン-8-オン、DON) 及び 3-アセチルデオキシニバレノール 1 (3 α -アセトキシ-7 α , 15-ジヒドロキシ-12, 13-エポキシトリコテク-9-エン-8-オン, 3-Ac-DON) は、イネ 1 g あたりそれぞれ約 220 μ g 及び約 160 μ g に達した。さらに、微量の新規トリコセテンである 3 α , 15-ジアセトキシ-7 α -ヒドロキシ-12, 13-エポキシトリコテク-9-エン-8-オンも分離された。

培養したイネの飼料摂取拒絶活性の大部分は、トリコセテン以上の含有分画にあると思われるが、他の物質の関与も否定できなかった。対照の%として2つの1日摂取量を比較すると、純粋な DON 及び 3-Ac-DON の有効量の中央値は、飼料 1g 当たりそれぞれ約 100 μ g および約 150 μ g であった。ラット体重の増加は、DON 150 μ g または 3-Ac-DON 200 μ g 含有飼料では完全に阻害され、体重 1 kg 当たりそれぞれ DON を約 4 mg 又は 3-Ac-DON を 7 mg を投与した。

泌乳牛の生乳液体におけるデオキシニバレノールの完全酸化代謝体

DOM-1 の確認

抄録無し

若ブタのトウモロコシ飼料中のボミトキシン¹

若ブタを用いた 4 件の試験を実施し、ボミトキシン汚染トウモロコシの飼料中レベルが及ぼす機能状態への作用や病理学的作用を評価した。飼料中レベル約 20 ppm のボミトキシンにより嘔吐を引き起こし、ボミトキシン 12 ppm ではほぼ完全な拒食を、1.3 ppm では重大な摂取量および体重増加率の低下を引き起こした。飼料中レベル 43 ppm 以下のボミトキシンを 21 日間与えたブタでは、ボミトキシンに起因する病変は認められなかった。ボミトキシン投与群に関し血清特性に多様な変化が観察されたが、その作用が低摂取量に起因するものと切り離すことはできなかった。

付録 1 毒性学

デオキシニバレノール (DON、ボミトキシン) は *Fusarium* 種によって産生されるトリコテセンマイコトキシンであり、世界中の各種穀物に広く存在している。ヒトおよび家畜において DON 摂取後に重度の中毒症が生じることがある。食物中に低濃度で存在する場合の主作用は成長遅延および摂食量減少であり、高用量では嘔吐が誘発される。DON は免疫系に影響を及ぼし、各種血液パラメーターを変化させる。また、DON は潜在的な胃腸管刺激物質である。

DON の発癌性および/または変異原性を示す徴候は認められない。したがって、報告された毒性試験の無作用量に不確定係数を適用することによってヒトにおけるリスクを評価できる。評価対象となった各試験の質ならびに毒性学的エンドポイントの妥当性を考慮すると、Iverson ら (1995) によって報告されたマウス慢性毒性試験が TDI 推定のための最も信頼性の高いデータを提供すると考えられる。本試験における NOAEL は、体重増加量減少のエンドポイントについて DON 0.11 mg/体重 1 kg/日であった。不確定係数 100 を適用すると 1.1 μ g/体重 1 kg/日の暫定 TDI が得られる；この TDI は 1 つの慢性毒性試験のみに基づいているため暫定的なものである。

育成ブタの臨床状態、血液パラメータ、成績、および枝肉組成に対する天然デオキシニバレノール汚染エンバクの影響

育成ブタを用いて、段階的濃度で飼料混合物に含まれる天然デオキシニバレノール (DON) 汚染エンバクの給餌試験を実施した。異なるグループに対して不断給餌として与える完全飼料混合物中の DON 濃度は、0、0.7、1.7、および 3.5 mg/kg であった。記録したデータは、飼料消費量、体重増加、屠殺時体重、血清免疫グロブリンを含む生化学的／血液学的データ、臨床状態、および組織病理学を含む死後病理学であった。

3.5 mg/kg の DON を含む餌を与えたグループで、試験期間を通しての体重の有意な減退、屠殺時体重の減少、および飼料利用効率の減少が観察された。同じ DON 濃度で、肝臓重量の増加、血清タンパク質とアルブミンの減少、および血中血球容積、血清カルシウム、および血清リンの一時降下があった。1.7 および 3.5 mg/kg の DON を含む飼料を与えたグループで、日別飼料採取量において統計的に有意な用量依存的減少が観察された。血液学的、生化学的、または免疫的パラメータに対する影響はなかった。どのグループでも枝肉品質は影響されなかった。

自然に DON で汚染されたエンバクを含むが、その他は十分でごく微量のその他マイコトキシンを含む飼料において、DON 含有量が 1.7 mg/kg のときに育成ブタに対する有意な影響が現れるであろうという結論が出た。

飼料へのデオキシニバレノールの段階的添加が成長ブタの成績に及ぼす影響

デオキシニバレノール (DON) に汚染されたオーツ麦を与えることの影響を評価するために給餌試験を実施した。初期体重 25 kg の成長ブタの完全飼料中に約 0.5、1.0、2.0、4.0 mg/kg の DON が添加されるようにした。成績は体重増加量、飼料摂取量、飼料利用効率、枝肉品質として記録した。制限給餌と *ad libitum* 給餌の比較を行った。DON 2 および 4 mg/kg を含有する飼料を給餌された各群については、最初の 8 週間の試験食給餌中に体重増加量の用量依存的な減少が観察された。DON 4 mg/kg の場合、試験全体を通じて飼料摂取量、体重増加量、飼料利用効率の減少ないし低下が認められた。DON 0.5 mg/kg または 1.0 mg/kg を含有する飼料を給餌された各群における影響は観察されなかった。いずれの群においても枝肉品質に対する影響は認められなかった。

ヒトおよび動物の健康にとっての *Fusarium* 毒素デオキシニバレノール (DON) の重要性

抄録なし

食道癌高リスク地域からのトウモロコシ中のニバレノール、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、15-アセチル-デオキシニバレノール、およびゼアラレノンの自然発生と染色体異常誘発影響

本報告は、食道癌の高リスク地域である中国 Linxian からのトウモロコシ中における一群の *Fusarium* マイコトキシン類（ニバレノール[NIV]、デオキシニバレノール[DON]、3-アセチル-デオキシニバレノール[3-ADON]、15-アセチル-デオキシニバレノール[15-ADON]、およびゼアラレノン[ZEN]）の自然共存に関する最初の報告である。薄膜クロマトグラフィー（TLC）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、およびガスクロマトグラフィー（GC）を用いて、Linxian からの 107 のトウモロコシ試料を分析した。NIV と DON の平均レベルは、それぞれ 757 ± 707 ($54\text{--}2,760$) ng/g、および $5,376 \pm 4,460$ ($360\text{--}12,670$) ng/g であり、食道癌患者とその家族が主食として採っている 24 のトウモロコシ試料は 100%陽性であった。1984-1986 年の異なる季節に Linxian の 5 村で採取した他のトウモロコシ試料も高レベルの NIV と DON 混入を示し、100%陽性で、この地域でのこれら物質がトウモロコシ中に常時広い範囲で存在することを示唆した。Linxian のトウモロコシ中の 3-ADON と 15-ADON のレベルはそれぞれ 113 ± 57 と 495 ± 538 ng/g だった。食道癌患者家族から採取したトウモロコシ試料の粗抽出物と HPLC 精製した NIV と DON 画分は V₇₉ 細胞中で染色体異常を有意に誘発した。NIV、DON、T-2、および 3-ADON の純粋毒素もまた、非常に低い濃度（ng/ml 培地レベル）で V₇₉ 細胞中において染色体異常を誘発した。細胞毒性効果は、若干高い濃度で観察された。トリコテセンのレベルと種類は、食道癌発症と正の相関関係があった。このデータは、食物中のトリコテセンが Linxian における食道炎と食道癌と関連している可能性を示唆する。

Fusarium graminearum 由来の毒素

抄録なし

B6C3F1 の雌雄マウスにおけるデオキシニバレノールの慢性摂取に関する研究

B6C3F1 の雌雄のマウスへ 0、1、5、または 10 ppm のデオキシニバレノール (DON) を含む飼料を与える 2 年間の摂取研究を実施した。生存性は良好で、飼料中 DON レベルの増加に従い試験動物の体重増加量は減ったが、DON 消費と関連した一貫性のある毒性発現は見られなかった。雌で血清 IgA と IgG の増加の証拠が幾つか見られ、最終屠殺時において臨床化学的および血液学的パラメータで孤発性変化が見られた。しかしながら、これらの変化は、生物学的に有意性はないと考えられた。病理学的結果は、DON レベル増加に伴い、肝臓の前腫瘍性および腫瘍性病変の減少に統計的に有意な用量依存性の証拠を示した。この反対の傾向は、おそらく、本系統のマウスにおいては体重と自発性肝臓腫瘍の出現の間の既知の正相関から生じると考えられる。

ボミトキシン (4-デオキシニバレノール) : マウスとラットの生殖に及ぼす影響

離乳中の雌雄マウス (F_0) に対して、4-デオキシニバレノール (DON) の毎日摂取の最終濃度が 0 または 2.0 mg/kg 体重となる飼料投与 (実験 I)、および 0、0.375、0.75、または 1.5 mg/kg 体重となる飼料投与 (実験 II) を行った。試験飼料はデザインに従って、 F_0 両親とそれらの子孫に対して 2 つの実験全期間を通して継続的に与えた。30 日間の飼料摂取後に、マウスを実験グループ内で最高で (3 回×5 日間) の交尾機会を与えた。首尾よく交尾した雌は通常出産させた。対照グループと 1.5 mg DON/kg 体重グループの各々 10 匹の母親からの F_{1a} 子孫は出産時から混合飼育し、一方、その他のグループは自然の母に育児させた。子孫たちは 21 日齢まで検査し廃棄した。 F_0 マウスは飼育を続けた。 F_{1b} の子を産むために飼育した雌は妊娠 19 日目で屠殺しそれらの胎児を、肉眼観察、内臓、骨格の奇形について検査した。以下の項目に減少が見られた： F_0 雌雄マウスについて飼料摂取、水摂取、体重； F_{1a} 子孫について生存子供数、生後生存数、生後体重； F_{1b} 胎児について生存胎児数、平均胎児重量。 F_0 雄雌マウスにおける妊娠率への悪影響、 F_{1b} 胎児における大きな奇形は見られなかった。対照グループの母親と 1.5 mg DON/kg 体重処理グループの母親間の混合飼育した子孫は、生後生存数と体重の両者につき出産前曝露、および出産前と出産後の複合曝露による悪影響を示した。

雌雄 Sprague-Dawley ラットに 0.25、0.5、1.0 mg/kg 体重となるように DON を含む飼料を毎日摂取させた。6 週間の飼育後にグループ内で繁殖させ、雄は廃棄した。交尾した雌は妊娠全期間中各々の飼料摂取を続け、妊娠最終日に屠殺して胎児の生前発生に及ぼす影響を調べた。有意性が判定できなかった腎盂と膀胱の肥大が起こったが、その他の悪影響は見られなかった。

ウサギにおけるボミトキシシ (4-デオキシニバレノール) の催奇形性の研究

98%を超える純度の 4-デオキシニバレノール (ボミトキシシ) を含む飼料を 0-30 日の妊娠期間中のウサギに与えた。4-デオキシニバレノールの飼料濃度は、0、0.00075、0.0015、0.003、0.006、0.012、0.024%で、毎日摂取量はそれぞれ 0、0.3、0.6、1.0、1.6、2.0、1.8 mg/kg 体重/日に相当した。ペア摂取グループには 1.6 mg/kg グループに相当する飼料を与えた。妊娠 30 日目で検査した胎児で、体重と飼料摂取の両方の減退が起こった濃度でのみ有意な影響が観察された。胎児への影響は、1.8 と 2.0 mg/kg グループでの再吸収で 100% 生じ、また 1.0 と 1.6 mg/kg グループとペア摂取グループでの平均胎児重量減から構成された。母性毒性が現れない用量 (0.6 と 0.3 mg/kg) は期間終了時の胎児に悪影響を何ら示さなかった。妊娠中に飼料として与えられたボミトキシシは、ウサギにおいて催奇性能の証拠を何ら示さなかった。

マウスにおける 4-デオキシニバレノール（ボミトキシン）の胎児毒性

カビの生えた穀物粒を消費したことにより被毒したいくつかの事例が 1891 年以降各国（特にソ連と日本で）で報告された。これらの勃発は、カビの生えた穀物を食した動物だけでなく、カビの繁殖した小麦やトウモロコシで作ったパンを食した人間にも影響を与えた。同様な勃発は 1963 年の米国でブタでも起こり、吐き気、嘔吐、腹痛、および下痢が際立った兆候として現れた（CURTIN & TUTTE 1966）。

続く 1972 年におけるブタでの被毒の勃発の際、VESONDER 等は（1973）Fusarium graminearum で汚染されたカビの生えたトウモロコシからマイコトキシンの一種を単離し、嘔吐が被毒の顕著な特徴であることに因みボミトキシンと名付けた。単離された毒素は摂取するとブタに類似兆候を示した（VESONDER et al. 1973）。しかしながら、ブタで嘔吐を引起す本毒素が、ヒトの嘔吐の原因となるマイコトキシンの同一であるかどうかは確かでなかった。その後、ボミトキシン（4-デオキシニバレノール）で汚染された飼料はブタが拒絶したことが見出された（VESONDER et al. 1976）。

ボミトキシンの催奇形性能は現在未知であり、従って本研究は妊娠マウスにおけるボミトキシンの胎児毒性の評価を実施した。

Sencar マウスにおける皮膚腫瘍形成に対するデオキシニバレノールの開始および促進潜在能の欠如

マイコトキシンであるデオキシニバレノール (DON; ボミトキシン) につき、皮膚腫瘍を開始または促進する潜在能について、Sencar 雌性マウスを用いて 2 段階処理の投与計画で試験した。DON の開始能力を単回局所適用 (200 μ g) と続く促進剤ホルボール 12-ミリスタート-13-アセタート (PMA) による複数回処理によって試験した。促進作用の試験は、発癌剤 7,12-ジメチルベンゾ[a]アントラセン (DMBA) による開始と続く DON (50 μ g) による複数回処理で実施した。適当な対照群を実験計画に含めた。マウスは 26 週にわたって観察し、皮膚腫瘍を計数した。この研究の結果では、DON が開始剤でも促進剤でもないことを示した。DON を開始剤として試験した際に、腫瘍蓄積数と腫瘍発生したマウスの数で、DON 開始/PMA 促進群とその対照である賦形剤開始/PMA 促進群との間で統計的に有意差はなかった。DON を促進剤として試験した際に、腫瘍は観察されなかった。皮膚の組織病理学は、DON が弱い分散した扁平上皮過形成を示したが、新生組織形成にいたる病変進行はなかった。

哺乳類細胞においてエメチンが T-2 トキシンにより誘発された蛋白質合成阻害に及ぼす影響

チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いて、エメチンが T-2 トキシンの毒性、およびいくつかの関連したポリペプチド合成のトリコセシン阻害物質に及ぼす影響を検討した。エメチンは蛋白質合成および T-2 トキシン-細胞結合を濃度依存的に阻害した。これらの 2 つの作用に対する用量反応曲線は、ほぼ同じであった。狭い濃度範囲 ($0.3 \sim 3.0 \mu\text{g/ml}$) で、エメチンの蛋白質合成阻害は一部可逆的であったのに対し、トキシン-細胞結合の阻害は長期間維持された。このトキシン-細胞結合の持続性の阻害により、細胞は「脱感作化」し、T-2 トキシンが蛋白質合成に及ぼす阻害作用に対する感受性が低下した。同様の結果が、エメチンとプレインキュベートした細胞にジアセトキシシルペノール、ベルカリン A 及びロリジン A を添加したときにも得られた。対照的に、エメチンがさほど強力でないトリコセシンであるデオキシニバレノール、T-2 テトラオールおよびベルカロールに対する細胞の反応に及ぼす測定可能な作用はなかった。エメチンに加えて、いくつかの他のポリペプチド合成阻害物質が T-2 トキシン-細胞結合及び T-2 トキシンに対する感受性に及ぼす作用について検討した。これらのうち、シクロヘキシミドのみがトキシン-細胞結合を阻害した。エメチンとは異なり、T-2 トキシンの作用に対する持続性の保護作用は、シクロヘキシミドでは観察されなかった。

付録 1 毒性学

デオキシニバレノール (DON、ボミトキシン) は *Fusarium* 種によって產生されるトリコテセンマイコトキシンであり、世界中の各種穀物に広く存在している。ヒトおよび家畜において DON 摂取後に重度の中毒症が生じることがある。食物中に低濃度で存在する場合の主作用は成長遅延および摂食量減少であり、高用量では嘔吐が誘発される。DON は免疫系に影響を及ぼし、各種血液パラメーターを変化させる。また、DON は潜在的な胃腸管刺激物質である。

DON の発癌性および/または変異原性を示す徴候は認められない。したがって、報告された毒性試験の無作用量に不確定係数を適用することによってヒトにおけるリスクを評価できる。評価対象となった各試験の質ならびに毒性学的エンドポイントの妥当性を考慮すると、Iverson ら (1995) によって報告されたマウス慢性毒性試験が TDI 推定のための最も信頼性の高いデータを提供すると考えられる。本試験における NOAEL は、体重増加量減少のエンドポイントについて DON 0.11 mg/体重 1 kg/日であった。不確定係数 100 を適用すると 1.1 μ g/体重 1 kg/日の暫定 TDI が得られる；この TDI は 1 つの慢性毒性試験のみに基づいているため暫定的なものである。

デオキシニバレノール（ボミトキシン）の毒物学

トリコテセンマイコトキシンは、幅広い毒性効果をもたらす構造的に類似な一群の真菌代謝産物である。トリコテセンの1種であるデオキシニバレノール（DON、ボミトキシン）は、カナダやアメリカ合衆国を含め、食品や飼料生産に用いられる農作物に世界的に存在している。DONはトリコテセンの中でも急性毒性が最も低いものの1つだが、穀物に極めて一般的に混入しているため、食品安全上の重要な問題として取り扱うべきである。本総説では、種々の細胞系や動物種における毒物学的および免疫毒性的影響を誘起するDONの能力に焦点を当てる。細胞レベルにおいては、主な毒性効果はリボソームへの結合による蛋白質合成の阻害である。動物においては、毒素の中濃度から低濃度の摂取により、生産力および免疫機能の低下を伴う、現在のところあまり判明していない多数の影響が引き起こされうる。食物中の低濃度における顕著な主影響は、食物消費量の低下（食欲不振）で、一方で高濃度摂取は嘔吐を誘起する。DONは脳の神経化学物質を変化させることが知られている。摂餌行動と嘔吐応答の仲介においては、セロトニン作動系が寄与していると思われる。低濃度から中濃度を給餌された動物は初期の体重減少から回復できるが、高濃度摂取は摂餌行動をより長期にわたり変化させる。低用量のDONでは、血液学的、臨床的、免疫学的変化は一過的で、補償／適応機構が確立されるとともに低下する。ブタはマウス、家禽、反芻動物よりもDONに対する感受性が高いが、これはDONの代謝が異なることが一因で、またメスよりオスの方が高感受性である。正常な免疫機能を変化させるDONの能力に、とくに興味を持たれている。DONは曝露量と期間に依存して免疫抑制あるいは免疫賦活作用を及ぼすという証拠が幅広く存在する。免疫抑制作用は翻訳阻害により説明できる一方、免疫賦活作用は正常の調節機構に対する干渉に関係していると思われる。In vivo では、DONは病原体に対する正常免疫反応を抑制すると同時に、ヒト免疫グロブリンA（IgA）腎症に似た自己免疫類似効果を誘起する。他の影響としては、ヘルパーT細胞によるサイトカイン産生を過剰誘導したり（in vitro）、マクロファージやT細胞を活性化させ、リポ多糖誘発ショックにおいて見られるのと類似の、炎症性サイトカイン波を産生させたりする。サイトカイン上昇がどの程度、摂餌量減少といった代謝的影響に寄与するかは確立されていない。これらの影響はマウスにおいてほとんど特性化されているが、DONを用いた種々の研究から、家畜動物に対しても免疫毒性効果があることが示唆される。さらなる毒物学的研究と、ヒト疾患における潜在的病原因子としてのDONの評価が求められる。

マウス体液性免疫及び細胞性免疫に及ぼすデオキシニバレノール (ボミトキシン)の影響

一連の独立した 4 試験において、近交系雄スイス・ウェブスターマウスに対するボミトキシン(デオキシニバレノール; DON)の準致死量(0.00、0.25、0.50 及び 1.00mg/kg b. w. /day)投与後の体液性免疫、細胞性免疫及び血清蛋白質に及ぼす影響を検討した。ボミトキシンを基礎食に添加し(検出限界未満、食餌 g 当りボミトキシン<0.05 μ g)、生後 21 日から 5 週間、マウスに投与した。第 2 試験では、5 週間のボミトキシン投与後 40 日間基礎食を与えた。

1.00mg/kg のボミトキシン投与後、対照群に比し、有意に血清中 α_1 及び α_2 -グロブリン値が低下した他、総血清アルブミン増加および食餌摂取量低下並びに体重増加を認めた。ボミトキシン 0.50mg/kg 投与後、血清中 α_2 -及び β -グロブリンの有意な低下が認められる一方、第 4 週のみ有意な食餌摂取低下を認めた。同様に、本マウス群における体重増加は第 2 週に有意に抑制されたが、第 3 週で正常値まで上昇し、第 4 週及び第 5 週で対照群と並行関係を示した。ボミトキシンの両値(0.50 及び 1.00mg/kg)とも対照群に比し、*L. monocytogenes* 添加後の死亡までの時間が用量関連性に短縮し、マイトジェンであるフィトヘムアグルチニン P(PHA-P)刺激の脾臓リンパ球培養の増殖能を高めた。ボミトキシン 0.25mg/kg は、検討項目に対し有意な影響を示さなかった。上記及び過去の免疫学的試験に基づき、マウスにおける免疫学的影響に関する「影響なし」の合理的推定値は 0.25~0.50mg/kg b. w. /day であると思われる。

産卵鶏における T-2 毒素と DAS の単独効果および併用効果

1. T-2 毒素 : 0 mg/kg、2 mg/kg、4,15-ジアセトキシシルペノール (DAS) : 0 mg/kg、2 mg/kg の飼料中濃度からなる 2 x 2 完全無作為化要因デザインの試験において T-2 毒素および DAS が産卵鶏に及ぼす単独効果および併用効果について検討した。

2. T-2 毒素と DAS の個々の投与によって雌鶏の半数において口腔病変が誘発され、産卵数および飼料摂取量は有意に減少した。

3. T-2 毒素および DAS によって摂食量減少と口腔病変発現率低下の相加性が認められた。しかしながら、最後の試験期間中に産卵数減少について相乗作用が観察された。

4. 本試験中に体重に対する影響は観察されなかった。選択された血漿酵素活性の軽度の変化が認められたが、肝臓マロンジアルデヒド含有量の変化は認められなかった。

5. いくつかのパラメーターについては、T-2 毒素と DAS を併用したときの方がいずれかのマイコトキシンを単独で使用したときよりも毒性が高いため、養鶏業により大きな経済的脅威をもたらす可能性がある。

T-2 毒の毒性と若年ブタに投与した際のデオキシニバレノールとの相互作用

2×5の要因実験でトウモロコシ・オオムギ・ダイズというタイプの餌を12週令のブタ60頭に与えた。トウモロコシをベースにしたかび毒プレミックス2つを添加した。その1つは、デオキシニバレノール(DON)サプリメント(2.5 mg/kg 飼料)ありとなしであり、もう1つはT-2毒のレベルが0.0, 0.4, 0.8, 1.6 および 3.2 mg/kg 飼料であった。5週間給餌後にブタを屠殺し、主要器官を肉眼と顕微鏡で検査し、血液と組織サンプルを生化学的および血液学的分析に供した。最終体重と体重日増は餌のT-2毒含有量の増加につれて低下する様(P>0.05)であった。飼料摂取にも同様な傾向があった。DONサプリメント餌を与えたブタの成績はDONなしの餌を与えたブタより有意に低かった。DONとT-2の間には相互作用があり、2レベルのDONにおける体重増と飼料摂取の違いは中間レベルのT-2におけるより小さかった。食道部位粘膜の病変発生率はT-2レベルの上昇につれて高くなった。それを除けば、T-2が主要器官の死体解剖結果や生化学的・血液学的データに影響を及ぼすことを示す根拠はほとんど無かった。どんな影響もT-2だけというよりはDONまたはそのT-2との相互作用が原因であるように見える。

単一物質および複雑な混合物の毒性学

ヒトは、個々の化学物質ではなく、化学物質の混合物に曝露されている。公衆衛生の観点から、混合物の成分は、全体の作用が、個々の成分の作用の合計よりも増すように相互作用するか否かという疑問に答えることが最も妥当である。本稿では、単一の化学物質および複雑な化学物質混合物の危険性の同定及びリスク評価の選択肢について考察する。さらに、化学物質混合物の危険性の特徴解明が進展し続けるために必要な鍵となる研究についても述べる。明らかに、毒性学者、モデル開発者および薬理学者の間におけるより一層の協力が必要である。

ブロイラー鶏に対する T-2 トキシンとジアセトキシシルペノールの 併用における毒性

2種の自然に発生するトリコテセン系マイコトキシンであるT-2トキシンとジアセトキシシルペノールを、ジメチルスルホキシド：生食（1：9、v/v）に溶解し、個々に、または併用で、7日齢の雄ブロイラー鶏に投与した。72時間単回経口投与LD₅₀は、T-2トキシンが4.0 mg/kg、ジアセトキシシルペノールが5.0 mg/kgであった。14日間連日経口投与した場合のT-2トキシンのLD₅₀は2.9 mg/kg、ジアセトキシシルペノールのLD₅₀は4.15 mg/kgであった。トキシンの併用により、単回投与試験および反復投与試験ともに相加的致死作用が生じた。

B6C3F1 の雌雄マウスにおけるデオキシニバレノールの慢性摂取に関する研究

B6C3F1 の雌雄のマウスへ 0、1、5、または 10 ppm のデオキシニバレノール (DON) を含む飼料を与える 2 年間の摂取研究を実施した。生存性は良好で、飼料中 DON レベルの増加に従い試験動物の体重増加量は減ったが、DON 消費と関連した一貫性のある毒性発現は見られなかった。雌で血清 IgA と IgG の増加の証拠が幾つか見られ、最終屠殺時において臨床化学的および血液学的パラメータで孤発性変化が見られた。しかしながら、これらの変化は、生物学的に有意性はないと考えられた。病理学的結果は、DON レベル増加に伴い、肝臓の前腫瘍性および腫瘍性病変の減少に統計的に有意な用量依存性の証拠を示した。この反対の傾向は、おそらく、本系統のマウスにおいては体重と自発性肝臓腫瘍の出現の間の既知の正相関から生じると考えられる。

ボミトキシシ (4-デオキシニバレノール) : マウスとラットの生殖に及ぼす影響

離乳中の雌雄マウス (F_0) に対して、4-デオキシニバレノール (DON) の毎日摂取の最終濃度が 0 または 2.0 mg/kg 体重となる飼料投与 (実験 I)、および 0、0.375、0.75、または 1.5 mg/kg 体重となる飼料投与 (実験 II) を行った。試験飼料はデザインに従って、 F_0 両親とそれらの子孫に対して 2 つの実験全期間を通して継続的に与えた。30 日間の飼料摂取後に、マウスを実験グループ内で最高で (3 回×5 日間) の交尾機会を与えた。首尾よく交尾した雌は通常出産させた。対照グループと 1.5 mg DON/kg 体重グループの各々 10 匹の母親からの F_{1a} 子孫は出産時から混合飼育し、一方、その他のグループは自然の母に育児させた。子孫たちは 21 日齢まで検査し廃棄した。 F_0 マウスは飼育を続けた。 F_{1b} の子を産むために飼育した雌は妊娠 19 日目で屠殺しそれらの胎児を、肉眼観察、内臓、骨格の奇形について検査した。以下の項目に減少が見られた： F_0 雌雄マウスについて飼料摂取、水摂取、体重； F_{1a} 子孫について生存子供数、生後生存数、生後体重； F_{1b} 胎児について生存胎児数、平均胎児重量。 F_0 雄雌マウスにおける妊娠率への悪影響、 F_{1b} 胎児における大きな奇形は見られなかった。対照グループの母親と 1.5 mg DON/kg 体重処理グループの母親間の混合飼育した子孫は、生後生存数と体重の両者につき出産前曝露、および出産前と出産後の複合曝露による悪影響を示した。

雌雄 Sprague-Dawley ラットに 0.25、0.5、1.0 mg/kg 体重となるように DON を含む飼料を毎日摂取させた。6 週間の飼育後にグループ内で繁殖させ、雄は廃棄した。交尾した雌は妊娠全期間中各々の飼料摂取を続け、妊娠最終日に屠殺して胎児の生前発生に及ぼす影響を調べた。有意性が判定できなかった腎盂と膀胱の肥大が起こったが、その他の悪影響は見られなかった。

トリコテセンの相乗作用、相加作用および拮抗作用：最大無活動比の意義

真菌感染植物、汚染された穀物およびその他の生物系でしばしばみられるトリコテセン系マイコトキシンの併用の相互作用の影響は、あまり分かっていない。酵母菌 *Kluyveromyces marxianus* の増殖阻止を用いて、個々のトキシン、または2種の混合物としての、HT-2 トキシン、ロリジン A および T-2 トキシンの作用を測定した。併用指数を表す値は、2 つのトキシン混合物の相互作用を示す値から導いた。相互作用は、個々のトキシンの比、および酵母増殖の阻止率の影響を受ける。一般に、T-2 トキシンとロリジン A または T-2 トキシンと HT-2 トキシンの相互作用は、酵母増殖の阻止率が低い場合に生じる拮抗作用から、酵母増殖の阻止率が高い場合に生じる相乗作用まで変化する。さらに、どの 2 つのトリコテセンも固有の比を有しており、これを我々は最大無活動比 (MQR : maximally quiescent ratio) と名づけたが、ここにそれらの相互作用のタイプおよび強度の最も小さな変化がある。この場合の最大無活動比は、トキシンの相互作用の性質を明らかにするのに有用であり、ホルモン、免疫系、発達調節、酵素調節、遺伝子調節、併用薬物療法、および天然または合成トキシン、発癌物質、殺虫剤および環境汚染物質の混合物の作用に対する洞察を得るために用いることができる。

ブロイラー種若鶏におけるデオキシニバレノールと T2 トキシンの単独および複合毒性

デオキシニバレノール(DON)混入小麦(16 mg DON/kg)と精製 T2 トキシン(4 mg/kg)を単独および組合せで含む飼料の給餌の影響を生後 1 日齢～3 週齢の雄性ブロイラー種若鶏で評価した。全体重増加と最終体重は DON/T2 トキシンの組合せで有意に減少したが、これらトキシン単独では有意には影響されなかった。飼料摂取効率、DON 混入小麦を含むどの飼料を与えた若鶏でも減少した。T2 トキシンにより誘発される口内病変の発生と重篤度は DON/T2 トキシンの組合せで増加した。DON と T2 トキシン単独では変化のないいくつかのパラメータはこれら組合せで有意に影響され、これは組合せがいずれか単独のマイコトキシンよりも養鶏業で大きな問題が起こす可能性を示す。

イーストバイオアッセイにより評価したトリコテセン系マイコトキシンにおける構造-作用の関係および相互作用

イースト (*Kluyveromyces marxianus*) バイオアッセイを用いて、16 種類のトリコテシンの相対的毒性とその相互作用の一部を立証した。T-2 毒素 (T2) からイソバレリル基、1 または 2 個のアセチル基、または 2 個のアセチル基とイソバレリル基を除去してデアセトキシシルペノール、HT-2 毒素 (HT2)、T2-トリオール、および T-2 テトラオール (T2-4ol) を形成すると、それぞれ毒性が 7 倍、36 倍、276 倍、および 558 倍減少した。T2 と HT2、T2 と T2-4ol、デオキシニバレノール (DON) とニバレノール (NIV)、または DON と T2 の組合せには相乗的 (T2 と HT2、または DON と NIV)、または拮抗的 (DON と T2) 応答が認められた。

雌性マウスにおけるニバレノールの慢性毒性： *FUSARIUM NIVALE* Fn

2B 株汚染米を用いた 2 年間にわたる摂食試験

7 週齢の雌性 C57BL/6CrSlc SPF マウス 42 頭に、0、6、12、30 ppm のニバレノール (NIV) を含有する飼料を 2 年間にわたって接触させた。処置群のすべてのマウスに体重増加の減退と飼料効率の低下が見られ、これは高用量群で有意であった。30 ppm 群の肝臓絶対重量および 12 ppm 群と 30 ppm 群の腎臓絶対重量が、対照群に比べ有意に減少した。脳重量に対する相対値で表すと、12 ppm NIV 群のみに腎臓重量の減少が見られた。処置群、特に 30 ppm 群のマウスにいくらか白血球減少が見られたが統計的に有意ではなく、アルカリ性ホスファターゼと非エステル化脂肪酸の血清中濃度は用量依存的に増加した。いずれの処置群においても NIV を原因とする腫瘍は認められなかった。自然発生の腫瘍はほとんどがリンパ腫であり、すべての群で発生率は類似していたが、他群に比べて 30 ppm 群のマウスでは発現が遅く、成長速度も遅かった。アミロイドーシスの発生率は、特に小腸における発生率が対照群に比べ高用量 2 群で低かった。30 ppm NIV 群の死亡率は対照群よりも低く、これは初期の腫瘍発生率やアミロイドーシス発生率が低かったことが一因とも考えられる。

マイコトキシン類の血液毒性

マイコトキシン類の血液毒性は、各系譜の血球数異常および/または血球機能障害に起因する血液学的問題を臨床的特徴とする。血液毒性の考慮事項に基づいて、これらのマイコトキシン類を以下の 3 カテゴリーに分類することができる。中毒後の血液毒性作用について文献報告が行われていないマイコトキシン：パツリン、ベルコシジン、シトロビリジン、フモニシン；血液学的な有害作用を誘発する能力があるものの、続発する病状の原因となる主な毒性が非血液学的なものであるマイコトキシン：オクラトキシン、アフラトキシン B1、ゼアラレノン；他の軽度の症状に関連している、あるいは関連しない血液学的な有害作用を主としてもたらすマイコトキシン：トリコテセン類。

種々レベルの T2 毒素が成長中のブタの免疫系に及ぼす影響

体重約 9 kg の 7 週齢のブタ 4 群に対して高度に精製された T2 毒素 0.5、1.0、2.0、3.0 mg/kg を含有する前期飼料を 3 週間にわたって給与した。ブタによる毒素の平均 1 日摂取量はそれぞれ 0.38 mg、0.81 mg、1.24 mg、1.43 mg であった。水酸化アルミニウムゲルに吸収させた精製ウマグロブリン 5 ml を用いて投与期間の第 1 日と第 4 日に試験群および対照群のブタを免疫化した。第 7 日、第 14 日、第 21 日に血液検体を採取し、抗ウマグロブリン抗体価の測定、精製ウマグロブリン、フィトヘマグルチニン、コンカナバリン A を用いた *in vitro* のリンパ球増殖試験、ならびに免疫複合体、循環中顆粒球の細胞傷害性反応、食作用活性、食作用係数の評価のために血液検体を使用した。第 21 日に採取した検体は、赤血球数、平均赤血球容積、ヘマトクリット、血中ヘモグロビン濃度、白血球数、T リンパ球比率の測定のためにも使用した。試験終了時に胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節から組織学的検査用の検体を採取した。2 mg/kg および 3 mg/kg の T2 毒素を含有する飼料を給与したところ、赤血球数、平均赤血球容積、ヘモグロビン濃度は有意に低下した。白血球数ならびに T リンパ球比率の有意な低下がすべての投与群において観察された。抗体形成およびリンパ球幼若化の用量依存的かつ有意な低下も認められ、リンパ器官における軽度から中等度の反応過程が組織学的に観察された。

成長過程ブタにおけるデオキシニバレノール(DON)とその他の特定の *Fusarium* 代謝産物との間に発生する相互作用の可能性に関する予備試験

複数の *Fusarium graminearum* 代謝産物(サンブチノール、15-アセチル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、カルモリン、ジヒドロキシカロネクトリン)のひとつ 2 mg/kg とともに、デオキシニバレノール(DON)6 mg/kg を与えた成長過程のブタと投与しなかったブタの結果を3件の予備試験で検証した。食餌中に DON が存在すると、摂取量、体重増加、および摂取効率にきわめて有意な影響($P < 0.05$)が認められた。さらに、試験間で有意性の程度は異なっていたものの、DON を含有しない食餌を与えられたブタと、DON 混入した食餌を与えられたブタとの間では胃の食道部のひだ形状と程度も異なっていた。特定の代謝産物、特にサンブチノールとカルモリンでは、成長および摂取量に関して DON を与えたブタと与えなかったブタとの間にわずかな差が認められたが、この差は有意ではなかった($P > 0.05$)。試験で用いた食餌中濃度の DON は、カビ代謝産物と組み合わせても成長過程のブタに顕著な程度ほど DON と相互作用しないことをデータが示している。

雌 CD-1 マウスに継続投与した低濃度 T-2 含有食餌の 2 世代の生殖能および催奇性への影響

0、1.5、3.0 ppm の T-2 毒素を含有する半合成食餌を用いて、2 世代雌の生殖能および催奇性に関する試験を実施した。妊娠率は第 1 世代では最低であり、この時点の対照群でも最低であったが、その後の世代においても各群の妊娠率はきわめて近い値であった。腹仔サイズ、胎仔の死亡、胎仔の性別、および在胎期間に有意差は認められなかった。全群の摂取量は同様であり、非妊娠雌と妊娠雌の体重増加も同様であった。第 2 世代の仔は第 1 世代の仔より成長が速く、2、5、6 週齢時、T-2 毒素 3.0 ppm 群の体重は有意に少なかったが、仔はいずれも 6 週齢時に CD-1 マウスの正常体重に到達した。剖検時に全動物に総合評価および組織学的評価を実施したが、有意な結果は認められなかったうえ、治療群に重大な異常や軽微な異常、または遅滞異常の有意差も認められなかった。対照群雌の第 2 世代の仔の脾臓相対重量は、治療群と比較して有意に高かったが、処置群雄はこの世代の対照雄と比較して脾臓相対重量が有意に高かった。本試験では、食餌中低用量 T-2 毒素による生殖能および催奇性への長期影響は認められなかったと結論づけた。

マウスにおけるニバレノールの急性および慢性毒性

ニバレノール (NIV) の毒性効果を正確に確認する目的で、マウス発癌研究中に LD₅₀ を測定しマウスを屠殺した。6 週齢の雄 ddY マウスに対する NIV の LD₅₀(mg/kg) は、38.9 (po)、7.4 (ip)、7.2 (sc) および 7.3 (iv) であった。7 週齢の雌 C57BL/6CrSlc SPF マウスに 0, 6, 12 および 30 ppm (mg/kg) の NIV を含有する餌を 1 年間以上与え、体重増加、飼料効率、末端器官重、血液学的特徴および組織病理学的特徴に関する影響を評価した。全試験期間において、体重増加速度と飼料効率は明らかな用量依存的相関を示した。対照マウスと NIV 投与マウスの肝臓、胸腺、脾臓、腎臓、胃、副腎、下垂体、卵巣、胸骨、骨髄、リンパ節、脳、およびパイエル板付きおよび無しの小腸に関して肉眼および組織病理学的評価を実施し、これらの組織は外観と組織病理学的構造が正常であることが分かった。また、骨髄の微細構造にも変化は見られなかった。しかし、NIV の経口投与は、末端器官重記録において、絶対器官重量 (mg) の用量依存性減少と相対器官重量 (mg/g 体重) の用量依存性増加を引き起こした。6 ヶ月後には 30 ppm 群において、そして 1 年後には全 NIV 処理群において有意の白血球減少が見られた。他の血液学的パラメータに関しては顕著な変化は見られなかった。これらの結果が示すように、6 ppm 以上の NIV を 1 年間経口投与すると、マウスにはトリコテセンカビ毒に特徴的な毒性効果が現れる。

**Fusarium 毒素に関する見解 第 1 部：デオキシニバレノール
(DON)**

抄録なし

Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 2 部：ゼアラレ
ノン (ZEA)

抄録なし

Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 3 部：フモニシ
ン B₁ (FB₁)

抄録なし

**Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 4 部：ニバレノ
ール**

抄録なし

Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 5 部：T2 毒素お よび HT2 毒素

抄録なし

食物中のダイオキシンおよびダイオキシン様 PCB のリスク評価に
関する食品科学委員会の見解

抄録なし

トリコテセン系マイコトキシンはリボ毒素によるストレス反応を誘発し、c-Jun N-末端キナーゼおよび p38 マイトジェン活性化蛋白質キナーゼを活性化し、アポトーシスを誘発する*

トリコテセン系マイコトキシンは、リボソームのペプチジルトランスフェラーゼ部位と結合することによって蛋白質合成を阻害する。ペプチジルトランスフェラーゼ反応の阻害物質(例えば、アニソマイシン)は、リボ毒素によるストレス反応を誘発し、c-Jun N-末端キナーゼ(JNK)/p38 マイトジェン活性化蛋白質キナーゼ、すなわちストレスへの反応において細胞生存を調節するシグナル伝達カスケードの構成物質を活性化することができる。著者らは過去に、特定のトリコテセンが JNK/p38 キナーゼを強力に活性化し、Jurkat T 細胞のアポトーシスを迅速に誘発することを発見した。個々のトリコテセンが蛋白質合成を阻害し、JNK/p38 キナーゼを活性化する能力はそれぞれに異なっているが、いずれの効果もアポトーシス誘発に寄与する。JNK/p38 キナーゼを強力に活性化するトリコテセンにおいては、アポトーシス誘発は蛋白質合成の阻害とともに線形に増大する。蛋白質合成を強力に阻害するトリコテセンにおいては、アポトーシス誘発は JNK/p38 キナーゼの活性化とともに線形に増大する。JNK/p38 キナーゼを活性化することなく蛋白質合成を阻害するトリコテセンは、アポトーシス性のトリコテセンとアニソマイシンの作用(すなわち JNK/p38 キナーゼの活性化とアポトーシスの誘発)を阻害する。構造的に無関係な蛋白質合成阻害物質であり、リボソーム結合に関してトリコテセン(およびアニソマイシン)と競合するハリングトニンもまた、JNK/p38 キナーゼの活性化を阻害し、トリコテセンおよびアニソマイシンによるアポトーシスを誘発する。まとめると、こうした結果は、ペプチジルトランスフェラーゼ部位が JNK/p38 キナーゼの活性化とアポトーシスの双方の調節物質であることを意味している。

細胞培養における 12,13-エポキシトリコテセンマイコトキシン類の 構造活性相関：全動物致死性との比較

19 種類の 12,13-エポキシトリコテセンマイコトキシン類について、Vero 細胞とラット脾臓リンパ球における蛋白質合成の相対阻害能を調べた。リンパ球の方が一般的にマイコトキシンに対する感受性が高かったが、2 種の細胞系の種々のトリコテセン類の相対効力間には高い相関が存在した。もっとも効力の高いマイコトキシン (T-2、ベルカリン A、ロリジン A) は、基本環構造の 4 位と 15 位炭素上にアセチル側鎖を持つ、あるいはその間に炭化水素鎖を持つものであった。これらの部位のいずれかから側鎖が失われるか、8 位炭素のイソバレリル基が失われることで、蛋白質合成阻害が減少した (T-2 から HT-2、ネオソラニオール、ジアセトキシシルペノール)。3 部位からの消失の如何なる組み合わせも (T-2 トリオール、T-2 テトラオール、15-モノアセチル DAS、シルペントリオール、フサレノン X、デオキシニバレノール)、さらに効果が弱まった。水酸基が水酸化物へ還元され、ベルカロールあるいはデオキシベルカロールが生成することで、最も効力の高いマイコトキシンに比べ効力が 1000 分の 1 以下に低下した。側鎖付加により効力が低下するのは、T-2 (アセチル T-2 へ) と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へ) の 3 位炭素にアセチル基が付加した場合か、ジアセトキシシルペノールの 9,10 位炭素にわたるエポキシドに置換された場合 (β -エポキシド DAS) のみであった。これらおよび他のマイコトキシンの効果の組合せは加算的で、活性部位への結合に対する相乗性および競合性は示さなかった。これらのマイコトキシンの *in vitro* 効果を全動物致死性試験の結果と比較したところ、いくつかのトリコテセン類では、*in vitro* 蛋白質合成阻害は弱いものの、*in vivo* 毒性は T-2 毒素に近かった。したがって、供試されたトリコテセンの *in vitro* 細胞応答は必ずしも、全動物における毒性の正確な予測子ではない。

トリコテセン類へのヒトリンパ球の *in vitro* 曝露：感受性の個体差 とリンパ球機能に及ぼす複合曝露の影響

トリコテセン類は、穀物由来の食品や試料中に一般的に存在する *Fusarium* 属の真菌が産生するマイコトキシンである。ほとんどのトリコテセン類において十分な毒物学的データがないため、これらの毒素のリスク評価に対して、*in vitro* 研究が貢献すると思われる。本報告では、ヒトリンパ球培養を用いて、ヒト間での感受性の個体差と、Ig の *in vivo* 生産に及ぼす影響を調べた。さらに、2 種類の毒素の組合せに曝露した細胞の増殖反応を調べた。本研究では、4 種類の毒素、T-2 毒素、ジアセトキシシルペノール (DAS)、ニバレノール (NIV)、デオキシニバレノール (DON) を対象とした。試験した 4 種類のトリコテセン類すべてが、マイトジェン誘導リンパ球増殖を効果的に阻害した。女性と男性の血液提供者由来のリンパ球の間で、これらの毒素に対する感受性に、統計的に有意な差はなかった。IC₅₀ 値の範囲として評価した、感受性の個体変動は、比較的限られていた (3-4 倍以内)。ヤマゴボウ刺激ヒトリンパ球による免疫グロブリン生産も効果的に阻害され、その IC₅₀ 値は、DON と NIV における増殖試験での IC₅₀ 値と近かった。しかし、T-2 に曝露した培養細胞の Ig 合成における IC₅₀ 値は、増殖試験において対応する IC₅₀ 値よりも約 2-3 倍高かった。低レベルの曝露では、試験した 5 人の提供者のうち 4 人に由来するリンパ球培養細胞において、Ig 生産の増加が観測された。この効果は、IgA 合成において最も顕著であった。NIV と T-2, DAS あるいは DON の組み合わせにより、リンパ球増殖試験において加算的な毒性が生じたが、DON と T-2 あるいは DAS の組合せでは、個々の毒素による阻害から予想されるより阻害の程度がわずかに低くなった。結論として、試験したトリコテセン類は、ヒトリンパ球における増殖と Ig 生産を用量依存様式で阻害し、感受性の個体変動は限られていた。低用量の毒素に曝露した培養細胞では、Ig 生産の増加が観測された。2 種類の毒素を組合せて曝露させることにより、主に加算的あるいは拮抗的效果が生じたが、相乗的效果は排除できず、さらなる研究が必要である。これらの知見より、リスク評価において A 型と B 型のトリコテセン類の全摂取量を考慮する必要があることが示された。

マウス体液性免疫及び細胞性免疫に及ぼすデオキシニバレノール (ボミトキシン)の影響

一連の独立した 4 試験において、近交系雄スイス・ウェブスターマウスに対するボミトキシン(デオキシニバレノール; DON)の準致死量(0.00、0.25、0.50 及び 1.00mg/kg b. w. /day)投与後の体液性免疫、細胞性免疫及び血清蛋白質に及ぼす影響を検討した。ボミトキシンを基礎食に添加し(検出限界未満、食餌 g 当りボミトキシン<0.05 μ g)、生後 21 日から 5 週間、マウスに投与した。第 2 試験では、5 週間のボミトキシン投与後 40 日間基礎食を与えた。

1.00mg/kg のボミトキシン投与後、対照群に比し、有意に血清中 α_1 及び α_2 -グロブリン値が低下した他、総血清アルブミン増加および食餌摂取量低下並びに体重増加を認めた。ボミトキシン 0.50mg/kg 投与後、血清中 α_2 -及び β -グロブリンの有意な低下が認められる一方、第 4 週のみ有意な食餌摂取低下を認めた。同様に、本マウス群における体重増加は第 2 週に有意に抑制されたが、第 3 週で正常値まで上昇し、第 4 週及び第 5 週で対照群と並行関係を示した。ボミトキシンの両値(0.50 及び 1.00mg/kg)とも対照群に比し、*L. monocytogenes* 添加後の死亡までの時間が用量関連性に短縮し、マイトジェンであるフィトヘムアグルチニン P (PHA-P) 刺激の脾臓リンパ球培養の増殖能を高めた。ボミトキシン 0.25mg/kg は、検討項目に対し有意な影響を示さなかった。上記及び過去の免疫学的試験に基づき、マウスにおける免疫学的影響に関する「影響なし」の合理的推定値は 0.25~0.50mg/kg b. w. /day であると思われる。

ブタにおける T-2 マイコトキシンの急性毒性および慢性毒性

T-2 毒素をさまざまな用量（すなわち 0.13～3.2 mg/kg 体重）でブタに静脈内投与したところ、いくつかの病変が生じた。粘膜の上皮細胞、空腸および回腸の陰窩細胞、回腸のパイエル板、盲腸のリンパ様組織、脾臓のリンパ濾胞、腸間膜リンパ節の胚中心において濃縮核および核崩壊が認められた。空腸および回腸の粘膜ならびに髄膜血管系の重度のうっ血が認められた。T-2 の静脈内注射によって、嘔吐、後軀不全麻痺、嗜眠、極度の空腹感の徴候、頻回の正常便の排泄からなる臨床的徴候の症候群も生じた。これらのブタの全血球数、総コレステロール、アルカリホスファターゼ、血中尿素窒素、乳酸脱水素酵素、総蛋白、血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、骨髓に対する影響は認められなかった。静脈内投与された T-2 毒素の単回投与の LD_{50} は 1.2 ± 0.15 mg/kg 体重であると判断された。T-2 の毒性に関する慢性試験では、T-2 に起因すると考えられる肉眼的病変も顕微鏡的病変も認められなかった。血液成分、（急性試験において説明されている）血液化学検査、骨髓は正常であった。1、2、4、8 ppm の T-2 毒素を標準的なブタの飼料に混入させて 8 週間にわたり若齢ブタに与えた。体重および摂餌量に関して投与群間の数値差は認められたものの統計学的有意差は認められなかった。若齢ブタは 16 ppm の T-2 毒素を含有する飼料に対して拒絶反応を示すが、10～12 ppm の T-2 毒素には忍容性を示す。体重増加量の数値差に基づき、無作用量は 1 ppm 未満であると推測されている。

選ばれたマイコトキシン：オクラトキシン、トリコテセン、麦角

抄録なし

サトラトキシンとその他のトリコテセン系マイコトキシンによるアポトーシス誘発：ERK、p38 MAPK、および SAPK/JNK 活性化との関連性

サトラトキシンは真菌 *Stachybotrys* によって産生されるトリコテセン系マイコトキシンの一種であり、建築関係の健康問題の原因として関連が報告されている。本試験の目的は、サトラトキシンおよびその他のトリコテセン系の細胞毒性とアポトーシス能と、3 種類のマイトジェン活性化蛋白質キナーゼ（細胞外シグナル調節蛋白質キナーゼ (ERK)、p38 MAPK、およびストレス活性化蛋白質キナーゼ/c-Jun N-末端キナーゼ (SAPK/JNK)) との関連性を明らかにすることにあった。骨髄モデルとして、RAW 264.7 マウスマクロファージと U937 ヒト白血病細胞の 2 種類を使用した。3-(4,5-ジメチルチアゾル-2-イル)2,5-臭化ジメチルテトラゾリウム (MTT) 分割検定において代表的なトリコテセンを評価したところ、サトラトキシン G、ロリジン A、およびベルカリン A > T-2 毒素、サトラトキシン F, H > ニバレノール、およびボミトキシンの順番に従って細胞毒性が明らかとなった。DNA 切断および蛍光顕微鏡検定を用いてトリコテセン媒介性アポトーシスを測定したところ同様の結果が認められたことから、細胞毒性はアポトーシスプロセスを介して媒介されたことが示唆される。ウェスタンブロット分析を用いて MAPK 活性化を評価したところ、トリコテセンは SAPK/JNK や p38 MAPK だけでなく、ERK も活性化することが明らかになった。サトラトキシンおよびその他のトリコテセンによる MAPK の活性化は、アポトーシスと相関し、アポトーシスに先行した。蛋白質合成の阻害に十分なサトラトキシン G の濃度は、アポトーシスおよび 3 種類の MAPK 全ての活性化に必要な濃度と相関した。シクロヘキシミドはトリコテセンと同様の効果を有したことから、リボソーム結合または蛋白質合成の阻害は MAPK 活性化およびアポトーシス誘発に役割を果たすことが示唆される。ERK 特異的な阻害物質 PD98059 により ERK 活性化が選択的に阻害された時に、サトラトキシン G およびボミトキシンのアポトーシス誘発が著しく増大したことは、ERK には負の役割があることを意味する。p38 特異的な阻害物質 SB203580 による p38MAPK 活性化の阻害は、強毒性サトラトキシン G によるアポトーシス誘発に影響を及ぼさなかった。しかし、SB203580 は毒性の低いトリコテセン、ボミトキシンのアポトーシス誘発を緩和に阻害したことは、トリコテセン誘発性のアポトーシスにおいて p38 MAPK は部分的に役割を果たすことを意味している。結果から、最も強力なトリコテセンにサトラ

トキシンが存在し、MAPK はこうしたマイコトキシンの別の毒性に重要な役割を果たすことが示唆される。

ニバレノールはマウスの全体的および抗原特異的 IgE 産生を阻害する

ニバレノール(NIV)は、ヘルパーT2(Th2)細胞が調節する IgA の過剰産生を誘発すると報告されている。しかし、Th2 細胞の調節下にある IgE 産生が NIV によって誘発されるのかどうかに関しては依然としてほとんど明らかになっていない。本試験では、卵白アルブミン(OVA)特異的 T 細胞受容体 $\alpha\beta$ -トランスジェニックマウスを用いて抗原特異的 IgE 産生に及ぼす NIV の影響を検証した。マウスに OVA を経口投与したところ、血清中に全体的および抗原特異的 IgE、IgG1、および IgA を有意に産生した。OVA とともに NIV を投与したところ、全体的な IgE 産生および OVA 特異的 IgE、IgG1、および IgA 産生を有意に阻害した。OVA と NIV を含有する食餌をマウスに与え、このマウスから採取した脾細胞を用いてサイトカイン検定を実施したところ、インターロイキン 4(IL-4)産生が阻害され、インターロイキン 2(IL-2)産生が増大したことが明らかになった。こうした結果から、NIV が IL-4 産生の阻害と IL-2 産生の増大を誘発したことにより、全体的および抗原特異的 IgE 産生を阻害したことが示唆される。

8-ケトトリコテセンおよびゼアラレノン類似体の構造とマイトジェン誘発性ヒトリンパ球芽球化の阻害との関連性

マイトジェン誘発性ヒトリンパ球への $[^3\text{H}]$ チミジン取り込みを 50%低減するのに必要なフザレノン X、ニバレノール、デオキシニバレノール、および 15-アセチルデオキシニバレノールの 50%有効用量はそれぞれ 18、72、140、および 240 ng/ml であった。このような結果から、C-4 の置換順アセチル>ヒドロキシル>水素に従い、8-ケトトリコテセンのリンパ毒性が減少するが、デオキシニバレノールの C-15 位アセチル化が *in vitro* の毒性にわずかな減少をきたすことが示唆された。ゼアラレノン、 α -ゼアラレノール、 β -ゼアラレノール、 α -ゼアララノール、 β -ゼアララノールの 50%有効用量はそれぞれ 3,500、6,300、36,000、3,750、および 33,000 ng/ml であり、C-6'位のケト基または α -ヒドロキシルが親分子のリンパ毒性に寄与したことが示唆される。芽球化検定に認められたゼアラレノン類似体の阻害効果は、こうした化合物のエストロゲン活性とは相関しなかった。試験を実施した 8-ケトトリコテセンおよびゼアラレノン類似体はいずれも、白血球凝集素、コンカナバリン A、アメリカヤマゴボウマイトジェンのマイトジェンパネルが刺激した B 細胞および T 細胞サブセットを阻害することができた。

T-2 毒素とその代謝産物による、マイトジェン誘発性ヒトリンパ球芽球化の阻害

マイトジェン誘発性ヒト末梢リンパ球における^{[3]H}チミジン取り込みを50%阻害する T-2、HT-2、3'-OH T-2、3'-OH HT-2、T-2 トリオール、および T-2 テトラオール毒素の濃度はそれぞれ 1.5、3.5、4.0、50、150、および 150 ng/ml であった。この結果から、T-2 毒素から HT-2 毒素への初回加水分解および T-2 毒素から 3'-OH T-2 毒素へのヒドロキシル化は親分子の免疫毒性を有意に低減することはないが、さらに T-2 トリオールおよび T-2 テトラオール毒素への加水分解または 3'-OH HT-2 毒素へのヒドロキシル化は *in vitro* においてヒトリンパ球への毒性を低減することが示唆された。

消化管微生物によるニバレノールの転換

ブタ、雌ウシ、ニワトリの消化管細菌叢がニバレノール (NIV) およびデオキシニバレノール (DON) を代謝する能力について *in vivo* と *in vitro* の両方で検討した。ブタに NIV を給与する前、ブタの糞を用いた NIV および DON の嫌気性培養において NIV および DON の代謝産物は形成されなかった。しかしながら、NIV 2.5 ppm または 5 ppm を含有する飼料を 1 週間にわたって給与したところ、6 匹中 5 匹では糞中に排泄された NIV のほぼすべてが脱エポキシ化されていた。3 週間にわたって NIV 飼料を給与した後は残りの 1 匹もこの能力を獲得していた。デオキシニバレノールも *in vivo* で脱エポキシ NIV を形成した微生物と共に *in vitro* 培養した場合にも脱エポキシ化された。雌ウシの第一胃液を用いた NIV および DON の嫌気性培養によって両毒素の脱エポキシドが高い割合で産生された。3 週間にわたって NIV 2.5 ppm または 5 ppm を給与されたニワトリの糞からは NIV の脱エポキシドは検出されなかったが、他の未同定の代謝産物が検出された。

ブタにおけるニバレノールの吸収および代謝

ニバレノール(NIV) 0.05 mg/kg 体重を 1 日 2 回給与されたブタを対象に NIV の吸収および代謝について検討した。第 1 日と第 3 日に肝門脈および腸間膜末梢動脈のカテーテルを通じて血液検体を採取した。給餌開始から 20 分後に採取した最も早い血液検体の大部分においてニバレノールが検出された。給餌後 7.5 時間において、NIV 投与量の 11~43% が吸収された。全身ピーク濃度は NIV 3~6 ng/ml であり、ほとんどの場合は給餌から 2.5~4.5 時間にこの濃度に達した。給餌から 16 時間後、NIV は依然として腸から吸収されており、全身濃度は NIV 1~3 ng/ml であった。ニバレノールは主に糞中に排泄され、糞は最大 3.2 mg/kg の NIV を含有していた。血漿中、尿中、糞中において NIV の代謝産物はグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体、脱エポキシ NIV のいずれとしても認められず、代謝の欠如が示された。NIV を給与しても摂食拒否は生じず、測定を行った臨床血漿パラメーターは正常範囲内であった。

環境中の低用量マイコトキシン、ニバレノールにより誘発される実験的 IgA 腎障害

IgA 腎症 (IgAN) は何らかの体外抗原をトリガーとして、粘膜免疫システムの調節不良を誘発するという仮説に基づき、著者らは東南アジアおよび日本において農産物を汚染することの多い環境中マイコトキシン、ニバレノール (NIV) が経口的に IgAN を誘発する実験モデルを開発した。本試験では、低用量の経口 NIV が糸球体メサンギウムの IgA 沈着を再現的かつ有意に誘発し、株に関係なくマウスの血清中 IgA 濃度を上昇させたことから、ヒト IgAN に類似する免疫病理学的変化の程度は、NIV 治療の用量と期間に関連した。さらに、NIV 類似体-蛋白質結合体を用いた競合的酸素結合免疫吸着検査法から、NIV モデルマウスの血清中 IgA 抗体はマイコトキシンに対し高い親和性を有することが明らかになった。結論として、このような結果から、NIV はマウスにおいてヒト IgAN に類似するある種の病理学的変化を誘発し、このマイコトキシンはある種の糸球体腎症の原因と関連することが示唆される。

食道癌高リスク地域からのトウモロコシ中のニバレノール、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、15-アセチル-デオキシニバレノール、およびゼアラレノンの自然発生と染色体異常誘発影響

本報告は、食道癌の高リスク地域である中国 Linxian からのトウモロコシ中における一群の *Fusarium* マイコトキシン類（ニバレノール[NIV]、デオキシニバレノール[DON]、3-アセチル-デオキシニバレノール[3-ADON]、15-アセチル-デオキシニバレノール[15-ADON]、およびゼアラレノン[ZEN]）の自然共存に関する最初の報告である。薄膜クロマトグラフィー（TLC）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、およびガスクロマトグラフィー（GC）を用いて、Linxian からの 107 のトウモロコシ試料を分析した。NIV と DON の平均レベルは、それぞれ 757 ± 707 ($54\text{--}2,760$) ng/g、および $5,376 \pm 4,460$ ($360\text{--}12,670$) ng/g であり、食道癌患者とその家族が主食として採っている 24 のトウモロコシ試料は 100%陽性であった。1984-1986 年の異なる季節に Linxian の 5 村で採取した他のトウモロコシ試料も高レベルの NIV と DON 混入を示し、100%陽性で、この地域でのこれら物質がトウモロコシ中に常時広い範囲で存在することを示唆した。Linxian のトウモロコシ中の 3-ADON と 15-ADON のレベルはそれぞれ 113 ± 57 と 495 ± 538 ng/g だった。食道癌患者家族から採取したトウモロコシ試料の粗抽出物と HPLC 精製した NIV と DON 画分は V₇₉ 細胞中で染色体異常を有意に誘発した。NIV、DON、T₂、および 3-ADON の純粋毒素もまた、非常に低い濃度（ng/ml 培地レベル）で V₇₉ 細胞中において染色体異常を誘発した。細胞毒性効果は、若干高い濃度で観察された。トリコテセンのレベルと種類は、食道癌発症と正の相関関係があった。このデータは、食物中のトリコテセンが Linxian における食道炎と食道癌と関連している可能性を示唆する。

Fusarium graminearum 由来の毒素

抄録なし

マウスの妊娠と胎児発生におよぼすニバレノールの影響

妊娠マウスに懐胎 7～15 日の期間、0, 0.1, 0.5 または 1.5 mg/体重 kg/日のニバレノール (3,4,7,15-テトラヒドロキシ-12,13-エポキシトリコテカ-9-エン-8-オン) を腹腔内投与した。最高用量により、マウス 10 匹のうち 6 匹が臍出血の後死産した。2 つの最高用量群では胚死亡率が高かった (87.8%と 48.4%)。試験群では、胎児奇形は観察されなかった。7 日目の 3 mg/kg 単回投与により、10 時間以内に胚が影響を受け、24 時間以内に胎盤損傷が発生し、48 時間には死産となった。

F344 ラットによるニバレノールの単回および反復経口投与毒性試験

ニバレノール(NIV)の単回および反復経口投与毒性試験を、雌雄性 F344 ラット(5 週齢)を用いて実施した。NIV 溶液は胃ゾンデを用いて単回投与した。鎮静、閉眼、よろめき歩行、下痢、および肺と消化管のうっ血が観察された。雌雄ともに、経口 LD₅₀ 値は 19.5mg/kg であった。亜急性毒性試験では、日用量 0.4 および 2.0mg/kg. bw の NIV 溶液を 30 日間経口投与し、15 日目と 30 日目に屠殺した。血液学的パラメーターと生化学的パラメーターに有意な変化は見いだされなかった。2.0mg/kg b. w. /day の投与で肝臓と脾臓の重量が有意に増加したが、組織学的変化はみられなかった。観察不可能な影響をもたらす NIV 用量を特定するためには、更なる試験が必要である。

雌性マウスにおけるニバレノールの慢性毒性： *FUSARIUM NICALE* Fn

2B 株汚染米を用いた 2 年間にわたる摂食試験

7 週齢の雌性 C57BL/6CrSlc SPF マウス 42 頭に、0、6、12、30 ppm のニバレノール (NIV) を含有する飼料を 2 年間にわたって接触させた。処置群のすべてのマウスに体重増加の減退と飼料効率の低下が見られ、これは高用量群で有意であった。30 ppm 群の肝臓絶対重量および 12 ppm 群と 30 ppm 群の腎臓絶対重量が、対照群に比べ有意に減少した。脳重量に対する相対値で表すと、12 ppm NIV 群のみに腎臓重量の減少が見られた。処置群、特に 30 ppm 群のマウスにいくらか白血球減少が見られたが統計的に有意ではなく、アルカリ性ホスファターゼと非エステル化脂肪酸の血清中濃度は用量依存的に増加した。いずれの処置群においても NIV を原因とする腫瘍は認められなかった。自然発生の腫瘍はほとんどがリンパ腫であり、すべての群で発生率は類似していたが、他群に比べて 30 ppm 群のマウスでは発現が遅く、成長速度も遅かった。アミロイドーシスの発生率は、特に小腸における発生率が対照群に比べ高用量 2 群で低かった。30 ppm NIV 群の死亡率は対照群よりも低く、これは初期の腫瘍発生率やアミロイドーシス発生率が低かったことが一因とも考えられる。

デエポキシニバレノール：ニバレノール経口投与ラットの排泄物中に新たに発見された代謝産物

ニバレノールを経口投与したラットの排泄物中に、新たな代謝産物を確認した。ラットの糞便から精製したこの新たな代謝産物は、質量スペクトラムと ^1H および ^{13}C 核磁気共鳴分光法によって、3,4,7,15 - テトラヒドロキシコテカ - 9,12 - ジエン - 8 - オン、すなわちデエポキシニバレノールであると判明した。反復投与において、糞便と尿中にそれぞれ全用量の 80%と 1%がデエポキシ代謝産物として排出され、その元の化合物は糞便と尿中に 7%と 1%の割合で検知された。

Fusarium poae によるニバレノール産生

スウェーデンのニバレノール含有穀物から *Fusarium* 種を分離し、毒素産生について検討した。*F.poae* (分離株 10 株中 6 株) のみがニバレノールを産生した。室温および近紫外線下において 4 週間にわたって米で培養したときに最も高い産生量 (44.7 μ g/g) が得られた。他国の *F.poae* 分離株 5 株はニバレノールを産生しなかったが、T-2/HT-2 毒素を産生した。スウェーデンの 1 種類の分離株は両方の種類のトリコテセンを産生した。*F.poae* に汚染された試験圃場を殺真菌薬で処理したところ、収穫された穀物中のニバレノール濃度は低下した。

ニバレノールがマウス骨髄に及ぼす影響

トリコテセン系マイコトキシンの一種であるニバレノールの毒性作用を検討するために、著者らは、ニバレノール産生真菌 (*Fusarium nivale* Fn 2B) により人為的にカビを生えさせた米を加えた飼料を用いて、雌 C57BL/6CrSlc SPF マウスにおいて 24 日間の短期摂取試験を実施した。有意な赤血球減少と軽微な白血球減少が 30 ppm 群で観察されたが、他の血液学的パラメータ、摂取量、体重増加、又は肝臓、脾臓及び胸腺の重量に顕著な変化は観察されなかった。超微細構造試験でも、30 ppm 群において、骨髄細胞のポリリボソームの破壊が判明した。

マウスにおけるニバレノールの急性および慢性毒性

ニバレノール (NIV) の毒性効果を正確に確認する目的で、マウス発癌研究中に LD₅₀ を測定しマウスを屠殺した。6 週齢の雄 ddY マウスに対する NIV の LD₅₀(mg/kg) は、38.9 (po)、7.4 (ip)、7.2 (sc) および 7.3 (iv) であった。7 週齢の雌 C57BL/6CrSlc SPF マウスに 0, 6, 12 および 30 ppm (mg/kg) の NIV を含有する餌を 1 年間以上与え、体重増加、飼料効率、末端器官重、血液学的特徴および組織病理学的特徴に関する影響を評価した。全試験期間において、体重増加速度と飼料効率は明らかな用量依存的相関を示した。対照マウスと NIV 投与マウスの肝臓、胸腺、脾臓、腎臓、胃、副腎、下垂体、卵巣、胸骨、骨髓、リンパ節、脳、およびパイエル板付きおよび無しの小腸に関して肉眼および組織病理学的評価を実施し、これらの組織は外観と組織病理学的構造が正常であることが分かった。また、骨髓の微細構造にも変化は見られなかった。しかし、NIV の経口投与は、末端器官重記録において、絶対器官重量 (mg) の用量依存性減少と相対器官重量 (mg/g 体重) の用量依存性増加を引き起こした。6 ヶ月後には 30 ppm 群において、そして 1 年後には全 NIV 処理群において有意の白血球減少が見られた。他の血液学的パラメータに関しては顕著な変化は見られなかった。これらの結果が示すように、6 ppm 以上の NIV を 1 年間経口投与すると、マウスにはトリコセンカビ毒に特徴的な毒性効果が現れる。

Fusarium 毒素に関する見解 第 1 部：デオキシニバレノール
(DON)

抄録なし

**Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 2 部：ゼアラレ
ノン (ZEA)**

抄録なし

Fusarium 毒素に関する食品科学委員会の見解 第 3 部：フモニン
ン B₁ (FB₁)

抄録なし

トリコテセン類へのヒトリンパ球の *in vitro* 曝露：感受性の個体差 とリンパ球機能に及ぼす複合曝露の影響

トリコテセン類は、穀物由来の食品や試料中に一般的に存在する *Fusarium* 属の真菌が産生するマイコトキシンである。ほとんどのトリコテセン類において十分な毒物学的データがないため、これらの毒素のリスク評価に対して、*in vitro* 研究が貢献すると思われる。本報告では、ヒトリンパ球培養を用いて、ヒト間での感受性の個体差と、Ig の *in vivo* 生産に及ぼす影響を調べた。さらに、2 種類の毒素の組合せに曝露した細胞の増殖反応を調べた。本研究では、4 種類の毒素、T2 毒素、ジアセトキシシルペノール (DAS)、ニバレノール (NIV)、デオキシニバレノール (DON) を対象とした。試験した 4 種類のトリコテセン類すべてが、マイトジェン誘導リンパ球増殖を効果的に阻害した。女性と男性の血液提供者由来のリンパ球の間で、これらの毒素に対する感受性に、統計的に有意な差はなかった。IC₅₀ 値の範囲として評価した、感受性の個体変動は、比較的限られていた (3-4 倍以内)。ヤマゴボウ刺激ヒトリンパ球による免疫グロブリン生産も効果的に阻害され、その IC₅₀ 値は、DON と NIV における増殖試験での IC₅₀ 値と近かった。しかし、T2 に曝露した培養細胞の Ig 合成における IC₅₀ 値は、増殖試験において対応する IC₅₀ 値よりも約 2-3 倍高かった。低レベルの曝露では、試験した 5 人の提供者のうち 4 人に由来するリンパ球培養細胞において、Ig 生産の増加が観測された。この効果は、IgA 合成において最も顕著であった。NIV と T2, DAS あるいは DON の組み合わせにより、リンパ球増殖試験において加算的な毒性が生じたが、DON と T2 あるいは DAS の組合せでは、個々の毒素による阻害から予想されるより阻害の程度がわずかに低くなった。結論として、試験したトリコテセン類は、ヒトリンパ球における増殖と Ig 生産を用量依存様式で阻害し、感受性の個体変動は限られていた。低用量の毒素に曝露した培養細胞では、Ig 生産の増加が観測された。2 種類の毒素を組合せて曝露させることにより、主に加算的あるいは拮抗的效果が生じたが、相乗的效果は排除できず、さらなる研究が必要である。これらの知見より、リスク評価において A 型と B 型のトリコテセン類の全摂取量を考慮する必要があることが示された。

アルカリ性単細胞ゲル電気泳動による培養細胞およびマウスの複数臓器におけるニバレノール遺伝毒性の検出

培養 CHO 細胞およびマウスの複数臓器や組織(肝、腎、胸腺、骨髄、胃粘膜、空腸、および結腸)を用いて、アルカリ性単細胞ゲル電気泳動(SCG、または Comet)検定で、*Fusarium nivale* の強力な毒性トリコテセン、ニバレノール(NIV)の遺伝毒性を検証した。50 および 100 $\mu\text{g/mL}$ の NIV は、S9 mix が存在しない状態で CHO 細胞の核 DNA を損傷し、NIV が直接突然変異誘発要因であることを示した。*in vivo* 試験において、NIV の経口投与(20 mg/kg)または腹膜内投与(3.7 mg/kg)のいずれかを実施し、2、4、8 時間後にマウスを屠殺した。著者らが調製した SCG 検定によって DNA 損傷を測定した。経口投与後、DNA 損傷は 2 時間後の腎と骨髄(その後 2 時間以内にほぼ対照レベルに戻った)、および 2、4、8 時間後の胃、空腸、結腸にそれぞれ認められた。肝および胸腺 DNA に損傷は認められなかった。腹膜内注射の後、経口試験と同様、8 時間後に広範な DNA 損傷が観察された結腸を除いて、いかなる臓器または組織にも DNA 損傷は認められなかった。組織病理学的検査のため、NIV の経口投与(20 mg/kg)の 2、4、8 時間後にマウスを屠殺した。NIV が統計学的有意に DNA 損傷を発生させたいかなる臓器にも壊死性変化を検出することはなかった。マウスにおける輸送能に及ぼす NIV の影響を測定するため、1%ブリリアントブルーFCF(BB)10 ml/kg(NIV 治療と同量)を経口投与した。30 分後、BB は結腸に到達し、NIV の同時経口投与(20 mg/kg、BB 溶液 10 ml に溶解)が染料の輸送速度に影響を及ぼすことはなかった。このため、結腸 DNA に対する強力であるが遅延性の損傷は、局所効果ではなく全身吸収の後に発生すると考えられる。NIV は直接突然変異誘発要因として、マウスにタイミングと強度に関して臓器特異的な遺伝毒性を示した。

Fusarium nivale 生育米の毒性成分ニバレノールによる Ehrlich 腹
水腫瘍における蛋白質合成および DNA 合成の阻害

抄録なし

ニバレノールの長期摂食がアフラトキシン B₁ により開始されたマウス肝臓癌形成に及ぼす影響

トリコセテンの一種であるニバレノールは、穀物や食品に広く発生するが、今回の 2 年間摂食試験により、雌マウスにおいて腫瘍原性作用はないことが判明した。ニバレノールが直接アフラトキシン-B₁ (AFB₁) により開始された肝臓癌形成の発生を変化させるかどうかを検討するために、1 週齢 C57B1/6×C3HF₁ マウスに、6 mg/kg bw の AFB を腹腔内注射し、6 週間後にニバレノールを 0、6 または 12 ppm 含有する飼料を 1 年間与えた。3 群全ての雄マウスで、肝細胞癌及び腺腫が発生したのに対し、雌の発生率は、AFB₁ 単独投与群で 31%、AFB₁ とニバレノールを 6 又は 12 ppm 投与した群は、それぞれ 20%及び 0%であった。これらの知見から、ニバレノールが、雌マウスにおいて、おそらくプロモーション段階に作用することにより、AFB₁ により開始された肝臓癌形成を直接抑制することが示唆される。