

1 遺伝毒性 追加知見（案）
2 （第59回かび毒・自然毒等専門調査会の審議による追加分）

3
4 （文献リストNo. 265）

5 ラット（F344/NSIc-Tg（*gpt delta*）、雄、一群10匹）に*A. ochraceus*（BD-
6 5）培養後純度95%以上に精製したOTAを0、0.070、0.210又は0.630 mg/kg 体
7 重/日で4週間経口投与した。最終投与3時間後に各群5匹の腎臓髄質外層を採取
8 してコメットアッセイを行った結果、いずれの投与群でも有意なDNA損傷①の
9 増加が認められた／②を検出した。さらに、各群4匹の腎臓髄質外層についての
10 ウェスタンブロット解析により、 γ -H2AXタンパクの発現増加が0.210 mg/kg
11 体重/日以上群で認められた。また、同系統のラット（一群10匹）に精製したOTA
12 を0又は5 mg/kg 飼料（0.210 mg/kg 体重/日相当）で4週間混餌投与した。①主
13 に欠失変異を検出する突然変異試験／②大規模欠失変異検出試験（Spiアッセイ）
14 を、腎臓髄質外層を試料として実施した結果、投与群においてSpi変異頻度の有
15 意な増加が認められた。

16
17 （文献リストNo.265）

18 【事務局より】

- 19 ・第58回調査会にて2014年1月評価書以降の知見については、原則OTAの入手
20 経路が明確なものについて採用することとされました。本知見は培養後、精
21 製したOTAを使用しているため、本知見の取り扱いについてご検討をお願い
22 します。
23 ・黄色ハイライト部分の記載案（①又は②）について、ご検討をお願いしま
24 す。

25
26 【森田専門参考人からのコメント】

- 27 ・「原則OTAの入手経路が明確なものを採用」との方針だが、菌を培養後に純
28 度95%以上に精製したOTA であれば、その基準に合致していると考え
29 ・「主に欠失変異を検出する突然変異試験」に脚注として、「*gpt delta*トラン
30 スジェニックげっ歯類（ラット及びマウス）を用いる遺伝子突然変異試験で
31 は、主に塩基置換変異などの点突然変異を検出する*gpt*アッセイ及び主に欠
32 失変異を検出するSpi-アッセイの2種類の検出系が適用できる。」と説明を
33 入れてはいかがか。

34
35 （文献リストNo. 266）

36 マウス（p53発現 *gpt delta transgenic* [p53^{+/+}] 及び p53欠損 *gpt delta*

1 transgenic [p53^{-/-}]、雄、一群5匹) に0又は5 mg/kg 体重/日のOTAを3日間経口
2 投与した。最終投与3時間後に腎臓を採取してコメットアッセイを行った結果、
3 p53の発現状況にかかわらずDNA損傷①を検出した／②の増加がみられた。ま
4 た、マウス (p53^{+/+}及びp53^{-/-}、雄、一群5匹あるいは10匹) に0又は5 mg/kg 体
5 重/日のOTAを4週間 (5日/週) 経口投与し、最終投与の72時間後に腎臓を摘出し
6 た。免疫組織化学染色を施したところ、p53の発現状況にかかわらずγ-H2AX 陽
7 性細胞の割合が増加したが、その程度はp53欠損マウスが強かった。さらに、突
8 然変異試験 (Spi-アッセイ) を実施した結果、p53欠損マウスでのみSpi突然変
9 異頻度が増加した。

11 (文献リストNo.266)

12 【事務局より】

13 黄色ハイライト部分の記載案 (①又は②) について、ご検討をお願いします
14 す。

15
16 【森田専門参考人からのコメント】

17 陰性対照でもDNA損傷/突然変異/小核の誘発がみられているため、「増加」
18 という現象を提示することが必要と考える。

19
20 (文献リストNo.060) ※不採用リストより移動 (森田専門参考人)

21 マウス (Balb/c、雄、一群4匹) に0又は0.85 mg/kg 体重のOTAを腹腔内投
22 与し、24時間後に採取した血液を用いたコメットアッセイ及び骨髄を用いた小
23 核試験を行った。その結果、陰性対照群と比較して、・・・

24
25 (文献リストNo.060)

26 【事務局より】

27 「陰性対照群と比較して」以降の記載案について、ご検討をお願いいたしま
28 す。

29
30 <案1>

31 血球細胞におけるDNA損傷が増加した。小核試験の結果、投与群で骨髄中の
32 MNPCE頻度 (微小核を有する多染性赤血球の割合) が増加した。

33
34 <案2>

35 投与群のリンパ球のDNA損傷及び骨髄中のMNPCE (小核を有する多染性赤
36 血球) が増加した。

1 (2014年評価書 参照304)

2 【案1】

3 *gpt delta*マウス (p53発現型及び欠損型、雄、一群5匹) に0、1又は5mg/kg体
4 重/日のOTAを4週間経口投与した。腎臓を試料とした*gpt*突然変異頻度は、p53
5 発現型マウスにおける 5 mg/kg 群で $0.14 \pm 0.10 \times 10^{-5}$ 、1 mg/kg 群で
6 $0.26 \pm 0.12 \times 10^{-5}$ 、対照群で $0.26 \pm 0.11 \times 10^{-5}$ 、p53 欠損マウスにおける5 mg/kg群
7 で $0.11 \pm 0.03 \times 10^{-5}$ 、1 mg/kg群で $0.19 \pm 0.13 \times 10^{-5}$ 、対照群で $0.19 \pm 0.13 \times 10^{-5}$ であ
8 り、OTA投与による有意な変化は認められなかった。OTA特異的*gpt*変異スペク
9 トルは観察されなかった。一方、Spi⁻突然変異頻度はp53欠損マウスにおける5
10 mg/kg群で有意に上昇し (対照群 $0.14 \pm 0.09 \times 10^{-5} \rightarrow 0.36 \pm 0.09 \times 10^{-5}$ 、 $p < 0.01$)、
11 p53発現型マウスでは変化がなかった。

12
13 【案2】

14 マウス (p53発現型[p53^{+/+}]及び欠損型[p53^{-/-}] (*gpt delta*)、雄、一群5匹) に
15 0、1又は5 mg/kg体重/日のOTAを4週間経口投与した。腎臓を試料とした*gpt*突
16 然変異頻度は、p53の発現状況にかかわらずいずれのマウスにおいても増加がみ
17 られなかった。また、OTA特異的*gpt*変異スペクトルも観察されなかった。一方、
18 Spi⁻突然変異頻度は、p53欠損マウスにおける5 mg/kg群で増加したが、p53発現
19 マウスでは増加はみられなかった。

20
21 (2014年評価書 参照304)

22 【事務局より】

23 記載案について、ご検討をお願いいたします。

24
25 【森田専門参考人からのコメント】

26 他の試験の結果で数値を記載していないため、このみ変異頻度数値をあげ
27 て説明する合理性はないと考える。なお、最初の試験系の説明は、案1を利用
28 し、「*gpt delta*マウス (p53発現型及び欠損型、雄、一群5匹) に」が良いと考
29 える。[p53^{+/+}]と[p53^{-/-}]は、必要に応じての記載で良いのではないかと考
30 える。

31
32 ※2014年評価書 参照 303 については、遺伝毒性試験の実施がないため、現状
33 通り発現機序にて記載。