

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全性高度化推進研究事業

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小西 良子

国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

平成17（2005）年3月

総 括 研 究 報 告 書

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

小西 良子

厚生労働科学研究費補助金

(食品の安全性高度化推進研究事業)

平成16年度総括研究報告書

食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究

主任研究者 小西良子 国立医薬品食品衛生研究所

衛生微生物部 第4室室長

研究要旨：食品に汚染するカビ毒は、低分子で比較的安定な化合物のため、食品衛生上大きな問題であるため、国際的な取り組みがなされている。コーデックスなどで国際的に基準値設定が推奨されているカビ毒はトータルアフラトキシン (TAF: AFB1, AFB2, AFG1, AFG2)、アフラトキシン M1, パツリン、オクラトキシン A (OTA), トータルフモニシン (FB: B1, B2, B3)、ゼアラレノンなど数多く存在するが、我が国で基準値が設定されているのはパツリンだけである。本研究では我が国でまだ基準値が設定されていないにもかかわらず国際的に対応が急がれているカビ毒を対象に、基準値設定の根拠となる科学的基礎データを得ることを目的としている。本年度の成果は以下の通りである。① TAF, OTA, FB の3種類のカビ毒を対象とした汚染実態調査を行い、ピーナッツ加工品からより AF が検出された。OTA は、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出された。FB は、スイートコーン、ポップコーン、コーングリッツの多くより検出された。② TAF の毒性評価に関する文献調査および我が国での汚染事例の検討をおこなった結果、AFB1, AFB2, AFG1 および AFG2 を総合的に規制対象とすることは、健康被害を未然に防ぐために妥当であると思われた。我が国のナッツ類の汚染事例では AFB1, AFB2 のみ汚染しているケースが9割を占めることから基準値を設定する場合には AFB1 の規制との組み合わせが必要であると思われた。また、わが国の国産小麦で汚染が問題になっているニバレノール (NIV) の慢性毒性試験の予備試験として、ラットに NIV を 25 ないし 100 ppm の割合で 14 日間混餌投与した。その結果従来報告されている様な免疫系ないし腎臓の変化が認められなかったことより、最高用量を 200 ないし 300 ppm にして、予備試験を再試する必要があると考えられた。③ モンテカルロ・シミュレーション法による日本人のナッツ類からの AFB1 曝露量の推定を行った結果、日本人のナッツ類からの AFB1 の曝露量は諸外国と比較し低く、また、規制値を設けた場合でも大きな影響は及ぼさないものと思われた。しかしナッツ類の摂取には一部の多量摂取群存在の可能性が考えられるので、これらについては新たなモデルを用いて推定を行う必要があると考えられた。

割と品輸がを必ど奨タ1、トラニレ本値かれ準基的究実評率を
4る食。我向がな推一、ラクモラ。準かが基的目研染性確価
約いはるい動とスがト、フオアる基も急、学を本汚毒た評
ちて毒あ高なこク定、(TAF:AFB1、アルゼすだにがに科とめののし露
うれビでが的るッ設は、タ、ンタ、在まい応象るこた毒毒に暴
のさ力題性際すデ値毒シ(2)、リ、存でな対対なるのビビ基た
糧染、問存国応一準ビシ、(B3)、く国いにをと得そ力かをい
食汚どな依は対コ基カキ、バツト、多がての毒拠を。要査用
のにほ要のてし。にるト、A、B2、数我れ際ビ根一る主主調を
世界毒る重へい握る的いラ、M1、ン、どはさ国力のたい①②態法。実況状食にこ対、観当小る知さ慢、基が行に発
見世ビれ上品お把あ際てフ、AFG1、ン(B1、どはさ国力のたい①②態法。実況状食にこ対、観当小る知さ慢、基が行に発
全力わ生食ににで国れア、AFB2、ンシ、ンシ(なで定ずる定一て、査実手た。の状討るくたをはな妥産いな価のはを我を値、
はい衛入国常要でさルAFB2、ンシ、ンシ(なで定ずる定一て、査実手た。の状討るくたをはな妥産いな価のはを我を値、

B. 研究方法

① 米と小麦粉は農林水産省からの提供されたものを、その他の食品はスーパーマーケット等で購入したものを、それぞれ分析試料とした。TAF用 235 検体、FB 用 166 検体、OTA 用 201 検体を測定に供した。

TAF の分析は、イムノアフラニ
イニティール（アフラニ）でク
リステック（VICAM 社）でク
リステックし、トリフルオロ酢
酸で処理してから、または処
理せずに、HPLC（ODS カラム
4.6mm i. d. × 250mm、5 μ m、移
動相：アセトニトリル-メタ
ノール-水（1+3+6）、流速：
1 ml、蛍光検出器：励起波長
360nm、蛍光波長 450nm）の
条件で行った。

OTA の分析は小麦粉・ライ
麦粉についてアセトニトリ
ル-水 (6+4) で、コーン
製品・米・オートミール・コ
ーンプレーク・そば粉につい
ては塩化ナトリウムを加え、
メタノール-水 (8+2) で、
レーズン・生コーヒー豆につ
いてはメタノール-1%炭酸水
素ナトリウム水溶液 (7+3)
で振とう抽出した。ワイン、
ビールについては1%ポリエチ
レングリコール 8000-5%炭酸
水素ナトリウム水溶液を加え
混合した。抽出物または混合
物をイムノアフィニティーカ
ラム (オクラテスト (VICAM
社)) でクリーンアップし、HPLC
(ODS カラム: 4.6mm i.d. ×
250mm, 5 μ m, 移動相: アセト
ニトリル-水-酢酸
(55+43+2)、流速: 1 ml/min、
蛍光検出器: 励起波長 333nm、
蛍光波長 460nm)) に供した。

FB の分析は、塩化ナトリウムとメタノール-水 (3+1) で抽出し、イオン交換カートリッジカラム (Bond Elut LRC (VARIAN)) でクリーンアップし、メタノール-酢酸 (99+1) 溶出液を LC/MS (カラム :

ZORBAX Eclipse XDB-C18) による分析に供した。

②AFの毒性評価は、1993年と2002年IARC Monograph および1998年JECFA Monographに加えて、1993年以降に発表された毒性に関する文献と、AFB₂、AFG₂の代謝に関する文献および遺伝毒性に関する文献について調査した。我が国の汚染事例は、いままです報告された汚染事例に関する文献調査とともに、2000年以降、ピーナッツ、アーモンドおよびピスタチオを対象に行われた輸入時検査の結果から、TAFにおけるAFB₁の割合を検討した。

NIVは当研究所衛生微生物部にて精製した。産生菌として *Fusarium kyushuense* (Fn-2B) を用い、培養後、フザレノンX画分を集め、アンモニア存在下でNIVに転換し再結晶化させた。動物は、5週齢の雄性F344ラット(日本チャールズリバー)を用い、NIVを0、25、100 ppmの割合で基礎飼料(CRF-1:オリエンタル酵母)に混じり、14日間投与を行った。週に一度の割合で、体重と摂取量を測定した。投与終了時にエーテル麻酔下で採血を行い、脱血後、動物を屠殺し、脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣、小腸を採取し、小腸以外の臓器については重量を測定した。胸腺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎は10%緩衝ホルマリンに浸漬固定し、小腸はホルマリン注入後、同様に浸漬固定した。精巣に関しては、ブアン液にて固定を行った。ホルマリン固定組織は3日後に、ブアン固定組織は翌日に切り出しを行い、定法に従いヘマトキシリン・エオジン染色切片を作製し、病理組織学的に検索を行った。また、採取した全血を用いて塗抹標本作製し、白血球百分率を求めた。

統計学的解析は、体重、臓

器重量については各群の分散をBartlettの方法で検定し、等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、不当分散の場合はKruskal-Wallisの方法により検定を行った。群間に有意差が認められた場合、その多重比較はDunnettの方法で無処置群とNIV各群の間で有意差検定を行った。病変の発生頻度は、無処置対照群との間でFisherの直接確率法により検定を行い、病変の強度については、同様の比較をMann-Whitney's U-testにより行った。

③モンテカルロ法を用いたAF曝露評価

今回の調査においては、対象食品としてピーナッツとアーモンドの2つであった。含有量データはピーナッツでは2000年の個別の検査データ2981件、アーモンドでは2000年から2003年までの検査データ計54件を用いた。摂取量データは国民栄養調査における各年齢層別の1日、体重1Kgあたりの摂取量(g)のデータを用いた。AFB₁曝露量分布の推計は、Crystal Ball 2000日本語版((株)構造計画研究所)を用いて、モンテカルロ法により実施した。想定規制値として全く規制をかけない場合、10ppb以上のものの流通を禁止する場合、15ppb以上のものの流通を禁止する場合、20ppb以上のものの流通を禁止する場合の4つのシナリオを作成した。年齢層は、1日の体重1KgあたりのAFB₁の摂取量をシミュレーションした。全年齢、1~6歳、7~14歳、15~19歳、20歳以上の5群に区分した。

C. 研究結果

①TAFは、235試料のうち、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、粉ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、生トーマロコシ、ゴマ

油、米、ソバからは検出されなかったが、ピーナッツバター20試料のうち10試料から3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の濃度が検出された。

OTAは、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満であった。

FBは、押麦、コーンスープ、生トーマスコシ、ソバからは検出されなかったが、スイートコーン、ポップコーン、コーングリッツの多くより、数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下、一試料から100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上のFB1が検出された。

②AFの毒性は、急性毒性、生殖毒性、免疫毒性、遺伝毒性から評価されているが、IARCが評価しているように、発ガン性が最も重要な健康被害である。そのメカニズムに関しては、AFB1で詳細に研究されているが、AFのジヒドロフラン環の2, 3の二重結合が発ガン性に関与しており、二重結合の部分がチトクロームP450により8, 9エポキシド化し、DNAや細胞内タンパクに特異的に結合し、遺伝子変異を起こすことによりガン化が引き起こされるにはAFB1よりは弱い発ガン性が認められている。一方、エポキシド化からグルタチオンSトランスフェラーゼの作用を受けた場合には、グルタチオン抱合体を形成し、AFB1は解毒される。すなわちこのエポキシド化からのDNAへの結合変換と解毒へのバランスがガン化の大きなファクターとなっている。マウスなどの動物種ではAFB1の原発性ガン原性に抵抗性があるが、これはラットなどのAFB1に対して感受性の高い動物に比べて3倍から5倍グルタチオンSトランスフ

ェラーゼ活性が高いからだといわれている。ヒトはラットやマウスに比べ8, 9エポキシド複合体に対するグルタチオンSトランスフェラーゼ活性は低いので、AFに対する解毒能力は低いことが考えられる。

AFB1の他、同様に二重結合を有するAFG1, AFM1, AFQ1, AFP1およびアフラトキシコールはAFB1ほど活性が強いが発ガン性を有する。

二重結合をもたないAFB2およびAFG2の発ガン性に関しての信頼性の高い報告はないが、アヒルにおいてはAFB2が代謝によってAFB1になることが報告されており、AFB2およびAFG2が発ガン性を示す場合には、何らかの代謝を受けAFB1あるいはAFG1に変換するプロセスが重要であると考えられる。いままでの報告では、ヒト細胞を用いた*in vitro*の実験からはこのような変換が起こる可能性は示されていないが、AFB2およびAFG2の急性毒性は、実験動物や培養細胞を用いた実験から、それぞれAFB1の20%および10%であることが明らかになっており、遺伝毒性はなくても基準値を設定する場合にはAFB2およびAFG2も考慮に入れるべきであろう。

我が国での汚染実情に関する報告から、AF産生菌には、B1, B2のみ産生するBグループとB1, B2, G1, G2の4種類を産生するBGグループの2つのタイプがある。

1972年から1991年にかけて行われたピーナッツ汚染に関する研究では、輸出国によりその汚染割合が違ふことを明らかにしている。アメリカ地域からではBグループが82%であり、BGグループが18%であった。一方アフリカ、アジア地域からはそれぞれBグループが97%および98%を占め、BGグループが3%

および 2% であった。ピーナツの種類別に分類すると大粒種での B グループでの AFB1、AFB2 の割合は AFB1: 88%、AFB2: 12% であった。BG グループでは AFB1: 59%、AFB2: 6%、AFG1: 29%、AFG2: 6% であった。小粒種では、B グループと BG グループの割合はそれぞれ 90.7%、9.3% であったが、B グループでの AFB1、AFB2 の割合は AFB1: 84%、AFB2: 1.6% であった。BG グループでは AFB1: 46%、AFB2: 9%、AFG1: 36%、AFG2: 9% であった。

2000 年のピーナツ汚染事例をみると、大粒種では B グループは 89%、BG グループは 11% を占めていたが、小粒種では B グループは 91% を占め、BG グループはわずか 9% であった。この結果は 1972 年—1991 年間の輸入ピーナツから得られた結果と同様のパターンをしめしていた。

輸入ピスタチオでは、2000 年から 2003 年までの結果では検査で陽性になったすべてのピスタチオが B グループであった。

アーモンドの汚染事例では、試料数が少なかったが、B グループが 85%、BG グループが 15% を占めていた。

NIV の 14 日投与実験では、実験期間中の体重及び摂餌量、末梢血中の白血球分画にも明らかな変動は認められなかった。解剖時の脳、胸腺、肺、心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓、精巣の重量を測定した結果、25 ppm 群で肝臓の相対重量が若干の低値を示した以外は、絶対・相対とも明らかな変動を示さなかった。胸腺、脾臓、肝臓、腎臓、小腸、精巣の病理組織学的検索の結果、肝臓で微小肉芽腫、腎臓で限局性再生尿細管などのごく軽度の自然発生性病変が対照群を含む少数例に認められたが、

投与に起因する発生頻度や病変の増強は認められなかった。精巣においては、精細管腔へのごく軽度の細胞残屑の出現が対照群を含む殆どの例に認められたが、セルトリ細胞の空胞変性や、精細管中の精上皮細胞の部分的な脱落病変も認められ、その出現例が有意差はないものの NIV 投与により増加傾向を示した。

③含有量と摂取量のシミュレーションデータから、曝露量の推定分布を表した。いずれも低曝露に集中しており、年齢、規制値シナリオにより若干右に裾を広げた分布となっている。推定曝露量の 95 パーセンタイル値で見ると、もっとも高値を示したのが「規制なし」による 7—14 歳のアーモンド摂取による 0.04 ng/kg/day であり、極めて低い曝露量となった。規制に関する各シナリオにおいても大きな差異は認めなかった。

D. 考察

①市販食品の汚染実態調査によつて、米製品、トモロコシ、ゴマ製品、ナッツ類、香料に AF 汚染が既に報告されているが、これら既報の汚染性実態を踏まえ、汚染の可能性が考えられる 12 種類の食品を優先的に取り上げて調査を行なった結果、ピーナツバターのみに汚染が認められた。スーダンの AF 汚染地帯においては、ピーナツバターが肝臓癌のリスク因子であることが報告されていることから、今後、その製造原料としてのピーナツの情報を収集する一歩とともに、さらに多数のピーナツバターについて汚染実態調査を行なうこと、また、我が国におけるピーナツバターの消費形態の調査も並行して行なうべきものと考えられる。OTA については小麦、大麦、燕麥、ライ麦、干しぶどう、ワイン、コーヒに高濃度の汚染が比較的高頻度に

認められてきた。その他に、米、香辛料、オリーブ、豆類、ココア、チョコレート、ひまわり種子、ゴマ種子、肉類、乳、ビール、ソバに汚染が認められており、最近ではグレープジュースや冷凍ぶどうにも汚染が認められている。今回調査では、米には汚染が認められなかったが、それ以外食品のいずれからも、分析対象試料の20—91%に汚染が認められた。とくに干しぶどうの汚染の濃度が高く、最高値12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を示した。そば粉の汚染濃度は比較的 low、検出例平均値は0.513 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、検出例が10試料中6試料であったことに加え、摂取量が比較的多い食品であることから、今後さらに汚染実態調査を継続する必要がある。

FBはトーマロコシとその製品、米に汚染が認められてきたが、トーマロコシとその製品に加え、押し麦とそばについて調べた結果、ポップコーンとコーングリッツの全試料に、スイートコーンの一部にそれぞれ汚染が認められた。ポップコーンについては、B1汚染濃度の平均値として57.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が、最高値として354 $\mu\text{g}/\text{kg}$ がそれぞれ認められたことから、次年度以降さらに多数の試料を対象として調査を行なうべきであろう。また、コーングリッツとのもにポップコーンについての摂取量のデータを手し、暴露評価に備えることも必要である。

② AFB1 および AFG1 においては発がん性が評価されているが、AFB2 および AFG2 の発がん性に関してはアヒルで AFB2 から AFB1 への変換が報告されている以外は、裏付ける文献はなかった。しかし AFB2 と AFG2 に急性毒性が明らかであることから、コーデックス規格である TAF として基準値を

設定する方法は、AFB1 以外の AF 類による発がん性をも含めた健康被害を未然に防止する目的では妥当であるといえる。

もし、我が国の基準値をコーデックス規格に準じて TAF とした場合、現行の AFB1 の 10 ppb 規制を担保できるかが問題となる。そのためには、TAF における AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 の比率を正確に把握することが重要である。今年度はまずアフラトキシン汚染頻度の高い輸入ナッツ類において、4種類のアフラトキシンの比率について文献調査および最近の輸入時検査結果を基に分析した。その結果ナッツ類の汚染形態には、2種類存在することが明らかになった。一つは AFB1 と AFB2 しか汚染していない B グループ、もう一つは4種類のすべての AF に汚染されている BG グループである。我が国の輸入ピーナッツでは、輸入国の違いは多少あるが、おおむね 85%—97% が B グループであり、残り数%が BG グループであった。ピスタチオナッツにおいては B グループが 100%であった。アーモンドでの AF 汚染は試料数が少ないのでさらにデータを集める必要があるが、B グループが 85% を占めていた。これらの結果から、我が国に輸入されるナッツ類は、AFB1 および AFB2 が汚染されている B グループが 9 割近くを占めていることが明らかになった。以上の結果から我が国の AF の汚染は TAF の AFB1 の割合が 8 割以上を占めるため、TAF のみの規制では現行の AFB1 に対する 10 ppb 規制が担保できない恐れが生じるので、AFB1 の基準値との組み合わせが必要であろう。

NIV に関する現在までの報告されている毒性試験においては、マウスを用いた急性毒性、4 週ないし 12 週の亜慢性

毒性，1年間の慢性毒性，2年間の発がん性試験，及びラットを用いた15日ないし30日間反復投与試験がある。しかし、ラットを用いた30日間反復投与試験以外は、投与に用いたNIVは純品ではなく、培養物そのものを給仕していたため、その結果の信頼性には国際的評価において疑問がもたれていた。本実験においては、純度95%以上のNIVを用いることによって、国際的評価に耐えうる毒性実験を行うものである。また、NIVはマウスでは長期投与によりIgA腎症を誘発することが知られており、血清IgAレベルへの影響も考慮すべき点である。本研究で用いた混餌投与による最高用量（100 ppm）は、体重を200 g、1日当たりの摂餌量を15 gとして換算した場合、7.5 mg/kg/日の投与量で、用量としては既報告例より3倍以上高い濃度であったものの、14日間の投与で標的と考えられる臓器・組織に明らかな毒性影響を認めていなかった。これらの結果を踏まえ、NIVによる毒性発現を捉えるためには、投与濃度を高く設定して14日間投与試験を再度実施する必要がある、その結果、13週間亜慢性毒性試験の実施を考慮すべきであると考えられた。また、今回NIV投与に関連して新たに見出された、セルトリ細胞の空胞変性や、精細管中の精上皮細胞の部分脱離など、精巣変化は、かなり微弱であり、同様に、追試による確認が必要であると考えられた。

③これまでの知見によれば、AFB1を継続的に1mg/kg/day摂取した場合の肝臓がん発生率はB型肝炎抗原陽性者において3件/100万人・年、同じく陰性者で0.1件とされている。今回のシミュレーション結果ではピーナッツ、アーモンド摂取により1mg/kg/day

以上摂取するものは大きく見積もっても全体の0.1~2%であり、両者の摂取による肝がんの過剰発生はほとんど見込まれない、という結果になった。しかしながら、用いたデータの代表性の問題、実際の分布の仮定の問題、食品摂取量の相関の問題等、データの信頼性をより改善し、また、その他の食品からの曝露量も併せて再試算することが必要と思われる。

E. 結論

AF, OTA, FBを対象に行った実態調査の結果、AFはピーナッツバターの一部より、OTAはレーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から、FBはスイートコーン、ポップコーン、コーングリッツの多くより検出された。今後は、今回検出された品目は検体数を増やして実態調査を進めていき、検出されなかった品目もモニタリングしていく必要がある。

TAFの毒性評価から、多くの国で採用しているTAFとしての規制は発ガン性以外の健康被害を未然に防ぐ意味で妥当であると思われる。しかし、我が国の汚染事例では、TAF中のAFB1の占める割合が非常に高いという事実から考えて、TAFとAFB1との2重規制が推奨される。

ラットを用いたNIVの慢性毒性予備試験では、100 ppmを最高用量とした14日間混餌投与の結果精巣以外にNIVによる毒性を示唆する変化は認められず、より高用量の反復投与による再試験が必要であると考えられた。

我が国でのナッツ類からのAFの暴露評価をモンテカルロ法により推定した結果、AFB1に対して10 ppbの規制を行っている現状では、ピーナッツ、アーモンド摂取により1mg/kg/day以上摂取するもの

は大きく見積もっても全体の0.1～2%であり、両者の摂取による肝がんの過剰発生の危険性はほとんどないと言える。今後は用いたデータの代表性の問題、実際の分布の仮定の問題、食品摂取の相関の問題等、データの信頼性の改善、その他の食品からの曝露量の再試算が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sugita-Konishi, Y.

The

mechanism of Aflatoxins carcinogenesis and the current occurrence of Aflatoxin B1 contamination of nuts in Japan. Mycotoxins, in press

2. 学会発表

小西良子「アフラトキシンーその発ガン性と汚染実態」マイコトキシン研究会学術講演会、2005年1月

H. 知的財産権の出願登録状況

なし

分 担 研 究 報 告 書

アフラトキシンの毒性評価

小西 良子

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全性高度化推進研究事業)

分担研究報告書

アフラトキシンの毒性評価

分担研究者 小西良子 国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部

第4室室長

協力研究者 奥山恵美 城西国際大学薬学部 教授

協力研究者 杉浦義紹 神戸市環境衛生研究所 副部長

要旨：アフラトキシンは、アスペルギルス属の産生する発ガン性を有するカビ毒であり、食品衛生上問題となることから多くの国で基準値を設けている。我が国では、現在アフラトキシン B1 に対して食品衛生法 6 条 2 項により規制を行っているが、早急にリスク評価に基づいた基準値を設定する必要がある。

コーデックス規格や諸外国では基準値設定としてトータルアフラトキシン（アフラトキシン B1、B2、G1、G2）を用いる統括的な規制が主流となっているが、我が国に適した基準を策定するにあたり、トータルアフラトキシンの毒性評価と我が国での汚染事例の実情を文献調査を中心に検討した。

A. 研究目的

アフラトキシンは、高温多湿の地域に生息しているカビが産生するカビ毒であり、ヒトや動物に発ガンをはじめとする種々の健康被害を引き起こす。穀類、香辛料、種子類、豆類など多くの食品に汚染しているが、我が国においてはおもに輸入ピーナッツ、ピスタチオ、アーモンド、はと麦、香辛料などから頻度高く検出されている。現在、我が国では食品衛生法第 6 条 2 項によっ

てアフラトキシン B1 は規制対象となっており、基準値として設定されているが、しかし、輸入品依存割合の高い我が国としては、早急にリスク評価に基づいた基準値設定が必要がある。

コーデックス規格や主要諸外国では、アフラトキシン

の規制を、アフラトキシン B1 (AFB1)、B2 (AFB2)、G1 (AFG1)、G2 (AFG2) の合算であるトータルアフラトキシンを対象とする方法で設けるのが主流となっている。EU は、トータルアフラトキシンの規制と AFB1 の規制の組み合わせの方法を採用している。

このような背景から、我が国の実情にあった基準値策定を行うために、毒性や汚染の実情に関する基礎的な調査研究が必要である。本研究では 1993 年および 2002 年に開かれた国際がん研究機関 (IARC) の評価および 1998 年に開かれた FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) の評価その後発表された文献を基に、毒性および汚染実態の文献調査と検討を行った。

(1) アフラトキシンの毒性評価

(2)我が国における汚染事例
の調査

C. 研究結果

(1) アフラトキシンの毒性

(1)-1. 急性毒性

LD50 は、50g 体重のアヒルヒナに対して、経口投与でおこなった実験から AFB1: 18.2 μ g, B2: 84.8 μ g, G1: 39.2 μ g, G2: 172.5 μ g と算出された(1)。AFB2 および AFG の LD50 はアヒルでそれぞれ 1.76mg/kg, 2.83mg/kg であった。ラットでは 200mg/kg までは毒性は認められなかった(2)。AFB1 は LD50 の半分以下の用量で急性の肝毒性を起こす。ヒト肝細胞に対する LD50 は AFB1: 1ppm, G1: 5ppm, G2: 16ppm であった(3)。動物細胞や種々の動物実験を用いた毒性実験の結果から、G1、B2、G2 の毒性はそれぞれ B1 の 50%、20% および 10% である(3)。

(1)-2. 生殖毒性

妊娠マウスへの投与実験の結果、AFG1では肝臓の中
性脂肪の上昇が見られ、AFB1

では肝臓の中性脂肪と脂肪酸の蓄積および肝臓、腎臓での細胞毒性が認められた。

(1)-3. 遺伝毒性

びム電とばク、のニガのの子の異殖ん考エS.受こ起グ異なるおはシロ合たGラリ0のるク推としてDNAよびシ異に替しとヒてF
 よ一求)んだ)、のニガのの子の異殖ん考エS.受こ起グ異なるおはシロ合たGラリ0のるク推としてDNAよびシ異に替しとヒてF
 おロ型だアト)、AFB1化て合pgセン、遺、c-Ha-変増がとるオンをるはノ変い性のキド結るFフよ2ですと2しDNAよびシ異に替しとヒてF
 シンク性シ内Aダク。AFB1化て合pgセン、遺、c-Ha-変増がとるオンをるはノ変い性のキド結るFフよ2ですと2しDNAよびシ異に替しとヒてF
 シンク活細胞DNAダク。AFB1化て合pgセン、遺、c-Ha-変増がとるオンをるはノ変い性のキド結るFフよ2ですと2しDNAよびシ異に替しとヒてF
 キチてポ細DAる。んれ結るのさガc-myc、子を変異つさオチの結合損のよれる強いフラジ二てるAFQ1、AはたM発0し毒果変オ遺た異細起。性だ
 ト、つエや(質すび研究Aで番要るや遺細胞のひ生ルターとDNA、IARC系書合最アで3与有AFQ1、AはたM発0し毒果変オ遺た異細起。性だ
 フラト、つエや(質すび研究Aで番要るや遺細胞のひ生ルターとDNA、IARC系書合最アで3与有AFQ1、AはたM発0し毒果変オ遺た異細起。性だ
 アフ、つエや(質すび研究Aで番要るや遺細胞のひ生ルターとDNA、IARC系書合最アで3与有AFQ1、AはたM発0し毒果変オ遺た異細起。性だ
 謝0間D結んを性広は遺2ジ失る。Ki-rasβ腫こズい。ドがフチさ。の詳ANがあのの性構M一が行キれ1。の。験妹ラこな遺さ子れるな
 代5中、とた化毒はは遺2ジ失る。Ki-rasβ腫こズい。ドがフチさ。の詳ANがあのの性構M一が行キれ1。の。験妹ラこな遺さ子れるな
 の4性り質、ん伝ムAFB1抑ドチ能ある。14-3-3こる。ニてドがフチさ。の詳ANがあのの性構M一が行キれ1。の。験妹ラこな遺さ子れるな
 そp子なくトが遺ズAFB1抑ドチ能ある。14-3-3こる。ニてドがフチさ。の詳ANがあのの性構M一が行キれ1。の。験妹ラこな遺さ子れるな

それ B グループが 97% および 98% を占め、BG グループが 3% および 2% であった。ピーナッツの種類別に分類すると大粒種での B グループでの AFB1、AFB2 の割合は AFB1: 88%、AFB2: 12% であった。BG グループでは AFB1: 59%、AFB2: 6%、AFG1: 29%、AFG2: 6% であった。小粒種では、B グループと BG グループの割合はそれぞれ 90.7%、9.3% であったが、B グループでの AFB1、AFB2 の割合は AFB1: 84%、AFB2: 16% であった。BG グループでは AFB1: 46%、AFB2: 9%、AFG1: 36%、AFG2: 9% であった。

2000 年のピーナッツ汚染事例をみると、大粒種では B グループは 89%、BG グループは 11% を占めていたが、小粒種では B グループは 91% を占め、BG グループはわずか 9% であった。この結果は 1972 年 - 1991 年間の輸入ピーナッツから得られたため結果と同様のパターンを示していた。

輸入ピスタチオでは、2000 年から 2003 年までの結果では検査で陽性になったすべてのピスタチオが B グループであった。しかし名古屋衛生研究所で行った市販ピスタチオの汚染事例をみると、B グループが 95% を占め、BG グループが 5% であった。これはピスタチオにおいても BG グループによって汚染される事例はあるが、その頻度は非常に低いことを示唆している。

アーモンドの汚染事例では、試料数が少なかったが、B グループが 85%、BG グループが 15% を占めていた。

D. 考察

アフラトキシンの毒性は、急性毒性、生殖毒性、免疫毒性、遺伝毒性から評価されているが、IARC が評価しているように、発ガン性が最も重要な健康被害である。そのメカニズムに関しては、AFB1 で詳細に研究されているが、アフラトキシンのジヒドロラン環の 2, 3 の二重結合が

発ガン性に関与しており、二重結合の部分がチトクローム P450 により 8, 9 エポキシシド化し、DNA や細胞内タンパクに特異的に結合し、遺伝子変異を引き起こす。この発ガン化が引き起こされるのは AFB1 より弱い発ガン性である。一方、エンボキシシド化からグルタチオン S-トランスフェラーゼの作用を受け、グルタチオン結合体を形成し、AFB1 は解毒される。この代謝経路は AFB1 の DNA 損傷や発ガン性の大きなファクターとなっており、マウスなど動物種では AFB1 の原発性発ガン性に抵抗性があるが、これらはラットなどの AFB1 に対して感受性の高い動物に比べて 3 倍から 5 倍グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性が高いからだとされている。ヒトはラットやマウスに比べて 8, 9-エポキシシド複合体に対するグルタチオン S-トランスフェラーゼ活性は低いので、アフラトキシンの解毒能力は低いことが考えられる。

AFB1 の他、同様に二重結合を有する AFG1、AFM1、AFQ1、AFP1 およびアフラトキシコールは AFB1 ほど活性が強くはないが発ガン性を有する。

二重結合をもたない AFB2 および AFG2 の発ガン性に関しての信頼性の高い報告はなされていない。しかしアヒルにおいては AFB2 が代謝によって AFB1 になることが報告されており、AFB2 および AFG2 が発ガン性を示す場合には、何らかの代謝を受け AFB1 あるいは AFG1 に変換するプロセスが重要であると考えられる。いままでの報告では、ヒト細胞を用いた *in vitro* の実験からはこのような変換が起こる可能性は示されていない。しかし AFB2 および AFG2 の急性毒性は、実験動物や培養細胞を用いた実験から、それぞれ AFB1 の 20% および 10% であり、この発ガン性はなくても基準値を設定

めていた。
 これらの結果から、我が国に輸入されるナッツ類は、AFB1 および AFB2 が汚染されている B グループが 9 割近くを占めていることが明らかにになった。また、B グループのなかでの AFB1 の占める割合は、Itoh らの報告（4）によれば、ピーナッツにおいて 88% であったため、トウモロコシを設定する場合には、AFB1 の値を設定する場合は、AFB1 を占められる。すなわちトータル A フラットのキシエンとして 12.5 ppb 以下の設定をしないと、現行の AFB1 を対象とした 10 ppb 規制は担保されないこととなる。しかし B グループの汚染ではあるという結果も得られ、この組み合わせが必須である。

1993年、2002年 IARC Monograph および 1998年 JECFA Monograph に加えて、最近の文献調査結果を加えて、トータルアフラトキシン（AFB1, AFB2, AFG1, AFG2）の毒性評価をした。トータルアフラトキシシンの内を AFB1, AFG1 はエポキシドを形成し、DNA 結合活性を有する。一方、発ガン性がある。また、AFB2 および AFG2 は、ガンのヒトでは評価がされにくい。急性毒性は、AFB1 と AFG1 に代り、謝に於いて AFBI や AFGI に変換する可能性がない。トキソゲンとして、合成分類のアフラトキシン化を促す。ベータ規格対象の毒物を健康被害を防ぐため、輸入ナットの占める AFB1 の割合は約 80% 以上である。このことから、一値あたりのラ重量は、基盤となる AFB1 しかなかつた。

圧倒的に情報量が不足しており、より正確な判断を行うためにはさらに研究調査を続ける必要がある。

参考文献

- 1) B.A.Carnaghan, et al., Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins. *Nature*, 1101 (1963)
- 2) Wogan, G.N., et al., Structure-activity relationship in toxicity and carcinogenicity of aflatoxins and analogs. *Cancer research*, 31, 1936 (1971)
- 3) K.Terao, and K.Ohtsubo, *Micotoxins and animal foods*, Chapter 21, pp455 (1986)
- 4) 伊藤嘉典ら、「輸入剥き実生落花生のアフラトキシン

汚染調査 (1972-1991)」
Mycotoxins(2001)51,13

G.研究発表

1. 論文発表

Sugita-Konishi, Y. The mechanism of Aflatoxins carcinogenesis and the current occurrence of Aflatoxin B1 contamination of nuts in Japan. *Mycotoxins*, in press

2. 学会発表

小西良子「アフラトキシンーその発ガン性と汚染実態」マイコトキシン研究会学術講演会、2005年1月

H.知的財産権の出願登録状況 なし

Table 1. 輸入ピーナッツ、ピスタチオ、アーモンドにおけるAFB1,B2,G1,G2汚染割合

		Bグループ(%)	BGグループ(%)	備考
ピーナッツ (1975-1991)	大粒	85-97	3-15	Itoh,Y, et al., Mycotoxins, 51, 19-24 (2001)
	小粒	91	9	
ピーナッツ (2000)	大粒	89	11	
	小粒	91	9	
ピスタチオ (2000-2003)		100	0	
アーモンド (2000-2003)		85	15	

1993 年 IARC Monograph 要旨

World Health Organization

International Agency for Research on Cancer

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans

Some naturally occurring substances: Food items and constituents, Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins

Vol. 56, 1993

要旨と評価

1. 曝露

アフラトキシンは、主に高温多湿な気候の地域に偏在している2種類の *Aspergillus* 属が産生する比較的安定な毒素である。作物が、アフラトキシン B1 (AFB1) か AFB1 とアフラトキシン G1 (AFG1) の混合したものに汚染されているかは、*Aspergillus* 属の地理的な分布に依存している。というのも *Aspergillus flavus* はおもに AFB1, AFB2 を産生し世界中に分布しているが、*Aspergillus parasiticus* は AFB1, AFB2, AFG1 と AFG2 を産生し、アメリカ、アフリカに広く分布している。アフラトキシン M1 はおもに母乳を含むミルクの消費を通して曝露するが、世界の限局した地域では生まれる前から子宮を通してアフラトキシンの曝露されていることがバイオモニタリングの研究から明らかになっている。

2. ヒトにおける発ガン性データ

アフラトキシンを含むダストに曝露された少数のオランダの油圧関係の労働者の集団例では、肝ガンによる死者が増加することが示された。しかし、同時に死に至らない肝臓がんも観察された。中国での集団例では摂取する食品がアフラトキシンに多く汚染されている村では肝臓がんでの死亡例が非常に多いことが見出された。オランダの輸入飼料工場の労働者でアフラトキシン汚染飼料を10年以上取り扱っていた人たちは同じ工場の他の仕事をしていた労働者に比べて肝臓ガンが多いことが報告されている。中国において、尿中にアフラトキシン代謝物を含む人々はB型肝炎抗原陽性の補正をした後でも肝臓ガンにかかるリスクが著しく高くなることが示された。リスクの増加は、特にそれらの人々の中でアフラトキシン-グアニンアダクトの排出量に伴って増えたが、摂取する食物や尿中に含まれるアフラトキシン量との相関はなかった。

アフラトキシンの曝露評価を行う試みにおこなわれた3つの病院で行われた症例対象研究のうち、1つは(フィリピンで行われたものであるが)アフラトキシンの摂取量が多かったヒトと少なかったヒトの間では肝臓ガンへのリスクに有意な差が見られた。しかし他の2つは(1つは香港でもうひとつはタイ)相関性を裏付ける結果は得られなかった。

タイでは2つの症例、肝細胞ガンと胆管ガンのいずれにおいても血清中のアフラトキシン-アルブミンアダクトとの相関性は認められなかった。

中国での2つの集団例はB型肝炎ウイルスとアフラトキシンが混合している曝露状況を扱っているが、それぞれが独立した効果をもつことが示唆された。いくつかの相関性のある結果は推定されるアフラトキシンの摂取量と肝臓ガン事例に強い相関があることを示していた。そのなかの少数例において肝炎ウイルスの流行との何らかの相関性が同時に評価されている。1つはスイスでの症例、もうひとつは中国での症例であるが、その症例ではB型肝炎ウイルスとAFB1の曝露には強い相関があることを示していた。中国で最も大規模で行われた研究では、摂取されたアフラトキシンB1と尿中のB1代謝物の間には相関が認められなかった。

3. 実験動物における発がん性

〈AFB1〉アフラトキシン混合物およびAFB1に関しては数種のマウス、ラット、ハムスター、数種の魚類、アヒル、ニジマス、サルを用いていろいろなルートでの投与実験での発ガン性が広く研究されている。経口投与ではアフラトキシン混合物およびAFB1は、マウス以外の動物において肝細胞ガンおよび胆管ガンを発症した。ラットでは腎細胞ガンと直腸などの他の臓器での腫瘍が低い確立であるが見出された。サルでは肝細胞ガンおよび胆管ガンにくわえて肝血管肉腫、骨原肉腫、胆管の腺腫、すい臓ガンが認められた。成熟したマウスではAFB1を腹腔内に投与すると肺アデノーマの事例が増加した。未成熟のマウスや成熟したラットではAFB1の腹腔内投与によって肝細胞腫瘍がすべての系統において認められた。AFB1の皮下投与では局所的な腫瘍が認められた。妊娠中および哺乳中でのアフラトキシンB1の腹腔投与は母親およびその子供たちに中枢および末梢神経、子宮、消化管の腫瘍を含む種々の臓器に良性および悪性の腫瘍が誘導された。いくつかの動物種においては、異なった投与ルートで投与されたアフラトキシンB1が肝細胞の変化を伴う病巣を作りその数と大きさはその後の肝細胞の腫瘍やガンへの発達に深く相関していた。

〈AFB2〉AFB2はラットで経口投与において肝細胞の病巣と肝細胞腺腫を起こした。腹腔内投与ではその確立は低くなった。

〈AFG1〉AFG1の経口投与はラットにおいて肝細胞の病巣と肝細胞腺腫、腎細胞腫瘍を起こし、魚類において肝細胞腫瘍を誘導した。AFG1の肝ガン原性はアフラトキシンB1より弱かった。AFG1の皮下投与では局所の肉腫を起こしたが、AFB1を同じルートで同量投与した場合より発症まで時間がかかった。AFG2の経口投与では、1実験しかされていないが、マスにおいても肝ガン性は認められなかった。

〈AFM1〉AFB1の加水分解代謝物であるが、AFB1と経口投与で同量投与場合には、ラットおよび魚類において比較的低い割合で肝臓ガンが認められた。

〈AFQ1〉AFQ1、これもAFB1の代謝物のひとつであるが、経口投与で魚類において高い割合で肝臓ガンが認められた。代謝物のひとつであるアフラトキシコールはラットおよび魚

類において AFB1 に比べて低い確率であるが腫瘍が見出された。

4. 関連データ

A F B 1 : 堅実に遺伝毒性があり、ヒトや動物において体内でアダクトを生成し、げっ歯類、サルにおいてクロモゾームが変則をおこす。ヒトや動物において細胞内で DNA に損害を与え遺伝子変異とクロモゾームの変則をおこし、細胞のトランスフォーメーションを促す。虫類に対しても遺伝子変異と組み替えを起こし、細菌に対しては DNA 損傷と遺伝子変異を起こす。アフラトキシン B 1 はヒトと動物に対しては肝毒性を示し、動物に対しては腎毒性と免疫毒性を示す。

A F B 2 : 広範囲に研究はされていない。A F B 2 はラットにおける動物実験の結果 DNA と結合し、その後代謝されて A F B 1 になることが報告されている。げっ歯類の細胞では DNA 損傷、姉妹染色体変換および細胞のトランスフォーメーションを起こす。しかし遺伝子変異はない。真菌においては遺伝子変異も組み替えも起こさないが細菌に対しては遺伝子変異を起こす。

A F G 1 : げっ歯類において DNA と結合し染色体異常を引き起こす。ヒトや動物の継代細胞では、DNA 損傷および染色体変則を誘導する。真菌に対しては DNA 損傷を、細菌に対しては遺伝子変異を引き起こす。

A F G 2 および A F M 1 に関しては遺伝毒性に関する研究はあまりされていないが、A F G 2 は遺伝子変異と染色体の変則を誘導し、A F M 1 はげっ歯類の継代細胞において DNA 損傷を引き起こし、細菌においては遺伝子変異を誘導する。

ヒトでの A F B 1 の代謝物である 8, 9-エポキシドは、他のアフラトキシンに感受性の高い動物種と同じように、DNA やアルブミンとアダクトを形成する。ヒトでの主な AFB1 の代謝物であるアフラトキシン B 1-N7 グアニジンと血清アルブミンアダクトはアフラトキシンに感受性の高い動物（ラット）と比較した研究が多くなされている。

グルタチオン S-トランスフェラーゼが仲介してできるグルタチオンと 8, 9-エポキシドの複合体は、DNA 損傷を減少させる。これは実験動物において腫瘍形成を減少させるのに重要なメカニズムである。マウスなどの動物種ではアフラトキシンの発ガン原性に抵抗性があるが、これはラットなどのアフラトキシンに化して感受性の高い動物に比べて 3 倍から 5 倍グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性が高いからだといわれている。ヒトはラットやマウスより 8, 9-エポキシド複合体に対するグルタチオン S-トランスフェラーゼ活性は低いので、アフラトキシンに対する解毒能力は低いことが考えられる。

1998 年 JECFA Monograph 要旨

毒性学的研究 <抜粋>

1. 急性毒性

他の review で述べられているのでここでは省略する。

2. 生殖毒性

● 妊娠マウスを用いて、AFG1 4.8 ng/kg bw/day および AFB1 0.8 ng/kg bw/day を独立にまたは共に飼料に混ぜて与えた場合、子供マウスにおいて、AFG1 では肝臓の中性脂肪の上昇が見られ、AFB1 では肝臓の中性脂肪と脂肪酸の蓄積および肝臓、腎臓での細胞毒性が認められた。

3. 遺伝毒性

● AFB1 はDNAに結合し、p53 のコドン 249番目のグアニンをチミジンに変異させる作用を持つ。この変異は p53 遺伝子特有の働きを阻害するのだが、一般にこのような毒性を異型接合性と呼んでいる。ヘテロジィアスな化学物質に対する代謝系を有する *Saccharomyces cerevisiae* 試験種を用いた実験結果から、活性化された AFB1 は DNA 組み換えを潜在的に誘引することが明らかになった。

● ラットは AFB1 原発性肝ガンに感受性が高く、マウスは低い。この種による感受性の違いを、AFB1-アルブミンアダクトの量により比較してみると、ラットでは染色体異常量と血中の AFB1-アルブミンアダクトに相関性があった。また、マウスよりラットの方が AFB1-アルブミンアダクトの量が高かった。

● AFB1-アルブミンアダクトの生成は、異なる種における AFB1 原発性肝ガンに対する感受性を反映している。尿中の AFB1-N7 グアニンアダクトも中国の集団例においては肝ガン発症の進行に関係するリスクと関係していた。

4. 免疫毒性

● ラットにおける実験結果から、低レベルのAFの継続的な曝露は成長期の宿主においての感染やガンに対する感受性を高めることが見出されている。

● 呼吸器からのAFの曝露も、肺の局所および全身の免疫防除機構を衰えさせる。

5. アフラトキシンの発がん性を修飾する因子

● 低カロリー食はAFB1が誘引するDNA合成を肝臓と腎臓において遅延させる。

● 低タンパク食はAFB1が誘発する腫瘍が出現するために要する期間は長くなったが、腫瘍の大きさ、数などが減少した。

● 高脂肪食は高炭水化物食よりチトクローム 1A1 と 2B1 活性を高くする。こ

のことは AFB1 の解毒を促進し、肝高分子タンパク質と結合する AFB1 の量を減らすことに役立つ。

- 今後の重要な問題として次のものが挙げられる。
 - 1) アフラトキシンから生物活性を有するエポキシド代謝物への異なる代謝経路
 - 2) エポキシドから生物活性体への変換活性と解毒活性へのバランス
 - 3) AFB1 エポキシドと DNA との関係とガン化への変異
 - 4) AFB1 エポキシドの細胞毒性と発ガン性に対する役割
 - 5) 毒性発現における非エポキシドの重要性
 - 6) マイコトキシンに関連性のない疾病の進行への寄与度
 6. 核酸およびタンパクと結合したアフラトキシン残基
- セリンの前処理は、用量依存性に AFB1-DNA 結合を阻害する。
- ヒト、マウス、ラットで生成された AFB1-DNA アダクトは標的細胞で DNA 損傷をおこすが、ゲッシ類で得られた結果が、ヒトにおける AFB1-DNA アダクトの影響に関する結果が不完全であることからそのままヒトに外挿することは出来ない。
- 7. グルコース輸送
- グルコース代謝に関係の深い Glyoxalase-1 活性は低レベルの AFB1 により抑制されるので、グルコースに対する耐性の変化が、肝臓の AF を介する過酸化を誘引すると考えられている。
- 8. コットンシード中のアンモニア処理アフラトキシンの影響
- 大気圧を用いた試料中のアンモニウム処理は、飼料中の AFB1, AFM1 のミルクへの移行を減少させる。このことによって肝ガンへのリスクを減らすことが出来る。
- 9. ウッドチャック、アヒル、リス、ツバイにおける B 型肝炎ウイルスとアフラトキシン
- 肝炎ウイルスに感染することにより AFB1 の代謝活性が上昇し、AFB1-DNA アダクト形成に影響がでるものと考えられていることから、AFB1 と B 型肝炎ウイルスは、相乗作用をもつ。
- 10. ヒトにおける情報
- 10-1. アフラトキシン曝露のバイオマーカー
- ゲッシ類では、血清中の AFB1-アルブミンアダクトは、肝で出来ている AFB1-DNA アダクトのマーカーであり、これらのパラメーターは少なくとも、AFB1 原発性肝ガンへの感受性と関係している。このマーカーは今後検討していかなければならない問題である。
- 10-2. ヒト肝細胞ガンにおける p53 ガン抑制遺伝子の変異

- p53 ガン抑制遺伝子上にいくつかの変異はアフラトキシン曝露の特異的マーカーとなるであろうという仮定は、肝ガン疫学的調査の分野の突破口となるかもしれない。特に p53 とアフラトキシンの関係の特異性を確かめることは、アフラトキシンが肝ガン発症の原発であるかどうかの評価や肝炎ウイルスとの相互作用の可能性を見定めることに役立つであろう。

10-3. 原発性肝ガンの疫学的調査

アフリカやアジアなど食物にアフラトキシンが相当含まれている地域における多くの疫学的研究によってヒトにおいてアフラトキシン（トータルまたはAFB1）の潜在的な発ガン性が検討されている。アフラトキシンの曝露はB型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルスの可能性もある、の曝露によりリスクは高まる。この関係は、ガン性の潜在性に影響を及ぼしているだけでなく、アフラトキシンの代謝系、生化学的、薬理学的なプロセスにも影響を及ぼしている。他の多くの原発性肝ガンの多くの病原因子がアフラトキシン原発性肝ガンのリスクを背景とした疫学的研究の解釈を難しいものにしている。おそらく更なる進歩によって見出された生化学、薬理学的マーカーが正確な曝露評価を可能にするであろう。

アフラトキシンB2, G1, G2の毒性に関しては、1993年に行われたIARCの評価後、新たな知見はない。

2002 年 IARC Monograph 要旨

World Health Organization

International Agency for Research on Cancer

IARC Monographs volume 82(2002)

1、Studies of Cancer in Humans

1960 年代初頭から 1980 年代にかけてアフラトキシンの摂取と肝ガンのリスクの関係について疫学調査が進んだ。主にサハラアフリカとアジアを対象とした。しかし、個人のアフラトキシン摂取量などに不明な点が多いことからこれらの調査には限界があり、個人単位で研究する必要性が出てきた。

1980 年代、高いリスク地域で症例対照研究が行われた。アフラトキシンの摂取量は、質問表やバイオマーカーの測定に基づいて調査した。病気が発症してからはこれらを調べても過去のアフラトキシン摂取量が分からなかった。

1980 年代半ばになるとコホート研究が行われるようになった。1992 年、IARC Working Group はアフラトキシシン B1 と自然界で起こりうるアフラトキシンの混合物がヒトの肝ガン発生原因として重要であることを明らかにした。

1-1 Descriptive studies

Hatch (1993)

原発性肝細胞ガン発生が多い台湾の 8 地域で横断研究を行った。計 250 人の成人を対象とし、インタビューと朝に尿と血液サンプルを集めた。血清は B 型肝炎ウイルスの表面抗原 (HBsAb) を検出し、尿はアフラトキシシン B1、G1 や M1、P1 などの代謝産物を測定した。B 型肝炎ウイルスキャリアーとノンキャリアーは、男女で差がみられなかった。アフラトキシンの摂取量は HCC 発生と関係があった。喫煙やアルコールなど他の 190 項目については関係が排除された。

Omer(1998)

スーダンの 2 地域についてアフラトキシシン汚染ピーナッツと HCC 発生の関係を検討した。HCC 発生は都市部よりも東部地方で高いとされた。スーパーで販売されているピーナツバターをサンプルとし、保存状態と HPLC によりアフラトキシシン B1 摂取量を測定した。アフラトキシシン B1 測定量は東部スーダンではるかに上回り、消費量も多いことが明らかになった。

1-2 Cohort studies

Qian (1994)

上海で 45 から 64 歳の男性 18244 人を対象とした。調査票と採血、採尿を行った。1986 年から 1989 年の間に開始し、1992 年 2 月 1 日まで行った。364 例のガン発症例があり、55 例で原発性肝ガンとされた。また、アフラトキシシン曝露のバイオマーカーとリスクの関係

を明らかにするために 50 症例について症例対照研究を行った。尿中のアフラトキシン B1、P1、M1 とアフラトキシン-N7-グアニン複合体について測定し、HBsAg をラジオイムノアッセイを用いて検討した。50 症例中 2/3 とコントロール 31/267 人に HBsAg 陽性が認められた。アフラトキシンのバイオマーカーは多くの症例で認められた。アフラトキシン B1-N7-グアニン複合体の形成がリスクを高めた。アフラトキシンのバイオマーカーと HBsAg 陽性の場合に高いリスクを高めた。

Chen(1996)

30 ~65 歳の男性 4691 人、女性 1796 人を対象とした。食事や薬の摂取について調査を行い、採血と採尿を行った。血清マーカーと超音波検査によって HCC のスクリーニングを行った。さらに年に 1 回追跡調査を行った。1993 年までに 33 人が HCC と診断され、2 人は HBsAg 陰性であった。血液中の HBsAg、抗 C 型肝炎ウイルス抗体、アフラトキシン B1-アルブミン複合体を測定したところ、アフラトキシン-アルブミン複合体と HCC 発生の関係は HBsAg 陽性の場合にさらに上昇した。ピーナッツがアフラトキシンの汚染源であるとした。

Wang(1996)

台湾の 7 つの町の 25618 人(男性 47%)を対象とし 1990 年 7 月から 1992 年 6 月に調査した。アルコール、喫煙、薬の摂取状態について調査し、採血と採尿を行った。血液中の HBsAg、 α -フェトプロテイン、高 HCV と肝機能調査、腹腔内超音波検査を行った。さらに 1992~1994 年の間に追跡調査も実施した。1995 年まで死亡やガン発生の有無を調査した。1991 年~1995 年の間に 56 症例の HCC 発生がみられ、うち 22 症例は組織、細胞診断によって明らかになった。アフラトキシンのバイオマーカーが陽性のとき HCC 発生に大きな影響を与えることが分かった。

Sun (2001)

1991 年~1997 年に調査を行った。HCC 発生とアフラトキシン B1-アルブミン複合体の間には密接な関係がみられた。GSTM1 と GSTT1-null は HCC 発生を減少させ、これらには相互作用がみられることが分かった。

Yu(1997)

1988 年~1992 年に台湾の 30~60 歳の男性 HBsAg 陽性 4841 人と陰性 2501 人を対象にした。50 症例に HCC 発生が認められ、1 例を除き HBsAg 陽性であった。すべてアフラトキシン M1 陽性、アフラトキシン P1 は 81%、アフラトキシン B1-N7-グアニン複合体は 43%、アフラトキシン B1 は 28%、アフラトキシン G1 は 12%に陽性であった。アフラトキシンを含む食品の摂取と尿中のアフラトキシン M1 の間には関係があることが示唆された。アフラトキシン G1 を除くアフラトキシンのバイオマーカーが上昇すると HCC のリスクが高まることが示唆された。

Lu(1998)

HBsAg キャリアーの中で肝ガンを起こした 30 人はアフラトキシン B1-アルブミン複合

体が高く、年齢地域には差がなかった。

Sun(1999)

1981 年~1982 年に慢性 B 型肝炎を持つ 145 人の男性を対象とし、1987~98 年まで追跡調査を行った。145 人中 22 人が肝ガンと診断され、うち 10 人は組織調査により分かった。HCV が陽性だと陰性と比較して HCC のリスクが増すことが分かった。

1-3. Case-control studies

Olbuyide(1993)

ナイジェリアの症例 22 人、対照 22 人について調査した。HBsAg とアフラトキシンが原発性肝ガンと関係があることを示唆した。

Omer(2001)

スーダンの HCC 症例 150 人と対照 250 人について調査を行い、アフラトキシンの汚染源であるピーナツバター摂取と GSTM1 遺伝子型の関係を明らかにした。症例はピーナツバターの消費量が多かった。ピーナツバターの消費量と HCC 発生の危険度は比例関係にあった。特に東部地方で深刻であった。地域による環境や遺伝的な違いも影響する可能性があるとした。GSTM1 遺伝型は HCC 発生の危険度と関係なかった。GSTM1-null 型がピーナツバターによる HCC 発生の危険度を増すことが示唆された。

1-4. Limitations and recent studies

アフラトキシンバイオマーカーはアフラトキシン曝露を知るために用いられるようになった。しかし、尿中のアフラトキシン代謝産物や血清中のアフラトキシン-アルブミン複合体は数日、数週間前の曝露状態を知るのみである。さらに肝ガン発生前の肝障害が血清や尿中のバイオマーカー量に影響するのかは明らかになっていない。

2. Studies of Cancer in Experimental Animals

アフラトキシンの混合物や、アフラトキシン B1 をラット、ハムスター、鮭、ニジマス、カモ、トガリネズミやサルに経口投与すると良性や悪性肝細胞腫瘍や胆管細胞腫瘍が発生する。マウスでは経口投与しても肝細胞腫瘍の発生が認められなかった。ラットでは経口投与後に尿管で腫瘍の発生がおこり、マウスでは腹腔内投与後に肺で発生した。妊娠や授乳中のラットに腹腔内投与すると母親だけでなく子供の肝臓にも腫瘍の発生が認められた。アフラトキシン B1 をラットに経口投与すると肝臓で腺腫が発生し、腹腔内投与すると肝細胞ガンがやや発生した。アフラトキシン G1 をラットに経口投与すると肝細胞の腺腫や腫瘍や尿管細胞の腫瘍が発生したが、アフラトキシン B1 に比べて軽度であった。アフラトキシン M1 やその代謝産物であるアフラトキシコールも同じ傾向がみられたが、アフラトキシン Q1 はニジマスにおいて B1 よりも高い発生が認められた。

実験動物を用いたアフラトキシンの発ガン性評価は、アフラトキシン B1、G1、M1 で進

んでいる。

2-1. 腹腔内投与

2-1.1 トランスジェニックマウス

野生型 F1×F1 (C57BL/6×CBA) とトランスジェニックマウスに 6 μg/kg b.w. を 7 日間腹腔内投与した。12 ヶ月後に腺腫と肝細胞ガンが発生した。トランスジェニックマウスでは腺腫が 2/12、肝細胞ガンが 1/12 であり、野生型では腺腫が 3/11、肝細胞ガンが 0/11 であった。

3.1 アンモニア化物の経口投与

3.1.1 ラット

Wistar WAG と Fisher 344 ラットにアフラトキシン B1 を 1000ppb 含む餌を 4-5 週間与えた。また、アンモニアガスでこの餌を処理し、アンモニアの影響を検討した。

アンモニアを含まない餌を与えたラットでは死亡する個体が現れた。

アンモニアを同時に含む餌を与えたラットで肝細胞腫瘍の発生率は低かった。アンモニアの含有量が上がると発生は認められなかった。

3.1.2 ニジマス

80 匹のニジマス 180 μg/kg のアフラトキシンを含む餌（アンモニア未処理と処理）を 12 ヶ月間与えた。

アンモニア処理によりアフラトキシン B1 によるガン発生率が低下した。

3.2 Carcinogenicity of metabolites

アフラトキシンの代謝産物（B1、M1、アフラトキシコールなど）によって腫瘍形成の程度が異なるのは、DNA 複合体自身のガン誘発作用の強さよりも、その吸収量と代謝によって DNA 複合体の形成を起こす程度が主な原因である

3.3 Administration with known carcinogens and other modifying factors

3.3.1 ウイルス

トランスジェニックマウス

B 型肝炎ウイルス陽性 (HBV+) C57BL/6 マウスを TP53-null (TP53^{-/-}) マウスを交配させて TP53^{+/-}, HBV+ マウスを作出した。

1 週齢時にアフラトキシン B1 (10mg/kg b.w.) を腹腔内投与し、13 週間後に解剖して HBsAg 発現により HBV を判定した。

Beckers の分類に当てはめると、TP53 がヘテロ型の雄ではグレード 2 以上の肝細胞腫瘍が 100% 見られ、ホモの場合は 62.5% であった。また、ヘテロ型の場合 HBV のみ陽性

である方が、アフラトキシンのみ陽性である場合よりもより強かった。アフラトキシンと HBV のどちらか一方のみ曝露を受けた場合は野生型 TP53 が腫瘍を抑制した。TP53 のセリン 246 に突然変異が起これとウイルスまたはアフラトキシンの存在に関わらず 25%で腫瘍の発生が認められた。TP53 の 246 セリンが突然変異したヘテロ型個体ではアフラトキシシン B1 を曝露された 71%に腫瘍の発生をみた。雌では腫瘍発生率が低かったが、同様の傾向が認められた。HBsAg とアフラトキシシン B1 の相互作用とアフラトキシシン B1 曝露のみでは腫瘍発生率を増加させた。

トガリネズミ

HBV 感染と非感染のトガリネズミにアフラトキシシン B1 150 μ g/kg b.w.を 6 日/週で 150 日間にわたり曝露させた。

肝細胞腫瘍は、HBV 感染群で 67%、非感染群で 30%に認められた。HBV 感染群では腫瘍の形成が早期に起こった。

ウッドチャック

2～7 日齢で肝炎ウイルス (WHV) に感染させ、12 ヶ月齢でアフラトキシシン B1 50 μ g/kg b.w.を 5 日/週で 4 ヶ月間投与しさらに 20 μ g/kg b.w.を投与し続けた。

WHV 感染とアフラトキシシン曝露では、WHV 感染+アフラトキシシン非曝露に比べて肝細胞腫瘍の形成が早期に認められた。

4、Other Data Relevant to an Evaluation of Carcinogenicity and Its Metabolisms

4.1 Absorption, distribution, metabolism and excretion

4.1.1 Human

ヒトでは、他の種と同様にシトクローム P450 により 8,9-エポキシド^{*}が形成され、アフラトキシシン B1-DNA 複合体を形成し発ガン性を示す。アフラトキシシンの活性化の程度は個人差がみられ、子供と成人で異なる。ヒトにおけるアフラトキシシンの動態はいまだに明らかにされていない。

アフラトキシシンに対する感受性がヒト、動物種で異なるのは、アフラトキシシンが 8,9-エポキシド^{*}や、他の毒性の低い物質に代謝される割合の違いによる。

アフラトキシシン B1 の 8,9-エポキシド^{*}は半減期が短い、細胞障害の原因になる。アフラトキシシン B1 はグアニンの N7 部位に結合する。

ヒトにおけるアフラトキシシン代謝は主に CYP1A2 や CYP3A4 などの CYP 酵素によって行われる。CYP3A4 はエキソ-エポキシド^{*}とアフラトキシシン Q1 に代謝し、CYP1A2 は少量のエキソ-エポキシド^{*}と多量のエンド-エポキシド^{*}とアフラトキシシン M1 に代謝する。In vitro 試験では、CYP1A2 と 3A4 がヒトにおけるアフラトキシシン代謝に重要な酵素であり、バイオマーカー試験で使われている。アフラトキシシン M1 と Q1 はアフラトキシシン曝露を受

けた個体の尿中に存在する。アフラトキシンと N7-グアニン複合体は、エキソ-8,9-エポキシドによって形成され、複合体の 98%以上を占める。CYP3A5 は 3A4 と異なりアフラトキシンを主にエキソ-8,9-エポキシドに代謝し、アフラトキシン Q への代謝能力は 1/100 以下である。肝臓の CYP3A5 発現には個人差があり、40%のアフリカ系アメリカ人には存在しない。さらに CYP3A5 発現の違いはアフラトキシン感受性の違いに反映しており、プロモータ部分に多様性がある。

CYP3A7 は胎児の肝臓で主要なシトクローム P450 であり、アフラトキシン B1 を 8,9-エポキシドに活性化する。ガンビアでは、アフラトキシン B1 の曝露を受けた母親から生まれた子供の血液からアフラトキシン-アルブミン複合体が検出された。

ヒトでは、エキソ-、エンド-エポキシドの解毒経路がいくつかある。一つはグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) によりグルタチオン (GSH) とアフラトキシン B1 を結合させる経路である。また、非酵素作用による水酸化で 8,9-ジヒドロジオールをつくる。アフラトキシン B1、G1 のジアルデヒドはリジンなどのアミノ酸とシッフ結合をつくり、タンパク複合体をつくる。アフラトキシン B1 アルデヒドレダクターゼ (AFB1-AR) は NADPH 依存性の代謝を促進する酵素で、ヒトとラットが持つ。

住血吸虫除去剤である Oltipraz はアフラトキシン誘発性の肝細胞腫瘍を阻害する。毎週 500mg の oltipraz を摂取すると尿中のアフラトキシン M1 量が 51%減少した。125mg ではアフラトキシン M1 排泄量に変化は見られなかった。従って、高用量の oltipraz はアフラトキシンの活性を阻害するが、低用量では 8,9-エポキシドの GSH 結合を増加させることが分かった。

ガン患者では CYP3A4 が 57 倍、2B6 が 56 倍、2A6 が 120 倍の活性を示した。肝細胞腫瘍からマイクロソームを取るとアフラトキシン B1 から 8,9-エポキシドとアフラトキシン Q への代謝は CYP3A4 と CYP2B6 の濃度と関係する。腫瘍細胞では主な CYP 酵素が減少していた。腫瘍細胞のサイトゾルでは α と μ クラス蛋白質は低下するが、 π は増加した。一方、サイトゾルの GST 活性は顕著に低下した。アフラトキシン B1 8,9-エポキシドと GSH 結合には変化が認められなかった。

B 型肝炎ウイルスや C 型肝炎ウイルスに感染すると CYP2A6 が増加し、肝細胞は繊維化と肝硬変へと進んだ。CYP3A4 や 2B1 も増加したが、1A2 には影響がなかった。C 型肝炎ウイルスでは、CYP2A6、CYP3A4、CYP2B1 が増加した肝細胞ではヘモジデリンの沈着がみられた。

4.1.2. Experimental systems

Human tissues

Gallagher は CYP3A4 や CYP1A2cDNA を発現するヒト肝臓やリンパ芽球のマイクロソームがアフラトキシン酸化を起こす機序について研究した。CYP1A2 でアフラトキシンと強い親和性があった。ヒトでは、アフラトキシン 8,9-エポキシド形成率は CYP1A2 多い

と高まった。

アフラトキシン汚染穀物を扱うことで肺ガン発生率のリスクが高まることは、ヒトの肺がアフラトキシンの代謝を起こすことと関係がある。トリチウム化したアフラトキシン B1 の生物活性を肺ガン患者のサンプルから評価した。リポキシゲナーゼやプロスタグランジン H の合成は CYP 酵素よりアフラトキシン活性化と関係があることを明らかにした。

Neal ら(1998)はアフラトキシン B1 と M1 の代謝についてヒトの肝臓ミクロソームを用いて検討した。マウスのサイトゾル存在する Tris や GST で代謝産物をトラップし、アフラトキシン M1 から 8,9-エポキシドへの代謝を測定した。ヒト肝臓サイトゾルには GST とミクロソームで活性化したアフラトキシン B1 と M1 の結合体は存在しなかった。アフラトキシン B1 と異なり、低用量のアフラトキシン M1 は、代謝によって活性化されなくても細胞毒性を示した。アフラトキシン B1 がヒドロキシル化してアフラトキシン M1 になると DNA 損傷を起こすことを示唆する研究もある。

以上のようにヒトサイトゾル分画や肝臓の薄片はアフラトキシン B1-8,9-エポキシドの結合は検出されなかった。ヒトの組み換え α -クラス GSTs (hGSTA1-1 と 1-2) も活性はなく、ヒト μ -クラス GSTsM1a-1a と M2-2 はエンド-エポキシドに対するのが大部分であるが結合を示した。

(b) Experiment on animals and animal tissues

Kirby(1996)は肝障害を起こすウイルス感染がアフラトキシン代謝活性を変化させることを明らかにした。トランスジェニックマウスでは HBV のエンベロープの過剰産生が肝細胞の損傷を起こし、炎症や過形成を起こした。CYP2A5 と CYP3A の活性と GST α アイソザイムをこれらのマウスで測定した。CYP2A5 の活性増加と分布の変化が、肝障害の形成と関係することが明らかになった。CYP3A 量も増加したが、GST α 酵素濃度は変化がみられなかった。

胎児ラットのかんぞうはアフラトキシン B1-8,9-エポキシドと結合する GST を含み、GST α とされる。雌の成熟個体では雄に比べて酵素サブユニット (Yc2) の濃度が 10 倍ほど高い。これは、雌でアフラトキシン感受性が欠如することに関係する。

CYP 誘発性の活性化に加えて、アフラトキシン B1-8,9-エポキシドは、リポオキシゲナーゼやプロスタグランジン H 合成によって形成することも報告された。モルモットの腎臓では CYP 酵素とプロスタグランジン H 合成によるエポキシド形成は類似している。

アフラトキシンの発ガン性に対する感受性には動物種差がみられる。マウスでは肝切除や HBV 感染による肝障害の状態を除いて抵抗性があるが、ラットでは感受性が高い。マウスのミクロソーム分画はラットに比べてアフラトキシン B1-8,9-エポキシド産生に高い特異的活性を示す。しかしマウスではアフラトキシンに抵抗性があり、アフラトキシン B1-8,9-エポキシドと高い親和性を示す α -クラス GST、mGSTA3-3 の肝発現が関係ある。一方、ラットではエポキシドと高い活性を示す GST 異性体や発現はないが、 α GST が発現

する。この酵素の誘導は、ラットがアフラトキシン抵抗性を示す原因である。

アフラトキシン B1 曝露後のアルブミンと DNA 複合体の形成は、ラット>モルモット>ハムスター>マウスの順である。アルブミン複合体は肝 DNA 損傷を反映している。ヒトの曝露量とアルブミン複合体を測定すると、ヒトとラットは感受性が高い種であり、アルブミン複合体の形成が類似していることがわかった。

ラットでは μ クラス酵素 rGSTM2-2 と rGSTM2-3 が endo-と exo-エポキシドと結合する。Wang(2000)らはヒト以外の種の 8,9-エポキシドに対する GST の結合能は、ヒト hGSTM2 と 96%の相同性を示す μ クラス GST、mfaGST2-2 によるとした。mfaGSTM2-2 は endo-エポキシドに対して活性を示し、GSHA-GST は exo-エポキシドに対して活性を示した。しかし、これらの活性はげっ歯類の α -クラス GST、nGSTA3-3 と rGSTA5-5 に比べて低かった。

ヒトやモルモットの肝マイクロソームはアフラトキシン B1 から 8,9-エポキシドへの酸化の程度がマカークに類似している。しかし、GST のエポキシドに対する活性は検出限界以下である。

Stresser(1994)はインドール-3-カルビノールを摂取することが、アフラトキシン代謝をする CYP 酵素量に及ぼす影響について検討した。ラットマイクロソーム中の CYP1A1、1A2、3A1/2 酵素は増加した。CYP2C11 には影響がなかった。アフラトキシン B1 グルタチオン解毒経路とアフラトキシン B1-DNA 複合体形成について検討したところ、肝臓のアフラトキシン B1-DNA 複合体形成は 68%ほど低下した。

4.2 Toxic effects

4.2.1 Humans

アフラトキシン摂取の結果起こりうる急性肝細胞毒性は成人よりも子供の方が深刻である。嘔吐、発作、黄疸などの症状に加え、肝機能障害や血清肝酵素の上昇が認められる。小麦で作られた麺を食べた子供において、血液や臓器からアフラトキシンが検出された。成人では同じくらい食べた場合でも影響が見られなかった。

発展途上国ではタンパク質-エネルギー不足の子供がアフラトキシンの曝露を受けている。南アフリカの子供たちは血清中のアフラトキシン濃度がコントロールの子供に比べて高かった。しかし、コントロールの子供では尿中のアフラトキシン濃度が高かった。さらに蛋白質-エネルギー不足に加え、アフラトキシンの曝露を受けた子供では、ヘモグロビンの低下、水腫回復の遅延、感染症の増加、入院期間の延長がみられた。アフラトキシンの曝露を受けた子供ではマラリアの感染が増加した。

4.2.2 Experimental systems

(a) Immunosuppression

アフラトキシンを数 mg/kg feed 投与することで免疫抑制が起こることが報告されている。

主な影響は遅延型過敏症などの細胞性免疫反応を抑制することである。そのほか抗体産生の減少、拒絶反応の低下、食食能の低下、マイトジェンに対する細胞増殖反応の低下などが起こりうる。In vitro でアフラトキシンなどのマイコトキシンを作用させるとサイトカインの分泌や、インターロイキンの遺伝子発現が変化する。妊娠期間と授乳期間にアフラトキシン B1、G1 に曝露された豚では免疫機能に影響が見られた。好中球の寿命と走化性はアフラトキシンを含む飼料を与えた子豚で低下した。さらに、妊娠 60 日から、出生後 28 日までアフラトキシン B1 の曝露を受けた子豚では胸腺のリンパ球が減少し、胸腺重量が低下していた。

ラットでは成熟個体と未成熟個体でアフラトキシンによる影響が類似していた。離乳後のラットにアフラトキシンを投与すると、細胞性免疫反応が低下していた。

アフラトキシンとトキソプラズマ症の関係を明らかにするために CF1 マウスに *Toxoplasma gondii* を摂取し、一ヶ月後にアフラトキシン B1 を摂取させた。すべてのマウスにシストの形成が見られたが、アフラトキシンの曝露を受けたマウスでは損傷が大きかった。

アフラトキシンが分離した肺胞マクロファージに及ぼす影響について検討した。鼻からアフラトキシン B1 を吸引させた Swiss マウスでは肺胞マクロファージの食食能が低下した。胸郭内に投与したマウスでも見られたが、10 倍量を必要とした。胸郭内の投与では TNF- α 産生能の低下と腹腔マクロファージ食食能の低下が認められた。

アフラトキシンによる免疫抑制は細菌や寄生虫の感受性が増加し、ワクチン接種後の獲得免疫を阻害する。ヒトでは動物実験と異なり in vitro 試験しか行われていない。ヒトの単球とアフラトキシン B1 を曝露させると *Candida albicans* に対する食食能と殺菌能が低下し、IL-1、6、TNF- α 産生能も低下した。マイコトキシンによる免疫抑制は子供の感染症への感受性を増加させる。B 型肝炎ウイルスに対する免疫反応の低下は、肝細胞ガン発症のリスクを高めることになるであろう。

4.3 Reproductive and developmental effects

アフラトキシンは胎盤を通過し、母体よりも胎児の濃度が高くなるという報告がある。高用量(32~90mg/kg b.w.)のアフラトキシンをマウスの腹腔内に投与すると、奇形や未熟児出産がみられたが、経口投与ではみられなかった。ラットでは、未熟児の出産や行動異常がみられたが、奇形は 2~7 mg/kg b.w. で投与した場合にのみ発生した。

4.3.1 Humans

アフラトキシンは胎盤を通過し、胎児に蓄積されることが報告されている。母体の血液中のアフラトキシンを測定すると、6%にしか検出されなかったが、胎児の血液では 38% に検出された。

アフラトキシン曝露と成長の関係について検討すると血液中のアフラトキシン-アルブミ

ン複合体は授乳期の子供に比べて離乳した子供で高かった。WHO の報告によると血液中のアフラトキシン-アルブミン複合体と身長-年齢、体重-年齢の関係は負の関係にある。つまり、アフラトキシンは東アフリカの子供たちの成長阻害の原因物質であることを示す。

イバダンの黄疸発生がアフラトキシンに起因しているのかを検討するために 327 人の黄疸患者と 60 人のコントロールの血液を採取した。アフラトキシンは 24.7%の黄疸患者、16.6%のコントロールから検出された。グルコース-6-ホスファターゼヒドロゲナーゼ不足と血清中のアフラトキシンは子供の黄疸発生の原因であることを示唆した。

開環したイミダゾール環をもつアフラトキシン B1-DNA 複合体の量を胎盤と胎児血液について測定した。その結果アフラトキシン B1 とその代謝産物は次世代に移行する可能性があることを示唆した。

ナイジェリアでは男性の不妊症患者の 40%の血液中からアフラトキシン B1 が検出された。

4.3.2 Experimental systems

(a) Developmental toxicity studies

Wister ラットに 0.3mg/kg b.w./day のアフラトキシン B1 を妊娠 11~14 日または妊娠 15~18 日に皮下投与した。妊娠期または授乳期の間母体への影響は認められなかった。アフラトキシンの曝露は子供の運動能力や学習能力の発達を阻害した。妊娠 11~14 日に投与した群の方がより顕著であった。

アフラトキシン B1 を鶏卵に投与すると胚の致死率増加、胚重量の低下などが認められた。

(b) Reproductive toxicity studies

Druckrey ラットに 7.5mg/kg b.w.のアフラトキシン B1 を 14 日間投与すると、受胎能力の低下、卵巣と子宮サイズの低下、ホルモンサイクルの乱れ、妊娠率の低下や胎児サイズの減少などがみられた。

Druckrey ラットに 7.5 または 15mg/kg b.w.のアフラトキシンを 21 日間投与した。卵母細胞や濾胞の減少が用量依存的に認められた。血中ホルモン量と生殖器官の重量低下も認められた。

雄のウサギに 15 または 30mg/kg b.w. のアフラトキシン B1 を 1 日おきに 9 週間に渡って投与した。体重、精巣重量、射精量、精子濃度、精子の生存力は低下し、奇形精子の増加が認められた。これらは投与後 9 週間に渡る回復期まで続いた。アスコルビン酸の投与はこれらの影響を緩和した。

雌ミンクに 5 または 10ppb のアフラトキシンを含む飼料を 90 日間与えた。1 生後間もない体重は 10ppb で減少がみられ、生後 3 週間目では両群で抑制された。生後 3 週間目には 10ppb では 33%の致死率を示した。10ppb ではミルク中のアフラトキシン代謝産物

量は低かった。

In vitro 試験で卵母細胞と精子の生存率の低下が示された。

4.4 Genetic and related effects

4.4.1 Humans

(a) General

アフラトキシン-DNA、蛋白質複合体は多くの実験でヒトの肝臓や体内から検出されている。いくつかの実験では酵素で代謝されて形成された複合体がアフラトキシンの感受性を測るために利用されている。

アフラトキシン-アルブミン複合体量と GSTM1、GSTT1、GSTP1 とエポキシドヒドロゲナーゼ遺伝子の関係について検討した。GSTM1-null 遺伝子型だけがアフラトキシン-アルブミン複合体の増加と関係があり、この影響は HBV 非感染個体に限定されることが分かった。CYP3A4 表現型を尿中コルチゾル代謝産物の割合によって評価すると、複合体とは関係がないことが分かった。アフラトキシン-アルブミン複合体量に影響を与える主要因は、居住地域（地方）と採血時の季節（乾燥気候のほうが高い）であることが分かった。アフラトキシン-アルブミン複合体と GSTM1 遺伝子型の間には関係がないことが分かった。

DNA 修復酵素である XRCC1 がアフラトキシン B1-DNA 複合体と関係がみられるかを、胎盤 DNA のサンプルを用いて検討した。399Ala のホモ型と比べて、399Glu を対立遺伝子に持つ場合はアフラトキシン B1-DNA 複合体の検出が 2、3 倍に上昇した。しかしながら、399Glu は直接作用しているのではないことが分かり、修復経路の飽和状態を反映していることを示唆した。

血清アフラトキシン B1-アルブミン複合体量によってアフラトキシン曝露量を高程度と低程度に分類し、リンパ球の HPRT 突然変異発生頻度を比較した。HPRT 変異発生は高程度の曝露群でみられた。

アフラトキシン-アルブミン複合体と細胞の染色体異常、DNA 損傷は関係なかった。

(b) TP53 mutations in human hepatocellular carcinoma(HCC)

ヒト HCC の分子学的分析により、アフラトキシンの曝露で TP53 腫瘍-抑制遺伝子のコドン 249 の AGG から AGT への転換が起こることを明らかにした。1993 年以降アフラトキシンと TP53 変異の関係について多くの報告がある。

アフラトキシン汚染の程度が高い地域の HCC 組織 25 サンプルと、低い地域の 9 サンプルについて検討した。汚染の高い地域では 52%のサンプルに 249^{ser} 突然変異が認められたが低い地域では認められなかった。さらに中国の Jiang-su 地方で HCC を 31 サンプル採取し検討した。アフラトキシン汚染が低いと考えられる北部では 15%、汚染が高いと考えられる南部では 56%に 249^{ser} 突然変異が認められた。香港や上海でも 249^{ser} 突然変異を示したサンプルがあったが、日本や USA では認められなかった。

アフラトキシン汚染の低い地域（日本、韓国、ヨーロッパ、北米）では 249^{ser} 突然変異は 1% 以下の確率で起こり、249 コドンの 3 番目のヌクレオチドより、2 番目で突然変異がみられた。

慢性的な HBV 感染とアフラトキシン曝露は、HCC 発生のリスク要因となりうるが、慢性的な HBV 感染のみでも 249^{ser} 突然変異がおこるのかを検討することが重要である。様々な研究からアフラトキシン汚染の低い地域では、HBV 感染のみで 249^{ser} 突然変異は起こらないことがわかった。アフラトキシン汚染の高い地域では HBV 感染率が高いために両要因が突然変異の発生に必要であるのかを判断するのは困難であった。

TP53 突然変異が HCC 発生のどの段階で起こるのかいまだにはっきりしない。モザンビークでは HCC 患者の非腫瘍部分の DNA から TP53249^{ser} 突然変異が検出された。この突然変異は組織学的には正常な細胞でもみられることが分かった。

TP53 249^{ser} 突然変異は HCC 患者の血液サンプルからも検出され、肝硬変患者や肝臓に疾病が認められないヒトでも認められた。249^{ser} 突然変異は HBsAg-陽性、陰性には関係がなかった。

(c) Other genetic alternation in human HCC

アフラトキシン曝露が TP53 突然変異だけでなく、他の遺伝子へも変化をおよぼしている可能性がある。

TP53249^{ser} 突然変異は、北京に比べチーソンのサンプルで多く検出された。さらに異型接合体の損失 (LOH) もみつかった。チーソンでは染色体 4 (4p11-q21) と 16q22.1, 16q22-24 にそれぞれ 28、90、58% のサンプルから LOH が見つかった。一方北京では検出されなかった。

また、HCC サンプルはハイブリダイゼーションを起こしていた。上海ではサンプルから変異が検出される確率が高く、染色体 4q、8p、16q、と 5p に多くみられた。これはアフラトキシンの影響が単に TP53 遺伝子の 249^{ser} 突然変異を起こすだけでなく、遺伝子に広範囲に及ぶことを示唆している。

4.4.2 Experimental systems

(a) General

アフラトキシン B1 は *Salmonella typhimurium* TA98 と TA100 に突然変異を起こし、DNA 合成の異常、染色体の異常、娘染色分体の置換、小核形成、細胞のトランスフォーメーションなどを起こすことが知られている。

アフラトキシン B1 は酵母や、哺乳類の細胞で点変異だけでなく、組み換えもおこす。ヒトのリンパ芽球細胞ではアフラトキシン B1 が組み換えや LOH を起こすことが示されている。

組み換えヒト CYP1A2 を発現する酵母のマイクロサテライトをシーケンスすると、アフラトキシン B1 により組み換えを起こしていた。さらに HBV トランスジェニックマウス

では、アフラトキシン曝露によりマイクロサテライト領域で再配列が起こっていた。アフラトキシンは点変異だけでなく、遺伝子を不安定にすることが分かった。

アフラトキシン B1 は代謝産物よりも変異原性が高い。S9 非存在下では *Salmonella* TA98、TA100 の変異原性が S9 存在下に比べて 1/1000 以下であった。

Fisher 344 ラットの脾臓リンパ球における Hprt 遺伝子突然変異を測定した。アフラトキシン B1 を 3 週間にわたり投与すると Hprt 変異が発生した。また、アフラトキシンを曝露させたラットでは、カロリーを制限すると突然変異の発生頻度が低くなることが分かった。

Fisher 344 ラットに①コントロール食②交互 4 週間ずつアフラトキシン B1 含有飼料とコントロール飼料 (0.01~1.6ppm) ③腫瘍原生を持つアフラトキシン濃度 (1.6ppm) を含む飼料を 20 週間にわたり与えた。②では、2 回目のアフラトキシン投与期間に脾臓リンパ球の Hprt 変異が用量依存性に増加した。これは、3 回目のアフラトキシン投与期間にさらに強くみられた。これらは脾臓リンパ球 DNA の DNA 損傷の結果と考えられる。

アフラトキシン投与後に毒性や発ガン性に種差が認められるのは、遺伝子の損傷を起こす原因になるマイクロソーム活性に違いがあるためである。ヒト、マウス、ラットの肝臓によりアフラトキシンを活性化し、ヒトリンパ球で染色分体交換発生について検討した。ヒト肝臓のマイクロソームで活性化したアフラトキシン B1 に曝露したリンパ球で、染色分体の交換が起こる頻度は個人差があった。染色分体の交換は CYP1A2 表現型に関係があり、GSTM1 遺伝子型やエポキシドヒドロラーゼ表現型とは関係がない。マウスのマイクロソームが最も強く働く。マウスのサイトゾルを加えるとアフラトキシン B1 誘発性の遺伝子毒性が低下した。

チャイニーズハムスター卵巣 AS52 のキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Gpt) 遺伝子とチャイニーズハムスター卵巣 K1BH4 細胞の変異原性試験を、鶏胚またはラットの肝臓 S9 によるアフラトキシンの代謝産物を用いて行った。Gpt 試験ではラットより鶏胚の S9 で 25 倍も変異原性が強かった。クマリンは、鶏胚で活性化したアフラトキシン B1 による変異発生頻度を低下させた。さらに鶏胚では、マウスに比べて K1BH4 細胞での Hprt 変異が高かった。

雄ラットとマウスにアフラトキシン B1 (0.01-1.0mg/kg b.w.) を投与し、染色体異常と骨髓の小核の出現頻度、末梢血のアフラトキシン B1-アルブミン複合体量について測定した。ラットでは 0.1mg/kg b.w.以上で染色体異常と小核出現頻度が増加したが、マウスでは 1.0mg/kg b.w.で染色体異常がやや増加し、小核は出現しなかった。ラットではアフラトキシン B1-アルブミン複合体量と染色体異常に関係がみられた。

Lambda/lacI トランスジェニック C57BL/6 マウスと Fisher 344 ラットにアフラトキシン B1 を投与し、in vivo で突然変異試験を行った。2.5mg/kg b.w.のアフラトキシンを腹腔内投与すると 14 日間の観察期間では突然変異がみられなかった。一方、0.25mg/kg b.w.のアフラトキシン B1 をラットに投与すると突然変異の発生頻度が 20 倍近く増加した。アフ

ラトキシシン B1 の曝露をしたラットの変異型 LacI DNA では、おもに GC から TA の置換により突然変異が発生した。ラットの G から T への置換は 71% が CpG 領域であった。

ヒトの小腸で発現する CYP3A7 遺伝子と、変異を起こすターゲットとする *Escherichia coli* の *rspL* 遺伝子を持つトランスジェニックマウスを作成した。これらのトランスジェニックマウスの小腸からマイクロソームを作成すると、*Salmonella* TA 98 を用いた Ames 試験でアフラトキシシンは高い変異原性を示す物質に変換された。

肝臓以外の臓器から作った S9 が代謝活性を示すことも知られている。

(b) TP mutations in animal tumours

ヒトでは高用量のアフラトキシシンに曝露されている地域の HCC 患者から突然変異が観察されるが、動物の腫瘍ではコドン 249 の G から T への置換がみられない。

メス AC3F1 マウスにアフラトキシシン B1 を腹腔内投与 (3 回/週、8 週間) し、6 と 14 ヶ月後に解剖を行った。71 匹に肺腫瘍がみつき、79% に p53 染色陽性が認められた。SSCP を測定するとエクソン 5、6、7 の異なるコドンに突然変異がみられた。ダイレクトシーケンシングを行うと G:C から A:T への置換と A:T から G:C への置換などが認められた。高い突然変異発生率とヘテロ染色パターンは TP53 変異がアフラトキシシン誘発性肺腫瘍形成の後の段階で起こっていることを示唆した。

Sprague-Dawley ラットにアフラトキシシン B1 (37.5 μ g、5 回/週、8 週間) を投与した。さらに一部肝切除を行ったあとに 20 週間にわたり実験を続けた。17 匹中 13 匹に病変がみられ、肝細胞腫瘍 (5)、肝臓に結節形成 (7)、両方 (1) が認められた。すべてのラットは 60 週間後に解剖を行い、肝腫瘍と結節形成について検討した。病変がみられたマウスについて PCR SSCP を行い、TP53 遺伝子をスクリーニングした。29% のマウスの肝臓に異常がみられたが、TP53 突然変異は検出できなかった。コドン 247 にサイレント突然変異を起こした例が 1 例あった。

アフラトキシシン B1 を BL9 ラット上皮細胞にトランスフェクトしたウズラの肝臓マイクロソームにより活性化した。しかしながら腫瘍が形成されても TP53 遺伝子の 242 から 244 コドンに突然変異は起こらなかった。

ヒト HBV を感染させたトガリネズミについてアフラトキシシン B1 誘発性突然変異発生の有無について検討した。8 匹中 4 匹に 12 週齢で HBV に感染させ、残りをコントロールとした。コントロールの半分と、HBV 感染個体にアフラトキシシン B1 (400 μ g/kg b.w.6 日間) 投与した。2 から 3 年齢で 5 匹に肝腫瘍 (HBV+アフラトキシシンで 4 匹、アフラトキシシンのみで 1 匹) が発生したが、TP53 突然変異はみられなかった。

アフラトキシシン誘発性の肝外腫瘍で TP53 突然変異が起こるかを検討した。サルを用いて胆管腫瘍、肝臓上皮の肉腫、頸骨骨原生腫瘍発生について検討した。これらの病変が形成されたにもかかわらず、コドン 249 突然変異は起こらなかった。ラットでは肺腫瘍を形成した個体に TP53 突然変異がみられた。

AC3F1 マウスのクララ細胞の Ki-ras 遺伝子に突然変異が起こるか検討したところ、アフラトキシン B1 誘発性の肺腫瘍ではクララ細胞の Ki-ras 遺伝子の変異が早期に起こることが分かった。

(c) Sequence-specific binding to DNA and induction of mutations

アフラトキシン B1 が代謝され、8,9 エポキシドになると、DNA と複合体を形成し、AFB1-N7-Gua を形成する。アルカリ環境下では AFB1-N7-Gua 複合体のイミダゾール環が開き、安定化する。アフラトキシンによる変異原性物質形成の前駆物質となる。

アフラトキシン B1 は DNA のグアニンと結合し、G から T へと置換する。しかし、DNA の修復機構に異常を起こすことにより他の突然変異を起こすことも知られている。GC 塩基部分に突然変異の発生がみられることが多い。50~70%は G から T への置換であったが、G から C の置換、G から A への置換もみられた。

E.coli の *lncI* 遺伝子でアフラトキシンによる変異について検討したところ大部分は GC 塩基に起こった。GC から TA の置換がほとんどであった。

ヒト CYP1A1 酵素を発現するヒトリンパ球芽細胞では、HPRT 遺伝子のエクソン 3 の 209 コドンに GC から TA の変異がみられた。

AFB1-N7-Gua 複合体による変異は G から T への置換が大部分 (74%) であり、G から A (13~18%)、G から C (1~3%) が続いた。置換は主に複合体の 5 末端側で起こり、全体の 13%を占めた。

過去の研究ではアフラトキシン B1 の結合は、グアニンと 5 末端部分のシトシンであることを示唆した。3 末端では G 塩基の修復が起こるため、反応性は乏しかった。しかしシトシンのメチル化がアフラトキシン B1 の結合に影響を及ぼさないかが不明であった。そこで CpG メチル化がアフラトキシン-8,9-エポキシドと TP53 遺伝子のコドン 248 と 249 を含むオリゴヌクレオチドの結合に影響を与えるかを検討した。さらにヒト HPRT 遺伝子のメチル化と非メチル化部分への結合について検討した。その結果シトシンのメチル化は、アフラトキシンがグアニンに結合することと関係ないことが明らかになった。一方で TP53 遺伝子 CpG 部分のメチル化がアフラトキシンの結合を促進することを示唆する実験もあった。この 2 の実験の違いは、標的塩基のシークエンスと方法、DNA 複合体検出方法の違いを反映したと考えられた。

p.242

4、5 Mechanistic consideration

4.5.1 Specificity of 249^{ser} mutation in the TP53 gene

アフラトキシン誘発性の DNA 損傷と、アフラトキシン汚染地域のヒト HCC 患者が TP53 遺伝子のコドン 249 で AGG から AGT で突然変異がみられることは多くの研究者が明らか

にした。アフラトキシン B1 によって引き起こされた TP53 突然変異を検出して明らかになったことは、G から T への塩基の置換が起こっているということである。DNA の損傷や TP53 遺伝子の突然変異で起こりうる特異的变化を調べた研究がいくつか報告されている。これらの研究は、アフラトキシン B1 が DNA 損傷とコドン 249 の 3 番目のヌクレオチドで突然変異を起こすことを示唆している。しかしながらヒト HCC でコドン 249 が標的となる頻度ははっきりしない。アフラトキシン B1-DNA 複合体が TP53 遺伝子の他の部位に結合しても、アミノ酸の変化や、p53 蛋白質の機能変化を起こして G から T への置換が起こる。しかしこれらの機序で突然変異が起こることはめったにない。

コドン 249^{ser} 突然変異が P53 蛋白質の機能に与える影響と、肝細胞に与える影響は重要である。TP53 遺伝子に 249^{ser} 突然変異が起こると in vitro で肝細胞が増殖し続けるとした。これらの細胞培養実験は 249^{ser} 突然変異により肝細胞に特異的増殖能を与えることを示しているが、ヒト HCC の TP53 遺伝子でこの突然変異を起こす頻度が高いのか十分な説明は出来ていない。また、これらの in vitro 試験では HBV 感染が起こったときや、TP53 遺伝子の 249^{ser} 突然変異が特異的に起こる理由は明らかにできなかった。Sohn らは HBx 遺伝子をトランスフェクトしたヒト肝臓上皮細胞は、アフラトキシン B1-8,9-エポキシドの細胞毒性とコドン 249 の突然変異とアポトーシス発生が起こりやすいとした。アフラトキシン B1-DNA 複合体の修復機構が変化する結果と考えられる。

p.243

4.5.2 Modulation of the effects of aflatoxin with chemopreventive agents

動物実験によってアフラトキシン B1 誘発性の腫瘍を予防する方法が研究されている。特に、ラットで肝臓 GST とアフラトキシンアルデヒドレダクターゼ (AFAR) を引き起こす薬品は、アフラトキシン-DNA と蛋白質複合体形成を減少させ、アフラトキシン誘発性の肝細胞ガンを抑制する。ヒトにおけるアフラトキシンの活性化と解毒化のバランスを調節する薬品は oltipraz と chlorophyllin である。

Oltipraz の解毒作用は、CYP1A2 を抑制し、アフラトキシン B1-8,9-エポキシドとアフラトキシン M1 の形成を抑制し、GST 酵素を誘導して、8,9-エポキシドグルタチオン複合体を増加させる。実際に oltipraz を摂取するとメルカプツール酸が増加し、尿中のアフラトキシン M1 濃度と血中アフラトキシン-アルブミン複合体量が低下した。

クロロフィリンは in vitro と in vivo で抗変異原性があることが示されている。アフラトキシン誘発性の肝細胞ガン発生の機序を検討すると、クロロフィリンはアフラトキシンと分子の結合を抑制することが明らかになった。実際にクロロフィリンを摂取させると、尿中の AFB1-N 7-グアニン複合体量が減少した。

4.5.3 Interactions of hepatitis B virus and aflatoxin

HCC 発生の多い地域では、HBV 感染とアフラトキシン曝露が同時に起こっていること

が多い。アジアのコホート研究では慢性的な HBV 感染とアフラトキシン摂取が HCC 発生を増加させることを示している。(セクション2) また、HBV トランスジェニックマウスとウッドチャックは HBV 発生に 2 つの要因が相乗作用を示すことを明らかにしている。この相乗効果の分子学的機序を解明することは HCC 発生を減少させることに役立つであろう。

ウイルスと発ガン性化学物質が相乗効果を示すメカニズムの 1 つとして、HBV 感染がアフラトキシン代謝酵素の発現を変化させることがあげられる。HBsAg の遺伝子を持つと CYP1A と 2A5 の発現が起こるが、肝臓障害にとどまる。CYP 酵素の誘導による肝障害がバクテリアや寄生虫の感染と関係することは他にも報告されており、HBV 特有の作用というよりは一般的な作用と考えられる。HBV による影響は CYP だけでなく、GST 酵素にも及ぶ。ヒトで CYP2A6 と CYP3A4 が活性化するのは肝炎ウイルス感染と関係する。HBV 感染では、GST 活性が顕著に低下している。

HBV 感染した個体のアフラトキシン代謝について検討した報告もある。コルチゾル代謝を CYP3A4 活性のマーカーとして測定し、アフラトキシン-アルブミン複合体との関係を検討した。CYP3A4 活性は、HBV 感染状態や複合体量と関係がみられなかった。さらに複合体と肝障害のマーカーであるトランスアミナーゼの間にも関係がなかった。ガンビアで成人の HBV 感染者と非感染者について尿中アフラトキシン-DNA 複合体量を測定したところ、両者の間に違いはみられなかった。これらのことから、アフラトキシン-アルブミン量と尿中のアフラトキシン-DNA 複合体は HBV 感染によって影響を受けないことが明らかになった。一方で、HBV に感染したガンビアの子供はアフラトキシン-アルブミン複合体の量が、非感染者に比べて高く、アフラトキシン代謝が変化することがわかった。中国でもこれらと類似したことが報告されている。

従って、HBV 感染はアフラトキシン代謝に強く影響を及ぼすことが明らかになったが、この影響は活性化と解毒に及ぼす複雑な機序であることがわかった。

HBV 感染とアフラトキシン曝露が相互作用を示す機序は発ガン性物質がウイルス感染と増殖に変化を及ぼすことによる。アヒルに肝炎ウイルスを感染させ、アフラトキシンを曝露させると肝臓や血清中のウイルス増殖のマーカーが増加した。アフラトキシンが、ヘパドナウイルス遺伝子発現を亢進させるという仮説を裏付けるものである。HBV をトランスフェクトしたヒトヘパドナ HepG2 細胞は HBV 発現に影響する転写因子を増加させる。

アフラトキシン曝露と HBV 感染が相互作用を示す機序はいくつか考えられるが、最も関係がある機序はわかっていない。

p.245

5、Summary of data report

5.1 Exposure data

アフラトキシンは *Aspergillus* 種が主に産生するカビ毒であり、暑く、湿度が高い地域で

産生がみられる。Aspergillus flavus は B アフラトキシンを産生する。A.parasiticus は B と G アフラトキシンを産生し、限局された分布を示す。アフラトキシンが産生される主な作物は、ピーナッツ、トウモロコシ、綿実などであり、A.flavus の汚染と関係する。ヒトがアフラトキシンに曝露される量は ng~mg/日程度であり、トウモロコシやピーナッツを摂取することによる。トウモロコシはフモニシンにもよく汚染されている。アフラトキシン M1 はアフラトキシン B1 の代謝産物である。ヒトはミルク（母乳を含む）を介してアフラトキシン M1 に ng/日程度曝露されている。バイオマーカーを測定することはアフラトキシンの曝露とその程度を知るために用いられている。

5.2 Human carcinogenicity data

IACA Monographs Volume 56 ではアフラトキシンがヒトの発ガン性物質として分類されている。

中国上海で行われた大規模なコホート研究は、肝細胞腫瘍のリスクが、尿中のアフラトキシン代謝産物や、B 型肝炎ウイルス抗体が陽性であると増加することを示唆した。日々のアフラトキシン摂取量は肝細胞腫瘍のリスクに関係しないことがわかった。

中国と台湾を対象とした疫学調査では、B 型肝炎ウイルス抗原陽性で肝ガンのリスクが増すことがわかった。また、アフラトキシン代謝産物と複合体をバイオマーカーとして測定したところ肝ガン発生患者でこれらの量が高いことがわかった。

中国キートンで行われたコホート研究では、アフラトキシンバイオマーカーとしての肝炎 B ウイルスのキャリアー状態と肝細胞ガン発症について検討した。アフラトキシン代謝産物と肝ガン罹患率には関係がみられることがわかった。

アフラトキシンの曝露量と肝炎ウイルスとアフラトキシンの影響を単独で評価することが難しいので、ヒトでの研究が容易にならない。

5.3 Animal carcinogenicity data

過去の IACA Monographs で明らかにされているアフラトキシンの発ガン性は以下の通りである。アフラトキシン B1、G1、M1>アフラトキシン B2>アフラトキシン G2。主な腫瘍は肝腫瘍である。

1993 年以降の実験動物を用いた発ガン性試験は、ラット、ニジマス、マウス、トガリネズミ、ウッドチャックに限定されている。ある条件下ではアンモニアにより飼料のアフラトキシン含有量を低下させ、ラットの肝腫瘍発生頻度を抑制することがわかった。牛の乾燥無脂肪乳を与えたニジマスではアンモニアを与えることにより肝腫瘍が低下することが明らかになった。アフラトキシン M1 は B1 に比べて腫瘍の発生がなかった。アフラトキシコールはアフラトキシン B1 に比べて腫瘍発生率がやや高かった。

TGF-β をトランスフォームしたトランスジェニックマウスでは、アフラトキシン B1 曝露後の肝細胞腺腫とガン発生率が増加した。アフラトキシン B1 による肝細胞腫瘍は TP53

遺伝子のヘテロ型と B 型肝炎ウイルス抗原をもつトランスジェニックマウスで顕著に増加した。TP53249^{ser} 突然変異は、B 型肝炎ウイルスとアフラトキシン B1 の相互作用によって増加するだけでなく、アフラトキシン曝露だけでも腫瘍の増加がみられる。

トガリネズミではアフラトキシン B1 曝露と B 型肝炎ウイルス感染を受けた個体で肝細胞腫瘍の発生率増加と発生までの時間短縮が認められた。

動物実験によるアフラトキシンの発ガン性検討は現在も続いている。

5.4 Other relevant data

ヒトのアフラトキシン B1 代謝について研究は進んでおり、アフラトキシン B18,9-エキソ-エポキシドに活性化して DNA 複合体を形成することが知られている。CYP1A2、3A4、3A5、3A7 と GSTM1 酵素が代謝を促進する。これらの酵素の発現が薬品によって DNA 複合体の形成と肝細胞腫瘍を抑制することが知られている。Oltipraz はグルタチオン結合を増加させ、チトクローム P450 酵素を阻害する。中国で oltipraz の臨床試験を行ったところ、アフラトキシン曝露後の代謝と DNA 複合体形成量が低下することが明らかになった。

アフラトキシン B1 は動物で免疫抑制をおこす。特に細胞性免疫反応に強く影響する。アフラトキシン曝露の結果、バクテリアと寄生虫感染に対する感受性が低下することが知られている。アフラトキシン B1 をヒト単球に曝露させると食食、殺菌活性やサイトカイン産生が低下した。

アフラトキシンはヒトの胎盤を通過する。アフラトキシン曝露は子供の成長抑制と関係がある。高用量のアフラトキシンを腹腔内に投与したマウスでは、奇形や胎児の体重減少がみられた。ラットでは、低用量の暴露で子供の体重が減少し、行動異常が認められた。雄雌ラットや雄ウサギでは、受胎能力の低下が起こることも知られている。

In vitro 試験により、アフラトキシン B1 が原核動物や真核動物の細胞に遺伝子毒性を起こすことが知られている。DNA やアルブミン複合体の形成と遺伝子突然変異、染色体異常などが起こりうる。

TP53 遺伝子のコドン 249 の G から T への置換はアフラトキシン曝露と関係がある。アフラトキシン B1-N7-グアニン複合体形成と G から T への変異が細胞や、モデル動物でみられる。コドン 249 突然変異はヒトの肝細胞腫瘍で検出されることが多いが、アフラトキシン B1 が結合して起こるのか、p53 蛋白質機能変化によって起こるのかははっきりしない。

近年では、分子レベルでの研究により B 型肝炎ウイルスとアフラトキシンの相互作用が肝細胞腫瘍発生を起こす機序が明らかになってきた。B 型肝炎ウイルスの感染はアフラトキシン代謝を亢進させる。B 型肝炎ウイルス-トランスジェニックマウスでは、肝障害がチトクローム P450 酵素発現と関係する。また、ヒトではグルタチオン S-トランスフェラーゼ活性は、B 型肝炎ウイルス感染により低下する。しかしながら、アフラトキシンがガンを発症させる他の分子学的機序も考えられる。

5.5 Further research needs

*分子学的研究やバイオマーカーを発展させて利用する。

*アフラトキシン B1 と B 型肝炎ウイルスの相互作用や、両要因が肝細胞腫瘍を起こす機序について研究を進める。

*アフラトキシンと肝細胞腫瘍の関係を評価するバイオマーカーを疫学的研究に利用する。

*ヒトが摂取したアフラトキシンの動態を明らかにする。

*新たな疫学的研究を進める。例、肝炎ウイルスワクチン接種、アフラトキシン曝露と（制限した）B 型肝炎の感染を受けたヒトについてラテンアメリカを対象に進める。また、アフラトキシン B1 と C 型肝炎の相互作用が肝ガン発生に与える影響について検討する。

遺 伝 毒 性 関 係 文 献

G-001	EXPRESSION OF THE c-Ha-ras AND c-myc GENES IN AFLATOXIN B1-INDUCED HEPATOCELLULAR CARCINOMAS	Fumio Tashiro, Shigeru Morimura, Kenshi Hayashi, Reiko Makino, Hideko Kawamura, Nobuo	BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS(1986),138(2),858-64
G-002	Activation of ras oncogene in aflatoxin-induced rat liver carcinogenesis	S.SINHA, C.J.MARSHALL, M.A.KNOWLES, A.PROCTOR, N.C.BARRASS, AND G.E.NEAL	Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1988),85,3673-77
G-003	Susceptibility to Aflatoxin B1-related Primary Hepatocellular Carcinoma in Mice and Humans	Katharine A. McGlynn, Kent Hunter, Thomas LeVoyer, Jessica Roush, Philip Wise, Rita A. Michielli,	CANCER RESEARCH(2003)63,4594-4601
G-004	Forced expression of antisense 14-3-3 β suppresses tumor cell growth in vitro and in vivo	Akinori Sugiyama, Yohei Miyagi, Yuko Komiya, Mobuya Kurabe, Chifumi Kitanaka, Naoko Kato, Yoji	Carcinogenesis(2003),24(9),1549-1559
G-005	Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas	I.C.Hsu, R.A.Metcalf, T.Sun, J.A.Welsh, N.J.Wang & C.C.Harris	Nature(1991),350,427-28
G-006	Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa	Brigitte Bressac, Michael Kew, Jack Wands & Mehmet Ozturk	NATURE(1991),350,429-31
G-007	Identification of differentially expressed genes in aflatoxin B1-treated cultured primary rat hepatocytes and Fischer 344	Harris, A.J., Shaddock, J.G., Manjanatha, M.G., et al.	Carcinogenesis(1998),19,1451-1458
G-008	Identification of an activated c-Ki-ras oncogene in rat liver tumors induced by aflatoxin B1	McMahon, G., Hanson, L., Lee, J.J. & Wogan, G.	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America(1986),83,9418-9422
G-009	Molecular and cellular events associated with aflatoxin-induced hepatocarcinogenesis	Gerald N. Wogan	Pure & Appl. Chem.(1989),61(1),1-6

論文番号	G-001
タイトル	Expression of the c-Ha-ras and c-myc genes in aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma
雑誌名	Biochemical and Biophysical Research Communications
巻	138
最初のページ～最後のページ	pp858-864
発行年	1986
著者名(姓.名)	Tashio, F., Morimura, S., Hayashi, K., et al.

要約

アフラトキシンB1(5週令から8週間以上に亘って同量ずつ40回ほどアフラトキシンB1を経口投与し、ラット当たりの投与総量は1.5mg)で処理された7匹のフィッシャー雄ラットから得られた肝細胞由来の7つの癌細胞に対してc-ガン遺伝子群の発現と活性化を調べた。その結果、c-Ha-rasとc-mycガン遺伝子はすべてのガン細胞で高い発現を示していた。さらに供試した癌細胞のうちの1つであるT2-1ガン細胞では、c-myc遺伝子が肝細胞の腫瘍部分で再構成もなく、増幅していた。しかしながら、N-ras遺伝子に特異的な転写は供試したガン細胞では認められなかった。またc-fos遺伝子の転写もガン細胞および対照肝細胞で認められなかった。以上のことから、c-mycとc-Ha-ras遺伝子の発現増加あるいは制御不可はアフラトキシンB1で誘導されたガン細胞の発達に重要な役割を演じていることが示唆された。

論文番号	G-002
タイトル	Activation of ras oncogene in aflatoxin-induced rat liver carcinogenesis
雑誌名	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
巻	85
最初のページ～最後のページ	p3673-3677
発行年	1988
著者名(姓.名)	Sinha, S., Webber, C., Marshall, C.J., et al.

要約

フィッシャー雄ラットで4つの初代アフラトキシン誘導ラット肝腫瘍細胞、この腫瘍細胞から派生した2つの細胞株、肝上皮細胞由来の非形質転換細胞株、およびin vitroでアフラトキシンB1で形質転換した肝上皮細胞株を用いて、活性化した形質転換遺伝子の存在を調べた。なお、アフラトキシン処理群はアフラトキシンをラットの餌に混ぜ、最終濃度でAFB1が1ppm、AFG1が0.3ppm与えられた。この処理は生後3週間目から始めて8週目まで続けられた。これらの細胞から抽出したDNAをNIH 3T3細胞に移入したが、フォーカス(単層で増殖する細胞が重層的に増殖する細胞からなるコロニー:ガン化のマーカー)は形成しなかった。抗生物質G418耐性となる遺伝子とともに抽出したDNAを共移入し、この抗生物質G418に抵抗性を示した細胞をヌードマウスに移植して腫瘍性を調べたところ、非形質転換細胞株を除いたすべての細胞は腫瘍性を示した。これらの初代のヌードマウス腫瘍細胞から抽出したDNAをNIH 3T3細胞に移入したところ、フォーカスを形成し、その性質は連続的に移入試験を繰り返しても維持された。放射性同位元素でラベルされたプローブを用いて調べると、すべての検体から活性化されたrasガン遺伝子が検出された。N-ras遺伝子の活性化は3つの初代ラット肝腫瘍細胞と肝癌細胞株から検出された。Ki-ras遺伝子の活性化は1つの初代ラット肝腫瘍細胞で認められ、Ha-ras遺伝子の活性化はin vitroでアフラトキシンB1で活性化されて形質転換した細胞株で認められた。さらに活性化されたKi-rasガン遺伝子は合成したオリゴヌクレオチドプローブを用いた実験から、コドン12の2番目のヌクレオチドでG→Aの遺伝子転位があったことが判明した。

Table 1. Transfection of aflatoxin-activated transforming genes

DNA source	Nude mouse tumors, no./no. examined	Second round focus-forming efficiencies of DNA from nude mouse tumors, foci per 100 µg of DNA	Oncogene detected
Rat liver	1/5	1*	—
BL8	0/5	—	—
BL9	1/5	—	—
L6	5/5 (10 days)	7, 10, 9†	Ha-ras
JB1	3/5 (3-4 weeks)	3, 10, 50	N-ras
BL10	2/3 (3-4 weeks)	4, 7	N-ras
A‡	1/5 (3 weeks)	5	N-ras
B‡	2/5 (3-4 weeks)	3, 10	Ki-ras
C‡	3/5 (2-3 weeks)	6, 2, 12	N-ras
D‡	2/5 (3-4 weeks)	9, 11	N-ras

Information in parentheses indicates time by which all tumors were evident.

*No foci were found in the next round of transfection.

†Only three nude mouse tumors were tested.

‡Primary tumors.

論文番号	G-003
タイトル	Susceptibility to Aflatoxin B1-related Primary Hepatocellular Carcinoma in Mice and Humans
雑誌名	Cancer Research
巻	63
最初のページ～最後のページ	pp4594-4601
発行年	2003
著者名(姓.名)	McGlynn, K.A., Hunter, K., LeVoyer, T., et al.

要約

動物モデルや人の疫学的な調査などによる様々な手法から、病気に対する感受性の違いを遺伝学的に説明する研究が行われた。珍しいことに2つの手法が同時に使われたが、それはそれぞれの方法がもつ欠点を補うかたちで進められた。肝細胞のガン化(HCC)へのアフラトキシンB1に関連する感受性を遺伝学的に理解するために両方を試みた。AFB1の摂取はHCCがありふれている世界の多くの地域でHCCへの主要な危険因子である。AFB1の活性中間代謝物であるAFB1-exo-8,9-epoxideを無毒化する能力は人によって様々であることは不確かであるが、なぜその代謝物に暴露された人すべてがHCCになるわけではないことで説明されることと思われる。231例のHCCと256例の対照との研究で、無毒化への人の多様性があるかどうかを明らかにするために、AFB1の無毒化に関与する遺伝子群の2つのグループ、グルタチオン-S-転移酵素(GSTs)とエポキサイド水酸化酵素(EPHX)、で11の遺伝子座を遺伝学的に位置づけた。多数の比較を行ったのち、残ったエポキサイド水酸化酵素ファミリーの2遺伝子座にある1つの多型だけがHCCとの関連性がかなり認められた。さらに感受性の座が存在するかどうかを明らかにするためにアフラトキシンB1で誘導されるHCCを調べるためにマウスモデル系を構築した。2種のありふれた繁殖系マウス(C57BL/6JとDBA/2J)から7日令マウスの感受性を評価した。DBA/2JマウスはC57BL/6JマウスよりアフラトキシンB1で誘導されるHCCに3倍以上感受性があり、さらにアフラトキシンの急性毒性にもより感受性があった。2種の繁殖系における生体異物を新陳代謝させる遺伝子の解析は3つの遺伝子、Gsta4, Gstt1, Epxh1に1つのヌクレオチド多型を明らかにした。GSTT1とEPHX1の座は人の全集団研究においてHCCに関連性は認められないが、GSTA4でのある多型はある群の男性における危険性とおおいに関係があった。マウスモデル実験はp53の欠損と不全がガン化の発達に必要なではないことも明らかにした。以上の結果から、人とアフラトキシンB1感受性マウスモデルの研究から得られた結果の比較は肝ガン化への新たな洞察を与えるかもしれないことを示唆した。

論文番号	G-004
タイトル	Forced expression of antisense 14-3-3 β RNA suppresses tumor cell growth in vitro and in vivo
雑誌名	Carcinogenesis
巻	24
最初のページ～最後のページ	pp1549-1559
発行年	2003
著者名(姓.名)	Sugiyama, A., Miyagi, Y., Komiya, Y., et al.

要約

14-3-3ファミリータンパク質は多くの生物で見出されるリン酸セリンに特異的に結合するタンパク質で、悪性の形質転換を含む様々なシグナル変換系の鍵的制御因子である。以前、われわれは14-3-3 β 遺伝子の発現はアフラトキシンB1で誘導された肝腫瘍細胞K1とK2ではc-mycガン遺伝子と同様に制御されていないことを発見した。腫瘍細胞増殖での14-3-3 β 遺伝子の関係を説明するために、この論文ではK2細胞の増殖と腫瘍化でのアンチセンス14-3-3 β RNA遺伝子の強制発現の影響を調べた。アンチセンス14-3-3 β cDNA発現ベクターを移入したK2細胞は単層培養で、半固体培地での細胞増殖能が減少した。また、血管上皮生育因子mRNAの発現レベルは移入細胞では減少した。ヌードマウスに移植して形成された腫瘍は大変小さく、親細胞との比較で有糸分裂が減少していたことから、組織学的には良性腫瘍であった。末端デオキシリボ核酸転移酵素を介したdUTPニックエンドラベル法(TUNEL法)でアポトーシスの発生頻度を調べると、新脈管形成阻害に伴って移入由来の腫瘍細胞でアポトーシスの頻度は増加していた。さらに14-3-3 β mRNAの過剰発現が様々なマウス由来の腫瘍細胞株で観察された。以上の結果から、14-3-3 β 遺伝子はin vitroおよびin vivoの腫瘍細胞の異常な増殖で中枢的な役割を果たすことが示唆された。

論文番号	G-005
タイトル	Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas
雑誌名	Nature
巻	350
最初のページ～最後のページ	pp427-428
発行年	1991
著者名(姓.名)	Hsu, I.C., Metcalf, R.A., Sun, T., et al.

要約

B型肝炎ウイルスとアフラトキシンB1が危険因子であるため、中国のQidongで肝細胞腫瘍(HCC)の高発症地域のHCC患者らから得たガン細胞で腫瘍抑制遺伝子とされているp53遺伝子の変異を調べた。その結果、16HCCのうち8つでコドン249の3番目の塩基が点変異していた。7つのHCC遺伝子検体でG→Tの遺伝子転換とその他のHCC遺伝子検体でG→Cの遺伝子転換は変異原性試験でアフラトキシンB1で生じた変異の報告と一致していた。エクソン5、6、8あるいはエクソン7の残りで見出された変異はなかった。これらの結果は人の肺、結腸、食道、胸部のガンや肉腫などでこれまで報告されたp53の変異とは異なっていた。変異は主にコドン249を含む進化的に保存された5つのドメインのうち4つで散見できた。以上のことから、変異したp53タンパク質は発ガン時に肝細胞の細胞複製を拡張する選択性に関与していることが示唆された。

TABLE 1 Mutations in p53 in hepatocellular carcinoma

Case	Age	Sex	Grade of HCC	HCC size (cm)	p53 Mutations (codon 249)
84-1	44	M	II	5×4	WT
84-2	33	F	II	14×10	WT
84-3	49	M	III	11×10	AGT
84-4	60	M	II	4×4	WT
84-5	58	F	III	10×7	AGT
89-12	39	F	II	11×8	WT
89-13	35	F	II	5×5	AGC
89-14	65	M	II	11×5	WT
89-15	54	M	II	13×6	AGG/AGT
89-16	37	M	II	10×15	AGG/AGT
90-1	31	M	II	3×3	AGT
90-2	52	M	II	5×4	WT
90-3	35	M	II	6×4	AGT
90-4	39	M	III	5×5	WT
90-5	40	M	III	9×10	WT
90-6	38	M	III	6×7	AGG/AGT

Cases 1-5: The liver DNA samples were isolated in 1984 from patients with primary hepatocellular carcinoma. The rest of the samples were collected from patients in 1989 and 1990. The histological grade was determined²². WT, Wild type with normal codon 249 (AGC); AGG/AGT, heterozygote with both wild-type and mutant bands present for the third base pair of codon 249; AGT or AGC, mutant sequencing phenotypes giving only one band for the third base pair of codon 249. No mutations were observed in exons 5, 6 and 8 and in the codons of exon 7 other than 249. Non-tumour tissue for all cases in which the tumour was mutated at codon 249 were sequenced for exon 7. All of these samples were wild-type.

論文番号	G-006
タイトル	Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa
雑誌名	Nature
巻	350
最初のページ~最後のページ	pp429-431
発行年	1991
著者名(姓・名)	Bressac, B., Kew, M., Wands, J. & Ozturk M.

要約

肝細胞のガン化(HCC)はサハラ砂漠以南のアフリカと東アジアで主要なガンである。B型肝炎ウイルスとアフラトキシンがHCCの危険因子であるが、人の肝細胞のガン化の分子機構は明らかにされていない。構造での異常化と腫瘍抑制遺伝子p53の発現がHCC細胞株で頻繁にあり、17p染色体の対立遺伝子欠損が中国と日本由来のHCC細胞で見出されてきた。ここでは南アフリカの初代HCC細胞の50%で見出された17p染色体の対立遺伝子欠損とp53遺伝子の変異を報告する。検出された5つの変異のうちの4つはコドン249でのGからTへの置換であった。この変異の特異性は特殊なガン原性物質に暴露されることが影響していると言える。その候補の一つはアフラトキシンB1で、アフリカの食品汚染物質であり、GからTへの置換を誘導し、肝臓に特異的な発がん性物質である。

TABLE 1. Mutations in the p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa							
Patient	HBV*	Cirrhosis	Tumour†	17p LOH‡	Mutation (detected)		
					Codon	Nucleotide	Amino acid
1	No	No	Late	No			
2	NT	No	Late	No			
3	Yes	No	Early	No			
4	Yes	No	Early	Yes	248	AGG to AGT	Arg to Ser
5	Yes	No	Late	Yes	286	8-bp deletion	Frame shift
6	Yes	No	Late	NT	157	GTC to TTC	Val to Phe
7	Yes	No	Late	NT			
8	Yes	Yes	Early	No			
9	Yes	Yes	Late	No	248	AGG to AGT	Arg to Ser
10	Yes	Yes	Late	Yes	249	AGG to AGT	Arg to Ser

*Hepatitis B virus infection as determined by the presence of hepatitis B surface antigen or antibodies against it and/or hepatitis B core antigen in the serum. NT, not tested.

†Tumours were designated as early or late on the basis of tumour size (small, less than 5 cm in diameter; moderately small, 5-10 cm; large, greater than 10 cm) and patient prognosis. Late tumours were large (or massive) and patients died within days or a few weeks after admission to hospital. Early tumours were small or moderately small and surgically resected.

‡Loss of heterozygosity on chromosome 17p, determined using p53 cDNA probe¹² (Fig. 1) or by the analysis of p53 gene alleles by southern blotting of BamHI or SmaI-digested genomic DNA using a human p53 cDNA probe¹³ (patient 3). NT, not informative; NT, not tested.

§Mutations in exons 5 to 8 were determined as described for Fig. 1. To minimize inaccuracies arising from PCR errors¹⁴, control experiments were included. The absence of mutations in tumours 1, 2, 3, 7 and 8 was demonstrated by the complete sequencing of 5-7 clones independently. The presence of mutations in tumours 4, 5, 6, 9 and 10 was confirmed by direct sequencing of a second PCR product from each tumour DNA. All mutations were somatic and tumour-specific as determined by restriction enzyme analysis using HaeIII for patients 4, 6 and 10 (Fig. 2, top). The tumour-specific loss of the 3' recognition sequence at codon 157 (GGC → CCG) for patient 6 was demonstrated by digestion of an P1-XbaI primer-PCR product (data not shown; for details of primers, see Fig. 1 legend). Tumour-specific deletion of an 8-bp sequence in patient 5 was demonstrated by analysis of a fragment generated by initial digestion of an P3-XbaI primer-PCR product, which was 45 bp long in the wild-type and 37 bp in the mutant p53 gene (not shown).

論文番号	G-007
タイトル	Identification of differentially expressed genes in aflatoxin B1-treated cultured primary rat hepatocytes and Fischer 344
雑誌名	Carcinogenesis
巻	19
最初のページ～最後のページ	pp1451-1458
発行年	1998
著者名(姓.名)	Harris, A.J., Shaddock, J.G., Manjanatha, M.G., et al.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1)は、ラットや人における変異原および肝発ガン性物質で、特にアフリカとアジアのある地域で人に供給される食糧の汚染物質である。遺伝子発現でAFB1による変化は毒性、免疫抑制および発ガン性を引き起こす役割をすると思われる。遺伝子制御を変調させるAFB1の役割を知ることはAFB1による発ガン性の仕組みの解明につながる。培養した初代ラット肝細胞由来のRNAでAFB1と反応する遺伝子を同定するために3つのPCR (DD-PCR, RDA, SSH)による消去法を用いた。1つのPCR法以上で分離された個々のcDNAはなかったが、3つの方法のいずれもAFB1で反応する遺伝子を同定した。分離された9つのcDNAはAFB1暴露の結果として特異的に発現した8つの遺伝子と対応していた。AFB1処理後、培養した初代ラット肝細胞で増加したmRNAの遺伝子はコルチコステロイド結合グロブリン (CBG)、チトクロームP450 4F1 (CYP4F1)、アルファ-2-マイクログロブリン、C4b-結合タンパク質、血清アミロイドA-2、およびグルタチオン-S-転移酵素Yb2 (GST)であった。トランスフェリンと小さなCYP3A様cDNAのmRNAレベルは暴露後に減少した。普通の長さのCYP3A mRNAは増加した。アフラトキシン処理したオスF344ラットから得た肝RNAの場合はトランスフェリンmRNAは減少したが、他のmRNA (CBG, GST, CYP3A, CYP4F1)では増加した。以上の結果から、これらの特異的な発現がアフラトキシン暴露と関連した毒性に影響していることが示唆された。

論文番号	G-008
タイトル	Identification of an activated c-Ki-ras oncogene in rat liver tumors induced by aflatoxin B1
雑誌名	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
巻	83
最初のページ～最後のページ	pp9418-9422
発行年	1986
著者名(姓.名)	McMahon, G., Hanson, L., Lee, J.J. & Wogan, G.

要約

離乳したオスのフィッシャーラットに2ヶ月以上に亘ってアフラトキシンB1(ラット1日当たり25 μ g)を40回腹腔内に投与した。この長期摂取は供試したすべてのラットに増殖フォーカス、新生物発生前の塊、および肝細胞ガンの連続形成をもたらした。形質転換したDNA配列の存在はNIH3T3マウス線維芽細胞に腫瘍由来のDNAを移入したのち、固定しないフォーカスの形成によって検出した。8匹のラットから得た個々の腫瘍由来のゲノムDNAの移入はDNAの μ g当たり0.05～0.2フォーカスの特異的形質転換活性を示した。初代移入DNAはc-Ha-ras、c-Ki-ras、およびN-rasガン遺伝子と相同なDNAプローブで交雑し、ノーザンブロット法で解析した。ラット由来のc-Ki-rasガン遺伝子がかかなり増幅され、8匹中2匹の腫瘍由来の形質転換細胞で検出された。また形質転換細胞のいずれからもc-Ha-ras、N-ras配列の存在を示唆した結果は得られなかった。対照肝臓DNA試料と比較すると、初代肝腫瘍DNAの解析はKi-rasDNAの増幅を示さなかった。c-Ki-ras p21タンパク質レベルの増加は活性化したラットc-Ki-ras遺伝子を含むNIH3T3の形質転換細胞で見出された。形質転換したフォーカスを誘導できるラット由来のc-Ki-ras配列の存在はc-Ki-ras遺伝子が肝腫瘍の初期で活性化されているためである。

論文番号	G-009
タイトル	Molecular and cellular events associated with aflatoxin-induced hepatocarcinogenesis
雑誌名	Pure and Applied Chemistry
巻	61
最初のページ～最後のページ	pp1-6
発行年	1989
著者名(姓.名)	Wogan, G.N.

要約

アフラトキシンB1は強い発ガン性物質で、多くの実験動物の肝臓にガンを形成する。最近、実験データとアフラトキシンに暴露された人の集団に関する疫学的な研究から人の発がん性物質に分類されている。9、10エポキシドに代謝活性された結果、DNAとの共有結合はガン化への明確な出発点である。動物組織での共有結合の全レベルがアフラトキシンB1のガン化力と臓器特異性に定量的に関係している。DNAへの共有結合は動物でのアフラトキシン摂取量と直線的に関係しているので、防御剤の効果はDNA結合を減少させることである。アフラトキシンB1は9、10エポキシドの代謝活性によってグアニンのN7の位置でのみDNAと共有的に付加を形成し、エポキシ化が行われるすべての細胞(哺乳類、微生物、植物)で質的に類似の付加物が見出されている。しかしゲノムDNAにおいてN7グアニン付加体の形成は無作為ではない。付加物の形成は未転写領域と比べ、積極的に転写される遺伝子配列で高い。DNAでのアフラトキシンB1-N7グアニン付加体は不安定で、速やかに浄化されるか、安定なホルムアミド-プリミジル(PAPY)誘導体に転換される。ラット肝臓での付加体形成と除去の動的速度は、アフラトキシンB1の単発暴露か複数暴露かによって決まってくる。付加体レベルが2時間で最大値まで達すると、半減に7.5時間要し、摂取後24時間以内にPAPY誘導体のみが残る。この誘導体は長期間安定で、摂取の繰り返しとともに蓄積する。アフラトキシンB1がDNA付加体を形成する潜在力は前核生物から人を含む様々な哺乳類など広範囲の細胞での変異原性にも関係している。それは他の染色体異常誘発反応と同様に娘染色体交叉、組み換え、染色体異常のような遺伝毒性を誘発する。細菌細胞ではアフラトキシンB1による変異はGからTへの転換、あるいはGからAへの転位である。このことはアフラトキシンB1によって誘発された肝腫瘍でKi-rasガン遺伝子が活性化されたことが最近明らかになったことに関連している。ガン遺伝子活性化の研究から、多くの腫瘍が12番目から14番目のコドンで1個の塩基変異があるKi-ras配列が明らかとなった。GからAへの転位が少し認められたが、その変異は主にGからTへの転換であった。この発見は、アフラトキシンB1とDNAの付加体形成の結果としてガン遺伝子に変異し、腫瘍形成の開始につながるという推測と一致している。現在、新生物発生前の肝臓で変異した対立遺伝子が出現する時期や頻度を明らかにする研究が行われている。

毒性関係文献

T-1	Short-term moderate aflatoxin B1 exposure has only minor effects on the gut-associated lymphoid tissue of Brown Norway rats	Watzl,B.,Neudecker,C.,Hansch,G.M.,Rechkemmer,G.,Pool-Zobel,B.L.	Toxicology,138,93-102(1999)
T-2	Immunotoxicity of Aflatoxin B1 in Rats: Effects on Lymphocytes and the Inflammatory Response in a Chronic Intermittent Dosing Study	Hilton,D.M.,Myers,M.J.,Raybourne,R.A.,Franke-Carroll,S.,Sotomayor,R.E.,Shaddock,J.,Warbritton,A.,and CHOU,M.W.	Toxicological Sciences,73,362-377(2003)
T-3	Aflatoxin B1-induced suppression of nitric oxide production in murine peritoneal macrophages	Moon,E.Y.,Han,J.J.,Rhee,D.K.,Pyo,S.	Journal of Toxicological and environmental Health,Part A,55,517-530(1998)
T-4	In vitro suppressive effects of aflatoxin B1 on murine peritoneal macrophage function	Moon,E.Y.,Rhee,D.K.,Pyo,S.	Toxicology,133,171-179(1999)
T-5	Suppression of the interleukin-2 gene expression by aflatoxin B1 is mediated through the down-regulation of NF-AT and AP-1 transcription factors	Han,S.H.,Joen,Y.J.,Yea,S.S.,Yang,K.H.	Toxicology Letters,108,1-10(1999)
T-6	Dose systemic exposure to aflatoxin B1 cause allergic sensitization?	Kocabas,C.N.,Sekeral,B.E.	Allergy,58,363-365(2003)
T-7	Consequence of Aflatoxin B1 Ingestion on the Membrane-Bound Liver Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase of protein-Undernourished Fischer F344 Rats	Adenuga,G.A.	Bioscience Reports,21,873-877(2001)
T-8	The effect of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1, on primary swine alveolar macrophages	Liu,B.H.,Yu,F.Y.,Chan,m.H.,Yang,Y.L.	Toxicology and applied Pharmacology,180,197-204(2004)
T-9	Inhibitory effects of ellagic acid on the direct-acting mutagenicity of aflatoxin B1 in the Salmonella microsome assay	Loarca-Pina,G.,Kiznicki,P.A.,de Mejia,E.G.,Kado,N.Y.	Mutation Research,398,183-187(1998)
T-10	Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity	Bonsi,P.,Augusti-Tocco,G.,Palmeri,M.,Giorgi,M.	General pharmacology,32,615-619(1999)
T-11	Potency of dietary indole-3-carbinol as a promoter of aflatoxin B1-initiated hepatocarcinogenesis: results from a 9000 animal tumor study	Oganesian,A.,Hendricks,J.D.,Pereira,C.B.,Omer,G.A.,Bailey,G.B.,Williams,D.E.	Carcinogenesis,20,453-458(1999)
T-12	Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats	Theumer,M.G.,Lopez,A.G.,Masih,D.T.,Chulze,S.N.	Toxicology,186,159-170(2003)
T-13	Interaction of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in short-term carcinogenesis model in rat liver	Gelderblom,W.C.A.,Marasas,W.F.O.,Lebepe-Muzur,S.,Swanevelter,S.,Vessey,c.J.,de la M Hall,P.	Toxicology,171,161-173(2002)
T-14	Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals	H.S.Hussein and J.M.Brasel	Toxicology,187,101-134(2001)
T-15	Mutagenic activity of carcinogens detected in transgenic rodent mutagenicity assays at dose levels used in chronic rodent cancer	Schmezer,P.,Eckert,C.,Liebigel,U.M.,Zeletzny,O.,Klein,R.K.	Mutation Research,405,193-198(1998)
T-16	Co-mutagenicity of coumarin(1,2-benzopyrene) with aflatoxin B1 and human liver S9 in mammalian cells	Goeger,D.E.,Hsie,A.W.,Anderson,K.E.	Food and chemical toxicology,37,581-589(1999)
T-17	Aflatoxin B1-induced point mutations in splenic lymphocytes of Fischer 344 rats. Result of an intermittent	Morris,S.M.,Aidoo,A.,Chen,J.J.,Chou,N.W.,Casciano,D.A.	Mutation research,423,33-38(1999)
T-18	Enhancement of glutathione S-transferase placental-form positive liver cell foci development by microcystin-LR in aflatoxin	Sekijima,M.,Tsutsumi,T.,Yoshida,T.,Harada,T.,Tashiro,F.,Chen,G.,Yu,S.-Z.,Ueno,Y.	Carcinogenesis,20,181-185(1999)
T-19	Acquired tolerance of hepatocellular selenium deficiency: a selective survival mechanism?	Imak,M.B.,Ince,G.,Ozturk,M.,Cetin-Atalay,R.	Cancer research,63,6707-6715(2003)
T-20	Fumonisin B1 promotes aflatoxin B1 and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine initiated liver tumors in rainbow trout	Carlson,D.B.,Williams,D.E.,Spitsbergen,J.M.,Ross,P.F.,Bacon,C.W.,Meredith,F.J.,and Riley,R.T.	Toxicology and applied pharmacology,172,29-36(2001)
T-21	Review article: synergistic interaction between aflatoxin B1 and hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis	M.c.Kew	Liver international,23,405-409(2003)
T-22	Mycotoxins	R.A.Etzel	JAMA,287,425-427(2002)
T-23	Mycotoxins	J.W.Bennett, and M.Klich	Clinical Microbiology reviews,16,497-516(2003)
T-24	Determinants of aflatoxins exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: the critical role of weaning	Gong,Y.Y.,Egal,S.,Hounsa,A.,Turner,P.C.,Hall,A.J.,Cardwell,K.F.,and Wild,C.P.	International Epidemiological Association,32,556-562(2003)
T-25	Determination level of serum Aflatoxin B1 adducts in the United Kingdom population: Implications for aflatoxin-B1 exposure in the United Kingdom	Turner,P.C.,Dingley,K.H.,Coxhead,J.,Russell,S.,Garner,C.R.	Cancer Epidemiology,Biomarkers and Prevention,7,441-447(1998)
T-26	Hepatocellular carcinoma and aflatoxin exposure in Zhuqing village, Fusui county, people's republic of China.	Wang,J.-S.,Huang,T.,Su,J.,Liang,F.,Wei,Z.,Liang,Y.,Luo,H.,Kuang,S.-Y.,Qian,G.-S.,Sun,G.,Thomas,X.H.,Kensler,W.,and Groopman J.	Cancer epidemiology, biomarkers and prevention,10,143-145(2001)
T-27	Oltipraz chemoprevention trial in oidong, people's republic of china: modulation of serum aflatoxin albumin adduct biomarkers	Kensler,T.W.,Ho,X.,Otieno,M.,Egner,P.A.,Jacobson,L.P.,Chen,B.,Wang,J.-S.,Zhu,Y.-R.,Zhang,B.-C.,Wang,J.-B.,Wu,Y.,Zhang,Q.-N.,Qian,G.-S.,Kuang,S.-Y.,Fang,X.,Li Y.-F.,Yu,L.-Y.,Prochaska,H.J.,Davidson,N.E.,Gordon,G.B.,Gorman,M.B.,Zarba,A.,Enger,C.,Munoz,A.,Helzlsouer,K.	Cancer epidemiological,biomarkers and prevention,7,127-134(1998)
T-28	Association of plasma aflatoxin B1 adduct level with plasma selenium level and genotypic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1	Chen, S.-Y.,Chen, C.-J.,Tsai, W.-Y.,Ahsan, H.,Liu, T.-Y.,Lin, J.-T.,and Santella, R.M.	Nutrition and cancer,38,179-185
T-29	Variability in Aflatoxin-albumin adduct levels and effects hepatitis B and C Virus infection and glutathione S-transferase M1 and T1 genotype	Ahsan, H., Wang, L.-Y., Chen, C.-J., Tsai, W.-Y., and Santella, R.N.	Environmental Health Perspective,109,833-837(2001)
T-30	The role of Aflatoxins and Hepatitis viruses in the etiopathogenesis of hepatocellular carcinoma: A basis for primary prevention in Guinea-Conakry, West Africa	Turner,P.C.,Sylla,A.,Diallo,M.S.,Castegnaro,J.-J.,Hall,A.J.,and Wild, C.P.	Journal of gastroenterology and hepatology,17,S441-S448(2002)

論文番号	T-001
タイトル	Short-term moderate aflatoxin B1 exposure has only minor effects on the gut-associated lymphoid tissue of Brown
雑誌名	Toxicology
巻	138
最初のページ～最後のページ	93～102
発行年	1999
著者名(姓・名)	Watzl,B., Neudecker,C., Hansch,G.M., Rechkemmer,G., Pool-Zob

要約

アフラトキシンB1(AFB1)と消化管で産生されたその代謝産物は消化管機能と食餌中の蛋白質に対する免疫反応を阻害すると考えられる。そこでAFB1を短期投与し、消化管上皮と消化管の免疫細胞に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。in vitro では、AFB1とその代謝産物が消化管上皮に及ぼす毒性を明らかにするために、消化管上皮細胞を分離し、その生存力と遺伝子に与える損傷を測定した(comet assay)。In vivoの実験では、Brown Norway(BN)ラットにAFB1($1 \times 100 \mu\text{g/kg b.w./week}$)を週一回5週間に渡って経口投与し、小腸上皮の生存力と遺伝子毒性を測定した。AFB1が消化管の免疫反応に与える程度を評価するために、オボアルブミン(OVA)の存在下と非存在下で、高用量(実験1、 $1 \times 1\text{mg/kg b.w./week}$)と低用量(実験2、 $1 \times 100 \mu\text{g/kg b.w./week}$)のAFB1をBNラットに投与した。腸間膜リンパ節を分離し、分裂反応、インターフェロン γ の分泌、リンパ球の割合変化、粘膜肥満細胞特異的プロテアーゼ、抗OVA抗体の変化について測定した。

AFB1の経口投与は、BNラットの腸管上皮のDNAに損傷を与えなかった。高用量群では腸間膜リンパ節のCD8+とCD8/CD71+細胞の数が増加していた。OVAに対する免疫反応に影響はなかった。低用量群では腸間膜リンパ節におけるリンパ球分裂反応が低下していた。血清抗OVA特異的IgE抗体インターフェロン γ の量や、リンパ球がインターフェロン γ を産生する能力には影響がなかった。

以上のことから、AFB1は腸管上皮に損傷を与えないが、消化管リンパ関連組織に影響を及ぼすことが明らかになった。ヒトへの影響はこの実験からは明らかにならないが、本実験における低用量群は、西欧諸国で起こっている低用量のAFB1摂取よりも10倍ほど高い量の投与であり、食品(抗原)に対するアレルギー反応が増す恐れはないと考える。

論文番号	T-002
タイトル	Immunotoxicity of Aflatoxin B1 in Rats: Effects on Lymphocytes and the Inflammatory Response in a Chronic
雑誌名	Toxicological Sciences
巻	73
最初のページ～最後のページ	362～377
発行年	2003
著者名(姓.名)	Hilton, D.M., Myers, M.J., Raybourne, R.A., Francke-Carroll, S., Sotomayor, R.E., Shaddock, J., Warbritton, A., and Chou, M.W.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1) が Fisher-344 ラットから分離した脾臓のリンパ球や、脾臓や肝臓の組織形態に及ぼす影響を調べた。離乳したラットに 0, 0.01, 0.04, 0.4, 1.6ppm の AFB1 を含む飼料を周期的に投与した群 (4週間投与と4週間非投与を繰り返し、計40週間) と 1.6ppm の AFB1 を毎日投与する群を設定した。前者は AFB1 の蓄積性と評価するために行った。フローサイトメトリーによって T と B 細胞の割合は求め、in vitro でリンパ球が刺激に対して産生する IL-2, IL-1,

論文番号	T-003
タイトル	Aflatoxin B1-induced suppression of nitric oxide production in murine peritoneal macrophages
雑誌名	Journal of Toxicological and Environmental Health, Part A,
巻	55
最初のページ～最後のページ	517～530
発行年	1998
著者名(姓.名)	Moon, E. Y., Han, J. J., Rhee, D.K., Pyo, S.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1) は特異的と非特異的免疫反応を抑制することが知られている。主にリンパ球の機能と、リンパ球の機能を促進するマクロファージにも影響する。マクロファージは腫瘍や感染に対する防御において重要な役割を担う。さらに、マクロファージの産生するNOが細胞毒性を示す。この実験ではAFB1がマウスの腹腔内から採取したマクロファージのNO産生能に及ぼす影響を調べた。マクロファージに対して、AFB1を24時間暴露させ、さらにLPSで24時間刺激を与えた。

10と50 μ MのAFB1に1 μ g/mlのLPSを刺激した場合では、それぞれ24%、28%NO産生量が低下し、10 μ g/mlのLPS刺激では12%、24%低下した。AFB1の暴露はマクロファージのiNO蛋白質とmRNA合成を低下させた。

以上のことから、AFB1はマウスの腹腔内マクロファージがLPS刺激に対して産生するNO量を低下させることが明らかになり、これはiNO活性とmRNAと蛋白質合成の低下が原因であることが分かった。

論文番号	T-004
タイトル	In vitro suppressive effect of aflatoxin B1 on murine peritoneal macrophage function
雑誌名	Toxicology
巻	133
最初のページ～最後のページ	171～179
発行年	1999
著者名(姓.名)	Moon, E. M., Rhee, D. K., Pyo, S.

要約

in vitroでマウスの腹腔内マクロファージにAFB1を暴露させたときに認められる免疫抑制現象について明らかにすることを目的とした。
チオグリコレートで誘起したマクロファージをAFB1に暴露させ、LPS刺激を与えると、10と50 μ MのAFB1では、LPSによって起こる抗腫瘍活性が低下した。さらにNOなどの活性中間生成物、スーパーオキシドや過酸化水素などが用量依存性に低下した。マクロファージが産生するサイトカイン産生量を測定すると、AFB1はIL-6、TNF- α 、IL-1産生量を低下させた。
以上のことから

論文番号	T-005
タイトル	Suppression of the interleukin-2 gene expression by aflatoxin B1 is mediated through the down-regulation of the NF-AT and AP-1 transcription factors
雑誌名	Toxicology Letters
巻	108
最初のページ~最後のページ	1~10
発行年	1999
著者名(姓.名)	Han, S. H., Joen, Y. J., Yea, S. S., Yang, K. H.

要約

AFB1がB6C3F1(マウス胸腺細胞)、Jurkat E6-1(ヒト白血病由来細胞)、EL4.IL-2(マウス thymoma)のインターロイキン-2遺伝子発現量に及ぼす影響について検討するために定量的 RT-PCRで測定した。また、AFB1がIL-2のプロモーター部位の活性を測定し、IL-2発現を抑制する機序について検討した。

AFB1はphorbol-12-myristate-13-acetate/ionomycin(PMA/Io)で誘導したB6C3F1とJurkat E6-1でIL-2発現量を低下させ

論文番号	T-006
タイトル	Dose systemic exposure to aflatoxin B1 cause allergic sensitization?
雑誌名	Allergy
巻	58
最初のページ～最後のページ	363～365
発行年	2003
著者名(姓.名)	Kocabas,C.N. Sekeral, B.E.

要約

アフラトキシンB1(AFB1)は免疫機能、特にIL-2やIFN- γ の産生を抑制することにより、細胞性免疫反応を阻害することが知られている。幼少期にIFN- γ が低下するとアレルギーの感受性が増加するが、AFB1の暴露はIFN- γ 産生量が低下し、アレルギーを引き起こす。さらにAFB1はIL-1 β やTNF- α 産生を抑制することから、外来抗原に対するTh1細胞の活性化シグナル伝達を阻害し細胞性免疫反応に影響を及ぼす。Th1の免疫反応が抑制されると、Th2細胞による免疫反応が亢進する。

論文番号	T-007
タイトル	Consequence of Aflatoxin B1 Ingestion on the Membrane-Bound Liver Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase of Protein-Undernourished Fischer F344 Rats
雑誌名	Bioscience Reports
巻	21
最初のページ～最後のページ	873～877
発行年	2001
著者名(姓,名)	Adenuga, G. A.

要約

AFB1は肝細胞のガン化を起こすことが知られているが、蛋白質不足はこれを促進することが示唆されている。細胞内の過剰な Ca^{2+} は、肝細胞を死滅させるが、肝細胞のガン化促進剤や蛋白質の欠乏では Ca^{2+} ポンプの活性を抑制することによりガン化を起こす。この実験では12週間低蛋白質飼料を与え、蛋白質不足のFischer F344ラットにAFB1を投与したときの影響を検討した。

低蛋白質飼料を与えたラットにAFB1を投与すると、肝細胞の増殖が促進され、体重が減少し、ミクロソームの Ca^{2+} -ATPase活性は増加した。P450、GGT、GST活性には影響が認められなかった。蛋白質欠乏状態のFischerラットでは、AFB1に対する感受性が高いことが明らかになった。

以上のことから、蛋白質欠乏状態のラットはAFB1の毒性を評価する実験モデルとして有効であるといえる。特にAFB1の影響は細胞内 Ca^{2+} 濃度と関係していることが分かる。

論文番号	T-008
タイトル	The effect of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1, on primary swine alveolar macrophages
雑誌名	Toxicology and applied pharmacology
巻	180
最初のページ～最後のページ	197～204
発行年	2002
著者名(姓.名)	Liu, B.H., Yu, F.Y., Chan, M.H., Yang, Y.L.

フモニシンB1(FmB1)とアフラトキシンB1(afb1)が豚の肺胞マクロファージ(AM)に及ぼす影響を評価する為に、豚AM培養細胞に様々な濃度のマイコトキシンを作用させた。FmB1を72時間インキュベートすると、AMは65%に低下した。また、afb1では24時間で41%以下に低下した。afb1では認められなかったが、FmB1は細胞のアポトーシスを起こし、DNAの断片化や核分解産物が認められた。FmB1とafb1を同時に暴露させると細胞はアポトーシス関連の熱ショック蛋白質72(HSP72)を発現した。FmB1(50ng/ml)、afb1(100ng/ml)を細胞に暴露させるとそれぞれ食能が55%、36%にまで低下した。FmB1(2、10ng/ml)を24時間インキュベートするとIL-1 β とTNF- α のmRNA発現量が低下した。afb1はこれらサイトカインのmRNAの発現量に影響を与えなかった。

以上のことからFmB1とafb1は豚AM細胞に免疫毒性を持つことが分かったが、これらの毒性発現の機序は異なることが示唆される。

論文番号	T-009
タイトル	Inhibitory effects of ellagic acid on the direct-acting mutagenicity of aflatoxin B1 in the Salmonella microsuspension assay
雑誌名	Mutation Research
巻	398
最初のページ～最後のページ	183～187
発行年	1998
著者名(姓・名)	Loarca-Pina, G., Kuzmicky, P. A., de Mejia, E. G., Kado, N. Y.

要約

エラグ酸(EA)は抗変異原生と抗発ガン性を持つフェノール類の化合物である。ストロベリー、ラズベリーやグレープなどに含まれている。本実験では、強い変異原性をもつAFB1に対するEAの抗発ガン性作用を評価するために、TA98とTA100を使ってSalmonella microsuspension試験を行った。この試験はAFB1の変異原性を評価する上でAmes試験のおよそ10倍以上の感度を持つ。

EAはすべてのAFB1投与群でS9mixを加えたSalmonella試験菌の変異原性を抑制した。EAの抗変異原性はAFB1とEAを同時にインキュベートした時に最大であった。細胞にEA→AFB1の順で作用した場合と、その逆の場合では抗変異原性作用が低くなった。従ってAFB1-EA複合体ができることで抗変異原性を示すことを示唆した。さらにEAがAFB1のもつ変異原性に及ぼす影響について代謝産物を加えないで検討した。その結果AFB1は変異原性の直接作用を持ち、EAがこれを阻害することが明らかになった。

論文番号	T-010
タイトル	Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity
雑誌名	General pharmacology
巻	32
最初のページ～最後のページ	615～619
発行年	1999
著者名(姓・名)	Bonsi, P., Augusti-Tocco, G., Palmery, M., Giorgi, M.

要約

AFB1がサイクリックヌクレオチドフォスホジエステラーゼ(PDE)の活性に及ぼす影響について様々な臓器組織の抽出物を用いて検討した。
100 μ MのAFB1はすべての臓器についてcAMPとcGMPの加水分解活性を抑制した。しかし、cGMPの加水分解活性はcAMPのそれよりもAFB1に対する感受性が高く、特に脾臓と肺は肝臓、脳、腎臓、心臓に比べてかなり高度に抑制された。cGMPを基質としたとき、脾臓と肺では反応の72%が抑制された。さらに、AFB1が肺と肝臓のPDE活性のピークに及ぼす影響についてDEAEセルロースクロマトグラフィーによって検討した。その結果、肝臓ではPDE活性に対するAFB1の感受性は乏しかったが、PDE Vが存在する肺ではかなり高かった。PDE VがAFB1に対して感受性が高いのかを明らかにするために、cGMP加水分解活性がPDE Vのみによって起こりうるマウスの繊維芽細胞腫の細胞を用いた。このことから、IC50は24 μ Mであり、Dixon plot分析により拮抗抑制的な影響は16.7 μ MのKiであることが明らかになった。AFB2とM2について検討すると、AFB1よりも低いことが分かった。AFB2はIC50が117 μ MでPDE Vを抑制し、AFM2には影響が認められなかった。
以上の結果はAFB1の酵素活性に対する競合拮抗作用について明らかにするものであり、細胞内サイクリックヌクレオチドの変化がアフラトキシンの作用機序であることを示唆している。

論文番号	T-011
タイトル	Potency of dietary indole-3-carbinol as a promoter of aflatoxin B1-initiated hepatocarcinogenesis: results from a 9000 animal tumor study
雑誌名	Carcinogenesis
巻	20
最初のページ～最後のページ	453～458
発行年	1999
著者名(姓.名)	Oganesian, A., Hendricks, J. D., Pereira, C.B., Orner, G. A., Bailey, G. B., Williams, D.E.

要約

インドール-3-カルピノール(13C)はアブラナ科の野菜で見られるglucobrassicinの代謝産物であり、投与と用量に応じて発ガンを調節し、ある種の動物モデルでは発ガンを促進する。本実験ではニジマスを使用し、AFB1(500ppm以下)による発ガン性に対して日々摂取した13Cがどのように作用するかを検討した。ニジマスの卵(～9000)を0、25、50、100、175、250ppbのAFB1に30分間浸漬した。餌には0、250、500、750、1000、1250ppmの13Cを含み、3ヶ月間与えた。11～13ヵ月後に肝がんの発生を調べるために肝臓を採取した。250ppm群を除いて、投与群では腫瘍の発生が認められた。750ppm以上では発生の促進が顕著になった。促進の機序は1つ以上存在し、エストロゲンとAh受容体依存性の機序が活性化されていることを示唆した。13Cの発情原性は卵黄形成を誘発する能力(卵生の脊椎動物のエストロゲン作用のバイオマーカーとされる)で評価され、250ppmの最も低い群で認められた。一方CYP1A(Ah受容体を介して活性化されるP450酵素)は1000ppmの投与量まで発現しなかった。

低用量の暴露は13C酸性誘導体のエストロゲン様作用を誘発し、エストロゲンはニジマスの肝細胞ガンを発生させることが明らかになった。高用量(1000と1250ppm)ではCYP1Aと発情原性が誘発されるためにより強く現れることが示された。

論文番号	T-012
タイトル	Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats.
雑誌名	Toxicology
巻	186
最初のページ～最後のページ	159～170
発行年	2003
著者名(姓,名)	Theumer, M. G., Lopez, A. G., Masih, D. T., Chulze, S. N.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1) とフモニシンB1 (FB1) の混合汚染は頻発している。これらのマイコトキシンによって栄養状態や免疫機能の変化が起こるが、両方のマイコトキシンを慢性的に投与された実験動物の変化についてはほとんど知られていない。この実験ではラットにマイコトキシンを含まない飼料、40ppbのAFB1含有飼料、40ppbのAFB1と100ppbのFB1混合物含有飼料を90日間与え、栄養状態と免疫学的パラメータの変化を検討した。

混合物を与えた群ではコントロール群に比べて体重の低下が認められた。AFB1投与群ではin vivoにおいて脾臓単核細胞(SMC)の分裂反応が増加していた。In vitroの実験では、AFB1とAFB1とFB1の混合物を暴露させると、SMCの分裂反応は低下していた。AFB1群のSMCはIL-2産生が低下、IL-4は増加し、IL-10は変化が認められなかった。混合物を与えた群のSMCはIL-4の増加、IL-10の低下が認められたがIL-2産生は変化がなかった。SMCにAFB1とFB1を同時に暴露すると、混合物を暴露させた群のSMCとサイトカイン産生量の変化に同じ傾向が認められた。AFB1群の腹腔マクロファージの過酸化水素産生量は低下したが、混合物群では増加した。In vitro試験ではマクロファージに混合物を暴露させると過酸化水素の産生量が低下した。

これらの結果から1種類のマイコトキシンをさせた場合と、2種類のマイコトキシンを暴露させた場合では、同じマイコトキシンの暴露をうけた場合でも異なる影響が認められることが示唆された。

論文番号	T-013
タイトル	Interaction of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in short-term carcinogenesis model in rat liver
雑誌名	Toxicology
巻	171
最初のページ～最後のページ	161～173
発行年	2002
著者名(姓.名)	Gelderblom, W. C. A., Marasas, W. F. O., Lebepe-Mazur, S., Swanevelder, S., Vessey, C. J., de la M Hall, P.,

要約

トウモロコシ中に共に存在するフモニシンとアフラトキシンは、毒性と発ガン性について相乗的な影響を示すかを検討した。

ラット肝臓の短期発ガンモデルを用いると、両マイコトキシンは小結節病変とグルタチオン-S-トランスフェラーゼ染色が陽性(GSTP+)であったために、発ガン性を持つことが示唆された。同時にAFB1とFB1をラットに投与すると、単独に投与した場合に比べてGSTP+の数と大きさが著しく増加した。単独投与では、肝細胞核の異型性や橢円細胞の増殖、またFB1で中心静脈領域のアポトーシスなどの組織学的変化が認められた。同時に投与すると病変や、肝細胞の異型性による小結節、橢円細胞の増殖が小葉辺縁付近から小葉中心部に向けて増殖していた。AFB1暴露を受けた肝細胞に対して、FB1がガンの促進作用を持つことが分かった。またAFB1の前投与は、FB1の促進作用が増加したことから、肝細胞でFB1に対する感受性が増すことが示唆された。AFB1とFB1がトウモロコシ中に存在することはリスクを増加させる恐れがあり、ヒトのリスク評価のパラメータを確立する必要がある。

論文番号	T-014
タイトル	Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals
雑誌名	Toxicology
巻	167
最初のページ～最後のページ	101～134
発行年	2001
著者名(姓.名)	H. S. Hussein and J. M. Brasel

要約

飼料や食品中のマイコトキシン汚染は広い範囲で起こっているため深刻な問題である。カビの二次代謝産物であるマイコトキシンはヒトや動物、さらに植物にまで、疾病の原因となり経済的にも損失を招く。アフラトキシン、オクラトキシン、トリコテセン、ゼアラレノン、フモニシン、麦角アルカロイドは特に重大な影響がみられるマイコトキシンである。ある種のカビは1つ以上のマイコトキシンを産生し、またある種のマイコトキシンは1つ以上のカビから産生される。食品中にマイコトキシンが検出されるのは保管状態に関係がありこれはコントロールが可能であるが、気候やカビの系統などの内因性要因はコントロールが困難である。マイコトキシンはヒトや動物(特に単胃動物)でその種と系統による感受性の違いにより様々な急性と慢性毒性を起こす。ルーメン微生物がマイコトキシンを解毒させるために、反芻動物ではマイコトキシンに対する抵抗性がある。マイコトキシンをコントロールするために規制値を設定しているが、まだ実用的な測定方法がない。

論文番号	T-015
タイトル	Mutagenic activity of carcinogens detected in transgenic rodent mutagenicity assays at dose levels used in chronic
雑誌名	Mutation Research
巻	405
最初のページ～最後のページ	193～198
発行年	1998
著者名(姓.名)	Schmezer, P., Eckert, C., Liegibel, U. M., Zelezny, O., Klein, R. K

要約

ヒトの発癌物質であるAFB1、ベンゼン、クロラムブチル、サイクロフォスファミド、タモキシフェンの5種類についてトランスジェニック動物を用いた変異原性試験を行い、げっ歯類の発癌性試験の結果と比較した。変異原性試験は臓器のDNAを抽出し、λ-ファージを用いた試験を行った。

5種類のうち、サイクロフォスファミドを除く4種類について、1臓器以上で癌病変があらわれる用量で変異原性が確認できた。変異原性の増加が一回投与で起こるものや、複数回の投与によって起こるものがあった。げっ歯類の呼吸器系発癌物質である1,2-プロモエチレン(DBE)をNTP生物検定で使われた最高用量より低い用量(2時間、30ppm)で吸入暴露させても、肺や鼻粘膜に変異原性は認められなかった。一方同用量を10日間連続して暴露させると鼻粘膜の変異原性が増加した。

以上のことから、新薬の変異原性をトランスジェニックげっ歯類を用いて変異原性試験で検定するとき、複数回暴露させたほうが好ましいことが明らかになった。トランスジェニックげっ歯類の変異原性は、発癌性試験で陽性の用量に一致して起こることから、同じ用量を選択すればよいと考えられる。

論文番号	T-016
タイトル	Co-mutagenicity of coumarin(1,2-benzopyrine) with aflatoxin B1 and human liver S9 in mammalian cells
雑誌名	Food and chemical toxicology
巻	37
最初のページ～最後のページ	581～589
発行年	1999
著者名(姓.名)	Goeger, D.E., Hsie, A. W., Anderson, K.E.,

要約

クマリン(1,2-ベンゾピレン)はある種の癌やリンパ水腫で使われる薬物であり、げっ歯類では腫瘍を減少させる。ヒトでは7-ヒドロキシ化により代謝されるが、げっ歯類では3,4-エポキシ化により代謝されるため、ヒトのクマリンへの影響を評価する動物モデルとして疑問視されている。本実験ではチャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いてヒトS9-mix存在下でヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ変異原性試験を行い、クマリンとアフラトキシンB1(AFB1)の変異原性について検討した。

アフラトキシンの非存在下ではクマリンを500 μ Mまで増加させても変異原性や細胞毒性を示さなかった。1、10 μ MのAFB1とクマリンをインキュベートすると用量依存性に変異原性や細胞毒性が増加した。50 μ M以上ではクマリンはヒトS9-mixを活性化し、AFB1から8,9-エポキシドへの変化を促進した。AFB1のみの場合と比較して、500 μ Mのクマリンと、1または10 μ MのAFB1をインキュベートした場合ではそれぞれ12倍、5倍に増加した。

以上のことからヒトのS9-mix存在下ではAFB1の生理活性が高まるために、クマリンはAFB1とともに変異原性をしめすことが明らかになった。これは他動物種の肝S9-mixを用いた実験の結果とは異なる。

論文番号	T-017
タイトル	Aflatoxin B1-induced Hprt mutations in splenic lymphocytes of Fischer 344 rats. Results of an intermittent feeding trial
雑誌名	Mutation research
巻	423
最初のページ～最後のページ	33～38
発行年	1999
著者名(姓.名)	Morris, S. M., Aidoo, A., Chen, J. J., Chou, M. W., Casciano, D. A.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1) をFischer 344ラットに経口的に投与したとき、脾臓リンパ細胞にあるヘポキサンチントランスフェラーゼ (Hprt) が変異を起こす頻度について検討した。Fischer 344ラットは(A)コントロール飼料、(B)4週間のAFB1(0.01、0.1、0.04、0.4、1.6ppm)投与を3回とその間に4週間のコントロール飼料投与を2回、(C)1.6ppmのAFB1を継続的に投与、にわけた。0.01ppmを投与した群では変異頻度の増加は認められなかったが、20週間目にはAFB1蓄積とみられる損傷で変異の増加が認められた。以上のことから、ラットのリンパ細胞のHprt分析は慢性的な低用量曝露の検出に有効であることが明らかになった。さらに、断続的な低用量AFB1の曝露はヒトの健康障害をおこす可能性があることを示唆した。

論文番号	T-018
タイトル	Enhancement of glutathione S-transferase placental-form positive liver cell foci development by microcystin-LR in aflatoxin
雑誌名	Carcinogenesis
巻	20
最初のページ～最後のページ	161～165
発行年	1999
著者名(姓.名)	Sekijima, M., Tsutsumi, T., Yoshida, T., Harada, T., Tashiro, F., Chen, G., Yu, S-Z, Ueno, Y.

要約

マイクロシスチン-LR(MC-LR)が発ガン性を持つか、またはアフラトキシンB1(AFB1)による肝細胞の癌化を調節する作用を持つかを解明することを目的とする。

雄のFischer 344ラットにジエチルニトロサミン(DEN, 200mg/kg)をi.p.投与し、2週間後にMC-LRを6週間にわたってi.p.投与した。AFB1とMC-LRの相乗効果を検討するために、DENを投与したラットにDMSOに溶解したAFB1(0.5mg/kg)をi.p.投与し、2週間後にMC-LRの投与を行った。また一方では、ラットにAFB1(0.5mg/kg)を投与し、2週間後にMC-LR(1または10 μ g/kg)を週に2回、6週間にわたって投与を行った。

ラットの多くは3週間目に2/3肝切除を行い、8週目に安楽死させた。肝は、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)の発現について検査し、肝細胞の異型性について組織学的検査を行った。

DEN非投与群のラットでは、MC-LRがGST-P陽性の病変が認められなかったが、AFB1の投与によりGST-P陽性の病変を形成した。DEN投与群のラットでは、MC-LRがAFB1の投与した場合と同様にGST-P陽性の病変を形成させたが、相乗効果は認められなかった。組織学的検査により、MC-LRは新生物形成のバイオマーカーとなるエオジン陽性の病変を増加させた。AFB1を投与した場合では、病変の形成に相乗効果が認められた。

以上のことから、MC-LRとAFB1の肝細胞発ガン性はmedium-term bioassay によって推測できることが明らかになった。さらにMC-LRのガン化促進作用はAFB1を投与したラットにおいて認められることがわかった。

論文番号	T-019
タイトル	Acquired tolerance of hepatocellular carcinoma cells selenium deficiency: a selective survival mechanism?
雑誌名	Cancer research
巻	63
最初のページ～最後のページ	6707～6715
発行年	2003
著者名(姓,名)	Irmak, M. B., Ince, G., Ozturk, M., Cetin-Atalay, R.

要約

セレンはヒトの健康のために重要であり、不足すると肝細胞壊死などの病変形成に関わる。セレンは肝炎ウイルスや肝細胞癌(HCC)の予防に働く。しかしまだセレンの作用機序は知られていない。本実験ではHCC由来細胞株を用いたin vitro試験でセレン不足による細胞反応と、同時にビタミンEと銅/亜鉛を投与したときの反応を調べた。

HCC由来細胞は、セレン不足によってアポトーシスを伴う酸化ストレスやシクロオキシゲナーゼ放出を引き起こした。大部分(10/13)のHCC細胞株はビタミンE投与でアポトーシスが抑制された。さらにこれらの細胞株の大部分はB型肝炎ウイルス(HBV)DNAを自身のゲノムに結合したp-53-249変異を起こしていた。HepG2細胞系のHBV遺伝子をトランスフェクトするとセレン不足に対して抵抗性を持つことが明らかになった。

以上のことから、セレン不足により肝細胞様の細胞にアポトーシスを起こすことが明らかになった。しかしながら大部分のHCC細胞株、特にHBVに関係したものではセレン不足に抵抗性を示し壊死を免れることが分かった。ビタミンEは悪性細胞などアポトーシス感受性が高い細胞が、セレン不足や酸化ストレス状態で生存能力を高めることが示された。

論文番号	T-020
タイトル	Fumonisin B1 promotes aflatoxin B1 and N-methyl-N'-nitro-notroguanidine initiated liver tumors in rainbow trout
雑誌名	Toxicology and applied pharmacology
巻	172
最初のページ～最後のページ	29～36
発行年	2001
著者名(姓.名)	Carlson, D.B., Williams D.E., Spitsbergen, J. M., Ross, P.F., Bacon, C.W., Meredith, F.I. and Riley, R. T.

要約

フモニシンB1(FB1)がげっ歯類で発ガン性を持つことが明らかになっており、また疫学調査はヒトの癌とFB1の間に関係があることを示唆している。本実験では発ガン性の低いニジマスを用いて、FB1が①イニシエーターの非存在下で発ガン性を持つか、②アフラトキシンB1 (AFB1)の肝腫瘍に対するプロモーターとして働くか、③N-メチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジン(MNNG)による肝臓、腎臓、胃、浮袋の腫瘍に対するプロモーターとして働くか、を検討した。

FB1単独では、ニジマスに腫瘍発生は認められなかった。0、3.2、23、104ppmFB1を34週間に渡って与えたとき(4週間の投与、2週間のコントロール餌の後に30週間の投与)、イニシエーターがない条件下では腫瘍の発生が認められなかった。

42週間にわたり23ppm以上のFB1を投与したとき、FB1はAFB1の肝腫瘍に対するプロモーターとして作用した。FB1を1週間にわたって前投与しても、肝臓中の[3H]AFB1 DNA複合体量には変化がないことから、FB1の短期投与はAFB1の第Ⅰ相と第Ⅱ相代謝に影響しないことが示唆された。

MNNG投与したニジマスでは104ppmFB1を42週間で与えたときに肝腫瘍のプロモーターとして働いたが、他の臓器では認められなかった。

AFB1投与したニジマスで見られるFB1のプロモーター作用は、スフィンゴ脂質代謝の阻害と関係することが明らかになった。FB1がスフィンゴ脂質シグナル経路に変化を起こすことによって、AFB1による肝腫瘍の発生を高めることを示唆した。

論文番号	T-021
タイトル	Review article: Synergistic interaction between aflatoxin B1 and hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis
雑誌名	Liver international
巻	23
最初のページ～最後のページ	405～409
発行年	2003
著者名(姓・名)	M. C. Kew

要約

慢性B型肝炎ウイルス(HBV)感染とアフラトキシンB1 (AFB1) 摂取は肝細胞ガン(HCC)発生のリスク要因として重要であり、これらは相乗効果により腫瘍発生率が高率となる。HBVトランスジェニックマウスと、肝炎ウイルスを感染させたウッドチャックを用いてヘパドナウイルスとAFB1の相乗効果による肝細胞ガン発生を明らかにした。尿中や血清中のバイオマーカーはAFB1摂取を示唆するものであり、中国や台湾でHCCに罹患した患者についてコホート研究を行うと、HCC発生にHBVとAFB1の相乗効果が認められた。相乗効果の機序についていくつか推測されている。HBVはシトクロームP450を誘導し、AFB1が変異原性をもつAFB1-8,9-エポキシドに代謝される。HBV感染による肝細胞壊死や退行と活性酸素や窒素の発生を起こし、AFB1によるp53 249変異を増加させ、変異原性物質を含む細胞が増加する。核のDNA除去修復 (AFB1-DNA結合を修復する) はHBV×蛋白質によって抑制され、変異原性物質の存在が持続する。p53 249を含むDNA変異の増加も起こし、p53が機能しないために細胞周期が破綻する。

論文番号	T-022
タイトル	Mycotoxins
雑誌名	JAMA
巻	287
最初のページ～最後のページ	425～427
発行年	2002
著者名(姓.名)	R. A. Etzel

要約

マイコトキシンは現在400種類ほどあるとされているが、ここでは数種のマイコトキシンがヒトの健康に及ぼす影響について述べる。発展途上国では、汚染した食料を摂取することによって低用量のマイコトキシンを長期間にわたって摂取している。

アフラトキシン

AFB1はヒトの肝ガン発生要因として重要である。B型肝炎ウイルス感染とAFB1摂取が同時に起こると肝ガン発生率が高まる。住血吸虫に対する薬であるoltiprazがAFB1の代謝を低下させることにより発がん性を抑えることが分かっている。従ってoltiprazの使用と食料保管状態の改善が肝ガン発生率を低下させることにつながる。

麦角アルカロイド

ヒトに流行病を起こすマイコトキシンとして最初に発見された。血管収縮を起こす性質から、偏頭痛や分娩後の出血に対する治療薬として用いられた。

フモニシン

主にトウモロコシを介してヒトに摂取され、食道ガンを起こすことが示唆されている。フモニシンは細胞制御にかかわるスフィンゴ脂質代謝に影響を及ぼす。また、葉酸の取り込みを阻害するため葉酸欠乏により神経管の発達抑制が起こり、無脳症や脊椎披裂などの奇形の原因と考えられる。

トリコテセン

汚染したトウモロコシや小麦の摂取により食事性無白血症が発生した。また、皮膚に暴露すると皮膚炎を起こす。

デオキシニバレノール

嘔吐を伴う疾患を起こした。

サトラトキシン

肺出血や肺のヘモジデリン沈着を起こす。

論文番号	T-023
タイトル	Mycotoxins
雑誌名	Clinical microbiology reviews
巻	16
最初のページ～最後のページ	497～516
発行年	2003
著者名(姓,名)	J.W. Bennett, and M.Klich

要約

カビによる疾患では、真菌症が良く知られているが、二次的代謝産物による健康障害も重要である。これらはマイコトキシンといわれ、発ガン性、蛋白質合成阻害、免疫抑制、皮膚毒性や他の代謝阻害が起こる。マイコトキシンは汚染食物を摂取したり、胞子を吸引したり、皮膚に接触したりすることで体内に入る。疾病の原因がマイコトキシンにあることを証明することは難しい。なぜならカビ汚染とマイコトキシン汚染がイコールではないためであり、さらにマイコトキシンが検出されたとしても動物やヒトに表れている健康障害がマイコトキシンに起因することを証明することが難しいからである。マイコトキシンによる疾病は想像以上に広い範囲で起こっていると考えられる。

アフラトキシン(AF)

AFは、B1、B2、G1、G2に分類でき、B1が最も発ガン性が高く、残りはB1の代謝産物として検出される。急性毒性による死と、慢性毒性による癌や免疫抑制などが認められる。シトクロームP450はAFをDNAやタンパク質に結合する反応性の8、9エポキシドに変化させる。結合部位はグアニンのN7部位である。AFB1-N7-グアニンを検出することは、近い過去にアフラトキシンを体内に摂取したことを示すバイオマーカーとなる。

AFはヒトの発ガン性物質であり、特にB型肝炎ウイルスに感染したときに肝ガンのリスクファクターとなる。従って汚染した食品からAFを除くよりもB型肝炎ウイルスのワクチンを投与することが肝ガン発生を抑制することに効果的である。肝臓以外に肺でもAFが腫瘍の発生要因になることがわかっている。p53腫瘍抑制遺伝子がGからTに置換されると遺伝子の抑制がとけて肝細胞ガンが発生する。

シトリニン

すべての動物で腎毒性を持つが、急性毒性徴候は動物種差が認められる。

麦角アルカロイド

子宮収縮促進剤や偏頭痛、精神分裂症などの治療薬として用いられているが、不本意に毒性の発現をみることがある。壊疽や痙攣などが現れる。

フモニシン

スフィンゴ脂質代謝を阻害することにより動物に影響を及ぼす。ヒトでは食道ガンの発生と関係があるとされる。また、神経管に作用することにより無脳症や脊椎披裂といった奇形の発生にも関係があるとされる。

有機溶媒に溶解する他のマイコトキシンと異なり、親水性であるためメタノールやアセトニールで抽出する。

オクラトキシン

オクラトキシンA(OTA)は腎臓が主な標的臓器である。すべての動物で腎毒性を持つがヒトでは半減期が長いために特に毒性が現れる。細胞のフェニルアラニン代謝を阻害する酵素にOTAとヒトの疾病の関係はまだ明らかにされていないところが多いが、急性腎毒性、免疫抑

パツリン

1960年代に抗細菌作用、抗ウイルス作用、抗原生動物作用に加えて、抗生物質として使用

トリコテセン

12、13-エポキシトリコテセン骨格と様々な置換基を持つオレフィン結合を持つ。大環状エス

論文番号	T-024
タイトル	Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: the critical role of weaning
雑誌名	International Epidemiological Association
巻	32
最初のページ～最後のページ	556～562
発行年	2003
著者名(姓.名)	Gong, Y.Y., Egal, S., Hounsa, A., Turner, P.C., Hall, A.J., Cardwe

要約

西アフリカでは、高用量のアフラトキシンに日々さらされている。我々はベニンとトンガで横断実験を行い、離乳後の幼児がアフラトキシンに曝露される程度について検討し、これらのデータを摂食量、社会的地位、居住地域の生態系、人体計測に対応させた。4つの地域(スーダンサバンナ、北ギニアサバンナ、南ギニアサバンナ、沿岸サバンナ)にある16の村から479人の子供達(4ヶ月齢から5歳)から採血し、アフラトキシン-アルブミン結合体(AF-alb)を測定した。AF-albは99%の子供たちから検出され、中心部の方が、北よりも4倍も高かった。AF-albは3歳まで成長と共に増加し、特に1歳から3歳では顕著であった。離乳後の子供では母乳と離乳食を与えている時期に比べて2倍も高かった。トウモロコシを摂食している場合にAF-albが高かった。WHOによれば、発育阻害と体重減少はそれぞれ33%と29%であるという。これらがみられる子供たちは30～40%ほどAF-albが高く、AF-albと発育と体重の抑制には用量依存性が認められる。

以上のことから、西アフリカでは離乳後にAFに汚染された食品の摂取が増加し、成長の抑制が認められることが明らかになった。

論文番号	T-025
タイトル	Detectable level of serum Aflatoxin B1 adducts in the United Kingdom population: Implications for Aflatoxin-B1 exposure in
雑誌名	Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention
巻	7
最初のページ～最後のページ	441～447
発行年	1998
著者名(姓.名)	Turner, P.C., Dingley, K.H., Coxhead, J., Russell, S., Garner, C.F.

要約

イギリス人はどの程度アフラトキシンB1 (AFB1) にさらされているかを、蛍光性を利用した免疫測定法 (ELISA) と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を利用して血清 AFB1-アルブミン (alb) 結合体を測定することによって検討した。ヨークに住む104人 (男47人、女57人) に調査票の記入を依頼し、採血を行った。血清 alb を抽出し、AFB1-alb の消化型である AFB1-リシンを分離し測定した。

血清の AFB1-リシンを ELISA によって測定した結果、イギリスの男性は 29.3 ± 14.4 pg、女性は 26.9 ± 14.4 pg eq/mg であった。これらの結果を確認するために HPLC 行ったところ ELISA と似た結果が得られた。

従ってイギリス人は低用量ながらも AFB1 の曝露を受けていることが明らかになった。これらの汚染源は輸入食品であると考えられている。しかしながら血清中の AFB1-リシン量と調査票との間に明らかな関連性は認められなかった。ヒトの調査と同様に動物実験によって、AFB1 曝露と AFB1-alb 量の関係を明らかにする必要がある。AFB1 を $3 \mu\text{g}/\text{日}$ 曝露されると肝臓の DNA では $5.9 \text{ AFB1-alb}/10$ の7乗ヌクレオチドが検出されることが示唆されている。イギリス人の AFB1 曝露量が過大評価されている可能性もあるので、正確に AFB1 曝露量と体内 AFB1 バイオマーカーの関係を明らかにするために更なる研究を要する。

論文番号	T-026
タイトル	Hepatocellular carcinoma and aflatoxin exposure in Zhuqing village, Fusui country, peoples' republic of China.
雑誌名	Cancer epidemiology, biomarkers and prevention
巻	10
最初のページ～最後のページ	143～146
発行年	2001
著者名(姓.名)	Wang, J-S., Huang, T., Su, J., Liang, F., Wei, Z., Liang, Y., Luo, H., Kuang, S-Y, Qian, G-S., Sun, G., Thomas, X. H., Kensler, W., and Groopman J.

要約

アジアとアフリカでは、肝細胞ガン(HCC)がガンの罹患率と致死率の大部分を占める。疫学調査により、アフラトキシンB1 (AFB1)とB型肝炎ウイルスがHCC発生の2大要因であることが明らかになっている。HCCの高発生地域であるZhuqing村、フースイ郡について1973年から1999年の悪性腫瘍の発生と致死率をまとめると、全ガン中の64%を占めた。異なる世帯から集めた男15人と女14人について、アフラトキシンの1日摂取量を1週間測定した。29人中4人(13.8%)、特に男は15人中3人(20%)がB型肝炎ウイルス陽性であった。AFB1はトウモロコシの76.7%(0.4-128.1ppb)、ピーナッツオイルの66.7%(0.1-52.5ppb)、米の23.3%(0.3-2ppb)から検出された。AFB1-アルブミン結合体量は実験開始時には 1.24 ± 0.31 pmol/mgであったが、終了時には 1.21 ± 0.19 pmol/mgであった。尿中AFB1代謝量は88.9%(0.9-3569.7ng/24-h 尿)であった。これらはアフラトキシン曝露を減少させるために考慮すべき結果であるといえる。

論文番号	T-027
タイトル	Oltipraz chemoprevention trial in oidong, people's republic of China: modulation of serum aflatoxin albumin adduct
雑誌名	Cancer epidemiological, biomarkers and prevention
巻	7
最初のページ～最後のページ	127～134
発行年	1998
著者名(姓.名)	Kersler, T.W., He, X., Otieno, M., Egner, P.A., Jacobson, L.P., Chen, B., Wang, J-S., Zhu, Y-R., Zhang, B-C., Wang, J-B., Wu, Y., Zhang, Q-N., Qian, G-S., Kaung, S-Y., Fang, X., Li Y-F., Yu, L-Y., Prochaska, H.J., Davidson, N.E., Gordon, G.B., Gorman, M.B., Zarba, A., Enger, C., Munoz, A., Helzlsouer, K.J., and Groopman, J.D.

要約

1995年、チートンの234人の成人について、II a相4-メチル-5-(N-2-ピラジル)-1,2-チオール-3-チオン(oltipraz)の追跡を行った。この地域の人々はアフラトキシン汚染食物の摂取により、肝細胞ガンの発生率が高い。ランダムに抽出し、偽物質によるコントロールを設定し、二重盲検法を行った。主な目的はoltiprazがアフラトキシンのバイオマーカー量を調節するのに有効であるかを検討すると共に、血清中のアフラトキシン-アルブミン結合体量と肝細胞ガン発生の関係を明らかにすることにある。健康な成人にoltiprazを 125mg/日経口投与、500mg/週経口投与、または偽物質の8週間経口投与を行った。偽物質または125mg/日のoltiprazを投与しても、16週間の観察期間にバイオマーカーが上昇することはなかった。しかしながら500mg/週を8週間続けた場合に3相の反応が認められた。最初の1ヶ月間は変化が見られなかったが、2ヶ月目には血清中の結合体が減少した。一部再結合するものがあった。13週目まで経過に伴って結合体が増加した。しかしながらこれらの結果は他の投与群と統計学的な有意差は認められなかった。Oltipraz誘導性イソフォームであるグルタチオン S-トランスフェラーゼ M1遺伝子型はAFB1の解毒を起こす。より長い期間投与を行い、2b相の追跡によりアフラトキシンのバイオマーカーを把握し、バイオマーカーの減少が起こるかを検討する必要がある。

論文番号	T-028
タイトル	Association of plasma aflatoxin B1-adduct level with plasma selenium level and genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1
雑誌名	Nutrition and cancer
巻	38
最初のページ～最後のページ	179～185
発行年	
著者名(姓,名)	Chen, S-Y., Chen, C-J., Tsai, W-Y., Ahsan, H., Liu, T-Y., Lin, J-T., and Santella, R.M.

要約

肝細胞ガン(HCC)による死亡は、中国南西部に位置する島であるMatzuで異常に高い。血清中のアフラトキシンB1 (AFB1)-アルブミン(alb)結合体量と発生の関係を明らかにするために304人の健康な成人について検討した。

AFB1-albは競合的酵素免疫吸着法、B型肝炎ウイルス抗原は酵素免疫測定法、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST)M1とT1の遺伝子型はPCR、血清セレンは分光光度計、そして血清レチノール、 α -トコフェロール、 α -カロテンと β -カロテンは高速液体クロマトグラフィーで測定した。

男性は女性に比べてAFB1-alb量が高かった。男性では、non-null遺伝子型GST M1、null遺伝子型GST T1と低濃度の血清セレンがAFB1-albの増加と関係し、女性では年齢が関係した。血清セレンとAFB1-albとの間には反比例の関係があり、null遺伝子型GST M1、T1で顕著であったが、non-null遺伝子型では顕著でなかった。

本研究では、高発生率の地域の人々について、AFB1-alb形成に関わる遺伝子要因を明らかにした。

論文番号	T-029
タイトル	Variability in Aflatoxin-albumin adduct levels and effects of hepatitis B and C virus infection and glutathione S-transferase M1 and T1 genotype
雑誌名	Environmental Health Perspective
巻	109
最初のページ～最後のページ	833～837
発行年	2001
著者名(姓.名)	Ansan, H., Wang, L.-T., Chen, C.-J., Tsai, W.-T., and Santella, R. N.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1)は台湾で肝細胞ガン発生の主要な要因であるが、他の食事や環境要因の存在が影響する。本実験ではAFB1-アルブミン(alb)結合体に着目し、内因性物質と環境要因がこの量に及ぼす影響について検討した。3地域(Hui-Hsi, Ma-Kung, Pai-Has)からの264人の健康な男性を被験者とし、1.68年(1～3.17年)の間隔をあけて測定した。実験開始時に平均22.1pmol/mgであったが、終了時には平均14.3pmol/mgであった。これは年齢が関係すると思われる。Ma-Kungに比べて他の2地域ではAFB1-alb量が低かった。採血を行った季節には関係がなかった。さらにB型肝炎ウイルス抗原、抗C型肝炎ウイルス、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST)M1とT1の状態と関係がなかった。以上のことから台湾におけるAFB1の曝露は個人単位に影響を及ぼし、内因性物質(B、C型肝炎やGSTM1/T1の遺伝子状態)よりも食事や環境要因に関係することがわかった。

論文番号	T-030
タイトル	The role of aflatoxins and hepatitis viruses in the etiopathogenesis of hepatocellular carcinoma: A basis for
雑誌名	Journal of gastroenterology and hepatology
巻	17
最初のページ～最後のページ	S441～S448
発行年	2002
著者名(姓.名)	Turner, P.C., Sylla, A., Diallo, M.S., Castegnaro, J.-J., Hall, A.J., et al.

要約

南西アジアとアフリカでは、肝細胞ガン(HCC)発生の主要原因がアフラトキシンとB型肝炎ウイルス(HBV)である。特定の地方では、幼児のころから両要因の影響を受けている。疫学研究と動物実験により、両要因がHCC発生に対して相乗効果を示すことが明らかになっているが、細胞や分子学的機序については明らかになっていない。HBVトランスジェニックマウスを用いた実験では、慢性的な肝障害が発癌物質の代謝酵素を変化させアフラトキシンとDNAが結合することを明らかにした。特にHCCの発生がみられる地域では、HBVに対する安全で有効なワクチンの供給に焦点を当てている。しかしながら、アフラトキシンの摂取量を減少させることもHCC発生率の低下には重要である。西アフリカではナッツ収穫後の貯蔵を改善することが重要であるといえる。アフラトキシン-アルブミン結合体はアフラトキシン曝露に特異的なバイオマーカーであり、アフラトキシン摂取量を低下させる対策が有効に行われているかを検討する指標になる。

酸化反応／代謝系関係文献

O-001	The aflatoxins	Cole, R.J., Cox, R.H.	Handbook of Toxic Fungal Metabolites (Academic Press, N.Y.) 1-66 (1981)
O-002	Aflatoxin interactions with rat hepatic mitochondrial dehydrogenases.	Obidoo, Onyechi; Bababunmi, Enitan A.; Bassir, Olumbe.	Biochemical Medicine (1980), 23(2), 127-32.
O-003	The in vivo metabolism of carbon-14 labeled aflatoxins B1, B2, G1 in rats.	Dann, Raymond E.; Mitscher, Lester A.; Couri, Daniel.	Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology (1972), 3(3), 667-75.
O-004	Oxidative destruction of the microbial metabolite aflatoxin by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system.	Odajima, T.	Archives of Oral Biology (1981), 26(4), 339-40.
O-005	Enzymatic formation of G-group aflatoxins and biosynthetic relationship between G and B-group aflatoxins.	Yabe, Kimiko; Nakamura, Miki; Hamasaki, Takashi.	Applied and Environmental Microbiology (1999), 65(9), 3867-72.
O-006	Aflatoxin inhibition of rat liver mitochondrial cytochrome oxidase activity.	Obidoo, Onyechi.	Biochemical Medicine and Metabolic Biology (1986), 35(3), 302-7.
O-007	Contamination of groundnut meal by aflatoxin metabolites of <i>Aspergillus flavus</i> .	Sirzelecki, E. L.; Gasiorowska, U.; Gorazdowska, M.; Cader-Sirzelecka, B.	Microbios Letters (1990), 43(169), 7-10.
O-008	Alteration of the aflatoxin cyclopentenone ring to a σ -lactone reduces intercalation with DNA and decreases formation of guanine N7 adducts by aflatoxin epoxides.	Raney, Kevin D.; Gopalakrishnan, S.; Byrd, Suzanne; Stone, Michael P.; Harris, Thomas M.	Chemical Research in Toxicology (1990), 3(3), 254-61.
O-009	アフラトキシンの生合成経路	矢部希見子	家畜生化学 (1996), 33, 19-24
O-010	Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone.	McKenzie, K. S.; Sarr, A. B.; Mayura, K.; Bailey, R. H.; Miller, D. R.; Rogers, T. D.; Norred, W. P.; Voss, K. A.; Plattner, R. D.; Kubena, L. F.; Phillips, T. D.	Food and Chemical Toxicology (1997), 35(8), 807-820
O-011	Characterization of the critical amino acids of an <i>Aspergillus parasiticus</i> cytochrome P-450 monooxygenase encoded by <i>ordA</i> that is involved in the biosynthesis of aflatoxin B1, G1, B2, and G2.	Yu, Jijiang; Chang, Perng-Kuang; Ehrlich, Kenneth C.; Cary, Jeffrey W.; Montalbano, Beverly; Dyer, John M.; Bhatnagar, Deepak; Cleveland, Thomas E.	Applied and Environmental Microbiology (1998), 64(12), 4834-41
O-012	Mode of action of pesticides on aflatoxin biosynthesis and oxidase system activity.	H.A.H. Hasan	Mycrobiological Research (1999), 154(1), 95-102.
O-013	Palladium catalyzed kinetic and dynamic kinetic asymmetric transformations of gamma-acyloxybutenolides. Enantioselective total synthesis of (+)-aflatoxin B1 and B2a.	Trost Barry M; Tosle F Dean	Journal of the American Chemical Society (2003 Mar 12), 125(10), 3090-100.
O-014	In vitro metabolism of aflatoxin B2 by animal and human liver	Reebucks, B.D., Siegel, W.G., Wogan, G.N.	Cancer Research (1978), 38, 999-1002
O-015	Metabolites as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species	Patterson, D.S.P.	Food and Chemical Toxicology (1973), 11, 287-294
O-016	A review on biological control and metabolism of aflatoxin	Mishra, H.N., Das, C.	Critical Reviews in Food Science and Nutrition (2003), 43(3), 245-264
O-017	Effects of AFB1 on CYP 1A1, 1A2 and 3A6 mRNA, and P450 expression in primary culture of rabbit hepatocytes	Guerra, P., Pineau, T., Costet, P., Burgat, V., Galtier, P.	Toxicology Letters (2000) 111, 243-251
O-018	Metabolic activation of aflatoxin B1 to aflatoxin B1-8,9-epoxide in woodchucks undergoing chronic active hepatitis	Gemechu-Halewu, M., Platt, K.L., Oesch, F., Hacker, H.J., Bannasch, P., Steinberg, P.	International Journal of Cancer (1997) 73, 587-591
O-019	Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential	Wong, J.J., Hsieh, D.P.H.	Proceedings of National Academy of Sciences in USA (1976) 73, 2241-2244
O-020	Activation and detoxication of aflatoxin B1	Guengerich, F.P., Johnson, W.W., Shimada, T., Ueng, Y.F., Yamazaki, H. Langou, T.S.	Mutation Research (1998) 402, 121-128
O-021	<i>Escherichia coli</i> MTC, a human NADPH P450 reductase competent mutagenicity tester strain for the expression of human cytochrome P450 isoforms 1A1, 1A2, 2A6, 3A4, or 3A5: catalytic activities and mutagenicity studies	Kranendonk, M., Carreira, F., Theisen, P., Laires, A., Fisher, C.W., Rueff, J., Estabrook, R.W., Vermeulen, N.P.E.	Mutation Research (1999) 441, 73-83

論文番号	O-001
タイトル	The aflatoxins
雑誌名	Handbook of Toxic Fungal Metabolites (Academic Press, N.Y.)
巻	
最初のページ～最後のページ	1~66
発行年	1981
著者名 (姓.名)	Cole, R.J., Cox, R.H.

要約

天然に存在するアフラトキシンB1, B2, G1, G2は*Aspergillus flavus* 並びに近縁の*A. parasiticus* より生産され、急性毒性、発ガン作用のある物質である。他のアフラトキシン類としては、微生物や動物体内での代謝産物であるM1, M2, P1, Q1, アフラトキシコール、あるいは化学環境に伴って自動的に生成されるB2a, G2a, D1がある。それらについて、物理データ、スペクトルデータ、起源、毒性データをまとめた。肝ガン誘発作用は動物種により異なり、サケや子ガモは感受性が高いがほとんどの種は弱いと思われる。フラトキシン類の投与で免疫応答の故障や種々のビタミン類との相乗作用や拮抗作用も認められる。

論文番号	O-002
タイトル	Aflatoxin interaction with rat hepatic mitochondrial dehydrogenases
雑誌名	Biochemical Medicine
巻	23
最初のページ～最後のページ	127~132
発行年	1980
著者名 (姓.名)	Obidoa, O., Bababunmi, E.A., Bassir O.

要約

アフラトキシンB1, B2, G1, G2, M1に関して、致死毒性以下で発ガン誘導量でのラット肝ミクロソーム、デヒドロゲネースに対する作用を調べた。アフラトキシンG2以外の全てはマトリックス デヒドロゲネース活性を増大したが、膜結合性酵素には影響しなかった。しかし、ミトコンドリアのプレインキュベーションにより全てのデヒドロゲネース活性は増大した。アフラトキシンG2はユニークであり全ての酵素活性を非可逆的に阻害した。

論文番号	O-003
タイトル	The in vivo metabolism of ^{14}C -labeled aflatoxins B ₁ , B ₂ , G ₁ in rats
雑誌名	Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology
巻	3
最初のページ～最後のページ	667~675
発行年	1972
著者名 (姓.名)	Dann, R.E., Milscher, L.A., Couri D.

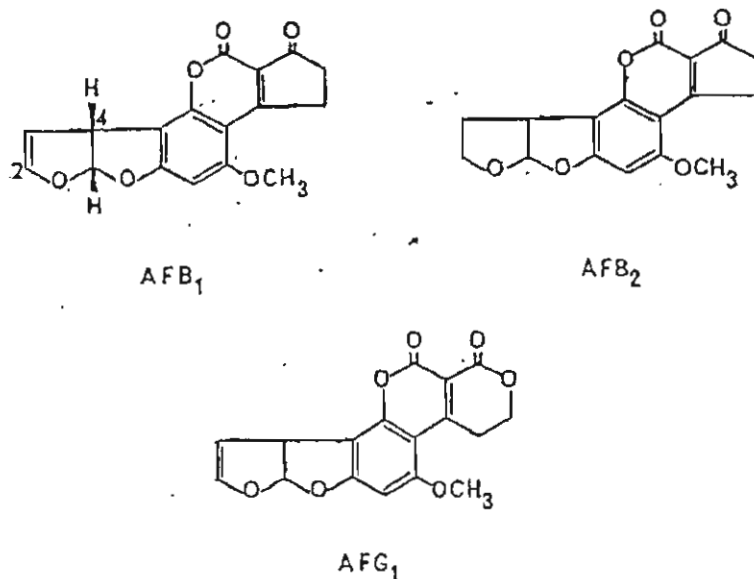
要約

^{14}C をラベルしたアフラトキシンB₁, B₂, G₁をラットに3 mg/kg (DMSO溶解) 静脈投与したところ, 急速に代謝され, 7種の代謝産物を与えた. そのうちの6種は胆汁に認められ, 2種(うち1種は胆汁にはない化合物)は尿に排泄された. 3種類のアフラトキシンともに2位及び4位が水酸化されていたが, 5種の新代謝産物の化学構造は同定できなかった. B₁とG₁は1個, B₂は2個のグルクロン酸抱合体を与えた. アフラトキシンB₂の回収率並びに2-OH体, 4-OH体, 未変化体%はそれぞれ以下の通りである. 27.0, 7.8, 9.5, 1.8.

Table 1. Summary of the Metabolites of ^{14}C -Labeled AFB₁, AFB₂, and AFG₁ Found in the 24-Hour Urine of Rats.

Aflatoxin Administered (3 mg/kg, i.v.)	Mean % Recovery $\pm$ S.E.M.	Metabolites Found (Mean % Administered Dose $\pm$ S.E.M.)		
		2-hydroxy-aflatoxins	4-hydroxy-aflatoxins	unchanged aflatoxins
B ₁	7.0 $\pm$ 0.8	1.2 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.2
B ₂	27.0 $\pm$ 1.0	7.8 $\pm$ 0.7	9.5 $\pm$ 1.0	1.8 $\pm$ 0.1
G ₁	14.0 $\pm$ 2.6	3.9 $\pm$ 0.8	1.7 $\pm$ 0.4	3.8 $\pm$ 0.7

Figure 1. Structures of Aflatoxins B₁, B₂, and G₁.



論文番号	O-004
タイトル	Oxidative destruction of the microbial metabolite aflatoxin by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system
雑誌名	Archives of Oral Biology
巻	26
最初のページ～最後のページ	339~340
発行年	1981
著者名 (姓・名)	Odajima, T.

要約

アフラトキシンB1, B2, G1, G2はmyeloperoxidase, H₂O₂,および塩素により効果的に酸化された。アフラトキシンB1の生成物の質量分析スペクトルにより、酸素1原子分がアフラトキシンB1分子内に挿入されたことがわかった。Myeloperoxidaseによるアフラトキシン類の酸化は1重項酸素ではなく、hypochlorous acidによる。

論文番号	O-005
タイトル	Enzymatic formation of G-group aflatoxins and biosynthetic relationship between G- and B-group aflatoxins
雑誌名	Applied and Environmental Microbiology
巻	65
最初のページ～最後のページ	3867~3872
発行年	1999
著者名 (姓・名)	Yabe, K., Nakamura, M., Hamasaki, T.

要約

Aspergillus parasiticus NIAH-26の細胞抽出物における、アフラトキシン G1, G2の生合成活性を調べた。NADPH存在下、アフラトキシン G1, G2はそれぞれO-メチルステリグマトシスチンとジヒドロ-O-メチルステリグマトシスチンから生成された。Gグループは、アフラトキシンB1とB2, 5-メトキシステリグマトシスチン, ジメトキシステリグマトシスチン, ステリグマトシスチンから生合成されることはなく、従って、アフラトキシンGとBグループは独立に生成されていることになる。競合実験により、同じ酵素がアフラトキシンG1とG2の生成に関与していることが示された。methyrapone, SKF-525A,あるいはイミダゾールによる生成阻害から、Gグループの生成にチトクロームP450が関わっている。ordA遺伝子はBグループのアフラトキシン生成に関与しているが、Gグループにも関与しているように思われる。Gグループの酵素的生成には、ordA遺伝子由来の生成物、不安定なミクロゾーム酵素、220-kDaサイトゾール蛋白によってそれぞれ触媒される少なくとも3種類の反応が関与すると結論づけられた。

論文番号	O-006
タイトル	Aflatoxin inhibition of rat liver mitochondrial cytochrome oxidase activity
雑誌名	Biochemical Medicine and Metabolic Biology
巻	35
最初のページ～最後のページ	302-307
発行年	1986
著者名 (姓・名)	Obidoo, O.

要約

フェロチトクロームcとp-チアミンチアミンを用いて、ラット肝ミトコンドリアにおけるアフラトキシンB1, B2, G1, G2, M1のチトクローム酸化酵素に対する作用を評価した。酸素取り込み量を測定することで基質酸化をモニターしたところ、アフラトキシン類はチトクローム酸化酵素活性を強く阻害した。アフラトキシンG2とM1が最も強く阻害した(50-70%)。オリゴマイシンや2,4-DNPをそれぞれ呼吸阻害やアンカプラーとして用いたところ、アフラトキシン類はエネルギー転換反応よりもe⁻を阻害した。チトクローム酸化酵素をアンカププルすることはなかった。

論文番号	O-007
タイトル	Contamination of groundnut meal by aflatoxin metabolites of <i>Aspergillus flavus</i>
雑誌名	Microbios Letters
巻	43
最初のページ～最後のページ	7-10
発行年	1990
著者名 (姓・名)	Strzelecki, E.L., Gasiorowska, U., Gorazdowska, M., Cader-Strzelecka, B.

要約

ポーランドに輸入されたピーナッツ中のアフラトキシン類による汚染状況を調べた。アフラトキシンB1は2192検体(1972年～1988年に入手)。アフラトキシンB2, G1, G2は1980年～1988年のサンプルで、B1は21158検体、G1とG2は2603検体用いた。アフラトキシンB1, B2, G1, G2の汚染の平均はそれぞれ266, 22, 3.2, 0.7 µg/kgであった。最大汚染量は10100, 450, 130, 30 µg/kgであった。アフラトキシンB2, G1, G2はアフラトキシン汚染サンプル中の9.3%に認められ、それらの毒性はB1の2%に相当する。

論文番号	O-008
タイトル	Alteration of the aflatoxin cyclopentenone ring to a δ -lactone reduces intercalation with DNA and decreases formation of guanine N7 adducts by aflatoxin epoxides
雑誌名	Chemical Research in Toxicology
巻	3
最初のページ～最後のページ	254~261
発行年	1990
著者名 (姓・名)	Raney, K.D., Gopalakrishnan S., Byrd S., Stone M.P., Harris T.M.

要約

牛胸腺由来のDNA、d(ATGCAT)₂, d(GCATGC)₂およびプラスミドpBR322との結合能を、アフラトキシンB1, B2とG1, G2において比較した。アフラトキシンB1, B2はクマリンのラクトンに縮合したサイクロペンタノン環を有しており、両者は同様のDNA解離定数でB-DNAにインターカレートすることが、DNAとの結合におけるNMR分析、pBR322電気泳動の変化、牛胸腺由来の直線型DNAを用いたflow dichroismで明らかになった。アフラトキシンG1, G2は平面性に劣る δ -ラクトン環を持ち、DNA結合親和性はB1, B2より1桁劣っていたが、それにも関わらず、やはりB-DNAにインターカレートすることが示された。アフラトキシンB1 8,9-エポキシドとG1 9,10-エポキシドのグアニンN7付加物の生成量を比較したところ、DNA量が減ると(1)両者から生成される付加物の数が減少し、相当するジヒドロジオールの生成が増大した(2)G1 9,10-エポキシド由来の付加物の比率がB1 8,9-エポキシド由来に対比して減少した。これら2種類のアフラトキシエポキシドにおいて、グアニンN7位における付加物生成の遷移状態はDNAとのインターカレート複合体を含むと結論づけた。アフラトキシンB1に対するG1の遺伝子毒性の減少は、そのDNA結合の親和性の減少、ひいては付加物の生成量減少に因るのではないかと推察される。

論文番号	O-009
タイトル	アフラトキシンの生合成経路
雑誌名	家畜生化学
巻	33
最初のページ～最後のページ	19~24
発行年	1996
著者名 (姓・名)	矢部希見子

要約

変異株A.parasiticus NIAH-26を用いてアフラトキシン生合成経路を検討した。アフラトキシン(AF)B1とG1, B2とG2はそれぞれ、demethylsterigmatocystin (DMST), sterigmatocystin (ST), O-methylsterigmatocystin, AFB1/AFG1の経路、およびdihydrodemethylsterigmatocystin (DHDMST), dihydrosterigmatocystin (DHST), dihydro-O-methylsterigmatocystin, AFB2/AFG2の経路の独立した反応経路で合成されることが明らかとなった。

論文番号	O-010
タイトル	Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone
雑誌名	Food and Chemical Toxicology
巻	35
最初のページ~最後のページ	807~820
発行年	1997
著者名 (姓・名)	McKenzie, K.S., Sarr, A.B., Mayura, K., Bailey, R.H., Miller, D.R., Rogers, T.D., Norred, W.P., Voss, K.A., Plattner, R.D., Kubena, L.F., Phillips, T.D.

要約

アフラトキシンB1, B2, G1, G2等のマイコトキシンを同モル (32 μ M) の水溶液として, 高濃度のオゾン存在下での分解を検討した. アフラトキシンB1とG1は2%のオゾン存在下で急速に分解したが, アフラトキシンB2とG2は分解に抵抗して20%オゾン濃度が必要であった.

論文番号	O-012
タイトル	Mode of action of pesticides on aflatoxin biosynthesis and oxidase system activity
雑誌名	Microbiological Research
巻	154
最初のページ～最後のページ	95~102
発行年	1999
著者名 (姓.名)	Hasan, H.A.H.

要約

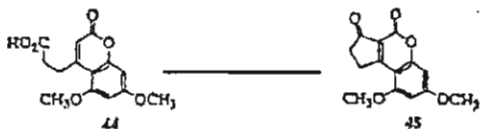
ワイルドタイプの *Aspergillus flavus* と変異株 *A. parasiticus* avr-1 および *A. parasiticus* ver-1 を用いて、アフラトキシン生合成並びに酸化活性における9種の農薬の影響を調べた。*A. parasiticus* では phosphonic acid 誘導体 (ランサー) はアフラトキシン B₂ の生成を減少させたが、B₁, G₁, G₂ や アンスラキノン類は増加した。phosphorothioic acid 誘導体 (ピリミフォス-メチルやピラゾフォス) は B₂, G₂ は減少したが、B₁, G₁ は増加した。phosphorodithioic acid 誘導体 (ジメトエートやマラチオン) は B₂ をブロックし、B₁ と G₂ は減少し、G₁ と アンスラキノン類は増加した。phosphoric acid 誘導体 (プロフェンホス) はアフラトキシン合成を全て阻害し、フェニルウレア類 (リヌロン、ベンシクロン) も 500 ppm では阻害した。ジカルボイミド類 (イプロジオン) は *A. parasiticus* 変異株の全ての経路を阻害した。ワイルドタイプの酸化系では averufin や versicolorin A からアフラトキシン B₁ への変換は阻害されなかった。ほとんどの有機リン剤やフェニルウレア類は酸化酵素を競合的に増加、減少させるように思えるが、プロフェンホスやイプロジオンは averufin と versicolorin A 間の酵素を阻害した。

論文番号	O-013
タイトル	Palladium catalyzed kinetic and dynamic kinetic asymmetric transformations of γ -acyloxybutenolides. Enantioselective total synthesis of (+)-aflatoxin B1 and B2a
雑誌名	Journal of American Chemical Society
巻	125
最初のページ~最後のページ	3090~3100
発行年	2003
著者名 (姓・名)	Trost, B.M., Toste, F.D.

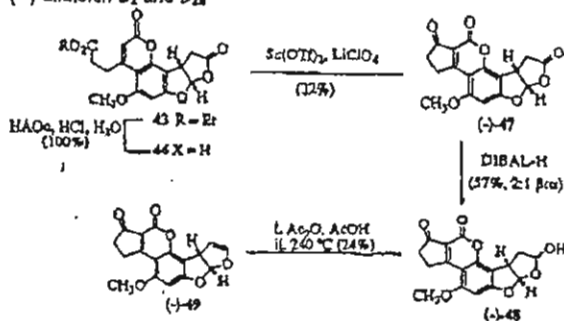
要約

Butenolide類からラクトン誘導体を合成し、その2位カルボニル基を還元して、アフラトキシンB2a (2-ヒドロキシ体)へ導き、脱水反応によりアフラトキシンB1を合成した。

Table 4. Preparation of ADE ring system by Friedel-Crafts Acylation

	
conditions	5.141 % yield
1. $(\text{COCl})_2$ 11, 3eq. AlCl_3 , CH_2Cl_2 , rt	31
2. $(\text{COCl})_2$ 11, 1eq. $\text{Sc}(\text{OTf})_2$, CH_2Cl_2 , rt	46
3. $(\text{COCl})_2$ 11, 1eq. $\text{Sc}(\text{OTf})_2$, 1eq. HOTf , CH_2Cl_2 , rt	64
4. $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ 11, 1eq. $\text{Sc}(\text{OTf})_2$, CH_2Cl_2 , 40 °C	NR
5. $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ 11, 1eq. ZnCl_2 , HOAc , 60 °C	NR
6. HF , -78 °C to rt	36
7. 1eq. $\text{Sc}(\text{OTf})_2$, CH_3NO_2 , 60 °C	NR
8. 1eq. $\text{Sc}(\text{OTf})_2$, 5eq. LiClO_4 , CH_3NO_2 , 60 °C	79

Scheme 5. Completion of the Enantioselective Total Synthesis of (-)-aflatoxin B₂ and B_{2a}



論文番号	O-014
タイトル	<i>In vitro</i> metabolism of aflatoxin B ₂ by animal and human liver
雑誌名	Cancer Research
巻	38
最初のページ~最後のページ	999~1002
発行年	1978
著者名 (姓・名)	Roebuck, B.D., Slagel, W.G., Wogan, G.N.

要約

アフラトキシンB₂の*in vitro*での代謝に関する研究を、アヒル、ラット、マウス、ヒトの肝臓のポストミトコンドリア上澄液(PMS)を用いて行なった。アヒル肝においては、他の種の組織よりも高い代謝活性を示した。全肝0.2 gに相当するPMSは30分間で初期基質(アフラトキシンB₂)を40-80%代謝したが、他の種では6%以下であった。アヒル肝によって形成される数種の代謝物のうち、初期基質(アフラトキシンB₂)の2-8%がアフラトキシンB₁に変換され、クロマトグラフからは、アフラトキシコール1, 2やアフラトキシンM₁, M₂と思われる化合物も少量検出された。それに比較して、ラット、マウス、ヒト肝標本ではアフラトキシンB₁は検出されず、アフラトキシンQ₂, P₂と考えられる化合物が少量のみ生成された。

アフラトキシンB₂はB₁と異なり、その活性化はラットでは容易には認められず、毒性も150倍以上低い。種に因って、例えばアヒルでは、アフラトキシンB₂の毒性活性は上昇する(アフラトキシンB₁に対し、4分の1の致死毒性)。従って、アヒル肝のアフラトキシンB₂の毒性に対する感受性の高さは、アフラトキシンB₁への変換能力に起因し、それがさらに代謝により活性化されることによるのではないと思われる。

Table 1

AFB₂ metabolites after a 15-min incubation

The identity of metabolites is based on chromatographic properties analogous to metabolites produced from AFB₂ (11).

Aflatoxin fraction	nmol aflatoxin/mg protein/15 min					
	Duck 1	Duck 2	Rat	Mouse	Human 1	Human 2
B ₁	0.5 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.1	ND ^b	ND	ND	ND
Aflatoxinol 1	0.1 ± 0.1	ND	ND	ND	ND	ND
Aflatoxinol 2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	ND	ND	ND	ND
Q ₂	ND	ND	ND	0.0 ± 0.1	0.3 ± 0.1	ND
P ₂	ND	ND	ND	0.0 ± 0.2	0.1 ± 0.1	ND
M ₁	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1				
or M region			0.0 ± 1.0	0.3 ± 0.4	ND	ND
M ₂	0.9 ± 0.1	0.4 ± 0.1				
O+	0.4 ± 0.1	ND	ND	ND	ND	ND
Origin	0.3 ± 0.0	0.4 ± 0.2	0.0 ± 1.0	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	ND
Chloroform-insoluble	1.8 ± 0.3	0.8 ± 0.1	1.0 ± 1.0	0.0 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.0 ± 0.0
Total conversion	4.2 ± 0.2	3.4 ± 0.3	2.0 ± 0.2	0.8 ± 0.4	1.2 ± 0.2	2.0 ± 0.0

^a Mean ± S.D.

^b ND, none detected.

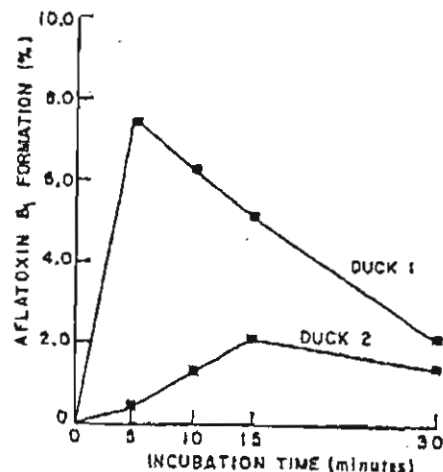


Chart 2. Formation of AFB₁ from AFB₂ by duck liver PMS equivalent to 0.2 g whole liver. Experimental conditions are the same as those described in Chart 1.

論文番号	O-015
タイトル	Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species
雑誌名	Food and Cosmetics Toxicology
巻	11
最初のページ~最後のページ	287~294
発行年	1973
著者名(姓・名)	Patterson, D.S.P.

要約

アフラトキシンB1を中心に、異なる動物種における代謝に関する総説である。アフラトキシンB1の代謝物に関しては種々の動物において比較されている。初期のin vitroでの研究においては、全ての代謝変換はミクロソーム酵素によるハイドロキシラーゼ機能の混合であるとの認識であった。また、ラット肝においてはハイドラーゼ活性も有している。ラット、マウス、モルモット、ウサギ肝では脱メチル化機能を持ち、アフラトキシンB1よりフェノール性化合物の生成が認められる(サル尿よりP1の単離)。また、アフラトキシンB1, B2はNADPH2-依存酵素によって還元され、相当するシクロペンテノール(それぞれアフラトキシコール及びそのジヒドロ体)に変換される。アフラトキシンB2, G2についての代謝変換も図示されているが、詳細に関しては述べられていない。主な変換は、アフラトキシンB2ではハイドロキシレーション(水酸基の導入)、シクロペンタノンの還元、脱メチル化であり、アフラトキシG2ではハイドロキシレーション、d-ラクトン部の加水分解とその後の脱カルボキシル化、脱メチル化である。

Species	Time required to metabolize one LD ₅₀ dose*	Typical hepatotoxic effect†	Aflatoxin metabolites‡			
			Microsomal		Cytoplasmic	
			M ₁	P ₁	B _{2a}	F ₁
	<i>Fast</i>					
Rabbit	39.6 sec	○	+	+	+	+
Duckling	49.8 sec	acute	+	○	+	+
Guinea-pig	11.8 min	acute	+	?	+	○
	<i>Intermediate</i>					
Chick	32.3 min-1.37 hr	acute	+	○	+	+
Mouse	1.57 hr	○	+	+	+	○
Pig	2.50 hr	acute	+	○	○	○
Sheep	4.26 hr	(chronic)‡	+	○	○	○
	<i>Slow</i>					
Rat	0.8-2.6 days§	chronic	+	+	?	○

*Time for the disappearance of an LD₅₀ dose from the whole liver calculated from *in vitro* metabolic data (Patterson & Allcroft, 1970; Patterson & Roberts, 1971a), published LD₅₀ value and liver weights (Patterson & Roberts, 1970b).

†Lancaster (1968): "acute" = acute necrosis with or without fibrosis and bile duct proliferation; "chronic" = liver tumours induced in chronic experiments; ○ = not stated.

‡For details of transformations see Fig. 1; + = metabolite formed; ? = doubtful; ○ = not detected.

§Using either of the two extreme LD₅₀ values given by Smith & Hamilton (1970).

||This is probably based on the observed occurrence of a liver tumour in only one of a small group of sheep fed contaminated groundnut for 5 years (Lewis, Markson & Allcroft, 1967).

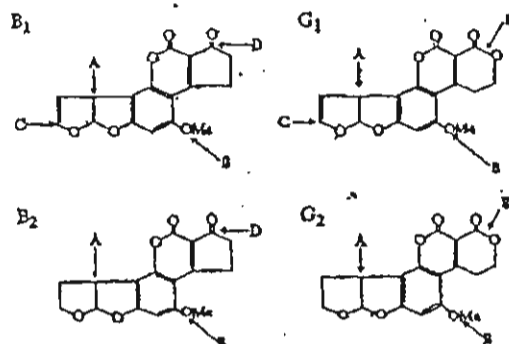


FIG. 1. Metabolic transformation of the aflatoxins by liver enzymes: A, 4-hydroxylation; B, O-demethylation to a phenolic derivative; C, hydration of the vinyl ether double bond to yield the 2-hydroxy derivative or hemiacetal; D, cyclopentenone reduction (aflatoxins B) to form a secondary alcohol; E, hydrolytic fission and decarboxylation of the 8-lactone ring of aflatoxins G (so far known only as a pathway of fungal metabolism). Known metabolites of aflatoxin B₁: aflatoxin M₁ (route A), aflatoxin P₁ (route B), aflatoxin B_{2a} or hemiacetal (route C), aflatoxicol or P₁ (route D). Known metabolites of B₂: aflatoxin M₂ (route A), dihydro-aflatoxicol or F₁ (route D). Known metabolites of G₁: aflatoxin GM₁ (route A), aflatoxin G_{2a} (route C), aflatoxin B₂ or parasiticol (route E). Aflatoxin G₂ is probably hydroxylated to GM₂.

論文番号	O-016
タイトル	A review on biological control and metabolism of aflatoxin
雑誌名	Critical Reviews in Food Science and Nutrition
巻	43 (3)
最初のページ～最後のページ	245~264
発行年	2003
著者名 (姓.名)	Mishra, H.N., Das, C.

要約

アフラトキシンに関するin vivo あるいはin vitro での酵素解毒に注目した生物学的調節方法についての総説。現在、18種類のアフラトキシン類が同定されているが、アフラトキシンB1, B2, G1, G2, M1, M2が最も一般的に存在している。その中でも、アフラトキシンB1,G1が最も頻繁に認められ、アフラトキシンB1が最も強い作用を有する。アフラトキシンB1分子の物理化学的、また生化学的性質は、毒性活性における2カ所の重要な部位を示している。ひとつは、フラン環の8, 9位の2重結合であり、それはDNAや蛋白との相互作用を有するために、これらの正常な生化学的機能を変化させて、細胞レベルで有害な作用を及ぼす。もうひとつの活性部位はクマリン部のラクトン環であり、これは容易に加水分解される、すなわち分解され易い部分である。生物学的変換に関しては、アフラトキシンB1は*T.pyriformis*や*Rhizopus* sp., また*Lactobacillus delbrueckii* によってアフラトキシコールやアフラトキシンB2aへそれぞれの変換される。その他、アフラトキシンB1を中心に代謝や分解等に関してreviewしている。

論文番号	O-017
タイトル	Effects of AFB1 on CYP 1A1, 1A2 and 3A6 mRNA, and P450 expression in primary culture of rabbit
雑誌名	Toxicology Letters
巻	111
最初のページ～最後のページ	243~251
発行年	2000
著者名 (姓.名)	Guerre, P., Pineau, T., Costet, P., Burgat, V., Galtier, P.

要約

生物体内での変換がアフラトキシンB1 (AFB1) の毒性活性発現に必要であり、特にチトクロームP450による酸化が中心的役割を果たしている。少量のAFB1は肝ミクロゾームのチトクロームP450酵素活性を阻害するが、この機構に関して研究した。なお、P450 1A2, 3A4はAFB1のヒトにおける活性8,9-エポキシ化に関与しており、P450 1A2はAFM1形成、P450 3A4はAFQ1形成に関与、すなわち解毒化に関与していることを鑑みて、使用するチトクロームP450 1A1, 1A2, 3A6を選択した。ウサギ肝培養細胞においてAFB1を0.1および1mM作用させた結果、CYPmRNAは用量依存的に減少したが、選択性はなく、また、P450発現や活性の低下に比較し速かに少ないものであった。従って、アフラトキシン中毒症で認められる選択的P450減少はチトクロームmRNA発現減少、CYPmRNA合成酵素の減少によるものではない。むしろ、エポキシド代謝物の蛋白付加物形成に関連しているのではないか。

論文番号	O-018
タイトル	Metabolic activation of aflatoxin B1 to aflatoxin B1-8,9-epoxide in woodchucks undergoing chronic active hepatitis
雑誌名	International Journal of Cancer
巻	73
最初のページ～最後のページ	587-591
発行年	1997
著者名 (姓・名)	Gemechu-Hatewu, M., Platt, K.-L., Oesch, F., Hacker, H.-J., Bannasch, P., Steinberg, P.

要約

慢性B型肝炎とアフラトキシンB1汚染食品の摂取が相乗的に初期肝ガンへの誘導を高める可能性が、疫学的調査により示された。そこで、本研究においては、アフラトキシンB1からエポキシドへの代謝変換が増加するのではないかと仮説を立て、ウッドチャックを用いた慢性肝炎モデルで実験した。ウッドチャック肝炎ウィルスで慢性的に感染したウッドチャックの肝ミクロソームとアイソトープラベルしたアフラトキシンB1をインキュベート後、グルタチオン抱合体としてトラップし、また形成速度はHPLC分析により決定した。その結果、アフラトキシンB1のエポキシドへの活性化の減少は肝炎の重症度に依存した。すなわち、少なくともウッドチャックでは、慢性肝炎ウィルスの感染はアフラトキシンB1の活性化を導くものではない。

論文番号	O-019
タイトル	Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential
雑誌名	Proceedings of National Academy of Sciences in USA
巻	73
最初のページ～最後のページ	2241-2244
発行年	1976
著者名 (姓・名)	Wong, J.J., Hsieh, D.P.H.

要約

アフラトキシン類とそれらの動物体内代謝産物に関して、変異原活性をエイムズin vitro微生物検出系により検査した。アフラトキシコール、アフラトキシンG1, M1, アフラトキシコールH1, アフラトキシンQ1, B2, P1, G2, B2a, G2aの順に変異原活性が減少し、またアフラトキシンB1よりも全て弱いものであった。どの化合物もラット肝プレパレーションなしでは活性は認められなかった。In vitro系における変異原活性の相対的な強さは定性的にin vivoの発がん性データと相関している。両者の比較において、次のことが示される。i) アフラトキシンB1は変異原性や発がん性の両方において、最適構造を有する。ii) 種々の動物代謝産物の発がん性減少はそれらの変異原性の減少に関連している。iii) 2,3-二重結合はアフラトキシンの変異原性や発がん性の両方に関係している。

論文番号	O-020
タイトル	Activation and detoxication of aflatoxin B1
雑誌名	Mutation Research
巻	402
最初のページ～最後のページ	121~128
発行年	1998
著者名 (姓・名)	Guengerich, F.P., Johnson, W.W., Shimada, T., Ueng, Y.-F., Yamazaki, H., Langou_t, S.

要約

アフラトキシンB1 (AFB1) はチトクロームP450(P450)酵素, 特にP450 3A4によって, まず AFB1 exo-8,9-epoxideへ活性化される。しかし, P450 3A4や他のP450類はまたAFB1を危険でない化合物へと酸化する。exo-epoxideは水中で不安定($t_{1/2}$ 1s at 25 degree, $k=0.6s^{-1}$)でありdiol生成物が塩基触媒による転移反応によりdialdehydeに変換され, それが蛋白のリジン塩基と反応する。AFB1 exo-8,9-epoxideはDNAと反応し, 効率に (> 98%) 付加物を与える。ラットや特にヒトのepoxide hydrolase はAFB1 exo- 或はendo-epoxideの加水分解加速速度が非常に遅い。しかし, glutathione transferase 群(GSTs)はAFB1 exo-epoxide付加物を触媒できる。GST M1-1はヒトGSTsで最も高い活性を有している。ヒト肝細胞での研究により, AFB1 exo-epoxide付加物に関するGST M1-1の主要な役割を示した。

論文番号	O-021
タイトル	<i>Escherichia coli</i> MTC, a human NADPH P450 reductase competent mutagenicity tester strain for the expression of human cytochrome P450 isoforms 1A1, 1A2, 2A6, 3A4, or 3A5: catalytic activities and mutagenicity studies
雑誌名	Mutation Research
巻	441
最初のページ～最後のページ	73~83
発行年	1999
著者名 (姓・名)	Kranendonk, M., Carreira, F., Theisen, P., Laires, A., Fisher,

要約

ヒトNADPHチトクロームP450還元酵素 (RED) とCYP1A1, CYP2A6, CYP3A4, CYP3A5をそれぞれ発現させた4種類の新*Escherichia coli* MTCを今回遺伝子操作で作成し, またCYP1A2はすでに作成している。アフラトキシンB1はこれら全てのstrainにおいて, ラット肝S9画分よりはよわいのもの, 強い変異原活性をしめした。CYP1A2は変異原活性においてCYP3A4より3倍強力であり, CYP3A5, CYP3A4, CYP1A1はほぼ同様のアフラトキシンB1の活性化を示した。

我が国の汚染実態関係文献

S-001	輸入食品中のアフラトキシン試験結果(平成8-11年度)および厚生省告示分析法の問題点について	武田信幸、西海弘城	兵庫県立衛生研究所研究報告、34、206-209(1999)
S-002	輸入食品中のアフラトキシン検査 10年間のまとめ(1986-1995)	武田信幸	兵庫県立衛生研究所年報、31、164-167(1996)
S-003	輸入食品中のアフラトキシン試験結果(平成2年度)	武田信幸	兵庫県立衛生研究所研究報告、26、75-76(1991)
S-004	A case report on the high level contamination of aflatoxin B1 and B2 in domestic peanut	Tanaka,T., Hasegawa,A., Tayazaki,N., Natsuki,Y., Matsuda,Y., Yamamoto,S., Udagawa,S. and Ueno,Y.	Proc.Jpn.Assoc.Mycotoxicol(1986) 23,47-52
S-005	輸入ナッツ類からの <i>Aspergillus flavus</i> の分離,同定とそのアフラトキシン生産性	長谷川明彦	Proc.Jpn.Assoc.Mycotoxicol(1987)25,21-27
S-006	食品におけるマイコトキシン汚染の実態とその除去	上村 尚	Mycotoxins(1996)43,27-31
S-007	食品のアフラトキシン汚染	田端節子	Mycotoxins(1998)47,9-14
S-008	輸入剥き実生落花生のアフラトキシン汚染調査(1972-1991)	伊藤嘉典	Mycotoxins(2001)51,13-24
S-009	輸入時におけるイラン産ピスタチオナッツのアフラトキシン検査結果について	岡野清志	Mycotoxins(2001)51(2),83-86
S-010	市販ピスタチオナッツのアフラトキシン汚染	田端節子	Mycotoxins(2001)51(2),87-93
S-011	Limited survey for aflatoxin contamination of polished rice imported into Japan	Suwiwek LIPIGORNGOSON	Mycotoxins(2003)53(2),95-102
S-012	市販ピスタチオナッツ、コーンおよびコーンフラワーの aflatoxin 及び Aflatoxicol 汚染調査	斉藤和夫	食衛誌(1984)25(3),241-245
S-013	輸入生落花生のアフラトキシン検査について(1994-2000)	岡野清志	Mycotoxins(2003)53(1),25-28
S-014	TOXIGENIC FUNGI	Hiroshi KURATA	Survey for Mycotoxins in Commercial Foods(1984)171-182
S-015	輸入食品のカビ汚染	前田協一	微生物2(3),9-23

論文番号	S-001
タイトル	輸入食品中のアフラトキシン試験結果(平成8-11年度)および厚生省告示分析法の問題点について
雑誌名	兵庫県立衛生研究所研究報告、34、206-209(1999)
巻	34
最初のページ～最後のページ	206-209
発行年	1999
著者名(姓.名)	武田信幸、西海弘城

要約

平成8年から平成11年度まで、輸入食品中のアフラトキシンを検査した。分析法は90%アセトニトリル水溶液で抽出し、多機能固相カラムで精製後、無水トリフルオロ酢酸で誘導体化し、蛍光検出器付きHPLCで測定した。検出限界はB1,B2,G1,G2とも0.1ppbである。検査した22品目210検体の品名、試料数はナッツ類:ピスタチオ56、ピーナッツ52、カシューナッツ18、アーモンド12、クルミ8、ピーナッツバター3、マカデミアナッツ2、ブラジルナッツ1、香辛料:白コショウ12、黒コショウ5、コショウ4、ガーリ

	B1	B2	G1	G2
ピスタチオ	298		57	
ナツメグ	13.1		0.6	2.1
	7.6		0.8	
	16.3		0.2	
ピーナッツ	1.3		0.2	
	1.1		0.5	

論文番号	S-002
タイトル	輸入食品中のアフラトキシン検査 10年間のまとめ(1986-1995)
雑誌名	兵庫県立衛生研究所年報、31、164-167(1996)
巻	31
最初のページ～最後のページ	164-167
発行年	1996
著者名 (姓.名)	武田信幸、西海弘城

要約

1986-1995までの間に500検体のアフラトキシンを検査した。検査したものは、香辛料(19品目、115検体)、ナッツ類(16品目、290検体)、穀類(8品目、29検体)、豆類(8品目、25検体)、チーズ(22検体)およびその他(4品目、20検体)であった。全体的な検出率は5.8%であった。食品別でみると、香辛料でのアフラトキシン検出率は13%であり、ホワイトペパーが22%、唐辛子33%、こしよー3%、ナツメグ53%カレー粉25%であった。ナッツ類およびその加工品でアフラトキシンを検出した食品はピスタ

検出数		B1	B2	G1	G2
9	81.00%	0.06-1.50	-	-	-
8	27.60%	0.12-1.51	0.06-0.2	-	-
8	10.30%	0.24-4.12	-	0.13-1.96	-
4	13.60%	0.61-4.85	0.08-0.76	0.15-0.29	-
5	17.20%	0.47-1.18	0.10-0.2	0.27-0.68	0.06-0.16

論文番号	S-003
タイトル	輸入食品中のアフラトキシン試験結果(平成2年度)
雑誌名	兵庫県立衛生研究所研究報告、26、75-76(1991)
巻	26
最初のページ～最後のページ	75-76
発行年	1991
著者名 (姓名)	武田信幸

要約

平成2年6月に兵庫県内の小売店から収去した香辛料12検体、種実類28検体、穀類1検体、乳類 3検体、豆類6検体を試料として、アフラトキシンを測定した。分析結果は表に示した。

表 品名	原産国	B1	B2	G1	G2
ナツメグ	インドネシ	2.26	0.21	0.25	nd
ナツメグ	インドネシ	0.83	0.2	nd	nd
ナツメグ	インドネシ	0.61	0.08	0.15	nd
ナツメグ	インドネシ	0.12	0.12	nd	nd
ピーナッツ	アメリカ	0.36	0.12	nd	nd
ホホワイトペ	マレーシア	0.31	nd	nd	nd
ピスタチオ	イラン	0.06	nd	nd	nd

論文番号	S-004
タイトル	A case report on the high level contamination of aflatoxin B1 and B2 in domestic peanut
雑誌名	Proc.Jpn.Assoc.Mycotoxicol
巻	23
最初のページ～最後のページ	47-52
発行年	1986
著者名 (姓・名)	Tanaka,T., Hasegawa,A., Toyazaki,N., Natsuki,Y., Matsuda,Y., Yamamoto,S., Udagawa,S. and Ueno,Y.

要約

静岡県で収穫したピーナッツのアフラトキシンB1とB2の汚染を調べた。メタノールおよび1%食塩溶液(55:45)で抽出しSep-Pak silicaカラムで精製後HPLCで測定した。その結果5.9mgのアフラトキシンB1と0.3mgのアフラトキシンB2が検出された。アフラトキシンB2はマススペクトルで確認した。かびの同定結果からはAspergillus flavusが検出された。ピーナッツから分離されたかびはアフラトキシンB1およびアフラトキシンB2の産生能を有していた。

論文番号	S-005
タイトル	輸入ナッツ類からのAspergillus flavusの分離同定とそのアフラオ tキシン生産性
雑誌名	Proc.Jpn.Assoc.Mycotoxicol
巻	25
最初の ページ～ 最後の ページ	21-27
発行年	1987
著者名 (姓,名)	Hasegawa,A.,Tanaka,T., Aoki,S., Yamamoto,S.Toyazaki,N., Matsuda,Y., , Udagawa,S.

要約

Aspergillus flavusから産生されるアフラトキシン(AF)の汚染を、11マー
ケットから購入した5種類のナッツ類で調査し、ピーナッツの汚染実態と比
較した。使用したナッツは1981年から1983年に輸入されたものであっ
た。275検体のナッツ中128検体(46. 5%)からAspergillus flavusが検出
された。ピーナッツでは49. 6%がAspergillus flavus(A. Flavus)に感染し
ていた。その中から91検体を選びA. flavusを分離し、そのアフラトキシン生
産を検討し

論文番号	S-006
タイトル	食品におけるマイコトキシン汚染の実態とその除去
雑誌名	Mycotoxns
巻	43
最初のページ～最後のページ	27-31
発行年	1996
著者名 (姓.名)	Kamimura, H.,

要約

近年、食生活の形態が多様化したことなどにより東南アジアなどから香辛料をはじめ多くの農産物が世界各国から輸入されるようになった。これらのうちナツメグ、白コショウ、パプリカなどの香辛料あるいははと麦、とうもろこし等の穀類からアフラトキシンが検出されている。また種実類ではピーナッツの他にピスタチオナッツから1000ppbを超えるアフラトキシンが検出されるなど広範囲の食品に汚染がみとめられた(表参照)。

表 市販食品の汚染実態調査 (抜粋)

食品名	検体数	アフラトキシン検出数(検出最大ppb)			
		B1	B2	G1	G2
小麦および	12				
トウモロコシ	24	1(0.3)	1(<0.1)		
大麦および	12				
麦芽	16				
ハト麦	15	4(0.6)	1(<0.1)	1(<0.1)	
エン麦	4				
ナイ麦	1				
ごま	5	1(2.4)	1(0.5)		
ナツメグ	32	27(13.4)	18(4.0)	3(0.9)	
白コショウ	19	5(1.5)	3(0.9)		
パプリカ	4	1(0.5)			
ミックス	20	4(1.5)	1(<0.1)	1(<0.5)	
赤竹小豆	21				
トラッパー	4				
赤あん	5				
ピスタチオ	1	1(1280)			

論文番号	S-007
タイトル	食品のアフラトキシン汚染
雑誌名	Mycotoxins
巻	47
最初のページ～最後のページ	9-14
発行年	1998
著者名 (姓.名)	Tabata,S.,

要約

1982年－1996年の間の市販食品のアフラトキシン汚染をまとめたものである。ナッツ類ではpeanut, pistachio nut, brazil nutからAFB1, B2, G1, G2が検出され、sesami seedからはAFB1, B2が検出された。た。穀類からはcoix seed, buckwheat,などからAFB1, B2, G1, G2が検出され、corn, sugarからはAFB1, B2が検出された。香辛料からはred pepper, , natmeg, からAFB1, B2, G1, G2が検出されp

表 市販食品の汚染実態調査（抜粋）

食品名	検体数	アフラトキシン検出数(検出最大ppb)			
		B1	B2	G1	G2
小麦およし	12				
トウモロコシ	24	1 (0.3)	1 (<0.1)		
大麦およし	12				
麦芽	16				
ハト麦	15	4 (0.6)	1 (<0.1)	1 (<0.1)	
エン麦	4				
ナイ麦	1				
ごま	5	1 (2.4)	1 (0.5)		
ナツメグ	32	27 (13.4)	18 (4.0)	3 (0.9)	
白コショウ	19	5 (1.5)	3 (0.9)		
パプリカ	4	1 (0.5)			
ミックスス	20	4 (1.5)	1 (<0.1)	1 (<0.5)	
赤竹小豆	21				
トラッパ	4				
赤あん	5				
ピスタチオ	1	1 (1280)			

論文番号	S-008
タイトル	輸入剥き身生落花生のアフラトキシン汚染調査(1972-1991)
雑誌名	Mycotoxins
巻	51
最初のページ～最後のページ	13-24
発行年	2001
著者名 (姓.名)	伊藤嘉典、前田協一、栗飯原景昭

要約

1972年-1991年の間の日本に輸入された大粒種、小粒種の輸入に先立つ検査によるアフラトキシン汚染結果をまとめた。その結果検査した大粒種の0.4%からAFB1が検出された。そのうち0.1%は10pp以上のAFB1が検出された。小粒種では、3.4%からAFB1が検出、うち1.4%が10ppb以上であった。AF生産能を見てみると、AFB1とAFB2しか産生しないBgroupとB1、B2、G1、G2を産生するBGgroupが存在した。大粒種でのBgroupでのB1、B2の割合はB1:88%、B2:12%であった。

論文番号	S-009
タイトル	輸入時におけるイラン産ピスタチオナッツのアフラトキシン検査結果について
雑誌名	Mycotoxins
巻	51
最初のページ～最後のページ	83-86
発行年	2001
著者名 (姓・名)	岡野清志

要約

この検査結果はイランのピスタチオナッツの収穫後日本が輸入する期間別にまとめたものである。輸入時のAF違反は1996年までは15%-20%であったが1997年から1998年にかけては30%以上になった。国内で検出したため検査が強化され、20フィールドコンテナ4検体検査から8検体検査に変更した。この変更を行ったため、輸入業者は1998年以降は品質のよいものを輸入するように努力するようになり1999年には剥き身ピスタチオの違反は0となり、殻つきの汚染濃度も下がってきている。

論文番号	S-010
タイトル	市販ピスタチオナッツのアフラトキシン汚染
雑誌名	Mycotoxins
巻	51
最初のページ～最後のページ	87-93
発行年	2001
著者名 (姓.名)	田端節子

要約

1982-1999年の18年間にピスタチオナッツ621試料のアフラトキシン汚染調査をおこなった。621試料中18試料からAFが検出され、検出率は約3%、検出量はAFB1で0.8%～1380ppbであった。AFが検出された試料のうち5試料(28%)は規制値である10pp以下であったが、他の13試料(72%)は規制値を超えており、100pp以上検出された試料は約40%であった。産地別では米国産が1試料、他のすべてはイラン産であった。ピスタチオナッツに汚染されたアフラトキシンの分布を見ると、1988年にはAFB

論文番号	S-011
タイトル	Limited survey for aflatoxin contamination of polish ed rice imported into Japan
雑誌名	Mycotoxins
巻	53
最初のページ～最後のページ	95-101
発行年	2003
著者名 (姓.名)	Lipigorngoson,S., Ali,N., Yoshizawa,T.

要約

タイ、パキスタン、バングラディッシュからの輸入米におけるAFB1, B2, G1, G2の分析をELISAと免疫アフィニティカラムを用いたHPLC(IAC-HPLC)で行った。IAC-HPLCでは20検体中5検体から0.1-0.3ug/kgのAFB1がまた0.3ug/kgで汚染されたパキスタン米からはAFB2も認められた。

論文番号	S-012
タイトル	市販ピスタチオナッツ、コーンおよびコーンフラワーのaflatoxin およびaflatoxicol汚染調査
雑誌名	食衛誌
巻	25
最初の ページ～ 最後の ページ	241-245
発行年	1984
著者名 (姓.名)	斉藤和夫 他7名

要約

市販のピスタチオナッツ、コーンおよびコーンフラワーを用いてAFBグループ、AFGグループ、AFMグループ、アフラトキシコーシスを測定した。2ピスタチオナッツからはAFMグループ、アフラトキシコーシスは検出されなかったが、他のアフラトキシン(B1:2.0, 4.7ppb, B2:0.4, 1.3ppb, G1:0.6ppb, G2:0.2ppb)が検出された。5試料のコーンからはB1:11.1-33.6ppb, B2:5.3-9.9ppbが検出された。しかし5試料のピスタチオナッツからはAfM1(1.8-39.3p

論文番号	S-013
タイトル	輸入生落花生のアフラトキシン検査について(1994-2000)
雑誌名	Mycotoxins
巻	53
最初のページ～最後のページ	25-28
発行年	2003
著者名 (姓.名)	岡野清志、富田常義、長南正貴

要約

1994年から2000年までの生落花生の輸入時におけるAF検査結果を示した。生落花生のAF検査は、1999年からサンプリング方法が変更され、1kgの全量を粉砕し、粉砕した中から50gを分析試料とすることとなった。1994年から1998年までは、8040検体中69検体(0.9%)から検出し、そのうち29検体(0.4%)が10ppb以上であった。1999年から2000年については5108検体中355検体(6.9%)から検出し、そのうち145検体(2.8%)が10ppb以上であった。サンプリング方法が変更されたため

論文番号	S-014
タイトル	Survey for mycotoxins in commercial foods
雑誌名	Toxigenic Fungi-Their toxins and health Hazar
巻	
最初のページ～最後のページ	172-181
発行年	1984
著者名 (姓.名)	Nishijima,M.

要約

穀物およびその加工品1500検体のアフラトキシン濃度、アフラトキシコール I, II、オクラトキシンAおよびシトリニンを測定した。Butter beansでは99検体中5検体にAFB1, B2が検出された。Saltani-Saltapya beansでは37検体中3検体からAFB1, B2が検出された。Red beansでは2検体中2検体からAFB1, B2が検出された。Small red beansでは、231検体中1検体からAFB1, B2が検出された。Corn flourからは5検体中1検体からAFB1, B2

論文番号	S-015
タイトル	輸入食品のカビ汚染
雑誌名	微生物
巻	2
最初の ページ～ 最後の ページ	9—23
発行年	1984
著者名 (姓.名)	前田協一

要約

1972年から1981年までの生落花生の輸入時における検査結果を報告したものである。大粒種むき実落花生では2612検体中AFB1陽性試料が0.5%であり、そのうち規制値の10ppbを超えたものは0.04%であった。小粒種剥き身落花生においては9450検体中5.0%でAFB1が検出され、規制値を超えていたのが1.7%であった。地域別に見てみると、アメリカ地域から輸入されたものでは、4111検体中AFB1陽性が4.3%、10pp以上が1.9%を占めていた。アフリカ地域からの輸入品では2963検体中陽性が5.7

S-1	Short-term moderate aflatoxin B1 exposure has only minor effects on the gut-associated lymphoid tissue of Brown Norway rats	Batzli, W., Heudecker, C., Heusch, G.W., Rechtemer, C., Pool-Zobel, B.L.	Toxicology, 138, 93-102 (1999)
S-2	Immunotoxicity of Aflatoxin B1 in Rats: Effects on Lymphocytes and the Inflammatory Response in a Chronic Intermittent Dosing Study	Hilton, D.W., Myers, R.J., Raybourne, R.A., Francker-Carroll, S., Sotomayor, R.E., Shaddock, J., Whisterton, A., and OMO, W.W.	Toxicological Sciences, 73, 362-377 (2003)
S-3	Aflatoxin B1-induced suppression of nitric oxide production in murine peritoneal macrophages	Woon, E.T., Han, J.J., Rhoe, O.K., Pyo, S.	Journal of Toxicological and Environmental Health, Part A, 55, 517-530 (1998)
S-4	In vitro suppressive effects of aflatoxin B1 on murine peritoneal macrophage function	Woon, E.T., Rhoe, O.K., Pyo, S.	Toxicology, 138, 171-179 (1999)
S-5	Suppression of the Interleukin-2 gene expression by aflatoxin B1 is mediated through the down-regulation of NF- κ B and AP-1 transcription factors	Han, S.H., Joon, Y.J., Tan, S.S., and K.H.	Toxicology Letters, 108, 1-10 (1999)
S-6	Does systemic exposure to aflatoxin B1 cause allergic sensitization?	Kocbas, C.M., Sekera, B.E.	Allergy, 58, 383-385, (2003)
S-7	Consequence of Aflatoxin B1 ingestion on the Membrane-Bound Liver Endoplasmic Reticulum Ca ²⁺ -ATPase of protein-Undernourished Fischer F344 Rats	Adenuga, G.A.	Bioscience Reports, 21, 873-877 (2001)
S-8	The effect of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1, on primary bone marrow macrophages	Liu, B.H., Yu, F.T., Chan, M.H., Yang, W.L.	Toxicology and Applied Pharmacology, 180, 337-344 (2004)
S-9	Inhibitory effects of ellagic acid on the direct-acting mutagenicity of aflatoxin B1 in the Salmonella microsome assay	Loarca-Perez, G., Kizilcay, P.A., de Mejia, E.G., Kado, M.Y.	Mutation Research, 398, 183-197 (1998)
S-10	Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity	Bonati, P., Augusti-Tocco, G., Palmeri, M., Giorgi, M.	General pharmacology, 32, 615-619 (1999)
S-11	Potency of dietary indole-3-carbinol as a promoter of aflatoxin B1-initiated hepatocarcinogenesis: results from a B6D x BALB/c tumor study	Agnewlan, A., Hendricks, J.D., Pereira, C.B., Orner, C.A., Bailey, C.B., Williams, D.E.	Carcinogenesis, 20, 453-458 (1999)
S-12	Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B1 in rats	Boggs, G.M., Pagliarulo, S., Newberne, P.M.	Food Cosmet. Toxicol., 32, 681-685 (1994)
S-13	Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FBI mixture in experimental subchronic mycoses in rats	Theumer, M.C., Lopez, A.G., Nasib, D.T., Chuliza, S.H.	Toxicology, 186, 159-170 (2003)
S-14	Mutagenicity of carcinogenic mycotoxins in Salmonella typhimurium	Ueno, Y., Kubota, K., Ito, T., Nakamura, T.	Cancer research, 38, 526-542 (1978)
S-15	Interaction of fumonisin B1 and aflatoxin B1 in short-term carcinogenesis model in rat liver	Griderblom, W.E.A., Barajas, W.F.G., Lebeque-Munoz, S., Suenkelde, S., Vessey, C.J., de la M. Hall, P.	Toxicology, 171, 161-173 (2002)
S-16	Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals	M. S. Mustafa and J.M. Brasel	Toxicology, 187, 101-134 (2001)
S-17	Mutagenic activity of carcinogen detected in immunogenic rodent mutagenicity assays at dose levels used in chronic rodent cancer	Schuster, P., Eckert, C., Lingel, U.M., Ziegler, O., Klein, R.E.	Mutation Research, 405, 193-198 (1998)
S-18	Cumulative effects of coumarin(1,2-benzopyrone) with aflatoxin B1 and human liver S9 in mammalian cells	Karger, D.E., Maiz, A.W., Anderson, K.E.	Food and chemical toxicology, 37, 581-589 (1999)
S-19	Protection of aflatoxins and other fluorescent metabolites by strains of Aspergillus flavus isolated from staple foods and their toxicity to rats	Anasubhah, S., Bhaskaraprasad, R., Monkur, K., Phinichit, L., Thanyavit, W., Sahaphong, S.	Food and cosmetics toxicology, 16, 427-430 (1978)
S-20	Aflatoxin B1-induced Hprt mutations in splenic lymphocytes of Fischer 344 rats. Result of an intermittent feeding trial	Morris, S.M., Alden, A., Chen, J.J., Chou, H.W., Casciano, D.A.	Mutation research, 423, 33-38 (1999)
S-21	Structure-activity relationship in toxicity and carcinogenicity of aflatoxins and analogs	Boggs, G.M., Edwards, G.S., Newberne, P.M.	Cancer research, 31, 1918-1942 (1971)
S-22	Enhancement of glutathione S-transferase placental-form positive liver cell foci development by microcystin-LR in aflatoxin	Sekiya, M., Tsutsumi, T., Yoshida, T., Harada, T., Tashiro, F., Chan, C., Yu, S.-Z., Ueno, Y.	Carcinogenesis, 10, 161-165 (1989)
S-23	Acquired tolerance of hepatocellular carcinoma: a selective survival mechanism?	Irish, W.E., Jace, E., Dierck, M., Calin-Alatay, R.	Cancer research, 63, 5787-5795 (2003)
S-24	Fumonisin B1 promotes aflatoxin B1 and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) initiated liver tumors in rainbow trout	Carlson, D.B., Williams, D.E., Spitzbergen, J.H., Ross, P.F., Bacon, C.W., Meredith, F.J., and Riley, R.T.	Toxicology and applied pharmacology, 172, 29-36 (2001)
S-25	The reactivity and carcinogenicity of aflatoxin B1-2,3-epoxide: a model for putative 2,3-oxido metabolite of aflatoxin B1	Swanson, D.H., Miller, J.A., and Miller, E.C.	Cancer research, 35, 3811-3823 (1975)
S-26	The effect of the aflatoxins B1, G1, and G2 on protein and nucleic acid synthesis in rat liver	J. L. Clifford, K. E. Bee, and Elizabeth W. Stevens	Biochem. J.
S-27	Experimental toxicity and carcinogenicity of aflatoxin	C.N. Vogan	7 163-173
S-28	Aflatoxin exposure after weaning solid food containing lipids growth	J.W. Burre	
S-29	Review article: synergistic interaction between aflatoxin B1 and hepatitis B virus in hepatocarcinogenesis	M.C. Lee	Liver International, 23, 405-409 (2003)
S-30	Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins	B.A. Carnaghan, R.D. Mettler, and J.B. Kelly	Nature, 7, 1101 (1963)
S-31	Site of action of aflatoxin on human liver cells in culture	A.J. Zecherman, E.R. Reed, D. Tapan, and V. Potts	Esters, 214, 814-815 (1967)
S-32	Mycotoxins	R.A. Cole	JAMA, 287, 476-477 (2002)
S-33	Biological activation of mycotoxins (field and experimental mycotoxicosis)	K. Terao, and K. Hattoko	Mycotoxins and animal foods, Chapter 71 455-488
S-34	The influences of mycotoxins on the immune system	A.C. Fier	Mycotoxins and animal foods, Chapter 72 489-493
S-35	Mycotoxins	J.W. Bennett, and M. Klich	Clinical Microbiology reviews, 16, 497-516 (2003)
S-36	Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: the critical role of weaning	Gong, Y.T., Egal, S., Mouna, A., Turner, P.C., Mait, A.J., Cordwell, K.F., and Wild, C.P.	International Epidemiological Association, 37, 556-562 (2003)
S-37	Determination level of serum Aflatoxin B1 adducts in the United Kingdom population: implications for aflatoxin-B1 exposure in the United Kingdom	Turner, P.C., Dingley, K.M., Coswood, J., Russell, S., Garner, C.R.	Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 7, 461-467 (1998)
S-38	Hepatocellular carcinoma and aflatoxin exposure in Zhuozhuo village, Fujian province, People's Republic of China	Fang, J.-S., Huang, T., Su, J., Liang, F., Wei, Z., Liang, Y., Luo, M., Kong, S.-T., Qian, G.-S., Sun, G., Thomas, R.N., Kessler, B., and Groopman, J.	Cancer epidemiology, biomarkers and prevention, 10, 143-145 (2001)
S-39	Oltipraz chemoprevention trial in old age, people's republic of China: modulation of serum aflatoxin-albumin adduct biomarkers	Kessler, T.E., Wu, X., Olivo, M., Egner, P.A., Jacobson, L.P., Chen, B., Wang, J.-S., Zhu, T.-R., Zhang, B.-C., Wang, J.-G., Hu, Y., Zhang, B.-M., Qian, G.-S., Huang, S.-T., Peng, X.-L., Yu, L.-Y., Prochaska, M.J., Davidson, M.E., Gordon, G.B., Gorman, R.B., Zerbe, A., Enger, C., Munoz, A., Melissou, K.J., and Groopman, J.B.	Cancer epidemiology, biomarkers and prevention, 7, 123-134 (1998)
S-40	Association of plasma aflatoxin B1 adduct level with plasma selenium level and genotypes of glutathione S-transferase B1 and T1	Chen, S.-T., Chen, C.-J., Tsai, B.-T., Ahsan, M., Liu, I.-T., Lin, J.-I., and Santella, R.M.	Nutrition and cancer, 38, 179-185
S-41	Variability in Aflatoxin-albumin adduct levels and effects hepatitis B and C virus infection and glutathione S-transferase B1 and T1 genotype	Ahsan, M., Wang, L.-T., Chen, C.-J., Tsai, B.-T., and Santella, R.M.	Environmental Health Perspectives, 109, 833-837 (2001)
S-42	The role of Aflatoxin and Hepatitis virus in the etiology of hepatocellular carcinoma: A basis for primary prevention in Guinea-Bissau, West Africa	Turner, P.C., Sella, A., Diallo, M.S., Castagnaro, J.-B., Hatt, A.J., and Wild, C.P.	Journal of gastroenterology and hepatology, 17, 5441-5448 (2002)

論文番号	S-032
タイトル	Mycotoxins
雑誌名	JAMA
巻	287
最初のページ～最後のページ	425～427
発行年	2002
著者名(姓.名)	R. A. Etzel

要約

マイコトキシンは現在 400 種類ほどあるとされているが、ここでは数種のマイコトキシンがヒトの健康に及ぼす影響について述べる。発展途上国では、汚染した食料を摂取することによって低用量のマイコトキシンを長期間にわたって摂取している。

〈アフラトキシン〉

AFB1 はヒトの肝ガン発生要因として重要である。B 型肝炎ウイルス感染と AFB1 摂取が同時に起こると肝ガン発生率が高まる。住血吸虫に対する薬である oltipraz が AFB1 の代謝を低下させることにより発がん性を抑えることが分かっている。従って oltipraz の使用と食料保管状態の改善が肝ガン発生率を低下させることにつながる。

〈麦角アルカロイド〉

ヒトに流行病を起こすマイコトキシンとして最初に発見された。血管収縮を起こす性質から、偏頭痛や分娩後の出血に対する治療薬として用いられた。

〈フモニシン〉

主にトウモロコシを介してヒトに摂取され、食道ガンを起こすことが示唆されている。フモニシンは細胞制御にかかわるスフィンゴ脂質代謝に影響を及ぼす。また、葉酸の取り込みを阻害するため葉酸欠乏により神経管の発達抑制がおこり、無脳症や脊椎披裂などの奇形の原因と考えられる。

〈トリコテセン〉

汚染したトウモロコシや小麦の摂取により食事性無白血症が発生した。また、皮膚に暴露すると皮膚炎を起こす。

〈デオキシニバレノール〉

嘔吐を伴う疾患を起こした。

〈サトラトキシン〉

肺出血や肺のヘモジデリン沈着を起こす。

論文番号	S-033
タイトル	Biological activities of mycotoxins : field and experimental mycotoxicoses
雑誌名	Mycotoxins and animal foods
巻	
最初のページ～最後のページ	Chapter21 455～488
発行年	
著者名(姓.名)	K. Terao, and K. Ohtsubo

要約

アフラトキシン B1 (AFB1) は最も重要なマイコトキシンの中の1つであり、動物用の飼料やヒトの食料に汚染している。AFB1 は肝細胞毒性と、肝細胞に対する発ガン性を持つ。

〈急性毒性〉

肝細胞壊死に伴い胆管増殖が起こる。原形質の変化は投与直後から認められ、主にグリソン鞘付近で起こる。AFB2、G1、G2 は AFB1 と同時に検出されることが多く、その LD50 は AFB1 の 50%、20%、10%とされる。

〈慢性毒性〉

AFB1 は最も強い発がん性物質の1つであり、発生には用量依存性がある。AFB1 の主な標的臓器は肝臓であるが、他にも腺胃、大腸などで腫瘍形成が認められる。

AFB2、M1、G1 でも肝癌が発生するが、AFB1 に比べてその発生率は低い。AFM1 の急性毒性は AFB1 に匹敵し、ステリグマトシスチンでは低い。しかしステリグマトシスチンでは AFB1 の 100 倍の用量で肝癌が発生し、投与部位にも発生する。

AFB1 の毒性に対する感受性には動物種差、年齢差、性別差がある。一般に年齢が若いほど抵抗性が低く、オスはメスよりも感受性が高い。動物種差は次の通りである。高:コガモ、ウサギ、ネコ; 中:ニジマス、ブタ、イヌ、モルモット、サル; 低:鶏、ラット、マウス、ハムスター、羊

AFB1 の毒性は特にタンパク質摂取量に左右される。AFB1 による肝毒性はグルタチオン (GSH) の減少によって抑制される。しかし、AFB1 はタンパク質の量にかかわらず肝臓の GSH を増加させることが示唆されており、肝損傷と GSH 量の関係が単純ではないことがわかる。

AF とステリグマトシスチンの持つジヒドロフラン環の 2, 3 の二重結合が、毒性と発ガン性と関係する。AFB1 代謝は 2 段階からなり、第 I 相は AFB1 がシトクローム P450 によって活性型求電子性中間体になる。第 II 相は活性型中間体が核と共有結合し、DNA や RNA、タンパク質と結合するために毒性が発揮される。一方、活性中間体がグルタチオンと結合すると解毒が進む。シトクローム P450 は小葉中心帯と中間帯で少ないため、ここでの損傷は少ない。また、この活性差が性差の原因である。

論文番号	S-035
タイトル	Mycotoxins
雑誌名	Clinical mycobiology reviews
巻	16
最初のページ～最後のページ	497～516
発行年	2003
著者名(姓.名)	J.W. Bennett, and M.Klich

要約

カビによる疾患では、真菌症が良く知られているが、二次的代謝産物による健康障害も重要である。これらはマイコトキシンといわれ、発ガン性、蛋白質合成阻害、免疫抑制、皮膚毒性や他の代謝阻害が起こる。マイコトキシンは汚染食物を摂取したり、胞子を吸引したり、皮膚に接触したりすることで体内に入る。疾病の原因がマイコトキシンにあることを証明することは難しい。なぜならカビ汚染とマイコトキシン汚染がイコールではないためであり、さらにマイコトキシンが検出されたとしても動物やヒトでみられる健康障害がマイコトキシンに起因することを証明するのは難しいからである。マイコトキシンによる疾病は想像以上に広い範囲で起こっていると考えられる。

〈アフラトキシン(AF)〉

AF は、B1、B2、G1、G2 に分類でき、B1 が最も発ガン性が高く、残りは B1 の代謝産物として検出される。急性毒性による死と、慢性毒性による癌や免疫抑制などが認められる。シトクローム P450 は AF を DNA やタンパク質に結合する反応性の 8、9 エポキシドに変化させる。結合部位はグアニンの N7 部位である。AFB1-N7- グアニン検出することは、近い過去にアフラトキシンを体内に摂取したことを示し、バイオマーカーとなる。

AF はヒトの発ガン性物質であり、特に B 型肝炎ウイルスに感染したときに肝ガンのリスクファクターとなる。従って汚染した食品から AF を除くよりも B 型肝炎ウイルスのワクチンを投与することが肝ガン発生を抑制することに効果的である。肝臓以外に肺でも AF が腫瘍の発生要因になることがわかっている。p53 腫瘍抑制遺伝子が G から T に置換されると遺伝子の抑制がとけて肝細胞ガンが発生する。

〈シトリニン〉

すべての動物で腎毒性を持つが、急性毒性徴候は動物種差が認められる。

〈麦角アルカロイド〉

子宮収縮促進剤や偏頭痛、精神分裂症などの治療薬として用いられているが、不本意に毒性の発現をみることがある。壊疽や痙攣などが現れる。

〈フモニシン〉

スフィンゴ脂質代謝を阻害することにより動物に影響を及ぼす。ヒトでは食道ガンの発生と関係があるとされる。また、神経管に作用することにより無脳症や脊椎披裂といった奇形の発生にも関係があるとされる。有機溶媒に溶解する他のマイコトキシンと異なり、親水性であるためメタノールやアセトニトリルで抽出する。

〈オクラトキシン〉

オクラトキシン A(OTA)は腎臓が主な標的臓器である。すべての動物で腎毒性を持つが、特にヒトでは半減期が長いために強い毒性が現れる。細胞のフェニルアラニン代謝を阻害する酵素に働き、フェニルアラニン tRNA 複合体を作る。さらにミトコンドリアの ATP 産生を抑制し、脂質ペルオキシダーゼを活性化する。OTA は慢性的な腎障害やフェニルケトン尿症、精巣ガンの発生と関係がある。The Union Scientific Committee はヒトの OTA の摂取量を 5mg/kg b.w./日 にすることを求めている。

OTA とヒトの疾病の関係はまだ明らかにされていないところが多いが、急性腎毒性、免疫抑制と発生毒性が動物で認められることから、食物連鎖によるヒトへの影響が考えられる。

〈パツリン〉

1960 年代に抗細菌作用、抗ウイルス作用、抗原生動物作用に加えて、抗生物質として使用されることによって動物や植物に毒性を及ぼすことが明らかになった。以降マイコトキシンとして分類された。WHO は TDI を 0.4mg/kg b.w./日 としている。

〈トリコテセン〉

12、13-エポキシトリコテセン骨格と様々な置換基を持つオレフィン結合を持つ。大環状エステル構造を持つ C-4 と 5 の間にエタノールエステル結合が存在するか否かによって分類する。非大環状トリコテセンは C-8 に水素かエステル基をもつ Type A(T-2トキシンなど)と、ケトンを持つ Type B(フザレノン X、デオキシニバレノール、ニバレノール)がある。

トリコテセンはリボソームのペプチジルトランスフェラーゼ結合部位に結合することにより、真核生物の蛋白質合成を強く抑制する。自然界で起こるトリコテセンの中で、T-2トキシンとデオキシニバレノールが動物に及ぼす影響が最もよく見られる。ヒトでは食事性無白血症と関係があるとされる。

〈ゼアラレノン〉

生体に強い影響を及ぼすが、毒性はほとんどなく、ヒトへのリスクは少ないと考えられている。ヒトの卵巣から分泌される 17β -エストラジオールに良く似ており、哺乳類の標的細胞にあるエストロゲン受容体に結合する。ゼアラレノンが還元されたゼアラレノールはエストロゲン活性が増加する。

世界中で4分の1の穀物がマイコトキシン汚染を受けていると考えられている。マイコトキシンは農場などの生産の場、貯蔵など段階で入りこむ。マイコトキシン汚染による影響は大きく経済的損失を招く。汚染飼料を与えた動物では成長を抑制し、疾病や死の原因とな。マイコキシンの生成を防ぐことは通常難しい。そこで食品や飼料のマイコトキシン汚染状態を調べ、規制値が設けられている。

分 担 研 究 報 告 書

食品のカビ毒汚染実態に関する研究

熊谷 進

厚生労働科学研究費補助金研究事業
(食品の安全性高度化推進研究事業)
分担研究報告書(平成 16 年度)

食品のカビ毒汚染実態に関する研究

分担研究者:熊谷 進(東京大学)

研究協力者:

石黒瑛一((独)肥飼料検査所本部)

伊藤嘉典(国立医薬品食品衛生研究所)

甲斐茂美(神奈川県衛生研究所)

小西良子(国立医薬品食品衛生研究所)

田端節子(東京都健康安全研究センター)

田中敏嗣(神戸市環境保健研究所)

中島正博(名古屋市衛生研究所)

法月廣子(日本穀物検定協会)

藤田和弘(日本食品分析センター)

要旨

市販食品236試料についてアフラトキシン B1、B2、G1、G2を、また、市販食品201試料についてオクラトキシン Aを、それぞれ HPLCを用いて分析した。さらに、市販食品166試料について、フモニシン B1、B2、B3を LC/MSを用いて分析した。その結果、アフラトキシンは、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、粉ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、生トモロコシ、ゴマ油、米、ソバからは検出されなかったが、ピーナッツバターの一部より3 $\mu\text{g/kg}$ 未満の濃度が検出された。オクラトキシン Aは、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が1 $\mu\text{g/kg}$ 未満であった。フモニシンは、押麦、コーンスープ、生トモロコシ、ソバからは検出されなかったが、スイートコーン、ポップコーン、コーングリッツの多くより数10 $\mu\text{g/kg}$ 以下の、一試料からは100 $\mu\text{g/kg}$ 以上の、フモニシン B1が検出された。

A.研究目的

2001年に JECFA によって、アフラトキシン M1、フモニシン、オクラトキシン A、デオキシニバ

レノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシンについて健康評価が行なわれ、フモニシン、オクラトキシン A、デオキシニバレノール、T-2 トキシン、HT-2 トキシンについては PMTDI または PWTI が設定され、アフラトキシン M1 については、規制値との関連における発がんリスクが示された(1)。これらカビ毒のうち、アフラトキシン M1 とデオキシニバレノールについては、それら汚染が問題となる乳と小麦について、我が国の汚染実態を究明し、その結果に基づいて必要な対策を講じた。しかし、その他のものについては食品の汚染実態は、限られた食品について散発的な報告はあるものの、暴露評価に耐え得るデータは得られていない。これらのうち、各国での規制状況及びコーデックスでの検討状況から、フモニシンとオクラトキシン A による食品の汚染実態の究明がとくに優先度が高いと考えられる。

アフラトキシンについては、我が国においては現在に至るまで約40年間、B1のみに対して10 μ g/kg の基準で規制が行なわれてきた。国によっては B1、B2、G1、G2の総量で規制が行なわれており、規制値についても各国間で差異があることから、我が国の規制についても見直しが必要かどうかを判断するために、アフラトキシンについても汚染実態調査を究明する必要がある。

以上の背景の下に本研究では、我が国の市販食品におけるアフラトキシン B1、B2、G1、G2、フモニシン B1、B2、B3、オクラトキシン A の汚染実態を明らかにするために、過去の知見に照らして各カビ毒に汚染されやすいと考えられる食品を収集し、それら食品についてクリーンアップ方法を含め予め検討した分析法を用いて、各カビ毒の分析を行なった。

B. 研究方法

試料

米と小麦粉は農林水産省から提供されたものを、その他の食品はスーパー等で購入したものを、それぞれ分析試料とした。

アフラトキシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉碎器で粉碎し混合してから、塩化ナトリウムとメタノール-水(8+2)を加え、振とう抽出した。ろ紙(Whatman No.4)でろ過し、得られたろ液を PBS で希釈し、イムノアフィニティーカラム(アフラテスト P(VICAM 社))でクリーンアップを行なった。溶出液をトリフルオロ酢酸で処理してから、または処理せずに、HPLC (ODS カラム:4.6mm i.d.×250mm, 5 μ m, 移動相:アセトニトリル-メタノール-水(1+3+6)、流速:1ml、蛍光検出器:励起波長 360nm、蛍光波長 450nm))による分析に供した。

なお、ごま油、ピーナッツ、ピーナッツバターについては、メタノール-水ではなくクロロホルムで抽出し、フロリジルカラム(クロロホルム・メタノール(9:1)で洗浄、アセトン・水(99:1)で溶出)でクリーンアップを行ない、溶出液をトリフルオロ酢酸で処理し HPLC で分析するとともに、処理せずにシリカゲル HPTLC(クロロホルム・アセトン(9:1)、エーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5))で分析した。

オクラトキシン A の分析

固体試料はミキサーあるいは遠心粉碎器等で粉碎し、均一になるように良く混合してから、小麦粉・ライ麦粉についてはアセトニトリル-水(6+4)で、コーン製品・米・オートミール・コーン

フレーク・そば粉については塩化ナトリウムを加え、メタノール-水(8+2)で、レーズン・生コーヒー豆についてはメタノール-1%炭酸水素ナトリウム水溶液(7+3)でそれぞれ振とう抽出した。ワイン、ビールについては1%ポリエチレングリコール8000-5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加え混合した。抽出物または混合物をろ紙でろ過してから、イムノアフィニティーカラム(オクラテスト(VICAM社))でクリーンアップを行なった。メタノール-酢酸(99+1)で溶出し、HPLC(ODSカラム:4.6mm i.d.×250mm、5μm、移動相:アセトニトリル-水-酢酸(55+43+2)、流速:1ml/min、蛍光検出器:励起波長 333nm、蛍光波長 460nm))による分析に供した。

フモニシンの分析

試料をミキサーまたは遠心粉碎器で粉碎し混合してから、塩化ナトリウムとメタノール-水(3+1)を加え、振とう抽出した。ろ紙(Whatman No.4)でろ過し、得られたろ液をイオン交換カートリッジカラム(Bond Elut LRC(VARIAN))でクリーンアップを行なった。メタノール-酢酸(99+1)溶出液をLC/MS(カラム:ZORBAX Eclipse XDB-C18)による分析に供した。

C. 研究結果

アフラトキシンは、235試料のうち、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、粉ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、生トモロコシ、ゴマ油、米、ソバからは検出されなかったが、ピーナッツバター20試料のうち10試料から3μg/kg未満の濃度が検出され

た(表1、参考資料(個票))。日本産のピーナッツバター2試料からも検出されたが、この原料ピーナッツの由来は不明である。

オクラトキシン A は、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が1μg/kg未満であった(表2、参考資料(個票))。

フモニシンは、押麦、コーンスープ、生トモロコシ、ソバからは検出されなかったが、スイートコーン、ポップコーン、コーングリッツの多くより、数十μg/kg以下、一試料から100μg/kg以上のフモニシン B1が検出された(表3、参考資料(個票))。

D. 考察

JECFAにより推定されたアフラトキシンB1の発がんリスク、フモニシンとオクラトキシン A のPMTDIの値から、市販食品において今年度認められたこれらカビ毒の汚染濃度によって健康障害が引き起こされることは考え難いことから、今年度の成績をもって直ちに緊急的な対応をとる必要はないと考えられる。しかし、カビ毒による汚染は、気候の影響を受けやすく年次変化が大きいことが知られているため、さらに次年度以降も汚染実態調査を継続し、今年度の調査結果と合わせ暴露評価を行なうことによって、基準値の設定を含めた我が国におけるカビ毒の規制に活用する。また、コーデックス等にもデータを提供することによってカビ毒に関する国際的取り組みに貢献できると考えられる。

アフラトキシンの汚染は、トモロコシ、香辛

料、ナッツ類にとくに高頻度で認められてきたが、大豆、小麦、米などの穀類にも低頻度ながらその汚染が認められている(1-5)。我が国においても、市販食品の汚染実態調査によって、米製品、トーマロコシ、ゴマ製品、ナッツ類、香辛料にアフラトキシン汚染が既に報告されている(6)。本研究では、これら既報の汚染実態を踏まえ、汚染の可能性が考えられる12種類の食品を優先的に取り上げて調査を行なった結果、ピーナッツバターのみ汚染が認められた。スーダンのアフラトキシン汚染地帯においては、ピーナッツバターが肝臓癌のリスク因子であることが報告されている(7)ことから、今後、その製造原料としてのピーナッツの情報を収集するとともに、さらに多数のピーナッツバターについて汚染実態調査を行なうこと、また、我が国におけるピーナッツバターの消費形態の調査も並行して行なうべきものと考えられる。

オクラトキシン A については従来より、小麦、大麦、燕麦、ライ麦、干しぶどう、ワイン、コーヒーに高濃度の汚染が比較的高頻度で認められてきた(1)。その他に、米、香辛料、オリーブ、豆類、ココア、チョコレート、ひまわり種子、ゴマ種子、肉類、乳、ビール、ソバに汚染が認められており、最近ではグレープジュースや冷凍ぶどうにも汚染が認められている(8-12)。今回の調査では、米には汚染が認められなかったが、それ以外の食品のいずれからも、分析対象試料の20—91%に汚染が認められた。とくに干しぶどうの汚染の濃度が高く、最高値 $12.5\mu\text{g}/\text{kg}$ を示した。そば粉の汚染濃度は比較的低く、検出例平均値は $0.513\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、検出例が10試料中6試料であったことに加え、摂取量が比較的多い食品であることから、今後さらに汚染実態調査を継

続するとともに、そばの製造工程中の減衰を究明することが必要と考えられる。さらに、優先順位は低いとはいえ、グレープジュースなどの果実ジュース類、肉類などの畜産食品についても汚染実態を確認することが望まれる。

フモニシンはこれまでに、トーマロコシとその製品、米に汚染が認められてきた(1, 13)。本研究では、トーマロコシとその製品に加え、押し麦とそばについて調べた結果、ポップコーンとコーングリッツの全試料に、スイートコーンの一部にそれぞれ汚染が認められた。ポップコーンについては、B1 汚染濃度の平均値として $57.2\mu\text{g}/\text{kg}$ が、最高値として $354\mu\text{g}/\text{kg}$ がそれぞれ認められたことから、次年度以降さらに多数の試料を対象として調査を行なうべきであろう。また、コーングリッツとともにポップコーンについての摂取量のデータを入手し、暴露評価に備えることも必要である。

E. 結論

アフラトキシンは、市販の殻付きピーナッツ、ピーナッツ、粉ピーナッツ、コーングリッツ、ポップコーン、スイートコーン、コーンフレーク、生トーマロコシ、ゴマ油、米、ソバからは検出されなかったが、ピーナッツバターの一部より $3\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の濃度が検出された。オクラトキシン A は、米からは検出されなかったが、レーズン、ワイン、ビール、生コーヒー豆、煤煎コーヒー、そば粉、ライ麦、小麦粉、オートミールの一部から検出され、その濃度は大部分が $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満であった。フモニシンは、押し麦、コーンスープ、生トーマロコシ、ソバからは検出されなかったが、スイートコーン、ポップコーン、

コーングリッツの多くより、数十 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下、一試料から100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上のフモニシン B1が検出された。

F. 研究発表

なし

G 引用文献

- (1) JECFA (2001) Safety evaluation of certain mycotoxins and food. WHO Food Additives Series 47.
- (2) Scudamore KA, Nawaz S, Hetmanski MT, Rainbird SC (1998) Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: III. Determination of mycotoxins in rice bran. Food Addit. Contam., 15, 185-94.
- (3) Escobar A, Regueiro OS (2002) Determination of aflatoxin B1 in food and feedstuffs in Cuba (1990 through 1996) using an immunoenzymatic reagent kit (Aflacen). J. Food Prote., 65, 219-21.
- (4) Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D (2004) Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am. J. Clin. Nutr., 80, 1106-22.
- (5) Park JW, Kim EK, Kim YB (2004) Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1 through food consumption. Food Add. Cont., 21, 70-5
- (6) Tabata S, Kamimura H, Ibe A, Hashimoto H, Iida M, Tamura Y, Nishima T (1993) Aflatoxin contamination in foods and foodstuffs in Tokyo: 1986-1990. J. AOAC Int., 76, 32-5.
- (7) Omer RE, Verhoef L, Van't Veer P, Idris MO, Kampman E, Bunschoten A, Kok FJ (2001) Peanut butter intake, GSTM1 genotype and hepatocellular carcinoma: a case-control study in Sudan. Cancer Causes Control, 12, 23-32.
- (8) Pietri A, Bertuzzi T, Pallaroni L, Piva G (2004) Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. Food Add. Cont., 21, 479-487.
- (9) Lombaert GA, Pellaers P, Neumann G, Kitchen D, Huzel V, Trelka R, Kotello S, Scott PM (2004) Ochratoxin A in dried vine fruits on the Canadian retail market. Food Add. Cont., 21, 578-585.
- (10) Biffi R, Munari M, Dioguardi L, Ballabio C, Cattaneo A, Galli CL, Restani P (2004) Ochratoxin A in conventional and organic cereal derivatives: a survey of the Italian market, 2001-02. Food Add. Cont., 21, 586-591.
- (11) Rosa CAR, Magnoli CE, Fraga ME, Dalcero AM, Santana DMN (2004) Occurrence of ochratoxin A in wine and grape juice marketed in Rio de Janeiro, Brazil. Food Add. Cont., 21, 358-364.
- (12) Bonvehi JS (2004) Occurrence of

ochratoxin A in cocoa products and
chocolate. Agr. Food Chem., 52, 6347-52.

corn-based foods for infant consumption.
Food Add. Cont., 21, 693-99.

- (13) DeCastro MFPM, Shephard GS, Sewram
V, Vicente E, Mendoca TA, Jórdan AC
(2004) Fumonisin in Brazilian

参考資料

個票

(検出例を含む食品については産地を示さず)

表1. 平成16年度品目別アフラトキシン汚染実績まとめ

品名	試料数	不検出	国産	輸入	不明	B1 (μg/kg)	B2 (μg/kg)	G1 (μg/kg)	G2 (μg/kg)
生トウモロコシ	10	10	8	2	0				
コーンフレーク	20	20	17	3	0				
そば粉	12	12	8	4	0				
粉ピーナッツ	10	10	1	4	5				
米	53	53	53	0	0				
コーングリッツ	10	10	0	7	3				
ポップコーン	10	10	0	10	0				
殻付きピーナッツ	30	30	19	10	1				
ピーナッツバター	21	11	4	7	10	1.07(0.17-2.59, n=10)*	0.27(0.16-0.52, n=7)	0.40(0.17-0.81, n=4)	0.21(0.12-0.46, n=4)
ごま油	10	10	10	0	0				
ピーナッツ	30	30	7	23	0				
スイートコーン	20	20	0	20	0				

不検出：B1、B2、B3のいずれも不検出

*米：5、日本：2、中国：1、不明：2

参考資料

個票

(検出例を含む食品については産地を示さず)

生とうもろこし		測定したマイ コトキシソ	アフラトキシソ	
検出限界	B1G1 0.05, B2G2 0.02ug/Kg			
定量限界	0.1ug/kg			
回収率(%)	B1	B2	G1	G2
濃度(0.1 ug/kg)	84.8	75.5	104	91.8
濃度(5.0 ug/kg)	32.0	38.6	43.1	47.3

産地	原材料	濃度(ug/kg)			
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
長野県産(セール)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
長野県産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
長野県産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
長野県産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
北海道産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
北海道産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
北海道産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
北海道産(外皮付)		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
台湾		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02
中国産		<0.05	<0.02	<0.05	<0.02

品名	コーンフレーク	測定した マイコトキシ ン	アフラトキシ ン
----	---------	---------------------	-------------

サンプル番号	産地	原材料	濃度($\mu\text{g/kg}$)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
C-1	エジプト	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-2		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-3		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-4		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-5		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-6		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-7		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-8		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-9	エジプト フランス	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-10		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-11		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-12		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-13		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-14		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-15		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-16		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-17		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-18		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-19		とうもろこし	ND	ND	ND	ND
C-20		とうもろこし	ND	ND	ND	ND

ND : 未設定

品名	そば粉		測定したマイ コトキシソ	アフラトキシソ
PCR法	検出限界 B1, G1	0.03 ug/Kg		
	検出限界 B2, G2	0.01 ug/Kg		
	定量限界 B1, G1	0.1 ug/kg		
	定量限界 B2, G2	0.03 ug/kg		

		回収率(%)			
		B1	B2	G1	G2
	濃度(0.1 ug/kg) SP-1-1	78.8	80.1	72.4	83.1
	濃度(0.1 ug/kg) SP-1-2	77.0	77.1	77.1	81.6
	濃度(0.1 ug/kg) SP-1-3	78.6	78.7	71.5	83.3
	平均	78.1	78.6	73.7	82.7
	SD	1.0	1.5	3.0	0.9
	RSD	1.3	1.0	4.1	1.1
	濃度(5.0 ug/kg) SP-2-1	69.3	75.7	75.2	80.8
	濃度(5.0 ug/kg) SP-2-2	68.6	75.8	73.9	80.5
	濃度(5.0 ug/kg) SP-2-3	68.2	75.3	72.8	79.6
	平均	68.7	75.6	74.0	80.3
	SD	0.6	0.3	1.2	0.6
	RSD	0.8	0.3	1.6	0.8

サンプル番号	産地	原材料	濃度(ug/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
SP1	日本	そば	ND	ND	ND	ND
SP2	日本	玄そば	ND	ND	ND	ND
SP3	日本	玄そば	ND	ND	ND	ND
SP4	日本	そば	ND	ND	ND	ND
SP5	日本	そば	ND	ND	ND	ND
SP6	日本	そば	ND	ND	ND	ND
SP7	中国、米国、カナダ	そば	ND	ND	ND	ND
SP8	中国	そば	ND	ND	ND	ND
SP9	不明	そば	ND	ND	ND	ND
SP10	不明	そば	ND	ND	ND	ND
SP11	中国	精製そば	ND	ND	ND	ND
SP12	中国	そば	ND	ND	ND	ND

品名	粉ピーナッツ	イコトキシ ン	アフラトキシ ン
PCR法	検出限界 B1, G1	0.03 ug/Kg	
	検出限界 B2, G2	0.01 ug/Kg	
	定量限界 B1, G1	0.1 ug/kg	
	定量限界 B2, G2	0.03 ug/kg	

		回収率(%)			
		B1	B2	G1	G2
	濃度(0.1 ug/kg) PP-10-1	64.0	74.8	39.4	50.8
	濃度(0.1 ug/kg) PP-10-2	51.5	64.0	26.5	25.6
	濃度(0.1 ug/kg) PP-10-3	60.0	70.3	33.3	38.9
	平均	58.5	69.7	33.1	38.4
	SD	6.4	5.4	6.5	12.6
	RSD	10.9	7.8	19.5	32.8
	濃度(5.0 ug/kg) PP-10-1	67.5	75.4	34.9	41.6
	濃度(5.0 ug/kg) PP-10-2	72.7	79.8	57.4	65.9
	濃度(5.0 ug/kg) PP-10-3	64.0	71.9	31.9	39.0
	平均	68.1	75.7	41.4	48.8
	SD	4.4	4.0	13.9	14.8
	RSD	6.4	5.2	33.7	30.4

サンプル番号	品名	産地	原材料	濃度(ug/kg)			
				AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
PP1	ピーナッツクランチ	不明	小麦粉、砂糖、ピーナッツパウダー、植物油、水、カラメル	ND	ND	ND	ND
PP2	粉末ピーナッツ	不明	落花生	ND	ND	ND	ND
PP3	八割ピーナッツ	不明	落花生	ND	ND	ND	ND
PP4	ピーナッツクランチ	日本	落花生	ND	ND	ND	ND
PP5	粉末ピーナッツ	不明	ピーナッツ	ND	ND	ND	ND
PP6	ローストピーナッツ	アメリカ	ピーナッツ	ND	ND	ND	ND
PP7	粉落花生	中国	落花生	ND	ND	ND	ND
PP8	16割落花生	中国	落花生	ND	ND	ND	ND
PP9	8割落花生	中国	落花生	ND	ND	ND	ND
PP10	粉末ピーナッツ	不明	落花生	ND	ND	ND	ND

品名	玄米、精白米		測定したマイ	アフラトキシシン		
			コトキシシン			
	検出限界	0.05 ug/Kg				
	定量限界	0.1 ug/kg				
	回収率 (%)	B1	B2	G1	G2	
	濃度(0.1 ug/kg)	82.0	83.9	84.4	89.8	
	濃度(5.0 ug/kg)	83.7	87.8	82.3	87.1	

サンプル番号	品名	産地	濃度(ug/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
1	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
2	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
3	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
4	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
5	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
6	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
7	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
8	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
9	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
10	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
11	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
12	玄米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
13	玄米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
14	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
15	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
16	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
17	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
18	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
19	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
20	精白米	中部	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
21	精白米	関西	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
22	精白米	関西	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
23	玄米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
24	精白米	山口	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
25	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
26	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
27	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
28	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
29	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
30	精白米	中国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
31	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
32	玄米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
33	玄米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
34	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
35	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
36	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
37	玄米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
38	玄米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
39	玄米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
40	玄米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
41	玄米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
42	精白米	四国	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
43	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
44	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
45	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
46	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
47	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
48	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
49	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
50	精白米	九州	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
51	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
52	玄米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05
53	精白米	東北	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

品名	コーングリッツ	測定した マイコトキシ ン	アフラトキシ ン
----	---------	---------------------	-------------

ND：未設定

サンプル番号	産地	原材料	濃度($\mu\text{g/kg}$)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
G-1	不明	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-2	中国	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-3	中国	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-4	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-5	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-6	不明	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-7	不明	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-8	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-9	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
G-10	南アフリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND

品名	ポップコーン	測定した マイコトキシ ン	アフラトキシ ン
----	--------	---------------------	-------------

サンプル番号	産地	原材料	濃度(μ g/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
P-1	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-2	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-3	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-4	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-5	フランス	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-6	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-7	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-8	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-9	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
P-10	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND

ND : 未設定

品名	から付きピーナッツ	マイコトキシ	アフラトキシン		
	検出限界	0.05 ug/Kg			
	定量限界	0.1 ug/kg			
	回収率(%)	84%			
	濃度(0.1ug/kg)	B1 65%	B2 85%	G1 65%	G2 85%
	濃度(5.0 ug/kg)	B1 80%	B2 86%	G1 105%	G2 98%

サンプル番号	産地	濃度(ug/kg)			
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
P-1	中国	0	0	0	0
P-2	—	0	0	0	0
P-3	中国、山東省	0	0	0	0
P-4	中国	0	0	0	0
P-5	記載なし	0	0	0	0
P-6	中国	0	0	0	0
P-7	中国	0	0	0	0
P-8	—	0	0	0	0
P-9	中国	0	0	0	0
P-10	中国、山東省	0	0	0	0
P-11	—	0	0	0	0
P-12	—	0	0	0	0
P-13	—	0	0	0	0
P-14	—	0	0	0	0
P-15	中国	0	0	0	0
P-16	—	0	0	0	0
P-17	—	0	0	0	0
P-18	中国、山東省	0	0	0	0
P-19	中国	0	0	0	0
P-20	—	0	0	0	0
P-21	—	0	0	0	0
P-22	—	0	0	0	0
P-23	—	0	0	0	0
P-24	—	0	0	0	0
P-25	—	0	0	0	0
P-26	—	0	0	0	0
P-27	—	0	0	0	0
P-28	—	0	0	0	0
P-29	—	0	0	0	0
P-30	—	0	0	0	0

プロトコールで変更した点 — : 国産表示

0 = 検出限界以下

品名	ごま油		測定した マ イコトキシシ	アフラトキシ	
	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	単位
検出限界	0.03	0.03	0.03	0.03	μg /kg
定量限界	0.1	0.1	0.1	0.1	μg /kg
回収率(5,2.5,7	98.3	103.7	91.2	97.6	%
回収率(0.2,0.1,0	103	106.9	102.5	81.5	%

サンプル番号	産地	原材料	濃度 (μg/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
G-1	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-2	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-3	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-4	日本	ごま	-	-	-	-
G-5	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-6	日本	ごま	-	-	-	-
G-7	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-8	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-9	日本	食用ごま油	-	-	-	-
G-10	日本	食用ごま油	-	-	-	-

プロトコールで変更した点

試料10gにクロロホルムを加えて50mLとする。ろ液50mLに無水Na₂SO₄を加えて脱水後、フロリジルカラムに負荷、クロロホルム・メタノール(9:1)30mLで洗浄後、アセトン・水(99:1)40mLで溶出。溶出液を減圧乾固後、クロロホルム200μLに溶解。20μLを2個HPLC分析用に分けた後、別の20μLをシリカゲルHPTLCプレートに塗布、クロロホルム・アセトン(9:1)及びエーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5)で展開後紫外線を照射し、AFの有無を判定。陽性試料は、デンストメーターで定量。HPLC用試験溶液は、クロロホルムを気散させた後TFA処理後、HPLCで定量。

確認試験：陽性試料については、再度、20mLをシリカゲルHPTLCプレートに塗布、クロロホルム・アセトン(9:1)で展開後、無水トリフルオロ酢酸を滴下し、暗所および40℃でそれぞれ10分間放置後、クロロホルム・メタノール(95:5)で展開し、AFB1及びAFG1のTFA誘導体を観察。

品名	ピーナッツ					
測定した マイコトキシン	アフラトキシン					
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	単位
	検出限界	0.03	0.03	0.03	0.03	μg/kg
	定量限界	0.1	0.1	0.1	0.1	μg/kg
	回収率 (5 μg)	94.4	99.1	98.5	97.6	%
	回収率 (0.2 μg)	98.3	113.8	87.7	91.9	%
サンプル番号	産地	原材料	濃度 (μg/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
P-1	日本	半立落花生	-	-	-	-
P-2	日本	落花生(千葉県産)	-	-	-	-
P-3	日本	千葉県産落花生	-	-	-	-
P-4	日本	落花生	-	-	-	-
P-5	日本	落花生	-	-	-	-
P-6	中国	落花生、食塩	-	-	-	-
P-7	アメリカ	パニッシュピーナッツ、植物性油脂、食塩	-	-	-	-
P-8	中国	有機落花生	-	-	-	-
P-9	中国	有機落花生(中国産)、植物油(パーム油)、バター、食塩	-	-	-	-
P-10	中国	有機落花生(中国産)	-	-	-	-
P-11	中国	落花生(中国産)、食塩、調味料(7ミ/酸等)、酸味料、甘味料(スレビ7)	-	-	-	-
P-12	中国	ピーナッツ、植物油脂、食塩、乳脂肪	-	-	-	-
P-13	中国	落花生(中国産)、植物油	-	-	-	-
P-14	中国	落花生(中国産)、食塩	-	-	-	-
P-15	中国	落花生、食塩、植物油	-	-	-	-

P-16	中国	有機落花生、食塩	-	-	-	-
P-17	中国	有機落花生、植物油、食塩	-	-	-	-
P-18	中国	落花生、植物油(パーム油)、食塩、ショートニング[植物油(大豆油)、香料]	-	-	-	-
P-19	中国	落花生(中国)、食塩、植物油	-	-	-	-
P-20	中国	落花生、植物油、食塩	-	-	-	-
P-21	中国	落花生	-	-	-	-
P-22	アメリカ	ピーナッツ、植物性油脂、食塩	-	-	-	-
P-23	中国	落花生、食塩、植物油	-	-	-	-
P-24	アメリカ	ピーナッツ、砂糖、植物油、蜂蜜、ポテトスターチ、食塩、安定剤(キサンタン)	-	-	-	-
P-25	日本	国内産落花生、食塩	-	-	-	-
P-26	中国	落花生(中国産)、食塩	-	-	-	-
P-27	中国	落花生(中国産)	-	-	-	-
P-28	日本	国内産落花生	-	-	-	-
P-29	中国	落花生、食塩、甘味料(アジ7)、酸味料、糊料(アルソ)	-	-	-	-
P-30	中国	落花生、食塩、植物油	-	-	-	-

プロトコールで変更した点

試料20gに水10mL及びクロロホルム100mLを加え15分間振とう。ろ液50mLに無水

Na₂SO₄を加えて脱水後、フロリジルカラムに負荷、クロロホルム・メタノール(9:1)30mLで洗浄後、アセトン・水(99:1)40mLで溶出。溶出液を減圧乾固後、クロロホルム200mLに溶解。20mLを2個HPLC分析用に分けた後、別の20mLをシリカゲルHPTLCプレートに塗布、クロロホルム・アセトン(9:1)及びエーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5)で展開後紫外線を照射し、AFの有無を判定。陽性試料は、

品名	スウィートコーン	測定した マイコトキシ ン	アフラトキシ ン
----	----------	---------------------	-------------

サンプル 番号	産地	原材料	濃度(μ g/kg)			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
S-1	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-2	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-3	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-4	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-5	ニュージーランド	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-6	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-7	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-8	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-9	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-10	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-11	ニュージーランド	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-12	タイ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-13	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-14	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-15	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-16	中国	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-17	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-18	ニュージーランド	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-19	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND
S-20	アメリカ	とうもろこし	ND	ND	ND	ND

ND : 未設定

品名	ピーナッツバター		測定した マ イコトキシシ	アフラトキシシ	
	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	単位
検出限界	0.03	0.03	0.03	0.03	μg/kg
定量限界	0.1	0.1	0.1	0.1	μg/kg
回収率(5,2.5,7	93.8	93.5	92.1	92.3	%
回収率(0.2,0.1,0	98.3	79.0	84.2	101.2	%

サンプル番号	原材料	濃度 (μg/kg)				確認の有 無
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	
B-1	ピーナツ、砂 糖、植物油 脂、食塩	0.35	0	0	0	OK
B-2	ピーナツ、砂 糖、植物油 脂、食塩	0.70	0.18	0	0	OK
B-3	落花生	0	0	0	0	
B-4	ピーナツ、粉 糖、加工油 脂、食塩	0.89	0.19	0.81	0.46	OK
B-5	ピーナツ、植物 油脂、三温 糖、クリームバ ター	0	0	0	0	
B-6	ピーナツ、植物 油脂、砂糖、 食塩	0	0	0	0	
B-7	ピーナツ、植物 油脂、砂糖、 食塩	1.56	0.17	0.17	0.12	OK
B-8	ピーナツ、砂 糖、植物性油 脂、食塩	2.03	0.40	0.32	0.13	OK
B-9	ピーナツ、砂 糖、植物性油 脂、食塩	2.59	0.52	0.30	0.12	OK
B-10	落花生、砂 糖、植物性油 脂(純実油、な ま油)、食塩	0.71	0.16	(0.05)	0	OK
B-11	ピーナツ、植物 油脂、砂糖、 食塩、乳化剤	0	0	0	0	
B-12	ピーナツ、植物 油脂、砂糖、 食塩、乳化剤	0	0	0	0	
B-13	ピーナツ、食 塩、植物油 脂、砂糖	0	0	0	0	
B-14	ピーナツ、食 塩、植物油 脂、砂糖	0.17	0	0	0	OK
B-15	干果落花生、ショート ン、食塩	0.18	0	0	0	OK
B-16	落花生(干果落 花生)、砂糖、 ショートン、食 塩	1.51	0.30	0	0	OK
B-17	ピーナツ(国 産)、植物油 脂、砂糖、 塩、酸化防止	0	0	0	0	
B-18	落花生	0	0	0	0	
B-19	落花生(干果落 花生)、植物油 脂、砂糖(三温 糖)、バター	0	0	0	0	

B-20	ビーナツバター、 植物油、砂糖、デキストリン、 クリームパウダー、 脱脂粉乳、ア ルミン	0	0	0	0	
B-21	ビーナツバター、 植物油、砂糖、ビーナツ 粒、デキストリン、 クリームパウダー、 脱脂粉乳	0	0	0	0	

プロトコルで変更した点

試料20gに飽和食塩水3mL及びクロロホルム100mLを加えて3分間ホモジナイズ。ろ液50mLに無水Na₂SO₄を加えて脱水後、フロリジルカラムに負荷。クロロホルム・メタノール(9:1)30mLで洗浄後、アセトン・水(99:1)40mLで溶出。溶出液を減圧乾固後、クロロホルム200mLに溶解。20mLを2個HPLC分析用に分けた後、別の20mLをシリカゲルHPTLCプレートに塗布。クロロホルム・アセトン(9:1)及びエーテル・メタノール・水(94:4.5:1.5)で展開後紫外線を照射し、AFの有無を判定。

分 担 研 究 報 告 書

モンテカルロ法を用いたナッツ類からの
アフラトキシン暴露評価に関する研究

佐藤 敏彦

厚生労働科学研究費補助金研究事業
(食品の安全性高度化推進研究事業)
分担研究報告書(平成16年度)

モンテカルロ法を用いたナッツ類からのアフラトキシン暴露評価に関する研究

分担研究者
北里大学医学部衛生学公衆衛生学教室
佐藤 敏彦

研究要旨

日本人のアフラトキシン暴露による健康リスクを評価するために、日常の食品摂取によるアフラトキシン暴露量の推定評価を行った。暴露量推定のために、今年度はまず、アフラトキシンを多く含有するピーナッツおよびアーモンド摂取による暴露量を推定した。推定には、国民栄養調査の食品別の摂取量と、検査および実態調査で得られた食品中のアフラトキシン含有量データを用いた。推計にはモンテカルロ・シミュレーションの手法を用い、規制値をいくつかのレベルで設定したシナリオ別にアフラトキシン B1 の摂取量を推定した。その結果、ピーナッツ類およびアーモンドから摂取されるアフラトキシン暴露量はアフラトキシン B1 暴露による肝がん発生リスクに関するデータを考慮すると、日本人集団においては十分に低いものであることがわかった。しかしながら、用いたデータの代表性の問題、実際の分布の仮定の問題、食品摂取の相関の問題等、データの信頼性をより改善し、また、その他の食品からの暴露量も併せて再試算することが必要と思われる。

研究協力者

斉藤 史朗(東京大学)

A. 研究目的

カビ毒の中でも最も高い毒性を有すると考えられているアフラトキシン B1 について、ナッツ類を摂取することにより体内に取り込まれる暴露量の日本人全体における分布を推計し、食品中のカビ毒暴露量推定におけるモンテカルロ法適用の妥当性と限界を検討することを目的とする。

B. 研究方法

1) 対象食品

今回の調査においては、含有量に関するデータと摂取量に関するデータの品目の多くが一致しなかったため、一致していると考え得るもののみを対象とした。具体的には、ピーナッツとアーモンドの2つである。

2) 含有量データ

a. ピーナッツ: 2000 年の個別の検査データ (2981

件。そのうち検出値があるものが 238 件。検出下限値は 0.2ppb を採用した

b. アーモンド: 2000 年から 2003 年までの検査データ計 54 件。検出下限値は 0.2ppb を採用した。スライスやパウダーなどの形状は今回の推定では特に考慮しなかった。

3) 摂取量データ

a. 国民栄養調査における各年齢層別の 1 日、体重 1Kg あたりの摂取量 (g) のデータを用いたが、摂取者が全体の 0.4% 未満のものについては、シミュレーションの対象から除外した。

b. 摂取量データにおけるナッツの分類法と含有量データにおけるナッツの分類法がことなっていたが、それぞれ、以下のようにまとめた。

(ア) 摂取量の落花生(炒り)とバターピーナッツは同じく、含有量のピーナッツにあたるとしてシミュレーションした。

(イ) 摂取量のアーモンドおよびアーモンド

フライは、含有量のアーモンドにあたる
とした。

4) 推計方法

アフラトキシン B1 曝露量分布の推計は、Crystal
Ball 2000 日本語版（株）構造計画研究所）を用
いて、モンテカルロ法により実施した。

モンテカルロ法を実施するにあたり下記のような
仮定をした。

a. 含有量検出下限以下の取り扱い

ピーナッツの含有量については、全体の約 8 %
については検出値があるものの、残りの 92%につ
いては、検出下限以下となっている。そこで以下
の 2 つのシナリオを適用した。

- ・検出下限以下のものについては、検出下限値
である、0.2ppb を全てあてて。
- ・検出下限以下のものについては、検出下限値
の 0.2 と 0 の間の一様分布をすると想定する。

アーモンドについては使用したデータについて、
上記のような問題はなかった。

b. 摂取量分布

摂取量データは、個別のデータはなく、集約デ
ータのみだったので、データ全体から分布を推定
することができなかった。従って、あらかじめ分
布形状は摂取者（摂取が 0 でない者）の集約デ
ータからのみで対数正規分布を仮定し、それに非摂
取者の割合を加えることでシミュレーションデー
タを作成した。

5) 試算シナリオ

規制値につき以下の 4 つのシナリオを作成した。

- a. 全く規制をかけない場合
- b. 10ppb 以上のものの流通を禁止する場合
- c. 15ppb 以上のものの流通を禁止する場合
- d. 20ppb 以上のものの流通を禁止する場合

6) 年齢カテゴリー

今回の調査では、以下の年齢層ごとに、1 日の体
重 1 Kg あたりのアフラトキシン B1 の摂取量をシ
ミュレーションした。

a. 全年齢

- b. 1～6 歳
- c. 7～14 歳
- d. 15～19 歳
- e. 20 歳以上

7) シミュレーション方法について

a. 計算方法

含有量についてのシミュレーション結果と摂取
量についてのシミュレーション結果を 1 レコード
ごとに掛け合わせた。

b. 計算回数

それぞれ、年齢層別・シナリオ別に 10,000,000
回の計算を行なった。（10,000,000 レコードを作
成し、それぞれの含有量と摂取量を掛け合わせた
1 日の体重 1Kg あたりの摂取量を算出した。）た
だし、規制値のあるシミュレーションにおいては、
規制値以上の含有量を除いて、10,000,000 レコ
ードになるように計算した。

また、全体については、一度、年齢 70 才までの
体重 1Kg あたりの総摂取量を計算した上で、それ
を 1 才から 70 才までの日数で割ることにより、1
日あたりの摂取量を計算した。

C. 結果

1) 含有量データのシミュレーション結果

a. ピーナッツ（ただし、検出値のあるもの（全体
の約 8 %）についてのみ推定を行なった。）

- ・対数正規分布（平均=35.79 分散=57025.4）
と推定。
- ・推定の精度についての指標は以下の通り。
 - ・ χ^2 二乗検定値=29.7143
 - ・P 値=0.0084
 - ・コルモゴロフ-スミルノフ検定=0.0875
 - ・アンダーソン-ダーリング検定=1.6590

b. アーモンド

- ・対数正規分布（平均=3.71 分散=94.1）と推
定。
- ・推定の精度についての指標は以下の通り。
 - ・ χ^2 二乗検定値=20.0000

- ・P 値=0.0028
- ・コルモゴロフ-スミルノフ検定=0.1730
- ・アンダーソン-ダーリング検定=2.8802

であった。

2) 摂取量のシミュレーションデータ分布

アーモンド、落花生、バターピーナッツ、アーモンドフライのそれぞれの実際のデータにおける1、5、10、25、50、75、90、95、99パーセンタイル値とシミュレーションデータのそれとの比較を表1から表4に示した。食品、年齢層により実測値と対数正規分布を仮定したシミュレーションデータの違いの大きさにはばらつきが生じた。95パーセンタイル値で実測値とシミュレーション値の差を見ると落花生の15～19歳でシミュレーション値が実測値をもっとも下回り、バターピーナッツでは逆にシミュレーション値が実測値を上回った。

3) 推定曝露量分布

以上の含有量と摂取量のシミュレーションデータを用いて、曝露量の推定分布を表したのが、一連のヒストグラムである。いずれも低曝露に集中しており、年齢、規制値シナリオにより若干右に裾を広げた分布となっている。

推定曝露量の95パーセンタイル値で見ると、もっとも高値を示したのが「規制なし」による7～14歳のアーモンド摂取による0.04ng/kg/dayであり、極めて低い曝露量となった。規制に関する各シナリオにおいても大きな差異は認めなかった(表5)。

表6では、1日の体重1Kgあたりの摂取量が1ナノグラムを超える人数の割合を%で示した。アーモンド、ピーナッツとも規制なしの場合、0.1-0.2%ほどであり、規制をかけた場合にはその半数以下となった。

D.考察

これまでの知見によれば、アフラトキシン B1を継続的に1ng/kg/day摂取した場合の肝臓がん発生率はB型肝炎抗原陽性者において3件/100万人・年、同じく陰性者で0.1件とされている。今回のシミュレーション結果ではピーナッツ、アー

モンド摂取により1ng/kg/day以上摂取するものは大きく見積もっても全体の0.1～2%であり、両者の摂取による肝がんの過剰発生はほとんど見込まれない、という結果になった。

但し、今回の推定の過程において次のような問題があるため、それらを改善し、データの信頼性をより高めた上で再検討する必要があると思われる。

1) 含有量データについて

さまざまなソースから集められたデータであるがゆえに、整合性のとれていない部分がある。アフラトキシン B1 かどうか不明の点があり、何を計測しているのかが斉一でない。また、データの集約度が異なるものが混在している。すなわち、アーモンドについては、マイコトキシン協会による集約データは集約データで、そのままでは使えないのに対して、別に個別の検査結果のデータも存在する。また、サンプリングの代表性にも問題があると思われる。

2) 含有量データと摂取量データのマッチングの問題

摂取量において、重要と思われる品目(カシューナッツ、ピーナッツバター等)の含有量の調査が行われていないものがある。また、摂取量における形状等の分類と、含有量における分類とが異なっている。今回は、摂取量における落花生(炒り)も落花生(乾燥)も、バターピーナッツも区別なく、含有量の方の「ピーナッツ」の含有量と掛け合わせた。

3) 摂取量の相関の問題

ナッツ類の摂取量については、相関があると思われるが、相関についての調査がない。

例えば、摂取量データの「7才から14才」であるが、落花生(炒り)の摂取者数とアーモンドの摂取者の数は同じく1698人であるが、これは同じ人なのではないか? (「15才から19才」においても摂取者の数は近い。)これは、落花生(炒り)とアーモンドを含むような食品(ミックスナッツとか)をこの年代は食べることが多いとか、そういう強い相関の原因となるような慣習行動が存在するのではないか?

4) 摂取量分布の仮定の問題

今回摂取者については対数正規分布を想定して、具体的な分布は平均と標準偏差から求めた。しかし、分布の適合度合いは、年齢が高い層（「15才から19才」と「20才以上」）ではよかったが、年齢の低い層（「1才から6才」と「7才から14才」）ではあまりよくなかった。ナッツ類は小麦等と異なり嗜好品であり、より適合的な分布を仮定するためにも、摂取量データについても、個別データを使用するのが適当であろう。

E. 参考文献

1. IARC, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans. Volume 56, Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins (1992)
2. 吉池信男. 残留農薬の暴露量試算のための食品摂取量基準データの検討—1995～1997 年国民栄養調査. 食品衛生研究 Vol 50(6),2000
3. 日本人のカドミウム曝露量推計に関する研究 平成15年度 総括研究報告書 (2004)

表1:アーモンド摂取量の分布比較

(単位:グラム/体重1kg)

		1-6Y	7-14y	15-19y	20y~
A.シミュレーションデータ	1%点	0.000	0.000	0.000	0.006
	5%点	0.000	0.000	0.000	0.013
	10%点	0.001	0.000	0.000	0.018
	25%点	0.002	0.000	0.000	0.034
	50%点	0.009	0.001	0.001	0.069
	75%点	0.032	0.003	0.002	0.138
	90%点	0.103	0.009	0.004	0.258
	95%点	0.206	0.019	0.008	0.375
	99%点	0.753	0.068	0.021	0.758
B.実測サンプルデータ	1%点	0.003	0.001	0.001	0.001
	5%点	0.004	0.002	0.001	0.001
	10%点	0.004	0.002	0.002	0.002
	25%点	0.004	0.002	0.002	0.002
	50%点	0.005	0.003	0.002	0.059
	75%点	0.005	0.004	0.002	0.149
	90%点	0.006	0.005	0.002	0.336
	95%点	0.009	0.005	0.003	0.516
	99%点	2.632	0.008	0.049	0.786
A-B	1%点	-0.003	-0.001	-0.001	0.005
	5%点	-0.003	-0.002	-0.001	0.011
	10%点	-0.003	-0.002	-0.001	0.017
	25%点	-0.002	-0.002	-0.001	0.032
	50%点	0.004	-0.002	-0.001	0.010
	75%点	0.027	-0.001	0.000	-0.011
	90%点	0.097	0.005	0.002	-0.078
	95%点	0.197	0.013	0.005	-0.141
	99%点	-1.878	0.060	-0.029	-0.028
実測摂取者数		103	1698	104	119
実測サンプル数		1484	2087	1303	19098
摂取者割合(%)		6.9	81	8	0.6

※シミュレーションデータとは、対数正規分布を仮定して、実測サンプルデータの平均と分散によって計算した、1,000,000件のデータにおける各パーセント点の値である。

※実測サンプルデータとは、今回調査に用いた摂取量のデータのことである。

表2:落花生(炒り)摂取量

(単位:グラム/体重1kg)

		1-6y	7-14y	15-19y	20y-
A.シミュレーションデータ	1%点	0.000	0.000	0.000	0.010
	5%点	0.000	0.000	0.000	0.023
	10%点	0.000	0.000	0.000	0.035
	25%点	0.001	0.000	0.000	0.072
	50%点	0.002	0.001	0.000	0.159
	75%点	0.006	0.003	0.001	0.353
	90%点	0.018	0.010	0.004	0.722
	95%点	0.033	0.017	0.008	1.106
	99%点	0.108	0.054	0.034	2.466
B.実測サンプルデータ	1%点	0.004	0.001	0.001	0.001
	5%点	0.004	0.002	0.001	0.002
	10%点	0.004	0.002	0.002	0.002
	25%点	0.005	0.002	0.002	0.093
	50%点	0.006	0.003	0.002	0.217
	75%点	0.007	0.004	0.002	0.395
	90%点	0.008	0.005	0.004	0.702
	95%点	0.010	0.005	0.200	0.990
	99%点	0.013	0.009	0.488	1.648
A-B	1%点	-0.004	-0.001	-0.001	0.009
	5%点	-0.004	-0.002	-0.001	0.021
	10%点	-0.004	-0.002	-0.002	0.033
	25%点	-0.004	-0.002	-0.002	-0.021
	50%点	-0.004	-0.002	-0.002	-0.058
	75%点	-0.001	0.000	-0.001	-0.043
	90%点	0.009	0.005	0.000	0.020
	95%点	0.024	0.012	-0.192	0.116
	99%点	0.095	0.045	-0.454	0.818
実測摂取者数		522	1698	112	319
実測サンプル数		1484	2087	1303	19098
摂取者割合(%)		35	81	9	1.7

※シミュレーションデータとは、対数正規分布を仮定して、実測サンプルデータの平均と分散によって計算した、1,000,000件のデータにおける各パーセント点の値である。

※実測サンプルデータとは、今回調査に用いた摂取量のデータのことである。

表3:バターピーナッツ摂取量

		(単位:グラム/体重1kg)			
		1-6y	7-14y	15-19y	20y-
A.シミュレーションデータ	1%点	0.053	0.026	0.006	0.040
	5%点	0.106	0.051	0.015	0.067
	10%点	0.152	0.073	0.024	0.088
	25%点	0.282	0.131	0.055	0.138
	50%点	0.558	0.253	0.141	0.229
	75%点	1.105	0.490	0.358	0.381
	90%点	2.045	0.887	0.827	0.601
	95%点	2.953	1.267	1.364	0.789
	99%点	5.871	2.461	3.493	1.309
B.実測サンプルデータ	1%点	0.111	0.038	0.033	0.015
	5%点	0.111	0.038	0.033	0.050
	10%点	0.111	0.084	0.033	0.081
	25%点	0.167	0.202	0.091	0.149
	50%点	0.358	0.275	0.401	0.214
	75%点	1.273	0.438	0.481	0.378
	90%点	3.333	0.500	0.789	0.629
	95%点	3.333	2.273	0.789	0.860
	99%点	3.333	2.273	0.789	1.563
A-B	1%点	-0.059	-0.012	-0.028	0.025
	5%点	-0.006	0.013	-0.019	0.016
	10%点	0.041	-0.011	-0.009	0.007
	25%点	0.115	-0.071	-0.036	-0.011
	50%点	0.200	-0.021	-0.260	0.015
	75%点	-0.167	0.052	-0.123	0.003
	90%点	-1.288	0.387	0.038	-0.028
	95%点	-0.381	-1.006	0.576	-0.071
	99%点	2.538	0.188	2.704	-0.254
実測摂取者数		6	16	6	175
実測サンプル数		1484	2087	1303	19098
摂取者割合(%)		0.4	0.8	0.5	0.9

※シミュレーションデータとは、対数正規分布を仮定して、実測サンプルデータの平均と分散によって計算した、1,000,000件のデータにおける各パーセント点の値である。

※実測サンプルデータとは、今回調査に用いた摂取量のデータのことである。

表4:アーモンドフライ摂取量

(単位:グラム/体重1kg)

	1-6y	7-14y	15-19y	20y-
A..シミュレーションデータ				
1%点			0.022	
5%点			0.036	
10%点			0.048	
25%点			0.075	
50%点			0.126	
75%点			0.210	
90%点			0.333	
95%点			0.439	
99%点			0.733	
B.実測サンプルデータ				
1%点	0.285	0.714	0.016	0.020
5%点	0.285	0.714	0.016	0.032
10%点	0.285	0.714	0.016	0.037
25%点	0.285	0.714	0.069	0.048
50%点	0.362	0.714	0.133	0.140
75%点	0.645	0.714	0.231	0.201
90%点	0.645	0.714	0.394	0.370
95%点	0.645	0.714	0.394	0.439
99%点	0.645	0.714	0.394	0.511
A-B				
1%点			0.005	
5%点			0.020	
10%点			0.031	
25%点			0.007	
50%点			-0.007	
75%点			-0.021	
90%点			-0.061	
95%点			0.045	
99%点			0.339	
実測摂取者数	3	2	5	175
実測サンプル数	1484	2087	1303	19098
摂取者割合(%)	0.2	0.1	0.4	0.3

摂取者の割合が0.4%未満のものはシミュレーションに使用しなかった

※シミュレーションデータとは、対数正規分布を仮定して、実測サンプルデータの平均と分散によって計算した、1,000,000件のデータにおける各パーセント点の値である。

※実測サンプルデータとは、今回調査に用いた摂取量のデータのことである。

表5. 1日体重1Kgあたり摂取量の95パーセンタイル値(ナノグラム)

1. アーモンド

	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.00879	0.00570	0.00655	0.00710
1-6歳	0.00280	0.00241	0.00255	0.00263
7-14歳	0.04182	0.02706	0.03121	0.03391
15-19歳	0.00061	0.00051	0.00055	0.00057
20歳以上	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000

2. 1 ピーナッツ (検出限界以下=検出限界値と仮定)

	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.00002	0.00002	0.00002	0.00002
1-6歳	0.00214	0.00163	0.00171	0.00177
7-14歳	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
15-19歳	0.00503	0.00258	0.00285	0.00307
20歳以上	0.00403	0.00155	0.00182	0.00204

2. 2 ピーナッツ (検出限界以下=一様分布と仮定)

	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005
1-6歳	0.00401	0.00319	0.00332	0.00342
7-14歳	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
15-19歳	0.00765	0.00446	0.00483	0.00512
20歳以上	0.00689	0.00285	0.00327	0.00363

表6. 1日体重1Kgあたり摂取量が1ナノグラム以上の人の割合(%)

1. アーモンド

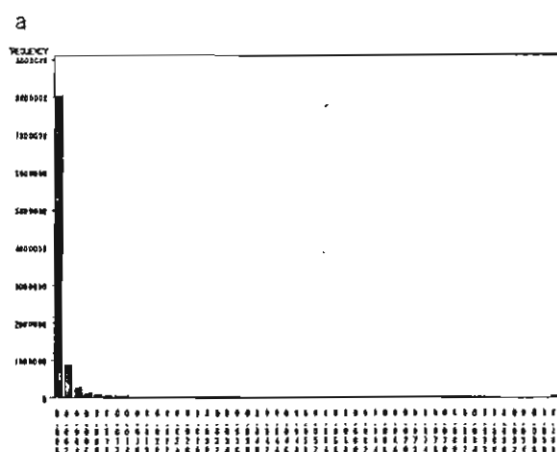
	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.061	0.021	0.029	0.036
1-6歳	0.216	0.125	0.150	0.167
7-14歳	0.170	0.052	0.073	0.088
15-19歳	0.055	0.029	0.039	0.045
20歳以上	0.053	0.027	0.035	0.040

2. 1 ピーナッツ (検出限界以下=検出限界値と仮定)

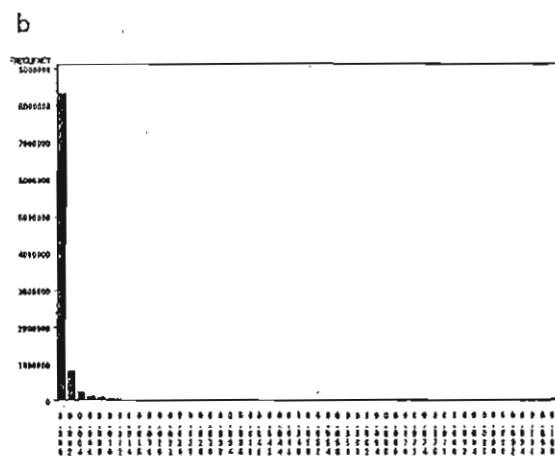
	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.026	0.007	0.009	0.011
1-6歳	0.133	0.016	0.022	0.026
7-14歳	0.115	0.038	0.050	0.060
15-19歳	0.183	0.016	0.022	0.028
20歳以上	0.152	0.030	0.043	0.053

2. 2 ピーナッツ ((検出限界以下=一様分布と仮定)

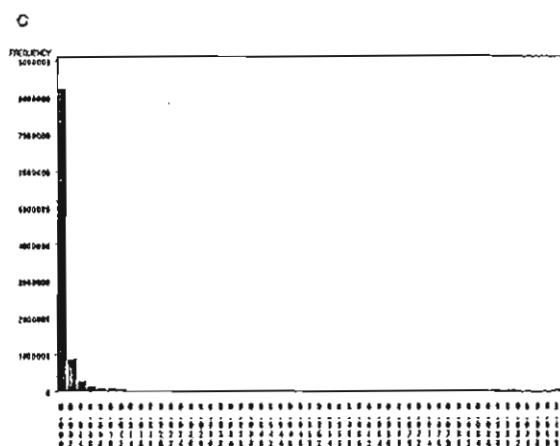
	規制なし	10ppb規制	15ppb規制	20ppb規制
全年齢	0.027	0.008	0.010	0.012
1-6歳	0.138	0.020	0.026	0.030
7-14歳	0.116	0.040	0.054	0.063
15-19歳	0.183	0.016	0.023	0.029
20歳以上	0.152	0.030	0.045	0.055



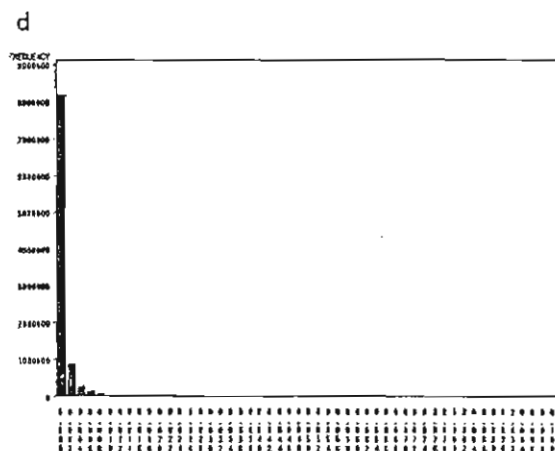
全体平均・規制なし



全体平均・規制10ppb

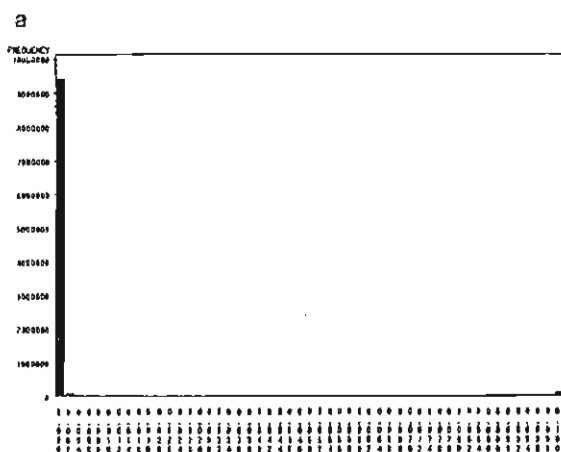


全体平均・規制15ppb

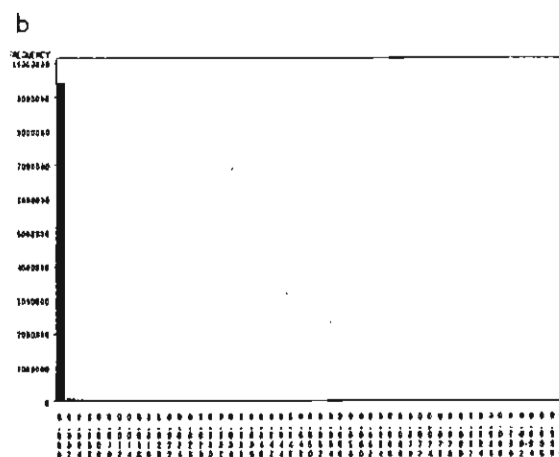


全体平均・規制20ppb

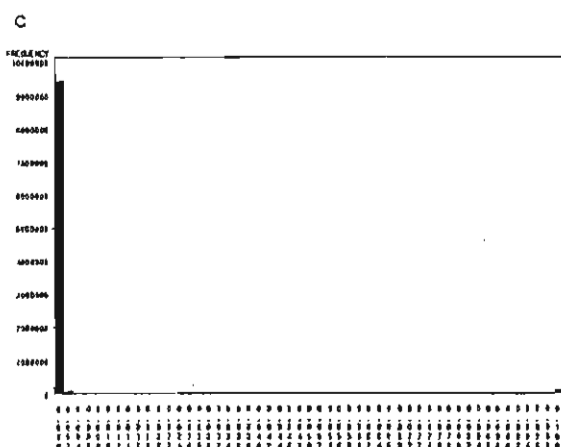
Fig. 1. 全年齢層(アーモンド)



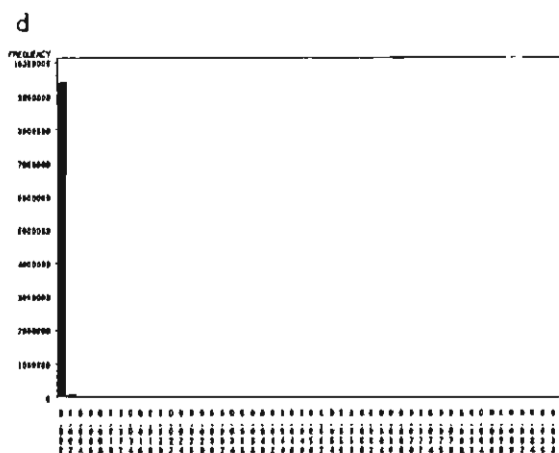
1才から6才・規制なし



1才から6才・規制10ppb

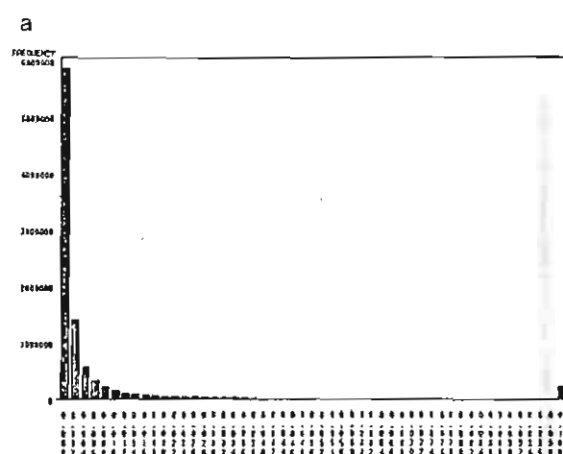


1才から6才・規制15ppb

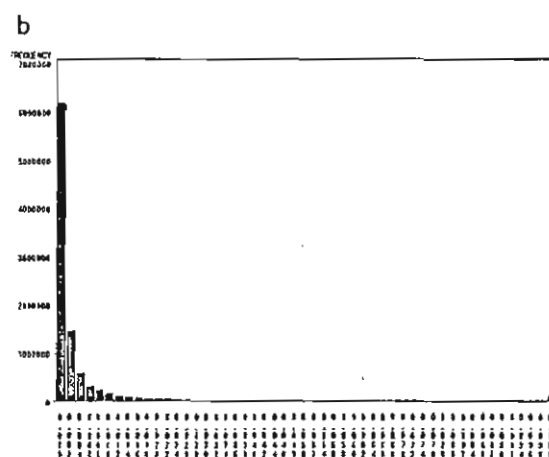


1才から6才・規制20ppb

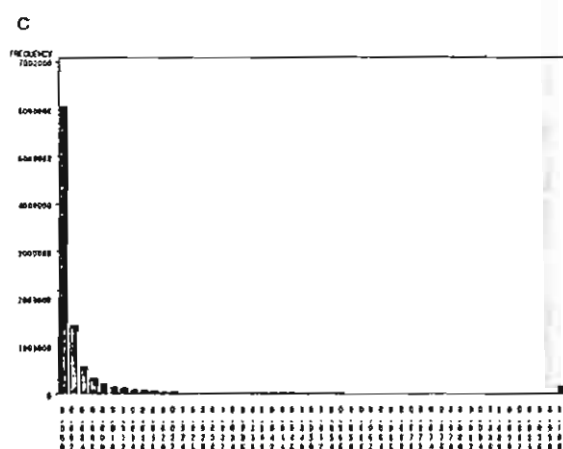
Fig. 2. 1才から6才(アーモンド)



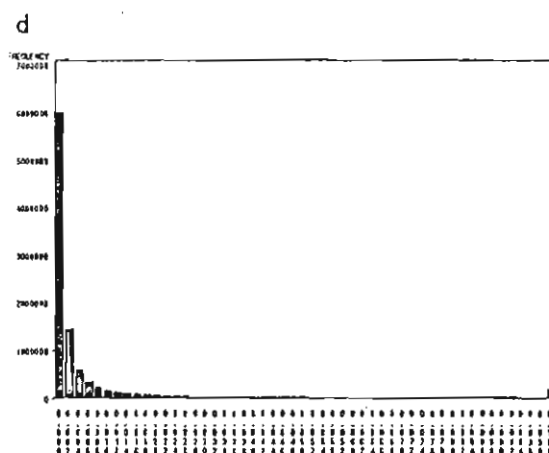
7才から14才・規制なし



7才から14才・規制10ppb

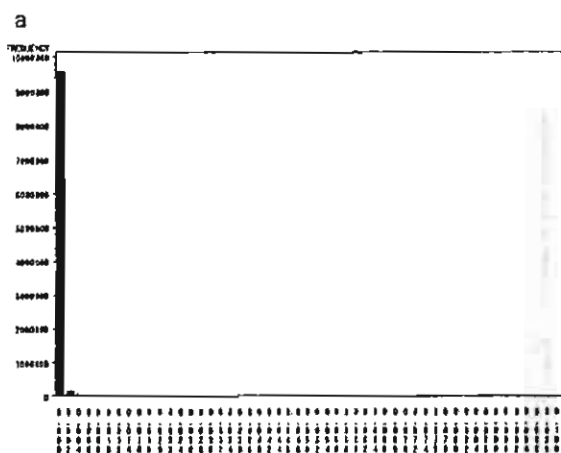


7才から14才・規制15ppb

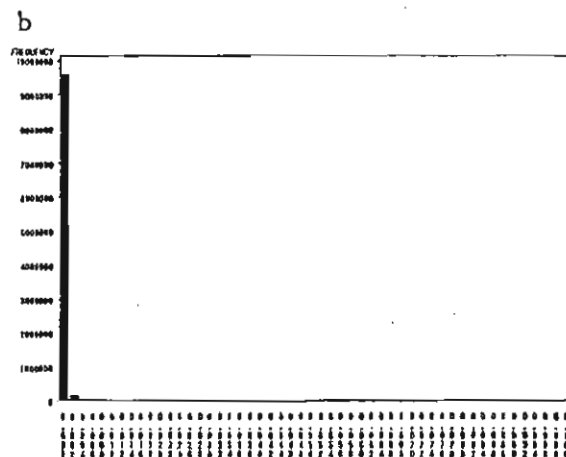


7才から14才・規制20ppb

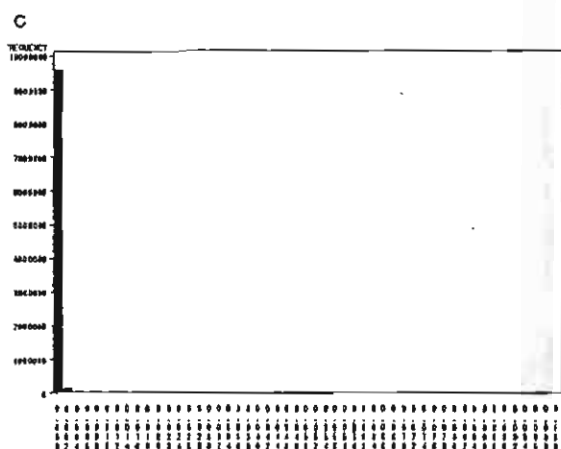
Fig. 3. 7才から14才(アーモンド)



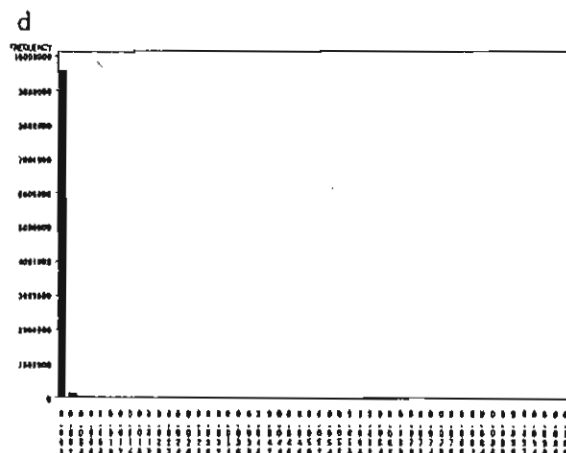
15才から19才・規制なし



15才から19才・規制10ppb



15才から19才・規制15ppb



15才から19才・規制20ppb

Fig. 4. 15才から19才(アーモンド)

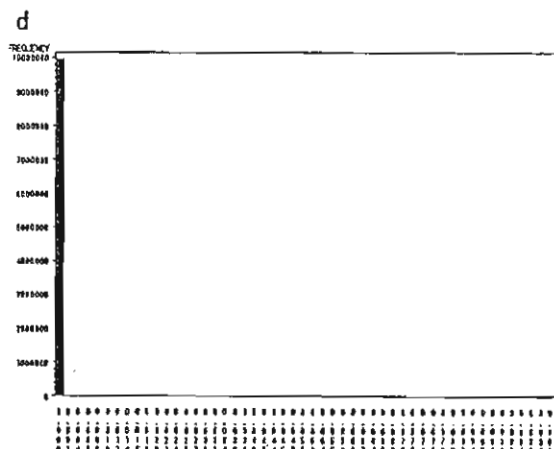
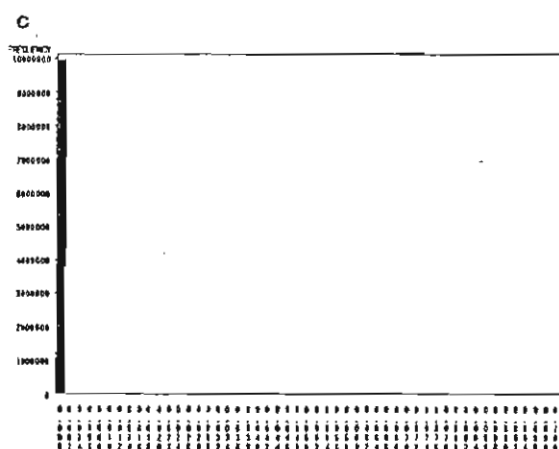
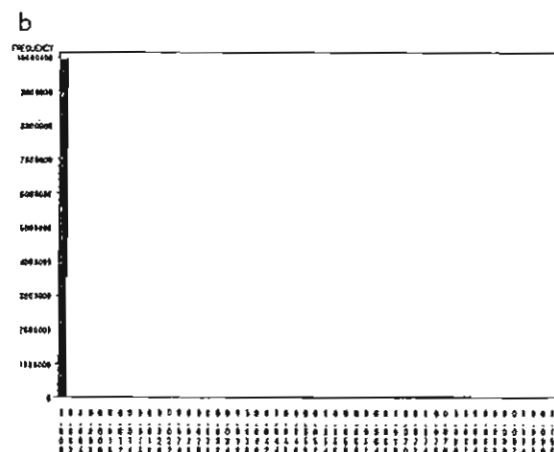
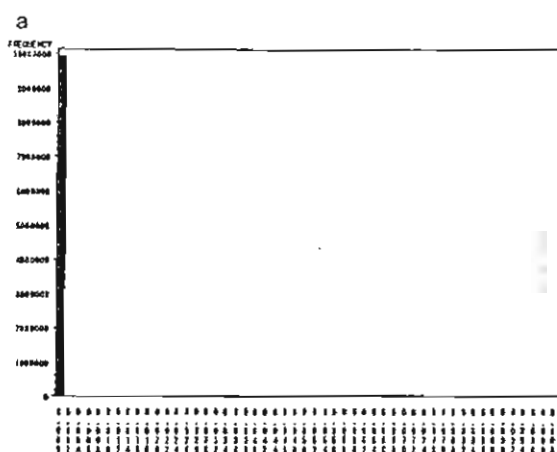
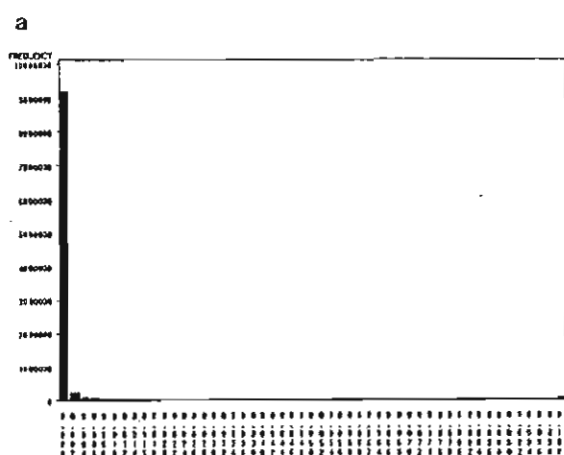
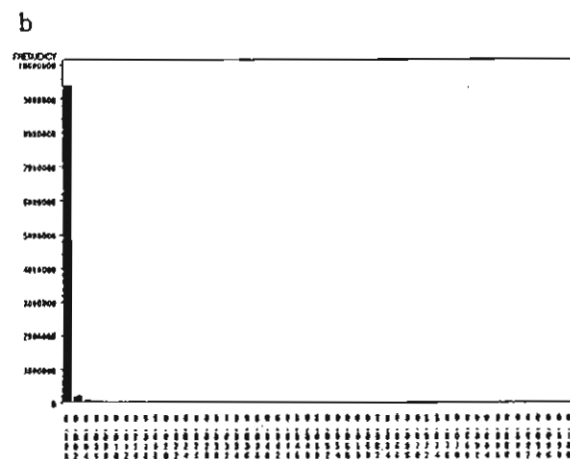


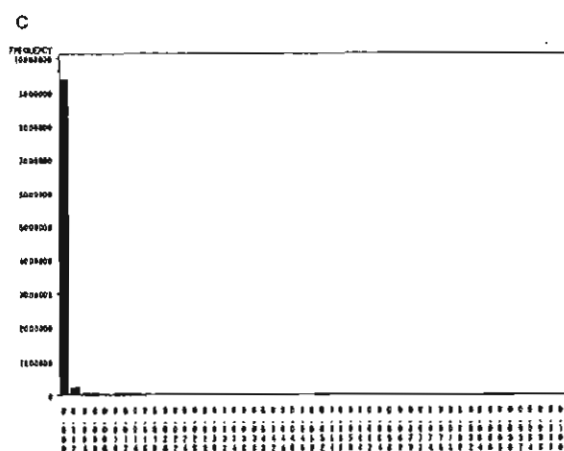
Fig. 5. 20才以上(アーモンド)



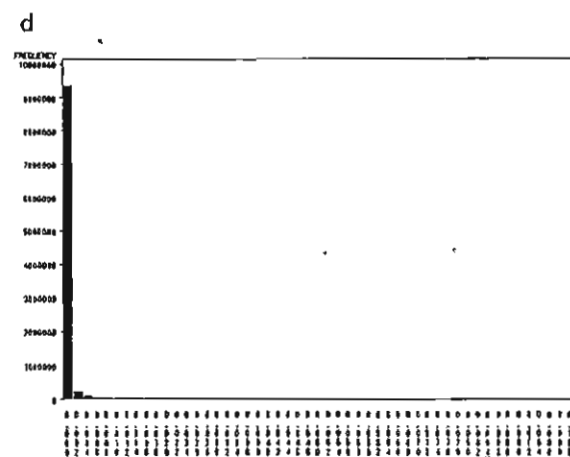
全年齢層・規制なし



全年齢層・規制10ppb

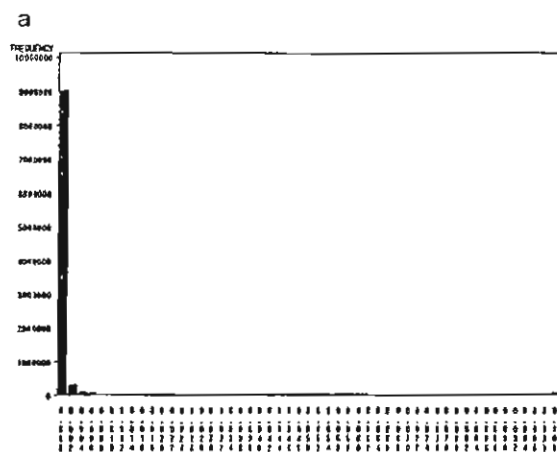


全年齢層・規制15ppb

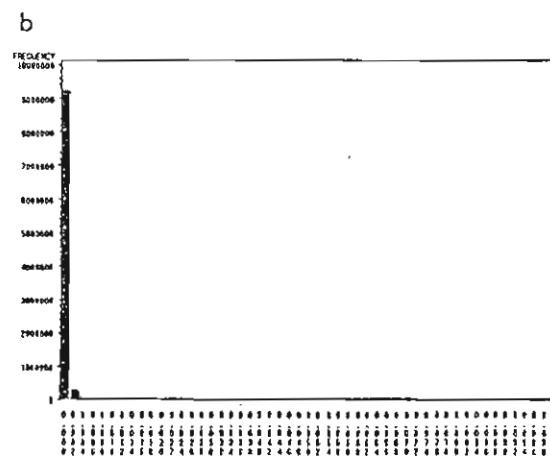


全年齢層・規制20ppb

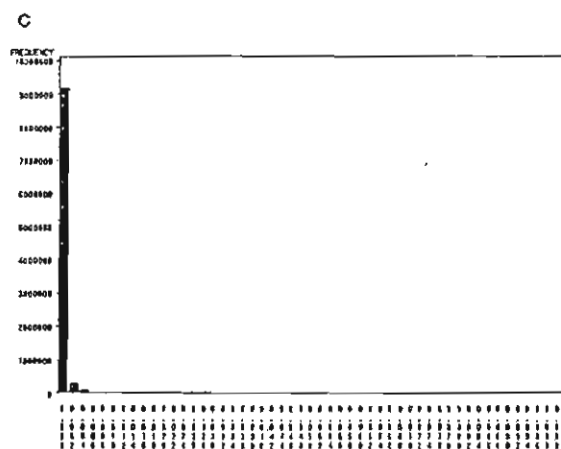
Fig. 1. 全年齢層(炒りピーナッツ)



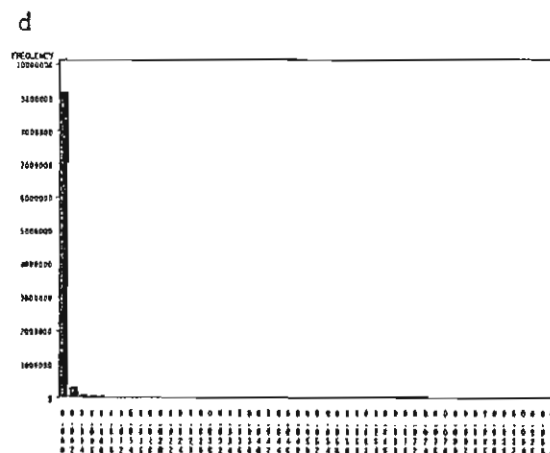
全年齡層・規制なし



全年齡層・規制10ppb



全年齡層・規制15ppb



全年齡層・規制20ppb

Fig. 2. 全年齡層(バターピーナッツ)

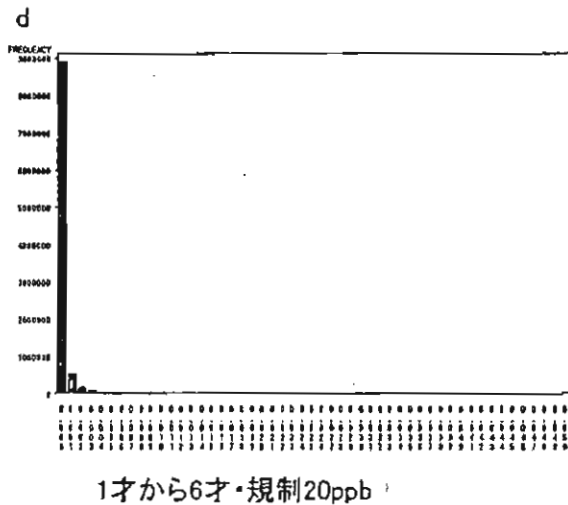
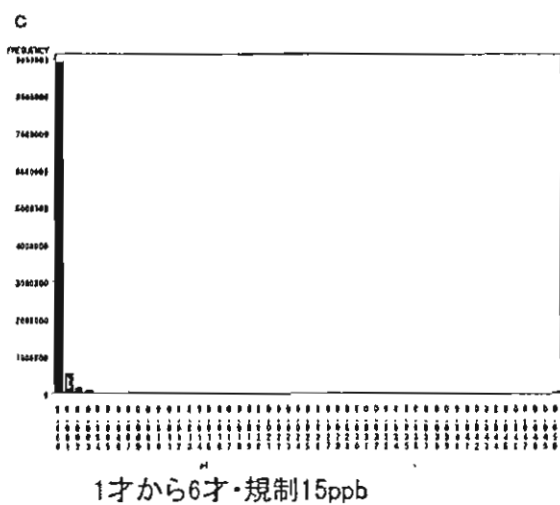
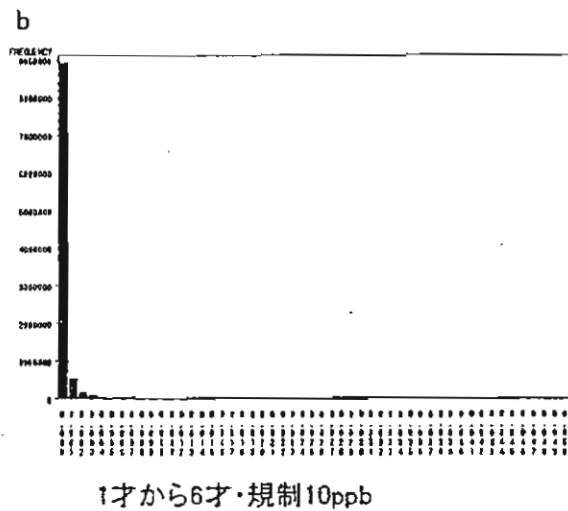
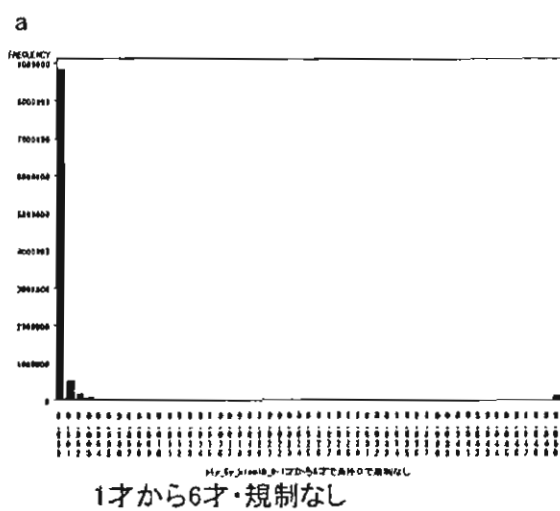
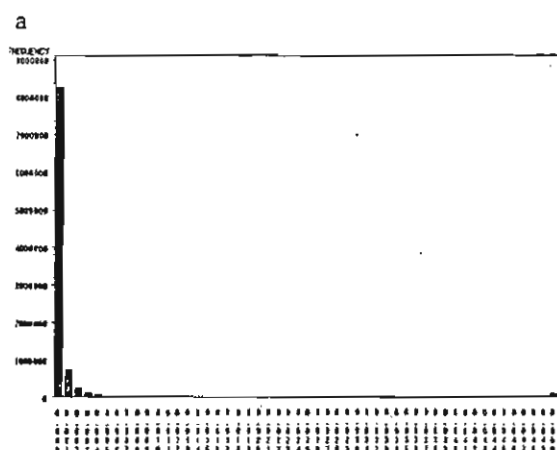
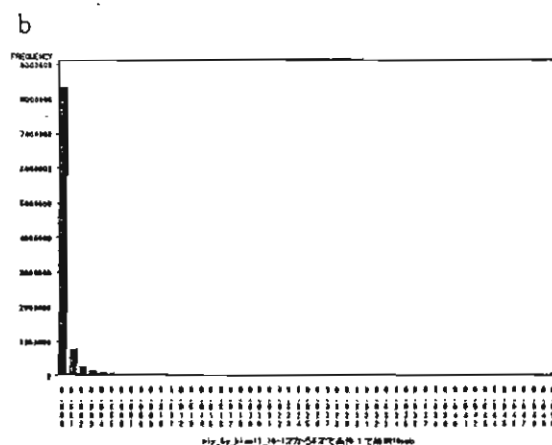


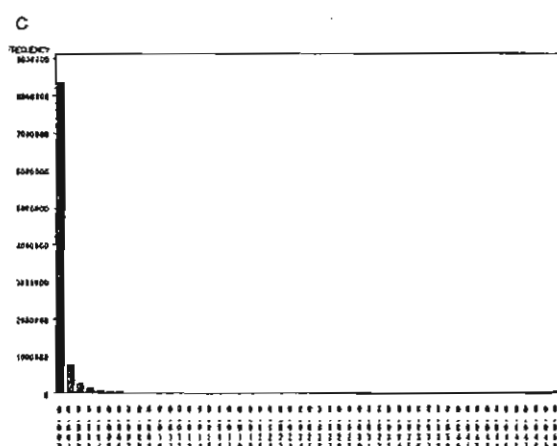
Fig. 3. 1才から6才(炒りピーナッツ)



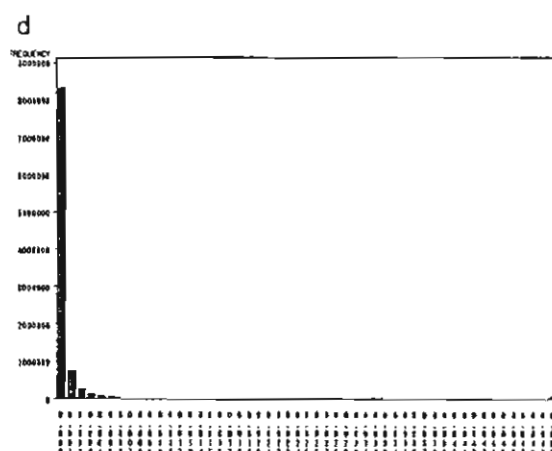
1才から6才・規制なし



1才から6才・規制10ppb

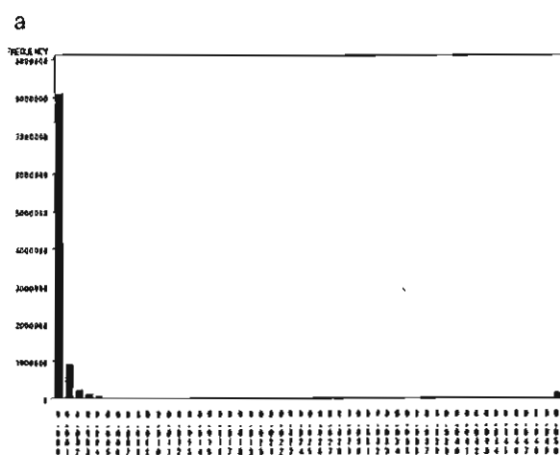


1才から6才・規制15ppb

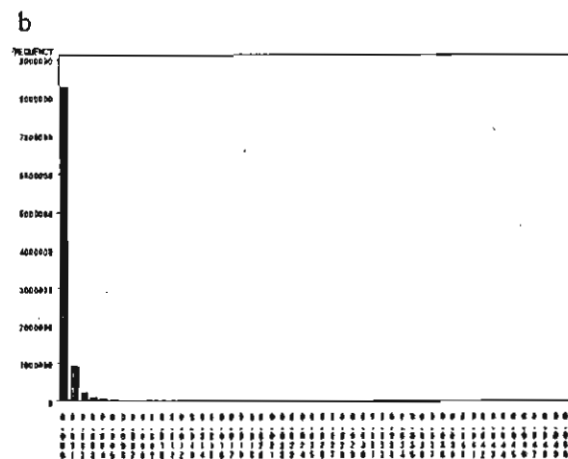


1才から6才・規制20ppb

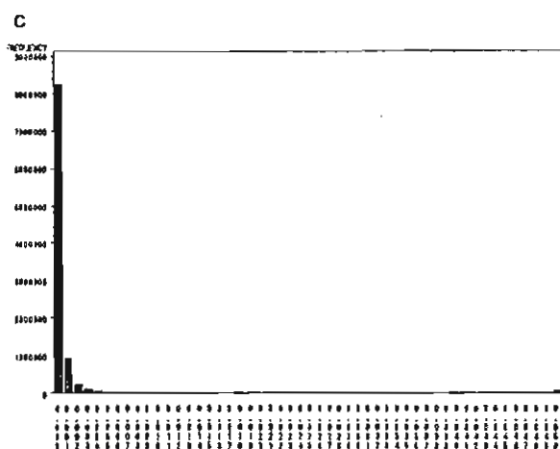
Fig. 4. 1才から6才(バターピーナッツ)



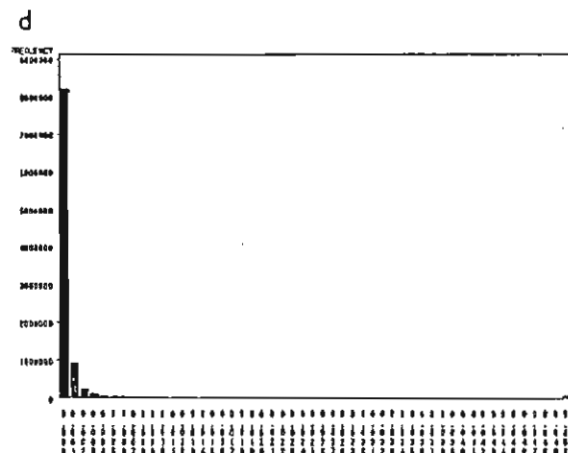
7才から14才・規制なし



7才から14才・規制10ppb

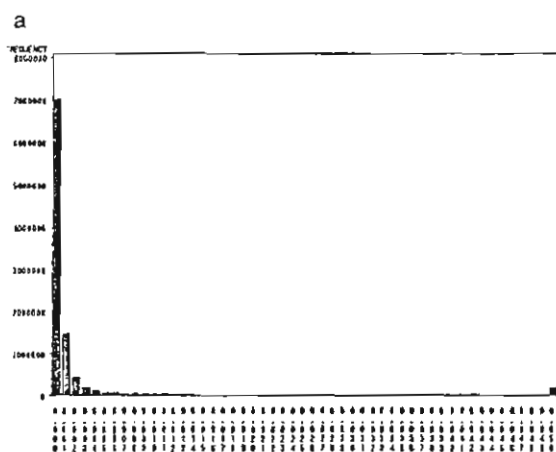


7才から14才・規制15ppb

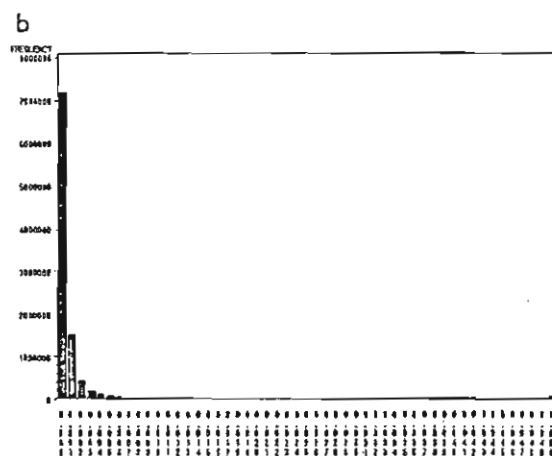


7才から14才・規制20ppb

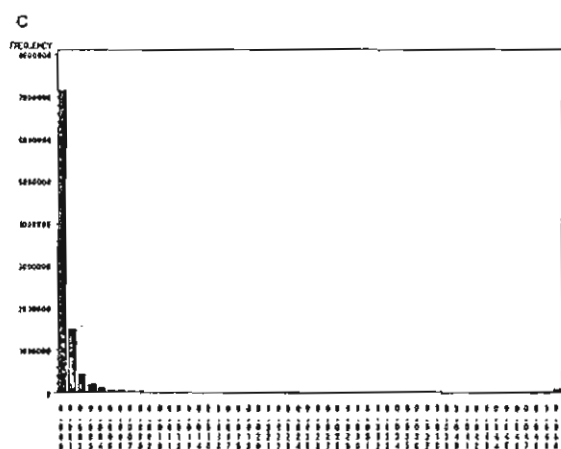
Fig. 5. 7才から14才(炒りピーナッツ)



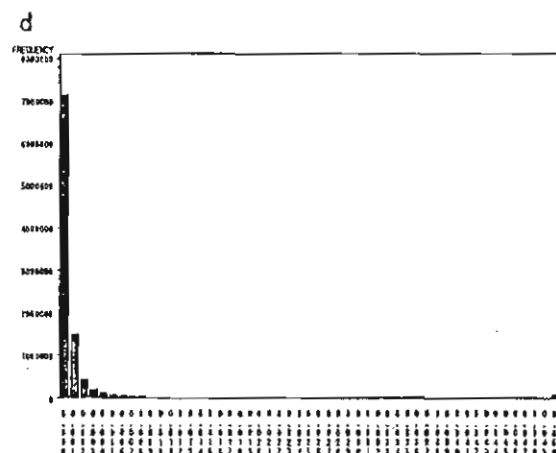
7才から14才・規制なし



7才から14才・規制10ppb

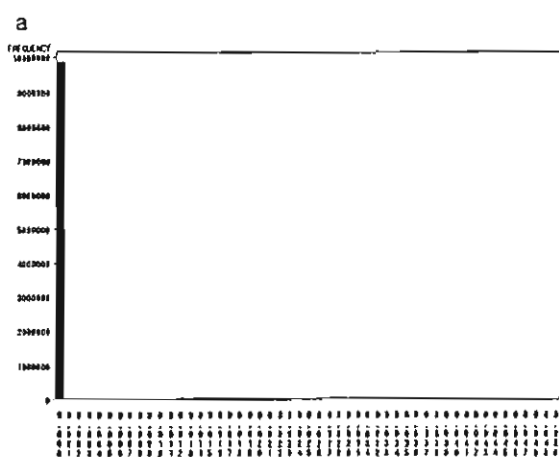


7才から14才・規制15ppb

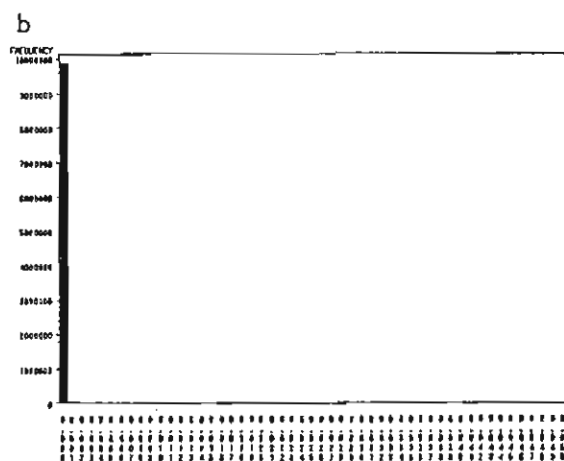


7才から14才・規制20ppb

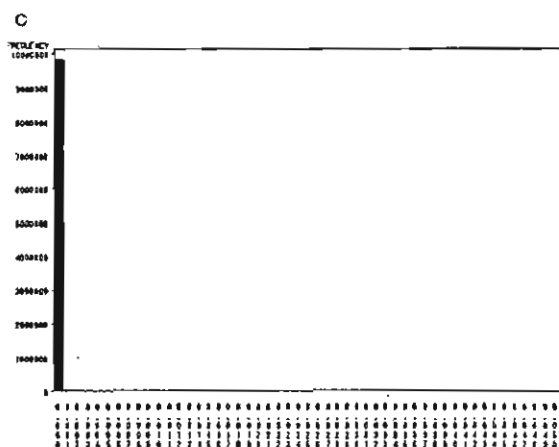
Fig. 6. 7才から14才(バターピーナッツ)



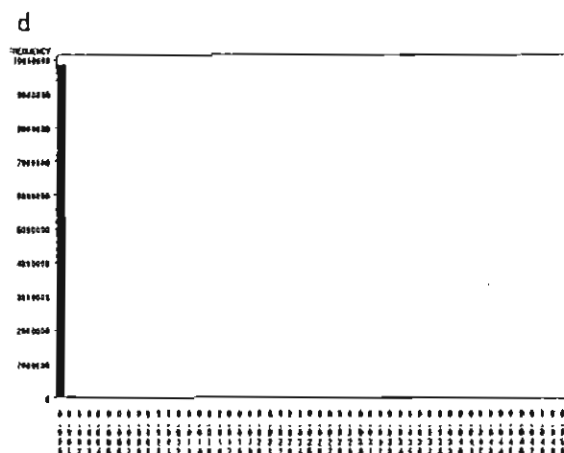
15才から19才・規制なし



15才から19才・規制10ppb

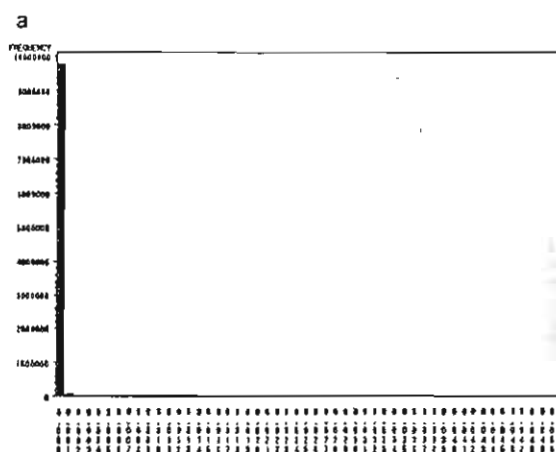


15才から19才・規制15ppb

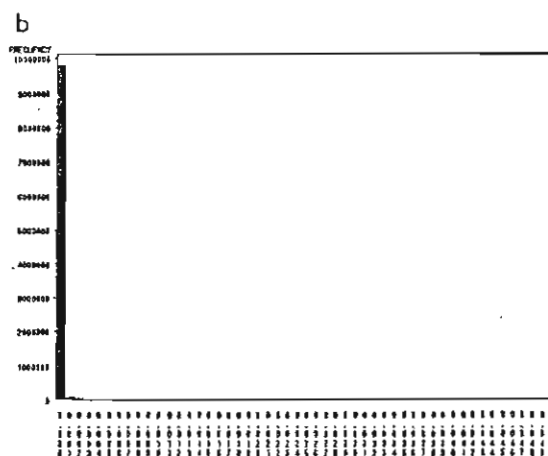


15才から19才・規制20ppb

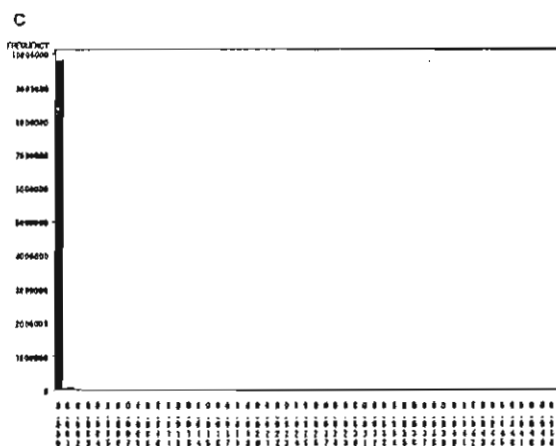
Fig. 6. 15才から19才(炒りピーナッツ)



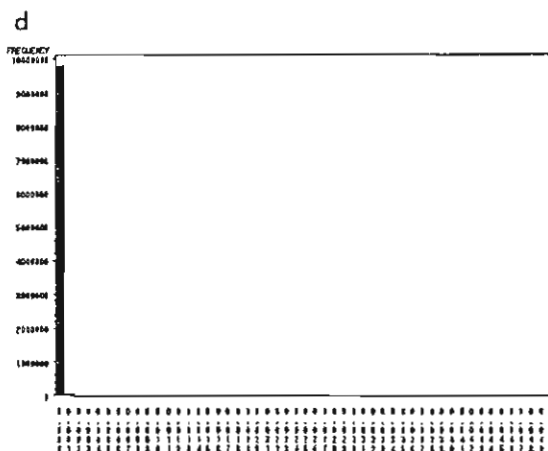
15才から19才・規制なし



15才から19才・規制10ppb

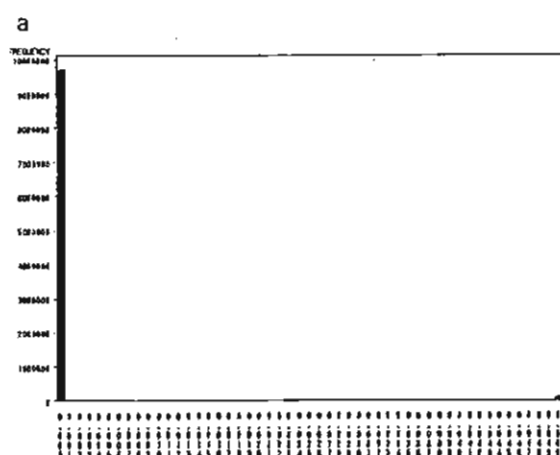


15才から19才・規制15ppb

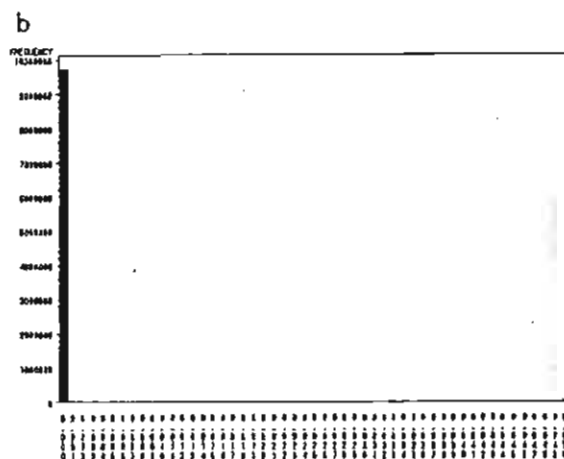


15才から19才・規制20ppb

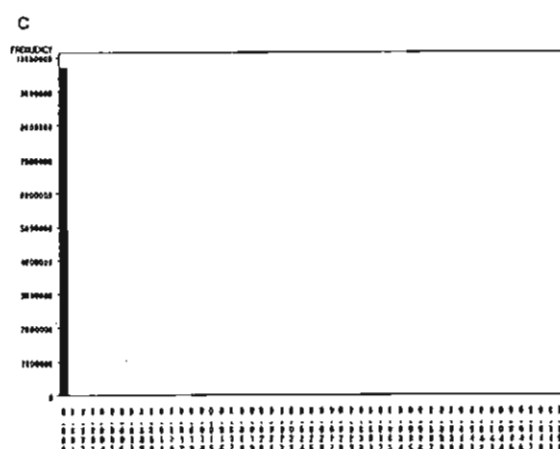
Fig. 7. 15才から19才(バターピーナッツ)



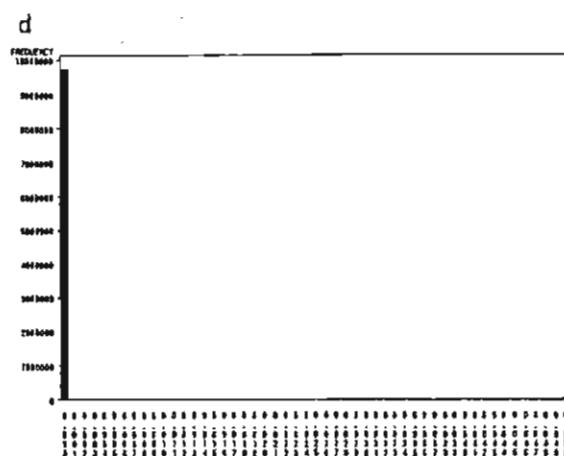
20才以上・規制なし



20才以上・規制10ppb

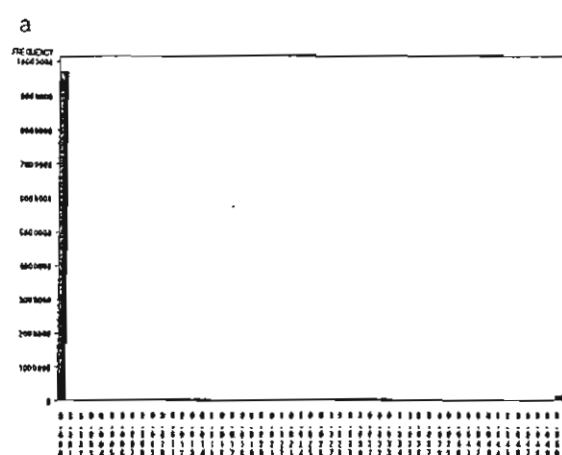


20才以上・規制15ppb

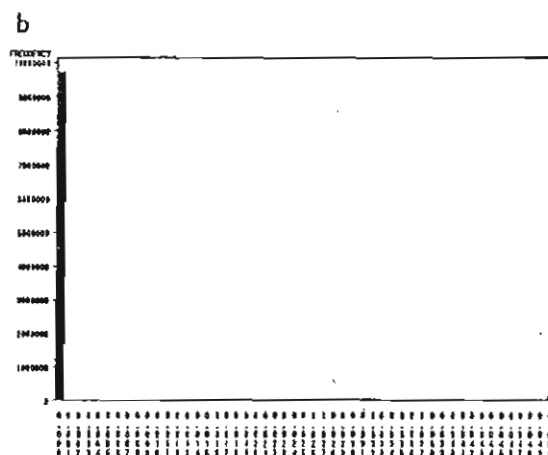


20才以上・規制20ppb

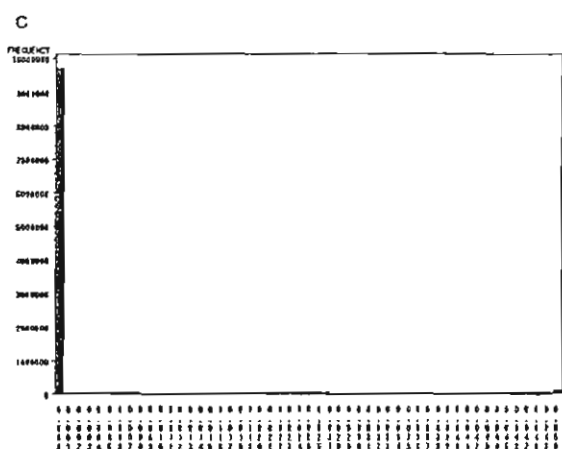
Fig. 9. 20才以上(炒りピーナッツ)



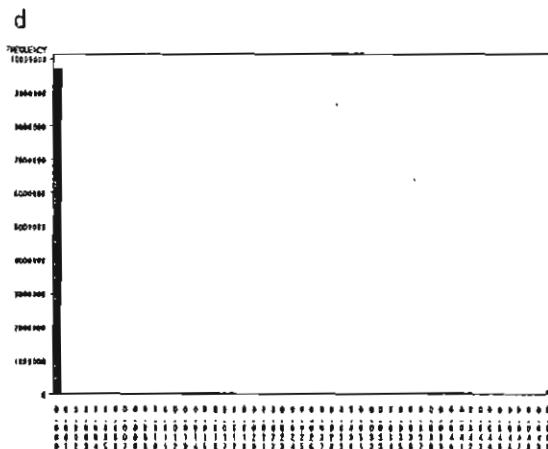
20才以上・規制なし



20才以上・規制10ppb



20才以上・規制15ppb



20才以上・規制20ppb

Fig. 10. 20才以上(バターピーナッツ)

