

1 (5) 遺伝毒性

2 ① *in vitro* 試験

3 a. 細菌を用いた復帰突然変異試験

4 FB1、FB2 及び FB3 は、*Salmonella* Typhimurium TA97a 株、TA98
5 株、TA100 株、TA102 株、TA1535 株又は TA1537 株を用いた復帰突然変
6 異試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、試験結果は陰性であっ
7 た(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229, 2. DL Park, et al. (1992)
8 #232, 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 4. M Aranda, et al. (2000)
9 #366, 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)。

10
11 b. 細菌を用いた DNA 損傷、修復試験

12 大腸菌を用いた FB1 の SOS 試験及び DNA 修復試験結果は、代謝活性
13 化の有無にかかわらず陰性であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997)
14 #230)。

15
16 c. 哺乳類細胞を用いた染色体異常試験

17 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の染色体異常試験及びヒ
18 ト末梢血リンパ球を用いた FB1 の染色体異常試験の結果は、いずれも陽
19 性であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 6. D Lerda, et al.
20 (2005) #226)。

21 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB2 及び FB3 の染色体異常試験の結果
22 は、陰性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)。

23
24 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の小核試験の結果は、陰性
25 であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)。一方、ブタ PK15 細
26 胞(ブタ腎臓上皮細胞由来細胞株)、ヒト Hep G2 細胞(ヒト肝臓がん由来
27 細胞株)又はヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の小核試験の結果は、いず
28 れも陽性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et
29 al. (2005) #226, 7. MS Segvic-Klaric, et al. (2008) #86)。

30 ヒト末梢リンパ球細胞を用いた FB2 及び FB3 の小核試験の結果は、陰
31 性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et al.
32 (2005) #226)。

33
34 d. 哺乳類細胞を用いた姉妹染色单体交換試験

35 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の姉妹染色单体交換試験の結果は、
36 陽性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)

37

1 e. 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験

2 ラット初代培養肝細胞を用いた FB1 の不定期 DNA 合成試験は 2 報報
3 告されており、いずれも陰性であった(参照 8. WP Norred, et al. (1992)
4 #231, 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。ラット初代培養肝細胞を用
5 いた FB2 の不定期 DNA 合成試験の結果も陰性であった(参照 9. WC
6 Gelderblom, et al. (1992) #193)

7 Hep G2 細胞を用いたコメットアッセイの結果は陽性であった(参照 5.
8 V Ehrlich, et al. (2002) #224)。

9
10 ② *in vivo* 試験

11 雄性 CF1 マウスに、精製 FB1 を 25 又は 100 mg/kg 体重の用量で腹腔
12 内投与し、投与 30 時間目に採取した骨髄細胞を用いて実施された小核試
13 験の結果は陽性であったが、用量依存性は認められなかった。著者らはこ
14 の小核の誘発は間接的影響によるものと考察している。(参照 4. M
15 Aranda, et al. (2000) #366)。

16 雌雄 BALB/c マウスに精製 FB1 を 0.1、1.0 又は 10 mg/kg 体重/回の用
17 量で単回又は 24 時間毎に計 3 回腹腔内投与し、骨髄細胞を用いた小核試
18 験の結果は陰性であった。正染性赤血球 (NCE) に対する多染性赤血球
19 (PCE) の比 (PCE/NCE) は、単回 FB1 投与群では変化がなかったが、
20 3 回の FB1 投与では、すべての用量で FB1 を投与しない対照群と比べる
21 と有意に低下し、細胞毒性を示していた。(参照 10. R Karuna, et al.
22 (2013) #233)。

23
24 雄性 F344 ラットに、精製 FB1 又は FB2 (純度 90~95%) を 100 mg/kg
25 体重の用量で単回経口投与する不定期 DNA 合成試験の結果は、いずれも
26 陰性であった(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。

27 雄性 Wistar ラットに、精製 FB1 (純度 98%) を 2 又は 7 日間、0.5 mg/kg
28 体重/日の用量で FB1 を腹腔内投与して小核試験及びコメットアッセイが
29 実施された。末梢血を用いた小核試験の結果は陰性であった。コメットア
30 ッセイの結果、腎臓では 2 日間及び 7 日間投与群、肝臓では 7 日間投与群
31 において、FB1 を投与しない対照群に比べて有意な DNA 損傷の増加が認
32 められた(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)。

33 雄性 Wistar ラットに、精製 FB1 (純度 98%) を 5、50 又は 500 µg/kg
34 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 4、24 又は 48 時間目に安楽殺
35 し、肝臓を用いたコメットアッセイが実施された。すべての投与群で用量
36 及び時間依存的な DNA 損傷が認められた(参照 12. A Domijan, et al.
37 (2008) #127)。

1 しかしながら、上記の Domijan らのコメントアッセイの結果は、DNA
2 損傷よりも、アポトーシスによる 2 次的な影響と考えられる。

3 4 ③その他の試験

5 FB1 とオリゴヌクレオチドをインキュベーションし、エレクトロスプレ
6 レイオン化質量分析 (ESI-MS) で分析した結果、DNA 付加体形成は認
7 められなかった(参照 13. G Pocsfalvi, et al. (2000) #451)

8 BALB/3T3 細胞 (マウス胎児繊維芽細胞由来細胞株) を 10~1000 μ
9 g/mL の FB1 に暴露させ、細胞形質転換試験が実施された。FB1 の濃度依
10 存性は認められなかった(参照 14. CW Sheu, et al. (1996) #200)。

11 v-Ha-ras 遺伝子を導入した BALB/3T3 細胞 (Bhas 42 細胞) を 0.1~
12 10 μ g/mL の FB1 又は FB2 に暴露させ、フォーカス形成により FB1 及
13 び FB2 のイニシエーション作用及びプロモーション作用が調べられた。
14 FB1 にプロモーション作用が認められたが、イニシエーション作用は認め
15 られなかった(参照 15. A Sakai, et al. (2007) #184)。

16
17 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果を表 6 に、*in vivo* 遺伝毒性試
18 験結果を表 7 にまとめた。

19
20 フモニシンは細菌を用いた復帰突然変異試験、DNA 損傷・修復試験では、
21 いずれも陰性結果を示すが、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験、および、げ
22 っ歯類を用いた *in vivo* 試験では陰性、陽性の結果が混在する。しかしなが
23 ら、*in vivo* 試験では明確な DNA 損傷性は観察されず、DNA 損傷に伴う小
24 核の誘発も観察されなかった。また、フモニシン (FB1) は DNA 付加体を
25 形成しなかった。以上のことから、フモニシンには遺伝毒性はないと判断さ
26 れる。

表 6 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表 6-1 細菌を用いた復帰突然変異試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	代謝活性化			年	参照文献
				活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA100	FB1、	0、0.2、0.5、1、5、10 mg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1991	(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229)
	TA102	FB2			—	—		
	TA97a	又は			—	—		
	TA98	FB3			—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.01、0.05、0.1、0.5、5、10、25、50、100 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1992	(参照 2. DL Park, et al. (1992) #232)
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、10、20、50、114 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
	TA102				—	—		
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、25、50、100、200 µg/g	Hep G2 細胞より調整した S9 mix	n.d.	—	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
	TA102				n.d.	—		
	TA98				n.d.	—		
	TA1535				n.d.	—		
	TA1537				n.d.	—		
	TA98				—	—		

+ : 陽性、— : 陰性、n.d. : データなし

表 6-2 細菌を用いた DNA 損傷及び修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	代謝活性化			年	参照文献
				活性化に用いた物質	無	有		
SOS 試験	<i>E. coli</i> PQ37	FB1	0、5、16、50、166、500 µg/アッセイ	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
DNA 修復試験	<i>E. coli</i> K-12	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/ml	ラット肝臓 S9 mix	—	—		

1 表 6-3 ほ乳類由来細胞を用いた染色体異常試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果	備考	年	参考文献
染色体異常	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.01、0.1、 1、10、100 µg/ml	+	・ 1 µg/ml 以上の濃度 で陽性	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
染色体異常	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 µg/g	+	・ 10 µg/g の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 µg/g	-			
		FB3	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 µg/g	-			
小核試験	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.010、 0.100、1.000、 10.000、 100.000 µg/ml	-	・ 用量依存 性なし	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
小核試験	ヒト肝臓が ん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、 50、100、200 µg/ml、24 時間 培養	+	・ 25 µg/ml 以上の濃度 で、小核を 有する細胞 数の用量依 存的な増加	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
小核試験	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1、2、5、 10 µg/g、22 時間培養	+	・ 5 µg/g 以 上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、 10 µg/g、22 時間培養	-			
		FB3	0、1、2、5、 10 µg/g、22 時間培養	-			
小核試験	ブタ腎臓由 来 PK15 細 胞	FB1	0、0.05、0.5、 5 µg/ml、24 又 は 48 時間培養	+	・ 小核を有 する細胞数 の用量依存 的な増加、5 µg/ml で有 意な増加	2008	(参照 7. MS Segvic- Klaric, et al. (2008) #86)

2 + : 陽性、- : 陰性

1 表 6-4 哺乳類細胞を用いた姉妹染色分体交換試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
姉妹染色分体交換試験	ヒト末梢血リンパ球	FB1	0、1、2、5、10 µg/g	+	・5 µg/g 以上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、10 µg/g	-			
		FB3	0、1、2、5、10 µg/g	-			

2 ※ 代謝活性化は見えていない。

3

4 表 6-5 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.5、2.5、5.0、25.0、50.0、250.0 µM、18 時間培養	-		1992	(参照 8. WP Norred, et al. (1992) #231)
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0.04~80 µM/plate、18 時間培養	-		1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	0.04~40 µM/plate、18 時間培養	-			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト肝臓がん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、50、100、200 µg/ml、24 時間培養	+	・25 µg/ml 以上の濃度で陽性	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)

5 + : 陽性、- : 陰性、※ : いずれも代謝活性化は見えていない。

6

1

表 7 フモニシンの *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度、投与方法、期間	結果	備考	年	参照文献
小核試験	CF1 マウス、雄	FB1	25、100 mg/kg 体重、腹腔内投与、投与 30 時間目に安楽殺	+	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度の増加 ・25 mg/kg 体重投与群における影響が大きく、用量依存性なし	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
小核試験	BALB/c マウス、雌雄	FB1	0.1、1.0、10 mg/kg 体重、腹腔内単回投与、投与 24 時間目に安楽殺	-	・小核を有する骨髄細胞の発生頻度及び PCE/NEC に変化なし	2013	(参照 10. R Karuna, et al. (2013) #233)
			0.1、1.0、10 mg/kg 体重、24 時間ごとに 3 回、腹腔内投与、投与開始 72 時間目に安楽殺	-	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度に変化なし ・骨髄細胞の PCE/NCE が有意に減少。細胞毒性あり		
小核試験	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	-			(参照 16. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	-			
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット、雄	FB1	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13 ~14 時間目に安楽殺	-	・肝臓で DNA 修復を誘導せず	1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13 ~14 時間目に安楽殺	-			
DNA 損傷 (コマットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・腎臓で DNA 損傷	2007	(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・肝臓及び腎臓での DNA 損傷		
DNA 損傷 (コマットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	5、50、500 µg/kg 体重、強制単回経口投与、投与 4、24 又は 48 時間目に安楽殺	+	・肝臓で FB1 投与量及び時間依存的な DNA 損傷	2008	(参照 12. A Domijan, et al. (2008) #127)

2

+: 陽性、-: 陰性

1 < 参照文献 >

- 2
- 3 1 W. C. Gelderblom and S. D. Snyman. Mutagenicity of potentially carcinogenic
4 mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Mycotoxin Res.* 1991; 7: 46-52
5 #229
- 6 2 D. L. Park, S. M. Rua, Jr., C. J. Mirocha, E. S. Abd-Alla and C. Y. Weng.
7 Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia
8 decontamination procedure. *Mycopathologia.* 1992; 117: 105-108 #232
- 9 3 S. Knasmuller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom,
10 E. Zohrer and P. M. Eckl. Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins,
11 fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures
12 of rat hepatocytes. *Mutat Res.* 1997; 391: 39-48 #230
- 13 4 M. Aranda, L. P. Pérez-Alzola, M. F. Ellahueñe and C. Sepúlveda. Assessment
14 of in vitro mutagenicity in *Salmonella* and in vivo genotoxicity in mice of the
15 mycotoxin fumonisin B(1). *Mutagenesis.* 2000; 15: 469-471 #366
- 16 5 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Zsivkovits and S.
17 Knasmueller. Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2)
18 cells. *Mutagenesis.* 2002; 17: 257-60 #224
- 19 6 D. Lerda, M. Biaggi Bistoni, N. Peralta, S. Ychari, M. Vazquez and G. Bosio.
20 Fumonisins in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food*
21 *Chem Toxicol.* 2005; 43: 691-698 #226
- 22 7 M. S. Segvic-Klaric, S. Pepeljnjak and R. Ruzica. Genotoxicity of fumonisin B1,
23 beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual
24 and combined treatment. *Croatica Chemica Acta.* 2008; 81: 139-146 #86
- 25 8 W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss. Effects
26 of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled
27 synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 1992; 30: 233-
28 237 #231
- 29 9 W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber. The cancer-
30 initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis.* 1992; 13:
31 433-437 #193
- 32 10 R. Karuna and B. S. Rao. Lack of micronuclei induction by fumonisin B(1)
33 mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Res.* 2013; 29: 9-15 #233
- 34 11 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B(1): oxidative
35 status and DNA damage in rats. *Toxicology.* 2007; 232: 163-9 #222
- 36 12 A. Domijan, D. Zeljezic, M. Peraica, G. Kovacevic, G. Gregorovic, Z. Krstanac,
37 K. Horvatin and M. Kalafatic. Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver.
38 *Hum Exp Toxicol.* 2008; 27: 895-900 #127

- 1 13 G. Pocsfalvi, A. Ritieni, G. Randazzo, A. Dobo and A. Malorni. Interaction of
2 fusarium mycotoxins, fusaproliferin and fumonisin B1, with DNA studied by
3 electrospray ionization mass spectrometry. J Agric Food Chem. 2000; 48: 5795-
4 5801 #451
- 5 14 C. W. Sheu, I. Rodriguez, R. M. Eppley and J. K. Lee. Lack of transforming
6 activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. Food Chem
7 Toxicol. 1996; 34: 751-753 #200
- 8 15 A. Sakai, C. Suzuki, Y. Masui, A. Kuramashi, K. Takatori and N. Tanaka. The
9 activities of mycotoxins derived from *Fusarium* and related substances in a
10 short-term transformation assay using v-Ha-ras-transfected BALB/3T3 cells
11 (Bhas 42 cells). Mutat Res. 2007; 630: 103-111 #184
- 12 16 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B1: oxidative
13 status and DNA damage in rats. Toxicology. 2007; 232: 163-169 #222
- 14