

フモニシン評価書（案）目次

I. 背景	1
1. 経緯	
2. 現行規制等	
(1) 国内規制等	
(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値	
II. 評価対象	4
III. 評価対象物質の概要	6
1. 名称、分子式、分子量、構造式	
2. 物理化学的特性	
3. 産生生物	
IV. 安全性に係る知見の概要	
1. 実験動物等における体内動態	
(1) 吸収、分布、代謝、排泄	10
(2) 酵素及び他の生化学的パラメータへの影響	14
(3) 実験動物等における体内動態のまとめ	16
2. 実験動物等における毒性	
(1) 急性毒性	22
(2) 亜急性毒性	24
(3) 慢性毒性・発がん性	37
(4) 生殖発生毒性	41
(5) 遺伝毒性	48
(6) 神経毒性及び免疫毒性	55
(7) 毒性発現の機序	60
(8) 毒性試験のまとめ	65
3. ヒトにおける知見	
(1) 各国のばく露状況	80
(2) 疫学研究	82
(3) ヒトにおける知見のまとめ	87
4. ばく露状況	
(1) 日本における汚染実態	87
(2) 日本におけるばく露量の推定	95
(3) 加工・調理による影響	98
5. 諸外国における評価	
(1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）	98
(2) 欧州食品安全機関（EFSA）	99
(3) 国際がん研究機関（IARC）	100
V. 食品健康影響評価	

＜別添 1：ウマの白質脳軟化症（ELEM）及びブタの肺水腫（PPE）＞	・・・ 1 0 5
＜別添 2：マスキドフモニシン又はモディファイドフモニシン＞	・・・ 1 1 4
＜別添 3：BMDL ₁₀ の試算＞	・・・ 1 2 4

＜略称＞

＜参考文献＞

I. 背景

1. 経緯

食品安全委員会は、リスク管理機関から依頼を受けて食品健康影響評価を行うほか、自らの判断で食品健康影響評価を行う役割を有している。この「自ら評価」案件については、国民の健康への影響の程度に照らして食品健康影響評価の実施の優先度が高いと考えられる案件候補を企画等専門調査会が選定し、国民からの意見・情報の募集等を行った上で、食品安全委員会が決定している。

フモニシン B 群（フモニシン B1、B2 及び B3:それぞれ FB1、FB2 及び FB3）は、*Fusarium verticillioides*、*Fusarium proliferatum* 等のフザリウム属菌から産生される二次代謝産物で、世界中のトウモロコシ及びトウモロコシ加工品等から検出されているかび毒である。フモニシンは、1988 年に発見されたかび毒であるが（参照 1. WC Gelderblom, et al. (1988) #192）、それ以前から、かびに汚染された飼料とウマの白質脳軟化症（equine leukoencephalomalacia: ELEM）及びブタの肺水腫（porcine pulmonary edema: PPE）との関連が疑われ、*F. verticillioides* 培養物がウマ、ブタのみならず、ヒヒ、ヒツジ、ラットにも毒性を示すことが知られていた。その後、実験的又は疫学的に、ELEM や PPE はフモニシンが原因で発症することが示確認された（参照 1. TS Kellerman et al. (1990) #459, 2. WF Marasas et al. (1988) #438, 3. LR Harrison et al. (1990) #170）。（ウマ及びブタに関する知見については、別添 1 参照）ヒトへの影響として、トウモロコシを主食とする地域でフモニシン B 群の摂取と胎児の神経管閉鎖障害（Neural tube defects: NTD）との疫学的な関連が報告されているほか、食道がんとの関連も示唆されている。また、げっ歯類に FB1 を経口投与する毒性試験により、FB1 の発がん性が示されている。

コーデックス委員会では 2014 年に、食品用のトウモロコシ及びその加工品中のフモニシン（FB1 及び FB2）の最大基準値を設定し、欧州連合（EU）、米国等ではフモニシンの最大基準値又はガイダンスレベルが設定されている。日本では、厚生労働省において食品中のフモニシンの実態調査、及び農林水産省において飼料及び飼料原料のフモニシン実態調査が実施されているが、基準値は設定されていない。

フモニシンは、トウモロコシ及びトウモロコシ加工品から高頻度で検出されるかび毒であり、国民の健康への影響の程度に照らして食品健康影響評価の実施の優先度が高いとして、2015 年 3 月に食品安全委員会では、フモニシンを自ら食品健康影響評価を行う案件として決定し、かび毒・自然毒等専門調査会で調査審議を行うこととされた。

2. 現行規制等

(1) 国内規制等

国内では食品や飼料に基準値は設定されていない。

(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値

コーデックス委員会では、食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1 及び FB2 の総量として表 1 に示した最大基準値が設定されている(参照 4. FAO/WHO (2014) #452, 5. CODEX_alimentarius (1995) #444)。また、2003 年に「穀類のかび毒汚染の防止及び低減に関する実施規範（オクラトキシン A、ゼアラレノン、フモニシン及びトリコテセン類に関する付属書を含む）」(CAC/RCP 51-2003) を定めて、各国に汚染低減策の実施を呼びかけている。

表 1 コーデックス委員会によるフモニシンの最大基準値(2014)

最大基準値の対象	FB1 及び FB2 の総量(µg/kg)
未加工のトウモロコシ粒	4,000
トウモロコシ粉（コーンフラワー）、ひき割り粉（コーンミール）	2,000

EU では食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1 及び FB2 の総量として表 2 に示した最大基準値が設定されている(参照 6. EFSA (2014) #355, 7. EU (2007) #358)。

表 2 EU におけるフモニシンの最大基準値

最大基準値の対象	FB1 及び FB2 の総量(µg/kg)
未加工トウモロコシ	4,000
直接消費用トウモロコシ及び加工品(トウモロコシが主原料の朝食用シリアル・スナック、加工食品及び乳幼児用トウモロコシ加工食品を除く)	1,000
トウモロコシが主原料の朝食用シリアル・スナック	800
トウモロコシが主原料の加工食品・乳幼児用トウモロコシ加工食品	200
直接消費用以外の 500 µm より大きい製粉画分	1,400
直接消費用以外の 500 µm 以下の製粉画分	2,000

米国では、食品用のトウモロコシ及びその加工品中の FB1、FB2 及び

FB3 の総量として表 3 に示したガイダンスレベルが設定されている(参照 8. National_Grain_and_Feed_Association (2011) #49)。

表 3 米国 FDA ガイダンスによるトウモロコシ及びその加工品中の
フモニシンのガイダンスレベル

ガイダンスレベルの対象	FB1、FB2 及び FB3 の総量 (ppm)
胚芽を除去した乾式製粉のトウモロコシ製品	2
ポップコーン用の精選トウモロコシ	3
胚芽を全く除去しない 完全に又は部分的に胚芽 を除去した乾式製粉のトウモロコシ製品	4
乾式製粉のコーンブラン	4
マサ（トルティーヤなどの生地）用精選トウモ ロコシ	4

II. 評価対象

フモニシンは、現在までに少なくとも 28 種報告されており、A 群、B 群、C 群及び P 群の 4 群に分類される(参照 9. JP Rheeder et al. (2002) #48)。

フモニシン B 群には FB1、FB2、FB3 の他、情報は少ないがフモニシン B4 (FB4) やその他の~~いくつかのマイナーな~~B 群化合物も報告されている。FB2、FB3 及び FB4 は、水酸基の数が少ない点で FB1 と異なる。フモニシン A 群の FA1、FA2 及び FA3 はそれぞれ FB1、FB2 及び FB3 の N-アセチル化体である。同じく A 群の FAK1 は FA1 の 15-ケト修飾体である。フモニシン C 群の FC1、FC2、FC3、FC4 はそれぞれ FB1、FB2、FB3 及び FB4 の類似体であるが、アミノ基に隣接するメチル基を欠く。フモニシン P 群の FP1、FP2 及び FP3 はそれぞれ FB1、FB2、FB3 のアミノ基の代わりに 3-ヒドロキシピリジニウム基を有している(参照 10. EHC (2000) #337)。

フモニシンは、*F. verticillioides*、*F. proliferatum* 等のフモニシン産生菌に自然汚染された穀物及びその加工品から検出される。フモニシンが検出されるのはほとんどがトウモロコシで、世界各地で生産されたトウモロコシから FB1、FB2 及び FB3 が高頻度に検出される。その中でも、FB1 は検出頻度が高く、高濃度で検出されることがある。同じ検体から検出されるフモニシン量について、FB1:FB2:FB3 は~~おおよそ~~10:3:1 程度と推計されている(参照 11. JECFA (2011) #350)。FB4 が検出される濃度は低く、知見も少ない。フモニシン B 群以外のフモニシンは、産生菌を培養すると条件により産生が認められるが、自然汚染された穀物からはほとんど検出されない(参照 12. A Desjardins (2006) #51)。なお、近年、一部のフモニシンが穀物のデンプンやタンパク質等のマトリックスに物理的に捕えられて不溶性となり、一般的な検出法として用いられている分析法では検出できないことが示されており、狭義には hidden fumonisin 又は bound fumonisin と呼ばれている。このような非共有結合のフモニシンの他、タンパク質やデンプンに共有結合したフモニシン、~~カルボン酸が~~脂肪酸とエステル結合したフモニシン、~~脂肪酸が結合したフモニシン~~等の化学的修飾を受けたフモニシン及び加水分解されたフモニシンも報告されており、これらも含めて「~~マスクドフモニシン~~」又は「モディファイドフモニシン」(又は「マスクドフモニシン」)と呼ばれている(参照 13. EFSA (2014) #344, 14. M Rychlik et al. (2014) #29)。このような化学的修飾を受けたモディファイドフモニシンの毒性や穀物等における汚染濃度~~ばく露量~~の知見は少ない。フモニシン B 群に汚染された飼料を原因として、ウマに致死性の ELEM 及びブタに PPE がみられることが報告されている。ヒトでは、トウモロコシを主食とする地域で、フモニシン B 群の摂取と胎児の NTD

との関連が示されて~~おり、食道がんとの関連も示唆されている~~。また、げ
つ歯類に FB1 を混餌投与する毒性試験により、FB1 には発がん性があるこ
とが示されている（参照 15. JECFA (2001) #465, 16.
National_Toxicology_Program (2001) #103）。FB1 は、毒性のデータがあ
ること、FB2 及び FB3 は、FB1 に比べると汚染濃度は低く、毒性の知見
も少ないが、FB1 と同時に検出されることが多いことから、FAO/WHO 合
同食品添加物専門家会議 (JECFA) 及び 欧州食品安全機関 (EFSA) の評
価においては、FB1、FB2 及び FB3 のグループ暫定最大耐容一日摂取量
(PMTDI) 及びグループ耐容一日摂取量 (TDI) を設定している(参照 11.
JECFA (2011) #350, 12. A Desjardins (2006) #51, 17. EFSA (2005) #356)。

以上のことから、本調査会における評価対象物質は FB1、FB2 及び FB3
とした。また、~~マスタドフモニシン又は~~モディファイドフモニシンについ
ての現在の知見を別添に整理した。(別添 2 参照)

Ⅲ. 評価対象物質の概要

1. 名称、分子式、分子量、構造式

(1) フモニシン B1(FB1) CAS(No. 116355-83-0)

① 化学名

IUPAC

英 名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-11,16,18-trihydroxy-5,9-dimethylcosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

和 名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-11,16,18-トリヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキソエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

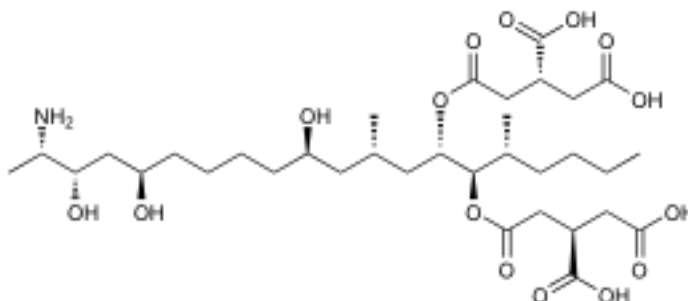
② 分子式

C₃₄H₅₉NO₁₅

③ 分子量

721.83

④ 構造式



(2) フモニシン B2(FB2) CAS (No. 116355-84-1)

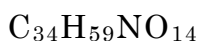
① 化学名

IUPAC

英 名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-16,18-dihydroxy-5,9-dimethylcosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

和 名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,16*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-16,18-ジヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキソエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

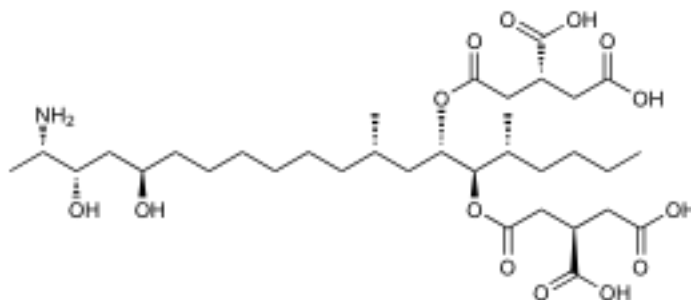
② 分子式



③ 分子量

705.83

④ 構造式



(3) フモニシン B3(FB3) CAS (No. 136379-59-4)

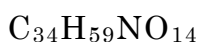
① 化学名

IUPAC

英名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,18*S*,19*S*)-19-amino-11,18-dihydroxy-5,9-dimethylicosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

和名 : (2*R*,2'*R*)-2,2'-[[(5*R*,6*R*,7*S*,9*S*,11*R*,18*S*,19*S*)-19-アミノ-11,18-ジヒドロキシ-5,9-ジメチルイコサン-6,7-ジイル]ビス(オキシ)}ビス(2-オキソエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

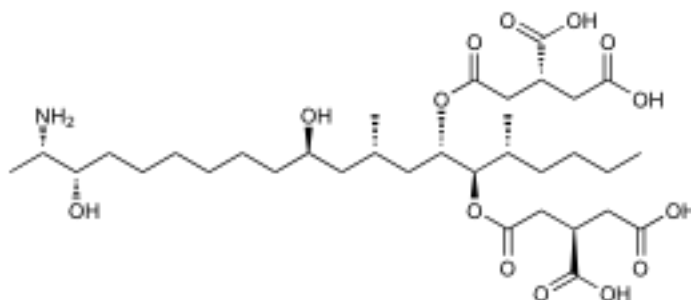
② 分子式



③ 分子量

705.83

④ 構造式



(参照 11. JECFA (2011) #350, 18. SCF (2000) #339)

2. 物理化学的特性

- a. フモニシン B1(FB1、(参照 19. IARC (2001) #60)
- b. 性状：白色吸湿性の粉末
- c. 融点：不明
- d. 溶解性：水に可溶(20 g/L)、メタノール、アセトニトリル-水に可溶。
- e. 水/オクタノール分配係数(log P)：1.84
- f. 安定性：25°C でアセトニトリル-水(1:1)に安定、25°C のメタノール中で不安定で、メチルエステルを形成。-18°C のメタノール及び 78°C の pH 4.8~9 の緩衝液で安定。

なお、FB2 及び FB3 の物理化学的特性については確認できなかった。

3. 産生生物

ウマの ELEM と関連するかび毒として、1988 年に、ELEM が発生していた南アフリカで、FB1 が汚染トウモロコシから発見された。産生菌は *F. moniliforme* と報告されていたが、1998 年、それまで *Fusarium moniliforme* Sheldon と呼ばれていた産生菌を *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (*F. verticillioides*) と命名することが正式に認められた(参照 10. EHC (2000) #337)。現在では、*F. verticillioides*、*F. proliferatum* が、トウモロコシから検出される主なフモニシン産生菌として報告されており、天然自然界に存在する主要なフモニシンである FB1、FB2 及び FB3 の産生能があることが知られている(参照 10. EHC (2000) #337, 20. IARC (2002) #60, 21. MM Reynoso et al. (2004) #372, 22. JECFA (2001) #367)。*F. verticillioides*、*F. proliferatum* は無性世代（アナモルフ）だが、これらの有性世代（テレオモルフ）である *Gibberella fujikuroi* 及び *Gibberella fujikuroi* species complex と記載されることもある。上記の主要なフモニシン産生菌種の中で、*F. verticillioides* のフモニシン産生能は高いが、*F. proliferatum* は菌株間のフモニシン産生能の差が大きい。(参照 19. IARC (2001) #60, 21. MM Reynoso, et al. (2004) #372, 23. TFR No.139 (2003) #15)。近年、*Aspergillus niger* に FB2 の産生能があり、市販ワインから FB2 が、レーズンから FB2 及び FB4 が検出されることが報告されているが、検出される FB2 及び FB4 の濃度は低い。(参照 24. FAO/WHO (2011) #350, 25. JC Frisvad et al. (2007) #34, 26. A Logrieco et al. (2010) #446)。

1 *F. verticillioides* 及び *F. proliferatum* は、米国、カナダ、南アフリカ、
2 ネパール、オーストラリア、タイ、フィリピン、インドネシア、メキシ
3 コ、フランス、イタリア、ポーランド、スペイン、南アフリカ、日本等、
4 世界中に分布している。これらのフザリウム属菌はトウモロコシの赤かび
5 病 (*Fusarium ear rot*) の病原菌であり、フモニシン蓄積と高い相関がみ
6 られる。また、これらは通常土壌に生息する土壌腐生菌であり、健全に見
7 えるトウモロコシの可食部や根、茎、葉からも検出されることがある。感
8 染経路に関しては、トウモロコシの根や茎等に生息しているフザリウム
9 属菌の分生子が、大気又は雨によって飛散し、トウモロコシの絹糸からト
10 ウモロコシ穀粒に感染するとの報告がある。(参照 18. SCF (2000) #339,
11 23. TFR No.139 (2003) #15, 27. WP Norred et al. (1992) #231)。

12 フモニシン産生菌に自然汚染されたトウモロコシ穀粒の表皮及び胚芽
13 から高濃度の FB1 が検出される一方、表皮と胚芽を除去した胚乳から得
14 られたコーングリッツ及びトウモロコシ粉の FB1 濃度は低かったとの報
15 告がある(参照 28. C Brera et al. (2004) #461)。

16 フモニシン産生菌は水分活性 0.90 以上で比較的広い温度範囲で生育し、
17 トウモロコシの穀粒形成期(開花期)の気候が比較的高温で湿度が高い場
18 合にフモニシン汚染率が増加することが報告されている。フモニシンは、
19 トウモロコシの収穫前又は乾燥初期に産生され、通常、穀類の貯蔵中にフ
20 モニシン濃度が増加することはないが、虫害がある場合、収穫後から乾燥
21 までの期間が長い場合、また、湿度が高いとフモニシン産生菌が増殖し、
22 フモニシン濃度が増加することがある(参照 15. JECFA (2001) #465, 29.
23 FAO/WHO (2012) #347, 30. CY Warfield et al. (1999) #450)。

IV. 安全性に係る知見の概要

1. 実験動物等における体内動態

(1) 吸収、分布、代謝、排泄

フモニシンを動物に経口投与すると、体内への吸収率は低い。吸収されたフモニシンは肝臓や腎臓に分布し、比較的早く排泄される。排泄経路としては、糞が多くを占め尿からの排泄は少ない。詳細は以下のとおり。

① 吸収

ラット、産卵鶏、アヒル、七面鳥、ブタ、乳牛及びベルベットモンキーに FB1 を経口投与すると速やかに吸収されるが、血中及び臓器中に検出される FB1 の量は非常に少ない。FB1 の吸収率は低く、投与量の 4%以下が尿中に排泄されると、ごく低い。FB2 のバイオアベイラビリティ¹は FB1 より低いと考えられている(参照 10. EHC (2000) #337, 11. JECFA (2011) #350, 31. DB Prelusky et al. (1996) #69, 32. KA Voss et al. (2007) #67, 33. MR Martinez-Larranaga et al. (1999) #68)。

Wistar ラット (雄) に 10 mg/kg 体重の用量で FB1 を単回経口投与すると、投与量の 3.5%の FB1 が血漿中に認められた。血漿中の最高濃度 (C_{max}) は 0.18 $\mu\text{g/mL}$ 、投与後最高濃度に至るまでの時間 (T_{max}) は 1.02 時間であり、著者らは、FB1 は速やかに吸収されると考えた。(参照 32. KA Voss, et al. (2007) #67)。8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイト) に、*F. verticillioides* の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与した結果、FB1 の吸収率は $3.9 \pm 0.7\%$ であった。(参照 34. J Fodor et al. (2008) #63)。

10～14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ^{14}C -FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で単回経口投与した試験の結果、FB1 のバイオアベイラビリティは 4.07% であった(参照 31. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

乳牛に 0.05 又は 0.2 mg/kg 体重の FB1 を静脈内投与すると、投与 2 時間後には血中に検出できなくなった。1 又は 5 mg/kg 体重の FB1 を経口投与すると、血中に FB1 は検出できなかった。著者らは、反芻動物では FB1 はほとんど吸収されず、バイオアベイラビリティは低いと考えた。(参照 32. KA Voss, et al. (2007) #67) (original Prelusky1995 未入手)

② 分布及び代謝

^{14}C -FB1 をラット又はブタに経口投与すると、速やかに全身に分布することが報告されている。最も分布濃度が高い組織は肝臓及び腎臓であった。(参照 10. EHC (2000) #337, 11. JECFA (2011) #350)。

¹ 投与量に対する循環血液中における未変化体の総量の割合。

1 Sprague-Dawley ラット (雄) に ^{14}C -FB1 (FB1 として 1 mg 相当/匹)
2 を胃内投与すると、肝臓への蓄積が多かった。投与 4 時間後に、肝臓に投
3 与量の 0.5% が認められ、腎臓及び血液にも ^{14}C -FB1 の分布がみられた。
4 ^{14}C -FB1 を静脈内投与 (FB1 として 4.5 μg 相当/匹) すると、投与 10 分
5 後には血中 ^{14}C -FB1 は急速に減少した。投与 96 時間後に、投与量の約 2%
6 が血液に、約 25% が肝臓に、約 10%~12% が腎臓に残存した。 ^{14}C -FB1
7 は、認められた(参照 35. WP Norred et al. (1993) #537)。

8 3~4 週齢の Sprague-Dawley ラット (雄) に、*F. verticillioides* の培
9 養物を用いて、フモニシン (FB1、FB2 及び FB3) を総量として 1.1、13.5
10 又は 88.6 $\mu\text{g/g}$ 含む飼料を 10 日間混餌投与した。FB1 は、投与量依存的
11 に腎臓及び肝臓に認められ、腎臓の FB1 濃度は肝臓より有意に高かった
12 (参照 36. RT Riley et al. (2006) #58)。

13 Wistar ラット (雄) に 10 mg/kg 体重の用量で ^{14}C -FB1 を単回強制経
14 口投与すると、FB1 は主に肝臓と腎臓に分布した。臓器への蓄積を示す
15 $\text{AUC}_{\text{tissue}}/\text{AUC}_{\text{plasma}}$ (AUC : area under the concentration-time curve (血
16 中濃度-時間曲線下面積)) は、肝臓で 2.03 及び腎臓で 29.89 であったこ
17 とから、肝臓より腎臓に多く蓄積すると考えられた。 ^{14}C -FB1 を単回強制
18 経口投与した場合の血中からの消失半減期は 3.15 時間²、臓器における消
19 失半減期は肝臓で 4.07 時間、腎臓で 7.07 時間であった。また、Wistar
20 ラット (雄) に 2 mg/kg 体重の用量で ^{14}C -FB1 を単回静脈内投与すると、
21 血中からの消失半減期は 1.03 時間²であった。(参照 32. KA Voss, et al.
22 (2007) #67, 33. MR Martinez-Larranaga, et al. (1999) #68)。

23 10~14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ^{14}C -FB1 を 0.50 mg/kg 体
24 重の用量で単回経口投与し、72 時間後に FB1 の分布を調べた結果、放射
25 能活性は全身にみられた。放射能活性が強かったのは肝臓及び腎臓で、そ
26 れぞれ投与量の 0.49% 及び 0.03% であった。放射能活性は胆管にも認めら
27 れた。10~12 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ^{14}C -FB1 を 2.0~3.0
28 mg/kg 含む飼料を 24 日間混餌投与した試験においても、肝臓及び腎臓へ
29 の分布が多くみられたが、投与終了後に 9 日間の回復期間を経た後では、
30 両組織における放射能活性は検出限界程度であった。放射能活性は胆管に
31 も認められた。血漿、脾臓、筋肉、脳、副腎、脂肪、皮膚に放射能活性は
32 検出されなかった(参照 31. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

33 8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイต์) に、*F.*

² ^{14}C -FB1 を投与した ~~Wister~~Wistar ラットの血中消失半減期が、経口投与すると静脈内投与より長い結果となっている。本来、投与した剤の血中半減期は投与方法によって変化するものではないが、剤の吸収が緩やかであると、見かけ上の血中消失半減期は、吸収速度定数によって定まることとなる。この現象をフリップフロップ現象という (澤田康文編集. 臨床薬物動態学. (株) 医学書院. 2009 年、33-34 ページ)。

verticillioides の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与すると、吸収された FB1 は主に肝臓及び腎臓に分布し、筋肉及び脂肪ではほとんど検出されなかった。これらの臓器中では回収された 50%が FB1 として検出され、加水分解 FB1 (HFB1)³及び部分加水分解 FB1⁴はそれぞれ 30%及び 20%であった。投与終了後、10 日間の回復期間を経ても肝臓と腎臓では FB1 及びその代謝物である HFB1 が検出された。腸内容物から回収された FB1 は、その 1%が HFB1 及び 3.9%が部分加水分解 FB1 であり、FB1 が腸内細菌叢により分解されたと考えられた。投与した FB1 の 69%が試験期間中に糞及び尿から回収され、そのうち 90%は 10 日間の投与期間中に回収された。投与期間中に糞中に排泄された FB1 のうち、47%が部分加水分解 FB1、12%が HFB1 であった。投与した FB1 の 1.5%が試験期間中に尿から回収された。そのうち 65%が FB1、16%が HFB1、24%が部分加水分解 FB1 であった(参照 37. J Szabo-Fodor et al. (2008) #74)。

③ 排泄

Sprague-Dawley ラット (雄) に ¹⁴C-FB1 を胃内投与すると、投与 48 時間までに糞から 80%が、96 時間後までに投与量の 2%~3%が尿から回収された。¹⁴C-FB1 を静脈内投与すると、¹⁴C-FB1 は消化管にも検出され、投与 96 時間までに投与量の 35%が糞から、10%が尿から回収された(参照 35. WP Norred, et al. (1993) #537)。

7~10 週齢の F344 ラット (雌雄) に、純度 95%以上の ¹⁴C-FB1 を 0.69 µmol/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 84 時間目にその分布が調べられた。その結果、¹⁴C-FB1 の尿中及び糞中への排泄はそれぞれ投与量の 0.5%及び 90%で、性差はみられなかった。糞への排泄のピークは、投与後 12~24 時間目までで、60 時間目にはわずかに排泄される程度であった。15 週齢の雌 Sprague-Dawley ラットに、¹⁴C-FB1 を 0.69 µmol/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 9.5 時間目まで 30 分ごとに胆管カニューレにより胆汁を採取した。胆汁への排泄は、投与 4 時間までに投与量の平均 1.4%であった。投与後 9.25 時間目まで胆汁に継続的に少量の排泄がみられた(参照 38. WR Dantzer et al. (1999) #1)。

9~10 週齢の F344 ラット (雄) に、FB1 を 0.69、6.93 又は 69.3 µmol/kg 体重の用量で単回強制経口投与し、投与後 96 時間までの尿及び糞への排泄が調べられた。加水分解物を含めた糞からの FB1 の回収率はそれぞれ

³ フモニシンの加水分解により、2 個のトリカルボン酸と HFB1 (又は長鎖アルキルアミノペンタオール骨格) が生成する。

⁴ フモニシンの部分加水分解により 1 個のトリカルボン酸と部分加水分解 FB1 が生成する。

110、92 又は 98%、尿からの回収率はそれぞれ 7.4、1.2 又は 0.5%であった(参照 39. EC Hopmans et al. (1997) #2)。

5 週齢の F344 ラット (雄) に、*F. moniliforme* 培養物から精製した FB1 (純度~98%) を 0、10 及び 25 mg/kg 体重の用量で強制単回経口投与した。また、5 週齢の F344 ラット (雄) に、0、1.0 及び 2.5 mg/kg 体重/日の用量で 5 週間にわたって強制連続経口投与した。単回及び連続投与のいずれにおいても、用量依存的に FB1 の尿及び糞への排泄量が増加した。FB1 単回投与群の糞中 FB1 濃度は投与後 12 時間目から上昇し、1 日目にピークとなった。糞中 FB1 は、投与 3 日目には検出できなかった。尿中 FB1 濃度は、投与 12 時間目にピークとなり、10 日目にはほとんど検出できなかった(参照 40. Q Cai et al. (2007) #53)。

5 週齢の F344 ラット (雄) に、25 mg/kg 体重の FB1 を強制単回経口投与し、投与後 72 時間目まで継時的に尿への排泄が調べられた。投与後 12 時間目に尿中の濃度がピークとなり、その後急激に減少した(参照 41. NJ Mitchell et al. (2014) #73)。

50 日齢の New Zealand White(ニュージーランドホワイト種 (NZW)) のウサギ (雄) に 31.5 mg/kg 体重の精製 FB1 (純度>95%) を強制単回経口投与した結果、糞中への FB1 の排泄は投与後 24 時間目がピークで、濃度は 490.56 µg/g であった。尿中への FB1 排泄は投与 12 時間後にピークとなり、濃度は 1.13 µg/g であった。FB1 の主な排出経路は糞で、腸肝循環していることが示唆された。投与された FB1 の 55%が投与後 7 日目までに糞に排泄された(参照 42. RB Orsi et al. (2009) #54)。

10~14 週齢の去勢ブタ (ヨークシャー) に ¹⁴C-FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で単回経口投与又は 0.40 mg/kg 体重の用量で静脈内投与して、投与後 72 時間目まで排泄が調べられた。単回経口投与した FB1 は、72 時間目までに、尿中に 0.60%、糞中に 90.8%排泄された。静脈内投与した FB1 は、胆汁中に 70.8%、尿中に 16.2%、糞中に 1.5%排泄された(参照 31. DB Prelusky, et al. (1996) #69)。

8 週齢の離乳去勢ブタ (ハンガリアンラージホワイト) に、*F. verticillioides* の培養物を用いて FB1 を飼料中 45 mg/kg の用量で 10 日間混餌投与し、投与後 10 日間の回復期間が設定された。20 日間の試験期間中に、投与した FB1 の 69%が糞及び尿から回収された。そのうちの 90%は 10 日間の投与期間中に排泄され、排泄されたうちの 47%は部分加水分解 FB1、12%は HFB1 であった。試験期間中に尿から回収されたのは、投与量の 1.5%で、そのうち 65%は FB1、16%が HFB1 及び 24%は部分加水分解 FB1 であった(参照 34. J Fodor, et al. (2008) #63, 43. J Szabó-Fodor et al. (2008) #74)。

8 週齢の去勢ブタ(ランドレース×ラージホワイト×デュロック)に、*F.*

verticillioides の培養抽出物 (FB1 と FB2 が含まれる) を 5 mg/kg 体重の FB1 用量で強制単回経口投与し、投与後 96 時間目まで尿及び糞が採取された。尿から回収された FB1 は投与量の 0.93%であった。尿中 FB1 は、投与後 75 分目～41 時間目の間に検出され、ピークは投与後 8～24 時間目にかけてであった。糞から回収された FB1 は投与量の 76.5%であった。糞中から FB1 が検出されたのは、投与 8～84 時間目の間で、ピークは投与後 8～24 時間目にかけてであった(参照 44. P Dilkin et al. (2010) #62)。

20～43 カ月齢のベルベットモンキー (雌) に、1.6 mg/kg 体重の用量で FB1 を静脈内投与又は 8 mg/kg 体重の用量で強制経口投与した。投与用量の 47%が FB1 及び HFB1 として 5 日間にわたって尿及び糞に排泄された。投与群では、糞中への排泄は 61%、尿への排泄は 1.2%であった(参照 45. GS Shephard et al. (1994) #70)。

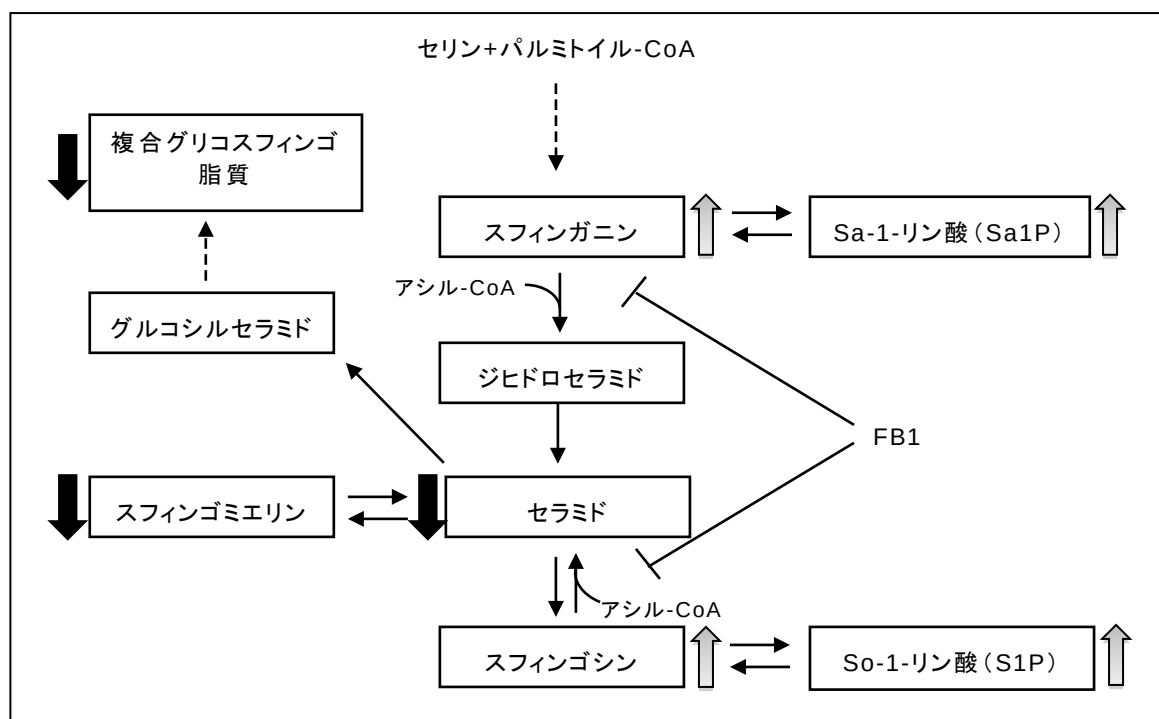
10 名のボランティアにトウモロコシ由来の市販食品を 3 日間摂取摂取してもらい、尿を採取して尿中の FB1、FB2、FB3 及び HFB1 を分析した。FB1 摂取量は 4 µg/kg 体重/日であった。尿中には FB1 のみが検出された。市販食品の摂取摂取-3 時間後には尿への FB1 の排泄が認められ、摂取終了摂取後 5 日目には、尿中に FB1 は検出されなくなった。尿に排泄されたのは、FB1 総摂取量の 1%未満であった。著者らは、この試験におけるヒトの FB1 の半減期は 48 時間以内と考えた。(参照 46. RT Riley et al. (2012) #72)。

(2) フモニシンの生化学的パラメータへの影響

フモニシンは、スフィンゴ脂質生合成経路に重要な役割を担うセラミド合成酵素の阻害作用を有し、この作用がフモニシンの毒性に関与していることが示唆されている。

スフィンゴ脂質は、スフィンゴシン (So)、スフィンガニン (Sa) 等のスフィンゴイド塩基と呼ばれる長鎖アミノアルコールを基本骨格に持つ脂質の総称で、これら脂質の生合成と代謝は協調しながら複雑なネットワークを構成している (図 1)。セラミドから合成又は代謝される産物であるスフィンゴミエリン及びスフィンゴ糖脂質も含め、セラミド関連脂質は細胞膜の不可欠な構成物質であるとともに、シグナル伝達、細胞増殖、細胞分化及びアポトーシス等、様々な生理活性に係る物質でもある(参照 47. SA Young et al. (2012) #418)。Sa 及び So は、セラミド合成に係る酵素であるスフィンガニン-*N*-アシル転移酵素及びスフィンゴシン-*N*-アシル転移酵素によるアシル化反応を経て脂肪酸とアミド結合して、セラミドに変換される (図 1)。フモニシンは、Sa 及び So と化学構造が類似していることから、競合拮抗作用によりセラミド合成酵素を阻害する(参照 48. E Wang et al. (1991) #296)。この阻害作用により、Sa 及び So の蓄積と

もに、セラミドを含むスフィンゴ脂質が減少する。実験動物に精製 FB1 を投与すると、組織、血液、尿等に Sa 及び So の濃度の上昇がみられ、特に Sa 濃度が高値となり、Sa/So 比が高くなることが報告されている。変化したこれらパラメータの値は FB1 投与を中止すると元に戻る(参照 49. E Wang et al. (1992) #300, 50. RT Riley et al. (1994) #293, 51. GS Shephard et al. (2007) #66)。



(FB1 により増加するものを↑、低下するものを↓、FB1 の阻害作用を I で示す。)

図 1 フモニシン B1 (FB1) によるセラミド合成酵素阻害作用
(参照 52. S Muller et al. (2012) #199)の Fig.2 を改変)

初代培養肝細胞を用いて、FB1 と FB2 の So 合成への影響を調べた結果、 ^{14}C -セリンから ^{14}C -So への変換は、FB1 と FB2 のいずれにおいても同じ程度阻害された(参照 48. E Wang, et al. (1991) #296)。

FB1 及び FB2 のセラミド合成酵素阻害作用について、初代培養ラット肝細胞及びブタ腎臓近位尿細管由来上皮細胞株 (LLC-PK1 細胞) を用いて調べられた。肝細胞において FB1 はセリンから脂質への変換を阻害し、50%阻害濃度 (IC_{50}) は $0.1 \mu\text{M}$ であった。FB2 も同程度の変換阻害を起こした。LLC-PK1 細胞において、FB1 の IC_{50} は $35 \mu\text{M}$ であった(参照 53. WP Norred et al. (1992) #113)。

FB2 及び FB3 のセラミド合成酵素阻害作用を調べる目的で、Sprague-Dawley ラット (雄) の肝臓切片に FB1、FB2 又は FB3 をばく

露させ、Sa 及び So 濃度を測定した。いずれの物質のばく露でも So に変化はなかったが、Sa 及び Sa/So 比はフモニシンをばく露させない対照と比較して用量依存的に有意に上昇した。著者らは、FB2 及び FB3 のセラミド合成酵素阻害作用は FB1 とほぼ同等であった、と著者らは報告している(参照 54. WP Norred et al. (1997) #7)。FB2 又は FB3 を 75 mg/kg の濃度でそれぞれ含む飼料をポニーに混餌投与し、スフィンゴ脂質濃度を調べた。血清中の Sa/So 比は、FB2 で投与 4 日目に、FB3 で 11 日目に有意に上昇した。FB2 を投与したポニーでは、肝毒性の指標となる血清中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) 活性の上昇が 34 日目に明らかとなり、神経症状が 48 日目から認められた。一方、FB3 を投与したポニーでは、65 日間の投与期間中異常が認められなかった(参照 55. RT Riley et al. (1997) #295)。

(3) 実験動物における体内動態のまとめ

ラットに経口投与したときの FB1 の吸収率は低く、投与量の 4%以下~~で~~が尿中に排泄され、ほとんどが代謝されずに糞中に検出~~及び尿に排泄~~される。ラットに ^{14}C -FB1 を単回強制経口投与した場合の血中からの消失半減期は 3.15 時間、臓器における半減期は肝臓で 4.07 時間、腎臓で 7.07 時間であった。また、 ^{14}C -FB1 を単回静脈内投与すると、血中からの消失半減期は 1.03 時間であった。吸収された少量の FB1 は、~~全身に分布するが、~~主に腎臓及び肝臓~~に~~から検出され、~~筋肉及び脂肪ではほとんど検出されなかった。~~

FB1 は尿中及び糞中へ排泄されるが、ラットに強制単回経口投与をした場合、投与後 84 時間目までの ^{14}C -FB1 の尿中及び糞中への排泄はそれぞれ投与量の 0.5%及び 90%で、性差はみられなかった。また、糞及び尿から加水分解された FB1 が検出された。

< 参考文献 >

- 1 T. S. Kellerman, W. F. Marasas, P. G. Thiel, W. C. Gelderblom, M. Cawood and J.
2 A. Coetzer. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of
3 fumonisin B1. Onderstepoort J Vet Res. 1990; 57: 269-275 #459
- 4 2 W. F. Marasas, T. S. Kellerman, W. C. Gelderblom, J. A. Coetzer, P. G. Thiel and
5 J. J. van der Lugt. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1
6 isolated from *Fusarium moniliforme*. Onderstepoort J Vet Res. 1988; 55:
7 197-203 #438
- 8 3 L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr.
9 Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic
10 metabolite of *Fusarium moniliforme*. J Vet Diagn Invest. 1990; 2: 217-221 #170
- 11 4 FAO/WHO. Working document for information and use in discussions related
12 to contaminants and toxins in the GSCTFF. CCCF Eighth Session. 2014; CF/9
13 INF/1: 65-67 #452
- 14 5 CODEX_alimentarius. GENERAL STANDARD FOR CONTAMINANTS AND
15 TOXINS IN FOOD AND FEED (CODEX STAN 193-1995). 1995; #444
- 16 6 EFSA. Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible
17 temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone
18 and fumonisins for maize and maize products. EFSA Journal. 2014; 12: 3699
19 #355
- 20 7 EU. Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for
21 certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and
22 maize products. EC No 1126/2007. 2007; #358
- 23 8 National_Grain_and_Feed_Association. FDA Mycotoxin Regulatory Guidance.
24 2011; #49
- 25 9 J. P. Rheeder, W. F. Marasas and H. F. Vismer. Production of fumonisin analogs
26 by *Fusarium* species. Appl Environ Microbiol. 2002; 68: 2101-2105 #48
- 27 10 EHC. Environmental Health Criteria 219: fumonisin B1, International
28 Programme on Chemical Safety (IPCS; UNEP, ILO and WHO). Eds.
29 W.H.O. Marasas, J.D. Miller, Riley, R.T. and A. Visconti. WHO, Geneva. 2000;
30 #337
- 31 11 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.
32 Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee
33 on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350
- 34 12 A. Desjardins. Chapter 3. Fumonisin. In *Fusarium* mycotoxins: chemistry,
35 genetics, and biology. The American Phytopathological Society, U.S.A. 2006;

#51

- 13 EFSA. Scientific opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. . EFSA Journal. 2014; 12: 3916 #344
- 14 M. Rychlik, H. U. Humpf, D. Marko, S. Danicke, A. Mally, F. Berthiller, H. Klaffke and N. Lorenz. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. Mycotoxin Res. 2014; 30: 197-205 #29
- 15 JECFA. Fumonisinis. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001; #465
- 16 National Toxicology Program. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report 496. 2001; #103
- 17 EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. The EFSA Journal. 2005; 235: 1-32 #356
- 18 SCF. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium toxins. Part 3: Fumonisin B1 (FB1). http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html. 2000; #339
- 19 IARC. Fumonisin B1. IARC [International Agency for Research on Cancer] Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. 2001; 82: #60
- 20 IARC. Fumonisin B1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. 2002; 82: #60
- 21 M. M. Reynoso, A. M. Torres and S. N. Chulze. Fusaproliferin, beauvericin and fumonisin production by different mating populations among the Gibberella fujikuroi complex isolated from maize. Mycol Res. 2004; 108: 154-160 #372
- 22 JECFA. Fumonisinis. JECFA 47. 2001; #367
- 23 T. F. R. No.139. Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems. 2003; #15
- 24 FAO/WHO. FAO/WHO–World Health Organization. Evaluation of Certain Food Addit Contam. Series 65. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 966, p70-94. 2011; #350
- 25 J. C. Frisvad, J. Smedsgaard, R. A. Samson, T. O. Larsen and U. Thrane. Fumonisin B2 production by Aspergillus niger. J Agric Food Chem. 2007; 55: 9727-9732 #34
- 26 A. Logrieco, R. Ferracane, A. Visconti and A. Ritieni. Natural occurrence of fumonisin B2 in red wine from Italy. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2010; 27: 1136-1141 #446

1 27 W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss. Effects
2 of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled
3 synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. Food Chem Toxicol. 1992; 30:
4 233-237 #231

5 28 C. Brera, F. Debegnach, S. Grossi and M. Miraglia. Effect of industrial
6 processing on the distribution of fumonisin B1 in dry milling corn fractions. J
7 Food Prot. 2004; 67: 1261-1266 #461

8 29 FAO/WHO. Discussion paper on proposed draft maximum levels for fumonisins
9 in maize and maize-products and associated sampling plans. CCCF Sixth
10 Session. 2012; CX/CF 12/6/18: 1-31 #347

11 30 C. Y. Warfield and D. G. Gilchrist. Influence of kernel age on fumonisin B1
12 production in maize by *Fusarium moniliforme*. Appl Environ Microbiol. 1999;
13 65: 2853-2856 #450

14 31 D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. A. Rotter, J. D. Miller, M. E. Savard, J. M.
15 Yeung and P. M. Scott. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing
16 animals. Adv Exp Med Biol. 1996; 392: 265-278 #69

17 32 K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek. Fumonisin: toxicokinetics,
18 mechanism of action and toxicity. Anim. Feed Sci. Technol. 2007; 137: 299-325
19 #67

20 33 M. R. Martinez-Larranaga, A. Anadon, M. J. Diaz, M. L. Fernandez-Cruz, M. A.
21 Martinez, M. T. Frejo, M. Martinez, R. Fernandez, R. M. Anton, M. E. Morales
22 and M. Tafur. Toxicokinetics and oral bioavailability of fumonisin B1. Vet Hum
23 Toxicol. 1999; 41: 357-362 #68

24 34 J. Fodor, K. Balogh, M. Weber, M. Miklos, L. Kametler, R. Posa, R. Mamet, J.
25 Bauer, P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs. Absorption, distribution and
26 elimination of fumonisin B(1) metabolites in weaned piglets. Food Addit
27 Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2008; 25: 88-96 #63

28 35 W. P. Norred, R. D. Plattner and W. J. Chamberlain. Distribution and excretion
29 of [14C]fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. Nat Toxins. 1993; 1:
30 341-346 #537

31 36 R. T. Riley and K. A. Voss. Differential sensitivity of rat kidney and liver to
32 fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and
33 sphingoid base metabolism. Toxicol Sci. 2006; 92: 335-345 #58

34 37 J. Szabo-Fodor, L. Kametler, R. Roland Posa, R. Rene Mamet, V. Rajli, J. Bauer ,
35 P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs. Kinetics of fumonisin B 1 in pigs and
36 persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin
37 concentration. Cereal Res. Commun. 2008; 36: 331-336 #74

38 38 W. R. Dantzer, J. Hopper, K. Mullin, S. Hendrich and P. A. Murphy. Excretion of

- (14)C-fumonisin B(1), (14)C-hydrolyzed fumonisin B(1), and (14)C-fumonisin B(1)-fructose in rats. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 4291-6 #1
- 39 E. C. Hopmans, C. C. Hauck, S. Hendrich and P. A. Murphy. Excretion of fumonisin B1, hydrolyzed fumonisin B1, and the fumonisin B1-fructose adduct in rats. *J Agric Food Chem.* 1997; 46: 2618-2625 #2
- 40 Q. Cai, L. Tang and J. S. Wang. Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007; 225: 28-39 #53
- 41 N. J. Mitchell, K. S. Xue, S. Lin, A. Marroquin-Cardona, K. A. Brown, S. E. Elmore, L. Tang, A. Romoser, W. C. Gelderblom, J. S. Wang and T. D. Phillips. Calcium montmorillonite clay reduces AFB1 and FB1 biomarkers in rats exposed to single and co-exposures of aflatoxin and fumonisin. *J Appl Toxicol.* 2014; 34: 795-804 #73
- 42 R. B. Orsi, P. Dilkin, J. G. Xavier, S. Aquino, L. O. Rocha and B. Correa. Acute toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. *Chem Biol Interact.* 2009; 179: 351-5 #54
- 43 J. Szabó-Fodor, L. Kametler, R. Pósa, R. Mamet, V. Rajli, J. Bauer, P. Horn, F. Kovács and M. Kovács. Kinetics of fumonisin B 1 in pigs and persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin concentration. *Cereal Res Commun.* 2008; 36: 331-336 #74
- 44 P. Dilkin, G. Direito, M. M. Simas, C. A. Mallmann and B. Correa. Toxicokinetics and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B1 containing *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. *Chem Biol Interact.* 2010; 185: 157-162 #62
- 45 G. S. Shephard, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, J. F. Alberts and M. E. Cawood. Distribution and excretion of a single dose of the mycotoxin fumonisin B1 in a non-human primate. *Toxicon.* 1994; 32: 735-41 #70
- 46 R. T. Riley, O. Torres, J. L. Showker, N. C. Zitomer, J. Matute, K. A. Voss, J. Gelineau-van Waes, J. R. Maddox, S. G. Gregory and A. E. Ashley-Koch. The kinetics of urinary fumonisin B1 excretion in humans consuming maize-based diets. *Mol Nutr Food Res.* 2012; 56: 1445-1455 #72
- 47 S. A. Young, J. G. Mina, P. W. Denny and T. K. Smith. Sphingolipid and ceramide homeostasis: potential therapeutic targets. *Biochem Res Int.* 2012; 2012: 1-12 #418
- 48 E. Wang, W. P. Norred, C. W. Bacon, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins. Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J Biol Chem.* 1991; 266: 14486-14490 #296
- 49 E. Wang, P. F. Ross, T. M. Wilson, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Increases in

serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J Nutr.* 1992; 122: 1706-1716 #300

50 R. T. Riley, D. M. Hinton, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, E. Wang, A. H. Merrill, Jr. and K. A. Voss. Dietary fumonisin B1 induces disruption of sphingolipid metabolism in Sprague-Dawley rats: a new mechanism of nephrotoxicity. *J Nutr.* 1994; 124: 594-603 #293

51 G. S. Shephard, L. Van Der Westhuizen and V. Sewram. Biomarkers of exposure to fumonisin mycotoxins: a review. *Food Addit Contam.* 2007; 24: 1196-1201 #66

52 S. Muller, W. Dekant and A. Mally. Fumonisin B1 and the kidney: modes of action for renal tumor formation by fumonisin B1 in rodents. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50: 3833-3846 #199

53 W. P. Norred, E. Wang, H. Yoo, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. In vitro toxicology of fumonisins and the mechanistic implications. *Mycopathologia.* 1992; 117: 73-78 #113

54 W. P. Norred, R. D. Plattner, M. A. Dombrink-Kurtzman, F. I. Meredith and R. T. Riley. Mycotoxin-induced elevation of free sphingoid bases in precision-cut rat liver slices: specificity of the response and structure-activity relationships. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1997; 147: 63-70 #7

55 R. T. Riley, J. L. Showker, D. L. Owens and P. F. Ross. Disruption of sphingolipid metabolism and induction of equine leukoencephalomalacia by *Fusarium proliferatum* culture material containing fumonisin B(2) or B(3). *Environ Toxicol Pharmacol.* 1997; 3: 221-228 #295

2. 実験動物等における毒性

食品中のフモニシンに関する毒性データのとりまとめにあたっては、経口摂取によるフモニシン特異的な毒性所見を明らかにするために、精製物を経口投与したデータを中心にとりまとめた。フモニシン以外の様々な毒素が混入している可能性のある自然汚染飼料、培養物等を投与した試験結果は必要に応じて参考とした。

実験動物におけるフモニシンの主な標的器官は肝臓及び/又は腎臓である。種による違いはみられるが、雄ラットでは腎臓、雌マウスでは肝臓の感受性が高いことが報告されている。また、飼料用トウモロコシのフモニシン汚染により、ウマに ELEM、ブタに PPE がみられることが報告されている。

以下にフモニシンを経口投与した毒性試験の結果を中心にとりまとめた。

(1) 急性毒性

精製 FB1 を経口投与した急性毒性試験結果を表 4 にまとめた。実験動物を用いた急性毒性試験において、初期に一過性の Sa 濃度上昇が認められている。FB1 の標的器官は、ほとんどの動物で肝臓及び/又は腎臓であった。FB1 の単回投与による死亡例は報告されておらず、LD₅₀ は知られていない。

1 表 1 単回投与によるフモニシンの急性毒性

動物種	化合物 (純度)	観察 期間	1 群 匹数	用量 (mg/kg 体重)	投与 経路	影響	LOAEL (mg/kg 体重)	NOAEL (mg/kg 体重)	参考文献
雄 Swiss NIH マウス、8 週齢	精製 FB1 (>95%)	0~120 時間	3~7 (時間ごと)	25、0.03 (0 時間を対照)	強制 経口	・ 25 mg/kg 体重投与群で、投与 2 時間以内に小腸、腎臓及び肝臓の Sa 濃度が増加。 ・ 25 mg/kg 体重投与群で、肝臓では投与 12 時間目にピークとなり、48 時間目に投与前の濃度となった。	25	0.03	(参 照 1 Enongene, Sharma #128)
雌 BALB/c マウス 7 週齢、約 20 g	精製 FB1 (>90%)	4、8 時間	4	0、25	強制 経口	・ FB1 投与 4~8 時間目の肝臓で TNFα シグナル伝達経路に關与する遺伝子が誘導された。	25	— ^a	(参 照 2 Bhandari and Sharma #129)
雄 F344 ラット、週齢不明、90~110 g	精製 FB1 (>98%)	7 日間	5	0、1.0、2.15、4.64、10.0、21.5、46.4	強制 経口	・ 21.5 mg/kg 体重以上の投与群で飼料摂取量減少及び歩行障害がみられた。 ・ 死亡例なし。	21.5 —	10.0	(参 照 3 McKean, Tang #130)
雄 F344 ラット、5 週齢、100 g	精製 FB1 (>98%)	10 日間	3~6	0、10、25	強制 経口	・ 尿中の Sa/So 比及び Sa1P/S1P 比の増加。	10	— ^a	(参 照 4 Cai, Tang #53)
雄 Wistar ラット、週齢不明、~230 g	精製 FB1 (Sigma 98%)	4、24、48 時間	6	0、0.005、0.05、0.5	強制 経口	・ 全投与量で肝細胞のアポトーシス数が増加し、用量依存的であった。 ・ 0.5 mg/kg 体重投与群で肝臓に主にみられたのは細胞壊死であった。	0.5	— ^a — ^a	(参 照 5 Domijan, Zeljezic #127)
雄 ウサギ、50 日齢、1.7 kg	精製 FB1 (>95%)	7 日間	12	31.5	強制 経口	・ 体重、肝臓重量抑制、血液化学的異常、尿タンパク質異常、肝臓及び腎臓のうっ血及び変性。	31.5	— ^a	(参 照 6 Orsi, Dilkin #54)
雄去勢離乳 ブタ、8 週齢、25 kg	精製 FB1 (Sigma)	2、6、12、24、48、72、96 時間	4	5 (対照群なし)	強制 経口	・ PPE の開始を示す挙動及び臨床徴候がみられた。 ・ 投与開始 2 日目より不活発となり、被毛の乱れ、心拍数の増加、呼吸数の増加がみられた。 ・ 喫水量及び摂餌量が減少した。 ・ 心臓壁の弛緩及び肥大並びに肝臓、腎臓及び肺にわずかなうっ血が認められたが、明らかな組織学的変化はみられなかった。 ・ 血漿及び尿の Sa 及び Sa/So 比はそれぞれ投与後 12 及び 48 時間が最高値であった。	5	— ^a	(参 照 7 Dilkin, Direito #62)

a : 設定できず

1 (2) 亜急性毒性

2 <精製フモニシンを用いた知見>

3 ① マウス

4 a. 7 日間強制経口投与試験

5 Swiss マウス（雌雄、それぞれ一群 5 匹）に精製 FB1 を 0.110 mg/kg
6 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。
7 FB1 投与群の一般状態に変化はなく、死亡は認められなかった。FB1 を
8 投与しない対照群と比べて、FB1 投与群の雌マウスに有意な増体量の低
9 下、雄マウスに血清総コレステロール及び総タンパク質の有意な増加、雌
10 雄マウスに血清中の中性脂肪（TG）及びクレアチニンの有意な増加並び
11 に尿中クレアチニンの有意な減少が認められた(参照 8 Kouadio, Moukha
12 #145)。

13 b. 7 日間混餌投与試験

14 フモニシンによる肝障害に、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α
15 (PPAR α)¹ が関与しているか否かを調べる目的で、野生型 SV129 マウ
16 ス又はその PPAR α 欠損マウス（雌、それぞれ一群 5 匹）に、精製 FB1
17 （純度>98%）又は *F. verticillioides* 培養物（CM）を 7 日間、0 又は 300
18 mg/kg 飼料の FB1 用量（45 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算）で混餌
19 投与された。陽性対照として選択的 PPAR α アゴニストである WY-14643
20 （WY）が 500 mg/kg 飼料で混餌投与された。FB1 又は CM を投与した両
21 マウス群では、飼料のみを給与したそれぞれの対照群に比べて増体率が有
22 意に減少し、肝臓の Sa 濃度及び Sa/So 比が上昇した。肝臓では、限局性
23 の肝細胞アポトーシス、細胞増殖、巣状肝細胞壊死、細胞及び核の大小不
24 同、限局性の急性炎症、軽度な胆管過形成等がみられた。オリゴヌクレオ
25 チドアレイを用いた転写プロファイリングでは、FB1 又は CM 投与によ
26 り、~~両マウス群では~~細胞増殖、シグナル伝達及びグルタチオン代謝に関係
27 する遺伝子の発現が認められ、~~両マウスら~~その発現パターンは類似してい
28 た。両~~マウス~~群ともに PPAR α 依存的な遺伝子発現パターンは認められな
29 かったことから、著者らは、FB1 及び CM によるマウスの肝障害に PPAR α
30 は関与していないと考えた(参照 9 Voss, Liu #141)。

31 c. 14 日間強制経口投与試験

32 B6C3F1 マウス（雌雄、それぞれ一群 14 匹）に、精製 FB1（純度不明）
33 を 0、1、5、15、35 又は 75 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与
34
35

¹ ペルオキシソーム増殖剤は、ステロイドホルモン受容体スーパーファミリーに属する核内受容体の一つである PPAR α に結合し、げっ歯類にペルオキシソームの増殖を伴う肝細胞の肥大及びマウスに肝腫瘍を誘発する。

1 する亜急性毒性試験が実施された。その結果、FB1 投与群では雌の体重が
2 明らかな減少傾向を示し、雌雄ともに肝臓、骨髄、副腎及び腎臓に以下の
3 ような軽度な障害が認められた。肝臓では、肝細胞の単細胞壊死が雄の 35
4 mg/kg 体重/日以上及び雌の 15 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認めら
5 れ、肝細胞の軽度な増殖が雄の 75 mg/kg 体重/日以上及び雌の 5 mg/kg 体
6 重/日以上の FB1 投与群で認められた。雌雄ともに全ての FB1 投与群で、
7 血清中の総コレステロール濃度及びアラニンアミノトランスフェラーゼ
8 (ALT) 活性が FB1 用量依存的に有意に上昇した。骨髄細胞の軽度な空
9 胞変性が雌の 5 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で認められた。副腎皮質
10 細胞の空胞変性が雄の 35 mg/kg 体重/日以上及び雌の 15 mg/kg 体重/日
11 以上の FB1 投与群で認められた。雄では、35 mg/kg 体重/日以上の FB1
12 投与群で血清中尿素窒素の上昇が、雌では、15 mg/kg 体重/日以上の FB1
13 投与群で腎臓皮質及び髄質の尿細管上皮細胞に軽度な単細胞壊死が認め
14 られた(参照 10 Bondy, Suzuki #167)。

15 16 d. 28 日間混餌投与試験 (National Toxicology Program: NTP)

17 2 年間発がん試験の予備試験として、B6C3F1 マウス (雌雄、それぞれ
18 一群 12 匹) に 0、99、163、234 又は 484 mg/kg の精製 FB1 (純度 92%)
19 を含む飼料 (雄: 0、19、31、44 又は 93 mg/kg 体重/日、雌: 0、24、41、
20 62 又は 105 mg/kg 体重/日に相当) を 28 日間給与した。全ての FB1 投与
21 群の雌及び 484 mg/kg 飼料の FB1 投与群の雄で、血清総コレステロール
22 濃度、総胆汁酸濃度、ALT 及びアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が、
23 FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値となり、脂質代謝異常及び肝
24 障害を示していた。また、全ての FB1 投与群の雌及び 484 mg/kg 飼料の
25 FB1 投与群の雄の肝臓に、肝細胞壊死、びまん性の門脈周囲性肝細胞肥大、
26 小葉中心性の肝細胞過形成、細胆管過形成、クッパー細胞過形成及び細胞
27 分裂の亢進がみられた。尿中 Sa 濃度及び Sa/So 比は、484 mg/kg 飼料投
28 与群の雄で対照群に比べて有意に上昇した (参照 11
29 National Toxicology Program #103)。

30 31 e. 28 日間混餌投与試験

32 B6C3F1/Nctr マウス (雌、一群 8 匹、フモニシンを投与しない対照群
33 16 匹) に、精製 FB1 (純度>97%)、FB2 又は FB3 をそれぞれ 3 用量で 28
34 日間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。それぞれの投与群に給与
35 した飼料中のフモニシン濃度は、FB1 が、10、52 又は 103 mg/kg 飼料、
36 (0、2.2、11.5 又は 22.9 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算) FB2 が、
37 8、41 又は 82 mg/kg 飼料、FB3 が、11、55 又は 110 mg/kg 飼料であっ
38 た。いずれのフモニシン投与群でも、摂餌量及び増体量に用量依存的な変

化はみられなかった。52 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群では、対照群と比べて、血清中の総コレステロール濃度、総胆汁酸濃度及び ALP 活性が用量依存的に有意に上昇し、肝臓中セラミド濃度が有意に減少した。肝臓の相対重量は、52mg/kg 飼料の FB1 投与群で減少傾向にあり、103 mg/kg 飼料の FB1 投与群では対照群に比べて有意に減少した。肝臓の Sa/So 比は、全ての FB1 投与群で用量依存的に増加し、全ての FB1 投与群で対照群に比べて有意に増加した。肝臓、脳、心臓、腎臓、脾臓及び腸間膜リンパ節を用いた病理組織学的検査の結果、52 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の肝臓で、小葉中心性に肝細胞のアポトーシスの用量依存的な増加、肝細胞の肥大及び空胞変性、クッパー細胞の過形成並びにマクロファージに色素沈着がみられた。当該試験において、FB1 投与群に肝毒性が認められたが、FB2 及び FB3 投与群のマウスでは、血液検査、臓器重量、肝臓の Sa/So 比に投与用量依存的な変化はみられなかった(参照 12 Howard, Couch #77)。

f. 13 週間混餌投与試験

B6C3F1 マウス（雌雄、それぞれ一群 15 匹）に、0、1、3、9、27 又は 81 mg/kg 飼料の用量で *F. moniliforme* の培養物から抽出、精製した FB1（純度>98%）を 13 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1 の平均投与量は、雄で 0、0.30、0.84、2.44、7.38 又は 23.1 mg/kg 体重/日、雌では 0、0.31、1.00、3.03、9.71 又は 28.9 mg/kg 体重/日であった。雄に毒性影響はみられなかった。81 mg/kg 飼料の FB1 投与群（28.9 mg/kg 体重/日）の雌マウスの肝臓に、肝細胞の壊死及び巨大肝細胞（megalocytic hepatocyte）²の増加、分裂像の増加、好中球及びマクロファージの浸潤並びにマクロファージへの色素沈着が、小葉中心性に認められた。また、FB1 を投与しない対照群に比べて ALT 活性、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）活性、ALP 活性、乳酸~~脱水素酵素~~~~デヒドロゲナーゼ~~（LDH）活性、総コレステロール濃度、総タンパク質濃度及び総ビリルビンの濃度が有意に高値となった。雌マウスの肝障害を指標とした FB1 の NOAEL は 27 mg/kg 飼料（9.71 mg/kg 体重/日）と著者らは考察している(参照 13 Voss, Chamberlain #162)。

g. 16 週間混餌投与試験

マウス（雌、系統不明、一群 15 匹）に 0 又は 150 mg/kg 飼料（22.5 mg/kg 体重/日に相当、事務局換算 ³）の精製 FB1 を 16 週間混餌投与する亜急性

² megalocytic hepatocytes. 遺伝子や増殖活性に異常を起こした細胞の核及び細胞質が腫大した状態。

³ JECFA で用いている換算（IPCS:EHC70）を用いて摂取量を推定。

毒性試験が実施された。増体量に FB1 の用量依存的な変化はみられなかった。FB1 投与群では、組織学的に軽度から中等度の胃粘膜の萎縮がみられ、FB1 を投与しない対照群に比べて胃の壁細胞数が有意に減少し、胃粘膜の高さ及び胃腺の分裂細胞数が有意に減少した。免疫組織化学染色の結果、FB1 投与群では、対照群に比べて胃の上皮細胞にアポトーシスを抑制するタンパク質である Bcl-2 陽性細胞の減少及びアポトーシスを促進するタンパク質である Bax 陽性細胞の増加がみられた。(参照 14 Alizadeh, Mohammadghasemi #176)。

h. 24 週間混餌投与試験 (NTP)

B6C3F1 マウス (雌雄、それぞれ一群 20 匹) に、d. の 2 年間試験と同じ用量の精製 FB1 (純度 96%) を 24 週間混餌投与し、投与開始 3、7、9 又は 24 週目に 4 匹ずつ病理学的検査が実施された。FB1 の投与量は、雄では、0、5、15、80 又は 150 mg/kg 飼料 (0、0.6、1.7、9.7 又は 17.1 mg/kg 体重/日に相当)、雌では、0、5、15、50 又は 80 mg/kg 飼料 (0、0.7、2.1、7.1 又は 12.4 mg/kg 体重/日に相当) であった。15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雌では、投与開始 24 週目までに肝臓に小葉中心性の肝細胞アポトーシス及び壊死、細胞質に空胞変性、クッパー細胞 過形成増生、小葉中心性の色素沈着が散見された。小葉中心性の肝細胞アポトーシスは、FB1 投与開始 3 週間目から 150 mg/kg 飼料投与群に認められたが、時間又は投与量依存性はみられなかった。肝臓の Sa/So 比は、FB1 投与開始 3 週間目に 50 mg/kg 飼料以上の投与群及び投与開始 9 週間目に 5 mg/kg 飼料以上の投与群で、FB1 を投与しない対照群に比べて有意な上昇が認められたが、投与開始 7 及び 24 週目では、全ての投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。尿クレアチニン濃度及びタンパク濃度に FB1 投与による影響は認められなかった。雄の肝臓の Sa/So 比は、80 mg/kg 飼料投与群で投与開始 7 週間目のみ対照群に比べて有意に上昇した(参照 11 National_Toxicology_Program #103)。

i. 26 週間混餌投与試験

FB1 の発がん性に p53 たんぱく質が関与しているか否かを調べる目的で、トランスジェニック *p53*^{+/-}マウス⁴及びその野生型である *p53*^{+/+}マウス。

種	最終体重(kg)	摂取量(g/動物/日)	摂取量(g/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	150

⁴ *p53*^{+/-}マウスは、がん抑制遺伝子 *p53* に変異を導入した AB1ES 細胞 (129/SvEv マウス由来) を C57BL/6J の胚盤胞期胚に導入し、戻し交配して、*p53* の片側アレルを欠損させたマウス。本試験に用いられているのは 5 世代目の *p53*^{+/-} 及び *p53*^{+/+} マウス。

ウス（雄、それぞれ一群 10 匹）に、精製 FB1（純度 97%）を 0、5、50、150 mg/kg 飼料の用量で 26 週間混餌投与した。FB1 摂取量は、*p53*^{+/-}マウスで 0、0.37、3.88 又は 12.6 mg/kg 体重/日並びに *p53*^{+/+}マウスで 0、0.39、3.87 又は 12.2 mg/kg 体重/日相当であった。*p53*^{+/-}マウス及び *p53*^{+/+}マウスともに肝臓の相対重量に変化はみられなかった。両マウスの白血球数及びリンパ球数は、用量依存的に増加し、150 mg/kg 飼料の FB1 投与群で血中 IgA 及び IgM 濃度が明らかに高値となった。両マウスともに、全ての FB1 投与群で、肝臓及び腎臓中の Sa、S1P 及びデオキシ-Sa 濃度が FB1 の用量依存的に上昇した。両マウスの 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群の肝臓に結節がみられた。また、両マウスの全ての FB1 投与群の肝臓で巨大肝細胞の発生率が用量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、アポトーシス、細胞壊死、細胞分裂及び多核の肝細胞が用量依存的に増加した。これらの非腫瘍性病変の他に、両マウスともに、150 mg/kg 飼料の FB1 投与群で肝腫瘍及び胆管腫瘍が認められたが、腎臓への影響はみられなかった。*p53*^{+/-}マウス及び野生型マウスへの FB1 の毒性影響に違いはほとんどみられず、FB1 の毒性作用は非遺伝毒性のメカニズムによるものと著者らは考えた。巨大肝細胞の増加を指標として *p53*^{+/-}マウス及び *p53*^{+/+}マウスのデータを合計して推計した FB1 の BMDL₁₀ は 0.15 mg/kg 体重/日であった(参照 15 Bondy, Mehta #144)。

② ラット

a. 11 日間強制経口投与試験

Sprague-Dawley ラット（雌雄、一群 6～7 匹）に、精製 FB1（純度不明）を 0、1、5、15、35 又は 75 mg/kg 体重/日の用量で 11 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。雌雄ラットの肝臓及び腎臓に FB1 用量依存的な障害が認められた。雄ラットの主な標的器官は腎臓で、全ての FB1 投与群の雄及び 5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で、腎臓尿細管上皮細胞の単細胞壊死及び脱落上皮細胞が認められた。尿中の γ-グルタミルトランスペプチターゼ (GGT)、LDH 及び *N*-アセチル-β-D 乳酸脱水素酵素 (NAG) 活性は一過性の有意な上昇が認められ、尿細管損傷を示していた。血中クレアチニン濃度は、FB1 を投与しない対照群に比べて 75 mg/kg 体重/日 FB1 投与群の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で有意に上昇した。雌雄ラットの 35 mg/kg 体重/日以上投与群で肝臓の絶対重量がそれぞれの対照群と比べて有意に減少した。雌では、15 mg/kg 体重/日以上投与群で肝臓の相対重量が対照群と比べて有意に減少したが、雄ラットでは、肝臓の相対重量に FB1 投与依存的な変化はみられなかった。肝細胞壊死は、雌雄ラットともに 15 mg/kg 体重/日以上投与群でみられ、肝細胞の増殖亢進は、35 mg/kg 体重/日

1 以上の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上 of 雌に認められた。雄ラットでは、対
2 照群に比べて 75 mg/kg 体重/日の FB1 投与群で、血清中 ALT 及び GGT
3 活性並びにコレステロール濃度が有意に上昇した。雌ラットでは、対照群
4 と比べて、5 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で血清中コレステロール濃
5 度の有意な上昇がみられ、35 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で血清 ALT
6 及び ALP 活性が有意に上昇した。FB1 に対して最も感受性が高く、障害
7 がみられたのは腎臓で、雌ラットより雄ラットの感受性が高かった(参照
8 16 Bondy, Barker #166, 17 Bondy, Suzuki #168)。

9 10 b. 14 日間強制経口投与試験

11 Sprague-Dawley ラット (雄、一群 8~10 匹) に、精製 FB1 (純度
12 98%) を 5、15 又は 25 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与する亜
13 急性毒性試験が実施された。FB1 を投与しない対照群と比べて、15
14 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群では体重減少がみられた。臓器重量並び
15 に赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリ
16 ット等の血液検査の結果に FB1 投与量依存的な変化はみられなかった(参
17 照 18 Tryphonas, Bondy #139)。

18 19 c. 28 日間混餌投与試験

20 F344 ラット (雌雄、一群それぞれ 10 匹) に、0、99、163、234、又は
21 484 mg/kg 飼料 (0、12、20、28 又は 56 mg/kg 体重/日に相当、JECFA
22 換算) の用量で精製 FB1 (純度>92.5%) を 28 日間混餌投与する亜急性毒
23 性試験が実施された。雌雄ともに FB1 投与群の増体量が用量依存的に低
24 下傾向にあった。FB1 を投与しない対照群と比べて、雌雄ともに 234
25 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で肝臓の絶対重量が有意に減少し、全ての
26 FB1 投与群で腎臓の絶対重量が有意に減少した。組織学的検査の結果、雄
27 では、全ての FB1 投与群で腎皮質内層の尿細管上皮細胞にアポトーシス
28 がみられ、163 mg/kg 飼料以上の投与群で尿細管の変性がみられた。雌で
29 は、163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で尿細管上皮細胞にアポトーシス
30 がみられた。肝臓では、肝細胞のアポトーシス、肝小葉構造の変性、胆管
31 過形成及び肝細胞増殖が認められた。これらの肝障害は、雄では 234
32 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群にみられ、雌では肝細胞のアポトーシスが
33 99 mg/kg 飼料以上、その他の肝障害は 163 又は 234 mg/kg 飼料以上の
34 投与群にみられた(参照 19 Tolleson, Dooley #89)。

35 36 d. 4 週間混餌投与試験

37 Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群それぞれ 3 匹) に、0、15、50 又
38 は 150 mg/kg 飼料 (雌: 0、1.4、4.1 又は 13.0 mg/kg 体重/日、雄: 0、1.4、

4.7、13.6 mg/kg 体重/日) の用量で精製 FB1 (純度>99%) を 4 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。体重、摂餌量及び一般状態に FB1 用量依存的な変化はみられなかった。血清 TG の有意な増加が雄の 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群及び雌の 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群に、血清コレステロール及び ALP の有意な増加が雌の 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群にみられた。150 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雌雄全てのラットの肝臓に散在性の単細胞壊死及び核濃縮がみられ、細胞質には空胞変性が認められた。雄の 15 mg/kg 飼料以上及び雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で、腎臓髄質境界部に尿細管上皮細胞の単細胞壊死、脱落、好塩基性化及び過形成が認められた。同用量で精製 FB1 (純度 90%~94%) を Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群それぞれ 3 匹) に 4 週間混餌投与した結果、純度>99%の精製 FB1 と同様の肝障害が 150 mg/kg 飼料の雌雄 FB1 投与群で、ネフローゼが雄の 15 mg/kg 飼料以上及び雌の 50 mg/kg 飼料以上に認められた。腎臓の Sa 及び Sa/So 比は雌雄ともに全ての投与群で有意に増加した。肝臓の Sa/So 比は雄の 150 mg/kg 飼料投与群、雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で有意に増加し、尿中の Sa/So 比は雄の 15 mg/kg 飼料投与群以上、雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で有意に増加した。血清中の Sa/So 比は雌雄ともに 150 mg/kg 飼料の投与群で有意に増加した(参照 20 Voss, Chamberlain #271, 21 Voss, Chamberlain #162)。

e. 28 日間混餌投与試験 (NTP)

2 年間発がん試験の予備試験として、雌雄 F344 ラット (雌雄、それぞれ一群 18 匹) に 0、99、163、234 又は 484 mg/kg の精製 FB1 (純度 92%) を含む飼料 (雌雄ともに 0、12、20、28 又は 56 mg/kg 体重/日に相当) を 28 日間給与した。雌雄ともに 484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の平均体重は、FB1 を投与しない対照群に比べて有意に減少した。484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雄では、飼料摂取量も有意に減少した。血液化学検査の結果、484 mg/kg 飼料 FB1 投与群の雌雄では、FB1 を投与しない対照群に比べてクレアチニン濃度、総コレステロール濃度、TG 濃度、ALT 活性、ALP 活性、AST 活性及び GGT 活性が有意に高値となり、雄では、総胆汁酸濃度も有意に高値となり、脂質代謝異常及び肝障害を示していた。尿中 Sa/So 比は、雄では全ての FB1 投与群で、雌では 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で対照群に比べて有意に高かった。腎臓の絶対重量及び相対重量は雌雄ともに全ての投与群で対照群に比べて有意に減少した。雄の全ての FB1 投与群及び雌の 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、腎臓の皮質内層の尿細管上皮細胞を主体としたアポトーシス及び変性が認められた。肝臓の肝細胞アポトーシス及び変性は、雌の 234 mg/kg 飼料以上及び雄の 163 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群に認められた(参照 11

National_Toxicology_Program #103)。

f. 13 週間混餌投与試験

F344 ラット（雌雄、一群それぞれ 15 匹）に、*F. moniliforme* の培養物から抽出、精製した FB1（純度>98%）を、0、1、3、9、27 又は 81 mg/kg 飼料の用量で 13 週間混餌投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1 の平均投与量は、雄では 0、0.07、0.21、0.62、1.92 又は 5.66 mg/kg 体重/日、雌では 0、0.08、0.24、0.73、2.15 又は 6.35 mg/kg 体重/日であった。雌雄ともに、9 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で腎臓絶対重量が有意に減少し、27 mg/kg 飼料以上の投与群で腎臓相対重量が有意に減少した雄の 9 mg/kg 飼料以上の投与群及び雌の 81 mg/kg 飼料投与群の腎臓では、髓質外帯の髓放線に沿って近位尿細管細胞の変性及び壊死が広がっていた。また、核濃縮を起こし、細胞質が好酸性化した壊死細胞が管腔内に脱落していた。雌雄ともに肝障害は認められなかった。雄の腎毒性を指標とする当該試験の NOAEL は 3 mg/kg 飼料（0.21 mg/kg 体重/日に相当）であった(参照 13 Voss, Chamberlain #162)。

g. 26 週間混餌投与試験（NTP）

F344 ラット（雌雄、それぞれ一群 4 匹）に、2 年間試験と同じ用量の精製 FB1（純度≥96%）を 26 週間混餌投与し、投与開始 6、10、14 又は 26 週目に 4 匹ずつ病理学的検査が実施された。FB1 の投与量は、雄では 0、5、15、50 又は 150 mg/kg 飼料（0、0.25、0.76、2.5 又は 7.5 mg/kg 体重/日に相当）、雌では 0、5、15、50 又は 100 mg/kg 飼料（0、0.31、0.91、3.0 又は 6.1 mg/kg 体重/日に相当）であった。血液検査、血液生化学検査、尿検査の結果、FB1 投与による用量依存的な変化は認められなかった。雄ラットでは、腎臓皮質尿細管上皮細胞のアポトーシスが、投与開始 6～14 週目まで、15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の全てのラットに認められた。投与開始 26 週目では、5 mg/kg 飼料投与群で 4 匹中 1 匹にも腎臓皮質尿細管上皮細胞のアポトーシスが認められた。腎臓尿細管上皮細胞の増殖は、50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雄ラットで投与開始 6 週間以降に、雌ラットでは、100 mg/kg 飼料投与群にみられた。尿中 Sa/So 比は雄ラットで FB1 投与開始 6 週目に 150 mg/kg 飼料 FB1 投与群で FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値となり、投与開始 10 週間目及び 21 週目に 5 mg/kg 飼料以上並びに 14 週目に 15 mg/kg 飼料の FB1 投与群で用量依存的に対照群と比べて有意に上昇し、雌ラットでは、6、14、26 週目に 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で用量依存的に対照群と比べて有意に上昇した(参照 11 National_Toxicology_Program #103)。

③ ブタ

a. 6 日間強制経口投与試験

3 週齢の離乳ブタ（ヨークシャー雑種、雄、35 頭）に、FB1 を含む *F. verticillioides* 培養抽出液又は精製 FB1（純度>95%）を 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 6 日間強制経口投与した。FB1 投与最終日に、ブタに病原性 *Escherichia coli* (*E. coli*) 菌株を経口接種し、24 時間後に実施された剖検又は組織学的検査において、投与に関係する臓器への有意な影響はみられなかった。また、体重増加量、臨床症状、血漿の生化学分析で投与に関係する変化は認められなかった。*E.coli* 接種 24 時間後の腸の検査から、FB1 含有培養抽出物又は精製 FB1 のいずれの投与でも、回腸、盲腸及び結腸において菌のコロニー形成の有意な増加がみられた。コロニー形成と腸外器官（腸間膜リンパ節、肺、肝臓、脾臓）への菌の転移の程度は、精製 FB1 より FB1 含有培養抽出物を投与したブタのほうが大きかったことから、著者らは、抽出物中の未確認の物質が FB1 と相乗的に作用していると考察した(参照 22 Oswald, Desautels #158)。

b. 8 週間混餌投与試験

去勢雄及び未經産ヨークシャーブタ（雌雄、一群それぞれ 4 頭）に、0、0.1、1.0 又は 10.0 mg/kg 飼料（0、0.004、0.04 又は 0.4 mg/kg 体重/日に相当、事務局換算⁵⁾）の精製 FB1（純度>98%）を含む飼料を 8 週間給与する亜急性毒性試験が実施された。雄では、FB1 を投与しない対照群と比べて 1.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群で 8%及び 10.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群で 11%の体重増加抑制がみられた。総コレステロール濃度は、投与 2 週目に、1.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の雄で、対照群と比べて有意に高かったが、8 週間目には雌雄ともに 1.0 mg/kg 飼料の FB1 投与群のみ対照群に比べて有意に高かった。肝臓、腎臓及び肺の Sa/So 比が、雌雄ともに 10.0 mg/kg 飼料投与群で対照群に比べて有意に高値であった(参照 23 Rotter, Thompson #171)。

＜培養物等を用いた知見＞

① マウス

a. 43 日間混餌投与試験

BALB/c マウス（雌、一群 24 匹）に、*F. verticillioides* 培養物から抽出した FB1 及び FB2 を総量として、0、50、150 mg/kg 飼料（0、7.5、22.5

⁵⁾ JECFA で用いている換算（IPCS:EHC70）を用いて摂取量を推定。

種	最終体重(kg)	摂取量(g/動物/日)	摂取量(g/kg 体重/日)
ブタ	60	2400	40

mg/kg 体重/日に相当、事務局換算²⁾ 含む飼料を 42 又は 43 日間給与する試験が実施された。当該試験では、各群 20 匹に *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*) がフモニシン投与開始 6 日目に 1,000 個腹腔内投与された。*T.cruzi* 接種の有無にかかわらず、フモニシン投与群には軽度な肝細胞のアポトーシス及び肝細胞の大小不同が認められ、肝臓の Sa/So 比が用量依存的に増加した(参照 24 Dresden Osborne, Pittman Noblet #157)。

② ラット

a. 10 日間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 12 匹) に *F. verticillioides* 培養物を添加して、総フモニシン (FB1、FB2 及び FB3 の重量比は 1.00 : 0.45 : 0.10) を 13.5 又は 88.6 mg/kg 飼料含む飼料を 10 日間給与し、投与開始 1、3、5 又は 10 日目に肝臓、腎臓、心臓の病理検査を実施するとともに、FB1 及びスフィンゴ脂質の濃度が調べられた。対照群に給与した培養物を添加しない飼料のフモニシン濃度は 1.1 mg/kg 飼料であった。フモニシン蓄積は、フモニシン投与 1 日目から肝臓及び腎臓に認められ、その蓄積量は腎臓に多く、肝臓の 10 倍ほどであった。腎臓髄質外層の尿細管上皮細胞のアポトーシス及びそれに伴う再生性・反応性変化を指標に腎毒性をスコア化すると、腎毒性は、13.5 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 5 日目から及び 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 3 日目から認められた。投与 5 日目からは、用量依存的に腎毒性がみられた。腎臓では Sa の濃度が投与 1 日目から有意に高値となった。So の濃度は、Sa より低値で、投与 5 日目から対照群と比べて有意に高値となった。これらの代謝物であるスフィンガニン 1-リン酸 (Sa1P) 及びスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) も投与 3~5 日目には全ての投与群に認められた。肝臓では肝細胞の壊死及びそれに伴う再生性・反応性変化をを指標とすると、軽度な肝障害が投与 5 日目及び 10 日目の 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群に認められた。肝臓では、対照群と比べて 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で投与 10 日目に Sa 濃度及び投与 5 日目に So 濃度の有意な増加が認められた。心臓に病理学的な変化は認められなかった。心臓の Sa 及び So は、対照群と比べて投与開始 5 日目に 88.6 mg/kg 飼料のフモニシン投与群で有意に高値となった。Sa 及び So のリン酸化物は検出されなかった(参照 25 Riley and Voss #58)。

b. 3 週間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 10 匹) に、FB1、FB2 及び FB3 を産生する菌株、FB2 のみを産生する菌株又は FB3 のみを産生する菌株の 3 種の *F. moniliforme* 培養物を添加した飼料を 3 週間給与する亜急性毒

性試験が実施された。総フモニシン投与群には、総フモニシンとして 6.9、53 又は 303 mg/kg (FB1、FB2 及び FB3 の割合は 1.0 : 0.38 : 0.15) 含む飼料、FB2 投与群には 4.6、32 又は 219 mg/kg の FB2 を含む飼料、FB3 投与群には 6.7、49 又は 295 mg/kg の FB3 を含む飼料が給与された。培養物を添加しない飼料を給与した対照群と比べて総フモニシン、FB2 及び FB3 投与群に増体量の抑制、腎臓の相対重量減少、血清中 ALT、ALP 及び LDH 活性の上昇がみられた。また、総フモニシン投与群では、肝細胞及び主に腎臓髓質外層の尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられた。総フモニシン投与群及び FB2 投与群では、副腎皮質の 索状帯に空胞変性が認められた。毒性の強さは総フモニシン投与群 $\geq$ FB2 > FB3 であった。全てのフモニシンの最高濃度投与群の肝臓の Sa/So 比及び 53 mg/kg 飼料以上の総フモニシン投与群の腎臓の Sa/So 比が対照群と比較して有意に増加した。培養物を添加した飼料を 3 週間給与後に、それぞれ 5 匹ずつに回復期間として培養物を添加しない飼料を 3 週間給与すると、全ての FB2 及び FB3 投与群並びに 6.9 mg/kg 飼料の総フモニシン投与群では、体重、臓器重量、血液化学検査、肝臓及び腎臓の Sa/So 比に、対照群との差はみられなかった(参照 26 Voss, Plattner #10)。

c. 35 日間混餌投与試験

Wistar ラット (雌、一群 13 匹) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して、10 又は 20 mg/kg の FB1 を含む飼料を 35 日間給与し、体重を測定するとともに糞を採取して飼料の消化率が調べられた。対照群に給与した飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼料であった。FB1 投与群では、対照群と比較して体重及び体重増加率が有意に減少した。飼料及び糞中の乾燥物、粗蛋白質、粗繊維、エーテル抽出物、灰分、可溶性無窒素物について分析した結果、FB1 投与群では飼料消化率の用量依存的な低下が認められた(参照 27 Gbore, Yinusa #156)。

d. 8 週間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 10 匹) に、*F. verticillioides* により発酵させたコーングリッツの加工産物を添加した飼料をラットに給与した。6 種類の加工産物を含む飼料を給与したラットの平均 FB1 摂取量は、0.0251、0.103、0.222、0.354、0.698 又は 1.804 mg/kg 体重/日であった。FB1 の用量依存的に、腎臓のアポトーシス、スフィンゴ塩基濃度の上昇を含む腎毒性のスコアが上昇した。0.0251 mg/kg 体重/日の FB1 投与群に腎毒性はみられなかった(参照 28 Voss, Riley #85)。

e. 12 週間混餌投与試験

Wistar ラット（雄、一群 6 匹）に *F. verticillioidea* 培養物から抽出した FB1 を 0 又は 100 mg/kg 含む飼料を 90 日間給与する亜急性毒性試験が実施された。90 日間の総 FB1 摂取量は、810 mg/kg 体重であった。FB1 を投与しない対照群に比べて FB1 投与群では、飼料摂取量、体重及び体重増加の減少がみられた。肝臓では、血管周囲に組織球浸潤及びクッパー細胞の増加、腎臓では尿細管上皮細胞の壊死及びアポトーシス、小腸陰窩では細胞分裂像の増加及びリンパ球浸潤がみられた。血液化学検査の結果、対照群に比べて FB1 投与群では、血清 ALP 活性の有意な上昇と、TG の有意な減少が認められた(参照 29 Theumer, Lopez #137)。

③ ウサギ

a. 5 週間混餌投与試験

雑種ウサギ（雄、一群 10 匹）に、*F. verticillioidea* 培養物を添加して FB1 を 12.3 又は 24.56 mg/kg 含む飼料を 5 週間投与する亜急性毒性試験が実施された。対照群に給与した、培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は、0.35 mg/kg 飼料であった。体重及び体重増加に有意差はなかったが、24.56 mg/kg 飼料の FB1 投与群の飼料摂取量が有意に減少した。血清中の ALT 及び AST に変化はみられなかった(参照 30 Ewuola, Gbore #150)。

b. 196 日間混餌投与試験

NZW×Chinchilla 交雑ウサギ（雄、一群 12 匹）に、*F. verticillioidea* 培養物を添加して 5.0、7.5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 196 日間給与した。対照群に給与した、培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.13 mg/kg 飼料であった。FB1 の一日投与量は、それぞれ 0.005（対照群）、0.199、0.292 又は 0.373 mg/kg 体重/日相当であった。FB2 及び FB3 濃度は無視できる程度であった。10 mg/kg 飼料の FB1 投与群では肝臓及び脾臓の相対重量が有意に減少した。腎臓及び精巣の相対重量は、全ての用量で有意に増加した。組織学的検査の結果、5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の肝臓及び腎臓に細胞壊死、精巣にセルトリ細胞の変性、胃及び小腸に粘膜のびらんが用量依存的に認められた。心臓及び副腎に影響はみられなかった(参照 31 Ewuola #148)。同じ条件で FB1 を含む飼料を NZW×Chinchilla 交雑ウサギ（雄、一群 12 匹）に 84 日間投与した結果、7.5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、ヘマトクリット値及び赤血球の減少並びに白血球の増加がみられた。5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、血清中の総タンパク質、アルブミン及びアルブミン/グロブリン比が有意に低下した。7.5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で血清中グロブリン、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で AST 活性及び 5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で ALP 活性が有意に増加した(参照 32 Ewuola and Egbunike #149)。

④ ブタ

a. 14 日間強制経口投与試験

離乳ブタ（雌、4 週齢、一群 6 頭）に、*F. verticillioides* の培養抽出液（FB1: 530.85 mg/L、FB2: 133.30 mg/L、FB3: 35.60 mg/L）を FB1 として 2.8 μ mol/kg 体重/日の用量で 14 日間連続強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。FB1 投与群では、肝臓に 肝細胞索 の構造異常、肝細胞の空胞変性、炎症性細胞浸潤及び肝細胞肥大がみられ、小腸では、リンパ管の拡張、間質の浮腫並びに小腸絨毛の短縮及び融合がみられた。血漿中アルブミン、総タンパク質、TG、総コレステロール、フィブリノーゲン及び GGT 活性は、培養抽出物を投与しない対照群に比べて有意に増加した(参照 33 Grenier, Bracarense #146)。

b. 6 カ月間混餌投与試験

離乳ブタ（雄、一群 6 頭）に *F. verticillioides* 培養物を添加して FB1 を 5.0、10.0、15.0 mg/kg 飼料の用量で 6 カ月間給与した。培養物を添加しない対照群の飼料中 FB1 の濃度は 0.2 mg/kg であった。動物への FB1 の平均 1 日投与量は、FB1 投与群でそれぞれ 6.0、11.5 及び 17.0 mg/kg 体重/日、対照群で 0.2 mg/kg 体重/日であった。5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で一日乾物摂取量と飼料要求率が有意に増加し、10 mg/kg 飼料以上の投与群で一日増体量が有意に減少した(参照 34 Gbore #151)。

⑤ 鳥類

a. 63 日間混餌投与試験

BUT 9 系統の七面鳥（雄、試験開始時 8 日齢、一群 36 羽）に、野外汚染トウモロコシを添加してフモニシン（FB1 及び FB2）を 0、5、10 又は 20 mg/kg 含む飼料を 63 日間給与した。飼料にフモニシン以外のかび毒汚染は認められなかった。体重増加、血清生化学並びに肝臓及び腎臓における肉眼的検査及び組織学的検査の結果、フモニシン投与による影響は認められなかった。Sa/So 比及び Sa 濃度が、20mg/kg 飼料の投与群で大きく増加した(参照 35 Tardieu, Bailly #160)。

b. 77 日間強制経口投与試験

ドバンアヒル（7 日齢、一群 8 羽）に、*F. verticillioides* 培養抽出物（FB1: 54%、FB2: 8%、FB3: 9%）から一部精製した FB1 を 0、2、8、32、128 mg/kg 飼料の用量で 77 日間強制経口投与する亜急性毒性試験が実施された。32mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で肝臓及び脾臓の相対重量の有意な増加がみられたが、組織学的検査の結果、変性は認められなかった。32

mg/kg 飼料以上の投与群で、血清中の ALP 活性が有意に上昇した。8 mg/kg 飼料以上の投与群で、Sa/So 比が、血清、肝臓及び腎臓において有意に増加し、腎臓における増加が顕著であった(参照 36 Tran, Auvergne #81)。

c. 41 日間混餌投与試験

ブロイラー（8 日齢、一群 12 羽）に *F. verticillioides* 培養抽出物を添加して、FB1、FB2 及び FB3 を 50 mg/kg 含む飼料（FB1: 57.3、FB2: 18.5、FB3: 6.0 mg/kg 飼料）又は 200 mg/kg 含む飼料（FB1: 201.0、FB2: 64.9、FB3: 21.0 mg/kg 飼料）を 41 日間給与する亜急性試験が実施された。培養物を添加しない飼料を給与した対照群に比べて、全てのフモニシン投与群で、体重、体重増加量が有意に減少し、心臓の相対重量は有意に増加した。肝臓の相対重量は、フモニシン 200 mg/kg 飼料投与群で有意に増加した。病理組織学的には、全てのフモニシン投与群で、肝臓の空胞変性と胆管に細胞増殖がみられた(参照 37 Tessari, Oliveira #161)。

(3) 慢性毒性・発がん性

① マウスを用いた 2 年間発がん性試験 (NTP)

B6C3F₁/Nctr BR マウス（雌雄、それぞれ一群 48 匹）に精製 FB1（純度>96%）を 2 年間混餌投与する発がん性試験が実施された。FB1 の投与量は、雄では、0、5、15、80 又は 150 mg/kg 飼料（0、0.6、1.7、9.7 又は 17.1 mg/kg 体重/日相当）、雌では、0、5、15、50 又は 80 mg/kg 飼料（0、0.7、2.1、7.1 又は 12.4 mg/kg 体重/日相当）であった。

2 年間発がん性試験の結果、FB1 を投与しない対照群と比べて、全ての FB1 投与群の雌雄マウスの体重に違いはみられなかった。生存率は、80 mg/kg 飼料以上の投与群の雌雄マウスで明らかに減少した。雌マウスでは、対照群と比較して 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、相対肝臓重量、肝細胞肥大と肝細胞のアポトーシスの発生頻度が有意に増加した。腫瘍に関しては、用量依存的な肝細胞腺腫及び肝細胞癌の増加が雌マウスで認められ、いずれも 50 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、対照群に比べて発生頻度が有意に増加し、増加傾向（positive trend）が認められた（表 4）。雄マウスでは、15 mg/kg 飼料以上 FB1 投与群で、対照群と比較して肝細胞肥大が有意に増加したが、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度と FB1 投与量に相関はみられなかった。発がんを指標とした FB1 の無毒性量（NOAEL）は 15 mg/kg 飼料であった。

表 4 FB1 を 2 年間混餌投与した雌マウスに⁶における肝腫瘍の発生頻度

FB1 投与量 (mg/kg 飼料)	0	5	15	50	80
腺腫(%)	5/47(11)	3/48(6.3)	1/48(2.0)	16/47(34)	31/45(69)
Poly-k 検定	P=0.0001	P=0.3314N	P=0.0862N	P=0.0047	P=0.0001
がん(%)	0/47(0)	0/48(0)	0/48(0)	10/47(21)	9/45(20)
Poly-k 検定	P=0.0001	—	—	P=0.0007	P=0.0007
腺腫及び/ 又はがん(%)	5/47(11)	3/48(6)	1/48(2)	19/47(40)	39/45(87)
Poly-k 検定	P=0.0001	P=0.3314N	P=0.0862N	P=0.0005	P=0.0001

NTP 試験結果より(参照 38 NTP #103)

NTP では、雌マウスの肝臓における Sa/So 比と肝細胞腫瘍の増加に相関性はみられず、マウスにおける FB1 の曝露のバイオマーカー又は腫瘍リスクの指標として Sa/So 比は適切ではないかもしれない、と考察している。また、NTP では、FB1 投与における腫瘍発生の雌雄差については、科学的に説明できないとしている(参照 1. NTP (2001) #103, 2. PC Howard, et al. (2001) #188。

② ラットを用いた 2 年間発がん性試験 (NTP)

F344/N ラット(雌雄、一群それぞれ 40～48 匹)に精製 FB1(純度>96%)を 2 年間(105 週)混餌投与する発がん性試験が実施された。FB1 の投与量は、雄では 0、5、15、50 又は 150 mg/kg 飼料 (0、0.25、0.76、2.5 又は 7.5 mg/kg 体重/日相当)、雌では 0、5、15、50 又は 100 mg/kg 飼料 (0、0.31、0.91、3.0 又は 6.1 mg/kg 体重/日相当)であった。

2 年間発がん試験の結果、雌雄ともに FB1 投与量と生存率に相関関係はみられず、用量依存的な体重の変化もみられなかった。雄ラットでは 50 mg/kg 飼料以上、雌ラットでは 15 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群の腎臓相対重量が対照群と比較して減少した。雌雄ともに腎臓の Sa/So 比は FB1 投与量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の投与群で、FB1 を投与しない対照群に比べて有意に増加した。50 mg/kg 飼料以上の雄ラット及び 100 mg/kg 飼料の雌ラット FB1 投与群の腎臓に好塩基性尿細管とともに細胞

⁶ B6C3F₁ 雌マウスにおける NTP 発がん試験 2 年間生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、肝臓腫瘍で 17.33% (範囲:2-50%)、肝細胞癌で 8.4% (範囲: 0-20%)、肝臓腫瘍及び/又は肝細胞癌で 23.6% (範囲: 6-56%) と報告されている (Haseman JK, Hailey JR, Morris RW., Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F₁ mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. Toxicol Pathol. 1998 May-Jun;26(3):428-41.)。

死が認められた。15 mg/kg 飼料の雄ラットFB1投与群にも軽度ではあるが、同様の腎臓毒性がみられた。50 mg/kg飼料以上の雄ラットFB1投与群では、尿細管上皮過形成の発生頻度が有意に増加した。100 mg/kg飼料のFB1を給餌した雌ラットにも同様の過形成がみられたが、発生頻度は低く、対照群と比較して統計的に有意ではなかった。0、50及び150 mg/kg飼料以上の雄ラットFB1投与群において、慢性進行性腎炎（CPN）についてスコア化して比較した結果、FB1投与群のCPNのスコアはFB1を投与しない対照群に比べて低かった。雄ラットに用量依存的な腎腺腫及び腎細胞癌の増加が認められ、50 mg/kg飼料以上のFB1投与群では、腎腺腫及び腎細胞癌を合わせた腫瘍発生率が有意に増加し、増加傾向（positive trend）も明らかであった（表5）。雌にFB1投与と関連した腫瘍はみられなかった。発がんを指標としたFB1のNOAELは15 mg/kg 飼料であった。

表5 FB1を2年間混餌投与した雄ラット⁷における腎腫瘍の発生頻度

FB1 投与量 (mg/kg 飼料)	0	5	15	50	150
腺腫(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	2/48(4)	5/48(10)
Poly-k 検定	P=0.0004	—	—	P=0.2293	P=0.0314
がん(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	7/48(15)	10/48(21)
Poly-k 検定	P=0.0001	—	—	P=0.0059	P=0.0008
腺腫及び/ 又はがん(%)	0/48(0)	0/40(0)	0/48(0)	9/48(19)	15/48(31)
Poly-k 検定	P=0.0001	—	—	P=0.0011	P=0.0001

NTP 試験結果より(参照 38 NTP #103)

FB1を投与した雄ラットでは、Sa/So比の上昇が示すように、明らかにセラミド合成阻害がみられる。セラミド合成阻害がみられる用量では、ラット腎臓の尿細管上皮細胞のアポトーシス並びに腎腺腫及び腎細胞癌の発生率が上昇し、腎重量が減少する。以上のことから、NTPは、FB1の発がんについて、腎臓尿細管上皮細胞にセラミド合成阻害作用に起因するアポトーシスが誘導され、それに引き続いて腎臓尿細管上皮細胞の再生及び腫瘍形成がおこる可能性があると考えた。FB1投与による腎臓のSa/So

⁷ F344 雄ラットにおける 2 年間 NTP 発がん試験生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、腎臓腺腫で 0.7%（範囲：0%～6%）、腎細胞癌で 0.2%（範囲：0%～2%）と報告されている（Haseman JK, Hailey JR, Morris RW., Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. Toxicol Pathol. 1998 May-Jun;26(3):428-41.）。

比の上昇は、雌ラットでもみられた。しかし、腎臓尿細管上皮細胞のアポトーシスは、雄ラットでは15 mg/kg 飼料FB1投与群から観察されたのに対し、雌ラットでは最高投与量である100 mg/kg 飼料投与群でもみられなかった。これらFB1投与における雌雄差について、NTPでは、現時点では説明できない、としている(参照 38 NTP #103, 39 Howard, Eppley #188, 40 Hard, Howard #187)。

③ ラットを用いた2年間発がん性試験

BD IXラット（一群25匹、雌雄不明）に0又は50 mg/kg（0又は1.6 mg/kg 体重/日、JECFA換算）のFB1（純度>90%）を26か月間、混餌投与する発がん性試験が実施された。ラットは、投与開始6、12、20及び26か月目に5匹ずつを用いて臓器の検査が実施された。FB1投与群では、投与開始18か月目以降に肺炎により死亡した5匹を含む15匹のラット全てに肝硬変、肝細胞再生結節及び胆管線維症が認められ、そのうちの10匹に肝細胞癌が認められた。FB1投与群の腎臓には、リンパ球の浸潤がみられる限局性又はびまん性の間質性腎炎及び軽度の膜性増殖性糸球体変性が認められた(参照 41 Gelderblom, Kriek #179)。低用量のFB1を投与した場合の影響を調べる目的で、BD IXラット（一群20匹、雌雄不明）に1、10又は25 mg/kg 飼料（0.03、0.3又は0.8 mg/kg 体重/日、JECFA換算）のFB1（純度>90%）を24か月間混餌投与した結果、腫瘍は認められなかった(参照 42 Gelderblom, Lebepe-Mazur #186)。

④ その他の試験

ラットを用いてFB1のイニシエーション作用が調べられている。F344ラット（雄、一群5匹）にFB1を含まない飼料又は1,000 mg/kg（100 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁸⁾）のFB1を含む飼料を26日間給餌するイニシエーション試験の結果、肝細胞変性及び肝細胞壊死とともにGGT陽性細胞巢の有意な増加が認められた。一方、0、50又は100 mg/kg 体重の用量でFB1を単回投与するイニシエーション試験の結果、GGT陽性細胞巢の増加は認められなかった。著者らは、FB1のイニシエーション作用はほとんどないと考えた。(参照 43 Gelderblom, Semple #193)。

F344ラット（雄、一群5匹）に0～750 mg/kg 飼料のFB1を14又は21日間混餌投与するイニシエーション試験が実施された。プロモーション処置として、20 mg/kg 体重/日の2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)

⁸⁾ JECFA で用いている換算 (IPCS:EHC70) を用いて摂取量を推定。

種	体重 (kg)	飼料摂取量 (g/動物/日)	摂取量 (mg/kg 体重/日)
ラット (若)	0.1	10	0.100

を 3 日間経口投与後、部分肝切除し、部分肝切除後 2 週間目目に肝臓の GGT 陽性細胞巢が観察された。250 mg/kg 飼料（14.7 mg/kg 体重/日相当）以上の FB1 を 21 日間又は 500 mg/kg 飼料（24 mg/kg 体重/日相当）以上の FB1 を 14 日間混餌投与すると、GGT 陽性細胞巢が FB1 を投与しない対照群に比べて増加した。F344 ラット（雄、一群 3～5 匹）に FB1 の総量として 14 日間、0～323 mg/kg 体重の用量で強制経口投与するイニシエーション試験の結果、119 mg/kg 体重以上の FB1 投与群（8.5 mg/kg 体重/日に相当）の肝臓に GGT 陽性細胞巢の増加が認められた（参照 44 Gelderblom, Cawood #191）。

さらに、0、20、60、200、300 又は 500 mg/kg 体重の FB1 を F344 ラット（雄、一群 5～8 匹）に 14 日間経口投与（0、1.4、4.2、11.4、21 又は 35 mg/kg 体重/日に相当）するイニシエーション試験の結果、35 mg/kg 体重/日の FB1 投与群に大小の胎盤型グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ（GST-P）陽性細胞巢の明らかな増加とともにオーバル細胞の増殖傾向及び増殖細胞の増加が認められた。21 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に、肝細胞の単細胞壊死、水腫様変性及び硝子滴変性が認められた（参照 45 Gelderblom, Galendo #180）。

FB1 のプロモーション作用の有無を調べる目的で、BDIX ラット（雄、一群 5 匹）に FB1 を含まない飼料又は 1,000 mg/kg の FB1 を含む飼料（100 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算⁹⁾）を 4 週間給餌するプロモーション試験の結果、肝細胞変性及び肝細胞壊死とともに GGT 陽性細胞巢の有意な増加が認められた（参照 46 Gelderblom, Jaskiewicz #192）。

F344/N ラット（雄、一群 5 匹）に 200 mg/kg 体重/日のジエチルニトロサミン（diethylnitrosamine: DEN）を腹腔内投与し、投与 1 週間目から 0～500 mg/kg 飼料の FB1 を 21 日間投与するプロモーション試験が実施された。50 mg/kg 飼料（5 mg/kg 体重/日に相当：事務局換算²⁾）以上の FB1 投与群の肝臓で、相対的に大きい GST-P 陽性細胞巢の面積あたりの数が明らかに増加した（参照 47 Gelderblom, Snyman #195）。

（４）生殖発生毒性

① FB1 を経口投与した生殖発生毒性試験

a. CD1 マウスに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験①

⁹⁾ JECFA で用いている換算（IPCS:EHC70）を用いて摂取量を推定。

種	体重（kg）	飼料摂取量（g/動物/日）	摂取量（mg/kg 体重/日）
ラット（若）	0.1	10	0.100

CD1 マウス（雌、一群 4～17 匹）に *F. moniliforme* 培養抽出物から粗精製した FB1（純度 40%、FB2、FB3 等を含まない）を 0、12.5、25、50 又は 100 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7～15 日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。妊娠 18 日の各投与群の毒性所見を表 6 に示す。母動物において、50mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で死亡例がみられ、25 mg/kg 体重/日以上 of 群で体重増加抑制及び肝毒性所見（肝細胞肥大、肝細胞の核肥大、好塩基性細胞の増加、細胞増殖の亢進、肝細胞壊死の増加等）が用量依存的に認められた。胎児では、100 mg/kg 体重/日群で口蓋裂、骨格異常の増加がみられ、25 mg/kg 体重/日以上 of 群で吸収胚数増加、生存胎児数減少、低体重、水頭症及び骨化不全が用量依存的に認められた（参照 48 Gross, Reddy #213）。

表 6 CD1 マウスで認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
100 mg/kg 体重/日	・ 死亡（2／9 例、22%）	・ 口蓋裂（42%） ・ 骨格変異（波状肋骨・肋骨短小）の増加
50 mg/kg 体重/日	・ 死亡（3／17 例、18%）	
25 mg/kg 体重/日以上	・ 体重増加抑制 ・ 腹水貯留 ・ 肝毒性 ・ 血漿中 ALT の有意な増加	・ 吸収胚数増加 ・ 生存胎児数減少 ・ 低体重 ・ 水頭症（26%～100%） ・ 骨化不全（指骨及び胸骨）
12.5 mg/kg 体重/日	—	—

—：毒性所見なし

b. CD1 マウスに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験②

CD1 マウス（雌、一群 12 匹、最高用量は 4 匹）に精製 FB1（純度 98%）を 0、12.5、25、50 又は 100 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7～15 日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。妊娠 18 日の各投与群の毒性所見を表 7 に示す。12.5 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で母動物の体重減少及び体重増加率の減少傾向がみられ、100 mg/kg 体重/日の FB1 投与群では、両者ともに有意に減少した。母動物の肝毒性について、ネクローシス、アポトーシス、細胞増殖の増加、好塩基性細胞及び細胞核の直径をスコア化した結果、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に用量依存的な肝毒性がみられた。血漿中 ALT は全ての FB1 投与群で用量依存的に増加し、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で有意であった。胎児に骨格異

常、骨化不全等の異常はみられなかった。肝臓 Sa/So 比が、全ての群の母動物、並びに 50 mg/kg 体重/日の FB1 投与群及び対照群の胎児を用いて調べられた。母動物では、25 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群の Sa/So 比が対照群に比べて有意に増加したが、胎児では FB1 投与群と対照群の Sa/So 比に差は認められなかった。(参照 49 Reddy, Johnson #207)。

表 7 CD1 マウスで認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
100 mg/kg 体重/日	・ 体重増加抑制 ・ 死亡 (1/4 例)	・ 有意な生存数減少 ・ 全ての胎児に水頭症
50 mg/kg 体重/日	・ 死亡 (2/12 例)	
25 mg/kg 体重/日以上	・ 肝毒性 ・ 血漿中 ALT の有意な増加	・ 生存率及び体重に減少傾向 ・ 一腹当たり 1 匹以上の水頭症
12.5 mg/kg 体重/日	—	—

—：毒性所見なし

c. CD ラットに精製 FB1 を経口投与した発生毒性試験

CD ラット¹⁰ (雌、一群 5 匹) に、精製 FB1 (純度 98%) を 0、1.875、3.75、7.5 又は 15 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 3～16 日に経口投与し、妊娠 20 日まで観察する発生毒性試験が実施された。15 mg/kg 体重/日の FB1 投与群の母動物に、摂餌量減少及び体重増加抑制が認められ、胎児では、雌の体重及び頭殿長が有意に減少した。さらに、CD ラットに FB1 を 0、6.25、12.5、25 又は 50 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 3～16 日に経口投与 (一群 29～30 匹) し、妊娠 17 日又は 20 日まで観察する発生毒性試験が実施された。50 mg/kg 体重/日の FB1 投与群で、母動物に死亡 (4/29 例)、摂餌量減少、消瘦等がみられた。病理学的検査の結果、25 mg/kg 体重/日以上の FB1 投与群で、母動物に肝毒性が認められた。妊娠率及び総着床数に変化はなかったが、50 mg/kg 体重/日の FB1 投与群では、妊娠 20 日の生存胎児数が有意に減少し、胎児の体重及び頭殿長が有意に減少した。いずれの試験においても催奇形性は認められなかった。母動物の肝臓、腎臓及び血清中 Sa/So 比は妊娠 17 日において FB1 用量依存的に上昇したが、胎児の肝臓、腎臓及び脳では FB1 投与による Sa/So 比の変化はみられなかった。(参照 50 Collins, Shackelford #211, 51 Collins, Sprando #212)。

d. Sprague-Dawley に培養物を混餌投与した生殖発生毒性試験①

¹⁰ Sprague-Dawley 系統ラット。

Sprague-Dawley ラット（雌雄、一群 5 匹）に、*F. moniliforme* 培養物を添加して 0、1、10、55 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を交配前、妊娠後、及び母動物の授乳期に給餌した。その結果、雄では 10 mg/kg 飼料以上の混餌投与群でクレアチニン濃度が有意に上昇し、雌では 55 mg/kg 飼料の混餌投与群で妊娠 15 日に血中コレステロール濃度及びクレアチニン濃度が有意に上昇し、雌雄ともに腎毒性が認められた。雌雄ともに交配率及び妊娠率に、FB1 を投与しない対照群と FB1 投与群に差はみられなかった。雄の精子検査及び精巢の病理学的検査の結果、対照群と FB1 投与群に差はみられなかった。10 mg/kg 濃度以上の FB1 混餌投与群で出生児の体重増加が減少傾向を示した。55 mg/kg 濃度の FB1 混餌投与群の妊娠 15 日の母動物の肝臓 Sa/So 比が FB1 を投与しない対照群に比べて有意に上昇したが、妊娠 15 日の胎児 Sa/So 比に違いは認められなかった。10 mg/kg 濃度の FB1 投与群で、分娩後 21 日目の母動物の肝臓 Sa/So 比及び分娩後 21 日目の出生児の肝臓 Sa/So 比は、対照群に比べて有意に高値であった。¹⁴C-FB1 を妊娠 15 日の母動物に静脈内投与し、1 時間後の分布を調べた結果、投与量の 98%が母動物の血液から消失し、胎児に ¹⁴C-FB1 は検出されなかった(参照 52 Voss, Bacon #215)。

e. Sprague-Dawley ラットに培養物を混餌投与した生殖発生毒性試験②

Sprague-Dawley ラット（雌、一群 10 匹）に、妊娠 6～15 日まで *F. moniliforme* 培養物を添加して 150 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を給餌する FB1 投与群又は培養物を添加しない飼料を給餌する対照群において発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日の FB1 投与群の母動物の体重及び摂餌量が対照群より減少し、死亡胚・死亡胎児数の増加、生存胎児数の減少、胎児体重の減少及び骨化不全（頭蓋骨、胸骨分節、尾椎）が認められた。母動物の肝臓 Sa/So 比は対照群に比べて FB1 投与群で有意に高値であったが、胎児の肝臓 Sa/So 比は対照群に比べて FB1 投与群で有意に低値であった。(参照 53 Abdel-Wahhab, Hassan #203)

② FB1 を腹腔内投与した生殖発生毒性試験

a. LM/Bc マウスに FB1 を腹腔内投与した発生毒性試験

LM/Bc マウス（雌、一群 10 匹）に精製 FB1 を 0、5、10、15 又は 20 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7.5 日及び 8.5 日に腹腔内投与する発生毒性試験が実施された。妊娠 17.5 日に、全ての FB1 投与群の胎児に、用量依存的に外脳症を主とする NTD が認められた。20 mg/kg 体重/日の FB1 投与群では、一腹当たりの平均 NTD 発現率（NTD 胎児数/生存胎児数）が 79%であった。FB1 を投与しない対照群の胎児に NTD は認められなかった。同じ条件で LM/Bc マウス（雌）に 20 mg/kg 体重/日の FB1 を腹腔内

1 投与し、妊娠 10.5 日に母マウスの胎盤及び胎児の Sa 及び So 濃度を調べ
2 た結果、FB1 投与群の母マウス胎盤 Sa 濃度並びに胎児 Sa 及び So 濃度が
3 FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値であった(参照 54 Gelineau-
4 van Waes, Starr #55)。

6 b. CD1 マウスに FB1 を腹腔内投与した発生毒性試験

7 CD1 マウス(雌、一群 8~10 匹)に精製 FB1 を 0、15、30 又は 45 mg/kg
8 体重/日(試験 1)並びに 0、10、23、45 又は 100 mg/kg 体重/日(試験 2)
9 の用量で妊娠 7 日及び 8 日に腹腔内投与する発生毒性試験が実施された。
10 これらの試験において、母動物の体重、黄体数及び着床数に変化はみられ
11 なかった。試験 1 では 15 及び 45 mg/kg 体重/日の FB1 投与群に、試験
12 2 では、全ての FB1 投与群に用量依存的な外脳症を主とする NTD の胎児
13 が認められた。試験 2 の結果、NTD の胎児を有する母動物の割合は、0、
14 10、23、45 又は 100 mg/kg 体重/日の FB1 投与群でそれぞれ 0、8、17、
15 36 又は 55%であった(参照 55 Voss, Riley #209, 56 Voss, Gelineau-van
16 Waes #83)。

17 ③ その他の生殖毒性試験

18 a. ウサギを用いた生殖発生毒性試験①

19 New Zealand White (NZW) ウサギ(妊娠雌、一群 5~10 匹)に、精
20 製 FB1(純度 92.3%)を 0、0.25、0.50、1.00、1.25 又は 1.75 mg/kg 体
21 重/日の用量で、妊娠 3~19 日に強制経口投与する予備試験が実施された。
22 妊娠 11~22 日の間にそれぞれの FB1 投与群で 1、0、2、4 又は 2 匹の母
23 動物が死亡した。死亡した母動物の肝臓及び腎臓にアポトーシスを含む変
24 性が認められた。妊娠 12 日目に死亡した 1.75 mg/kg 体重/日投与群の母
25 ウサギの海馬に中程度の白質脳軟化、多発性局所性血管周囲性出血及び浮
26 腫が認められた。妊娠 20 日目にそれぞれの投与群の 3 匹ずつを用いて、
27 母ウサギの血液、尿、腎臓、肝臓及び脳並びに胎児の腎臓、肝臓及び脳を
28 採取し、Sa 及び So 濃度が調べられた。母ウサギの血液及び尿で Sa/So 比
29 が投与量依存的に上昇した。Sa/So 比の上昇は、肝臓及び腎臓でもみられ
30 たが、脳では認められなかった。胎児の腎臓、肝臓及び脳の Sa/So 比に変
31 化はみられなかった。胎児への毒性影響は認められなかった。NZW ウサ
32 ギ(妊娠雌、一群 22~26 匹)に、精製 FB1(純度 92.3%)を 0、0.10、
33 0.50、1.00 又は 1.00 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3~19 日に強制経口投
34 与する発生毒性試験が本試験として実施された。0.5 及び 1.0 mg/kg 体重
35 の FB1 投与群でそれぞれ 23 匹中 2(8.7%)及び 26 匹中 5 匹(19.2%)
36 の母ウサギが死亡した。妊娠 29 日目に胎児を調べた結果、着床数、生存
37 胎児数並びに骨格及び内臓検査に用量依存的な変化はみられなかった。
38

0.50 mg/kg 体重/日以上 of 投与群で胎児の体重が、雌雄ともに FB1 を投与しない対照群に比べて有意に減少した。0.1 mg/kg 体重/日以上 of 投与群で雄胎児の腎臓絶対重量が有意に減少したが、相対重量に有意差は認められなかった。著者らは、FB1 は胎盤を通過せず、胎児の体重減少は、母ウサギへの FB1 の毒性を介した二次的な影響と考えた。(参照 57 LaBorde, Terry #214, 58 Bucci, Hansen #135)

b. ウサギを用いた生殖毒性試験②

異種交配 (NZW×Chinchilla) の雄ウサギ (一群 12 匹) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 5、7.5、10 mg/kg の FB1 含む飼料を 25 週間給餌した。対照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.13 mg/kg 飼料であった。最終週に雌ウサギと交尾させ、受精率を調べた結果、7.5 mg/kg 濃度以上の FB1 混餌投与群の雄ウサギで、性成熟は 9～12 日間遅延した。性成熟時の体重、精子濃度及び 1 射精当たりの精子数に、FB1 投与による影響は認められなかった。精子の運動能 (turbulence motion/wave)、運動精子率 (sperm motility)、生存精子数は、全ての FB1 投与群で濃度依存的に減少した。精子形態の異常は、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で最も多かった。受胎率及び一腹あたりの胎児数に影響はみられなかった。7.5 mg/kg 飼料以上の FB1 混餌投与群の胎児死亡率が有意に増加した。FB1 を投与した雄に、性成熟の遅れ、精子検査結果に影響がみられたことから、著者らは、飼料中 FB1 濃度の最少毒性量 (LOAEL) を 7.5 mg/kg と考えた(参照 59 Ewuola and Egbunike #204)。

c. ウサギを用いた生殖毒性試験③

上記と同じ用量で、28 週間培養物添加又は無添加飼料を雄ウサギに給餌した試験では、7.5 mg/kg 飼料の FB1 投与群の精巣重量が対照群より有意に増加したが、用量依存性はなかった。精巣中及び精巣上体中の貯留精子数は、全ての FB1 投与群で用量依存的に減少した。1 日当たりの精子生産能は、FB1 用量依存的に低下し、5、7.5、10 mg/kg の FB1 混餌投与群で、それぞれ FB1 を投与しない対照群に比べて 67、59 及び 36%であった(参照 60 Ewuola and Egbunike #205)。

雑種成熟ウサギ (雌、一群 8 匹、1.65～2 kg) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 0、5、10 mg/kg 飼料のフモニシンを混餌投与した。ウサギは 2 週間混餌投与した後、交配し、交配後も 4 週間フモニシンを混餌投与した。5 mg/kg 飼料以上のフモニシン投与群で体重が有意に減少した。飼料の乾燥物摂取量もフモニシン投与群で有意に減少し、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群の乾燥物摂取量は、FB1 を投与しない対照群の 50%であった。給餌 6 週間目に、実施された血液検査及び血液生化学検査の結果、妊

1 妊娠雌では、5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群でヘモグロビンの有意な減少、
2 白血球数の有意な増加、総タンパク質の有意な増加、ALT 及び AST 活性
3 の有意な低下並びに 10 mg/kg 飼料の FB1 投与群で、ヘマトクリット値
4 の有意な減少、赤血球数の有意な減少及び ALP 活性の有意な増加が認め
5 られた。5 mg/kg の濃度のフモニシンを含む飼料は、妊娠時の血液及び血
6 清の生化学的変化を誘導し、胎児の適切な発育と発生に負の影響を及ぼす
7 可能性がある」と著者らは考察した(参照 61 Gbore and Akele #154)。

8 9 d. ブタを用いた生殖毒性試験①

10 離乳ブタ（ラージホワイト、雄）に、*F. verticillioides* 培養物を添加し
11 て 5.0、10.0 及び 15.0 mg/kg の FB1 を含む飼料を 6 ヶ月間給餌した。対
12 照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼料で
13 あった。5 mg/kg 以上の FB1 投与群で、精巣及び精巣上体中の精子数及
14 び 1 日当たりの精子生産量が対照群に比べて有意に低下した。10 mg/kg
15 以上の FB1 混餌投与群では、精子数が対照群の 70%まで低下した。(参照
16 62 Gbore and Egbunike #134)。

17 18 e. ブタを用いた生殖毒性試験②

19 離乳ブタ（ラージホワイト、雄、一群 6 匹）に、*F. verticillioides* 培養
20 物を添加して 5、10、15 mg/kg の FB1 を含む飼料を、6 ヶ月間混餌投
21 与した。対照群に給餌した培養物を添加しない飼料の FB1 濃度は 0.2
22 mg/kg 飼料であった。精巣及び精巣上体相対重量と精巣容積に影響はな
23 かった。精液容量の変化及び精子の形態学的異常は認められなかった。1
24 射精当たりの精子濃度、総精子数、運動精子数は、全ての FB1 投与群で
25 用量依存的に減少し、15 mg/kg の FB1 混餌投与群において、それぞれ
26 対照群に比べて 83.3、79.1 及び 59.6%と低下した。(参照 63 Gbore
27 #152)。

28 29 ④ *in vitro* 試験

30 胎児への FB1 の影響を調べる目的で、*in vitro* で ICR マウスの妊娠 9
31 日胚を用いて全胚培養した（膣栓確認日＝妊娠 1 日）。葉酸添加又は無添
32 加の条件下で、体節 4～5 のマウス胚（一群 10～36 胚）に精製 FB1 を 0
33 ～100 µmol/L の濃度で 26 時間ばく露させた。その結果、葉酸添加の有無
34 に関わらず、FB1 を含まない対照培地における胚の発育は正常で、形態異
35 常も認められなかったが、全ての FB1 ばく露群で発育遅延が認められた。
36 2、3.5、25、50 又は 100 µmol/L (1.4、2.52、18.0、36.1 又は 72.2 mg/L)
37 以上の FB1 ばく露群でそれぞれ 10、26、25、7 又は 48%の胚に外脳症を
38 主とする NTD がみられ、3.5 µmol/L の FB1 濃度以上で対照群に比べて

有意であった。2、25、50 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 とともに葉酸を添加すると、NTD の発現率は、それぞれ 10、9、8 又は 14%であり、25 $\mu\text{mol/L}$ 以上の FB1 ばく露群で NTD 発現率が有意に低下した(参照 64 Sadler, Merrill #208)。

また、体節 3~4 のマウス胚を、葉酸添加又は無添加の条件下で 50 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 2 時間ばく露させた後、FB1 を含まない葉酸添加又は無添加の培地で 24 時間培養すると、葉酸無添加群では 67%に NTD 及び 83%に顔面の形成不全がみられたが、葉酸添加によりこれらの発現頻度は有意に低下した(参照 64 Sadler, Merrill #208)。

雌ブタの卵巣の卵胞から顆粒膜細胞を採取し、2 日間培養後、1 日又は 2 日間 FB1 を添加した無血清培地で培養した。卵胞刺激ホルモンとインシュリン様成長因子 1 (IGF-1) の存在下で、FB1 を 14 $\mu\text{mol/L}$ 添加すると、細胞増殖が有意に阻害され、プロジェステロン産生が有意に増加したが、エストラジオール産生に影響はなかった。著者らは、顆粒膜細胞の増殖抑制及びステロイド産生促進といった FB1 の作用が、ブタの生殖に影響する可能性があると考えた(参照 65 Cortinovis, Caloni #219)。

雄ウマから採取した精液に精製 FB1 をばく露してその影響が調べられた。新鮮精子を 2.5×10^{-5} ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 2 時間ばく露した結果、精子の生存率に影響はなかった。7.5 及び 15 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 ばく露で総運動精子率及び前進運動精子率が低下した。(参照 66 Minervini, Lacalandra #221)

(5) 遺伝毒性

① *in vitro* 試験

a. 細菌を用いた復帰突然変異試験

FB1、FB2 及び FB3 は、*Salmonella* Typhimurium TA97a 株、TA98 株、TA100 株、TA102 株、TA1535 株又は TA1537 株を用いた復帰突然変異試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、試験結果は陰性であった(参照 67 Domijan and Abramov , 68 Park, Rua #232, 69 Knasmuller, Bresgen #230, 70 Aranda, Perez-Alzola #400, 71 Ehrlich, Darroudi #224)。

b. 細菌を用いた DNA 損傷、修復試験

大腸菌を用いた FB1 の SOS 試験及び DNA 修復試験結果は、代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった(参照 69 Knasmuller, Bresgen #230)。

c. 哺乳類細胞を用いた染色体異常試験

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

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、いずれも陽性であった(参照 69 Knasmuller, Bresgen #230, 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)。

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は、陰性であった(参照 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)。

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、陰性であった(参照 69 Knasmuller, Bresgen #230)。一方、~~ブタ PK15 細胞~~ (ブタ腎臓上皮細胞由来細胞株 (PK15))、~~ヒト Hep G2 細胞~~ (ヒト肝臓がん由来細胞株 (Hep G2)) 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、いずれも陽性であった(参照 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226, 73 Segvic-Klaric, Pepeljnjak #86, 74 Ehrlich, Darroudi #224)。

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、陰性であった(参照 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226, 74 Ehrlich, Darroudi #224)。

d. 哺乳類細胞を用いた姉妹染色分体交換試験

ヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の姉妹染色分体交換試験の結果は、陽性であった(参照 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)。

e. 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験

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 報報告されており、いずれも陰性であった(参照 43 Gelderblom, Semple #193, 75 Norred, Plattner #231)。ラット初代培養肝細胞を用いた FB2 の不定期 DNA 合成試験の結果も陰性であった(参照 43 Gelderblom, Semple #193)。

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 74 Ehrlich, Darroudi #224)。

② *in vivo* 試験

雄性 CF1 マウスに、精製 FB1 を 25 又は 100 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、投与 30 時間目に採取した骨髓細胞を用いて実施された小核試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 70 Aranda, Perez-Alzola #400)。

雌雄 BALB/c マウスに精製 FB1 を 0.1、1.0 又は 10 mg/kg 体重/回の用量で単回又は 24 時間毎に計 3 回腹腔内投与し、骨髓細胞を用いた小核試験の結果は陰性であった。正染色性赤血球 (NCE) に対する多染色性赤血球

(PCE) の比 (PCE/NCE 比) は、単回 FB1 投与群では変化がなかったが、3 回の FB1 投与では、全ての用量で FB1 を投与しない対照群と比べると有意に低下し、細胞毒性を示していた。(参照 76 Karuna and Rao #233)。

雄性 F344 ラットに、精製 FB1 又は FB2 (純度 90%~95%) を 100 mg/kg 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、いずれも陰性であった(参照 43 Gelderblom, Semple #193)。

雄性 Wistar ラットに、精製 FB1 (純度 98%) を 2 又は 7 日間、0.5 mg/kg 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 損傷の増加が認められた(参照 77 Domijan, Zeljezic #222)。

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

しかしながら、上記の Domijan らのコメットアッセイの結果は、DNA 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 その他の試験

FB1 とオリゴヌクレオチドを 75%メタノール溶液中で インキュベーションし、エレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) で分析した結果、DNA 付加体形成は認められなかった(参照 78 Pocsfalvi, Ritieni #451)。

~~BALB/3T3 細胞~~(マウス ~~胎児~~-胎仔 繊維芽細胞由来細胞株 (BALB/3T3)) を 10~1,000 µg/mL の FB1 にばく露させ、細胞形質転換試験を実施した結果、FB1 の濃度依存性は認められなかった(参照 79 Sheu, Rodriguez #200)。

v-Ha-ras 遺伝子を導入した BALB/3T3 ~~細胞~~ (Bhas 42 ~~細胞~~) を 0.1~10 µg/mL の FB1 又は FB2 にばく露させ、フォーカス形成により FB1 及び 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。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られなかった(参照 80 Sakai, Suzuki #184)。

フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果を表 8 に、*in vivo* 遺伝毒性試験結果を表 9 にまとめた。

表 8 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表 8-1 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	参考文献
				活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA102	FB1、	0、0.2、0.5、1、5、10 mg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1991	(参照 81 Gelderblom and Snyman #229)
	TA100	FB2			—	—		
	TA98	又は			—	—		
	TA97a	FB3			—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.01、 0.05 、0.1、 0.5 、 <u>1</u> 、5、10、 25 、50、100 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1992	(参照 68 Park, Rua #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 69 Knasmuller, Bresgen #230)
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA102	FB1	0、10、20、50、114 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	2000	(参照 70 Aranda, Perez-Alzola #400)
	TA100				—	—		
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA1537	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 74 Ehrlich, Darroudi #224)
	TA1535				n.d.	—		
	TA102				n.d.	—		
	TA100				n.d.	—		
	TA98				n.d.	—		

+ : 陽性、— : 陰性、n.d. : データなし

表 8-2 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	参考文献
				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 69 Knasmuller, Bresgen #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	—	—		

表 8-3 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	参照文献
染色体異常	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	+	・ 1 µg /ml 以上の濃度 で陽性	1997	(参照 69 Knasmuller, Bresgen #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 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)
		FB2		—			
		FB3		—			
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 69 Knasmuller, Bresgen #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 74 Ehrlich, Darroudi #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 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)
		FB2		—			
		FB3		—			
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 73 Segvic- Klaric, Pepeljnjak #86)

2 + : 陽性、— : 陰性

1

表 8-4 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 72 Lerda, Biaggi Bistoni #226)
		FB2		—			
		FB3		—			

2

※ 代謝活性化は見えていない。

3

4

表 8-5 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 75 Norred, Plattner #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 43 Gelderblom, Semple #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 74 Ehrlich, Darroudi #224)

5

+ : 陽性、— : 陰性、※ : いずれも代謝活性化は見えていない。

6

表 9 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	参考文献
小核試験	CF1 マウス、雄	FB1	25、100 mg/kg 体重、腹腔内投与、投与 30 時間目に採材	+	・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 70 Aranda, Perez-Alzola #400)
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 時間目に採材	—	・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 76 Karuna and Rao #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 72 時間目に採材	—	・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 比が有意に減少。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 時間目に採材	—		2007	(参照 82 Domijan, Zeljezic #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に採材	—			
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 時間目に採材	—	・肝臓で DNA 修復を誘導せず	1992	(参照 43 Gelderblom, Semple #193)
		FB2		—			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に採材	+	・腎臓で DNA 損傷	2007	(参照 77 Domijan, Zeljezic #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に採材	+	・肝臓及び腎臓での DNA 損傷		
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	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 時間目に採材	+	・肝臓で FB1 投与量及び時間依存的な DNA 損傷	2008	(参照 5 Domijan, Zeljezic #127)

+: 陽性、-: 陰性

1 (6) 神経毒性及び免疫毒性

2 ① 神経毒性

3 a. マウスに精製 FB1 を脳内投与した試験

4 BALB/c マウス（雌、7～8 週齢、一群 5 匹）に、0、10、100 µg/匹の
5 用量で精製 FB1（純度 98%）を 7 日間、側脳室にカニューレで投与又は
6 頸部に皮下投与した。脳内投与群では、Sa 濃度が用量依存的に上昇傾向
7 を示し、100 µg/匹 FB1 投与群の脳皮質、小脳、中脳及び延髄の Sa 濃
8 度は、FB1 を投与しない対照群に比べて有意に高値であった。So 濃度は、
9 100 µg/匹 FB1 投与群の脳皮質で対照群に比べて有意に高値であった。
10 脳皮質のスフィンゴミエリン濃度及び複合スフィンゴ脂質濃度に変化
11 はみられなかった。100 µg/匹投与群では、脳皮質の神経に細胞死が認
12 められ、海馬ではアストロサイトの活性化がみられた。炎症性サイトカイン
13 である TNFα、IL-1β、IL-6 及び IFN-γ の mRNA の発現は、対照群に
14 比べて 100 µg/匹投与群で有意に増加した。皮下投与群では、FB1 を投与
15 しない対照群に比べて 100 µg/匹 FB1 投与群の脳皮質に Sa の有意な増
16 加が認められた。中脳、小脳、延髄の Sa 及び So 濃度に変化はみられな
17 かった。（参照 83 Osuchowski, Edwards #242）。

18 b. ウサギに精製 FB1 を経口投与した試験

19 ウサギ（妊娠雌、NZW、一群 4 匹）に、精製 FB1（純度 92.3%）を 0.00、
20 0.25、0.50、1.00、1.25 及び 1.75 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3～19 日
21 に強制経口投与した。妊娠 12 日目に死亡した 1.75 mg/kg 体重/日群の母
22 体の海馬に中程度の白質脳軟化、多発性局所性血管周囲出血及び浮腫が認
23 められた。妊娠 16 日目に死亡した母体では、海馬の髄質に複数の微小な
24 出血が認められた。（参照 58 Bucci, Hansen #135）。

25 c. ブタに培養物を混餌投与した試験

26 離乳ブタ（雄、ラージホワイ特）に、*F. verticillioides* 培養物を添加し
27 て FB1 を約 5.0、10.0 又は 15.0 mg/kg の濃度で含む飼料を 6 ヶ月給餌し
28 た。培養物を添加しない対照群の飼料の FB1 濃度は 0.2 mg/kg であった。
29 対照群に比べて 5.0 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で、橋、扁桃核、視床
30 下部及び延髄のアセチルコリンエステラーゼ（AChE）活性が有意に低下
31 した。（参照 84 Gbore #153）。JECFA では、飼料中 FB1 濃度が ELISA で
32 測定されており、報告されたブタの体重当たりの FB1 一日摂取量も一致
33 せず、明確な用量反応関係もみられないため、これらの AChE 活性への影
34 響が、FB1 ばく露によるものではない可能性があるとしている（参照 85
35 FAO/WHO #359）。

1 d. *in vitro* 試験

2 ヒトの神経膠芽腫由来細胞株 (U-118MG 細胞株) を用いて、FB1 の神
3 経毒性作用が調べられた。U-118MG 細胞を 10 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1
4 に 48~144 時間ばく露させると、脂質過酸化物及び 活性酸素素種
5 (Reactive Oxygen Species: ROS) の産生の増加がみられた。グルタチ
6 オン濃度及び細胞生存率が低下し、アポトーシスを誘導するカスパーゼ 3-
7 様プロテアーゼ活性が増加し、DNA の断片化が認められた。著者らは、
8 FB1 により誘発される神経毒性には、酸化ストレスとアポトーシスが関与
9 している可能性があると考えた(参照 86 Stockmann-Juvala, Mikkola
10 #236)。

11 マウス視床下部 神経 細胞由来細胞株 (GT1-7 細胞株)、ラット神経膠
12 芽細胞腫由来細胞株 (C6 細胞株)、ヒト U-118MG 細胞株及びヒト神経芽
13 細胞腫由来細胞株 (SH-SY5Y 細胞株) を 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 48~144
14 時間ばく露させると、カスパーゼ 3 様プロテアーゼ活性が増加し、DNA
15 断片化が認められた。一方、p53、アポトーシス誘発又は抗アポトーシス
16 Bcl-2 ファミリータンパク質である Bax、Bcl-2、Bcl-XL 及び Mcl-1 の発
17 現に、FB1 は影響しなかった。細胞株による感受性は、U-118MG 細胞株
18 > GT1-7 細胞株 > C6 細胞株 > SH-SY5Y 細胞株の順に高かったことから、
19 著者らは、神経細胞よりグリア細胞の感受性が高いと考えた(参照 87
20 Stockmann-Juvala, Naarala #237)。

21 マウスミクログリア由来細胞株 (BV-2 細胞株) 及び神経芽細胞腫由来
22 細胞株 (N2A 細胞株)、BALB/c マウス初代培養のアストロサイト及び脳
23 皮質ニューロンを用いて FB1 の神経毒性作用が調べられた。50 $\mu\text{mol/L}$ の
24 FB1 に 4 又は 8 日間ばく露させると、全ての種類の細胞で、Sa の蓄積と
25 So の減少が認められた。BV-2 細胞株及び初代培養アストロサイトでは、
26 0~50 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 ばく露により用量依存的に壊死が認められ、TNF α
27 と IL-1 β の mRNA の発現が低下した。これらの結果から、FB1 による神
28 経組織への毒性は、アストロサイト等のグリア細胞の機能低下の二次的影
29 響である可能性があると考えた(参照 88 Osuchowski and
30 Sharma #241)。

31 ② 免疫毒性

32 a. マウスに精製 FB1 を皮下注射した試験

34 BALB/c マウス (雌雄、平均体重 20 g、一群 5 匹) に、FB1 (エンドトキ
35 シンを含まず、純度 100%) を 2.25 mg/kg 体重/日の用量で、5 日間皮下注
36 射し、免疫反応の性差が調べられた。FB1 投与による一般状態の変化は雌
37 雄マウスともにみられなかった。FB1 を投与しない対照群に比べて、雌雄マ
38 ウスともに増体率が有意に低下した。雌マウスでは、対照群に比べて脾臓及び

1 胸腺の相対重量が有意に低下し、フィトヘマグルチニン-**P** (PHA-P) 刺激による
2 T 細胞の細胞増殖及びリポ多糖 (LPS) 刺激による B 細胞の細胞増殖も
3 低下した。また、雌マウスでは、脾臓細胞の IL-2 mRNA 発現が低下した。
4 対照群に比べて FB1 投与群の雌マウスの脾臓では、脾細胞中の T 細胞、B
5 細胞ともに絶対数は減少したが、相対的な T 細胞数は増加し、胸腺では、
6 未成熟 CD4+/CD8+ 二重陽性 T 細胞群が有意に減少した。FB1 投与群の雄
7 に FB1 投与による変化はみられなかった。これらの結果から、著者らは、
8 FB1 による免疫抑制作用について、雌の感受性が高いと考えた(参照 89
9 Johnson and Sharma #136)。

11 b. ラットに精製 FB1 を経口投与した試験

12 Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群 10 匹) に、精製 FB1 (純度 98%)
13 を 5、15、25 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与し、脾臓単核細
14 胞中の ヒツジ赤血球 に対する IgM 抗体 プラーク形成 細胞 (PFC) の
15 割合 及び脾臓中の PFC の割合を比較した。雄では、両者とも、25 mg/kg
16 体重/日の用量で、有意な減少がみられたが、雌に影響はみられなかった。
17 さらに、雄ラット (一群 12 匹) に FB1 を 0、1、5、15 mg/kg 体重/日の
18 用量で 14 日間強制経口投与し、投与後に *Listeria monocytogenes* (*L.*
19 *monocytogenes*) に感染させて感染 72 時間目まで観察した。感染 24 時間
20 目の脾臓では、FB1 用量依存的に *L. monocytogenes* の菌数が増加した。
21 臓器重量、血液検査、マイトジェン刺激によるリンパ球増殖、カルシウム
22 動員、白血球及び T リンパ球サブセットの数、ナチュラルキラー細胞活性
23 及び食作用に影響はなかった(参照 18 Tryphonas, Bondy #139)。

24 Wistar ラット (雄、一群 6 匹) に *F. verticillioides* 培養物から抽出し
25 た FB1 を 0 又は 100 mg/kg の濃度で含む飼料を 90 日間給餌する亜急性
26 毒性試験において、それぞれの群のラット脾臓単核細胞を用いたマイトジ
27 ェン刺激によるリンパ球増殖に FB1 投与による変化はみられなかった。
28 それぞれの群のラット脾臓単核細胞を 72 時間培養して培養液中のサイト
29 カインを測定した結果、対照群に比べて FB1 投与群では、IL-4 濃度が有
30 意に増加し、IL-10 濃度は有意に減少した。腹腔マクロファージにより放出
31 される過酸化水素 (H_2O_2) は減少したが、腹腔浸出細胞 (peritoneal cells)
32 から産生されるスーパーオキシドアニオンレベルに変化はみられなかった
33 (参照 29 Theumer, Lopez #137)。

35 c. ブタに精製 FB1 を経口投与又は培養物を混餌投与した試験

36 離乳ブタ (ヨークシャー、3 週齢、対照群 8 頭、投与群 9 頭) に、精製
37 FB1 を 0 又は 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与した。投与
38 終了後に回腸組織から mRNA を抽出し、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-

PCR) 法により炎症性サイトカインである IL-18、IL-6、IL-8、IL-12 又は TNF α の mRNA の発現を調べた結果、FB1 投与による IL-18、IL-6、IL-12 又は TNF α の mRNA 発現の変化は認められなかった。一方、FB1 投与は、IL-8 の mRNA 発現を有意に抑制した。IL-8 発現に及ぼす FB1 の抑制作用は、ブタ腸管上皮由来培養細胞株 (IPEC-1 細胞株) を FB1 にばく露すると、IL-8 mRNA の発現とともに IL-8 タンパク質の発現が用量依存的に減少した。著者らは、FB1 が IL-8 の発現を減少させることによって腸の免疫反応を変化させる可能性があると考えた(参照 90 Bouhet, Le Dorze #251)。

離乳子ブタ (雑種、平均体重が 7.3 $\pm$ 0.4 g、一群 3 匹) に、精製 FB1 (純度>98%) を 0 又は 1.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与し、投与終了後に血液、脾臓及び腸間膜リンパ節組織を採取して、*in vitro* 刺激によるサイトカイン mRNA の発現を測定した。末梢血単核細胞を フィトヘマグルチニン (PHA) で刺激すると、IFN- γ 及び IL-4 mRNA の発現がみられた。FB1 投与群では、対照群に比べると腸間膜リンパ節及び脾臓の IL-4 mRNA 発現が低下し、IFN- γ mRNA 発現が上昇した(参照 91 Taranu, Marin #259)。

離乳後 1 週齢のブタ (一群 11 又は 14 匹) に、*F. verticilloides* の培養物から得られた粗抽出物 (FB1: 54%、FB2: 8%、FB3: 9%) を、FB1 として 0 又は 1 mg/kg 体重/日の用量で 10 日間経口投与するとともに、それぞれの群で 5 頭ずつ、計 10 頭のブタに 線毛性定着因子である F4 を保有する (F4+) 腸管 病原-毒素原 性大腸菌 (*enterotoxigenic Escherichia coli*: ETEC) を投与した。臨床症状に異常は認められなかったが、FB1 投与群では感染後の ETEC 排出が長く見られ、抗原特異的反応の低下が見られた。FB1 投与群では、小腸内 IL-12p40 mRNA の発現減少、主要組織適合 遺伝子 複合体クラス II 分子 (MHC-II) の発現抑制、T 細胞の刺激応答低下がみられた。著者らは、FB1 が抗原提示細胞 (APC) の成熟過程を阻害していると考えた(参照 92 Devriendt, Gallois #252)。

子ブタに、*F. verticilloides* 培養物 (FB1: 54%、FB2: 8%、FB3: 9%) を、FB1 として 0.5 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与した。また、一部には投与開始 1 日目から毒素非産生 A 型の *Pasteurella multocida* (*P. multocida*) を 13 日間経気管内投与した結果、FB1 又は *P. multocida* どちらかの投与では、臨床症状及び肺に影響しなかった。気管支肺胞洗浄液中の細胞の IL-8、IL-18、IFN- γ の mRNA 発現が、FB1 及び *P. multocida* を投与しない対照群に比べて FB1 投与群で増加し、*P. multocida* 投与群では TNF α の mRNA 発現が増加した。FB1 及び *P. multocida* を共に投与すると、咳がみられ、気管支肺胞洗浄液中の細胞、マクロファージ及びリンパ球数が増加した。肺では、亜急性間質性肺炎の像を呈し、肺組織の

1 TNF α 、IFN- γ 、IL-8 の mRNA 発現は増加した(参照 93 Halloy, Gustin
2 #254)。

3 豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) と FB1 汚染の関連を調べ
4 る目的で、離乳ブタ (雌雄、雑種、一群 5 頭) に 12 mg/kg 飼料の濃度の
5 FB1 を強制経口投与及び/又は PRRSV を感染させた。FB1 と PRRSV を
6 ブタに共投与すると重篤な肺の組織学的変化がみられた(参照 94 Ramos,
7 Martinez #257)。

8 子ブタ (雌又は去勢雄、4 週齢、一群 5 頭) に、対照飼料 (トウモロコ
9 シ-大豆ミール飼料) 又は *F. verticillioides* 培養物 (FB1: 8 mg/kg 含有、
10 前半 0.99 及び後半 1.49 mg/kg 体重/日相当) 添加飼料のいずれかを 28 日
11 間給与した。粗抽出物には、FB1: 54%、FB2: 8%及び FB3: 9%が含まれて
12 いた。7 日目と 21 日目に、*Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*) ワ
13 クチンを皮下注射した結果、FB1 投与群の雄の体重増加量が有意に減少し
14 たが、雌の体重に変化はなかった。体重増加量低下は飼料摂取量減少によ
15 るものではなかった。統計的に有意なクレアチニンレベルの上昇が、雌雄
16 の FB1 投与群に認められた。*M. agalactiae* に特異的な抗体産生が、雌雄
17 で増加したが、雄の FB1 投与群では 28 日目の血清中特異的な抗体濃度及び
18 血液の IL-10 mRNA が、FB1 を投与しない投与対照群より有意に少なか
19 った。著者らは、FB1 がブタに免疫抑制作用を示し、雄が雌より感受性が
20 高いと考えた(参照 95 Marin, Taranu #256)。

21 *F. moniliforme* 培養物を用いて、実験 1 として、離乳子ブタ (去勢雄、
22 一群 5 匹) に FB1 を 0、1、5、10 mg/kg の濃度で含む飼料を 3~4 か月
23 間混餌投与した。実験 2 として離乳去勢子ブタに (フモニシンを投与しな
24 い対照群 6 匹、投与群 14 匹) 0、100 mg/匹を 8 日間混餌投与した。オー
25 エスキー病に対する不活化ワクチンを接種し、末梢血リンパ球を用いて、
26 PHA-P、Con A、LPS 刺激による非特異的な免疫反応又はオーエスキー病の
27 ウイルス不活化懸濁液による特異的な免疫反応が調べられた。試験された免
28 疫パラメータの測定値に、各群間の違いは認められなかった。(参照 96
29 Tornyos, Kovacs #260)。

30 離乳ブタ (ラージホワイト、一群 24 頭) に自然汚染されたトウモロコ
31 シを添加して、0 又は 11.8 mg/kg (FB1 濃度: 8.6 mg/kg/飼料、FB2 濃度:
32 3.2 mg/kg/飼料) のフモニシンを含む飼料を 63 日間給与し、FB1 投与開
33 始 7 日目にそれぞれの群 12 頭ずつにサルモネラ (*Salmonella*
34 Typhimurium) を経口摂取して免疫への影響が調べられた。全ての群に、
35 死亡及び臨床症状の変化はみられなかった。フモニシン投与群の血清、肝
36 臓及び腎臓中の Sa/So 比はフモニシンを投与しない対照群に比べて有意
37 に増加した。フモニシン非投与群では、サルモネラ接種 7 日目にサルモネ
38 ラ抗原刺激による特異的な白血球増殖が有意に増加したが、フモニシン投

1 与群では、この増加がみられなかった。サルモネラ接種ブタにおけるサル
2 モネラのトランスロケーション¹¹又はセロコンバージョン¹²に、フモニ
3 シンは影響を与えなかった。糞便細菌叢のプロファイル調べた結果、フ
4 モニシン投与群で糞便細菌叢が一時的に変化し、フモニシン投与及びサル
5 モネラ感染群で、急速かつ明瞭に細菌叢プロファイルが変化した。(参照 97
6 Burel, Tanguy #278)。

7 8 d. ウズラに培養物を混餌投与した試験

9 ウズラ（1 日齢、一群 105 羽）に *F. verticillioides* 培養物を添加して
10 200 mg/kg の濃度で FB1 を含む飼料を 35 日間給餌した。FB1 投与群で
11 は、羽毛の乱れと成長不良がみられ、12.38%が死亡した。ジニトロクロロ
12 ベンゼン（DNCB）塗布により調べられた細胞性免疫は、FB1 投与群で有
13 意に低下した。(参照 98 Sharma, Asrani #258)。

14 15 (7) 毒性発現の機序

16 フモニシンは、家畜及び実験動物に肝毒性や腎毒性を示すとともに、マ
17 ウスに肝腫瘍、ラットに腎腫瘍、ウマに ELEM、ブタに PPE を誘導する
18 等、種により臓器特異的な影響が認められている。ヒトへの健康影響とし
19 て、フモニシンに汚染されたトウモロコシの喫食と、胎児の神経管閉鎖障
20 害との関連についての報告がある（IV 3（2）①参照）。生物種や性差によ
21 って異なるフモニシンの毒性の発現機序は、不明な点が多いが、以下のよ
22 うな機序が考えられている。

23 24 ① 脂質代謝異常

25 フモニシンは、Sa 及び So からセラミドを合成する酵素であるスフィン
26 ガニン-*N*-アシル転移酵素及びスフィンゴシン-*N*-アシル転移酵素を阻害
27 し、細胞中のセラミド濃度の低下並びに Sa 及び So 濃度の上昇を招く。
28 セラミド濃度の低下は、セラミドから合成・代謝されるスフィンゴミエリ
29 ン及び各種の複合スフィンゴ糖脂質濃度の低下を招く（III 1（2）参照）。
30 これらの脂質は、細胞膜及びゴルジ体等の細胞内膜系の不可欠な構成物質
31 であるとともに、生理活性に係る物質でもあることが知られており、フモ
32 ニシンによる脂質代謝異常は細胞の機能に影響すると考えられている(参
33 照 99 Muller, Dekant #199)。これら脂質代謝異常の細胞機能への影響に
34 ついて、主に、a. スフィンゴシン及びスフィンガニン及びそれらの 1 リ
35 ン酸化物を介した作用、b. セラミドの作用、c. 細胞膜ラフトを介した作

¹¹ 腸管内の細菌が粘膜のバリアを通過して体内に移行すること。

¹² 抗原が陰性化し、抗体が陽性化すること。

用の点から以下に整理した。

a. スフィンゴシン及びスフィンガニン及びそれらの 1 リン酸化物を介した作用

Sa 及び So は、スフィンガニン-*N*-アシル転移酵素及びスフィンゴシン-*N*-アシル転移酵素により速やかにセラミドに転換されるため、通常、細胞内濃度は低い。FB1 は、これらセラミド合成酵素作用を阻害し、その結果、細胞内の Sa 及び So の濃度は高値となり、それぞれの 1 リン酸化物である ~~スフィンガニン 1-リン酸 (Sa1P)~~ 及び ~~スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P)~~ の濃度も高値となる(参照 99 Muller, Dekant #199, 100 He, Suzuki #499)。これらは、生理活性脂質として知られており、Sa 及び So は細胞分裂阻害、アポトーシス等を誘導することが示されている一方、S1P はその受容体を介して *in vitro* で細胞増殖、抗アポトーシス等に係るシグナル分子を活性化し、抗アポトーシス作用を誘導することが示されている(参照 99 Muller, Dekant #199, 101 Milstien and Spiegel #594)。S1P 受容体は、5 種のアイソフォームが知られており、組織特異的及び細胞特異的な S1P 受容体の発現や Sa、So 及びそれら の 1 リン酸化物のバランスが細胞特異的な毒性に係っている可能性がある。(参照 99 Muller, Dekant #199, 102 JECFA #350, 103 JECFA #465)。

b. セラミドを介した作用

セラミドは、様々な生体機能を有するスフィンゴ脂質代謝物生合成の間物質として中心的な役割を有している。

セラミド合成酵素は、哺乳類では CerS1 から CerS6 までの 6 種類のアイソフォームが報告されている。セラミド合成酵素は、So あるいは Sa ~~スフィンゴシン~~ ~~或いはスフィンガニン~~ と脂肪酸アシル CoA からセラミドあるいはジヒドロセラミドをそれぞれ合成する酵素であるが、6 種のアイソフォームは、基質となる脂肪酸アシル CoA の炭素鎖の長さによって特異性を有する。FB1 は主に CerS2、CerS4 の活性を抑制することが示されている。CerS2 は主に肝臓及び腎臓に分布し、CerS4 は皮膚、白血球、肝臓等に分布する(参照 104 Levy and Futerman #454, 105 Loiseau, Polizzi #486)。

CerS2 ノックアウトマウスでは、1 か月齢で、野生型マウスに比べて血清中の ALT、AST 及び ALP 活性の増加並びにコレステロール濃度の増加とともに肝細胞アポトーシス発生頻度の増加、肝細胞の増生及び肝臓小葉の構造の乱れが観察された。10 か月齢では巨大肝細胞の増加及び肝細胞癌がみられ、これらの肝障害は、FB1 により誘発される肝障害に類似しており、著者らは、スフィンゴ脂質代謝異常が、FB1 により誘導される肝障

害及び肝腫瘍に関係していると考えた。当該マウスでは、腎臓の障害はみられなかった(参照 106 Pewzner-Jung, Brenner #503)。別の CerS2 ノックアウトマウスでは、メカニズムは不明であるが、肝臓、腎臓及び脳で、炭素鎖が 22 以上の長鎖脂肪酸を構成要素とするセラミドの割合が野生型マウスと比べて低値となる一方、炭素鎖が 16 又は 18 の脂肪酸を構成要素とするセラミドの割合は高値となったことが報告されている。また、脳では、グリコシルセラミド、スフィンゴミエリン及びミエリン塩基性たんぱく質が減少した(参照 107 Imgrund, Hartmann #96)。

c. 細胞膜脂質ラフトを介した作用

細胞膜には脂質ラフトと呼ばれる微小領域が存在し、この脂質ラフトにスフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質等のスフィンゴ脂質及びコレステロールが多く存在する。脂質ラフトには、糖脂質であるグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) による修飾を受けたタンパク質である GPI アンカー型タンパク質が集積し、シグナル伝達、細胞間コミュニケーション、免疫応答等、細胞の生存等に関与する機能調節を担っている。フモニシンによるスフィンゴ脂質代謝異常は、脂質ラフトを構成するスフィンゴ脂質等の成分変化を招き、これらの細胞機能の調節に影響を与えられらる。(参照 102 JECFA #350, 103 JECFA #465, 108 Castillo, Rojo #586)。

② フモニシンに特徴的な毒性の機序

a. ヒトの神経管閉鎖障害 (NTD) の機序

ヒトの NTD の原因の一つとして母体の葉酸不足が挙げられている(参照 109 Institute_of_Medicine_(US)_Standing_Committee. #539)。FB1 は、母動物の脂質代謝異常を招き、葉酸受容体を介した胎児への葉酸の移行を阻害することが示唆されている。FB1 を Caco-2 細胞にばく露させる *in vitro* 試験では、FB1 により細胞のスフィンゴ脂質が最大 40%減少し、葉酸受容体を介した 5-メチルテトラヒドロ葉酸¹³の細胞内移行が阻害された(参照 110 Stevens and Tang #362)。妊娠マウスに FB1 を腹腔内投与すると、胎盤の Sa 濃度並びに胎児の Sa 及び So 濃度が有意に高値となり、胎児への葉酸の分布は FB1 を投与しない対照群に比べて有意に減少した(参照 54 Gelineau-van Waes, Starr #55)。

FB1 投与群では、脂質ラフトの構成成分である GM1¹⁴の減少とともに

¹³ 葉酸は、ビタミン B 群の水溶性ビタミンの一つで、血漿中では主にメチルテトラヒドロ葉酸として存在している。

¹⁴ ガングリオシドの一種。ガングリオシドは、セラミドから合成されるスフィンゴ脂質の一種。主に脂質ラフトに存在している。

脂質ラフトに局在する GPI アンカー型タンパク質である葉酸受容体も減少し、胎児の神経管の形成時期に、胎児に葉酸を適切に供給できない可能性が示唆された(参照 54 Gelineau-van Waes, Starr #55)。一方、NTD の発現にはホモシステイン濃度、ビタミン B12 濃度、胎児のスフィンゴ脂質構成等、複雑な要因が関与しており、フモニシンによる NTD 発現率と葉酸との正確な関連性は不明であるとの報告もある(参照 111 Voss, Riley #220)。

FB1 又は S1P の受容体作動薬である FTY720 をそれぞれ妊娠マウスに投与するといずれも NTD が認められ、FB1 は、S1P 受容体を介して NTD に関与しているとの報告もある(参照 112 Gelineau-van Waes, Rainey #217)。

胎盤の通過については、FB1 は胎盤を通過しないとする報告(参照 52 Voss, Bacon #215, 57 LaBorde, Terry #214)がある一方、通過するとしている報告(参照 54 Gelineau-van Waes, Starr #55)もあり、胎児が FB1 にばく露されるかどうかは不明である。

b. ブタの肺水腫 (PPE) の機序

ブタに FB1 を経口投与すると、肺の組織学的変化がみられる前に血中のコレステロール濃度が高値となり、ALT 及び ALP 活性の上昇並びに Sa 濃度 及び Sa/So 比濃度 が高値となる(参照 7 Dilkin, Direito #62)。ブタに 1 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を 4 日間静脈内投与すると、投与開始 5 日目に、左心室内圧の最大収縮能の低下、平均大動脈圧の低下、心拍出量の低下、動脈血の酸素分圧低下とともに、平均肺動脈圧の上昇、酸素摂取率¹⁵の増加及び血中ヘモグロビン濃度の増加がみられた。これらの結果は、ブタの心血管機能障害を示唆していた。肺血管壁の透過性の変化はみられなかった。~~スフィンゴシン~~ So は、心筋で L-タイプ Ca^{2+} チャンネルを阻害して、左心不全を誘導する可能性が報告されている。(参照 113 Voss, Smith #67, 114 Smith, Constable #248, 115 Constable, Smith #262)。

ブタに 1.5 mg/kg 体重/日の FB1 を 9 日間経口投与して、肺及び肝臓のセラミド濃度及びスフィンゴミエリン濃度が調べられた。FB1 を投与しない対照群と比較して肺のセラミド濃度は 1/2、スフィンゴミエリン濃度は 2 倍となった。肝臓では FB1 投与群のセラミド濃度は対照群の 3.5 倍、スフィンゴミエリン濃度は 1/2 であった。肝臓ではセラミドがスフィンゴミエリンから変換されたと、著者らは考察した。FB1 投与により、セラミド合成酵素 CerS1 から CerS5 それぞれの mRNA 発現を調べた結果、肺では CerS1 及び CerS4 の発現の増加及び CerS5 発現の減少並びに肝臓では

¹⁵ 酸素運搬量に対する酸素消費量の割合。

CerS4 の発現の増加及び CerS1 の発現の減少がみられた。組織特異的な FB1 の毒性に、セラミド合成酵素のサブタイプによって異なること及び、関与していると著者らは考えた(参照 105 Loiseau, Polizzi #486)。

c. ウマの白質脳軟化症 (ELEM) の機序

精製 FB1 を 0.2 mg/kg 体重/日の用量で静脈内投与して ELEM の神経症状が認められたウマでは、脳脊髄液中のタンパク質、アルブミン及び IgG 濃度が高く、アルブミン/グロブリン比¹⁶が対照群と比べて有意に増加し、血液脳関門の透過性が亢進したことを示唆していた(参照 116 Foreman, Constable #240, 117 IPCS #465)。

0.2 mg/kg 体重/日の FB1 を 7~9 日間投与して、ELEM の神経症状が認められたウマでは、心拍数の減少、心拍出量の低下、右心不全等の心血管疾患も報告されており、これらと ELEM との関連が示唆された(参照 118 Smith, Constable #100)。

また、ウマが飼料を採食したり水を飲んだりするために頭を下げる時に、フモニシンの影響で脳への血液循環を制御できず、脳浮腫を起こした結果、ELEM になるという仮説も提唱されている。(参照 118 Smith, Constable #100)。

ラットに、精製 FB1 を 8 mg/kg 体重の用量で皮下投与すると、脳内に FB1 が検出され、脳内 Sa 濃度及び Sa/So 比ともに増加したとの報告がある(参照 119 Kwon, Sandberg #244)。一方、¹⁴C-FB1 をラットに胃内投与又は静脈内投与した試験並びに ¹⁴C-FB1 をブタに経口投与した試験では、脳から FB1 は検出されておらず(参照 120 Norred, Plattner #537, 121 Prelusky, Trenholm #69)、FB1 が直接脳に移行するかどうかは不明である。

d. その他の毒性の機序

フモニシンの慢性毒性として、マウスに肝腫瘍及びラットに腎腫瘍が報告されている。これらのげっ歯類における発がん機序についてはよくわかっていないが、上記に示したようなフモニシンのセラミド合成酵素阻害によるスフィンゴ脂質の代謝異常が細胞増殖とアポトーシスのバランスに影響を与え、発がんに関与している可能性が示されている(参照 39 Howard, Eppeley #188, 122 Dragan, Bidlack #75, 123 Riley, Enongene #190, 124 Merrill, Sullards #290, 125 Tsunoda, Sharma #142)。

フモニシンは *in vitro* 及び *in vivo* で酸化ストレスを誘発することが示されている。また、CerS2 ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較

¹⁶ 髄液アルブミン濃度/血中グロブリン濃度。

1 して肝臓で~~活性酸素種 (ROS)~~及び活性窒素種 (RNS) の産生が増加し、
2 酸化ストレスマーカーも明らかに増加した報告がある。(参照 126 Zigdon,
3 Kogot-Levin #580)フモニシンは、スフィンゴ脂質代謝異常を介して脂質、
4 タンパク質及び DNA の酸化を誘導し、これが発がんに関与する可能性が
5 指摘されている(参照 127 Abado-Becognee, Mobio #112, 128 Domijan,
6 Peraica #223, 129 Wang, Wu #402, 130 Sozmen, Devrim #279)。

7 フモニシンは *in vitro* で、ヒストンのメチル化を変化させ、染色体を不
8 安定化することで発がんに関与している可能性も報告されている(参照
9 131 Chuturgoon, Phulukdaree #234, 132 Sancak and Ozden #405)。

10 11 (8) 毒性試験のまとめ

12 食品中のフモニシンに関する毒性試験については、精製物を経口投与し
13 た試験又は培養物を経口投与した試験が実施されている。フモニシンの経
14 口摂取による特異的な毒性所見を明らかにするために、精製物を経口投与
15 した毒性試験を中心に確認を行った。

16
17 実験動物に対して精製 FB1 を経口投与した急性毒性試験では、肝臓及
18 び腎臓において、初期に一過性の~~スフィンガニン (Sa)~~濃度上昇が認めら
19 れているが、FB1 の単回投与による死亡例は報告されていない。

20
21 実験動物に精製 FB1 を経口投与した亜急性毒性試験では、実験動物の
22 ほとんどの肝毒性及び腎毒性が~~みられ~~認められたが、マウス及びラット
23 では性差が認められた。FB1 の標的臓器~~や感受性~~には種差~~及び性差~~が認め
24 られた。ラット（雌雄、それぞれ一群 15 匹）に精製 FB1 を 13 週間混餌
25 投与した結果、9 mg/kg 飼料以上の投与群の雄ラットの腎臓髄質外帯の髄
26 放線に尿細管細胞の変性及び壊死が認められた。最も低い無毒性量
27 (NOAEL) は、この雄ラットの腎毒性を指標とした 3mg/kg 飼料 (0.21
28 mg/kg 体重/日) であった。

29 この NOAEL に近い投与量で毒性が認められ、かつ NOAEL が確認で
30 きなかった試験が他に 1 報、報告されている。*p53*^{+/-}マウス及びその野生
31 型である *p53*^{+/+}マウス (C57BL/6、雄、一群それぞれ 10 匹) に精製 FB1
32 を 26 週間混餌投与した亜急性毒性試験で、*p53*^{+/-}マウス及び *p53*^{+/+}マウ
33 スの全ての投与群において、巨大肝細胞の発生率が用量依存的に増加した。
34 巨大肝細胞の発生率を指標とした LOAEL は 0.4 mg/kg 体重/日であった。

35 本試験は、フモニシンによる毒性・発がんメカニズムの解明のために遺
36 伝子改変マウス及びその野生型を用いた試験である。このような遺伝子改
37 変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会において一部リスク評価に
38 用いられている事例はあるが参照用量の設定根拠とする毒性試験として

用いるには、慎重な取扱いが必要である。また、本試験においては、低用量かつ短い期間で雄の *p53*^{+/+}マウスの肝臓に非腫瘍性病変が確認されたが、本試験に用いられた *p53*^{+/+}マウスは *p53*^{+/-}マウスを作製する過程を経て得られたマウスであり、定量的な毒性影響を調べる一般毒性試験に通常用いるマウスと異なる可能性がある。

慢性毒性・発がん性試験では、げっ歯類に精製 FB1 を混餌投与すると、マウスでは雌で肝腫瘍が、ラットでは雄に腎腫瘍が発生した。雄ラット（雌雄、それぞれ一群 40～48 匹）に精製 FB1 を混餌投与した NTP における 2 年間発がん性試験では、15 mg/kg 飼料以上の投与群の雄ラットに腎臓尿細管上皮細胞のアポトーシスが観察された。雄ラットの腎臓毒性を指標とした NOAEL は 5 mg/kg 飼料（0.25 mg/kg 体重/日）であった。また、同じ試験において、雄ラットに用量依存的な腎腺腫及び腎細胞癌の増加が認められ、50 mg/kg 飼料以上の投与群では、腎腺腫及び腎細胞癌を合わせた腫瘍発生率が有意に増加した。雌ラットでは、FB1 投与と関連した腫瘍はみられなかった。発がんを指標とした FB1 の NOAEL は 15 mg/kg 飼料（0.76 mg/kg 体重/日）であった。

なお、ラットを用いて FB1 のイニシエーション作用又はプロモーション作用を調べる試験が行われている。これらの試験については、試験期間が不十分、使用している動物数が少ない、測定している GGT 又は GST-P 陽性細胞巢の大きさが不明である又は非常に小さいものを計測している等試験系が適切でないことから、この結果から、FB1 にイニシエーション作用及びプロモーション作用があるとの判断は困難であると考えた。

遺伝毒性試験の結果、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、いずれも陰性結果を示すが、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験及びげっ歯類を用いた *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れた。

生殖発生毒性試験では、マウスに精製フモニシンを経口投与したところ、胎児に水頭症の発現が確認され、その NOAEL は 12.5 mg/kg 体重/日であった。また、免疫毒性試験では免疫能の低下を示唆する所見が認められた試験があり、その NOAEL は 15 mg/kg 体重/日であった。いずれも亜急性毒性試験や慢性毒性試験における腎臓や肝臓障害の NOAEL（雄ラットの腎毒性を指標とした 0.21 mg/kg 体重/日、雌マウスの肝毒性を指標と

した 2.1 mg/kg 体重/日) に比べるとはるかに高い用量であった。

その他、胎児への FB1 の毒性を確認することを目的として、妊娠 3～19 日の NZW ウサギ（一群 22～26 匹）に精製 FB1 を強制経口投与する生殖発生毒性試験が実施された。0.50 及び 1.0 mg/kg 体重/日の投与群で母ウサギがそれぞれ 2 及び 5 匹死亡（8.7%及び 19.2%）した。また、0.50 mg/kg 体重/日以上 of 投与群では、妊娠 29 日目の胎児に雌雄ともに有意に体重減少が認められたが、骨格及び内臓検査を含むその他の検査の結果、用量依存的な変化は認められなかった。母ウサギの死亡の原因に関する明確な根拠が得られなかったことから、本試験を定量的な毒性影響を判断する試験として用いることは適切ではないと考えられた。

以上を踏まえ、フモニシンによる毒性影響に関しては、最も低い用量で腎毒性がみられたラットにおける 13 週間の亜急性毒性試験の NOAEL に基づき、TDI を設定することとした。

なお、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）においては、2001 年に NOAEL に基づき PMTDI を設定した後、2011 年に BMD 法を用いて、フモニシンの再評価を行った（IV 5（1）参照）。JECFA が BMD 法を適用した *p53*+/-マウス及び野生型マウスに精製 FB1 を 26 週間混餌投与した試験については、今回のかび毒・自然毒等専門調査会のリスク評価においては TDI の設定根拠として用いないものの、JECFA において BMD 法を用いて PMTDI の検討がなされた試験であることから、参考として BMD 法を用いて BMDL₁₀ の試算を行った（試算については、別添資料参照）。

1 < 参照文献 >

- 2
- 3 1. Enongene, EN, Sharma, RP, Bhandari, N, Miller, JD, Meredith, FI, Voss, KA,
4 et al., Persistence and reversibility of the elevation in free sphingoid bases
5 induced by fumonisin inhibition of ceramide synthase. *Toxicol Sci*, 2002. **67**(2):
6 p. 173-81 #128.
 - 7 2. Bhandari, N and Sharma, RP, Fumonisin B(1)-induced alterations in cytokine
8 expression and apoptosis signaling genes in mouse liver and kidney after an
9 acute exposure. *Toxicology*, 2002. **172**(2): p. 81-92 #129.
 - 10 3. McKean, C, Tang, L, Tang, M, Billam, M, Wang, Z, Theodorakis, CW, et al.,
11 Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and fumonisin B1
12 in animals and human cells. *Food Chem Toxicol*, 2006. **44**(6): p. 868-76 #130.
 - 13 4. Cai, Q, Tang, L and Wang, JS, Validation of fumonisin biomarkers in F344 rats.
14 *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007. **225**(1): p. 28-39 #53.
 - 15 5. Domijan, A, Zeljezic, D, Peraica, M, Kovacevic, G, Gregorovic, G, Krstanac, Z,
16 et al., Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver. *Hum Exp Toxicol*, 2008.
17 **27**(12): p. 895-900 #127.
 - 18 6. Orsi, RB, Dilkin, P, Xavier, JG, Aquino, S, Rocha, LO and Correa, B, Acute
19 toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. *Chem Biol Interact*,
20 2009. **179**(2-3): p. 351-5 #54.
 - 21 7. Dilkin, P, Direito, G, Simas, MM, Mallmann, CA and Correa, B, Toxicokinetics
22 and toxicological effects of single oral dose of fumonisin B1 containing
23 *Fusarium verticillioides* culture material in weaned piglets. *Chem Biol Interact*,
24 2010. **185**(3): p. 157-162 #62.
 - 25 8. Kouadio, JH, Moukha, S, Brou, K and Gnakri, D, Lipid metabolism disorders,
26 lymphocytes cells death, and renal toxicity induced by very low levels of
27 deoxynivalenol and fumonisin b1 alone or in combination following 7 days oral
28 administration to mice. *Toxicol Int*, 2013. **20**(3): p. 218-23 #145.
 - 29 9. Voss, KA, Liu, J, Anderson, SP, Dunn, C, Miller, JD, Owen, JR, et al., Toxic
30 effects of fumonisin in mouse liver are independent of the peroxisome
31 proliferator-activated receptor alpha. *Toxicol Sci*, 2006. **89**(1): p. 108-19 #141.
 - 32 10. Bondy, GS, Suzuki, CA, Fernie, SM, Armstrong, CL, Hierlihy, SL, Savard, ME,
33 et al., Toxicity of fumonisin B1 to B6C3F1 mice: a 14-day gavage study. *Food*
34 *Chem Toxicol*, 1997. **35**(10-11): p. 981-9 #167.
 - 35 11. National_Toxicology_Program, NTP technical report on the toxicology and
36 carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats
37 and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report 496, 2001#103.
 - 38 12. Howard, PC, Couch, LH, Patton, RE, Eppley, RM, Doerge, DR, Churchwell, MI,

- et al., Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F(1) mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2002. **185**(3): p. 153-165 #77.
13. Voss, KA, Chamberlain, WJ, Bacon, CW, Herbert, RA, Walters, DB and Norred, WP, Subchronic feeding study of the mycotoxin fumonisin B1 in B6C3F1 mice and Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol*, 1995. **24**(1): p. 102-110 #162.
14. Alizadeh, AM, Mohammadghasemi, F, Zendehdel, K, Kamyabi-Moghaddam, Z, Tavassoli, A, Amini-Najafi, F, et al., Apoptotic and proliferative activity of mouse gastric mucosa following oral administration of fumonisin B1. *Iran J Basic Med Sci*, 2015. **18**(1): p. 8-13 #176.
15. Bondy, G, Mehta, R, Caldwell, D, Coady, L, Armstrong, C, Savard, M, et al., Effects of long term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53 homozygous transgenic mice. *Food Chem Toxicol*, 2012. **50**(10): p. 3604-3613 #144.
16. Bondy, G, Barker, M, Mueller, R, Fernie, S, Miller, JD, Armstrong, C, et al., Fumonisin B1 toxicity in male Sprague-Dawley rats. *Adv Exp Med Biol*, 1996. **392**: p. 251-64 #166.
17. Bondy, GS, Suzuki, CA, Mueller, RW, Fernie, SM, Armstrong, CL, Hierlihy, SL, et al., Gavage administration of the fungal toxin fumonisin B1 to female Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A*, 1998. **53**(2): p. 135-51 #168.
18. Tryphonas, H, Bondy, G, Miller, JD, Lacroix, F, Hodgen, M, McGuire, P, et al., Effects of fumonisin B1 on the immune system of sprague-dawley rats following a 14-day oral (gavage) exposure. *Fundam Appl Toxicol*, 1997. **39**(1): p. 53-9 #139.
19. Tolleson, WH, Dooley, KL, Sheldon, WG, Thurman, JD, Bucci, TJ and Howard, PC, The mycotoxin fumonisin induces apoptosis in cultured human cells and in livers and kidneys of rats. *Adv Exp Med Biol*, 1996. **392**: p. 237-250 #89.
20. Voss, KA, Chamberlain, WJ, Bacon, CW and Norred, WP, A preliminary investigation on renal and hepatic toxicity in rats fed purified fumonisin B1. *Nat Toxins*, 1993. **1**(4): p. 222-228 #271.
21. Voss, KA, Chamberlain, WJ, Bacon, CW, Riley, RT and Norred, WP, Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. *Food Addit Contam*, 1995. **12**(3): p. 473-478 #162.
22. Oswald, IP, Desautels, C, Laffitte, J, Fournout, S, Peres, SY, Odin, M, et al., Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Appl Environ Microbiol*, 2003. **69**(10): p. 5870-4 #158.
23. Rotter, BA, Thompson, BK, Prelusky, DB, Trenholm, HL, Stewart, B, Miller, JD, et al., Response of growing swine to dietary exposure to pure fumonisin B1 during an eight-week period: growth and clinical parameters. *Nat Toxins*, 1996.

- 4(1): p. 42-50 #171.
24. Dresden Osborne, C, Pittman Noblet, G, Enongene, EN, Bacon, CW, Riley, RT and Voss, KA, Host resistance to Trypanosoma cruzi infection is enhanced in mice fed Fusarium verticillioides (=F. moniliforme) culture material containing fumonisins. Food Chem Toxicol, 2002. **40**(12): p. 1789-98 #157.
25. Riley, RT and Voss, KA, Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. Toxicol Sci, 2006. **92**(1): p. 335-345 #58.
26. Voss, KA, Plattner, RD, Riley, RT, Meredith, FI and Norred, WP, In vivo effects of fumonisin B1-producing and fumonisin B1-nonproducing Fusarium moniliforme isolates are similar: fumonisins B2 and B3 cause hepato- and nephrotoxicity in rats. Mycopathologia, 1998. **141**(1): p. 45-58 #10.
27. Gbore, FA, Yinusa, RI and Salleh, B, Evaluation of subchronic dietary fumonisin B1 on nutrient digestibility and growth performance of rats. African J Biotech, 2010. **9**(38): p. 6442-6447 #156.
28. Voss, K, Riley, R, Jackson, L, Jablonski, J, Bianchini, A, Bullerman, L, et al., Extrusion cooking with glucose supplementation of fumonisin contaminated corn grits protected against nephrotoxicity and disrupted sphingolipid metabolism in rats. Mol Nutr Food Res, 2011. **55**(Suppl 2): p. S312-S320 #85.
29. Theumer, MG, Lopez, AG, Masih, DT, Chulze, SN and Rubinstein, HR, Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. Clin Diagn Lab Immunol, 2002. **9**(1): p. 149-55 #137.
30. Ewuola, EO, Gbore, FA, Ogunlade, JT, Bandyopadhyay, R, Niezen, J and Egbunike, GN, Physiological response of rabbit bucks to dietary fumonisin: performance, haematology and serum biochemistry. Mycopathologia, 2008. **165**(2): p. 99-104 #150.
31. Ewuola, EO, Organ traits and histopathology of rabbits fed varied levels of dietary fumonisin B(1). J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2009. **93**(6): p. 726-31 #148.
32. Ewuola, EO and Egbunike, GN, Haematological and serum biochemical response of growing rabbit bucks fed dietary fumonisin B1. African J Biotech, 2008. **7**(23): p. 4304-4309 #149.
33. Grenier, B, Bracarense, AP, Schwartz, HE, Trumel, C, Cossalter, AM, Schatzmayr, G, et al., The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B(1) correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. Biochem Pharmacol, 2012. **83**(10): p. 1465-1473 #146.
34. Gbore, FA, Growth performance and puberty attainment in growing pigs fed dietary fumonisin B(1). J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2009. **93**(6): p. 761-7

- 1 #151.
- 2 35. Tardieu, D, Bailly, JD, Skiba, F, Metayer, JP, Grosjean, F and Guerre, P,
3 Chronic toxicity of fumonisins in turkeys. Poult Sci, 2007. **86**(9): p. 1887-93
4 #160.
- 5 36. Tran, ST, Auvergne, A, Benard, G, Bailly, JD, Tardieu, D, Babile, R, et al.,
6 Chronic effects of fumonisin B1 on ducks. Poult Sci, 2005. **84**(1): p. 22-8 #81.
- 7 37. Tessari, EN, Oliveira, CA, Cardoso, AL, Ledoux, DR and Rottinghaus, GE,
8 Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and
9 histology of broiler chicks. Br Poult Sci, 2006. **47**(3): p. 357-64 #161.
- 10 38. NTP, NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of
11 fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed
12 studies). Research Triangle Park, NC, USA, Department of Health and Human
13 Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National
14 Toxicology Program (NTP Technical Report 496; NIH Publication No. 01-
15 3955; http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr496.pdf), 2001#103.
- 16 39. Howard, PC, Eppley, RM, Stack, ME, Warbritton, A, Voss, KA, Lorentzen, RJ,
17 et al., Fumonisin b1 carcinogenicity in a two-year feeding study using F344
18 rats and B6C3F1 mice. Environ Health Perspect, 2001. **109 Suppl 2**: p. 277-82
19 #188.
- 20 40. Hard, GC, Howard, PC, Kovatch, RM and Bucci, TJ, Rat kidney pathology
21 induced by chronic exposure to fumonisin B1 includes rare variants of renal
22 tubule tumor. Toxicol Pathol, 2001. **29**(3): p. 379-86 #187.
- 23 41. Gelderblom, WC, Kriek, NP, Marasas, WF and Thiel, PG, Toxicity and
24 carcinogenicity of the Fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1, in rats.
25 Carcinogenesis, 1991. **12**(7): p. 1247-1251 #179.
- 26 42. Gelderblom, WC, Lebepe-Mazur, S, Snijman, PW, Abel, S, Swanevelder, S, Kriek,
27 NP, et al., Toxicological effects in rats chronically fed low dietary levels of
28 fumonisin B(1). Toxicology, 2001. **161**(1-2): p. 39-51 #186.
- 29 43. Gelderblom, WC, Semple, E, Marasas, WF and Farber, E, The cancer-initiating
30 potential of the fumonisin B mycotoxins. Carcinogenesis, 1992. **13**(3): p. 433-
31 437 #193.
- 32 44. Gelderblom, WC, Cawood, ME, Snyman, SD and Marasas, WF, Fumonisin B1
33 dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. Carcinogenesis, 1994.
34 **15**(2): p. 209-214 #191.
- 35 45. Gelderblom, WC, Galendo, D, Abel, S, Swanevelder, S, Marasas, WF and Wild,
36 CP, Cancer initiation by fumonisin B(1) in rat liver--role of cell proliferation.
37 Cancer Lett, 2001. **169**(2): p. 127-137 #180.
- 38 46. Gelderblom, WC, Jaskiewicz, K, Marasas, WF, Thiel, PG, Horak, RM, Vleggaar,

- R, et al., Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, 1988. **54**(7): p. 1806-1811 #192.
47. Gelderblom, WC, Snyman, SD, Lebepe-Mazur, S, van der Westhuizen, L, Kriek, NP and Marasas, WF, The cancer-promoting potential of fumonisin B1 in rat liver using diethylnitrosamine as a cancer initiator. *Cancer Lett*, 1996. **109**(1-2): p. 101-108 #195.
48. Gross, SM, Reddy, RV, Rottinghaus, GE, Johnson, G and Reddy, CS, Developmental effects of fumonisin B1-containing *Fusarium moniliforme* culture extract in CD1 mice. *Mycopathologia*, 1994. **128**(2): p. 111-8 #213.
49. Reddy, RV, Johnson, G, Rottinghaus, GE, Casteel, SW and Reddy, CS, Developmental effects of fumonisin B1 in mice. *Mycopathologia*, 1996. **134**(3): p. 161-166 #207.
50. Collins, TF, Shackelford, ME, Sprando, RL, Black, TN, Laborde, JB, Hansen, DK, et al., Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. *Food Chem Toxicol*, 1998. **36**(5): p. 397-408 #211.
51. Collins, TF, Sprando, RL, Black, TN, Shackelford, ME, Laborde, JB, Hansen, DK, et al., Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. Part 2. *Food Chem Toxicol*, 1998. **36**(8): p. 673-685 #212.
52. Voss, KA, Bacon, CW, Norred, WP, Chapin, RE, Chamberlain, WJ, Plattner, RD, et al., Studies on the reproductive effects of *Fusarium moniliforme* culture material in rats and the biodistribution of [¹⁴C] fumonisin B1 in pregnant rats. *Nat Toxins*, 1996. **4**(1): p. 24-33 #215.
53. Abdel-Wahhab, MA, Hassan, AM, Amer, HA and Naguib, KM, Prevention of fumonisin-induced maternal and developmental toxicity in rats by certain plant extracts. *J Appl Toxicol*, 2004. **24**(6): p. 469-474 #203.
54. Gelineau-van Waes, J, Starr, L, Maddox, J, Aleman, F, Voss, KA, Wilberding, J, et al., Maternal fumonisin exposure and risk for neural tube defects: mechanisms in an in vivo mouse model. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2005. **73**(7): p. 487-497 #55.
55. Voss, KA, Riley, RT and Gelineau-van Waes, J, Fetotoxicity and neural tube defects in CD1 mice exposed to the mycotoxin fumonisin B1. *JSM Mycotoxins*, 2006. **2006**(Suppl4): p. 67-72 #209.
56. Voss, KA, Gelineau-van Waes, JB and Riley, RT, Fumonisin: current research trends in developmental toxicology. *Mycotoxin Res*, 2006. **22**(1): p. 61-69 #83.
57. LaBorde, JB, Terry, KK, Howard, PC, Chen, JJ, Collins, TF, Shackelford, ME, et al., Lack of embryotoxicity of fumonisin B1 in New Zealand white rabbits. *Fundam Appl Toxicol*, 1997. **40**(1): p. 120-128 #214.

58. Bucci, TJ, Hansen, DK and LaBorde, JB, Leukoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1. *Nat Toxins*, 1996. **4**(1): p. 51-2 #135.
59. Ewuola, EO and Egbunike, GN, Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reproduction*, 2010. **139**(2): p. 439-445 #204.
60. Ewuola, EO and Egbunike, GN, Gonadal and extra-gonadal sperm reserves and sperm production of pubertal rabbits fed dietary fumonisin B1. *Anim Reprod Sci*, 2010. **119**(3-4): p. 282-286 #205.
61. Gbore, F and Akele, O, Growth performance, haematology and serum biochemistry of female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) fed dietary fumonisin. *Veterinary Archives*, 2010. **80**(3): p. 431-443 #154.
62. Gbore, FA and Egbunike, GN, Testicular and epididymal sperm reserves and sperm production of pubertal boars fed dietary fumonisin B(1). *Anim Reprod Sci*, 2008. **105**(3-4): p. 392-397 #134.
63. Gbore, FA, Reproductive organ weights and semen quality of pubertal boars fed dietary fumonisin B1. *Animal*, 2009. **3**(8): p. 1133-1137 #152.
64. Sadler, TW, Merrill, AH, Stevens, VL, Sullards, MC, Wang, E and Wang, P, Prevention of fumonisin B1-induced neural tube defects by folic acid. *Teratology*, 2002. **66**(4): p. 169-76 #208.
65. Cortinovis, C, Caloni, F, Schreiber, NB and Spicer, LJ, Effects of fumonisin B1 alone and combined with deoxynivalenol or zearalenone on porcine granulosa cell proliferation and steroid production. *Theriogenology*, 2014. **81**(8): p. 1042-1049 #219.
66. Minervini, F, Lacalandra, GM, Filannino, A, Garbetta, A, Nicassio, M, Dell'aquila, ME, et al., Toxic effects induced by mycotoxin fumonisin B1 on equine spermatozoa: assessment of viability, sperm chromatin structure stability, ROS production and motility. *Toxicol In Vitro*, 2010. **24**(8): p. 2072-2078 #221.
67. Domijan, AM and Abramov, AY, Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis--implication to mechanism of cell toxicity. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011. **43**(6): p. 897-904.
68. Park, DL, Rua, SM, Jr., Mirocha, CJ, Abd-Alla, ES and Weng, CY, Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia decontamination procedure. *Mycopathologia*, 1992. **117**(1-2): p. 105-108 #232.
69. Knasmuller, S, Bresgen, N, Kassie, F, Mersch-Sundermann, V, Gelderblom, W, Zohrer, E, et al., Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins, fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures of rat

- hepatocytes. *Mutat Res*, 1997. **391**(1-2): p. 39-48 #230.
70. Aranda, M, Perez-Alzola, LP, Ellahuene, MF and Sepulveda, C, Assessment of in vitro mutagenicity in *Salmonella* and in vivo genotoxicity in mice of the mycotoxin fumonisin B1. *Mutagenesis*, 2000. **15**(6): p. 469-471 #400.
71. Ehrlich, V, Darroudi, F, Uhl, M, Steinkellner, H, Zsivkovits, M and Knasmueller, S, Fumonisin B1 is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis*, 2002. **17**(3): p. 257-260 #224.
72. Lerda, D, Biaggi Bistoni, M, Peralta, N, Ychari, S, Vazquez, M and Bosio, G, Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2005. **43**(5): p. 691-698 #226.
73. Segvic-Klaric, MS, Pepeljnjak, S and Ruzica, R, Genotoxicity of fumonisin B1, beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual and combined treatment. *Croatica Chemica Acta*, 2008. **81**(1): p. 139-146 #86.
74. Ehrlich, V, Darroudi, F, Uhl, M, Steinkellner, H, Zsivkovits, M and Knasmueller, S, Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis*, 2002. **17**(3): p. 257-60 #224.
75. Norred, WP, Plattner, RD, Vesonder, RF, Bacon, CW and Voss, KA, Effects of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol*, 1992. **30**(3): p. 233-237 #231.
76. Karuna, R and Rao, BS, Lack of micronuclei induction by fumonisin B(1) mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Res*, 2013. **29**(1): p. 9-15 #233.
77. Domijan, AM, Zeljezic, D, Milic, M and Peraica, M, Fumonisin B(1): oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*, 2007. **232**(3): p. 163-9 #222.
78. Pocsfalvi, G, Ritieni, A, Randazzo, G, Dobo, A and Malorni, A, Interaction of fusarium mycotoxins, fusaproliferin and fumonisin B1, with DNA studied by electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 2000. **48**(12): p. 5795-5801 #451.
79. Sheu, CW, Rodriguez, I, Eppley, RM and Lee, JK, Lack of transforming activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. *Food Chem Toxicol*, 1996. **34**(8): p. 751-753 #200.
80. Sakai, A, Suzuki, C, Masui, Y, Kuramashi, A, Takatori, K and Tanaka, N, The activities of mycotoxins derived from *Fusarium* and related substances in a short-term transformation assay using v-Ha-ras-transfected BALB/3T3 cells (Bhas 42 cells). *Mutat Res*, 2007. **630**(1-2): p. 103-111 #184.
81. Gelderblom, WC and Snyman, SD, Mutagenicity of potentially carcinogenic mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Mycotoxin Res*, 1991. **7**(2): p. 46-52 #229.

82. Domijan, AM, Zeljezic, D, Milic, M and Peraica, M, Fumonisin B1: oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*, 2007. **232**(3): p. 163-169 #222.
83. Osuchowski, MF, Edwards, GL and Sharma, RP, Fumonisin B1-induced neurodegeneration in mice after intracerebroventricular infusion is concurrent with disruption of sphingolipid metabolism and activation of proinflammatory signaling. *Neurotoxicology*, 2005. **26**(2): p. 211-221 #242.
84. Gbore, FA, Brain and hypophyseal acetylcholinesterase activity of pubertal boars fed dietary fumonisin B1. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2010. **94**(5): p. e123-9 #153.
85. FAO/WHO, Fumonisin (addendum) in Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO FOOD ADDITIVES SERIES: 65, 2012: p. 325-527 #359.
86. Stockmann-Juvala, H, Mikkola, J, Naarala, J, Loikkanen, J, Elovaara, E and Savolainen, K, Fumonisin B1-induced toxicity and oxidative damage in U-118MG glioblastoma cells. *Toxicology*, 2004. **202**(3): p. 173-83 #236.
87. Stockmann-Juvala, H, Naarala, J, Loikkanen, J, Vahakangas, K and Savolainen, K, Fumonisin B1-induced apoptosis in neuroblastoma, glioblastoma and hypothalamic cell lines. *Toxicology*, 2006. **225**(2-3): p. 234-41 #237.
88. Osuchowski, MF and Sharma, RP, Fumonisin B1 induces necrotic cell death in BV-2 cells and murine cultured astrocytes and is antiproliferative in BV-2 cells while N2A cells and primary cortical neurons are resistant. *Neurotoxicology*, 2005. **26**(6): p. 981-92 #241.
89. Johnson, VJ and Sharma, RP, Gender-dependent immunosuppression following subacute exposure to fumonisin B1. *Int Immunopharmacol*, 2001. **1**(11): p. 2023-34 #136.
90. Bouhet, S, Le Dorze, E, Peres, S, Fairbrother, JM and Oswald, IP, Mycotoxin fumonisin B1 selectively down-regulates the basal IL-8 expression in pig intestine: in vivo and in vitro studies. *Food Chem Toxicol*, 2006. **44**(10): p. 1768-73 #251.
91. Taranu, I, Marin, DE, Bouhet, S, Pascale, F, Bailly, JD, Miller, JD, et al., Mycotoxin fumonisin B1 alters the cytokine profile and decreases the vaccinal antibody titer in pigs. *Toxicol Sci*, 2005. **84**(2): p. 301-7 #259.
92. Devriendt, B, Gallois, M, Verdonck, F, Wache, Y, Bimczok, D, Oswald, IP, et al., The food contaminant fumonisin B(1) reduces the maturation of porcine CD11R1(+) intestinal antigen presenting cells and antigen-specific immune responses, leading to a prolonged intestinal ETEC infection. *Vet Res*, 2009. **40**(4): p. 40 #252.
93. Halloy, DJ, Gustin, PG, Bouhet, S and Oswald, IP, Oral exposure to culture

- material extract containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by *Pasteurella multocida*. *Toxicology*, 2005. **213**(1-2): p. 34-44 #254.
94. Ramos, CM, Martinez, EM, Carrasco, AC, Puente, JHL, Quezada, F, Perez, JT, et al., Experimental trial of the effect of fumonisin B1 and the PRRS virus in swine. *J Anim Vet Advances*, 2010. **9**(9): p. 1301-1310 #257.
95. Marin, DE, Taranu, I, Pascale, F, Lionide, A, Burlacu, R, Bailly, JD, et al., Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *Br J Nutr*, 2006. **95**(6): p. 1185-92 #256.
96. Tornyos, G, Kovacs, M, Rusvai, M, Horn, P, Fodor, J and Kovacs, F, Effect of dietary fumonisin B1 on certain immune parameters of weaned pigs. *Acta Vet Hung*, 2003. **51**(2): p. 171-9 #260.
97. Burel, C, Tanguy, M, Guerre, P, Boilletot, E, Cariolet, R, Queguiner, M, et al., Effect of low dose of fumonisins on pig health: immune status, intestinal microbiota and sensitivity to *Salmonella*. *Toxins (Basel)*, 2013. **5**(4): p. 841-64 #278.
98. Sharma, D, Asrani, RK, Ledoux, DR, Jindal, N, Rottinghaus, GE and Gupta, VK, Individual and combined effects of fumonisin b1 and moniliformin on clinicopathological and cell-mediated immune response in Japanese quail. *Poult Sci*, 2008. **87**(6): p. 1039-51 #258.
99. Muller, S, Dekant, W and Mally, A, Fumonisin B1 and the kidney: modes of action for renal tumor formation by fumonisin B1 in rodents. *Food Chem Toxicol*, 2012. **50**(10): p. 3833-3846 #199.
100. He, Q, Suzuki, H, Sharma, N and Sharma, RP, Ceramide synthase inhibition by fumonisin B1 treatment activates sphingolipid-metabolizing systems in mouse liver. *Toxicol Sci*, 2006. **94**(2): p. 388-397 #499.
101. Milstien, S and Spiegel, S, Targeting sphingosine-1-phosphate: a novel avenue for cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2006. **9**(3): p. 148-150 #594.
102. JECFA, Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966, 2011: p. 70-94 #350.
103. JECFA, Fumonisin. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>, 2001#465.
104. Levy, M and Futerman, AH, Mammalian ceramide synthases. *IUBMB Life*, 2010. **62**(5): p. 347-356 #454.
105. Loiseau, N, Polizzi, A, Dupuy, A, Therville, N, Rakotonirainy, M, Loy, J, et al., New insights into the organ-specific adverse effects of fumonisin B1: comparison between lung and liver. *Arch Toxicol*, 2015. **89**(9): p. 1619-1629 #486.

- 1 106. Pewzner-Jung, Y, Brenner, O, Braun, S, Laviad, EL, Ben-Dor, S, Feldmesser, E,
2 et al., A critical role for ceramide synthase 2 in liver homeostasis: II. insights
3 into molecular changes leading to hepatopathy. *J Biol Chem*, 2010. **285**(14): p.
4 10911-23 #503.
- 5 107. Imgrund, S, Hartmann, D, Farwanah, H, Eckhardt, M, Sandhoff, R, Degen, J,
6 et al., Adult ceramide synthase 2 (CERS2)-deficient mice exhibit myelin sheath
7 defects, cerebellar degeneration, and hepatocarcinomas. *J Biol Chem*, 2009.
8 **284**(48): p. 33549-33560 #96.
- 9 108. Castillo, RI, Rojo, LE, Henriquez-Henriquez, M, Silva, H, Maturana, A, Villar,
10 MJ, et al., From Molecules to the Clinic: Linking Schizophrenia and Metabolic
11 Syndrome through Sphingolipids Metabolism. *Front Neurosci*, 2016. **10**: p. 1-15
12 #586.
- 13 109. Institute_of_Medicine_(US)_Standing_Committee., 8. Folate. In Dietary
14 Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin
15 B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline, 1998. **Washington (DC): National**
16 **Academies Press (US)#539.**
- 17 110. Stevens, VL and Tang, J, Fumonisin B1-induced sphingolipid depletion inhibits
18 vitamin uptake via the glycosylphosphatidylinositol-anchored folate receptor.
19 *J Biol Chem*, 1997. **272**(29): p. 18020-18025 #362.
- 20 111. Voss, KA, Riley, RT and Gelineau-van Waes, J, Fumonisin B(1) induced neural
21 tube defects were not increased in LM/Bc mice fed folate-deficient diet. *Mol*
22 *Nutr Food Res*, 2014. **58**(6): p. 1190-1198 #220.
- 23 112. Gelineau-van Waes, J, Rainey, MA, Maddox, JR, Voss, KA, Sachs, AJ, Gardner,
24 NM, et al., Increased sphingoid base-1-phosphates and failure of neural tube
25 closure after exposure to fumonisin or FTY720. *Birth Defects Res A Clin Mol*
26 *Teratol*, 2012. **94**(10): p. 790-803 #217.
- 27 113. Voss, KA, Smith, GW and Haschek, WM, Fumonisin: toxicokinetics,
28 mechanism of action and toxicity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2007. **137**: p. 299–
29 325 #67.
- 30 114. Smith, GW, Constable, PD, Eppley, RM, Tumbleson, ME, Gumprecht, LA and
31 Haschek-Hock, WM, Purified fumonisin B(1) decreases cardiovascular function
32 but does not alter pulmonary capillary permeability in swine. *Toxicol Sci*, 2000.
33 **56**(1): p. 240-249 #248.
- 34 115. Constable, P, Smith, G, Rottinghaus, G and Hasche, kW, Ingestion of Fumonisin
35 B1-containing culture material decreases cardiac contractility and
36 mechanically efficiency in swine. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000. **162**(3): p. 151
37 –160 #262.
- 38 116. Foreman, JH, Constable, PD, Waggoner, AL, Levy, M, Eppley, RM, Smith, GW,

- et al., Neurologic abnormalities and cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously. *J Vet Intern Med*, 2004. **18**(2): p. 223-230 #240.
117. IPCS, Fumonisin. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, 2001. **TRS 906-JECFA 56/16**([#465](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm)).
118. Smith, GW, Constable, PD, Foreman, JH, Eppley, RM, Waggoner, AL, Tumbleson, ME, et al., Cardiovascular changes associated with intravenous administration of fumonisin B1 in horses. *Am J Vet Res*, 2002. **63**(4): p. 538-545 #100.
119. Kwon, OS, Sandberg, JA and Slikker, W, Jr., Effects of fumonisin B1 treatment on blood-brain barrier transfer in developing rats. *Neurotoxicol Teratol*, 1997. **19**(2): p. 151-155 #244.
120. Norred, WP, Plattner, RD and Chamberlain, WJ, Distribution and excretion of [¹⁴C]fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. *Nat Toxins*, 1993. **1**(6): p. 341-346 #537.
121. Prelusky, DB, Trenholm, HL, Rotter, BA, Miller, JD, Savard, ME, Yeung, JM, et al., Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv Exp Med Biol*, 1996. **392**: p. 265-278 #69.
122. Dragan, YP, Bidlack, WR, Cohen, SM, Goldsworthy, TL, Hard, GC, Howard, PC, et al., Implications of apoptosis for toxicity, carcinogenicity, and risk assessment: fumonisin B1 as an example. *Toxicol Sci*, 2001. **61**(1): p. 6-17 #75.
123. Riley, RT, Enongene, E, Voss, KA, Norred, WP, Meredith, FI, Sharma, RP, et al., Sphingolipid perturbations as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. *Environ Health Perspect*, 2001. **109 Suppl 2**: p. 301-308 #190.
124. Merrill, AH, Jr., Sullards, MC, Wang, E, Voss, KA and Riley, RT, Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environ Health Perspect*, 2001. **109 Suppl 2**: p. 283-9 #290.
125. Tsunoda, M, Sharma, RP and Riley, RT, Early fumonisin B1 toxicity in relation to disrupted sphingolipid metabolism in male BALB/c mice. *J Biochem Mol Toxicol*, 1998. **12**(5): p. 281-9 #142.
126. Zigdon, H, Kogot-Levin, A, Park, JW, Goldschmidt, R, Kelly, S, Merrill, AH, Jr., et al., Ablation of ceramide synthase 2 causes chronic oxidative stress due to disruption of the mitochondrial respiratory chain. *J Biol Chem*, 2013. **288**(7): p. 4947-4956 #580.
127. Abado-Becognee, K, Mobio, TA, Ennamany, R, Fleurat-Lessard, F, Shier, WT, Badria, F, et al., Cytotoxicity of fumonisin B1: implication of lipid peroxidation and inhibition of protein and DNA syntheses. *Arch Toxicol*, 1998. **72**(4): p. 233-

- 6 #112.
128. Domijan, AM, Peraica, M, Vrdoljak, AL, Radic, B, Zlender, V and Fuchs, R, The involvement of oxidative stress in ochratoxin A and fumonisin B1 toxicity in rats. *Mol Nutr Food Res*, 2007. **51**(9): p. 1147-1151 #223.
129. Wang, X, Wu, Q, Wan, D, Liu, Q, Chen, D, Liu, Z, et al., Fumonisin B1: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. *Archives of toxicology*, 2016. **90**(1): p. 81-101 #402.
130. Sozmen, M, Devrim, AK, Tunca, R, Bayazit, M, Dag, S and Essiz, D, Protective effects of silymarin on fumonisin B1-induced hepatotoxicity in mice. *J Vet Sci*, 2014. **15**(1): p. 51-60 #279.
131. Chuturgoon, A, Phulukdaree, A and Moodley, D, Fumonisin B1 induces global DNA hypomethylation in HepG2 cells - An alternative mechanism of action. *Toxicology*, 2014. **315**: p. 65-9 #234.
132. Sancak, D and Ozden, S, Global histone modifications in Fumonisin B1 exposure in rat kidney epithelial cells. *Toxicol In Vitro*, 2015. **29**(7): p. 1809-1815 #405.

3. ヒトにおける知見

(1) 各国におけるばく露状況

厚生労働省の輸入食品監視統計によると、過去 10 年以上にわたって米国が日本の最大のトウモロコシ輸入相手国であり、第 2 位以下は年によって入れ替わりがみられる。2011 年から 2015 年までの主な輸入相手国は米国、ブラジル及び南アフリカ共和国等であることから、これらの国におけるフモニシンによるばく露量及びばく露評価に係る知見を以下に整理した。

① 米国

南カリフォルニアのロサンゼルス、サンディエゴ及びメキシコのティファナにおいて小売店等から収集されたトルティーヤ 34 検体及びマサ用のトウモロコシ粉 4 検体、計 38 検体の FB1、FB2 及び FB3 濃度を LC-MS 法により測定した結果が 2008 年に報告された。FB1 は全ての検体から検出された。FB1 の中央値は 0.084 mg/kg (範囲: 0.001~0.729 mg/kg) 及び総フモニシン (FB1、FB2 及び FB3) の中央値は 0.231 mg/kg (範囲: 0.0028~1.863 mg/kg) であった。(参照 1. NJ Dvorak et al. (2008) #314)。

米国で、1994 年から 1995 年に FDA により実施されたサーベイランスデータ及び 1989 年から 1991 年に USDA により実施された喫食量調査のトウモロコシ製品喫の食量を基に、FB1 の規制値を設定しない場合又は 0.5~3 mg/kg の規制値を設定する場合における FB1 ばく露量が推計された。フモニシンの規制値がない場合でも、推計された FB1 ばく露量の平均値は 1.5 mg/kg 体重/日を下回っていた(参照 2. SH Humphreys et al. (2001) #589)。

② ブラジル

2003 年 3 月から 2005 年 1 月にブラジリア連邦区で購入したトウモロコシを原料とする食品 10 品目、計 208 検体について、HPLC/蛍光法により FB1 及び FB2 (総フモニシン) 濃度が測定された。総フモニシンの平均濃度が最も高かった食品はコーンミール (creme de milho) で、その平均濃度は 2.04 mg/kg (範囲: 0.844~3.44 mg/kg) であった。フモニシンはコーンミール (fuba 及び creme de milho) 73 検体全てから検出された (LOQ: 0.020 mg/kg)。トウモロコシを原料とする食品それぞれの総フモニシン平均濃度及びブラジル地理・統計機関が実施した家計調査 (The 2002/2003 Brazilian Household Budget Survey) を基に求めた各品目の喫食量を用いて推計された総フモニシンのばく露量は、全体では 26.0 µg/人/日 (0.49 µg/kg 体重/日に相当)、トウモロコシを原料とする食品を喫食した人のみでは、376 µg/人/日 (7.1 µg/kg 体重/日に相当) であった(参照 3. ED Caldas et al. (2007) #562)。

2011 年 6 月から 2012 年 3 月の期間に、10~55 歳の男女 39 人から 3 か月ごとに計 4 回提供されたトウモロコシを原料とする食品 5 品目、計 120 検体について、HPLC 法により FB1 の濃度が測定された。FB1 の平均濃度が最も高かったのはコ

1 ーンミールで、平均濃度±標準偏差は、 0.4746 ± 0.2646 mg/kg であった。コーンミ
2 ールからの FB1 の検出率は 78.1% (32 検体中 25 検体) であった (LOQ: 0.100
3 mg/kg)。トウモロコシを原料とするそれぞれの食品中の FB1 平均濃度と、39 人の
4 ボランティアに対し質問票を用いて調査した食品摂取量から推計された FB1 の平
5 均ばく露量は 0.063 ± 0.058 µg/kg 体重/日であった(参照 4. K Bordin et al. (2014)
6 #310)。

7 8 ③ 南アフリカ共和国

9 2000 年に、ビザナ地域及びセンテーン地域¹で自家栽培され、目視によりかびの
10 汚染がみられないトウモロコシ及びかびが生えているトウモロコシを試料とし、
11 HPLC 法により FB1、FB2 及び FB3 (総フモニシン) 濃度が測定された。目視に
12 よりかびの汚染がみられないトウモロコシの総フモニシンの平均濃度は、ビザナで
13 0.92 ± 1.70 mg/kg、センテーン地域で 0.88 ± 1.78 mg/kg であり、統計的に差はみ
14 られなかった。かびの汚染がみられないトウモロコシの総フモニシン濃度と、トウ
15 モロコシの喫食量から推計された総フモニシンばく露量は、ビザナ地域で 5.8 µg/kg
16 体重/日、センテーン地域では 6.7 µg/kg 体重/日であった(参照 5. L van der
17 Westhuizen et al. (2008) #281)。

18 ビザナ地域の 10 村、93 世帯の 512 人及びセンテーン地域の 11 村、68 世帯の
19 410 人に対し聞き取り調査を行い、年齢別のトウモロコシ喫食量が調べられた。1
20 ～9 歳 (215 人) 及び 10～17 歳 (240 人) の年齢層では、両地域で喫食量の差はみ
21 られなかった。18～65 歳の年齢層におけるトウモロコシの平均喫食量は、ビザナ
22 地域で 379 ± 10.5 g /人/日 (229 人)、センテーン地域で 456 ± 11.9 g /人/日 (178
23 人) であった。本調査で得られたトウモロコシの喫食量と、1985 年から 2004 年の
24 それぞれの地域の自家栽培のトウモロコシの FB1 及び FB2 (総フモニシン) 濃度
25 を用いて総フモニシンばく露量を推計した結果、18 歳以上の年齢層の総フモニシ
26 ンばく露量は、ビザナ地域では 3.43 ± 0.15 µg/kg 体重/日、センテーン地域では 8.67
27 ± 0.18 µg/kg 体重/日であり、センテーン地域で有意に多かった(参照 6. GS
28 Shephard et al. (2007) #335)。

29 2001 年から 2003 年に、ビザナ地域及びセンテーン地域の自家栽培のトウモロコ
30 シ又は市販のトウモロコシの FB1、FB2 及び FB3 (総フモニシン) 濃度を測定し
31 た。ビザナ地域とセンテーン地域の自家栽培又は市販のトウモロコシの平均総フモ
32 ニシン濃度に大きな違いはなかった。検出された総フモニシン濃度と、各地域のト
33 ウモロコシの喫食量から推計されたビザナ地域及びセンテーン地域の総フモニシ
34 ンの平均ばく露量は、それぞれ 3.9 ± 7.3 µg/kg 体重/日及び 4.1 ± 7.6 µg/kg 体重/日
35 であった(参照 7. L van der Westhuizen et al. (2010) #282)。

¹ ビザナ地域では食道がんの発生率が比較的低く、センテーン地域では食道がんの発生率が比較的高い。

センテーン地域の住民を、自家栽培トウモロコシを喫食している人、市販のトウモロコシを喫食している人並びに自家栽培及び市販のトウモロコシを喫食している人に分けて、トウモロコシの喫食量が調査された。平均喫食量はそれぞれ、474 g/日、344 g/日及び 462g/日であった。トウモロコシの FB1、FB2 及び FB3 を合計した総フモニシンの平均濃度は、自家栽培トウモロコシで 1.142 mg/kg（範囲：0.005～10.140 mg/kg）及び市販のトウモロコシで 0.222 mg/kg（範囲：0.055～0.678 mg/kg）であった。ばく露量は、自家栽培トウモロコシを喫食している人で 8.5 µg/kg 体重/日（95%信頼区間：1.7～42.2）、市販のトウモロコシを喫食している人で 1.1 µg/kg 体重/日（95%信頼区間：1.0～1.3）と推計された。また、トウモロコシを原料とした伝統的なビール様飲料からのフモニシン摂取量は、一度の飲酒で最大 12.0 µg/kg 体重と推計された(参照 8. HM Burger et al. (2010) #572)。

センテーン地域において、トウモロコシからのフモニシン ばく露量の汚染低減の方法を検討するために、採取したトウモロコシから粥を作るにあたり、通常の作り方とトウモロコシを選別し、更に洗浄してから用いる方法とで、フモニシンばく露量の違いが調べられた。それぞれの方法で作られた粥を 2 日間摂取したセンテーン地域の 22 人の女性における FB1 の推定平均ばく露量は、通常の作り方の場合は 4.84（範囲：2.87～8.14）µg/kg 体重/日であったのに対し、選別後に洗浄した場合は 1.87（範囲：1.40～2.51）µg/kg 体重/日と明らかに低下した(参照 9. L van der Westhuizen et al. (2011) #59)。

(2) 疫学研究

フモニシンのヒト健康への影響に関する疫学的 解析により 研究には、トウモロコシを主食とする地域でフモニシンの摂取と胎児の NTD、食道がん、幼児の発育遅延との関連を示唆する 研究結果 等が報告されている。フモニシンのヒト健康への影響に関する疫学に関する研究等を以下に整理した。

① 神経管閉鎖障害 (NTD)

NTD は、胎児の脳や脊髄に起こる障害で、妊娠初期に形成される神経管の癒合不全を原因とする疾病である。NTD の病因として、環境、遺伝的背景、栄養等が考えられている。

1991 年 4 月に、メキシコとの国境地域にある米国のテキサス州キャメロン郡にある病院で、36 時間以内に無脳症の新生児の出産が 3 件発生した。当該病院では、6 週間以内に、これら 3 件の無脳症を含めて NTD が 6 件発生していた。テキサス州保健省では、「テキサス NTD プロジェクト」(Texas Department of Health's Neural Tube Defect Project)として、キャメロン郡全域にわたって NTD のサーベイランスを実施するとともに、NTD のリスク要因を調べる目的で症例対照研究及

1 び NTD を減らす目的で葉酸²を摂取させる介入研究を実施した(参照 10. AM
2 Domijan et al. (2011) , 11. L Suarez et al. (2012) #202, 12. K Hendricks (1999)
3 #210)。

4 NTD サーベイランスの結果、1990 年から 1991 年にメキシコ系アメリカ人女性
5 から生まれた新生児の NTD の発生率は 10,000 出産当たり 27 と、1986 年から
6 1989 年の 10,000 出産当たり 15 よりも高かった。このうち無脳症の発生率は、1986
7 年から 1989 年は 10,000 出産当たり 10 であるのに対し、1990 年から 1991 年は
8 10,000 出産当たり 20 と、2 倍であった。1989 年の秋にはテキサス州等において、
9 フモニシンに汚染されたトウモロコシを含む飼料に起因するウマの ELEM 及びブ
10 タの PPE が発生しており、その一年半後に新生児の NTD が発生していたことか
11 ら、フモニシンと NTD の関係について更に調べられた。この地域で 1990 年 5 月
12 から 1991 年 4 月に収集されたトウモロコシを原料とする食品（コーンミール）16
13 検体中の FB1 と FB2 の合計フモニシン濃度は平均 1.22 mg/kg で、1995 年から
14 1997 年に南テキサス地方で収集されたトウモロコシを原料とする食品のフモニシ
15 ン濃度の 2～3 倍であった。メキシコ系アメリカ人はトルティーヤの喫食量が多く、
16 トルティーヤのみからの平均トウモロコシ喫食量は一日約 90 g と推計³されるこ
17 とから、この時期にトウモロコシを原料とする食品を介したメキシコ系アメリカ人
18 のフモニシンばく露量が多かったと推測され、フモニシンが NTD 発生のリスクで
19 ある可能性が示唆された(参照 12. K Hendricks (1999) #210) #202。さらに、1993
20 年から 1998 年にテキサス - メキシコ国境地帯の 14 の郡又は都市で実施された
21 NTD サーベイランスの結果、NTD 症例は 360 件で、そのうち 324 件 (90%) は、
22 キャメロン郡、エル・パソ、ヒダルゴ郡及びウェブ郡で発生しており、340 件 (94.4%)
23 の母親はラテンアメリカ系女性であった(参照 11. L Suarez, et al. (2012) #202, 12.
24 K Hendricks (1999) #210, 13. CfDCa Prevention (2000) #575)。

25 「テキサス NTD プロジェクト」において、母親のフモニシンばく露が NTD 発
26 生率に関与しているかどうかを調べる目的で、1995 年 3 月から 2000 年 5 月の間
27 にメキシコとの国境地帯の南テキサスで、NTD の新生児を出産したメキシコ系ア
28 メリカ人 184 人（症例群）、正常児を出産したメキシコ系アメリカ人 225 人（対照
29 群）を対象に、症例対照研究が実施された。フモニシンばく露の指標として、産後
30 の母親の血中 Sa/So 比及び妊娠前及び妊娠初期それぞれ 3 か月間のトルティーヤ
31 摂取量の記憶を調査した。また、調査期間中に収集された家庭及び市販のトルティ
32 ーヤ試料の FB1、FB2 及び FB3 を測定し、フモニシンばく露量が推計された。240
33 枚のトルティーヤ試料中の FB1 濃度の平均値及び標準偏差は 0.234 ± 0.256 mg/kg、
34 範囲は 0～1.690 mg/kg であった。FB2 及び FB3 は検出されなかった。妊娠 12 週
35 までの期間にトルティーヤを喫食した枚数の中央値は、症例群で 252 枚、対照群で

² 葉酸は、必須栄養素で、DNA の生合成やアミノ酸代謝に重要な機能を果たしている。葉酸不足は NTD の発症の一要因とされており、妊娠可能な女性に葉酸摂取が推奨されている。

³ カナダの成人の平均トウモロコシ摂取量は、一日に約 17 g と推計されている。

180 枚であった。妊娠初期のトルティーヤ喫食量が 100 枚未満の群と比較して、301~400 枚喫食した群では、新生児の NTD 発生率のオッズ比が 2.4 (95%信頼区間: 1.1~5.3) とリスクが増加した。トルティーヤを 400 枚以上喫食した群ではオッズ比が 0.8~1.0 で、リスクの増加はみられなかった。血中葉酸濃度の中央値は、症例群で 0.0113 $\mu\text{g/mL}$ 、対照群で 0.0114 $\mu\text{g/mL}$ であった。葉酸サプリメントは症例群の 6.0%が、対照群の 4.4%が摂取していた。血中 Sa/So 比は、ヒトの FB1 ばく露の指標として適切ではないとされている(参照 14. JECFA (2011) #350)が、当該試験では、Sa/So 比が 0.1 未満の場合と比較すると、0.31~0.35 の範囲では、Sa/So 比の増加に伴って NTD 発生率のオッズ比が 4.4 (95%信頼区間: 1.2~15.5) まで上昇した。Sa/So 比が 0.35 以上では NTD 発生率のオッズ比は 0.7 と、低かった。母親の推計 FB1 ばく露量は、~~30.0 ng/kg~~0.03 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日以下の場合と比較すると、0.1501~0.0650 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日では NTD 発生率のオッズ比が 2.3 (95%信頼区間: 1.1~5.1) とリスクが高かった。FB1 ばく露量が ~~650.0 ng/kg~~0.65 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日以上の場合、オッズ比は 1.1 とリスクに差はみられなかった。これらの結果は、母親が FB1 を摂取すると NTD リスクが高まることを示唆しており、一方、FB1 ばく露量が ~~650.0 ng/kg~~0.65 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日以上の場合、胎児死亡が生じて NTD 発生率が低下したと著者らは考察した。当該試験において、NTD リスク要因とされる葉酸、ビタミン B12、肥満等と NTD のリスクに関連性は認められなかった(参照 15. SA Missmer et al. (2006) #201)。

更に、「テキサス NTD プロジェクト」において、上記 NTD の新生児を出産したメキシコ系アメリカ人 184 人(症例群)及び正常児を出産したメキシコ系アメリカ人 225 人(対照群)を対象に、環境、遺伝及び葉酸等の代謝経路に関連した栄養学的な要因等と NTD との関連について、聞き取り調査が実施された。その結果、第一に、重金属、農薬又は PCB と NTD リスクとの関連は確認できなかった。第二に、葉酸不足、血清中のビタミン B12 濃度が低いこと、血清中のホモシステイン濃度が高いこと、又は肥満がそれぞれ NTD リスクに関連していることが確認された。また、当該解析の結果、食品からのメチオニン摂取が少ない場合、ホモシステイン濃度が高く、ビタミン B12 濃度が低いと、ビタミン B12 を補酵素としてホモシステインから合成されるメチオニンが欠乏して NTD のリスクを高めるというモデルが提唱された。第三に、葉酸が欠乏している場合に、下痢、フモニシン摂取、硝酸塩や亜硝酸塩の高摂取とニトロソ化合物へのばく露といった要因が NTD のリスクを高めることが示唆された(参照 11. L Suarez, et al. (2012) #202)。

トルティーヤ摂取とフモニシンばく露の関連について、メキシコ人女性を対象とした疫学研究が実施されている。この研究において、996 人のメキシコ人女性から聞き取り調査し、トルティーヤ喫食量順に並べて、喫食量の少ない方から 25 人、多い方から 25 人及び中央値前後の 25 人、計 75 人より尿を採取し、尿中の FB1 濃度が調べられた。トルティーヤ喫食量が少ない群では、尿中 FB1 濃度が平均 0.035 $\mu\text{g/L}$ (濃度範囲: 0.0188~0.0652 $\mu\text{g/L}$)、喫食量が多い群では、尿中 FB1 濃度が

1 平均 0.1474 µg/L (濃度範囲: 0.0876~0.20801 µg/L) と、採取した 75 検体の尿
2 中 FB1 濃度とトルティーヤ喫食量には強い相関が示された(参照 16. YY Gong et
3 al. (2008) #324)。

4 5 ② 食道がん等

6 中国、南アフリカ、イランの食道がん発生率の高い地域で、自家栽培されて喫食
7 されるトウモロコシの *F. verticillioides* 汚染率、フモニシン濃度と食道がん発生率
8 ~~が高いこと~~との関連性が報告されている(参照 17. JECFA (2001) #465, 18.
9 FAO/WHO (2012) #359, 19. IARC (2002) #60)。

10 1989 年に、中国において ~~の~~食道がんの ~~高リスク~~発生率の高い地域である臨県
11 及び ~~食道がんの発生率の低い~~ ~~低リスク~~地域である商丘市において、それぞれ 27 検
12 体及び 20 検体のトウモロコシが収集され、両地域におけるフモニシン及びその他
13 のフザリウム属真菌由来のかび毒による汚染状況が比較された。フモニシンが検出
14 された検体の平均濃度は、~~高リスク地域~~ 臨県 では、FB1 が 872 µg/kg 及び FB2 が
15 448 µg/kg であったのに対し、~~低リスク地域~~ 商丘市 では、FB1 が 890 µg/kg 及び
16 FB2 が 330 µg/kg であった。FB1 の検出率は ~~高リスク地域~~ 臨県 で 48%、~~低リスク~~
17 ~~地域~~ 商丘市 で 25%であった。~~高リスク地域~~ 臨県 のトウモロコシ検体は、デオキシ
18 ニバレノール等のトリコテセン系かび毒が同時に検出される頻度も高く、フモニシ
19 ンとその他のトリコテセン系かび毒が同時に検出された検体の割合は、~~低リスク地~~
20 ~~域~~ 商丘市 の 5%に比べて、~~高リスク地域~~ 臨県 では 48%であった(参照 20. T
21 Yoshizawa et al. (1994) #321)。

22 中国の臨県において、1986 年 3 月から 1991 年 5 月にかけて食道扁平上皮癌の
23 98 症例及び 185 例の対照を用いて症例対照研究が実施された。フモニシン汚染の
24 指標として、血清中の Sa、So 及び Sa/So 比が用いられたが、これらの指標と食道
25 扁平上皮癌に相関はみられなかった(参照 21. CC Abnet et al. (2001) #322)。

26 中国の臨胸県では、発酵したトウモロコシで作られるパンの摂取と胃がんによる
27 死亡の関連性が指摘されており、収集されたトウモロコシ製品中のフザリウム属か
28 び毒の汚染状況が調べられた。フモニシンが検出された製品における FB1、FB2 及
29 び FB3 の最高濃度はそれぞれ 8.8、2.8 及び 0.9 mg/kg であった (検出限界: 0.5
30 mg/kg)。デオキシニバレノールや 15-アセチルデオキシニバレノールといったタイ
31 プ B トリコテセン類かび毒やゼアラレノン等も検出されたが、いずれのフザリウム
32 属かび毒もその濃度は 10 mg/kg を下回っており、胃がんのリスクの増加と発酵又
33 は未発酵のトウモロコシで作られるパンの摂取との関連は考えにくいと著者らは
34 考察した(参照 22. FD Groves et al. (1999) #329)。

35 南アフリカの食道がんの高発生地域と低発生地域から、1976 年から 1989 年にか
36 けて 6 シーズンにそれぞれの地域で栽培されたトウモロコシ検体が集められ、フザ
37 リウム属真菌の汚染状況が調べられた。調査の結果、*F. moniliforme*、*F.*
38 *subglutinans* 及び *F. graminearum* が多く検出された。目視によりかびの汚染がみ

られない検体及びかびが生えている検体に分けて、FB1 及び FB2 を合わせた総フモニシンの汚染濃度が測定された。食道がんの低発生地域及び高発生地域のそれぞれにおいて、目視によりかびの汚染がみられない検体のフモニシンの検出率は 3/12 検体及び 12/12 検体であり、検出された総フモニシンの平均濃度は 0.333 mg/kg 及び 2.1 mg/kg、濃度範囲はそれぞれ 0~0.7 mg/kg 及び 0.05~10.15 mg/kg であった。かびが生えている検体では、食道がんの低発生地域及び高発生地域のそれぞれにおいて、総フモニシンの検出率は 11/11 検体及び 12/12 検体であり、検出された総フモニシンの平均濃度は 9.0 mg/kg 及び 31.5 mg/kg、濃度範囲はそれぞれ 0.6~25.65 mg/kg 及び 4.35~63.2 mg/kg であった。(参照 23. JP Rheeder et al. (1992) #331)。

南アフリカのビザナ地域では食道がんの発生率が比較的低く、センテーン地域では食道がんの発生率が比較的高い。年齢調整した男性及び女性の 1996 年から 2000 年における 10 万人当たりの食道がんの発生人数は、ビザナ地域でそれぞれ 31.0 人及び 22.7 人、センテーン地域でそれぞれ 44.8 人及び 32.6 人であった。ビザナ地域及びセンテーン地域におけるフモニシンのばく露量は、1 歳以上のいずれの年齢層においてもセンテーン地域で多く、18~65 歳の年齢層では $3.43 \pm 0.15 \mu\text{g/kg}$ 体重/日及び $8.67 \pm 0.18 \mu\text{g/kg}$ 体重/日であった(参照 6. GS Shephard, et al. (2007) #335)。

食道がんの発症率が高い地域では、小麦及びトウモロコシを主に喫食し、ミネラルやビタミンの摂取量が低いといった、限られた食生活と関係していることも指摘されている(参照 24. JECFA (2001) #367)。

③ 発育遅延

トウモロコシのフモニシン汚染が報告されていたタンザニア北部の 4 村において、幼児のフモニシン摂取量と発育の関連性が調べられた。2006 年 9 月に、6 か月齢の幼児をもつ母親 215 人に対し、一人につき 2 回、24 時間思い出し法により、幼児のトウモロコシ消費量を推定するとともに、調査の前の週にトウモロコシ粉から作った食事を何回食べさせたかを記録してもらった。また、それぞれの家庭から食事に用いたトウモロコシ粉を収集して総フモニシンとして FB1、FB2 及び FB3 を測定した。幼児は 6 か月齢目及び 12 ヶ月齢目に身体測定を受けた。215 人中 191 人がトウモロコシ粉を用いて調理した食事を喫食しており、そのうち、131 人の幼児が喫食したトウモロコシ粉から 0.021~3.201 mg/kg の総フモニシンが検出された。総フモニシンの推計ばく露量は、0.003~28.838 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日 (中央値: 0.48 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日、90 パーセンタイル値: 3.99 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日) であった。131 人中 26 人は WHO/FAO の設定している PMTDI である 2 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日を超えていた (高ばく露群)。総フモニシンばく露量と身長に相関はみられなかったが、高ばく露群の幼児は、2 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日未満のばく露の幼児に比べて平均身長が 1.3 cm 低く、平均体重が 328 g と有意に軽かった。フモニシンばく露が幼児の発育遅延に関連す

1 ると著者らは考察した(参照 25. ME Kimanya et al. (2010) #325)。

3 (3) ヒトにおける知見のまとめ

4 米国の南テキサス、メキシコとの国境地域で、1990 年から 1991 年にメキシコ系
5 アメリカ人女性から生まれた新生児の NTD 発生率が高かったことから、フモニシ
6 ンと NTD 発生との関係を調べる疫学研究が行われており、それらの知見について、
7 確認を行った。トウモロコシを原料とするトルティーヤを主食とするメキシコ系ア
8 メリカ人における NTD 発症率について疫学的研究が実施され、妊娠中のフモニシ
9 ンのばく露は、出生児の NTD リスクを増加させる要因である可能性が示された。
10 しかし、フモニシン以外にも、NTD の発生リスクに係る要因として、葉酸不足、血
11 清中のビタミン B12 濃度、血清中のホモシステイン濃度等の報告があり、フモニシ
12 ンの摂取量と NTD 発症について、用量関係を確認するにはデータが不十分であっ
13 た。

14 フモニシンの汚染状況とヒトの食道がん等の発生率に関連がみられるとの報告
15 があるが、明らかな証拠はない。ヒトの食道がんの発生率が高い地域では、主にト
16 ウモロコシ等の穀物主体の食生活であり、ミネラルやビタミンの摂取量が低いとい
17 った限られた食生活の影響も指摘されており、他のかび毒の影響の有無、フモニシ
18 ンの摂取量等について十分なデータはない。

19 タンザニアにおける疫学研究より、幼児における PMTDI を超えるフモニシンば
20 く露は、発育遅延と関連しているとの報告がある。

22 4. ばく露状況

23 (1) 日本における汚染実態

24 2004 年度から 2009 年度にかけて、日本で実施されたフモニシン汚染実態調査
25 結果を表 10 に示した。本調査では、6 年間にわたって全国のスーパーマーケット
26 等で購入した市販食品 22 品目、計 1,226 検体を用いて LC-MS 法により FB1、FB2
27 及び FB3 を測定した。

28 調査を行った 22 品目中 16 品目に定量下限 (LOQ)⁴以上のフモニシンが検出さ
29 れ、汚染率が最も高かったのはコーングリッツの 100% (LOQ 以上の検体数/全検
30 体数 : 63/63) であり、以下、コーンスナック 87% (104/120)、ポップコーン 75%
31 (59/79)、ビール 47% (33/70)、雑穀米 47% (29/62)、コーンフレーク 43% (52/121)、
32 乾燥イチジク 40% (4/10)、コーンスターチ 38% (17/45)、大豆加工品 28% (5/18)、
33 大豆 17% (14/84)、コーンスープ (粉末) 14% (8/59)、アスパラガス (水煮) 10%
34 (1/10)、アスパラガス (生) 5% (2/40)、スイートコーン (缶詰・汁) 5% (1/22)、
35 スイートコーン 3% (4/126)、生トウモロコシ 2% (1/61) であった。最も汚染率

⁴ LOQ は、生トウモロコシ、スイートコーン、スイートコーン (缶詰・汁)、コーンフレーク、
コーンスープ (粉末)、コーンスープ (ペースト・液)、押し麦及びそば粉が 10 µg/kg、米が 4
µg/kg、その他の食品は 2 µg/kg。

1 が高かったコーングリッツのフモニシン濃度は調査品目の中で最も高く、FB1、
2 FB2 及び FB3 濃度のそれぞれの 6 年間通年の平均値が 196.5、62.4 及び 36.5 µg/kg
3 並びに最大値が 1,928.7、731.4 及び 369.0 µg/kg であった。次に汚染率が高かった
4 コーンスナックでは、FB1、FB2 及び FB3 濃度それぞれの 6 年間通年の平均値が
5 86.5、25.0 及び 14.5 µg/kg 並びに最大値が 1,673.0、597.0 及び 281.0 µg/kg であ
6 った。その次に汚染率が高かったポップコーンのフモニシン濃度は、FB1、FB2 及
7 び FB3 のそれぞれの平均濃度が 43.3、10.1 及び 6.3 µg/kg 並びに最大値が 354.0、
8 94.0 及び 64.0 µg/kg であった(参照 26. K Aoyama et al. (2010) #563, 27. Y Sugita-
9 Konishi et al. (2013) #304)。トウモロコシ製品のうち、生トウモロコシ、スイート
10 コーン及びコーンスープ(粉末)は比較的汚染率が低く、フモニシン濃度も低かつ
11 た。米からは、6 年間を通じてフモニシンは検出されなかった。雑穀米は、汚染率
12 が 47%と高かったが、FB1、FB2 及び FB3 濃度の平均値は 3.3、0.5 及び 0.5 µg/kg
13 であった。大豆の汚染率は 17%で、FB1 及び FB2 濃度の平均値は 0.6 及び 0.1
14 µg/kg であり、FB3 は検出されなかった。アスパラガス(水煮)からは FB2 のみ
15 が LOQ を超えて検出された。乾燥イチジクの FB1、FB2 及び FB3 濃度の平均値
16 は、4.4、0.3 及び 3.3 µg/kg であった。ビール、雑穀米、アスパラガス及び乾燥イ
17 チジク以外でフモニシンが検出された食品中のフモニシン濃度は FB1>FB2>FB3
18 であった。コーンスープ(ペースト・液体) 70 検体、米 51 検体、押し麦 40 検体、
19 そば麺 50 検体、そば粉 15 検体及び小麦粉 10 検体において、フモニシンは LOQ
20 未満であった(参照 26. K Aoyama, et al. (2010) #563, 27. Y Sugita-Konishi, et al.
21 (2013) #304, 28. 小西良子 (2010) #573)。

22 上記の汚染調査の結果を受けて、継続的なモニタリングとして 2010 年度から
23 2015 年度にかけて厚生労働省により実施された食品中の FB1、FB2 及び FB3 汚
24 染実態調査の結果を表 11 に示した。調査の結果、コーングリッツ及びコーンスナ
25 ックの汚染率(LOQ 以上の検体数/全検体数)は 70%~100%であり、フモニシン
26 濃度の平均値も他の食品に比べて高い傾向が見られた。また、フモニシンの濃度は
27 低いものの、ベビーフードからもフモニシンが検出された。

28 参考までに、これらの汚染実態調査においてフモニシン濃度が高かったコーング
29 リッツについて、2004 年度から 2009 年度及び 2010 年度から 2015 年度の調査結
30 果をまとめて、FB1 濃度の平均値の推移を図 2 に示した。2007 年度から 2009 年
31 度の FB1 濃度が他の年度と比較して高い濃度で推移していた。

32
33 2015 年度に食品安全委員会が実施した汚染実態調査においては、過去の調査で
34 調査対象とされていない品目等を中心として市販食品 9 品目(コーンスープ、小麦
35 粉・全粒粉、玄米、ブドウ果汁、ワイン、レーズン、コーヒー(液体)、コーヒー(粉
36 末)及びシリアル・グラノーラ)、計 200 検体を用いての FB1、FB2 及び FB3 濃
37 度を、LC-MS/MS 法で測定した。これら 9 品目における FB1、FB2 及び FB3 の
38 測定結果を表 12 に示した。シリアル・グラノーラは、フモニシン汚染率が 28%と

比較的高かったが、FB1、FB2 及び FB3 の濃度は最大値でもそれぞれ 8、2 及び 1 µg/kg であった。それ以外の食品の汚染率は 0%~12%、最も高い測定濃度は玄米の FB1 の 3 µg/kg であった。小麦粉全粒粉、ブドウ果汁及びコーヒーにフモニシン汚染は認められなかった (LOQ : 1~10 µg/kg)。フモニシンが検出されたほとんどの食品では FB1 濃度が最も高く、FB1>FB2>FB3 の濃度順であったが、レーズンでは、FB2 のみが LOQ 程度の濃度で検出され、FB1 及び FB3 は検出されなかった。

2015 年度に農林水産省により実施された、フモニシンに汚染された飼料を介した畜産物への移行調査の結果を表 13 に示した。この調査では、搾乳牛に精製 FB1 を 0 又は 300 mg/日⁵の用量で 28 日間強制経口投与、ブタ肉養豚に精製 FB1 を飼料中濃度で 0、1、2 又は 5 mg/kg⁶を 28 日間混餌投与並びに採卵鶏に精製 FB1 を飼料中濃度で 0、1、2 又は 5 mg/kg⁷を 28 日間混餌投与して FB1 の移行が調べられた。各動物における筋肉、脂肪、ウシの乳及び鶏卵等を試料として、HPLC-MS/MS 法を用いて FB1 を測定した結果、いずれの試料も検出限界 (LOD) 未満⁸であった(参照 29. 農林水産省 (2015) #574)。

⁵ 一日飼料摂取量を 20 kg とした。

⁶ 1 頭当たり 2,500 g 飼料/日給与。

⁷ 1 羽当たり 120 g 飼料/日給与。

⁸ LOD : 9 µg/kg。

表 10 2004 年度から 2009 年度までのフモニシン汚染実態調査結果

品 目	検体数	LOQ 以上の 検体数	汚 染 率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ (μg/kg)
				平均 値 (μg/kg)		最大 値 (μg/kg)	平均 値 (μg/kg)		最大 値 (μg/kg)	平均 値 (μg/kg)		最大 値 (μg/kg)	
				U.b.	L.b.		U.b.	L.b.		U.b.	L.b.		
生トウモロコシ	61	1	2	1.0	0.0	2.1	1	0.0	N.D.	1.0	0.0	N.D.	10
コーングラリツ	63	63	100	196.5	196.5	1,928.7	62.5	62.4	731.4	36.5	36.5	369.0	2
ポップコーン	79	59	75	43.3	43.3	354.0	10.6	10.1	94.0	6.8	6.3	64.0	2
スイートコーン	126	4	3	5.4	0.4	36.0	5.1	0.1	15.0	5.0	0.0	trace	10
スイートコーン (缶詰・汁)	22	1	5	1.1	0.0	trace	—	—	N.D.	—	—	N.D.	10
コーンフレーク	121	52	43	11.0	6.9	103.0	5.3	0.2	18.9	5.1	0.1	14.9	10
コーンスープ (ペースト・液)	70	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
コーンスープ(粉末)	59	8	14	5.8	0.5	12.9	5.0	0.0	trace	5.0	0.0	trace	10
コーンスターチ	45	17	38	3.1	1.9	62.7	2.2	1.1	16.7	1.3	0.2	7.1	2
コーンスナック	120	104	87	86.6	86.5	1,673.0	25.2	25.0	597.0	14.7	14.5	281.0	2
ビール	70	33	47	6.6	6.2	77.0	1.3	0.3	12.9	1.3	0.3	9.7	2
米(コメ)	51	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
大豆	84	14	17	1.5	0.6	8.5	1.1	0.1	4.8	1.0	0.0	trace	2
大豆加工品	18	5	28	1.8	0.5	8.0	1.2	0.0	4.0	1.1	0.0	trace	2
雑穀米	62	29	47	3.7	3.3	32.3	1.1	0.5	9.3	1.1	0.5	11.6	2
アスパラガス(生)	40	2	5	0.8	0.1	2.8	0.6	0.1	2.4	0.6	0.0	N.D.	2
アスパラガス(水煮)	10	1	10	0.9	0.0	trace	1.5	0.3	2.5	0.7	0.0	trace	2
押し麦	40	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
そば麺	50	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
そば粉	15	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10
乾燥イチジク	10	4	40	5.0	4.4	26.5	1.2	0.3	2.6	3.8	3.0	22.5	2
小麦粉	10	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2

L.b. : 検体中のフモニシン濃度が LOQ 未満の濃度を「0」として算出。

U.b. : 検体中のフモニシン濃度が LOD 未満の濃度を LOD の値、LOD 以上かつ LOQ 未満の濃度を LOQ の値として算出。

trace : 検体中のフモニシン濃度が LOD 以上かつ LOQ 未満。

表 11 厚生労働省による食品中のフモニシン汚染実態調査結果

品 目	調 査 年 度	検 体 数	LOQ 以上の 検 体 数	汚 染 率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ (μg/kg)
					平均 値		最大 値 (μg/kg)	平均 値		最大 値 (μg/kg)	平均 値		最大 値 (μg/kg)	
					U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		
コーンフレーク	2010	0	—	—	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—
	2011	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2013	15	15	100	15.9	15.9	119.0	6.5	6.4	48.7	2.9	2.7	20.9	0.5
	2014	10	4	40	0.6	0.4	1.7	0.4	0.2	0.8	—	—	N.D.	0.5
	2015	10	8	80	0.8	0.7	1.4	0.4	0.3	0.7	0.2	0.0	—	0.5
コーンクマリツ	2010	20	20	100	193.3	193.3	582.5	44.4	44.4	149.0	25.2	25.2	78.7	2
	2011	19	19	100	88.1	88.1	321.0	19.3	19.3	78.5	14.5	14.5	57.1	2
	2012	15	15	100	89.8	89.8	198.0	38.1	38.1	98.0	19.7	19.7	49.3	2
	2013	18	18	100	82.9	82.9	499.0	35.3	35.3	233.0	15.6	15.5	103.0	0.5
	2014	15	15	100	108.0	108.0	281.1	45.1	45.1	143.9	22	22.0	56.4	0.5
	2015	15	13	87	47.7	47.7	268.0	17.7	17.6	98.6	7.9	7.9	46.8	0.5
コーンスナック	2010	30	25	83	25.5	25.3	263.2	6.1	5.5	75.8	3.6	2.9	36.4	2
	2011	30	23	77	6.0	5.6	24.0	1.6	0.6	3.8	1.3	0.3	2.9	2
	2012	18	18	100	13.5	13.4	49.6	6.6	6.3	18.9	3.3	2.5	10.7	2
	2013	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2014	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2015	30	21	70	28.6	28.5	780.0	14.3	14.2	391.0	6.2	6.0	164.0	0.5
ヘビマーフト	2010	30	14	47	0.7	0.5	6.0	0.6	0.4	3.0	0.2	0.1	0.5	0.493～ 0.832
	2011	30	14	47	0.6	0.3	3.0	0.3	0.2	2.0	0.2	0.0	0.3	0.624～ 0.745
	2012	30	4	13	0.3	0.0	0.9	0.4	0.0	1.0	—	—	N.D.	1.0
	2013	25	7	28	1.1	0.9	18.7	0.6	0.4	5.7	0.4	0.1	3.5	0.5
	2014	15	2	13	3.8	3.3	49.0	1.8	1.3	20.0	1.1	0.7	10.2	1.0
	2015	20	5	25%	1.9	1.4	26.4	0.9	0.4	7.8	0.7	0.2	4.1	1.0

表 11 厚生労働省による食品中のフモニシン汚染実態調査結果(つづき)

品 目	調 査 年 度	検 体 数	LOQ 以上の 検 体 数	汚 染 率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ (μg/kg)
					平均 値		最大 値 (μg/kg)	平均 値		最大 値 (μg/kg)	平均 値		最大 値 (μg/kg)	
					U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		
雑穀米	2010	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2011	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2013	15	3	20	1.9	0.6	8.8	1.2	0.0	1.6	—	—	N.D.	4
	2014	10	2	20	1.8	0.6	5.5	1.3	0.0	1.3	1.3	0.0	1.1	4
	2015	15	6	40	6.0	4.1	61.1	2.1	0.8	11.5	1.3	0.3	5.1	4
ビール	2010	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2011	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2013	15	2	13	0.3	0.1	0.9	0.2	0.0	0.2	—	—	N.D.	0.5
	2014	15	2	13	0.5	0.3	4.1	0.3	0.0	0.7	0.2	0.0	0.4	0.5
	2015	20	0	0	0.1	0.0	—	0.1	0.0	—	0.1	0.0	—	0.4
大豆	2010	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2011	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2013	15	0	0	—	—	N.D.	—	—	N.D.	—	—	N.D.	0.5
	2014	10	2	20	4.3	3.5	25.5	1.9	0.7	6.8	1.5	0.6	5.5	4
	2015	10	2	20	6.5	5.3	53.1	2.7	1.9	13.9	2.7	1.5	15.4	4

厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課提出資料より食品安全委員会事務局が作成

汚染率：B1、B2 又は B3 のいずれかが定量限界値以上検出された検体の割合。

L.b.：検体中のフモニシン濃度が LOQ 未満の濃度を「0」として算出。

U.b.：検体中のフモニシン濃度が LOD 未満の濃度を LOD の値、LOD 以上かつ LOQ 未満の濃度を LOQ の値として算出。

表 12 2015 年度「フモニシンに係る食品健康影響評価に関する調査」における食品中フモニシン汚染実態調査結果

品目	検体数	LOQ 以上の 検体数	汚染率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ (μg/kg)
				平均値		最大値 (μg/kg)	平均値		最大値 (μg/kg)	平均値		最大値 (μg/kg)	
				U.b. (μg/kg).	L.b. (μg/kg).		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		U.b. (μg/kg)	L.b. (μg/kg)		
コーンスープ ^o	25	2	8	0.6	0.20	3	0.4	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
小麦粉 全粒粉	25	0	0	0.4	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
玄米	25	2	8	0.6	0.16	3	0.4	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
ブドウ果汁	25	0	0	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
ワイン	25	3	12	0.5	0.20	2	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
レースン	25	2	8	0.3	0.00	N.D.	0.6	0.08	1	0.3	0.00	N.D.	1
コーヒー(液体)	16	0	0	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
コーヒー(粉末)	9	0	0	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	10
シリアル・クワノーラ	25	7	28	1.0	0.76	8	0.5	0.12	2	0.4	0.04	1	1

L.b. : 検体中のフモニシン濃度が LOQ 未満の濃度を「0」として算出。

U.b. : 検体中のフモニシン濃度が LOD 未満の濃度を LOD の値、LOD 以上かつ LOQ 未満の濃度を LOQ の値として算出。

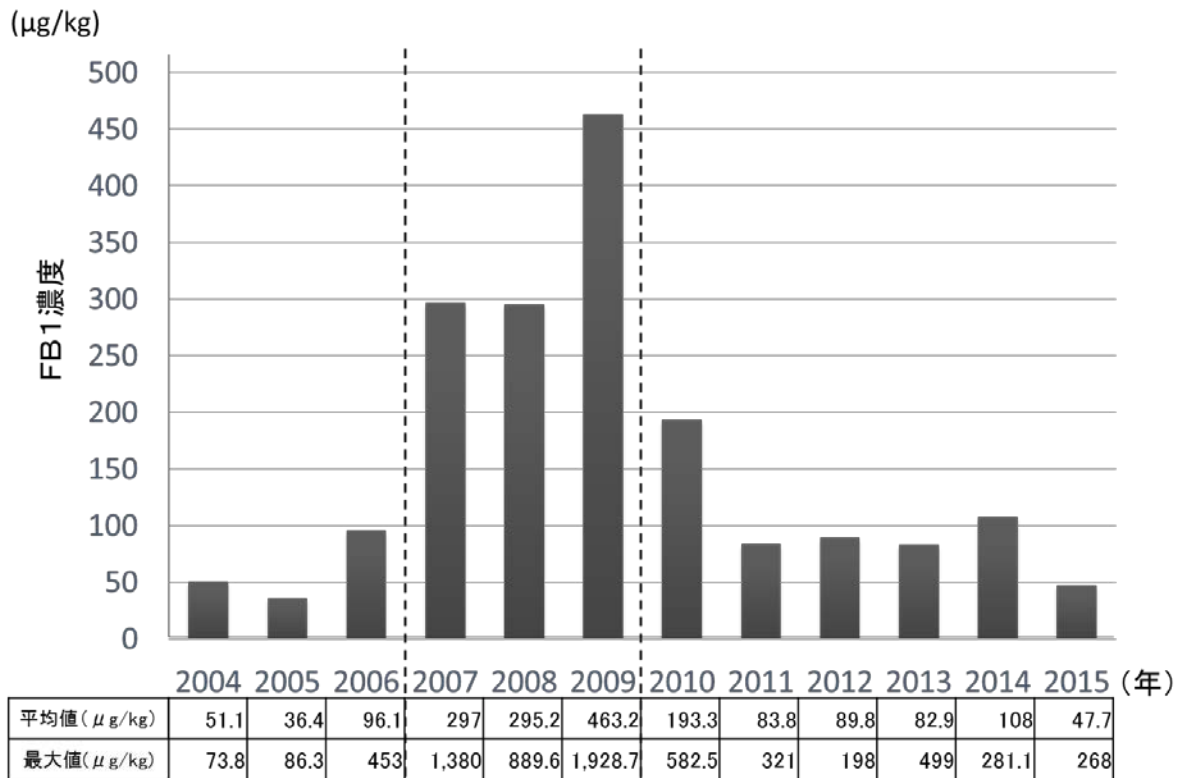
表 13 飼料中 FB1 の家畜等への移行調査の結果

供試動物	投与材料	投与量/飼料中濃度 (※1)	数/群	試料	投与方法	投与期間	採材	所見	結果
搾乳牛 (ホルスタイン、 39-59 か月齢、雌)	FB1 (99.28%)	0、300 mg/日 (1 日飼料摂取量を 20 kg とし て、15 mg/kg 飼料)	対照群 1 頭、 15 mg/kg 飼料群 3 頭	乳汁、 筋肉、 肝臓、 腎臓及 び脂肪	強制 経口 投与	28 日間	- 乳汁は、試験 1、2、3、5、7、14、21 及び 28 日に採取 - 臓器及び組織は試験 29 日の朝に採材	対照群及び FB1 投与群の牛のウシの乳量、増体重、飼料摂取量、健康状態及び血液検査結果に異常は認められなかった。	いずれの試料においても LOD 未満 (※2)
肉用豚 (LWD、7 週齢、雄雌)	FB1 (99.72%及び 99.28%)	飼料中濃度： 0、1、2 又は 5 飼料 (1 頭あたり 2,500 g/日 給与)	対照群 1 頭、 1、2 又は 5 mg/kg 飼料群にそれぞれ 3 頭	筋肉、 肝臓、 腎臓及 び脂肪	混餌 投与	28 日間	試験 28 日目の夕刻に採血及び臓器及び組織を採材	- 一般臨床症状、増体重、飼料摂取量について、対照群と比較して顕著な差は認められなかった。 - 血液学的検査では、RBC、ヘマトクリット値が文献的正常範囲よりも高値を示す個体が散見され、5 mg/kg 飼料群の 2 頭では脱水傾向であったが、臨床症状に異常は認められなかった。 - 血液生化学的検査では、肝機能の総ビリルビンと総コレステロール値において FB1 投与群で用量依存的な高値を示す傾向があったが、臨床症状に異常は認められなかった。	いずれの試料においても LOD 未満
採卵鶏 (ホリスブラコン、259 日齢、雌)	FB1 (99.72%)	飼料中濃度： 0、1、2 又は 5 飼料 (1 羽あたり 120 g/日 給与)	対照群、1、2 又は 5 mg/kg 飼料群にそれぞれ 6 羽	鶏卵、 筋肉、 肝臓、 腎臓及 び脂肪	混餌 投与	28 日間	- 試験 1、2、3、5、7、14、21 及び 28 日に鶏卵を採取 - 臓器及び組織は 28 日目の午後に採材	対照群及び FB1 投与群の産卵率、増体重、飼料摂取量及び健康状態のいずれにも異常は認められなかった。	いずれの試料においても LOD 未満

平成 27 年度生産資材安全確保対策事業「飼料中のフモニシンの家畜等への移行調査委託事業」(農林水産省) 調査結果を基に食品安全委員会事務局作成

※1 試料中の FB1 濃度は、HPLC-MS/MS により測定

※2 LOQ: 30 µg/kg、LOD: 9 µg/kg



2004～2006:平成16～18年度「食品中のカビ毒の毒性及び暴露評価に関する研究」

2007～2009:平成19～21年度「かび毒を含む食品の安全性に関する研究」

2010～2015:平成27年4月8日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課提出資料

を基に食品安全委員会事務局が作成

図2 コーングリッツ中FB1濃度の年平均値の推移

(2) 日本におけるばく露量の推定

一般にかび毒の汚染の程度は、気候等の影響を受けやすいとされており、フモニシンについても図2のとおり、年によって汚染濃度の変化が生じることが推察されるが大きく変動していた。このため、ばく露量の推定においてもは複数年の汚染濃度を用いて推定を行うことが重要である。

前述の2004年度から2009年度にかけてのフモニシン汚染実態調査の結果及び2007年度から2010年度に厚生労働省により実施された年齢層別（1～6歳、7～14歳、15～19歳及び20歳以上の4階層）の食品摂取頻度・食品摂取量の調査結果を用いて、フモニシンの基準を設定しない場合（規制なし）又は加工食品の場合は1,000 $\mu\text{g/kg}$ 、未加工品の場合は4,000 $\mu\text{g/kg}$ と基準値を設定する場合（規制あり）の二通りのシナリオ⁹を想定して、日本人におけるフモニシンばく露量がモンテカルロ法を用いたシミュレーションにより推計された。

フモニシン汚染実態調査の結果を基に、22品目中、フモニシン濃度が低い食品

⁹「規制なし」の場合は、フモニシン汚染実態調査の全てのデータを用いて推計し、「規制あり」の場合は、フモニシン濃度が基準の値を超えたデータは用いずに基準値以下のデータを用いて推計した。

1 及び喫食量が少ない食品を除いた、コーンスナック、コーンフレーク、雑穀米、ビ
2 ール及びポップコーンの 5 品目のフモニシン濃度データがばく露量推計に用いら
3 れた。実態調査で得られたデータ及び年齢層別食品摂取量データを用いて¹⁰、「規
4 制なし：upper bound¹¹」、「規制なし：lower bound¹²」、「規制あり：upper bound」、
5 「規制あり：lower bound」の 4 つのシナリオでモンテカルロシミュレーションが
6 実施した結果を表 14 に示した。年齢区分別の体重 1 kg 当たりの一日ばく露量は、
7 1～6 歳の階層が最も高く、年齢が上がるに従って低下した。また、体重 1 kg 当
8 たりの一日本く露量は、基準値を設定しない「規制なし」のシナリオの方が、基準値
9 を設定した「規制あり」のシナリオに比べて 10%程度高かった。1～6 歳の階層の
10 99 パーセンタイル値は、「規制なし：upper bound」のシナリオでは 191.56 ng/kg
11 体重/日、「規制あり：upper bound」のシナリオでは 170.29 ng/kg 体重/日であっ
12 た。7 歳以上の階層の 99 パーセンタイル値は、いずれも 100 ng/kg 体重/日以下で
13 あった。日本におけるフモニシンばく露の主要因はコーンスナックであることか
14 ら、幼児と子供のばく露量が高くなると著者らは考察した(参照 27. Y Sugita-
15 Konishi, et al. (2013) #304)。
16

¹⁰ 年齢層別の食品摂取量が全体の 1%未満の品目についてはシミュレーションの対象外とした。

¹¹ 検体中のフモニシン濃度が LOQ 未満の濃度を「0」として算出。

¹² 検体中のフモニシン濃度が LOD 未満の濃度を LOD の、LOD 以上かつ LOQ 未満の濃度を LOQ の値として算出。

1

表 14 日本におけるフモニシンばく露量推計(ng/kg/day)

シナリオ	90 パーセンタイル	95 パーセンタイル	97.5 パーセンタイル	99 パーセンタイル	99.5 パーセンタイル	99.8 パーセンタイル	99.9 パーセンタイル
1-6 歳規制なし : upper bound	0.05	10.21	54.54	191.56	376.93	782.16	1251.47
1-6 歳規制なし : lower bound	0.00	7.20	52.79	190.49	377.26	785.69	1254.14
1-6 歳規制 1μg 及び 4μg : upper bound	0.04	6.84	45.70	170.29	329.74	647.46	974.00
1-6 歳規制 1μg 及び 4μg : lower bound	0.00	7.08	51.33	179.39	341.91	661.99	992.60
7-14 歳規制なし : upper bound	0.00	4.55	27.31	100.31	201.54	425.37	684.53
7-14 歳規制なし : lower bound	0.00	1.22	26.96	100.60	202.29	427.66	688.91
7-14 歳規制 1μg 及び 4μg : upper bound	0.00	4.50	26.78	95.34	184.14	361.25	549.05
7-14 歳規制 1μg 及び 4μg : lower bound	0.00	1.18	26.28	95.27	184.03	360.91	544.40
15-19 歳規制なし : upper bound	0.00	0.00	4.86	41.75	99.61	230.71	386.41
15-19 歳規制なし : lower bound	0.00	0.00	2.62	41.41	99.52	230.81	386.41
15-19 歳規制 1μg 及び 4μg : upper bound	0.00	0.00	4.80	40.52	94.06	207.30	326.82
15-19 歳規制 1μg 及び 4μg : lower bound	0.00	0.00	2.58	40.15	93.95	207.19	326.64
20 歳以上規制なし : upper bound	0.00	0.00	0.02	5.26	18.99	64.27	122.44
20 歳以上規制なし : lower bound	0.00	0.00	0.02	5.31	19.16	64.14	122.38
20 歳以上規制 1μg 及び 4μg : upper bound	0.00	0.00	0.02	5.28	19.17	64.17	122.92
20 歳以上規制 1μg 及び 4μg : lower bound	0.00	0.00	0.02	5.33	19.16	64.14	122.59

2 シナリオ :

3 ・LOQ 未満は LOQ の二分の一の一樣分布と仮定し(upper-bound)、「規制なし」とする。

4 ・LOQ 未満は LOQ の二分の一の一樣分布と仮定し(upper-bound)、規制の基準値は加工食品の場合は 1000 μg/kg、
5 未加工品の場合は 4000 μg/kg とする。

6 ・LOQ 未満はゼロと仮定し(lower-bound)、「規制なし」とする。

7 ・LOQ 未満はゼロと仮定し(lower-bound)、基準値は加工食品の場合は 1000 μg/kg、未加工品の場合は 4000 μg/kg
8 とする。

（３）加工・調理による影響

トウモロコシの製粉には、湿式製粉と乾式製粉がある。湿式製粉は、トウモロコシを薄い亜硫酸水溶液に浸漬し、浸漬水、胚芽、皮、タンパク質、デンプンに分離するのを主工程とする。湿式製粉中にトウモロコシを水溶液に浸漬するとある程度のフモニシンが浸漬水に移行し、トウモロコシ製品のフモニシン濃度が低減する。乾式製粉は、胚芽、皮を除去してトウモロコシを乾燥した状態で粉碎して各種の粉を得る。この工程で濃度は低減しないが、外皮及び胚芽のフモニシン濃度が比較的高いため、これらを除去するとフモニシン濃度は減衰する。フモニシンはアルカリ処理により一部が加水分解フモニシンとなる。（参照 30. WTR Series (2002) #336, 31. FAO/WHO (2001) #352）

150～200℃ 以上での加熱加工（焼成、フライ、ロースト、押し出し成型）は、フモニシン濃度を低減することが示されている。調理中のアルカリ処理でも加水分解フモニシンが生成される。また、加熱加工により、フモニシンの脂肪酸エステル、メイラード反応型の結合体である *N*-(carboxymethyl) fumonisin B₁ (NCM-FB₁) や *N*-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) fumonisin B₁ (NDF-FB₁) が生じることが知られている。発酵の過程では、フモニシンの減衰はほとんどみられない。調理中又は加工中に減少するフモニシン濃度は、温度、調理時間又は加工時間、pH、水分量及び食材中の糖の種類と量等による（参照 14. JECFA (2011) #350, 32. HU Humpf et al. (2004) #50）。

5. 諸外国における評価

（１）FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）

JECFA は、2001 年、2011 年及び 2016 年にフモニシンの評価を行った。2001 年評価では、ラットにおける 90 日間の亜急性毒性試験（参照 33. KA Voss et al. (1995) #162）及び慢性毒性/発がん性試験（参照 34. GC Hard et al. (2001) #187）の結果から、雄ラットにおける腎毒性（尿細管細胞の変性・壊死等）を指標とした NOAEL 0.2 mg/kg 体重/日に、不確実係数 100 を適用し、グループ暫定最大耐容一日摂取量 (PMTDI) を 2 µg/kg 体重/日 (FB₁、FB₂ 及び FB₃ の単独又は合計) と設定した（参照 35. IPCS (2001) #465）。

2011 年の再評価では、用量反応相関が示されている精製 FB₁ 又は FB₁ を含む *F. verticillioides* 培養物を混餌投与したマウス又はラットの 6 試験のデータ¹³（参照 36. PC Howard et al. (2002) #77, 37. G Bondy et al. (2012) #144, 38. RT Riley et al. (2006) #58, 39. K Voss et al. (2011) #85, 40. National Toxicology Program (2001) #103）に BMD 法を適用して解析が行われた。精製 FB₁ を混餌投与した試験のうち、最も低い BMDL₁₀ が得られたのは雄マ

¹³ そのうち Bondy らのマウスを用いた 26 週間亜急性毒性試験（#144）については、JECFA は、2011 年時点では非公開であったデータに基づいて評価を行った（#501）。

1 ウスの肝細胞にみられる巨大肝細胞の増加を指標(参照 37. G Bondy, et al. (2012)
2 #144)としたときの 165 µg/kg 体重/日であった。この BMDL₁₀値に不確実係数
3 100 を適用し、PMTDI 2 µg/kg 体重/日が求められた¹⁴。この値は、2001 年の評
4 価で設定されたグループ PMTDI と同じであったため、このグループ PMTDI が
5 維持された(参照 14. JECFA (2011) #350)。

6 2011 年のフモニシンのばく露評価では、総フモニシンのばく露量が平均摂取者
7 で $0.087 \times 10^{-3} \sim 14.14$ µg/kg 体重/日、高摂取者では最大 44.8 µg/kg 体重/日と推計
8 され、特にトウモロコシを主食とし、フモニシン汚染リスクの高い地域では、
9 PMTDI を超過する可能性がある」と指摘した。また、飼料中のフモニシンについて
10 も考察し、飼料から畜産物へのフモニシン移行は無視できることから、飼料中のフ
11 モニシンによるヒトへの健康影響はないとした(参照 18. FAO/WHO (2012) #359)。

12 2016 年、JECFA は、2011 年の再評価以降に更新されたばく露データや新たに
13 得られた毒性試験及び疫学研究に基づいて再びフモニシンの評価を行い、2011 年
14 に再評価されたグループ PMTDI が維持された(参照 41. JECFA (2016) #501)。

16 (2) 欧州食品安全機関 (EFSA)

17 EFSA の前身である欧州の食品科学委員会 (SCF) は 2000 年に FB1 について意
18 見書を公表している(参照 42. SCF (2000) #339)。SCF は、ラットにおける 90 日
19 間の亜急性毒性試験(参照 33. KA Voss, et al. (1995) #162)及びラットの慢性毒性/
20 発がん性試験(参照 34. GC Hard, et al. (2001) #187)に基づく NOAEL 0.2 mg/kg
21 体重/日に不確実係数 100 を適用し、耐容一日摂取量 (TDI) を 2 µg/kg 体重/日と
22 設定した。JECFA が 2001 年にグループ PMTDI を設定したことを受け、SCF は
23 2002 年にこの TDI を、グループ TDI (FB1、FB2 及び FB3 の単独又は合計) と
24 した(参照 43. SCF (2003) #342)。

25 EFSA は、2005 年に「飼料中の望ましくない汚染物質」としてフモニシンについ
26 て意見書を公表しており、この中で、各種動物家畜 (~~家畜動物~~ブタ、家禽、ウマ、
27 ウサギ、~~家禽類~~及び魚類など) について NOAEL をまとめている(参照 44. EFSA
28 (2005) #356)。また、飼料汚染からのヒトへのばく露影響については、有意な寄与
29 はないとしている。関連して、EFSA は、2014 年にフモニシンを分解する飼料添
30 加物のフモニシンエステラーゼ (FUMzyme®) の評価を行った。この評価において、
31 加水分解フモニシンの遺伝毒性試験及び短期毒性試験のデータもレビューされて
32 いる(参照 45. EFSA (2014) #343)。

33 EFSA は、2014 年にモディファイドマイコトキシンの評価を実施した(参照 1.
34 EFSA (2014) #344)。公表されている文献データによると、フモニシンの場合、穀

¹⁴ 解析の結果、FB1 の最少 BMDL₁₀ 値は、培養物を用いた試験(参照 6. K Voss, et al. (2011) #85)の 17 µg/kg 体重/日であったが、培養物の成分の詳細が不明であること及び培養物が自然汚染状況を反映していない可能性もあることから、JECFA では TDI の設定根拠としてこの値を採用しなかった。

物のデンプンやタンパク質等のマトリックスに物理的に捕えられたフモニシンが
主なモディファイドフモニシンで、その濃度は、遊離型フモニシンの 60%と推計さ
れた。遊離フモニシンとモディファイドフモニシンを合わせたフモニシンばく露量
を年齢層別に推計¹⁵した結果、フモニシンのグループ PMTDI である 2 µg/kg 体重
/日と比較すると、1～10 歳の子供のばく露量がグループ PM TDI を超える可能性
がある(参照 1. EFSA (2014) #344)。

(3) 国際がん研究機関 (IARC)

IARC は、1993 年に *F. verticillioides*¹⁶由来かび毒¹⁷として FB1 及び FB2 に
ついて、化学物質としての発がん性の評価を行った。*F. verticillioides* 培養物がラ
ットに前腫瘍性の肝毒性を示すことから、実験動物において十分な発がん性エビデ
ンスがあるとした。一方、FB1 の発がん性についてはデータが限られているとした。
総合評価としては *F. verticillioides* 由来のかび毒をグループ 2B (ヒトに対して発
がん性がある可能性がある。)に分類した(参照 46. IARC (1993) #338)。

2002 年に FB1 を再評価した。フモニシンの発がん性について、ヒトにおける証
拠は不十分であるが、発がん性について、雄ラットの胆管癌及び肝細胞癌並びに腎
尿細管癌の誘発、雌マウスにおける肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度の増加をエ
ビデンスとして採用した。また、FB1 を投与された実験動物の肝臓及び腎臓でアポ
トーシス増加と細胞増殖を誘発すること、ウマの ELEM 及びブタの PPE における
スフィンゴ脂質代謝阻害と心血管系への影響について考察した。この評価において、
FB1 の作用機序としてスフィンゴ脂質代謝阻害並びにリン脂質及び脂肪酸代謝異
常について詳述している。以上に基づきから、FB1 をグループ 2B に分類した(参
照 19. IARC (2002) #60)。

¹⁵ EU 加盟国の栄養調査の結果を基に推計。

¹⁶ 原著では、*F. moniliforme* と記載されている。1988 年に、FB1 が発見された当初は、産生菌は
F. moniliforme と報告されていたが、1998 年、それまで *Fusarium moniliforme* Sheldon と呼ば
れていた産生菌を *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (*F. verticillioides*) と命名するこ
とが正式に認められた。

¹⁷ IARC は、*F. verticillioides* 由来かび毒として FB1、FB2 及びフザリン C について評価してい
るが、フザリン C は構造上、フモニシンとは別の化合物である。

1 《参考資料》

- 2
- 3 1 N. J. Dvorak, R. T. Riley, M. Harris and J. A. McGregor. Fumonisin mycotoxin contamination
4 of corn-based foods consumed by potentially pregnant women in southern California. J
5 Reprod Med. 2008; 53: 672-676 #314
- 6 2 S. H. Humphreys, C. Carrington and M. Bolger. A quantitative risk assessment for
7 fumonisins B1 and B2 in US corn. Food Addit Contam. 2001; 18: 211-220 #589
- 8 3 E. D. Caldas and A. C. Silva. Mycotoxins in corn-based food products consumed in Brazil:
9 an exposure assessment for fumonisins. J Agric Food Chem. 2007; 55: 7974-7980 #562
- 10 4 K. Bordin, R. E. Rosim, D. V. Neeff, G. E. Rottinghaus and C. A. Oliveira. Assessment of
11 dietary intake of fumonisin B(1) in Sao Paulo, Brazil. Food Chem. 2014; 155: 174-178 #310
- 12 5 L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, J. P. Rheeder, N. I. Somdyala and W. F. Marasas.
13 Sphingoid base levels in humans consuming fumonisin-contaminated maize in rural areas
14 of the former Transkei, South Africa: a cross-sectional study. Food Addit Contam Part A
15 Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2008; 25: 1385-1391 #281
- 16 6 G. S. Shephard, W. F. Marasas, H. M. Burger, N. I. Somdyala, J. P. Rheeder, L. Van der
17 Westhuizen, P. Gatyeni and D. J. Van Schalkwyk. Exposure assessment for fumonisins in
18 the former Transkei region of South Africa. Food Addit Contam. 2007; 24: 621-629 #335
- 19 7 L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, J. P. Rheeder and H. M. Burger. Individual
20 fumonisin exposure and sphingoid base levels in rural populations consuming maize in
21 South Africa. Food Chem Toxicol. 2010; 48: 1698-1703 #282
- 22 8 H. M. Burger, M. J. Lombard, G. S. Shephard, J. R. Rheeder, L. van der Westhuizen and W.
23 C. Gelderblom. Dietary fumonisin exposure in a rural population of South Africa. Food
24 Chem Toxicol. 2010; 48: 2103-2108 #572
- 25 9 L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, H. M. Burger, J. P. Rheeder, W. C. Gelderblom, C. P.
26 Wild and Y. Y. Gong. Fumonisin B1 as a urinary biomarker of exposure in a maize
27 intervention study among South African subsistence farmers. Cancer Epidemiol
28 Biomarkers Prev. 2011; 20: 483-9 #59
- 29 10 A. M. Domijan and A. Y. Abramov. Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and
30 deregulates calcium homeostasis--implication to mechanism of cell toxicity. Int J Biochem
31 Cell Biol. 2011; 43: 897-904
- 32 11 L. Suarez, M. Felkner, J. D. Brender, M. Canfield, H. Zhu and K. A. Hendricks. Neural tube
33 defects on the Texas-Mexico border: what we've learned in the 20 years since the Brownsville
34 cluster. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2012; 94: 882-892 #202
- 35 12 K. Hendricks. Fumonisin and neural tube defects in South Texas. Epidemiology. 1999; 10:
36 198-200 #210
- 37 13 C. f. D. C. a. Prevention. Neural tube defect surveillance and folic acid intervention--Texas-
38 Mexico Border, 1993-1998. MMWR Weekly. . 2000; 49: 1-4 #575

1 14 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy fourth
2 report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. . WHO
3 Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350

4 15 S. A. Missmer, L. Suarez, M. Felkner, E. Wang, A. H. Merrill, Jr., K. J. Rothman and K. A.
5 Hendricks. Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the
6 Texas-Mexico border. Environ Health Perspect. 2006; 114: 237-241 #201

7 16 Y. Y. Gong, L. Torres-Sanchez, L. Lopez-Carrillo, J. H. Peng, A. E. Sutcliffe, K. L. White, H.
8 U. Humpf, P. C. Turner and C. P. Wild. Association between tortilla consumption and human
9 urinary fumonisin B1 levels in a Mexican population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.
10 2008; 17: 688-94 #324

11 17 JECFA. Fumonisins. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001;
12 #465

13 18 FAO/WHO. Fumonisins. Safety evaluation of certain food additives and contaminants.
14 Series 65. 2012; WHO Food Additives: 325-794 #359

15 19 IARC. Fumonisin B1. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans.
16 2002; 82: #60

17 20 T. Yoshizawa, A. Yamashita and Y. Luo. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-
18 risk areas for human esophageal cancer in China. Appl Environ Microbiol. 1994; 60: 1626-9
19 #321

20 21 C. C. Abnet, C. B. Borkowf, Y. L. Qiao, P. S. Albert, E. Wang, A. H. Merrill, Jr., S. D. Mark,
21 Z. W. Dong, P. R. Taylor and S. M. Dawsey. Sphingolipids as biomarkers of fumonisin
22 exposure and risk of esophageal squamous cell carcinoma in china. Cancer Causes Control.
23 2001; 12: 821-8 #322

24 22 F. D. Groves, L. Zhang, Y. S. Chang, P. F. Ross, H. Casper, W. P. Norred, W. C. You and J. F.
25 Fraumeni, Jr. Fusarium mycotoxins in corn and corn products in a high-risk area for gastric
26 cancer in Shandong Province, China. J AOAC Int. 1999; 82: 657-62 #329

27 23 J. P. Rheeder, W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, G. S. Shephard and D. J. van
28 Schalkwyk. Fusarium moniliforme and fumonisins in corn in relation to human esophageal
29 cancer in Transkei. Phytopathology. 1992; 82: #331

30 24 JECFA. Fumonisins. JECFA 47. 2001; #367

31 25 M. E. Kimanya, B. De Meulenaer, D. Roberfroid, C. Lachat and P. Kolsteren. Fumonisin
32 exposure through maize in complementary foods is inversely associated with linear growth
33 of infants in Tanzania. Mol Nutr Food Res. 2010; 54: 1659-67 #325

34 26 K. Aoyama, M. Nakajima, S. Tabata, E. Ishikuro, T. Tanaka, H. Norizuki, Y. Itoh, K. Fujita,
35 S. Kai, T. Tsutsumi, M. Takahashi, H. Tanaka, S. Iizuka, M. Ogiso, M. Maeda, S. Yamaguchi,
36 K. Sugiyama, Y. Sugita-Konishi and S. Kumagai. Four-year surveillance for ochratoxin a
37 and fumonisins in retail foods in Japan. J Food Prot. 2010; 73: 344-352 #563

38 27 Y. Sugita-Konishi, Y. Kamata, T. Sato, T. Yoshinari and S. Saito. Exposure and risk

- assessment for ochratoxin A and fumonisins in Japan. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2013; 30: 1392-1401 #304
- 28 小西良子. 食品中のカビ毒の毒性および暴露評価に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金研究事業. 2010; #573
- 29 農林水産省. 飼料中のフモニシンの家畜等への移行調査委託事業（農林水産省）調査の結果. 平成 27 年度生産資材安全確保対策事業. 2015; （非公表）：#574
- 30 W. T. R. Series. Evaluation of certain mycotoxins in food, Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No 906. 2002; 16-26 #336
- 31 FAO/WHO. 56th JECFA Summary. <ftp://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFAC/ccfac33/56th%20JECFA%20Summary.pdf>. 2001; #352
- 32 H. U. Humpf and K. A. Voss. Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. Mol Nutr Food Res. 2004; 48: 255-269 #50
- 33 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred. Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit Contam. 1995; 12: 473-478 #162
- 34 G. C. Hard, P. C. Howard, R. M. Kovatch and T. J. Bucci. Rat kidney pathology induced by chronic exposure to fumonisin B1 includes rare variants of renal tubule tumor. Toxicol Pathol. 2001; 29: 379-86 #187
- 35 IPCS. Fumonisins. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety. 2001; TRS 906-JECFA 56/16: #465
- 36 P. C. Howard, L. H. Couch, R. E. Patton, R. M. Eppley, D. R. Doerge, M. I. Churchwell, M. M. Marques and C. V. Okerberg. Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day feeding study with female B6C3F(1) mice. Toxicol Appl Pharmacol. 2002; 185: 153-165 #77
- 37 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D. Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53 homozygous transgenic mice. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 3604-3613 #144
- 38 R. T. Riley and K. A. Voss. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. Toxicol Sci. 2006; 92: 335-345 #58
- 39 K. Voss, R. Riley, L. Jackson, J. Jablonski, A. Bianchini, L. Bullerman, M. Hanna and D. Ryu. Extrusion cooking with glucose supplementation of fumonisin contaminated corn grits protected against nephrotoxicity and disrupted sphingolipid metabolism in rats. Mol Nutr Food Res. 2011; 55: S312-S320 #85
- 40 National Toxicology Program. NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of fumonisin B1 (CAS No.116355-83-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed

studies). NTP Technical Report 496. 2001; #103

JECFA. JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES-Summary and
 Conclutions. JECFA/83/SC. 2016; 4-5 #501

SCF. Opinion of the Scientific Committee on Food on Fusarium toxins. Part 3: Fumonisin
 B1 (FB1). http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html. 2000; #339

SCF. Updated opinion of the scientific committee on food on fumonisin B1, B2 and B3. 2003;
 #342

EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from
 the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. The EFSA
 Journal. 2005; 235: 1-32 #356

EFSA. Scientific opinion on the safety and efficacy of fumonisin esterase (FUMzyme) as a
 technological feed additive for pigs. EFSA Journal. 2014; 12: 3667 #343

IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. 1993; 56: 445-
 466 #338

＜別添 1：ウマの白質脳軟化症（ELEM）及びブタの肺水腫（PPE）＞

飼料用トウモロコシのフモニシン汚染を原因とするウマの白質脳軟化症（Equine leukoencephalomalacia: ELEM）及びブタの肺水腫（Porcine pulmonary edema: PPE）が報告されている。以下にこれらの知見をまとめた。

1 ウマの白質脳軟化症（ELEM）

ウマでは、飼料中のフモニシン自然汚染トウモロコシを原因とした、致死性の ELEM が報告されている。ELEM は、アルゼンチン、ブラジル、中国、エジプト、メキシコ、南アフリカ、スペイン等、世界中で発生が報告されている（参照 1. D Morgavi, et al. (2007) #473）。初期症状として、無関心、食欲不振、衰弱、筋肉の震え等がみられ、症状が進むと死に至る。組織学的には、脳にマクロファージの浸潤を伴う巣状の細胞壊死、浮腫及び出血がみられる。また、フモニシンの毒性として、肝障害、腎障害も報告されている。（参照 2. WF Marasas (2001) #17, 3. RT Riley, et al. (1997) #295, 4. EHC (2000) #337, 5. KA Voss, et al. (2007) #67）。

（１）疫学的知見

1989 年の秋及び 1990 年の冬に ELEM の発生事例が米国各地で報告された。これら ELEM を発症したウマのほとんどに、1989 年に収穫されたトウモロコシが給与されていた。米国各地から収集された飼料中の FB1 濃度と ELEM 発生事例の関係を調べた結果、ELEM 発生地域の飼料中の FB1 濃度は $<1\sim126$ mg/kg 飼料であり、ELEM 発生事例に関係した飼料中 FB1 濃度はほとんどが 10 mg/kg 以上であった。ELEM が報告されていない地域のウマが摂取した飼料中 FB1 濃度は 9 mg/kg 飼料以下であった。FB1 が検出された飼料からは、FB2 も検出されており、FB2 の濃度は FB1 の 20%～40%であった（参照 6. M Segvic, et al. (2001) #474）。

（２）精製フモニシン又は培養物の経口投与試験

E. verticilloides に自然汚染されたトウモロコシをウマに給与すると血清中のスフィンガニン（Sa）及びスフィンゴシン（So）濃度並びに Sa/So 比が上昇し、複合スフィンゴ脂質濃度は減少した。これらの変化は可逆的であるが、肝障害を示す血清中総ビリルビン濃度、胆汁酸濃度、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）活性、 γ グルタミルトランスフェラーゼ（~~γ~~GTPGGT）活性、アルカリフォスファターゼ（ALP）活性等が上昇する前及びウマに神経症状がみられる前に、Sa 及び So 濃度並びに Sa/So 比が高値となったことが報告されている。（参照 7. E Wang, et al.

(1992) #300)

ウマ（一群 1 頭）に精製 FB1¹を 1.00～4.00 mg/kg 体重/日の用量で 30 日間に 20 回、FB1 の総量として 8,417 mg をカテーテルを介して胃内投与した。投与開始を 0 日目とすると、20～30 日目に血清中の γ -GTPGGT 活性が明らかに高値となった。投与開始 24 日目から神経症状がみられ、33 日目の剖検の結果、ELEM が認められた(参照 8. TS Kellerman, et al. (1990) #459)。

ELEM 発症の最小用量を調べる目的で、ウマ（雌雄、一群 4 頭）に自然汚染トウモロコシを用いて 15mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 130 日間給与し、更に 22 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を 196 日間に 159 回給与した。4 頭中の 1 頭が試験開始 225 日目に ELEM で死亡した。このウマは、FB1 の総量として 4,519 mg 摂取し、22 mg/kg 飼料の FB1 を含む飼料を給与されている期間には 0.18 mg/kg 体重/日の FB1 を摂取したと推計された。~~試験中に実施されたこの~~死亡したウマ 1 頭の生化学検査値は正常値を維持していたが ~~血液検査の結果~~、死亡する 9 日前まで正常範囲内であったがから、肝障害を示す血中総ビリルビン値、胆汁酸濃度、ALP 活性、 γ -GTPGGT 活性等が明らかに高値となっていた。また、自然汚染されたトウモロコシを用いて、ウマ（一群 5 頭）に 8 mg/kg 飼料の濃度で FB1 を 180 日間給与すると、ELEM による死亡はみられなかったが、全てのウマに一過性の軽度の神経症状がみられた。これらのウマの組織学的検査により、肝臓、腎臓及び脳に軽度の損傷がみられた(参照 7. E Wang, et al. (1992) #300, 9. TM Wilson, et al. (1992) #133)。

ウマ（一群 3 頭、対照群 2 頭（培養物を添加しない飼料を給与））に、主に FB2 を多く含む *F. proliferatum* 培養物又は主に FB3 を多く含む *F. proliferatum* 培養物を添加した。FB2 投与群として 75 mg/kg 飼料の FB2²を混餌投与し、FB3 投与群として 75 mg/kg 飼料の FB3³を混餌投与した。FB2 投与群の 1 頭は、給与開始 34 日目に肝障害を示す血液化学検査の値が高値となり、48 日目に神経症状がみられた。給与開始 136 日目の組織学検査により ELEM が認められた。別の 1 頭は、給与開始 48 日目に肝障害を示す血液化学検査の値が高値となり、148 日目に神経症状がみられた。給与開始 223 日目の組織化学検査の結果、軽度の肝障害と脳に軽度の巣状液化壊死部位が認められたが、ELEM の兆候は認められなかった。FB3 投与群では、投与開始 57 日目及び 65 日目に剖検が行われたが、FB3 投与による影響は認められなかった。FB2 投与群及び FB3 投与群の血清、肝臓及び腎臓中の Sa/So 比は、対照群に比べて上昇した。Sa/So

¹ *F. verticillioides* の培養抽出物。純度 95%～98%。

² FB1 は 3 mg/kg 飼料、FB3 は <1mg/kg 飼料。

³ FB1 及び FB2 は <1mg/kg 飼料。

比への影響は、FB2 投与群の方が大きかった(参照 3. RT Riley, et al. (1997) #295, 10. PF Ross, et al. (1994) #265)。

(3) 精製フモニシンの静脈内投与試験

ウマ (1 頭) に精製 FB1 を 0.125 mg/kg 体重/日の用量で 5 日間、その後 1 日おきに 2 回、計 7 回静脈内投与すると、投与開始日を 0 日目として 8~10 日目に AST 活性及び ~~γ~~GTPGGT 活性が上昇し、8 日目には神経症状がみられた。投与開始 10 日目の剖検の結果、ELEM が認められた(参照 11. WF Marasas, et al. (1988) #438)。

ウマ (一群 3~4 頭) に精製 FB1 を 0、0.01 又は 0.2 mg/kg 体重/日の用量で 7~28 日間静脈内投与した。0.2 mg/kg 体重/日の FB1 を 7~9 日間投与した 4 頭全てに ELEM の神経症状がみられた。心拍数、心拍出量及び右心室収縮性の低下と共に動脈脈圧の低下、全身末梢血管抵抗の低下がみられ、これらの低下は心血管疾患を示していた。0.01 mg/kg 体重/日の FB1 を 28 日間投与した 3 頭には ELEM の神経症状はみられなかった。血漿中及び右心室心筋の Sa 及び So 濃度並びに Sa/So 比は 0.01 mg/kg 体重/日の FB1 投与群から用量依存的に上昇した(参照 12. GW Smith, et al. (2002) #100)。

ウマ (一群 3 又は 4 頭) に 0、0.01、0.05、0.1 又は 0.2 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を静脈内投与すると、0.01 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群で血清中及び右心室の Sa 及び So 濃度の上昇がみられ、0.2 mg/kg 体重/日の投与群では、4~10 日間の FB1 投与で ELEM の神経症状が認められた。神経症状を示したウマでは、FB1 を投与しない対照群と比べて、脳脊髄液中のタンパク質、アルブミン及び IgG 濃度が高く、アルブミン比⁴が対照群と比べて有意に増加し、血液脳関門の透過性が亢進したことを示唆していた。0.01 mg/kg 体重/日の静脈内 FB1 投与群に ELEM を示す神経症状は認められなかった(参照 13. JH Foreman, et al. (2004) #240, 14. JECFA (2001) #465)。

2 ブタの肺水腫 (PPE)

ブタでは、フモニシンの毒性として、心機能不全、免疫抑制、脾臓毒性、肝障害及び致死性の PPE とともに、スフィンゴ脂質の代謝阻害、増体量の低下が報告されている。PPE は胸腔に多量の透明な胸水貯留を主症状とし、急性の呼吸困難、虚弱 (weakness)、チアノーゼ、流産、死亡等がみられる(参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 16. G Smith, et al. (1996) #269, 17. A Desjardins (2006) #51, 18. LR Harrison, et al. (1990) #170, 19. WM

⁴ 髄液アルブミン濃度/血中アルブミン濃度。

Haschek, et al. (2001) #414)。

(1) 疫学的知見

1988年から1989年に、主に *F. verticilloides* に汚染されたトウモロコシ飼料を原因として、米国各地でブタに PPE が発生した(参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 20. PF Ross, et al. (1991) #267)。PPE が発生した地域では ELEM の発生もみられ、これらの地域から収集した飼料サンプルの FB1 濃度は 20~330 mg/kg 飼料であった(参照 6. M Segvic, et al. (2001) #474, 21. PF Ross, et al. (1990) #266)。

1989年の秋から冬にかけてアイオワ州及びイリノイ州で発生した PPE のうち、16匹に給与されていた飼料中の FB1 濃度を調べた結果、ほとんどの飼料で FB1 濃度が 20 mg/kg 飼料以上であった。(参照 22. GD Osweiler, et al. (1992) #470)。1989年の秋及び1990年の冬に米国各地で発生した PPE の事例と飼料中の FB1 濃度の関係が調べられた。PPE と関連したとされる飼料 83 検体及び PPE と関連していないとされた飼料 51 検体が収集された。PPE と関連したとされる飼料の FB1 濃度は<1~330 mg/kg で、そのほとんどが、10 mg/kg 以上であった。PPE と関連していないとされた飼料の FB1 濃度は、8 mg/kg 以下であった(参照 20. PF Ross, et al. (1991) #267)。

(2) 培養物の経口投与試験

離乳ブタ(雄、一群2~5頭)に自然汚染トウモロコシを用いて総フモニシンを<1、5、23、39、101又は175 mg/kg 飼料の濃度で14日間混餌投与すると、23 mg/kg 飼料以上の投与群の肝臓に、肝細胞索の乱れ、単細胞壊死及び好酸性細胞質がみられた。101 mg/kg 飼料以上の投与群で血清中ビリルビン及びコレステロール濃度が高値となり、~~γ-GTP~~GGT活性、ALP活性、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性、AST活性及びアルギナーゼ活性が有意に高くなった。(参照 15. NP Kriek, et al. (1981) #131, 23. GK Motelin, et al. (1994) #132)。

ブタ(一群2頭)に *F. verticillioide*s 培養物を用いて 200 mg/kg の FB1 を添加した飼料(8 mg/kg 体重/日:事務局換算⁵⁾)を21日間投与し、投与開始14~17日目に血液検査が実施された。その結果、培養物を添加しない飼料を投与した対照群に比べて AST 活性が明らかに高くなり、血中

⁵ JECFA で用いている換算 (IPCS:EHC70) を用いて摂取量を推定。

種	体重 (kg)	飼料摂取量 (/動物/日)	摂取量 (mg/kg 体重/日)
ブタ	60	2400	0.040

の総ビリルビン及びコレステロール濃度も高値となった。著者らは、肝細胞壊死及び胆汁鬱滞が起きていると考察した。肺への影響は認められなかった。FB1 を混餌投与後、回復期間として培養物を含まない飼料を 10 日間投与すると、AST 活性及び総ビリルビン濃度は、正常範囲となった。同じ培養物をブタ（一群 1～3 頭）に、4、8、16、32 又は 64 mg/kg 体重/日の FB1 用量で 3～45 日間胃内投与すると、全ての用量で肝細胞壊死が認められ、16 mg/kg 体重/日以上 of FB1 投与群に PPE が認められた(参照 24. BM Colvin, et al. (1993) #484)。

予備試験として、*F. verticillioides* 培養物を飼料に混ぜて離乳~~子~~ブタに 4 週間給与すると 10 mg/kg 飼料以上の FB1 濃度で PPE がみられた。このため、低用量でのフモニシンの毒性をみるため、*F. verticillioides* 培養物を用いて 0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を 8 週間、去勢離乳ブタ（雄、一群 5 頭）に投与して肺への影響が調べられた。その結果、一般所見、体重及び体重増加量に FB1 投与依存的な変化はみられなかった。心臓、肝臓、肺、腎臓、脳、脾臓及び膵臓の病理学的検査の結果、1 mg/kg 飼料 FB1 投与群の 4 頭中 1 頭の肺では肺尖部及び後葉の小葉間中隔に軽度の肥厚がみられた。5 mg/kg 飼料 FB1 投与群の 5 頭中 2 頭及び 10 mg/kg FB1 飼料投与群の 4 頭中 3 頭の肺では、中隔の肥厚、肺に出血が認められ、FB1 投与量依存的に肺重量が有意に増加した。5 mg/kg 飼料 FB1 投与群で数頭の肝臓、10 mg/kg 飼料 FB1 以上の投与群で 1 頭の心臓及び腎臓、5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で 2 頭の食道に病変が認められた。全ての FB1 投与群で血清中の~~γ~~**GTPGGT**活性及び AST 活性が用量依存的に増加した(参照 25. M Zomborszky-Kovacs, et al. (2002) #164)。また、*F. verticillioides* 培養物を飼料に混ぜて 0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料の FB1 を 20 週間、離乳ブタ（雄、一群 5 頭）に投与する別の試験では、5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で肺重量が用量依存的に増加し、10 mg/kg 飼料の FB1 投与群に、投与 4 週目から PPE がみられた。1 mg/kg 飼料以上の FB1 を 2 週間以上投与すると、不可逆性の肺線維化が生じた。全ての用量で血清中の AST 活性、ALT 活性、~~γ~~**GTPGGT**活性及びクレアチニン濃度の用量依存的な上昇がみられた。Sa/So 比は 5 mg/kg 飼料以上の FB1 投与群で用量依存的に増加した(参照 26. KF Zomborszky-Kovacs M, Horn P, Vetesi F, Repa I, Tornyo G, Toth A (2002) #163)

離乳ブタ（雌及び去勢雄、一群それぞれ 2 頭、7 週齢、平均体重 15 kg）に、*F. moniliforme* 培養物を添加して FB1 及び FB2 を総量で約 10 mg/kg（FB1:8 mg/kg 飼料及び FB2:3 mg/kg 飼料）又は 30 mg/kg（FB1:26

mg/kg 飼料及び FB2:8 mg/kg 飼料) 含む飼料を 28 日間給与した。培養物を添加しない飼料を給与した対照と比較して、30 mg/kg フモニシン投与群に、飼料摂取量及び体重増加量の有意な減少、赤血球数、ヘマトクリット及び総タンパクの上昇、血清中 ALP、AST、ALT、総ビリルビン及びコレステロールの有意な上昇が認められた。30 mg/kg フモニシン投与群の 1 頭がフモニシン投与開始 23 日目に PPE で死亡した。肺水腫、肝臓の変性等の病理学的変化は、30 mg/kg 投与群でのみ認められた(参照 27. P Dilkin, et al. (2003) #147)。

去勢ブタ (雄、一群 5 頭) に、FB1 及び FB2 を含む培養物を添加した飼料を 7 日間給与した。総フモニシン (FB1 及び FB2) の濃度は、20 mg/kg 飼料以下であった。培養物を添加しない対照群と比べると、フモニシン投与群では、投与 8 日目に平均肺動脈圧の亢進並びに心拍数、心拍出量及び混合静脈血酸素分圧が有意に減少した。これらのブタは、心電図は正常で、肺に PPE であることを示す組織学的な変化はみられず、肺の湿重量及び乾燥重量の変化もみられなかった (参照 16. G Smith, et al. (1996) #269)。

去勢ブタ (雄、一群 7 頭) に、*F. moniliforme* 培養物を添加した飼料を 20 mg/kg 体重/日の FB1 用量で 3 日間給与した試験の結果、培養物を添加しない飼料を給与した対照群と比べると、FB1 投与群では心拍出量及び心拍数が低値となり、心収縮力も減少した。著者らは、これらの変化は左心室の機能不全によると考えた(参照 28. GW Smith, et al. (1999) #270)。

(3) 精製フモニシンの静脈内投与試験

離乳ブタ (雌、一群 1 頭) に 0.88 mg/kg 体重の FB1 を 9 日間又は 1.15 mg/kg 体重の FB1 を 4 日間静脈内投与すると、1.15 mg/kg 体重の FB1 を投与したブタでは、投与 1 日後から血清中 ALP 活性が高値となった。病理学的検査の結果、肝臓には巨大化した肝細胞が散在し、壊死した単細胞と増殖細胞がみられた。肺では、小葉間隔壁の肥厚及び胸膜下リンパ管の拡張がみられ、軽度な肺水腫が認められた。脾臓では、腺房で、細胞の萎縮、好酸性の細胞質及び核崩壊又は凝縮した核を有する腺房細胞が散在していた。0.88 mg/kg 体重の FB1 を投与したブタでは、肝臓と脾臓に 1.15 mg/kg 体重の FB1 を 4 日間投与したブタと同じような障害がみられたが、肺に影響は認められなかった。(参照 29. WM Haschek, et al. (1992) #542)

< 参照文献 >

- 1 D. Morgavi and R. Riley. An historical overview of field disease outbreaks
known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with
Fusarium toxins. *Animal Feed Science and Technology*. 2007; 137: 201-212 #473
- 2 W. F. Marasas. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical
perspective. *Environ Health Perspect*. 2001; 109 Suppl 2: 239-43 #17
- 3 R. T. Riley, J. L. Showker, D. L. Owens and P. F. Ross. Disruption of sphingolipid
metabolism and induction of equine leukoencephalomalacia by *Fusarium*
proliferatum culture material containing fumonisin B(2) or B(3). *Environ*
Toxicol Pharmacol. 1997; 3: 221-228 #295
- 4 EHC. Environmental Health Criteria 219: fumonisin B1, International
Programme on Chemical Safety (IPCS; UNEP, ILO and WHO). Eds.
W.H.O. Marasas, J.D. Miller, Riley, R.T. and A. Visconti. WHO, Geneva. 2000;
#337
- 5 K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek. Fumonisins: toxicokinetics,
mechanism of action and toxicity. *Anim. Feed Sci. Technol*. 2007; 137: 299-325
#67
- 6 M. Segvic and S. Pepeljnjak. Fumonisins and their effects on animal health - a
brief review. *Vet. arhiv*. 2001; 71: 299-323 #474
- 7 E. Wang, P. F. Ross, T. M. Wilson, R. T. Riley and A. H. Merrill, Jr. Increases in
serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in
ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium*
moniliforme. *J Nutr*. 1992; 122: 1706-1716 #300
- 8 T. S. Kellerman, W. F. Marasas, P. G. Thiel, W. C. Gelderblom, M. Cawood and
J. A. Coetzer. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of
fumonisin B1. *Onderstepoort J Vet Res*. 1990; 57: 269-275 #459
- 9 T. M. Wilson, P. F. Ross, D. L. Owens, L. G. Rice, S. A. Green, S. J. Jenkins and
H. A. Nelson. Experimental reproduction of ELEM. A study to determine the
minimum toxic dose in ponies. *Mycopathologia*. 1992; 117: 115-120 #133
- 10 P. F. Ross, P. E. Nelson, D. L. Owens, L. G. Rice, H. A. Nelson and T. M. Wilson.
Fumonisin B2 in cultured *Fusarium proliferatum*, M-6104, causes equine
leukoencephalomalacia. *J Vet Diagn Invest*. 1994; 6: 263-265 #265
- 11 W. F. Marasas, T. S. Kellerman, W. C. Gelderblom, J. A. Coetzer, P. G. Thiel and
J. J. van der Lugt. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1
isolated from *Fusarium moniliforme*. *Onderstepoort J Vet Res*. 1988; 55: 197-
203 #438
- 12 G. W. Smith, P. D. Constable, J. H. Foreman, R. M. Eppley, A. L. Waggoner, M.

- 1 E. Tumbleson and W. M. Haschek. Cardiovascular changes associated with
2 intravenous administration of fumonisin B1 in horses. Am J Vet Res. 2002; 63:
3 538-545 #100
- 4 13 J. H. Foreman, P. D. Constable, A. L. Waggoner, M. Levy, R. M. Eppley, G. W.
5 Smith, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek. Neurologic abnormalities and
6 cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously.
7 J Vet Intern Med. 2004; 18: 223-230 #240
- 8 14 JECFA. Fumonisin. <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm>. 2001; #465
- 9
10 15 N. P. Kriek, T. S. Kellerman and W. F. Marasas. A comparative study of the
11 toxicity of *Fusarium verticillioides* (= *F. moniliforme*) to horses, primates, pigs,
12 sheep and rats. Onderstepoort J Vet Res. 1981; 48: 129-131 #131
- 13 16 G. Smith, P. Constable, C. Bacon, F. Meredith and W. Haschek. Cardiovascular
14 effects of fumonisins in swine. Fundam Appl Toxicol. 1996; 31: 169-172 #269
- 15 17 A. Desjardins. Chapter 3. Fumonisin. In *Fusarium mycotoxins: chemistry,*
16 *genetics, and biology.* The American Phytopathological Society, U.S.A. 2006; #51
- 17 18 L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr.
18 Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic
19 metabolite of *Fusarium moniliforme*. J Vet Diagn Invest. 1990; 2: 217-221 #170
- 20 19 W. M. Haschek, L. A. Gumprecht, G. Smith, M. E. Tumbleson and P. D.
21 Constable. Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary
22 edema and current perspectives. Environ Health Perspect. 2001; 109 Suppl 2:
23 251-7 #414
- 24 20 P. F. Ross, L. G. Rice, R. D. Plattner, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, s. D. L. Owen,
25 H. A. Nelson and J. L. Richard. Concentrations of fumonisin B1 in feeds
26 associated with animal health problems. Mycopathologia. 1991; 114: 129-135
27 #267
- 28 21 P. F. Ross, P. E. Nelson, J. L. Richard, G. D. Osweiler, L. G. Rice, R. D. Plattner
29 and T. M. Wilson. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and
30 *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia
31 and a pulmonary edema syndrome in swine. Appl Environ Microbiol. 1990; 56:
32 3225-6 #266
- 33 22 G. D. Osweiler, P. F. Ross, T. M. Wilson, P. E. Nelson, S. T. Witte, T. L. Carson,
34 L. G. Rice and H. A. Nelson. Characterization of an epizootic of pulmonary
35 edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. J Vet Diagn
36 Invest. 1992; 4: 53-9 #470
- 37 23 G. K. Motelin, W. M. Haschek, D. K. Ness, W. F. Hall, K. S. Harlin, D. J.
38 Schaeffer and V. R. Beasley. Temporal and dose-response features in swine fed

- 1 corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins. Mycopathologia.
2 1994; 126: 27-40 #132
- 3 24 B. M. Colvin, A. J. Cooley and R. W. Beaver. Fumonisin toxicosis in swine:
4 clinical and pathologic findings. J Vet Diagn Invest. 1993; 5: 232-241 #484
- 5 25 M. Zomborszky-Kovacs, F. Vetesi, P. Horn, I. Repa and F. Kovacs. Effects of
6 prolonged exposure to low-dose fumonisin B1 in pigs. J Vet Med B Infect Dis
7 Vet Public Health. 2002; 49: 197-201 #164
- 8 26 K. F. Zomborszky-Kovacs M, Horn P, Vetesi F, Repa I, Tornyo G, Toth A
9 Investigations into the time- and dose-dependent effect of fumonisin B1 in
10 order to determine tolerable limit values in pigs. Livestock Production Science.
11 2002; 76: 251-256 #163
- 12 27 P. Dilkin, P. Zorzete, C. A. Mallmann, J. D. Gomes, C. E. Utiyama, L. L. Oetting
13 and B. Correa. Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B(1) and
14 fumonisin B(1)-containing Fusarium moniliforme culture material in weaned
15 piglets. Food Chem Toxicol. 2003; 41: 1345-1353 #147
- 16 28 G. W. Smith, P. D. Constable, M. E. Tumbleson, G. E. Rottinghaus and W. M.
17 Haschek. Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in
18 swine fed culture material containing fumonisin. Am J Vet Res. 1999; 60: 1292-
19 300 #270
- 20 29 W. M. Haschek, G. Motelin, D. K. Ness, K. S. Harlin, W. F. Hall, R. F. Vesonder,
21 R. E. Peterson and V. R. Beasley. Characterization of fumonisin toxicity in
22 orally and intravenously dosed swine. Mycopathologia. 1992; 117: 83-96 #542

＜別添 2:モディファイドフモニシンについて＞

~~フモニシンには、「フモニシン評価書」で評価対象とした FB1、FB2 及び FB3 の遊離型フモニシンの他に、植物、微生物等により代謝されたフモニシン又は加熱加工過程で構造が変化したフモニシン並びにデンプンやタンパク質に共有結合又はフモニシンの構造は変化せずに非共有結合したフモニシンがあることが、分析技術の進歩によって明らかになってきた。~~

EFSA では、食品及び飼料中に含まれる化学修飾されたマイコトキシンの評価を実施しており、代謝されたマイコトキシン及び 共有結合や非共有結合も含め構造変化が生じたマイコトキシンを全て「モディファイドマイコトキシン」としている。この中には、デンプンやタンパク質に非共有結合するマトリクス結合型のマイコトキシンも含まれる(参照 1 EFSA #344)。このような、化学的性状に基づく定義以外に、通常的分析手法では検出できない が、生体内で遊離型のマイコトキシンに変化して毒性を示す可能性のあるものを ~~として、~~「マスキドマイコトキシン」とする、分析技術上の観点に基づく定義 ¹もある。

~~フモニシンには、「フモニシン評価書」で評価対象とした FB1、FB2 及び FB3 の遊離型フモニシンの他に、植物、微生物等により代謝されたフモニシン又は加熱加工過程で構造が変化したフモニシン並びにデンプンやタンパク質に共有結合又はフモニシンの構造は変化せずに遊離型のまま非共有結合したフモニシンがあることが、分析技術の進歩によって明らかになってきており、これら遊離型以外のフモニシンは、モディファイドフモニシンと呼ばれている~~ た。

EFSA では、モディファイドフモニシンをばく露評価に取り入れているが、モディファイドマイコトキシンに関する知見は限られていることから評価対象には含めず、モディファイドフモニシンについての現在の知見について整理することとした。

以下に現在までに得られた知見を整理した。

~~本評価においては、EFSA の定義と同様に遊離型以外の全てのフモニシンを「モディファイドフモニシン」と記載することとした。~~

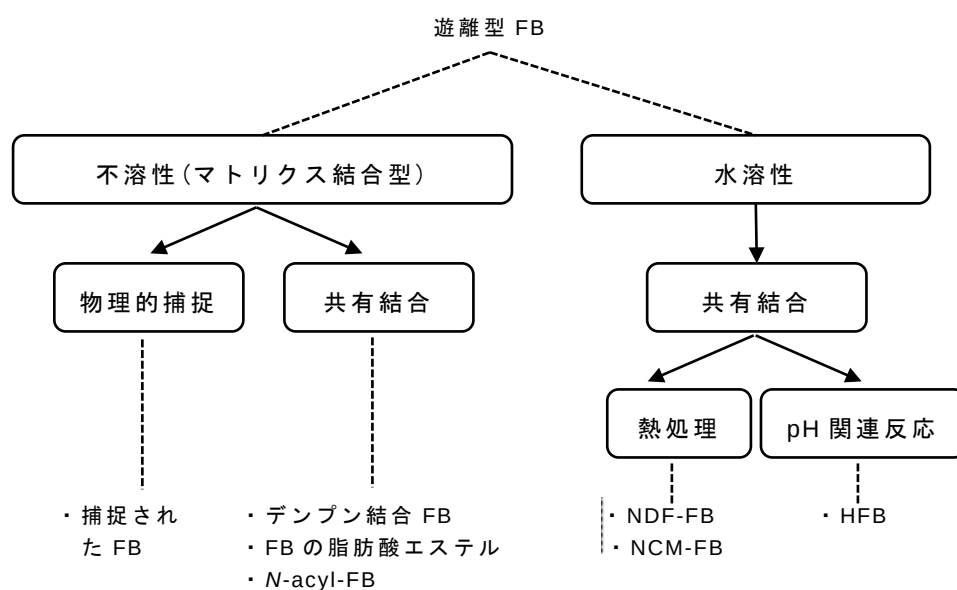
1 モディファイドフモニシンの生成

トウモロコシなどの植物から検出されるモディファイドフモニシンとしては、フモニシンの脂肪酸エステル、穀物のデンプンやタンパク質等のマトリクスに物理的に取り込まれたフモニシン 等がある(参照 2 Berthiller, Crews #27)。~~これらは、食品加工過程における加熱過程等によっても生じ~~

¹ マスキドマイコトキシンは、モディファイドマイコトキシンに包含される。

る。コーンフレーク及びコーンスナックからはタンパク質と共有結合した FB1 が検出されることが知られているが、これはタンパク質がフモニシンの側鎖であるトリカルボン酸に結合することにより生じる。また、デンプンも同様にフモニシンに共有結合することが知られている(参照 3 Park, Scott #26)。さらに、加熱加工により、フモニシンとブドウ糖又は果糖とのメイラード反応型の結合体である *N*-(carboxymethyl) fumonisin B1 (NCM-FB1)又は *N*-(1-deoxy-1-D-fructosyl) fumonisin B1 (NDF-FB1)が生じることも知られている(参照 4 Rychlik, Humpf #29, 5 Humpf and Voss #50)。

また、トルティーヤなどの製造過程におけるトウモロコシ粉のアルカリ処理や喫食後の腸内細菌叢による代謝で、FB1 の側鎖である 2 つのトリカルボン酸が 片方又は両方 解離した、部分加水分解フモニシン FB1 又は加水分解フモニシン B1 (H FB1) が報告されているが、それらの濃度は一般に FB1 より低い(参照 4 Rychlik, Humpf #29, 5 Humpf and Voss #50)。 主要なモディファイドフモニシンとその予測される生成過程について、概要を 図 1 に示した。



□: 予測される生成過程

FB: fumonisin B 類

HFB: hydrolyzed fumonisin B 類

NDF-FB: *N*-(1-deoxy-1-D-fructosyl)fumonisin B 類

NCM-FB: *N*-(carboxymethyl)fumonisin B 類

図 1 主要なモディファイドフモニシンとその予測される生成過程

2. 毒性に関する知見

穀物のデンプンやタンパク質等のマトリクスに物理的に取り込まれたフモニシンは、アルカリ処理や腸管内の酵素によりマトリクスが分解されると遊離フモニシンとして検出される。その他のモディファイドフモニシンの毒性に関する知見は限られているが、遊離フモニシン **FB1** と比較すると、それらの毒性は低いと考えられている。以下に加水分解物である HFB1 及び化学修飾を受けたフモニシン等の毒性に関する知見を整理した。

・加水分解フモニシン(HFB)

B6C3F1 雌性マウス（一群 8 匹）に 14、72 又は 143 $\mu\text{mol/kg}$ の FB1（10、52 又は 103 mg/kg 飼料に相当）を含む飼料及び 13、65 又は 131 $\mu\text{mol/kg}$ （5、26 又は 53 mg/kg 飼料に相当）の HFB1 を含む飼料をそれぞれ 28 日間給与する毒性試験が実施されている。FB1 投与群では、毒性が認められたが、HFB1 投与群では、血液化学検査、組織学検査に異常は認められず、肝臓セラミド濃度及び Sa/So 比に変化はみられなかったことから、経口投与後の HFB1 の毒性は FB1 より低いと著者らは結論している（参照 6 Howard, Couch #77）。雄性 Sprague-Dawley ラット（1 群 4 匹）に、FB1 又は HFB1 を混餌投与する試験の結果、HFB1 投与群の尿に HFB1 及び FB1 は検出されず、尿中 Sa/So 比の変化もみられなかったことから、HFB1 はほとんど吸収されないと考えられた（参照 7 Hahn, Nagl #283）。

妊娠マウス又は妊娠ラットに HFB1 をそれぞれ腹腔内投与又は経口投与用する生殖発生毒性試験が実施されている。いずれも、胎児に HFB1 の影響は認められなかった（参照 9 Collins, Sprando #284）。

子ブタ（一群 6 匹）に FB1 又は HFB1 を 2.8 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日の用量で 2 週間強制経口投与する毒性試験の結果、FB1 投与群には肝障害がみられたが、HFB1 投与群の肝臓に血液化学的及び組織学的変化は認められなかった（参照 10 Grenier, Bracarense #146）。

雄性 Fischer ラット（一群 5 匹）に、FB1、FB2、FB3、HFB1 又は HFB2 を 500 mg/kg 又は 1000 mg/kg の濃度で 21 日間混餌投与し、2-アセチルアミノフルオレン（2-AAF）を経口投与後に部分肝切除する 7 週間肝短期発がん試験が実施されている。FB1、FB2 又は FB3 の投与群の肝臓では GGT 陽性細胞巣の形成が認められたが、HFB1 及び HFB2 投与群では GGT 陽性細胞巣の形成はみられず、HFB1 及び HFB2 にプロモーション作用はないと考えられた（参照 11 Gelderblom, Cawood #169）。

ラット初代肝細胞培養に種々のフモニシンを添加し、乳酸脱水素酵

素 (LDH) の放出を指標に細胞毒性を調べた *in vitro* 試験の結果では、加水分解フモニシンに遊離フモニシンより強い細胞毒性が報告されている(参照 11 Gelderblom, Cawood #169)。一方、雄の Sprague-Dawley ラットの肝臓スライスを用いて、*F. verticillioides* 及び *F. proliferarum* 培養物から分離した FB1、FB2、FB3、*N*-アセチル化 FB1(FA1)、HFB1、HFB2 又は HFB3 のセラミド合成阻害作用を調べた結果、最も阻害作用が高かったのは FB1 であった。HFB1、HFB2 及び HFB3 のセラミド合成阻害作用は、FB1、FB2 及び FB3 のそれぞれ 30%~40% であった。FA1 にセラミド合成阻害作用はみられなかった(参照 12 Norred, Plattner #7)。

・ FB1-果糖結合物 (NDF-FB1)

雄性 F344 ラットに、精製 FB1、HFB1 又は FB1-果糖結合物を、0.69、6.93 又は 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ 体重の用量で強制経口投与して吸収を比較した結果、FB1-果糖結合物は高率に吸収されることが示された。(参照 13 Hopmans, Hauck #2)。

F344 ラットを用いた肝短期発がん試験 (ラットにジエチルニトロソアミン (DEN) を腹腔内投与後、FB1 又は果糖-FB1 をそれぞれ 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ の濃度で含む飼料を 4 週間混餌投与) の結果、果糖-FB1 投与群にプロモーション作用は認められなかった(参照 14 Lu, Dantzer #4)。

・ *N*-カルボキシメチル FB1 (NCM-FB1)

B6C3F1 雌性マウス (一群 8 匹) に *N*-カルボキシメチル FB1(NCM-FB1)を 14、70 又は 140 $\mu\text{mol/kg}$ 含む飼料 (11、15 又は 111 mg/kg 飼料に相当) を 28 日間混餌投与する毒性試験の結果、血液生化学検査、肝臓セラミド濃度、Sa/So 比、病理組織学的検査のいずれにおいても、NCM-FB1 投与群に異常は認められなかった(参照 6 Howard, Couch #77)。

雄性 Sprague-Dawley ラット (一群 4 匹) に 13.9 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料の NDF-FB1 を 3 週間混餌投与した結果、糞からわずかな FB1 が検出され、胃腸内で部分的に FB1 が遊離される可能性が示唆されたが、組織中の Sa/So 比に変化は認められず、毒性は FB1 より低いと著者らは考えた(参照 7 Hahn, Nagl #283)。

・ アセチル FB1 (FA1)

FB1 の *N*-アセチル化体である FA1 は、(1) で述べたように、雄の Sprague-Dawley ラットの肝臓スライスを用いた試験において、セラミド合成抑制作用を示さなかった(参照 12 Norred, Plattner #7)。また、ラットを用いた 7 週間肝短期発がん試験において、FA1 投与群にプロモーション作用は認められなかった(参照 11 Gelderblom, Cawood #169)。

FA1 は 1 年の冷蔵保存後に *O*-アセチル化された FB1 を生成することが示されている。この *O*-アセチル FB1 を含む FA1 は、ラット肝臓スライスをを用いた試験で Sa/So 比の上昇を示したことが報告されている(参照 15 Norred, Riley #3)。

・ アシル FB1

近年、分析法の発達により、*N*-Linoleyl、*N*-Oleyl、*N*-Palmitoyl 及び *N*-Stearyl FB1 及び HFB1 などのアシル化されたフモニシンが市販のトルティーヤチップで検出されたことが報告されている(参照 16 Park, Scott #31)。

雄性 F344 ラット (一群 2 匹) に FB1 又は HFB1 を 5 日間、腹腔内投与すると、肝臓及び腎臓に、FB1 濃度が最大 10 nmol/g、*N*-アシル FB1 が最大 0.4 nmol/g 及び HFB1 濃度が最大 1.7 nmol/g、*N*-アシル HFB1 が最大 2.7 nmol/g の濃度で検出された(参照 17 Harrer, Humpf #11)。

FB1、HFB1 又は種々の長さの側鎖を有する脂肪酸が結合したアシル FB1 を *in vitro* で培養細胞にばく露させ、LDH 放出を指標として細胞毒性が調べられている。20 μ M の FB1 は細胞毒性を示さなかったが、それぞれ 20 μ M の C16:0、C18:0 及び C24:1 アシル FB1 はいずれの細胞に対しても同程度の細胞毒性を示した(参照 18 Harrer, Laviad #104)。

~~-(1) HFB の毒性知見~~

~~B6C3F1 雌性マウス (一群 8 匹) に 14、72 又は 143 μ mol/kg の FB1 (10、52 又は 103 mg/kg 試料に相当) を含む飼料及び 13、65 又は 131 μ mol/kg (5、26 又は 53 mg/kg 試料に相当) の HFB1 を含む飼料をそれぞれ 28 日間給与する毒性試験が実施された。FB1 投与群では、72 μ mol/kg 飼料以上の投与群に血液化学的及び組織学的に肝臓毒性が認められ、全ての FB1 投与群で肝臓中セラミドの有意な減少及び Sa/So 比の有意な増加が認められた。一方、HFB1 投与群では、血液化学検査、組織学検査に異常は認められず、肝臓セラミド濃度及び Sa/So 比に変化はみられなかった(参照 6. PC Howard et al. (2002) #77)。~~

~~マウス又はラットを用いた生殖発生毒性試験が実施されている。妊娠 LM/Be マウス (一群 10 匹) に、HFB1 を 2.5、5、10、20 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7 及び 8 日目に腹腔内投与した結果、胎児に異常は認められなかった。(参照 7. KA Voss et al. (2009) #84)。妊娠ラット (系統不明、一群 30~31 匹) に、HFB1 を 0、15、30、60、120 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 3~16 日に強制経口投与する発生毒性試験が実施された。母ラットでは、60 及び 120 mg/kg 体重投与群に有意な飼料摂取量減少及び 30、60 及び 120 mg/kg 体重投与群で投与 20 日目に体重増加量の有意な低下がみら~~

れた。胎児に HFB1 の影響は認められなかった。母動物及び胎児組織に Sa/So 比の変化もみられなかった(参照 8. TF Collins et al. (2006) #284)。

子ブタに FB1 又は HFB1 (一群 6 匹) を 2.8 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日の用量で 2 週間強制経口投与する毒性試験が実施された。FB1 投与群には肝障害がみられたが、HFB1 投与群の肝臓に血液化学的及び組織学的変化は認められなかった。(参照 9. B Grenier et al. (2012) #146)。

雄性 Sprague-Dawley ラット (一群 4 匹) に、FB1 又は HFB1 をそれぞれ 13.9 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料の濃度で混餌投与し、投与 0、7、14 及び 21 日目に糞尿を採取した。FB1 投与群の尿に FB1 が検出されたが、HFB1 投与群の尿に HFB1 及び FB1 は検出されず、尿中 Sa/So 比の変化もみられなかったことより、HFB1 はほとんど吸収されないと考えられた。(参照 10. I Hahn et al. (2015) #283)。

雄性 Fischer ラット (一群 5 匹) に、HFB1 又は HFB2 を 500 mg/kg 又は 1000 mg/kg の濃度で 21 日間混餌投与し、2-アセチルアミノフルオレン (2-AAF) を経口投与後部分肝切除する 7 週間肝短期発がん試験が実施されている。FB1、FB2 又は FB3 の投与群の肝臓では GGT 陽性細胞巣の形成が認められたが、HFB1 及び HFB2 投与群では GGT 陽性細胞巣の形成はみられなかった(参照 11. WC Gelderblom et al. (1993) #169)。

ラット初代肝細胞培養に種々のフモニシンを添加し、乳酸脱水素酵素 (LDH) の放出を指標に細胞毒性を調べた *in vitro* 試験の結果では、加水分解フモニシンに親化合物より強い細胞毒性が報告されている(参照 11. WC Gelderblom, et al. (1993) #169)。

雄の Spague-Dawley ラットの肝臓スライスを用いて、*F. verticillioides* 及び *F. proliferarum* 培養物から分離した FB1、FB2、FB3、N-アセチル化 FB1 (FA1)、HFB1、HFB2 又は HFB3 のセラミド合成阻害作用を調べた結果、最も阻害作用が高かったのは FB1 であった。HFB1、HFB2 及び HFB3 のセラミド合成阻害作用は、FB1、FB2 及び FB3 のそれぞれ 30～40% であった。FA1 にセラミド合成阻害作用はみられなかった(参照 12. WP Norred et al. (1997) #7)。

-(2) 化学修飾を受けたフモニシンの毒性知見

雄性 F344 ラット (一群 6 匹) に、精製 FB1、HFB1 又は FB1-果糖結合物を、0.69、6.93 又は 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ 体重の用量で強制経口投与し、投与 96 時間後まで尿及び糞を採取した。尿の分析の結果、FB1-果糖結合物は最も高率に吸収されることが示された。 ^{14}C -FB1、 ^{14}C -HFB1 及び ^{14}C -FB1-果糖結合物を 0.69 $\mu\text{mol/kg}$ 体重の用量で雌雄 F344 ラット (一群 3 匹)

に強制経口投与すると、尿中への排泄は HFB1>FB1-果糖結合物>FB1 の順に多かった(参照 13. EC Hopmans et al. (1997) #2)。

F344 ラット (一群 6~7 匹) を用いた肝短期発がん試験として、ラットにジエチルニトロソアミン (DEN) を腹腔内投与後、FB1 又は果糖-FB1 をそれぞれ 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ の濃度で含む飼料を 4 週間混餌投与した結果、果糖-FB1 投与群では、血液生化学検査で異常は認められず、肝臓の GSTP 及び GGT 陽性肝細胞巢の増加はみられなかった(参照 14. Z Lu et al. (1997) #4)。

B6C3F1 雌性マウス (一群 8 匹) に *N*-カルボキシメチル FB1 (NCM-FB1) を 14、70 又は 140 $\mu\text{mol/kg}$ 含む飼料 (11、15 又は 111 mg/kg 飼料に相当) を 28 日間混餌投与する毒性試験が実施された。血液生化学検査、肝臓セラミド濃度、Sa/So 比、病理組織学的検査のいずれにおいても、NCM-FB1 投与群に異常は認められなかった(参照 6. PC Howard, et al. (2002) #77)。雄性 Sprague-Dawley ラット (一群 4 匹) に 13.9 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料の NDF-FB1 を混餌投与し、0、7、14 及び 21 日に糞尿を採取した。糞中に FB1 及び NDF-FB1 が認められ、尿では NDF-FB1 のみが検出された。組織中の Sa/So 比に変化は認められなかった(参照 10. I Hahn, et al. (2015) #283)。

FB1 のアセチル化体である FA1 は、(1) で述べたように、雄の Spague-Dawley ラットの肝臓スライスを用いた試験において、セラミド合成抑制作用を示さなかった(参照 12. WP Norred, et al. (1997) #7)。また、ラットを用いた 7 週間肝短期発がん試験において、FA1 投与群の肝臓に GGT 陽性細胞巢の形成はみられなかった(参照 11. WC Gelderblom, et al. (1993) #169)。FA1 は 1 年の冷蔵保存後に *O*-アセチル化 FB1 を生成することが示されている。この *O*-アセチル化 FB1 を含む FA1 は、ラット肝臓スライスを用いた試験で Sa/So 比の上昇を示したことが報告されている(参照 15. WP Norred et al. (2001) #3)。

近年、分析法の発達により、*N*-Linoleyl、*N*-Oleyl、*N*-Palmitoyl 及び *N*-Stearyl FB1 及び HFB1 などのアシル化フモニシンが市販のトルティエヤチップで検出されたことが報告されている(参照 16. JW Park et al. (2013) #31)。雄性 F344 ラット (一群 2 匹) に 0、0.5、1.0 及び 2.0 mg/kg 体重/日 (0.69、1.38 及び 2.77 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日に相当) の用量で FB1 を、1.0 mg/kg 体重/日の用量 (2.47 $\mu\text{mol/kg}$ 体重/日に相当) で HFB1 を 5 日間腹腔内投与した。最終投与日の翌日に、肝臓及び腎臓中のフモニシン化合物を分析した結果、肝臓及び腎臓に *N*-アシル化 FB1 が最大 0.4 nmol/g

又は *N*-アシル化 HFB1 が最大 2.7 nmol/g の濃度で検出された。FB1 及び HFB1 濃度はそれぞれ最大 10 及び 1.7 nmol/g であった(参照 17. H Harrer et al. (2015) #11)。FB1 及び HFB1 は、細胞内でセラミド合成酵素によりアシル化されることが報告されている。FB1、HFB1 又は種々の長さの側鎖を有する脂肪酸結合 FB1 をヒト肝細胞癌由来細胞株 Hep3B 細胞、ヒト胎児腎細胞由来細胞株 HEK 細胞又はヒト線維芽細胞に暴露させ、LDH 放出を指標として細胞毒性が調べられた。20 μ M の FB1 は細胞毒性を示さなかったが、それぞれ 20 μ M の C16:0、C18:0 及び C24:1 アシル化 FB1 はいずれの細胞に対しても同程度の細胞毒性を示した。著者らは、アシル化 FB1 の *in vivo* における影響を調べる必要があると考察している(参照 18. H Harrer et al. (2013) #104)。

3—諸外国における評価

モディファイドフモニシンについては、EFSA の 2014 年の意見書に記載されている(参照 1 EFSA #344)。トウモロコシ等から検出されたモディファイドフモニシンのデータによると、親化合物の 60% のモディファイドフモニシンの混入があるとされている。したがって、フモニシンの汚染実態調査で得られた値を 1.6 倍したものが、フモニシンとモディファイドフモニシンの合計ばく露量と推定されるが、ヨーロッパ諸国におけるフモニシンの長期にわたる食事を介したばく露量を考慮した場合、フモニシンのグループ TDI である 2 μ g/kg 体重/日と比較すると、1~10 歳の小児のばく露量が TDI を超えるの見積もられている。

1 < 参照 >

- 2 1. EFSA, Scientific opinion on the risks for human and animal health related to
3 the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. . EFSA
4 Journal, 2014. **12**(12): p. 3916 #344.
- 5 2. Berthiller, F, Crews, C, Dall'Asta, C, Saeger, SD, Haesaert, G, Karlovsky, P, et
6 al., Masked mycotoxins: a review. Mol Nutr Food Res, 2013. **57**(1): p. 165-186
7 #27.
- 8 3. Park, JW, Scott, PM, Lau, BP and Lewis, DA, Analysis of heat-processed corn
9 foods for fumonisins and bound fumonisins. Food Addit Contam, 2004. **21**(12):
10 p. 1168-1178 #26.
- 11 4. Rychlik, M, Humpf, HU, Marko, D, Danicke, S, Mally, A, Berthiller, F, et al.,
12 Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of
13 mycotoxins including "masked" mycotoxins. Mycotoxin Res, 2014. **30**(4): p. 197-
14 205 #29.
- 15 5. Humpf, HU and Voss, KA, Effects of thermal food processing on the chemical
16 structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. Mol Nutr Food Res, 2004. **48**(4):
17 p. 255-269 #50.
- 18 6. Howard, PC, Couch, LH, Patton, RE, Eppley, RM, Doerge, DR, Churchwell, MI,
19 et al., Comparison of the toxicity of several fumonisin derivatives in a 28-day
20 feeding study with female B6C3F(1) mice. Toxicol Appl Pharmacol, 2002.
21 **185**(3): p. 153-165 #77.
- 22 7. Hahn, I, Nagl, V, Schwartz-Zimmermann, HE, Varga, E, Schwarz, C, Slavik, V,
23 et al., Effects of orally administered fumonisin B(1) (FB(1)), partially
24 hydrolysed FB(1), hydrolysed FB(1) and N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) FB(1) on the
25 sphingolipid metabolism in rats. Food Chem Toxicol, 2015. **76**: p. 11-18 #283.
- 26 8. Voss, KA, Riley, RT, Snook, ME and Waes, JG, Reproductive and sphingolipid
27 metabolic effects of fumonisin B(1) and its alkaline hydrolysis product in LM/Bc
28 mice: hydrolyzed fumonisin B(1) did not cause neural tube defects. Toxicol Sci,
29 2009. **112**(2): p. 459-467 #84.
- 30 9. Collins, TF, Sprando, RL, Black, TN, Olejnik, N, Eppley, RM, Shackelford, ME,
31 et al., Effects of aminopentol on in utero development in rats. Food Chem
32 Toxicol, 2006. **44**(2): p. 161-169 #284.
- 33 10. Grenier, B, Bracarense, AP, Schwartz, HE, Trumel, C, Cossalter, AM,
34 Schatzmayr, G, et al., The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed
35 fumonisin B(1) correlates with its inability to alter the metabolism of
36 sphingolipids. Biochem Pharmacol, 2012. **83**(10): p. 1465-1473 #146.
- 37 11. Gelderblom, WC, Cawood, ME, Snyman, SD, Vleggaar, R and Marasas, WF,
38 Structure-activity relationships of fumonisins in short-term carcinogenesis and

- cytotoxicity assays. Food Chem Toxicol, 1993. **31**(6): p. 407-414 #169.
12. Norred, WP, Plattner, RD, Dombrink-Kurtzman, MA, Meredith, FI and Riley, RT, Mycotoxin-induced elevation of free sphingoid bases in precision-cut rat liver slices: specificity of the response and structure-activity relationships. Toxicol Appl Pharmacol, 1997. **147**(1): p. 63-70 #7.
13. Hopmans, EC, Hauck, CC, Hendrich, S and Murphy, PA, Excretion of fumonisin B1, hydrolyzed fumonisin B1, and the fumonisin B1-fructose adduct in rats. J Agric Food Chem, 1997. **46**(7): p. 2618-2625 #2.
14. Lu, Z, Dantzer, WR, Hopmans, EC, Prisk, V, Cunnick, JE, Murphy, PA, et al., Reaction with fructose detoxifies fumonisin B1 while stimulating liver-associated natural killer cell activity in rats. J Agric Food Chem, 1997. **45**(3): p. 803-809 #4.
15. Norred, WP, Riley, RT, Meredith, FI, Poling, SM and Plattner, RD, Instability of N-acetylated fumonisin B1 (FA1) and the impact on inhibition of ceramide synthase in rat liver slices. Food Chem Toxicol, 2001. **39**(11): p. 1071-8 #3.
16. Park, JW, Scott, PM and Lau, BPY, Analysis of N-fatty acyl fumonisins in alkali-processed corn foods. Fd Sci Biotech, 2013. **22**(Supplement 1): p. 147-152 #31.
17. Harrer, H, Humpf, HU and Voss, KA, In vivo formation of N-acyl-fumonisin B1. Mycotoxin Res, 2015. **31**(1): p. 33-40 #11.
18. Harrer, H, Laviad, EL, Humpf, HU and Futerman, AH, Identification of N-acyl-fumonisin B1 as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins. Mol Nutr Food Res, 2013. **57**(3): p. 516-522 #104.

＜別添 3：BMDL₁₀の試算＞

1 経緯

~~近年、JECFA では、アクリルアミド（2010 年）や、デオキシニバレノール（2011 年）を評価する際にベンチマークドーズ（Benchmark Dose）法（BMD 法）が用いられた他、フモニシンの再評価（2011、2016 年）においても BMD 法による毒性評価が行われている。~~

現在までに、食品安全委員会において、ベンチマークドーズ（Benchmark Dose: BMD）法¹による検討が行われた事例には、メチル水銀²（2004 年）、グリシドール³（2015 年）、アクリルアミド⁴（2016 年）等~~限られている~~がある。かび毒の毒性評価では、オクラトキシン A（2014 年）の実験動物における発がん影響について BMDL₁₀の試算を行ったが、最終的に、発がん性については無毒性量（NOAEL）を基に算出し、BMD 法による試算結果は用いなかった。

かび毒については、JECFA では、アクリルアミド（2010 年）や、デオキシニバレノール（2011 年）⁵を評価する際に BMD 法が用いられた他、フモニシンの再評価（2011、2016 年）においても BMD 法による毒性評価が行われている。

今般のフモニシンの評価においても、これらを踏まえてフモニシンの毒性について BMDL₁₀を用いて試算することとした。

2 試算結果

¹ BMDL（Benchmark Dose Lower Confidence Limit）を算出する方法。動物実験から得られる用量-反応レベルのグラフにおいて、有意な影響があるとされる反応レベル（Benchmark Response: BMR、発生毒性で 5%、一般毒性で 10%）をもたらし用量を BMD という。この 95%信頼区間の下限值が BMDL である。BMR を 10%とした場合の BMDL は BMDL₁₀ と表される。BMDL は NOAEL に相当するとされる。

² 魚介類等に含まれるメチル水銀に係るリスク評価（2004 年）では、フェロー諸島の疫学データを基にした BMDL（米国立科学アカデミー調査委員会）とセイシェル共和国の疫学データ~~コホート調査~~の NOAEL を考慮して、~~週間~~耐用週間摂取量（TWI）を設定した。

³ 高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性に係るリスク評価（2015 年）では、発がん性の病変の用量反応関係に BMD 法を適用し、BMDL₁₀を算出し、この値より TDI を設定した。

⁴ 加熱時に生じるアクリルアミドに係るリスク評価（2016 年）では、発がん性及び非発がん性の病変の用量反応関係に BMD 法を適用し、BMDL₁₀を基準点として発がん影響及び非発がん影響のばく露マージンを算出した。

⁵ JECFA は、デオキシレバニノールの ARfD（Acute Reference Dose: 急性参照用量）を求めるにあたり、ブタにおける嘔吐への影響についてベンチマークドーズ法を用いて BMDL₁₀を推計し、この値よりデオキシニバレノール及びそのアセチル体のグループ ARfD を設定した。

（１）試算の対象

EFSA の BMD ガイダンス（2009 年）では、NOAEL を同定することが難しいとき、遺伝毒性や発がん性を有する物質などでばく露マージン（MOE）のための基準値を提供したいとき等に、BMD 法が活用できるとされている。一方、毒性学的意義のある所見について用量反応相関が認められない場合には、BMD 法が適用できないことに留意する必要がある。

このことを踏まえると、フモニシンのマウスを用いた 26 週間亜急性毒性試験（参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144）は、NOAEL が得られなかったこと、毒性所見のうち、肝細胞の傷害及び再生の過程で認められた巨大肝細胞の増加について毒性学的意義⁶及び用量相関性が認められたこと、本所見について JECFA（2011、2016 年）でも BMDL₁₀ が試算されていることから、今回、BMD 法を活用可能な事例として、本試験を用いて BMDL₁₀ を試算することとした。その際、JECFA（2011 年）（参照 2. JECFA (2011) #350）と同様に、*p53*^{+/+}マウス及びその野生型である *p53*^{+/+}マウス（C57BL/6）の該当病変の発生頻度を合算して試算した。

なお、NOAEL が最少であった F344 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験（参照 3. KA Voss, et al. (1995) #162）の腎毒性の所見についても BMDL₁₀ の算出の検討を行った。しかし、発生頻度が 0%と 100%を示す以外の用量は一用量（LOAEL）しかなく、その発生頻度は 90%であり、BMD 法で用量反応相関モデルを適切に算定できる用量反応を示す所見ではなかった。適切な用量反応を推定するためには、0%と 100%以外の発生頻度を示す用量が 2 用量以上必要であるため、この所見については BMD 法を適用できなかった。

（２）設定した条件

ア：使用したソフト ウェア

EPA BMDS Ver.2.6.0.1 及び proast 38.9

イ：BMR

10%

ウ：Restriction⁷

ON と OFF の両方で試算

エ：適合モデルの選択（棄却条件）

⁶ 巨大肝細胞の増加に加え、肝細胞のアポトーシスについても毒性学的意義があると考えられたが、対照群を含む全群に同様の所見が認められ、発生頻度に用量相関性が認められなかったことから、BMDL₁₀ の試算の対象とはしなかった。

⁷ EPA BMDS では、実測データをモデルにフィッティングさせる段階で、パラメータに制限（Restriction）を設けるオプションを選択することが可能。生物学的に説明できない用量反応曲線にならないように、Restriction on と Restriction off の両方でフィッティングすることを推奨。

- ・ P 値 ⁸が 0.1 以下
 - ・ BMD/BMDL 比が 10 以上（NOAEL から外れている）
- オ：BMDL₁₀ の選択方法
- 以下（a）～（d）の 4 種類の考え方で BMDL₁₀ を検討
- （a）アクリルアミドの毒性評価において採用した選択方法（2016 年）
- ・ 最も低い BMD が得られたモデルを選択した。
- （b）JECFA（2011 年）
- ・ Restriction が選択できるモデルは、ON のみ検討の対象とした。
 - ・ 最も低い BMDL₁₀を示すモデルを選択した。
- （c）EPA テクニカルガイダンス（2012 年）
- ・ モデル依存性がある（BMDL の幅が広い）場合は、最も低い BMDL 値を選択した。
 - ・ モデル依存性がない（BMDL の幅が狭い）場合は、最も低い AIC ⁹を示す統計モデルを選択した。
- （d）EFSA ガイダンス（2017 年）
- ・ 最も低い AIC を示す統計モデルを選び、その AIC+2 までの範囲に入る統計モデルの中から、最も低い BMDL₁₀を示すモデルを選択した。

（３）結果

	選択したモデル	BMD ₁₀	BMDL ₁₀
（a）	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
（b） JECFA 法	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
（c） EPA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430

⁸ EPA BMDS では、統計モデルに基づく用量反応曲線と実測データとの適合度をカイ二乗検定により評価している。p 値が小さい統計モデルは、実測データから有意に乖離していると考えられ、EPA BMDS では、 $p>0.1$ となる（乖離しているとは言えない）モデルについて、フィッティングが適合していると判断している。

⁹ 赤池情報量基準（Akaike Information Criterion: AIC）。異なる統計モデルの良さを比較するための指標であり、モデルの複雑さと、測定データとの適合度とのバランスを表している。 $-2 \log(L) + 2p$ （モデルの対数尤度とモデルのパラメータ数）で求められる。AIC が小さいモデルほど、バランスがよい統計モデルであるとされる。

(d) EFSA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430
---------------	---------------------------	----------	--------

1

3. 課題

今回、マウスの 26 週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144)を対象に試算したところ、 $BMDL_{10}$ の選択方法(2.(2).オ(a)～(d)参照)の考え方の違いにより、2通りの $BMDL_{10}$ が得られた。このように、BMD法は、モデルの選択方法及び専門家の判断により、異なる $BMDL_{10}$ が選択される場合がある。

このことを解消するため、EFSAは「モデルの平均化」を重視すべきとするガイダンスを2017年に公表した。モデルの平均化とは、複数の統計モデルをそれぞれの適合度から加重平均する方法で、単一のBMD及び $BMDL_{10}$ が得られる。JECFA(2016年)においても、適切なモデルを選択する従来の方法のほか、モデルの平均化についても検討するよう議論が進められており、統計学的に最も適切な選択方法について海外の専門家の間で検討がなされている状況である。

さらに、今回試算を行ったマウスの26週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144)の巨大肝細胞の増加については、その発生頻度に用量反応性が認められ、 $BMDL_{10}$ の算出が可能であったが、本試験の肝細胞のアポトーシスのように病変の程度にのみ用量反応相関がある病理所見に対してはBMD法を適用できなかった。

このように、BMD法を適用する際は、統計学的妥当性と生物学的妥当性の両面を勘案する必要があり、最終的なモデルの採用は専門家判断に依存している。このことについては、海外の評価機関の間でも具体的に統一化された考え方は示されていない。

以上の状況を鑑み、食品安全委員会では、今後、海外機関での議論を注視しつつ、評価技術企画ワーキンググループにおいて、定量的なリスク評価におけるBMD法の利点を生かすための適切な活用に向けた議論を開始する予定である。

1 < 参照文献 >

- 2
- 3 1 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D.
4 Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long
5 term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53
6 homozygous transgenic mice. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 3604-3613 #144
- 7 2 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.
8 Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee
9 on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350
- 10 3 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred.
11 Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit
12 Contam. 1995; 12: 473-478 #162
- 13