



府食第643号
平成29年9月26日

厚生労働大臣
加藤 勝信 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

食品安全委員会では、食品安全基本法（平成15年法律第48号）（以下「法」という。）第23条第1項第2号の規定に基づき関係大臣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こととしています。

フモニシンに係る食品健康影響評価は、第554回食品安全委員会（平成27年3月24日開催）にて、自らの判断で行うことを決定し、評価を進めてきたところです。今般、評価結果について、別添のとおり取りまとめましたので、法第23条第2項に基づき通知します。

なお、かび毒の汚染は、作物が収穫された年の気候等に影響され、年による変動が大きいたことが推測されます。したがって、厚生労働省において、フモニシン汚染状況のモニタリングを行うとともに、その結果を踏まえて規格基準について検討をお願いいたします。

また、モディファイドフモニシンについては、知見が限られていることから、新しい知見の収集をお願いいたします。



かび毒評価書

フモニシン

2017年9月

食品安全委員会

目次

○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿	4
○ 専門参考人名簿	4
○ 要約	6
I. 背景	7
1. 経緯	7
2. 現行規制等	7
(1) 国内規制	7
(2) 諸外国等の規制又はガイドライン値	8
II. 評価対象	10
III. 評価対象物質の概要	12
1. 名称、分子式、分子量、構造式	12
(1) フモニシン B1 (FB1)、CAS(No. 116355-83-0)	12
(2) フモニシン B2 (FB2)、CAS(No. 116355-84-1)	12
(3) フモニシン B3 (FB3)、CAS(No. 136379-59-4)	13
2. 物理化学的特性	14
3. 産生生物	14
IV. 安全性に係る知見の概要	16
1. 実験動物等における体内動態	16
(1) 吸収、分布、代謝及び排泄	16
(2) フモニシンの生化学的パラメータへの影響	20
(3) 実験動物における体内動態のまとめ	21
2. 実験動物等における毒性	22
(1) 急性毒性	22
(2) 亜急性毒性	22
(3) 慢性毒性・発がん性	35
(4) 生殖発生毒性	39
(5) 遺伝毒性	45
(6) 神経毒性及び免疫毒性	52
(7) 毒性発現の機序	56
(8) 毒性試験のまとめ	60

3. ヒトにおける知見	68
(1) 各国におけるばく露状況	68
(2) 疫学研究	65
(3) ヒトにおける知見のまとめ	69
4. ばく露状況	70
(1) 日本における汚染実態	70
(2) 日本におけるばく露量の推定	77
(3) 加工・調理による影響	78
5. 諸外国における評価	80
(1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)	80
(2) 欧州食品安全機関 (EFSA)	80
(3) 国際がん研究機関 (IARC)	81
V. 食品健康影響評価	83
・ 別紙：略称	86
・ 参照	90
・ 別添 1：ウマの白質脳軟化症 (ELEM) 及びブタの肺水腫 (PPE)	106
・ 別添 2：モディファイドフモニシンについて	115
・ 別添 3：BMDL ₁₀ の試算	122

<審議の経緯>

2015年	3月	24日	第554回食品安全委員会（自ら評価の実施を決定）
2015年	5月	29日	第35回かび毒・自然毒等専門調査会
2015年	10月	22日	第36回かび毒・自然毒等専門調査会
2015年	12月	14日	第37回かび毒・自然毒等専門調査会
2016年	3月	24日	第38回かび毒・自然毒等専門調査会
2016年	7月	28日	第40回かび毒・自然毒等専門調査会
2016年	9月	12日	第41回かび毒・自然毒等専門調査会
2016年	10月	3日	第42回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	1月	25日	第45回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	2月	20日	第46回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	3月	23日	第47回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	4月	13日	第48回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	5月	19日	第49回かび毒・自然毒等専門調査会
2017年	8月	1日	第660回食品安全委員会（報告）
2017年	8月	2日	から2017年8月31日まで 国民からの御意見・情報の募集
2017年	9月	20日	かび毒・自然毒等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2017年	9月	26日	第667回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣及び農林水産大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで)	(2016年1月6日まで)	(2016年1月7日から)
熊谷 進 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)	熊谷 進	吉田 緑
三森 国敏 (委員長代理)	吉田 緑	山本 茂貴
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平 冽子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

<食品安全委員会かび毒・自然毒等専門調査会専門委員名簿>

(2015年9月30日まで)

宮崎 茂 (座長)
合田 幸広 (座長代理)
荒川 修
川原 信夫
久米田裕子
小西 良子
渋谷 淳
杉山 圭一
鈴木 敏之
豊福 肇
長島 裕二
矢部希見子
山崎 寛治
渡辺麻衣子

(2016年3月31日まで)

宮崎 茂 (座長)
合田 幸広 (座長代理)
荒川 修
川原 信夫
久米田裕子
小西 良子
杉山 圭一
鈴木 敏之
豊福 肇
長島 裕二
矢部希見子
山崎 寛治
渡辺麻衣子

(2016年4月1日から)

宮崎 茂 (座長)
合田 幸広 (座長代理)
荒川 修
川原 信夫
久米田裕子
小西 良子
佐藤 順子
渋谷 淳
杉山 圭一
鈴木 敏之
豊福 肇
長島 裕二
矢部希見子
吉成 知也
渡辺麻衣子

<専門参考人名簿>

<第36回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

上垣 隆一 (国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所
病態研究領域 主任研究員)

中川 博之 (国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所
食品安全研究領域 主任研究員)

<第38回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科衛生化学教室教授)

渋谷 淳 (東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門教授)

吉成 知也 (国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第四室主任研究員)

<第40回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

本間 正充 (農薬専門調査会専門委員)

<第 41 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

<第 42 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

堀本 政夫 (農薬専門調査会専門委員)

<第 45 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

<第 46 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

広瀬 明彦 (汚染物質等専門調査会、加熱時に生じるアクリルアミドワーキンググループ及び評価技術企画ワーキンググループ専門委員)

<第 48 回かび毒・自然毒等専門調査会専門参考人>

新井 洋由 (東京大学大学院薬学系研究科研究科長)

要 約

食品安全委員会は、かび毒である「フモニシン」(FB1 (CAS No. 116355-83-0)、FB2 (CAS No. 116355-84-1) 及びFB3 (CAS No. 136379-59-4)) について、自らの判断で食品健康影響評価を行った。

フモニシンは、*Fusarium verticillioides*、*Fusarium proliferatum* 等のフザリウム属菌から産生され、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。フモニシンはウマの白質脳軟化症 (ELEM) 及びブタの肺水腫 (PPE) の原因であることが実験的又は疫学的に示されている。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の摂取と胎児の神経管閉鎖障害 (NTD) との関連が示唆されている。

評価に用いた試験成績等は、実験動物における体内動態並びに急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性・発がん性、生殖発生毒性及び遺伝毒性等の試験結果である。

精製 FB1 を経口投与した実験動物のほとんどに肝毒性又は腎毒性がみられた。マウス及びラットでは性差が認められた。FB1 の標的臓器には種差が認められた。慢性毒性・発がん性試験では、マウスでは雌に肝腫瘍が、ラットでは雄に腎腫瘍が発生した。また、遺伝毒性試験の結果、遺伝毒性はないと判断した。

以上から、食品安全委員会は、フモニシンは非遺伝毒性発がん物質と判断し、最も低い用量で得られた無毒性量 (NOAEL) (ラットの亜急性毒性試験) 0.21 mg/kg 体重/日に、不確実係数 100 を適用して、フモニシン (FB1、FB2 及びFB3 の単独又は合計) の耐容一日摂取量 (TDI) を 2 µg/kg 体重/日と設定した。

ばく露推計の結果から、フモニシンのばく露量は高リスク消費者においても今回設定した TDI を下回っていると推定され、食品からのフモニシンの摂取が一般的な日本人の健康に悪影響を及ぼす可能性は低いものと考えられた。

かび毒の汚染は、作物が収穫された年の気候等に影響され、年による変動が大きいことが推測される。したがって、リスク管理機関においてフモニシンによる汚染状況のモニタリングを行うとともに、その結果を踏まえて規格基準について検討することが望ましいと考えられる。

モディファイドフモニシンについては、知見が限られていることから、引き続き新しい知見を収集することが望ましいと考えられる。

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(参照 1)が、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* 培養物がウマ及びブタのみならず、ヒヒ、ヒツジ及びラットにも毒性を示すことが知られていた(参照 2)。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確認された (ウマ及びブタに関する知見については、別添 1 参照) (参照 3, 4, 5)。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(参照 6, 7)。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(参照 8)。

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トウモロコシ加工品中のフモニシン (FB1 及び FB2) の最大基準値が設定され、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、厚生労働省による食品中のフモニシンの実態調査並びに農林水産省による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、食品安全委員会は、フモニシンを自ら評価案件として決定し、かび毒・自然毒等専門調査会で調査審議を行うこととした。

2. 現行規制等

(1) 国内規制

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トウモロコシ加工品中の 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。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。（参照 9, 10）

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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
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トウモロコシ加工品中の 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 11, 12）

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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
未加工トウモロコシ	4,000
直接消費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
直接消費以外の 500 μm より大きい製粉画分	1,400
直接消費以外の 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トウモロコシ加工品中の 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 13）

表 3 米国におけるトウモロコシ及びトウモロコシ加工品中の
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
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

フモニン(参照 14)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 15)

フモニン B 群には FB1、FB2 及び FB3 のほか、情報は少ないがフモニン B4 (FB4) やその他の 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。フモニン C 群の FC1、FC2、FC3 及び 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。フモニン P 群の FP1、FP2 及び FP3 はそれぞれ FB1、FB2 及び 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 16)

フモニンは、*F. verticillioides*、*F. proliferatum* 等のフモニ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。フモニンが検出されるのはほとんどがトウモロコシからで、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ン量について、FB1:FB2:FB3 は 10:3:1 程度と推計されている(参照 17)。FB4 が検出される濃度は低く、知見も少ない。フモニン B 群以外のフモニンは、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 18)。なお、近年、一部のフモニ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ンのほか、タンパク質やデンプンと共有結合したフモニン、脂肪酸とエステル結合したフモニン等の化学修飾を受けたフモニン及び加水分解されたフモニン (HFB) も報告されており、これらも含めて「モディファイドフモニン」と呼ばれている(参照 19, 20)。モディファイドフモニンの毒性や穀物等における汚染濃度の知見は少ない。

フモニン B 群に汚染された飼料を原因として、ウマに致死性の ELEM 及びブタに重篤な 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、フモニン B 群の摂取と胎児の NTD との関連が示されている。また、げっ歯類に 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 8, 21)。FB1 については、毒性のデータがあること、FB2 及び FB3 については、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) の評価では、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 17, 18, 22)

以上のことから、本専門調査会における評価対象物質はFB1、FB2及びFB3とした。また、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: (2R,2'R)-2,2'-[[(5R,6R,7S,9S,11R,16R,18S,19S)-19-amino-11,16,18-trihydroxy-5,9-dimethylcosane-6,7-diyl]bis(oxy)}bis(2-oxoethane-2,1-diyl)]disuccinic acid

和名: (2R,2'R)-2,2'-[[(5R,6R,7S,9S,11R,16R,18S,19S)-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-オキシエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

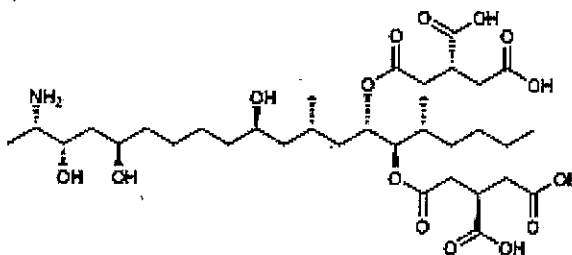
② 分子式

$C_{34}H_{59}NO_{15}$

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

和名: (2R,2'R)-2,2'-[[(5R,6R,7S,9S,16R,18S,19S)-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-オキシエタン-2,1-ジイル)]ジコハク酸

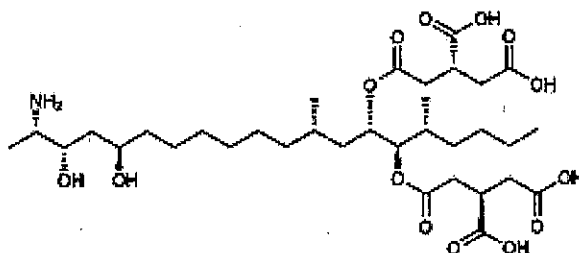
② 分子式

$C_{34}H_{59}NO_{14}$

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

和名： (2R,2'R)-2,2'-[[(5R,6R,7S,9S,11R,18S,19S)-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

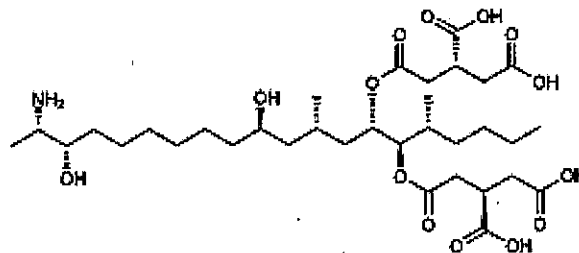
② 分子式

$C_{34}H_{59}NO_{14}$

③ 分子量

705.83

④ 構造式



(参照 17, 23)

2. 物理化学的特性

- a. 名称: フモニシン B1 (FB1)
- 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。

(参照 24)

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 *Fusarium 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 16)。現在では、*F. verticillioides* 及び *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、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 16, 21, 24, 25)。*F. verticillioides* 及び *F. proliferatum* は無性世代 (アナモルフ) であるが、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 24, 25, 26)。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 17, 27, 28)

F. verticillioides 及び *F. proliferatum* は、米国、カナダ、南アフリカ、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、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られる。また、これらは、通常、土壤に生息する土壤腐生菌であり、健常に見えるトウモロコシの可食部、根、茎及び葉からも検出されることがある。感染経路に関しては、トウモロコシの根、茎等に生息しているフザリウム属菌の分生子が、大気又は雨に

よって飛散し、トウモロコシの絹糸からトウモロコシ穀粒に感染するとの報告がある。(参照 23, 26, 29)

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から高濃度の FB1 が検出される一方、表皮及び胚芽を除去した胚乳から得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告がある。(参照 30)

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、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、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、収穫後から乾燥までの期間が長い場合又は湿度が高い場合にフモニシン産生菌が増殖し、フモニシン濃度が増加することがある。(参照 21, 31, 32)

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、代謝及び排泄

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く、ほとんどが代謝されずに糞中に排泄される。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。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。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 16, 17, 33, 34, 35)

Wistar ラット (雄) に 10 mg/kg 体重の用量で FB1 を単回経口投与した結果、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 C_{max} 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 33)。

離乳ブタ (ハンガリアンラージホワイト、去勢雄、8 週齢) に、*F. verticillioides* 培養物を用いて FB1 を 45 mg/kg 飼料の用量で 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 36, 37)

ブタ (ヨークシャー、去勢雄、10~14 週齢) に炭素標識した FB1 ($[^{14}\text{C}]$ FB1) を 0.50 mg/kg 体重の用量で胃内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 34)

乳牛に 0.05 又は 0.20 mg/kg 体重の FB1 を静脈内投与した結果、投与 2 時間後には血中に検出できなくなった。1.0 又は 5.0 mg/kg 体重の FB1 を経口投与した結果、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 35)

② 分布及び代謝

$[^{14}\text{C}]$ FB1 をラット又はブタに経口投与した結果、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 16, 17)

Sprague-Dawley ラット (雄) に $[^{14}\text{C}]$ FB1 (FB1 として 1 mg 相当/匹) を胃内投与した結果、肝臓への蓄積が多く、投与 4 時間後に肝臓に投与量の 0.5% が認められ、ピークとなったほか、腎臓及び血液にも $[^{14}\text{C}]$ FB1 の分布がみられた。 $[^{14}\text{C}]$ FB1 を静脈内投与 (FB1 として 4.5 μg 相当/匹) す

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。

ると、投与 10 分後には血中^[14C]FB1 は急速に減少した。投与 96 時間後に、投与量の約 2%が血液に、約 25%が肝臓に、約 10~12%が腎臓に残存した。(参照 38)

Sprague-Dawley ラット (雄、3~4 週齢) に、*F. verticillioides* 培養物を用いて、FB1、FB2 及び FB3 を総量として 1.1、13.5 又は 88.6 µg/g 飼料の用量で 10 日間混餌投与した。FB1 は、用量依存的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。(参照 39)

Wistar ラット (雄) に 10 mg/kg 体重の用量で^[14C]FB1 を単回強制経口投与した結果、FB1 は主に肝臓及び腎臓に分布した。臓器への蓄積を示す AUC_{tissue}/AUC_{plasma} は、肝臓で 2.03 及び腎臓で 29.89 であったことから、肝臓より腎臓に多く蓄積すると考えられた。^[14C]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²、臓器からの消失半減期は肝臓で 4.07 時間、腎臓で 7.07 時間であった。(参照 33)

Wistar ラット (雄) に 2 mg/kg 体重の用量で^[14C]FB1 を単回静脈内投与した結果、血中からの消失半減期は 1.03 時間であった。(参照 33)

ブタ (ヨークシャー、去勢雄、10~14 週齢) に^[14C]FB1 を 0.50 mg/kg 体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れた。(参照 34)

ブタ (ヨークシャー、去勢雄、0~12 週齢) に^[14C]FB1 を 2.0~3.0 mg/kg 飼料の用量で 24 日間混餌投与した試験においても、肝臓及び腎臓へ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、両組織における放射能活性は検出限界 (12 ng/g) 程度であった。放射能活性は胆管にも認められた。血漿、脾臓、筋肉、脳、副腎、脂肪及び皮膚に放射能活性は検出されなかった。(参照 34)

離乳ブタ (ハンガリアンラージホワイト、去勢雄、8 週齢) に、*F. verticillioides* 培養物を用いて FB1 を 45 mg/kg 飼料の用量で 10 日間混餌投与した結果、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。肝臓及び腎臓から回収された 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 FB1 (PHFB1)⁴ はそれぞれ 30%及び 20%であった。投与後 10 日間の回復期

² 経口投与では、静脈内投与よりも、^[14C]FB1 を投与した Wistar ラットの血中からの消失半減期が長いという結果になっている。本来、投与した剤の血中からの消失半減期は、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、見かけ上の血中からの消失半減期は、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)。

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 PHFB1 が生成する。

間を経ても、肝臓及び腎臓では 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 PHFB1 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、20 日間の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。投与期間中に糞から 59% の FB1 が回収され、PHFB1 及び HFB1 はそれぞれ 47% 及び 12% 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 PHFB1 であった。(参照 37)

③ 排泄

Sprague-Dawley ラット (雄) に $[^{14}\text{C}]$ FB1 を胃内投与 (FB1 として 1 mg 相当/匹) すると、投与 48 時間に糞から約 80% が、96 時間までに 2~3% が尿から回収された。 $[^{14}\text{C}]$ FB1 を静脈内投与した結果、 $[^{14}\text{C}]$ 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% が尿中から回収された。(参照 38)

Fischer344 (F344) ラット (雌雄、7~10 週齢) に、純度 95% 以上の $[^{14}\text{C}]$ FB1 を 0.69 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重の用量で強制単回経口投与し、投与 84 時間後にその分布が調べられた。その結果、 $[^{14}\text{C}]$ FB1 の尿及び糞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 時間までで、60 時間目には僅かに排泄される程度であった。(参照 40)

Sprague-Dawley ラット (雌、15 週齢) に、 $[^{14}\text{C}]$ FB1 を 0.69 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 9.5 時間まで 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 時間まで胆汁に継続的に少量の排泄がみられた。(参照 40)

F344 ラット (雄、9~10 週齢) に、FB1 を 0.69、6.93 又は 69.3 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 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 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 41)

F344 ラット (雄、5 週齢) に、*F. moniliforme* 培養物から精製した FB1 (純度~98%) を 0、10 又は 25 mg/kg 体重の用量で強制単回経口投与した。また、F344 ラット (雄、5 週齢) に、0、1.0 又は 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。単回投与及び連続投与のいずれも、用量依存的に FB1 の尿及び糞への排泄量が増加した。投与群の糞中 FB1 濃度は、投与 12 時間後から上昇し、1 日目にピークとなり、投与 3 日目には検出できなかった。投与群の尿中 FB1 濃度は、投与 12 時間目にピークとなり、その後急速に減少し、10 日目には低い濃度となっ

た。(参照 42)

F344 ラット (雄、5 週齢) に、25 mg/kg 体重の用量で FB1 を強制単回経口投与し、投与後 72 時間まで継時的に尿への排泄が調べられた。投与 12 時間後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 43)

ウサギ (ニュージーランドホワイト (NZW)、雄、50 日齢) に 31.5 mg/kg 体重の用量で精製 FB1 (純度 > 95%) を強制単回経口投与した結果、糞への FB1 の排泄は投与 24 時間後にピークとなり、濃度は 490.56 µg/g であった。尿への FB1 の排泄は投与 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 日目までに糞中に排泄された。(参照 44)

ブタ (ヨークシャー、去勢雄、10~14 週齢) に [¹⁴C]FB1 を 0.50 mg/kg 体重の用量で胃内投与又は 0.40 mg/kg 体重の用量で静脈内投与して、投与後 72 時間まで排泄が調べられた。胃内投与した FB1 は、72 時間目までに、0.60% が尿中から、90.8% が糞から回収された。静脈内投与した FB1 は、70.8% が胆汁中から、16.2% が尿中から、1.5% が糞から回収された。(参照 34)

雌乳ブタ (ハンガリアンラージホワイト、去勢雄、8 週齢) に、*F. verticillioides* 培養物を用いて FB1 を 45 mg/kg 飼料の用量で 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 90% は 10 日間の投与期間中に回収された。投与期間中に糞から 59% の FB1 が回収され、PHFB1 及び HFB1 はそれぞれ 47% 及び 12% であった。20 日間の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% は HFB1 及び 24% は PHFB1 であった。(参照 36, 37)

ブタ (ランドレース×ラージホワイト×デュロック、去勢雄、8 週齢) に、*F. verticillioides* 培養抽出物 (FB1 と FB2 が含まれる。) を 5 mg/kg 体重の用量で FB1 を強制単回経口投与し、投与後 96 時間まで尿及び糞が採取された。尿中 FB1 は、投与後 75 分~41 時間までに検出され、回収された FB1 は投与量の 0.93% であった。ピークは投与後 8~24 時間にかけてであった。糞から FB1 が検出されたのは投与後 8~84 時間で、糞から回収された FB1 は投与量の 76.5% であった。ピークは投与後 8~24 時間であった。(参照 45)

ベルベットモンキー (雌、20~43 か月齢) 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。投与量の 47% が FB1 及び HFB1 として 5 日間にわたって尿及び糞から回収された。投与群では、糞への排泄は 61%、尿への排泄は 1.2% であった。(参照 46)

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又は6日間摂食してもらい、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 $2.94 \pm 0.55 \sim 4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。尿中にはFB1のみが検出された。摂食3時間後には尿へのFB1の排泄が認められ、摂食終了後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の消失半減期は、3日間の摂取では48時間以内、6日間の摂取では48時間以上72時間未満と考えた。(参照 47)

(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、スフィンガニン (Sa)、スフィンゴシン (So) 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わる物質でもある(参照 48)。Sa及びSoは、セラミド合成に係わ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 49)。この阻害作用により、Sa及びSoの蓄積とともに、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を投与した結果、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 50, 51, 52)

初代培養肝細胞を用いて、FB1及びFB2のSo合成への影響を調べた結果、 $[^{14}\text{C}]$ セリンから $[^{14}\text{C}]$ Soへの変換は、FB1及びFB2のいずれにおいても同じ程度阻害された。(参照 49)

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近位尿細管由来上皮細胞株(LLC-PK1)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(IC₅₀)は0.1 μM であった。FB2も同程度の変換阻害を起こした。LLC-PK1では、FB1のIC₅₀は35 μM であった。(参照 53)

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-

FB1 は、主に腎臓及び肝臓から検出された。

FB1 は尿中及び糞へ排泄されるが、ラットに強制単回経口投与をした場合、投与後 84 時間までの¹⁴C]FB1 の尿及び糞への排泄はそれぞれ投与量の 0.5%及び 90%で、性差もみられなかった。

また、ブタに混餌投与した結果、糞及び尿から HFBI も検出された。

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取りまとめに当たっては、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取りまとめた。評価対象物質である FB1、FB2 及び FB3 以外の毒性物質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臓器は肝臓及び/又は腎臓である。種及び性差による違いがみられ、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取りまとめた。

(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では、初期に一過性の Sa 濃度上昇が認められている。FB1 の標的臓器は、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。

(2) 亜急性毒性

<精製フモニシンを用いた知見>

① マウス

a. 7 日間強制経口投与試験

Swiss マウス (雌雄、それぞれ一群 5 匹) に精製 FB1 を 0.110 mg/kg 体重/日の用量で 7 日間強制経口投与した。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。対照群と比べて、投与群の雌に増体量の有意な低下、雄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、雌雄に血清中の中性脂肪 (TG) 及びクレアチニン (Cr) の有意な増加並びに尿中 Cr の有意な減少が認められた。(参照 56)

b. 7 日間混餌投与試験

フモニシンによる肝障害に、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α

表 4 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
Swiss NIH マウス、雄、 8週齢	精製 FB1 (> 96%)	0~120 時間	3~7 (時間 ごと)	0.03、25 (0時 間を対照)	強制 経口	・ 25 mg/kg 体重投与群で、投与 2 時間以内に小腸及び 肝臓の Sa 濃度が優位に増加。 ・ 25 mg/kg 体重投与群で、肝臓では投与 4~12 時間目 にピークとなり、24 時間目に投与前の濃度となった。	25	0.03	(参照 57)
BALB/c マ ウス、雌、7 週齢、約 20 g	精製 FB1 (96%)	4、8 時間	4	0、25	経口	・ FB1 投与 4~8 時間目の肝臓で TNF α シグナル伝達 経路に関与する遺伝子が誘導された。	25	- ^a	(参照 58)
F344ラット 5、雄、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 59)
F344ラット 6、雄、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 及び Sa1P/S1P 比の増加。	10	- ^a	(参照 42)
Wistar ラ ット、雄、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。	0.005	- ^a	(参照 60)
ウサギ、雄、 50日齢、1.7 kg	精製 FB1 (> 95%)	7日間	12	0、31.5	強制 経口	・ 体重、肝臓重量抑制、血液生化学的異常、尿タンパク 質異常、肝臓及び腎臓のうっ血及び変性。 ・ 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、腎臓及び肺にお き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。	31.5	- ^a	(参照 44)
雌乳ブタ、 去勢雄、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		5	- ^a	(参照 45)

a: 設定できず

5 原文では、Fischer rat と記載されている。

(PPAR α)⁶が関与しているか否かを調べる目的で、野生型 SV129 マウス又はその PPAR α 欠損マウス (雌、一群 5 匹) に、精製 FB1 (純度 > 98%) 又は *F. verticillioides* 培養物を 7 日間、0 又は 300 mg/kg 飼料の用量 (45 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算) で混餌投与した。陽性対照として選択的 PPAR α アゴニストである WY-14643 (WY) を 500 mg/kg 飼料の用量で混餌投与した。精製 FB1 又は培養物を投与された両マウス群では、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。オリゴヌクレオチドアレイを用いた転写プロファイリングでは、精製 FB1 又は培養物投与により、細胞増殖、シグナル伝達及びグルタチオン代謝に関係する遺伝子の発現の亢進が認められ、その発現パターンは類似していた。両群ともに PPAR α 依存的な遺伝子発現変化のパターンは認められなかったことから、著者らは、精製 FB1 及び培養物によるマウスの肝障害に PPAR α は関与していないと考えた。(参照 61)

c. 14 日間強制経口投与試験

B6C3F1 マウス (雌雄、それぞれ一群 14 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 14 日間強制経口投与した。その結果、投与群の雌では投与量の増加に伴って体重が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 mg/kg 体重/日以上の投与群及び雌の 15 mg/kg 体重/日以上の投与群で認められ、肝細胞の分裂像の軽度な増加が雄の 75 mg/kg 体重/日以上の投与群及び雌の 5 mg/kg 体重/日以上の投与群で認められた。雌雄ともに全ての投与群で、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 (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胞変性が雌の 5 mg/kg 体重/日以上の投与群で認められた。副腎皮質細胞の空胞変性が雄の 35 mg/kg 体重/日以上の投与群及び雌の 15 mg/kg 体重/日以上の投与群で認められた。雄では、35 mg/kg 体重/日以上の投与群で血清中尿素窒素の上昇が、雌では、15 mg/kg 体重/日以上の投与群で腎皮質及び腎髄質の尿細管上皮細胞に軽度な単細胞壊死が認められた。(参照 62)

d. 28 日間混餌投与試験 (NTP)

2 年間発がん性試験の予備試験として、B6C3F1 マウス (雄 19~20 匹、

⁶ 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。

雌 16~20 匹) に精製 FB1 (純度 92%) を 0、99、163、234 又は 484 mg/kg 飼料の用量で 28 日間混餌投与した。全ての投与群の雌及び 484 mg/kg 飼料投与群の雄で、血清総コレステロール濃度、総胆汁酸濃度並びに ALT 及びアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性が、対照群に比べて有意に高値となり、脂質代謝異常及び肝障害を示していた。また、全ての投与群の雌及び 484 mg/kg 飼料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、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 飼料投与群の雄で対照群に比べて有意に上昇した。(参照 8)

e. 28 日間混餌投与試験

B6C3F1/Nctr マウス (雌、一群 8 匹、フモニシンを投与しない対照群 16 匹) に、精製 FB1 (純度 >97%)、FB2 又は FB3 をそれぞれ 3 用量で 28 日間混餌投与した。それぞれの投与群に投与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 (0、2.2、11.5 又は 22.9 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算)、FB2 が 8、41 又は 82 mg/kg 飼料、FB3 が 11、55 又は 110 mg/kg 飼料であった。いずれの投与群でも、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、52 mg/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 投与群で有意かつ用量依存的に増加した。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。当該試験では、FB1 投与群に肝毒性が認められたが、FB2 投与群及び FB3 投与群では、血液検査、臓器重量及び肝臓の Sa/So 比に用量依存的な変化はみられなかった。(参照 63)

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* 培養物から抽出、精製した FB1 (純度 >98%) を 13 週間混餌投与した。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 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 飼料投与群 (28.9 mg/kg 体重/日) の雌の肝臓に、肝細胞の壊死及び

巨大肝細胞 (cytomegaly⁷) 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、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 (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。著者らは、雌の肝障害を指標とした FB1 の無作用量 (NOEL) を 27 mg/kg 飼料 (9.71 mg/kg 体重/日) と考察している。(参照 64)

g. 16 週間混餌投与試験

マウス (雌、系統不明、一群 14~15 匹) に 0 又は 150 mg/kg 飼料 (22.5 mg/kg 体重/日に相当、食品安全委員会換算⁸) の精製 FB1 を 16 週間混餌投与した。増体量に FB1 の用量依存的な変化はみられなかった。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、対照群に比べて胃の壁細胞が有意に減少し、胃粘膜の高さ及び胃腺の分裂細胞が有意に減少した。免疫組織化学染色の結果、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 65)

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 年間発がん性試験の予備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及び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 週目に 50 mg/kg 飼料以上の投与群及び投与開始 9 週目に 5 mg/kg 飼料以上の投与群で、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 Cr

⁷ cytomegaly. 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。megalocytic hepatocytes に同じ。

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 (g/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	150

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 飼料以上の投与群で投与開始 7 週目のみ対照群に比べて有意に上昇した。(参照 8)

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⁹及びその野生型である *p53*^{+/+}マウス(雄、一群 10 匹)に、精製 FB1 (純度 97%) を 0、5、50 又は 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/日及び *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 (WBC) 及びリンパ球は、用量依存的に増加し、150 mg/kg 飼料投与群で血中 IgA 及び IgM 濃度が明らかに高値となった。両マウスともに、投与群で、肝臓及び腎臓中の Sa 及びデオキシ-Sa 濃度の上昇が認められた。両マウスの 150 mg/kg 飼料投与群の肝臓に結節がみられた。また、両マウスの全ての投与群の肝臓で巨大肝細胞 (megalocytic hepatocytes¹⁰) の発生率が用量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の投与群で、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ほか、両マウスともに、150 mg/kg 飼料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 66)

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 日間強制経口投与した。雌雄の肝臓及び腎臓に FB1 用量依存的な障害が認められた。雄の主な標的臓器は腎臓で、全ての投与群の雄及び 5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で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ぺプチターゼ (GGT)、LDH 及び *N*-アセチル- β -D-グルコサミニダーゼ (NAG) 活性は一過性の有意な上昇が認められ、尿

⁹ *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。

¹⁰ 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。cytomegaly に同じ。

細管損傷を示していた。血中 Cr 濃度は、対照群に比べて 75 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で有意に上昇した。肝臓の絶対重量は、雌雄の 35 mg/kg 体重/日以上投与群でそれぞれの対照群と比べて有意に減少した。肝臓の相対重量は、雌では 15 mg/kg 体重/日以上投与群で対照群と比べて有意に減少したが、雄では FB1 投与依存的な変化はみられなかった。肝細胞壊死は、雌雄ともに 15 mg/kg 体重/日以上投与群でみられ、肝細胞の分裂像の増加は、35 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に認められた。このほか、雄では、対照群に比べて 75 mg/kg 体重/日の投与群で、血清中 ALT 及び GGT 活性並びにコレステロール濃度が有意に上昇した。雌では、対照群と比べて、5 mg/kg 体重/日以上投与群で血清中コレステロール濃度の有意な上昇がみられ、35 mg/kg 体重/日以上投与群で血清 ALT 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、障害がみられたのは腎臓で、雌より雄の感受性が高かった。(参照 67, 68)

b. 14 日間強制経口投与試験

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 8~10 匹) に、精製 FB1 (純度 98%) を 5、15 又は 25 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与した。15 mg/kg 体重/日以上投与群では、対照群と比べて体重減少がみられた。臓器重量及び赤血球 (RBC)、WBC、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット等の血液検査の結果に用量依存的な変化はみられなかった。(参照 69)

c. 28 日間混餌投与試験

F344 ラット (雌雄、それぞれ一群 10 匹) に、精製 FB1 (純度 > 92.5%) を 0、99、163、234 又は 484 mg/kg 飼料 (0、12、20、28 又は 56 mg/kg 体重/日に相当、JECFA 換算) の用量で 28 日間混餌投与した。雌雄ともに投与群の増体量が用量依存的に低下傾向にあった。対照群と比べて、雌雄ともに 234 mg/kg 飼料以上の投与群で肝臓の絶対重量が有意に減少し、全ての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、雄では、全ての投与群で腎皮質内層の尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられ、163 mg/kg 飼料以上の投与群で尿細管の変性がみられた。雌では、163 mg/kg 飼料以上の投与群で尿細管上皮細胞にアポトーシスがみられた。肝臓では、肝細胞のアポトーシス、肝小葉構造の乱れ、小葉中心部の肝細胞密度の増加及び胆管過形成が認められた。これらの肝障害は、雄では 234 mg/kg 飼料以上の投与群にみられ、雌では肝細胞のアポトーシスが 99 mg/kg 飼料以上の投与群、その他の肝障害は 163 又は 234 mg/kg 飼料以上の投与群にみられた。(参照 70)

d. 4 週間混餌投与試験

Sprague-Dawley ラット (雌雄、それぞれ一群 3 匹) に、精製 FB1 (純度

≥ 99%) を 0、15、50 又は 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 4 週間混餌投与した。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 飼料以上の投与群及び雌の 150 mg/kg 飼料投与群に、血清コレステロール及び ALP の有意な増加が雌の 150 mg/kg 飼料投与群にみられた。150 mg/kg 飼料投与群の雌雄全ての肝臓に散在性の単細胞壊死及び核の大小不同及び異染性がみられ、細胞質には空胞変性が認められた。雄の 15 mg/kg 飼料以上の投与群及び雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で、腎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(参照 71)。

同用量で精製 FB1 (純度 ≥ 99%) 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、前述の試験と同様の肝障害が 150 mg/kg 飼料投与群の雌雄で、ネフローゼが 15 mg/kg 飼料以上の投与群の雄及び雌の 50 mg/kg 飼料以上の投与群で認められた。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 飼料投与群及び雌の 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 飼料以上の投与群及び雌の 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 飼料投与群で有意に増加した。(参照 72)

e. 28 日間混餌投与試験 (NTP)

2 年間発がん性試験の予備試験として、F344 ラット (雌雄、それぞれ一群 18 匹) に精製 FB1 (純度 92%) を 0、99、163、234 又は 484 mg/kg 飼料の用量で 28 日間混餌投与した。雌雄ともに 484 mg/kg 飼料投与群の平均体重は、対照群に比べて有意に減少した。484 mg/kg 飼料投与群の雄では、飼料摂取量も有意に減少した。血液生化学検査の結果、484 mg/kg 飼料投与群の雌雄では、対照群に比べて Cr 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、雄では全ての投与群で、雌では 163 mg/kg 飼料以上の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。雄の全ての投与群及び雌の 163 mg/kg 飼料以上の投与群で、腎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。肝細胞アポトーシス及び変性は、234 mg/kg 飼料以上の投与群の雌及び 163 mg/kg 飼料以上の投与群の雄に認められた。(参照 8)

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* 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 週間混餌投与した。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。著者らは、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) と考えた。(参照 64)

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 年間発がん性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、血液生化学検査及び尿検査の結果、FB1 投与による用量依存的な変化は認められなかった。雄では、腎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 匹にも腎皮質尿細管上皮細胞のアポトーシスが認められた。尿細管上皮細胞の増殖は、50 mg/kg 飼料以上の投与群の雄 (投与開始 6 週間以降) 及び 100 mg/kg 飼料投与群の雌にみられた。尿中 Sa/So 比は雄で投与開始 6 週目に 150 mg/kg 飼料投与群で、対照群に比べて有意に高値となり、投与開始 10 週目及び 21 週目に 5 mg/kg 飼料以上の投与群並びに 14 週目に 15 mg/kg 飼料の投与群で用量依存的に対照群と比べて有意に上昇し、雌では、6、14 及び 26 週目に 50 mg/kg 飼料以上の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 8)

③ ブタ

a. 6 日間強制経口投与試験

離乳ブタ (ヨークシャー雑種、雄、35 頭、3 週齢) 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* 菌株を経口投与し、24 時間後に実施された剖検又は組織学的検査で、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、臨床症状及び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* 投与 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、盲腸及び結腸で、菌のコロニー形成

の有意な増加がみられた。コロニー形成及び腸外器官(腸間膜リンパ節、肺、肝臓及び脾臓)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 73)

b. 8週間混餌投与試験

ブタ(ヨークシャー、去勢雄及び未経産雌、一群それぞれ4頭)に、精製FB1(純度>98%)を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、食品安全委員会換算¹¹⁾)の用量で8週間混餌投与した。雄では、対照群と比べて1.0 mg/kg 飼料投与群で8%及び10.0 mg/kg 飼料投与群で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 飼料以上の投与群の雄で、対照群と比べて有意に高かったが、8週目には雌雄ともに1.0 mg/kg 飼料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 74)

<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又は150 mg/kg 飼料(0、7.5又は22.5 mg/kg 体重/日に相当、食品安全委員会換算⁸⁾)の用量で42又は43日間混餌投与した。当該試験では、投与開始6日目に、各群20匹に*Trypanosoma cruzi*を1,000個、腹腔内接種した。*T. cruzi*接種の有無にかかわらず、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 75)

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、FB1、FB2及びFB3(重量比1.00:0.45:0.10)を13.5又は88.6 mg/kg 飼料の用量で10日間混餌投与し、投与開始1、3、5又は10日目に肝臓、腎臓及び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、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。腎髄質外

¹¹⁾ 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 (g/kg 体重/日)
ブタ	60	2,400	40

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 飼料投与群で投与5日目から及び88.6 mg/kg 飼料投与群で投与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3及び5日目で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及び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・反応性変化を指標とすると、軽度な肝障害が投与5及び10日目の88.6 mg/kg 飼料投与群に認められた。対照群と比べて88.6 mg/kg 飼料投与群で投与5日目にSa濃度及び投与10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 39)

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 (総フモニシン) 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3週間混餌投与した。総フモニシン投与群には、6.9、53 又は 303 mg/kg 飼料 (FB1、FB2 及び FB3 の割合は 1.0:0.38:0.15)、FB2 投与群には 4.6、32 又は 219 mg/kg 飼料、FB3 投与群には 6.7、49 又は 295 mg/kg 飼料の用量で混餌投与した。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並びに血清中 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、肝細胞及び主に腎髄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 ≥ 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3週間混餌投与後に、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、血液生化学検査並びに肝臓及び腎臓の Sa/So 比に、対照群との差はみられなくなった。(参照 76)

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、FB1を10又は20 mg/kg 飼料の用量で35日間混餌投与し、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。対照群には0.2 mg/kg

飼料のFB1を給与した。投与群では、対照群と比較して体重及び体重増加が有意に抑制された。飼料及び糞中の乾物、粗タンパク質、粗繊維、エーテル抽出物、灰分及び可溶性無窒素物について分析した結果、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 77)

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ラットに混餌投与した。6種類の加工産物を混餌投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。腎臓のアポトーシス及びスフィンゴ塩基濃度の上昇を含む腎毒性のスコアが用量依存的に上昇した。0.0251 mg/kg 体重/日投与群に腎毒性はみられなかった。(参照 78)

e. 90日間混餌投与試験

Wistar ラット (雄、一群 6 匹) に *F. verticillioides* 培養物から抽出したFB1を0又は100 mg/kg 飼料の用量で90日間混餌投与した。90日間の総FB1摂取量は、810 mg/kg 体重であった。対照群に比べて投与群では、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。血液生化学検査の結果、対照群に比べて投与群では、血清ALP活性の有意な上昇及びTGの有意な減少が認められた。(参照 79)

③ ウサギ

a. 5週間混餌投与試験

ウサギ (交雑種、雄、一群 10 匹) に、*F. verticillioides* 培養物を添加してFB1を12.3又は24.6 mg/kg 飼料の用量で5週間混餌投与した。培養物を添加しない対象群の飼料中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、24.6 mg/kg 飼料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 80)

b. 196日間混餌投与試験

ウサギ (ニュージーランド×チンチラ、雄、一群 12 匹) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して、FB1を5.0、7.5又は10 mg/kg 飼料の用量で196日間混餌投与した。培養物を添加しない対照群の飼料中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、全ての投与群で有意に増加し

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(参照 81)。同じ条件でFB1を含む飼料をウサギ (NZW×チンチラ、雄、48匹) に84日間投与した結果、5.0 mg/kg 飼料以上の投与群で、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 飼料以上の投与群で、ヘマトクリット値及びRBCの減少並びにWBCの増加がみられ、血清中グロブリンが有意に増加した。10 mg/kg 飼料投与群でAST活性及び5.0 mg/kg 飼料以上の投与群でALP活性が有意に増加した。(参照 82)

④ ブタ

a. 14日間強制経口投与試験

離乳ブタ (ピエトレン×デュロック×ラージホワイト、雌、5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 µmol/kg 体重/日の用量で14日間連続強制経口投与した。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、小腸にリンパ管の拡張、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、対照群に比べて有意に増加した。(参照 83)

b. 6か月間混餌投与試験

離乳ブタ (雄、8~9週齢、一群6頭) に *F. verticillioides* 培養物を添加して、FB1を5.0、10.0又は15.0 mg/kg 飼料の用量で6か月間混餌投与した。培養物を添加しない対照群のFB1濃度は0.2 mg/kg 飼料であった。動物へのFB1の平均1日投与量は、投与群でそれぞれ6.0、11.5又は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 飼料以上の投与群で一日乾物摂取量及び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 84)

⑤ 鳥類

a. 63日間混餌投与試験

BUT9系統の七面鳥 (雄、試験開始時7日齢、一群36羽) に、野外汚染トウモロコシを添加してFB1及びFB2の0、5、10又は20 mg/kg 飼料の用量で63日間混餌投与した。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20 mg/kg 飼料投与群で大きく増加した。(参照 85)

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又は128 mg/kg 飼料の用量で77日間強制経口投与した。32 mg/kg 飼料以上の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、肝臓及び腎臓で有意に増加し、腎臓における増加が顕著であった。(参照 86)

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 飼料 (FB1: 57.3、FB2: 18.5及びFB3: 6.0 mg/kg 飼料) 又は200 mg/kg 飼料 (FB1: 201.0、FB2: 64.9及びFB3: 21.0 mg/kg 飼料) を41日間混餌投与した。対照群に比べて、全ての投与群で、体重及び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、200 mg/kg 飼料投与群で有意に増加した。病理組織学的には、全ての投与群で、肝臓の空胞変性及び胆管の細胞増殖がみられた。(参照 87)

(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。

2年間発がん性試験の結果、対照群と比べて、全ての投与群の雌雄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で明らかに減少した。雌では、対照群と比較して50 mg/kg 飼料以上の投与群で、相対肝臓重量、肝細胞肥大及び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で認められ、いずれも50 mg/kg 飼料以上の投与群で、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 5)。雄では、15 mg/kg 飼料以上投与群で、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投与量とに相関はみられなかった。発がんを指標としたFB1のNOAELは15 mg/kg 飼料であった。

NTPでは、雌の肝臓におけるSa/So比と肝細胞腺腫の増加とに相関はみられず、マウスにおけるFB1のばく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 8, 88)

② ラットを用いた 2 年間発がん性試験 (NTP)

F344 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。

表 5 FB1 を 2 年間混餌投与した雌マウスにおける肝腫瘍の発生頻度¹²

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 8)

2 年間発がん性試験の結果、雌雄ともに FB1 投与量と生存率とに相関はみられず、用量依存的な体重の変化もみられなかった。雄では 50 mg/kg 飼料以上の投与群、雌では 15 mg/kg 飼料以上の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 比は用量依存的に増加し、50 mg/kg 飼料以上の投与群で対照群に比べて有意に増加した。50 mg/kg 飼料以上の投与群の雄及び 100 mg/kg 飼料投与群の雌の腎臓に好塩基性尿細管とともに細胞死が認められた。15 mg/kg 飼料投与群の雄にも軽度ではあるが、同様の腎毒性がみられた。50 mg/kg 飼料以上投与群の雄では、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 を給与した雌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。慢性進行性腎症 (CPN) についてスコア化して比較した結果、0、50 及び 150 mg/kg 飼料以上の投与群の雄の CPN のスコアは対照群に比べて低かった。雄に用量依存的な尿細管腺腫及び尿細管癌の増加が認められ、50 mg/kg 飼料以上の投与群では、尿細管腺腫及び尿細管癌を合わせた腫瘍発生率が有意

¹² B6C3F1 雌マウスにおける NTP 発がん性試験の 2 年間生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、肝細胞腺腫で 17.3% (範囲: 2~50%)、肝細胞癌で 8.4% (範囲: 0~20%)、肝細胞腺腫及び/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.)。

に増加し、増加傾向 (positive trend) も明らかであった (表 6)。雌に FB1 投与に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。

FB1を投与した雄では、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、ラットの尿細管上皮細胞のアポトーシス並びに腎細胞腺腫及び腎細胞癌の発生率が上昇し、腎臓重量が減少する。以上のことから、NTPは、FB1の発がんについて、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、それに引き続いて尿細管上皮細胞の再生及び腫瘍形成が起こる可能性があると考えた。FB1投与による腎臓のSa/So比の上昇は、雌でもみられた。しかし、尿細管上皮細胞のアポトーシスは、雄では15 mg/kg 飼料投与群から観察されたのに対し、雌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は、現時点では説明できないとしている。(参照 8, 88, 89)

表 6 FB1 を 2 年間混餌投与した雄ラットにおける腎腫瘍の発生頻度¹³

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 8)

③ ラットを用いた 2 年間発がん性試験

BD IXラット (雄、一群 25 匹) に 0、又は 50 mg/kg 飼料 (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。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。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。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

¹³ F344 ラット (雄) における 2 年間 NTP 発がん性試験生存後の自然発生腫瘍の発生頻度は、尿細管腺腫で 0.7% (範囲: 0~6%)、尿細管癌で 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.)。

の膜性増殖性糸球体腎炎が認められた(参照 90)。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(雄、一群20匹)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>92~95%)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 91)

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4匹)にFB1を含まない飼料又は1,000 mg/kg 飼料(100 mg/kg 体重/日に相当: 食品安全委員会換算¹⁴)の飼料を26日間給与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 92)

F344ラット(雄、一群5匹)に25、50、100、250、500又は750 mg/kg 飼料のFB1を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)を3日間経口投与後、部分肝切除し、部分肝切除後2週目に肝臓の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日間混餌投与した結果、GGT陽性細胞巢が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、59、119、226又は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 93)

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日間強制経口投与(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 94)

FB1のプロモーション作用の有無を調べる目的で、BD IXラット(雄、一群5匹)にFB1を含まない飼料又は1,000 mg/kg 飼料のFB1を含む飼料(100

¹⁴ 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

mg/kg 体重/日に相当：食品安全委員会換算¹⁴⁾を4週間給与するプロモーション試験が実施された結果、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1)

F344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(DEN)を腹腔内投与し、投与1週間から10、50、100、250又は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。100 mg/kg 飼料(10 mg/kg 体重/日に相当：食品安全委員会換算¹⁴⁾)以上の投与群の肝臓で、相対的に大きいGST-P陽性細胞巢の単位面積当たりの数が明らかに増加した。(参照95)

(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

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7に示す。母動物では、50mg/kg 体重/日以上投与群で死亡例がみられ、25 mg/kg 体重/日以上投与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、細胞分裂像の増加、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/日投与群で口蓋裂及び骨格異常の増加がみられ、25 mg/kg 体重/日以上投与群で吸収胚数増加、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96)

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	・死亡(2/9例、22%)	・口蓋裂(41.7%) ・骨格異常(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	・体重増加の抑制 ・腹水貯留 ・肝毒性 ・血漿中ALTの有意な増加	・吸収胚数の増加 ・生存胎児数の減少 ・低体重 ・水頭症(26.4~100.0%) ・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 8 に示す。12.5 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で母動物の体重増加に減少傾向がみられ、100 mg/kg 体重/日投与群では体重増加率が有意に減少した。母動物の肝臓では、壊死、アポトーシス、分裂像並びに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/日以上以上の投与群に用量依存的な毒性がみられた。血漿中 ALT は全ての投与群で用量依存的に増加し、25 mg/kg 体重/日以上以上の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、全ての投与群の母動物、並びに 50 mg/kg 体重/日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/日以上以上の投与群の Sa/So 比が対照群に比べて有意に増加したが、胎児では投与群と対照群の Sa/So 比に差は認められなかった。(参照 97)

表 8 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	・体重増加の抑制 ・死亡 (1/4 例)	・生存胎児数の有意な減少 ・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-BR ラット¹⁵ (雌、一群 24 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 日に強制経口投与し、妊娠 20 日まで観察する発生毒性試験が実施された。投与群の母動物に、用量依存的な摂餌量減少及び体重増加抑制が認められ、15 mg/kg 体重/日投与群の胎児では、20 日目に雌の体重及び頭殿長が有意に減少した。さらに、CD-BR 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 日に強制経口投与 (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/日投与群で、母動物に死亡 (4/30 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/日以上以上の投与群で、母動物に肝毒性が認められた。妊娠率及び着床数に変化はなかったが、50 mg/kg 体重/日投与群では、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

¹⁵ Sprague-Dawley 系統ラット。

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 98, 99)

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

Sprague-Dawley ラット (雌雄、それぞれ一群 5 匹) に、*F. moniliforme* 培養物を添加して、FB1 を 0、1、10、55 又は 125 mg/kg 飼料の用量で交配前、妊娠後、及び母動物の授乳期に混餌投与した。その結果、雄では 10 mg/kg 飼料以上の投与群で Cr 濃度が有意に上昇し、雌では 55 mg/kg 飼料投与群で妊娠 15 日に血中ビリルビン濃度及び Cr 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、対照群と投与群とで差はみられなかった。雄の精子検査及び精巣の病理学的検査の結果、対照群と投与群とで差はみられなかった。10 mg/kg 飼料以上の投与群で出生児の体重増加が減少傾向を示した。55 mg/kg 飼料投与群の妊娠 15 日の母動物の肝臓 Sa/So 比が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 飼料投与群で、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 100)

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 FB1 を 150 mg/kg 飼料の用量で混餌投与した投与群及び対照群において発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日の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、胸骨分節及び尾椎) 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投与群で有意に低値であった。(参照 101)

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 日までに、全ての投与群の胎児に、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。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 濃度を調べた結果、投与群の母マウス胎盤 Sa 濃度並びに胎児 Sa 及び So 濃度が対照群に比べて有意に高値であった。(参照 102)

b. CD1 マウスに FB1 を腹腔内投与した発生毒性試験

CD1 マウス (雌、一群 8~10 匹) に精製 FB1 を 0、15、30 又は 45 mg/kg 体重/日 (試験 1) 及び 0、10、23、45 又は 100 mg/kg 体重/日 (試験 2) 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。これらの試験では、母動物の体重、黄体数及び着床数に変化はみられなかった。試験 1 では 15 及び 45 mg/kg 体重/日投与群に、試験 2 では全ての投与群に用量依存的な外脳症を主とする NTD の胎児が認められた。試験 2 の結果、NTD の胎児を有する母動物の割合は、各投与群でそれぞれ 0%、8%、17%、36%又は 55%であった。(参照 103, 104)

③ その他の生殖毒性試験

a. ウサギを用いた生殖発生毒性試験①

ウサギ (NZW、妊娠雌、一群 5~10 匹) に、精製 FB1 (純度 92.3%) を 0.00、0.25、0.50、1.00、1.25 又は 1.75 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3~19 日に強制経口投与する試験が実施された。妊娠 11~22 日の間にそれぞれの投与群で 1、0、2、4 又は 2 匹の母動物が死亡した。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、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 比が用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。ウサギ (NZW、妊娠雌、一群 22~26 匹) に、精製 FB1 (純度 92.3%) を 0、0.10、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 体重投与群でそれぞれ 23 匹中 2 匹 (8.7%) 及び 26 匹中 5 匹 (19.2%) 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。0.50 mg/kg 体重/日以上投与群で胎児の体重が、雌雄ともに対照群に比べて有意に減少した。0.1 mg/kg 体重/日以上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 105, 106)

b. ウサギを用いた生殖毒性試験②

ウサギ (NZW×チンチラ、雄、一群 10 匹) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して FB1 を 5、7.5 又は 10 mg/kg 飼料の用量で 25 週間混餌投与した。培養物を添加しない対照群の飼料中 FB1 濃度は 0.13 mg/kg 飼料であった。最終週に雌と交尾させ、受精率を調べた結果、7.5 mg/kg 飼料以上の投与群の雄で、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) 及び生存精子数は、全ての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 飼料投与群で最も多かった。受胎率及び一腹当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、性成熟の遅れ及び精子検査結果への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 107)

c. ウサギを用いた生殖毒性試験③

上記と同じ FB1 用量で、28 週間培養物添加飼料又は無添加飼料をウサギ (雄) に経口投与した試験では、精巣中及び精巣上体中の貯留精子数は、全ての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、用量依存的に低下し、5、7.5 及び 10 mg/kg 飼料の投与群で、それぞれ対照群に比べて 67%、59%及び 36%であった。(参照 108)

成熟ウサギ (交雑種、雌、一群 8 匹、1.65~2 kg) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 0、5 又は 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 飼料以上の投与群で体重が有意に減少した。飼料の乾物摂取量も投与群で有意に減少し、10 mg/kg 飼料投与群の乾物摂取量は、対照群の 50%であった。投与 6 週目に実施された血液検査及び血液生化学検査の結果、妊娠雌では、5 mg/kg 飼料以上の投与群でヘモグロビンの有意な減少、WBC の有意な増加、総タンパク質の有意な減少並びに ALT 及び AST 活性の有意な増加が、10 mg/kg 飼料投与群でヘマトクリット値の有意な減少、RBC の有意な減少及び ALP 活性の有意な増加が認められた。著者らは、5 mg/kg 飼料の濃度のフモニシンを含む飼料は、妊娠時の血液及び血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可能性があると考えた。(参照 109)

d. ブタを用いた生殖毒性試験①

離乳ブタ (ラージホワイト、雄) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 5.0、10.0 及び 15.0 mg/kg 飼料の FB1 を 6 か月間混餌投与した。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。5 mg/kg 飼料以上の投与群で、精巣及び精巣上体中の精子数及び 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 飼料以上の投与群では、精子数が対照群の 70%まで低下した。(参照 110)

e. ブタを用いた生殖毒性試験②

離乳ブタ (ラージホワイト、雄、一群 6 頭) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 5、10、15 mg/kg 飼料の FB1 を 6 か月間混餌投与した。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。精巣及び精巣上体相対重量と精巣容積に影響はなかった。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 射精当たりの精子濃度、総精子数及び運動精子数は、全ての投与群で用量依存的に減少し、15 mg/kg 飼料の投与群では、それぞれ対照群に比べて 83.3%、79.1%及び 59.6%に低下した。(参照 111)

④ *in vitro* 試験

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 日胚を用いて全胚培養した (臍栓確認日を妊娠 1 日とする。)。葉酸¹⁶添加又は無添加の条件下で、体節 4~5 のマウス胚 (一群 10~36 胚) に精製 FB1 を 0~100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度で 26 時間ばく露させた。その結果、葉酸添加の有無にかかわらず、対照培地における胚の発育は正常で、形態異常も認められなかったが、全てのばく露群で発育遅延が認められた。2、3.5、25、50 又は 100 $\mu\text{mol/L}$ (1.4、2.52、18.0、36.1 又は 72.2 mg/L) 以上のばく露群でそれぞれ 10%、26%、25%、27%又は 48%の胚に外脳症を主とする NTD がみられ、3.5 $\mu\text{mol/L}$ 以上のばく露群で対照群に比べて有意な差があった。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 $\mu\text{mol/L}$ 以上のばく露群で NTD 発現率が有意に低下した。(参照 112)

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 112)

ブタ (雌) 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、エストロ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

¹⁶ 葉酸は、必須栄養素のビタミン B 群の水溶性ビタミンの一つで、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。

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察した。(参照 113)

ウマ (雄) 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^{-7} ~ 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 114)

(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

Salmonella typhimurium TA97a 株、TA98 株、TA100 株、TA102 株、TA1535 株又は TA1537 株を用いた FB1、FB2 及び FB3 の復帰突然変異試験の結果は、代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。(参照 115, 116, 117, 118, 119, 120)

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¹⁷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 118)

c. 哺乳類細胞を用いた染色体異常試験

F344 ラット肝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 118, 121)

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 121)

F344 ラット肝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 118)。一方、ブタ腎上皮細胞由来細胞株 (PK15)、ヒト肝臓がん由来細胞株 (HepG2) 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 119, 121, 122)

ヒト末梢血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 121)

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 121)

¹⁷ DNA 損傷に伴い発現が誘導される大腸菌及びサルモネラの SOS 遺伝子のプロモーター配列の下流にレポーター遺伝子を連結し、レポーターの酵素活性を測定することで化学物質の DNA 損傷性を検索する試験。

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 件報告されており、いずれも陰性であった(参照 29, 92)。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 92)

HepG2 を用いたコメットアッセイの結果は、陽性であった。(参照 119)

② *in vivo* 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 件報告されており、いずれも陰性であった(参照 29, 92)。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 92)

CF1 マウス (雄) 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 120)

BALB/c マウス (雌雄) 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 時間ごとに計 3 回腹腔内投与し、採取した骨髓細胞を用いた小核試験の結果は、陰性であった。正染性赤血球 (NCE) に対する多染性赤血球 (PCE) の比 (PCE/NCE 比) は、単回投与した群では変化がなかったが、3 回の投与群では、全ての投与群で対照群と比べると有意に低下し、細胞毒性の可能性を示した。(参照 123)

F344 ラット (雄) 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 92)

Wistar ラット (雄) 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 及び 7 日間投与群で、肝臓では 7 日間投与群で、対照群に比べて有意な DNA 損傷の増加が認められた。(参照 124)

Wistar ラット (雄) 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 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 60)

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二次的な影響と考えられた。

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 125)

マウス胎仔線維芽細胞由来細胞株 (BALB/3T3) を 10~1,000 µg/mL の FB1 (純度 90%) に 48 時間ばく露させ、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 126)

v-Ha-ras 遺伝子を導入した BALB/3T3 (Bhas 42) 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 127)

フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果を表 9 に、*in vivo* 遺伝毒性試験結果を表 10 にまとめた。

表9 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表9-1 細菌を用いた復帰突然変異試験結果

試験	菌株	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		
復帰突然変異試験	TA102	FB1、 FB2 又 は FB3	1、5、10 µg/plate (FB3 は 5 µg/plate の み)	ラット肝臓・ S9 mix	—	—	1991	(参照 115)
	TA100				—	—		
	TA98				—	—		
	TA97a				—	—		
	TA100	FB1	0.01、0.1、1、5、10、 50、100 µg/plate	ラット肝臓・ S9 mix	—	—	1992	(参照 117)
	TA100	FB1	0.7、2.1、6.2、19、55、 167、500 µg/plate	ラット肝臓・ S9 mix	—	—	1997	(参照 118)
	TA98				—	—		
	TA102	FB1	50、114 µg/plate	ラット肝臓・ S9 mix	—	—	2000	(参照 120)
	TA100		10、20、50、114 µg/plate		—	—		
	TA98		114 µg/plate		—	—		
	TA1537	FB1	25、50、100、200 µg/g	HepG2・ S9 mix	n.d.	—	2002	(参照 119)
	TA1535				n.d.	—		
	TA102				n.d.	—		
	TA100				n.d.	—		
TA98	n.d.				—			

+：陽性、—：陰性、n.d.：データなし

表9-2 細菌を用いた DNA 損傷及び修復試験結果

試験	菌株	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	5、16、50、166、500 µg/assay	ラット肝臓・ S9 mix	—	—	1997	(参照 118)
DNA 修復試験	<i>E. coli</i> K- 12	FB1	0.7、2.1、6.2、19、55、 167、500 µg/mL	ラット肝臓・ S9 mix	—	—		

+：陽性、—：陰性

表 9-3 哺乳類由来細胞を用いた染色体異常試験結果

試験	培養細胞	被験物質	濃度	結果	備考	年	参考文献
染色体異常試験	ラット肝 初代培養細胞	FB1	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 118)
	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	1.0、2.0、5.0、 10.0 µg/g	+	・10 µg/g の濃 度の FB1 で陽 性	2005	(参照 121)
		FB2		-			
		FB3		-			
小核試験	ラット肝 初代培養細胞	FB1	0.010、0.100、 1.000、10.000、 100,000 µg/mL	-	・用量依存性 なし	1997	(参照 118)
	ヒト肝臓がん 由来細胞 (HepG2)	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 胞の用量依存 的な増加	2002	(参照 119)
	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	1.0、2.0、5.0、 10.0 µg/g、22 時間 培養	+	・5 µg/g 以上 の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 121)
		FB2		-			
		FB3		-			
ブタ腎 由来細胞 (PK15)	FB1	0.05、0.5、5 µg/mL、24 又は 48 時間培養	+	・小核を有す る細胞の用量 依存的な増 加、5 µg/mL で有意な増加	2008	(参照 122)	

+：陽性、-：陰性

表 9-4 哺乳類由来細胞を用いた姉妹染色分体交換試験結果

試験	培養細胞	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	1.0、2.0、5.0、10.0 µg/g	+	・5 µg/g 以上の濃度のFB1で陽性	2005	(参照 121)
		FB2		-			
		FB3		-			

+: 陽性、-: 陰性、代謝活性化は見えていない。

表 9-5 哺乳類由来細胞を用いた DNA 損傷/修復試験結果

試験	培養細胞	被験物質	濃度	結果	備考	年	参考文献
DNA 修復試験	ラット肝初代培養細胞	FB1	0.5、2.5、5.0、25.0、50.0、250.0 µM、18 時間培養	-		1992	(参照 29)
	ラット肝初代培養細胞	FB1	80 µM/plate、18 時間培養	-		1992	(参照 92)
		FB2	40 µM/plate、18 時間培養	-			
コメットアッセイ	ヒト肝臓がん由来細胞 (HepG2)	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 119)

+: 陽性、-: 陰性、いずれも代謝活性化は見えていない。

表 10 フモニシンの *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	動物種	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 120)
	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 123)
			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		
	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 124)
0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に採材			-				
DNA 修復試験	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 92)
		FB2		-			
ロメットアッセイ	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 124)
			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		
	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 60)

+：陽性、-：陰性

(6) 神経毒性及び免疫毒性

① 神経毒性

a. マウスに精製 FB1 を脳内投与した試験

BALB/c マウス (雌、7~8 週齢、一群 5 匹) に、0、10 又は 100 µg/匹の用量で精製 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を示し、100 µg/匹投与群の大脳皮質、小脳、中脳及び延髄の Sa 濃度は、対照群に比べて有意に高値であった。So 濃度は、100 µg/匹投与群の大脳皮質で対照群に比べて有意に高値であった。大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はみられなかった。100 µg/匹投与群では、大脳皮質の神経に細胞死が認められ、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である TNF α 、IL-1 β 、IL-6 及び IFN- γ の mRNA 発現は、対照群に比べて 100 µg/匹投与群で有意に増加した。皮下投与群では、対照群に比べて 100 µg/匹投与群の大脳皮質に Sa の有意な増加が認められた。中脳、小脳、延髄の Sa 及び So 濃度に変化はみられなかった。(参照 128)

b. ウサギに精製 FB1 を経口投与した試験

ウサギ (NZW、妊娠雌、一群 4 匹) に、精製 FB1 (純度 92.3%) を 0.00、0.25、0.50、1.00、1.25 又は 1.75 mg/kg 体重/日の用量で、妊娠 3~19 日に強制経口投与した。1.75 mg/kg 体重/日投与群に死亡例がみられ、妊娠 12 日目に死亡した母体では、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められた。妊娠 16 日目に死亡した母体では、海馬の白質に複数の微小な出血が認められた。(参照 106)

c. ブタに培養物を混餌投与した試験

離乳ブタ (ラージホワイト、雄) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して約 5.0、10.0 又は 15.0 mg/kg 飼料の FB1 を 6 か月間混餌投与した。培養物を添加しない対照群の飼料中 FB1 濃度は 0.2 mg/kg 飼料であった。対照群に比べて 5.0 mg/kg 飼料以上の投与群で、橋、扁桃体、視床下部及び延髄のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 活性が有意に低下した。(参照 129)。JECFA では、飼料中 FB1 濃度が ELISA で測定されており、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 130)

d. *in vitro* 試験

ヒトの神経膠芽腫由来細胞株 (U-118MG) を用いて、FB1 の神経毒性作用が調べられた。U-118MG を 10 又は 100 µmol/L の FB1 に 48~144 時間ばく露させると、脂質過酸化物質及び活性酸素素種 (ROS) の産生の増加が

みられた。グルタチ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、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している可能性があると考えた。(参照 131)

マウス視床下部神経細胞由来細胞株 (GT1-7)、ラット神経膠芽腫由来細胞株 (C6)、ヒト神経膠芽腫由来細胞株 (U-118MG) 及びヒト神経芽腫由来細胞株 (SH-SY5Y) を 100 $\mu\text{mol/L}$ の FB1 に 48~144 時間ばく露させると、SH-SY5Y 以外の細胞株で、カスパーゼ-3様プロテアーゼ活性が増加し、DNAの断片化が認められた。一方、p53 並びにアポトーシス誘発又は抗アポトーシス Bcl-2 ファミリータンパク質である Bax、Bcl-2、Bcl-X_L 及び Mcl-1 の発現に、FB1 は影響しなかった。FB1 に対する細胞株の感受性は、U-118MG > GT1-7 > C6 > SH-SY5Y の順に高かったことから、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 132)

マウスミクログリア由来細胞株 (BV-2)、神経芽腫由来細胞株 (N2A)、BALB/c マウス初代培養のアストロサイト及び脳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 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 の蓄積及び So の減少が認められた。BV-2 及び初代培養アストロサイトでは、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 及び IL-1 β の mRNA 発現が低下した。これらの結果から、FB1 による神経組織への毒性は、アストロサイト等のグリア細胞の機能低下の二次的影響である可能性があると考えた。(参照 133)

② 免疫毒性

a. マウスに精製 FB1 を皮下注射した試験

BALB/c マウス (雌雄、平均体重 20 g、一群 5 匹) に、FB1 (エンドトキシンを含まず、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雄ともにみられなかった。対照群に比べて、雌雄ともに増体率が有意に低下した。雌では、対照群に比べて脾臓及び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 T 細胞の細胞増殖及びリポ多糖 (LPS) 刺激による B 細胞の細胞増殖も低下した。また、雌では、脾臓細胞の IL-2 の mRNA 発現が低下した。対照群に比べて投与群の雌の脾臓では、T 細胞及び B 細胞ともに絶対数は減少したが、相対的な T 細胞は増加し、胸腺では、未成熟 CD4⁺/CD8⁺ 二重陽性 T 細胞群が有意に減少した。投与群の雄に 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、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 134)

b. ラットに精製 FB1 を経口投与した試験

Sprague-Dawley ラット (雌雄、一群 10 匹) に、精製 FB1 (純度 98%) を 5、15 又は 25 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与し、脾臓単核細胞中のヒツジ RBC に対する IgM 抗体ブランク形成細胞 (PFC) の割合及び脾臓中の PFC の割合を比較した。雄では、両者とも、25 mg/kg 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。(参照 69)

さらに、ラット (雄、一群 12 匹) に FB1 を 0、1、5 又は 15 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間強制経口投与し、投与後に *Listeria monocytogenes* に感染させて感染 72 時間目まで観察した。感染 24 時間目の脾臓では、FB1 用量依存的に *L. monocytogenes* の菌数が増加した。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、カルシウム動員、WBC 及び T リンパ球サブセットの数並びにナチュラルキラー細胞活性及び食作用に有意な影響はなかった。(参照 69)

Wistar ラット (雄、一群 6 匹) に *F. verticillioides* 培養物から抽出した FB1 を 0 又は 100 mg/kg 飼料の濃度で 90 日間混餌投与した結果、それぞれの投与群のラット脾臓単核細胞を用いたマイトジェン刺激によるリンパ球増殖に変化はみられなかった。それぞれの投与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カインを測定した結果、対照群に比べて投与群では IL-4 濃度が有意に増加し、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) 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。(参照 79)

c. ブタに精製 FB1 又は培養物を経口投与した試験

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 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-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12 又は TNF α の mRNA 発現を調べた結果、FB1 投与による IL-1 β 、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。ブタ腸管上皮由来培養細胞株 (IPEC-1) を FB1 にばく露すると、IL-8 の mRNA 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 135)

離乳ブタ (雑種、平均体重 7.3 \pm 0.4 g、一群 3 頭) 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の mRNA 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 の mRNA 発現がみられた。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 の発現が低下し、IFN- γ の mRNA 発現が上昇した。(参照 136)

離乳ブタ (1 週齢、一群 11 又は 14 頭) に、*F. verticilloides* 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、それぞれの投与群で 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+) 腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) を投与した。臨床症状に異常は認められなかったが、投与群では感染後の ETEC 排出が長くみられ、抗原特異的応答の低下がみられた。投与群では、小腸内 IL-12p40 の mRNA 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 137)

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* 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。気管支肺泡洗浄液中の細胞の IL-8、IL-18、IFN- γ の mRNA 発現が、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* を共に投与した結果、咳がみられ、気管支肺泡洗浄液中の細胞、マクロファージ及びリンパ球が増加した。肺では、亜急性間質性肺炎の像を呈し、肺組織の TNF α 、IFN- γ 及び IL-8 の mRNA 発現は増加した。(参照 138)

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 FB1 を強制経口投与及び/又は PRRSV を感染させた。FB1 を強制経口投与し、かつ PRRSV を感染させたブタに重篤な肺の組織学的変化がみられた。(参照 139)

子ブタ (雌又は去勢雄、4 週齢、一群 5 頭) に、対照飼料 (トウモロコシ-大豆ミール飼料) 又は *F. verticilloides* 培養物 (FB1: 8 mg/kg 飼料含有、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 日間経口投与した。粗抽出物には、FB1: 54%、FB2: 8% 及び FB3: 9% が含まれていた。7 日目及び 21 日目に、*Mycoplasma agalactiae* ワクチンを皮下注射した結果、投与群の雄の体重増加量が有意に減少したが、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るものではなかった。統計的に有意な Cr レベルの上昇が、雌雄の投与群に認められた。*M. agalactiae* に特異的な抗体産生が、雌雄で増加したが、雄の投与群では 28 日目の血清中特異的抗体濃度及び血液の IL-10 の mRNA が、対照群より有意に少なかった。著者らは、FB1 がブタに免疫抑制作用を示し、雄は雌より

感受性が高いと考えた。(参照 140)

F. moniliforme 培養物を用いて、実験 1 として、離乳子ブタ (去勢雄、一群 5 頭) に FB1 を 0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料を 3~4 か月間混餌投与した。実験 2 として、離乳ブタ (去勢雄、対照群 6 頭、投与群 14 頭) に 0 又は 100 mg/頭を 8 日間混餌投与した。オー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、PHA-P、Con A 及び LPS 刺激による非特異的免疫反応又はオーエスキー病のウイルス不活化懸濁液による特異的免疫反応が調べられた。試験された免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 141)

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シを添加して、0 又は 11.8 mg/kg 飼料 (FB1 濃度: 8.6 mg/kg 飼料、FB2 濃度: 3.2 mg/kg 飼料) のフモニシンを 63 日間混餌投与し、投与開始 7 日目にそれぞれの投与群 12 頭ずつに *Salmonella Typhimurium* を接種して免疫への影響が調べられた。全ての投与群に、死亡及び臨床症状の変化はみられなかった。投与群の血清、肝臓及び腎臓中の Sa/So 比は、対照群に比べて有意に増加した。対照群では、サルモネラ接種 7 日目にサルモネラ抗原刺激による特異的な WBC 増殖が有意に増加したが、投与群では、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モネラのトランスロケーション¹⁸又はセロコンバージョン¹⁹に、フモニ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、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 142)

d. ウズラに培養物を混餌投与した試験

ウズラ (1 日齢、一群 105 羽) に、*F. verticillioides* 培養物を添加して 200 mg/kg 飼料の FB1 を 35 日間混餌投与した。投与群では、羽毛の乱れと成長不良がみられ、12.38%が死亡した。ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 塗布により調べられた細胞性免疫は、投与群で有意に低下した。(参照 143)

(7) 毒性発現の機序

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、マウスに肝腫瘍を、ラットに腎腫瘍を、ウマに ELEM を、ブタに PPE を誘導する等、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て、フモニシンに汚染されたトウモロコシ製品の喫食と胎児の NTD 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、以下のような機序が考えられている。

¹⁸ 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。

¹⁹ 抗原が陰性化し、抗体が陽性化すること。

① 脂質代謝異常

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。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ン及び各種の複合スフィンゴ糖脂質濃度の低下を招く (IV 1 (2) 参照)。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 (参照 14)。これら脂質代謝異常の細胞機能への影響について、主に、a. スフィンゴシン、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、b. セラミドの作用、c. 細胞膜ラフトを介した作用の点から以下に整理した。

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

Sa 及び So のような遊離スフィンゴイド塩基は、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*アシル転移酵素といったセラミド合成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の作用を阻害し、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 Sa1P 及び S1P の濃度も高値となる (参照 14, 144)。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 14, 145)。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かかわっている可能性がある。 (参照 14, 17, 21)

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中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 又は Sa と脂肪酸アシル CoA からセラミド又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 CerS4 及び CerS2 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、WBC、心臓、肝臓等に分布する。 (参照 146, 147)

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 148)。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、ガラクトシルセラミド、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 149)

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れる。(参照 17, 21, 150)

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²⁰不足が挙げられている(参照 151)。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の細胞内移行が阻害された(参照 152)。妊娠マウスに FB1 を腹腔内投与した結果、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対照群に比べて有意に減少した。(参照 102)

FB1 投与群では、脂質ラフトの構成成分である GM1²¹の減少とともに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

²⁰ 葉酸は、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。

²¹ 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。

された(参照 102)。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については更なる研究が必要であるとの報告もある。(参照 153)

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した結果、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 154)

胎盤の通過については、FB1 は胎盤を通過しないことを示唆する報告(参照 100, 105)がある一方、胎盤を通過するとしている報告(参照 102)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 を経口投与した結果、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、AST 及び ALT 活性の上昇並びに Sa 濃度及び Sa/So 比の高値がみられる(参照 45)。ブタに 1 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を 4 日間静脈内投与した結果、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²²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。So は、心筋で L-タイプ Ca²⁺ 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 35, 155, 156)

ブタに FB1 を 1.5 mg/kg 体重/日の用量で 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。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およそ 2 倍となった。肝臓では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。著者らは、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考察した。FB1 投与により、セラミド合成酵素 CerS1 から CerS6 までのそれぞれの mRNA 発現を調べた結果、肺では CerS1 及び CerS4 の発現の増加並びに CerS5 及び CerS6 の発現の減少が、肝臓では CerS4 の発現の増加並びに CerS6 及び CerS2 の発現の減少がみられた。著者らは、FB1 の多様な毒性には、セラミド合成酵素のサブタイプの組織特異的な発現が関与していると考えた。(参照 147)

c. ウマの白質脳軟化症 (ELEM) の機序

精製 FB1 を 0.20 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

²² 酸素運搬量に対する酸素消費量の割合。

濃度が高く、アルブミン/グロブリン比²³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 157)

FB1 を 0.2 mg/kg 体重/日の用量で 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 158)

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ときに、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 158)

ラットに、精製 FB1 を 8 mg/kg 体重の用量で皮下投与した結果、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 159)。^[14C]FB1 をラットに胃内投与又は静脈内投与した試験及び^[14C]FB1 をブタに経口投与した試験では、脳から FB1 が検出されたとの報告がある(参照 34, 38)。脳内に移行した FB1 が直接毒性に関与してい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分かっていないが、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 88, 160, 161, 162, 163)

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して肝臓で ROS 及び活性窒素種 (RNS) の産生が増加し、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 164)フモニシンは、スフィンゴ脂質代謝異常を介して脂質、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指摘されている。(参照 165, 166, 167, 168)

フモニシンは *in vitro* で、ヒストン及び DNA のメチル化を変化させ、染色体を不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 169, 170)

(8) 毒性試験のまとめ

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、精製物を経口投与した毒性試験を中心に確認を行った。

²³ 髄液アルブミン濃度/血中グロブリン濃度。

実験動物に精製 FB1 を経口投与した急性毒性試験では、肝臓及び腎臓に、初期に一過性の Sa 濃度上昇が認められているが、FB1 の単回投与による死亡例は報告されていない。

実験動物に精製 FB1 を経口投与した亜急性毒性試験では、実験動物のほとんどに肝毒性及び腎毒性が認められたが、マウス及びラットでは性差が認められた。FB1 の標的臓器には種差が認められた。ラット（雌雄、それぞれ一群 15 匹）に精製 FB1 を 13 週間混餌投与した結果、9 mg/kg 飼料以上の投与群の雄の腎髄質外帯の髓放線に近位尿細管細胞の変性及び壊死が認められた。最も低い NOAEL は、この雄の腎毒性を指標とした 3 mg/kg 飼料 (0.21 mg/kg 体重/日) であった。

この NOAEL に近い投与量で毒性が認められ、かつ NOAEL が確認できなかった試験が 1 件、報告されている。*p53*^{+/+}マウス及びその野生型である *p53*^{+/+}マウス (C57BL/6、雄、それぞれ一群 10 匹) に精製 FB1 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*^{+/+}マウスの全ての投与群の巨大肝細胞の発生率が用量依存的に増加した。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。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変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会の一部のリスク評価に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、本試験では、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 を混餌投与した結果、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。

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に尿細管上皮細胞のアポトーシスが観察された。雄の腎毒性を指標とした NOAEL は 5 mg/kg 飼料 (0.25 mg/kg 体重/日) であった。また、同じ試験で、雄に用量依存的な腎細胞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、腎細胞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、試験期間が不十分である、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。

遺伝毒性試験では、フモニシンは細菌を用いた復帰突然変異試験及び DNA 損傷・修復試験で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* 試験では陰性及び陽性の結果が混在した。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結果、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障害及び肝障害の 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。

そのほか、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 日のウサギ (NZW、妊娠雌、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/日以上投与群では、妊娠 29 日目の胎児で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) では、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、今回の食品安全委員会のリスク評価では 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)

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、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及びサンディエゴ並びにメキシコのティファナの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 検体の計 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) であり、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 171)

1994 年から 1995 年にかけて 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 年にかけて USDA により実施されたトウモロコシ製品の喫食量調査の結果を基に、FB1 の規制値を設定しない場合又は 0.5~3 mg/kg の規制値を設定した場合の FB1 ばく露量が推計された。規制値を設定しない場合でも、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 172)

② ブラジル

2003 年 3 月から 2005 年 1 月にかけて、ブラジリア連邦区で市販されているトウモロコシを原料とする食品 10 品目からの計 208 検体について、HPLC/蛍光法により FB1 及び FB2 (フモニシン) 濃度が測定された。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フモニシンのばく露量は、全体では 26.0 µg/人/日 (0.48 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 (7.11 µg/kg 体重/日に相当) であった。(参照 173)

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 6 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 mg/kg)。トウモロコシを原料とするそれぞれの食品中のFB1平均濃度及び39人の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の平均ばく露量は $0.063 \pm 0.058 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。(参照 174)

③ 南アフリカ共和国

2000年に、ビザナ地域及びセンテーン地域²⁴で自家栽培され、目視によりかびの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、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、ビザナ地域で $0.92 \pm 1.70 \text{ mg}/\text{kg}$ 、センテーン地域で $0.88 \pm 1.78 \text{ mg}/\text{kg}$ であり、統計的に差はみられなかった。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 $5.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、センテーン地域では $6.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。(参照 175)

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。1~9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、ビザナ地域で $379 \pm 10.5 \text{ g}/\text{人}/\text{日}$ (229人)、センテーン地域で $456 \pm 11.9 \text{ g}/\text{人}/\text{日}$ (178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年のそれぞれの地域の自家栽培のトウモロコシのFB1及びFB2 (フモニシン) 濃度を用いてフモニシンばく露量を推計した結果、18歳以上の年齢層のフモニシンばく露量は、ビザナ地域では $3.43 \pm 0.15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、センテーン地域では $8.67 \pm 0.18 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であり、センテーン地域で有意に多かった。(参照 176)

2001年から2003年にかけて、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) 濃度を測定した。ビザナ地域及び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ンの平均ばく露量は、それぞれ $3.9 \pm 7.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日及び $4.1 \pm 7.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。(参照 177)

センテーン地域で、自家栽培トウモロコシを喫食している人 (5人)、市販のトウモロコシを喫食している人 (173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 (137人) に対し、トウモロコシの喫食量が調査され

²⁴ 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。

た。平均喫食量はそれぞれ、474 g/日、344 g/日及び462 g/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 µg/kg 体重/日）、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 µg/kg 体重/日）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 178）

センテーン地域で、トウモロコシからのフモニシンばく露量の低減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当たり、通常の作り方とトウモロコシを選別及び洗浄してから用いる作り方とで、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 µg/kg 体重/日（95%信頼区間：2.87～8.14 µg/kg 体重/日）であったのに対し、選別及び洗浄した場合は1.87 µg/kg 体重/日（95%信頼区間：1.40～2.51 µg/kg 体重/日）と明らかに低下した。（参照 179）

（2）疫学研究

フモニシンによるヒトへの健康影響に関する疫学的解析により、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、食道がん及び幼児の発育遅延との関連を示唆する結果等が報告されている。フモニシンによるヒトへの健康影響に関する疫学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 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びNTDを減らす目的で葉酸を摂取させる介入研究を実施した（参照 6）。NTDサーベイランスの結果、1990年から1991年までにメキシコ系米国人女性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1989年までの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年から1989年までは10,000出産当たり10であるのに対し、1990年から1991年までは10,000出産当たり20と、2倍であった（参照 7）。

1989年の秋にはテキサス州等で、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 及びブタの PPE が発生しており、その1年半後に新生児の NTD が発生していたことから、フモニシンと NTD の関係について更に調べられた(参照 5, 180, 181)。この地域で 1990年5月から 1991年4月まで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 1997年まで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ン濃度の 2~3 倍であった。メキシコ系米国人はトルティーヤの喫食量が多く、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²⁵されることから、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米国人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 発生のリスクである可能性が示唆された(参照 7)。さらに、1993年から 1998年にかけてテキサス-メキシコ国境地帯の 14 の郡又は都市で実施された 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、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%) の母親はメキシコ系米国人女性であった。(参照 182)

「テキサス NTD プロジェクト」では、母親のフモニシンばく露が NTD 発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月までの間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米国人女性 184 人(症例群)、正常児を出産したメキシコ系米国人女性 225 人(対照群)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、産後の母親の血中 Sa/So 比並びに妊娠前及び妊娠初期それぞれ 3 か月間のトルティーヤ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 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、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 180 枚であった。妊娠初期のトルティーヤ喫食量が 100 枚以下の群と比較して、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 401 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(参照 183)。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 17)が、当該試験では、Sa/So 比 0.10 以下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 より高い場合では NTD 発生率のオッ

²⁵ 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。

ズ比は 0.7 (95%信頼区間: 0.2~2.8) と低かった。母親の推計 FB1 ばく露量は、0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以下の場合と比較すると、0.1501~0.650 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 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 0.650 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日より多い場合、オッズ比は 1.1 (95%信頼区間: 0.4~3.0) とリスクに差はみられなかった。著者らは、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 0.650 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上の場合には胎児死亡が生じて NTD 発生率が低下したと考察した。当該試験では、NTD リスク要因とされる葉酸、ビタミン B12、肥満等と NTD のリスクとに関連性は認められなかった。(参照 183)

さらに、「テキサス NTD プロジェクト」では、上記 NTD の新生児を出産したメキシコ系米国人女性 184 人 (症例群) 及び正常児を出産したメキシコ系米国人女性 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、硝酸塩及び亜硝酸塩の高摂取並びに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 6)

トルティーヤ摂取とフモニシンばく露との関連について、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に対して聞き取り調査し、トルティーヤ喫食量順に並べて、喫食量が少ない方から 25 人、多い方から 25 人及び中央値前後の 25 人の計 75 人から尿を採取し、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 $\mu\text{g}/\text{L}$ (95%信頼区間: 0.0188~0.0652 $\mu\text{g}/\text{L}$)、喫食量が多い群では、尿中 FB1 濃度が平均 0.1474 $\mu\text{g}/\text{L}$ (95%信頼区間: 0.0876~0.2480 $\mu\text{g}/\text{L}$) と、採取した 75 検体の尿中 FB1 濃度とトルティーヤ喫食量とには強い相関が示された。(参照 184)

② 食道がん等

中国、南アフリカ及び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されるトウモロコシの *F. verticillioides* 検出率及びフモニシン濃度と食道がん発生率との関連性が報告されている。(参照 21, 24, 130)

1989 年に、中国において食道がんの発生率の高い地域である臨泉 及び 食道がんの発生率の低い地域である商丘市で、それぞれ 27 検体及び 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のフザリウム属菌由来のかび毒による汚染状況が比較された。フモニシンが検出された検体の平均濃度は、臨県では、FB1が872 µg/kg及びFB2が448 µg/kgであったのに対し、商丘市では、FB1が890 µg/kg及びFB2が330 µg/kgであった。FB1の検出率は臨県で48%、商丘市で25%であった。臨県のトウモロコシ検体は、デオキシ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、フモニシン及び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、商丘市の5%に比べて、臨県では48%であった。(参照 185)

中国の臨県では、1986年3月から1991年5月にかけて食道扁平上皮癌の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。フモニシン汚染の指標として、血清中のSa及びSo濃度並びにSa/So比が用いられたが、これらの指標と食道扁平上皮癌とに相関はみられなかった。(参照 186)

中国の臨朐県では、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菌由来のか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 mg/kg)。デオキシニバレノール及び15-アセチルデオキシニバレノールといったタイプBトリコテセン類かび毒、ゼアラレノン等も検出されたが、いずれのフザリウム属菌由来のかび毒もその濃度は10 mg/kgを下回っており、著者らは胃がんのリスクの増加と発酵又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考察した。(参照 187)

南アフリカの食道がんの高発生地域及び低発生地域から、1976年から1989年にかけて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、フザリウム属菌の汚染状況が調べられた。調査の結果、*F. moniliforme*、*F. 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12検体中3検体及び12検体中12検体であり、検出された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で、全ての検体からフモニシンが検出され、その平均濃度は9.0 mg/kg及び31.54 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 188)

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年までにおける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でもセンテーン地域で多く、18~65歳の年齢層では

3.43±0.15 µg/kg 体重/日及び 8.67±0.18 µg/kg 体重/日であった。(参照 176)

食道がんの発生率が高い地域では、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食生活と関係していることも指摘されている。(参照 21)

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 村で、幼児のフモニシン摂取量と発育と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 µg/kg 体重/日 (中央値: 0.48 µg/kg 体重/日、90 パーセンタイル値: 3.99 µg/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 µg/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とに相関はみられなかったが、高ばく露群の幼児は、2 µg/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 有意に軽かった。著者らはフモニシンばく露が幼児の発育遅延に関連すると考察した。(参照 189)

(3) ヒトにおける知見のまとめ

米国の南テキサス (メキシコとの国境地帯) で、1990 年から 1991 年の間にメキシコ系米国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、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米国人女性における NTD 発生率について疫学的研究が実施され、妊娠中のフモニシンのばく露は、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。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、血清中のビタミン B12 濃度について、用量関係を確認するにはデータが不十分であった。

フモニシンの汚染状況とヒトの食道がん等の発生率とに関連がみられるとの報告があるが、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、ト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った限られた食生活の影響も指摘されており、その他のかび毒の影響の有無、フモニシンの摂取量等について十分なデータはない。

タンザニアにおける疫学研究では、幼児における PMTDI を超えるフモニシ

ンばく露は、発育遅延と関連しているとの報告がある。

4. ばく露状況

(1) 日本における汚染実態

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結果を表11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及びFB3を測定した。

調査を行った22品目中16品目で定量限界(LOQ)²⁶以上のフモニシンが検出され、検出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%(59/79)、ビール47%(33/70)、雑穀米47%(29/62)、コーンフレーク43%(52/121)、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)、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%(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)、スイートコーン3%(4/126)、生トウモロコシ2%(1/61)であった。最も検出率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、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並びに最大値が1,928.7、731.4及び369.0 µg/kgであった。次に検出率が高かったコーンスナックでは、FB1、FB2及びFB3濃度のそれぞれの6年間通年の平均値が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であった。その次に検出率が高かったポップコーンのフモニシン濃度は、FB1、FB2及びFB3濃度のそれぞれの平均値が43.3、10.1及び6.3 µg/kg並びに最大値が354.0、94.0及び64.0 µg/kgであった(参照190,191)。トウモロコシ製品のうち、生トウモロコシ、スイートコーン及びコーンスープ(粉末)は比較的検出率が低く、フモニシン濃度も低かった。雑穀米は、検出率が47%と高かったが、FB1、FB2及びFB3濃度のそれぞれの平均値は3.3、0.5及び0.5 µg/kgであった。大豆の検出率は17%で、FB1及びFB2濃度のそれぞれの平均値は0.6及び0.1 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濃度のそれぞれの平均値は、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、そば麺50検体、そば粉15検体及び小麦粉10検体では、フモニシンはLOQ未満であった。(参照190,191,192)

²⁶ 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、その他の食品が2 µg/kg。

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汚染実態調査の結果を表12に示した。調査の結果、コーングリッツ及びコーンスナックの検出率は70～100%であり、フモニシン濃度の平均値もその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。

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リッツについて、2004年度から2009年度まで及び2010年度から2015年度までの調査結果をまとめて、FB1濃度の平均値の推移を図2に示した。2007年度から2009年度までのFB1濃度が他の年度と比較して高い濃度で推移していた。

2015年度に食品安全委員会が実施した汚染実態調査では、過去の調査で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（粉末）及びシリアル・グラノーラ）からの計200検体のFB1、FB2及びFB3濃度を、LC-MS/MS法で測定した。これら9品目におけるFB1、FB2及びFB3濃度の測定結果を表13に示した。シリアル・グラノーラは、フモニシン検出率が28%と比較的高かったが、FB1、FB2及びFB3濃度は最大値でもそれぞれ8、2及び1 µg/kgであった。それ以外の食品の検出率は0～12%で、最も高い濃度は玄米の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、飼料を介したフモニシンの畜産物への移行試験の結果を表14に示した。この調査では、ウシ（ホルスタイン）に精製FB1を0又は300 mg/日²⁷の用量で28日間強制経口投与、ブタ（LWD）に精製FB1を飼料中濃度で0、1、2又は5 mg/kg²⁸を28日間混餌投与並びにニワトリ（ボリスブラウン）に精製FB1を飼料中濃度で0、1、2又は5 mg/kg²⁹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）未滿³⁰であった。（参照193）

²⁷ 一日飼料摂取量を20 kgとした。

²⁸ 1頭当たり2,500 g 飼料/日給与。

²⁹ 1羽当たり120 g 飼料/日給与。

³⁰ LOD : 9 µg/kg。

表 11 フモニシン汚染実態調査結果 (2004~2009 年度)

品目	検体数	LOQ 以上の 検体数	検出率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
				平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
				U.b.	L.b.	U.b.	L.b.	U.b.	L.b.	U.b.	L.b.	U.b.	
生トウモロコシ	61	1	2	1.0	0.0	2.1	1.0	0.0	N.D.	1.0	0.0	N.D.	10
コーンシリアル	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
コーンシリアル (ペースト・液)	70	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
コーンシリアル (粉末)	59	8	14	5.8	0.5	12.9	5.0	0.0	trace	5.0	0.0	trace	10
コーンシリアル	45	17	38	3.1	1.9	62.7	2.2	1.1	16.7	1.3	0.2	7.1	2
コーンシリアル	120	104	87	86.6	86.5	1,673.0	25.2	25.0	597.0	14.7	14.5	281.0	2
トウモロコシ	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
そば類	50	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
そば粉	15	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
乾燥イグサ	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、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 12 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 (2010～2015 年度)

品目	調査年度	検体数	LOQ 以上の検体数	検出率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ (µg/kg)
					平均値		最大値	平均値		最大値	平均値		最大値	
					U.b. (µg/kg)	L.b. (µg/kg)	(µg/kg)	U.b. (µg/kg)	L.b. (µg/kg)	(µg/kg)	U.b. (µg/kg)	L.b. (µg/kg)	(µg/kg)	
コンブ	2010	0	0	0	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2011	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	0	0	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
コンブ	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	238.0	15.6	15.5	103.0	0.5
	2014	15	15	100	108.0	108.0	281.1	45.1	45.1	143.9	22.0	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
コンブ	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	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2014	0	0	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
コンブ	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 12 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 (2010~2015) (つづき)

品目	調査 年度	検体数	LOQ 以上の 検体数	検出率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
					平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
					U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
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
ビール	2015	15	6	40	6.0	4.1	61.1	2.1	0.8	11.5	1.3	0.3	5.1	4
	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
大豆	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
	2010	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2011	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2012	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
大豆	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

検出率: 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、LOD以上かつLOQ未満の濃度をLOQの値として算出。

表 13 「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 (2015 年度)

品目	検体数	LOQ 以上の 検体数	検出率 (%)	FB1			FB2			FB3			LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
				平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均値		最大値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
				U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		U.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	L.b. ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
コーンスープ	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
アトワリ果汁	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
トースン	25	2	8	0.3	0.00	N.D.	0.6	0.08	1	0.3	0.00	N.D.	1
ヨーヨー(液体)	16	0	0	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	0.3	0.00	N.D.	1
ヨーヨー(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・グラノーラ	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、LOD 以上かつ LOQ 未満の濃度を LOQ の値として算出。

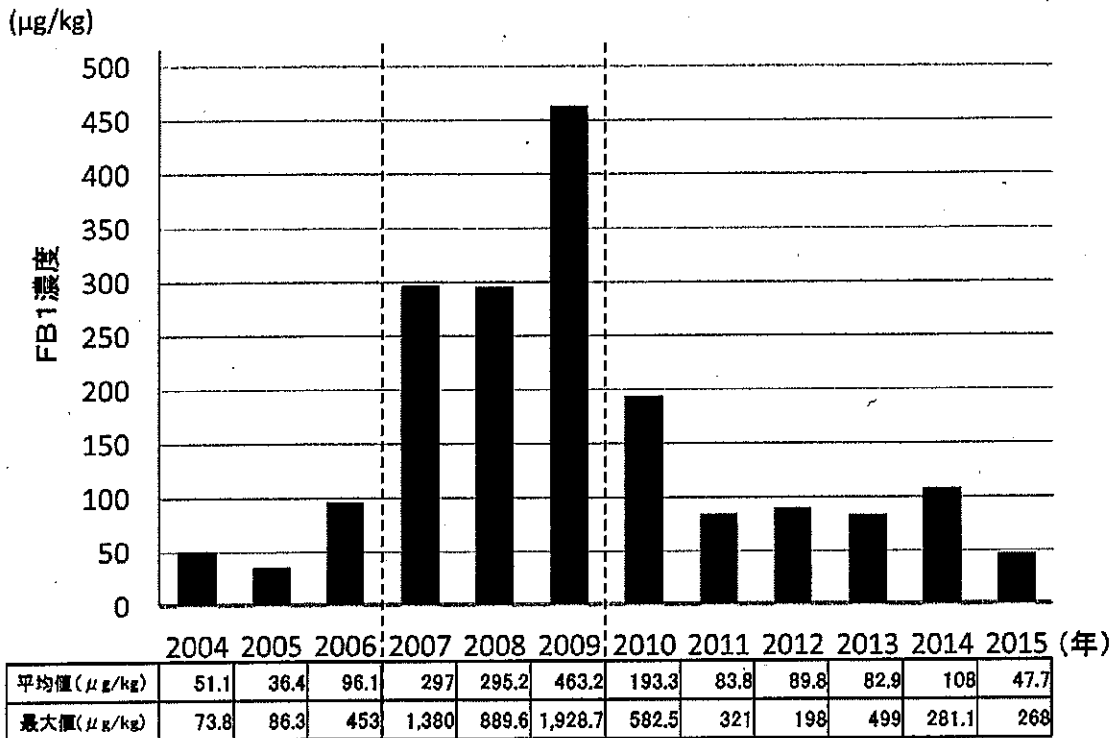
表 14 飼料中 FB1 の家畜等への移行調査の結果 (2015 年度)

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
ウシ (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、飼 料群 3 頭 15 mg/kg 飼料 群にそれぞれ	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	・対照群及び投与群のウシの乳量、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つ た。	いずれの試 料においても LOD 未 満 (※2)
ブタ (LWD、7 週齢、 雄雌)	FB1 (99.72% 及び 99.28%)	飼料中濃度: 0、 1、2 又は 5 mg/kg 飼料 (1 頭当たり 給 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 差は認められなかつた。 ・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つた。 ・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 常は認められなかつた。	いずれの試 料においても LOD 未 満
ニワトリ (ホリスアラウ ン、259 日 齢、雌)	FB1 (99.72%)	飼料中濃度: 0、 1、2 又は 5 mg/kg 飼料 (1 羽当たり 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つた。	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 法により測定

※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が大きく変動していた。このため、ばく露量の推定は複数年の汚染濃度を用いて行うことが重要である。

前述の2004年度から2009年度までのフモニシン汚染実態調査の結果及び2007年度から2010年度までに厚生労働省により実施された年齢階層別（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）又は基準値（加工食品:1,000 µg/kg、未加工品:4,000 µg/kg）を設定する場合（規制あり）の2通りのシナリオ³¹を想定して、モンテカルロシミュレーションにより日本人におけるフモニシンばく露量が推計された。

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

³¹「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。

いられた。実態調査で得られたデータ及び年齢階層別食品摂取量データを用いて³²、「規制なし: upper bound³³」、「規制なし: lower bound³⁴」、「規制あり: upper bound」及び「規制あり: lower bound」の4つの場合で実施されたモンテカルロシミュレーションの結果を表15に示した。年齢区別の体重1kg当たりのおよそ1日ばく露量は、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1kg当たりのおよそ1日ばく露量は、基準値を設定しない「規制なし」の方が、基準値を設定した「規制あり」に比べて10%程度高かった。1~6歳の階層の99パーセンタイル値は、「規制なし: upper bound」では191.56 ng/kg 体重/日、「規制あり: upper bound」では170.29 ng/kg 体重/日であった。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/日以下であった。日本におけるフモニシンばく露の主な要因はコーンスナックであることから、著者らは幼児と子供のばく露量が高くなると考察した。(参照 191)

(3) 加工・調理による影響

トウモロコシの製粉には、湿式及び乾式がある。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、タンパク質及び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、外皮及び胚芽を除去してトウモロコシを乾燥した状態で粉砕して各種の粉を得る(参照 194)。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HFBとなる。(参照 195)

150~200°C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HFB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 196)

³² 年齢層別の食品摂取量が全体の1%未満の品目について、シミュレーションの対象外とした。

³³ 検体中のフモニシン濃度がLOQ未満である場合は、濃度を「0」として算出。

³⁴ 検体中のフモニシン濃度がLOD未満である場合は、濃度をLODの、LOD以上かつLOQ未満である場合は、濃度をLOQの値として算出。

表 15 日本におけるフモニシンばく露量推計(ng/kg 体重/日)

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歳規制あり: upper bound	0.04	6.84	45.70	170.29	329.74	647.46	974.00
1-6歳規制あり: 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歳規制あり: upper bound	0.00	4.50	26.78	95.34	184.14	361.25	549.05
7-14歳規制あり: 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歳規制あり: upper bound	0.00	0.00	4.80	40.52	94.06	207.30	326.82
15-19歳規制あり: 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歳以上規制あり: upper bound	0.00	0.00	0.02	5.28	19.17	64.17	122.92
20歳以上規制あり: lower bound	0.00	0.00	0.02	5.33	19.16	64.14	122.59

シナリオ:

- ・LOQ未満はLOQの二分の一のばく露量と仮定し(upper bound)、「規制なし」とする。
- ・LOQ未満はLOQの二分の一のばく露量と仮定し(upper bound)、「規制あり」の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とする。
- ・LOQ未満はゼロと仮定し(lower bound)、「規制なし」とする。
- ・LOQ未満はゼロと仮定し(lower bound)、「規制あり」の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とする。

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 年の評価では、ラットにおける 13 週間の亜急性毒性試験(参照 72)及び慢性毒性/発がん性試験(参照 89)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、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 21)

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³⁵(参照 8, 39, 63, 66, 78)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、雄マウスの肝細胞にみられる巨大肝細胞の増加を指標(参照 66)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 100 を適用し、PMTDI 2 µg/kg 体重/日が求められた³⁶。この値は、2001 年の評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 が維持された(参照 17)。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で $0.087 \times 10^{-3} \sim 14.14$ µg/kg 体重/日、高摂取者で最大 44.8 µg/kg 体重/日と推計され、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、PMTDI を超過する可能性があるとして指摘した。また、飼料中のフモニシンについても考察し、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、飼料中のフモニシンによるヒトへの健康影響はないとした。(参照 130)

2016 年、JECFA は、2011 年の再評価以降に更新されたばく露データ並びに新たに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 年に再評価されたグループ PMTDI が維持された。(参照 197)

(2) 欧州食品安全機関 (EFSA)

EFSA の前身である欧州の食品科学委員会 (SCF) は 2000 年に FB1 について意見書を公表している(参照 23)。SCF は、ラットにおける 13 週間の亜急性毒性試験(参照 72)及びラットの発がん性試験(参照 89)に基づく NOEL 0.2 mg/kg 体重/日に不確実係数³⁷100 を適用し、TDI を 2 µg/kg 体重/日と設定した。JECFA が 2001 年にグループ PMTDI を設定したことを受け、SCF は 2002

³⁵ そのうち Bondy らのマウスを用いた 26 週間亜急性毒性試験については、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。

³⁶ 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。

³⁷ 原文では、safety factors と記載されている。

年にこの TDI をグループ TDI (FB1、FB2 及び FB3 の単独又は合計) とした。
(参照 198)

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て意見書を公表しており、この中で、各種家畜 (ブタ、家禽、ウマ、ウサギ及び魚類など) について NOAEL をまとめている (参照 22)。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、フモニシンエステラーゼによる FB1 の分解で生成する HFB1 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いる。(参照 199)

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 19)。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ら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³⁸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 PMTDI を超える可能性があるとしている。(参照 19)

(3) 国際がん研究機関 (IARC)

IARC は、1993 年に *F. verticillioides*³⁹由来かび毒⁴⁰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 200)

IARC は、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及び細胞増殖が誘発されること並びにウマの 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

³⁸ EU 加盟国の栄養調査の結果を基に推計。

³⁹ 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 年に、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。

⁴⁰ 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。

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。以上から、FB1 をグループ 2B に分類した。(参照 24)

V. 食品健康影響評価

食品安全委員会が自らの判断で行う食品健康影響評価として、フモニシンの食品健康影響評価を実施した。

フモニシンは、現在までに少なくとも 28 種の同族体が報告されており、A 群、B 群、C 群及び P 群の 4 群に分類される。フモニシン B 群には、フモニシン B1、B2 及び B3 (それぞれ FB1、FB2 及び FB3) のほか、情報は少ないがフモニシン B4 (FB4) 及びその他の B 群化合物も報告されている。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により、JECFA 及び EFSA の評価では、FB1、FB2 及び FB3 のグループ暫定最大耐容一日摂取量 (PMTDI) 及び TDI を設定している。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。

フモニシン B 群は、*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。また、近年、*Aspergillus niger* に FB2 の産生能があることが報告されている。フモニシンはウマの白質脳軟化症 (ELEM) 及びブタの肺水腫 (PPE) の原因であることが実験的又は疫学的に示されている。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。

また、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 (NTD) との関連が示唆されている。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 (未加工のトウモロコシ粒: 4,000 µg/kg、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 µg/kg) を設定している。

実験動物に経口投与した FB1 の体内への吸収率は低く、ほとんどが未変化体のまま糞中に排泄された。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検出され、筋肉及び脂肪ではほとんど検出されなかった。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を阻害し、フモニシンを投与した動物では、組織、血液、尿等のスフィンガニン (Sa) 及びスフィンゴシン (So) 濃度の上昇がみられ、このうち特に Sa 濃度が高値となることより、Sa/So 比が高くなると考えられた。

亜急性毒性試験では、精製 FB1 を経口投与した実験動物のほとんどに肝毒性又は腎毒性が認められた。マウス及びラットでは性差が認められた。FB1 の標的臓器には種差が認められた。最も低い用量で毒性が認められたのは雄ラットで、精製 FB1 を 13 週間混餌投与した試験で腎臓髄質外帯の髄放線に尿細管細胞の変性及び壊死が認められた。NOAEL は 3 mg/kg 飼料 (0.21 mg/kg 体重/日) であった。

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

雌に肝腫瘍、ラットでは雄に腎腫瘍が発生した。NTP で実施されたラットに精製 FB1 を混餌投与する 2 年間発がん性試験では、雄で用量依存的に腎腺腫及び腎細胞癌の増加が認められた。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。

遺伝毒性試験では、FB1、FB2 及び FB3 は細菌を用いた復帰突然変異試験及び DNA 損傷・修復試験においては、いずれも陰性結果を示したが、哺乳類細胞を用いた FB1 の *in vitro* 染色体異常試験及びげっ歯類を用いた *in vivo* 遺伝毒性試験においては陰性、陽性の結果が混在した。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、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。

トウモロコシを主食とするメキシコ系米国人女性における NTD 発生率についての疫学的研究によると、妊娠中のフモニシンのばく露は、出生児の NTD リスクを増加させる要因となる可能性が示されているが、フモニシンのみが NTD の原因物質であると結論付けることのできる十分な根拠は得られていない。

また、フモニシンの汚染状況とヒトの食道がんの発生率とに関連がみられるとの報告や、幼児における PMTDI を超えるフモニシンばく露と幼児の発育遅延とに関連がみられるとの報告があるが、明らかな根拠はない。

以上を踏まえ、食品安全委員会は、フモニシンは非遺伝毒性発がん物質と判断し、TDI を設定することが可能であると考えた。フモニシンのヒトへの影響を調べた知見は限られており、用量反応関係の検討に利用可能なデータがないことから、動物を用いた試験の結果に基づいた評価を実施した。最も低い用量で得られた NOAEL (ラットの亜急性毒性試験) は、0.21 mg/kg 体重/日であった。この NOAEL に、不確実係数 100 (種差 10、個体差 10) を適用して、フモニシン (FB1、FB2 及び FB3 の単独又は合計) の TDI を 2 µg/kg 体重/日と設定した。

日本におけるフモニシンばく露量を推計する目的で、2004 年度から 2015 年度まで、国内に流通する市販食品のフモニシンの汚染実態調査が実施された。その結果、いずれの調査においても、コーングリッツ、コーンスナック、ポップコーン及びコーンフレークから 50%以上の検出頻度でフモニシンが検出された。検出されたフモニシンの平均濃度は、FB1 が最も高く、FB1 > FB2 > FB3 の濃度順であった。なお、2004 年度から 2015 年度までのコーングリッツのフモニシン平均濃度の推移をみると、2007 年度から 2009 年度にかけて高い濃度 (2009 年度: 463.2 µg/kg) であり、その後低い濃度で推移 (2011 年度~2015 年度: 47.7~108 µg/kg) していた。

次いでこのような年次変動も考慮に入れ、2004年度から2009年度までの汚染実態調査の結果から、喫食量の多いコーンスナック、コーンフレーク、雑穀米、ビール及びポップコーンのデータを用いて、モンテカルロシミュレーションによるばく露量推計を実施した。その結果、年齢区分別の体重1 kg当たり一日ばく露量は、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。1～6歳の階層の99パーセンタイル値は、「規制なし: upper bound」の場合では191.56 ng/kg 体重/日、基準値（加工食品: 1,000 µg/kg、未加工品: 4,000 µg/kg）を設定する「規制あり: upper bound」の場合では170.29 ng/kg 体重/日であった。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/日以下であった。

飼料からの畜産物へのフモニシンの移行試験を行った結果、ウシ、ブタ、ニワトリの筋肉、脂肪、乳、鶏卵等のいずれも検出限界未満であった。

以上のばく露推計結果から、フモニシンのばく露量は高リスク消費者においても今回設定したTDIを下回っていると推定されることから、食品からのフモニシンの摂取が一般的な日本人の健康に悪影響を及ぼす可能性は低いものと考えられる。

かび毒の汚染は、作物が収穫された年の気候等に影響され、前述のコーングリッツのフモニシン濃度の推移が示すように、年による変動が大きいことが推測される。したがって、リスク管理機関において、フモニシン汚染状況のモニタリングを行うとともに、その結果を踏まえて規格基準について検討することが望ましいと考えられる。

また、別添2で整理したモディファイドフモニシンについては、知見が限られていることから、引き続き新しい知見を収集することが望ましいと考えられる。

<別紙：略称>

略称	名称
2-AAF	2-アセチルアミノフルオレン
AChE	アセチルコリンエステラーゼ
AIC	赤池情報量基準
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	アルカリフォスファターゼ
APC	抗原提示細胞
ARfD	急性参照用量
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BALB/3T3	マウス胎仔線維芽細胞由来細胞株
Bax	Bcl-2 ファミリータンパク質
Bcl-X _L	Bcl-2 ファミリータンパク質
Bcl-2	B 細胞リンパ腫-2 タンパク質
BMD	ベンチマークドーズ
BMDL	BMD の 95%信頼区間の下限值
BMR	ベンチマーク反応
BV-2	マウスミクログリア由来細胞株
C6	ラット神経膠芽腫由来細胞株
CAS	ケミカル・アブストラクト・サービス
CD4+	細胞表面に CD4 を発現 (CD4 陽性)
CD8+	細胞表面に CD8 を発現 (CD8 陽性)
CerS1	セラミド合成酵素 1
CerS2	セラミド合成酵素 2
CerS4	セラミド合成酵素 4
CerS6	セラミド合成酵素 6
C _{max}	最高濃度
Con A	コンカナバリン A (レクチン)
CPN	慢性進行性腎症
Cr	クレアチニン
DEN	ジエチルニトロサミン
DNCB	ジニトロクロロベンゼン
EFSA	欧州食品安全機関
ELEM	ウマの白質脳軟化症 (equine leukoencephalomalacia)
EPA	米国環境保護庁
ESI-MS	エレクトロスプレーイオン化質量分析
ETEC	腸管毒素原性大腸菌
EU	欧州連合

略称	名称
FA1	フモニシン A1
FA2	フモニシン A2
FA3	フモニシン A3
FAK1	フモニシン AK1
FB1	フモニシン B1
FB2	フモニシン B2
FB3	フモニシン B3
FB4	フモニシン B4
FC1	フモニシン C1
FC2	フモニシン C2
FC3	フモニシン C3
FC4	フモニシン C4
FP1	フモニシン P1
FP2	フモニシン P2
FP3	フモニシン P3
FTY 720	フィンゴリモド、開発コード: FTY720
GGT	γ -グルタミルトランスぺプチターゼ (γ -GTP)
GM-02937	ヒト皮膚繊維芽細胞株
GPI	グリコシルホスファチジルイノシトール
GST-P	胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ
GT1-7	マウス視床下部神経細胞由来細胞株
Hek	ヒト胎児由来腎細胞株
HepG2	ヒト肝臓がん由来細胞株
Hep3B	ヒト肝臓がん由来細胞株
HFB	加水分解フモニシン
IARC	国際がん研究機関
IC ₅₀	50% 阻害濃度
IFN- γ	インターフェロン- γ
IGF-1	インシュリン様成長因子 1
IL-1 β	インターロイキン-1 β
IL-2	インターロイキン-2
IL-4	インターロイキン-4
IL-6	インターロイキン-6
IL-8	インターロイキン-8
IL-10	インターロイキン-10
IL-12	インターロイキン-12
IL-18	インターロイキン-18

略称	名称
IPEC-1	ブタ腸管上皮由来培養細胞
IUPAC	国際純正・応用化学連合
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LB	下界
LC-MS	液体高速クロマトグラフ質量分析計
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最少毒性量
LOD	検出限界
LOQ	定量限界
LPS	リポ多糖
LLC-PK1	ブタ腎近位尿細管由来上皮細胞株
Mcl-1	Bcl-2 ファミリータンパク質
MHC-II	主要組織適合遺伝子複合体クラス II 分子
N2A	Neuro 2A cell (神経芽腫由来細胞株)
NAG	N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ
NCE	正染性赤血球
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
NTD	神経管閉鎖障害 (Neural tube defects)
NTP	米国国家毒性プログラム
NZW	ニュージーランドホワイト種 (ウサギ)
PCB	ポリ塩化ビフェニール
PCE	多染性赤血球
PFC	プラーク形成細胞
PHA	フィトヘマグルチニン
PHA-P	フィトヘマグルチニン-P
PHFB	部分加水分解フモニシン
PK15	ブタ腎上皮細胞由来細胞株
PMTDI	暫定最大耐容一日摂取量
PPAR	ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体
PPE	ブタの肺水腫 (porcine pulmonary edema)
PRRSV	豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス
RBC	赤血球
RNS	活性窒素種
ROS	活性酸素種
RT-PCR	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
Sa	スフィンガニン

略称	名称
Sa1P	スフィンガニン-1-リン酸
SCF	食品科学委員会 (EFSA の前身)
SH-SY5Y	ヒト神経芽腫由来細胞株
So	スフィンゴシン
S1P	スフィンゴシン-1-リン酸
TDI	耐容一日摂取量
TG	中性脂肪
TNF	腫瘍壊死因子
U-118MG	ヒト神経膠芽腫由来細胞株
UB	上界
USDA	米国農務省
v-Ha-ras 遺伝子	ウイルス由来のがん遺伝子
WBC	白血球

<参照>

1. W. C. Gelderblom, K. Jaskiewicz, W. F. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R. Vleggaar and N. P. Kriek, Fumonisin--novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, 1988. 54(7):1806-1811.
2. N. P. Kriek, T. S. Kellerman and W. F. Marasas, A comparative study of the toxicity of *fusarium verticillioides* (= *f. moniliforme*) to horses, primates, pigs, sheep and rats. *Onderstepoort J Vet Res*, 1981. 48(2):129-131.
3. 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(4):269-275.
4. 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(4):197-203.
5. L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr., Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *fusarium moniliforme*. *J Vet Diagn Invest*, 1990. 2(3):217-221.
6. L. Suarez, M. Felkner, J. D. Brender, M. Canfield, H. Zhu and K. A. Hendricks, Neural tube defects on the Texas-Mexico border: what we've learned in the 20 years since the brownsville cluster. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2012. 94(11):882-892.
7. K. Hendricks, Fumonisin and neural tube defects in south Texas. *Epidemiology*, 1999. 10(2):198-200.
8. NTP, 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, 2001. TR-496.
9. CCCF (CODEX Alimentarius), General standard for contaminants and toxins in food and feed (codex stan 193-1995). 2014.
10. CCCF (CODEX Alimentarius), Code of practice for the prevention and reduction of mycotoxin contamination in cereals (cac/rep 51-2003). 2016.
11. EFSA, Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins for maize and maize products. *EFSA Journal*, 2014. 12(5):3699.
12. EC, Commission regulation (EC) no 1126/2007: amending regulation (EC) no 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *fusarium* toxins in maize and maize products. *Official Journal of the European Union*, 2007.
13. National Grain and Feed Association (U.S.), Fda guidance to industry on fumonisin. *FDA Mycotoxin Regulatory Guidance - a guide for grain elevators, feed manufacturers, grain processors and exporters*. 2011:7-10.

14. 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(10):3833-3846.
15. J. P. Rheeder, W. F. Marasas and H. F. Vismer, Production of fumonisin analogs by fusarium species. *Appl Environ Microbiol*, 2002. 68(5):2101-2105.
16. the International Programme on Chemical Safety (IPCS), Fumonisin B1. *Environmental Health Criteria Monographs*, 2000. EHC 219.
17. JECFA, Fumonisin. Evaluation of certain contaminants in food, 2011. seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(WHO technical report series 966):70-94.
18. A. Desjardins, Fumonisin. In *fusarium mycotoxins: chemistry, genetics, and biology*. The American Phytopathological Society, U.S.A., 2006. Chapter 3.
19. 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(12):3916.
20. 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(4):197-205.
21. JECFA, Fumonisin. Safety evaluation of certain mycotoxins in food, 2001. WHO food additives series 47.
22. 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, *EFSA Journal*, 2005. 235:1-32.
23. SCF, Opinion of the scientific committee on food on fusarium toxins part 3: fumonisin B1 (FB1). opinion of the scientific committee on food, 2000.
24. IARC, Fumonisin B1. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, 2002. 82:301-366.
25. 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(Pt 2):154-160.
26. Council for Agricultural Science and Technology, *Mycotoxins: risks in plant, animal, and human systems*. Task Force report No. 139, 2003.
27. 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(23):9727-9732.
28. 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(8):1136-1141.
29. W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss, Effects of selected secondary metabolites of fusarium moniliforme on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol*, 1992. 30(3):233-237.

30. C. Brera, F. Debegnach, S. Grossi and M. Miraglia, Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B1 in dry milling corn fractions. *J Food Prot*, 2004. 67(6):1261-1266.
31. CCCF (CODEX Alimentarius), Discussion paper on proposed draft maximum levels for fumonisins in maize and maize-products and associated sampling plans. 2012. sixth session of the Codex Committee on Contaminants in Foods(CX/CF 12/6/18):1-31.
32. C. Y. Warfield and D. G. Gilchrist, Influence of kernel age on fumonisin B1 production in maize by *fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol*, 1999. 65(7):2853-2856.
33. M. R. Martinez-Larranaga, A. Anadon, M. J. Diaz, M. L. Fernandez-Cruz, M. A. Martínez, M. T. Frejo, M. Martinez, R. Fernandez, R. M. Anton, M. E. Morales and M. Tafur, Toxicokinetics and oral bioavailability of fumonisin B1. *Vet Hum Toxicol*, 1999. 41(6):357-362.
34. D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. A. Rotter, J. D. Miller, M. E. Savard, J. M. Yeung and P. M. Scott, Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. *Adv Exp Med Biol*, 1996. 392:265-278.
35. D. B. Prelusky, Savard, M.E., Trenholm, H.L., Pilot study on the plasma pharmacokinetics of fumonisin B1 in cows following a single dose by oral gavage or intravenous administration. *Nat. Toxins*, 1995. 3:389-394.
36. J. Fodor, K. Balogh, M. Weber, M. Miklos, L. Kametler, R. Posa, R. Mamet, J. Bauer, P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs, Absorption, distribution and elimination of fumonisin B1 metabolites in weaned piglets. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2008. 25(1):88-96.
37. J. Szabo-Fodor, L. Kametler, R. Roland Posa, R. Rene Mamet, V. Rajli, J. Bauer, P. Horn, F. Kovacs and M. Kovacs, Kinetics of fumonisin B1 in pigs and persistence in tissues after ingestion of a diet containing a high fumonisin concentration. *Cereal Res. Commun*, 2008. 36(Supplement 6):331-336.
38. W. P. Norred, R. D. Plattner and W. J. Chamberlain, Distribution and excretion of [¹⁴C]fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. *Nat Toxins*, 1993. 1(6):341-346.
39. 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(1):335-345.
40. W. R. Dantzer, J. Hopper, K. Mullin, S. Hendrich and P. A. Murphy, Excretion of ¹⁴C-fumonisin B1, ¹⁴C-hydrolyzed fumonisin B1, and ¹⁴C-fumonisin B1-fructose in rats. *J Agric Food Chem*, 1999. 47(10):4291-6.
41. 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(7):2618-2625.
42. Q. Cai, L. Tang and J. S. Wang, Validation of fumonisin biomarkers in f344 rats.

- Toxicol Appl Pharmacol, 2007. 225(1):28-39.
43. 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(7):795-804.
 44. 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(2-3):351-5.
 45. 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(3):157-162.
 46. 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. *Toxicol*, 1994. 32(6):735-41.
 47. 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(9):1445-1455.
 48. 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.
 49. 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(22):14486-14490.
 50. 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(8):1706-1716.
 51. 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(4):594-603.
 52. G. S. Shephard, L. Van Der Westhuizen and V. Sewram, Biomarkers of exposure to fumonisin mycotoxins: a review. *Food Addit Contam*, 2007. 24(10):1196-1201.
 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(1-2):73-78.
 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(1):63-70.
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 B2 or B3. *Environ Toxicol Pharmacol*, 1997. 3(3):221-228.
 56. J. H. Kouadio, S. Moukha, K. Brou and D. Gnakri, Lipid metabolism disorders, lymphocytes cells death, and renal toxicity induced by very low levels of deoxynivalenol and fumonisin B1 alone or in combination following 7 days oral administration to mice. *Toxicol Int*, 2013. 20(3):218-23.
 57. E. N. Enongene, R. P. Sharma, N. Bhandari, J. D. Miller, F. I. Meredith, K. A. Voss and R. T. Riley, Persistence and reversibility of the elevation in free sphingoid bases induced by fumonisin inhibition of ceramide synthase. *Toxicol Sci*, 2002. 67(2):173-81.
 58. N. Bhandari and R. P. Sharma, Fumonisin B1-induced alterations in cytokine expression and apoptosis signaling genes in mouse liver and kidney after an acute exposure. *Toxicology*, 2002. 172(2):81-92.
 59. C. McKean, L. Tang, M. Tang, M. Billam, Z. Wang, C. W. Theodorakis, R. J. Kendall and J. S. Wang, Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and fumonisin B1 in animals and human cells. *Food Chem Toxicol*, 2006. 44(6):868-76.
 60. A. Domijan, D. Zeljezic, M. Peraica, G. Kovacevic, G. Gregorovic, Z. Krstanac, K. Horvatin and M. Kalafatic, Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver. *Hum Exp Toxicol*, 2008. 27(12):895-900.
 61. K. A. Voss, J. Liu, S. P. Anderson, C. Dunn, J. D. Miller, J. R. Owen, R. T. Riley, C. W. Bacon and J. C. Corton, Toxic effects of fumonisin in mouse liver are independent of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Toxicol Sci*, 2006. 89(1):108-19.
 62. G. S. Bondy, C. A. Suzuki, S. M. Fernie, C. L. Armstrong, S. L. Hierlihy, M. E. Savard and M. G. Barker, Toxicity of fumonisin B1 to B6C3F1 mice: a 14-day gavage study. *Food Chem Toxicol*, 1997. 35(10-11):981-9.
 63. 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 B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2002. 185(3):153-165.
 64. K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. A. Herbert, D. B. Walters and W. P. Norred, Subchronic feeding study of the mycotoxin fumonisin F1 in B6C3F1 mice and Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol*, 1995. 24(1):102-10.
 65. A. M. Alizadeh, F. Mohammadghasemi, K. Zendehtel, Z. Kamyabi-Moghaddam, A. Tavassoli, F. Amini-Najafi and A. Khosravi, Apoptotic and proliferative activity of mouse gastric mucosa following oral administration of fumonisin B1. *Iran J Basic Med Sci*, 2015. 18(1):8-13.

66. 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(10):3604-3613.
67. G. Bondy, M. Barker, R. Mueller, S. Fernie, J. D. Miller, C. Armstrong, S. L. Hierlihy, P. Rowsell and C. Suzuki, Fumonisin B1 toxicity in male Sprague-Dawley rats. *Adv Exp Med Biol*, 1996. 392:251-64.
68. G. S. Bondy, C. A. Suzuki, R. W. Mueller, S. M. Fernie, C. L. Armstrong, S. L. Hierlihy, M. E. Savard and M. G. Barker, Gavage administration of the fungal toxin fumonisin B1 to female Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A*, 1998. 53(2):135-51.
69. B. G. Tryphonas H , Miller JD , Lacroix F , Hodgen M , Mcguire P , Fernie S , Miller D , Hayward S Effects of fumonisin B1 on the immune system of Sprague-Dawley rats following a 14-day oral (gavage) exposure. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1997. 39:53-9.
70. W. H. Tolleson, K. L. Dooley, W. G. Sheldon, J. D. Thurman, T. J. Bucci and P. C. Howard, The mycotoxin fumonisin induces apoptosis in cultured human cells and in livers and kidneys of rats. *Adv Exp Med Biol*, 1996. 392:237-250.
71. K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon and W. P. Norred, A preliminary investigation on renal and hepatic toxicity in rats fed purified fumonisin B1. *Nat Toxins*, 1993. 1(4):222-228.
72. 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(3):473-478.
73. I. P. Oswald, C. Desautels, J. Laffitte, S. Fournout, S. Y. Peres, M. Odin, P. Le Bars, J. Le Bars and J. M. Fairbrother, Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic escherichia coli in pigs. *Appl Environ Microbiol*, 2003. 69(10):5870-4.
74. B. A. Rotter, B. K. Thompson, D. B. Prelusky, H. L. Trenholm, B. Stewart, J. D. Miller and M. E. Savard, 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):42-50.
75. C. Dresden Osborne, G. Pittman Noblet, E. N. Enongene, C. W. Bacon, R. T. Riley and K. A. Voss, 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):1789-98.
76. K. A. Voss, R. D. Plattner, R. T. Riley, F. I. Meredith and W. P. Norred, 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):45-58.
77. F. A. Gbore, R. I. Yinusa and B. Salleh, Evaluation of subchronic dietary fumonisin

- B1 on nutrient digestibility and growth performance of rats. *African J Biotech*, 2010. 9(38):6442-6447.
78. 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(Suppl 2):S312-S320.
 79. M. G. Theumer, A. G. Lopez, D. T. Masih, S. N. Chulze and H. R. Rubinstein, Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002. 9(1):149-55.
 80. E. O. Ewuola, F. A. Gbore, J. T. Ogunlade, R. Bandyopadhyay, J. Niezen and G. N. Egbunike, Physiological response of rabbit bucks to dietary fumonisin: performance, haematology and serum biochemistry. *Mycopathologia*, 2008. 165(2):99-104.
 81. E. O. Ewuola, Organ traits and histopathology of rabbits fed varied levels of dietary fumonisin B1. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2009. 93(6):726-31.
 82. E. O. Ewuola and G. N. Egbunike, Haematological and serum biochemical response of growing rabbit bucks fed dietary fumonisin B1. *African J Biotech*, 2008. 7(23):4304-4309.
 83. B. Grenier, A. P. Bracarense, H. E. Schwartz, C. Trumel, A. M. Cossalter, G. Schatzmayr, M. Kolf-Clauw, W. D. Moll and I. P. Oswald, The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B1 correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. *Biochem Pharmacol*, 2012. 83(10):1465-1473.
 84. F. A. Gbore, Growth performance and puberty attainment in growing pigs fed dietary fumonisin B1. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2009. 93(6):761-7.
 85. D. Tardieu, J. D. Bailly, F. Skiba, J. P. Metayer, F. Grosjean and P. Guerre, Chronic toxicity of fumonisins in turkeys. *Poult Sci*, 2007. 86(9):1887-93.
 86. S. T. Tran, A. Auvergne, G. Benard, J. D. Bailly, D. Tardieu, R. Babile and P. Guerre, Chronic effects of fumonisin B1 on ducks. *Poult Sci*, 2005. 84(1):22-8.
 87. E. N. Tessari, C. A. Oliveira, A. L. Cardoso, D. R. Ledoux and G. E. Rottinghaus, Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks. *Br Poult Sci*, 2006. 47(3):357-64.
 88. P. C. Howard, R. M. Eppley, M. E. Stack, A. Warbritton, K. A. Voss, R. J. Lorentzen, R. M. Kovach and T. J. Bucci, Fumonisin B1 carcinogenicity in a two-year feeding study using F344 rats and B6C3F1 mice. *Environ Health Perspect*, 2001. 109 Suppl 2:277-82.
 89. 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(3):379-86.
 90. W. C. Gelderblom, N. P. Kriek, W. F. Marasas and P. G. Thiel, Toxicity and carcinogenicity of the fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1, in rats. *Carcinogenesis*, 1991. 12(7):1247-1251.

91. W. C. Gelderblom, S. Lebepe-Mazur, P. W. Snijman, S. Abel, S. Swanevelder, N. P. Kriek and W. F. Marasas, Toxicological effects in rats chronically fed low dietary levels of fumonisin B1. *Toxicology*, 2001. 161(1-2):39-51.
92. W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber, The cancer-initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis*, 1992. 13(3):433-437.
93. W. C. Gelderblom, M. E. Cawood, S. D. Snyman and W. F. Marasas, Fumonisin B1 dosimetry in relation to cancer initiation in rat liver. *Carcinogenesis*, 1994. 15(2):209-214.
94. W. C. Gelderblom, D. Galendo, S. Abel, S. Swanevelder, W. F. Marasas and C. P. Wild, Cancer initiation by fumonisin B1 in rat liver--role of cell proliferation. *Cancer Lett*, 2001. 169(2):127-137.
95. W. C. Gelderblom, S. D. Snyman, S. Lebepe-Mazur, L. van der Westhuizen, N. P. Kriek and W. F. Marasas, The cancer-promoting potential of fumonisin B1 in rat liver using diethylnitrosamine as a cancer initiator. *Cancer Lett*, 1996. 109(1-2):101-108.
96. S. M. Gross, R. V. Reddy, G. E. Rottinghaus, G. Johnson and C. S. Reddy, Developmental effects of fumonisin B1-containing fusarium moniliforme culture extract in CD1 mice. *Mycopathologia*, 1994. 128(2):111-8.
97. R. V. Reddy, G. Johnson, G. E. Rottinghaus, S. W. Casteel and C. S. Reddy, Developmental effects of fumonisin B1 in mice. *Mycopathologia*, 1996. 134(3):161-166.
98. T. F. Collins, M. E. Shackelford, R. L. Sprando, T. N. Black, J. B. Laborde, D. K. Hansen, R. M. Eppley, M. W. Trucksess, P. C. Howard, M. A. Bryant, D. I. Ruggles, N. Olejnik and J. I. Rorie, Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. *Food Chem Toxicol*, 1998. 36(5):397-408.
99. T. F. Collins, R. L. Sprando, T. N. Black, M. E. Shackelford, J. B. Laborde, D. K. Hansen, R. M. Eppley, M. W. Trucksess, P. C. Howard, M. A. Bryant, D. I. Ruggles, N. Olejnik and J. I. Rorie, Effects of fumonisin B1 in pregnant rats. Part 2. *Food Chem Toxicol*, 1998. 36(8):673-685.
100. K. A. Voss, C. W. Bacon, W. P. Norred, R. E. Chapin, W. J. Chamberlain, R. D. Plattner and F. I. Meredith, 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):24-33.
101. M. A. Abdel-Wahhab, A. M. Hassan, H. A. Amer and K. M. Naguib, Prevention of fumonisin-induced maternal and developmental toxicity in rats by certain plant extracts. *J Appl Toxicol*, 2004. 24(6):469-474.
102. J. Gelineau-van Waes, L. Starr, J. Maddox, F. Aleman, K. A. Voss, J. Wilberding and R. T. Riley, 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):487-497.

103. K. A. Voss, R. T. Riley and J. Gelineau-van Waes, Fetotoxicity and neural tube defects in CD1 mice exposed to the mycotoxin fumonisin B1. *JSM Mycotoxins*, 2006. 2006(Suppl4):67-72.
104. K. A. Voss, J. B. Gelineau-van Waes and R. T. Riley, Fumonisin: current research trends in developmental toxicology. *Mycotoxin Res*, 2006. 22(1):61-69.
105. J. B. LaBorde, K. K. Terry, P. C. Howard, J. J. Chen, T. F. Collins, M. E. Shackelford and D. K. Hansen, Lack of embryotoxicity of fumonisin B1 in New Zealand white rabbits. *Fundam Appl Toxicol*, 1997. 40(1):120-128.
106. T. J. Bucci, D. K. Hansen and J. B. LaBorde, Leukoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1. *Nat Toxins*, 1996. 4(1):51-2.
107. E. O. Ewuola and G. N. Egbunike, Effects of dietary fumonisin B1 on the onset of puberty, semen quality, fertility rates and testicular morphology in male rabbits. *Reproduction*, 2010. 139(2):439-445.
108. E. O. Ewuola and G. N. Egbunike, Gonadal and extra-gonadal sperm reserves and sperm production of pubertal rabbits fed dietary fumonisin B1. *Anim Reprod Sci*, 2010. 119(3-4):282-286.
109. F. Gbore and O. Akele, Growth performance, haematology and serum biochemistry of female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) fed dietary fumonisin. *Veterinary Archives*, 2010. 80(3):431-443.
110. F. A. Gbore and G. N. Egbunike, Testicular and epididymal sperm reserves and sperm production of pubertal boars fed dietary fumonisin B1. *Anim Reprod Sci*, 2008. 105(3-4):392-397.
111. F. A. Gbore, Reproductive organ weights and semen quality of pubertal boars fed dietary fumonisin B1. *Animal*, 2009. 3(8):1133-1137.
112. T. W. Sadler, A. H. Merrill, V. L. Stevens, M. C. Sullards, E. Wang and P. Wang, Prevention of fumonisin B1-induced neural tube defects by folic acid. *Teratology*, 2002. 66(4):169-76.
113. C. Cortinovis, F. Caloni, N. B. Schreiber and L. J. Spicer, Effects of fumonisin B1 alone and combined with deoxynivalenol or zearalenone on porcine granulosa cell proliferation and steroid production. *Theriogenology*, 2014. 81(8):1042-1049.
114. F. Minervini, G. M. Lacalandra, A. Filannino, A. Garbetta, M. Nicassio, M. E. Dell'aquila and A. Visconti, 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):2072-2078.
115. W. C. Gelderblom and S. D. Snyman, Mutagenicity of potentially carcinogenic mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Mycotoxin Res*, 1991. 7(2):46-52.
116. A. M. Domijan and A. Y. Abramov, Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis-implication to mechanism of cell toxicity. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011. 43(6):897-904.

117. D. L. Park, S. M. Rua, Jr., C. J. Mirocha, E. S. Abd-Alla and C. Y. Weng, Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia decontamination procedure. *Mycopathologia*, 1992. 117(1-2):105-108.
118. S. Knasmuller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom, E. Zohrer and P. M. Eckl, 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):39-48.
119. V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Zsivkovits and S. Knasmueller, Fumonisin B1 is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis*, 2002. 17(3):257-260.
120. M. Aranda, L. P. Perez-Alzola, M. F. Ellahuene and C. Sepulveda, Assessment of in vitro mutagenicity in salmonella and in vivo genotoxicity in mice of the mycotoxin fumonisin B1. *Mutagenesis*, 2000. 15(6):469-471.
121. D. Lerda, M. Biaggi Bistoni, N. Peralta, S. Ychari, M. Vazquez and G. Bosio, Fumonisin in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 2005. 43(5):691-698.
122. M. Klaric, S. Pepeljnjak and R. Rozgaj, 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):139-146.
123. R. Karuna and B. S. Rao, Lack of micronuclei induction by fumonisin B1 mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Res*, 2013. 29(1):9-15.
124. A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica, Fumonisin B1: oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*, 2007. 232(3):163-169.
125. G. Pocsfalvi, A. Ritieni, G. Randazzo, A. Dobo and A. Malorni, Interaction of fusarium mycotoxins, fusaproliferin and fumonisin B1, with DNA studied by electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chem*, 2000. 48(12):5795-5801.
126. C. W. Sheu, I. Rodriguez, R. M. Eppley and J. K. Lee, Lack of transforming activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. *Food Chem Toxicol*, 1996. 34(8):751-753.
127. A. Sakai, C. Suzuki, Y. Masui, A. Kuramashi, K. Takatori and N. Tanaka, 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):103-111.
128. M. F. Osuchowski, G. L. Edwards and R. P. Sharma, 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):211-221.
129. F. A. Gbore, Brain and hypophyseal acetylcholinesterase activity of pubertal boars fed dietary fumonisin B1. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2010. 94(5):e123-9.

130. JECFA, Fumonisin (addendum). Safety evaluation of certain food additives and contaminants, 2012. seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(WHO food additives series 65):325-794.
131. H. Stockmann-Juvala, J. Mikkola, J. Naarala, J. Loikkanen, E. Elovaara and K. Savolainen, Fumonisin B1-induced toxicity and oxidative damage in U-118MG glioblastoma cells. *Toxicology*, 2004. 202(3):173-83.
132. H. Stockmann-Juvala, J. Naarala, J. Loikkanen, K. Vahakangas and K. Savolainen, Fumonisin B1-induced apoptosis in neuroblastoma, glioblastoma and hypothalamic cell lines. *Toxicology*, 2006. 225(2-3):234-41.
133. M. F. Osuchowski and R. P. Sharma, 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):981-92.
134. V. J. Johnson and R. P. Sharma, Gender-dependent immunosuppression following subacute exposure to fumonisin B1. *Int Immunopharmacol*, 2001. 1(11):2023-34.
135. S. Bouhet, E. Le Dorze, S. Peres, J. M. Fairbrother and I. P. Oswald, 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):1768-73.
136. I. Taranu, D. E. Marin, S. Bouhet, F. Pascale, J. D. Bailly, J. D. Miller, P. Pinton and I. P. Oswald, Mycotoxin fumonisin B1 alters the cytokine profile and decreases the vaccinal antibody titer in pigs. *Toxicol Sci*, 2005. 84(2):301-7.
137. B. Devriendt, M. Gallois, F. Verdonck, Y. Wache, D. Bimczok, I. P. Oswald, B. M. Goddeeris and E. Cox, The food contaminant fumonisin B1 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):40.
138. D. J. Halloy, P. G. Gustin, S. Bouhet and I. P. Oswald, Oral exposure to culture material extract containing fumonisins predisposes swine to the development of pneumonitis caused by *pasteurellamultocida*. *Toxicology*, 2005. 213(1-2):34-44.
139. C. M. Ramos, E. M. Martinez, A. C. Carrasco, J. H. L. Puente, F. Quezada, J. T. Perez, I. P. Oswald and S. M. Elvira, Experimental trial of the effect of fumonisin B1 and the prrs virus in swine. *J Anim Vet Advances*, 2010. 9(9):1301-1310.
140. D. E. Marin, I. Taranu, F. Pascale, A. Lionide, R. Burlacu, J. D. Bailly and I. P. Oswald, Sex-related differences in the immune response of weanling piglets exposed to low doses of fumonisin extract. *Br J Nutr*, 2006. 95(6):1185-92.
141. G. Tornyo, M. Kovacs, M. Rusvai, P. Horn, J. Fodor and F. Kovacs, Effect of dietary fumonisin B1 on certain immune parameters of weaned pigs. *Acta Vet Hung*, 2003. 51(2):171-9.
142. C. Burel, M. Tanguy, P. Guerre, E. Boilletot, R. Cariolet, M. Queguiner, G. Postollec, P. Pinton, G. Salvat, I. P. Oswald and P. Fravallo, Effect of low dose of fumonisins on pig health: immune status, intestinal microbiota and sensitivity to salmonella.

- Toxins (Basel), 2013. 5(4):841-64.
143. D. Sharma, R. K. Asrani, D. R. Ledoux, N. Jindal, G. E. Rottinghaus and V. K. Gupta, Individual and combined effects of fumonisin B1 and moniliformin on clinicopathological and cell-mediated immune response in Japanese quail. *Poult Sci*, 2008. 87(6):1039-51.
 144. Q. He, H. Suzuki, N. Sharma and R. P. Sharma, Ceramide synthase inhibition by fumonisin B1 treatment activates sphingolipid-metabolizing systems in mouse liver. *Toxicol Sci*, 2006. 94(2):388-397.
 145. S. Milstien and S. Spiegel, Targeting sphingosine-1-phosphate: a novel avenue for cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2006. 9(3):148-150.
 146. M. Levy and A. H. Futerman, Mammalian ceramide synthases. *IUBMB Life*, 2010. 62(5):347-356.
 147. N. Loiseau, A. Polizzi, A. Dupuy, N. Therville, M. Rakotonirainy, J. Loy, J. L. Viadere, A. M. Cossalter, J. D. Bailly, O. Puel, M. Kolf-Clauw, J. Bertrand-Michel, T. Levade, H. Guillou and I. P. Oswald, New insights into the organ-specific adverse effects of fumonisin B1: comparison between lung and liver. *Arch Toxicol*, 2015. 89(9):1619-1629.
 148. Y. Pewzner-Jung, O. Brenner, S. Braun, E. L. Laviad, S. Ben-Dor, E. Feldmesser, S. Horn-Saban, D. Amann-Zalcenstein, C. Raanan, T. Berkutzki, R. Erez-Roman, O. Ben-David, M. Levy, D. Holzman, H. Park, A. Nyska, A. H. Merrill, Jr. and A. H. Futerman, A critical role for ceramide synthase 2 in liver homeostasis: II. insights into molecular changes leading to hepatopathy. *J Biol Chem*, 2010. 285(14):10911-23.
 149. S. Imgrund, D. Hartmann, H. Farwanah, M. Eckhardt, R. Sandhoff, J. Degen, V. Gieselmann, K. Sandhoff and K. Willecke, Adult ceramide synthase 2 (CerS2)-deficient mice exhibit myelin sheath defects, cerebellar degeneration, and hepatocarcinomas. *J Biol Chem*, 2009. 284(48):33549-33560.
 150. R. I. Castillo, L. E. Rojo, M. Henriquez-Henriquez, H. Silva, A. Maturana, M. J. Villar, M. Fuentes and P. A. Gaspar, From molecules to the clinic: linking schizophrenia and metabolic syndrome through sphingolipids metabolism. *Front Neurosci*, 2016. 10:1-15.
 151. Institute of Medicine (US) Standing Committee., In dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. 1998. 8. Folate (Washington (DC): National Academies Press (US)).
 152. V. L. Stevens and J. Tang, Fumonisin B1-induced sphingolipid depletion inhibits vitamin uptake via the glycosylphosphatidylinositol-anchored folate receptor. *J Biol Chem*, 1997. 272(29):18020-18025.
 153. K. A. Voss, R. T. Riley and J. Gelineau-van Waes, Fumonisin B1 induced neural tube defects were not increased in LM/Bc mice fed folate-deficient diet. *Mol Nutr Food Res*, 2014. 58(6):1190-1198.

154. J. Gelineau-van Waes, M. A. Rainey, J. R. Maddox, K. A. Voss, A. J. Sachs, N. M. Gardner, J. D. Wilberding and R. T. Riley, Increased sphingoid base-1-phosphates and failure of neural tube closure after exposure to fumonisin or FTY720. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2012. 94(10):790-803.
155. G. W. Smith, P. D. Constable, R. M. Eppley, M. E. Tumbleson, L. A. Gumprecht and W. M. Haschek-Hock, Purified fumonisin B1 decreases cardiovascular function but does not alter pulmonary capillary permeability in swine. *Toxicol Sci*, 2000. 56(1):240-249.
156. P. Constable, G. Smith, G. Rottinghaus and k. W. Hasche, Ingestion of fumonisin B1-containing culture material decreases cardiac contractility and mechanically efficiency in swine. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000. 162(3):151-160.
157. J. H. Foreman, P. D. Constable, A. L. Waggoner, M. Levy, R. M. Eppley, G. W. Smith, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek, Neurologic abnormalities and cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously. *J Vet Intern Med*, 2004. 18(2):223-230.
158. G. W. Smith, P. D. Constable, J. H. Foreman, R. M. Eppley, A. L. Waggoner, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek, Cardiovascular changes associated with intravenous administration of fumonisin B1 in horses. *Am J Vet Res*, 2002. 63(4):538-545.
159. O. S. Kwon, J. A. Sandberg and W. Slikker, Jr., Effects of fumonisin B1 treatment on blood-brain barrier transfer in developing rats. *Neurotoxicol Teratol*, 1997. 19(2):151-155.
160. Y. P. Dragan, W. R. Bidlack, S. M. Cohen, T. L. Goldsworthy, G. C. Hard, P. C. Howard, R. T. Riley and K. A. Voss, Implications of apoptosis for toxicity, carcinogenicity, and risk assessment: fumonisin B1 as an example. *Toxicol Sci*, 2001. 61(1):6-17.
161. R. T. Riley, E. Enongene, K. A. Voss, W. P. Norred, F. I. Meredith, R. P. Sharma, J. Spitsbergen, D. E. Williams, D. B. Carlson and A. H. Merrill, Jr., Sphingolipid perturbations as mechanisms for fumonisin carcinogenesis. *Environ Health Perspect*, 2001. 109 Suppl 2:301-308.
162. A. H. Merrill, Jr., M. C. Sullards, E. Wang, K. A. Voss and R. T. Riley, Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environ Health Perspect*, 2001. 109 Suppl 2:283-9.
163. M. Tsunoda, R. P. Sharma and R. T. Riley, Early fumonisin B1 toxicity in relation to disrupted sphingolipid metabolism in male BALB/c mice. *J Biochem Mol Toxicol*, 1998. 12(5):281-9.
164. H. Zigdon, A. Kogot-Levin, J. W. Park, R. Goldschmidt, S. Kelly, A. H. Merrill, Jr., A. Scherz, Y. Pewzner-Jung, A. Saada and A. H. Futerman, Ablation of ceramide synthase 2 causes chronic oxidative stress due to disruption of the mitochondrial respiratory chain. *J Biol Chem*, 2013. 288(7):4947-4956.
165. K. Abado-Becognee, T. A. Mobio, R. Ennamany, F. Fleurat-Lessard, W. T. Shier, F. Badria and E. E. Creppy, Cytotoxicity of fumonisin B1: implication of lipid

- peroxidation and inhibition of protein and DNA syntheses. *Arch Toxicol*, 1998. 72(4):233-6.
166. A. M. Domijan, M. Peraica, A. L. Vrdoljak, B. Radic, V. Zlender and R. Fuchs, The involvement of oxidative stress in ochratoxin a and fumonisin B1 toxicity in rats. *Mol Nutr Food Res*, 2007. 51(9):1147-1151.
 167. X. Wang, Q. Wu, D. Wan, Q. Liu, D. Chen, Z. Liu, M. R. Martinez-Larranaga, M. A. Martinez, A. Anadon and Z. Yuan, Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. *Archives of toxicology*, 2016. 90(1):81-101.
 168. M. Sozmen, A. K. Devrim, R. Tunca, M. Bayezit, S. Dag and D. Essiz, Protective effects of silymarin on fumonisin B1-induced hepatotoxicity in mice. *J Vet Sci*, 2014. 15(1):51-60.
 169. A. Chuturgoon, A. Phulukdaree and D. Moodley, Fumonisin B1 induces global DNA hypomethylation in HepG2 cells - an alternative mechanism of action. *Toxicology*, 2014. 315:65-9.
 170. D. Sancak and S. Ozden, Global histone modifications in fumonisin B1 exposure in rat kidney epithelial cells. *Toxicol In Vitro*, 2015. 29(7):1809-1815.
 171. N. J. Dvorak, R. T. Riley, M. Harris and J. A. McGregor, Fumonisin mycotoxin contamination of corn-based foods consumed by potentially pregnant women in southern California. *J Reprod Med*, 2008. 53(9):672-676.
 172. S. H. Humphreys, C. Carrington and M. Bolger, A quantitative risk assessment for fumonisins B1 and B2 in US corn. *Food Addit Contam*, 2001. 18(3):211-220.
 173. E. D. Caldas and A. C. Silva, Mycotoxins in corn-based food products consumed in Brazil: an exposure assessment for fumonisins. *J Agric Food Chem*, 2007. 55(19):7974-7980.
 174. K. Bordin, R. E. Rosim, D. V. Neeff, G. E. Rottinghaus and C. A. Oliveira, Assessment of dietary intake of fumonisin B1 in Sao Paulo, Brazil. *Food Chem*, 2014. 155:174-178.
 175. L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, J. P. Rheeder, N. I. Somdyala and W. F. Marasas, Sphingoid base levels in humans consuming fumonisin-contaminated maize in rural areas of the former Transkei, South Africa: a cross-sectional study. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2008. 25(11):1385-1391.
 176. G. S. Shephard, W. F. Marasas, H. M. Burger, N. I. Somdyala, J. P. Rheeder, L. Van der Westhuizen, P. Gatyeni and D. J. Van Schalkwyk, Exposure assessment for fumonisins in the former Transkei region of South Africa. *Food Addit Contam*, 2007. 24(6):621-629.
 177. L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, J. P. Rheeder and H. M. Burger, Individual fumonisin exposure and sphingoid base levels in rural populations consuming maize in South Africa. *Food Chem Toxicol*, 2010. 48(6):1698-1703.
 178. H. M. Burger, M. J. Lombard, G. S. Shephard, J. R. Rheeder, L. van der Westhuizen

- and W. C. Gelderblom, Dietary fumonisin exposure in a rural population of South Africa. *Food Chem Toxicol*, 2010. 48(8-9):2103-2108.
179. L. van der Westhuizen, G. S. Shephard, H. M. Burger, J. P. Rheeder, W. C. Gelderblom, C. P. Wild and Y. Y. Gong, Fumonisin B1 as a urinary biomarker of exposure in a maize intervention study among South African subsistence farmers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011. 20(3):483-9.
 180. P. F. Ross, L. G. Rice, J. C. Reagor, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, H. A. Nelson, D. L. Owens, R. D. Plattner, K. A. Harlin, J. L. Richard and et al., Fumonisin B1 concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J Vet Diagn Invest*, 1991. 3(3):238-241.
 181. P. F. Ross, L. G. Rice, R. D. Plattner, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, s. D. L. Owen, H. A. Nelson and J. L. Richard, Concentrations of fumonisin B1 in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia*, 1991. 114(3):129-135.
 182. Centers for Disease Control and Prevention, Neural tube defect surveillance and folic acid intervention--Texas-Mexico border, 1993-1998. *MMWR Weekly* ., 2000. 49(01):1-4.
 183. S. A. Missmer, L. Suarez, M. Felkner, E. Wang, A. H. Merrill, Jr., K. J. Rothman and K. A. Hendricks, Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the Texas-Mexico border. *Environ Health Perspect*, 2006. 114(2):237-241.
 184. Y. Y. Gong, L. Torres-Sanchez, L. Lopez-Carrillo, J. H. Peng, A. E. Sutcliffe, K. L. White, H. U. Humpf, P. C. Turner and C. P. Wild, Association between tortilla consumption and human urinary fumonisin B1 levels in a Mexican population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008. 17(3):688-94.
 185. T. Yoshizawa, A. Yamashita and Y. Luo, Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl Environ Microbiol*, 1994. 60(5):1626-9.
 186. C. C. Abnet, C. B. Borkowf, Y. L. Qiao, P. S. Albert, E. Wang, A. H. Merrill, Jr., S. D. Mark, Z. W. Dong, P. R. Taylor and S. M. Dawsey, Sphingolipids as biomarkers of fumonisin exposure and risk of esophageal squamous cell carcinoma in China. *Cancer Causes Control*, 2001. 12(9):821-8.
 187. F. D. Groves, L. Zhang, Y. S. Chang, P. F. Ross, H. Casper, W. P. Norred, W. C. You and J. F. Fraumeni, Jr., Fusarium mycotoxins in corn and corn products in a high-risk area for gastric cancer in Shandong province, China. *J AOAC Int*, 1999. 82(3):657-62.
 188. J. P. Rheeder, W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, G. S. Shephard and D. J. van Schalkwyk, Fusarium moniliforme and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 1992. 82(353-357).
 189. M. E. Kimanya, B. De Meulenaer, D. Roberfroid, C. Lachat and P. Kolsteren, Fumonisin exposure through maize in complementary foods is inversely associated with linear growth of infants in Tanzania. *Mol Nutr Food Res*, 2010.

54(11):1659-67.

190. K. Aoyama, M. Nakajima, S. Tabata, E. Ishikuro, T. Tanaka, H. Norizuki, Y. Itoh, K. Fujita, S. Kai, T. Tsutsumi, M. Takahashi, H. Tanaka, S. Iizuka, M. Ogiso, M. Maeda, S. Yamaguchi, K. Sugiyama, Y. Sugita-Konishi and S. Kumagai, Four-year surveillance for ochratoxin A and fumonisins in retail foods in Japan. *J Food Prot*, 2010. 73(2):344-352.
191. 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(8):1392-1401.
192. 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.
193. 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).
194. 戸澤英男, トウモロコシ—歴史・文化、特性・栽培、加工・利用. 2005 (農山漁村文化協会) :323-326.
195. JECFA, Fumonisins B1, B2 and B3. Evaluation of certain contaminants in food, 2002. fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(WHO technical report series 906):16-26.
196. 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(4):255-269.
197. JECFA, Fumonisins. Summary and conclusions, 2016. eighty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives:4-5.
198. SCF, Updated opinion of the scientific committee on food on fumonisin B1, B2 and B3. opinion of the scientific committee on food, 2003.
199. EFSA, Scientific opinion on the safety and efficacy of fumonisin esterase (FUMzyme) as a technological feed additive for pigs. *EFSA Journal*, 2014. 12(5):3667.
200. IARC, Toxins derived from fusarium moniliforme: fumonisins B1 and B2 and fusarin. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, 1993. 56:445-466.

<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、南米、中国、ギリシャ、フランス、ニューカレドニア、エジプト、南アフリカ、ドイツ、エジプト、米国等、世界中で発生が報告されている(参照 1)。嗜眠、食欲低下、頭を壁に押し付ける動作 (head pressing)、衰弱、筋肉の震え等がみられ、数日後には死に至る。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、肝障害及び腎障害も報告されている。(参照 2, 3, 4)

(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 に罹患したウマには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フモニシン B1 (FB1) 濃度と ELEM 発生事例との関係を調べた結果、ELEM 発生地域の飼料中の FB1 濃度は < 1~126 mg/kg 飼料であり、ELEM 発生事例に関係した飼料中の FB1 濃度はほとんどが 10 mg/kg 飼料以上であった。ELEM に罹患していないウマが摂取していた飼料中の FB1 濃度は 9 mg/kg 飼料未満であった。FB1 が検出された飼料からは、フモニシン B2 (FB2) も検出されており、FB2 の濃度は FB1 の 20~40% であった。(参照 5)

(2) 精製フモニシン又は培養物の経口投与試験

Fusarium verticilloides 自然汚染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 (GGT) 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 ELEM の臨床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 6)

ウマ（1頭）に *F. verticillioides* 培養物から抽出した精製 FB1（純度 95～98%）を 1.00～4.00 mg/kg 体重/日の用量で 29 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、20～33 日に血清中の GGT 活性が高値となった。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 7）

ELEM を誘発するフモニシンの最小用量を調べる目的で、ウマ（4頭）に、自然汚染トウモロコシから得た FB1 を <1～22 mg/kg 飼料の用量で 326 日間（Phase1 から Phase5）給与した。4 頭中の 1 頭が試験開始約 240 日目¹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 Phase 5 には 0.18 mg/kg 体重/日の FB1 を摂取したと推計された。血液生化学検査値は正常値を維持していたが、死亡する 9 日前から、肝障害を示す血中総ビリルビン値、胆汁酸濃度、ALP 活性、GGT 活性等が明らかに高値となっていた。また、ウマ（5 頭）に、自然汚染されたトウモロコシから得た 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な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、腎臓及び脳に軽度な所見がみられた。（参照 6, 8）

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 *Fusarium proliferatum* 培養物又は主にフモニシン B3（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 2 頭は、給与開始 34 日目に肝障害を示す血液生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生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 日目の組織学検査の結果、軽度な肝障害及び脳における軽度な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 比への影

¹ 文献中の表現からは、死亡までの日数を厳密に特定することができなかった。

² FB1 は 3 mg/kg 飼料、FB3 は <1mg/kg 飼料。

³ FB1 及び FB2 は <1mg/kg 飼料。

響は、FB2 投与群の方が大きかった。(参照 2, 9)

(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 回静脈内投与した結果、投与開始日を 0 日目として 8~10 日目に AST 活性及び GGT 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 10)

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、心血管機能不全を示す、心拍数、心拍出量及び右心室収縮性の低下と共に動脈圧の低下、全身末梢血管抵抗の増加等の徴候がみられた。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ず、心血管パラメーターについても対照群との差は認められなかった。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/日投与群から用量依存的に上昇した。(参照 11)

ウマ (一群 3 又は 4 頭) に 0.00、0.01、0.05、0.10 又は 0.20 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を静脈内投与した結果、0.01 mg/kg 体重/日以上投与群で血清中及び右心室の Sa 及び So 濃度並びに Sa/So 比の上昇がみられ、0.05 mg/kg 体重/日投与群で、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、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/日以下の投与群に ELEM を示す神経症状は認められなかった。(参照 11, 12)

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、膵臓毒性、肝障害及び重篤な 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 13, 14)

(1) 疫学的知見

⁴ 髄液アルブミン濃度/血中アルブミン濃度。

1989年秋から1990年冬にかけて、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 14, 15, 16, 17)

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 18, 19)

これらの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 飼料で、そのほとんどが、10 mg/kg 飼料以上であった。PPEと関連していないとされた飼料のFB1濃度は、8 mg/kg 飼料以下であった(参照 13)。この時期に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 20)

(2) 培養物の経口投与試験

離乳ブタ(交雑種、去勢雄、一群2~5頭)に自然汚染トウモロコシを用いてFB1及びFB2の総量で< 1, 5, 23, 39, 101又は175 mg/kg 飼料の用量で14日間混餌投与した結果、23 mg/kg 飼料以上の投与群の肝臓に、肝細胞索の乱れ、肝細胞壊死及び好酸性細胞質等がみられた。101 mg/kg 飼料以上の投与群で血清中ビリルビン濃度、GGT活性及びアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性が上昇した。101又は175 mg/kg 飼料投与群では、ALP活性、ASP活性及びアルギナーゼ活性の上昇傾向が見られたが、有意差はなかった。(参照 21)

ブタ(一群2頭)に *F. verticillioides* 培養物を用いてFB1を200 mg/kg 飼料(8 mg/kg 体重/日: 食品安全委員会換算⁵)の用量で21日間混餌投与し、投与開始14~17日目に血液検査が実施された。その結果、対照群に比べてAST活性が明らかに高くなり、血中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。心肺への影響は認められなかった。

⁵ JECFA で用いている換算 (IPCS: EHC 70) 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	2,400	0.040

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 日間投与した結果、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 日間胃内投与した結果、全ての用量で肝細胞壊死が認められ、16 mg/kg 体重/日以上投与群に PPE が認められた。（参照 22）

予備試験として、*F. verticillioides* 培養物を飼料に混ぜて離乳ブタに 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、離乳ブタ（去勢雄、一群 4～5 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。病理学的検査の結果、1 mg/kg 飼料投与群 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な肥厚がみられた。5 mg/kg 飼料投与群 5 頭中 2 頭及び 10 mg/kg 飼料投与群 4 頭中 3 頭の肺では、中隔の肥厚及び出血が認められ、FB1 投与量依存的に肺重量が有意に増加した。5 mg/kg 飼料投与群中 2 頭の肝臓及び 1 頭の食道並びに 10 mg/kg 飼料投与群中 3 頭の肝臓、1 頭の心臓及び腎臓並びに 1 頭の食道に病変が認められた。全ての投与群で血清中の AST 活性、ALT 活性及び ALP 活性が上昇した（参照 23）。

また、離乳ブタ（去勢雄、一群 5 頭）に *F. verticillioides* 培養物を飼料に添加して 0、10、20 又は 40 mg/kg 飼料を 4 週間、0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料を 8 週間、0、1、5 又は 10 mg/kg 飼料を 20 週間投与した。その結果、1～10 mg/kg 飼料投与群において、2～20 週間に肺に不可逆性の線維化が生じ、10 mg/kg 飼料投与群で投与 4 週目から PPE がみられた。20 又は 40 mg/kg 飼料投与群では、投与開始 28 日に AST 活性が用量依存的に上昇したが、1 又は 5 mg/kg 飼料投与群では、血清中の AST 活性、ALT 活性、ALP 活性及び Cr 濃度で異常値を示した。Sa/So 比は 5 mg/kg 飼料以上の投与群で用量依存的に増加した。（参照 24）

離乳ブタ（交雑種、雌及び去勢雄、一群それぞれ 2 頭、7 週齢）に、*Fusarium moniliforme* 培養物を添加して FB1 及び FB2 の総量で約 10 mg/kg 飼料又は約 30 mg/kg 飼料の用量で 28 日間混餌投与した。対照群と比較して、30 mg/kg 飼料投与群に、飼料摂取量及び体重増加量の

有意な減少、RBC 数、ヘマトクリット値及び総タンパクの上昇並びに血清中 ALP、AST、ALT、総ビリルビン及びコレステロール値の有意な上昇が認められた。30 mg/kg 飼料投与群の 1 頭が投与開始 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 飼料投与群でのみ認められた。(参照 25)

ブタ (交雑種、去勢雄、一群 5 頭) に、FB1 及び FB2 を含む培養物を 7 日間混餌投与した。FB1 及び FB2 の総量で、20 mg/kg 飼料以下であった。対照群と比べると、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の有意な減少がみられた。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 26)。

ブタ (交雑種、去勢雄、一群 6 頭) に、FB1 を含む培養物 20 mg/kg 体重/日の用量で混餌投与した結果、対照群と比べると、心拍出量及び大動脈圧が低値となり、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 27)

(3) 精製フモニシンの静脈内投与試験

離乳ブタ (交雑種、雌、一群 1 頭) に、0.88 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を 9 日間 (総投与量 7.9 mg/kg 体重) 又は 1.15 mg/kg 体重/日の精製 FB1 を 4 日間 (総投与量 4.6 mg/kg 体重) 静脈内投与する試験が行われた。血液生化学検査では、総投与量 4.6 mg/kg 体重のブタで、投与 1 日後から血清中 ALP 活性及び AST 活性が高値となった。病理学的検査の結果、総投与量 7.9 mg/kg 体重のブタでは、肝臓には巨大化した肝細胞が散在し、肝細胞壊死及び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。膵臓の腺房で、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の散在がみられた。総投与量 4.6 mg/kg 体重のブタの肝臓及び膵臓では、総投与量 7.9 mg/kg 体重の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 28)

<参照>

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.
2. 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 B2 or B3. *Environ Toxicol Pharmacol*, 1997. 3(3):221-228.
3. I. a. W. the International Programme on Chemical Safety (IPCS), Fumonisin B1. *Environmental Health Criteria Monographs*, 2000. EHC 219.
4. K. A. Voss, G. W. Smith and W. M. Haschek, Fumonisin: toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2007. 137:299-325.
5. P. F. Ross, L. G. Rice, J. C. Reago, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, H. A. Nelson, D. L. Owens, R. D. Plattner, K. A. Harlin, J. L. Richard and et al., Fumonisin B1 concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J Vet Diagn Invest*, 1991. 3(3):238-241.
6. 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(8):1706-1716.
7. 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(4):269-275.
8. 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(1-2):115-120.
9. 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(2):263-265.
10. 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(4):197-203.
11. G. W. Smith, P. D. Constable, J. H. Foreman, R. M. Eppley, A. L. Waggoner, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek, Cardiovascular changes associated with

- intravenous administration of fumonisin B1 in horses. *Am J Vet Res*, 2002. 63(4):538-545.
12. J. H. Foreman, P. D. Constable, A. L. Waggoner, M. Levy, R. M. Eppley, G. W. Smith, M. E. Tumbleson and W. M. Haschek, Neurologic abnormalities and cerebrospinal fluid changes in horses administered fumonisin B1 intravenously. *J Vet Intern Med*, 2004. 18(2):223-230.
 13. P. F. Ross, L. G. Rice, R. D. Plattner, G. D. Osweiler, T. M. Wilson, s. D. L. Owen, H. A. Nelson and J. L. Richard, Concentrations of fumonisin B1 in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia*, 1991. 114(3):129-135.
 14. A. Desjardins, Fumonisin. In *fusarium mycotoxins: chemistry, genetics, and biology*. The American Phytopathological Society, U.S.A., 2006. Chapter 3. .
 15. JECFA, Fumonisin. Safety evaluation of certain mycotoxins in food, 2001. WHO food additives series 47.
 16. W. M. Haschek, L. A. Gumprecht, G. Smith, M. E. Tumbleson and P. D. Constable, Fumonisin toxicosis in swine: an overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environ Health Perspect*, 2001. 109 Suppl 2:251-7.
 17. L. R. Harrison, B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman and J. R. Cole, Jr., Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *fusarium moniliforme*. *J Vet Diagn Invest*, 1990. 2(3):217-221.
 18. M. Segvic and S. Pepeljnjak, Fumonisin and their effects on animal health - a brief review. *Vet. arhiv*, 2001. 71(5):299-323.
 19. P. F. Ross, P. E. Nelson, J. L. Richard, G. D. Osweiler, L. G. Rice, R. D. Plattner and T. M. Wilson, Production of fumonisin by *fusarium moniliforme* and *fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Appl Environ Microbiol*, 1990. 56(10):3225-6.
 20. G. D. Osweiler, P. F. Ross, T. M. Wilson, P. E. Nelson, S. T. Witte, T. L. Carson, L. G. Rice and H. A. Nelson, Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. *J Vet Diagn Invest*, 1992. 4(1):53-9.
 21. G. K. Motelin, W. M. Haschek, D. K. Ness, W. F. Hall, K. S. Harlin, D. J. Schaeffer and V. R. Beasley, Temporal and dose-response features in swine fed corn screenings contaminated with fumonisin mycotoxins.

- Mycopathologia, 1994. 126(1):27-40.
22. B. M. Colvin, A. J. Cooley and R. W. Beaver, Fumonisin toxicosis in swine: clinical and pathologic findings. *J Vet Diagn Invest*, 1993. 5(2):232-241.
 23. M. Zomborszky-Kovacs, F. Vetesi, P. Horn, I. Repa and F. Kovacs, Effects of prolonged exposure to low-dose fumonisin B1 in pigs. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 2002. 49(4):197-201.
 24. K. F. Zomborszky-Kovacs M, Horn P, Vetesi F, Repa I, Tornnyos G, Toth A. Investigations into the time- and dose-dependent effect of fumonisin B1 in order to determine tolerable limit values in pigs. *Livestock Production Science*, 2002. 76(3):251-256.
 25. P. Dilkin, P. Zorzete, C. A. Mallmann, J. D. Gomes, C. E. Utiyama, L. L. Oetting and B. Correa, Toxicological effects of chronic low doses of aflatoxin B1 and fumonisin B1-containing fusarium moniliforme culture material in weaned piglets. *Food Chem Toxicol*, 2003. 41(10):1345-1353.
 26. G. Smith, P. Constable, C. Bacon, F. Meredith and W. Haschek, Cardiovascular effects of fumonisins in swine. *Fundam Appl Toxicol*, 1996. 31(2):169-172.
 27. G. W. Smith, P. D. Constable, M. E. Tumbleson, G. E. Rottinghaus and W. M. Haschek, Sequence of cardiovascular changes leading to pulmonary edema in swine fed culture material containing fumonisin. *Am J Vet Res*, 1999. 60(10):1292-300.
 28. W. M. Haschek, G. Motelin, D. K. Ness, K. S. Harlin, W. F. Hall, R. F. Vesonder, R. E. Peterson and V. R. Beasley, Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia*, 1992. 117(1-2):83-96.

<別添 2: モディファイドフモニシンについて>

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ソ及び共有結合や非共有結合による修飾を受けたマイコトキシソも含めたマイコトキシソを全て「モディファイドマイコトキシソ」としている。この中には、デンプン又は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ソも含まれる(参照 1)。このような、化学的性状に基づく定義以外に、通常分析法では検出できないが、生体内で遊離型のマイコトキシソに変化して毒性を示す可能性があるものを「マスクドマイコトキシソ」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ほかに、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若しくはデンプン又はタンパク質に共有結合又は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。

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ソに関する知見は限られていることから、本評価書では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は現時点における知見を以下に整理することとした。

1. モディファイドフモニシンの生成

トウモロコシ等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や、穀物中のデンプン、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)。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)。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)

また、トルティーヤ等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

¹ マスクドマイコトキシソは、モディファイドマイコトキシソに包含される。

ルボン酸部位の片方又は両方が解離した、部分加水分解フモニシン B1 (PHFB1) 又は加水分解フモニシン B1 (HFB1) 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)。主要なモディファイドフモニシン及びその予測される生成過程について、概要を図 1 に示した。

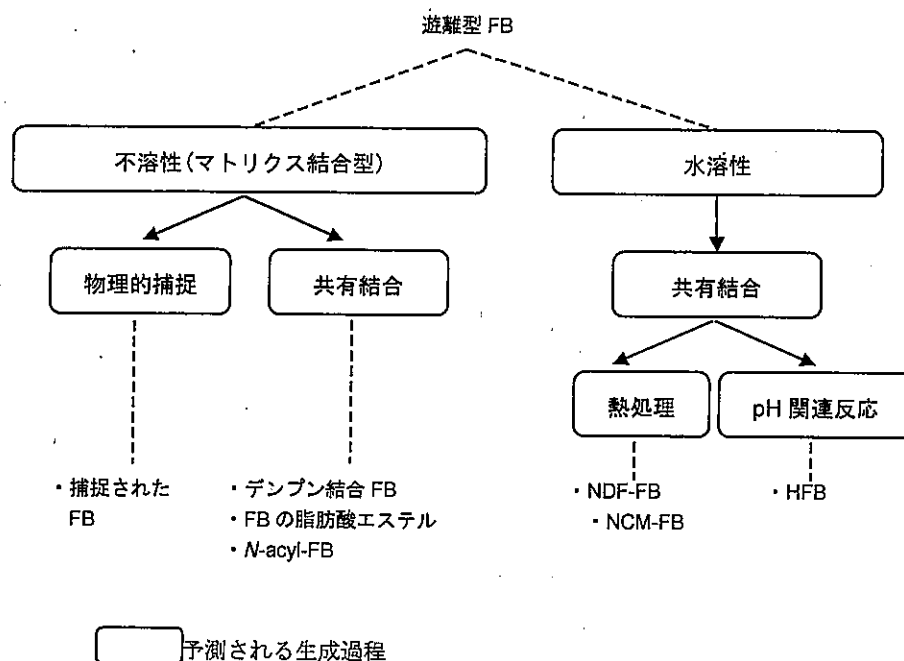


図 1 主要なモディファイドフモニシンとその予測される生成過程

(参照 1)より引用

2. 毒性に関する知見

穀物のデンプン、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、アルカリ処理又は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。

(1) 加水分解フモニシン(HFB)

B6C3F1 マウス (雌、一群 8 匹) に、精製 FB1 を 14、72 又は 143

$\mu\text{mol/kg}$ 飼料 (10、52 又は 103 mg/kg 飼料に相当) 含む飼料及び HFB1 を 13、65 又は 131 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料 (5、26 又は 53 mg/kg 飼料に相当) の含む飼料をそれぞれ 28 日間混餌投与する毒性試験が実施された。FB1 投与群では、毒性が認められたが、HFB1 投与群では、血液生化学検査及び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 比も変化はみられなかったことから、著者らは経口投与後の HFB1 の毒性は FB1 より低いと結論している(参照 5)。

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 4 匹) に、FB1 又は HFB1 を混餌投与した結果、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 6)

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強制経口投与する生殖発生毒性試験が実施された。いずれも、胎児に HFB1 の影響は認められなかった。(参照 7, 8)

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 週間強制経口投与した結果、FB1 投与群には肝障害がみられたが、HFB1 投与群では血液生化学的及び肝臓の組織学的変化は認められなかった。(参照 9)

F344 ラット² (雄、一群 5 匹) に、FB1、FB2、FB3、HFB1 又は HFB2 を 500 又は 1000 mg/kg の濃度で 21 日間混餌投与し、投与 14 日に 2-アセチルアミノフルオレン (2-AAF) を経口投与して部分肝切除する 7 週間肝短期発がん試験が実施された。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認められなかった。(参照 10)

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、HFB 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 10)。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、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。(参照 11)

² 原文では、Fischer rat と記載されている。

(2) FB1-果糖結合物 (NDF-FB1)

F344 ラット (雄) に、精製 FB1、HFB1 又は FB1-果糖結合物 (NDF-FB1) 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、NDF-FB1 は高率に吸収されることが示された。(参照 12)

F344 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 NDF-FB1 をそれぞれ 69.3 $\mu\text{mol/kg}$ の濃度で含む飼料を 4 週間混餌投与する肝短期発がん試験の結果、NDF-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 13)

(3) *N*-カルボキシメチル FB1 (NCM-FB1)

B6C3F1 マウス (雌、一群 8 匹) に *N*-カルボキシメチル FB1 (NCM-FB1) を 14、70 又は 140 $\mu\text{mol/kg}$ 飼料 (11、15 又は 111 mg/kg 飼料に相当) の用量で 28 日間混餌投与した結果、血液生化学検査、肝臓セラミド濃度、Sa/So 比及び病理組織学的検査のいずれにおいても、投与群に異常は認められなかった。(参照 5)

Sprague-Dawley ラット (雄、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、著者らは NDF-FB1 の毒性は FB1 より低いと考えた。(参照 6)

(4) アセチル FB1 (FA1)

FB1 の *N*-アセチル化体である FA1 のセラミド合成阻害作用について、Sprague-Dawley ラット (雄) の肝臓スライスを用いて調べた結果、FA1 にセラミド合成阻害作用はみられなかった(参照 11)。また、F344 ラット²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 10)

FA1 の一部は保存中に *O*-アセチル化された FB1 に変化し、FA1 と *O*-アセチル化された FB1 の割合は一定の平衡状態となることが示されている。*O*-アセチル FB1 を含む FA1 は、ラット肝臓スライスを用いた試験で Sa/So 比を上昇させたことが報告されている。(参照 14)

(5) アシル FB1

近年、分析法の発達により、アシル化されたフモニシン (*N*-Linoleyl FB1、*N*-Oleoyl FB1、*N*-Palmitoyl FB1、*N*-Stearyl FB1、*N*-Linoleyl

HFB1、*N*-Oleyl HFB1、*N*-Palmitoyl HFB1、*N*-Stearyl HFB1) 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 15)

Sprague-Dawley ラット (雄、一群 2 匹) に FB1、HFB1 又は *N*-アシル FB1 を 5 日間腹腔内投与した結果、肝臓及び腎臓に、臓器重量当たり、FB1 が最大 10 nmol/g、HFB1 が最大 1.78 nmol/g 及び *N*-アシル HFB1 が最大 0.4 nmol/g の濃度で検出された。(参照 16)

20 μ M の FB1、HFB1、種々の長さの側鎖を有する脂肪酸が結合したアシル FB1 又はアシル HFB1 を *in vitro* で各種培養細胞 (Hek³、Hep3B⁴ 及び GM-02937⁵) にばく露し、LDH 放出を指標として細胞毒性が調べられた。FB1 は細胞毒性を示さなかったが、それぞれ 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 17)

³ ヒト胎児由来腎細胞株。

⁴ ヒト肝臓がん由来細胞株。

⁵ ヒト皮膚繊維芽細胞株。

<参照>

1. 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(12):3916.
2. F. Berthiller, C. Crews, C. Dall'Asta, S. D. Saeger, G. Haesaert, P. Karlovsky, I. P. Oswald, W. Seefelder, G. Speijers and J. Stroka, Masked mycotoxins: a review. *Mol Nutr Food Res*, 2013. 57(1):165-186.
3. J. W. Park, P. M. Scott, B. P. Lau and D. A. Lewis, Analysis of heat-processed corn foods for fumonisins and bound fumonisins. *Food Addit Contam*, 2004. 21(12):1168-1178.
4. 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(4):255-269.
5. 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 B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2002. 185(3):153-165.
6. I. Hahn, V. Nagl, H. E. Schwartz-Zimmermann, E. Varga, C. Schwarz, V. Slavik, N. Reisinger, A. Malachova, M. Cirlini, S. Generotti, C. Dall'Asta, R. Krska, W. D. Moll and F. Berthiller, Effects of orally administered fumonisin B1 (FB1), partially hydrolysed FB1, hydrolysed FB1 and *N*- (1-deoxy-d-fructos-1-yl) FB1 on the sphingolipid metabolism in rats. *Food Chem Toxicol*, 2015. 76:11-18.
7. T. F. Collins, R. L. Sprando, T. N. Black, N. Olejnik, R. M. Eppley, M. E. Shackelford, P. C. Howard, J. I. Rorie, M. Bryant and D. I. Ruggles, Effects of aminopentol on in utero development in rats. *Food Chem Toxicol*, 2006. 44(2):161-169.
8. K. A. Voss, R. T. Riley, M. E. Snook and J. G. Waes, Reproductive and sphingolipid metabolic effects of fumonisin B1 and its alkaline hydrolysis product in LM/Bc mice: hydrolyzed fumonisin B1 did not cause neural tube defects. *Toxicol Sci*, 2009. 112(2):459-467.
9. B. Grenier, A. P. Bracarense, H. E. Schwartz, C. Trumel, A. M. Cossalter, G. Schatzmayr, M. Kolf-Clauw, W. D. Moll and I. P. Oswald, The low intestinal and hepatic toxicity of hydrolyzed fumonisin B1 correlates with its inability to alter the metabolism of sphingolipids. *Biochem Pharmacol*, 2012. 83(10):1465-1473.

10. W. C. Gelderblom, M. E. Cawood, S. D. Snyman, R. Vleggaar and W. F. Marasas, Structure-activity relationships of fumonisins in short-term carcinogenesis and cytotoxicity assays. *Food Chem Toxicol*, 1993. 31(6):407-414.
11. 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(1):63-70.
12. 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(7):2618-2625.
13. Z. Lu, W. R. Dantzer, E. C. Hopmans, V. Prisk, J. E. Cunnick, P. A. Murphy and S. Hendrich, Reaction with fructose detoxifies fumonisin B1 while stimulating liver-associated natural killer cell activity in rats. *J Agric Food Chem*, 1997. 45(3):803-809.
14. W. P. Norred, R. T. Riley, F. I. Meredith, S. M. Poling and R. D. Plattner, 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):1071-8.
15. J. W. Park, P. M. Scott and B. P. Y. Lau, Analysis of *N*-fatty acyl fumonisins in alkali-processed corn foods. *Fd Sci Biotech*, 2013. 22(Supplement 1):147-152.
16. H. Harrer, H. U. Humpf and K. A. Voss, In vivo formation of *N*-acyl-fumonisin B1. *Mycotoxin Res*, 2015. 31(1):33-40.
17. H. Harrer, E. L. Laviad, H. U. Humpf and A. H. Futerman, Identification of *N*-acyl-fumonisin B1 as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins. *Mol Nutr Food Res*, 2013. 57(3):516-522.

<別添 3 : BMDL₁₀ の試算>

1. 経緯

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 NOAEL を基に算出し、BMD 法による試算結果は用いなかった。

海外におけるかび毒のリスク評価については、JECFA においては、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 法が用いられたほか、フモニシンの再評価 (2011年及び 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でも、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) 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

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%) をもたらす用量を 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) 及びセイシエル共和国の疫学データの NOAEL を考慮して、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、この値から 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急性参照用量 (ARfD) を求めるに当たり、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、この値から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。

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)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並びに本所見について JECFA 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)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 Fischer344 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験(参照 3)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%又は 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 及び OFF の両方で試算

エ：適合モデルの選択 (棄却条件)

・P 値⁸が 0.1 以下

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 及び Restriction OFF の両方でフィッティングすることを推奨。

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

・ 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) 食品安全委員会がアクリルアミドの毒性評価において採用した方法 (2016 年)

・ 最も低い BMD が得られたモデルを選択した。

(b) JECFA がフモニシン評価において採用した方法 (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 AIC⁹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 (mg/kg 体重/日)	BMDL ₁₀ (mg/kg 体重/日)
(a) 食安委法 (7/7/7/7/7)	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
(d) EFSA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430

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言え、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 (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、バランスが良い統計モデルであるとされる。

3. 課題

今回、マウスの26週間亜急性毒性試験(参照1)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中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)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、統計学的妥当性及び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法の利点をい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。

<参照>

1. 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(10):3604-3613.
2. JECFA, Fumonisin. Evaluation of certain contaminants in food, 2011. seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(WHO technical report series 966):70-94.
3. 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(3):473-478.

