

謝物の量比にかなりのばらつきがある。

*in vitro*での肝ミクロソームによる主要代謝物は、マウスではAFPIであったが、ラットではAFQ1であった。サイトゾームの酵素によりアフラトキシコロール(図1参照)が生成されたが、アフラトキシコロールH<sub>1</sub>及びM<sub>1</sub>は、サイトゾールとミクロソームの酵素の組み合わせで生成された。

*in vivo*においてAFB1の発がん性に対する感受性が低いマウスなどの動物種では、AFPIが多く生成され、血漿中のアフラトキシコロール濃度は低かった。<sup>14</sup>C-AFB1を静脈内投与したラットでは、アフラトキシコロールは投与50分後の血清中の主要代謝物として認められたが、マウス及びサルは血清中では検出されなかった。

AFB1に暴露されたラットでは、AFB1のエポキシ化に続いてDNA付加体が形成された。

ラットにおいて、薬剤の投与によって肝臓サイトゾームのグルタチオン抱合化活性を増加させると、同活性に反比例して*in vivo*でのAFB1のDNA結合が減少することが認められた。また、AFB1主要代謝物は硫酸抱合化またはグルクロン抱合化を受け、これも認められている。

代謝活性体であるAFB1エポキシドを含め、ミクロソームによるAFB1代謝物の生成は、シトクロムP450(CYP)の誘導によって影響を受けた。AFB1-8,9-ジヒドロジオールはAFB1-8,9-エポキシドの水酸化によって生成され、さらに中性pHでシッフ塩基反応によりタタンパク結合性の化合物となった。*in vivo*では、血清アルブミンのリジンにシッフ塩基反応で結合したAFB1が認められる。(参照12)

#### ④ 排泄

ラット、ヒツジ、ブタ及び乳牛では、尿中にAFM1が総投与放射能(TAR)の2~9%の割合で検出された。AFB1を腹腔内投与したアカガザルでは、尿中にAFM1が2.3%TAR、抱合化されたAFPIがTARの20%以上の割合で検出された。抱合体は尿中代謝物の60%(グルクロン酸抱合体50%、硫酸抱合体10%)を占め、3%が非抱合体であった。

AFB1に暴露されたラットで形成されたAFB1-N7-グアニンは脱プリンによりDNAから放出され、暴露後24時間で大部分が用量依存的に尿中に排泄された。1 mg/kg体重のAFB1を腹腔内投与したラットでは、肝臓中に存在したDNA付加体の30~40%が48時間で排泄された。

<sup>14</sup>C-AFB1を腹腔内投与したラットでは、AFB1の代謝物は尿中より糞中に多く排泄され、グルタチオン抱合体ではその大部分が胆汁を介して排泄された。ラット腎臓においては、メルカプツール酸経路の酵素によるAFB1-グルタチオン抱合体の分解が*in vitro*で認められており、硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体と共に尿中に排泄されるAFB1-メルカプツール酸の濃度は、動物種の

AFB1に対する感受性に相関していた。(参照12)

#### (2) ヒト組織

ヒト肝ミクロソームによりAFB1は代謝活性化される。すなわち、付加体の水酸化によって生成されるAFB1-8,9-ジヒドロジオールが認められたことから、中間代謝物としてAFB1-8,9-エポキシドが生成されることが示された。ヒト肝ミクロソームによる代謝によってAFQ1(水溶性代謝物の70~90%)、AFB1-8,9-ジヒドロジオール(10~30%)及びAFM1(痕跡量)が生成された。ヒト肝サイトゾールでは、AFB1-グルタチオン抱合体生成の触媒能力は低かった。

しかし、μクラス1のグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)を有する24人の健康者から得られた肝サイトゾールは、このクラスの酵素を遺伝的に欠損している人の肝サイトゾールに比べ、AFB1のDNAへの結合をより強く阻害した。

タイにおける肝癌患者20人の肝組織を用いて、CYP分子種及びGST活性について検討した試験においては、CYP活性に個人差があり、CYP3A4で57倍、CYP2B6で56倍、CYP2A6で120倍の差異がみられた。肝ミクロソームによるAFB1のAFB1-8,9-エポキシドとAFQ1への代謝は、CYP3A3/4及びCYP2B6の濃度と関連していた。癌細胞では主要なCYPの減少がみられ、サイトゾールのGSTについては、α及びμクラスの活性は低下し、πクラスは増加していた。また、癌細胞ではGST活性は低下していた。肝ミクロソームでは、AFB1の8,9-エポキシドのグルタチオン抱合化は認められなかった。

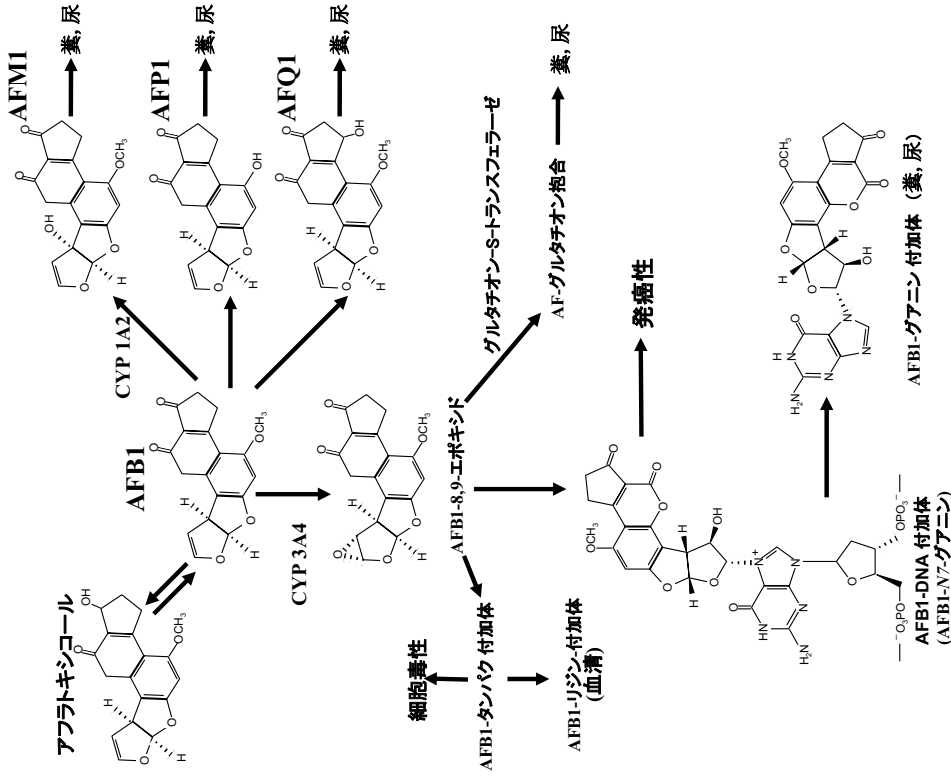
B型肝炎ウイルス(HBV)及びC型肝炎ウイルス(HCV)に感染した肝細胞では、CYP2A6、CYP3A4、CYP2B1濃度は増加したが、CYP1A2に影響はみられなかった。

ヒト気管支及び結腸の培養系においても、AFB1はDNA結合性の化合物に代謝され、代謝活性は結腸よりも気管支において高かった。形成された付加体はAFB1-N7-グアニン(8,9-dihydro-8-(N7-guanyl)-9-hydroxyafatoxin B<sub>1</sub>)及びビミダゾールの開裂したAFB1(8,9-dihydro-8-(N5-formyl-2',5',6'-triamino-4'-oxo-N5-pyrimidyl)-9-hydroxyafatoxin B<sub>1</sub>)であった。(参照12、13)

以上より、ヒトや動物に摂取されたAFB1は水酸化体にて代謝され、AFM1、AFPI、AFQ1等として、または抱合体に転換されて、尿中または糞中に排泄されることが示された。哺乳動物の場合は、乳中にもAFM1などが排泄される。また、肝臓の代謝物代謝酵素であるCYPによる代謝を受けてDNA結合性のAFB1-8,9-エポキシドが生成され、DNA付加体が形成される。AFB1-N7-グアニンは脱プリンによりDNAから放出されて尿中に排泄される(図1参照)。

1: 化学物質の解毒作用等に関わるグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)は、アミノ酸相同性の種類の違いからα、μ、πなど数種類のクラスに分類される。

図1 AFB1の主な代謝経路



2. 実験動物等における毒性 (AFB1)

(1) 急性毒性

経口投与による半数致死量 (LD<sub>50</sub>) は表 7 に示されている。AFB1 はヒト及び実験動物で急性肝毒性を引き起こすことが認められている。雄のウサギに AFB1 及び AFB2 の混合物が、総量として 0~10mg/kg 体重となるように 24 時間間隔で半量ずつ皮膚に局所投与され、初回投与 48 時間後の肝臓の所見が評価された。16 µg/kg 体重以上の投与では、いずれも肝障害が誘発さ

れ、グリコーゲンの減少がみられた。さらに、1,400 µg/kg 体重以上の場合には、10 匹中 8 例に肝細胞の脂肪変性を伴う小葉中間帯壊死、細胞質の硝子様好酸性変化が認められた。一方、50 µg/kg 体重未満の投与では肝臓に病変は認められなかった。(参照 2、9、12)

表 7 各種動物における AFB1 の LD<sub>50</sub>

動物種	LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg 体重)
ラット (雄)	5.5~7.2
ラット (雌)	7.4~17.9
マウス	9.0
ウサギ	0.3~0.4
サル	2.2~7.8
ブタ	0.62~1.0
イヌ	0.5~1.0
ヒツジ	1.0~2.0
ニワトリ	6.5
ニジマス	0.8

(2) 慢性毒性・発がん性

① 82 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)

Fischer ラット (一群雌雄各 25 匹) に、AFB1 を 0、15、300、1,000 µg/kg 飼料の濃度で 52 週間または腫瘍発生時まで混餌投与 (基礎飼料: 半合成飼料) する発がん性試験が実施された。さらに一群 (雌雄各 25 匹) を設定し、AFB1 を 1,000 µg/kg 飼料の濃度で 14 週間混餌投与した後、15 週から試験終了まで対照飼料で飼育した。

肝細胞癌の発生頻度及び発生時期は表 8 に示されている。

15 µg/kg 飼料以上投与群の雌雄で肝細胞癌、肝細胞腺腫、肝前癌病変 (変異肝細胞巢) が認められた。また、15 µg/kg 飼料投与群の雄 1 例に、投与 68 週で結腸腺癌が認められた。1,000 µg/kg 飼料の 14 週間投与群の試験 82 週における肝細胞癌の発生頻度は、雄で 1/16、雌で 1/13 であった。(参照 12)

表 8 肝細胞癌の発生頻度及び発生時期

投与量 (µg/kg 飼料)	0	15	300	1,000
発生頻度	0/25	12/12	6/20	18/22
発生時期 (週)	-	68	35~52	35~41
発生頻度	0/25	13/13	11/11	4/4
発生時期 (週)	-	80	60~70	64

② 104 週間発がん性試験 (ラット、混餌投与)

雄の Fischer ラットに、0、1、5、15、50、100 µg/kg 飼料の濃度で AFB1 を混餌投与 (基礎飼料: 半合成飼料) し、臨床症状の悪化が観察されるまで投与を継続する発がん性試験が実施された。

肝細胞癌及び過形成細胞巢の発生頻度及び発生時期は表 9 に示されている。

全投与群において、肝前癌病変（過形成細胞巣及び変異肝細胞巣）及び肝細胞癌の発生頻度が用量及び投与期間に依存して増加した。（参照12）

表 9 肝細胞癌及び過形成細胞巣の発生頻度及び発生時期

投与量 (µg/kg 飼料)	0	1	5	15	50	100
過形成細胞巣	1/18	7/22	5/22	13/22	15/25	12/28
肝細胞癌	0/18	2/22	1/22	4/21	20/25	28/28
発生時期 (週)	-	104	93	96	82	54

③ 生涯投与発がん性試験（ラット、混餌投与）

Wistar ラット（一群雌雄 16～26 匹）に、0、250、500 または 1,000 µg/kg 飼料の AFB1 を 147 日間混餌投与し、その後は死亡まで基礎飼料を摂取させる発がん性試験が実施された。

肝細胞癌及び腎細胞腫瘍の発生頻度及び平均発生時期は表 10 に示されている。0、250、500 及び 1,000 µg/kg 飼料 投与群における 100 日以上の生存率は、それぞれ 24/26、13/16、18/18 及び 14/17 であった。無処置群を除く全投与群で肝細胞癌及び腎細胞腫瘍が認められた。100 日以上生存した投与群の動物の肝臓には、過形成結節も観察された。また、腎細胞腫瘍では明細胞及び顆粒細胞を含む種々の細胞から構成される乳頭状、管状及び泡巣状の増殖巣を形成し、一部の腎臓では尿管管の好塩基性の過形成性尿管管も観察された。（参照 12）

表 10 肝細胞癌及び腎細胞腫瘍の発生頻度及び平均発生時期

投与量 (µg/kg 飼料)	0	250	500	1,000
肝細胞癌	0/24	8/13	13/18	12/14
発生時期 (日)	-	742	622	611
腎細胞腫瘍	0/24	3/13	5/18	8/14
発生時期 (日)	-	783	696	603

④ 生涯投与発がん性試験（ラット、混餌投与）

Porton ラット（一群雌雄各 6～36 匹）に、0、100 または 500 µg/kg 飼料のアフラトキシン（AFB1：10,000 µg/kg 飼料、AFB2：200 µg/kg 飼料を含む飼料を用いて調製）を生涯混餌投与、または雄ラットに 5,000 µg/kg 飼料の AFB1 を最初の 1～9 週間投与し、その後対照飼料を摂取させる発がん性試験が実施された。

生涯投与における肝細胞癌の発生頻度は表 11 に示されている。雄ラットに 5,000 µg/kg 飼料の AFB1 を 1～9 週間投与した結果、肝細胞癌の発生頻度が投与期間に関連して増加した（1 週で 0/13、3 週で 3/20、6 週で 12/19、9 週で 6/6）。本試験では肝細胞癌のほかは少数であるが腎臓（腎盂の移行上皮腺腫及び癌：5/53）、胃（腺胃癌：2/53）、肺及び唾液腺にも腫瘍が認められた。（参照 12）

表 11 生涯投与における肝細胞癌発生頻度

投与量 (µg/kg 飼料)	0	100	500
雄	0/46	17/34	25/25
雌	0/34	5/30	26/33

⑤ 88 週間発がん性試験（ラット、混餌投与）

ラット（系統不明、一群雄 30 匹）に、0 または 1,000 µg/kg 飼料の AFB1 を 15 週間混餌投与後、16 週から 88 週まで対照飼料を摂取させる発がん性試験が実施された。

投与開始 16 週後で投与群の動物に空胞化した肝細胞巣が観察され、68 週後には肝細胞癌が認められた。88 週間における肝細胞癌の累積発生率は 40% に達した。（参照 12）

⑥ 82 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

Fischer ラット（一群雌雄各 30 匹）に、0 または 80 µg/ラット/日の AFB1 を溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて 5 日間強制経口投与、または 40 µg/ラット/日の AFB1 を 10 日間強制経口投与する発がん性試験が実施された。

80 µg/ラット/日 投与群では、最終投与後 14 日間で投与群の雌全例が死亡した。雌の死亡率は試験 35 週で 11/30 であった。82 週まで生存した雌 16 匹中 2 例に肝細胞腺腫、3 例に肝前癌病変（変異肝細胞巣）が認められた。

40 µg/ラット/日 投与群では、急性毒性による死亡はみられなかった。試験 35 または 82 週まで生存した動物における肝細胞癌の発生率は、雄で 4/20、雌で 0/20、82 週での肝細胞腺腫の発生率は雄で 1/19、雌で 6/17 であり、雌雄に肝前癌病変（変異肝細胞巣）が認められた。

雄ラット（20～22 匹）に 5 mg/kg 体重 (LD<sub>50</sub> 値) の AFB1 を単回強制経口投与した結果、69 週まで生存した 5 匹中 1 例に肝細胞腺腫、3 例に肝前癌病変（変異肝細胞巣）が認められた。（参照 12）

⑦ 78 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

Fischer ラット（一群雄 10～20 匹）に、0、25、37.5 または 70 µg/ラット/日の AFB1 を 2～8 週間強制経口投与（4～5 回/週、溶媒：DMSO）する。発がん性試験が実施された。なお、各群の AFB1 の総投与用量は 0、500、630、1,000、1,500 µg/ラットであった。

肝細胞癌の発生頻度及び発生時期は表 12 に示されている。全投与群において肝細胞癌が高頻度に認められ、肝前癌病変（過形成細胞巣及び変異肝細胞巣）も観察された。（参照 12）

表 12 肝細胞癌の発生頻度及び発生時期

総投与量 (µg/ラット)	0	500	630	1,000	1,500
発生頻度	0/10	7/7	2/4	18/18	17/17
発生時期 (週)	-	74	75	42-58	42-46

⑧ 86 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

Wistar ラット（一群雄 18～36 匹）に、0 または 50 µg/ラットの AFB1 を週 2

回 4 週間強制経口投与 (溶媒: DMSO) した後、0 または 75 µg/ラットの AFB1 を週 2 回 10 週間強制経口投与し、最長 86 週間飼育する発がん性試験が実施された。

投与開始 44 週以降、総投与量 1,900 µg で 70%の動物に肝細胞癌及び肝細胞・胆管細胞癌が誘発された。投与開始 15 週後から変異肝細胞癌 (明細胞、好酸性細胞及び強好塩基性細胞のγ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 陽性巣) が認められ、時間と共にその数及びサイズが増大し、過形成性結節の形成が認められた。(参照12)

⑨ 500 日間発がん性試験 (ラット、強制経口投与)

Wistar ラット (一群雌雄各 25 匹) に、0、100 µg/ラット (雄) または 75 µg/ラット (雌) の AFB1 を週 2 回 5 週間強制経口投与 (溶媒: DMSO) した後、0、20 µg/ラット (雄) または 15 µg/ラット (雌) の AFB1 を週 2 回 10 週間強制経口投与し、投与群の動物は最長 486 日間、対照群は最長 500 日間飼育する発がん性試験が実施された。

AFB1 投与群の腫瘍発生頻度及び発生時期は表 13 に示されている。

AFB1 投与群では、投与休止 184 日後からすべての動物に前癌性巣状病変 (増殖性) が認められ始め、386 日以降には肝細胞癌の発生が認められた。肝細胞癌の多くが胆管細胞腺腫を伴っていた。AFB1 によって誘発された肝細胞癌発生過程では、肝臓及び養中のボルフィリン増加、肝臓の GGT 濃度の上昇を伴った。(参照12)

表 13 腫瘍発生頻度及び発生時期

	良性肝腫瘍		悪性肝腫瘍	
	発生時期 (日)	発生頻度	発生時期 (日)	発生頻度
雄	265	14/22	386	8/8
雌	295	10/26	417	5/8

⑩ 104 週間発がん性試験 (ラット、強制経口投与)

Wistar ラット (一群雌 66~120 匹) に、0 または 5,000 µg/kg 体重の AFB1 を単回強制経口投与 (溶媒: オリーブオイル) する発がん性試験が実施された。AFB1 投与群では、投与数日後に 29 匹が死亡し、52~104 週後までに 8 匹が死亡した。投与 8 週後には変異肝細胞癌 (虎斑状細胞巣) が認められ、その数及びサイズは 104 週後まで増加した。投与 78 週後まで生存した動物の 10/26 に肝細胞腺腫 (腫瘍性結節) の発生がみられた。(参照12)

⑪ 104 週間発がん性試験 (ラット、強制経口投与)

Wistar ラット (一群 15~30 匹) に、0 または 50 µg/ラットの AFB1 を週 2 回 4 週間強制経口投与 (溶媒: DMSO) した後、0 または 75 µg/ラットの AFB1 を 10 週間投与する発がん性試験が実施された。

AFB1 投与群では、投与開始 22 週後から前癌性肝細胞巣 (明細胞、混合細胞、及び慢性好塩基性及び虎斑状細胞巣) が認められた。(参照12)

⑫ 66 週間発がん性試験 (ラット、強制経口投与)

Fischer ラット (一群雄 56 匹) に、0 または 25 µg/ラットの AFB1 を週 5 回 8 週間強制経口投与 (溶媒: DMSO)、もしくは 0 または 70 µg/ラットの AFB1 を 2 週間に 9 回強制経口投与する発がん性試験が実施された。

肝の腫瘍性結節と肝細胞癌の発生頻度及び発生時期は表 14 に示されている。

25 µg/ラットの 8 週間投与群では、前癌性肝細胞巣が最終投与 2 週後に観察されたのに対して、70 µg/ラットの 2 週間投与群で同所見が認められたのは 6~14 週後であった。(参照12)

表 14 肝の腫瘍性結節と肝細胞癌の発生頻度及び発生時期

投与量 (投与期間)	25 µg/ラット (8 週間)		70 µg/ラット (2 週間)	
	発生時期 (週)	発生頻度	発生時期 (週)	発生頻度
肝の腫瘍性結節	32	6/10	66	3/13
肝細胞癌	47	3/10	66	1/13

⑬ 90 週間発がん性試験 (ラット、飲水投与)

MRC ラット (一群雌雄各 10~15 匹) に、AFB1 を 0 または 20 µg/ラットの用量で 10 または 20 週間飲水投与 (5 日/週、遮光給水瓶使用) する発がん性試験が実施された。

AFB1 投与群の試験 90 週における生存率は、10 週間投与群で 4/10 (雄のみ)、20 週間投与群で 12/30 (雌雄合計) であった。AFB1 投与により肝細胞腺腫が誘発され、その発生頻度は 20 週間投与群の雄で 8/15、雌で 11/15、10 週間投与群の雄で 3/10 であった。投与群の動物の肝臓には過形成結節及び囊胞腺腫も観察された。その他に、2 例に腎細胞腫瘍が認められた。(参照12)

⑭ 46 週間発がん性試験 (ラット、腹腔内投与)

雄の Fischer ラットに、0 または 32.5 µg/ラットの AFB1 を週 5 回 8 週間腹腔内投与 (総投与量: 1,300 µg/ラット、溶媒: DMSO) した結果、投与群では 46 週で 9 匹中 9 例に肝細胞癌が認められた。(参照12)

⑮ 65 週間発がん性試験 (ラット、皮下投与)

雄ラット (系統不明 6 匹) に、0 または 20 µg/ラットの AFB1 を週 2 回 65 週間皮下投与 (溶媒: 落花生油) した結果、投与群では 18~37 週で 6 匹中 6 例に皮下の肉腫が認められた。(参照12)

⑯ 58 週間発がん性試験 (ラット、皮下投与)

雄の Fischer ラットに、0 または 10 µg/ラットの AFB1 を週 2 回 20 週間皮下

投与（溶媒：トリオクタノイン）した結果、投与群では58週で9匹中9例の投与部位の皮下に肉腫が認められた。（参照12）

⑩ 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）

3系統（Swiss, C3H, C57BL）のマウスに、AFB1を1,000 µg/kg 飼料の濃度で70週間混餌投与した結果、発がん性は認められなかった。（参照12）

⑪ 24 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）

A/He マウス（一群雌16匹）に、0または2,000 µg/kg 体重の AFB1 を週3回4週間腹腔内投与（総平均投与量：5,600 µg/ラット、溶媒：DMSO）する発がん性試験が実施された。試験は投与開始24週で終了した。

AFB1 投与群において、肺腺腫が14匹中14例（平均5.6個/マウス）に認められた。溶媒対照群では15匹中4例（平均0.3個/マウス）に肺腺腫が認められた。（参照12）

⑫ 24 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）

A/J マウス（投与群：一群雌雄各8匹、溶媒対照群：雌雄各16匹、無処置対照群：雄136匹、雌131匹）に、0、5,000、12,500または25,000 µg/kg 体重の AFB1 を週1回6週間腹腔内投与（溶媒：DMSO）する発がん性試験が実施された。試験は投与開始24週で終了した。

肺腺腫の発生頻度は表15に示されている。AFB1 投与群では、いずれの用量でも全例に肺腺腫が認められ、1匹当たりの肺腺腫の数には用量相関性がみられた。（参照12）

表15 肺腺腫の発生頻度

試験群	無処置対照		溶媒対照		5,000 µg/kg 体重		12,500 µg/kg 体重		25,000 µg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肺腺腫 (%)	38	25	17	50	100	100	100	100	100	100
1匹当たりの肺腺腫の数(平均)	0.29~0.57		6.56		15.75		20.20		28.80	

⑬ 82 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）

(C57BL×C3H)<sub>F1</sub> マウス（新生児雌雄）に、0、250、1,000、2,000または6,000 µg/kg 体重の AFB1 を、生後1~16日に単回、3日おきに3または5回腹腔内投与（総投与量：1,250、2,000、3,000または6,000 µg/kg 体重、溶媒：トリオクタノイン）する発がん性試験が実施された。試験52週及び82週で剖検を行った。

52週では、2,000 µg/kg 体重の単回投与群を除いたすべての AFB1 投与群で肝細胞癌の発生頻度増加（31/71）が認められた。82週では、総投与量1,250 µg/kg 体重を含む全投与群で肝細胞癌の発生頻度増加（82/105）が認められた。対照群（82週）における肝細胞癌の発生頻度は3/100であった。（参照12）

⑭ 15 カ月間発がん性試験（トランスジェニックマウス、腹腔内投与）

HBVの外膜タンパクの過剰発現を示すC57BL/6系統のトランスジェニックマウス（一群雌9~10匹）に、0または250 µg/kg 体重の AFB1 を単回または隔月で5回、もしくは2,000 µg/kg 体重を週1回3週間腹腔内投与（溶媒：トリカプリン）する発がん性試験が実施された。

15カ月の試験終了時における生存動物数は各群で7~9匹であった。2,000 µg/kg 体重の3回投与群では、肝細胞癌が2例、肝細胞腺腫が10例認められた。肝細胞腺腫は250 µg/kg 体重の5回投与群で4例、250 µg/kg 体重の単回投与群で6例認められた。

非トランスジェニックマウスの AFB1 投与群では肝細胞癌の発生はみられず、肝臓に非腫瘍性の結節が認められた。トランスジェニックマウスの対照群においても、肝臓に種々の大きさの結節が認められた。（参照12）

⑮ 78 週間発がん性試験（ハムスター、強制経口投与）

雄のシリアンハムスターに、AFB1を0または2,000 µg/kg 体重の用量で6週間（5日/週）強制経口投与（溶媒：DMSO-トリオクタノイン）する発がん性試験が実施された。一部の動物には、最終投与24時間後から0.1%フェノバルビタール（PB）を飲水投与した。

AFB1 投与群では、試験46週まで生存した動物の33匹中9例に胆管癌が、21例に嚢胞性胆管腫が認められた。AFB1 投与後PBを投与した群においても、同様の腫瘍の発生がみられた。

AFB1 投与群の動物には、限局性胆管増生及び変異肝細胞癌も観察され、試験78週でと殺した動物の2例に肝細胞癌が認められた。（参照12）

⑯ 発がん性試験（サル、腹腔内及び経口投与）

アケゲザル、カニクイザル及びアフリカミドリザル（総数47匹）に、125~250 µg/kg 体重（腹腔内投与）または100~800 µg/kg 体重（経口投与）の AFB1 を2カ月間以上投与（溶媒：DMSO）する発がん性試験が実施された。

総投与量99~1,354 mg（平均709 mg）、試験47~147カ月（平均114カ月）で、35匹中13例に腫瘍が発生した。13例の内訳は、肝細胞癌2例、肝血管肉腫3例、骨肉腫2例、胆嚢または胆管の腺癌6例、膵腺癌2例、未分化型腺腫瘍1例、膀胱乳頭癌1例であった。

総投与量0.35~1,368 mg（平均363 mg）、試験2~141カ月（平均55カ月）で、腫瘍がみられなかった動物22匹中15例に中毒性肝炎、肝硬変、過形成結節等の肝障害が認められた。（参照12）

⑰ 172 週間発がん性試験（ツバイ、混餌投与）

ツバイ（投与群：雄8匹、雌10匹；対照群：雄5匹、雌3匹）に、AFB1を

2,000 µg/kg 飼料の濃度で172週間混餌投与した結果、投与74～172週間（総投与量：24～66 mg）において、生存した雄6匹中3例に、雌6匹中6例に肝細胞癌が発生した。（参照12）

② その他

a. 100週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）

Fischer ラット（一群雄10～30匹）に、0または25 µg/ラットのAFM1またはAFB1を8週間（5日/週）強制経口投与（溶媒：蒸留水）する発がん性試験が実施された。

AFM1投与群では、96週で29匹中1例（3%）にのみ肝細胞癌が認められ、100週でと殺した残りの動物のうち8例（28%）に肝前癌病変（過形成細胞巢及び変異肝細胞巢）が認められた。AFB1投与群では47～53週で9匹中9例に肝細胞癌が発生した（参照12、14）

b. 21カ月間発がん性試験（ラット、混餌投与）

Fischer ラット（一群雄42～63匹）に、AFM1を0、0.5、5または50 µg/kg 飼料の濃度で、もしくはAFB1を50 µg/kg 飼料の濃度で混入した飼料を21カ月間摂取させる発がん性試験が実施された。

AFM1及びAFB1の50 µg/kg 飼料投与群では投与16カ月から肝腫瘍が発症した。肝腫瘍（直径2 mmより大きい肝細胞癌及び腫瘍性結節の合計）の発生頻度は、AFM1投与群では16カ月で1/6、17カ月で0/6、19カ月で2/19、21カ月で6/18であり、21カ月に認められた6例の肝腫瘍のうち2例が肝細胞癌であった。AFB1投与群では16及び17カ月にそれぞれ9/9及び19/20に肝腫瘍が発生し、すべてが肝細胞癌であった。（参照12）

c. 21カ月間発がん性試験（ラット、混餌投与）

Fischer ラット（一群雄42～62匹）に、AFM1を0、0.5、5または50 µg/kg 飼料、もしくはAFB1を50 µg/kg 飼料の濃度で混入した飼料を21カ月間摂取させる発がん性試験が実施された。

AFM1の50 µg/kg 飼料投与群では、21カ月で2/18に肝細胞癌が発症し、19～21カ月でと殺した37匹中6例に腫瘍性結節が認められた。AFB1投与群では17カ月で19/20に肝細胞癌が発生した。（参照12、14）

以上のように、ほとんどの動物種において肝臓が標的器官であり、肝細胞癌が最も多く認められた。その他に肺及び腎臓にも腫瘍が観察された。AFB1の肝発がん性に対する感受性には動物間で大きなばらつきがみられ、ラットで最も高いことが示された。ラットにおける混餌投与による発がん性試験概要は表16に示されている。TD<sub>50</sub><sup>2</sup>の比較から、発がん性に対する感受性は、Fischer ラットで最も高く、

雌より雄の方がやや高かった。（参照14）

表 16 ラットにおけるAFB1混餌投与による発がん性試験概要

動物種	投与量		投与期間	肝腫瘍発生頻度	TD <sub>50</sub> (µg/kg 体重/日)
	µg/kg 飼料	µg/kg 体重/日			
Fischer ラット (雌)	0	0	80週	0/25	
	15	0.75	68週	12/12	
	300	15	35-52週	6/20	
	1,000	50	35-41週	18/22	
	1,000	50	2週	1/16 (82週後)	
Fischer ラット (雌)	0	0	80週	0/25	
	15	0.75	80週	13/13	
	300	15	60-70週	11/11	
	1,000	50	64週	4/4	
	1,000	50	2週	1/13 (82週後)	
Porton ラット (雌)	0	0	104週	0/46	TD <sub>50</sub> =3.52
	100	4	104週	17/34	
	500	20	104週	25/25	
Porton ラット (雌)	0	0	104週	0/34	TD <sub>50</sub> =12.5
	100	5	104週	5/30	
	500	25	104週	26/33	
Wistar ラット (雌)	0	0	147日	0/24	
	250	12.5	147日	8/13 (742日後)	
	500	25	147日	13/18 (622日後)	
	1,000	50	147日	12/14 (611日後)	
CDR ラット (雌)	0	0	104週	0/50	TD <sub>50</sub> =4.19
	4	4	104週	24/50	
Fischer ラット (雌)	0	0	104週	0/16	TD <sub>50</sub> =1.13
	0.8	0.8	104週	5/13	
Fischer ラット (雌)	0	0	104週	0/15	TD <sub>50</sub> =9.93
	1	1	104週	1/15	
Fischer ラット (雌)	0	0	104週	0/18	TD <sub>50</sub> =0.932
	1	0.04	2/22	2/22	
	5	0.2	93週	1/22	
	15	0.6	96週	4/21	
	50	2.0	82週	20/25	
	100	4.0	54週	28/28	
Fischer ラット (雌)	0	0	1/144	1/144	TD <sub>50</sub> =49.9
	0.2	0.2	0/23	0/23	
	0.6	0.6	0/24	0/24	
	1.8	1/23	1/23		
Fischer ラット (雌)	0	0	104週	0/144	TD <sub>50</sub> =50.7
	0.25	0.25	104週	0/24	
	0.75	0.75	104週	0/24	
	2.25	2.25	104週	1/24	

2: 標準期間（その動物種の標準的な寿命）にわたって慢性投与した場合に、腫瘍がその期間を通じて存在しない確率の死に補正後の推定値が半分になる用量（Tumorigenic dose rate 50）

### (3) 生殖発生毒性

#### ① 生殖毒性試験（ラット、強制経口投与）

雌のDruckrey ラットに、7.5 mg/kg 体重/日の AFB1 を 14 日間強制経口投与した結果、卵巣及び子宮の小型化、胎児吸収率増加、発情周期の乱れ、ロードン S<sub>3</sub> の抑制、妊娠率低下、同腹児数減少といった重篤な生殖障害を示唆する影響が認められた。投与後の血中濃度は 86.2 µg/L であった。（参照13）

#### ② 生殖毒性試験（ラット、強制経口投与）

雌のDruckrey ラットに、7.5 または 15 mg/kg 体重/日の AFB1 を 21 日間強制経口投与した結果、卵巣の卵母細胞及び大型卵胞数の用量依存的減少、血中ホルモン濃度及び生殖臓器重量減少が認められた。（参照13）

#### ③ 生殖毒性試験（ラット、腹腔内投与）

雄のラット（系統不明、16匹）に、約 60 µg/kg 体重の AFB1 を腹腔内投与した結果、精巣の変性及び精子形成障害が認められた。（参照12）

#### ④ *in vitro* 生殖毒性試験（ラット）

アルビノラットの卵母細胞及び精巣上体精子を、2~16 µg/L の濃度の AFB1 で処理し、*in vitro* での授精能が検討された。その結果、平均受精卵数の減少及び精子運動性低下が認められた。（参照13）

#### ⑤ 生殖毒性試験（マウス、混餌投与）

ddy マウス（妊娠雌）に、0.8 ng/kg 体重/日の AFB1、4.8 ng/kg 体重/日の AFG1 または両者を混餌投与する条件で出産させ、児動物に 6 カ月齢まで母動物と同様の飼料を摂取させて生殖毒性試験が実施された。

AFB1 投与群では、児動物の肝臓における中性脂肪及び脂肪酸の蓄積、肝、腎における細胞毒性が認められた。AFG1 投与群では、肝臓における中性脂肪の蓄積、血清トリグリセリドの軽度増加、肝、腎における炎症及び壊死の増強、胆管増生が認められた。

AFG1 の投与量は AFB1 の 6 倍量であったが、肝、腎に対する影響は、AFG1 より AFB1 の方が強かった。（参照11）

#### ⑥ 生殖毒性試験（ウサギ、強制経口投与）

雄の成熟ウサギに、15 または 30 µg/kg 体重/日の AFB1 を隔日で 9 週間強制経口投与後、9 週間の回復期間が設定された。

体重増加抑制、精巣比重量、血清テストステロン濃度、射精量、精子濃度及び精子運動性の低下、奇形精子の増加が用量依存的に認められた。これらの影響は回復期間中も持続した。また、投与期間及び回復期間中を通じて、アスコルビン

酸 (20 mg/kg 体重/日) の同時投与によりこれらの影響は緩和された。（参照13）

#### ⑦ 生殖毒性試験（ミンク、混餌投与）

雌ミンクに、自然汚染トモロコシから得られた総アフラトキシンを 5 または 10 µg/kg 飼料の濃度で 90 日間混餌投与し、生殖毒性試験が実施された。

10 µg/kg 飼料 投与群で出生時の児動物に低体重が認められ、3 週齢時には同投与群の児動物に低体重が認められた。また、10 µg/kg 飼料投与群では児動物の死亡率が上昇し、3 週齢時で 33% に達した。10 µg/kg 飼料投与群の乳汁試料の分析では、アフラトキシンの代謝物の濃度はかなり低かった。（参照13）

#### ⑧ 発達神経毒性試験（ラット、皮下投与）

Wistar ラットに、0.3 mg/kg 体重/日の AFB1 を妊娠 11~14 または 15~18 日に皮下投与した後出産させ、児動物の発達神経毒性試験が実施された。

妊娠、哺育期間を通じて、母動物の体重に影響はみられなかったが、出生児数の減少が認められた。児動物では、出生時の低体重、初期反応形成 (early response development) の遅延、協調運動障害、学習能力障害が認められた。妊娠 11~14 日投与群における影響の方が妊娠 15~18 日投与群より強かった。（参照13）

#### ⑨ 発達神経毒性試験（ラット、腹腔内投与）

Fischer ラット（一群雌 10 匹）の妊娠 8~10 日または 15~17 日に、2 mg/kg 体重の AFB1 を腹腔内投与した後出産させ、児動物の発達神経毒性試験が実施された。

妊娠 8~10 日投与群の児動物では、1 及び 2 カ月齢で肝臓トリグリセリドが増加した。いずれの投与群においても、1 カ月齢で自発運動量の減少が認められた。2~3 カ月齢で児動物の行動は正常となったが、脳に不可逆的な神経細胞変性が認められた。（参照12）

#### ⑩ 発生毒性試験（ラット、皮下投与）

ラット（一群雌 10 匹）の妊娠 8 または 16 日に、0.7、1.4、3.5、7.0 mg/kg 体重のアフラトキシン (AFB1 : AFB2 = 75 : 25) を皮下投与した結果、胎児に低体重、皮膚のしわ及び頭部の軽度腫大がみられた。奇形は認められなかった。（参照12）

#### ⑪ *in vitro* 発生毒性試験（ラット）

10 日齢のラット胚に 15 µM [4.7 mg] もしくはそれ以上の濃度の AFB1 で処理したところ、神経管欠損が誘発された。代謝活性化系存在下では、異常形態発生誘発能に影響はみられなかったが、胚死亡率が上昇した。（参照12）

3：哺乳期の雌の発情期において、触覚的刺激に対して単性を背屈させる反射のこと。

#### ⑭ 発生毒性試験（マウス、腹腔内投与）

ICR マウス（一群雌 8～12 匹）の妊娠 6～13 日間の任意の 2 日間に、16 または 32 mg/kg 体重の AFB1 を腹腔内投与する発生毒性試験が実施された。

32 mg/kg 体重投与群において、母動物に死亡、体重増加抑制、腎重量増加が、胎児に低体重、外表奇形（口蓋裂、眼瞼開裂）、骨格奇形（波状肋骨、長管骨湾曲）が認められた。（参照12）

#### ⑮ 発生毒性試験（マウス、強制経口投与）

NMRI マウス（一群雌 19～36 匹）の妊娠 12～13 日に、0、15、45、90 mg/kg 体重の AFB1 を腹腔内投与、または 45 mg/kg 体重の AFB1 を強制経口投与する発生毒性試験が実施された。

腹腔内投与では、45 mg/kg 体重以上投与群の胎児に発達遅延、口蓋裂（4.1～5.6%）及び横隔膜の奇形（18%）が認められた。経口投与群では横隔膜の奇形（13%）が認められた。また、90 mg/kg 体重の AFB1 を腹腔内投与した結果、横隔膜の奇形（14.7%）及び腎奇形（5.5%）が認められた。（参照12）

#### ⑯ 発生毒性試験（マウス、強制経口投与）

CBA マウス（一群雌 7～8 匹）の妊娠 8 または 9 日に、4 mg/kg 体重の AFB1 を強制経口投与する発生毒性試験が実施された。

妊娠 8 日投与群では、胎児 61 匹中 7 例に奇形が認められた（外脳症 4 例、眼瞼開裂 3 例、小腸脱 2 例）が、妊娠 9 日投与群の胎児 51 匹には奇形はみられなかった。（参照12）

#### ⑰ 発生毒性試験（ニワトリ）

ニワトリの発育卵に AFB1 を投与した結果、胚死亡、胚重量及び体長の減少が認められたが、異常胚の有意な増加はみられなかった。（参照13）

### （4）遺伝毒性

#### ① AFB1 の遺伝毒性試験

AFB1 の遺伝毒性については、*in vitro* 及び *in vivo* ともに広範な試験が実施されており、そのほとんどにおいて陽性の結果が得られている。

細菌において遺伝子突然変異、DNA 損傷、DNA との共有結合、真菌類において遺伝子突然変異、遺伝子変換、有糸分裂組換え、ショウジョウバエにおいて魚性劣勢致死、体細胞突然変異及び組換えが誘発された。また、ニワトリおよび魚類細胞の DNA との共有結合が *in vitro* で観察された。他の培養細胞を用いた *in vitro* 試験では、げっ歯類細胞において細胞形質転換、染色体異常、姉妹染色体交換（SCE）、遺伝子突然変異、不定期 DNA 合成（UDS）、DNA 鎖切断が、ヒト細胞において染色体異常、小核形成、遺伝子突然変異、SCE、UDS、DNA

との共有結合が誘発された。*in vivo* 試験では、げっ歯類動物において染色体異常、小核形成、SCE、UDS、DNA 鎖切断及び DNA との共有結合が誘発された。また、アカゲザルにおいて骨髄での染色体異常の誘発が観察された。（参照12）

最近の報告では、AFB1 は点突然変異だけでなく、組換え反応を誘発することが酵母と哺乳類細胞を用いた試験系で報告された。特にヒトリンパ芽球細胞において組換えを介して LOH（ヘテロ結合体の消失）型突然変異を誘発した。*in vivo* 試験においては遺伝子突然変異の誘発が報告された。ラットにおいては脾臓リンパ球でのヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HPRT）遺伝子突然変異が誘発された。また、BigBlue® トランスジェニックマウスでは脾臓での *lacI* 遺伝子突然変異は誘発されなかったが、BigBlue® トランスジェニックラットにおいてはマウスへの投与量の 10 分の 1 の用量で、脾臓に強い突然変異の誘発が観察された。また、遺伝子解析の結果からそのほとんどが G から T への転換であった。（参照13）

#### ② AFB1 の遺伝毒性の活性への修飾因子に関する試験

マウスにおいて、酢酸レチニル（ビタミン A）補助食の摂取により AFB1 による SCE の誘発が低下した。チャイニーズハムスターでは、亜セレン酸ナトリウムを 2 mg/L の濃度で 14 日間飲水投与、マウスではアスコルビン酸を 10 mg/kg 体重の用量で 6 及び 12 週間投与した結果、骨髄細胞における染色体異常の誘発率は低下した。

その他にも、AFB1 の遺伝毒性の活性は、ビタミン A、フェノール化合物（没食子酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、ドーパミン、オイゲノール、*p*-ヒドロキシ安息香酸）、植物フラボノイド（ケンペロール、モリン、フィセチン、ピオカニン A、ルチン）、アリキシン及び *p*-アセチルゲニポシドのような種々の食品成分によって抑制されることが認められている。（参照12）

#### ③ AFB1 誘発腫瘍における癌原遺伝子及び腫瘍抑制遺伝子に関する試験

雄の CF1 マウスに 6 µg/kg 体重の AFB1 を単回腹腔内投与した試験において、24 週以降に発生した 8 例の肝腫瘍のうち 1 例に *c-Ha-ras* 癌原遺伝子のコドン 61 における CAA から CTA への転換が、2 例に CAA から AAA への転換が認められた。

雄の Fischer ラットに AFB1 を 1 mg/kg 飼料、AFG1 を 0.3 mg/kg 飼料の濃度で混餌投与することで誘発された肝細胞腫瘍から採取した DNA 及び、その肝細胞腫瘍由来の 2 つの細胞株から調製した DNA を、NIH3T3 マウス細胞株に遺伝子導入し、免疫不全ヌードマウスに対する移植による選別とそれに引き続く *in vitro* のフォークス・アッセイで導入細胞の選別を行った。その結果、1/7 で



Ha-ras、1/7 で Ki-ras、5/7 で N-ras 癌原遺伝子の活性化が見出されたが、突然変異（コドン 12 における G から A への転移）は Ki-ras の 1 例にのみ認められた。

雄の Fischer ラットに 25 µg の AFB1 を 8 週間（5 日/週）腹腔内投与した試験において、投与 1~2 年後に発生した 8 例の肝細胞癌のうち 3 例に c-Ki-ras 癌原遺伝子のコドン 12 における突然変異が認められ、1 例は GGT から TGT への転換、2 例は GGT から GAT への転移が認められた。

AFB1 を投与したアカガザル及びカニクイザル（各 4 匹）に発生した、肝細胞癌 4 例（2 例はカニクイザル）、胆管癌 1 例、紡錘細胞癌 1 例、血管内皮細胞肉腫 1 例、骨肉腫 1 例において、p53 遺伝子のエクソン 5、7、8 ではコドン 249 の突然変異は認められず、肝細胞癌 1 例でコドン 175 における G から T への転換が認められた。（参照 12）

## (5) その他

### ① AFB1 の発がん性を修飾する因子

#### a. カロリー制限食

雄の Fischer ラットにカロリー制限（自由摂取させた対照群の 60%）された飼料を 6 週間摂取させた結果、肝または腎細胞における AFB1 の核 DNA への結合量減少及び AFB1 誘発性の肝細胞障害の減少が認められた。AFB1 の反復投与によって肝及び腎細胞の DNA 合成は抑制されたが、DNA 合成率はカロリー制限食群よりも対照群の方が高かった。AFB1 投与 3 日後には対照群のレベルに回復した。腎細胞におけるフロロサイトメトリーでの細胞周期解析では、カロリー制限食群及び対照群の S 期の細胞集団に有意な差は認められなかった。AFB1 投与により細胞増殖は平均で 33%阻害されたが、投与 3 日後には腎細胞で回復がみられた。細胞増殖率は、カロリー制限食群に比して対照群でわずかに高かった。肝臓及び腎臓における AFB1 誘発性の DNA 合成には、カロリー制限食群で遅延がみられた。（参照 11）

#### b. 低タンパク食

Fischer ラットに 0.3 mg/kg 体重/日の AFB1 を 15 日間投与後、6、14 または 22%のカゼイン（タンパク質量：5.2、12.2 または 19.1%）を含む飼料を 6、12、40、58 または 100 週間摂取させ、肝腫瘍と GGT 陽性肝細胞癌の発生について検討された。

肝細胞癌（12 週）及び肝腫瘍（40、58 及び 100 週）は、タンパク質の摂取量に依存して発生が増加した。低タンパク食群では、肝細胞癌及び肝腫瘍の発生率、腫瘍の大きさ、動物あたりの腫瘍の数は減少し、腫瘍出現までの時間は増加した。

肝臓以外の腫瘍発生率も、最低量のタンパク質を含む飼料を与えた動物では低かった。58 及び 100 週では、肝細胞癌発生の指標（細胞巢の数、肝体積に占める百分比）と腫瘍発生頻度が高い相関関係がみられた（ $r = 0.90-1.00$ ）。腫瘍及び肝細胞癌は、エネルギー摂取が比較的多い場合でも、低タンパク食によって抑制されることが認められた。

ヒトの原発性肝癌は主に HBV 感染を伴うことが示唆されており、血漿コレステロール濃度を上昇させて、癌の成長を促進する栄養的要因（例、動物性タンパク質）と結び付けられている。この仮説を検証するため、HBV トランスジェニックマウスを用いて、腫瘍の進行に対する食餌中の動物性タンパク質の影響について検討された。

50-4 HBV トランスジェニックマウスの F<sub>2</sub> 児動物（雄）に、6、14 または 22% のカゼインを含む飼料を摂取させた結果、通常量のタンパク質（22%）摂取群では、3 カ月で S-導入遺伝子の遺伝子産物である HBsAg 濃度の増加が認められた。これに対して、中量及び低量のカゼイン制限群の HBsAg は、それぞれ 42 及び 72%抑制され、有意な用量反応関係が示された。血清グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼの活性には、タンパク質量の影響はみられなかった。以上の結果から、これらの実験動物においてカゼイン制限飼料は S-導入遺伝子発現を制御することが示唆された。（参照 11）

#### c. 脂肪・炭水化物

Fischer ラットに、低脂肪・高炭水化物飼料、等カロリー脂肪含有飼料、高カロリー脂肪含有飼料、または市販のげっ歯類用標準飼料を与え、AFB1 の外因性 DNA への結合、肝の GST、CYP2B1 及び 1A1 の活性に対する影響について検討された。

ミクロソームを介した AFB1 の外因性 DNA への結合は、標準飼料または低脂肪・高炭水化物飼料群で有意に低下し、低脂肪・高炭水化物飼料が AFB1 のミクロソーム媒介のエポキシ化を抑制する可能性があることが示唆された。肝の GST 活性には群間で差はみられなかった。高脂肪飼料群では標準飼料または高炭水化物飼料よりも CYP1A1 及び 2B1 活性が増加し、AFB1 の解毒作用が増大することが示唆された。（参照 11）

#### ② 免疫毒性

離乳したラット（系統不明）に、60、300 または 600 µg/kg 体重の AFB1 を隔日で 4 週間混餌投与し、免疫抑制について検討された。細胞性免疫については、遅延型過敏症反応分析法により、体液性免疫についてはプラーク形成法により測定された。また、T 及び B 細胞に対してリンパ増殖反応の分析も行われた。成長中のラットでは、300 µg/kg 体重以上投与群で細胞性免疫の抑制が認めら

れた。成長中の宿主に対する AFB1 の特長的な低用量暴露が、感染症と腫瘍化に対する感受性を高める可能性がある」と結論された。

Fischer ラット（雄）及び Swiss マウス（雌）に、エアロゾルによる鼻部吸入または気管内滴下のいずれかにより AFB1 を投与し、免疫抑制効果について検討された。

吸入投与では、推定用量 16.8 µg/kg 体重で肺胞マクロファージ食作用が抑制され、この作用は 2 週間持続した。気管内滴下では、吸入投与による摂取量より 1 桁少ない用量で、用量依存的な肺胞マクロファージ食作用の抑制が認められた。気管内滴下投与では、肺胞マクロファージからの腫瘍壊死因子-α の放出が抑制され、全身の先天性及び後天性の免疫防御が阻害されたが、これらはそれぞれ腹腔マクロファージ食作用と脾臓の抗体産生の一次応答の抑制によって示されている。以上より、AFB1 の経気道暴露は、肺及び全身の宿主防御機構を抑制したと結論された。（参照11）

### 3. ヒトにおける知見 (AFB1)

#### (1) 体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）

体内に摂取された AFB1 は、ヒトにおいても他の動物種と同様に CYP により AFB1-8,9-エポキシンドに代謝され、AFB1-DNA 付加体を形成することで、発がん性を示すとされている。AFB1-8,9-エポキシンドは半減期は短いが高い反応性を有し、グアニンの N7 位に結合し DNA 付加体を形成する。AFB1 の代謝活性化の程度には個人差がみられ、子供と成人とで異なる。

ヒトにおける AFB1 の代謝は、主に CYP1A2 や CYP3A4 などの CYP によって行われる。CYP3A4 により AFB1-エキソ-エポキシンド及び AFQ1 が生成され、CYP1A2 によって少量の AFB1-エキソ-エポキシンド、多量の AFB1-エンド-エポキシンド及び AFM1 が生成される。AFM1 及び AFQ1 は尿中に排泄される。AFB1-N7-グアニン付加体は、AFB1-エキソ-8,9-エポキシンドによって形成され、付加体の 98%超を占める。CYP3A5 は主として AFB1 をエキソ-エポキシンドに代謝し、AFQ1 の生成は少ない。肝臓の CYP3A5 発現には個人差があり、アフリカ系アメリカ人の 40%には発現がみられない。CYP3A5 発現の差は AFB1 に対する感受性に影響を与える可能性がある。CYP3A5 についてはプロモーター部位の多型が検出されているが、感受性と遺伝子多型との関係については明らかでない。

胎児の肝臓における主要な CYP は CYP3A7 (P450 HFLa) であり、この酵素は AFB1 を 8,9-エポキシンドに代謝活性化する。このことは、ガンビアにおいて、AFB1 を摂取した母親から生まれた新生児の臍帯血から AFB1-アルブミン付加体が検出されたことと合致する。

ヒトではエキソ-、エンド-エポキシンドの解毒経路がいくつかある。一つは GST による抱合化である。また、水酸化により 8,9-ジヒドロジオールが生成され、塩

基による開環を受けてジアレデヒドフェノラートイオンとなる。AFB1 及び AFG1 から生成されたジアレデヒドは、リジンなどの第一級アミン基とシッフ塩基を形成し、アルブミン付加体などのタンパク質付加体となる。さらに、タンパク質付加体は AFB1 アルデヒドリダクターゼによる代謝を受けてジアルコールが生成される。この酵素はラットにおいても認められている。

住血吸虫治療薬であるオルチプラズ (Oltipraz) は、ラットで AFB1 誘発肝臓の発生を抑制することが認められている。中国の健康者 234 人に対してオルチプラズ 500 mg を毎週、または 125 mg を毎日投与した結果、500 mg 投与群では尿中の AFM1 量が 51%減少し、125 mg 投与群では AFM1 排泄量に変化はみられず、アフラトキシニン-メルカプツール酸の排泄量が増加した。したがって、高用量のオルチプラズは AFB1 の代謝活性を抑制するが、低用量では AFB1-8,9-エポキシンドのグルタチオン抱合を増加させると結論された。（参照13）

#### (2) 急性毒性

ヒトのアフラトキシニン中毒に関する報告は少ないが、2004 年にケニアで発生した大規模なアフラトキシニン中毒では、中毒患者 317 人中 125 例が死亡した。中毒発生地域で販売されたトウモロコシ製品 55%が、ケニアの規制基準である 20 µg/kg よりも高濃度のアフラトキシニンを含んでおり、35%ではアフラトキシニン濃度が 100 µg/kg 以上、7%では 1,000 µg/kg 以上であった。中毒患者数の最多地域におけるアフラトキシニン濃度（平均 52.91 µg/kg）は、患者数の少ない地域における濃度（平均 7.52 µg/kg）に比して有意に高かった。急性アフラトキシニン中毒患者を対象とした症例対照調査から、過去の報告値の最高値 (0.25 ng/mg アルブミン) を上回る濃度の AFB1-リジン付加体がリスク因子であるとされた。（参照14）

アフラトキシニン摂取の結果起こりうる急性肝毒性は、成人よりも子供の方が深刻である。嘔吐、発作、黄疸などの症状に加え、肝機能障害や血清肝酵素の上昇が認められる。

1992 年に報告された、南アフリカにおける調査では、タンパク質エネルギー欠乏症の子供がアフラトキシニンに暴露された場合、対照群に比して血清中のアフラトキシニン濃度が高かった。しかし対照群の子供では尿中のアフラトキシニン濃度が高かった。アフラトキシニンに暴露されたタンパク質エネルギー欠乏症の子供では、ヘモグロビンの低下、水腫回復の遅延、感染症の増加、入院期間の延長が認められた。また、アフラトキシニンに暴露された子供ではマラリア感染が増加した。（参照13）

### (3) 発がん性

1960年代初頭から、主にサハラアフリカとアジアを対象に、アフラトキシン  
の摂取と肝癌のリスクに関する疫学調査が進められ、1980年代には高リ  
スク地域で症例対照研究が実施され、1980年代半ばにはコホート研究が行われ  
るようになった。IARCでは、ヒト及び実験動物におけるAFB1の発がん性につ  
いて、十分な証拠があるとしている。また、総合評価として、自然界で生じるア  
フラトキシン混合物はヒトに対して発がん性がある物質（グループ1）と分類し  
ている。

### ① 記述調査

原発性肝細胞癌の発生が多い台湾の8地域で横断的研究が実施され1993年に  
報告された。成人250人を対象に聞き取り調査を行うと共に、尿及び血液試料  
を採取し、血清中のHBsAbの検出、尿中のAFB1、AFG1及び代謝物（AFM1、  
AFP1等）の測定が行われた結果、アフラトキシン摂取量と肝細胞癌の発生との  
関連性は認められたが、喫煙やアルコール等他の190項目については関係が非  
除された。

スーダンの2地域について、1995年にアフラトキシン汚染落花生と肝細胞癌  
発生の関係が調査された。肝細胞癌の発生率は中央部よりも西部で高いとされた。  
両地域で市販されているピーナツツバタを試料とし、落花生製品の保存状態と  
AFB1濃度の関連を調査した結果、多量である西部地方の試料中AFB1濃度は、  
中央部をはるかに上回り、消費量も多いことが明らかになった。（参照13）

### ② コホート調査

原発性肝細胞癌の発生率が世界で最も高い地域の一つである中国の広西チワ  
ン自治区南部で1982年7月から1983年6月に25～64歳の男性7,917人を対象  
に原発性肝細胞癌の発生におけるHBVとAFB1の関与について調査が実施され  
た。30,188人年の観察の結果、149例の死亡が認められ、76例は原発性肝細胞  
癌が原因であった。HBsAg陽性率はコホート全体では23%であったが、死亡例  
では91%（76例中69例）であった。また、AFB1暴露量を推定するために1978  
～1984年に主要な食品を定期的にサンプリングし、AFB1汚染の検査が実施さ  
れた。各集団における推定AFB1暴露量と原発性肝細胞癌の死亡率をプロットし  
たところ、ほぼ完全な線形の正の相関関係が認められた。（参照11、14）

上海の45～64歳の男性を対象として、1986～1992年に実施された調査では、  
18,244人中364例の癌発症があり、55例が原発性肝癌であった。アフラトキシ  
ンバイオマーカーとして尿中のAFB1代謝物（AFP1、AFM1、AFB1-N7-グア  
ニン付加体）が測定され、HBsAgの有無が検査された。肝癌患者50人中32例、

対照群267人中31例でHBsAg陽性が認められた。バイオマーカーは多くの症  
例で検出され、AFB1-N7-グアニン付加体が検出された患者では最も発がんリス  
クが高かった。リスク因子がバイオマーカー単独の場合の相対リスクは3.4、  
HBsAg陽性単独では7.3、両者がリスク因子である場合は59であった。

台湾のポンプ島では肝細胞癌の発症率が高いとされている。1991年5月  
から1992年6月にスクリーニングが実施され、30～65歳の男性4,691人及び  
女性1,796人を対象に前向きコホート調査が実施された。その結果、1993年ま  
でに33人が肝細胞癌と診断され、2例ではHBsAg陰性であった。血液試料に  
ついては、血清マーカーとしてHBsAg、抗HCV抗体、AFB1-アルブミン付加  
体の分析が行われた。ロジスティック回帰分析の結果、AFB1-アルブミン付加体  
の存在と肝細胞癌との比（OR）は3.2、他の共変量（HBsAg、抗HCV抗体、  
家族の肝癌及び肝硬変の病歴）を含めた場合にはORは5.5に上昇した。HBsAg  
陽性の場合には最もリスクが高くなり、ORは129であった。この集団のアフラ  
トキシンの主な汚染源は落花生であると推定された。

台湾の7つの町の町の25,618人の男性を対象に、1991～1995年に実施された調  
査では、56例に肝細胞癌の発症が認められた。血清中のHBsAg、 $\alpha$ -フェトプロ  
テイン、抗HCV抗体、AFB1-アルブミン付加体等及び尿中のAFB1代謝物を測  
定し、ロジスティック回帰分析が行われた結果、HBsAg陽性患者においてバイ  
オマーカーが大きな影響を与えることが示された。

台湾のHBsAg陽性患者79人を対象に、1991～1997年に実施された調査では、  
AFB1-アルブミン付加体と肝細胞癌との間に有意な関連性が認められた。  
GSTM1及びGSTT1欠失遺伝子型は、肝細胞癌のリスクの低下に関連しており、  
GSTT1遺伝子型とAFB1-アルブミン付加体の間には統計学的に有意な相互作用  
が認められた。

台湾の30～65歳の男性、HBsAg陽性4,841人、陰性2,501人を対象に、1988  
～1992年に実施された調査では、50例に肝細胞癌の発症が認められ、1例（抗  
HCV抗体陽性）を除きHBsAg陽性であった。尿中のアフラトキシン代謝物の  
分析では、AFM1はすべての患者で検出され、AFP1は81%、AFB1-N7-グア  
ニン付加体は43%、AFB1は12%、AFG1は12%の患者で検出された。アフラト  
キシンを含むと考えられる食品の摂取量と尿中AFM1濃度との間には有意な相  
関関係が認められた。AFM1、AFP1、AFB1、AFG1、AFB1-N7-グアニン付加体  
の5種類のバイオマーカーのうち、AFG1を除く4種類のバイオマーカーが肝細  
胞癌のリスクの増加と関連していた。