



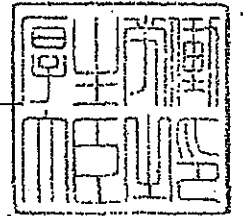
厚生労働省発食安第0331023号

平成21年3月31日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舛添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

食品中のアフラトキシンに係る成分規格の設定について

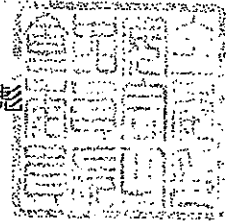




府食第261号  
平成21年3月19日

厚生労働大臣  
舩添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成20年9月3日付け厚生労働省発食安第0903001号をもって貴省から当委員会に意見を求められた総アフラトキシン（アフラトキシンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及びG<sub>2</sub>）に係る食品健康影響評価の結果は別添のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

# かび毒評価書

## 総アフラトキシン

(アフラトキシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub>)

2009年3月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○食品安全委員会委員名簿.....	6
○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.....	6
○他の専門調査会に属する専門委員.....	6
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) 諸外国等の規制またはガイドライン値.....	7
II. 評価対象物質の概要.....	9
1. 名称、分子式、分子量、構造式.....	9
(1) アフラトキシン B <sub>1</sub> (AFB <sub>1</sub> ).....	9
① 化学名.....	9
② 分子式.....	9
③ 分子量.....	9
④ 構造式.....	9
(2) アフラトキシン B <sub>2</sub> (AFB <sub>2</sub> ).....	9
① 化学名.....	9
② 分子式.....	9
③ 分子量.....	9
④ 構造式.....	9
(3) アフラトキシン G <sub>1</sub> (AFG <sub>1</sub> ).....	9
① 化学名.....	9
② 分子式.....	10
③ 分子量.....	10
④ 構造式.....	10
(4) アフラトキシン G <sub>2</sub> (AFG <sub>2</sub> ).....	10
① 化学名.....	10
② 分子式.....	10
③ 分子量.....	10
④ 構造式.....	10
2. 物理化学的特性.....	10
3. 産生生物.....	11
4. 発見の経緯.....	11

Ⅲ. 安全性に係る知見の概要	12
1. 実験動物等における体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）	12
(1) 実験動物及び動物組織	12
① 吸収	12
② 分布	12
③ 代謝	12
④ 排泄	13
(2) ヒト組織	14
2. 実験動物等における毒性（AFB1）	15
(1) 急性毒性	15
(2) 慢性毒性・発がん性	16
① 82 週間発がん性試験（ラット、混餌投与）	16
② 104 週間発がん性試験（ラット、混餌投与）	16
③ 生涯投与発がん性試験（ラット、混餌投与）	17
④ 生涯投与発がん性試験（ラット、混餌投与）	17
⑤ 88 週間発がん性試験（ラット、混餌投与）	18
⑥ 82 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	18
⑦ 78 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	18
⑧ 86 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	18
⑨ 500 日間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	19
⑩ 104 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	19
⑪ 104 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	19
⑫ 66 週間発がん性試験（ラット、強制経口投与）	20
⑬ 90 週間発がん性試験（ラット、飲水投与）	20
⑭ 46 週間発がん性試験（ラット、腹腔内投与）	20
⑮ 65 週間発がん性試験（ラット、皮下投与）	20
⑯ 58 週間発がん性試験（ラット、皮下投与）	20
⑰ 70 週間発がん性試験（マウス、混餌投与）	21
⑱ 24 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）	21
⑲ 24 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）	21
⑳ 82 週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）	21
㉑ 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）	22
㉒ 78 週間発がん性試験（ハムスター、強制経口投与）	22
㉓ 発がん性試験（サル、腹腔内及び経口投与）	22
㉔ 172 週間発がん性試験（ツパイ、混餌投与）	22
㉕ その他	23
(3) 生殖発生毒性	25
① 生殖毒性試験（ラット、強制経口投与）	25

②	生殖毒性試験（ラット、強制経口投与）	25
③	生殖毒性試験（ラット、腹腔内投与）	25
④	<i>in vitro</i> 生殖毒性試験（ラット）	25
⑤	生殖毒性試験（マウス、混餌投与）	25
⑥	生殖毒性試験（ウサギ、強制経口投与）	25
⑦	生殖毒性試験（ミンク、混餌投与）	26
⑧	発達神経毒性試験（ラット、皮下投与）	26
⑨	発達神経毒性試験（ラット、腹腔内投与）	26
⑩	発生毒性試験（ラット、皮下投与）	26
⑪	<i>in vitro</i> 発生毒性試験（ラット）	26
⑫	発生毒性試験（マウス、腹腔内投与）	27
⑬	発生毒性試験（マウス、強制経口投与）	27
⑭	発生毒性試験（マウス、強制経口投与）	27
⑮	発生毒性試験（ニワトリ）	27
(4)	遺伝毒性	27
①	AFB1 の遺伝毒性試験	27
②	AFB1 の遺伝毒性の活性への修飾因子に関する試験	28
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	28
(5)	その他	29
①	AFB1 の発がん性を修飾する因子	29
②	免疫毒性	30
3.	ヒトにおける知見（AFB1）	31
(1)	体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）	31
(2)	急性毒性	32
(3)	発がん性	33
①	記述調査	33
②	コホート調査	33
③	症例対照調査	35
(4)	生殖発生毒性	35
(5)	遺伝毒性等	36
①	尿中及び組織中における DNA 付加体	36
②	タンパク質付加体	37
③	DNA への結合の修飾因子	38
④	ヒト肝細胞癌における p53 腫瘍抑制遺伝子の突然変異	38
⑤	ヒト肝細胞癌におけるその他の遺伝的変化	38
(6)	その他	39
4.	AFB1 以外のアフラトキシンに関する知見	39
(1)	アフラトキシン B <sub>2</sub> (AFB2)	39

① 代謝 .....	39
② 遺伝毒性 .....	39
③ 発がん性 .....	40
(2) アフラトキシン G <sub>1</sub> (AFG1) .....	40
① 代謝 .....	40
② 遺伝毒性 .....	40
③ 発がん性 .....	41
(3) アフラトキシン G <sub>2</sub> (AFG2) .....	41
① 遺伝毒性 .....	41
② 発がん性 .....	42
5. 発がんリスクの推定 (AFB1) .....	42
(1) JECFA .....	43
(2) EFSA .....	44
6. 暴露状況 .....	44
(1) 汚染実態 .....	44
(2) 暴露量の推計 (AFB1) .....	48
IV. 食品健康影響評価 .....	50
<別紙1：検査値等略称> .....	52
<別紙2：2004～2006年度に実施されたアフラトキシン汚染実態調査結果> .....	53
<参照> .....	54
<参考資料>我が国におけるアフラトキシンの暴露量及び発がんリスクの試算 .....	55



### <審議の経緯>

- 2008年 9月 3日 厚生労働大臣より食品中の総アフラトキシンに係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
- 2008年 9月 11日 第254回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年 10月 14日 第9回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2008年 11月 17日 第10回かび毒・自然毒等専門調査会
- 2009年 2月 5日 第272回食品安全委員会（報告）
- 2009年 2月 5日 より 3月 6日 国民からの御意見・情報の募集
- 2009年 3月 16日 かび毒・自然毒等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告  
第278回食品安全委員会（報告）  
（同日付で厚生労働大臣に通知）

### <食品安全委員会委員名簿>

見上 彪（委員長）  
小泉直子（委員長代理）  
長尾 拓  
野村一正  
畑江敬子  
廣瀬雅雄  
本間清一

### <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>

佐竹元吉（座長）	塩見一雄
高鳥浩介（座長代理）	渋谷 淳
荒川 修	豊田正武
大島泰克	伏谷伸宏
河合賢一	矢部希見子
熊谷 進	山浦由郎
合田幸広	芳澤宅賈
小西良子	

### <他の専門調査会に属する専門委員>

広瀬明彦  
本間正充

（2008年11月17日 第10回かび毒・自然毒等専門調査会）

## 要 約

総アフラトキシン (アフラトキシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>及び G<sub>2</sub>) について、JECFA、EFSA 及び IARC の資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、体内動態試験、急性毒性試験、慢性毒性・発がん性試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験、ヒトにおける疫学調査結果等である。

アフラトキシン B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 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。

発がん性については、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。

非発がん毒性については、実験動物において生殖パラメーターの異常、催奇形性、免疫毒性などが認められた。

人における疫学調査のほとんどにおいて AFB<sub>1</sub> 暴露と肝細胞癌との相関が指摘されている。これらの調査はアフラトキシンの暴露量が多く、かつ、HBV の罹患率が高い地域で実施されており、HBV 感染はリスク因子であることが示唆されている。

AFB<sub>1</sub> 以外のアフラトキシンについては、アフラトキシン G<sub>1</sub> では遺伝毒性及び発がん性が認められた。アフラトキシン B<sub>2</sub> 及び G<sub>2</sub> に関するデータは限られている。

IARC では、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。

上記のことから、総アフラトキシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、発がんリスクによる評価が適切であると判断された。一方、非発がん影響に関しては、TDI を設定するための定量的評価に適用できる報告はなく、非発がん性を指標とした TDI を求めることは困難と判断された。発がんリスクについては、人の疫学調査の結果から、体重 1kg あたり 1 ng/日の用量で生涯にわたり AFB<sub>1</sub> に経口暴露した時の肝臓癌が生じるリスクとして、HBsAg 陽性者では 0.3 人/10 万人/年 (不確実性の範囲 0.05~0.5 人/10 万人/年)、HBsAg 陰性者では 0.01 人/10 万人/年 (不確実性の範囲 0.002~0.03 人/10 万人/年) となった。

暴露量の推定結果から、AFB<sub>1</sub> に対して 10 µg/kg を検出限界として規制をしている現状においては、落花生及び木の実 (アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ) について、総アフラトキシンの規格基準を設定することによる食品からの暴露量に大きな影響はなく、現状の発がんリスクに及ぼす影響もほとんどないものと推察された。しかしながら、アフラトキシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、食品からの総アフラトキシンの摂取は合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルにするべきである。汚染実態調査の結果、BG グループの汚染率が近年高くなる傾向が見られていることを考慮すると、落花生及び木の実について、発がんリスク及び実行可能性を踏まえ適切に総アフラトキシンの基準値を設定する必要がある。

## I. 背景

### 1. 経緯

現在、我が国においては、アフラトキシン B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) を検出した食品は食品衛生法第 6 条第 2 号に違反するものとして規制されているところであるが、コーデックス委員会における木の実へのアフラトキシンの規格策定の動き等を受け、厚生労働省では平成 16 年度から厚生労働科学研究費等で食品中のアフラトキシンについて調査研究を行ってきた。

当該調査研究の結果を踏まえ、2008 年 7 月 8 日に厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において審議が行われた結果、

- ① 落花生について、AFB<sub>1</sub>、アフラトキシン B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>)、アフラトキシン G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) 及びアフラトキシン G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) の複合汚染が増加していること
- ② 我が国で流通する落花生において AFB<sub>1</sub> より AFG<sub>1</sub> の汚染濃度が高い場合があること
- ③ 我が国は、木の実の輸入国であること

等に鑑み、現在の規制に加えて、今後、落花生及び木の実（アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ）について、コーデックス規格と同様に総アフラトキシン（AFB<sub>1</sub>、AFB<sub>2</sub>、AFG<sub>1</sub> 及び AFG<sub>2</sub>）の規格基準の設定を検討するとの結論が得られた。

この結論を受け、食品安全委員会は、厚生労働省より、食品安全基本法第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品中の総アフラトキシンに係る食品健康影響評価について意見を求められた。（参照1）

### 2. 現行規制等

#### (1) 国内規制

全ての食品において、AFB<sub>1</sub> が不検出（昭和 46 年 3 月 16 日付環食第 128 号）（総アフラトキシンに関する規制なし）

#### (2) 諸外国等の規制またはガイドライン値

諸外国等における規制またはガイドライン値は表 1～4 に示すとおりである。

表 1 コーデックス委員会 (CODEX STAN 193-1995, REV. 3-2007)

食品	総アフラトキシンの最大基準値 (µg/kg)
落花生 (加工原料用)	15
直接消費用木の実 (アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ)	10
加工用木の実 (アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ)	15

表2 米国 (Compliance Policy Guide)

食品	総アフラトキシンの最大基準値 (µg/kg)
全ての食品	20
ブラジルナッツ	20
落花生及び加工品	20
ピスタチオ	20

表3 オーストラリア (Food Standards Code 1.4.1)

食品	総アフラトキシンの最大基準値(µg/kg)
落花生	15
木の实	15

表4 EU (COMMISSION REGULATION(EG) No 1881/2006)

食品	最大基準値 (µg/kg)	
	AFB1	総アフラトキシ
1. 落花生であって、人が直接食べる、または食品の原材料として用いられる前に、選別やその他の物理的処理が行われるもの	8.0	15.0
2. ナッツ類であって、人が直接食べる、または食品の原材料として用いられる前に、選別やその他の物理的処理が行われるもの	5.0	10.0
3. 落花生、ナッツ類及びそれらの加工品で人が直接食べるもの、または食品の原材料として用いられるもの	2.0	4.0
4. 乾燥果実であって、人が直接食べる、または食品の原材料として用いられる前に、選別やその他の物理的処理が行われるもの	5.0	10.0
5. 乾燥果実及びそれらの加工品で人が直接食べるもの、または食品の原材料として用いられるもの	2.0	4.0
6. 穀類及びそれらの加工品 (穀類の加工品を含む製品を含む) (7、9及び10の食品を除く)	2.0	4.0
7. トウモロコシであって、人が直接食べる、または食品の原材料として用いられる前に、選別やその他の物理的処理が行われるもの	5.0	10.0
8. 以下の種類のスパイス類 唐辛子類 (乾燥したものであって、チリ、粉唐辛子、カイエン、パプリカを含む) コショウ類 (白及び黒コショウを含む) ナツメグ ショウガ ターメリック	5.0	10.0
9. 穀類を原材料とする食品及び乳幼児用ベビーフード	0.10	
10. 乳幼児向け特殊医療目的の栄養食品	0.10	

(参照3)

## II. 評価対象物質の概要

### 1. 名称、分子式、分子量、構造式

#### (1) アフラトキシン B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)

##### ① 化学名

CAS (No. 1162-65-8)

和名：(6*aR*,9*aS*)-2,3,6*a*,9*a*-テトラヒドロ-4-メトキシシクロペンタ[*d*]フロ-  
[3',2':4,5]フロ[2,3-*h*][*L*]ベンゾピラン-1,11-ジオン(9CI)

英名：(6*aR*,9*aS*)-2,3,6*a*,9*a*-Tetrahydro-4-methoxycyclopenta[*d*]furo-  
[3',2':4,5]furo[2,3-*h*][*L*]benzopyran-1,11-dione (9CI)

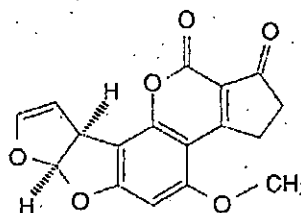
##### ② 分子式

C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

##### ③ 分子量

312.3

##### ④ 構造式



#### (2) アフラトキシン B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>)

##### ① 化学名

CAS (No. 7220-81-7)

和名：(6*aR*,9*aS*)-2,3,6*a*,8,9,9*a*-ヘキサヒドロ-4-メトキシシクロペンタ[*d*]-  
フロ[3',2':4,5]フロ[2,3-*h*][*L*]ベンゾピラン-1,11-ジオン(9CI)

英名：(6*aR*,9*aS*)-2,3,6*a*,8,9,9*a*-Hexahydro-4-methoxycyclopenta[*d*]-  
furo[3',2':4,5]furo[2,3-*h*][*L*]benzopyran-1,11-dione (9CI)

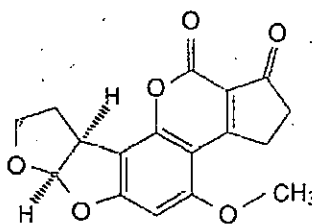
##### ② 分子式

C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>

##### ③ 分子量

314.3

##### ④ 構造式



#### (3) アフラトキシン G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>)

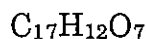
##### ① 化学名

CAS (No. 1165-39-5)

和名：(7*aR*,10*aS*)-3,4,7*a*,10*a*-テトラヒドロ-5-メトキシ-1*H*,12*H*フロ-  
[3',2':4,5]フロ[2,3-*h*]ピラノ[3,4-*c*][*L*]ベンゾピラン-1,12-ジオン(9CI)

英名：(7a*R*,10a*S*)-3,4,7a,10a-Tetrahydro-5-methoxy-1*H*,12*H*-furo-  
[3',2':4,5]furo[2,3-*h*]pyrano[3,4-*c*] [*l*]benzopyran-1,12-dione (9CI)

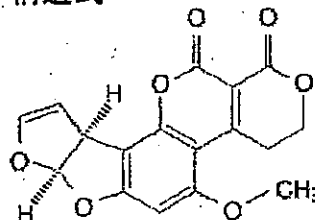
② 分子式



③ 分子量

328.3

④ 構造式



(4) アフラトキシシン G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>)

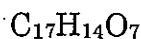
① 化学名

CAS (No. 7241-98-7)

和名：(7a*R*,10a*S*)-3,4,7a,9,10,10a-ヘキサヒドロ-5-メトキシ-1*H*,12*H*-フロ  
[3',2':4,5]フロ[2,3-*h*]ピラノ[3,4-*c*] [*l*]ベンゾピラン-1,12-ジオン (9CI)

英名：(7a*R*,10a*S*)-3,4,7a,9,10,10a-Hexahydro-5-methoxy-1*H*,12*H*-furo  
[3',2':4,5]furo[2,3-*h*]pyrano[3,4-*c*] [*l*]benzopyran-1,12-dione (9CI)

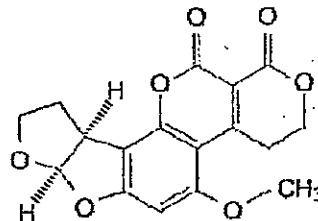
② 分子式



③ 分子量

330.3

④ 構造式



(参照13)

2. 物理化学的特性

物理的性状：無色から淡黄色の結晶。紫外線照射下で強い蛍光を発生し青色 (Blue) のものが B グループ、緑色 (Green) のものが G グループと命名された。AFB1 及び AFB2 は青色、AFG1 は緑色、AFG2 は青緑色の蛍光を発生する。

融点：表 5 参照

吸収スペクトル：表 5 参照

溶解性：水にはわずかに溶解 (10~30 µg/mL)

非極性溶媒には不溶性

中程度の極性を有する有機溶媒 (クロロホルム等)、メタノール及びジメチルスルホキシドには易溶性

安定性：食品中のアフラトキシシンは安定性が極めて高く、通常の加熱調理条件等

ではほとんど分解されない。純粋なアフラトキシンは酸素存在下での紫外線照射、強酸条件下 (pH 3 以下) や強アルカリ条件下 (pH 10 以上) 等の強い条件下では分解されるとされている。

反応性：アルカリ条件下では、ラクトン環が開くが、可逆的反應である（酸を加えると閉環する）。アルカリ条件下で加熱すると、ラクトン環が開いて、脱炭酸が起こり分解し、さらにメトキシル基が脱離して芳香環化する。

表5 アフラトキシンの融点及び紫外外部吸収

名称	融点 (°C)	紫外外部吸収 (エタノール)	
		$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon$ (L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )
AFB1	268~269 (分解)	223	25,600
		265	13,400
		362	21,800
AFB2	286~289 (分解)	265	11,700
		363	23,400
AFG1	244~246 (分解)	243	11,500
		257	9,900
		264	10,000
		362	16,100
AFG2	237~239 (分解)	265	9,700
		363	21,000

(参照9、13)

### 3. 産生生物

アフラトキシンは主に真菌類の不完全菌類に属するかびである *Aspergillus flavus* 及び *Aspergillus parasiticus* によって産生される二次代謝産物の毒素である。これらの菌は、土壌や食品など自然界に広く分布する。アフラトキシシンを産生する主要な菌の種類及び産生するかび毒については表 6 に示されている。

表6 食品ににおけるアフラトキシンの産生に関連する主要な *Aspergillus* 属かびの種類

	かび毒の産生		主要な発生源	地理的分布
	AFB	AFG		
<i>A. flavus</i>	+	-	各種食品	温暖な地域
<i>A. parasiticus</i>	+	+	落花生	特定の地域
<i>A. nomius</i>	+	+	蜂	米国、タイ

AFB：アフラトキシン B グループ

AFG：アフラトキシン G グループ

(参照13)

### 4. 発見の経緯

アフラトキシンは、1960年に英国で10万羽以上の七面鳥が死亡した中毒事件の原因物質として、飼料に使用されていたブラジル産ピーナツミールから発見された。主な産生菌である *A. flavus* (アスペルギルス フラバス) のトキシシン(毒: toxin) という意味から、アフラトキシン (Aflatoxin) と命名された。(参照9)

### III. 安全性に係る知見の概要

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) (1998 及び 2008 年)、欧州食品安全機関 (EFSA) (2007 年)、国際がん研究機関 (IARC) (1993 及び 2002 年) の資料等を基に、安全性に関する主な科学的知見を整理した。(参照 11, 12, 13, 14, 15)

検査値等略称は別紙 1 に示されている。

#### 1. 実験動物等における体内動態 (吸収、分布、代謝、排泄)

##### (1) 実験動物及び動物組織

###### ① 吸収

AFB1 は、ヒツジ及びラットでは消化管から吸収され、血液を介して輸送された。ラットでは、AFB1 の気管内注入後の吸収は経口投与よりも速やかであったが、体内分布及び排泄パターンには、投与経路の影響はみられなかった。

AFB1 をラット血漿と混和、または AFB1 をラットに腹腔内投与した結果、AFB1 は主要な輸送タンパク質であると考えられているアルブミンと非共有結合した。(参照 12)

###### ② 分布

静脈内投与後の AFB1 の挙動を動物種間で比較した結果、ラット及びサル (AFB1 の急性毒性に対して感受性が高い) では、マウス (感受性が低い) に比してアフラトキシンの分布容積は大きく、血漿及び肝臓中濃度が高く、血漿での消失半減期も長かった。

ラットに 20 µg の <sup>14</sup>C-AFB1 を腹腔内投与した結果、乳汁中に主として AFB1 の水酸化体であるアフラトキシン M<sub>1</sub> (AFM1) (図 1 参照) が排泄された。AFM1 は、乳児ラットの肝臓及び肺にタンパク質及び RNA 等の高分子化合物と結合した形で存在したが、DNA との結合は検出されなかった。AFM1 は種々の哺乳動物 (ヒツジ、ヤギ、乳牛) において乳汁中に排泄されることが認められている。

ラットに 7 mg/kg 体重の <sup>14</sup>C-AFB1 を腹腔内または経口投与した結果、投与 30 分後に肝臓で AFB1 及び AFM1 の濃縮が認められたが、24 時間後にはいずれも痕跡量に減少した。マウスを用いた全身オートラジオグラフィーによる体内分布試験では、AFB1 及び代謝物は鼻腺、網膜色素細胞、ハーダー腺色素中に濃縮された。ウシのメラニンを用いた *in vitro* の試験では、未変化の AFB1 と色素との可逆的結合が認められた。(参照 12)

###### ③ 代謝

生体内において AFB1 はミクロソーム系により、AFM1、アフラトキシン P<sub>1</sub> (AFP1)、アフラトキシン Q<sub>1</sub> (AFQ1) 及び活性代謝物と推定される AFB1-8,9-エポキシド等、種々の代謝物に代謝される (図 1 参照) が、動物種間でこれら代



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 AFP1 であったが、ラットでは AFQ1 であった。サイトゾールの酵素によりアフラトキシコール (図1参照) が生成されたが、アフラトキシコール 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、AFP1 が多く生成され、血漿中のアフラトキシコ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ル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酸抱合化を受けることも認められている。

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ゲザルでは、尿中に AFM1 が 2.3% TAR、抱合化された AFP1 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。

ラット腎組織においては、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、 $\mu$ クラス<sup>1</sup>のグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) を有する 24 人の健常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、 $\alpha$ 及び $\mu$ クラス<sup>1</sup>の活性は低下し、 $\pi$ クラス<sup>1</sup>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体化は認められなかった。

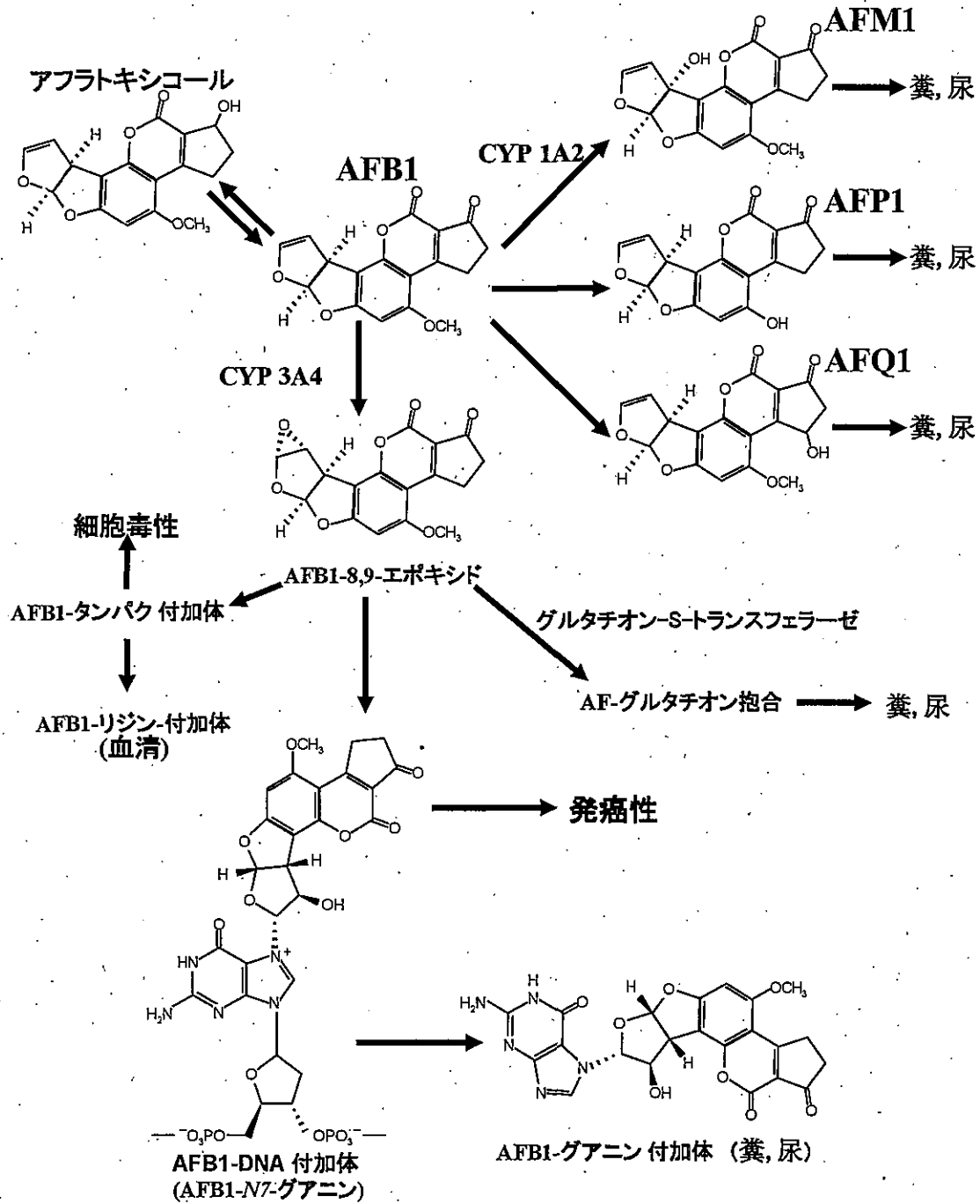
B 型肝炎ウイルス (HBV) 及び C 型肝炎ウイルス (HCV) に感染した肝細胞では、CYP2A6、CYP3A4、CYP2B1 濃度は増加したが、CYP1A2 に影響はみられなかった。

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>) 及びイミダゾールの開環した 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 は水酸化体に代謝され、AFM1、AFP1、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、肝臓の薬物代謝酵素である 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、アミノ酸相同性の程度の違いから  $\alpha$ 、 $\mu$ 、 $\pi$  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 (AFB<sub>1</sub>)

### (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。

AFB<sub>1</sub> 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 AFB<sub>1</sub> 及び AFB<sub>2</sub> 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 AFB<sub>1</sub> 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、AFB<sub>1</sub> 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、AFB<sub>1</sub> 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 (変異肝細胞巣) 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	
雄	発生頻度	0/25	12/12	6/20	18/22
	発生時期 (週)	-	68	35~52	35~41
雌	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 AFB<sub>1</sub> 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巣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	発生頻度	1/18	7/22	5/22	13/22	15/25	12/28
	発生時期 (週)	-	104	93	96	82	54
肝細胞癌	発生頻度	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、管状及び胞巣状の増殖巣を形成し、一部の腎臓では尿細管の好塩基性の過形成性尿細管も観察された。（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	発生頻度	0/24	8/13	13/18	12/14
	発生時期 (日)	-	742	622	611
腎細胞腫瘍	発生頻度	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に少数であるが腎臓（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  $\mu\text{g}/\text{kg}$  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数は 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  $\mu\text{g}/\text{ラット}/\text{日}$  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  $\mu\text{g}/\text{ラット}/\text{日}$  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  $\mu\text{g}/\text{ラット}/\text{日}$  投与群では、最終投与後 14 日間で投与群の雄全例が死亡した。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  $\mu\text{g}/\text{ラット}/\text{日}$  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  $\mu\text{g}/\text{ラット}/\text{日}$  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  $\mu\text{g}/\text{ラット}$  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 ( $\mu\text{g}/\text{ラット}$ )	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  $\mu\text{g}/\text{ラット}$  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巢 (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) 陽性巢) 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巢状病変 (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、肝臓及び糞中のポルフィリン増加、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巢 (虎斑状細胞巢) 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巢（明細胞、混合細胞、び慢性好塩基性及び虎斑状細胞巢）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  $\mu\text{g}$ /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  $\mu\text{g}$ /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  $\mu\text{g}$ /ラットの 8 週間投与群では、前癌性肝細胞巢が最終投与 2 週後に観察されたのに対して、70  $\mu\text{g}$ /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 $\mu\text{g}$ /ラット（8 週間）		70 $\mu\text{g}$ /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  $\mu\text{g}$ /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 投与により肝細胞腫瘍が誘発され、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嚢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  $\mu\text{g}$ /ラットの AFB1 を週 5 回 8 週間腹腔内投与（総投与量：1,300  $\mu\text{g}$ /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  $\mu\text{g}$ /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  $\mu\text{g}$ /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）

⑰ 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）

⑱ 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週後で終了した。

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）

⑲ 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週後で終了した。

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
肺腺腫 (%)	雄	38	17	100	100	100
	雌	25	50	100	100	100
1匹当たりの 肺腺腫の数(平均)	雄	0.29~0.57		6.56	15.75	20.20
	雌			11.57	16.13	28.80

⑳ 82週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）

(C57BL×C3H)F<sub>1</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）

⑳ 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：トリカブリン）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）

㉑ 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巣も観察され、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）

㉒ 発がん性試験（サル、腹腔内及び経口投与）

アカゲザル、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、未分化型膵腫瘍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）

㉓ 172 週間発がん性試験（ツパイ、混餌投与）

ツパイ（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）

## ㊦ 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（過形成細胞巣及び変異肝細胞巣）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種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、

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亡補正後の推定値が半分になる用量（Tumorigenic dose rate 50）

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> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)
	$\mu\text{g}/\text{kg}$ 飼料	$\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日			
Fischer ラット (雄)	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 (雄)	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 (雄)	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 (雄)		0	104 週	0/50	TD <sub>50</sub> =4.19
		4	104 週	24/50	
Fischer ラット (雄)		0	104 週	0/16	TD <sub>50</sub> =1.13
		0.8	104 週	5/13	
Fischer ラット (雌)		0	104 週	0/15	TD <sub>50</sub> =9.93
		1	104 週	1/15	
Fischer ラット (雄)	0	0		0/18	TD <sub>50</sub> =0.932
	1	0.04	104 週	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 (雄)		0		1/144	TD <sub>50</sub> =49.9
		0.2		0/23	
		0.6		0/24	
		1.8		1/23	
Fischer ラット (雌)		0	104 週	0/144	TD <sub>50</sub> =50.7
		0.25	104 週	0/24	
		0.75	104 週	0/24	
		2.25	104 週	1/24	

### (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、ロードシス<sup>3</sup>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

3：哺乳類の雌の発情期において、触覚的刺激に対して脊柱を背屈させる反射のこと。

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、自然汚染トウ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週齢時には両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、異常形態発生の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)

⑫ 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）

⑬ 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）

⑭ 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）

⑮ 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伴性劣勢致死、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、姉妹染色分体交換（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<sup>®</sup> トランスジェニックマウスでは肝臓での *lacI* 遺伝子突然変異は誘発されなかったが、BigBlue<sup>®</sup> 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、肝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、ビオカニン 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* のフォーカス・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 を投与したアカゲ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ー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 陽性肝細胞巢の発生について検討された。

肝細胞巢（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、肝細胞巢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、肝細胞巣発生の指標（細胞巣の数、肝体積に占める百分比）と腫瘍発生頻度に高い相関関係がみられた ( $r = 0.90-1.00$ )。腫瘍及び肝細胞巣は、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・ビ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、AFB<sub>1</sub> の外因性 DNA への結合、肝の GST、CYP2B<sub>1</sub> 及び 1A<sub>1</sub> 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 AFB<sub>1</sub> 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 AFB<sub>1</sub> 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 CYP1A<sub>1</sub> 及び 2B<sub>1</sub> 活性が増加し、AFB<sub>1</sub> 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  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重の AFB<sub>1</sub> 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  $\mu\text{g}/\text{kg}$  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 の持続的な低用量暴露が、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-エポキシド、多量の AFB1-エンド-エポキシド及び 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ル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ルデヒドは、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 誘発肝癌の発生を抑制することが認められている。中国の健常者 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ンを含んでおり、35% ではアフラトキシン濃度が 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ン濃度が高かった。アフラトキシ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臓のリスクに関係について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排除された。

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ッツバターを試料とし、落花生製品の保存状態とAFB1濃度の関連を調査した結果、多湿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例が原発性肝臓癌であった。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。肝臓癌患者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。

台湾のポンフー諸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 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の代謝物の分析では、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。

中国における HBsAg キャリアの男性を対象に、1987～1997 年に実施された調査では、肝細胞癌を発症した患者の AFB1-アルブミン付加体濃度が有意に高かった。

中国における慢性 B 型肝炎の男性患者 145 人を対象に、1981～1982 及び 1987～1998 年に実施された調査では、22 例に肝細胞癌の発症が認められた。抗 HCV 抗体陽性及び家族に肝細胞癌の病歴がある場合、発がんリスクが増加した。また、尿中 AFB1 濃度が高い患者で肝細胞癌の相対リスクが増加した。(参照 13)

### ③ 症例対照調査

ナイジェリアの肝細胞癌患者 22 人及び対照 22 人を対象に、1998 年に原発性肝細胞癌における HBV 及びアフラトキシンとの関係について調査された。患者 16 例及び対照 8 例に HBsAg が検出された。血中のアフラトキシン (B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>) 及びアフラトキシコールの分析の結果、肝細胞癌患者の 5 例 (23%)、対照の 1 例にアフラトキシン濃度の増加が認められ、この差は有意なものであった。

スーダンの肝細胞癌患者 150 人、及び対照 205 人を対象に、1996 年から 1998 年にかけて肝細胞癌の病因におけるアフラトキシン汚染ピーナッツバター摂取量と GSTM1 遺伝子型との関係について調査された。癌患者ではピーナッツバターの摂取量が多く、肝細胞癌発生リスクとピーナッツバター摂取量には明らかな用量反応関係が認められた。スーダン西部ではピーナッツバター摂取量によるリスクの増加がみられたが、スーダン中央部ではみられなかった。GSTM1 遺伝子型は肝細胞癌発生のリスク因子ではなかった。ピーナッツバター摂取による過剰リスクは GSTM1 欠失遺伝子型の患者に限定されていた。(参照 13)

### (4) 生殖発生毒性

タイにおいて、アフラトキシンの胎盤通過と胎児への蓄積について検討された。1987 年に採取された臍帯血清の 35 試料中 17 例 (48%) で 0.064～13.6 nmol/mL (平均 3.1 nmol/mL) のアフラトキシンが検出されたのに対して、出産直後の母体血清では 35 試料中 2 例 (6%) で平均 0.62 nmol/mL のアフラトキシンが検出されたにすぎなかった。このことから、アフラトキシンは胎盤を通過し、胎児-胎盤系に蓄積されることが示された。

ベニンとトーゴにおいて、アフラトキシン暴露と子供の成長の関係について調査され 2002 年に報告された。480 人 (1～5 歳) の子供を対象に検査した結果、血中のアフラトキシン-アルブミン付加体の平均濃度は、授乳期の子供に比べて離乳した子供で高かった。アフラトキシン-アルブミン付加体の血中濃度と WHO のデータによる発育状態の指標 (身長年齢比及び体重年齢比) との関係は負の関係

にあった。これらのデータから、東アフリカにおいてアフラトキシンは子供の成長を阻害することが示唆された。

ナイジェリアにおける新生児黄疸とアフラトキシンとの関係について検討するために、1989年4月～1991年4月に新生児の黄疸患者327人と非黄疸患者60人から血液が採取された。アフラトキシンは黄疸患者の24.7%、非黄疸患者の16.6%に検出された。データの分析の結果、新生児黄疸のリスクファクターは、グルコース-6-ホスファターゼデヒドロゲナーゼ欠乏と血清中アフラトキシンであることが示唆された。

胎盤及び臍帯血におけるイミダゾール環の開環したAFB1のDNA付加体の測定結果から、AFB1は胎盤を通過し、代謝物は子供に移行する可能性が示唆された。

ナイジェリアにおける男性不妊症患者及び正常者各50人の精液を検査結果が1994年に報告され、不妊症患者の試料の40%、正常者の8%にAFB1が検出された。不妊症患者の精液中のAFB1濃度は正常者より有意に高く、異常精子の割合(50%)も正常者(10～15%)より高かった。(参照13)

## (5) 遺伝毒性等

### ① 尿中及び組織中におけるDNA付加体

AFB1のグアニン付加体の尿中排泄量について、中国広西チワン族自治区の25～64歳の男性30人及び女性12人を対象に、それぞれ1985年9月及び10月に1週間ずつモニターされた。AFB1の平均摂取量及び総摂取量は男性でそれぞれ48.4 µg/日及び276.8 µg、女性で77.4 µg/日及び542.6 µgであった。1日当たりのAFB1の摂取量とAFB1-N7-グアニンの尿中排泄量の線形回帰分析では、相関係数(r)は0.26で、有意な相関はみられなかった。前日からの比較では $r=0.65$ であり、曜日変動を平滑化した7日間の総摂取量と総排泄量の比較では $r=0.80$ であった。

ガンビアにおいて、年齢、性別及びHBsAgの有無で区分けした15～56歳の男女各10人を対象に、アフラトキシンの摂取量とAFB1の代謝物及びAFB1-N7-グアニンの尿中排泄量が1988年10月に1週間モニターされた。また、HBVの保菌の有無についても検査された。総アフラトキシンの平均摂取量は男性で8.2 µg、女性で15.7 µgであった。アフラトキシンの尿中排泄量と1日当たりのAFB1の摂取量の線形回帰分析では、 $r=0.65$ であった。尿中代謝物としてはAFG1が優位を占めていた。他にAFP1、AFQ1及びAFB1-N7-グアニン付加体が認められた。AFB1-N7-グアニンの総量とAFB1の総摂取量との比較では、 $r=0.82$ であった。HBsAg陽性及び陰性者間で、AFB1-N7-グアニンの尿中排泄



量に差はみられなかった。

ヒト肝組織中における AFB1-N7-グアニンについて、台湾の肝細胞癌患者 9 人を対象に調査され 1991 年に報告された。酵素免疫測定法 (ELISA) による試験では、腫瘍 DNA の 7 試料及び隣接する正常組織 DNA 試料の 8 例中 2 例に抗体抑制が認められた。さらに、肝細胞癌患者 27 人を対象とした免疫蛍光染色法による試験では、腫瘍の 8 例 (30%) 及び非腫瘍肝組織の 7 例 (26%) に陽性シグナルが認められ、これらの試料の一部では ELISA でも陽性結果が得られた。ヒト組織中の AFB1-グアニン付加体については、同様の結果が旧チェコスロバキア (1988 年) 及び米国 (1989 年) において報告されている。

DNA 修復酵素である XRCC1(X-ray repair cross-complementing group 1) と AFB1-DNA 付加体との関係について、台湾の産院における胎盤 DNA 試料を用いて検討され、1999 年に報告された。コドン 399 (Arg) のホモ接合型に比して、399 (Glu) を対立遺伝子に持つ場合は AFB1-DNA 付加体の検出されるリスクが 2~3 倍高かった。しかし、遺伝子多型と AFB1-DNA 付加体濃度の三分位値の関連について検討された結果、399 (Glu) 対立遺伝子と AFB1-DNA 付加体濃度との直接的な関連はなく、修復経路の飽和状態を反映していることが示唆された。(参照 12、13)

## ② タンパク質付加体

ガンビアにおいて、環境による影響及び年齢、性別並びに HBV の保因等の宿主要因との関連を調べるために、181 人の HBV キャリアを含む 357 人の血中 AFB1-アルブミン付加体濃度が調査され、2000 年に報告された。GSTM1、GSTT1、GSTP1 及びエポキシドヒドロゲナーゼ遺伝子型との関係について検討された結果、GSTM1 欠失遺伝子型のみが AFB1-アルブミン付加体の増加と関連しており、この影響は HBV 非感染者に限定されたものであった。尿中コルチゾル代謝物の割合による評価では、CYP3A4 表現型と付加体濃度との関連性はみられなかった。AFB1-アルブミン付加体濃度に影響を与える主要因は、居住地域 (都会より地方で高い) 及び採血時の季節 (雨季より乾季で高い) であった。中国における調査では、AFB1-アルブミン付加体濃度と GSTM1 遺伝子型との関連性はみられなかった。

中国の患者を対象に、血清 AFB1-アルブミン付加体濃度によって AFB1 暴露量を高用量と低用量に分類し、リンパ球における HPRT 突然変異の発生頻度が比較された結果が 1999 年に報告された。高用量暴露群で HPRT 突然変異の増加が認められた (OR: 19)。ガンビアにおける調査では、AFB1-アルブミン付加体と染色体異常及び DNA 損傷との関連性は認められなかった。(参照 13)

### ③ DNA への結合の修飾因子

種々の酸化防止剤や食餌因子等、AFB1 の DNA への結合を修飾する種々の因子が特定されている。*in vitro* 試験では、レチノイド、インドール-3-カルビノール、アリキシンが、*in vivo* 試験では、ブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、エトキシキン、ジチオールチオン、オルチプラズ及び 1,2-ジチオール-3-チオンが AFB1 の DNA への結合を減少させることが認められた。

肝臓のグルタチオン濃度の低下は、AFB1 の DNA への共有結合を増加させ、グルタチオンが欠乏した場合には、AFB1 の DNA への共有結合が 30 倍になることが認められた。大部分の試験において、AFB1 の DNA 結合は種々の酵素系の活性変化に伴って修飾されたが、防御作用は抱合酵素、特に GST の誘導と強く連動していた。(参照12)

### ④ ヒト肝細胞癌における p53 腫瘍抑制遺伝子の突然変異

様々なヒト腫瘍において、p53 腫瘍抑制遺伝子の突然変異（主としてミスセンス突然変異）が高頻度に認められている。アフラトキシン暴露のリスクが高いと考えられている地域に住む肝細胞癌患者では、p53 遺伝子のエクソン7のコードン249の第3ヌクレオチドに高頻度で突然変異が認められた。高濃度暴露地域（中国、モザンビーク、ベトナム及びインド）の腫瘍患者 101 人中 40 例で、p53 遺伝子のエクソン7のコードン249における G から T への転換（AGG (Arg) から AGT (Ser)）が認められた。これに対して、低濃度暴露地域（台湾、オーストリア、日本、南アフリカ、ドイツ、スペイン、イタリア、トルコ、イスラエル、サウジアラビア、英国、米国）の肝細胞癌患者においてこの突然変異が認められたのは 205 人中 1 例であった。低濃度暴露地域である東京における進行性肝細胞癌患者では、22 人中 7 例に 8 種類の異なる突然変異が認められ、そのうち 6 例はコードン249以外での塩基置換、2 例は欠失であった。初期肝細胞癌 21 例では突然変異は認められなかった。低濃度暴露地域である英国の肝細胞癌患者では、19 人中 2 例に p53 遺伝子の突然変異が認められたが、コードン249での変異ではなかった。

HBV と p53 遺伝子のコードン249の突然変異との関連性については明らかでない。モザンビークの HBsAg 陽性患者 7 人中 4 例、HBsAg 陰性患者 8 人中 4 例で p53 遺伝子のコードン249の突然変異が認められ、陰性患者 1 例では p53 遺伝子のコードン157の突然変異が認められた。オーストリア及び英国の肝細胞癌患者では、HBV 感染の有無にかかわらず p53 遺伝子の突然変異は認められなかった。(参照12)

### ⑤ ヒト肝細胞癌におけるその他の遺伝的变化

AFB1 暴露が p53 遺伝子の突然変異のみではなく、他の遺伝子の変化も誘発し

ている可能性があることが示唆されている。1994年に報告された中国での調査では、p53遺伝子のコドン249の突然変異は北京に比して啓東(Qidong)で多く検出されたが、啓東ではLOHのパターンにも差がみられた。啓東では、第4染色体(4p11-q21)、染色体16q22.1及び16q22-24におけるLOHがそれぞれ28、90及び58%の症例に検出されたが、北京では認められなかった。

中国の上海(HBV陽性)並びに香港(HBV陽性)、日本(HCV陽性)及び米国(HBV陰性)の肝癌患者の治癒的切除により得られた肝細胞癌試料では、上海の試料に染色体4q、8p、16q及び5pにおける欠失を主とする変異が認められた。(参照13)

#### (6) その他

ガンビアの小児及びガーナ人を対象とした試験から、AFB<sub>1</sub>の食品からの摂取によって細胞性免疫が障害され、感染症に対する宿主抵抗性が低下する可能性が示唆された。

アフラトキシンの慢性暴露は、動物の栄養状態に大きく影響するが、ヒトにおいては、ベナン及びトーゴの5歳未満の小児(小児の99%でAFB<sub>1</sub>-アルブミン付加体濃度が5~1,064 pg/mgアルブミン)におけるアフラトキシンの暴露と発育不全及び低体重の程度との用量反応関係が報告されている。(参照14)

### 4. AFB<sub>1</sub> 以外のアフラトキシンに関する知見

#### (1) アフラトキシン B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>)

##### ① 代謝

ラットに1 mg/kg体重のAFB<sub>2</sub>を腹腔内投与した結果、AFB<sub>2</sub>はAFB<sub>1</sub>に変換され、次いで肝臓において代謝活性化されてAFB<sub>1</sub>-N7-グアニン付加体が形成された。ラット由来の代謝活性化系を用いた*in vitro*の試験では、DNAへの結合は減少し全体の代謝活性が低下し、アフラトキシノールの生成が増加した。(参照12)

このようにAFB<sub>2</sub>が代謝系酵素によってAFB<sub>1</sub>に変換される可能性を報告した論文があることから、関連文献調査を行った結果、アヒル肝臓のポストミトコンドリア上澄液においてAFB<sub>2</sub>からAFB<sub>1</sub>への変換が確認されたが、マウス及びヒトの上澄液、さらにラットにおける上澄液でもそのような変換は検出されなかったとする報告があった。これらのことから、動物種によりAFB<sub>2</sub>からAFB<sub>1</sub>への変換は起こるが、ヒトにおいて変換が起こる可能性は低いと考えられる。(参照7)

##### ② 遺伝毒性

細菌で遺伝子突然変異及びDNA損傷が誘発されたが、アカパンカビでは代謝

活性化系非存在下で遺伝子突然変異は誘発されず、出芽酵母においても遺伝子変換及び有糸分裂組換えは認められなかった。げっ歯類の細胞では、シリアンハムスター胚細胞で細胞形質転換、チャイニーズハムスター細胞で SCE、ラット肝細胞で UDS が誘発され、シリアンハムスター細胞では *in vitro* で細胞間情報伝達が抑制された。ヒト線維芽細胞を用いた *in vitro* の UDS 試験では陰性であった。*in vivo* では、ラット肝細胞の DNA との共有結合が認められた。(参照11、12)

### ③ 発がん性

MRC ラット (対照群 : 雄 30 匹、投与群 : 雄 10 匹) に、0 または 20  $\mu\text{g}$ /ラットの AFB<sub>2</sub> を 10 週間 (5 日/週) 飲水投与 (遮光給水瓶使用) した結果、試験 90 週における生存率は対照群で 26/30、投与群で 8/10、試験 100 週では投与群の動物は全例が死亡した。投与群の動物には過形成性の肝内小結節が認められたが、肝細胞癌または腎細胞腫瘍の発生はみられなかった。

Fischer ラット (一群雄 10 匹) に、0、50 または 100  $\mu\text{g}$ /ラットの AFB<sub>2</sub> を 10 週間 (5 日/週) 強制経口投与 (溶媒 : DMSO) し、試験 62~78 週でと殺した結果、78 週で投与群の動物に肝前癌病変 (過形成巣) 発生頻度の増加 (対照群 : 0/10、50  $\mu\text{g}$  群 : 6/9、100  $\mu\text{g}$  群 : 5/7) が認められたが、肝細胞癌の発生はみられなかった。

雄の Fischer ラットに、0 または 300  $\mu\text{g}$ /ラットの AFB<sub>2</sub> を週 2 回 20 週間皮下投与 (溶媒 : トリオクタノイン) した試験では、試験 78 または 86 週まで生存した 20 匹に腫瘍は認められなかった。

雄の Fischer ラットに、0 または 3,750  $\mu\text{g}$ /ラットの AFB<sub>2</sub> を週 5 回 8 週間腹腔内投与 (総投与量 : 150 mg/ラット、溶媒 : DMSO) した結果、試験 57~59 週において、投与群の 9 匹中 2 例に肝細胞癌が認められた。

IARC では、実験動物における AFB<sub>2</sub> の発がん性について限定的な証拠があるとしている。(参照12)

## (2) アフラトキシン G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>)

### ① 代謝

ヒト肝ミクロソームにより AFG<sub>1</sub> は代謝活性化され、AFG<sub>1</sub>-N<sub>7</sub>-グアニン付加体が形成された。代謝活性化の割合は AFB<sub>1</sub> の 1/3~1/2 であった。(参照12)

### ② 遺伝毒性

細菌で遺伝子突然変異及び DNA 損傷、アカパンカビで遺伝子突然変異が誘発

されたが、出芽酵母では遺伝子突然変異及び遺伝子変換は認められなかった。*in vitro*の試験では、ヒト線維芽細胞及びラット肝細胞でUDS、チャイニーズハムスター細胞で染色体異常及びSCEが誘発された。*in vivo*では、チャイニーズハムスター及びマウスの骨髄細胞で染色体異常が誘発され、ラットで腎及び肝細胞DNAとの結合が認められている。(参照11、12)

### ③ 発がん性

MRCラット(一群雄10~15匹、雌15匹)に、0、20または60 µg/ラットのAFG1を10週間(5日/週)(低用量群のみ)または20週間(低用量及び高用量)飲水投与(遮光給水瓶使用)し、動物の状態悪化または死亡が認められるまで観察された。生存率及び腫瘍発生頻度は表17に示されている。

AFG1投与群では雌雄で肝細胞癌、雄で腎細胞腫瘍の発生頻度が用量依存的に増加した。また、投与群の動物では他の臓器にも種々の腫瘍が認められた。

表17 生存率及び腫瘍発生頻度

投与量 (µg/ラット)	0		20		60	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
生存率	26/30 (90週)		17/30 (20週)		9/28 (20週)	
肝細胞癌	0/15	0/15	2/15	1/15	9/11	12/15
腎細胞腫瘍	0/15	0/15	5/15	0/15	6/11	0/15

Fischerラット(一群雄30匹)に、0、50または100 µg/ラットのAFG1を週4回2.5~8週間強制経口投与(総投与量:0、700、1,400、2,000 µg/ラット; 溶媒:DMSO)し、68週まで観察された。

総投与量1,400及び2,000 µg/ラット投与群では、肝細胞癌がそれぞれ3/5(68週)及び18/18(45~64週)の頻度で認められた。試験4~20週にと殺された全投与群の動物の大部分に肝前癌病変(過形成巣及び変異肝細胞巣)が観察された。また、AFG1投与群では68週までに26匹中4例に腎腺癌が認められた。

ラット(雄6匹)に、20 µgのAFG1を週2回65週間皮下投与(溶媒:落花生油)した結果、30~50週で6匹中4例に皮下の肉腫が認められた。

IARCでは、実験動物におけるAFG1の発がん性について十分な証拠があるとされている。(参照12)

### (3) アフラトキシン G<sub>2</sub> (AFG2)

#### ① 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化系存在下で一試験の一菌株に陽性の結果が認められたが、それ以外の試験では陰性であり、DNA損傷も認められなかった。げっ歯類の培養細胞及び真菌類では、遺伝子突然変異は誘発されなかった。チャイニーズハムスター細胞でSCEが、ラット及びシリアンハムス

ター肝細胞では *in vitro* で UDS が誘発されたが、ヒト線維芽細胞では *in vitro* で UDS の誘発はみられなかった。(参照11、12)

## ② 発がん性

哺乳動物を用いた発がん性試験は実施されていない。ニジマスに 20 µg/kg 餌料の濃度で AFG2 を 16 カ月間混餌投与した試験において、肝細胞癌の発生は認められなかった。

IARC では、実験動物における AFG2 の発がん性について証拠が不十分であるとしている。(参照12)

## 5. 発がんリスクの推定 (AFB1)

実験動物を用いた試験では、ほとんどの動物種において肝臓が主要標的臓器であったが、AFB1 による発がんに対する感受性には動物間でかなりのばらつきがみられた。混餌投与の場合、肝腫瘍を誘発する AFB1 の有効量 (飼料中濃度) は、魚類及び鳥類で 10~30 µg/kg 飼料、ラットで 15~1,000 µg/kg 飼料、ツパイで 2,000 µg/kg 飼料であったが、マウスでは系統による変動が大きく、150,000 µg/kg まで肝腫瘍を誘発しない系統もあった。リスザルでは 2,000 µg/kg 飼料の 13 カ月間投与で肝腫瘍を発生したのに対して、アカゲザル、アフリカミドリザル、カニクイザルに平均摂取量 99~1,225 mg/頭で 28~179 カ月投与した場合の肝腫瘍発生率は低かった (7~20%)。

遺伝毒性については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。AFB1 は最も強力な変異原性物質の一つとみなされており、その活性代謝物が DNA と容易に反応し DNA 付加体を形成し、この付加体またはその分解生成物が変異を引き起こすことで、細胞を造腫瘍性にすることが示唆されている。

代謝に関するデータから、AFB1 は生体内で多数の CYP 分子種により DNA 結合性の化合物に変換されることが示された。CYP 分子種活性の差は、遺伝的多型または発現環境の変化によるため、AFB1 に対するヒト感受性に対して重要な寄与因子の可能性があると考えられている。代謝に影響を与える他のリスク因子として、HBV 及び HCV 感染、肝吸虫、飲酒、喫煙、経口避妊薬の長期使用、栄養状態等が指摘されている。

疫学研究のほとんどが、AFB1 暴露と肝癌との相関を指摘しているが、AFB1 暴露は検出可能な独立したリスクではないとし、HBV 感染などの他のリスク因子の存在下でのみ AFB1 暴露はリスクとなることを示唆しているものもある。原発性肝癌リスクには多くの要因が影響を及ぼしているが、特に注目されているのが HBV の保因である。AFB1 の肝癌誘発能は、HBV 同時感染者において有意に増大すると考えられている。ほとんどの疫学データは、HBsAg 陽性患者と AFB1 汚染率の高い地域から得たものであるため、AFB1 汚染も HBV 有病率も低い地域にお

けるこれらのリスク因子の関係については不明である。(参照11)

なお、肝臓癌の発生に関しては、これらの影響に加えて、HCV、ミクロシスチン、アルコール、喫煙等の関与を示唆する報告がある。

JECFA (1998年) 及び EFSA (2007年) では発がんリスクを以下のように推定している。

### (1) JECFA

JECFA (1998年) では、表 18 に示す研究結果に基づき、体重 1kg あたり 1 ng/日の用量で生涯にわたり AFB1 に経口暴露した時の HBV 感染を考慮した発がんリスクの推定を行っている。その結果、HBsAg 陽性者では 0.3 人/10 万人/年 (不確実性の範囲 0.05~0.5 人/10 万人/年)、HBsAg 陰性者では 0.01 人/10 万人/年 (不確実性の範囲 0.002~0.03 人/10 万人/年) となった。

なお、本リスク計算に用いられている中国の疫学調査は、極めて高い暴露量によるものであると共に、低用量暴露群でも約 10% という高い発がん率を示すものであったことや、HBsAg 陽性率が高い集団でアフラトキシン暴露量の情報も極めて限られた調査に基づいて用いて行われたという不確実性を含んでいる。(参照10)

表 18 疫学データに基づく人の肝臓癌のリスクの推定  
(AFB1 の暴露量を 1ng/kg/日とした場合)

文献	HBsAg の有無	10 万人当たりの発生率 <sup>注)</sup>
Croy & Crouch (1991)*	-	0.036 (0.079)
	+	0.50 (0.77)
Wu-Williams et al. (1992)* 乗法線形モデル (バックグラウンド 2.8/100,000) 加法線形モデル	-	0.0037 (0.006)
	+	0.094 (0.19)
	-	0.031 (0.06)
	+	0.43 (0.64)
Hosenyi (1992)*	-	0.0018 (0.0032)
	+	0.046 (0.08)
Bowers et al. (1993)*	-	0.013
	+	0.328
Qian et al. (1994)** (バックグラウンド 3.4/100,000)	-	0.011
	+	0.11
Wang et al. (1996)*** (バックグラウンド 3.4/100,000)	-	0.0082
	+	0.37

注：括弧内は高い方の 95% 信頼限界を表す。

\*：中国チワン族自治区南部で実施された同一のデータ(1989)を用いた推計。

\*\*：上海で実施

\*\*\*：台湾で実施

※：JECFA Monograph Food Additives Series 40 (1998)p50 Table 4 より引用

また、JECFA (2008年) において、その後公表された疫学調査などの毒性学的評価に関連する調査結果は、従来の評価結果を変えるものではないとされている。(参照15)

## (2) EFSA

EFSA では、動物実験及び疫学調査の結果から、用量反応をベンチマーク用量 (BMD) モデルにより推定している。BMD の計算に用いた動物実験の結果は表 19 に、疫学調査の結果は表 20 に示されている。

<EFSA (2007) におけるベンチマークドーズ法による計算結果>

ラット	BMDL10	170 ng/kg 体重/日
ヒト	BMDL10	870 ng/kg 体重/日
	BMDL1	78 ng/kg 体重/日

(参照14)

表 19 AFB1 を混餌投与した雄の Fischer ラットにおける肝細胞癌の発生頻度

AFB1 の用量	投与期間 (週)	投与期間で調整した用量	肝細胞癌の発生頻度
0	104	0	0/18
0.04	104	0.040	2/22
0.2	93	0.179	1/22
0.6	96	0.554	4/21
2.0	82	1.58	20/25
4.0	54	2.1	28/28

表 20 肝臓癌の発生率が高い国における疫学調査結果

国名	地域	AFB1 摂取量 (ng/kg 体重/日)	肝臓癌発生率 (年間 100 万人 当たり)
ケニア	Highland	4.2	14
	Midland	6.8	43
	Lowland	12.4	58
スワジランド	High veldt	14.3	35
	Middle veldt	40.0	85
	Lebombo	32.9	89
	Low veldt	127.1	184
トランスカイ	Four districts	16.5	91
モザンビーク	Manhica-Mangud	20.3	121
	Massinga	38.6	93
	Inhambane	77.7	218
	Inharrime	86.9	178
	Morrumbene	87.7	291
	Homoine-Maxixe	131.4	479
中国	Zavala	183.7	288
	広西チワン族自治区 A	11.7	1,754
	広西チワン族自治区 B	90.0	1,822
	広西チワン族自治区 C	704.5	2,855
	広西チワン族自治区 D	2,027.4	6,135

## 6. 暴露状況

### (1) 汚染実態

アフラトキシンの汚染は、トウモロコシ、落花生、豆類、香辛料、木の実類に



特に高頻度で認められてきたが、大豆、小麦、米などの穀類にも低頻度ながら汚染が認められている。わが国においても、市販食品の汚染実態調査によって、米製品、トウモロコシ、ゴマ製品、落花生類、香辛料にアフラトキシン汚染が既に報告されている。これら既報の汚染実態をふまえ、汚染の可能性が考えられる食品について、3年間通年（2004～2006年度）で調査が行われた。

結果は別紙2に示されている。

わが国に流通している市販のそば麺、生トウモロコシ、スイートコーン（缶詰や冷凍食品など加工されたもの）、コーンフレーク、ポップコーン、米、ごま油、豆菓子、せんべい、乾燥イチジク、ビール及び粉落花生からは定量限界以上のアフラトキシンは検出されなかった。一方、落花生、ピーナッツバター、アーモンド、ピスタチオ、そば粉、コーングリッツ、はと麦、香辛料、ココア、チョコレートからは、定量限界以上のアフラトキシンが検出された。はと麦の一試料で総アフラトキシンが9.71 µg/kg (AFB1 : 9.0 µg/kg) 検出されたが、他のはと麦試料では概ねその濃度は低レベルであった。総アフラトキシンとしての最高濃度の汚染は、落花生の一試料における28.0 µg/kg (AFB1 : 4.88 µg/kg、AFG1 : 20.9 µg/kg) であった。この二試料を除き、3年間で測定した試料数を用いて求めた平均汚染濃度は、いずれの汚染食品目においても2 µg/kgを超えることはなかった。

検出された食品におけるAFB1、AFB2、AFG1及びAFG2の割合については、コーングリッツ、ピスタチオ、そば粉、香辛料ではBグループ（AFB1又はAFB2のみが検出されるもの）が主流と考えられたが、その他の食品目ではBGグループ（Bグループに加えて、AFG1又はAFG2が検出されるもの）が多く、特に落花生では、BよりGグループの汚染濃度の方が高かった。

個々のAFB1と総アフラトキシンとの濃度の関係について、ピーナッツバターの例で見ると、大部分の試料でAFB1の占める割合が最も高く、総アフラトキシンとの比は1:2（AFB1:総アフラトキシン）程度であった。（参照4、5、6、7）

2007年度に市販ナッツ類（落花生、アーモンド、くるみ、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ）における総アフラトキシンの汚染実態について調査が行われた。

結果は表21に示されている。

我が国に流通している落花生、アーモンド、ピスタチオの一部から総アフラトキシンが検出されたが、検出濃度は極めて低いレベルであった。検出されたアフラトキシンの種類については、落花生では、AFB1とAFG1が同等のレベルであった。アーモンドではBGグループの汚染が認められたが、ピスタチオではBグループが主流と考えられた。

また、落花生は、AFB1の汚染が多く検出されることから輸入時に命令検査の対象とされている。そこで、輸入落花生中の各アフラトキシンの割合について、

任意の1検査機関での1972～1989年までのデータと2002～2006年までのデータでの比較検討が行われた。

輸入落花生の検査検体数については、1972～1989年では米国からの小粒落花生が主流であったが、2002～2006年では中国からの大粒落花生が主流となっている。

各輸入国からの落花生におけるアフラトキシン検出率は、収穫される年により変動があるが、全体的に輸入量の1%程度に検出限界以上のアフラトキシンが検出されている。BグループとBGグループの汚染比率についても年ごとに異なっているが、全体的にはBGグループの汚染率が年々高くなる傾向が見られた(図2)。

アフラトキシン汚染輸入落花生における各アフラトキシン濃度の比率については、表22、23及び図3-1～3-3に示されている。中国からの大粒落花生においてはAFB1よりAFG1の汚染が高い傾向が認められた。また、小粒落花生については、各国とも1972～1989年と比較して、2002～2006年ではAFG1の比率が高くなる傾向が見られた。(参照8, 10)

表21 ナッツ類における総アフラトキシンの汚染実態調査結果

品名	検体数	汚染件数	平均汚染濃度 <sup>注)</sup> (範囲)( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
落花生	192	1	0.2	—	0.2	—
アーモンド	36	24	0.04 (痕跡~0.09)	0.01 (痕跡~0.02)	0.03 (0.02~0.03)	0.01 (痕跡~0.01)
くるみ	8	0	—	—	—	—
ヘーゼルナッツ	7	0	—	—	—	—
ピスタチオ	9	2	0.51(0.3~0.71)	0.06	—	—

検出限界：落花生 0.1-0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、アーモンド 0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、それ以外 0.04  $\mu\text{g}/\text{kg}$   
注) 痕跡については、0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  として平均汚染濃度を算出した。

図2 命令検査となった落花生におけるアフラトキシンBGグループの汚染頻度の推移

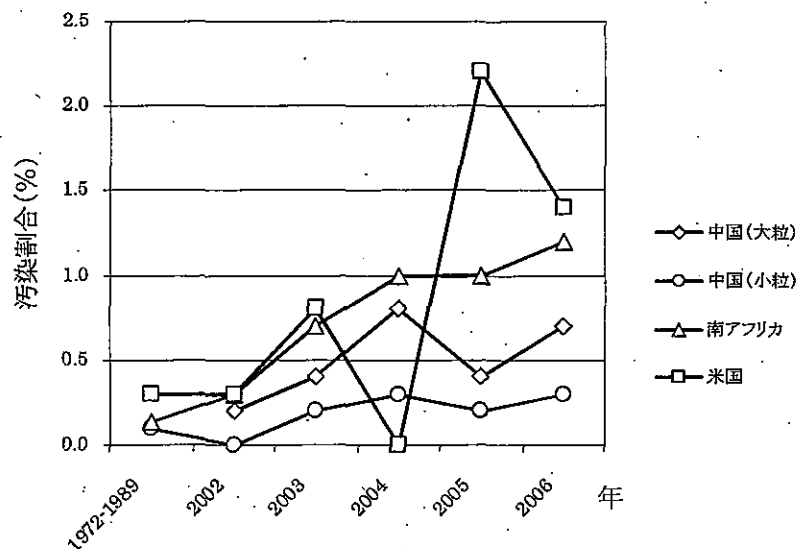


表 22 命令検査となった落花生におけるアフラトキシン検出数及び検出割合

	年	サンプル数	アフラトキシン検出数及び検出割合 (%)	
			B グループ*	BG グループ**
中国 (大粒)	2002	1,328	1 (0.1)	2 (0.2)
	2003	1,814	8 (0.4)	7 (0.4)
	2004	1,683	17 (1)	14 (0.8)
	2005	1,428	9 (0.6)	5 (0.4)
	2006	1,645	15 (0.9)	12 (0.7)
中国 (小粒)	2002	386	2 (0.5)	0 (0)
	2003	550	2 (0.4)	1 (0.2)
	2004	621	1 (0.2)	2 (0.3)
	2005	590	2 (0.3)	1 (0.2)
	2006	576	2 (0.3)	2 (0.3)
南アフリカ	2002	378	6 (1.6)	1 (0.3)
	2003	449	6 (1.3)	3 (0.7)
	2004	207	1 (0.5)	2 (1)
	2005	298	4 (1.3)	3 (1)
	2006	252	2 (0.8)	3 (1.2)
米国	2002	298	5 (1.7)	1 (0.3)
	2003	262	16 (6.2)	2 (0.8)
	2004	170	1 (0.6)	0 (0)
	2005	137	3 (2.2)	3 (2.2)
	2006	138	6 (4.3)	2 (1.4)

\* : AFB1 又は AFB2 の両方もしくはどちらか一方が検出されたもの。

\*\* : B グループに加え、AFG1 又は AFG2 の両方もしくはどちらか一方が検出されたもの。(B グループのみが検出されたものは含まない。)

表 23 アフラトキシンが検出された中国からの輸入大粒落花生の各アフラトキシンの比率

年	各アフラトキシンの比率 (%)			
	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
2002	15.6	0.0	69.1	15.3
2003	14.1	3.1	66.8	16.0
2004	18.5	2.5	63.9	15.1
2005	39.3	6.2	41.5	13.0
2006	16.4	2.8	65.7	15.1

図 3-1 アフラトキシンが検出された中国からの輸入小粒落花生の各アフラトキシンの比率

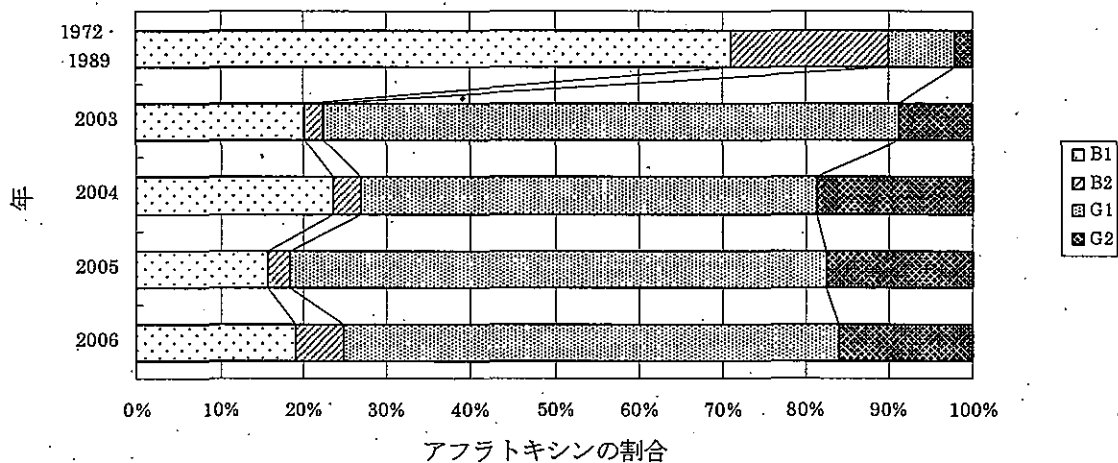


図3-2 アフラトキシンが検出されたアメリカからの輸入小粒落花生の各アフラトキシンの比率

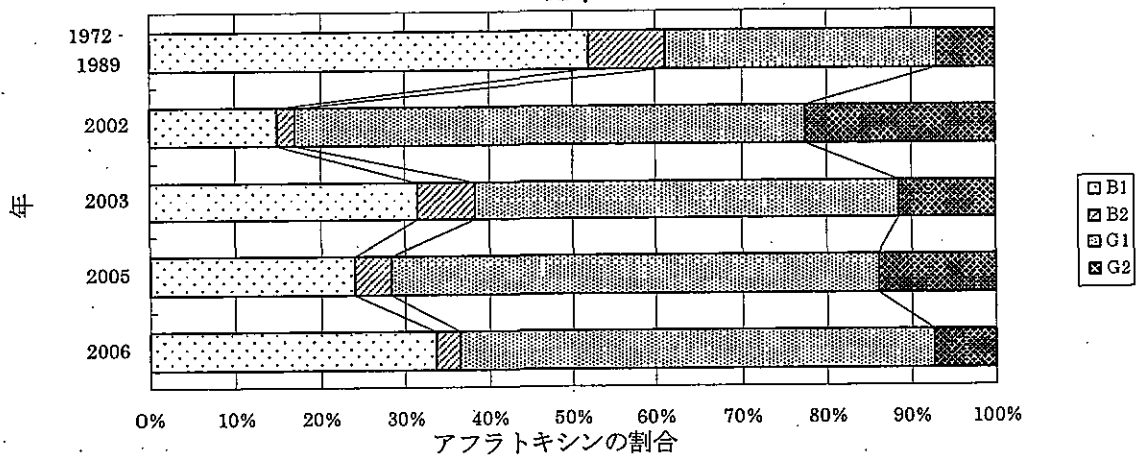
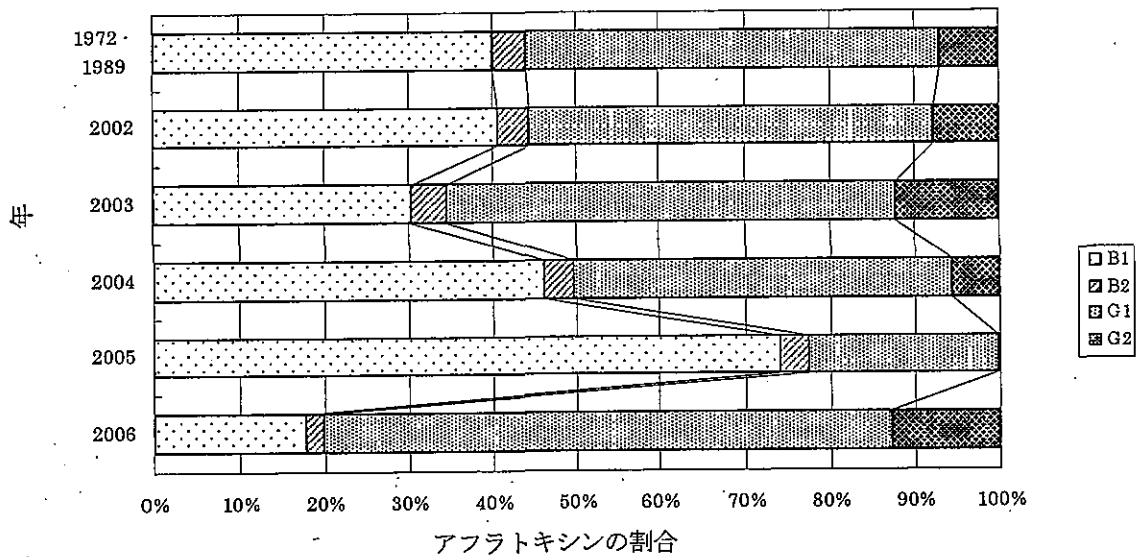


図3-3 アフラトキシンが検出された南アフリカからの輸入小粒落花生の各アフラトキシンの比率



## (2) 暴露量の推計 (AFB1)

2005年度の「食品摂取頻度・摂取割合調査」による食品別の摂取量及び先に示した2004～2006年度の3年間の汚染実態調査結果からアフラトキシンが含有されると思われる11品目（落花生、ピーナッツバター、チョコレート、ココア、ピスタチオ、白こしょう、レッドペッパー、アーモンド、はと麦、そば粉、そば麺）を組合わせて、下記の4つの基準値を設定するシナリオを想定しモンテカルロ・シミュレーションの手法を用いて暴露量の推定を行った。

シナリオa：現状（AFB1のみ 10 µg/kg）

シナリオb：AFB1：4 µg/kg 及び総アフラトキシン：8 µg/kg

シナリオc：AFB1：10 µg/kg 及び総アフラトキシン：15 µg/kg

シナリオd：AFB1：10 µg/kg 及び総アフラトキシン：20 µg/kg

結果は表 24 に示されている。

シナリオ a (現状) では 99.9 パーセンタイル値が 2.06 ng/kg 体重/日であり、最も少なめに見積もられるシナリオ b でも 99.9 パーセンタイル値は 1.88 ng/kg 体重/日であった。1 ng/kg 体重/日を超える割合はいずれのシナリオにおいても 0.2%程度となった。(参照7)

表 24 AFB1 一日推定暴露量の分布

	(ng/kg 体重/日)							
	シナリオ a		シナリオ b		シナリオ c		シナリオ d	
下限値以下の仮定 <sup>注)</sup>	仮定 A	仮定 B	仮定 A	仮定 B	仮定 A	仮定 B	仮定 A	仮定 B
10 パーセンタイル	0	0	0	0	0	0	0	0
50 パーセンタイル	0	0	0	0	0	0	0	0
80 パーセンタイル	0	0	0	0	0	0	0	0
90 パーセンタイル	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
95 パーセンタイル	0.003	0.004	0.003	0.003	0.003	0.004	0.003	0.004
97.5 パーセンタイル	0.009	0.010	0.009	0.010	0.010	0.010	0.009	0.010
99.0 パーセンタイル	0.045	0.051	0.041	0.048	0.043	0.049	0.042	0.049
99.5 パーセンタイル	0.305	0.307	0.259	0.261	0.283	0.285	0.285	0.286
99.9 パーセンタイル	2.063	2.063	1.881	1.880	1.956	1.956	1.895	1.958

注) 仮定 A : 検出下限未満の検体について、検出下限値である 0.1 µg/kg と仮定

仮定 B : 検出下限未満の検体について、検出下限値の 0.1 µg/kg と 0 µg/kg の間の一様分布と仮定

#### IV. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて総アフラトキシンの食品健康影響評価を実施した。

経口投与された AFB1 は生体内で水酸化体に代謝され、AFM1、AFP1、AFQ1 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。哺乳動物では、乳中にも AFM1 などが排泄される。また、AFB1 は CYP 分子種により反応性の高い化合物である AFB1-8,9-エポキシドに変換され、DNA 付加体が形成される。この付加体またはその代謝物が変異を引き起こして細胞を造腫瘍性にすることが示唆されている。AFB1-8,9-エポキシドは主として GST による抱合化を受けて排泄される。

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。

AFB1 の実験動物を用いた試験では、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など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種間で大きなばらつきがみられ、ラットで最も感受性が高かった。一方、非発がん毒性については、実験動物において生殖パラメーターの異常、催奇形性、免疫毒性などが認められた。

人における疫学調査のほとんどにおいて AFB1 暴露と肝細胞癌との相関が指摘されている。これらの調査はアフラトキシンの暴露量が多く、かつ、HBV の罹患率が高い地域で実施されており、HBV 感染はリスク因子であることが示唆されている。

AFB1 以外のアフラトキシンのについては、AFG1 ではヒト肝ミクロソームにより代謝活性化されて DNA 付加体が形成され、遺伝毒性も認められた。代謝活性化の割合は AFB1 の 1/3~1/2 であった。雌雄ラットで肝細胞癌が、雄ラットで腎細胞腫瘍が誘発された。AFB2 と AFG2 に関するデータは限られている。AFB2 は、げっ歯類の細胞を用いた遺伝毒性試験では陽性結果が得られた。発がん性についてはラットの一試験で肝細胞癌が認められた。また、ラット体内で AFB1 に転換され、肝臓で代謝活性化を受けて DNA 付加体が形成されるとの報告がある。AFG2 では、遺伝毒性試験の一部で陽性結果が得られたが、ヒト培養細胞を用いた系では陰性であった。哺乳動物を用いた発がん性試験は実施されていないが、ニジマスを用いた試験で発がん性は認められなかった。

IARC では、実験動物における発がん性について、AFB1 及び AFG1 は十分な証拠がある、AFB2 は限定的な証拠がある、AFG2 は証拠が不十分であるとしている。また、AFB1 及び自然界で生じるアフラトキシン混合物はヒトにおいて発がん性を示す十分な証拠があるとしており、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。

なお、評価の参考に供した 2008 年の JECFA の報告書の後に公表された関連文献についても調査を行ったが、これらの評価結果に変更を加えるべき根拠となる知見は確認されなかった。

上記のことから、総アフラトキシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、発がんリスクによる評価が適切であると判断された。一方、非発がん影響に関しては、TDI（耐容一日摂取量）を設定するための定量的評価に適用できる報告はなく、非発がん性を指標としたTDIを求めることは困難と判断された。

発がんリスクについては、人の疫学調査の結果から、体重1kgあたり1ng/日の用量で生涯にわたりAFB1に経口暴露した時の肝臓癌が生じるリスクとして、HBsAg陽性者では0.3人/10万人/年（不確実性の範囲0.05～0.5人/10万人/年）、HBsAg陰性者では0.01人/10万人/年（不確実性の範囲0.002～0.03人/10万人/年）となった。なお、このリスク計算結果には、使用された中国の疫学調査結果が極めて高い暴露量によるものであると共に、低用量暴露群でも約10%という高い発がん率を示すものであったことや、HBsAg陽性率が高い集団でアフラトキシン暴露量の情報も極めて限られた調査に基づいて用いて行われたという不確実性を含んでいることに留意すべきである。

2004年～2006年に実施された汚染実態調査結果からアフラトキシンが含有されると思われる11品目を対象に確率論的手法を用いて暴露量の推定を行った結果では、AFB1に対して10 $\mu$ g/kgを検出限界として規制をしている現状においては、AFB1で4又は10 $\mu$ g/kg及び総アフラトキシシンで8、15又は20 $\mu$ g/kgの基準値を設定したとしても、AFB1一日推定暴露量はほとんど変わらなかった。よって、落花生及び木の実（アーモンド、ヘーゼルナッツ、ピスタチオ）について、総アフラトキシシンの規格基準を設定することによる食品からの暴露量に大きな影響はなく、様々な条件を前提とし不確実性を含んでいる推計ではあるが、現状の発がんリスクに及ぼす影響もほとんどないものと推察された。しかしながら、アフラトキシシンは遺伝毒性が関与すると判断される発がん物質であり、食品からの総アフラトキシシンの摂取は合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルにするべきである。汚染実態調査の結果、BGグループの汚染率が近年高くなる傾向が見られていることを考慮すると、落花生及び木の実について、発がんリスク及び実行可能性を踏まえ適切に総アフラトキシシンの基準値を設定する必要がある。なお、アフラトキシシンは自然汚染であり、BG比率が一定しないと予想されることから、総アフラトキシシンとAFB1の両者について規制を行うことが望ましい。

また、食品からの総アフラトキシシンの摂取を合理的に達成可能な範囲で出来る限り低いレベルにするために、落花生及び木の実以外の主要な食品についても、汚染実態及び国際的な基準設定の動向等を踏まえ、総アフラトキシシンの規格基準の必要性について検討を行うことが望ましいと考える。

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称	名称
AFB1	アフラトキシン B <sub>1</sub>
AFB2	アフラトキシン B <sub>2</sub>
AFG1	アフラトキシン G <sub>1</sub>
AFG2	アフラトキシン G <sub>2</sub>
AFM1	アフラトキシン M <sub>1</sub>
AFP1	アフラトキシン P <sub>1</sub>
AFQ1	アフラトキシン Q <sub>1</sub>
BMD	ベンチマーク用量
CYP	シトクロム P450
DMSO	ジメチルスルホキシド
ELISA	酵素免疫測定法
GGT	$\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(=γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (γ-GTP))
GST	グルタチオン-S-トランスフェラーゼ
HBsAg	B型肝炎ウイルス表面抗原
HBV	B型肝炎ウイルス
HCV	C型肝炎ウイルス
HPRT	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
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LOH	ヘテロ接合体の消失
OR	オッズ比
PB	フェノバルビタール(ナトリウム)
SCE	姉妹染色分体交換
TAR	総投与放射能
TDI	耐容一日摂取量
UDS	不定期 DNA 合成



<別紙2：2004～2006年度に実施されたアフラトキシン汚染実態調査結果>

品名	試料数				汚染件数	検出検体の平均汚染濃度 (範囲) (µg/kg)				
	2004年度	2005年度	2006年度	合計		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	Total
落花生	60	60	30	150	1	4.88	0.31	20.9	1.90	28.0
チョコレート(ホワイトチョコレートを含む)	/	40	24	64	34	0.27(0.1~0.88)	0.13(0.1~0.18)	0.13(0.1~0.33)	0.1(0.1)	0.33(0.1~0.21)
ピスタチオ	/	/	5	5	1	0.38	—	—	—	0.38
はと麦	/	/	17	17	6	2.45(0.29~9.0)	0.38(0.1~0.58)	0.16(0.1~0.30)	—	2.77(0.31~9.71)
そば粉	12	10	6	28	2	0.53(0.24~0.81)	0.17(0.173)	—	—	0.61(0.238~0.987)
香辛料	/	/	21	21	5	0.36(0.1~1.0)	—	0.2(0.2)	—	0.44(0.1~1.0)
ココア	/	/	11	11	8	0.33(0.17~0.60)	0.13(0.1~0.15)	0.11(0.1~0.11)	—	0.40(0.17~0.85)
ピーナツバター	21	20	21	62	21	0.86(0.1~2.59)	0.25(0.1~0.52)	0.37(0.1~0.81)	0.2(0.12~0.46)	1.18(0.1~3.92)
アーモンド(製菓材料含む)	/	/	24	24	6	0.37(0.1~0.89)	0.14(0.1~0.17)	0.1(0.1~0.12)	—	0.43(0.1~1.06)
コーンリッツ	10	10	10	30	2	0.2	—	—	—	0.21
ごま油	10	10	10	30	0	/				
米	53	30	10	93	0					
ポップコーン	10	10	10	30	0					
豆菓子	/	20	10	30	0					
コーンフレーク	20	15	15	50	0					
生トウモロコシ	10	/	/	10	0					
スイートコーン*	50	30	10	90	0					
そば麺	39	20	25	84	0					
せんべい	/	/	21	21	0					
ビール	/	/	20	20	0					
乾燥イジク	/	/	5	5	0					
粉落花生	10	/	/	10	0					

定量限界：0.1 µg/kg (ビールのみ 0.005 µg/kg)

\*：缶詰、冷凍食品等の加工品

<参照>

- 1 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料1：食品健康影響評価について（平成20年9月3日付け厚生労働省発食安第0903001号）
- 2 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料2：アフラトキシンに関するリスクプロファイル
- 3 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料3：コーデックス委員会及び各国のアフラトキシン規制状況
- 4 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料4：平成16年度厚生労働科学研究報告書（アフラトキシン関係抜粋）
- 5 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料5：平成17年度厚生労働科学研究報告書（アフラトキシン関係抜粋）
- 6 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料6：平成18年度厚生労働科学研究報告書（アフラトキシン関係抜粋）
- 7 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料7：平成16年度～18年度厚生労働科学研究報告書（アフラトキシン関係抜粋）
- 8 第9回かび毒・自然毒等専門調査会資料8：平成19年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等の実施について（規格基準関係） 食品中のかび毒に係る汚染実態調査（ピーナッツトータルアフラトキシン実態調査）
- 9 宇田川 俊一，中里 光男，田端 節子，細貝 祐太郎，松本 昌雄：食品安全性セミナー〈5〉マイコトキシン，中央法規，東京，2002；79
- 10 岡野 清志，富田 常義，久米田 裕子，松丸 恵子，一戸 正勝：輸入落花生におけるアフラトキシンBG 群汚染とその原因菌類としての *Aspergillus section Flavi* について。マイコトキシン 2008；58(2)：107-114
- 11 JECFA Monograph Food Additives Series 40 (1998)
- 12 IARC Monograph vol.56 (1993)
- 13 IARC Monograph vol.82 (2002)
- 14 EFSA Opinion Of The Scientific Panel On Contaminants In The Food Chain On A Request From The Commission Related To The Potential Increase Of Consumer Health Risk By A Possible Increase Of The Existing Maximum Levels For Aflatoxins In Almonds, Hazelnuts And Pistachios And Derived Products (2007)
- 15 JECFA Monograph Food Additives Series 59 (2008)