J S M *Mycotoxins*

www.jstage.jst.go.jp/browse/myco

Risk assessment of ochratoxin A

Seiko Motoyama, Noriko Koyama

JSM Mycotoxins, **66**(1):31-35 (2016)

<http://dx.doi.org/10.2520/myco.66.31>

JSM Mycotoxins is issued twice a year, one volume a year, by the Japanese Society of Mycotoxicology and the purpose of the journal is to publish results and technical information regarding mycotoxins. *JSM Mycotoxins* publishes Reviews, original results (Research Papers, Technical Notes, Notes, and Letters), Proceedings of special lectures, symposia, and workshops of the meeting of Japanese Society of Mycotoxicology

Japanese Society of Mycotoxicology
(http://www.jsmyco.org/MYCONTENTS/Eng/index_eng.html)

オクラトキシンAのリスク評価

本山 聖子¹, 小山 典子¹

¹ 内閣府食品安全委員会事務局評価第二課 (〒107-6122 東京都港区赤坂5-2-20 22F)

キーワード

オクラトキシンA; 腎毒性;
食品安全委員会; リスク評価

連絡先

本山 聖子, 〒107-6122 東京都港区赤坂5-2-20 赤坂パークビル22F
ファックス: 03-3584-7391

(2015年12月1日受付,
2015年12月16日受理)

要旨

オクラトキシンAは, *Aspergillus*属や*Penicillium*属に属する数種の糸状菌により産生されるかび毒で, 穀類, コーヒー, ココア, ビール, ワイン等, 様々な農産物や食品における世界的な汚染実態が報告されている。

日本では, 食品安全委員会が自らの判断で行うリスク評価(食品健康影響評価)として, 「オクラトキシンAの食品健康影響評価」を実施した。暴露量推定の結果, 現状においては, 食品からのオクラトキシンA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。しかし, オクラトキシンAの主な産生菌は, 異なる生育条件では異なる種類の農産物や食品に生育し, また, オクラトキシンAの汚染の程度は, 気候等の影響を受けやすいことから, リスク管理機関において汚染状況についてのモニタリングを行うとともに, 規格基準について検討することが望ましいとし, 2014年1月に評価結果を公表した。

この後, 2014年10月に開催された厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食品規格部会において, コーデックス規格と同等のオクラトキシンAに対する規格基準を設定することが了承された。

本稿では, 「オクラトキシンAの食品健康影響評価」の概要を紹介する。

食品安全委員会(委員長: 佐藤洋)は, 食品に含まれる農薬や食品添加物などが健康に及ぼす影響を科学的に評価する機関(リスク評価機関)である。7名の委員で構成され, 12の専門調査会において, 200名を超える専門委員の協力により, 添加物, 農薬, 動物用医薬品, 器具・容器包装, 汚染物質等, 微生物・ウイルス, プリオン, かび毒・自然毒等, 遺伝子組換え食品等, 新開発食品, 肥料・飼料等の分野ごとの専門調査会においてリスク評価等を行っているほか, 企画等専門調査会では, 年間計画, 緊急時対応, リスクコミュニケーションについて審議を行っている。

オクラトキシンA(OTA)は, 動物に腎毒性を示し, 1990年, 1995年, 2001年, 2007年にJECFA(FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議), また, 2006年にEFSA(欧州食品安全機関)においてリスク評価が実施され, 2008年のコーデックス委員会では, 小麦, 大麦, ライ麦を対象に5 µg/kgの基準値が設定された。

日本では, 2009年3月に食品安全委員会が自らの判断で行うリスク評価(食品健康影響評価)として

の評価の実施が決定され, 2010年から2013年にかけて, かび毒・自然毒等専門調査会において計8回審議された後, 食品安全委員会への報告やパブリックコメントの募集等の手続きを経て, 2014年1月に「オクラトキシンAの食品健康影響評価」を公表した。

1. オクラトキシンAの概要

1960年代の初めに南アフリカのトウモロコシから分離された*Aspergillus ochraceus*(2004年に*A. westerdijkiae*と再同定)の代謝物として発見されたOTAは, ジヒドロイソクロメンの基本骨格に, 7位のカルボキシル基を介してフェニルアラニン分子がアミド結合した化合物である(図1)。

図1 オクラトキシンAの構造式

OTA産生菌の*Aspergillus*属は主に温帯から熱帯にかけて、*Penicillium*属は温帯から寒冷地域まで生育し、OTAの汚染は、穀物、コーヒー、ココア、ビール、ワイン等を含む多種多様な農産物及び様々な食品に認められている。OTAに汚染されるのは、主に収穫後の貯蔵食物であることから、感染を防ぐために、穀物等を十分に乾燥し、その乾燥状態を維持することが重要である。

2. オクラトキシンAの安全性に係る知見の概要

2-1. 実験動物等における体内動態

経口摂取されたOTAは、主に空腸近位部から吸収され、血液を経由して主に腎臓や肝臓などの組織に分布し、尿や糞中に排泄される。血液中では、ほとんどのOTAが血清アルブミン等のタンパク質と結

合している。OTAの半減期は、マウスでは1～1.5日、ラットでは2～11日、ブタで4～6日、サバンナモンキーでは約20日及びヒトでは約35日であることが報告されている。これらの半減期の違いには、OTAの腸肝循環の程度や、血清中タンパク質との結合の程度が関与していると考えられている。ラット、ウサギ、ウシ及びヒトで乳からOTAが検出されているが、ウシなどの反すう動物では、OTAの大部分が第1胃の細菌叢で分解されるため、乳への移行はほとんど認められていない。OTAの主な代謝物はオクラトキシンαで、一部のOTAは、腎臓及び肝臓でシトクロム P450により酸化される。これらの代謝物は、全てOTAより毒性が低いことが示されている。

2-2. 実験動物における毒性試験結果

実験動物を用いた毒性試験の概要を表1に示した。

表1 オクラトキシンAの毒性の概要

急性毒性	概要		
LD ₅₀ （経口）	マウス：46～58 mg/kg 体重 ラット：20～30 mg/kg 体重 ブタ：1 mg/kg 体重		
亜急性毒性	概要	LOAEL	NOAEL
一般毒性	・尿細管の酵素活性低下 ・近位尿細管細胞核肥大 ・腎臓重量の増加	ラット 0.015 mg/kg 体重/日 ブタ 0.008 mg/kg 体重/日	
生殖発生毒性	・胎児毒性 ・催奇形性	ラット 0.25 mg/kg 体重/日 ウサギ 0.1 mg/kg 体重/日	ウシ 1.66 mg/kg 体重/日
免疫毒性	・抗体産生能の低下 ・脾細胞数の減少	マウス 0.04 mg/kg 体重/日	マウス 0.001 mg/kg 体重/日
神経毒性	・酵素活性の一過性阻害	ラット 0.12 mg/kg 体重/日	
	・脳内白質の空胞形成	ラット 0.07 mg/kg 体重/日	
慢性毒性・ 発がん性	概要	LOAEL	NOAEL
慢性毒性	・進行性腎炎	ブタ 0.04 mg/kg 体重/日	
発がん性	・腎臓腫瘍	マウス 3.5 mg/kg 体重/日 ラット 0.07 mg/kg 体重/日	マウス 0.15 mg/kg 体重/日 ラット 0.021 mg/kg 体重/日

亜急性毒性試験では、OTAを経口投与した全ての動物で尿細管に部位特異的な腎毒性が認められた。腎臓髄質外層外帯の近位尿細管S3セグメントには、巨大核細胞や肥大した細胞がみられ、尿細管の萎縮、組織障害も観察された。OTAを経口投与した雌雄のラットで、OTAの用量及び投与期間依存的な腎毒性が認められている。OTAに最も感受性が高い動物種はブタであり、雌のブタに、8、40又は160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日のOTAを120日間混餌投与した結果、用量依存的に血中パラアミノ馬尿酸の尿細管最大排泄量 (Tm_{PAH}) 及び Tm_{PAH} のインスリンクリアランスに対する割合の減少及び尿糖の増加がみられた。8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日のOTAを投与した群のブタでは9頭中4頭に、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日以上OTAを投与した群のブタでは、全てのブタに尿細管における退行性変性が観察された。この試験におけるOTAの最小毒性量 (LOAEL) は8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。

げっ歯類にOTAを経口投与した慢性毒性・発がん試験では、主に腎臓の髄質外層外帯に腎細胞腺腫及び腎細胞がんがみられた。ラットに0、21、70又は210 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重のOTAを週5回強制経口投与した米国国家毒性プログラム (NTP) による2年間発がん性試験の結果、LOAELは70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (週5回投与、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当)、無毒性量 (NOAEL) は21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 (週5回投与、15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日に相当) であった。食品安全委員会では、参考として、このNTP試験の用量反応データを基にベンチマークドーズ (BMD) 法を用いて数理モデルにより解析した。適合モデルのうち最も低い BMDL_{10} は、16.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日 (LogProbit (Restriction: off) モデル) であり、この値は、上記NOAELより高い値であった。

生殖発生毒性及び免疫毒性は、いずれも腎臓への影響と比べると1～2桁高い用量で観察された。

2-3. 遺伝毒性試験

OTAをげっ歯類に経口投与すると発がんがみられることから、OTAがDNAに直接作用する遺伝毒性発がん物質であるか、DNAに直接作用しない非遺伝毒性発がん物質であるか、がOTAの食品健康影響評価における論点の一つとなった。

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames試験) では代謝活性化の有無にかかわらずほとんどが陰性であり、酵母細胞を用いたSOS試験及び哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験の結果のほとんどが陰性であった。一方、哺乳類の培養細胞においてOTAが一本鎖DNA切断を誘導することが示されており、OTAを経口又は腹腔内投与したラットの

脾臓、肝臓、腎臓等においてもコメットアッセイの結果は陽性であった。コメットアッセイでみられるOTAによるDNA損傷の量は抗酸化剤によって抑制されることが示されている。DNA修復を示す不定期DNA合成では、ラット肝細胞、ブタ膀胱上皮細胞、ヒト尿路上皮細胞において陽性であった。姉妹染色分体交換が*in vitro*のいくつかの試験でみられたが、*in vivo*の試験では陰性であった。小核試験は、*in vitro*、*in vivo*共に陽性であった。*in vitro*の染色体異常試験では、陽性及び陰性の結果が共に得られており、ラットに発がん用量のOTAを経口投与した試験では陰性、マウスにOTAを腹腔内投与した試験では陽性であった。トランスジェニックラット (*gpt delta*) を用いた*in vivo*遺伝毒性試験では、腎臓髄質外層外帯にDNAの欠失変異がみられたことが報告されている。しかし、その欠失変異がこの部位で発生するがんの原因であるとする証拠は得られておらず、同部位における点突然変異は検出されなかった。

OTAの遺伝毒性発がん物質としてのメカニズムに関して、OTAあるいはその代謝物がDNAに直接作用するか否かを調べる目的で以下のように様々な試験が実施されている。動物にOTAを投与したDNA付加体形成試験において、ポストラベル法により、*in vitro*及び*in vivo*においてDNA付加体が検出されたとする報告があるが、その構造解析はされておらず、検出されたとされる付加体がOTA又はOTA代謝物とDNAが共有結合したものであるとの確認はされていない。また、 $[^3\text{H}]$ 又は $[^{14}\text{C}]$ でラベルしたOTAをラットに投与した*in vivo*試験の結果、これらの試験のDNA付加体の検出感度はポストラベリング法と同等であったが、付加体形成は認められなかった。

OTAの非遺伝毒性発がん物質としてのメカニズムに関して、細胞周期の破たん、タンパク質合成酵素阻害、細胞増殖とアポトーシスの変化、酸化ストレス、ミトコンドリアの機能低下、MAPキナーゼ等のシグナル伝達の変化、フェニルアラニンtRNA合成酵素、ヒストン等のアセチル化阻害等のエピジェネティックなメカニズムなど、がんに関与する様々な原因が多数報告されている。

以上の知見より、食品安全委員会では、OTA又はOTA代謝物はDNAに直接作用して付加体を形成する遺伝毒性発がん物質ではなく、間接的にDNAに作用する非遺伝毒性発がん物質と考えることが妥当であると判断し、耐容一日摂取量 (TDI) を設定することとした。

3. ヒトにおける知見

OTAの血中濃度は、ヒトにおける暴露の信頼できるバイオマーカーであると考えられている。2001年のJECFA評価において、欧州12か国、アフリカ2か国、カナダ及び日本の計16か国において1977年から1998年の間に実施された暴露調査により得られた健常者3,717名の血中OTA濃度の範囲は、160 ng/mlの一検体を除き、0.1~40 ng/mlであった。その後、欧州4か国、モロッコ及びレバノンの計6か国において1995年から2002年の間に実施された暴露調査の結果、健常者2,322名の血中OTA濃度の範囲は、0.17~0.56 ng/mlであり、初期の調査と比較して、OTA血中濃度の値が減少傾向にあることを示していた。日本では1992年から1996年にかけて東京で血中OTA濃度が調査され、184名中156名(85%)の血液中にOTAが検出された。この調査における血中OTA濃度の平均値は0.068 ng/ml、濃度範囲は0.004~0.28 ng/mlであった。

バルカン地方にみられるバルカン風土病腎症(BEN: Balkan Endemic Nephropathy)の発症に、OTAが関与している可能性が1970年代から報告されている。また、北アフリカでみられる尿路上皮腫瘍(UTT: Urinary Tract Tumors)の発症にOTAが関与している可能性も報告されている。近年、BENで認められる腎症がウマノスズクサ属植物の慢性中毒により起こるアリストロキア酸腎症と似ており、バルカン地方の小麦畑に生育しているウマノスズクサ属植物の種子が小麦に混入することにより小麦粉がアリストロキア酸に汚染されてBENの病因となっている可能性が報告された。アリストロキア酸等の他の環境要因と共に、OTAもこれらのヒトの疾病の要因である可能性は否定できないが、OTAをこれらヒトの疾病の原因物質と結論付けることのできる十分な根拠も得られていない。

国際がん研究機関(IARC)では、1993年にOTAの発がん性について、「ヒトに対し発がんの可能性がある」(グループ2B)と評価している。

4. 日本における暴露量推計

2004年から2010年にかけて、OTAが汚染する可能性のある食品29品目、2,093検体を対象に、日本で流通している食品中のOTA汚染実態調査が実施された結果、ココア、インスタントコーヒー、チョコレート、パスタ、日本蕎麦、レーズン、缶コーヒー、焙煎コーヒー及び小麦粉から、50%以上の頻度でOTAが検出された。これらの食品中のOTA汚染実態調査結果及び年齢層別(1~6歳、7~14歳、15~19歳及び20歳以上)の食品摂取量を基に、モンテ

カルロ法を用いたシミュレーションにより日本人における年齢層別のOTA暴露量が推計された。体重当たりの一日OTAの暴露量は、1~6歳までの階層で最も多く、平均的な値を示す50パーセンタイルでは、0.14 ng/kg体重/日、高リスク層である95パーセンタイルでは、2.21 ng/kg体重/日であった。なお、2005年から2008年に行われた日本で流通している食品中のOTAの汚染実態調査の結果、食肉製品中のOTAは検出限界未満であった。

5. 食品健康影響評価

以上を踏まえ、食品安全委員会では以下のようにTDIを設定した。OTAのヒトを対象とし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知見がないことから、動物試験の結果に基づいた評価を実施した。

非発がん毒性に関して、各試験から得られたLOAELの最小値は、ブタの亜急性毒性試験における8 µg/kg体重/日であった。このLOAELに、不確実係数500(種差: 10, 個体差: 10, 不可逆的な腎障害を指標としたLOAEL使用: 5)を適用して、OTAの非発がん毒性に関するTDIを16 ng/kg体重/日と設定した。

発がん性に関しては、発がん性に関するNOAELを基にTDIを設定することとし、NTPのラットの2年間発がん性試験において、NOAELは21 µg/kg体重(週5回投与、15 µg/kg体重/日に相当)であったことから、このNOAELに不確実係数1000(種差10, 個体差10, 発がん性10)を適用して、OTAの発がん性に関するTDIを15 ng/kg体重/日と設定した。

日本における暴露量の推計結果より、現状においては、OTAの暴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OTA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。

6. 今後の課題

OTAの主な産生菌は異なる生育条件では異なる種類の農産物や食品に生育し、また、OTAの汚染の程度は、気候等の影響を受けやすいことから、食品等のOTA汚染状況についてのモニタリングを行うことが求められる。

また、日本人の暴露状況を把握するために、血液中のOTA及びその代謝物の濃度等の暴露状況データの収集や、OTAの腎臓における発がんメカニズムを始めとしたヒトへの影響及び発がんの作用機序等について更なるデータの収集が望まれる。

謝 辞

本稿で紹介した内容は、かび毒・自然毒等専門調査会において審議され、取りまとめられた「オクラトキシンAの食品健康影響評価」をまとめたものである。専門委員をはじめ関係者各位に、深く謝意を表します。

引用文献

- 1) 食品安全委員会:オクラトキシンA. 平成26年1月27日付け府食第94号かび毒評価書

Risk assessment of ochratoxin A

Seiko Motoyama¹, Noriko Koyama¹

¹Second Risk Assessment Division, Food safety Commission Secretariat, Cabinet Office,
5-2-20 Akasaka Minatoku, Tokyo 107-6122, Japan

Ochratoxin A (OTA) is a secondary metabolite of fungi such as *A. ochraceus* and *P. verrucosum*, which occur mainly in stored foods. OTA contamination has been found in various food commodities including cereals, coffee, cocoa, beer and wine.

Food Safety Commission of Japan (FSCJ) conducted a risk assessment of OTA as a Self-tasking risk assessment, based on the studies on toxicokinetics, acute toxicity, subacute toxicity, genotoxicity, chronic toxicity and carcinogenicity, as well as the contamination survey in foods and estimated exposure to OTA in Japan. This paper summarizes the risk assessment of OTA reported in 2014.

Keywords: Food Safety Commission of Japan; nephrotoxicity; ochratoxin A; risk assessment