アフラトキシン汚染の評価をめぐる諸問題

栗飯原景昭*

K. AIBARA: Recent aspects on the evaluation of aflatoxin
contamination in food and foodstuffs

はじめに

一連の黄変米毒研究の流れを汲んで、1966年厚生省がん研究班「食品中のかびによる発がん性の研究（班長：浦口健二）」が発足以来、わが国におけるマイコトキシン研究は厚生省がん研究班、科学技術庁特別研究調整費による「赤かび毒による造血器障害等の発生機構に関する総合研究（班長：辰野高司）」、厚生省厚生科学研究費による「カビおよびカビ毒に関する研究（班長：田辺弘也，同：倉田 浩）」あるいは文部省諸研究班の活動によって支えられてきた。厚生省がん研究班にあってはその間に、浦口健二（1966～1968）、石館守三（1969～1971）、宮木高明（1972）、斎藤 守（1973～1975）、倉田 浩（1976～1980）の諸先生方が主任研究者として、班活動に止まらず、わが国全体のマイコトキシン研究を指導して来られた。一方、これら研究活動を中心に広くマイコトキシン研究に関心を有する熱心な研究者が集まって 1974 年に発足した本マイコトキシン研究会も着実な歩みを続けている。

さて、上記の如き十数年に及ぶ輝かしい基礎的諸研究の成果を基盤として、多少角度を変えて、がん原性マイコトキシンに関する汚染実態調査班が 1980～1981 年活動した。これは、厚生省がん研究計画研究として、環境中の発癌物質汚染実態の把握を目的としたものである。すなわち、関連した「56-34. 生活環境特に食品、飲料水および大気中の発がん性汚染物質の定量的解析」（主任研究者：内山 充）、「56-39. 発がん性ニトロソ化合物の暴露実態に関する研究」（主任研究者：谷村顕雄）と共に並列して発足した「56-35. わが国におけるがん原性マイコトキシンによる暴露実態に関する研究」（主任研究者：栗飯原景昭）の3調査研究班である。そこで、本稿においては、この 56-35 調査研究班の成果の一部を要約して紹介することとする。

I. 「厚生省がん研究計画研究班（56-35）わが国におけるがん原性マイコトキシンによる暴露実態に関する研究」の概要

（1）研究目的と研究組織

今回の実態調査班の目的は、わが国における顕在的および潜在的な発がん性マイコトキシンの実態を調査し、そのヒトに対する危害性評価および危害予測の基盤を明かにすることにある。文献的に実験動物に対するがん原性が報告されているマイコトキシンの中から、強力な実験経口発がん性（1日体重1kg 当り 0.6 μ g, ラット 100% 発症）および世界数地域における疫学的実証、また農産物の国際的汚染状況等を配慮してアフラトキシン（AF）を調査研究対象の中心とし、別記小課題を分担して総合的に研究を遂行した。

実態調査の運びの方針として次のような方法を原則とした。

* 国立予防衛生研究所（〒141 品川区上大崎 2-10-35）
National Institute of Health (Kamioosaki, Shinagawa-ku, Tokyo-141)

- ① AF 生産菌汚染地域からの輸入農産物およびその加工品
 - ② 上記農産物を原料として国内で加工処理された市場流通食品
- を対象とする顕在的汚染調査に並行して、生産菌分布のまれなわが国において AF 汚染管理上とくに重要な潜在的汚染実態を予測するために
- ③ 輸入および国内農産物についての AF 生産菌汚染調査
 - ④ 潜在的汚染が顕在化するにいたる環境ならびに保蔵条件の検討
- を行うこととした。

そのための研究組織および分担研究としては次のように行った。

- ① 食品中のがん原性マイコトキシンの実態とその消長を左右する要因に関する研究（栗飯原景昭・国立予防衛生研究所）
- ② 輸入および国産農産物のがん原性マイコトキシン生産菌の汚染実態（一戸正勝・国立衛生試験所）
- ③ 生物学的検索法による発がん性マイコトキシンの実態調査（上野芳夫・東京理科大学）
- ④ 市販食品におけるがん原性マイコトキシンの汚染実態に関する研究（直井家寿太・東京都衛生研究所）
- ⑤ 輸入時点における落花生等の輸入農産物のアフラトキシンによる自然汚染実態調査（前田協一・マイコトキシン検査協会）
- ⑥ 西日本における農水産物のがん原性マイコトキシン汚染（芳沢宅美・香川大学農学部）

計画研究班の性格上、班を構成する分担研究者は6名と限定があり、全国的に調査網を拡大する余地はなかったが、上記の研究組織と分担研究課題をかがけ、班外協力者として、千葉県衛生研究所（矢崎広久、高橋治男ほか）および名古屋市衛生研究所（坂部美雄、山本勝彦ほか）の研究協力を得た。

II. 調査研究結果の概要

上記のような趣旨の下に、1980・1981年に実施した汚染実態調査研究の結果の多くの部分について取りまとめて述べることにする。基礎的な研究結果に関しては、ここでは省略し、汚染調査結果を紹介したい。

今回の調査研究を通じて再確認したことはまず第一に次の事実である。糸状菌の生物学的一般性状に起因して、AF 生産菌の農産物あるいは食品上の自然汚染状態は極端に点在している。この汚染部位の条件（温度、水分、環境湿度など）の微妙な変化によって生産菌が増殖し、それに伴って AF は産生されるが、その分布は基質全体に均質化せず、局在性分布を示す。後に述べる如く、この点状散在に由来する検査成績の振幅をどのように解釈するかが、AF 暴露量の推定に多大の影響を及ぼすことが明かとなった。

（1）輸入時点における顕在的 AF 汚染

① 現在、農産物あるいは食品中の AF 分析法にはいろいろな方法が提案されているが、今回は統一していわゆる「環食第128号」（昭和46年3月厚生省環境衛生局食品衛生課長通達）を原則とし、定量は TLC 蛍光デンシトメトリーによった。

② 各分担研究者ならびに班外に在ってかねてから分担研究者と密接な連絡を取りつつ AF 汚染調査を行ってきた研究協力者等による従前からの調査結果をも含めて、総数 17,506 点の各種食品試料に関する AF 化学分析結果を整理した。その内訳は、輸入時点の検査として落花生 12,024 点、香辛料 434 点、トウモロコシ 140 点、小計 12,598 点。また、国産農作物および国内市場流通食品

(輸入品も含む) に関しては、輸入落花生 986 点、国産落花生 430 点、輸入トウモロコシ 105 点、ピスタチオナッツ 153 点、その他豆類 582 点、牛乳 807 点 (生乳 732 点、市乳 75 点)、脱脂粉乳 29 点、全脂粉乳 81 点、調整粉乳 54 点、輸入脱脂粉乳 78 点 (以上粉乳関係 242 点)、輸入チーズ 1,391 点、その他乳製品 26 点 (加糖全脂煉乳 9 点、国産プロセスチーズ 17 点)、玄米 および 精白米 88 点、ライ麦粉等穀粉 78 点、コーヒー (豆および即席) 20 点など小計 4,908 点、総数 17,506 点である。

Table 1 に、上記試料の分析結果ならびに一部落花生試料について実施した菌学的研究および保蔵研究の結果を整理要約して示す。なお、表中で牛乳・乳製品関連部分の分析結果は AF M₁ に関するものであるが、その他全ての食品については B₁ の値で示したものである。

Table 1. Aflatoxin examination of imported and domestic foods in Japan (summarized in 1982)

	Imported foods in ports				Foods in markets		
	No. of exam.	AF detected		No. of not detected	No. of exam.	AF detected ppb (range)	No. of not detected
		Over 10 ppb	Less 10 ppb				
Peanuts							
Large	2612	1	12	2599(99.5%)			
Small	9412	164	310	8938(99%)	986	56(Tr.-1580)	930 (94%) Import.
					430	6(Tr.)	424 (99%) Domest.
Corn	140	1	8	131(94%)	105	1(300)	104 (99%) Import.
Nuts & Beans							
Pistachio					153	14(2-1830)	139 (91%) Import.
Others					582	2(1.4, 6.2)	580(99.6%) Import.
Milk & Prod							
Raw milk					807	28(Tr. ?)	779 (97%) Domest.
Powdered M.					242	2(0.18)	240 (99%) Import.
Cheese					1391	173(0.04-1.1)	1208 (88%) Import.
Others					26	0	26(100%) Domest.
Cereals							
Rice					88	0	88(100%) Domest.
Othrs					78	0	78(100%) Import.
Coffee					20	0	20(100%) Import.
Chilli	434	47	104	283(65%)			
Total	12,598		+		4,908	=	17,506
Mycological studies: Imported peanuts (163 samples) AF-Producer 33-93%							
Domestic peanuts (51 samples) AF-Producer 1%							
Storage studies: No AF producing condition: 25°C RH 70-79%, 15°C RH 100%							

③ わが国における AF 規制は、落花生およびその加工品に関する厚生省環境衛生局食品衛生課長通達によって、国が定める試験法 (環食第 128 号、昭和 46 年 3 月) に従って検査し、その結果が陰性でなければならないとされている。陰性・陽性の判断基準に用いられている AF B₁ 標準試液の濃度から換算すると、ガイドラインは B₁ 汚染量 10 ppb に相当する。検査結果陽性すなわち 10 ppb を超えた落花生は不合格として輸入禁止措置がとられる。他の食品については直接ガイドラインは定められていないが、落花生に準拠して処理されている。なお、米国のガイドラインは、

AF B₁, B₂, G₁ および G₂ の合計が 20 ppb と定められている。アフラトキシン生産菌は、4 種類を均等に産生せず、B₁ 産生量が全体の約半分を示すことから、日米両国のガイドラインはほぼ同程度の規制値と考えられる。WHO ガイドラインは合計 30 ppb を採用している。

④ 1972—1981 年の 10 年間の輸入検査の結果、小粒落花生 (S) と大粒落花生 (L) とでは明かに汚染率に大差のあることが判る (詳細は本号 26 頁前田論文参照)。わが国は年間約 6 万トンの落花生を輸入しているが、その四分之三は小粒種である。大小粒種におけるアフラトキシン汚染率の差は、落花生の生物学的性状および収穫期の差によるものと考えられる。

⑤ 今回のトウモロコシ調査は検体数も 140 点と少なかったが、その大部分が米国産であり、ガイドラインを超えた汚染値を示したのは全体の 0.7%、微量汚染を示した検体 (痕跡以上 10 ppb 以下) を含めて 6% であった。米国農務省および米国厚生省食品薬品庁 (FDA) が実施した最近 10 年余の膨大な汚染実態調査結果を整理して FDA が発表した AF 汚染推定値は、全国平均で食品中 0.011 ppb (ただし南東部 5 州平均では 0.1 ppb) であるという。そして、その主要原因食品はトウモロコシと推定している。

現在わが国は年間 1,300 万トン前後のトウモロコシ (3/4 は飼料用) を米国 (全体の 91%), 南阿 (7%), タイ国 (2%) などから輸入している。落花生とは比較にならない大量の輸入量を配慮すると将来、トウモロコシについて、汚染実態調査の強化がのぞまれる。

⑥ 香辛料チリの摂食絶体量は一般食品に比較すれば極めて少量ではあり、落花生と同一ガイドラインを適用することの可否はともかく、AF 汚染率は他食品に比較して高く約 40% におよぶ。ガイドラインを超えるロットの割合も約 11% を示す。問題は、AF 汚染とともに、その生産菌の存在である。すなわち、他の食品に混合した際に、AF 自体の汚染量は特に問題となるほどの移行は考えられない。しかし、生産菌が機会を得て増殖し 2 次的に AF 汚染をもたらす可能性は考えられる。

(2) 国内市場食品の汚染実態

Table 1 表の右側半分に、元来輸入品も含め国内市場で採取した試料について実施した汚染実態調査結果を要約した形で示す。

① 落花生およびその製品：国内市場で収集し試験した輸入落花生およびその製品 986 点の 5.7% に痕跡程度から最高 1,580 ppb におよぶ AF B₁ の汚染を認めた。この値は、国内産における痕跡程度 (0.1 ppb 以下) の汚染率 1.4% に比してかなり高いといわざるを得ない。その理由については後に少し詳しく触れるが、流通過程の管理の重要性が示唆される。

これら化学分析と平行して AF 生産菌について菌学的検討を行った。すなわち、国内産落花生における生産菌検出率が 1% であるのに比べ、輸入品にあっては産地国、季節、ロットにより異なるが、生産菌検出率は 33~93% に及び、輸入小粒落花生には生産菌が定常的に存在していると考え、輸入後の保蔵・流通を配慮すべきことを確認させる結果であった。

そこで、AF 汚染は化学的に実証されないが、生産菌汚染を認めた米国産小粒種を用いて、潜在的 AF 汚染が顕在化する条件を検討するために保蔵試験を実施した。各種条件設定した実験室内試験ならびに実際の倉庫試験 (常温倉庫および低温倉庫) の結果、温度 25°C であれば湿度 79% 以下、15°C 以下であれば湿度 100% であっても AF の産生は認められなかった。この問題は、実際の食生活を通じての危害性に及ぼす影響が大きいので、更に詳細な検討を反復する必要がある。

② ピ스타チオナッツおよびその他豆類：輸入ピスタチオナッツの一部に高濃度の AF 汚染 (最高では 1,830 ppb) を認めたが、これを端緒に厚生省は輸入ナッツ類に対するガイドラインを落花生に準じて通達した。現在ナッツ類の輸入消費量は落花生をはるかに上廻り、将来更に組織的輸入

検査の強化がのぞまれる。

③ 牛乳および乳製品：輸入ナチュラルチーズ 1,391 点の約 12% に 0.2 ppb 前後 (0.04~1.1 ppb) の M_1 汚染を認めた。その全てはヨーロッパ産であり、米国、オーストラリア、ニュージーランド産等には認められなかった。チーズについての国際的ガイドラインは 20 ppb であるが、未だ最終的結論は出されていないのが現状である。

④ 米麦類：AF 以外のカビ毒であるオクラトキシン，シトリニン，フザリウム毒素類は散発的に検出されたが，AF 汚染および生産菌は見出されなかった。

⑤ コーヒー豆およびインスタントコーヒー：20 点について検討したところ，一部 AF M_2 類似物質の存在を認めたが，確認試験の結果否定された。しかしながら，類似蛍光物質の問題は汚染実態調査の判断のうえからも，また生理活性評価など生物学的研究上も重要な問題であり，継続してその本態に関して追究している。

以上が，国際的にも AF 汚染頻度の高いことから注目されている落花生を中心に実施した汚染実態調査全体の要約である。総数 17,506 検体の化学的分析の結果，本研究の目標である暴露実態を明確にするためには，単に汚染試験に止まらず，角度を変えた解析的実験を進めることの重要性が明かとなった。以下に，問題点をしばって実施した研究結果の一部についてごく簡単に要約して記す。

1981 年中に 18 カ国から輸入された小粒落花生 1,245 ロットの 19% を対象とし，ロットを代表する同一試料について 10 回繰返し試験法によって 1 粒当りの汚染量と汚染粒混在率の両面から，国別汚染実態に関する解析研究を行った。その結果を整理して Table 2 に示す。

Table 2. Evaluation of the mixture rate of a contaminated peanut and the estimated concentration of AF-B1 in one kernel of Spanish-Valencia type peanuts imported into Japan in 1981

Countries Exported	Estimated max. conc. AF-B1 in one kernel (ng)	Evaluated mixture rate of a contaminated peanut (Range of 95% confidence level)		
		Concentration of AF-B1 in one kernel		Total
		More than 500 ng	Less than 500 ng	
China	760	0.005	0.002—0.018	0.003—0.021
U. S. A.	79,000	0.012—0.034	0.014—0.037	0.034—0.066
South Africa	60	0	0.008	0.008
Paraguay	89,000	0.046—0.091	0.086—0.144	0.146—0.22
Argentina	1,800	0.003—0.03	0.016—0.068	0.028—0.089
Zimbabwe	22,000	0.007—0.07	0.086	0.006—0.083
Brazil	110,000	0.114—0.225	0.396—0.583	0.550—0.768
Indonesia	200,000	0.089—0.207	0.517—0.599	0.517—0.763

このように，生産国によって AF 汚染実態にはかなり大きな特徴のあることが判る。今回の調査国の中で南阿が極立って良質の小粒種生産国であり，10 年間の総計において好成績を示すにいたった理由がよく理解出来る。

1981 年合格小粒落花生を対象として，10 回繰返し試験結果を上記とは別の角度で整理解析して消費者危険率を推定してみたところ次の如き結果を得た。ここでいう消費者危険率とは，1 回に 50 g の小粒落花生を食べたと仮定した場合に，1 粒の汚染粒に出合う割合で示す。そうすると，中国および南阿産の小粒落花生の場合はその確立はほとんどないと考えられる。しかし，米国 9%，ブラジル 30%，インドネシア 78% と高くなることが判った。過去において 1972~1977 年輸入検

査成績から算定した数字を参考までに記すと、1000人の人が輸入小粒落花生を50g ずつ食べたとして、その中で1粒以上の汚染粒を食べてしまう人の数は、米国産粒では10人、インドネシア62人、ブラジル92人と推定された。

これら幾つかの汚染実態解析試験の結果は、AF 汚染が他の汚染物質の汚染では考え難い極端な点状分散型（ピンポイント汚染）であることを示している。この事実は、菌学的調査研究の結果からも実証されている。すなわち、AF 生産菌自体の自然特性として食品表面への分布状態が決して均一的ではない。生産菌は、直接空気にふれているが通風性の無い部分、冠水あるいは水飛沫などで水分含量が高くなった部分（くん蒸などで殺滅された昆虫の死骸周辺にも生育するという報告もある）などにおいて、温湿度が適切な条件を得た場合に、極端に局在した形で増えAFを産生することが再確認された。

今後の問題点として、消費量の多いコーン、消費量は少ないが汚染頻度の高い香辛料、一粒で高濃度摂食を生ずる危険性のあるナッツ類等についても、現在の落花生に準じた汚染実態の把握が重要と考えられる。食品中の定性的汚染調査の迅速化にも有用であると同時に、ヒトの汚染実態を直接判断するために、免疫学的方法の確立は焦眉の急であり、今回の研究班で到達した基礎的研究成果を土台に、実用的方法の実現に努力すべく計画中である。

（昭和58年2月5日 第17回研究会特別講演）