

1 (5) 遺伝毒性

2 ① *in vitro* 試験

3 a. 細菌を用いた復帰突然変異試験

4 FB1、FB2 及び FB3 は、*Salmonella* Typhimurium TA97a 株、TA98 株、
5 TA100 株、TA102 株、TA1535 株又は TA1537 株を用いた復帰突然変異試験
6 において、代謝活性化の有無にかかわらず、試験結果は陰性であった(参照 1.
7 WC Gelderblom, et al. (1991) #229, 2. DL Park, et al. (1992) #232, 3. S
8 Knasmuller, et al. (1997) #230, 4. M Aranda, et al. (2000) #366, 5. V
9 Ehrlich, et al. (2002) #224)。

10
11 b. 細菌を用いた DNA 損傷、修復試験

12 大腸菌を用いた FB1 の SOS 試験及び DNA 修復試験結果は、代謝活性化
13 の有無にかかわらず陰性であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997)
14 #230)。

15
16 c. 哺乳類細胞を用いた染色体異常試験

17 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の染色体異常試験及びヒト
18 末梢血リンパ球を用いた FB1 の染色体異常試験の結果は、いずれも陽性で
19 あった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230, 6. D Lerda, et al. (2005)
20 #226)。

21 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB2 及び FB3 の染色体異常試験の結果は、
22 陰性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)。

23
24 F344 ラット肝臓初代培養細胞を用いた FB1 の小核試験の結果は、陰性
25 であった(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)。一方、ブタ PK15 細
26 胞(ブタ腎臓上皮細胞由来細胞株)、ヒト Hep G2 細胞(ヒト肝臓がん由来
27 細胞株)又はヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の小核試験の結果は、い
28 ずれも陽性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et al.
29 (2005) #226, 7. MS Segvic-Klaric, et al. (2008) #86)。

30 ヒト末梢リンパ球細胞を用いた FB2 及び FB3 の小核試験の結果は、陰性
31 であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224, 6. D Lerda, et al. (2005)
32 #226)。

33
34 d. 哺乳類細胞を用いた姉妹染色单体交換試験

35 ヒト末梢血リンパ球を用いた FB1 の姉妹染色单体交換試験の結果は、陽
36 性であった(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)

37

e. 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験

ラット初代培養肝細胞を用いた FB1 の不定期 DNA 合成試験は 2 報報告されており、いずれも陰性であった(参照 8. WP Norred, et al. (1992) #231, 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。ラット初代培養肝細胞を用いた FB2 の不定期 DNA 合成試験の結果も陰性であった(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)

Hep G2 細胞を用いたコメットアッセイの結果は陽性であった(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)。

② *in vivo* 試験

雄性 CF1 マウスに、精製 FB1 を 25 又は 100 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与し、投与 30 時間目に採取した骨髓細胞を用いて実施された小核試験の結果は陽性であったが、用量依存性は認められなかった。著者らはこの小核の誘発は間接的影響によるものと考察している。(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)。

雌雄 BALB/c マウスに精製 FB1 を 0.1、1.0 又は 10 mg/kg 体重/回の用量で単回又は 24 時間毎に計 3 回腹腔内投与し、骨髓細胞を用いた小核試験の結果は陰性であった。正染性赤血球 (NCE) に対する多染性赤血球 (PCE) の比 (PCE/NCE) は、単回 FB1 投与群では変化がなかったが、3 回の FB1 投与では、すべての用量で FB1 を投与しない対照群と比べると有意に低下し、細胞毒性を示していた。(参照 10. R Karuna, et al. (2013) #233)。

雄性 F344 ラットに、精製 FB1 又は FB2 (純度 90~95%) を 100 mg/kg 体重の用量で単回経口投与する不定期 DNA 合成試験の結果は、いずれも陰性であった(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)。

雄性 Wistar ラットに、精製 FB1(純度 98%)を 2 又は 7 日間、0.5 mg/kg 体重/日の用量で FB1 を腹腔内投与して小核試験及びコメットアッセイが実施された。末梢血を用いた小核試験の結果は陰性であった。コメットアッセイの結果、腎臓では 2 日間及び 7 日間投与群、肝臓では 7 日間投与群において、FB1 を投与しない対照群に比べて有意な DNA 損傷の増加が認められた(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)。

雄性 Wistar ラットに、精製 FB1 (純度 98%) を 5、50 又は 500 µg/kg 体重の用量で強制単回経口投与し、投与後 4、24 又は 48 時間目に安楽殺し、肝臓を用いたコメットアッセイが実施された。すべての投与群で用量及び時間依存的な DNA 損傷が認められた(参照 12. A Domijan, et al. (2008) #127)。

しかしながら、上記の Domijan らのコメットアッセイの結果は、DNA 損傷よりも、アポトーシスによる 2 次的な影響と考えられる。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

③その他の試験

FB1 とオリゴヌクレオチドをインキュベーションし、エレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) で分析した結果、DNA 付加体形成は認められなかった(参照 13. G Pocsfalvi, et al. (2000) #451)

BALB/3T3 細胞 (マウス胎児繊維芽細胞由来細胞株) を 10~1000 μ g/mL の FB1 に暴露させ、細胞形質転換試験が実施された。FB1 の濃度依存性は認められなかった(参照 14. CW Sheu, et al. (1996) #200)。

v-Ha-ras 遺伝子を導入した BALB/3T3 細胞 (Bhas 42 細胞) を 0.1~10 μ g/mL の FB1 又は FB2 に暴露させ、フォーカス形成により FB1 及び FB2 のイニシエーション作用及びプロモーション作用が調べられた。FB1 にプロモーション作用が認められたが、イニシエーション作用は認められなかった(参照 15. A Sakai, et al. (2007) #184)。

フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果を表 6 に、*in vivo* 遺伝毒性試験結果を表 7 にまとめた。

フモニシンは細菌を用いた復帰突然変異試験、DNA 損傷・修復試験では、いずれも陰性結果を示すが、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験、および、げっ歯類を用いた *in vivo* 試験では陰性、陽性の結果が混在する。しかしながら、*in vivo* 試験では明確な DNA 損傷性は観察されず、DNA 損傷に伴う小核の誘発も観察されなかった。また、フモニシン (FB1) は DNA 付加体を形成しなかった。以上のことから、フモニシンには遺伝毒性はないと判断される。

表 6 フモニシンの *in vitro* 遺伝毒性試験結果

表 6-1 細菌を用いた復帰突然変異試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	代謝活性化			年	参照文献
				活性化に用いた物質	無	有		
復帰突然変異	TA100	FB1、	0、0.2、0.5、1、5、10 mg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1991	(参照 1. WC Gelderblom, et al. (1991) #229)
	TA102	FB2			—	—		
	TA97a	又は			—	—		
	TA98	FB3			—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.01、0.05、0.1、0.5、5、10、25、50、100 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1992	(参照 2. DL Park, et al. (1992) #232)
復帰突然変異	TA100	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、10、20、50、114 µg/plate	ラット肝臓 S9 mix	—	—	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
	TA102				—	—		
	TA98				—	—		
復帰突然変異	TA100	FB1	0、25、50、100、200 µg/g	Hep G2 細胞より調整した S9 mix	n.d.	—	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
	TA102				n.d.	—		
	TA98				n.d.	—		
	TA1535				n.d.	—		
	TA1537				n.d.	—		
	TA98				—	—		

+ : 陽性、- : 陰性、n.d. : データなし

表 6-2 細菌を用いた DNA 損傷及び修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	代謝活性化			年	参照文献
				活性化に用いた物質	無	有		
SOS 試験	<i>E. coli</i> PQ37	FB1	0、5、16、50、166、500 µg/アッセイ	ラット肝臓 S9 mix	—	—	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
DNA 修復試験	<i>E. coli</i> K-12	FB1	0、0.7、2.1、6.2、19、55、167、500 µg/ml	ラット肝臓 S9 mix	—	—		

1 表 6-3 ほ乳類由来細胞を用いた染色体異常試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果	備考	年	参考文献
染色体異常	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.01、0.1、 1、10、100 μg/ml	+	・ 1 μg/ml 以上の濃度 で陽性	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
染色体異常	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	+	・ 10 μg/g の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	-			
		FB3	0、1.0、2.0、 5.0、10.0 μg/g	-			
小核試験	F344 ラット 肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.010、 0.100、1.000、 10.000、 100.000 μg/ml	-	・ 用量依存 性なし	1997	(参照 3. S Knasmuller, et al. (1997) #230)
小核試験	ヒト肝臓が ん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、 50、100、200 μg/ml、24 時間 培養	+	・ 25 μg/ml 以上の濃度 で、小核を 有する細胞 数の用量依 存的な増加	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)
小核試験	ヒト末梢血 リンパ球	FB1	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	+	・ 5 μg/g 以 上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	-			
		FB3	0、1、2、5、 10 μg/g、22 時間培養	-			
小核試験	ブタ腎臓由 来 PK15 細 胞	FB1	0、0.05、0.5、 5 μg/ml、24 又 は 48 時間培養	+	・ 小核を有 する細胞数 の用量依存 的な増加、5 μg/ml で有 意な増加	2008	(参照 7. MS Segvic- Klaric, et al. (2008) #86)

2 + : 陽性、- : 陰性

1 表 6-4 哺乳類細胞を用いた姉妹染色分体交換試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
姉妹染色分体交換試験	ヒト末梢血リンパ球	FB1	0、1、2、5、10 µg/g	+	・5 µg/g 以上の濃度の FB1 で陽性	2005	(参照 6. D Lerda, et al. (2005) #226)
		FB2	0、1、2、5、10 µg/g	-			
		FB3	0、1、2、5、10 µg/g	-			

2 ※ 代謝活性化は見えていない。

3

4 表 6-5 哺乳類細胞を用いた DNA 損傷/修復試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度	結果(※)	備考	年	参考文献
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0、0.5、2.5、5.0、25.0、50.0、250.0 µM、18 時間培養	-		1992	(参照 8. WP Norred, et al. (1992) #231)
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝臓初代培養細胞	FB1	0.04~80 µM/plate、18 時間培養	-		1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	0.04~40 µM/plate、18 時間培養	-			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	ヒト肝臓がん由来 Hep G2 細胞	FB1	0、5、25、50、100、200 µg/ml、24 時間培養	+	・25 µg/ml 以上の濃度で陽性	2002	(参照 5. V Ehrlich, et al. (2002) #224)

5 + : 陽性、- : 陰性、※ : いずれも代謝活性化は見えていない。

6

1

表 7 フモニシンの *in vivo* 遺伝毒性試験結果

試験	生物種	被験物質	濃度、投与方法、期間	結果	備考	年	参照文献
小核試験	CF1 マウス、雄	FB1	25、100 mg/kg 体重、腹腔内投与、投与 30 時間目に安楽殺	+	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度の増加 ・25 mg/kg 体重投与群における影響が大きく、用量依存性なし	2000	(参照 4. M Aranda, et al. (2000) #366)
小核試験	BALB/c マウス、雌雄	FB1	0.1、1.0、10 mg/kg 体重、腹腔内単回投与、投与 24 時間目に安楽殺	-	・小核を有する骨髄細胞の発生頻度及び PCE/NEC に変化なし	2013	(参照 10. R Karuna, et al. (2013) #233)
			0.1、1.0、10 mg/kg 体重、24 時間ごとに 3 回、腹腔内投与、投与開始 72 時間目に安楽殺	-	・骨髄細胞を用いた小核を有する PCE の発生頻度に変化なし ・骨髄細胞の PCE/NCE が有意に減少。細胞毒性あり		
小核試験	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	-			(参照 16. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	-			
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット、雄	FB1	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13 ~14 時間目に安楽殺	-	・肝臓で DNA 修復を誘導せず	1992	(参照 9. WC Gelderblom, et al. (1992) #193)
		FB2	100 mg/kg 体重、強制経口投与、投与 13 ~14 時間目に安楽殺	-			
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	0.5 mg/kg 体重/日、2 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・腎臓で DNA 損傷 ・アポトーシスの影響と考えられる	2007	(参照 11. AM Domijan, et al. (2007) #222)
			0.5 mg/kg 体重/日、7 日間腹腔内投与、投与 24 時間目に安楽殺	+	・肝臓及び腎臓での DNA 損傷 ・アポトーシスの影響と考えられる		
DNA 損傷 (コメットアッセイ)	Wistar ラット、雄	FB1	5、50、500 µg/kg 体重、強制単回経口投与、投与 4、24 又は 48 時間目に安楽殺	+	・肝臓で FB1 投与量及び時間依存的な DNA 損傷 ・アポトーシスの影響と考えられる	2008	(参照 12. A Domijan, et al. (2008) #127)

2 + : 陽性、- : 陰性

1 < 参照文献 >

- 2
- 3 1 W. C. Gelderblom and S. D. Snyman. Mutagenicity of potentially carcinogenic
4 mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Mycotoxin Res.* 1991; 7: 46-52
5 #229
- 6 2 D. L. Park, S. M. Rua, Jr., C. J. Mirocha, E. S. Abd-Alla and C. Y. Weng.
7 Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia
8 decontamination procedure. *Mycopathologia.* 1992; 117: 105-108 #232
- 9 3 S. Knasmuller, N. Bresgen, F. Kassie, V. Mersch-Sundermann, W. Gelderblom,
10 E. Zohrer and P. M. Eckl. Genotoxic effects of three *Fusarium* mycotoxins,
11 fumonisin B1, moniliformin and vomitoxin in bacteria and in primary cultures
12 of rat hepatocytes. *Mutat Res.* 1997; 391: 39-48 #230
- 13 4 M. Aranda, L. P. Pérez-Alzola, M. F. Ellahueñe and C. Sepúlveda. Assessment
14 of in vitro mutagenicity in *Salmonella* and in vivo genotoxicity in mice of the
15 mycotoxin fumonisin B(1). *Mutagenesis.* 2000; 15: 469-471 #366
- 16 5 V. Ehrlich, F. Darroudi, M. Uhl, H. Steinkellner, M. Zsivkovits and S.
17 Knasmueller. Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2)
18 cells. *Mutagenesis.* 2002; 17: 257-60 #224
- 19 6 D. Lerda, M. Biaggi Bistoni, N. Peralta, S. Ychari, M. Vazquez and G. Bosio.
20 Fumonisins in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food*
21 *Chem Toxicol.* 2005; 43: 691-698 #226
- 22 7 M. S. Segvic-Klaric, S. Pepeljnjak and R. Ruzica. Genotoxicity of fumonisin B1,
23 beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual
24 and combined treatment. *Croatica Chemica Acta.* 2008; 81: 139-146 #86
- 25 8 W. P. Norred, R. D. Plattner, R. F. Vesonder, C. W. Bacon and K. A. Voss. Effects
26 of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled
27 synthesis of DNA by rat primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 1992; 30: 233-
28 237 #231
- 29 9 W. C. Gelderblom, E. Semple, W. F. Marasas and E. Farber. The cancer-
30 initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis.* 1992; 13:
31 433-437 #193
- 32 10 R. Karuna and B. S. Rao. Lack of micronuclei induction by fumonisin B(1)
33 mycotoxin in BALB/c mice. *Mycotoxin Res.* 2013; 29: 9-15 #233
- 34 11 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B(1): oxidative
35 status and DNA damage in rats. *Toxicology.* 2007; 232: 163-9 #222
- 36 12 A. Domijan, D. Zeljezic, M. Peraica, G. Kovacevic, G. Gregorovic, Z. Krstanac,
37 K. Horvatin and M. Kalafatic. Early toxic effects of fumonisin B1 in rat liver.
38 *Hum Exp Toxicol.* 2008; 27: 895-900 #127

- 1 13 G. Pocsfalvi, A. Ritieni, G. Randazzo, A. Dobo and A. Malorni. Interaction of
2 fusarium mycotoxins, fusaproliferin and fumonisin B1, with DNA studied by
3 electrospray ionization mass spectrometry. J Agric Food Chem. 2000; 48: 5795-
4 5801 #451
- 5 14 C. W. Sheu, I. Rodriguez, R. M. Eppley and J. K. Lee. Lack of transforming
6 activity of fumonisin B1 in BALB/3T3 A31-1-1 mouse embryo cells. Food Chem
7 Toxicol. 1996; 34: 751-753 #200
- 8 15 A. Sakai, C. Suzuki, Y. Masui, A. Kuramashi, K. Takatori and N. Tanaka. The
9 activities of mycotoxins derived from *Fusarium* and related substances in a
10 short-term transformation assay using v-Ha-ras-transfected BALB/3T3 cells
11 (Bhas 42 cells). Mutat Res. 2007; 630: 103-111 #184
- 12 16 A. M. Domijan, D. Zeljezic, M. Milic and M. Peraica. Fumonisin B1: oxidative
13 status and DNA damage in rats. Toxicology. 2007; 232: 163-169 #222
- 14