

氏 名 (本籍)	五十畑 悦 子 (神奈川県)
学 位	博 士 (学術)
学 位 記 番 号	博乙第3号
学位授与年月日	平成5年3月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
論 文 題 目	MYCOTOXIN類の高感度分析法の確立とその食品および 体内動態解析への応用に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 谷 村 顕 雄 教授 小 崎 道 雄 教授 鈴 江 緑衣郎 教授 平 井 聖 静岡県立大学教授 木 苗 直 秀

論文内容の要旨

わが国の気候風土は「かび」の生育に適しており、日常食品が「かび」に汚染される機会は極めて多い。現在までに単離同定されている mycotoxin (かび毒) の数は200種以上にもおよび、それらの中には発癌性を有するものもあり、国内における検出頻度から食品衛生上危惧されているものもある。人および家畜が食品を通じて連続的に摂取する可能性のある mycotoxin の安全性は食品衛生上重視されている。また人の健康に対する mycotoxin の存在は食中毒の原因物質としてばかりでなく発癌性を含めた慢性毒性にある。

mycotoxinによる慢性毒性を未然に防止し食品衛生の向上に資するところを目的として高感度分析法を検討し、本法を食品と生体試料分析へ応用してmycotoxin汚染の実態調査、食品の精製工程および加熱調理による挙動の究明と更に実験動物における体内動態の解析並びに毒性発現機構に関する研究を纏めた。

1.高感度分析法の確立：aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂, ochratoxin A, penicillic acid, citrinin, patulin, zearalenone, sterigmatocystin, sterigmatocystin 関連化合物, Iuteoskyrin, rugulosin, T2 toxin, deoxynivalenol, nivalenol, fusarenone Xについて高性能薄層クロマトグラフィー (FI), ガスクロマトグラフィー (FID, ECD), 高速液体クロマトグラフィー (FI, UV, VM, Photo Diode Array Detector), エンザイムイムノアッセイ (Well, Afinity Column, Card型), エンザイムイムノアッセイ (Afinity Column型) と液体クロマトグラフィーの組合せによる微量分析方法を検討し、食品および生体試料中からのmycotoxinを個々或は複数同時分析を可能にした。

2.食品分析への応用：1) 市販食用油の aflatoxin B₁汚染の実態調査 2) aflatoxin B₁の食用油精製工程における追跡調査 3) 輸入食品のaflatoxin B₁汚染の実態調査 4) 穀類、乳幼児食品と菓子類の deoxynivalenol と nivalenol 汚染の実態調査 5) 赤かび病被害小麦の deoxynivalenol と nivalenol汚染の実態調査 6) 赤かび病被害小麦の精麦と加熱調理に至るまでの deoxynivalenol と nivalenolの追跡調査 7) 各種温度による加熱調理工程における deoxy nivalenol の追跡調査等、食品の衛生行政関連

の諸問題解決へ活用した。

3.毒性試験：強力な発癌性のあることで恐れられている aflatoxin B₁と類似の化学構造で、しかも国内における生産菌の分布が広範囲であり、食品衛生上重要視されている sterigmatocystin (ST) の毒性を極少量の試料で短期間に毒性が確認できる下記に示す in vivo と in vitro の2種類の毒性試験方法を検討しそれらの方法により ST の強い毒性を確かめた。

1) **medakaによる試験：**medakaへの投与を弱毒性が報告されている哺乳動物への外投から経口投与による毒性試験法を検討した。本法は medaka への毒性が短期間に顕著にみられ、3週頃に核の不同性、4週頃に繊維の増殖傾向、好塩基性の肝細胞の増殖巣、10～18週にかけて結節形成、その後肝細胞腺腫、索状肝細胞等人の癌化過程に似た毒性がみられ、投与10週頃、腹部の腫大が肉眼でも明らかに確認できた。

2) **変異原性試験：**ratおよびmouse (activated S9) による、STの変異原性は何れも base change 型を示し、rat, rainbow trout, medaka (non activated S9) による変異原性は ST濃度が 300ng/plate の medakaのS9による変異原性が最も高く、またST関連化合物類の変異原性試験結果はこれらの化合物の毒性発現は化学構造に支配され分子構造と作用基が重要な因子であることを明らかにした。それらはビスフラン環の二重結合の存在、ビスフラン環に隣接するキサントン環或はアントラキノン環のメチル基の存在およびメチル基の数、ビスフラン環に隣接する構造の違いに関連した傾向の変異原性を示した。

またST-hemiacetalの毒性は1)・2) 何れの試験も発癌性および変異原性を示さない。

4.体内動態の解析：高感度分析法の生体試料分析への応用にST 2ppbを添加した rat の肝臓と腎臓ホモジネートを分析し平均80%のSTを回収した。本法を駆使して行ったSTを経口投与したrat, mouseとmedakaとまたSTを直接小腸へ投与した rat の体内分布と吸収は①STは rat の消化管における排泄は緩慢で一方 mouse は速やかな排泄がみられSTの毒性がmouseでは鈍いとされる報告を裏付けていた。②ratと mouse の腸管に認められたST-変化体は¹H-NMRと¹³C-NMRによりST-hemiacetalであることを確認した。③強制経口投与 rat の胆汁への排泄はSTの吸収部位が腸管末端であることを示唆した。④小腸における吸収は胆汁共存以外は難吸収性である。⑤ ST-hemiacetalは胃液で生成し胆汁、腸液では生成しない。⑥ medakaへの投与では、臓器、飼育水および排泄物にST-hemiacetalは検出されない。medakaは無胃の魚類に属しST-hemiacetalの生成に胃液の関与が示された。これらからSTの毒性についての動物種差にST-hemiacetalの存在が重要と考えられる。本研究により確立したmycotoxinの高感度分析法を用い食品衛生における諸問題を解明し、また実験動物における体内動態を解析した。