

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巣状病変(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、及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 µg/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 µg/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 µg/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 µg/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 µg/ラット(8週間)		70 µg/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 µg/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 µg/ラットのAFB1を週5回8週間腹腔内投与(総投与量:1,300 µg/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 µg/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 µg/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）

⑪ 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）

⑫ 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）

⑬ 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

⑭ 82週間発がん性試験（マウス、腹腔内投与）

(C57BL×C3H)F₁ 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）

⑮ 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を単回または隔日で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）

⑯ 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）

⑰ 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）

⑱ 172週間発がん性試験（ツバイ、混餌投与）

ツバイ（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。TD₅₀² 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、

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 ₅₀ (µg/kg 体重/日)
	µg/kg 飼料	µg/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 ₅₀ =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 ₅₀ =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	0	104 週	0/50	TD ₅₀ =4.19
		4	104 週	24/50	
Fischer ラット (雄)	0	0	104 週	0/16	TD ₅₀ =1.13
		0.8	104 週	5/13	
Fischer ラット (雌)	0	0	104 週	0/15	TD ₅₀ =9.93
		1	104 週	1/15	
Fischer ラット (雄)	0	0	104 週	0/18	TD ₅₀ =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	
Fischer ラット (雌)	0	0	104 週	1/144	TD ₅₀ =49.9
	0.2	0.2	104 週	0/23	
	0.6	0.6	104 週	0/24	
	1.8	1.8	104 週	1/23	
Fischer ラット (雌)	0	0	104 週	0/144	TD ₅₀ =50.7
	0.25	0.25	104 週	0/24	
	0.75	0.75	104 週	0/24	
	2.25	2.25	104 週	1/24	

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)

(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³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

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)

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。

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 AFG1 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[®]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[®]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、ピオカニン A、ルチン）、アリキシン及び *p*-アセチルゲンイ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 陽性肝細胞癌の発生について検討された。

肝細胞癌 (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、肝細胞癌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、肝細胞癌発生の指標 (細胞癌の数、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 ($r = 0.90-1.00$)。腫瘍及び肝細胞癌は、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 F₂ 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・ピ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、AFB1 の外因性 DNA への結合、肝の GST、CYP2B1 及び 1A1 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 AFB1 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 AFB1 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 CYP1A1 及び 2B1 活性が増加し、AFB1 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 µg/kg 体重の AFB1 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 µg/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癌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と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。

台湾のポンプ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、 α -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 AFM1 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 (B₁、B₂、M₁、M₂、G₁、G₂) 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-カルピノール、アリキシンが、*in vivo* 試験では、プチルヒドロキシトルエン、プ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 のコドン 249 の第 3 ス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、コドン 249 での変異ではなかった。

HBV と p53 遺伝子のコドン 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変化

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