

総 説

アフラトキシンの魚類による吸収, 代謝, 毒性について

野村浩貴・山田 久

Absorption, metabolisms and toxicity of aflatoxins in fish species - A review

Hiroataka Nomura^{*1 §} and Hisashi Yamada^{*1, *2}

要約: 自然毒であるアフラトキシンの魚類による吸収, 代謝, 毒性についての知見を整理した。アメリカナマズ科の一種の*Ictalurus punctatus*に経口投与されたアフラトキシンB1は血清中に急速に取り込まれ, 投与後4時間で各組織・器官中の濃度は最も高くなり, その後低下した。ピーク時の濃度は, 胆汁, 血清, 肝臓, 体腎, 脾臓, 頭腎, 皮膚, 腹腔内脂肪, 筋肉の順に高かった。水に溶解しやすいアフラトキシンB1は速やかに魚体に吸収されるが, 速やかに代謝・排泄されるために, 魚体内の残留濃度は低いことが推察された。アフラトキシンB1は, 魚類肝臓の代謝作用によりアフラトキシコールへ代謝され, アフラトキシコールまたはそのグルクロン酸抱合体として胆汁や尿中に排泄される。アフラトキシンをニジマスに投与した結果, 急性毒性は経口投与より腹腔内投与の方が約7.5倍以上強かった。また, ニジマスに対するアフラトキシンの急性毒性値は調べた魚類の中では最も低く, ニジマスは感受性の高い魚類であった。アフラトキシン類を含有する飼料を長期にわたって投与した試験では, 低濃度で肝臓がんを引き起こし, アフラトキシンの発がんポテンシャルは, アフラトキシンB1>アフラトキシンM1>アフラトキシコールの順であった。魚種間でアフラトキシンの肝細胞がん発症に対する感受性を比較すると, ニジマス>カワマス>ベニザケ>>グッピーの順であり, サケ科魚類の感受性が高い傾向であった。

キーワード: アフラトキシン類, 魚類, 吸収, 代謝, 毒性

Key words: aflatoxins, fish, absorption, metabolisms, toxicity

アフラトキシン類は, *Aspergillus flavus*等のアスペルギルス属のカビにより生成される自然毒であり, 毒性の強い物質である。穀類, 種子類等の各種の試料から代謝生成物も含めると13種類のアフラトキシンが検出されている。これらのうち, 化学構造式が第1図に示されているアフラトキシンB1, アフラトキシンB2, アフラトキシンG1及びアフラトキシンG2が代表的なアフラトキシンである。アフラトキシン類は, 光を照射すると蛍光を発するが, 青色 (blue) の蛍光を発するB1及びB2, 並びに緑色 (green) の蛍光を発するG1及び

G2に大別され, その毒性および発がん性はB1が最も強いと言われている (食品安全委員会, 2008)。

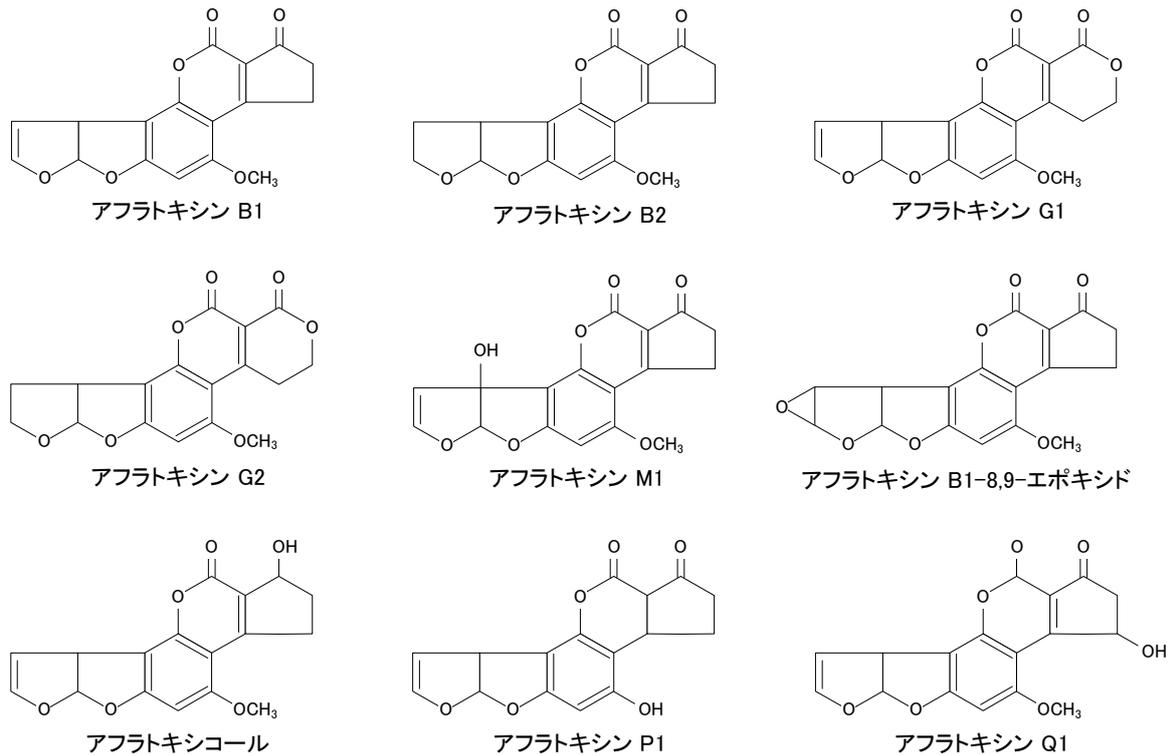
アフラトキシン類は, アスペルギルス属のカビが繁殖した穀類, 種子類等に形成されるが, アフラトキシン類を含有する穀類が養魚用飼料に混入することを通して, 飼料中アフラトキシン類が魚類に移行, 残留することが危惧されている。そこで, 養殖魚の安全性を評価するための基盤的な情報を収集するために, ①経口的に投与したアフラトキシン類の魚体内分布と消長, ②魚類による代謝・排泄, ③魚類に対する急性毒性及び④発がん

(2010年8月20日受付, 2010年12月3日受理)

*1 財団法人海洋生物環境研究所 事務局 (〒162-0801 東京都新宿区山吹町347 藤和江戸川橋ビル7階)

§ nomura@kaiseiken.or.jp

*2 現住所 独立行政法人水産総合研究センターフェロー (〒189-0021 東京都東村山市諏訪町2-19-12)



第 1 図 アフラトキシシン類の化学構造式

性等長期毒性について，公表された論文に基づき知見を整理した。

なお，本稿では下記の略記号を用いた。

AFB1：アフラトキシシンB1

[¹⁴C]AFB1：¹⁴Cで標識されたアフラトキシシンB1

[³H]AFB1：トリチウム (³H) で標識したアフラトキシシンB1

AFB2：アフラトキシシンB2

AFG1：アフラトキシシンG1

AFG2：アフラトキシシンG2

AFQ1：アフラトキシシンQ1

AFH1：アフラトキシシンH1

AFP1：アフラトキシシンP1

AFM1：アフラトキシシンM1

AFL：アフラトキシコール

AFLM1：アフラトキシコールM1

AFL-g：アフラトキシコール-グルクロン酸抱合体

AFM1-g：アフラトキシシンM1-グルクロン酸抱合体

AFLM1-g：アフラトキシコールM1-グルクロン酸抱合体

1. 経口投与されたアフラトキシシン類の魚体内への移行及び分布・消長

文献調査した範囲では，魚類へAFB1を経口投与した研究は，Plakas *et al.* (1991)の研究以外には見当たらなかった。Plakas *et al.* (1991)は，¹⁴Cで標識したアフラトキシシンB1 ([¹⁴C]AFB1)をエタノールと分散剤の一種であるEmulphorの混液に溶解し，さらに，0.85%塩化ナトリウム溶液に分散させた。 [¹⁴C]AFB1を分散させた混液のエタノール：Emulphor：0.85% NaCl溶液の比は3：4：3（容量比）であった。このようにして調製した [¹⁴C]AFB1溶液を，投与量が250 μg/kg魚体重量になるようにゼラチン製カプセルに封入し，アメリカナマズ科の一種 *Ictalurus punctatus* に強制的に経口投与した。投与後，血清，胆汁，肝臓，体腎，脾臓，頭腎，皮膚，腹腔内脂肪及び筋肉中のAFB1及びその代謝生成物濃度を96時間後まで測定し，AFB1の魚体への移行，体内分布を把握した。さらに，飼育水中のAFB1及びその代謝生成物濃度も定期的に測定し，魚体からの排泄も調べた。

経口投与されたAFB1は血清中に急速に取り込まれた。血清中濃度を薬物動力学モデルで解析すると，血清中の最高濃度は投与後4.1時間後に認められ，その濃度は503ppbであった。その後，濃度は急速に低下し，排泄に係る半減期 ($t_{1/2}$) は3.7時間であった。また，血清中に存在するAFB1の大

第1表 ^{14}C で標識したアフラトキシンB1を経口投与した*Ictalurus punctatus*の組織及び体液中濃度 (Plakas *et al.*, 1991)

組織・体液	AFB1 残留濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ (L))				
	2時間 ^{*1}	4時間	24時間	48時間	96時間
胆汁	149±65 ^{*2}	640±147	2,019±670	1,562±416	1,445±332
血清	320±39	596±75	32±9	11±2	6±1
肝臓	246±87	421±59	53±5	37±4	44±17
体腎	213±75	287±60	30±3	20±4	15±3
脾臓	106±66	234±14	16±6	<5	<5
頭腎	134±47	220±41	13±1	8±1	<5
表皮	46±16	82±6	9±1	5±1	<5
脂肪組織	38±10	58±6	7±2	<5	<5
筋肉	19±3	40±7	<5	<5	<5
合計 ^{*3}	1,271	2,578	2,179	1,643	1,510

*1: 経口投与後の経過時間。

*2: 平均±標準偏差。

*3: 組織・体液中濃度の合計。

AFB1: アフラトキシンB1。

部分 (93%) が親化合物 (AFB1) の形態で存在していた。すなわち，経口投与されたAFB1は，消化管から血液を経由して急速に魚体内に取り込まれていた。

各組織・器官中の濃度は，第1表に示すように胆汁を除き投与後4時間で最も高く，各組織・器官の濃度の合計値は2,578 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (L) であり，投与量の20.8%が残留すると試算された。AFB1濃度は，胆汁，血清，肝臓，体腎，脾臓，頭腎，皮膚，腹腔内脂肪，筋肉の順番で高かった。単位重量あたりのAFB1濃度は，筋肉において，最も低かったが，組織量が比較的大きいため，魚体内に残留したAFB1とその代謝生成物の37%は筋肉に存在していた。投与後4時間以降には，胆汁を除く組織・器官中のAFB1とその代謝生成物濃度は急速に低下し，筋肉では24時間後に，脾臓及び脂肪組織では48時間後に，また，頭腎及び表皮では96時間後には検出されなかった。一方，胆汁中濃度は，24時間後に最大値 (2,019 $\mu\text{g}/\text{L}$) を示し，その濃度の低下速度は遅く，96時間後でも1,445 $\mu\text{g}/\text{L}$ であり，AFB1が胆汁に比較的長時間残留していた。魚体内に取り込まれたAFB1は「2. 魚類によるアフラトキシン類の代謝」の項で詳しく述べるが，AFB1の形で，また，肝臓の混合機能オキシダーゼ (MFO: mixed function oxidase) 系の作用により酸化 (薬物代謝の第1相反応) された形で，さらにグルクロン酸等と抱合体に変換 (薬物代謝の第2相反応) された形で，胆汁等を通して排泄さ

れると考えられている (Plakas *et al.*, 1991)。したがって，魚体内に取り込まれたAFB1は，代謝された後に最終的には胆汁へ移行するために，胆汁中濃度の低下が他の組織・器官中濃度の低下に遅れることは，AFB1の代謝過程を反映しているものと考えられる。

以上の結果から，AFB1は速やかに魚体内に取り込まれた後に，速やかに代謝・排泄されていた。AFB1の水溶解度は1 g/Lと報告されている (食品安全委員会, 2008)。また，構造式中の官能基を指標とするモデル (KOWWIN, ver. 1.66, Syracuse Research Corporation, Environmental Science Center, North Syracuse, NY, USA) を用いて，財団法人化学物質評価研究機構の協力により計算したn-オクタノール/水分配係数 (log Kow) は1.23であった。すなわち，AFB1は比較的水溶性の高い物質であり，AFB1は速やかに吸収・排泄され，魚体内には高濃度で残留しないことが，物理化学的性状からも推察される。

Plakas *et al.* (1991) の研究におけるAFB1の投与量は，*I. punctatus*が1日に魚体重の3%の飼料を摂取すると仮定すると，8 mg AFB1/kgの濃度の飼料を投与したと試算される。Plakas *et al.* (1991) の研究は，相当高濃度の飼料を一回投与した試験であるため，低濃度のAFB1を飼料から継続的に経口投与した時の魚体内分布及び濃度の経時的変化について，さらに詳細に検討することが必要であると考えられる。

DNA-アフラトキシン類付加体形成の阻害剤であるChlorophyllin (CHL) をAFB2とともにニジマス*Oncorhynchus mykiss*に経口投与した試験 (Hayashi *et al.*, 1999) では，肝臓や胆汁中のAFB2濃度が対照ニジマスの80~90%に低下した。AFB2とCHLが結合し，分子量が大きくなるために，消化管からの吸収が抑制され，肝臓や胆汁等における濃度が低下するためと考えられた。すなわち，CHLはAFB2の体内濃度の上昇を抑制するために，発がんの阻害に効果的であるとしている。

2. 魚類によるアフラトキシン類の代謝

アフラトキシン類は，第2図に示すように肝臓の混合機能オキシダーゼ (MFO) 系により構造式中の種々の場所が水酸化され (薬物代謝の第1相反応)，種々の代謝生成物に変換される。さらに，グルクロン酸やグルタチオンと抱合体を形成し (薬物代謝の第2相反応)，水溶性を増して糞や

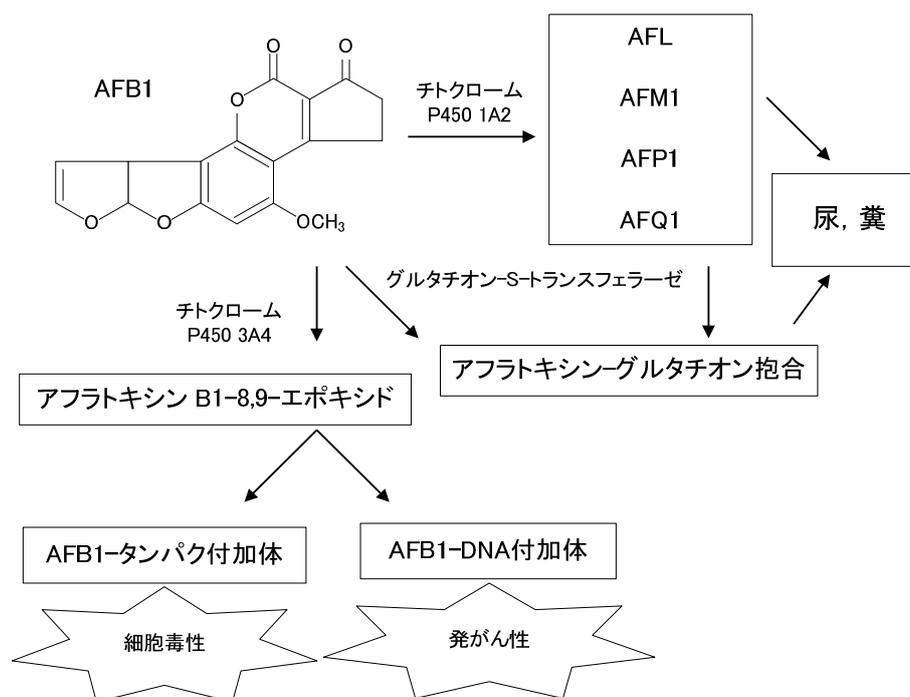
尿中に排泄される。代謝物としてAFQ1, AFH1, AFP1, AFM1及びAFLが各種の動物の試料から検出されると報告されている (Loveland *et al.*, 1983)。特に、AFP1及びそのグルクロン酸抱合体がサル尿 (Dalezios *et al.*, 1971) 及び胆汁 (Dalezios *et al.*, 1973) 中に検出され、サルはAFB1をAFP1へ代謝することが報告されている。また、AFB1のグルタチオン抱合体がラット及びマウスの肝臓標品を用いた*in vitro*試験で生成されることが確認され (Degen and Neumann, 1978)、AFB1は水酸化を受けることなく、直接抱合体を形成して排泄されることも明らかにされた。また、AFB1を速やかに代謝・排泄することができる生物 (活発な代謝能力を有する生物) は、AFB1に対して抵抗性が強い (感受性が低い) と報告されている (Degen and Neumann, 1981)。したがって、代謝能力はアフラトキシン類の毒性や発がん性を検討する際に重要な情報であると考えられる。

魚類については、ニジマス (Loveland *et al.*, 1984)、メダカ *Oryzias latipes* (Toledo *et al.*, 1987) 及びゼブラフィッシュ *Danio rerio* (Troxel *et al.*, 1997) における代謝が研究され、その概要は第2表のように要約される。

Loveland *et al.* (1984) は、トリチウムで標

識したアフラトキシンB1 ($[^3\text{H}]\text{AFB1}$) をニジマスの腹腔内に投与した後に胆汁中の代謝生成物をHPLC (高速液体クロマトグラフ) で分析し、AFB1の代謝を*in vivo*で研究した。腹腔内に投与した $[^3\text{H}]\text{AFB1}$ の3~12.2%が投与24時間後には胆汁中に回収された。すなわち、腹腔内に投与したAFB1が速やかに魚体に移行し、また、速やかに代謝・排泄されることが示唆された。AFB1のニジマス肝臓における主要代謝生成物はAFLグルクロン酸抱合体であった。すなわち、AFB1がAFLに水酸化され、さらに、グルクロン酸と抱合体を形成した後に排泄される代謝経路が存在することが明らかにされた。

Toledo *et al.* (1987) は、腹腔内に $[^3\text{H}]\text{AFB1}$ を投与したメダカを小さなビーカー中で飼育し、飼育水中の放射能を経時的に測定するとともに、飼育水中に検出される代謝生成物をHPLCで分析・検索することにより、メダカにおけるAFB1の代謝を*in vivo*で研究した。腹腔内にAFB1を投与した30分後には飼育水中にAFB1及びAFLが検出され、投与の24時間以内に投与量の約50%が飼育水中に排泄された。すなわち、比較的水溶性の高いAFB1においては、魚体に取り込まれたAFB1が代謝されずに排泄される可能性が高いこと、また、AFB1は



第2図 アフラトキシンB1の代謝経路 (小西, 2008)

AFB1: アフラトキシンB1, AFL: アフラトキシコール, AFM1: アフラトキシンM1, AFP1: アフラトキシンP1, AFQ1: アフラトキシンQ1.

第2表 アフラトキシンB1の魚類による代謝のまとめ

試験魚	大きさ 雌雄	試験方法	試験結果	文献
ニジマス		<ul style="list-style-type: none"> ・$[^3\text{H}]$AFB1(10-13$\mu\text{g}/0.2\text{mL}$)を腹腔内に注射する <i>in vivo</i>試験。 ・胆汁中の代謝生成物をHPLC等で分析。 	①腹腔内に投与した $[^3\text{H}]$ AFB1の胆汁中への24時間後の回収は， βNF を投与しない対照ニジマスで3～12.2%， βNF 投与ニジマスで26.8～50%であり， βNF がAFB1の代謝・排泄を促進。 ②AFB1のニジマス肝臓における主要代謝生成物は，対照ニジマスでAFL-g， βNF 投与ニジマスでAFLM1-g。	Loveland <i>et al.</i> (1984)
メダカ	4～5g 雌魚	<ul style="list-style-type: none"> ・50%エタノールに溶解した$[^3\text{H}]$AFB1を550$\mu\text{g}/\text{kg}$体重で注射し腹腔内に投与。 ・注射後，魚体を洗浄し，注射による汚染を除去。 ・30mLの水道水中で飼育し，飼育水中の放射能を経時的に測定。 ・飼育水中のAFB1及びその代謝物質をHPLCで分析。 	①投与24時間以内に投与量の約50%が排泄。 ②投与後0.5hで，代謝されていないAFB1及びAFLが排泄。 ③24時間後にはAFB1及びAFLの他に，AFM1及びAFLM1のピーク検出（両者の分離は良くない）。 ④AFL-g及びAFLM1-gが少量検出されたが，主要な代謝生成物はAFL。	Toledo <i>et al.</i> (1987)
ゼブラフィッシュ	雌魚	<ul style="list-style-type: none"> ・50%エタノールに溶解した$[^3\text{H}]$AFB1を400$\mu\text{g}/\text{kg}$体重で注射し腹腔内に投与。 ・注射後，魚体を洗浄し，注射による汚染を除去。 ・50mLの水道水中で飼育し，飼育水中の放射能を24時間経時的に測定。 ・飼育水中のAFB1及びその代謝物質をHPLCで分析。 	①投与24時間後投与量の47%が排泄された。 ②主要な代謝生成物はAFL，AFL-g及び代謝されていないAFB1。 ③投与後5分でAFLが検出。 ④投与後12時間では，主要代謝生成物はAFL(60～80%) ⑤18時間後には，AFL-gが代謝生成物の主成分であり，24時間後には80%。	Troxel <i>et al.</i> (1997)

$[^3\text{H}]$ AFB1：トリチウムで標識したアフラトキシンB1， βNF : β -ナフトフラボン，AFB1：アフラトキシンB1，AFL-g：アフラトキシコールグルクロン酸抱合体，AFLM1-g：アフラトキシコールM1グルクロン酸抱合体，AFL：アフラトキシコール，AFM1：アフラトキシンM1，AFLM1：アフラトキシコールM1，AFM1-g：アフラトキシンM1グルクロン酸抱合体。

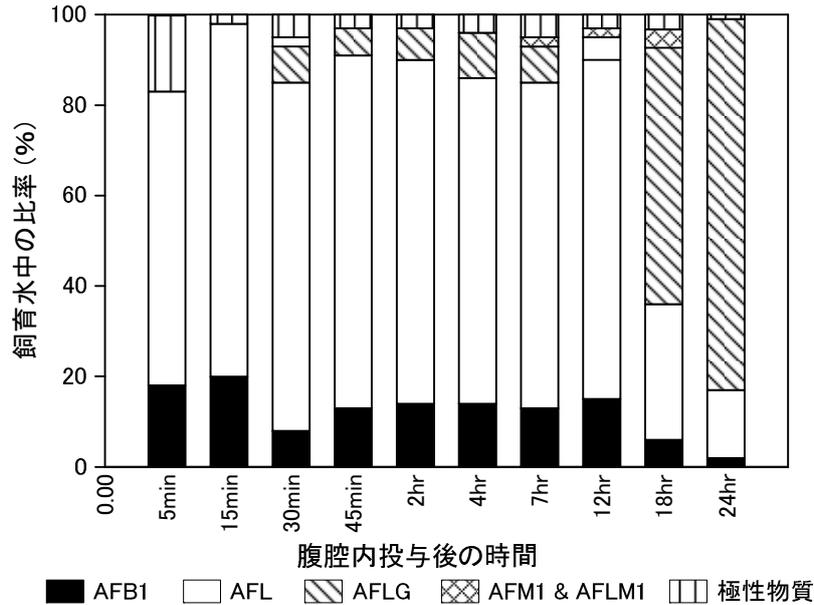
まずAFLに代謝されることが明らかになった。また，HPLC分析によりAFM1及びAFLM1が検出された。AFM1，AFLM1及びそれらのグルクロン酸抱合体であるAFM1-g，AFLM1-g，並びにAFL-gも検出されるが，これらの化合物の濃度はAFLよりは低いために，メダカはAFB1を主としてAFLに代謝し，排泄することが明らかにされた。

Troxel *et al.* (1997) もゼブラフィッシュを用いて同様な研究を行い，メダカと同様にゼブラフィッシュもAFB1を速やかに代謝・排泄することができ，投与24時間後には投与量の47%を排泄することを明らかにした。主要な代謝生成物はAFL，AFL-gであり，また投与したAFB1が代謝されることなくそのままの形で排泄されることが確認された。第3図に示すように，投与12時間後では，AFLが代謝生成物の中で60～80%を占め，主成分となっているが，一方，18時間後には，AFL-gが代謝生成物の主成分であり，24時間後では80%を占

めることが明らかになった。すなわち，時間の経過とともに抱合体へと変換され，排泄されると考えられる。このことは，Plakas *et al.* (1991)の研究において，時間の経過とともに魚体内分布における胆汁の占める割合が大きくなる結果とも一致する。

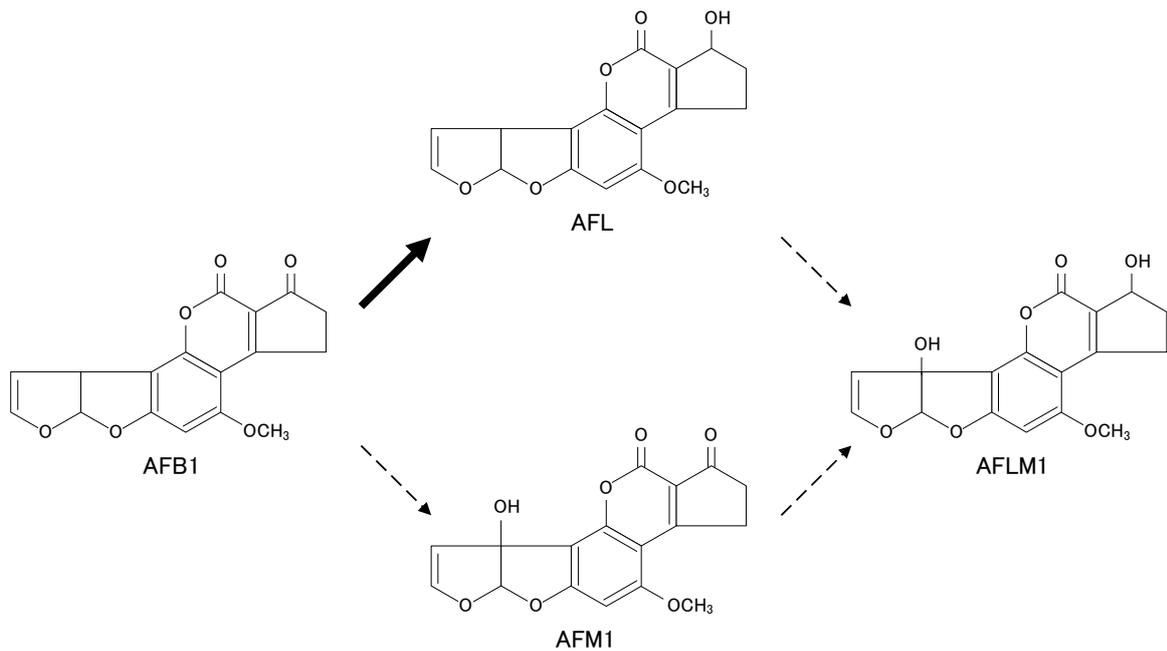
以上の研究を集約するとAFB1の主要代謝経路は第4図のようにまとめることができる。AFB1の水酸化は，シクロペンタノン部分のケト基の水酸化がビスフラン部分の水酸化に優先して起こり，AFB1からAFLへの変換が魚類における主要な代謝経路であることが明らかである。

肝臓試料は第5図に示すように，細胞分画法によりミトコンドリア除去画分，ミクロゾーム除去上清およびミクロゾーム画分等に分画される。後藤ら(2007)は，ニジマス等数種の魚種について，AFB1をAFLに変換するAFB1還元酵素およびAFLをAFB1に変換するAFL脱水素酵素の活性を調べた。



第3図 アフラトキシニンB1投与ゼブラフィッシュの飼育水に排泄される代謝物質の割合の経時的変化 (Troxelet al.,1991)

AFB1：アフラトキシニンB1, AFL：アフラトキシニコール, AFLG：アフラトキシニコールグルクロナイド AFM1：アフラトキシニンM1, AFLM1：アフラトキシニコールM1, 極性物質：未同定抱合体等



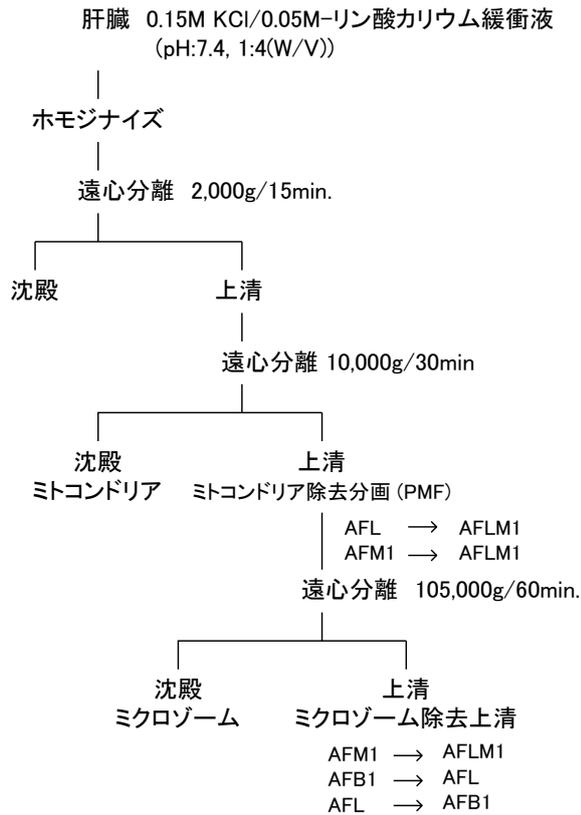
第4図 ニジマス肝臓におけるアフラトキシニンB1の代謝経路

太線矢印：主要代謝経路，破線矢印：副代謝経路，AFB1：アフラトキシニンB1, AFL：アフラトキシニコール, AFM1：アフラトキシニンM1, AFLM1：アフラトキシニコールM1

両酵素の活性は，肝臓のサイトゾル画分（マイクロゾーム画分を除いた上清）に認められた。AFL還元酵素活性を魚類（ニジマス及びマアジ）とラットで比較すると，両者の活性に著しい差は認められなかった。しかし，AFB1脱水素酵素活性はニジマスでは0.3ng/mg 蛋白と高かったが，一方，マアジ *Trachurus japonicus*ではニジマスの約1/6，

ラットではほとんど認められない，というように生物種による差が大きかった。すなわち，AFB1の代謝は生物種によって相当異なることが示唆された。

上述したように，AFB1は魚類肝臓の混合機能オキシダーゼ (MFO) の作用により代謝される。Goeger *et al.* (1986), Shelton *et al.* (1986)



第5図 魚類肝臓の分画方法とアフラトキシン類代謝に
関与する酵素

AFL:アフラトキシコール, AFLM1:アフラトキシコ
ールM1, AFM1:アフラトキシンM1, AFB1:アフラトキ
シンB1.

及びLoveland *et al.* (1983, 1984) は、それぞ
れ、MFOの誘導剤であるindole-3-carbinol (I3C,
アブラナ科野菜の成分), Aroclor 1254 (PCBs)
及びβ-naphthoflavone (BNF) のAFB1代謝に及ぼ
す影響を調べた。これらの研究では、MFO誘導剤
を事前に投与した後に³H]AFB1をニジマスの腹腔
内に投与する*in vivo* 試験 (Goerger *et al.*
1986, Shelton *et al.* 1986及びLoveland *et al.*
1983) 及びニジマスの肝臓画分を用いる*in vitro*
試験 (Loveland *et al.* 1984) により、MFO誘導
剤による代謝の変化の解明を通して、魚類による
AFB1の代謝の詳細を明らかにした。これらの研究
の概要を第3表に集約した。

腹腔内に投与した³H]AFB1の胆汁中への回収率
は、対照のニジマスで3~12.2%であるのに対し、
BNFを投与したニジマスでは26.8~50%に増大し、
BNFによりMFO活性が亢進され、AFB1の代謝が促進
されていることが明らかであった。同様なAFB1の
代謝の促進はI3C及びPCBsの投与においても認め
られた。MFO誘導剤を投与したニジマスでは対照

のニジマスには検出されなかった代謝生成物
(AFM1, AFLM1及びAFLM1-g) が検出された。こ
のことから、第4図に示したAFB1代謝において破
線で示している経路、すなわちAFB1からAFM1,
AFM1からAFLM1及びAFLからAFLM1を生成する過程
が亢進されていることが考えられる。ニジマスに
は、本来上記の代謝経路は存在するが、その活性
は低いために、AFM1及びAFLM1が検出されないと
考えられる。Loveland *et al.* (1983) は、第5
図に示すようにニジマス肝臓を分画し、AFLM1の
生成を調べた。彼等は、AFLからAFLM1への変換に
関与する酵素がミトコンドリア除去画分 (PMF) に、
また、AFM1からAFLM1への変換に関与する酵素が
PMF及びマイクロゾーム除去上清 (サイトゾール)
の両画分に、存在することを明らかにした。

Lee *et al.* (2001) は、77種類の天然物化合物
のAFB1の代謝(特にAFB1-8, 9-エポキシドの生成)
に対する影響を調べた。アントラキノン、クマリ
ン、フラボノイド、フラボノイドガラニン、ラ
ムネチン及びフラボンがAFB1のAFB1-8, 9-エポキ
シドへの変換を阻害し、また、クルクミン、ウコ
ン及びデフルオイルメタンがAFB1のAFLへの変換
を阻害することを明らかにした。すなわち、食餌
として摂取する果物、野菜、スパイス中の物質が、
AFB1の代謝の変化(発がん性物質の生成の阻害や
毒性を有さない物質の生成促進)を通してAFB1の
毒性や発がん作用の低減に影響を及ぼすことを示
唆した。

3. アフラトキシン類の魚類に対する急性毒性

アフラトキシン類の魚類に対する急性毒性は
Halver (1965), Bauer *et al.* (1969) 及び
Jantrarotai *et al.* (1990) によって研究されて
いる。経口的に、あるいは腹腔内に1回投与(単
回投与)した後に10日間生残を観察した。その間
の試験魚の致死率から10d LD₅₀(10日間半数致死
投与量)値を求め、急性毒性を評価した。結果を
第4表に集約した。

Halver (1965) はアスペルギルス属のカビによ
り生成される毒素の粗抽出物をニジマスに経口的
に投与した。粗抽出物中のAFB1及びAFG1の含有率
を20%と仮定し、AFB1及びAFG1の混合物として10d
LD₅₀値を0.5~1.0mg/kg魚体重と推定したが、AFB1
及びAFG1をそれぞれ個別に測定していないために
正確さに欠けると考えられる。

Bauer *et al.* (1969) はニジマスに対する急性

第3表 混合機能オキシターゼ(MFO)誘導剤およびDNA付加体形成阻害剤等によるアフラトキシンB1代謝の変化

化学物質及び実験方法	結 果	文献
<p>I3C</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アブラナ科野菜の構成成分。 ・ニジマスにおいてAFB1による発ガンを阻害。 ・I3Cを0.2%含有する餌料を12週間経口投与した後に³H]AFB1腹腔内に注射より投与。 	<p>①AFB1を注射21日後，AFB1の肝臓DNAへ結合を対照ニジマスの70%に減少。</p> <p>②³H]AFB1注射24時間後では，血液及び肝臓における放射能が対照ニジマスに比較して低い。濃度が低下する原因は，(1)赤血球細胞DNAに結合するAFB1濃度が低下，(2)アフラトキニコール(AFL)の血清中濃度の低下，(3)肝臓中のAFB1と極性代謝物質濃度の低下。</p> <p>③胆汁中総アフラトキシン類濃度は対照ニジマスに比べてI3C投与ニジマスで高く，AFLM1-gの濃度は7倍。</p> <p>④I3C投与ニジマスでAFM1の生成が2倍増加。</p> <p>⑤PCBs投与ニジマスの血液及び肝臓では，極性の高い代謝生成物，AFM1及びAFM1-gの濃度が高い。</p>	<p>Goeger <i>et al.</i> (1986)</p>
<p>PCBs</p> <ul style="list-style-type: none"> ・PCBsはニジマスにおけるAFB1発がん阻害剤。 ・MFO誘導剤を餌料中に100ppmの濃度で添加し，経口投与。 ・ニジマスの大きさは，68±17g(対照区)及び65±12g(PCBs投与区)。 ・³H]AFB1腹腔内に注射し，胆汁中の代謝生成物をHPLC等で分析。 	<p>①PCBs投与ニジマスの胆汁中代謝生成物はAFLM1であり，対照ニジマスの15倍。</p> <p>②AFLM1-gは対照ニジマスの主要代謝生成物であり，PCBsにより濃度が変化しない。</p> <p>③AFB1の代謝速度は，PCBs投与ニジマスで有意に増大</p> <p>④PCBs投与ニジマスによるAFB1-DNA付加体形成は，形成がピークの時に対照ニジマスの48～69%に低下。</p>	<p>Shelton <i>et al.</i> (1986)</p>
<p>βNF</p> <ul style="list-style-type: none"> ・MFO誘導剤。 ・βNFの濃度が50ppm及び500ppmの餌料を4～6週間予備投与。 ・ニジマス肝臓画分を用いたAFB1代謝試験(<i>in vitro</i>)。 	<p>①500ppmのβNF投与区で対照区よりAFL生成量が低下。</p> <p>②AFM1の生成は，投与したβNF量に依存して増加し，500ppmβNF投与区では48.99ng/mg protein。</p> <p>③ミトコンドリアを除去した画分を用いた<i>in vitro</i>試験でAFLM1を少量であるが検出。</p> <p>④AFLM1の変異原性活性は，AFB1の4.1%，AFLの6.1%であり，AFLM1の発ガン性はかなり弱い。</p>	<p>Loveland <i>et al.</i> (1983)</p>
<p>βNF</p> <ul style="list-style-type: none"> ・500ppmのβNFを含有する餌料を4～6週間投与した後に，³H]AFB1(10-13μg /0.2mL)を腹腔内に注射(<i>in vivo</i>)。 ・胆汁中の代謝生成物をHPLC等で分析した。 	<p>①腹腔内に投与した³H]AFB1の胆汁中への24時間後の回収は，βNFを投与しない対照ニジマスで3～12.2%，βNF投与ニジマスで26.8～50%であり，βNFがAFB1の代謝・排泄を促進。</p> <p>②AFB1のニジマス肝臓における主要代謝生成物は，対照ニジマスでAFL-g，βNF投与ニジマスでAFLM1-g。</p>	<p>Loveland <i>et al.</i> (1984)</p>
<p>CHL</p> <ul style="list-style-type: none"> ・AFB1-DNA付加体形成阻害剤 ・AFB2(0.906μM)とCHLを同時にニジマスに経口投与し，AFB2の分布及び濃度測定。 ・Chlorophyllin濃度は，0，13.9及び139mM。 	<p>①経口的に強制投与されたAFB2は，胃から血液，肝臓に移行し，最終的には胆嚢に蓄積。</p> <p>②13.9mM以上のCHLとAFB2を共に経口投与すると，投与3時間後には肝臓及び胆汁中のAFB2濃度は対照ニジマスの80～90%に低下。</p> <p>③AFB2とCHLを共に経口投与することは，胃からのAFB2の吸収を遅らせ，標的器官における利用能を低下させて発ガン性を阻害。</p>	<p>Hayashi <i>et al.</i> (1999)</p>
<p>77種類の天然物化合物</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アントラキノン，クマリン，フラボノイド，フラボノイドガラニン，ラムネチン，フラボン ・イソフラボン，カテキン，テルペン，アルカロイド，キノン ・クルクミン，ウコン，デフルオイルメタン 	<p>①AFB1のAFB1-8,9-エポキシドへの変換を阻害する物質がある。</p> <p>②AFB1のAFB1-8,9-エポキシドへの変換を阻害しない物質がある。</p> <p>③AFB1のAFLへの変換を阻害する物質がある。</p> <p>④ある種の果物，野菜及びスパイス中の食餌を通して摂取する物質が，発ガン性を有する物質への代謝的変換を阻害，あるいは，毒性を有さない物質への変換を促進する可能性を示唆。</p>	<p>Lee <i>et al.</i> (2001)</p>

I3C : Indole-3-carbinol, AFB1 : アフラトキシンB1, ³H]AFB1 : トリチウムで標識したアフラトキシンB1, PCBs : アルクロール1254, βNF : β-ナフトフラボン, CHL : クロロフィリン, AFL : アフラトキニコール, AFM1 : アフラトキシンM1, AFLM1 : アフラトキニコールM1, AFLM1-g : アフラトキニコールM1グルクロン酸抱合体, AFL-g : アフラトキニコールグルクロン酸抱合体, AFM1-g : アフラトキシンM1グルクロン酸抱合体, AFB2 : アフラトキシンB2.

毒性のAFB1とAFG1による違い，投与方法による急性毒性の違いを検討した。AFB1及びAFG1をニジマス腹腔内に注射で投与した実験では，10d LD₅₀値は，それぞれ，0.81mg/kg魚体重及び1.9mg/kg魚体重であり，急性毒性はAFG1よりAFB1で2.34倍強かった。一方，AFB1をニジマスに経口投与した時，最大投与量でも致死率は50%未満であり，10d LD₅₀値は6.0mg/kg超であると推定された。すなわち，急性毒性は経口投与より腹腔内投与の方が約7.5倍以上強いことが明らかにされた。この理由として，①経口的に投与されたアフラトキシンは，魚体への移行・吸収が困難であり，魚体内濃度が低いこと，及び②胃酸によりAFB1が無毒化される可能性があることが考えられるが，その詳細は明らかでなく，今後の研究が必要であると指摘している。*I. punctatus*に対するAFB1の急性毒性はJantrarotai *et al.* (1990)により研究され，腹腔内投与されたAFB1の10d LD₅₀値は11.5 mg/kg魚体重であると報告している。ニジマスに腹腔内投与したBauer *et al.* (1969)の研究による10d LD₅₀値(0.81mg/kg魚体重)は，*I. punctatus*のLD₅₀値の1/14であり，ニジマスはAFB1に対して感受性が高い魚類であることが明らかである。

AFB1を腹腔内に投与された*I. punctatus*は，投与後48時間に死亡し，その後は死亡する個体は観察されなかった。「2. 魚類によるアフラトキシン類の代謝」において上述したように，魚類は，比較的速やかにアフラトキシン類を吸収し，代謝・排泄されるために，その毒性影響は長期間持続しないことが推察される。

Jantrarotai *et al.* (1990)は急性毒性症状を観察し，AFB1を投与された*I. punctatus*は，著しく貧血状態で，そのヘマトクリット値，ヘモグロビン濃度，赤血球及び白血球数は，対照魚の1/10であったと報告している。また，貧血の原因は，

血液中に吸収されたAFB1による溶血であると考えられている。ヘマトクリット値，ヘモグロビン濃度，赤血球及び白血球数は，投与後48～72時間後が最も低く，その後は回復する傾向を示した。上述したように，72時間後には*I. punctatus*に吸収されたAFB1が代謝・排泄により無毒化されたために回復したと考えられる。このことは，投与後48時間以降には死亡する個体が見られないというJantrarotai *et al.* (1990)による観察結果とも一致する。また，最も顕著な肝臓障害は出血性壊死であったと報告されている。

AFB1が投与された*I. punctatus*では，胃内容物を吐き出す現象が認められた。第5表に示すように対照魚には吐き出し現象が認められないので，その機構は明確ではないが，吐き出し現象は，AFB1の急性毒性影響であると考えられる。アフラトキシン類を含有する飼料の経口投与試験を実施する時には，胃内容物の吐き出しが生じないように飼料中濃度を調節することが重要であると考えられる。

4. 発がん性

アフラトキシン類，例えば，AFB1は第2図に示すような各種の経路により代謝される。フラン環の二重結合部分に酸素が導入されると，AFB1はAFB1-8,9-エポキシドに変換される。エポキシドはDNAのグアニンに結合し，AFB1-グアニン付加体を形成する。DNAの損傷はタンパク質合成に変化を及ぼし，細胞のがん化を引き起こすために，アフラトキシン類は発がんのイニシエーターであると言われている。

アフラトキシン類の発がん性は，国際がん研究機構(IARC)によってアフラトキシン類の混合物(AFB1, AFB2, AFG1及びAFG2の混合物)がグループ1に，また，AFM1がグループ2Bに分類されてい

第4表 アフラトキシン類の魚類に対する急性毒性

アフラトキシン類	魚種	魚体重(g)	暴露経路	10d LD50 (mg / kg BW)	文献
AFB1とAFG1の混合物	ニジマス	50	経口投与	0.5-1.0	Halver (1965)
AFB1	ニジマス	60	腹腔内投与	0.81	Bauer <i>et al.</i> (1969)
AFG1				1.9	
AFB1	ニジマス	60	経口投与	>6.0	Bauer <i>et al.</i> (1969)
AFB1	<i>Ictalurus punctatus</i>	19	腹腔内投与	11.5	Jantrarotai <i>et al.</i> (1990)

AFB1 : アフラトキシンB1, AFG1 : アフラトキシンG1.

第5表 アフラトキシンB1の投与による*Ictalurus punctatus*胃内容物の吐出し現象 (Jantrarotai *et al.*, 1990)

投与方法及び投与量	吐出し現象
対照魚	吐出しは認められない。
経口投与	
12 mg AFB1 / kg 体重	73%のナマズが吐出し。
12 mg 無毒化 ^{*1} AFB1 / 体重	33%のナマズが吐出し。
腹腔内投与	
12 mg AFB1 / kg 体重	有意に吐出し量が多い。
ピーナツオイルのみ投与	18%のナマズが吐出し。

^{*1}水酸化アンモニウム入り密閉容器の中で24時間アフラトキシンB1を燻蒸して無毒化。

AFB1：アフラトキシンB1。

る (IARC, 1993)。

ちなみに、IARCの発がん性の分類は下記の通りである。

グループ1：Carcinogenic（ヒトに対する発がん性が認められる。）

グループ2A：Probably Carcinogenic（ヒトに対する発がん性がおそらくある。）

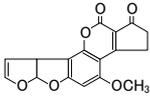
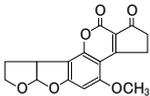
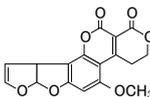
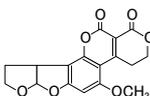
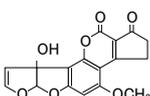
グループ2B：Possibly Carcinogenic（ヒトに対する発がん性が疑われる。）

グループ3：Not Classifiable as to its Carcinogenic（ヒトに対する発がん性を分類できない。）

グループ4：Probably Not Carcinogenic（ヒトに対する発がん性がおそらくない。）

一方、第6図に示すように、アフラトキシン類の発がん性は、動物試験により、AFB1、AFG1及びAFM1では「十分な証拠がある」、また、AFB2では、「限定的ではあるが証拠がある」、また、AFG2では、「証拠は不十分である」と評価されている (小西, 2008)。すなわち、末端のフラン環に二重結合を有する構造のアフラトキシン類は発がん性を有することがより明確に証明されている。おそらく、末端のフラン環に二重結合を有する構造はAFB1-8, 9-エポキシドを形成しやすいために、より明確に発がん性を示すこと、あるいは発がんポテンシャルが高いことが考えられる。

細胞の復帰突然変異を指標とするAmes試験によりAFB1及びその代謝生成物の変異原性がCoulombe, *et al.* (1982) Loveland *et al.* (1983)によりニジマスを使って研究された。第6表に示すように、AFB1の変異原性を1とすると、AFL, AFM1及びAFLM1の相対変異原性は、それぞれ、

	ヒト *	動物 *	総合評価 **
AFB1 	S	S	1
AFB2 		L	
AFG1 		S	
AFG2 		I	
AFM1 		S	

第6図 国際がん研究機構によるアフラトキシン類の発がん性評価 (小西, 2008)

*S：十分な証拠がある，L：限られた証拠がある，I：証拠は不十分。

**1：ヒトに対する発がん性が認められる，2B：ヒトに対する発がん性が疑われる

0.66, 0.061及び0.041であり、AFM1及びAFLM1の発がんポテンシャルが低いことが明らかであった。すなわち、Degen and Neumann (1981) 及び Loveland *et al.* (1984) が指摘するように、AFB1を速やかに代謝・排泄する能力を有する生物ほど発がんに対するリスクが低いと推察される。

魚類をがん化させた飼料中アフラトキシン類の濃度をCouch and Harshbarger (1985) の総説から抜粋して第7表に示した。

約1年の長期の毒性試験により、ニジマスに対して肝細胞がんを引き起こすアフラトキシン類の飼料中濃度は、AFB1で0.0005～0.08mg/kg, AFLで0.061～0.029mg/kg, また、AFM1で0.004～0.064 mg/kgであった。アフラトキシン類は、非常に低濃度で魚類にがんを引き起こすことが明らかにされた。がんを引き起こす最小濃度で見ると、発がんポテンシャルは、AFB1>AFM1>AFLであり、上述した変異原活性 (第6表) と同様にAFB1が高い傾向にあった。各魚種に対してがんを引き起こす飼料中AFB1濃度は、ニジマスで0.0005～0.08mg/kg, カワマス*Salvelinus fontinalis*で0.007mg/kg, ベニザケ*Oncorhynchus nerka*で0.012mg/kg,

第6表 アフラトキシン類の変異原活性 (Coulombe *et al.*,1982, Loveland *et al.*,1983)

アフラトキシン類	相対活性
AFB1	1
AFL	0.66
AFM1	0.061
AFLM1	0.041

AFB1：アフラトキシンB1，AFL：アフラトキシコール，
AFM1：アフラトキシンM1，AFLM1：アフラトキシコールM1。

また，グッピーで6.0mg/kgであった。カワマス，ベニザケ及びグッピーのデータが乏しいが，最小値で評価すると，AFB1によるがん発症に対する感受性は，ニジマス>カワマス>ベニザケ>>グッピーの順番であり，アフラトキシン類に対する感受性はサケ科魚類で高い傾向であった。

5. 要約

① 経口投与されたAFB1は血清中に急速に取り込まれた。アメリカナマズ的一种 *Ictalurus punctatus* の各組織・器官中の濃度は胆汁を除いて投与後4時間で最も高く，4時間後の濃度は胆汁，血清，肝臓，体腎，脾臓，頭腎，皮膚，腹腔内脂肪，筋肉の順に高かった。胆汁以外の

組織器官では，その濃度は24時間後に急速に低下した。一方，胆汁中濃度は，24時間後に最大値(2,019 μ g/L)を示し，その濃度の低下速度は遅く，96時間後にも1,445 μ g/Lの濃度で残留していた。魚体内に取り込まれたAFB1は肝臓の混合機能オキシダーゼ(MFO)系によって代謝され胆汁中に排泄されるために，胆汁中濃度の低下が他の組織・器官中濃度の低下に遅れることは，AFB1の代謝過程を反映しているものと考えられた。

② 水溶解度(1g/L)が比較的高く，水に溶解しやすいAFB1は速やかに吸収される一方，速やかに代謝・排泄されるために，魚体内の残留濃度は低いことが推察された。

③ AFB1は魚類肝臓のMFOの作用により代謝され，主要代謝経路はAFB1をAFLへ変換する経路である。AFB1のAFM1への，また，AFLのAFLM1への代謝経路の存在も示唆されるが，その活性は非常に弱いと考えられる。主要代謝生成物(AFL)は，そのままの形で，又はグルクロン酸と抱合体を形成して胆汁や尿中に排泄される。

④ AFB1及びAFG1をニジマス腹腔内に注射で投与した実験では，10d LD₅₀値は，それぞれ，0.81mg/kg 魚体重及び1.9mg/kgであり，AFB1の急性毒性はAFG1より2.34倍強かった。一方，AFB1をニジマスに経口投与した時，最大投与量でも致死

第7表 アフラトキシン類の魚類に対する発がん作用 (Couch and Harshbarger, 1985)

化学物質	魚類/年齢または成長段階	暴露経路 /期間	暴露量 (mg/kg(L))	最初の腫瘍 の確認時期	試験期間	新生物 の型
AFB1	グッピー/仔魚	餌料/毎日	6.0	9か月	11か月	LH
AFB1	メダカ/成魚	餌料/毎日	2.5	24週間	24週間	LH
AFB1	メダカ/成魚	餌料/6週間毎日	5.0	24週間	24週間	LH
AFB1	カワマス/仔魚	餌料/毎日	0.007	7か月	10か月	LH
AFB1	ベニザケ/ふ化後6か月	餌料/毎日	0.012	11か月	20か月	LH
AFB1	ニジマス/胚3~23日	飼育水/毎日15~60分	0.5	10か月	12か月	LH
AFB1	ニジマス/ふ化後4か月	餌料/毎日	0.02	8か月	12か月	LH
AFB1	ニジマス/ふ化後6か月	餌料/毎日	0.0005~0.08	20か月	20か月	LH
AFG1	メダカ/成魚	餌料/毎日	0.5	24週間	24週間	LH
AFL	ニジマス/ふ化後4か月	餌料/毎日	0.029	8か月	12か月	LH
AFL	ニジマス/ふ化後4か月	餌料/毎日	0.061	12か月	12か月	LH
AFM1	ニジマス/ふ化後50日	餌料/毎日	0.004	4か月	16か月	LH
AFM1	ニジマス/ふ化後50日	餌料/12か月間毎日	0.016	12か月	16か月	LH
AFM1	ニジマス/ふ化後50日	餌料/12か月間毎日	0.032	4か月	16か月	LH
AFM1	ニジマス/ふ化後50日	餌料/12か月間毎日	0.064	8か月	16か月	LH
AFQ1	ニジマス/ふ化後6か月	餌料/10か月間毎日	0.1	12か月	12か月	LH

AFB1：アフラトキシンB1，AFL：アフラトキシコール，AFM1：アフラトキシンM1，AFQ1：アフラトキシンQ1，LH：肝細胞がん。

率は50%未満であり，10d LD₅₀値は6.0mg/kg魚体重以上であると推定された。すなわち，急性毒性は経口投与より腹腔内投与の方が約7.5倍以上強いことが明らかであった。ニジマスに対する急性毒性は調べた魚類の中では最も強く，ニジマスはアフラトキシン類に対して感受性の高い魚類であった。

⑤ アフラトキシン類を含有する飼料を1年近くの長期にわたって投与した試験では，飼料中濃度が0.0005～0.08mg AFB1/kgの低濃度で肝臓がんを引き起こした。アフラトキシン類の発がんポテンシャルは，AFB1>AFM1>AFLの順番で高かった。また，肝細胞がん発症に対する感受性は，ニジマス>カワマス>ベニザケ>>グッピーの順番であり，サケ科魚類の感受性が高い傾向を示した。

引用文献

- Bauer, D. H., Lee, D. J. and Sinnhuber, O. (1969). Acute toxicity of aflatoxins B1 and G1 in the rainbow trout (*Salmo gairdnerii*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **15**, 415-419.
- Coulombe, R.A., D.W. Shelton, R.O. Sinnhuber and J.E. Nixon (1982). Comparative mutagenicity of aflatoxins using a Salmonella/trout hepatic activation system. *Carcinogenesis* **3**:1261-1264.
- Couch, J. A. and Harshbarger, J. C. (1985). Effects of carcinogenic agents on aquatic animals An environmental and experimental overview. *Environ. Carcinogenesis Rev.*, **3**, 63-105.
- Dalezios, J. I., Wogan, G. N. and Weinreb, S. M. (1971). Aflatoxin P1 A new aflatoxin metabolite in monkeys. *Science*, **171**, 584-585.
- Dalezios, J. I., Hsieh, D. P. H. and Wogan, G. N. (1973). Excretion and metabolism of orally administered aflatoxin B1 by rhesus monkeys. *Food Cosmetics Toxicol.*, **11**, 605-616.
- Degene, G. H. and Neumann, H. G. (1978). The major metabolite of aflatoxin B1 in the rat is a glutathione conjugate. *Chem. Biol. Interactions*, **22**, 239-255.
- Degen, G. H. and Neumann, H. G. (1981). Differences in aflatoxin B1-susceptibility of rat and mouse are correlated with the capability *in vitro* to inactivate aflatoxin B1-epoxide. *Carcinogenesis*, **2**, 299-306.
- Goeger, D. E., Shelton, D. W., Hendricks, J. D. and Bailey G. S. (1986). Mechanisms of anticarcinogenesis by indole-3-carbinol effect on the distribution and metabolism of aflatoxin B1 in rainbow trout. *Carcinogenesis*, **7**, 2025-2031.
- 後藤真生，東 照雄，矢部希見子(2007).アフラトキシンB1とアフラトキシコールの変換反応に関する肝臓酵素，食総研報，No.71，67-70.
- Halver, J. E. (1965). Aflatoxicosis and rainbow trout hepatoma. In "Mycotoxins in Foodstuffs" (ed. Wogan C. N.), Cambridge, Mass, MIT Press, pp. 209-234.
- Hayashi, T., Schimerlik, M. and Bailey, G. (1999). Mechanisms of chlorophyllin anticarcinogenesis dose-responsive inhibition of aflatoxin uptake and biodistribution following oral co-administration in rainbow trout. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **158**, 132-140.
- IARC (1993). Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, **Vol.56**, Lyon, France, 245-395.
- Jantrarotai, W., Lovell, R. T. and Grizzle, J. M. (1990). Acute toxicity of aflatoxin B1 to channel catfish. *J. Aquat. Animal. Health*, **2**, 237-247.
- 小西良子 (2008).アフラトキシンの毒性について (食品安全委員会 かび毒・自然毒等専門調査会資料)，<http://www.fsc.go.jp/fsciiis/attachedFile/download?retrievalId=kai20081014ks1&fileId=011> (2010/08/10アクセス)
- Lee, S. E., Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Hasegawa, S. and Lee, H. S. (2001). Inhibitory effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B1 biotransformation. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5171-5177.
- Loveland, P. M., Coulombe, R. A., Libbey, L. M., Pawlowski, N. E., Sinnhuber, R. O., Nixon, J. E. and Bailey, G. S. (1983). Identification and mutagenicity of aflatoxicol-M1 produced by metabolism of aflatoxin B1 and aflatoxicol by liver fractions from rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed β -naphthoflavone. *Food Chem. Toxic.*, **21**, 557-562.

- Loveland, P. M., Nixon, J. E. and Bailey, G. S. (1984). Glucuronides in bile of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) injected with [³H] aflatoxin B1 and the effects of dietary β -naphthoflavone. *Comp. Biochem. Physiol.*, **78C**, 13-19.
- Plakas, S. M., Loveland, P. M., Bailey, G. S., Blazer, V. S. and Wilson, G. L. (1991). Tissue disposition and excretion of ¹⁴C-labelled aflatoxin B1 after oral administration in channelcatfish. *Fd. Chem. Toxicol.* **29**, 805-808.
- Shelton, D. W., Goeger, D. E., Hendricks, J. D. and Bailey, G. S. (1986). Mechanisms of anti-carcinogenesis the distribution and metabolism of aflatoxin B1 in rainbow trout fed Aroclor 1254. *Carcinogenesis*, **7**, 1065-1071.
- 食品安全委員会 (2008). アフラトキシンB1の概要について, <http://www.fsc.go.jp/emerg/af.pdf> (2010/08/10アクセス)
- Toledo, C., Hendricks, J., Loveland, P., Wilcox, J. and Bailey, G. (1987). Metabolism and DNA-binding *in vivo* of aflatoxin B1 in medaka (*Oryzias latipes*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **87C**, 275-281.
- Troxel, C. M., Reddy, A. P., O'Neal, P. E. Hendricks, J. D. and Bailey, G. S. (1997). *In vivo* aflatoxin B1 metabolism and hepatic DNA adduction in zebrafish (*Dario rerio*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **143**, 213 - 220.