

平成10年度 厚生科学研究補助金 研究報告書

— 生活安全総合研究事業 —

### 課 題 名

内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による  
健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究

### 主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部 関澤 純

### 分担研究者

(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 副所長 今井 清

国立医薬品食品衛生研究所 病理部 西川 秋佳

国立医薬品食品衛生研究所 病理部 三森 国敏

(株) 三菱化学安全科学研究所 技術グループ 吉田 喜久雄

# 目 次

## 平成 10 年度厚生科学補助金総括研究報告書

内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による 健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究	関沢 純	1
---	------	---

## 平成 10 年度厚生科学補助金分担研究報告書

日本人による植物エストロゲン物質摂取における定量的な リスクとベネフィットの解析と不確実性分析	関沢 純	13
--	------	----

メトキシクロールとビスフェノール A の実験動物に対する 低用量暴露における毒性発現に関する不確実性についての研究	三森 国敏	23
--	-------	----

大豆成分の内分泌かく乱機構に関する研究	西川 秋佳	31
---------------------	-------	----

有機スズ化合物のリスク評価における不確実性の解析に関する研究	吉田 喜久雄	39
--------------------------------	--------	----

ダイオキシンのリスク評価における不確実性の検討に関する研究	今井 清	43
-------------------------------	------	----

## 添付資料

### 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析ワークショップ要旨

内分泌かく乱物質のリスク評価と不確実性分析	関澤 純	58
-----------------------	------	----

Uncertainty analysis in human effects assessment	Dr. T. Vermeire	65
--	-----------------	----

リスクアセスメント・システム (Chem PHESA-21) について  
花井 莊輔 ..... 95

曝露評価における不確実性分析  
吉田 喜久雄 ..... 101

#### 翻訳資料

内分泌攪乱化学物質に関する報告書  
(オランダ政府報告 1999年1月12日) ..... 109

## 内分泌攪乱化学物質等、生活環境中の化学物質による 健康リスクの評価における不確実性の解析に関する研究

主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部 関澤 純  
(分担研究者) 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 三森 国敏  
国立医薬品食品衛生研究所 病理部 西川 秋佳  
(株)三菱化学安全科学研究所 技術グループ  
横浜国立大学 環境科学研究センター 吉田 喜久雄  
食品薬品安全センター 秦野研究所 今井 清

### 研究要旨

ダイオキシンを含む内分泌攪乱化学物質のリスク評価に関する情報を収集し、リスク評価における不確実性要因と不確実性の幅について、解析した。

- (1) リスク評価における不確実性分析に関する文献を収集、内容を検討し一部を和訳した。
- (2) 不確実性分析の解析ソフトを入手し、それぞれの特徴を検討し本研究に活用した。
- (3) ダイオキシン類のリスク評価に関し、世界保健機関(WHO)、欧州連合(EU)、米国有害物質疾病登録庁(ATSDR)、オランダ国立公衆衛生/環境研究所(RIVM)から評価情報を入手し、評価根拠について検討した。別途、ダイオキシン類の急性毒性において大きな種差を生ずる要因についても検討した。
- (4) 内分泌攪乱化学物質については、米国環境保護庁(US EPA)、ドイツ政府、オランダ政府の報告書を入手し、このうちオランダ政府の報告書(オランダ語)を和訳した。
- (5) 内分泌攪乱化学物質のうち活性の強さと曝露量から考えて、ヒトとりわけ日本人に影響を及ぼしている可能性がもっとも高い物質を優先し、問題とされているいくつかの物質も加えてリスク評価関連の情報を収集し、解析した。すなわち、大豆中に含まれるホルモン活性物質、有機すず、ジエチルスチルベストール(DES)、ビスフェノールA (BisA)、メトキシクロール(MTC)について検討した。
- (6) 植物ホルモン物質の文献データをリスク評価に有用なかたちにデータベース化した。植物ホルモン物質について食品中含量の幅、摂取量の概略値と、代謝能力の個体差などの詳細な検討の結果、不確実性の要因とその幅、および今後必要な研究の一部を同定した。
- (6) リスク評価の不確実性分析に関する欧州での第一人者の研究者を招待し、内分泌攪乱化学物質のリスク評価に基づく研究と対策の優先順位付けのスキーム案を作成した。
- (7) 今年度の研究成果の公表および海外招待研究者による講演を兼ねて、研究者、企業、行政、市民を含む内分泌攪乱化学物質のリスク評価と不確実性分析に関する公開のワークショップを開催し、リスク評価への理解の推進を図った。

## A 研究目的

- (1) ダイオキシンや、内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性要因を毒性評価および曝露評価のそれぞれについて解析、明示することにより、評価の信頼性の向上に寄与する。最新の不確実性分析手法について調査し、内分泌攪乱化学物質のリスク評価への適用の可能性について調査し、必要に応じ新たな解析手法を開発する。
- (2) 毒性評価における不確実性の要因を、いくつかの内分泌攪乱化学物質を例として、データギャップ、種間・個体間の感受性・代謝の違い、試験における証拠の十分さ、評価に用いられたモデルや外挿法の選択の違いなどについて検討を進める。
- (3) 曝露評価については、環境中の動態・分布などの寄与、感受性集団への曝露の有無、モデルの扱いと評価などについて検討を進める。
- (4) いくつかの内分泌攪乱物質に不確実性分析を適用し、結果を解析する。
- (5) 不確実性を含んだ複雑なリスク評価の内容を不確実性のレベルも含めて提示することにより、ダイオキシンや内分泌攪乱化学物質のリスクについての公衆の理解をすすめる、リスクコミュニケーションの改善を図る。

## B 研究方法

- (1) リスク評価における不確実性分析に関する文献を収集、内容を検討し一部を和訳した。
- (2) 不確実性分析の解析ソフトを入手し、それぞれの特徴を検討し本研究に活用した。
- (3) ダイオキシンを含む内分泌攪乱化学物質のリスク評価に関する情報を収集し、リスク評価における不確実性要因と不確実性の幅について、解析した。
- (4) 毒性評価における不確実性の要因を、いくつかの内分泌攪乱化学物質を例として、

データギャップ、種間・個体間の感受性・代謝の違い、試験における証拠の十分さ、評価に用いられたモデルや外挿法の選択の違いなどについて検討した。

(5) 曝露評価については、環境中の動態・分布などの寄与、感受性集団への曝露の有無などについて検討した。

(6) 内分泌攪乱化学物質のうち活性の強さと曝露レベルの情報から考えて、ヒトとりわけ日本人に影響を及ぼしている可能性がもっとも高い物質を優先し、問題とされているいくつかの物質も加えてリスク評価関連の情報を収集し、解析した。すなわち、大豆中に含まれるホルモン活性物質、有機すず、ジエチルスチルベストール (DES)、ビスフェノール A (BisA)、メトキシクロール (MTC) について検討した。

(7) リスク評価の優先順位付けと、公衆によるリスク理解の推進のために、不確実性を含んだ複雑なリスク評価の内容を不確実性のレベルも含めてわかりやすく提示する手法を検討した。

## C 研究結果

### C.1 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析について

リスク評価における不確実性分析に関する文献を収集、内容を検討し、一部を和訳した。

不確実性分析のツールとして、Crystal Ball、Benchmark dose software、SAS 統計ソフトを検討した。Crystal Ball、Benchmark dose software はリスクの定量的な解析と不確実性分析に有用であった。

#### C.1.1 リスク評価と不確実性

リスクは「有害な事象や危害のおこりうる確率」と定義され、リスク評価は科学的な証拠に基づくリスクの推測といえる。化学物質の

スク評価には、図1の米国科学審議会の枠組みが広く受け入れられている。

#### C.1.1.1 リスク評価情報における不確実性<sup>1)</sup>

リスク評価に際しては、評価に必要な情報が不十分であったり、作用メカニズムについて科学的に未解明の部分がある場合が多い。現時点で安全対策をたてる必要から、情報と科学の不備を適切な仮定と推論によって補い、不確実な箇所を明示しつつ一定の結論を科学的に導く。リスク評価において、(1) どのような情報が必要とされ、(2) 不確実性を含む情報の内容、性質と評価結果の信頼度はどのような関係にあるかが問題となる(表1)。

#### C.1.1.2 推測の必要性和不確実性の内容

生体と、それを取り巻く環境のそれぞれについて複雑な要因が絡み合い作用しあっているため、データの取得において以下のように推測が必要になる。

- (1) 人に関するデータの取得は不可能な場合がある。
- (2) 実験や調査において、さまざまな条件についての測定および実験データを十分そろえるには困難が伴う。
- (3) メカニズムの未解明などのため、理論が未完成である。
- (4) 生物個体の性質と影響の受け方、環境条件は均一でなく、ある分布を持っている。

#### C.1.1.3 リスク評価における不確実性分析

リスク評価における不確実性要因を整理すると次のようになる。

- (A) 仮説、外挿やモデルにおける構造的な、またメカニズムの未解明など知識の不十分さによる不確実性
- (B) 測定における試験動物やサンプル

の扱いにおける違いや誤差による不確実性

(C) 生物が体重、感受性などにおいてばらつきがあり、また曝露のレベルにおいてもばらつきがあり固有な分布を示すことによる不確実性

(A)、(B)を真の不確実性 = True Uncertainty と呼び、固有のばらつきにより値がひとつに定まらないことによる不確実性 = (C)の Variability と区別する。

(A)、(B)においては不確実性の内容を分析し、何が大きく寄与しているかを指摘し必要な研究を進めることで不確実性を減らしていくことが可能であり、(C)においてはばらつきに分布のかたちを的確に推測することでリスク評価の信頼性を高めることができる。

#### C.1.1.4 ヒトの健康リスク評価における評価における不確実性の扱い

化学物質のリスク評価は、毒性の性質により次のように大別することがこれまで一般的に行われている。

- (A) 毒性のいき値が認められる場合のリスク評価
- (B) 毒性のいき値がないと思われる場合のリスク評価

(A)の場合は、無毒性量(NOEL)の確認と、安全係数(不確実性係数ともよばれる)のあてはめによる一日許容摂取量(ADI)などの導出がなされる。(B)の場合には実質安全量、または安全許容レベル(MOE)の導出がなされる。たとえばFAO/WHOの合同専門家会議の食品規格におけるリスク評価の検討会議では、表2、3の考え方が示されている。(B)について、米国EPAの発癌性評価の新しい手法の提案を図2に示す。

### C.1.1.5 ヒトの健康リスク評価における不確実性係数の分析

Vermeire ら(1998)<sup>4)</sup> および Slob & Pieters (1997)<sup>5)</sup> は、は ADI, TDI, RfD を導出する際に国際機関や各国で適用される安全係数(不確実性係数)の内容を分析した。投与経路の違い、試験期間の不足、種間の外挿上、個体間の感受性の違い、真の無毒性量(NOEL)の推定における不確実性などの問題を論じた。代謝速度の違いは動物のサイズによりヒトとマウス、ラット、イヌではそれぞれ7, 4, 1.4 倍程度違う。

このことを考慮して184物質について得られた無影響量の種間の違いは、0.5-6.4(幾何平均、偏差5.1-7.8)であった。同様に亜慢性と慢性試験について得られた無毒性量の違いは3.1-6.5(幾何平均、偏差1.9-5.7)であった。試験から得られた無毒性量から真の無毒性量を推定するには用量設定の問題があるため、試験データを活かして影響が見出された動物の問題とすべき決められた割合(Critical Effect Size = CES:たとえば5%あるいは20%)をあらかじめ定めて試験データから統計的にCESにおける用量レベル(Critical Effect Dose)を導く手法を推奨している。関沢(1998)<sup>6)</sup>は農薬の安全性評価における不確実性係数の内容を分析した。

### C.1.2 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析

内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性について、前記1.3のリスク評価における不確実性の要因に照らし、個々の例について検討を加えることにする。

不確実性要因の定量的解析を進めるために、特に影響および曝露の定量的なデー

タを背景情報とともに収集、解析する。不確実性分析のツールとしてはCrystal Ballを、リスク評価にはBenchmarkdose softwareを利用する。

### (A) True Uncertainty(真の不確実性)(図3)

#### (A-1) 知識の不足による不確実性

これまで指摘されている健康リスク評価上の問題点として、“ベル”型あるいは逆U字型の用量-反応曲線の可能性、および極低用量での毒性発現の可能性などがある。In vitro データから in vivo データへの外挿における不確実性(標的臓器への到達可能性、結合タンパクによるマスク、代謝活性の欠如)が大きい。

#### (A-2) 測定の精確さ、誤差要因

どの程度の精度を持ったデータであるかの解明が必要である。たとえばダイオキシンの急性毒性データおよび、種間での比較はどの程度の幅を持った違いといえるか?ダイオキシンの毒性等価係数はどの程度の精度を持った数値かなど。

### (B) Variability(分布)

毒性データは通常サンプル数や用量レベルの数も少ないが、検定や傾向予測は可能である。これに比べて曝露評価では、比較的数字も多く統計的な扱いに向いている。一例をあげる。大豆とその加工品に含まれ日本人が多量に摂取している植物ホルモン物質として daidzein と genistein がある。食品からの摂取量、血清中レベル、尿中排泄量のデータがあるが、表4に見るように、9人の日本人(男6人、女3人、年齢6-42歳)の尿中排泄量は全イソフラボノイドで6.60-27.04  $\mu$  mole/日、genistein、equol ではそれぞれ1.85-15.52、0.01-9.16  $\mu$  mole/日に分布し、daidzein と genistein の量比はさまざまであった。Equol は daidzein の代謝生成

物であり、daidzein と比べ *in vitro* ではより強いエストロゲン活性を示すが、Equol の尿中排泄量の大きな違いは個体の代謝活性の違いを反映している。対数正規を仮定した場合の分布のグラフは図3のようになる<sup>7)</sup>。

### C.1.3. 内分泌攪乱化学物質のリスク評価と対策のための優先順位付けスキームの提案

潜在的に多数存在する内分泌攪乱化学物質に対して、次のようなリスク評価と対策のためのスキームを検討している(図4, 5, 6)。この考え方は、本年度の研究を進める中で大量の不確実性をはらむ情報の処理をリスク評価についての不確実性分析手法をスクリーニング的に適用し、大きく篩い分けをするという見地から提案するものである。すなわち、まずヒトを中心に動物についての影響と曝露のデータを検索する。もしそのようなデータがあれば、これらを基にもっともクリティカルな影響とその発現レベル、量-反応関係を確認する。同時に影響のメカニズムと、ヒトの曝露レベルについてできる限り綿密な調査また情報収集を図り、影響がヒト、または動物のレベルで現実におこりうる可能性が高いか否か検討する。

もし可能性があるか高ければ、それらの物質を選別し、集中的に調査、研究を進め、対策を講じる。今年度は植物ホルモン物質などについてこの手法を適用し、少なくとも日本人については何らかの影響が考えられるレベルであること、また代謝能力などの個体差が実際に影響を表す可能性を左右しうる可能性を指摘した。同様な手法により、現在関心が高く、現実に問題となりうるほかの物質についても調査を進め、国内で優先的に調査研究すべき課題が浮き彫りにしたい。

## C.2 ダイオキシン類のリスク評価について

### C.2.1 ダイオキシン類と内分泌攪乱化学物

### 質のリスク評価について

ダイオキシン類のリスク評価に関し、世界保健機関(WHO)、欧州連合(EU)、米国有害物質疾病登録庁(ATSDR)、オランダ国立公衆衛生/環境研究所(RIVM)から評価情報を入手し、評価根拠について検討した。内分泌攪乱化学物質については、米国環境保護庁(US EPA)、ドイツ政府、オランダ政府の報告書入手し、このうちオランダ政府の報告書(オランダ語)を和訳した。

(添付 翻訳資料)

### C.2.2 ダイオキシン類の急性毒性の大きな種差の要因について

ダイオキシン類が動物間で大きな種差を生ずる要因について、体内動態、作用機序、生理的状態の寄与について、検討した。ラット、マウス、モルモット、サルなどでその体内動態に著しい差が認められており、このことが四塩化ダイオキシン(TCDD)の毒性に著しい種差を生む大きな要因即ちリスク評価の不確実性要因のひとつとなっている。ダイオキシン類の毒性として発癌性のみならず内分泌攪乱作用、免疫機能攪乱作用による毒性が発現する可能性が指摘されており、これらの毒性は、胎児あるいは新生児に対してより強く現れる可能性が示唆されている。

今後さらに胎児あるいは新生児を含め内分泌攪乱作用、免疫機能攪乱作用など現時点では十分な解析がなされていない毒性の実態およびその作用機序を解明し、標的細胞におけるレセプター特に Ah レセプターなどの生理的状態の種差などの情報を収集・分析することによりリスク評価の不確実性の要因を解明し、リスク評価をより確実にできるものと期待される。すなわち今後、化学物質のリスク評価に際しては、動物実験の各種毒性試験成績の用量作用反応から算出した実質安全量(VSD) あるいは一日摂取耐



容量 (TDI)などの量的な判断に加えて、その化学物質の作用機序、体内動態、生理的状态などの種差を考慮に入れたリスク評価の方策を検討する。

.....今井分担報告を参照。

### C.3 その他の内分泌攪乱物質のリスク評価について

いくつかの内分泌攪乱物質による日本人における影響の生起の可能性について、作用機構を考慮しつつ定量的に評価し、不確実性要因と不確実性の幅を示し、さらにリスク評価を改善するために必要な研究の方向を示した。

#### C.3.1 植物性エストロジェンの文献データベース作成について

植物性エストロジェンはホルモン活性は弱い、疫学的にその摂取とヒト乳がん、前立腺がんの発生には負の相関があり、さらに実験的に乳腺発がんを抑制させる結果も報告されており、ヒトがんの予防物質として重要視されている。食品から比較的多量摂取している植物ホルモン物質について、人での知見に関する研究を中心に重要な文献を収集し、内容を検討した。食品中の含量と食品の摂取量から日本人が食品から摂取する genistein, daidzein の摂取量を推算し、曝露レベルにおける不確実性の幅とその要因を調べた。調査した約 200 文献すべてを、内容(影響の種類と標的器官、研究の対象となった生物系、試験物質など)により分類し、データベース化した。

.....添付データベース資料を参照

#### C.3.2.1 植物エストロゲン物質のリスク・ベネフィット解析と不確実性分析について-1

日本人が食品から多量に摂取する大豆中のエストロゲン物質(genistein, daidzein)について、これら物質の日本人の血中濃度ある

いは尿中排泄量と、これらを指標とした乳がんリスクの疫学データ、これら化合物摂取と女性の生理周期との関係についての臨床データなどを検討し、日本人の尿中排泄レベルから日本人女性に乳がんが少ないことへのこれら物質の寄与の可能性を定量的に示した。

daidzein からエストロゲン活性がより強い equol への代謝活性が、日本人の間で千倍近くも異なる可能性が示唆され、摂取量とともに代謝能力の個体差が影響の不確実性に寄与する可能性が推測された。

genistein, daidzein は、エストロゲン活性だけでなく、抗酸化作用なども持ち、これらが抗がん作用や血中コレステロールの降下作用などに寄与している可能性があり、食品中に含まれる物質の多面的な影響を総合的に検討する必要性を指摘した。

.....関沢分担報告を参照。

#### C.3.3 大豆成分の内分泌攪乱機構に関する研究

大豆イソフラボン類には甲状腺発がんを促進するものが含まれるとの報告がある。すなわち、ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発されるが、それが植物性エストロジェンの作用に基づくものか、あるいはそれ以外の作用によるものかは明らかにされていない。

そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。植物性エストロジェンによる増殖関連遺伝子や細胞周期関連遺伝子の調節制御に関する分子生物学的研究も盛んになってきており、メカニズムの理解不足に由来する不確実性の究明に貢献できるものと期待される。大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比

べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である可能性が示された。大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロゲン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。

ヨード欠乏とは異なるメカニズムが想定される他の甲状腺発がん促進要因との相乗効果の有無についての検討も必要と考えられる。また、ヒトに低用量でも同様な作用を示すかどうかを検討する必要が示された。

……………西川分担報告を参照。

### C.3.4 有機すずの曝露評価における不確実性分析

一部の環境中生物において内分泌攪乱的影響が広く観察されており、日本人が多量に摂取する魚介類を汚染しており、巻貝に内分泌攪乱的影響を示す有機すずの摂取量と一日許容摂取量(ADI)との比率(HQ)を検討した結果、東京湾、大阪湾及び瀬戸内海で取れる魚介類を常食する集団の場合、トリブチルスズについてはHQが1を超える確率はそれぞれ、33%、64%及び26%であると推定された。魚介類常食者に対するHQの50パーセンタイル値は、大阪湾のトリブチルスズ(TBT)の場合を除き、1より低くマーケットバスケット方式で実施されている曝露調査結果に基づくHQ値(TBT:0.28, トリフェニルスズ=TPT:0.11)と大きく異ならなかった。

しかしその変動範囲は広く、HQの95パーセンタイル値はTBTで3以上、TPTで2以上であり、常食者集団内に高いリスクを被る個人が存在するが示唆される。また、TBTにより被るリスクに対するHQが1を超える確率は東京湾、大阪湾及び瀬戸内海でそれぞれ、33%、64%及び26%、TPTでは、それぞれ、16%、29%及び13%であった。今後詳細に有機スズ化合物によるリスクを評価する際には、魚介類中の濃度に加えて、漁獲される魚介類を常食する集団の魚介類等の一日摂取量についても詳細に調査す

べきであると考えられる。

……………吉田分担報告を参照。

### C.3.5 DES、BisA、MTCの低用量曝露における毒性発現に関する不確実性解析

DES、BisA、MTCの実験動物に対する低用量曝露における次世代への毒性発現に関する不確実性について情報収集した。その結果、DESの経胎盤投与による次世代マウスへの影響については、100 $\mu$ g/kg投与で次世代に悪影響を及ぼすが、それより下の用量では発現しないことから、DESのような強いエストロゲン作用を有する物質においても閾値の存在が示唆された。

MTCの経胎盤投与による次世代ラットへの影響については、投与群すべての次世代動物に生殖器に毒性が発現しており、最低用量の25mg/kgより下のどの用量まで次世代への影響が発現するかについてはデータがなく、この毒性についてのNOAELは明らかになっていない。BisAの経胎盤投与による次世代マウスへの影響については、vom Saalらの実験において次世代への影響が非常に低い投与量においても発現すると報告されたが、それについては再現性がないことが確認された。

……………三森分担報告を参照。

### C.4 研究成果の公表と不確実性を含んだ複雑なリスク評価への公衆の理解の推進

- (1) 内分泌攪乱化学物質のリスク評価に基づく研究と対策の優先順位付けのスキーム案を作成した。
- (2) 公開のワークショップを開催し、リスク評価と不確実性分析への理解の推進を図った。
- (3) 国際的な共同研究を進めるために、リスク評価の不確実性分析に関する欧州での第一人者の研究者を招待し、それぞれの国における内分泌攪乱化学物質に関する研究と

対策の実情について討議した。  
.....ワークショップ次第を参照

#### D 考察

(1) リスク評価における不確実性分析の理論的な展開について調査したが、国際的に急速に研究が進みつつあり、わが国でも不確実性分析を取り入れたリスク評価手法の導入と確立が急務と考えられる。

(2) 内分泌攪乱化学物質の事例について不確実性要因を指摘し、不確実性のおよその大きさを同定することを試みた。いくつかの事例について毒性評価と曝露評価およびメカニズムについての考察を統合することで、リスクの大きさとその不確実性の幅を提示した。曝露データについては有機すずでは地域差、植物ホルモンについては個体差の問題をクローズアップし、全ての事例の毒性データについてはクリティカルなエンドポイントの考察を行った。この結果日本人における臨床、疫学データと、胎児期曝露による毒性発現に関するデータの不足が指摘された。

(3) 今後、より体系的に不確実性分析を進めるためのスキームを検討し提示する必要と、事例研究を広げメカニズムのより詳細な考察を行い不確実性要因と幅の具体的な解析を深める必要がある。

#### E 結論

化学物質のリスク評価に内在する不確実性に着目した研究は、わが国ではこれまで例を見ない。内分泌攪乱化学物質についてはデータギャップ、作用機構について未知の部分が多いなど、リスク評価において不確実性の寄与が大きく、毒性評価と曝露評価、総合の各段階において、どのような要因が、どういう不確実性の幅を持って寄与

しているかについて、データに基づき解析した。その成果をリスク評価の優先順位付けに活用し、また公衆のリスク理解を支援できる提示手法を検討した。今後、人のデータおよび動物の胎児期曝露データを中心に収集し、メカニズムの考察をふまえて、不確実性要因の解析を深めたい。

#### 文献

- (1) 関沢 純 (1997) 情報の検索と評価、「化学物質のリスクアセスメント」薬業時報社、pp. 15-30
- (2) WHO (1995) Application of Risk Analysis to Food Standards Issues, WHO/FNU/ FOS/95.3
- (3) US EPA (1996) Proposed Guideline for Carcinogenic Risk Assessment, EPA/600/P-92/003C, April 1996, Fed.Reg. 61 (79), 17960-18006
- (4) Vermeire, T.G., Stevenson, H., Pieters, M.N., Rennen, M., Slob, W., & Hakkert, B.C. (1998) Assessment factors for human health risk assessment: a discussion paper, RIVM Report no.620110007
- (5) Slob, W. & Pieters, M.N. (1997) A probabilistic approach for deriving acceptable human intake limits and human health risks from toxicological studies: general framework, RIVM Report no. 620110005
- (6) 関沢 純 (1998) 日本農薬学会第回研究発表会、島根、1998年3月
- (7) 関沢 純 (1998) 日中合同リスク研究会、北京、1998年11月

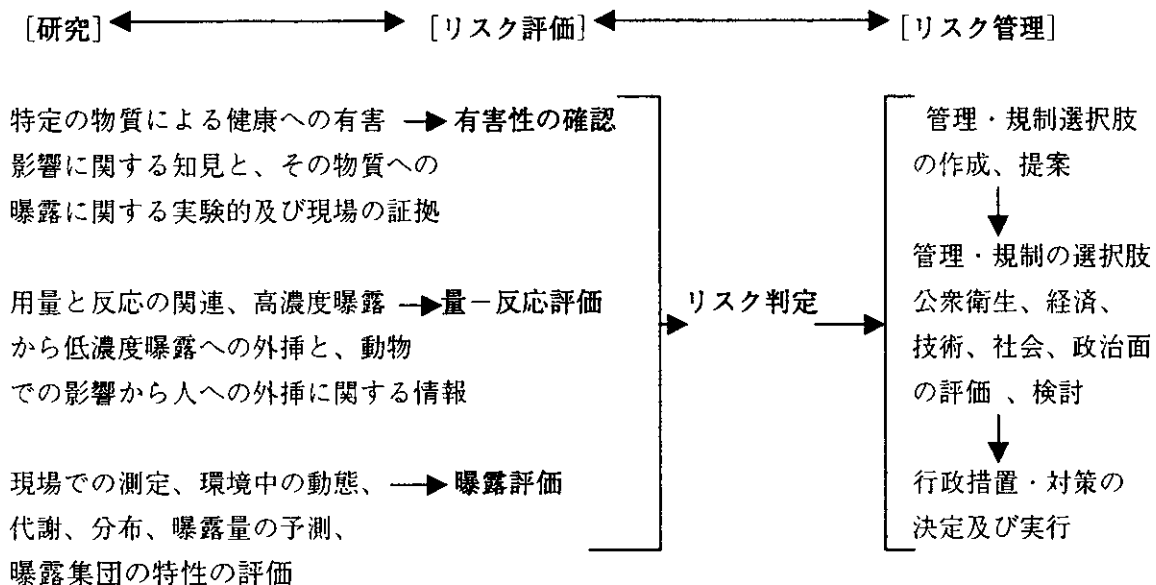


図1 米国科学審議会のリスク評価の枠組み

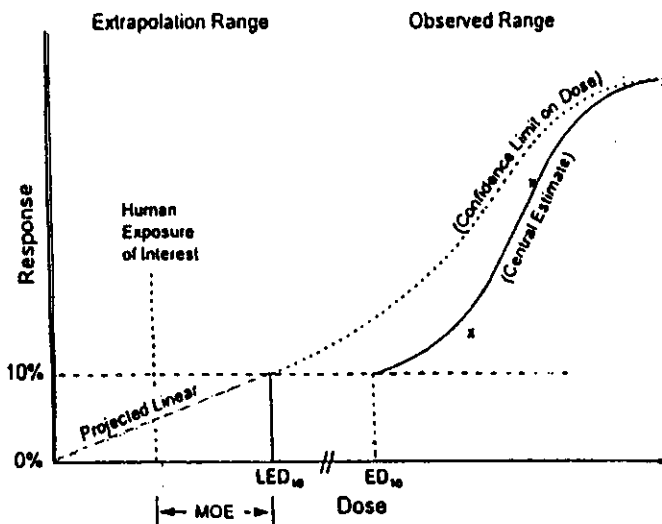


図2 米国EPAの発癌性評価についての新しい提案<sup>2)</sup>

表1 リスク評価情報における不確実性の扱い

- 
- (1) 入手可能なすべての適切な関連データの検討  
データの批判的利用、および関連データ(結論を導くために利用したデータおよび、結論にそぐわないデータの明示)を公平に扱う。
  - (3) データギャップ(重要なデータの欠如)の指摘  
データの不足の他に、種間および、高濃度から低濃度への外挿や、曝露状況についての知識の不足部分を指摘する。
  - (4) 情報の確かさの検証:科学的な検討による証拠の重さの確認  
データの質の評価結果、情報の不確かさの程度とその理由を明示する。背景にある仮定と変動要因に基づく不確実性の評価、測定誤差および不確実性のレベルを定量的に評価する。
  - (6) モデルの利用における検討  
モデルを適用する場合は、モデルにおいて必要とされるデータの種類と精度の確認、初期値、変動条件を確認し、既存の知識と、研究の進歩に照らし検証、実測値による検証(キャリブレーションとバリデーション)、他のモデルとの比較検討を行う
- 

表2 国際食品規格におけるリスク評価<sup>2)</sup>

---

#### Threshold approaches

ADI (Acceptable Daily Intake) is derived from an experimental NOEL or NOAEL by applying

appropriate safety factors.

\* Safety factors (Uncertainty factors)

- Variation in Sensitivity / Genetic outbreeding / Dietary habit
- Availability of pertinent data / Concern (severity or irreversibility on effects) /Uncertainty on mechanisms

\* Other method

-Benchmark dose (ex. ED10, ED5) draws more attention on data near the observed dose-response

range, but still subject to application of safety factors

-Attention to special population groups, like children, pregnant woman, are protected by an

appropriate choice of the intra-species conversion factors, or special consideration of their

exposures

#### Non-threshold approaches

For genotoxic carcinogens, two management approaches are available,

- (1) Ban the chemical from commercial use
  - (2) Establish a level of risk that is sufficiently small to be deemed negligible
-

表 4 国際食品基準のためのリスク評価における不確実性についての考え方

---

Uncertainty and Variability in the Risk Assessment Process

- (a) Variability (Heterogeneity)
    - ex. Food consumption rates, Exposure duration, Expected lifetime.
    - Stochastic determination of mean, variance, skewness, etc.
  - (b) True uncertainty
    - Lack of knowledge
- Uncertainty and variability in hazard characterisation
- (a) Model uncertainty
    - Accuracy and completeness of the representation of the biological processes
  - (b) Variance by animals in response at a given dose
  - (c) Variability in species extrapolation
-

## F 研究発表

### 1 論文発表

1) 関沢 純 わが国の有機錫汚染による健康および、環境影響リスクの評価 Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116,126-131 (1998)

2) 三森国敏. 内分泌攪乱作用物質の毒性 日本農業学会誌 24: 93-94. (1999)

### 2 学会発表

1) 関沢 純、大屋幸江. 植物エストロゲン物質の日本人における定量的リスク・ベネフィット解析. 日本内分泌攪乱化学物質学会第一回研究発表要旨集 (1998年12月、京都) p.98

2) Sekizawa, J.. Uncertainty analysis using database on chemical risk, Proceedings of the First China-Japan Conference on Risk Assessment (November 1998, Beijing ), pp. 456-461

3) Sekizawa, J.. A draft report to the IPCS/OECD/US EPA scoping group on integrated risk assessment (November 1998, Charlotte)

4) 関沢 純、大屋幸江. 日常摂取する植物由来ホルモン物質の役割. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (1998年9月、草津) pp.26-27

5) 関沢 純. わが国の有機すず汚染のリスク評価. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (1998年9月、草津) pp. 48-49

6) 池田尚子, 今沢孝喜, 西川秋佳, 笠原健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で起こるラット甲状腺腫瘍の発現機序に関する検討, 第57回日本癌学会総会, 1999

7) 今沢孝喜, 池田尚子, 西川秋佳, 笠健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で惹起されるラット甲状腺および下垂体の超微形態学的変化, 第15回日本毒性病理学会, 1999

8) 三森国敏. 内分泌攪乱作用物質の毒性 内分泌攪乱物質と農薬に関するシンポジウム 1998

## G 知的所有権の取得状況

なし

## 日本人による植物エストロゲン物質摂取における定量的な リスクとベネフィットの解析と不確実性分析

分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 化学物質情報部 関澤 純  
(研究協力者) 同上 大屋 幸江

### 研究要旨

さまざまな植物ホルモン物質（図 1）の活性レベルと日本人の摂取量から考え、もっとも影響を及ぼす可能性が高い大豆中のエストロゲン物質を中心に検討した。欧米人での疫学的、臨床的知見と、日本人の摂取量、体内濃度から、日本人の曝露レベルは、健康にベネフィシヤルな影響を与えている可能性が大きいと推定された。これら物質は、エストロゲン作用のほか、抗酸化作用などの作用も有するため、影響の内容をより多角的に検討すべきこと、またエストロゲン活性の高い代謝物を生成する能力は日本人の中でも個体差が大きく、日本人での臨床、疫学的知見の収集と確認が必要なこと、経胎盤曝露による影響データが限られており、この方面の研究データが必要なこと、また自己免疫疾患との関連を示唆する報告もあり、より多角的な検討の必要が指摘された。

### A. 研究目的

外因性内分泌攪乱物質による健康影響を評価する上で、毒性メカニズムの研究とあわせて人が実際に曝露される量の定量的な評価が必要である。人のレベルでどんな影響が観察されているか、影響と曝露の間に強固な関連性が見られ、それはメカニズムを考慮して十分説明可能か？などの考察がなされなければならない。さまざまな植物ホルモン物質の活性レベルと日本人の摂取量から考え、もっとも影響を及ぼす可能性が高い大豆中のエストロゲン物質を中心に、リスクとベネフィットの定量的な評価を試みた。

### B. 研究方法

1998 年 6 月までの MEDLINE 医学文献データベースを用い“Phytoestrogen” (PE)でヒットした 207 文献およびその後の文献と、関連の文献の計、約 300 文献を調査、分類し、データベース化した(添付データベース資料参照)。生薬、ハーブ、一部の微生物の生産物にも PE は含まれるがこれらの摂取量は相対的に少ない。エストロゲン作用が知られ文献も多く、日本人が多量に摂取する大豆に含まれるイソフラボノイドおよび、亜麻など多くの植物に含まれ、腸内細菌によりエストロゲン作用を持つ物質に代謝されるリグナンを中心に、人での疫学および臨床データ、摂取量、インビボ試験データと背景メカニ



ズムの研究情報を調査した。

### C. 研究結果と考察

大豆中の PE には、イソフラボノイドの Daidzein, Genistein がある(図2)。日本人の大豆と大豆製品の平均摂取量は 1 日約 65g<sup>1)</sup>だが、Daidzein と Genistein は豆腐、味噌、大豆、納豆、油揚げなどにそれぞれ 32-146, 71-366, 22-1915, 199-354, 74-187 および 86-306, 149-524, 200-1897, 374-506, 185-228  $\mu$ g/g (湿重当り)含まれる<sup>2,3,4)</sup>。日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均一日摂取量は Daidzein 10.2 mg, Genistein 15.4 mg のレベルといえる(表1)。他方、日本人男性の血清中の遊離・抱合体合計の Genistein, Daidzein 濃度はフィンランド人男性の各々 44 倍(75  $\mu$ g/L)、17 倍(27  $\mu$ g/L)であった<sup>5)</sup>(表2)。

東アジアの人には乳がん、前立腺がんが少ないが米国へ移住すると増す<sup>6)</sup>。大豆摂取により閉経前の女性の乳がんリスクが低下する<sup>7)</sup>。乳がんリスクと尿中 Daidzein /Equol 排泄量には量依存の逆相関関係が見られる<sup>8)</sup>(表3)。

閉経前の女性にイソフラボノイドを投与すると、同じ女性の投与前後に比べて性周期が顕著に変化した(表4)<sup>9)</sup>。この変化は卵胞期の特異的延長というかたちで現れ、卵胞期には黄体期に比べて細胞分裂の速度が 4 分の1に低下することから、突然変異を起こした細胞があっても細胞増殖が相対的に遅くなることで癌化が抑えられるのではないかと推測されている。

動物では発情期前のイソフラボノイド短期曝露により乳腺上皮細胞の分化が促進され乳がん発生が抑制された<sup>10)</sup>。Genistein の抗がん作用はチロシンキナーゼ阻害作用<sup>11)</sup>と、がん細胞の apoptosis 促進という機作が推測されている<sup>12)</sup>。

Daidzein の代謝物 Equol は in vitro で抗酸化作用<sup>13)</sup>を示し、大豆蛋白(29 報告中の平均 47g/日)あるいは大豆 PE(11mg/kg 体重/日)の摂取は、LDL Cholesterol 値を各々高脂血のヒト(平均 22mg/dL 低下、表5参照)およびサル(36%低下)で低下させた<sup>14,15)</sup>。

Daidzein の前駆体 Ipriflavone(600 mg/日)が骨粗鬆症を含む更年期障害治療に有効と報告されている<sup>16)</sup>。Genistein は濃度によりエストロゲンにもアンチエストロゲンにも作用することが、エストロゲン受容体を組み込んだ MCF-7 ヒト乳がん細胞の増殖の低濃度での高進と高濃度での抑制という結果から推測されている<sup>6)</sup>。

Daidzein をマウスに経口投与(0-40mg/kg 体重/日)した時に、用量に依存し腹腔マクロファージのファゴサイトーシスと胸腺重量の増大で見た非特異的な免疫活性および、脾臓の IgM 産生細胞による羊赤血球溶血で見た特異的な免疫活性の高進が見られた<sup>17)</sup>。

牛乳で下痢を起こす幼児のための大豆食品(イソフラボノイド 43-48mg/日)摂取によるエストロゲン作用が懸念されたが、米国で 50 年間の使用に関わらず内分泌への影響は見られていない<sup>18)</sup>。

ヒト血清蛋白の添加時と非添加時のエストロゲン受容体への結合を Estradiol と比べると、Genistein, Equol は相対的により多く受容体に結合する<sup>19)</sup>。また Genistein は  $\beta$ エストロゲン受容体により親和性がある<sup>7)</sup>(表6)。

Estradiol と比べた in vitro での Genistein, Daidzein のエストロゲン受容体への結合活性は BisphenolA, nonylphenol と同程度であり、ヒトがイソフラボノイドの千分の1以下の微量摂取するこれら物質とエストロゲン受容体結合において PE が競合し、保護的な作用を示すか否かは興味あ

る。

PE の多様な作用につき一見矛盾する報告もあるが、曝露時期、用量(低濃度と高濃度)、代謝による違いがありうる。また PE の種類によって作用は異なり、エストロゲン作用だけでなく抗酸化作用を示すものもある(表7)。

以上見てきたさまざまな作用は、日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均摂取量の同程度から数倍の範囲で観察されている。ヒトにより摂取量や感受性は異なるし、比較的 low 濃度でもある程度リスク、ベネフィットがこれまでの日本人集団に見られている筈である。また日本人は昔から多量に摂取しているので、耐性があるのではないかともいわれている。適切な疫学調査を行うか、臨床データを収集すれば、これらは判定可能であろう。

日本人の摂取する植物からのリグナンの摂取量、あるいは植物中物質が腸内細菌により代謝されてできるリグナンの摂取量の定量的なデータはない。しかし伝統的な食品を摂取している日本人の尿中排泄量は少ない。現在、日本人の体内レベルを推測するデータを収集、解析中である。欧米のデータでは植物を多く摂取する女性のリグナンの排泄量は、雑食性の女性や乳がんの女性に比べて有意に高いと報告されている。リグナンの作用もさまざまあるが、生理的に観察されるレベルでの *in vitro* 試験データでエストラジオールのレセプター(タイプ II, bioflavonoid receptor) 結合を競合的に阻害し、やや高い濃度ではアロマターゼを阻害することが知られている。

いくつかの PE の多様な作用につき一見矛盾する報告もあるが、曝露時期や用量による違いがありうる。Daidzein は代謝されてより活性の強い Equol を生成する(図3)が、日本人の間で

も大きな個体差が見られており<sup>20)</sup>、代謝能力の違いの分布による不確実性を考慮しなければならない(表8)。

クローバーに含まれる PE の Coumestrol は羊が大量に摂取した時に不妊になる原因物質といわれており、低濃度でアロマターゼを阻害するが、大豆には検出されない<sup>21)</sup>。PE の種類によって作用は異なり、ポリフェノールの場合はエストロゲン作用だけでなく、抗酸化作用を示したりする。このような作用機作を踏まえた人を主とした定量的なデータを収集解析することにより、日本人が曝露される PE のより正確なリスク、ベネフィットの解明が可能となろう。また乳児に豆乳を与えることと自己免疫疾患との関連を示唆する報告<sup>21)</sup>もあるなど、食品中に多量に含まれる活性物質の作用については多面的な作用のチェックが必要であろう。

以上見てきたうち、いくつかの作用は日本人の PE 摂取量に近い範囲で観察されている。ヒトにより摂取量や感受性は異なり、PE と天然エストロゲンとの関係など未解明な点があり、さらに研究が必要だが、作用機作を踏まえヒトを中心とした定量的なデータを収集解析し、日本人が曝露される PE のリスクと、ベネフィットを解明することは内分泌攪乱物質問題のひとつの鍵であろう。

#### 文献(収集文献は、データベース化してある... 添付リスト参照)

- 1) 厚生省保健医療局(1996)平成8年版国民栄養の現状
- 2) Reinlin & Block(1996) Nutr. Cancer, 26, 123-148
- 3) Franke et al.(1994) J.Agr.Food Chem., 42, 1905-1913

- 4) Toda et al. (1997) *Foods & Food Ingrid. J. Japan*, 172, 83-89
- 5) Adlercreutz et al. (1993) *The Lancet*, 342, 1209-1210
- 6) Murkies et al. (1998) *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 83, 297-303
- 7) Messina et al. (1997) *The Lancet*, 350, 971-972
- 8) Ingram et al. (1997) *The Lancet*, 350, 990-994
- 9) Cassidy et al. (1995) *Brit.J.Nutr.*, 74, 587-601
- 10) Murril et al. (1996) *Carcinogenesis*, 7, 1451-1457
- 11) Akiyama et al. (1987) *J.Biol.Chem.*, 262, 5592-5595
- 12) Zhou & Lee (1998) *J.Natl.Cancer Inst.*, 90, 381-388
- 13) Wieseman & O'Ralley (1997) *Bioche. Soc.Transact.*, 25, 107S
- 14) Anderson et al. (1995) *New Engl.J.Med.*, 333, 272-286
- 15) Anthony et al. (1997) *Arterio. Thrombo. Vascular Biol.*, 17, 2524-2531
- 16) Barnes (1998) *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 217, 386-392
- 17) Zhang et al (1997) *Nutr. Cancer*, 29(1), 24-28
- 18) Hugget et al. (1997) *The Lancet*, 350, 815-816
- 19) Nagel et al. (1998) *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 217, 300-309
- 20) Adlercreutz et al (1991) *Am.J.Clin.Nutr.*, 54, 1093-1100
- 21) Fort et al., (1990) *J.Am.College Nutr.*, 9,

164-167

#### D. 研究発表

##### 1. 論文発表

関沢 純 わが国の有機錫汚染による健康および、環境影響リスクの評価 *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 116, 126-131 (1998)

##### 2. 学会発表

1) 関沢 純、大屋幸江. 植物エストロゲン物質の日本人における定量的リスク・ベネフィット解析. 日本内分泌攪乱化学物質学会第一回研究発表要旨集 (1998年12月、京都) p.98

2) Sekizawa, J.. Uncertainty analysis using database on chemical risk, *Proceedings of the First China-Japan Conference on Risk Assessment (November 1998, Beijing )*, pp. 456-461

3) Sekizawa, J.. A draft report to the *IPCS/OECD/US EPA scoping group on integrated risk assessment (November 1998, Charlotte)*

4) 関沢 純、大屋幸江. 日常摂取する植物由来ホルモン物質の役割. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (1998年9月、草津) pp.26-27

5) 関沢 純. わが国の有機すず汚染のリスク評価. 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会 (1998年9月、草津) pp. 48-49

表 1 大豆製品からの日本人のイソフラボノイド摂取量  
Isoflavonoid Intake of Japanese from Soybean Products

(Reinli & Block, 1996; Franke et al., 1994; Toda et al., 1997; 厚生省, 1996より計算)

大豆と大豆製品	日本人の摂取量 (g)	ダイゼインの含量, 平均	ゲニステインの含量, 平均
豆腐	35.7	99 $\mu$ g/g	169 $\mu$ g/g
味噌	14.0	187 $\mu$ g/g	247 $\mu$ g/g
大豆	2.3	697 $\mu$ g/g	965 $\mu$ g/g
納豆	4.9	267 $\mu$ g/g	403 $\mu$ g/g
油揚げなど	8	148 $\mu$ g/g	215 $\mu$ g/g
合計	64.9	10.2 mg	15.4 mg

表 2 血漿中のイソフラボノイドの濃度  
ISOFLAVONOIDS IN PLASMA

日本人男性とフィンランド人男性の比較 (Adlercreutzら, 1993)

Comparison between Japanese Male and Finnish Male (Adlercreutz et al., 1993)

イソフラボノイド Isoflavonoid	幾何平均 (95%信頼限界): n mol/L Geometric mean (95% C.L.)		比率: Ratio Japanese/Finnish
	日本人男性 (n = 14) Japanese Male	フィンランド人男性 (n = 14) Finnish Male	
ダイゼイン Daidzein			
遊離+硫酸抱合体: Free + Sulfate	12.8 (6.0-27.4)	0.6 (0.4-1.0)	-
グルクロン酸抱合体: Glucuronide	91.8 (40.4-211)	2.0 (1.1-3.7)	-
合計 Total	107 (47.4-237)	6.2 (3.9-10.1)	17.3
ゲニステイン Genistein			
遊離+硫酸抱合体: Free + Sulfate	7.8 (3.2-19.1)	0.5 (0.2-1.1)	-
グルクロン酸抱合体: Glucuronide	167 (72.2-388)	5.3 (3.2-8.9)	-
合計 Total	276 (116-652)	6.3 (3.3-14.6)	43.8
イクオール Equol			
遊離+硫酸抱合体: Free + Sulfate	0.6 (0.1-3.0)	0.1 (0-0.2)	-
グルクロン酸抱合体: Glucuronide	3.9 (0.8-18.2)	0.4 (0.1-1.7)	-
合計 Total	5.5 (1.4-22.0)	0.8 (0.3-2.2)	6.9