

関沢 純、江馬 眞 第3回内分泌攪乱化学物質学会

Developmental and reproductive toxicity of tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats. Enma, M. 6<sup>th</sup> Scientific Meeting of the International Federation of Teratology Society, Satellite Meeting

ジブチルフタレート のラットにおける雄胎児の性分化に及ぼす影響 江馬 眞、宮脇英美子 第40回日本先天異常学会

ラットの妊娠初期に投与した dibutyltin dichloride の胚致死作用 江馬 眞、原園 景 第27回日本トキシコロジー学会

#### G. 知的所有権の取得状況

0. 特許

なし

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし

(協力研究者 原園 景 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 生物試験部)

Table 1  
Body weight gain and food consumption in rats given DBTCl by gastric intubation on days 0 to 3 of pregnancy

|                                      | DBTCl (mg/kg)         |                       |                        |                       |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
|                                      | 0 (control)           | 3.8                   | 7.6                    | 15.2                  |
| No. of females successfully mated    | 19                    | 16                    | 16                     | 17                    |
| No. of dead females                  | 0                     | 0                     | 0                      | 0                     |
| Initial body weight (g) <sup>a</sup> | 226 ± 4               | 227 ± 9               | 225 ± 6                | 230 ± 7               |
| Body weight gain (g) <sup>a</sup>    |                       |                       |                        | 222 ± 5               |
| Days 0-4                             | 6 ± 4 <sup>†</sup>    | -2 ± 7 <sup>†</sup>   | -14 ± 13*              | -20 ± 16*             |
| Days 4-20                            | 100 ± 12 <sup>†</sup> | 104 ± 11 <sup>†</sup> | 74 ± 49*               | 27 ± 36 <sup>††</sup> |
| Adjusted weight gain <sup>b</sup>    | 35 ± 11 <sup>†</sup>  | 29 ± 10 <sup>†</sup>  | 16 ± 25*               | -5 ± 20 <sup>††</sup> |
| Food consumption (g) <sup>a</sup>    |                       |                       |                        | 12 ± 7*               |
| Days 0-4                             | 51 ± 8 <sup>†</sup>   | 35 ± 11 <sup>††</sup> | 16 ± 10*               | 13 ± 8*               |
| Days 4-20                            | 288 ± 22 <sup>†</sup> | 280 ± 20 <sup>†</sup> | 237 ± 64 <sup>††</sup> | 197 ± 39*             |

<sup>a</sup> Values are given as mean ± SD.

<sup>b</sup> Adjusted weight gain refers to body weight gain excluding the uterus.

\* Significantly different from the control,  $P < 0.05$ .

<sup>†</sup> Significantly different from the pair-fed group,  $P < 0.05$ .

Table 3  
Body weight gain and food consumption in rats given DBTCl by gastric intubation on days 4 to 7 of pregnancy

|  | DBTCl (mg/kg) |
|--|---------------|
|  |               |

|                                      | 0 (control)           | 3.8                   | 7.6                   | 15.2                  | Pair-fed             |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| No. of females successfully mated    | 16                    | 16                    | 16                    | 17                    | 17                   |
| No. of dead females                  | 0                     | 0                     | 0                     | 0                     | 0                    |
| Initial body weight (g) <sup>a</sup> | 227 ± 8               | 228 ± 12              | 226 ± 6               | 228 ± 11              | 224 ± 5              |
| Body weight gain (g) <sup>a</sup>    |                       |                       |                       |                       |                      |
| Days 0-4                             | 12 ± 4                | 11 ± 3                | 9 ± 6                 | 10 ± 3                | 9 ± 4                |
| Days 4-8                             | 8 ± 4 <sup>†</sup>    | 4 ± 4 <sup>†</sup>    | -2 ± 10 <sup>*†</sup> | -14 ± 8 <sup>*</sup>  | -15 ± 2 <sup>*</sup> |
| Days 8-20                            | 86 ± 8 <sup>†</sup>   | 82 ± 11 <sup>†</sup>  | 68 ± 28 <sup>*</sup>  | 15 ± 24 <sup>*†</sup> | 62 ± 22 <sup>*</sup> |
| Adjusted weight gain <sup>b</sup>    | 35 ± 10 <sup>†</sup>  | 32 ± 7 <sup>†</sup>   | 30 ± 9 <sup>†</sup>   | 5 ± 17 <sup>*</sup>   | 0 ± 5 <sup>*</sup>   |
| Food consumption (g) <sup>a</sup>    |                       |                       |                       |                       |                      |
| Days 0-4                             | 68 ± 7                | 68 ± 6                | 64 ± 7                | 65 ± 5                | 66 ± 7               |
| Days 4-8                             | 57 ± 8 <sup>†</sup>   | 46 ± 9 <sup>*†</sup>  | 34 ± 11 <sup>*†</sup> | 25 ± 7 <sup>*</sup>   | 25 ± 0 <sup>*</sup>  |
| Days 8-20                            | 219 ± 17 <sup>†</sup> | 213 ± 17 <sup>†</sup> | 210 ± 18 <sup>†</sup> | 158 ± 47 <sup>*</sup> | 145 ± 0 <sup>*</sup> |

<sup>a</sup> Values are given as mean ± SD.

<sup>b</sup> Adjusted weight gain refers to body weight gain excluding the uterus.

\* Significantly different from the control,  $P < 0.05$ .

† Significantly different from the pair-fed group,  $P < 0.05$ .

Table 2 Reproductive findings in rats given DBTCl by gastric intubation on days 0 to 3 of pregnancy

|  | DBTCl (mg/kg) |              |              |             |              |
|--|---------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
|  | 0 (control)   | 3.8          | 7.6          | 15.2        | Pair-fed     |
| No. of females successfully mated                            | 19            | 16           | 16           | 16          | 17           |
| No. (%) of nonpregnant females                               | 0 (0)         | 0 (0)        | 5 (31.3)*    | 14(87.5)* † | 1 (5.9)      |
| No. (%) of pregnant females                                  | 19(100)       | 16 (100)     | 11(68.7)*    | 2(12.5)* †  | 16(94.1)     |
| No. of implantations per female <sup>ab</sup>                | 15.1 ± 1.4    | 15.0 ± 1.5   | 10.1 ± 7.1*  | 1.8 ± 4.8*† | 13.4 ± 4.3   |
| Preimplantation loss per female (%) <sup>bd</sup>            | 2.7           | 4.1          | 35.6*        | 87.9*†      | 16.4         |
| No. of litters   | 19            | 16           | 11           | 2           | 16           |
| No. (%) of litters totally resorbed                          | 0 (0)         | 0 (0)        | 1 (9.1)      | 0 (0)       | 3 (18.8)     |
| No. of corpora lutea per litter <sup>ac</sup>                | 15.5 ± 1.2    | 15.6 ± 0.9   | 15.6 ± 1.1   | 14.5 ± 0.7  | 16.2 ± 1.1   |
| No. of implantations per litter <sup>ac</sup>                | 15.1 ± 1.4    | 15.0 ± 1.5   | 14.6 ± 1.5   | 14.0 ± 0    | 14.3 ± 2.6   |
| Preimplantation loss per litter (%) <sup>cd</sup>            | 2.7           | 4.1          | 6.4          | 3.3         | 9.9          |
| No. of resorptions and dead fetuses per litter <sup>ac</sup> | 1.0 ± 0.7†    | 1.0 ± 0.8†   | 3.0 ± 3.8    | 1.0 ± 0     | 4.3 ± 4.7*   |
| Early stage  | 1.0 ± 0.7†    | 1.0 ± 0.8†   | 3.0 ± 3.8    | 1.0 ± 0     | 4.3 ± 4.7*   |
| Late stage   | 0             | 0            | 0            | 0           | 0            |
| Postimplantation loss per litter (%) <sup>ce</sup>           | 6.7†          | 6.8†         | 21.3         | 7.1         | 32.1*        |
| No. of live fetuses per litter <sup>ac</sup>                 | 14.1 ± 1.7†   | 14.0 ± 1.8†  | 11.6 ± 4.4   | 13.0 ± 0    | 10 ± 5.7*    |
| Sex ratio of live fetuses (male / female)                    | 138 / 130     | 110 / 114    | 65 / 63      | 18 / 8      | 76 / 84      |
| Body weight of live fetuses (g) <sup>a</sup>                 |               |              |              |             |              |
| Male   | 3.42 ± 0.23†  | 3.50 ± 0.13† | 3.48 ± 0.19† | 3.25 ± 0.10 | 3.09 ± 0.22* |
| Female   | 3.25 ± 0.20†  | 3.26 ± 0.17† | 3.28 ± 0.13† | 3.02 ± 0.07 | 2.95 ± 0.25* |

<sup>a</sup> Values are given as mean ± SD. <sup>b</sup> Values are obtained from females successfully mated. <sup>c</sup> Values are obtained from pregnant females. <sup>d</sup> [(No. of corpora lutea - no. of implantations)/no. of corpora lutea] x 100. <sup>e</sup> (No. of resorptions and dead fetuses/no. of implantations) x 100. \* Significantly different from the control, P < 0.05. † Significantly different from the pair-fed group, P < 0.05.

Table 4 Reproductive findings in rats given DBTCl by gastric intubation on days 4 to 7 of pregnancy

|  | DBTCl (mg/kg) |
|--|---------------|
|  |               |

|  | 0 (control)              | 3.8                      | 7.6                      | 15.2                     | Pair-fed                 |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| No. of females successfully mated                            | 16                       | 16                       | 16                       | 17                       | 17                       |
| No. (%) of nonpregnant females                               | 0 (0)                    | 0 (0)                    | 0 (0)                    | 1 (5.9)                  | 0 (0)                    |
| No. (%) of pregnant females                                  | 16 (100)                 | 16 (100)                 | 16 (100)                 | 16 (94.1)                | 17 (100)                 |
| No. of implantations per female <sup>ab</sup>                | 15.0 ± 1.1               | 14.7 ± 1.5               | 15.5 ± 1.5               | 14.1 ± 3.8               | 14.6 ± 1.9               |
| Preimplantation loss per female (%) <sup>bd</sup>            | 2.4                      | 4.5                      | 4.4                      | 32.7 <sup>f</sup>        | 5.9                      |
| No. of litters   | 16                       | 16                       | 16                       | 16                       | 17                       |
| No. (%) of litters totally resorbed                          | 0 (0)                    | 0 (0)                    | 3 (18.8)                 | 14 (87.5) <sup>*†</sup>  | 2 (11.8)                 |
| No. of corpora lutea per litter <sup>ac</sup>                | 15.4 ± 0.9               | 15.4 ± 1.3               | 16.2 ± 1.1               | 16.3 ± 0.6               | 15.7 ± 1.3               |
| No. of implantations per litter <sup>ac</sup>                | 15.0 ± 1.1               | 14.7 ± 1.5               | 15.5 ± 1.5               | 14.9 ± 1.3               | 14.6 ± 1.7               |
| Preimplantation loss per litter (%) <sup>cd</sup>            | 2.4                      | 4.5                      | 4.4                      | 10.3 <sup>g</sup>        | 5.9                      |
| No. of resorptions and dead fetuses per litter <sup>ac</sup> | 1.1 ± 0.9                | 2.1 ± 2.1                | 6.3 ± 5.7 <sup>†</sup>   | 13.6 ± 3.6 <sup>†</sup>  | 2.5 ± 4.1                |
| Early stage  | 1.1 ± 0.9                | 2.1 ± 2.1                | 6.3 ± 5.7 <sup>†</sup>   | 13.6 ± 3.6 <sup>†</sup>  | 2.5 ± 4.1                |
| Late stage   | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        | 0                        |
| Postimplantation loss per litter (%) <sup>ce</sup>           | 7.0                      | 13.9 <sup>*</sup>        | 39.9 <sup>†</sup>        | 91.5 <sup>†</sup>        | 18.3                     |
| No. of live fetuses per litter <sup>ac</sup>                 | 13.9 ± 1.2               | 12.6 ± 2.3               | 9.3 ± 5.6 <sup>*</sup>   | 1.3 ± 3.6 <sup>†</sup>   | 12.1 ± 4.8               |
| Sex ratio of live fetuses (male / female)                    | 111 / 112                | 99 / 103                 | 77 / 71                  | 12 / 9                   | 95 / 110                 |
| Body weight of live fetuses (g) <sup>a</sup>                 |                          |                          |                          |                          |                          |
| Male   | 3.45 ± 0.17 <sup>†</sup> | 3.38 ± 0.21 <sup>†</sup> | 2.99 ± 0.37 <sup>*</sup> | 2.62 ± 0.13 <sup>*</sup> | 2.98 ± 0.19 <sup>*</sup> |
| Female   | 3.22 ± 0.17 <sup>†</sup> | 3.16 ± 0.21 <sup>†</sup> | 2.85 ± 0.24 <sup>*</sup> | 2.60 ± 0.18 <sup>*</sup> | 2.74 ± 0.22 <sup>*</sup> |

<sup>a</sup> Values are given as mean ± SD. <sup>b</sup> Values are obtained from females successfully mated. <sup>c</sup> Values are obtained from pregnant females.

<sup>d</sup> [(No. of corpora lutea - no. of implantations)/no. of corpora lutea] x 100. <sup>e</sup> (No. of resorptions and dead fetuses/no. of implantations) x 100. <sup>f</sup> Value is obtained from four females (no. of corpora lutea was not determined in 13 females with early total resorptions). <sup>g</sup> Value is obtained from three females (no. of corpora lutea was not determined in 13 females with early total resorptions).

\* Significantly different from the control,  $P < 0.05$ . <sup>†</sup> Significantly different from the pair-fed group,  $P < 0.05$ .

「リスク評価における不確実性の扱いに関する国際的動向に関する研究」

分担研究者 関沢 純 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部情報第一室長

**研究要旨：** リスク評価における不確実性分析に関する最新の国際的な研究動向を調査し、海外との共同研究を行った。欧州連合および米国・カナダではそれぞれ、化学物質のリスク評価に際して動物試験における無毒性量から人の安全性を確保するための許容（耐容）量を設定する時に、100という値を不確実性係数として一律に適用するのではなく、種間、個体間のトキシコキネティクスやトキシコダイナミクスの差異に関する詳細な情報を収集、解析して、種差による外挿、および人の個体差の幅の推定を精密化し不確実性を減らすための研究プロジェクトを進めている。

内分泌攪乱化学物質についても同様な考え方は重要と考えられ、国際化学物質安全性計画(IPCS)が企画した国際ワークショップ(2000年5月)において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿のため、あるいは分布における「パラメータの不確実性」もさることながら、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられた。特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」あるいは「低用量問題」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。これらの問題を解明するためのリスク評価の枠組みを検討中である。

**A. 研究目的**

化学物質のリスク評価を、より科学的かつデータに基づいたものとするような手法へとハーモナイズする国際的な動きが進行している。わが国ではリスク評価は行政レベルでしか行われず、それも不確実性の要因と幅を考慮したものとはなっていない。

リスク評価における不確実性の評価についての国際的な動向を調査した。

なって化学物質の健康リスク評価のハーモナゼーションへと検討を進めている。関沢はその企画メンバーの一員としてこれまで研究を進めてきたが今年度は研究成果を基に、国際的なワークショップを開いていくつかの事例について検討し、最終的にガイダンスドキュメントを作成しつつある。この過程を通して基本となる参考資料を収集し、分析した。参考としたのは次の資料である。

**B. 研究方法**

国際化学物質安全性計画(IPCS)が中心と

1. IPCS (Unedited draft, September 2000)  
Guidance Document for the Use of Data

- in Development of Chemical-Specific Adjustment Factors (CSAF) for Inter-species Differences and Human Variability in Dose /Concentration Response Assessment
2. Zhao Q, Unrine J & Dourson M (1999) Replacing the default values of 10 with data-derived values: A comparison of two different data-derived uncertainty factors for boron, Human Ecol. Risk Assess., 5 (5), 973-983
  3. Abdel-Rahman MS, Suh DH, Kadry AM, Skowronski GA (1999) Inter- and intra-species extrapolation in risk assessment of different classes of pesticides, Human Ecol. Risk Assess., 5 (5), 985-996
  4. WHO (1998) Environmental Health Criteria 204, Boron, IPCS/World Health Organization, Geneva
  5. Sekizawa J (1998) Uncertainty analysis using database on chemical risk, in Risk Research and Management in Asian Perspective, Proc. First China-Japan Conference on Risk Assessment and Management, 456-461 (Beijing, 1998)
  6. IPCS (1994) Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits, Environmental Health Criteria 170, World Health Organization, Geneva
  7. Renwick AG (1993) Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants, Food Addit. Contam., 10, 275-305

### C. 研究結果

(1) IPCS は閾値のある毒性について人の健康の安全性確保のために許容量を設定する際の指針として、従来国際機関や各国で行ってきた種差と個体差におけるばらつきを感受性が高い人の保護を目標として、それぞれ10倍づつの安全性係数を適用（あわせて100倍の安全性係数を適用）する手法について、データを基により精密な評価を行うべきであると提言した(IPCS 1994)。

しかし、この安全係数を適用する手法は曝露のあった局部での影響というよりも、曝露部位から吸収された後、体内に分布し、標的部位に到達して影響を及ぼすような物質について有効である。Renwick (1993)は種差の10という係数をいくつかの化学物質についてのデータを分析した結果、トキシコキネティクス部分の4と、トキシコダイナミクス部分の2.5に分解できると提案した(図1、IPCS 1994)。

(2) Sekizawa (1998) はFAO/WHO 合同残留農薬専門家会議の農薬安全性評価と許容摂取量設定の内容を検討して、どのようなデータがあった時にどのような考慮に基づいてある安全係数が選択されているかを分析した。その結果、データの内容が十分でない場合、無毒性量が観察されず最小毒性発現量のみ観察された場合、特定の毒性（たとえば次世代への影響）について懸念がある場合、種差のばらつき具合を考慮した場合に分けられることがわかった(表1)。

Abdel-Rahman ら(1999)は、IPCS(1994)、Renwick AG (1993)の考え方に基づいて、4種類の農薬について、不確実性係数の見直しを行った。結果の要約を表2に示す。一例をあげると、Carbaryl についてはまず、肝組織を用いた *in vitro* の試験からヒトとラットの間で生成する活性代謝物について

定性的に差がないことが確かめられた。ヒトとラットでの比較可能なキネティクスのデータがあり、Carbaryl 投与後の血漿中の最高血中濃度到達時間の比は 0.6 (ヒト/ラット) で、最高濃度の比は 1.5 (ヒト/ラット) であり、排泄の半減期の比は 0.5 (ヒト/ラット) であったことから、これらのキネティクスに関するパラメータの平均値として、1.1 が算出された (表 3)。このような動物とヒトとの間での比較可能なデータについての検討の結果、不確実性係数として表 2 に示すような値が推定された。

(3) 化学物質の安全性評価について責任を持つ世界保健機関に属するふたつの国際機関、IPCS (WHO, 1998) と「飲料水中の化学物質作業グループ(WGCS DW)」がボロンの安全性評価を行い、異なる耐容摂取量を導出した (Zhao ら 1999)。これは耐容摂取量の導出における不確実性係数の評価において、両者とも基本的に IPCS (1994) の原則を適用したが、それぞれが耐容摂取量の導出のベースに用いたデータが異なったからである (表 4)。

ボロンは体内に受動拡散により吸収され体内にほぼ均一に分布 (骨中レベルは継続的に上昇) し代謝されず、ラットとヒトでその排泄経路が同様であることから、IPCS、WGCS DW の両グループともにボロンの安全性評価における種差および個体差のキネティクス要因として、排泄のスピードにおける違いが寄与していると考えた。

IPCS グループはラットとヒトにおける排泄の半減期がほぼ同様であることからキネティクスにおける種差要因の寄与は 1.3 とし、ダイナミクスにおける種差要因は不明なのでデフォルト値を認めて合計の種差を 3.2 であるとした。

しかし WGCS DW はボロンの半減期は短く、多量に意図的に摂取させたヒトでのデータは生理的な状況を反映せず、定常状態における排泄のクリアランスはラットがヒトの 3—4 倍早いということから、種差は 10 とすべきであると考えた。

個体差について IPCS グループはボロンが体内で代謝されないことからキネティクスについての個体差については 2.5 で良いとし、ダイナミクスとあわせた個体差を 7.9 と評価した。しかし

WGCS DW はもっともクリティカルなエンドポイントがボロンの場合胎児の体重減少であることから妊婦が感受性を考慮すべき対象であり、またボロンは尿中のみに排泄されることから、妊婦の間の糸球体濾過率の違いが排泄に大きく関係するとして妊婦の平均濾過率と標準偏差の 2 倍を差し引いた場合との違いを基にキネティクスについて 1.8 という個体差を適用し、ダイナミクスとあわせて個体差の不確実性係数を 5.7 とした。

不確実性係数の全体を見ると IPCS グループの場合は 25、WGCS DW の場合は 60 という結果になる。この場合前述の議論を踏まえると、WGCS DW の方が入手可能なデータをより適切に適用したと考えられた。

(4) 筆者を含む IPCS の「健康リスク評価における不確実性係数検討企画グループ」は、化学物質の安全性評価における不確実性係数の適用のルールをより科学的にすることを国際的な協力に進めている。企画グループの研究成果に基づいて、2000 年 5 月にはベルリンで国際的なワークショップを開いていくつかの事例について検討し、最終的にガイダンスドキュメントを作成しつつある (IPCS, draft September 2000)。



この中では IPCS (1994)で示された考え方をさらに押し進めて、さまざまなレベルのデータセット (図2) が入手可能な場合に、それらを可能な限り有効かつ適切に活用すべきであるとした。その上で安全性評価に関連するキネティクスとダイナミクスの種々の要因に関連する種々のデータの入手可能性を実際的に検討する (図3)。図4、5、6のように個々のステップについて必要なデータの入手可能性に応じて、データを吟味した結果を不確実性係数の選択に反映させようとしている。

不確実性係数選択のフローチャートを図7に示す。このスキームに沿って IPCS 主催の国際ワークショップでは、実際のデータをベースとした5つの事例を使ってこのスキームのフィージビリティについて、検討した (IPCS, draft September 2000)。

#### D. 考察

- (1) 欧州連合および米国・カナダではそれぞれ、化学物質のリスク評価に際して動物試験における無毒性量から人の安全性を確保するための許容 (耐容) 量を設定する時に、100という値を不確実性係数として一律に適用するのではなく、種間、個体間のトキシコキネティクスやトキシコダイナミクスの差異に関する詳細な情報を収集、解析して、種差による外挿、および人の個体差の幅の推定を精密化し不確実性を減らすための研究プロジェクトを進めている。
- (2) 内分泌攪乱化学物質についても同様な考え方は重要と考えられ、国際化学物質安全性計画 (IPCS) が企画した国際ワークショップ (2000年5月)において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿のため、あるいは分布における「パラメータ

の不確実性」もさることながら、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられた。特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」あるいは「低用量問題」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(3) 筆者らは、内分泌攪乱化学物質によるリスクについてあまり根拠を確かめず物質をリストして不安のみを増長させてきた点については、その不確実性の解析における寄与要因とメカニズムの解明の重要性を踏まえるべきこととした。またスクリーニング試験法の制約などからこれまで受容体経由の影響にのみ重点が置かれていることに対しては、生体の発生、生殖や恒常性にさまざまな因子が調節、制御に複雑に関与している点を踏まえて、これらの関係を踏まえたより広い視点からの研究が必要とされていると考えている。

この視点から次世代影響リスクを評価する新しい枠組みを検討しつつある。

#### E. 結論

リスク評価における不確実性分析に関する最新の国際的な研究動向を調査し、海外との共同研究を行った。

IPCSでは安全性評価に関連するキネティクスとダイナミクスの種々の要因に関連する種々のデータの入手可能性を検討しながら、個々のステップについて必要なデータの入手可能性に応じて、データを吟味した結果を不確実性係数の選択に反映させ、より科学的で実際的なリスク評価手法を国際的にハーモナイズされた手法として確立する努力を筆者を

含めた国際的な企画グループが進めている。

実際の研究例を交えて、その適用可能性について検証した。ただし現在問題となっている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は、キネティクスやダイナミクスにおける分布や変動要因だけでなく、メカニズムの不明によるいわゆる「真の不確実性」の解明が重要と考えられた。

内分泌攪乱物質のリスク評価において不確実性の解析は、重要な位置を占めている。これまでの検討結果を踏まえて、発生・生殖について次世代への影響のリスクを包括的に評価する枠組みを構築すべき研究を進めている。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) 関澤・花井・毛利 監訳(2001)化学物質の健康リスク評価、丸善、東京 119 頁
- (2) 関澤(2001)化学物質のリスク評価における不確実性、日本リスク研究学会誌 12(2), 4-9
- (3) Sekizawa J & Ema M (2001) Discussion of risk of chemicals as endocrine disruptors, *Env. Sci.*, 8 (2/3) 118-119

### 2. 学会発表

- (1) 関澤 純 (2000) 環境ホルモン物質によるリスクを考える、第 3 回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム (2000 年 12 月、横浜)
- (2) 関澤 純, 江馬 真(2000) 環境ホルモン物質としてのリスク評価の検討、第 3 回内分泌攪乱化学物質学会研究発表会、(2000 年 12 月、横浜)
- (3) 関澤 純, 内山巖雄, 松井三郎(2000) 環境を經由した化学物質による次世代影響リスクの統合的な評価—医薬品を例

とした予備的評価と文献的考察—

第13回日本リスク研究学会研究発表会 (2000年11月、東京)

- (4) 関澤 純, 今井 清, 松木容彦, 吉岡 義正(2000)医薬品その他の生理活性物質の環境中運命と環境中生物に及ぼす影響の評価, 第14回日本動物実験代替法学会研究発表会(2000年11月、市川)

## G. 知的所有権の取得状況

- 1.特許 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他 なし

表1 FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議による安全性評価の際の  
安全性係数適用における考慮事項の分析

CASES WHEN SAFETY FACTORS OTHER THAN 100 WERE APPLIED BY THE  
JMPR (EXCEPT EVALUATIONS BASED ON HUMAN DATA)

| Pesticide         | ADI<br>(mg/kg<br>bw) | Animal<br>species | NOEL or<br>NOAEL<br>(mg/kg<br>bw) | Type of test or<br>duration of exposure | Safety<br>factor | Year of<br>evaluation |       |
|-------------------|----------------------|-------------------|-----------------------------------|---|------------------|-----------------------|-------|
| ISOFENPHOS        | 0.001                | RAT               | 0.05                              | 2YEARS                                  | 50               | 1986                  |       |
|                   | 0.001                | DOG               | 0.05                              | 2YEARS                                  | 50               | 1986                  |       |
| ABAMECTIN         | 0.002                | RAT               | 0.12                              | 2 GENERATIONS                           | 60               | 1997                  | 4     |
|                   | 0.002                | DOG               | 0.25                              | 1YEAR                                   | 125              | 1997                  |       |
| AMITROLE          | 0.002                | DOG               | 0.29                              | 1YEAR                                   | 150              | 1997                  |       |
|                   | 0.002                | RAT               | 0.12                              | 2 GENERATIONS                           | 60               | 1997                  | 4     |
|                   | 0.002                | RAT               | 0.1                               | 90 DAYS                                 | 50               | 1997                  | 4     |
| FENVALERATE       | 0.02                 | MOUSE             | 3.5                               | 87 OR 91 WEEKS                          | 175              | 1986                  |       |
| FENTIN COMPOUNDS  | 0.0005               | RAT               | 0.1                               | 2YEARS                                  | 200              | 1991                  | 2     |
|                   | 0.0005               | RABBIT            | 0.1                               | MATERNAL                                | 200              | 1991                  | 2     |
| PHOSALONE         | 0.001                | RAT               | 0.2                               | 2 YEARS                                 | 200              | 1993                  | 3     |
| TEFLUBENZURON     | 0.01                 | MOUSE             | LOAEL 2.1                         | 18 MONTH<br>CARCINOGENICITY<br>STUDY    | 210              | 1994                  | 2     |
| ALDRIN            | 0.0001               | RAT               | 0.025                             | 2 YEARS                                 | 250              | 1994                  | 4     |
| DIELDRIN          | 0.0001               | RAT               | 0.025                             | 2 YEARS                                 | 250              | 1994                  | 4     |
| HEPTACHLOR        | 0.0001               | DOG               | 0.025                             | REPRODUCTION                            | 250              | 1994                  | 1     |
|                   | 0.0001               | DOG               | 0.025                             | 2YEARS                                  | 250              | 1994                  | 1     |
| METHOPRENE        | 0.1                  | RAT               | 25                                | 2 GENERATIONS                           | 250              | 1987                  | 1     |
| LINDANE           | 0.001                | RAT               | 0.5                               | 2YEARS                                  | 500              | 1997                  | 3     |
| DIMETHOATE        | 0.002                | RAT               | 1.2                               | REPRODUCTION                            | 600              | 1996                  | 3     |
| TECNAZENE         | 0.02                 | DOG               | 15                                | 90 DAYS                                 | 750              | 1994                  | 1     |
| ZIRAM             | 0.003                | RAT               | LOAEL 2.5                         | 2 YEARS                                 | 830              | 1996                  | 2     |
| PROPYRENE'THIOURE | 0.0002               | MOUSE             | 0.2                               | LONG TERM                               | 1000             | 1993                  | 1     |
| CARBARYL          | 0.003                | MOUSE             | LOAEL15                           | 2 YEARS                                 | 5000             | 1996                  | 1,2,3 |
| DINOCAP           | 0.001                | DOG               | 0.4                               | 2 YEARS                                 | 100<             | 1989                  | 3     |
|                   | 0.001                | RABBIT            | 0.5                               | TERATOLOGY                              | 100<             | 1989                  | 3     |
| FERBAM see ziram  | 0.003                | RAT               | 12                                | 2 YEARS                                 |                  | 1996                  | 2     |

- 1: データの内容が十分でない
- 2: NOAEL が観察されず最小毒性発現量 (LOAEL) を用いてADI を評価
- 3: 特定の毒性 (の可能性) に留意し余分の安全係数を適用
- 4: 種差のばらつき具合を考慮

表2 いくつかの農薬についての不確実係数の再検討

**Table 4. Composite uncertainty factors for animal to human extrapolation and human sensitivity.**

| Pesticide | Animal to Human |                    | Human Sensitivity |          | UF   |
|-----------|-----------------|--------------------|-------------------|----------|------|
|           | Kinetics        | Dynamics           | Kinetics          | Dynamics |      |
| Warfarin  | 2.6             | (2.5) <sup>a</sup> | (3.16)            | 1.8      | 37.0 |
| Lindane   | 1.7             | (2.5)              | 2.7               | (3.16)   | 36.3 |
| Carbaryl  | 1.1             | (2.5)              | (3.16)            | (3.16)   | 27.5 |
| Parathion | 1.6             | 0.7                | (3.16)            | (3.16)   | 11.2 |

<sup>a</sup> The values in parenthesis are default factors proposed by Renwick (1993) and IPCS (1994).

表3 Carbarylのキネティクスのヒトとラットの種差に関する検討結果

**Table 2. Human to rat relationship for kinetic parameters of carbaryl.**

| Parameter                   | Rat  | Human | Human/Rat |
|-----------------------------|------|-------|-----------|
| $T_{max}$ (min)             | 50   | 30    | 0.6       |
| $C_{max}$ (%/l)             | 0.02 | 0.03  | 1.5       |
| $t_{1/2 \text{ elim.}}$ (h) | 17   | 9     | 0.5       |

Reference: May *et al.*, 1992; Lechner and Abdel-Rahman, 1986.

表 4 IPCS と「飲料水中の化学物質作業グループ」によるボロンの安全性評価における不確実性係数適用の比較

Table 1. Comparison of the justification of uncertainty factors used.

|                                 | IPCS                     | Justification   | WGCDW <sup>1</sup> | Justification  |
|---------------------------------|--------------------------|---|--------------------|--|
| Total of UF                     | 25                       |   | 60                 |  |
| Interspecies                    | 3.2 (10 <sup>0.5</sup> ) |   | 10                 |  |
| Absorption                      |                          | Absorption of borates is complete (95% in several mammalian species including humans and rats.  |                    | As for IPCS  |
| Distribution                    |                          | Distribution occurs by passive diffusion, through body fluids, bone selectively uptakes boron (>4 times higher than serum) for rats and humans.                     |                    | As for IPCS  |
| Metabolism                      |                          | Metabolism is thermodynamically unfavorable in biological systems. Therefore there is no difference between species due to metabolism.                              |                    | As for IPCS  |
| Elimination                     |                          | Route of elimination and terminal half life are similar in humans and rats.   | 4                  | It was determined that clearance at steady state kinetics is three to four times faster in rats than humans. To be included in the calculation blood samples should be taken at steady state conditions because of the short half-life of boron. Elimination calculated from overdosed individuals based upon blood boron is physiologically impossible.                       |
| Total kinetics (default is 4)   | 1.3 (10 <sup>0.1</sup> ) | The task group judged that in light of the similarities in kinetics the default value could be reduced from the default of 10 <sup>0.5</sup> to 10 <sup>0.1</sup> . | 4                  | The group judged that the interspecies differences in kinetics were dominated by elimination. A factor of 4 was deemed appropriate.  |
| Dynamics (default is 2.5)       | 2.5 (10 <sup>0.4</sup> ) | Due to lack of data the default of 2.5 was retained   | 2.5                | As for IPCS  |
| Intraspecies                    | 7.9 (10 <sup>0.9</sup> ) |   | 5.7                |  |
| Absorption                      |                          | Data for intrahuman variability are limited.  |                    | As for IPCS  |
| Distribution                    |                          | Data for intrahuman variability are limited.  |                    | As for IPCS  |
| Metabolism                      |                          | There is no metabolism.   |                    | As for IPCS  |
| Elimination                     | Not addressed            |   |                    | It was determined that differences in elimination are dominated by the glomerular filtration rate. Data from primigravidae indicates a 1.8 fold variation between the average pregnant woman and two standard deviations below that. Glomerular filtration at, for example 3 standard deviations below the average is not physiologically compatible with vital life function. |
| Total kinetics (default is 3.2) | 2.5 (10 <sup>0.4</sup> ) | The task group judged that since no variability due to metabolism is expected, that the default of 10 <sup>0.5</sup> can be reduced to 10 <sup>0.4</sup> .          | 1.8                | See note under elimination above.  |
| Dynamics (default is 3.2)       | 3.2 (10 <sup>0.5</sup> ) | There were no data to support a reduction of the default value.   | 3.2                | As for IPCS  |

図1 種差個体差における不確実性係数のトキシコ  
キネイクスとトキシコダイナミクスへの分解

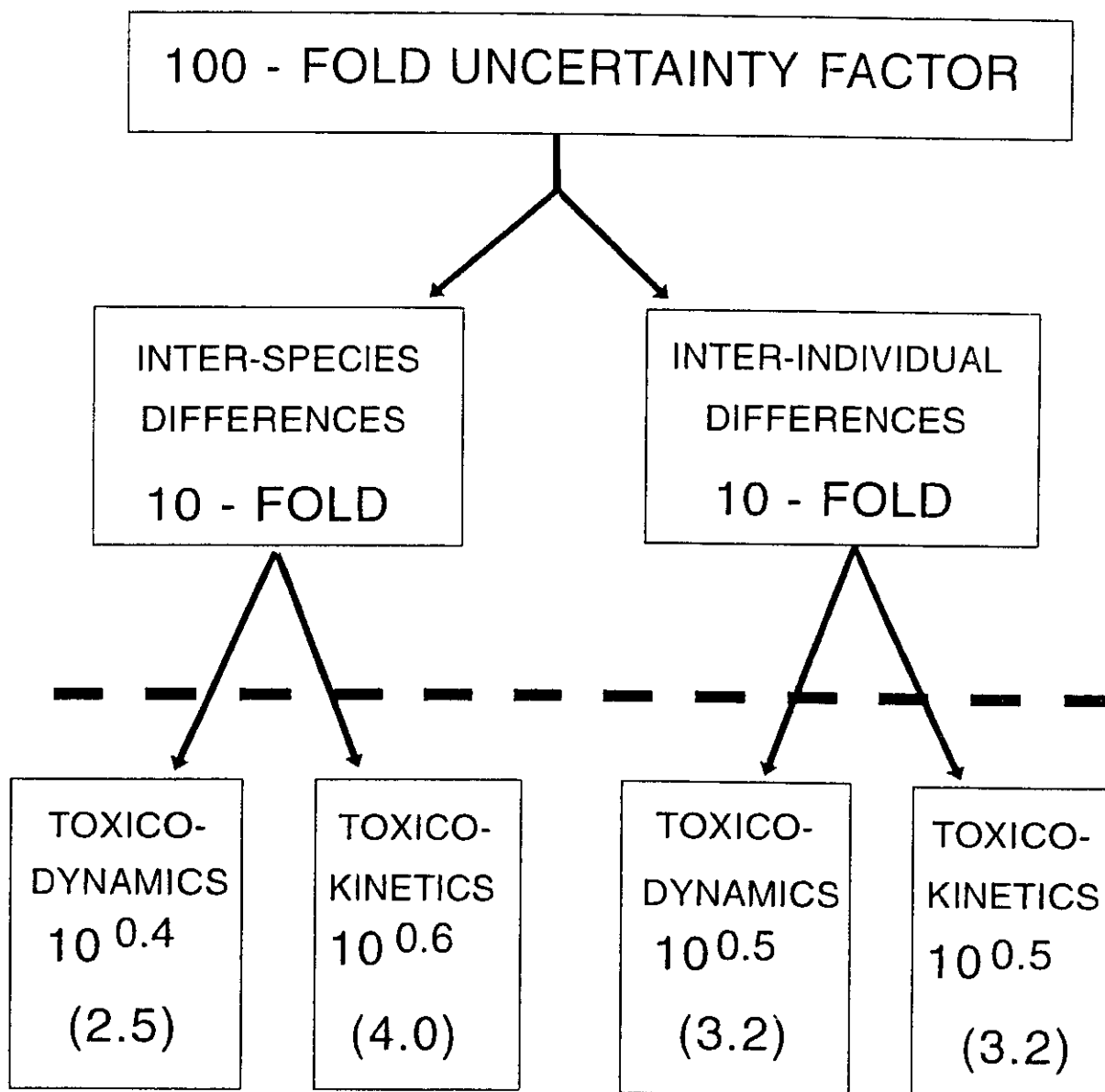


Fig. 2. Subdivision of the 100-fold uncertainty factor showing the relationship between the use of uncertainty factors (above the dashed line) and proposed subdivisions based on toxicokinetics and toxicodynamics (based on Renwick, 1993a). Actual data should be used to replace the default values if available.

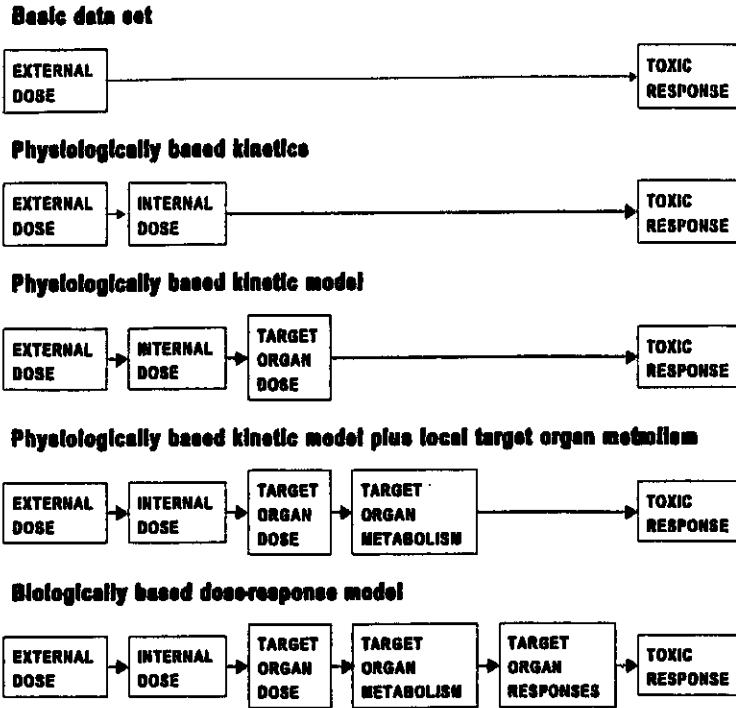


図2 安全性評価に必要なデータセットの入手可能性と種々の予測モデル

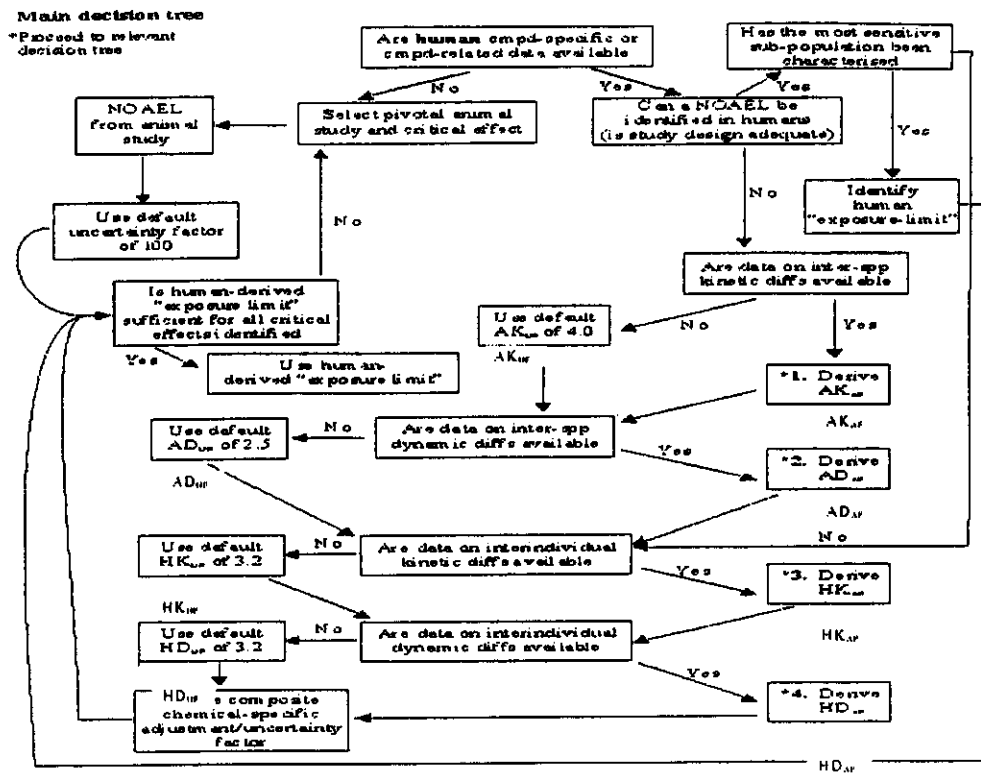


Figure 10 B Overview for development of CSSAUF

図3 化学物質ごとに種差と個体差についての不確実性係数を選択するためのスキーム

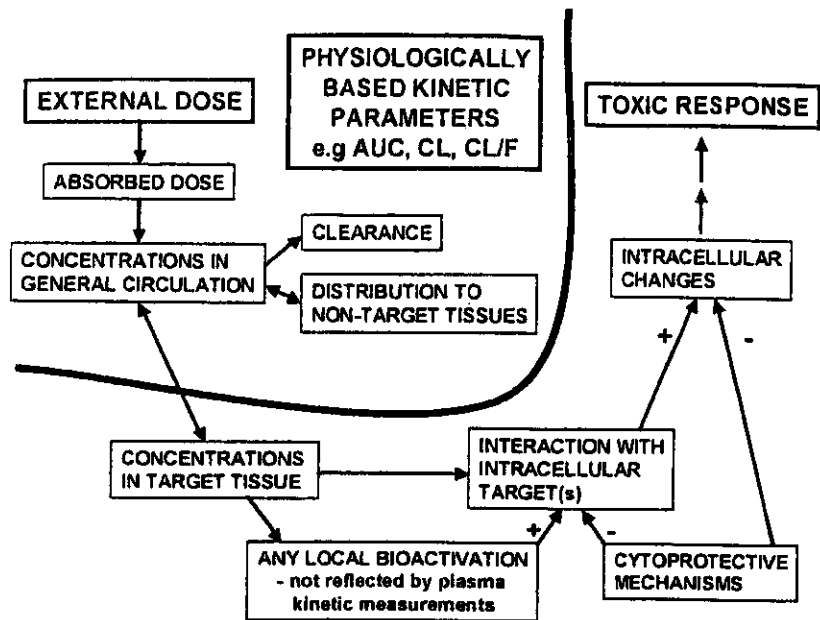


Figure 6.

The subdivision of toxicokinetics/toxicodynamics based on the analysis of available human data (physiologically-based kinetic parameters) (Renwick, 1993; Renwick and Lazarus, 1998).

図4 ヒトのデータにもとづくトキシコキネティクスとトキシコダイナミクス要因の検討

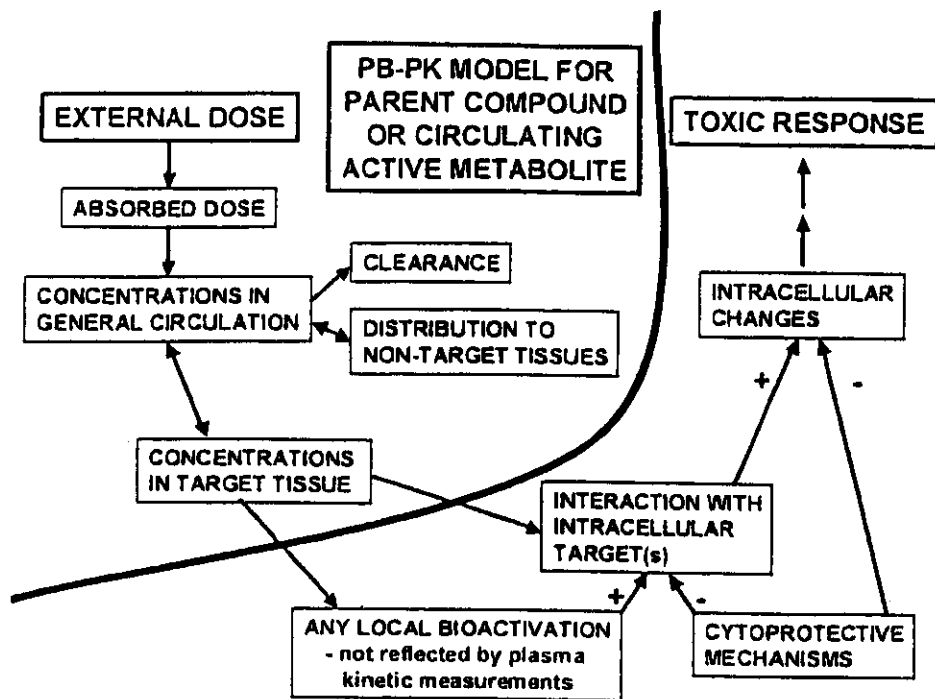


Figure 8.

PB-PK model describing the target organ delivery of the parent compound and/or systemic metabolites.

図5 標的臓器への親化合物または代謝物の分布についてのPB-PKモデル



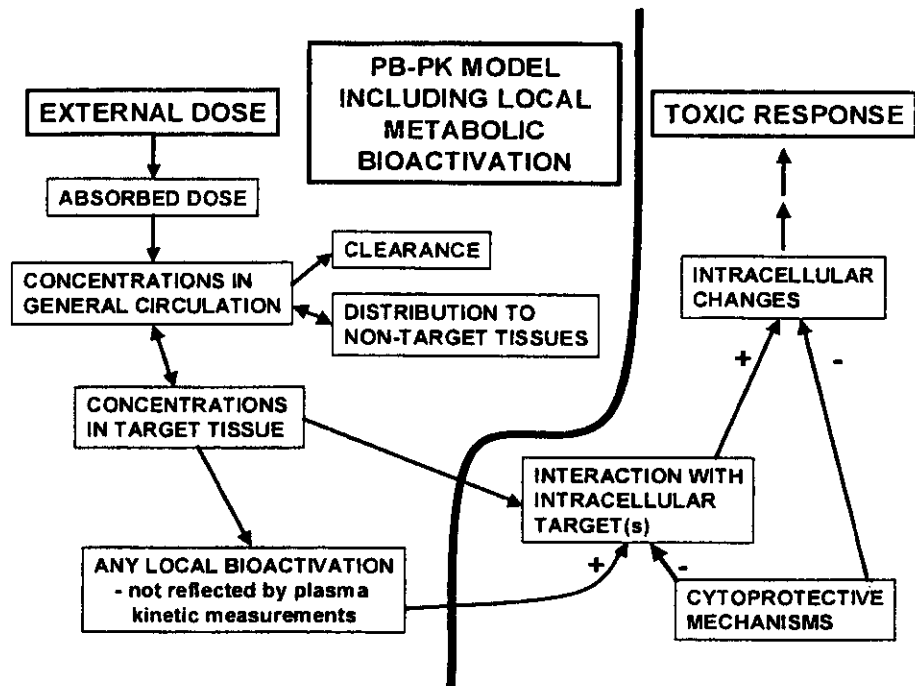


Figure 9.

PB-PK model including local metabolic activation in the target organ.

図6 標的臓器での代謝活性化をふくむPB-PKモデル

## 付録

### **Reproductive and Developmental Toxicology** Korach K ed. (1998) より 部分的に和訳

#### **14. Human health and Phytoestrogens** Herman Adlercreutz

University of Helsinki and Folkhälsan Center, Helsinki, Finland

「日本人の食事に含まれる植物エストロゲン物質による健康影響への寄与の可能性が大きいと推定されたことから、内分泌かく乱化学物質によるリスク評価における不確実性を検討する上で重要と考え、本論文の翻訳を試み、資料として添付した。」

## 14. Human health and Phytoestrogens

Herman Adlercreutz

University of Helsinki and Folkhälsan Center, Helsinki, Finland

### ヒトの健康と植物エストロゲン

#### はじめに

西欧型の食事が、西ヨーロッパ、アメリカ、カナダの、さらには現在では多くの東欧諸国の慢性あるいは退行変性疾患の主な原因であるとする説を支持する疫学研究、あるいは移民研究が、最近の20~30年間に数多く発表されている(Dunn, 1975; Trowell and Burkitt, 1981; Reddy and Cohen, 1986a, 1986b; Rose et al., 1986; Stanford et al., 1995; Griffiths et al., 1996)。ホルモン依存性がん、結腸がん、冠動脈疾患などがそのおもなものである。乳がん、結腸がん、前立腺がんの発生率は、フィンランドや地中海沿岸地域、とくに東部および北部では、西ヨーロッパや北米より低い、日本や中国などのアジアの国より高く、少なくともその原因の一部は食事であるといつてよい(Teppo et al., 1980; Reddy et al., 1985, 1987; Rose et al., 1986; Pukkala et al., 1987; Adlercreutz, 1990b; Rose, 1992; Minami et al., 1993; Kliewer and Smith, 1995; Tominaga and Kuroishi, 1995; Willett et al., 1995; Griffiths et al., 1996)。疫学研究および動物実験の結果、上記疾患の発生率に高脂肪低繊維の食事が大きく寄与していることが判明した。しかし、乳がんについてはその結論が疑問視されている(Willett et al., 1992)。どちらの立場に立つにしても、がんおよび冠動脈疾患の高発症率に関して、高脂肪低繊維食以外の原因についても考慮する必要があると思われる。

これらの疾患が、すべて性ホルモンおよびその代謝に程度の差はあるものの、関わっている事実から、発展途上国あるいはアジアの国々の菜食あるいは半菜食に比べて、西欧型の食事がホルモン生成、代謝、あるいは細胞レベルの作用をなんらかの生化学的機序で変化させているのではないかとの仮説がたてられる(Adlercreutz et al., 1982a, 1984, 1990b, 1991d, 1995c; Griffiths et al., 1996)。ヒトの体液中の、ステロイドと類似の分子量や構造を持つ植物由来のリグナンやイソフラボノイドの検出や同定によって、これらはステロイドホルモンの代謝や活性の重要な調整役であるかもしれないという考えが浮かんだ(Adlercreutz et al., 1982a, 1986c; Setchell et al., 1984; Adlercreutz, 1984, 1988a, 1990b; Bannwart et al., 1984a; Setchell and Adlercreutz, 1988)。哺乳類リグナン(Setchell and Adlercreutz,

1979; Setchell et al., 1980a,c; Adlercreutz et al., 1982a)は以前には知られていなかった化合物であるが、これらのイソフラボノイド類は、いわゆる植物エストロゲンのなかでもっとも重要なグループで、獣医学の分野ではよく知られていた(Price and Fenwick, 1985)。

しかし、獣医学の分野では重要であるにもかかわらず、イソフラボノイドのヒトへの病原性(Lindner, 1976)あるいは有効性に関する役割についての証拠はなかった。哺乳類リグナンが発見されてすぐ後に、両ジフェノール基はその類似する構造から呼応して重要な作用をしていることがわかった。事実、リグナンは、性ホルモン代謝や生物学的作用に影響を及ぼすだけでなく、細胞間・ステロイド代謝酵素、タンパク質合成、成長因子作用、悪性細胞増殖、血管新生、カルシウム輸送、 $Na^+/K^+$  ATPアーゼ、血管平滑筋細胞、脂質酸化、細胞分化に影響を及ぼすことがわかり、がん、あるいは冠動脈疾患などの退行性疾患の予防に効果がある化合物としての役割を果たす強力な候補とされている。

リグナンおよびイソフラボノイドについての文献は多く、それにつれてがんを含む西欧型疾患の予防のためとして、イソフラボノイドやリグナンを含む食物の生産や摂取も増えつづけている。これらの化合物がヒトの健康に果たす役割について信頼の置ける研究調査が必要であろう。しかし、ヒトの健康へ植物エストロゲンが及ぼす意味について理解するためには、これらの化合物のヒトでの生理および代謝を理解する必要がある。この章ではこれらについて考察する(参考文献として以下も挙げられる: Setchell and Adlercreutz, 1988; Adlercreutz, 1990, 1995c; Messina et al., 1994a,b; Clarkson et al., 1995a; Adlercreutz et al., 1995a; Knight and Eden, 1995; Griffiths et al., 1996)。

## 植物エストロゲンの定義

植物エストロゲンは、植物に由来するエストロゲン活性を持つ化合物と定義される。300種以上の植物がエストロゲン活性を持つが(Bradbury and White, 1954; Farnsworth et al., 1975)、ステロイドエストロゲンを含むものもあり(Labov, 1977)、私見ではこれらを植物エストロゲンに入れてはならないと考える。植物由来のエストロゲン活性を持つステロイドは、ヒトの尿に含まれているもの(エストロン、エストラジオール、エストリオール)と同一である。動物やヒトはエストロゲン活性を持つ植物全種類の半分以下しか摂取していない。植物由来の非ステロイド化合物で、エストロゲン活性を有するもの数は、常に増えつづけており、現在知られている限りで40種類を超えている。その多くはヒトが摂取しないという実際的な理由か