

リドが0.01以上の値を示したが、総じてこれまでの調査より低い値であった。

検出率は、河川水でイミダクロプリド、ベンタゾン、プロモブチド、ダイムロン、カルボフラン、ペノミル、ベンスルフロメチルが25%以上と非常に高い値を示し、特にイミダクロプリド、ベンタゾンは70%以上と特に高い値を示したが、目標値の1/100以上での検出率はイミダクロプリドで0%、ベンタゾンは3.66%となり、低濃度で検出されていることが分かる。原水ではベンタゾン、ピラクロニル、プロモブチド、イミダクロプリドが25%以上と高い値を示した。ピラクロニルは今シーズンから測定を開始した農薬であり、今後の動向を注目する必要がある。これ以外にも9農薬が10%以上の値を示した。浄水ではベンタゾン、プロモブチドが10%以上の高い値を示した。これ以外にも14農薬が1%以上の高い値を示した。昨年の結果と比較して、総じて検出率は低下しているが、高い頻度で検出される農薬はほぼ同様であった。また、先の述べた通りベンタゾン、イミダクロプリド、プロモブチドデブプロモ、ダイムロンなどは高い頻度で検出されるが検出濃度が低く、逆に、プロモブチド、モリネート、フィプロニルなどの農薬は目標値を考慮した際、比較的高頻度かつ高濃度で検出されており、今後の動向に注目し、適切な対策を講じる必要があると考えられる。検出指標値(Σ値)に関しては、河川水での最大が0.3860で、0.1を超えたケースが8回認められた。原水では、最大が0.6904で0.1を超えたケースが24回認められた。浄水では、0.0653で0.1を超えるケースが30回認められたが、いずれもこれまでの調査と同程度か低い値を示していた。また、効率的な農薬管理を行うための農薬のグループの見直しに関しては、平成15年の厚生科学審議会答申に基づき、検討対象の農薬の選定を行った。具体的には現在の第一群、第二群、第三群の農薬に加え、①国内推定出荷量を一日最大許容摂取量(ADI)で除した値が、除草剤、殺虫剤、殺菌剤ごとにそれぞれ上位30位までに入るもの、②国内推定出荷量が上位30位までに入るものとし、その他過去の経緯等から注意すべきものとして、ゴルフ場使用

農薬の暫定指導指針の対象農薬、国内における水道水中の農薬の存在に関する調査研究の対象となっている農薬、過去5年間で出荷量が急増しており、今後出荷量の増大の可能性のあるものとした。結果、クロルピクリン、フェントラザミド、カズサホス、ピラクロホス、トルフェンピラド、DBEDC、メチルイソチオシアネート、カルボスルファン、ホサロン、シプロジニル、フルスルファミド、プロピネブ、チアジアジン、テブコナゾール、ジフェノコナゾール、バリダマイシン、オキサジクロメホン、ボスカリド、テトラコナゾール、シメコナゾール、トリフルミゾール、オキサジアルギル、アセタミプリド、クロチアニジン、チアメトキサム、ジノテフラン、チアクロプリド、オリサストロビン、チアジニル、プロマシル、ベンゾビシクロンの31農薬が該当し、分析法やそれぞれの農薬の地域別出荷量や適用作物を検討し、今後農薬のグループ分けの見直しを進める予定である。

## 2) 感度解析に基づいたスコア表の作成と評価

水質管理目標設定項目に指定されている殺菌剤と除草剤を対象としてスコアの合計値から河川中最大濃度を推定し、総農薬方式で定義されているDVI/GVI(検出値/目標値)の値が0.01を超える農薬を監視すべき農薬として選定した。結果の一例は図1のようである。農薬濃度は目標値の1/100までの定量が求められていることから、濃度が目標値の1/100以上となることが予測される農薬を選定すると16農薬となった。この内、7農薬は実測された濃度が目標値の1/100以上となっており、残りの内7農薬は目標値の1/100以上を超える観測値は無かった。残りの2農薬は観測自体が無かった。この方法を3つの流域の4年間の農薬濃度データに適応すると、それぞれの流域で流通していると思われる水田農薬の内26~75%が監視すべき農薬として選定された。選定されなかった農薬はすべて観測値の最大濃度は目標値の1/100以下であったことから、新しいスコア表を用いた監視農薬の選定方法が比較的有効である事が示された。農薬の出荷量を全国8地域ごとにまとめたところ、使用量の地域的偏在が明らかとなった。

例えば、図2に示すようにプロペナゾール、ジウロンはそれぞれの全国出荷量の2/3、1/2が、それぞれ東北、関東で流通している。さらに、農作物・農薬ごとの標準農薬散布量と流域の作付面積から、水田への散布が多い(90%以上)と水田以外への散布される農薬を選び、それらについて出荷量と河川中濃度の関係を調査した。その結果、水田以外への散布される農薬は濃度が低いことが分かってきた。例えば図3に示すように馬淵川では、水田に散布されない農薬は全て平均濃度が0.01 µg/L以下の低い値であるが、水田農薬については出荷量と濃度に相関がみられ、0.3 µg/L以上の濃度を示す農薬も存在する。

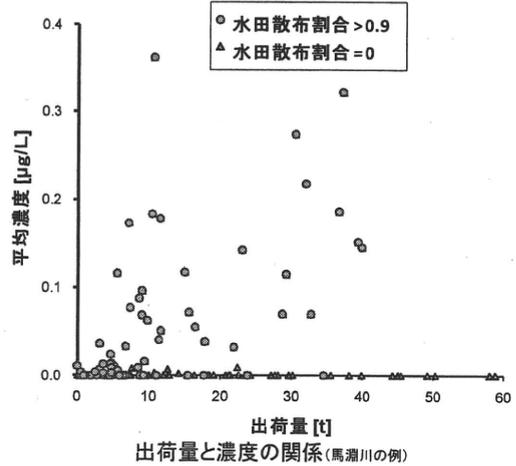


図3 農薬の平均検出濃度と出荷量の関係(2008、馬淵川)

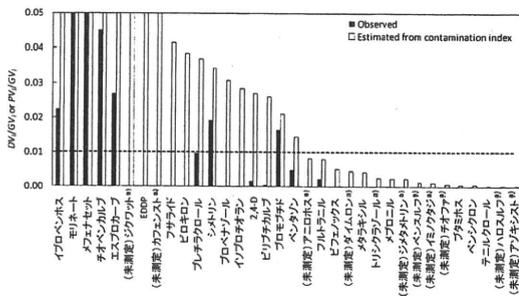


図1 2004年、相模川における水田農薬の $PV_i/GV_i$ 値(白ぬき)と $DV_i/GV_i$ 値(黒)の比較(PV<sub>i</sub>: 推定最大濃度、GV<sub>i</sub>: 水質管理目標設定項目における目標値、DV<sub>i</sub>: 観測最大濃度)

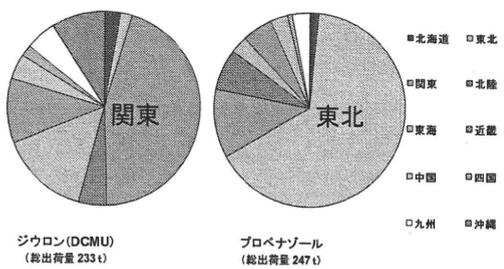


図2 農薬原体の地域別出荷量割合(2008)

### 3) qNMR を用いた市販農薬標準品の絶対純度決定

対象とした41製品のうち80.5%に相当する33製品(新品18製品、開封済み15製品)のqNMRによる絶対純度は、それぞれの成績書記載の純度と総じてほぼ等しい値を与える結果となった。一方、3製品計8製品の絶対純度は95%以下であった。特に、プレチラクロール3製品の絶対純度は76.9~77.1%で、添付の成績書に記載の面積百分率による純度97.7~99.8%と大きな開きがあった。また、今回、qNMRによる純度試験に供した農薬は概ね1製品1ロットについてであり、市販標準品の純度について正確な情報を収集するためには、ロット間差についても今後検討する必要があると考えられた。

### 4) ネオニコチノイド系農薬の実態と浄水処理性の評価

ネオニコチノイド系農薬7種の1999~2009年度までの10年間の全国出荷量を算出したところ、1999年度は153.9 tに対し、2009年度は410.7 tと10年間で約2.6倍の増加が認められ、新たな殺虫剤として市場に浸透していることが示された。また、LC/MSを用いた分析方法及び前処理方法の検討を行い、前年と同様鶴見川流域において実態調査を実施した。その結果、対象とした7種(アセタミプリド(ACE)、イミダクロプリド(IMI)、チアクロプリド(THI)、クロチアニジン(CLO)、ジノテフラン(DIN)、チアメトキ

サム (TMX)、ニテンピラム (NIT) うち、ACE、IMI、THI、DIN、NIT の 5 種が検出され、最大濃度は IMI の 0.42  $\mu\text{g/L}$  であったが、IMI の目標値 200  $\mu\text{g/L}$  と比較すると低いが、検出率は 59.5% と頻繁に検出された。浄水処理性に関しては、凝集沈殿処理ではいずれの農薬もほとんど除去することができなかった。塩素処理では NIT が処理時間 0.25 hr で初期濃度に対する割合が 0.3% と速やか処理が確認されたが、これ以外の 6 農薬は、処理時間 24 hr における初期濃度に対する割合が 84.7% ~ 94.7% と反応性が低く、ほとんど除去できないことが示された。活性炭処理では、THI が最も除去され、処理時間 24 hr における初期濃度に対する割合が 7.9% となり、除去性が低い DIN は処理時間 24 hr における期濃度に対する割合が 69.1% であった。また、Freudlich 式吸着等温線に基づき試験物質を 90% 除去できる活性炭注入率を求めたところ、最も除去が期待できる THI においても 4.48 mg/L となり、浄水処理において十分な除去が期待できことが示唆された。

## E. 結論

平成 21 農薬年度の農薬製剤総出荷量は約 24.6 万 t で引き続き減少を続けている。一例として、ネオニコチノイド系農薬の出荷量の地域差について検討したところ、総出荷量は各都道府県で大きな違いがないが、各農薬原体について見ると大きな違いが認められ、使用実態を考慮し、農薬の監視を行う必要が高いことが示された。

12 事業体の詳細な実態調査において今年度水道原水で検出された農薬は、80 農薬 (第一群農薬 56、第二群農薬 2、第三群農薬 5、酸化物・分解物 15、その他 2) であった。検出率 10% を超える農薬が 13 農薬あった。個別農薬評価値と比較すると、モリネート、プロモブチド、エスプロカルブの 3 農薬が 0.1 を超えて検出された。今年度新たに、ピラクロニル、フェントラザミドが検出された。また、第一群以外では、イミダクロプリド、ピラゾスルフロンエチル、シアナジン、ベンゾフェナップ、イマズスルフロンが比較的高い頻度で検出された。浄水では、38 農薬 (第一群農

薬 31、第三群農薬 2、酸化物・分解物 3、その他 2) が検出された。ベンタゾン、プロモブチドの検出率は 10% を超えていた。

神奈川県のある地域を対象とした検討では、農薬のうち、水田に散布される農薬が流出し検出される傾向が明らかとなった。また、水田における殺虫剤のバイジット粒剤 (含有成分 MPP) の一斉散布が中止されたところ、原水の検出指標値が大幅低下した傾向が観察された。水田における農薬散布後の止水の期間が長いと農薬の流出が抑制されるため、農薬散布における水田管理の状況も検出時期に影響する可能性があることがわかった。

今後は、販売量等に地域的な偏りがある農薬、使用量が大幅に増加しているネオニコチノイド系農薬、新規にゴルフ場使用農薬に加えられた農薬なども含め、測定方法の整理を行うとともに、検出状況等を考慮した農薬の第一~三群の分類見直しに資するデータの構築を行う予定である。

モデルシミュレーションの感度解析に基づいた算出された新しいスコア表を用いて、水質管理目標設定項目に指定されている水田用の殺菌剤と除草剤の中から監視すべき農薬の選定を行い、観測データと比較した結果、新しいスコア表を用いた監視農薬の選定が比較的有效である事が示された。水田用農薬に比べると他の用途の農薬は河川中濃度が低いことから、水田への使用割合を考慮した出荷量、さらには、新しいスコア表を用いて農薬の分解や溶解に関する物性値を考慮して流出危険度を評価する必要があることが示された。さらには、農薬出荷量は地域ごとに大きな違いがあることから、観測すべき農薬の選定は全国一律ではなく地域性を考慮すべきである。

30 農薬類、41 製品の標準品の純度について、qNMR とクロマトグラフ法で比較を行った結果、クロマトグラフ法による面積百分率により値付けられた試薬メーカーの成績書記載の純度は、絶対量を示しているわけではなく、言い換えれば、SI トレーサビリティが確保された絶対量を示していないことが明らかとなった。また、仮にこれらの市販農薬標準品の純度を 100% としてクロマトグラフ法により検量線を作成し、定量分析を行ったとすると、

得られる定量分析値は真値より5.5～43.1%の誤差を生じることになると言える。

近年、有機リン系農薬に替わり使用量が増加しているネオニコチノイド系農薬に関して国内で登録にある7種についてLC/MSを用いた分析方法を検討し、鶴見川流域において実態調査を実施した。また、これらの農薬の浄水処理性評価として、凝集沈殿処理、塩素処理、活性炭処理について検討を行った。ネオニコチノイド系農薬1999年～2009年度までの10年間で全国での出荷量が2.6倍増加していた。実態調査では5種の農薬が検出され、中でもイミダクロプリドの検出率は59.5%と頻繁され、検出濃度も最も高かったが、いずれの農薬も水質管理目標値と比べる検出濃度は低かった。浄水処理性に関しては、凝集沈殿処理ではいずれの農薬も除去がほとんど期待できず、塩素処理ではニテンピラム以外の農薬は処理性が悪く、処理時間24 hr時における初期濃度に対する割合が84.7%～94.7%であった。活性炭処理では、チアクロプリドは比較的良好に除去されたが、それ以外の農薬の除去性は低くことが示された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tahara, M., Kubota, R., Shimizu, K., Sugimoto, N. and Nishimura, T.: Risk assessment of fenthion oxide derivatives in aqueous environment. *J. Water and Environment Technology*, 8(3), 215–221, 2010.
- 2) Tani, K., Matsui, Y., Narita, K., Ohno, K. and Matsushita, T.: Sensitivity analysis using a diffuse pollution hydrologic model to assess factors affecting pesticide concentrations in river water. *Water Science and Technology*, 62(11), 2579–2589, 2010.

### 2. 学会発表

- 1) Tani K., Matsui Y., Kamata M., Iwao K., Ohno K. and Matsushita T.: Runoff sensitivity

analysis to prioritize pesticides for monitoring. 14th IWA international specialist conference on diffuse pollution: diffuse pollution and eutrophication, 2010.

- 2) Tani, K., Matsui, Y., Kamata, M., Iwao, K., Ohno, K. and Matsushita, T.: Determining and verifying property-based pesticide scores for priority setting based on sensitivity analysis with runoff model. *Water and Environment Technology Conference 2010*, 2010.
- 3) 田原麻衣子, 久保田領志, 清水久美子, 杉本直樹, 西村哲治: 水試料中の農薬の定量値における不確かさ. 第47回全国衛生化学技術協議会年会, 2010.
- 4) 鎌田 素之, 相澤 貴子, 松井 佳彦: 第一群農薬の検出実態と今後の監視農薬, 第61回全国水道研究発表会, 2010.
- 5) 直井 啓, 鎌田 素之: 水環境中におけるネオニコチノイド系農薬の存在実態と浄水処理性の評価, 第47回環境工学研究フォーラム, 2010.
- 6) 鎌田 素之: 水環境中におけるネオニコチノイド系農薬の存在実態, 第24回環境ホルモン学会講演会, 2011.
- 7) 恩智弘和, 田原麻衣子, 久保田領志, 清水久美子, 山形一雄, 杉本直樹, 西村哲治: qNMRによる残留農薬試験用標準品の純度決定に関する研究, 第45回日本水環境学会年会, 2011.
- 8) 佐武宗幸, 田原麻衣子, 久保田領志, 清水久美子, 鎌田素之, 杉本直樹, 西村哲治: 有機リン系農薬 ピリミホスメチルの塩素処理による反応生成物とその細胞毒性, 第45回日本水環境学会年会, 2011.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究  
— 寄与率分科会 —

研究代表者	松井佳彦	北海道大学大学院工学研究科 教授
研究分担者	伊藤禎彦	京都大学地球環境学堂 地球益学廊 教授
	西村哲治	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部長
	浅見真理	国立保健医療科学院 水道工学部 水質管理室長
研究協力者	国包章一	静岡県立大学環境科学研究所 教授
	柳橋泰生	福岡女子大学 教授
	大野浩一	大阪大学大学院工学研究科 准教授

研究要旨：

科学的根拠に基づいた合理的な水道水質基準における評価値を算定する方法を提案するため、重金属、消毒副生成物、微量有機物質等を例として日本人の摂取量調査に関する検討を行った。ホウ素については、モンテカルロ・シミュレーションを用いて日本人の有害金属の摂取量分布の推計を行い、さらに摂取量分布を考慮したTDIに対する水への割り当て率のリスク評価を行った。その結果、水道水のホウ素濃度が0.8 mg/Lの場合は、全ホウ素摂取量の中央値はTDIを超えてなかったが、95%ile値はTDIに達し5%の人口のホウ素摂取量がTDIを超過していることが推定された。ホウ素濃度0.8 mg/Lを飲水量2 L/dayと平均体重50kgで換算すると、水への最大可能割り当て率は34%と計算され、現行値にほぼ近い値となった。消毒副生成物については、トリハロメタンとハロ酢酸をとりあげ、飲用寄与率を試算して提示した。飲用曝露量、吸入曝露量、経皮曝露量、食品曝露量に関する実測データに基づいて飲用寄与率を試算したほか、種々の項目に分布を与えた上でモンテカルロシミュレーションによって推定することも試みた。安全側とするため5パーセントイル値を採用した。この結果、トリハロメタンに対して5~10%、ハロ酢酸に対して10~40%を推奨した。この他、これまでにハロアセトニトリルに対し50%、抱水クロラールに対し80%を提示している。塩素酸・過塩素酸摂取量調査において、塩素酸は、水道水中からの寄与率が47~77%、過塩素酸では、水道水の寄与率は、0.6~22%であったが、米の炊飯などに使う水道水の不確実性分析を一部行った結果、水道水摂取量の影響が大きいため、水道水摂取量について、実態に即したデータを得るための調査が必要であることがわかった。

A. 研究目的

WHO 飲料水水質ガイドラインでは、閾値のある化学物質に対するガイドライン値は、耐用一日摂取量（TDI: tolerable daily intake）とTDIの飲料水への割り当て率に基づいて導出されている。しかしその割り当て率を決定する方法論が明確ではないのが現状である。そこで、モンテカルロ・シミュレーションを用いて日本人の有害金属の摂取量分布の推計を行い、摂取量分布を考慮することによって

水質基準における評価値と水への割り当てを合理的に算出する方法を検討した。また、消毒副生成物のうちトリハロメタンとハロ酢酸をとりあげ、飲用寄与率を試算して提示した。飲用曝露量、吸入曝露量、経皮曝露量、食品曝露量に関する実測データに基づいて飲用寄与率を試算したほか、種々の項目に分布を与えた上でモンテカルロシミュレーションによって推定することも試みた。

## B. 研究方法

本年度は以下の内容について研究を実施した。

### 1) 暴露評価とリスク評価に基づく水道水質基準における割り当て率の評価

金属摂取量分布の推計手順の概略を図1に示す。推計はモンテカルロ・シミュレーションにより行った。食品中の金属濃度には平成21年全国10か所のトータルダイエツト調査により14の食品群に分類された食品サンプルを分析したデータを、食品摂取量には平成18年国民健康・栄養調査特別集計の摂取量分布のデータを用いてそれぞれ分布を仮定した。これらの仮定に従って、モンテカルロ法によりランダムに決定した値を乗じて食品群ごとの金属摂取量を算出し、食品14群について足し合わせることで金属摂取量を算出した。この操作を繰り返すことによって金属摂取量分布を推計した。なお、パンと米の摂取量など、いくつかの食品間には、栄養データが一致するように推定された摂取量間の負の相関係数を与えた。さらに、水道水中の金属濃度によって、調理された食品中の金属濃度は変化することから、調理による間接飲水量も考慮した。

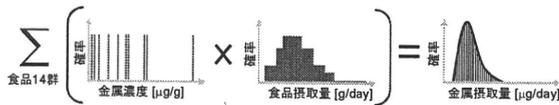


図1 金属摂取量分布の推計手順の概略

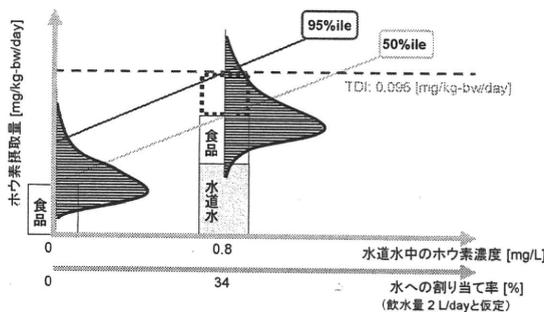


図2 水道水中のホウ素濃度に対するホウ素摂取量の変化と水への割り当て率

水道水中の金属濃度に飲水量2 L/dayを仮定して乗じ、水道水質基準で用いられているホウ素のTDIと50 kg(日本人の平均体重と

仮定)で除することにより、水への割り当て率を計算した。

### 2) 飲用寄与率分布を用いた消毒副生成物の飲用寄与率

消毒副生成物のうちトリハロメタンとハロ酢酸をとりあげ、飲用寄与率を試算して提示した。飲用曝露量、吸入曝露量、経皮曝露量、食品曝露量に関する実測データに基づいて飲用寄与率を試算したほか、種々の項目に分布を与えた上でモンテカルロシミュレーションによって推定することも試みた。

### 3) 塩素酸・過塩素酸摂取量調査における寄与率

これまでの調査に引き続き、トータルダイエツトスタディ(TDS)試料の分析を行い、塩素酸、過塩素酸を例とする、食品由来の摂取量に関する調査を行った。摂取量の推定を行うとともに、その前処理方法も考慮して、食品と水道水由来の摂取量の比較を行った。

## C. 研究結果及びD. 考察

### 1) 暴露評価とリスク評価に基づく水道水質基準における割り当て率の評価

図2に水道水中のホウ素濃度の変化に応じたホウ素摂取量の変化を示す。図中の縦棒グラフは食品由来と水道水由来のホウ素摂取量分布の中央値を示している。横棒グラフはホウ素摂取量の人口分布を表している。水道水中のホウ素濃度0 mg/L、すなわち食品由来のみのホウ素摂取量の中央値は0.028 mg/kg-bw/day、分布の95%ile値は0.054 mg/kg-bw/dayであり、どちらもホウ素のTDIである0.096 mg/kg-bw/dayを超えなかった。ホウ素濃度0.8 mg/Lの場合においても、ホウ素摂取量の中央値はTDIを超えておらず、TDIに対してマージンが存在する。しかし95%ile値にける摂取量はTDIに達し、5%の人口はホウ素摂取量がTDIを超過していることが推定された。飲水量2 L/dayと日本人の平均体重50kgを仮定し、このホウ素濃度0.8 mg/Lから水の割り当て率を算出すると34%と計算された。よって、ホウ素については、水への最大可能割り当て率は現行値である

40%を若干下回るものの、おおむね現行値と一致した。

## 2) 飲用寄与率分布を用いた消毒副生成物の飲用寄与率

トリハロメタンとハロ酢酸をとりあげ、安全側とするため、飲用寄与率の分布について5パーセンタイル値を採用し飲用寄与率を試算したところ、トリハロメタンに対して5~10%、ハロ酢酸に対して10~40%が導出されることがわかった。この他、これまでにハロアセトニトリルに対し50%、抱水クロラルに対し80%を導出している。

## 3) 塩素酸・過塩素酸摂取量調査における寄与率

塩素酸・過塩素酸摂取量調査において、塩素酸は、水道水中からの寄与率が47~77%と高く、また、食品中からの摂取量の中でも水道水由来の塩素酸を有すると考えられる食品群もあった。例えば米類の炊飯調理、芋・麺類の茹でる、煮るなどの調理によって水道水中の塩素酸に起因したと考えられる食品群である。米炊飯の割合を水道水の寄与に含むとすると51~77%であった。食品中、及び水道水中の摂取量の合計値を成人1人あたりのTDIと比較すると、4割以下であった。

一方、過塩素酸については、乳製品類中の過塩素酸濃度が測定濃度については比較的高かったものの、摂取量に換算すると特異的に高いレベルではなかった。昨年度の分析で、野菜海草類、雑穀芋類について特異的に高い地点があったが、今年度はそのような地点はなかった。水道水の寄与率は、0.6~22%、米炊飯を水道水の比率として加えると1.0~26%の範囲であった。

## E. 結論

摂取量分布を考慮した水への割り当て率

(TDIに対する飲料水由来の摂取量の比)の算出法を提案した。本方法で、ホウ素に関する水道水の最大可能割り当て率を算出したところ、現行値を若干下回るがおおむね同程度の値が算出された。消毒副生成物、塩素酸、過塩素酸についても、それぞれ水道水の寄与率やその分布が導出された。

しかしながら、データの比較や不確実性分析の結果から、水道水摂取量の影響が大きく、水道水摂取量について、実態に即したデータを得るための調査が求められる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ohno, K., Ishikawa, K., Kurosawa, Y., Matsui, Y., Matsushita, T. and Magara, Y., Exposure assessment of metal intakes from drinking water relative to those from total diet in Japan, Water Science and Technology, 62(11), 2694-2701, 2010.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）

分担研究年度終了報告書

水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究

リスク評価に関する研究

研究分担者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	室長
研究分担者	平田 睦子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	主任研究官
研究協力者	長谷川 隆一	(独) 製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター	安全審査課 技術専門職員
研究協力者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	主任研究官
研究協力者	鎌田 栄一	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	再任用研究員
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	研究員
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	研究員
研究協力者	加藤 日奈	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室	研究補助員

研究要旨

環境経路暴露により健康影響が懸念される銀について、体内動態および毒性に関する情報を収集・整理した。さらに、最新の安全性評価手法として近年注目されつつある、化学物質の複合暴露によるリスク評価手法及び作用機序に基づいた用量反応評価手法について国際動向を含めた最新情報を収集しまとめた。銀の毒性情報としては、過量摂取による明らかな徴候は、銀症（皮膚や毛髪の重度の変色）のみであり、WHOの飲料水水質ガイドラインでは、現時点の疫学および薬物動態的知見から、銀の生涯総経口摂取量、およそ10gをヒトにおける無毒性量と考えることが出来ると結論している。近年、ナノサイズの銀の利用が広まりつつあり、比較的高用量であるものの、ナノ銀を反復経口投与した動物実験において、肝臓への影響を示唆する結果が得られている。この影響がイオン化した銀によるものなのかナノ銀特有の影響なのかさらなる研究が必要である。化学物質の複合暴露によるリスク評価手法については、近年、多くの研究成果が報告されている。WHO/IPCS、米国、EU及び欧州各国において多くの検討がなされており、種々のガイドラインや勧告書等が公表されていた。作用機序に基づいた用量反応評価手法については、WHO/IPCS及びILSIがその枠組みやガイドラインを検討・開発し、国際的な合意を得るに至っているものの、具体的な方法については未だ十分な検討が行われておらず、現時点では実際のリスク評価に適用する段階には至っていない。これらの手法を用いることで、科学的な根拠に基づいた評価が可能になることから、これらの新しい評価手法を積極的に取り入れた基準値等の設定を推進していくことが望ましいと考えられる。

## A. 研究目的

本研究は、飲料水中の化学物質の基準値設定及び改定に資するために、食品安全委員会やWHOが新たに健康影響を評価した化学物質や、新たに健康影響が懸念される化学物質の毒性情報を収集し整理すると共に、化学物質の安全性評価手法に関する最新知見の動向調査を行い、得られた知見の基準値設定等への適用の妥当性について検証することを目的としている。

本年度は、環境経路暴露により健康影響が懸念される銀について、体内動態および毒性に関する情報を収集し、整理した。さらに、最新の安全性評価手法として近年注目されつつある、化学物質の複合暴露によるリスク評価手法及び作用機序に基づいた用量反応評価手法について国際動向を含めた最新情報を収集しまとめた。

## B. 研究方法

### 1. 銀の毒性及び体内動態に関する情報収集・整理

銀の体内動態および毒性に関する情報の収集及び整理を行った。文献検索は、公表されている評価文書や review を基に、関連する文献入手した上で、Medline や Toxline などを用いて最新情報を検索した。

### 2. 化学物質の複合曝露によるリスク評価手法に関する情報調査

2009年12月に欧州共同体の環境総局 (DG Environment)により公表された『混合物の毒性に関する研究展望報告書 (State of the Art Report on Mixture Toxicology)』をもとに、化学物質の複合曝露によるリスク評価手法 (ヒト健康影響)に関する文献情報を整理し、さらに、国際機関、米国および欧州における規制の状況や動向をまとめた。

### 3. 作用機序に基づいた用量反応評価手法に関する情報調査

毒性発現の作用機序 (MOA, Mode of Action)に基づいた用量反応評価のた

めの最新手法の概略をまとめるとともに、核内受容体を介した肝腫瘍発生について MOA に基づいた用量反応評価の適用性を検討したワークショップでの議論内容を整理した。

## C. 研究結果と考察

### 1. 銀の毒性及び体内動態に関する情報収集・整理

#### 1.1. 体内動態

銀は、呼吸器、消化器、粘膜及び皮膚の損傷部位から吸収されうる (US EPA, 1980)。実験動物にコロイド銀や放射性銀を経口投与した後の銀の経口吸収率は 0.1~10%と報告されている (Dequidt et al. 1974; Furchner et al. 1966; Scott and Hamilton 1950)。一方、ヒトにおいては、コロイド銀溶液の服用により銀症が発生した報告が多くあり (“1.3. ヒトの健康への影響の項”参照)、服用後の血中銀濃度の増加 (Gulbranson et al. 2000; TGA, 2007)は、銀の消化管吸収を証拠づけるものであるが、その吸収率に関しては信頼できるデータの報告はなかった。

血中に吸収された銀の多くはグロブリンに結合する (Lifshits 1965; Scott and Hamilton 1950)。銀の組織分布は、投与した銀の化学種、投与経路や投与量により異なるものの、主な分布組織は肝臓及び皮膚であり、その他の組織からも銀が検出されている (US EPA, 1980; WHO, 2003)。最近行われた銀ナノ粒子 (平均: 60 nm; 溶媒: 0.5 % カルボキシメチルセルロース水溶液)の 28 日間もしくは 90 日間反復投与試験では、ラットに 30 ~ 1000 mg/kg bw/day の用量で強制経口投与した結果、血液、肝臓、腎臓、脳、肺、精巣中の銀濃度が用量依存的に増加した (Kim et al. 2008; Kim et al. 2010)。特に、肝臓、腎臓、肺及び精巣で高濃度の銀が検出され、それに対し脳中の銀濃度は低かった。腎臓中銀濃度には明確な性差 (雌 > 雄)が認め

られた。異なるサイズの銀ナノ粒子 (20, 80, 110 nm) をリン酸緩衝液に分散させて Wistar ラットに 1 日 1 回 1 mL (23.8-27.6 ug/mL) を 5 日間静脈投与した試験では、銀粒子の大きさに関わらず、銀は血中から急速に消失し、調べたすべての組織 (肝、肺、脾臓、脳、心臓、腎臓および精巣) への分布が認められた (Lankveld et al. 2010)。20 nm の粒子は、主として肝臓に分布し、次いで腎臓、脾臓の濃度が高かったが、より大きな粒子は、主として脾臓に分布し、次いで肝臓及び肺の濃度が高かった。反復投与により、肝臓、肺、脾臓に蓄積がみられた。著者らは、銀ナノ粒子の生理学的薬物動態モデル (physiologically based pharmacokinetic: PBPK) モデルを開発しているが、パラメータ値と対応する粒子の直径の間の明確な関連性は明らかになっていない。

吸収された銀は主として肝臓から胆管を経由して糞中に排泄される (WHO, 2003)。ラットに放射性銀を静脈内投与した結果、4 日後までに投与量の 94.06% が糞中に、0.34% が尿中に排泄された (Scott and Hamilton 1950)。無担体の放射性銀をラットに筋肉内投与した試験では、胆管結紮や軽度のクロロホルム麻酔 (肝障害を誘導) によって銀の排泄率が著しく低下したことが報告されている (Scott and Hamilton 1950)。放射ラベルした硝酸銀を雌の RF マウス (0.25 uCi)、雄の Sprague-Dawley ラット (0.5 uCi)、ビーグル犬 (0.6 uCi) 及びアカゲザル (0.6 uCi) に単回経口投与した結果、いずれの種においても 2 日以内に 90-99% が排泄され、投与後 1 日間の尿中：糞中排泄量率は 0.1 未満であった (Furchner et al. 1968)。銀の生物学的半減期は、動物では数日、ヒトではから長くても 50 日と報告されている (Nordberg and Gerhardsson 1988)。

## 1.2. 実験動物における毒性情報

### 反復投与毒性

1930 年代から 70 年代にかけてラットもしくはウサギに水溶性銀化合物もしくは電解銀を飲水投与した慢性試験の結果が数多く報告されている (US EPA, 1980; Barkov and El'piner 1968; Just and Szniolis 1936; Kharchenko 1973a, b; Kharchenko and Stepanenko 1972; Klein 1936; Kul' skii 1973; Maslenko 1976; Olcott 1948, 1950; Savluk 1973; Savluk and Moroz 1973; Zapadnyuk 1973)。400~500 ug/L を投与した際には、条件反射、や免疫機能、脳の核酸含量への影響や腎臓の出血などが報告されており、20000 ug/l を投与したラットでは、体重低下、AST 及び ALT の増加、胃、小腸及び肝臓に病理形態学的変化が観察された。200 ug/L での投与では影響はみられていない。しかし、これらの試験については、動物数が不明であったり、一部の試験では投与量が明記されていないなど、試験方法の詳細が報告されていないこと、観察された病変の詳細な組織学的所見が報告されていないことなどから、信頼性は低いと考えられる。

銀は基底膜に沈着することが知られていることから、銀を用いて生体染色を行った多くの研究が報告されている。銀による生体染色に関する研究のうち、銀の経口投与による毒性影響と考えられる報告を下記に記す。マウスに 6mM の硝酸銀を 14 週間飲水投与した結果、腎臓の基底膜に銀の沈着物が認められたが、病理組織学検査では、腎臓の形態学的変化は認められなかった (Day et al. 1976)。雄の Sprague Dawley ラットに 24 mM の硝酸銀を含む飲料水を与えた結果、5 日後までに 3/12 例が死亡した (Walker 1971)。その他に、身づくろいの低下、活動性低下及び飲水量の低下が観察された。12mM の硝酸銀を含む飲料水を与えた結果、一時的な飲水量の低下と体重の軽度な低下がみられ、投与 76・81

週目には急激な臨床状態の悪化が観察された。6 mM の硝酸銀を含む飲料水を 12 週間与えた結果、鼻口部および歯の着色 (茶色) が認められたものの、その他に一般状態の変化は認められなかった。

NMRI マウスの雌に 0.015% の硝酸銀を加えた飲料水を 125 日間与え、オープンフィールドで行動を観察した結果、自発運動の低下が認められた (Rungby and Danscher 1984)。

銀は、セレン、ビタミン及び銅に対して拮抗作用を示すことで、欠乏症状を引き起こすことが報告されている (US EPA, 1980; Yoshida 1993)。

銀の毒性に対するビタミン E とセレンの影響を調べるために Holtzman 系の若齢ラットを用いた 2 つの試験が行われている (Wagner et al. 1975)。最初の試験では、酢酸銀を 0, 76 もしくは 751 mg/L の濃度で飲料水に加え、52 日間与えた。その結果、飼料中にビタミン E を入れず、0.02ppm のセレンを加えた場合に、銀の顕著な毒性が認められた。76 mg/L 投与群では成長抑制がみられ、751 mg/L 投与群ではより顕著な成長抑制と死亡 (4/10 例) が認められた。肝臓のグルタチオンペルオキシダーゼ活性は検出されなかったが、肝臓の壊死は見られなかった。0.02 ppm のセレンを含む飼料にさらに 0.5 ppm のセレンを加えた結果、銀の毒性は減弱した。76 mg/L 投与群では成長抑制はみられず、751 mg/L 投与群では生存率が改善した。しかし、それでも 751 mg/L 投与群では肝臓のグルタチオン活性は著しく低かった (対照群の 5%)。次の試験では、751 mg/L の酢酸銀 (114.2mg Ag/kg/day 相当) を加えた飲料水を 15 週間与え、飼料にはビタミン E (100 IU/kg) とセレン (0.5 ppm) 両方を加えた。その結果、銀の毒性はさらに減弱し、体重減少は軽度 (15% 低下) であったが、肝臓のグルタチオンペルオキシ

ダーゼ活性はまだ低かった (対照群の 5%)。

最近、OECD テストガイドラインに従って実施した銀ナノ粒子の 28 日間及び 13 週間反復投与毒性試験の結果が報告されている (Kim et al. 2008; Kim et al. 2010)。28 日試験では、Sprague-Dawley ラットに 0, 30, 300, 1000 mg/kg bw/day の銀ナノ粒子 (平均 60nm) を強制経口投与した結果、300 mg/kg 以上の投与群の雄及び 1000 mg/kg 投与群の雌で ALP の増加、1000 mg/kg 投与群の雄及び 300 mg/kg 以上の投与群の雌で血中コレステロールの増加が認められた。さらに、最高用量群の雌では活性化トロンボプラスチン時間が短縮した。病理組織学検査の結果、肝臓において、炎症性細胞の浸潤や中心静脈の拡張を伴う、胆管増生の発現頻度が用量依存的に増加した。

90 日間試験では、F344 ラットに 0, 30, 125, 500 mg/kg bw/day の銀ナノ粒子 (56nm) を強制経口投与した結果、高用量群の雄で暴露 4, 5 及び 7 週目に体重低下が観察され、さらに、中用量群の雄で暴露 10 週目に体重低値が認められた (Kim et al. 2010)。血液生化学検査の結果、高用量群の雌で ALP の増加、125 mg/kg bw 以上の投与群の雄および 500mg/kg bw 投与群の雌で血中コレステロールの増加が認められた。病理組織学的検査では、125 mg/kg 投与群の雄 8/10 例と 500 mg/kg 投与群の雄 8/10 例及び雌 5/10 例に、小腸絨毛の色素沈着 (黄色もしくは薄黄色) が観察された。さらに投与による影響を示唆する変化として、肝臓で軽度な胆管過形成 (雄: 4/10, 7/10, 8/10, 6/10, 雌: 3/10, 7/10, 8/10, 7/10)、壊死 (雄: 0/10, 4/10, 5/10, 4/10; 雌: 0/10, 2/10, 2/10, 2/10)、腎臓で尿細管の好塩基性変化 (雄 0/10, 0/10, 1/10, 2/10) および硬質沈着 (雌 5/10, 8/10, 7/10, 9/10) が観察された。これらの結果から、著者らは、NOAEL

を 30 mg/kg bw/day と結論しているが、その根拠は明確にされていない。

### 発がん性

銀及び銀化合物を経口投与した発がん性試験の報告はない。銀の薄片およびディスクを移植した動物で、局所性の肉腫が観察されたことが報告されているが、これらの結果は、単にプラスチックのような不溶性固体によって非特異的に局所性線維肉腫が引き起こされる現象『異物発がん“foreign body carcinogenesis”』を示したものと考えられる (US EPA, 1980; Furst 1981)。

その他には下記二つの試験が報告されている。トリオクタノインに粉体の銀を分散させ、月に一回 Fischer344 ラットに筋肉内注射(最初の5回は 5mg/回、その後は 10 mg/回、銀の総投与量: 75 mg) した試験では、溶媒対照群 (不活性物質) の 1/50 例および陽性対照群 (カドミウム) の 30/50 例の投与部位に肉腫が認められたが、銀の投与部位に線維肉腫は認められなかった (Furst and Schlauder 1978)。著者らは粉体の銀を筋肉内注射した際には発がん性は認められないと結論している。

ラットにコロイド銀 (用量不明) を皮下注射した結果、14 カ月以上生存した 26 例のラットのうち、8 例に腫瘍が観察され、6 例では、腫瘍は皮下投与部位にみられた。700 例のラットからなる非投与群では自然発生的な腫瘍の発生率は 1~3%であったが、この試験では、溶媒対照群は設定されていない (Schmahl and Steinhoff 1960)。

現時点では、銀は IARC の評価対象にはなっていないが、米国 IRIS では、上記の動物実験で認められた銀の発がん性は不適切であるとし、ヒトでは何年もの間治療目的で使用されているにもかかわらず、発がん性の証拠が報告されていないことから、銀を Group D (not

classifiable as to human carcinogenicity) に分類している (US EPA 1996)。

### 生殖・発生毒性

銀及び銀化合物の経口投与による生殖・発生毒性試験の報告はない。

Wistar ラットの 2 腹由来の児に乳酸銀一水和物を皮下投与し、各腹の児 2 例に 0.10, 0.20, 0.35 mg を出生後 1、2 もしくは 3 から 4 週間毎日投与した。その結果、投与した児の海馬組織の錐体細胞が有意に小さかった。この結果から、著者らは、この結果は毒性を示すものであり、海馬が銀の神経毒性の選択部位であると推測している (Rungby et al. 1987)。

### 1.3. ヒト健康への影響

非常に高用量の銀および銀化合物に暴露されたヒトにおいて、重度の急性影響が報告されており、硝酸銀の経口暴露による急性致死用量は少なく見積もっても 10g 程度と考えられる (Hill and Pillsbury 1939)。一方、銀の慢性中毒の臨床像として知られているのは、職業的にもしくは医療目的で金属性銀や銀化合物に暴露された後や銀製剤の誤用の後に、皮膚、毛髪や種々の器官内に銀が沈着する、『銀 (沈着) 症 (argyria)』のみである (WHO, 2003)。近年も銀症に関する症例報告が多くあり、その要因としては、銀含有医薬品の服用、コロイド銀溶液の飲用 (インターネット等で多くの効用がうたわれている)、鍼治療、エアロゾル化した銀への職業暴露などがあつた (Ales-Fernandez et al. 2010; Browning and Levy 2008; Chang et al. 2006; Cho et al. 2008; Chung et al. 2010; Kim et al. 2009; Kwon et al. 2009; Wadhwa and Fung 2005)。

銀症では、皮膚が灰色から青灰色を呈し、特に顔、首、腕や手の甲のような日光露出部で顕著な変色がみられる (US EPA, 1980; WHO, 2003; Wadhwa and Fung 2005)。こ

これは、蓄積した銀化合物（主として硫化銀）が光化学的に還元されたためと考えられている。銀症患者の皮膚は、軽度に色素過剰であったという報告もある。銀症の顕著な特徴は、特に、顔、結膜、手や爪の周囲の血管及び結合組織に銀が沈着することである。皮膚では、約 1mm の灰褐色から黒褐色の顆粒が真皮の細胞外に散在しており、特に、エクリン汗腺の外膜に多く認められた。このような顆粒は表皮には観察されなかったものの、表皮ではメラニン化やメラノファージの増加が観察された。銀症では、皮膚以外にも、腎臓の糸球体、脈絡叢、腸間膜及び甲状腺にも多くの銀が沈着することが報告されている。その他にも、骨髄、膵臓、肝臓、脾臓、精巣及び卵巣でも銀の沈着が報告されている。一方、副腎、肺、硬膜、骨、軟骨、筋肉および神経組織ではほとんど銀の沈着は見られないようである。銀症には回復性がなく、治療法もないといわれている。

酢酸銀を含む禁煙ピル（個数不明）を服用した後に、顔や首に灰色色素沈着が認められた患者の体内銀含有量は $6.4 \pm 2$  gであったことが報告されている（East et al. 1980）。治療目的で銀アルスフェナミン（4-20 g）を2-9.75年（31-100回）にわたって静脈内投与した10例の男性及び2例の女性に銀症が発症したことが報告されている（Gaul and Staud 1935）。このうち一名では、4g（銀として1.0 g）の投与で銀症が発症したものの、この研究の結果は、銀症は、銀アルスフェナミンの総累積静脈投与量が概ね8gに到達した際に発症することを示している。Hill及びPillsbury（1939）は、梅毒患者において銀症を引き起こす銀アルスフェナミンの最低静脈内投与量は6.3 g（およそ0.9 gの銀を含有）と結論している。しかし、銀症を発症した梅毒患者はすでに健康状態が悪く、銀に加え、ビスマスやアルスフェナミンも投与されてい

ることを考慮する必要がある（WHO, 2003）。最近報告されたコロイド銀溶液の服用による銀症の症例報告では、発症時までの銀の総摂取量はおよそ11g及び110gと算出された（Kim et al. 2009; Wadhera and Fung 2005）。一方で、およそ0.2g及び3.0 gという低用量でも爪の変色がみられたことも報告されている（Gulbranson et al. 2000; McKenna et al. 2003）。

WHOの飲料水水質ガイドラインでは、現時点の疫学のおよび薬物動態的知見から、銀の生涯総経口摂取量、およそ10 gをヒトにおける無毒性量と考えることができると結論している（WHO, 2008）。

#### 1.4. 参考文献

- Ales-Fernandez, M., Rios-Martin, J.J. and Camacho-Martinez, F.M. Localized argyria secondary to acupuncture mimicking blue nevus. *J Drugs Dermatol* 9, 1019-1020.
- Barkov, G.D. and El'piner, L.I. (1968) O neobkhdimosti ogranicheniya kolichestva serebra v pit'evoi vode (The need for limiting the silver content of drinking water). *Gig. Sanit* 33, 16 (cited in US EPA, 1980).
- Browning, J.C. and Levy, M.L. (2008) Argyria attributed to silvadene application in a patient with dystrophic epidermolysis bullosa. *Dermatol Online J* 14, 9.
- Chang, A.L., Khosravi, V. and Egbert, B. (2006) A case of argyria after colloidal silver ingestion. *J Cutan Pathol* 33, 809-811.
- Cho, E.A., Lee, W.S., Kim, K.M. and Kim, S.Y. (2008) Occupational generalized argyria after exposure to aerosolized silver. *J Dermatol* 35, 759-760.
- Chung, I.S., Lee, M.Y., Shin, D.H. and Jung, H.R. Three systemic argyria cases after ingestion of colloidal silver solution. *Int J Dermatol* 49, 1175-1177.

- Day, W.A., Hunt, J.S. and McGiven, A.R. (1976) Silver deposition in mouse glomeruli. *Pathology* 8, 201-204.
- Dequidt, J., Vasseur, P. and Gromez-Potentier, J. (1974) Étude toxicologique expérimentale de quelques dérivés argentiques. 1. Localisation et élimination. (Experimental toxicologic study of some silver derivatives. 1. Localization and elimination). *Bulletin de la Société de Pharmacie de Lille* 1, 23-35 (cited in US EPA 1980 and 1992).
- East, B.W., Boddy, K., Williams, E.D., Macintyre, D. and McLay, A.L. (1980) Silver retention, total body silver and tissue silver concentrations in argyria associated with exposure to an anti-smoking remedy containing silver acetate. *Clin Exp Dermatol* 5, 305-311.
- Furchner, J.E., Drake, G.A. and Richmond, C.R. (1966) Effective retention of silver-110 by dogs after oral administration. LA-3610-MS. LA. Rep. Nov 18, 191-194.
- Furchner, J.E., Richmond, C.R. and Drake, G.A. (1968) Comparative metabolism of radionuclides in mammals-IV. Retention of silver-110m in the mouse, rat, monkey, and dog. *Health Phys* 15, 505-514.
- Furst, A. (1981) Bioassay of metals for carcinogenesis: whole animals. *Environ Health Perspect* 40, 83-91.
- Furst, A. and Schlauder, M.C. (1978) Inactivity of two noble metals as carcinogens. *J Environ Pathol Toxicol.* 1, 51-57.
- Gaul, L.E. and Staud, A. (1935) Seventy cases of generalized argyrosis following organic and colloidal silver medication. *Clinical spectroscopy: Journal of the American Medical Association* 104, 1387-1390.
- Gulbranson, S.H., Hud, J.A. and Hansen, R.C. (2000) Argyria following the use of dietary supplements containing colloidal silver protein. *Cutis* 66, 373-374.
- Hill, W.R. and Pillsbury, D.M. (1939) *Argyria, the pharmacology of silver.* . Baltimore, MD, Williams and Wilkins, cited in US EPA (1980) and WHO (2003)
- Just, J. and Szniolis, A. (1936) Germicidal properties of silver in water. *Jour. Am. Water Works Assoc.* 28, 492 (cited in US EPA 1980).
- Kharchenko, P.D., et al. (1973a) *Izmeneniya soderzhaniya nukleinykh kislot v golovnom mozge pri dlitel'nom vvedenii ionov serebra s pit'voi vodoi* (Change in the nucleic acid content in the brain during long-term administration of silver ions in the drinking-water). . *Vodopodgot. Ochistka Prom. Stokov.* 10, 91 (cited in US EPA, 1980).
- Kharchenko, P.D., et al. (1973b) *Zmina vrnistu nukleinykh kislot u golovnomu mozku i pechintsi shchuriv pri trivalomu vvedenni ioniv sribla s pitnoyu vodoyu* (Change in the nucleic acid level in rat brain and liver during long-term introduction of silver ions with drinking water). . *Fiziol. Zh. Akad. Nauk. Ukra RSR.* 19, 362 (cited in US EPA 1980).
- Kharchenko, P.D. and Stepanenko, P.Z. (1972) Characteristics of disturbances in albino rat higher nervous activity during the action of silver electrolytic solutions. *Fiziol. Zh. Akad. Nauk. Ukra RSR.* 18, 596 (cited in US EPA 1980).
- Kim, Y.S., Kim, J.S., Cho, H.S., Rha, D.S., Kim, J.M., Park, J.D., Choi, B.S., Lim, R., Chang, H.K., Chung, Y.H., Kwon, I.H., Jeong, J., Han, B.S. and Yu, I.J. (2008) Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in

- Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20, 575-583.
- Kim, Y.S., Song, M.Y., Park, J.D., Song, K.S., Ryu, H.R., Chung, Y.H., Chang, H.K., Lee, J.H., Oh, K.H., Kelman, B.J., Hwang, I.K. and Yu, I.J. (2010) Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol* 7, 20.
- Kim, Y., Suh, H.S., Cha, H.J., Kim, S.H., Jeong, K.S. and Kim, D.H. (2009) A case of generalized argyria after ingestion of colloidal silver solution. *Am J Ind Med* 52, 246-250.
- Klein, D.A. (1936) Effects on Humans. In: D.A. Klein (ed.), *Environmental Impacts of Artificial Ice Nucleating Agents*. Dowden, Hutchinson, and Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania. (cited in US EPA 1980).
- Kul' skii, L.A., et al. (1973) Disinfection and Preservation of Water by Silver (Russian). . In: *Aktualne Vodoprovedeniye Sanitarniy Mikrobiologii. Med. Acad. USSR, Pub. 'Hlth. Water Inst., Moscow, USSR. p. III; New Silver Technology: Silver abstracts from the current world literature. 1975. October. p. 11.* (cited in US EPA 1980).
- Kwon, H.B., Lee, J.H., Lee, S.H., Lee, A.Y., Choi, J.S. and Ahn, Y.S. (2009) A case of argyria following colloidal silver ingestion. *Ann Dermatol* 21, 308-310.
- Lankveld, D.P., Oomen, A.G., Krystek, P., Neigh, A., Troost-de Jong, A., Noorlander, C.W., Van Eijkeren, J.C., Geertsma, R.E. and De Jong, W.H. The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes. *Biomaterials* 31, 8350-8361.
- Lifshits, V.M. (1965) [A spectrographic method of determination of trace elements in human individual erythrocyte fractions and blood plasma]. *Lab Delo* 11, 655-658 (cited in US EPA 1980).
- Maslenko, A.A. (1976) Vliyanie serebyanoi vody i vody konservirovannoi serebrom na organy pishchevareniya (Effect of "silver water" and water preserved with silver on the digestive organs). *Vrach.Delo.* 5, 88 (cited in US EPA 1980).
- McKenna, J.K., Hull, C.M. and Zone, J.J. (2003) Argyria associated with colloidal silver supplementation. *Int J Dermatol* 42, 549.
- Nordberg, G.F. and Gerhardsson, L. (1988) Silver. In: Seiler HG, Sigel H, Sigel A, eds. *Handbook on the toxicity of inorganic compounds*. New York, NY, Marcel Dekker, 1988:619-624.
- Olcott, C.T. (1948) Experimental argyrosis; morphologic changes in the experimental animal. *Am J Pathol* 24, 813-833.
- Olcott, C.T. (1950) Experimental argyrosis; hypertrophy of the left ventricle of the heart in rats ingesting silver salts. *AMA Arch Pathol* 49, 138-149.
- Rungby, J. and Danscher, G. (1984) Hypoactivity in silver exposed mice. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 55, 398-401.
- Rungby J, Slomianka L, Danscher G, Andersen AH, West MJ. (1987) A quantitative evaluation of the neurotoxic effect of silver on the volumes of the components of the developing rat hippocampus. *Toxicology.* 1987 Mar;43(3):261-8.
- Savluk, O.S. (1973) Vliyanie anodnorastvorimogo serebra na retikuloendotelial'nyuyu sistemu eksperimental'nykh zhyvotnykh (Effect of anodically dissolved silver on the reticuloendothelial system of experimental animals). *Vodopodgot. Ochistka Prom. Stokov.*

- 10, 72 (cited in US EPA 1980).
- Savluk, O.S. and Moroz, O.G. (1973) Reaktsiya organizma belykh kryss na dlitel'noe vvedenie serebra s pit'evoi vodoi (Reaction of albino rats to long-term intake of silver with the drinking water). Vodopodgot. Ochistka Prom. Stokov. 10, 99 (cited in US EPA 1980).
- Schmahl, D. and Steinhoff, D. (1960) Versuch zur krebserzeugung mit kolloidal silber- und goldloesungen an ratten (Experimental carcinogenesis in rats with colloidal silver and gold solutions). Z. Krebsforsch. 63, 586-591 (in German, cited in US EPA, 1992).
- Scott, K.G. and Hamilton, J.G. (1950) The metabolism of silver in the rat with radiosilver used as an indicator. Univ. Calif. (Berkeley) Publ. Pharmacol. 2, 241 (cited in US EPA 1980).
- TGA (Therapeutic Goods Administration, A. (2007) Australian adverse drug reactions bulletin, prepared by the Adverse Drug Reactions Advisory Committee (ADRAC) and the Adverse Drug Reactions Unit of the TGA. Vol. 56, 19-20.
- US EPA (Environmental Protection Agency) (1980) Ambient Water Quality Criteria for Silver. Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington DC.
- US EPA (Environmental Protection Agency) (1996) Silver (CASRN 7440-22-4). Integrated Risk Information System last revised in 12/01/1996, available in <http://www.epa.gov/iris/subst/0099.htm#woe>.
- Wadhera, A. and Fung, M. (2005) Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. Dermatol Online J 11, 12.
- Wagner, P.A., Hoekstra, W.G. and Ganther, H.E. (1975) Alleviation of silver toxicity by selenite in the rat in relation to tissue glutathione peroxidase. Proc Soc Exp Biol Med 148, 1106-1110.
- Walker, F. (1971) Experimental argyria: a model for basement membrane studies. Br J Exp Pathol 52, 589-593.
- WHO (World Health Organization) (2003) Silver in drinking-water, background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality.
- WHO (World Health Organization) (2008) 12.106 Silver, Guidelines for drinking-water quality, 3rd edition, incorporating the first and second addenda, Volume 1 Recommendations, 434-435
- Yoshida, M. (1993) Changes in serum thyroid hormone levels and urinary ketone body excretion caused by a low selenium diet or silver loading in rats. J Trace Elem Electrolytes Health Dis 7, 25-28.
- Zapadnyuk, V.I.e.a. (1973) O biologicheskoi roli medi i serebra i vliyaniy ikh na passivno-oboronitel'nyuyu reaktsiyu belykh kryss (Biological role of copper and silver and their effect on the passive defense reactions of white rats). Vodopodgot. Ochistka Prom. Stokov. 10, 91 (cited in US EPA 1980).
2. 化学物質の複合曝露によるリスク評価手法に関する国際動向調査:  
2.1. 文献情報の整理  
混合物の毒性に関しては、近年、多くの研究成果が報告されている。初期の実証研究では、主として、2種の化学物質からなる混合物に焦点が当てられていたが、現在では、多くの化学物質からなる混合物について、試験を計画、実施および評価することが可能であり、明確な結果が得られている。公表された混合物の毒性に関する研究は、主に、以下の2つのどちらかの目

的により実施されていた。

- ・ 複雑な環境サンプルの総合毒性の評価および定量化（混合物全体からのアプローチ）
- ・ 選択された純粋な化合物の個別の作用を基にした混合作用の解釈（成分に基づくアプローチ）

混合物の毒性に関する研究の主要な目的の1つは、個別の化学物質の毒性に関する知見から混合状態の化学物質の作用を定量的に予測することである。この予測は、数種の化学物質が互いの毒性を減少/拡大させずに、個別の作用を発揮すると仮定することで達成でき、非相互作用（non-interaction）仮定または相加（additivity）仮定と呼ばれている。加算性のゼロ仮説を公式化するためには、「濃度（用量）加算（concentration (or dose) addition）」および「独立作用（independent action）」という2つの概念がある。

研究/実験室レベルで実施された化学的に純粋な成分からなる混合物に関する研究では、「濃度加算」により、実験的に観察された相加的な複合影響を十分に予測することが出来るという多くの証拠をもたらしている。一方、「独立作用」による加算性の予測が有効であったという報告は比較的少ない。「独立作用」により予測された複合影響が、「濃度加算」により予測した影響より大きく、しかも実験的に観察された影響と一致したという報告を確認することはできなかった。

化学物質の相加的な複合作用に関する決定因子はかなりよく確立されている。予想される相加作用からのズレ、つまり相乗作用や拮抗作用を生じさせる可能性のある要因についても非常によく理解されてきているが、そのようなズレの大きさを定量的に予測することはできていない。薬物動態学的相互作用は、加算性からのズレに関する立証された要因の1つである。ヒト及び哺乳類における混合物の毒性影響に

## 関する研究

ヒト/ほ乳類における毒性影響に焦点を当てた混合物に関する実験的研究の多くは、明確に加算性を予測することなしに実施されてきており、混合物の複合作用は各成分が有する影響の合計に等しいと暗黙のうちに仮定されることが多い。しかし、このアプローチは、基になる用量-反応関係が直線にならないと適用できない。相乗作用を主張する研究報告もあるが、観察された影響が「用量加算」もしくは「独立作用」により予測された影響とよく一致する可能性もある。

発がん性物質、変異原性/遺伝毒性物質、免疫毒性物質、呼吸毒性物質および神経毒性物質の混合物に関する研究では、「濃度加算」もしくは「独立作用」により予測された相加作用よりも強いという意味で、相乗作用の概念を採用することが多い。これらの分野では、「相乗作用」という用語は、化学物質が混合物中で共に作用するというを簡単に説明するためによく使われる。このような「相乗作用」の概念は、加算性の予測に関しての定量的な判断に基づくものではない。この「相乗作用」という用語はまた、個々の物質が反応を示さない用量で存在しているにもかかわらず、複合的な影響が現れるような現象を説明するのによく使用されている。これらの分野を発端にして行われた多く研究では、「濃度加算」または「独立作用」の観点からの複合影響の評価は行っていない。しかし、化学物質が混合物として存在する際、通常は共同して作用する、ということを示す多数の証拠が得られている。さらに、個々の化学物質が観察可能な影響を及ぼさないような用量で存在する場合でも、明らかな複合影響が起きることも頻繁に報告されている。

ダイオキシン様の化学物質を含む内分泌攪乱物質や生殖毒性物質等の混合物に関する研究が多く報告されており、加算性、相乗作用ま

たは拮抗作用の観点から複合影響を確認することができる。10種類を超える多くの成分を含む混合物に関して、たびたび混合比を固定して、in vitro 及びin vivo実験が実施されている。

最近、ヒトに関する暴露シナリオをモデル化した混合物に関する研究がいくつか報告されている。

用量を加算すると、実験的に観察された複合影響にかなり近くなることがよくあるが、注目すべきなのは、「独立作用」からの信頼性の高い加算性の予測が期待できることを示す報告がないということである。両方の概念が、1つの同じ研究で並べて評価されることは非常にまれである。相乗または拮抗作用を示し、予測される加算性からかなり逸脱した複合影響が観察されることは希であり、作用様式や作用機序の観点から観察されたズレを説明する試みは殆どなされていない。

化学物質が、低用量、つまり個々の物質について試験した場合には影響が観察されないような十分に低い用量で混合された場合の複合影響については、いくつかの研究がデザインされており、多くは、ヒトにおける安全な曝露推定値を導き出すために一般的に使われる用量(points of departure (POD, 出発点)、通常はNOAELあるいはベンチマークドーズと呼ばれる)の範囲で実施されている。生物の同じサブシステムと相互作用する化学物質の組み合わせでは、複合影響がPOD付近かそれ未満の用量でも起こりうることを示す良い証拠が得られている。異なる作用様式を有する化学物質の組み合わせ、つまり「独立作用」が有効な加算性の予測を生み出す場合でも、同じことが当てはまることを示す良い証拠がある。これは、異なる作用の化学物質からなる混合物については、各成分への曝露量が個々のPODを超えない限り安全であるとする、広く支持された考え方に反している。

## 規制とリスクアセスメントの関係

ヒトへの毒性と生態毒性に関する実験的証拠は、許容曝露量を推定する際に複合影響を考慮に入れる必要性を強く示している。「濃度(用量)加算」および「独立作用」という2つの概念は、科学文献上で生み出されたものであり、これらの概念によりあるタイプの混合物の影響を非常によく予測することが証明されている。しかし、両概念は、現実的な混合物では実際に起こる可能性はほとんどない様な作り上げた状況を仮定したものであるため、規制の目的で「濃度(用量)加算」及び「独立作用」を適用する際には、以下のような2つ選択肢が存在する；(a) デフォルトアプローチとして1つの概念を推定的に選択する、(b) 各混合物に最も適切な概念を個別に選択する。混合物の毒性評価に関する規制を実行するには、これらの選択肢を適用できるのか、またはどのようにして適用できるのかについて解析することは非常に重要なことである。

リスクアセスメントの中で、規制目的で化学物質の複合作用を説明する際には、最初の実用的なデフォルトアプローチとして「濃度(用量)加算」を適用することが提案されてきた。これまで得られている証拠から、この提案は十分に根拠のあるもののように思われるが、このことは、ある種の混合物に含まれる成分間におこりうる相乗または拮抗作用を否定するものでもないし、また、すべての混合物の複合作用が「濃度(用量)加算」によって正確に説明できると主張しているわけではない。生物は非常に複雑で動的なものであり、特に、異なるレセプター、プロセス、生理的経路で作用する化合物への曝露反応は、「濃度加算」のような簡単な概念で説明することはできないだろう。しかし、予測される混合物の毒性からのズレは、非常に希で比較的少ないようにみえ(EC50値を比較すると、通常3倍未満である)、また、ほんの数

種類の化合物の混合物に大きく限定されるようである。

複合影響の評価概念を選択する際に問題となるのは、混合物のリスクアセスメントの目的でどの化学物質をグループ化するべきか、また、グループ化のためにどのような基準を使用すべきかという点である。化学物質の「毒性学的類似性」は、米国EPAやその他の国際機関が提案したグループ化の基準である。どのように実施すべきかについては多くのガイダンスがある。例えば、農薬や他の化学物質は、その毒性メカニズムが、主な生化学事象の性質と順序について類似性を示す場合、共通グループに包含することが適切であると考えられている。しかし、作用メカニズムを基に毒性学的類似性からグループ化を行うと、グループが過度に狭くなる恐れがある。そのため、最近では、作用メカニズムの類似性を重要視するのではなく、共通の有害事象に焦点を当てたグループ化の基準を確立する方向により広い手段を求めることが推奨されている。

混合物のリスクアセスメントの方法として、Hazard Index (HI)、Toxic Unit Summation (TUS)、POD index (PODI)、Relative Potency Factors (RPF)、毒性等価係数 (Toxicity Equivalency Factors : TEF)、など多くの方法が利用可能である。データの質が異なることを考慮すると、混合物のリスクアセスメントには段階的アプローチが提唱されている。

## 2.2. 国際動向調査

### 国際機関

WHOの国際化学物質安全性計画 (International Programme on Chemical Safety; IPCS)は、1997年に、ダイオキシン類および関連化学物質のTEFを設定し、その後も定期的な再評価を行っている。これらの国際的に合意の得られたTEF値は、各国政府がダイオキシン類や関連化学物質のリスクアセスメン

トを実施する際に大きな影響を与えている。

IPCSは、2007年3月に、一つ以上の化学物質へのあらゆる経路を介した暴露による複合リスクを評価する方法について議論するための国際ワークショップ (WHO/IPCS International Workshop on Aggregate/Cumulative Risk Assessment (Combined Exposures to Multiple Chemicals))を開催し、評価のためのフレームワークの開発を開始した。このワークショップでは、重要な用語及び概念について実用的な定義が合意されるとともに、複数の化学物質への暴露によるリスクを検討するための初期フレームワーク (preliminary framework)が提案された。IPCSは、専門家によるレビューもしくは公開レビューのために、このワークショップの報告書を、統合/複合リスクアセスメントのためのフレームワーク (ドラフト)と共に公表している

(<http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/areas/aggregate/en/index.html>)。

2011年2月には、複数の化学物質への複合曝露のためのリスクアセスメントに関する国際ワークショップが、WHO、OECDおよびILSI/HESIによって開催されている (WHO, OECD and ILSI/HESI Workshop on Risk Assessment of Combined Exposures to Multiple Chemicals)。このワークショップの目的は、参加者にWHOフレームワークを紹介し、いくつかのケーススタディに関する討議を通してフレームワークの適用性を検証すること、複合曝露評価に関する現時点の課題を共有すること、そして、複合曝露に関して、参加した機関等によって行われるであろう今後の作業の必要性を確認することであった。このワークショップの報告書はインターネットで公表されると共にOECD合同会議、WHOハー

モナイゼーションプロジェクト及びその他の関係者に報告される予定である。

国際連合は、化学品の分類及び表示に関する世界調和システム (Global Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals; GHS)の中で、ヒト健康及び環境影響に関して混合物を分類するための詳細なガイダンスを提供している。GHSの専門家からなる分科委員会は、2004年に、毒性ガス混合物の分類基準を検討するようOECDに命じた。有害ガスを含むガス混合物を現存のGHS基準に従って分類・ラベル化すると、GHSのカットオフ値が低すぎるために、ある種の混合物は急性吸入毒性を示す物質として分類・ラベル化されない可能性がある。OECDは、有害ガスの混合物がGHSカテゴリーに分類される濃度を決定するために、「用量加算」に相当する相加性の公式を用いることを提案している。

OECDは、2007年に、化学物質に関連したカテゴリーにグループ分けすることにより、実施される毒性試験を制限するためのガイダンス“Guidance on grouping of chemicals” (Series on testing and assessment, Number 80, ENV/JM/MONO(2007)28)を公表している。この、いわゆるカテゴリーアプローチでは、すべての化学物質が試験される必要はなく、代わりに、化学物質に関するデータ、そして試験された毒性エンドポイントに関するデータを使って、試験の行われていない化学物質の特性を評価する。このカテゴリーアプローチは、混合物のリスク評価の対象となる化学物質のグループ分けを定義するためにも用いることが出来るだろう。

#### 米国

1980年に包括的環境対処・補償・責任法 (CERCLA; Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act、スーパーファンド法ともいう) が施行され、危

険物廃棄場や化学的事故に由来するリスクを評価する際に、混合物のリスクアセスメントを実施することが明確に要求された。この法的要求に従うために、米国の所轄官庁は広範な政策的枠組みやガイダンスドキュメントを作成し、複数の時間枠における、複数の化学物質への複数の経路を介した暴露による健康リスクを検討するための、「複合リスクアセスメント (cumulative risk assessment)」という壮大な任務に取り組んでいる。1996年の食品品質保護法 (Food Quality Protection Act)の可決も複合リスクアセスメントを実施するための大きな推進力となっている。この法律は、発生源に関わらず、共通した作用様式を持つ農薬の混合物によるリスクの評価を命じている。さらに、1996年の改正された飲料水安全法 (Safe Drinking Water Act)では、飲料水中の化学物質の混合物についても考慮することが要求されており、特に消毒副生成物に焦点を当て、複雑な混合物を調査するための新しいアプローチを開発することがEPAに命じられた。複合リスクアセスメントは、大気汚染物質の健康影響を評価する試みにも適用されている。最近行われたEPAによる評価では、177種の化学物質が大気汚染に関与していると考えられている。

複合リスクアセスメントに関与する最も重要な政府機関はEPAである。EPAにより作成されたスーパーファンド法のためのリスクアセスメントガイダンス[RAGS; Risk Assessment Guidance for Superfund (EPA/540/1-89/002, December 1989)]は、EPAの枠を超え、米国の他の規制当局にも影響を与えている。EPAは、これまでに多くの政策ドキュメントを作成し、複合リスクアセスメントへのアプローチを開発し、改良してきている。さらに、1996年に可決された食品品質保護法に従い、EPAは、どの農薬を共通したメカニズムを持ったグループに包含することが適切なのか決定する手助