

genetic profile that are resistant to the therapies carried out. Although there are only a few studies on intratumoral genetic heterogeneity, available observations in certain types of solid tumors indicate that there are multiple subclusters of tumor cells within one tumor cluster in which each subcluster has different chromosomal aberrations [71–75]. This implies that each subcluster is developed as clonal expansion of a single mutant cell, and creation of a new subcluster depends upon the emergence of a new mutant that is viable for clonal expansion. A computational study demonstrates that spatial distribution within a tumor cluster enables the coexistence of multiple subclusters [76].

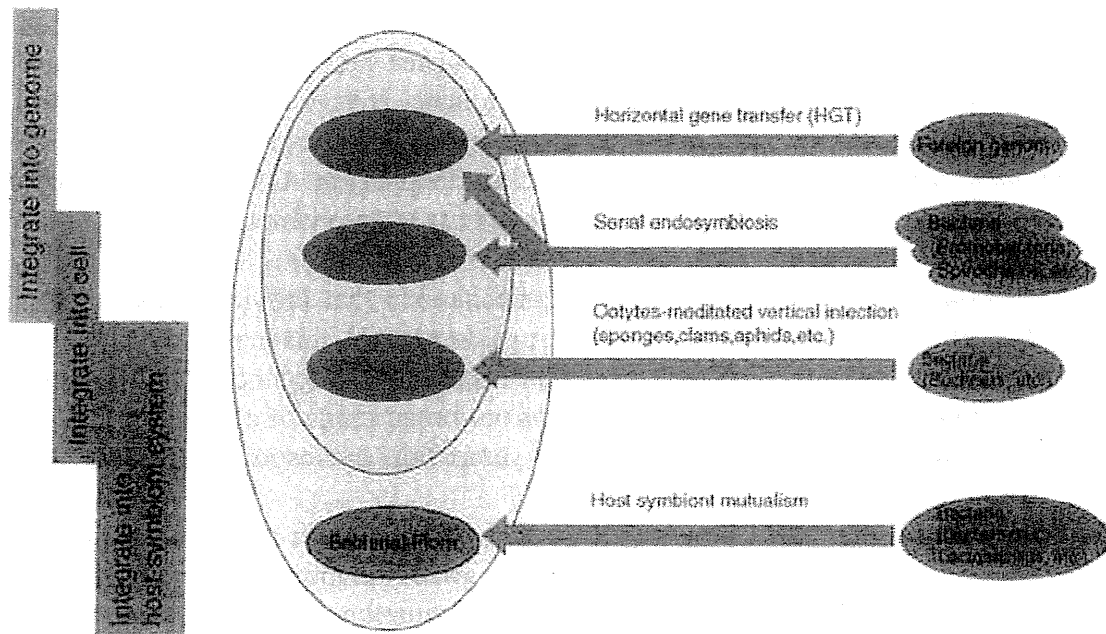
Multidrug resistance is a cellular-level mechanism that provides robustness of viable tumor cell against toxic anticancer drugs. In general, this mechanism involves overexpression of genes such as MDR1 that encodes ATP-dependent efflux pump, P-glycoprotein (P-gp) that effectively pumps out broad range of cytotoxins [77,78]. Trials to mitigate function of P-gp using verapamil, cyclosporine its derivative PSC833 have been disappointing [79].

Tumor–host interactions play major roles in tumor growth and metastasis [80]. When tumor growth is not balanced by vascular growth, hypoxic condition emerges in a tumor cluster [81]. This triggers HIF-1 upregulation that induces a series of reactions that normally function to maintain normal physiological conditions [82]. Upregulation of HIF-1 induces upregulation of VEGF that facilitates angiogenesis, and uPAR and other genes that enhance cell motility [81]. These responses solve hypoxia of tumor cells either by providing oxygen to tumor cluster or by moving tumor cells to a new environment—resulting in further tumor growth or metastasis. Interestingly, macrophages are found to chemotaxis into tumor cluster. Such macrophages are called tumor-associated macrophage (TAM), and found to overexpress HIF-1[83]. This means that the macrophage that is supposed to remove tumor cells may be built-in to feedback loops to facilitate tumor growth and metastasis.

In addition, it can be considered that tumor cells may evolve through self-extending symbiosis. If this is the case, tumor cells shall enhance their robustness against various perturbations through horizontal gene transfer, symbiosis with other cells in the form of cell fusion, and formation of symbiotic relationship with surrounding environments. Interestingly, recent reports indicate that tumor cells may be actively involved in cell fusion and uptake of chromosomes of other cells [84–87]. In addition, artificially produced hybridomas between antibody-producing plasma cell and tumor cell are used for monoclonal antibody production indicating stable maintenance of cellular function upon hybridization. These series of observations imply that tumor cells may be considered as a group of cells that have become somewhat detached from the host system and have begun evolving independently, so that a wide range of phenomena, such as self-extending symbiosis, also occur on tumor cells and thereby their robustness against perturbation is enhanced (Fig. 16-1).

So far, such phenomena have only been reported independently, and not been placed in the perspective. Reorganizing these findings under the coherent view of cancer robustness will provide us a guideline for further research.

(a) **Self-extending symbiosis**



(b) **Cancer self-extending symbiosis**

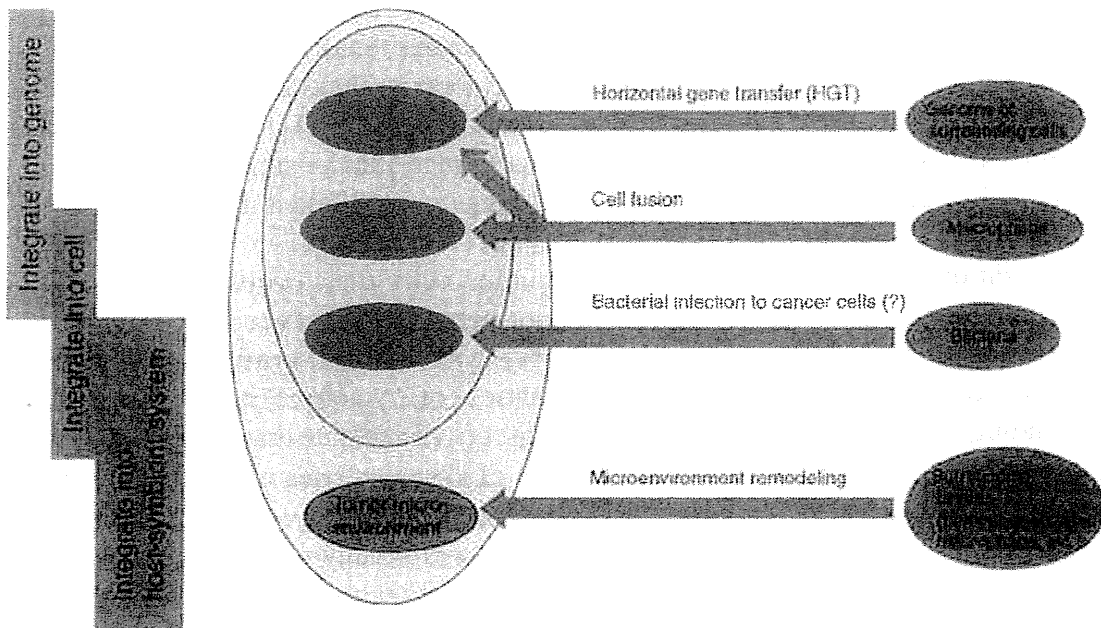


Figure 16-1 Self-extending symbiosis and cancer evolution. Self-extending symbiosis is a path that multicellular organism might have gone through in the course of evolution. Acquisition of nonself into self at various levels of flexibility enhances robustness of organisms against various perturbations. Cancer may also evolve through self-extending symbiosis. Assume cancer as an independent species diverted from somatic cell, it may rapidly evolve through bacteria-like horizontal gene transfer, cell fusion, and microenvironment remodeling to enhance robustness against environmental perturbation. In self-extending symbiosis, there is clear evidence of oocytes-mediated vertical infection. There is no conclusive report if any bacterial infection is observed in any type of cancer that affects robustness of cancer against perturbation. Such phenomena might have been simply unnoticed waiting for future discovery.

16.7 THEORETICALLY MOTIVATED THERAPY STRATEGIES

Given the highly complex control and heterogeneity of tumor, random trial of potential targets is not as effective as one wish it to be. There is a need for theoretically motivated approach that guides us to identify a set of therapies to **best counter the disease**. The implication of the theory of cancer robustness is that **there are specific patterns of behaviors and weakness in robust systems as well as rational way of controlling and fixing the system**, and such general principles also apply to cancer. Thus, there must be theoretically motivated approach for the prevention and treatment of cancer. This section discusses therapeutic implications of the theory.

Strategy for cancer therapy may depend upon the level of robustness that the tumor of a specific patient has. When robustness is low, and genetic heterogeneity is low, then there is a good chance that the use of drugs with specific molecular targets may effectively cure cancer by causing the common mode failure: a type of failure in which all redundant subsystems fail for the same reason. An example of CML (chronic myeloid leukemia) therapy by imatinib metylate (Glivec: Novartis) may provide us some insights [88,89]. Dramatic effects of imatinib metylate for early stage CML stem from the fact that it selectively target BCR-ABL protein that is specifically expressed in tumor cells and tumor growth depends on BCR-ABL [90]. Thus, it causes the common mode failure in tumor cells that have similar fragility. However, it is resistant in advanced stage due to heterogeneity of mutations so that the drug cannot inhibit diverse emergent mutant proteins [91]. For this strategy to be effective, there must be proper means to diagnose the degree of intratumoral genetic variations. Then, the most effective molecule as a target needs to be recognized that directs the lead identification and optimization processes.

However, for patients with an advanced stage cancer, intratumoral genetic heterogeneity may be already high and various feedback controls may be significantly upregulated. In these cases, drugs that are effective in the early stage may not work as expected, due to heterogeneous response of tumor cells and feedbacks to compensate for perturbations. For these cases, therapy and drug design need a drastic shift from molecule-oriented approach to a system-oriented approach. Then, the question is which approach shall be taken to target the system, instead of the molecule. I would consider that there are three theoretically motivated countermeasures.

First, robustness/fragility trade-off implies that the cancer cells that have gained increased robustness against various therapies may have a point of extreme fragility. Targeting such a point of fragility may bring dramatic effects for the disease. The major challenge is to find such a point of fragility. Since this trade-off emerged due to successive modifications of the system design to optimally cope with specific perturbations, it is essential to identify the perturbations that the system is optimized against and the underlying mechanisms that enable such optimization. For example, one mechanism for tumor robustness is enhanced genetic heterogeneity that is generated by chromosomal instability, so that some cells may have genetic profile suitable for survival under the specific pressure from the therapy. Then, a method to enhance chromosomal instability selectively in cells that already have unstable chromosome could be one candidate. The point here is whether such

effects can be done with sufficient selectivity. Nonselective approach to increase chromosomal instability has been proposed [92], but it may enhance chromosome instability of the cells that are relatively stable now and thus potentially promotes malignancy.

Second, approaches that avoid the increase of robustness constitute the other possibility. Since genetic heterogeneity is enhanced, at least in part, by somatic recombination, selectively inducing cell cycle arrest to tumor cells can effectively control the robustness. There is a theoretical possibility that such subtle control can be done by careful combination of multiple drugs that specifically perturb biochemical interactions. A computational study indicates that the removal or attenuation of specific feedback loops involved in cell cycle reduces the robustness of cell cycle against changes in rate constant [93]. The challenge is to find appropriate combination of drugs that can effectively induce cell cycle arrest only in tumor cells, but not in other cells. Although this approach uses combination of multiple drugs, there is hope to find a set of drugs that can be administered at minimum dosage and toxicity. This approach results in the dormancy of the tumor. Cancer dormancy has already been proposed [94,95] and many report that induced dormancy has been found in mouse [96,97]. However, these studies report cases where tumor cell proliferation is offset by increased apoptosis. Since heterogeneity may increase by cell proliferation, this type of dormancy, which I call "pseudo dormancy" does not prevent increase in heterogeneity, hence robustness is not controlled. Genuine dormancy needs to induce selective cell cycle arrest.

Third, an approach to actively reduce intratumoral genetic heterogeneity followed by a therapy by molecular targeted drugs may be a viable option. If we can design an initial therapy to impose a specific selection pressure on the tumor in which there are only cells with specific genetic variations to survive the therapy, then reduction of genetic heterogeneity may be achieved. Then, if a tumor cell population is sufficiently homogeneous, a drug that specifically targets a certain molecule may have significant impact on the remaining tumor cell population. An important point here is that the drugs used shall not enhance mutation and chromosomal instability. If mutations and chromosomal instability are enhanced, particularly by the initial therapy, heterogeneity may quickly increase so that the second line therapy will be ineffective.

Fourth, one may wish to retake control of the feedback loops that give rise to robustness in an epidemic state. Since the robustness of tumor is often caused by host tumor feedback controls, robustness of tumor can be seriously mitigated if such feedback loops can be controlled. One possible approach is to introduce a decoy that effectively disrupts feedback control or invasive mechanisms of the epidemic. Such an approach is proposed in AIDS therapy where conditionally replicating HIV-1 (crHIV-1) vector that has only *cis* region but no *trans* is introduced [98,99]. This decoy virus dominates the replication machinery, so that HIV-1 virus is pushed into latency, instead of eradication. In solid tumor, an interesting idea has been expressed to use TAM as delivery vehicle of the vector [83,100]. TAM migrates into solid tumor cluster and upregulates HIF-1 that facilitates angiogenesis and metastasis. If TAM can be used to retake a control, robustness may be well controlled and self-extending symbiosis in cancer evolution may be aborted.

Finally, multicomponent drugs may be designed where each component targets molecule in which perturbation differentially affects tumor and normal cells. A certain perturbation affects more the tumor cells but less the normal cells. Even if each of such perturbations does not eliminate tumor cells or is not able to stop their proliferation, there may be specific combination of such drugs that in synergy affects drastically and selectively the tumor cells. One extreme of such approach is the "long-tail drug," recently proposed by the author, that uses large numbers of weakly interacting compounds to affect the tumor cells [101].

16.8 A PROPER INDEX OF TREATMENT EFFICACY

It is important to recognize that, in the light of cancer robustness theory, tumor mass reduction is not an appropriate index for therapy and drug efficacy judgment. As discussed already, reduction of tumor mass does not mean that proliferation potential of tumor has generally decreased. It merely means that subpopulation of tumor cells that are respondent of the therapy were eradicated, or significantly reduced. The problem is that the remaining tumor cells may be more malignant and aggressive, so that therapies for relapsed tumor could be extremely ineffective. This is particularly the case, drugs used to reduce tumor mass are toxic and potentially promote mutations and chromosomal instability in nonspecific ways. It may even enhance malignancy but imposing selective pressures to select resistant phenotype, enhance genetic diversity, as well as providing niche for growth by eradicating fragile subpopulation of tumor cells.

The proper index shall be based on control of robustness: either minimizes the increase of robustness or reduces robustness. This can be achieved by inducing dormancy, actively imposing selective pressure to reduce heterogeneity or exposing fragility that can be the target of therapies to follow, and retaking control of the feedback regulations. The outcome of controlling the robustness may vary from moderate growth of tumor, dormancy that is no tumor mass growth or significant reduction in tumor mass. It should be noted that robustness control does not exclude the possibility of significant tumor mass reduction. If we can target a point of fragility of tumor, it may trigger a common mode failure and may result in significant tumor mass reduction. However, this is a result of controlling robustness, and should not be confused as therapy aimed that tumor mass reduction because robustness has to be controlled to the first to actively exploit a point of fragility. Except for the fragility attack, other options seek for dormancy that results in no tumor growth.

However, this criterion poses a problem for drug design, because current efficacy index of antitumor drugs is measured on the basis of tumor mass reduction. Drugs that induce dormancy will not satisfy this efficacy criterion; thus, they are most likely to be rejected in Phase-II stage. On the other hand, this means that many compounds that have been rejected in Phase-II could be effective from the point of robustness control. Whether such approach can be taken depends on perception change in practitioners, drug industries, and regulatory authorities.

16.9 CONCLUSION

This chapter discussed basic ideas behind the theory of biological robustness and its implications for cancer research and treatment. Biological robustness is one of the essential features of living systems that argued to be tightly coupled with evolution. It may also shape the basic architectural feature of biological systems that are robust and evolvable. One of major consequences is trade-offs between robustness, fragility, resource demands, and performance. Fragility is particularly relevant to diseases. At the same time, cancer established its own robustness. It may be the result of hijacking the robustness intrinsic to the host system. Understanding of this complex nature of biological systems may have profound implications for biomedical research in future.

ACKNOWLEDGMENTS

This study is supported by ERATO-SORST Program (Japan Science and Technology Agency) and the Genome Network Project (Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology) of the Systems Biology Institute, the Center of Excellence Program, and the special coordination funds (Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology) to Keio University.

REFERENCES

1. Kitano H. Systems biology: a brief overview. *Science* 2002;295(5560):1662–1664.
2. Kitano H. Computational systems biology. *Nature* 2002;420(6912):206–210.
3. Wiener N. *Cybernetics: or Control and Communication in the Animal and the Machine*. Cambridge, MA: The MIT Press, 1948.
4. Bertalanffy, LV. *General System Theory*, New York: George Braziller, 1968.
5. Hasty J, McMillen D, Collins JJ. Engineered gene circuits. *Nature* 2002;420(6912):224–230.
6. Guelzim N, Bottani S, Bourguin P, Kepes F. Topological and causal structure of the yeast transcriptional regulatory network. *Nat Genet* 2002;31(1):60–63.
7. Ideker T, Ozier O, Schwikowski B, Siegel AF. Discovering regulatory and signalling circuits in molecular interaction networks. *Bioinformatics* 2002;18(Suppl 1): S233–S240.
8. Ideker T, Thorsson V, Ranish JA, Christmas R, Buhler J, Eng JK, Bumgarner R, Goodlett DR, Aebersold R, Hood L. Integrated genomic and proteomic analyses of a systematically perturbed metabolic network. *Science* 2001;292(5518):929–934.
9. Ihmels J, Friedlander G, Bergmann S, Sarig O, Ziv Y, Barkai N. Revealing modular organization in the yeast transcriptional network. *Nat Genet* 2002;31(4):370–377.
10. Ferrell JE Jr. Self-perpetuating states in signal transduction: positive feedback, double-negative feedback and bistability. *Curr Opin Cell Biol* 2002;14(2):140–8.
11. Bhalla US, Iyengar R. Emergent properties of networks of biological signaling pathways. *Science* 1999;283(5400):381–387.

12. Tyson JJ, Chen K, Novak B. Network dynamics and cell physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2(12):908–916.
13. Chen KC, Calzone L, Csikasz-Nagy A, Cross FR, Novak B, Tyson JJ. Integrative analysis of cell cycle control in budding yeast. *Mol Biol Cell* 2004;15(8):3841–3862.
14. Kitano H. Biological robustness. *Nat Rev Genet* 2004;5:826–837.
15. Alon U, Surette MG, Barkai N, Leibler S. Robustness in bacterial chemotaxis. *Nature* 1999;397(6715):168–171.
16. Barkai N, Leibler S. Robustness in simple biochemical networks. *Nature* 1997;387(6636):913–917.
17. Yi TM, Huang Y, Simon MI, Doyle J. Robust perfect adaptation in bacterial chemotaxis through integral feedback control. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(9):4649–4653.
18. von Dassow G, Meir E, Munro EM, Odell GM. The segment polarity network is a robust developmental module. *Nature* 2000;406(6792):188–192.
19. Ingolia NT. Topology and robustness in the *Drosophila* segment polarity network. *PLoS Biol* 2004;2(6):E123.
20. Little JW, Shepley DP, Wert DW. Robustness of a gene regulatory circuit. *Embo J* 1999;18(15):4299–4307.
21. Kitano H. Cancer as a robust system: implications for anticancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004;4(3):227–235.
22. Kitano H. Cancer robustness: tumour tactics. *Nature* 2003;426(6963):125.
23. Wagner GP, Altenberg L. Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 1996;50(3):967–976.
24. Rutherford SL. Between genotype and phenotype: protein chaperones and evolvability. *Nat Rev Genet* 2003;4(4):263–274.
25. de Visser J, Hermission J, Wagner GP, Meyers L, Bagheri-Chaichian H, Blanchard J, Chao L, Cheverud J, Elena S, Fontana W, et al. Evolution and detection of genetics robustness. *Evolution* 2003;57(9):1959–1972.
26. Gerhart J, Kirschner M. *Cells, Embryos, and Evolution: Toward a Cellular and Developmental Understanding of Phenotypic Variation and Evolutionary Adaptability*. Malden Massachusetts: Blackwell Science, 1997.
27. Kirschner M, Gerhart J. Evolvability. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(15):8420–8427.
28. Agrawal AA. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science* 2001;294(5541):321–326.
29. Schlichting C, Pigliucci M. *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc., 1998.
30. Eldar A, Dorfman R, Weiss D, Ashe H, Shilo BZ, Barkai N. Robustness of the BMP morphogen gradient in *Drosophila* embryonic patterning. *Nature* 2002;419(6904):304–308.
31. Meir E, von Dassow G, Munro E, Odell GM. Robustness, flexibility, and the role of lateral inhibition in the neurogenic network. *Curr Biol* 2002;12(10):778–786.
32. Schlosser G, Wagner G, editors. *Modularity in Development and Evolution*. Chicago: The University of Chicago Press, 2004.
33. Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 1998;396(6709):336–342.

34. Queitsch C, Sangster TA, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* 2002;417(6889):618–624.
35. Siegal ML, Bergman A. Waddington's canalization revisited: developmental stability and evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(16):10528–10532.
36. Waddington CH. *The Strategy of the Genes: A Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology*. New York: Macmillan, 1957.
37. Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A, Geva-Zatorsky N, Levine AJ, Elowitz MB, Alon U. Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells. *Nat Genet* 2004;36(2):147–150.
38. Csete ME, Doyle J. Bow ties, metabolism and disease. *Trends Biotechnol* 2004;22(9):446–450.
39. Carlson JM, Doyle J. Highly optimized tolerance: a mechanism for power laws in designed systems. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics* 1999;60(2 Part A):1412–1427.
40. Carlson JM, Doyle J. Complexity and robustness. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(Suppl 1): 2538–2545.
41. Csete ME, Doyle JC. Reverse engineering of biological complexity. *Science* 2002;295(5560):1664–1669.
42. Bak P, Tang C, Wiesenfeld K. Self-organized criticality. *Physical Review A* 1988;38(1):364–374.
43. Barabasi AL, Oltvai ZN. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nat Rev Genet* 2004;5(2):101–113.
44. Lamport L, Shostak R, Pease M. The Byzantine generals problem. *ACM Trans on Program Lang Syst* 1982;4(3):382–401.
45. Kitano H, Kimura T, Oda K, Matsuoka Y, Csete ME, Doyle J, Muramatsu M. Metabolic syndrome and robustness trade-offs. *Diabetes* 2004;53(Suppl 3): S1–S10
46. Kitano H, Oda K. Robustness trade-offs and host? Microbial symbiosis in the immune system. *Mol Syst Biol* 2006;doi:10. 1038/msb4100039.
47. Kitano H, Oda K. Self-extending symbiosis: a mechanism for increasing robustness through evolution. *Biol Theory* 2006;1(1):61–66.
48. Gogarten JP, Townsend JP. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. *Nat Rev Microbiol* 2005;3(9):679–687.
49. Brown JR. Ancient horizontal gene transfer. *Nat Rev Genet* 2003;4(2):121–132.
50. Monroe S, Polk R. Antimicrobial use and bacterial resistance. *Curr Opin Microbiol* 2000;3(5):496–501.
51. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med* 2004;10(Suppl 12):S122–S129.
52. Smets BF, Barkay T. Horizontal gene transfer: perspectives at a crossroads of scientific disciplines. *Nat Rev Microbiol* 2005;3(9):675–678.
53. Kondo N, Nikoh N, Ijichi N, Shimada M, Fukatsu T. Genome fragment of Wolbachia endosymbiont transferred to X chromosome of host insect. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(22):14280–14285.
54. Margulis L. Symbiosis and evolution. *Sci Am* 1971;225(2):48–57.
55. Margulis L, Bermudes D. Symbiosis as a mechanism of evolution: status of cell symbiosis theory. *Symbiosis* 1985;1:101–24.

56. Cary SC, Giovannoni SJ. Transovarial inheritance of endosymbiotic bacteria in clams inhabiting deep-sea hydrothermal vents and cold seeps. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(12):5695–5699.
57. Baumann P, Baumann L, Lai CY, Rouhbakhsh D, Moran NA, Clark MA. Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*: intracellular symbionts of aphids. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:55–94.
58. Thao ML, Clark MA, Burckhardt DH, Moran NA, Baumann P. Phylogenetic analysis of vertically transmitted psyllid endosymbionts (*Candidatus Carsonella ruddii*) based on *atpAGD* and *rpoC*: comparisons with 16S-23S rDNA-derived phylogeny. *Curr Microbiol* 2001;42(6):419–421.
59. Nyholm SV, McFall-Ngai MJ. The winnowing: establishing the squid–vibrio symbiosis. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(8):632–642.
60. Schmitt-Wagner D, Friedrich MW, Wagner B, Brune A. Phylogenetic diversity, abundance, and axial distribution of bacteria in the intestinal tract of two soil-feeding termites (*Cubitermes spp.*). *Appl Environ Microbiol* 2003;69(10):6007–6017.
61. Bracke JW, Cruden DL, Markovetz AJ. Intestinal microbial flora of the American cockroach. *Periplaneta americana* L. *Appl Environ Microbiol* 1979;38(5):945–955.
62. Oxley AP, Shipton W, Owens L, McKay D. Bacterial flora from the gut of the wild and cultured banana prawn. *Penaeus merguensis*. *J Appl Microbiol* 2002;93(2):214–223.
63. Backhed F, Ley R, Sonnenburg J, Peterson D, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005;307:1915–1920.
64. Xu J, Gordon JI. Inaugural article: honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(18):10452–10459.
65. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977;31:107–133.
66. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host–microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002;22:283–307.
67. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998;396(6712):643–649.
68. Li R, Sonik A, Stindl R, Rasnick D, Duesberg P. Aneuploidy vs. gene mutation hypothesis of cancer: recent study claims mutation but is found to support aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(7):3236–3241.
69. Tischfield JA, Shao C. Somatic recombination redux. *Nat Genet* 2003;33(1):5–6.
70. Rasnick D. Aneuploidy theory explains tumor formation, the absence of immune surveillance, and the failure of chemotherapy. *Cancer Genet Cytogenet* 2002;136(1):66–72.
71. Baisse B, Bouzourene H, Saraga EP, Bosman FT, Benhattar J. Intratumor genetic heterogeneity in advanced human colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2001;93(3):346–352.
72. Fujii H, Yoshida M, Gong ZX, Matsumoto T, Hamano Y, Fukunaga M, Hruban RH, Gabrielson E, Shirai T. Frequent genetic heterogeneity in the clonal evolution of gynecological carcinosarcoma and its influence on phenotypic diversity. *Cancer Res* 2000;60(1):114–120.
73. Gorunova L, Hoglund M, Andren-Sandberg A, Dawiskiba S, Jin Y, Mitelman F, Johansson B. Cytogenetic analysis of pancreatic carcinomas: intratumor heterogeneity and nonrandom pattern of chromosome aberrations. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;23(2):81–99.

74. Gorunova L, Dawiskiba S, Andren-Sandberg A, Hoglund M, Johansson B. Extensive cytogenetic heterogeneity in a benign retroperitoneal schwannoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2001;127(2):148–154.
75. Frigyesi A, Gisselsson D, Mitelman F, Hoglund M. Power law distribution of chromosome aberrations in cancer. *Cancer Res* 2003;63(21):7094–7097.
76. Gonzalez-Garcia I, Sole RV, Costa J. Metapopulation dynamics and spatial heterogeneity in cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(20):13085–13089.
77. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta* 1976;455(1):152–162.
78. Nooter K, Herweijer H. Multidrug resistance (mdr) genes in human cancer. *Br J Cancer* 1991;63(5):663–669.
79. Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia *in vivo* and *in vitro* through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res* 1981;41(5):1967–1972.
80. Bissell MJ, Radisky D. Putting tumours in context. *Nat Rev Cancer* 2001;1(1):46–54.
81. Harris AL. Hypoxia: a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002;2(1):38–47.
82. Sharp FR, Bernaudin M. HIF1 and oxygen sensing in the brain. *Nat Rev Neurosci* 2004;5(6):437–448.
83. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002;196(3):254–265.
84. Pawelek JM. Tumour–cell fusion as a source of myeloid traits in cancer. *Lancet Oncol* 2005;6(12):988–993.
85. Pawelek J, Chakraborty A, Lazova R, Yilmaz Y, Cooper D, Brash D, Handerson T. Co-opting macrophage traits in cancer progression: a consequence of tumor cell fusion? *Contrib Microbiol* 2006;13:138–155.
86. Vignery A. Macrophage fusion: Are somatic and cancer cells possible partners? *Trends Cell Biol* 2005;15(4):188–193.
87. Ogle BM, Cascalho M, Platt JL. Biological implications of cell fusion. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(7):567–575.
88. Hochhaus A. Cytogenetic and molecular mechanisms of resistance to imatinib. *Semin Hematol* 2003;40(2 Suppl 3): 69–79.
89. Hochhaus A, Kreil S, Corbin A, La Rosee P, Lahaye T, Berger U, Cross NC, Linkesch W, Druker BJ, Hehlmann R, et al. Roots of clinical resistance to STI-571 cancer therapy. *Science* 2001;293(5538):2163
90. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001;344(14):1031–1037.
91. Druker BJ. Overcoming resistance to imatinib by combining targeted agents. *Mol Cancer Ther* 2003;2(3):225–226.
92. Sole RV. Phase transitions in unstable cancer cell populations. *Eur Phys J B* 2003;35:117–123.
93. Morohashi M, Winn AE, Borisuk MT, Bolouri H, Doyle J, Kitano H. Robustness as a measure of plausibility in models of biochemical networks. *J Theor Biol* 2002;216(1):19–30.

94. Takahashi Y, Nishioka K. Survival without tumor shrinkage: re-evaluation of survival gain by cytostatic effect of chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(16):1262–1263.
95. Uhr JW, Scheuermann RH, Street NE, Vitetta ES. Cancer dormancy: opportunities for new therapeutic approaches. *Nat Med* 1997;3(5):505–509.
96. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J. Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* 1995;1(2):149–153.
97. Murray C. Tumour dormancy: not so sleepy after all. *Nat Med* 1995;1(2):117–118.
98. Dropulic B, Hermankova M, Pitha PM. A conditionally replicating HIV-1 vector interferes with wild-type HIV-1 replication and spread. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(20):11103–11108.
99. Weinberger LS, Schaffer DV, Arkin AP. Theoretical design of a gene therapy to prevent AIDS but not human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 2003;77(18):10028–10036.
100. Owen MR, Byrne HM, Lewis CE. Mathematical modelling of the use of macrophages as vehicles for drug delivery to hypoxic tumour sites. *J Theor Biol* 2004;226(4):377–391.
101. Kitano H. A robustness-based approach to systems-oriented drug design. *Nat Rev Drug Discov* 2007;6(3):202–210.

④スタン I : 赤色 219号に含有されていた不純物であるスタン I が原因で、女性の顔面に、初期には発赤、かゆみなどの炎症症状をきたし、やがて紫灰色から紫褐色の色素沈着へと進展するリール黒皮症(女子顔面黒皮症)が1970年代中頃を中心に発生した。その後メーカーの安全性保証の強化に伴い、発生率は減少し、現在ではほとんど認められなくなった。

5.2.7 化粧品の安全管理^{1, 25)}

GVP (Good Vigilance Practice ; 製造販売後安全管理基準)に関する省令に基づき、医薬品、医薬部外品、化粧品および医療機器の各々に携わる製造販売業者は、市販後の安全性を担保するために、定められた基準にしたがって、情報の収集、作成、保管および報告を実行することが求められている。とくに、化粧品においては、成分のほとんどを自己責任のもとで配合することができるため、GVPは非常に重要なものといえる。 [森 眞輝]

文 献

- 1) 薬事日報社 化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック検討会 (2006) : 化粧品・医薬部外品 製造販売ガイドブック 2006, 薬事日報社.
- 2) 日本化粧品工業連合会 編 (2008) : 化粧品の安全性評価に関する指針2008, 薬事日報社.
- 3) 板垣 宏, 萩野滋延 (2008) : 動物実験代替法への化粧品企業における取り組み, ファルマシア, 44, 863-868.
- 4) The international agency for research on cancer (IARC) : IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, IARC, Lyon.
- 5) Rietschel, R.L. and Fowler, J.F., Jr., Eds. (2001) : Fisher's contact dermatitis 5th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Pennsylvania.
- 6) 荒田次郎監修 (2004) : 標準皮膚科学 第7版, 医学書院.
- 7) 独立行政法人 科学技術振興機構 : 日本化学物質辞書 Web, http://nikkajiweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.html
- 8) The national center for biotechnology information (NCBI) : PubMed, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- 9) Klaassen, C.D., Ed. (2007) : Casarett and Doull's toxicology - The basic science of poisons - 7th ed., McGraw-Hill, New York.
- 10) Champion, R.H., Burton, J.L. and Ebling, F.J.G., Eds. (1992) : Textbook of dermatology 5th ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- 11) 国際化学物質安全性計画 (IPCS) : 国際化学物質安全性カード (ICSC) - 日本語版 -, <http://www.nihs.go.jp/ICSC/>
- 12) Baran, R. and Maibach, H.I., Eds. (1998) : Textbook of cosmetic dermatology 2nd ed., Martin Dunitz, London.
- 13) 日本ビタミン学会編(1996) : ビタミンの事典, 朝倉書店.

- 14) 田村建夫, 廣田 博 (1999) : 化粧品科学—理論と実際 第3版, フレグランスジャーナル社.
- 15) The U.S. food and drug administration (FDA) : <http://www.fda.gov/>
- 16) 中村 淳, 高野勝弘 (2006) : 化粧品の国際法規制の現状とハーモナイゼーションの課題 国際法規制の現状とグローバル化, フレグランスジャーナル, 1月号, 17-20.
- 17) 高橋理佳 (2006) : 米国の化粧品の法規制の現状と課題 国際法規制の現状とグローバル化, フレグランスジャーナル, 1月号, 21-24.
- 18) The cosmetic ingredient review (CIR) (2007) : 2007 CIR Compendium, CIR, Washington, D.C.
- 19) The national institute for occupational safety and health (NIOSH) : Search the NIOSH Website, <http://www.cdc.gov/niosh/srchpage.html>
- 20) 伊東和子 (2006) : EUにおける化粧品規制とその課題 国際法規制の現状とグローバル化, フレグランスジャーナル, 1月号, 25-30.
- 21) European Commission-Enterprise and Industry : http://ec.europa.eu/enterprise/cosmetics/html/consolidated_dir.htm
- 22) The international fragrance association (IFRA) : <http://www.ifraorg.org/>
- 23) 光井武夫編 (2001) : 新化粧品学 第2版, 南山堂.
- 24) Sato, Y., Katsumura, Y., Ichikawa, H., Kobayashi, T., Kozuka, T., Morikawa, F. and Ohta, S. (1981) : A modified technique of guinea pig testing to identify delayed hypersensitivity allergens, Contact Dermatitis, 7, 225-237.
- 25) 厚生労働省 : 医薬品, 医薬部外品, 化粧品及び医療機器の製造販売後安全管理の基準に関する省令, 平成16年9月22日, 厚生労働省令第135号.

5.3 食品, 食品添加物, 食品汚染物質, 飼料添加物

5.3.1 食品

食品とは、食品衛生法第4条に「食品とは、すべての飲食物をいう。ただし、薬事法に規定する医薬品および医薬部外品は、これを含まない」と定義されている。飲食によって起こる健康障害は食性病害 (food borne disease) とも呼ばれている。食品衛生上、ヒトの健康維持に有害な因子が食品中に含まれる可能性は、その生産、採取、製造、輸入、加工、処理、保存、輸送、陳列、販売、調理、から摂取までの各段階で考慮しなければならない。

a. 食品による健康障害 この有害因子としては、食中毒や経口感染症を引き起こすコレラ、赤痢などの細菌、A型肝炎ウイルスなどのウイルス、トキソプラズマ、アニサキスなどの寄生虫のほかに、マイコトキシン (かび毒)、環境汚染物質 (ダイオ

キシソ類など), 残留農薬, 容器からの溶出物といったいわゆる食品汚染物質, テトロドトキシソ (フグ毒), ドーモイ酸 (記憶喪失性貝毒), ムスカリン (キノコ毒), サイカシン (ソテツ実に含まれる毒) といった天然毒性物質などもあり, きわめて多種多用である. 本来トキシソロジー領域では, 細菌, ウィルス, 寄生虫などによる感染症ではなく, 細菌毒素, 天然毒性物質などの生物由来の化学物質と, 産業化学物質, 残留農薬や環境に由来する物質等人工的な化学物質が対象となるが, 食中毒時などでは感染と毒素, 双方が関与してくることに注意を払う必要がある. 以下に, 飲食によって起こる健康障害の代表例を原因により分類し記載する.

1) 食品自身によるもの 植物性・動物性の天然毒性物質 (フグ毒, 貝毒, キノコ毒, 青酸化合物など), 過剰摂取による被害 (イシナギ肝臓中のビタミンA) などがある. 急性毒性だけでなく, 発がんのおそれのある変異原性物質 (ソテツ実に含まれるサイカシンが腸内細菌により代謝を受けて生じるメチルアゾキシメタノール, ワラビの中のプタキロサイドなど) にも注意が必要である. また, 食品由来の成分には, その作用・機能が未知の化学物質が存在するため, いわゆる健康食品を代表例として, 過去の食経験が活かされないような抽出や濃縮が行われると, この未知成分による健康被害が引き起こされる可能性がある. 実例として, トウダイグサ科の植物アマメシバによる閉塞性細気管支炎を挙げることができる¹⁾.

2) 食品の変質によるもの²⁾ 食品成分が微生物, 酵素, 酸素, 光などにより質的に変化する (変質) ことがある. タンパク質が微生物により分解され, 悪臭物質 (アンモニア, メルカプタン, 硫化水素, インドール, アミン類など) を生成し変質することを一般に腐敗という. 腐敗の進行は, 温度, pH, 水分含量, 成分により著しく異なる. 糖質, 脂質等の成分も変質するがこの場合は一般に変敗といい, アルコールなど有用な化合物を生成する場合は発酵といい, 区別されている. 変敗の中では, 自動酸化による油脂の変質が問題となることが多いが, これは熱, 光, 金属などにより加速される. 高度不飽和脂肪酸 (リノール酸, リノレン酸, アラキドン酸など) の油脂過酸化物および二次生成物であるマロンアルデヒドやアクロレインなどのアルデヒ

ド類などが生成する.

3) 細菌, かび, ウィルス, 寄生虫などによる付着・汚染によるもの 食中毒菌 (腸炎ビブリオ菌, サルモネラ菌, ブドウ球菌など), 経口感染症の病原菌 (赤痢菌, 腸チフス菌, コレラ菌, 腸管出血性大腸菌 O 157 など) や, ウィルス (ノロウィルス, A 型肝炎ウィルスなど), 原虫 (アメーバ赤痢など), 寄生虫 (アニサキスなど) が原因で起きる.

かびの場合, マイコトキシソが問題となる. これは, かびなどの真菌類が産生する低分子の二次代謝産物で急性あるいは慢性毒性を現す. かびは熱に弱い, 耐熱性のマイコトキシソが存在する (アフラトキシソは 300℃ でも安定). マイコトキシソの例として, アフラトキシソ, オクラトキシソ, フモニシン, パツリン, デオキシニバレノール, 麦角アルカロイド (エルゴタミンなど) が挙げられる.

ヘリコバクター・ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) は, 胃および十二指腸潰瘍の原因として注目されているらせん型の細菌である. 経口感染が疑われている. ウレアーゼにより胃粘液中の尿素をアンモニアと二酸化炭素に分解し, 生じたアンモニアで局所的に胃酸を中和し胃へ定着する.

牛海綿状脳症 (bovine spongiform encephalopathy, BSE) は, 異常プリオンタンパクによって媒介されると考えられている病気の1つで, 1990年代になって BSE に感染した牛の特定危険部位 (脳, せき髄など) をヒトが食べたことによる発症が疑われる変異型クロイツフェルト・ヤコブ病の症例が見つかり世界的に大問題となった. 異常プリオンは, 通常の調理による加熱では失活しない.

4) 加工過程で生成する化学物質によるもの²⁾

発酵, 燻蒸, 加熱などの加工過程で実験動物において発がん性を有する, ニトロソアミンやヘテロサイクリックアミン (複素環アミン) などが生成することが示されている. ニトロソアミンは食品中にも微量存在しているが, それ以上の量が, 食品どうしあるいは添加物等との組み合わせにより, 生体内で容易に生じる. たとえば, 野菜などに多量に含まれている硝酸塩が口腔や消化管内の細菌によって還元されて亜硝酸塩になり, 胃内の酸性条件下で魚などに多く含まれる第二級アミンと反応しニトロソアミンが生成する. ヘテロサイクリックアミンは, アミノ酸やタンパク質の加熱により生成するもので, ト

リプトファンからは Trp-P-1 や Trp-P-2 が、グルタミン酸からは Glu-P-1 や Glu-P-2 などが生じる。魚干物を加熱調理すると MeIQ などが生成する。

フェオホルバイド (pheophorbide) は、クロロフィル分解物のひとつで、摂取したヒトに光過敏症を誘発することがある。1997年に粗悪なクロレラを摂取し光過敏症が起き問題となった。アワビの中腸腺の摂取時でも、含まれる葉緑素由来のフェオホルバイドと考えられる光過敏症例が報告されている。

不飽和脂肪酸は天然ではほとんどの場合シス型であるが、最近になって、植物油等の製造時の水素添加などの過程や加熱調理過程等でシス型の不飽和脂肪酸から生じるトランス脂肪酸による心血管系障害が懸念されている。なお、トランス脂肪酸は牛など反すう動物の胃内細菌により生成することも知られている。

5) 外来物質の混入、残留、汚染によるもの
環境汚染物質(ダイオキシン類, PCB, メチル水銀, カドミウム, 鉛, ヒ素, クロムなど), 過量の残留農薬・食品添加物・飼料添加物(ホルモン剤など), 食器や包装物からの溶出物(フタル酸エステルやビスフェノール A など), 放射性物質などが挙げられる。また水の汚染, たとえば, 塩素消毒時の消毒副生成物(トリハロメタンなど)や湖沼の富栄養化により大量発生したアオコ等らん藻由来の毒(マイクロシスチンなど)などにも注意が必要である。

また, 加工過程での生成や容器包装からの溶出による混入ではなく, 製品の保存中に新たな化学物質が生じるという事例もある。清涼飲料水中にベンゼンが低濃度検出されることが欧米等諸外国で公表され(2006年), 製品中の安息香酸(保存料)とアスコルビン酸(酸味料, 酸化防止剤)が, 製品の保存中に特定の条件下で反応し低濃度のベンゼンが生成することが判明した。その後ベンゼン生成を低減する措置がとられている²⁾。

6) 食物アレルギーによるもの ヒトによっては, 特定の食物の摂取によってアレルギーが引き起こされる。その多くは即時型のアレルギー反応であり, 重篤な場合は, 呼吸困難等のアナフラキシー症状を呈する。多くの場合, 抗原はタンパク質である。発生頻度が高い食物としては, えび, かに, 小麦, そば, 卵, 乳および落花生が知られている。これら7品目は特定原材料として, 表示が義務づけら

れている。また特定原材料に準ずるものとして, あわび, いくら, さば等の18品目についても表示が推奨されている。

7) 飲食物と医薬品の相互作用によるもの この例として, 1) 納豆(ビタミン K 合成能が高い納豆菌)の摂取により, ワルファリンの作用が減弱, 2) 牛乳や高脂肪食摂取により, 難水溶性薬物(インドメタシン, ニトロフラントインなど)の吸収率が増加, 3) 食餌による胃酸分泌亢進により, 酸に不安定な薬物(ペニシリン, エリスロマイシンなど)の吸収率低下, 4) モノアミン酵素阻害薬(イソニアジドなど)投与を受けているヒトでの, ヒスチジンを含む魚の摂取によるヒスタミンによる中毒あるいはチーズやワインに含まれるチラミンの血圧上昇作用の促進, 5) グレープフルーツジュース中のフラノクマリン類に起因する薬物代謝酵素(CYP3A4)阻害による薬物(ニフェジピン, シクロスポリンなど)血中濃度の増大, あるいは酵素誘導による血中濃度の低下(セントジョーンズワートなどの摂取による CYP3A4 誘導, 芽キャベツによる CYP1A2 誘導), などを挙げることができる。

このような食性病害を防ぐには食品の衛生管理と品質管理も重要となるが, この管理法として, 検査結果が明らかとなったときには出荷済みとなり手遅れとなる最終製品の抜き取り検査のようなものではなく, アメリカで開発された HACCP (hazard analysis and critical control point) という食品品質管理システムがある。食品の製造工程全般を通じて危害の発生原因を分析し重要管理事項を定めるもので, 日本の食品衛生法でも採用され日本の企業でも導入されつつある²⁾。

b. 食品衛生に関する法規²⁾ 日本での食品衛生行政は「飲食物その他の物品取締に関する法律」の制定にはじまり(1900年), 当時は内務省が行政を担当し警察官により取締りが行なわれた。第二次大戦後, 新憲法のもと食品衛生行政が厚生省の所管となり, これまでの食品衛生に関する法律, 規則が見直され「食品衛生法」が公布(1947年), 翌年施行された。この法律の目的は, 「食品の安全性の確保のために公衆衛生の見地から必要な規制その他の措置を講ずることにより, 飲食に起因する衛生上の危害の発生を防止し, もって国民の健康の保護を図ること」と定められている。食品衛生に関する監視,

指導のため、国、都道府県および政令指定都市に「食品衛生監視員」が設けられている。なお、2003年に残留農薬の規制に関して食品衛生法が改正となり、ポジティブリスト制が導入され、基準値が設定されていない農薬を一律基準である0.01ppm以上含む食品は、国内では流通できないこととなった。厚生労働省が管轄する調査・研究機関としては、国立医薬品食品衛生研究所、(独)国立健康・栄養研究所などがある。また厚生労働大臣の諮問機関として厚生労働省内に「薬事・食品衛生審議会」が設置されている。他方、厚生労働省が食品衛生法を管轄するのに対し、農林水産省は、『農林物質の規格化および品質表示に関する法律(JAS法: Japanese Agricultural Standard)』(1950年制定)を所管している。

なお、食品衛生法及びJAS法において、同じ期限表示項目に「品質保持期限」及び「賞味期限」という2つの用語が使用され、わかりにくい表現となっていたが、両省による「食品の表示に関する共同会議」の協議を経て、2003年より「賞味期限」に統一された。またこれと同時に食品衛生法とJAS法において別々に定義されていた「消費期限」の定義が統一された。

食品の安全を確保するための法律が厚生労働省と農林水産省に分かれていたが、2003年に『食品安全基本法』が公布・施行され両省から独立した『食品安全委員会』が設立された。食品安全委員会は、7名の委員から構成される。食品の安全性の確保に関する施策の策定に当たってはリスク評価とリスク管理を分離し、1)食品健康影響評価(リスク評価)の実施、2)リスク評価に基づいた施策の策定(リスク管理)、3)関係者相互間の情報および意見の交換(リスクコミュニケーション)を行うこととなった。リスク評価は新設の食品安全委員会が担当し、リスク管理はこれまで通り厚生労働省および農林水産省などが担当することとなった。また食品安全委員会は、関係者相互の情報と意見の交換によって社会的合意を得るという「リスクコミュニケーション」を推進することとなった。

c. 保健機能食品⁴⁾ 食品のなかには、国が定めた安全性や有効性に関する基準等を満たした「保健機能食品」がある(健康増進法・食品衛生法)。他方、いわゆる健康食品(栄養補助食品、健康補助

食品、サプリメントなどの名称も含む)は、法律上の定義はなく、広く健康の保持増進に資する食品として販売・利用されるもの全般を指している。保健機能食品は、特定保健用食品および栄養機能食品の2種類の類型からなり、それぞれ独自の表示をすることができる。

特定保健用食品は、身体の生理学的機能などに影響を与える保健機能成分を含み、厚生労働大臣により許可または承認された食品であり約850品目がある(2009年4月現在)(個別許可型)。栄養機能食品は、不足しがちな栄養成分(ビタミン・ミネラル)の補給のために利用される食品で、規格基準に適合すれば許可申請や届け出は不要である(規格基準型)。その他、健康や栄養に関する表示が行える食品として、病者用、乳児用、妊産婦用などの特別の用途に適するという表示ができる特別用途食品がある(病者用食品、高齢者用食品など)。特別用途食品として食品を販売するには、その表示について国の許可を受ける必要がある。これらを除いては、食品のもつ効果や機能を根拠なく表示することは、医薬品と誤認されるような効能・効果表示と見なされ、薬事法により禁止されている。

d. 遺伝子組換え食品(遺伝子組換え食品表示)²⁾

遺伝子組換え技術によって改良した生物から得られた食品を遺伝子組換え食品と呼ぶ。この技術により、食品生産を量的・質的に向上させるだけでなく、害虫や病気に強い農作物の改良や、加工特性などの品質向上に利用されることが期待されている。具体的には、除草剤グリホサートに抵抗性をもたせた大豆などの除草剤に耐性がある農作物、バチルス属の細菌由来の殺虫タンパク遺伝子を発現させたトウモロコシなどの害虫に抵抗性がある農作物、遺伝子操作でオレイン酸含量を増加させた大豆などの高栄養価の農作物などである。遺伝子組換えサケなども食用に検討されている。

遺伝子組換え食品のうち、大豆、とうもろこし、ばれいしょ、菜種、綿実、アルファルファ、てん菜を原材料とする加工食品については、食品衛生法施行規則で組換えDNA技術応用作物の食品に関する表示に関する規定が設けられており、農産物およびこれを原材料とする加工食品であって、加工後も組み換えられたDNAまたはこれによって生じたタンパク質が残存するものについては、「遺伝子組換え

表5.3.1 食品添加物の一日摂取量と許容一日摂取量 (ADI) との比較 (平成14・15年度) (文献5より抜粋)

食品添加物名	一日摂取量 (mg/人)	許容一日摂取量 (ADI) (mg/kg/day)	日本人の平均体重 (50kg) における一日あたりの許容 摂取量 (mg/人)	摂取量のADIに 占める割合 (%)
食用赤色2号アマランス	0.006	0.5	25	0.02
食用黄色4号タートラジン	0.469	7.5	375	0.13
亜硫酸	0.154	0.7	35	0.44
ソルビン酸	13.56	25	1250	1.08
アスパルテーム	5.853	40	2000	0.29
アセスルファムK	0.736	15	750	0.1
スクラロース	0.31	15	750	0.04

である」ことまたは「遺伝子組換え不分別である」ことを表示することが義務づけられている。

e. 放射線照射食品 食品貯蔵期間延長や殺菌・殺虫の目的のために、X線、ガンマ線や電子線などの放射線を照射することがある。日本ではジャガイモの発芽防止のための放射線照射のみが認められているが、外国では香辛料、食肉、果実等、多くの食品についても認められている。

5.3.2 食品添加物

a. 食品添加物の法規制 食品衛生法において、食品添加物 (food additive) は、「この法律で添加物とは、食品の製造の過程においてまたは食品の加工もしくは保存の目的で、食品に添加、混和、浸潤その他の方法によって使用する物をいう」と定義されている。日本の食品添加物は、1995年の食品衛生法の大幅改正以降、法規制上の分類では、下記の4種類に区分される。このうち、2～4が、いわゆる天然添加物に相当する。

1:「指定添加物」ソルビン酸やキシリトールなど393品目 (2009年6月現在)。

2:「既存添加物」クチナシ色素、カラメル、ペクチンなど418品目 (2009年6月現在)。アカネ色素が2004年に消除された。

3:「天然香料」バニラ香料やカニ香料など約600品目 (2009年6月現在) が例示されている。

4:「一般飲食物添加物」正式名:「一般に食品として飲食に供されている物であって添加物として使用されるもの」イチゴジュースや寒天など約100品目 (2009年6月現在) が例示されている。

指定添加物は、食品衛生法第10条に基づき、厚

生労働大臣が定めたもので、食品衛生法施行規則別表第1に収載されている。原則として、厚生労働大臣が定めたもの以外の製造、輸入、使用、販売等は禁止されており、この指定の対象には、化学的合成品だけでなく天然物も含まれている。ただし例外的に、「天然香料」および「一般飲食物添加物」を、指定制度の対象外としている。また今後新たに使われる食品添加物は、天然、合成の区別なくすべて食品安全委員会による安全性の評価を受け、厚生労働大臣の指定を受けたのち、「指定添加物」となる。既存添加物は、既存添加物名簿に収載されている。1995年に食品衛生法が改正され、指定の範囲が化学的合成品のみから天然物を含むすべての添加物 (ただし、天然香料と一般飲食物添加物を除く) に拡大された。既存添加物名簿に新たな品目を追加することは認められず、ヒトの健康を損なうおそれがあると認められるとき、および流通実態がないと認められるときには、既存添加物名簿から消除できる。2004年ヒトの健康を損なうおそれがあるとしてアカネ色素が消除された。天然香料は動植物から得られる天然の物質で食品に香りを付ける目的で使用される添加物、一般飲食物添加物は、一般に飲食に供されているもので添加物として使用されるものと定められている。

食品添加物は必要に応じて食品添加物の品目ごとあるいは対象となる食品ごとに規格 (添加物の本質・基原、含量、純度など成分について最低限遵守すべき項目を示した成分規格) や基準 (添加物の製造、使用、表示に関する基準) が定められている。個々の食品添加物の成分規格・基準は「食品、添加

物等の規格基準」(厚生省告示, 1959年)に収載されている。この内容は、「食品添加物公定書」という名称で冊子体として4~8年ごとに刊行されている。「食品添加物公定書」は1960年にはじめて作成されたが、その後、製造・品質管理技術の進歩および試験法の発達等を受け改訂され、2009年現在、第8版が刊行されている。また、食品に使用した食品添加物は、指定添加物、既存添加物、天然香料、一般飲食物添加物の区別なく、原則としてすべて表示することが義務づけられている。保存料、甘味料等の8用途で使用したものについては、その用途名も併記する必要がある。用途名としては、1) 甘味料、2) 着色料、3) 保存料、4) 増粘剤、安定剤、ゲル化剤または糊料、5) 酸化防止剤、6) 発色剤、7) 漂白剤、8) 防かび剤または防ばい剤、の8種類が定められている(厚生省生活衛生局長通知「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」)。

食品添加物のうち、香料、酸味料、調味料、乳化剤など14種類の目的に使用される食品添加物については、一括名による表示が認められている。米国では、経験や科学的な知見から専門家が判断して一般的な使用法においてリスクがないものとみなされた物質をGRAS (generally recognized as safe) 物質として使用できるようにしている⁷⁾。GRAS物質は「一般的に安全と考えられるもの」と訳されている。1958年の食品添加物規制の大幅な改訂の際に設けられた、GRAS物質の届け出には民間の科学的専門家による一定の定められた科学的手順に基づいた適切な評価があればよく、政府(FDA)の判断を除外するわけではないが要求していない点が特徴として挙げられる。米国のFlavor and Extract Manufacturers Association (FEMA) (米国食品香料製造者協会)ではFDAの了解のもとに、食品香料(フレーバー)に関するFEMA GRASと呼ばれる物質リストを作成しており、リスト中の物質は米国で自動的に食品に使用できることとなっている。

b. 食品添加物の安全性評価⁵⁾ 食品添加物の安全性評価は、物質の代謝や実験動物を用いた毒性試験結果等の科学的なデータに基づき、食品安全委員会の行う食品健康影響評価(リスク評価)によって審議され、食品添加物ごとに許容一日摂取量(acceptable daily intake: ADI)が設定される。この結果を受けて、薬事・食品衛生審議会において食

品添加物としての指定の可否、成分規格、使用基準などにつき審議・決定される。ADIは、ヒトがある物質を毎日一生涯にわたって摂取し続けても、現在の科学的知見からみて、健康への悪影響がないと推定される一日あたりの摂取量であり、毒性試験から求められた無毒性量(NOEL)を安全係数で除して算出され、通常mg/kg/dayで表される。安全係数は通常、種差と個体差の観点からそれぞれに10倍を見込み、これらに乗じた100が用いられているが、固定されたものでなく、評価に使われたデータが不足している場合や現れた毒性が、神経毒性、発がん性、催奇形性など重篤な場合には追加の係数が加えられることがあり、500など数値は変わりうる。なお、いわゆる健康食品の主成分など、食品自身に由来し薬事法・食品衛生法等の法律で規定されていない化学物質に関しては、通常、安全係数の概念は適用されずADIの算出も行われない。

毒性試験については、標準の実施方法の指示のもと、(1) 28日反復投与毒性試験、(2) 90日反復投与毒性試験、(3) 1年間反復投与毒性試験、(4) 繁殖試験、(5) 催奇形性試験、(6) 発がん性試験、(7) 1年間反復投与毒性/発がん性併合試験、(8) 抗原性試験、(9) 遺伝毒性試験、(10) 一般薬理試験、を検討することが定められている(1996年厚生省通知「食品添加物の指定および使用基準改正に関する指針について」)。こうした毒性試験の整備に伴い、これまでに人体への悪影響を考慮して消除されたものだけで十数種にのぼる。例として、着色料の食用赤色1号(肝障害、肝がん)、甘味料のシクロラミン酸ナトリウム(チクロ)(膀胱がん、催奇形性)、甘味料のズルチン(肝障害、肝がん)、保存料のAF-2(変異原性、染色体異常試験陽性)、既存添加物であったアカネ色素(腎がん)がある⁶⁾。

食品添加物の摂取状況については、厚生労働省により、マーケットバスケット方式および食品添加物の生産流通統計量に基づく一日摂取量推定調査が実施されている。マーケットバスケット方式とは、スーパーなどで売られている食品を購入し、そのなかに含まれている食品添加物量を分析して測り、その結果に国民栄養調査に基づく食品の喫食量を乗じて推定摂取量を求める方式をいう。この調査結果の一例をADIとともに表5.3.1に示す⁵⁾。

c. 食品添加物規制の国際標準化⁵⁾ 食品添加

表5.3.2 マイコトキシンによる食品汚染⁹⁾(一部改変)

マイコトキシンの種類	主な原因カビ	主な汚染食品	毒性様式
	<i>Aspergillus</i> 属		
アフラトキシン (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁ , M ₂ など約20種類の誘導体)	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	ピーナッツ, トウモロコシ, 麦, 米, 綿実	肝がん, 肝障害
ステリグマトシスチン	<i>A. versicolor</i>	穀類	肝がん, 肝硬変, 血管肉腫
オクラトキシン	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i>	ピーナッツ, トウモロコシ, 麦, コーヒー豆	腎がん, 腎障害
	<i>Penicillium</i> 属		
ルテオスカイリン	<i>P. islandicum</i>	穀類 (米)	肝がん, 肝硬変
シトリニン	<i>P. citrinum</i>	穀類 (米)	腎障害
シトレオビリジン	<i>P. citreoviridae</i>	穀類 (米)	神経毒性
パツリン	<i>P. expansum</i>	麦芽根, 小麦, リンゴ加工品	消化管障害, 腎機能障害
	<i>Fusarium</i> 属		
ニバレノール	<i>F. culmorum</i>	トウモロコシ, 麦, 米	免疫系・造血器・消化管障害
デオキシニバレノール	<i>F. graminearum</i>	トウモロコシ, 麦, 米	免疫系・造血器・消化管障害
T-2トキシン	<i>F. sporotrichioides</i>	トウモロコシ, 麦, 米	免疫系・造血器・消化管障害
ゼアラレノン	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	トウモロコシ, 麦	不妊症 (エストロゲン様作用)
フモニシン	<i>F. moniliforme</i> (<i>F. verticillioides</i>)	トウモロコシ, 麦, 大豆, アスパラ	肝がん, 腎障害, ウマの白脳軟化症
	<i>Claviceps</i> 属		
麦角アルカロイド (エルゴタミンなど)	<i>C. purpurea</i>	穀類 (麦)	神経毒性, 循環器毒性, 流産

物の規格や基準については、それぞれの国の法律により定められており、各国間で相違点がある。他方で、国際的な貿易が盛んとなり、食品の輸出や輸入が増大し、食品の安全性を確保しつつ、規制を整合化することが、国際的な課題となっている。食品添加物については、国連食糧農業機関 (Food and Agriculture Organization, FAO) / 世界保健機関 (WHO) の合同食品規格委員会 (コーデックス委員会; Codex Alimentarius Commission) の食品添加物部会において検討がなされている。また、食品添加物の安全性について国際的な評価を行う機関としては、国連食糧農業機関/世界保健機関合同食品添加物専門家会議 (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives: JECFA) がある。JECFAは、コーデックス委員会とは独立しているが、コーデックス委員会に対して助言を行っている。

5.3.3 食品汚染物質²⁾

有害な化学物質による食品の汚染は、偶然あるいは過失で混入する場合と、環境汚染物質として食品に残留する場合が考えられてきたが、最近ではメラ

ミン添加牛乳事件や事故米の食品への転用で明らかになったように、意図的な犯罪行為への対応も考慮する必要が出てきた。なお、メラミン混入ペットフードにより2007年に米国を中心に多数の犬や猫が腎不全等で死亡する事件が起きたが、米国獣医師会は、メラミンとその不純物シアヌル酸との反応から生じた結晶がその原因物質である可能性を報告している。

a. 加工製造中の不純物混入による汚染 この実例として、粉乳中にヒ素が混入したヒ素ミルク事件 (1955年)、米ぬか油にPCB (ポリ塩化ジフェニル) に混入した事件 (カネミ油症, 1968年) を挙げることができる。ヒ素ミルク事件では、乳質安定剤として使用された工業用リン酸水素二ナトリウムに含まれていた不純物ヒ素を摂取したために起き、乳児の死亡を招いた。カネミ油症では、油を加熱脱臭するために、熱媒体として使用したPCBが熱交換パイプから漏出し、油に混入したためとされており、塩素痤瘡、色素沈着、肝障害などを招いた。なお、この油症の原因物質は、PCBに含まれていた

ダイオキシン類の一種であるポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofuran, PCDF) と考えられている。

その他, 食品容器に由来する化学物質による汚染で問題となっているものに, プラスチック製品の可塑剤のフタル酸エステル, 合成原料のビスフェノール A などが挙げられ, これらは内分泌攪乱物質の可能性が示唆されている。同様に食器用合成樹脂合成原料である塩化ビニルモノマー, ホルムアルデヒド, アクリロニトリルなどの漏出や陶器から溶出した鉛なども食品衛生上問題となる。鉛は他にも鉛製の水道管からの溶出が問題となる。

b. 環境中に排出された重金属・化学物質による汚染 この代表的な実例として, 水俣病およびイタイイタイ病が挙げられる。水俣病は, 排水中の, 触媒として使用した無機水銀から副生されたメチル水銀が, 魚介類に蓄積し, ヒトがこれを摂取することにより起きたものとされており, 四肢のしびれ, 歩行障害などが起きた (熊本県水俣市, 1956年)。また有機水銀は, 胎盤を介し胎児に移行し, 生まれた子どもに脳性麻痺等の症状が出た。その後, 新潟県阿賀野川流域においても有機水銀中毒という第二水俣病 (新潟水俣病) が発生した (1965年)。現在, 魚類に蓄積した有機水銀量については国際的に注意が払われており, 日本では自然界で水銀を蓄積しやすいサメ, メカジキ, キンメダイ, クジラ類の一部, マグロ類等の妊婦の摂取について注意が喚起されている。イタイイタイ病は, 富山県神通川下流域で, 鉱山廃水に含まれて排出されたカドミウムを多量に含む米を摂取したため起きたものとされており, 骨が非常に脆くなり骨折しやすい患者が多く出た (1955年)。

近年, 船底防汚剤, 木材防腐剤などとして使用されたトリブチルスズなどの有機スズ化合物が, 水生生物に対して低い濃度で作用し, 内分泌攪乱物質である可能性が示唆され, 海洋汚染物質として, ヒトへの生体影響が懸念されている。

その他, 環境中の化学物質による汚染で問題視されるものとして, ゴミ焼却場などから排出されるダイオキシン類や残留農薬が挙げられる。ダイオキシン類は, ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン (polychlorinated dibenzo-p-dioxin, PCDD), ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) およびコプラナーポ

リ塩化ビフェニル (coplanar polychlorinated biphenyl, Co-PCB) の総称である (ダイオキシン類対策特別措置法)。塩素置換数と置換位置によってそれぞれ数多くの異性体が存在する。空気中で塩素源と炭素源が300℃程度の不完全燃焼することにより発生する。したがって, この発生はプラスチックの不完全燃焼だけとは限らないこととなる。ダイオキシン類の毒性の強さは異性体によって異なり, もっとも毒性が強いのは2, 3, 7, 8-テトラクロロベンゾ-p-ジオキシン (2, 3, 7, 8-TCDD) である。ダイオキシン類の毒性評価に際しては, 2, 3, 7, 8-TCDDに対する毒性等価係数 (TEF) がWHOから提唱され, 各異性体のTEFと残留濃度の積の合計量 (TEQ) を用いて検討されている。モルモットに極めて低用量で急性毒性 (2, 3, 7, 8-TCDDによる半数致死量は, 600 ng/kg) を示した以外にも, 実験動物に対し免疫毒性, 発がん性や催奇形性などの毒性を示す。遺伝子改変マウスを用いた実験等から, この作用の多くが芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor; Ahレセプター) (ダイオキシン受容体) を介して引き起こされるものと考えられている。

c. かびによる食品汚染⁹⁾ かび等の真菌類による食品汚染の中では, 発がん性等ヒトや動物に有害作用を有する二次代謝産物として産生される毒の総称であるマイコトキシン (mycotoxin) による健康被害がとくに問題となる。主なマイコトキシンの種類と原因かび, 汚染源, 毒性様式について表5.3.2に示した。アスペルギルス属 (*Aspergillus*), ペニシリウム属 (*Penicillium*), フサリウム属 (*Fusarium*) の3属によるものがほとんどである。アフラトキシン B₁には強い肝毒性と強い発がん性がある。ピーナッツ, トウモロコシ, 麦などの貯蔵, 輸送の管理が不適切だった場合に発生する。マイコトキシンにより引き起こされる障害は, 肝障害, 腎障害以外にも, ゼアラレノンのように家畜で不妊を起こすもの, エルゴタミン (麦角アルカロイド) のように血管収縮作用や子宮平滑筋収縮作用を有するものなど多彩である。日本では2009年現在, アフラトキシン B₁, デオキシニバレノール, パツリンの3種について規制している。アフラトキシン B₁は, 食品衛生法第6条により, 全食品を対象に検出されはならないと規制されている。パツリンについて

は、りんごの搾汁（ジュース）を対象に含有量が0.050ppmを超えるものであってはならないと規制されている（パツリン告示法）。デオキシニバレノールは、小麦を対象に暫定的な基準値1.1ppmが定められている。

なお、エルゴタミンは片頭痛治療薬として利用され、ゼアラレノンエストロゲン活性を有し、またフモニシンはスフィンゴ脂質の生合成経路を阻害するが、このようにマイコトキシンのなかには、細胞分子機能解析用の生理活性物質としても研究用試薬として注目されているものがある。

5.3.4 飼料添加物

飼料添加物（feed additive）とは、「飼料の安全性の確保および品質の改善に関する法律」（飼料安全法）において、「飼料の品質の低下の防止その他の農林水産省令で定める用途に供することを目的として飼料に添加、混和、浸潤その他の方法によって用いられる物で、農林水産大臣が農業資材審議会の意見を聴いて指定するものをいう」と定義されている。法の規制対象とする家畜等は経済動物に限定することが妥当と考えられている。2003年に改正された政令で定められた動物（家畜等）は、家畜（牛、豚、めん羊、山羊およびしか）（馬は対象外）、家禽（鶏およびうずら）、みつばち、養殖魚（ぶり、まだい、まあじ、ひらめ、すずき、すぎ、くろまぐろ、うなぎ、あゆなど23種）の計31種となっている。飼料添加物は、飼料の品質の低下の防止（抗酸化剤、防かび剤、乳化剤等）、飼料の栄養成分その他の有効成分の補給（アミノ酸、ビタミン、ミネラルなど）、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進（抗生物質、合成抗菌剤、生菌剤等）を目的として添加される（2004年現在で合計153種）。それぞれ対象飼料や添加量が定められている。また、BSEの新たな発生を防止するため、牛の餌については、骨肉粉などの動物由来タンパク質が混入してはいけないことが定められている。

ヒトへの健康被害との関連では、過剰摂取あるいは抗生物質における薬剤耐性などが問題となるが、抗生物質、合成抗菌剤については、「動物用医薬品の使用の規制に関する省令」によって、投与用量や出荷前の使用禁止期間が定められている。また、動物用医薬品として投与されたホルモン剤や抗生物質等の食肉への残留も問題となるが、これもこの省令

により投与用量や出荷前の使用禁止期間が定められている。したがって抗菌性物質はその用途により「飼料添加物」と「動物用医薬品」の両方に含まれ、飼料安全法、薬事法により、それぞれに使用規制がある。ヒトへの健康被害防止に際しては、これらの物質のモニタリングが重要となっている。

食品中の飼料添加物と動物用医薬品の残留は、残留農薬と同様にポジティブリスト制が導入されており、基準値が設定されていないものには、一律基準が適用される。残留基準は、食品安全委員会により定められたADIに基づき、厚生労働省の薬事・食品衛生審議会において定められる。

なお、犬、猫等の愛がん動物用の飼料（ペットフード）は、飼料安全法において規制の対象とされていなかったが、この安全性の確保を図るため、2009年6月1日より「愛がん動物用飼料の安全性の確保に関する法律（ペットフード安全法；農林水産省・環境省共管）が施行された。2009年6月現在、政令により愛がん動物は犬と猫と定められている。

〔北嶋 聡〕

文 献

- 1) 内藤裕史 (2007) : アマメシバ, 健康食品・中毒百科7, p.35, 丸善.
- 2) 石井秀美, 杉浦隆之編著 (2005) : 衛生薬学, 5食品衛生行政と法規 (p.96), 食品成分の変質と保存 (p.115), 8経口感染症と食中毒 (p.151), 9化学物質による食品汚染 (p.157) の各項参照, 朝倉書店.
- 3) 清涼飲料水中のベンゼンについて (平成18年7月) : 厚生労働省 報道発表資料 : <http://www-bm.mhlw.go.jp/houdou/2006/07/h0728-4.html>
- 4) 健康食品のホームページ : 厚生労働省 保健機能食品・健康食品関連情報 : <http://www-bm.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/hokenkinou/index.html>
- 5) 食品添加物に関するホームページ : 厚生労働省 : <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syokuten/gaiyo.html>
- 6) 伊藤誉志男 (2007) : 日本人の食品添加物の一日摂取量調査研究 マーケットバスケット方式 (25年間のまとめ) : FFI JOURNAL, Vol. 212, p. 815-p. 838, No. 10.
- 7) Klaassen, C.D.編 (2004) : キャサレット&ドール トキシコロジー 第6版, 第30章 食品のトキシコロジー, サイエントリスト社, p.1216.
- 8) 小西 良子, 杉山 圭一 (2008) : カビ毒のリスク評価と国際的な動向, 食品衛生学雑誌 49 : 1-10.