

内分泌かく乱化学物質実験者レベル会合
(厚生省生活科学研究菅野班班会議を兼ねる)

第5回菅野班議事録

日時：平成11年01月21日(木) 午前9:30~12:00

場所：通商産業省本館6階第一会議室

座長：井上 達

進行：菅野 純

事務：高月峰夫

出席者：22名

青山博昭(財・残留農薬研究所)

池田年仁(厚生省)

井上 達(国立医薬品食品衛生研究所)

今井 清(財・食品薬品安全センター)

内田課長(厚生省)

奥野泰由(住友化学工業株式会社)

菅野 純(国立医薬品食品衛生研究所)

高月峰夫(財・化学品検査協会)

田中俊博(厚生省)

加藤正信(三菱化学安全科学研究所)

川崎 一(日化協)

羽深康雄(通産省)

永井賢司(三菱化学安全科学研究所)

中山補佐(厚生省)

豊田和弘(国立医薬品食品衛生研究所)

松尾昌季(住友化学工業株式会社)

松島裕子(国立医薬品食品衛生研究所)

宮城恵理(国立医薬品食品衛生研究所)

山崎寛治(財・化学品検査協会)

山田智也(住友化学工業株式会社)

山本 史(厚生省)

米山隆浩(通産省)

羽深：プロトコールをどのように考えるのか昨日、厚生省と通産省とで話し合いを持った。日本としては、OECD に対し、uterotrophic assay はスクリーニング試験として提案したいと考えている。

池田：その物質が、内分泌かく乱物質であることを確かめるため、まず、スクリーニング試験が必要であると考えます。

井上：先生方は、この意見に対してどのように考えるのか。スクリーニング試験として提案したいという内容はどのようなことになるのか。

加藤：資料の p1 の 2-A に二省の方が言われた uterotrophic assay の目的を書いた。この試験により、ポテンシャルなエストロゲンの特徴をみること、ポテンシャルな毒性のモードをみることを目的とする。

In the assessment and screening of estrogenic characteristics of a substance, determination of uterotrophic activity is usually an initial step in vivo. It provides information on potential estrogenicity or anti-estrogenicity of the material in mammals including human. Data from uterotrophic assay may provide initial information on the mode of potential toxic action of a substance. Currently, two methods, namely, test in ovariectomized adult female and that in pre-pubertal juvenile female are examined. It is demonstrated that ovariectomized female rat reveals higher sensitivity and reproducibility than juvenile female.

井上：Endocrine disruptor (OECD) に関する考え方として、第一には OECD は内分泌かく乱物質の possible hazard identification を目的とした試験系の可能性を探っている。このため、可能なかぎり先を見越した guideline の基礎となるような validation を目指して pre validation ないしはこれまでの data の解釈を行って validation を見据えた protocol の作成に努力している。しかし、この protocol の取り扱いを巡って混乱がみられる。それは、次のことが前提になっているにも関わらず、不明確なことに起因している。内分泌かく乱物質の概念は、既存の事実であり、そのものは事実確認もされるが、明確な hazard の発生機構などが未知であること。従って、その Identification に必要な把握すべきポイントは、定まっておらず、更に、上記の現象を惹起する物質が、陽性を呈すると知られる試験が、陽性であってもそれだけで内分泌かく乱物質を同定することが出来ない状態にあること、そして、それは、いくつかの試験系の組み合わせでもって未だ判定には、どのような考え方で望めばよいのか、明らかではないこと、などである。しかし、事態は、手をこまねいていうわけにも行かないので、EDSTC や OECD でこれらのことに取り組む。環境で起きている内分泌かく乱物質が絡むいろいろな出来事、人に対する影響の方は、きちんと調べられていない。この試験では、このようにすればこのようなことが分かるが、現時点では、それ以上のことは言えないし、分かってもいない。ある試験で陽性になったからと言ってその物質がすぐに危険であるとして取り扱うべきかどうかは、別問題である。

川崎：井上先生のその考えには 100% agree する。

内田：OECD の会議では、2 世代試験が end point であると言っているように認識しているが、その 2 世代試験まで進んだらハザードあるいはリスクアセスメントとするのか？

青山：3 月の会議に出ていたので発言させていただくが、基本思想は本当に人に対してハザードが生ずるのかは分からない状態なので、仮にハザードがあったとしてもたった一つの試験で陽性となったからと言ってどうこういうことは出来ないだろう。

井上：416 はあくまでもラットから人へ外挿しようとするもので、他には方法がないが、ひとつのサジェスションではある。2 世代試験が良いとは限らない。基本的には、2 世代試験が end point とはみていない。もっとも NCTR などは 5 世代試験を目指しているが、長く試験すれば良いと言うものでもない。実際、内分泌かく乱物質がどのように identify 出来るのか未だ基本的に分かっていないのが実情だ。

菅野：私もそれに同感。例えば、ames テストで陽性となったものが二年間の発がん試験で陰性となるときもあるし、ames テストで陰性でも大丈夫とは言えない。同じことが、binding assay, uterotrophic assay, Hershberger assay でも言えるのでは。すなわち、それらの試験で陰性なので 2 世代試験はやらなくとも良いということは断言できないし、binding assay が陰性でも 2 世代試験で陽性とでるかもしれない。現在そのデータが非常に少ないので、縦並びのバッチスクリーニングは出来なくて、横並びにしか考えられない。

井上：不可知論ではないの？やはり 2 世代試験で陽性のデータがでることが大切なのではなく、また、2 世代試験で陽性にでたからといって内分泌かく乱物質であるとはいえない。

菅野：ラットで膀胱ガンがでる物質があるが、それでもその後いろいろと研究が進むとその物質が、ヒトの発がん物質であるとはいえないことが分かってきた。内分泌かく乱物質についても同じことが言えるのではないか。

内田：OECD の中ではこの問題を日本では議論しているということにして OECD に任せたほうが無難なのではないか。この試験でこの結果が出たら何を考えないといけないとかの提案をしてはどうか。日本のポジションとしては、何だか分からないが研究だけはしているということでは許されないと思う。

井上：OECD が同じように考えてくれないと困るが。

高月：それとどの chemical がエストロゲン作用、抗エストロゲン作用、男性ホルモン作用があるのかどうかピックアップしていくのが我々が今現在できることでないか。その物質にエストロゲン作用があることが分かっても内分泌かく乱物質であるかどうかは、わからない。しかし、まずは、ピックアップすることが大切ではないか。

松尾：確かに、内分泌かく乱物質であるかいは分からないが、現時点では、今の知識で対処出来るようにすることが大切であり、OECD はだからこそいろいろな可能性のあるものを盛り込んでプロトコールを作成しようとしている。このプロトコールを作ることは、ものすごく長い時間かかり、今まで OECD がどのような経緯できたのか分かって欲しい。

今井：2 世代試験については陽性にできれば、人に対しては内分泌かく乱物質として疑わしい。Uterotrophic assay や Hershberger assay で陽性とでもそれは内分泌かく乱物質であるかいは

なかは良く分からないと言うような意味付けにしないといけないのではないか。

川崎：OECD にはそのようにあいまいな位置づけでやっていると提案したい。

井上：強い内分泌かく乱物質はすでに検出は可能であり、わかっているし、行政として対応可能であるが、内分泌かく乱物質問題は、もっと弱い物質がどうなのかということだ。

青山：20年以上、2世代試験をやってきた立場から発言させていただくと、2世代試験とは繁殖毒性試験であり、これが陽性にでたからと言って内分泌かく乱物質あるとはいえない。

松尾：OECD は多世代試験で決着を付けようとしているわけで、これは一種の逃げだが。日本で良い試験法があれば積極的に提案すべきだ。いずれ多世代試験はやめると思うが、いまは多世代試験しか手が無いのでは。

井上：強いエストロゲン作用のある物質はすぐに分かるが、弱い物質については、uterotrophic assay をするとこのようなことが分かるとしてもそれが内分泌かく乱物質につながることは分からないと現時点では言うしかない。

内田：それらは研究面。OECD は研究の問題ではなく、risk management につながるので着手し始めた。この問題は、研究レベルで行政は待って下さいとの印象を受けるがどうなのか。これでOECDを満足させることが出来るのか疑問だ。

山田：米国ではホルモン活性のある物質を内分泌かく乱物質ではなく、endocrine active compound という呼び方にしている。それらの物質は、endocrine potential をもっているのでその物質を見つけることはすなわち内分泌かく乱物質が其処から引っ掛かってくるだろうということ。内分泌かく乱物質という言葉自体米国ではすでにおかしいと言っている。

井上：我々としては、estrogen active compound は引っ掛かってくるがその方法で、その中から内分泌かく乱物質が引っ掛かってくるとは考えない。

川崎：今までの uterotrophic assay はホルモンの検出法でしかないことは理解して欲しい。内分泌かく乱物質を引っ掛けることはその方法では疑問である。

井上：プロトコールをまとめるには、今の議論の概念をはっきりさせないといけない。

内田：では、行政としては何をすべきなのか。

奥野：さきほどの菅野先生の意見で、発がん物質を例に上げ、内分泌かく乱物質について説明されたが、それとこれとは異なると思う。発がん物質はIARCでも分類しているように非常に分かりやすいが、内分泌かく乱物質は人に疫学的に証明された例がないので決められないのではないか。少なくとも人に対しては、どの様になるのか分からないので内分泌かく乱物質問題は行政的にもわからないのでは。

松尾：米国では、uterotrophic assay, Hershberger assay で陰性ならばそれ以上の試験はしなくとも良いという方針で行っている。

井上：行政はそのような運用の仕方を提案しようとするが、作る立場としては少し違ってくる。

羽深：OECD で決定されたことは日本の行政でも使っていく。この会議でもこれからその後行政で使われることを念頭において議論して欲しい。

山本：日本で作ったものを日本で採用しないという事態はどうか。最終的には行政として使わ

れることを念頭に置いてもらわないと困る。

永井：この会議は、エストロゲン活性、アンドロジェン活性を検出するのに鋭敏な系を作ろうというのが目的。

菅野：E2 などの強いエストロゲン物質に対してある物質は何分の 1 なのかということも、その強さの程度も将来的には調べることを念頭に置きたい。

井上：さしあたっては、強いエストロゲン作用を持つ物質を引っ掛けていきたいということか。

加藤：少なくとも E2 と比較して、50%子宮重量が増加したところを E2 と比較するなど。

永井：用量の決め方としては、資料の p4 を参考に。

When estrogenic potential of a test substance in vitro test is available prior to the test, maximum dose level may be set at such level that IC50. When evident sign of toxicity manifest in the course of test, or known prior to manifest, the highest dose should not exceed the MTD. However, in any case, 100mg/kg for S.C.administration or 1000mg/kg for P.O. is considered satisfactory.

川崎：ラショナルがあるときには、IC50 あるいは毒性試験での用量設定方法の両方をとれるようにして欲しい。

高月：バリデーションの時に選択枝を付けてることは可能か。

川崎：IC50 からの用量と、MAXdose からの用量の 2 つを選択させて欲しい。

井上：日本における試験はいろいろな提案を出来るだけ受け入れてデータを集める方向で行きたい。

青山：動物のN数は？。CV をみていただいて提案してはどうか。

加藤：p3 の Laboratory verification のところをみていただきたい。

Prior to the study, the total test system should be verified using E2 to examine increase of uterine weight of 50% compared with vehicle control can be achieved with statistical confidence at $p < 0.01$. If not, then number of animals in a group should be increased to achieve the confidence.

川崎：ホルモン作用はデリケートなので刺激作用や毒性作用があるので出来ればその症状を記載するようにして欲しい。通産省からの〇〇に記載されている症状にそって、代表的なものを記載して欲しい。データだけはとって置いたほうが良いのでは。

井上：時間が来たので今後の扱いについて discussion しないとイケない。小委員会を作りますか？。1月27日に再度会議が開かれますが、それまでに御協力いただける方、御協力いただくべき方で小委員会を作るのはどうでしょうか？

加藤：このプロトコールをよまれてまず、欠点や直すべきところを指摘していただきたい。菅野先生のアプローチを取りながら作業していきたいと思う。どんなインフォメーションでもけっこうですので英文で菅野先生へ E-mail を送っていただき、菅野先生より加藤の方へアプローチしていただきたい。

加藤先生の E-mail: LEF05312@nifty.ne.jp

次回の班会議は

日 時平成 11 年 01 月 27 日 (水) 午前 10 : 00-

場 所 : 通商産省別館共用第 833 会議室