

総括研究報告書

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

主任研究者 関澤 純 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 (平成 10-12 年度)

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

- (1) リスク評価における不確実性分析に関する文献を収集、内容を検討し一部を和訳した。
- (2) 不確実性分析の解析ソフトを入手し、それぞれの特徴を検討し本研究に活用した。
- (3) ダイオキシン類のリスク評価に関し、世界保健機関(WHO)、欧州連合(EU)、米国有害物質疾病登録庁(ATSDR)、オランダ国立公衆衛生/環境研究所(RIVM)から評価情報入手し、評価根拠について検討した。国際的な健康リスク評価のハーモニゼーションの一環として進められているリスク評価における不確実性係数の適用における改善のための討議資料を入手し、一部を翻訳し検討を加えた。別途、ダイオキシン類の急性毒性において大きな種差を生ずる要因についても検討した。
- (4) リスク評価における不確実性分析に関する最新の国際的な研究動向を調査し、海外との共同研究を行った。欧州連合および米国・カナダではそれぞれ、化学物質のリスク評価に際して動物試験における無毒性量から人の安全性を確保するための許容(耐容)量を設定する時に、100という値を不確実性係数として一律に適用するのではなく、種間、個体間のトキシコキネティクスやトキシコダイナミクスの差異に関する詳細な情報を収集、解析して、種差による外挿、および人の個体差の幅の推定を精密化し不確実性を減らすための研究プロジェクトを進めている。
内分泌攪乱化学物質についても同様な考え方は重要と考えられ、国際化学物質安全性計画(IPCS)が企画した国際ワークショップ(2000年5月)において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿のため、あるいは分布における「パラメータの不確実性」もさることながら、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられた。特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連した

いわゆる「逆U字型用量－反応曲線」あるいは「低用量問題」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

- (5) 内分泌攪乱化学物質については、米国環境保護庁(US EPA)、ドイツ政府、オランダ政府の報告書を入手し、このうちオランダ政府の報告書(オランダ語)を和訳した。
- (6) 内分泌攪乱化学物質のうち活性の強さと曝露量から考えて、ヒトとりわけ日本人に影響を及ぼしている可能性がもっとも高い物質を優先し、問題とされているいくつかの物質も加えてリスク評価関連の情報を収集し、解析した。すなわち、大豆中に含まれるホルモン活性物質、有機スズ、ジエチルスチルベストール(DES)、ビスフェノールA (BisA)、メトキシキロール (MTC)について検討した。
- (7) 植物ホルモン物質の文献データをデータベース化した。植物ホルモン物質について食品中含量の幅、摂取量の概略値と、代謝能力の個体差などの詳細な検討の結果、不確実性の要因とその幅、および今後必要な研究の一部を同定した。10年度、多くの日本人が外界から摂取している化学物質のうち、もっとも広範に意味あるレベルでエストロゲン作用を及ぼしている可能性を持つ大豆中のエストロゲン物質について、その摂取による健康へのリスクとベネフィットを文献情報に基づいて解析した。11年度は日本人の間で実際にどのようなことが起きている可能性があるかを知るために、女子大生を対象としたアンケート調査を行った。その結果、大豆食品を多く摂取している学生はそうでない学生に比べて生理が順調である傾向が見られた。
- (8) リスク評価の不確実性分析に関する欧州での第一人者の研究者を招待し、内分泌攪乱化学物質のリスク評価に基づく研究と対策の優先順位付けのスキーム案を作成した。
- (9) 今年度の研究成果の公表および海外招待研究者による講演を兼ねて、研究者、企業、行政、市民を含む内分泌攪乱化学物質のリスク評価と不確実性分析に関する公開のワークショップを開催し、リスク評価への理解の推進を図った。
- (10) 内分泌攪乱化学物質のリスク評価において、もっとも大きく不確実性に寄与する要因のひとつとして、曝露時期がある。本研究では内分泌攪乱作用の疑いについてこれまで関心を集めている化学物質について、胎児期曝露のどのような情報が得られているかを調査しデータベース化を進めている。一部の文献を基にリスク評価の不確実性要因の分析を行った。
胎児期曝露による発生・生殖などへの影響の解析を目的としてこれまでに内分泌攪乱影響が懸念されている約100種類の物質について、fetus、embryo、fetal exposure、reproductionをキーワードとしTOXLINE文献データベースを用いて文献検索を行った。物質によっては非常に多数の文献が見いだされたので、内分泌攪乱影響の可能性や懸念が比較的大きいと考えられた大豆エストロゲン物質、有機スズ、フタル酸エステルおよびダイオキシン類に絞り重要と思われるオリジナル文献を収集し、物質に関する情報、試

験に関する情報、影響に関する情報、文献情報を分類、整理したデータベースを作成してきた。本年度は前記物質についてさらに最近(1998-2000年)の文献に限って追加検索を行った。本データベースを活用するとともに、人における影響の知見を中心に、影響と曝露に関する定量的な情報を収集し、かつ背景メカニズムについての考察を加えて以下に記すようなリスク評価と不確実性分析を実施した。

- (11) ダイオキシンによる人へのリスクを評価するためには不確実な要因がさまざまある。事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、そのような事象が起りうる確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係について統計的な解析を行った。わが国で耐容一日摂取量を評価する際に用いられた動物試験データについても、同様な解析を行った。新生児におけるダイオキシン類同族体の体内半減期を推定し、個体差に基づく不確実性について解析した。
- (12) 大豆中イソフラボノイドのエストロゲン作用について、現在の日本人の平均的摂取レベル(ゲニステインとダイゼインの合計で一日あたり20-40 mg)と血中濃度は、臨床および疫学的な知見に照らして乳癌抑制を含むベネフィシアルな影響を与えるのに十分なレベルであることをすでに示した。実際に大豆製品摂取を含む食生活と女性の生理の関連について確認する目的で女子大生を対象とした健康影響に関するアンケート調査を実施した結果、大豆摂取が少ない人ほど不正出血や経血量異常が多い傾向が見られたが、喫煙の有無や睡眠不足などが生理の不順へのより大きな要因として寄与している可能性が示唆された。今年度は一歩進めて、更年期前後の女性を対象として食生活を記録しながら大豆抽出イソフラボノイドを4週間にわたり毎日一定量(40 mg)摂取した場合と、プラセボを摂取した場合について健康への影響を解析するダブルブラインド・クロスオーバーの疫学調査を東京農業大学と共同研究として行った。その結果閉経群(45名)、未閉経群(13名)ともにイソフラボン摂取後に高密度リポたんぱくの増加が見られたが、同時にイソフラボン摂取期間中に油脂や肉類の摂取量に変化があった。また骨代謝のマーカーであるジピリジリンとオステオカルシンのレベルはイソフラボン摂取後に閉経群でそれぞれ低下傾向と上昇傾向が見られ骨吸収の亢進を示唆し、骨密度についてはイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、未閉経群では骨密度はイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、骨代謝マーカーについては逆の傾向が見られた。しかし今回試験では対象人数が少なく、また既往歴のある人が76%以上(高血圧26%, 子宮筋腫2%)と多いなど不確実性要因も多く投与による影響の有意差は認められなかった。
- (13) ダイオキシンの生殖・発達影響の不確実性分析のため、事故によりダイオキシンに曝露された両親から生まれた子供に見られた性比(男児と女児に対する比)の偏りの問題をとりあげた。イタリアのセベソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事故後の約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清脂肪中の2,3,7,8-ジベンゾパラダイオキシンの濃度が100 ppt以上の場合、出生児12人がすべて女児であった。昨年度は出産児への影響の可能性がより高いと考えられた母親の血漿中のダイオキシン濃度データにlog logistic modelを適用しこのような事象が10%の確率で発現するベンチマーク量を推計したところ、

約60 pptとなった。この値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイオキシン類濃度(TEQ:毒性等量)が20から40 pptであることと比べると、やや高いといえるものであった。今年度は、この事故の両親についての統計的解析から父親のダイオキシン曝露が子供の性比の偏りに影響しているのではないかとする報告が発表されたので、父親の血清中濃度に同様な手法を適用してみた。女兒ばかり生まれるというような事象の10%発現確率のベンチマーク量をこのデータか推定すると、父親の血清中ダイオキシン濃度として約73 pptとなった。

(14)わが国の人口動態統計から死産児の性比がここ30年間で急激に上昇(男児死産が相対的に増加)しているという報告がある。人口動態統計を詳細に調べると、この現象は特に妊娠12週から22週において顕著であり(最近20年間に35%以上増加)、妊娠28週以降ではむしろ死産児の性比は減少傾向(最近30年間に20%減少)にあった。性別の判明しうる妊娠12週から15週においては、もともと男児死産が相対的に多いことは知られていたが、一定傾向としてその割合が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定される。人における事象の背景には、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探るべく研究を継続している。

(15)トリブチルスズをラットの妊娠初期の比較的低濃度の投与すると血中プロゲステロン濃度を低下させ、子宮の脱落膜形成と着床胚の生存を阻害した。トリブチルスズの代謝物であるジブチルスズの塩化物をラットの妊娠初期に投与して妊娠の開始及び維持に与える影響について検討した。妊娠0-3日または妊娠4-7日に3.8, 7.6または15.2 mg/kgを強制経口投与し、妊娠20日に胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠0-3日の塩化ジブチルスズ投与により、不妊娠のラット数および動物当たりの着床前胚死亡率が、7.6 mg/kg以上で対照群と比して有意に上昇し、また15.2 mg/kgでは対照群及び飼料制限群と較べても有意に上昇した。妊娠の成立した雌ラットでは、着床数、生存胎児数、着床後胚死亡率に有意な変化は見られなかった。妊娠4-7日の投与では対照群及び飼料制限群と比べて7.6 mg/kg以上で着床後胚死亡率の上昇がみられた。これらの結果から、塩化ジブチルスズは妊娠初期に投与したとき妊娠の成立および維持に悪影響を及ぼし、その作用は投与時期によって異なることが明らかになった。

(16)フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは共通の代謝物としてフタル酸モノブチルを有し、このものが影響における近似活性体と考えられており、その作用においてはエストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用(雄の肛門生殖器間距離の短縮、停留睪丸など)を示す。他方、一般市民ではフタル酸ジブチルへの曝露の98%以上が食品経路摂取によることが知られている。毒性試験においては、母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性(生存同腹仔の減少 同腹仔体重の減少:最小毒性発現量 66 mg/kg 体重/日)が見られ、このデータをもとに無毒性量データの欠如を考慮に入れて一日許容摂取量 66 μ g/kg 体重/日が算出された。この場合、肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられた。さらにわが国での最近の調査によるとフタル酸ジブチルの食品経路摂取量として 14.3 μ g/人(0.286 μ g/kg bw/day)という推計値があり、

この量は一日許容摂取量の 0.4%に相当した。同様にしてフタル酸ブチルベンジルの摂取量として 4.7 $\mu\text{g}/\text{人}$ (0.286 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$)が推定され、この値はフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量 1850 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ の 0.005%に相当した。同じ代謝物を經由すると推定される2種のフタル酸エステルについて両者の複合曝露があったとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられた。この2種のフタル酸エステルのリスク評価で、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度とレベルのデータ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することにより、より精密なリスク評価がなされうると考えられた。

分担研究者

吉田 喜久雄 (株)三菱化学安全科学研究所 技術グループ
今井 清 食品薬品安全センター秦野研究所副所長
三森 国敏 国立医薬品食品衛生研究所 病理部
西川秋佳 国立医薬品食品衛生研究所 病理部
安田峯生 広島大学医学部第一解剖学教室教授
江馬真 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部室長
石渡尚子 跡見学園大学女子短期大学部専任講師

平成 10 年度総括研究報告より

A 研究目的

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

B 研究方法

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

いくつかの内分泌攪乱化学物質を例として、データギャップ、種間・個体間の感受性・代謝の違い、試験における証拠の十分さ、評価に用いられたモデルや外挿法の選択の違いなどについて検討した。

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

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

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

C 研究結果

C.1 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析について

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

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

C.1.1 リスク評価と不確実性

リスクは「有害な事象や危害のおこりうる確率」と定義され、リスク評価は科学的な証拠に基づくリスクの推測といえる。化学物質のリスク評価には、図1の米国科学審議会の枠組みが広く受け入れられている。

C.1.1.1 リスク評価情報における不確実性¹⁾

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

C.1.1.2 推測の必要性和不確実性の内容

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

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

C.1.1.3 リスク評価における不確実性分析

リスク評価における不確実性要因を整理すると次のようになる。

- (A) 仮説、外挿やモデルにおける構造的な、またメカニズムの未解明など知識の

不十分さによる不確実性

(B) 測定における試験動物やサンプルの扱いにおける違いや誤差による不確実性
(C) 生物が体重、感受性などにおいてばらつきがあり、また曝露のレベルにおいてもばらつきがあり固有な分布を示すことによる不確実性

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

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

C.1.1.4 ヒトの健康リスク評価における評価における不確実性の扱い

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

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

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

の提案を図2に示す。

C.1.1.5 ヒトの健康リスク評価における不確実性係数の分析

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

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

C.1.2 内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性分析

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

不確実性要因の定量的解析を進めるた

めに、特に影響および曝露の定量的なデータを背景情報とともに収集、解析する。不確実性分析のツールとしては Crystal Ball を、リスク評価には Benchmarkdose software を利用する。

(A) True Uncertainty (真の不確実性)

(A-1) 知識の不足による不確実性

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

(A-2) 測定の精確さ、誤差要因

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

(B) Variability (分布)

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

比べ in vitro ではより強いエストロゲン活性を示すが、Equol の尿中排泄量の大きな違いは個体の代謝活性の違いを反映しており、対数正規的分布をしていると考えられる。

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

潜在的に多数存在する内分泌攪乱化学物質に対して、次のようなリスク評価と対策のためのスキームを検討している。

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

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

C.2 ダイオキシン類のリスク評価について

C.2.1 ダイオキシン類と内分泌攪乱化学物質のリスク評価について

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

C.2.2 ダイオキシン類の急性毒性の大きな種差の要因について

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

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

状態などの種差を考慮に入れたリスク評価の方策を検討する。

……………今井分担報告を参照。

C.3 その他の内分泌攪乱物質のリスク評価について

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

C.3.1 植物性エストロジェンの文献データベース作成について

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

……………59 ページ資料を参照

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

日本人が食品から多量に摂取する大豆中のエストロゲン物質(genistein, daidzein)について、これら物質の日本人の血中濃度あるいは尿中排泄量と、これらを指標とした乳がんリスクの疫学データ、これら化合物摂取と

女性の生理周期との関係についての臨床データなどを検討し、日本人の尿中排泄レベルから日本人女性に乳がんが少ないことへのこれら物質の寄与の可能性を定量的に示した。

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

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

……………関沢分担報告を参照。

C.3.3 大豆成分の内分泌攪乱機構に関する研究

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

そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。植物性エストロゲンによる増殖関連遺伝子や細胞周期関連遺伝子の調節制御に関する分子生物学的研究も盛んになってきており、メカニズムの理解不足に由来する不確実性の究明に貢献できるものと期待される。大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である

可能性が示された。大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロゲン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。

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

……………西川分担報告を参照。

C.3.4 有機すずの曝露評価における不確実性分析

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

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

……………吉田分担報告を参照。

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

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

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

……………三森分担報告を参照。

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

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

……平成10年度報告書添付資料を参照

D 考察

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

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

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

E 結論

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

けに活用し、また公衆のリスク理解を支援できる提示手法を検討した。今後、人のデータおよび動物の胎児期曝露データを中心に収集し、メカニズムの考察をふまえて、不確実性要因の解析を深めたい。

文献

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

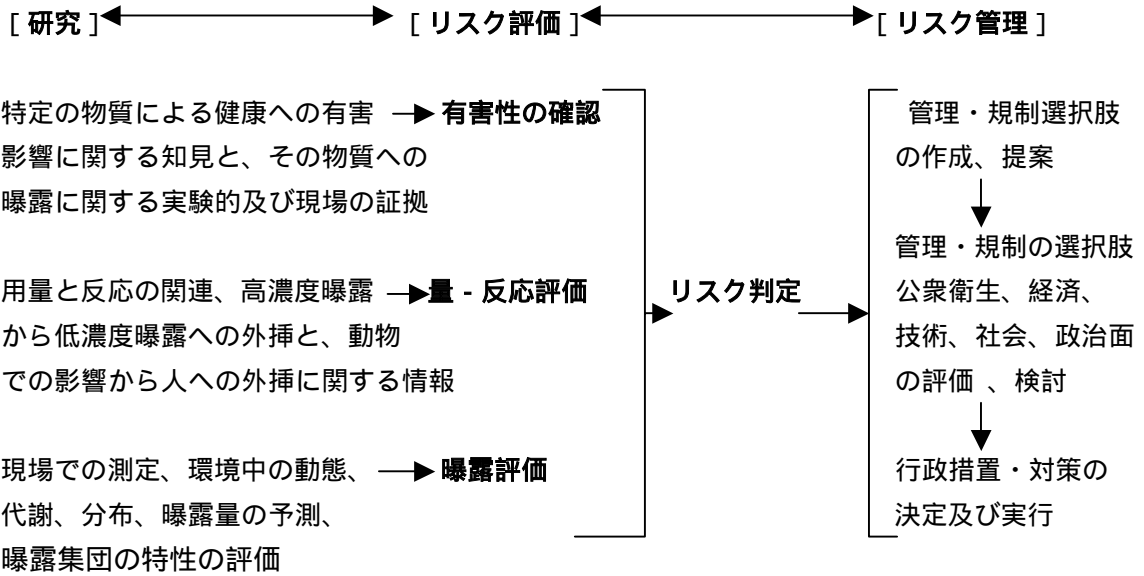


図1 米国科学審議会のリスク評価の枠組み

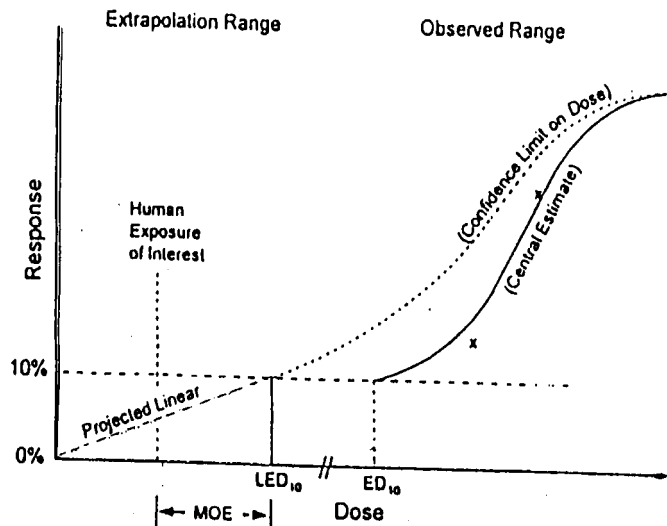


図2 米国EPAの発癌性評価についての新しい提案²⁾

表1 リスク評価情報における不確実性の扱い

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

表2 国際食品規格におけるリスク評価²⁾

Threshold approaches

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

* Safety factors (Uncertainty factors)

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

* Other method

- Benchmark dose (ex. ED10, ED5) draws more attention on data near the observed dose-response range, but still subject to application of safety factors
- Attention to special population groups, like children, pregnant woman, are protected by an appropriate choice of the intra-species conversion factors, or special consideration of their exposures

Non-threshold approaches

For genotoxic carcinogens, two management approaches are available,

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

表 4 国際食品基準のためのリスク評価における不確実性についての考え方

Uncertainty and Variability in the Risk Assessment Process

(a) Variability (Heterogeneity)

ex. Food consumption rates, Exposure duration, Expected lifetime.
Stochastic determination of mean, variance, skewness, etc.

(b) True uncertainty

Lack of knowledge

- Uncertainty and variability in hazard characterisation

(a) Model uncertainty

Accuracy and completeness of the representation of the biological processes

(b) Variance by animals in response at a given dose

(c) Variability in species extrapolation

平成 11 年度総括研究報告より

A 研究目的

(1) 健康リスク評価における不確実性には、(A) 未知の要因が介在するために不確かさを生ずる真の不確実性とも呼ばれる部分と、(B) 人(動物)および環境要因が一様でなく分布を持っているために生じる不確実性とがある。

(2) 内分泌攪乱化学物質のリスクを評価する上で、もっともクリティカルな要因のひとつと考えられた曝露時期の問題を解明するために、内分泌攪乱を疑われている物質について胎児期あるいは胚(母体の妊娠期間中)の曝露による影響の知見がどのようなものであるかを解析する。

(3) 関心を呼び膨大な知見があるダイオキシンについて、人および動物における生殖・発達影響リスクの不確実性分析を行う。

(4) 一般の日本人にとり外界から摂取するエストロゲン活性を持つ物質のうち、活性と摂取量から考え、もっとも影響の可能性の高い大豆中のエストロゲン物質について、若い女性の間で摂取レベルと生理など健康への影響を解明する。

(5) 健康リスク評価における不確実性係数の適用のあり方を見直す国際的な動きについて、最新の欧米でのワークショップのレポートを基に検討する。

B 研究方法

(1) 胎児期曝露情報の解析

Internet Grateful Med (NLM) の Toxline を使用し、1985 年—1999 年の文献を環境庁が内分泌攪乱の可能性を持つ

化学物質としてリストした化合物に植物エストロゲン物質を追加し、CAS 登録番号と 4 つのキーワード (fetus, embryo, fetal exposure, reproduction) を組み合わせて検索した。

(2) ダイオキシンの生殖・発達影響についての不確実性分析

事故により高濃度曝露された集団で見られた出生児の性比の偏りについて、そのような事象が起りうる確率と両親の血中ダイオキシン濃度との関係について米国環境保護庁 (EPA) が開発した Benchmark Dose 推計ソフト (BMDS) を用い統計的な解析を行った。

わが国で耐容一日摂取量を評価する際に用いられたラット雌で見られた Vaginal thread の出現の確率についても、同様な解析を行った。

ポリ塩化ジベンゾ-p-ダイオキシン (PCDD) と、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) あわせて 4 種類の同族体の新生児における体内半減期を、胎児期の負荷量、出生後の体重、脂肪含量などの既報値を参考にして推定した。個人差によるバラツキの不確実性についても検討した。

(3) 大豆エストロゲン摂取の女性の健康への影響に関する調査

都内女子大学の学生 365 名を対象に 1999 年 11 月に日常生活、大豆製品の摂取量に力点を置いた食生活、健康状態の関連について、アンケート調査を行った。回収率 68.2% (実数 249 名) を得、生理の異常などの症状と、大豆製品の摂取量のほかに、食事の規則性、喫煙、睡眠時間などとの関係について解析した。

(4) 1999年4月に欧州連合が、また5月に米国環境保護庁・カナダ厚生省が共催した健康リスク評価における不確実性係数の適用手法の検討に関するワークショップのレポートを入手し、検討を加えた。またIPCS(国際化学物質安全性計画)と協力して、健康リスク評価における不確実性解析の事例研究を行った。

C 研究結果

(1) 胎児期曝露情報の解析

91種類の物質についての検索結果を基に、物質特定、試験と影響の特定、文献特定のための項目を持つデータベースを作成した。

(2) ダイオキシンの生殖・発達影響についての不確実性分析

人のレベルでダイオキシン曝露により生じたことがほぼ確実である明瞭な影響で、曝露レベルも知られている事象として、曝露両親から生まれた子の性比をとりあげた。

イタリアのセブソで1976年におきたダイオキシンの大量放出事故後約8年間に生まれた17人の子供のうち、両親の血清脂肪中TCDD濃度が100ppt以上の場合12人がすべて女児であった。

このデータにlog logistic modelを適用しこのような事象の10%発現確率のベンチマークドーズを推計すると約60pptとなった。

女児ばかりが観察された母親グループのうち血漿中の濃度が最低の濃度(126ppt)の母親から生まれた子供が偶然により女児だった可能性が無視できないので、この子が男であったと仮定すると10%発現確率のベンチマークドーズは121pptとなった。これらの値は最近のドイツ、米国、日本の成人の平均的な血清中ダイ

オキシン類濃度(TEQ:毒性等量)が20から40pptであることと比べると、やや高いものであった。

他方、妊娠8日目のラットにTCDDを単回投与した時に観察されたVaginal thread(わが国のダイオキシン耐容摂取量は、この現象をひとつのクリティカルな事象と考えて、4pg/kg bw/日と決められた)について同様に10%発現確率のベンチマークドーズを推計すると、309pptという値が得られた。

新生児体内半減期を推定した結果、個体差を考慮した結果、2,3,7,8-PCDD, 1,2,3,7,8-PCDD, 1,2,3,7,8,9-PCDD, 2,3,4,7,8-PCDFについて、それぞれ0.28-1.6, 0.25-0.89, 0.37-4.9, 0.28-4.6年(95%信頼限界値の上限と下限で示す)と、推定された。

(3) 大豆エストロゲン摂取の女性の健康への影響に関する調査

大豆摂取が少ない人ほど、不正出血や経血量異常が多い傾向が見られた。大豆多食者と少食者の間で、貧血の有無に差が見られたが大豆製品摂取量と貧血の有無の間では明瞭な並行関係は見られなかった。貧血の有無に関しては、喫煙や睡眠時間が大きく影響していた。

(4) 健康リスク評価における不確実性要因を解析し、よりデータを重視した精密なものにしようとする気運があり、欧米では研究が重ねられてきた。この研究成果を踏まえて1999年に入り、欧州連合、米国・カナダでリスク評価への具体的な適用を目指したワークショップがあいついで開かれた。研究班ではこのレポートの部分和訳を行うとともに内容を検討した。

D 考察

(1) 内分泌攪乱化学物質は、リスク評価における不確実性の問題を鮮明なかたちでクローズアップさせた。すなわち投与時期の違いによる影響の検出の可否、用量 反応関係評価におけるフィードバック制御への考慮、発生における不可逆過程のスイッチのオン・オフの結果が発達過程のある時期になって検出される可能性、内分泌系・神経系・免疫系相互の関連と複雑な制御機構の攪乱の可能性などである。

(2) 内分泌攪乱化学物質問題は、単にある化学物質の試験管内試験でレセプター結合活性の有無、あるいは卵巣・精巣切除ラットでのホルモン活性の有無といったことだけでなく、従来の毒性評価（毒作用の確認、用量 反応関係の評価）では、十分考察されていなかった事柄に目を向けさせた。

(3) 不確実性解析は、解析すべき具体的なテーマを一度に具体的に突きつけられたわけだが、本研究では予算、人員、時間の制約の中で、その典型例をいくつかとりあげて、検討と解析を進めている。

E 結論

(1) これまで国際的にも、内分泌攪乱影響の検出系の検討が進められてきているが、もっとも肝心なことのひとつである胎児期曝露による次世代への影響への考察と、これまでの研究の蓄積が少ない。したがってまず胎児期曝露による影響として、これまで懸念されてきた化合物について、何が知られているかを明確にし、逆に何がこれから知らなければならないかを示そうと考えた。次年度は今年度の検索結果を基に、胎児期曝露の文献の

うちリスク評価にクリティカルと考えられる文献を解析し、結果を整理しデータベース化する。

(2) ダイオキシンによるリスクについては、いくつかの新しい手法をとり入れた耐容摂取量の評価がなされたが、その後さまざまな重要な新しい知見が輩出しており、またダイオキシン類としてPCBなどが一括して扱われたが、毒性影響のあり方や影響等量の評価にも問題が多くあり、検討が必要となっている。特に人における影響のあり方と、曝露の分布、影響の感受性の種差・個体差を考慮した不確実性解析をさらに進める。

(3) 日本人に食生活を通してもっとも影響を与えている可能性がある大豆中のエストロゲン物質については、昨年にひきつづき若い女性に加えて更年期前後の女性を対象としたアンケート調査を行うとともに、東京農業大学の渡邊昌教授、跡見学園女子大学石渡尚子講師と協力して、更年期前後の女性に大豆エストロゲンの本体であるイソフラボンを一定期間服用した際の生理的な変化について調査する。

(4) IPCS（国際化学物質安全性計画）に協力して5月にはベルリンで健康リスク評価における不確実性係数の適用の改善について、国際ワークショップを開催する。ここでは種差、個体差の要因として、キネティクスとダイナミクスのそれぞれについて、事例を用いて、どのようなデータが必要とされ、またどのような解析が適切かつ有用であるかについて検討する。本ワークショップの成果と昨年の欧米でのワークショップの成果を紹介し、また独自に適用した成果を紹介するための国内のワークショップ開催を予定して

いる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 関沢 純,大屋幸江(1999)植物エストロゲン物質の日本人の健康への定量的リスク・ベネフィット解析、日本リスク研究学会誌、11(1) 75-82

2. 学会発表

- 1) Sekizawa J, Imai K, Ohya Y (1999) Uncertainty analysis of dioxin toxicityits implication to human risk assessment, The 19th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs - DIOXIN '99, September 12-17, 1999, Venice
- 2) Sekizawa J (1999) Integrated approach for the risk assessment of chemicals case studies on endocrine disruptors, The 2nd Pan-Pacific Conference on Pesticide Science, October 24-27, Hawaii
- 3) Sekizawa J (1999) An example of integrated approach for health and

environmental risk assessment: case of organic compounds, The 3rd International Water Association Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants ECOHAZARD '99-, December 5-8, Otsu

- 4) Sekizawa J (1999) Benchmark dose estimation for reproductive and developmental effects of dioxins, International Symposium on Environmental Endocrine Disruptors, December 9-10
- 5) 関澤 純(1999)内分泌攪乱化学物質のリスク評価における総合的なリスク評価のアプローチ, 日本リスク研究学会第12回研究発表会講演論文集、200 - 207

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. 実用新案登録 なし

平成 12 年度総括研究報告より

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質のリスク評価における不確実性要因を解析することにより、評価の信頼性の向上に寄与する。内分泌攪乱化学物質の人のレベルでのリスクについて検討し、リスク評価における問題点を明らかにする。

B. 研究方法

(1) リスク評価における不確実性の扱いに関する国際動向

健康リスク評価における不確実性係数の適用のあり方を見直す国際的ワークショップにおいて、本研究の成果の一部を含めて討議した。

(2) 胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化

内分泌攪乱化学物質のリスクを評価する上で、クリティカルな要因と考えられた曝露時期の問題を解明するために、内分泌攪乱を疑われている物質について胎児期あるいは胚の曝露による影響の情報を調査し、リスク評価に関係すると考えられた知見を解析した。

(3) 大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響調査

大豆エストロゲン物質の摂取による健康への影響を実証的に調査するために、更年期前後の女性を対象としてイソフラボン錠剤を投与する二重盲検・クロスオーバーの介入試験を東京農業大学と共同研究として行った。

(4) ダイオキシン曝露による出産児性比の偏りに及ぼす父親のダイオキシン血中濃度の統計的解析

ダイオキシンに高濃度曝露された両親から生まれた子供の性比の偏りについての報告をもとに、父親の血清中ダイオキシン濃度の統計的な解析からベンチマーク量を推定した。

(5) わが国死産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計から、死産児の性比がここ 30 年間増加しつづけている要因について解析を行った。

(6) ジブチルスズのラットにおける妊娠および妊娠維持に対する影響

内分泌攪乱影響について関心を呼び膨大な知見がある化学物質のうち、有機スズとフタル酸エステルをとりあげて、リスク評価とその不確実性の分析を行った。

(7) フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの食品経由曝露によるリスクの不確実性分析

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの曝露によるリスクを評価し、評価における不確実性要因を検討した。

(倫理面への配慮) 大豆エストロゲン投与試験について当所倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

(1) リスク評価における不確実性の扱いに関する国際動向

国際化学物質安全性計画 (IPCS) が企画した国際ワークショップ (2000 年 5 月) において、植物エストロゲン物質を含むいくつかの事例研究を用いて討論した。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は外挿の

ためや、分布における「パラメータの不確実性」よりも、影響メカニズムにおける不確実性の寄与が大きいと考えられた。特に発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」の解釈などが大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(2) 胎児曝露文献の調査・解析とデータベース化

胎児期曝露による発生・生殖影響などの解析のため、大豆エストロゲン物質、有機スズ、フタル酸エステルおよびダイオキシン類に絞り最近(1998-2000年)の文献に限って追加検索を行い、重要と思われるオリジナル文献を収集し、人における影響の知見を中心に、定量的な情報を収集し、背景メカニズムについて考察を加えリスク評価と不確実性分析を実施し端緒的であるが解明のひとつの方向を示した。

(3) 大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響調査

更年期前後の女性を対象として大豆抽出イソフラボノイドの健康への影響を調査・解析した。閉経群(45名)、未閉経群(13名)ともにイソフラボン摂取後に高密度リポたんぱくの増加が見られたが、イソフラボン摂取期間中における油脂や肉類の摂取量に変化があった。また骨代謝のマーカであるジピリジリンとオステオカルシンのレベルはイソフラボン後に閉経群でそれぞれ低下傾向と上昇傾向が見られ骨吸収の亢進を示唆し、骨密度についてはイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、未閉経群では骨密度はイソフラボン摂取後にわずかに上昇し骨代謝マーカについては逆の傾向が見られた。

今回試験では対象人数が少なく、また高血圧26%、子宮筋腫2%など既往歴のある人が76%以上と多く、影響の有意差は認められなかった。

(4) ダイオキシン曝露による出産児性比の偏りに及ぼす父親のダイオキシン血中濃度の統計的解析

事故によりダイオキシンに曝露された両親から生まれた子供の性比(男児と女児に対する比)の偏りの問題をとりあげ、女児ばかり生まれるという事象の10%発現確率のベンチマーク量を父親の血清中ダイオキシン濃度について推定し73 pptという値を得た。

(5) わが国死産児の性比の経年変化に関する解析

わが国の人口動態統計によるとこの30年間に急激に男児死産が相対的に増加している。詳細に調べると特に妊娠12週から22週では最近20年間に35%以上増加しているが、妊娠28週以降ではむしろ死産児の性比は最近30年間に20%減少している。

死産性比が年を追って増加する背景には何らかの要因の存在が推定されるが、生体側や環境側の要因だけでなく、社会的な要因も関与していると考えられ、この要因を探るべく研究を継続している。

(6) ジブチルスズのラットにおける妊娠および妊娠維持に対する影響

塩化ジブチルスズをラットの妊娠0-3日または妊娠4-7日に強制経口投与し、胚-胎児に対する影響を検討した。妊娠0-3日の投与により不妊娠の動物数および動物当たりの着床前胚死亡率が7.6 mg/kg以上で対照群に比して有意に上昇、15.2 mg/kgでは対照群および飼料制限群と較

べて有意に上昇したが、妊娠成立雌ラットでは着床数、生存胎児数、着床後胚死亡率に有意な変化は見られず、妊娠4-7日の投与では7.6 mg/kg以上で着床後胚死亡率の上昇が見られた。塩化ジブチルスズは妊娠初期に投与したとき妊娠の成立および維持に投与時期によって異なる悪影響を及ぼすことが明らかになった。

(7) フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルへの食品経路曝露によるリスクの不確実性分析

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは近似活性体と考えられる共通の代謝物フタル酸モノブチルを生成し、エストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用を示す。毒性試験における肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられたが母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性が見られ、一日許容摂取量 66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日が算出された。フタル酸ジブチルへの曝露の 98%以上は食品経路摂取だが、最近の調査結果ではフタル酸ジブチルの食品経路摂取量は 14.3 $\mu\text{g}/\text{人}$ (0.286 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day) であり、この量は一日許容摂取量の 0.4%に相当した。同様にフタル酸ブチルベンジルの摂取量は 4.7 $\mu\text{g}/\text{人}$ (0.286 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day) でありフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量 1850 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day の 0.005%に相当した。フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジル両者の複合曝露があっても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられたが、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度と量データ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することで、より精密なリスク評価がなされうると考

えられた。

D. 考察

(1) 国際化学物質安全性計画 (IPCS) が企画した国際ワークショップにおいては外挿のため、あるいは分布における「パラメータの不確実性」が中心課題として討議された。しかし内分泌攪乱化学物質の場合は、影響メカニズムの詳細につき不明な点が存在するいわゆる「真の不確実性」と呼ばれる部分のリスク評価における不確実性への寄与が大きいと考えられ、特にクリティカルウィンドウと呼ばれる発生の特定時期における曝露による不可逆的な影響の存在の有無、またそれと関連したいわゆる「逆U字型用量-反応曲線」の解釈などがもっとも大きな不確実性をもたらす要因と推定された。

(2) 内分泌攪乱影響において最もクリティカルな問題のひとつであり、まだ研究の蓄積が少ないクリティカルウィンドウとしての胎児期曝露による次世代への影響の問題に着目し、胎児曝露文献の検索、整理とデータベース化を行った。個々のオリジナル文献を収集、熟読し、問題点を整理する上では時間と労力の面から対象物質と文献は限らざるをえなかった。しかし、内分泌攪乱が懸念されている、あるいは影響の可能性があるいくつかの物質についてリスク評価を実施するとともに、それに伴う不確実性の解析を行うことができた。他の先進国とともにわが国でリスク評価の枠組みを確立するとともにリスク評価に伴う不確実性の扱いについて、今後さらに独自の研究を進め、行政の安全性評価の科学的な判断根拠を提供してゆく必要がある。

(3) 内分泌攪乱化学物質のリスク評価に

において提示されたクリティカルウィンドウや低用量曝露における逆U字用量-反応関係の問題は、今後の安全生評価の枠組みの基本に関わる事柄であり、独自の研究体制を持って解明する必要がある。本研究で進めてきた胎児期曝露文献データベースの開発と、それに基づくいくつかの内分泌攪乱化学物質についてのリスク評価は端緒的なものであるが内分泌攪乱化学物質について解明すべき課題とひとつの方向を示しえたと考える。

(4) 本研究では内分泌攪乱化学物質によるリスク評価に焦点をあて、人のレベル、とりわけ日本人の現在の曝露（血中濃度を含む）レベルと、いくつかの物質の影響の種類と活性の強さを定量的に比較検討した。このため食品摂取パターンに重点をおき、若い女性や更年期の女性を対象としたアンケートあるいは疫学的調査も行った。また動物試験では、いまだ指摘されていないがダイオキシンの高濃度曝露地域に特異的に見られている出生児の性比の偏りの問題についてデータに基づき、そのような事象の発現確率の統計的な推定を行うとともに、わが国の人口動態統計を用いた死産児における性比（男児と女児に対する比）の経年的な増加傾向について解析を試みた。人を対象としたこれらの研究の解析は不確実性要因が多岐にわたり、解析は容易ではないが人のレベルですでに影響が見られている事柄に関するものであり、今後さらに研究を進める必要がある。

E. 結論

(1) 化学物質のリスク評価に内在する不確実性に着目した研究は、わが国ではこれまで例を見ない。内分泌攪乱化学物質についてはデータギャップ、作用機構に

ついて未知の部分が大きいなど、リスク評価において不確実性の寄与が大きく、毒性評価と曝露評価、総合の各段階において、どのような要因が、どういう不確実性の幅を持って寄与しているかについて解析した。

(2) 日本人における内分泌攪乱化学物質の可能性について不確実性を含めた定量的な解析を行った結果、植物エストロゲン物質、ダイオキシン、有機スズ、フタル酸エステルについて、そのリスク日本人における内分泌攪乱化学物質の可能性について不確実性を含めた定量的な解析を行った結果、植物エストロゲン物質、有機スズほかについて、そのリスクあるいはベネフィットの可能性を不確実性の幅をふくめて定量的に示唆することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sekizawa J., Suter G., Vermeire T. & Munns W. (2000) An example of an integrated approach for health and environmental risk assessment: the case of organotin compounds, *Water Science & Technology*, 42(7-1):305-313. (2000)

関沢 純、花井 莊輔、毛利 哲夫(2001)化学物質の健康リスク評価, 丸善株式会社, 東京

関沢 純 (2001) 化学物質のリスク評価における不確実性, 日本リスク研究学会誌 12(2):4-9.

小泉 睦子、江馬 眞、広瀬 明彦、長谷川 隆一(2000) フタル酸エステルの生殖及

び発生に対する毒性影響についての最近の研究：主として Di(2-ethylhexyl)phthalate および Di-n-butyl phthalate について、日本食品化学学会誌7(2):65-73.

Ema M. & Harazono A (2000) Suppression of decidual cell response induced by tributyltin chloride in pseudo-pregnant rats: a cause of early embryonic loss A. Arch Toxicol., 74:632-637.

Ema M. & Harazono A (2000) Adverse effects of dibutyltin dichloride on initiation and maintenance of Reproductive Toxicology, 14:451-456.

Ema M. (2000) Reproductive and Developmental toxicity of triphenyltin chloride in rats Congenital Anomalies, 40:8-13.

Ema M. & Harazono A (2000) Developmental and reproductive toxicity of Tributyltin and its metabolite, dibutyltin, in rats, Congenital Anomalies, 40:S108-S120.

Ema M. & Miyawaki E. (2001) Adverse effects on development of the reproductive system in male offspring rats given monobutyl phthalate, a metabolite of dibutyl phthalate, during late pregnancy Reproductive Toxicology, 15:189-194.

Harazono A. & Ema M. (2001) Effects of 4-tert-octylphenol on initiation and

maintenance of pregnancy following oral administration during early pregnancy in rats Toxicology Letters, 119:79-84.

Ema M. & Miyawaki E. (2001) Effects of monobutylphthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats Reproductive Toxicology, 15:000-000.

2. 学会発表

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし