

化学物質のリスクアセスメントにおける用量反応評価の現状と課題 －動物実験データの適用を中心に－

広瀬明彦[#]

Current issues of dose response assessment in chemical risk assessment －focusing on the application of animal data－

Akihiko Hirose[#]

The primary objective of a dose-response assessment in chemical risk assessment is to provide a quantitative risk assessment for endpoints identified in the hazard characterization. The risk assessment includes establishing a health-based guidance value such as acceptable daily intake (ADI) or tolerable daily intake (TDI). A typical approach is to derive ADI/TDI by applying safety factors or uncertainty factors to a NOAEL from a toxicity study or an epidemiological research, but the application of these factors is not harmonized internationally. In this paper, at first, problems for applying uncertainty factors are picked up, and the appropriate application procedures are proposed. The usefulness of benchmark dose approach and probabilistic approach is also explained. In addition, I propose subacute reference doses that can be applied specifically to subacute exposure scenario and point out the problems of the TTC approach applied to substances for impurities in drug chemicals. Through these discussions, I would like to highlight the importance of the problem formulation in chemical risk assessment.

Keywords: dose response assessment, uncertainty factors, benchmark dose, tolerable daily intake, subacute reference dose

はじめに

リスクアセスメントにおける用量反応評価では、有害性評価で同定されたエンドポイントに対して定量的なリスク評価を行い許容一日摂取量等の許容値を求めることが主要な評価目的となる。標準的な評価プロトコルとしては、実験動物を用いた長期の慢性毒性試験や疫学調査などの報告結果から、感受性の高い毒性影響に対する無毒性量 (NOAEL) を不確実係数 (安全係数や修正係数として扱われることもある。以下ことわりの無い限り不確実係数を使用する) で除することにより、許容量を求めることになる。しかし、医薬品や農薬など当局への申請時に慢性毒性を含むあらゆる毒性データが必要とされ

る物質や、社会的関心の高い環境汚染物質や重金属化合物を除いて、多くの化学物質において慢性曝露試験データは存在せず、上記のような標準的プロトコルでリスク評価を行うことができないのが実状である。その為、一般的な工業化学物質の評価では不確実係数は種差や個体差といった通常の不確実係数だけでなくNOAELの無いデータを用いる場合や短期のデータを用いる場合に対応した追加の係数を適用することが多い。本稿では、無毒性量などから許容摂取量を求める際に使われる様々な不確実係数に関する教科書レベルの説明に対して、追加で考慮すべき課題や問題点に焦点を当て、許容量等を実際に設定する際に考慮すべき因子や不確実性についての解説を試みる。尚、不確実係数の基本的使用方法や遺伝毒性発がん性物質の評価法、ベンチマークドース (BMD) 法や毒性学的懸念の閾値 (TTC) の適用に関する現状や基本的概念については、毒性学の教科書¹⁾や総説²⁻⁵⁾を参照していただきたい。

[#] To whom correspondence should be addressed:

Akihiko Hirose; Division of Risk Assessment, National Institute of Health Sciences, 3-25-26, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kanagawa 210-9501, Japan
Tel.: +81-44-270-6681, Fax: +81-44-270-6703

不確実係数適用の原則

不確実係数を（安全係数として）最初に公的に適用したのは、1950年代半ばに米国食品医薬品局（FDA）が食品添加物および環境汚染物質に関する法的ガイドラインを定義するためであった。Lehman and Fitzhugh (1954)⁶⁾により、食事の濃度に対して100倍のデフォルト係数を適用することが提案された。彼らは、それがいくつかの不確実性領域（Lehman and Fitzhugh (1954)⁶⁾, Doursonら, (1996)⁷⁾, Vermeireら, (1999)⁸⁾）を許容すると推論し、その後JECFAにより長期動物試験に基づいて許容一日摂取量（ADI）を設定する際に、無作用量（NOEL）を安全係数100で割って添加物のADIを計算するという手法として国際的にも標準的に用いられるようになった⁹⁾。その際100の意義付けとしてはヒトの感受性が被験動物の10倍であり、ヒト集団内の感受性の差も10倍の範囲にあると仮定することにより、十分な安全域を提供することを意図しているものと解釈されて使用されるようになった。その後、ADIを算出する際の指標となる毒性試験の指標の定義は、毒性学的な意義を考慮したNOAELの方がより適切であるとされ、近年ではNOAELを使うことが一般的となっている（後述するICHの不純物のガイドラインでは現在でもNOELを使用している）。NOELあるいはNOAELは通常、mg化合物/kg体重/日（mg/kg/day）で表されるため、ADIも同じ単位で表される。本来、不確実係数は、化学物質の安全性を定量的に担保するためにNOAELに対して適用される係数であり、それは現在でも基本的に同じ概念であると考えられるが、種差や個体差、更にそれ以外の最小毒性量（LOAEL）しか得られない場合や投与期間が短いときに対しての不確実性も包含するものとしての解釈がその係数に付け加えられてきた結果、毒性試験や疫学研究で観察された影響（エンドポイント）が高感受性のヒトに対しても現れない用量を求めるための外挿の係数として科学的に捉えられるようになってきた。その為、この係数が上記のような不確実性の因子に分解することになった時点で、種差や個体差等の各因子に関する不確実係数は、NOAELを求めた際のエンドポイントに特異的な属性として検討する必要がでてきた。つまり、種差や個体差を規定する因子はエンドポイント毎に異なる可能性があるため、許容摂取量を求めるために使用されるNOAELの根拠となる毒性や重要なエンドポイントが複数ある場合には、エンドポイント毎に不確実係数を検討する必要があることを意味している。言い換えれば、毒性試験としては一つのNOAELが選定されとしても、毒性学的に重要なエンドポイントが複数ある場合には、エンドポイント毎に異なった許容摂取量が算定される可能性があることを示している。そして、安全性を考

慮した許容摂取量を設定するという原則にたてば、複数の許容摂取量が算定される場合には、もっとも低い値を採用することになる。ところで、このような許容摂取量の算定手法は、多くのリスクアセスメントのガイダンスには明示的に示されておらず、NOAELから許容摂取量を算定する用量反応評価を行う前に、ヒトへの外挿性に適したエンドポイントを同定することになっており、単一のエンドポイントを選定するとは明示していないが、複数の許容摂取量を算定してから判断するという手順までは示されていない。しかし、実際の用量反応評価では、複数のエンドポイントを検討することは多く、さらに原則であるとはいえ、必ずしも常に最も低い値を採用するとは限らない。現実には不確実係数を適用する毒性情報の信頼性や再現性なども考慮し、総合的な判断がケースバイケースで行われており、その理由は個々の化学物質の評価書に記載されているものの、共通の手順として評価手法のガイダンスに落とし込むのが困難である為であると考えられる。また、昔は単一の慢性毒性試験から単純に一つのNOAELを設定すれば評価できたが、近年は複数の毒性試験から、生殖影響や神経影響などの複数のエンドポイントを同時に評価することが増えてきており、今後は、複数のエンドポイントから算定される複数の許容摂取量からどのように適切な許容摂取量を選択するかという観点も含めた評価ガイダンスを整備する必要があると思われる。

化学物質特異的調整係数とPBPKモデルによる調整

化学物質曝露による毒性発現が、体内への吸収、標的組織や臓器への分布、および標的細胞における有害反応という過程を経て生じると考えると、この一連のプロセスのうちで、有害性を引き起こす際の実験動物とヒトとの違いを説明する因子は、大きく薬物動態学的（pharmacokinetics, PK）パラメータ及び薬物動学的（pharmacodynamics, PD）パラメータに分けることができる。この概念に基づいて、種差や個体差に適用される不確実係数を、PK及びPDパラメータに分割して、化学物質固有の実験データ等で置き換えることにより、より科学的妥当性を加味した外挿係数を導き出せるという考えが、WHO/IPCS (1994)^{10,11)}により導入された。Renwick (1993)¹²⁾による解析に基づいて、種差の不確実係数10はPKに対応するデフォルト値（ AK_{UF} : 4.0）とPDに対応するデフォルト値（ AD_{UF} : 2.5）に分割し、個体差の不確実係数10はPKに対応するデフォルト値（ HK_{UF} : 3.2）とPDに対応するデフォルト値（ HD_{UF} : 3.2）に分割することができ、それぞれの分割係数について実験データあるいはPBPKモデルがある場合は、それらに基づいて算出する補正係数で代用し、データがな

い部分についてはデフォルト値を用いる。PKパラメータとしては、理想的には標的組織における化学物質の濃度等に関する種間あるいは個体間の変動に関するデータが用いられるべきであるが、現実的には化学物質曝露後の血中濃度やAUC、血中クリアランスなどの変動に関する解析データが用いられる。また、PDパラメータとしては、標的組織や細胞を用いた*in vitro*試験の用量反応データや、*in vivo*試験でも薬理的な治療反応の範囲に対する解析データなどが適用できると考えられるが、一般的な化学物質の場合には、医薬品など標的組織や薬理反応作用が明確に特定されていない場合が殆どであり、特定の受容体への結合や特定の酵素阻害等が直接有害性反応とリンクしている等、標的分子の明らかな化学物質に限られる。この概念が提唱されて以降の化学物質特異的調整係数（Chemical-Specific Adjustment Factors, CSAF）の国際的な適用状況については、Bhatら（2017）¹³⁾により取り纏められており、その中では種差のPKパラメータについてPBPKモデル等を用いて解析しているケースが最も多い。疫学調査などでヒトの血中濃度や尿中濃度など曝露状況の推移を解析できるデータが得られやすいというのが背景にあると考えられる。Bhatら（2017）の調査報告にはCSAFを化学物質のリスク評価書で直接使用していない例も含まれているが、このような例では、NOAELから許容摂取量に換算する過程で、摂取量の単位（mg/kg/day等）を毒性反応と直接相関する血中濃度（mg/L等）などの体内負荷量に換算していた。このように摂取量を負荷量や血中濃度に換算することは、結果的にPKパラメータの係数を求めるのと同じであると考えられる。CSAFの初期の概念は、殆どの化学物質の種差の不確実係数は10でカバーできるという原則で構築されているが、一方でヒトにおける体内の蓄積性が著しく高い物質については、10では足りないことも明らかである。国際的に標準的な評価法として初めてPKパラメータをTDIの導出に用いたのは1998年にWHOがダイオキシン類を再評価¹⁴⁾した際であった。1997年以前は、我が国を含め各国の規制当局では動物試験における発がん性や生殖毒性のNOAELに不確実係数として100を用いていた。しかし、実験動物における2,3,7,8-ジベンゾダイオキシンの体内からの消失半減期が数週間レベルであるのに対して、ヒトの半減期は平均で7.5年もあることから、種差を補正するためには、ヒトと実験動物では毒性が発現すると考えられる体内負荷量に達するまでに毎日摂取量する曝露量に100倍以上の違いがあることを補正する必要があると考えられた。この評価手法は我が国のダイオキシン類の耐容一日摂取量を算定する指標としても用いられており¹⁵⁾、根拠となった動物試験のLOAELが100 ng/kg/dayであったが、耐

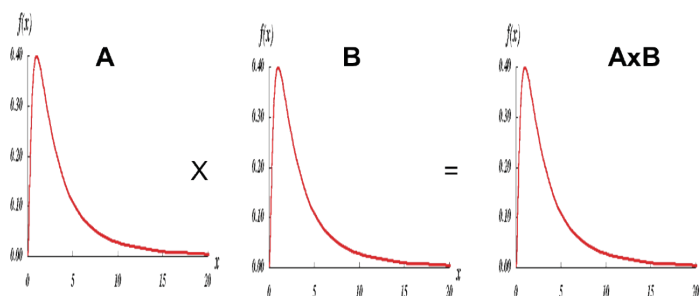
容一日摂取量としては4 pg/kg/dayと算定され、見かけ上の不確実係数は25,000に相当する。このとき実際に適用された不確実係数は10であるので、CSAFの概念に基づくPKパラメータの係数としては2,500に相当する。この評価で根拠となった動物試験で認められた影響は妊娠中の単回投与であったため、実験動物の体内半減期は摂取量への換算の計算に含まれないこととなり、PKパラメータの100倍近くの種差にさらに20倍近くの上積み分が加算されることとなった。因みに、ダイオキシン類の標的分子であるAhレセプターの感受性については、ヒトと実験動物で殆ど違いがないという解釈が行われており、明示的な説明はないがCSAFの概念に基づく種差のPDパラメータの係数は1として評価していることになる。この様に、種差や個体差に関して特にPKパラメータは、不確実係数の科学的な説明を補強するために有用なツールであることは明らかである。しかし、規制当局における許容値等の設定におけるCSAF概念の適用は、その用語の説明も含めてまだ十分ではないというのが現状である。ダイオキシン類のような国際的な評価の関心が高いような場合はともかく、長年にわたって使用してきた不確実係数としての100を変更するには、まず様々な評価機関におけるリスク評価者や評価会議等に参加する専門家への周知が必要であると考えられる。一方で、用量反応評価へのPBPKモデルの適用に対しても、さらなるデータの集積や新たな解析手法の開発が必要となっている。例えば動物のPBPKモデルをヒトに外挿する場合にモデルの計算に使用するヒトの速度定数など各種の係数が得られない時には、生物のサイズと基礎代謝量の間の相関性を示すアロメトリックスケール則に基づいて、アロメトリックスケール係数（体重の3/4乗の比率を用いた係数がよく使われる）を用いた種間補正を利用しているが、そもそも実験動物におけるパラメータの実測値も不足している。また、ヒトにおける血中濃度の測定や血中消失半減期はヒトにおけるPKパラメータの解析として重要であることがダイオキシン類などの研究で示されており、最近国際的に関心の高いペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）やペルフルオロオクタン酸（PFOA）における用量反応評価においても、ヒトの消失半減期の解析が重要なパラメータとして注目されている。しかし、その値はダイオキシン類における解析のように化学工場における事故などの単一の曝露源からの高濃度曝露群における血中消失速度の解析で求められたわけではなく、工場周辺において高濃度に汚染された飲料水を摂取していた地域住民の血中濃度の解析に基づいている。当初、PFOSやPFOAの主要な曝露源は飲料水であるという仮定で解析された研究が多かったが、実際には食品中への汚染や使用している生活用品からの

曝露量も無視できない量であることが明らかになりつつあり、これまでに報告されている半減期は見直す必要があることが指摘されている¹⁶⁾。したがって、正確な半減期の算定とそれに基づいた許容値等の設定に際しては、詳細な曝露情報の収集や生物学的なパラメータに関する情報収集が必要となっている。

確率論的アプローチの適用

種差と個体差に関しての物質特異的な情報が得られる場合は上記の手法を適用できるが、多くの化学物質の毒性データにおいては、一般的な毒性試験データしか得られないことが殆どであり、必然的に不確実係数100（種差10と個体差10）を適用せざるを得ない。しかし、評価機関によっては種差に関してNOAELの根拠となった動物試験の動物種に特異的な係数を用いる。例えば、ICHの不純物ガイドラインであるQ3C（残留溶媒ガイドライン）¹⁷⁾およびQ3D（元素不純物ガイドライン）¹⁸⁾における種差の係数は、動物種間の毒性の感受性が体表面積に相関しているという解析結果から体重の2/3乗を用

いたアロメトリックスケール係数を用いて種差の修正係数を設定している。米国EPAにおける動物の曝露量からヒト曝露量への変換係数（種差に相当する係数）としては、カロリー需要（caloric demand）の統計解析に基づいて体重の3/4乗を用いて種間補正を行うアロメトリックスケール係数を用いている¹⁹⁾。いずれも過去の様々な薬理学的あるいは生理学的データの統計的解析の結果を用いたものとなっている。我々は、NOAEL等の反復毒性のパラメータに的を絞った論文を解析した場合でも種差の感受性は体重の3/4乗に相関することを明らかにしたが、不確実係数を一つの値に固定するのではなく、統計解析で得られた分布データを用いて種差だけでなく個体差や曝露期間が短い場合の補正係数に関する分布データを分布データのまま積算して総合的な不確実係数を算出する手法を提案した^{20,21)}。動物実験データが豊富な化学物質を調査対象とし種差や実験期間の違いによるNOAELの違いなどの分布を解析すると、その分布が対数正規分布に従うことが示されている。総合的な不確実係数としては、その分布の95%を



$$95\%ile(AxB) = \text{Exp} [\text{LN}(MA) + \text{LN}(MB) + 1.65 \times ((\text{LN}(GSDA))^2 + (\text{LN}(GSDB))^2)^{0.5}]$$

(Kodell and Gaylor, 1999 より)

図1 確率論的にアプローチによる2種類の不確実性係数の分布の積の概念

表1 6種の動物の実験結果をヒトに外挿する際の確率論的アプローチ（95%タイル値）：まとめた不確実係数

動物種	F (A)	F (AH)	F (AHS)	F (AHL)	F (AHSL)
マウス	48.2	155:150	589	684	2440
ハムスター	34.4	111:100	421	488	1740
ラット	27.5	88.7:100	337	391	1400
ウサギ	13.8	44.3:40	168	195	698
サル	11.7	37.7:40	143	166	593
イヌ	9.63	31.0:40	118	137	488
Monte C	10	51	234	234	1040
Default	10	100	1000	1000	10000

F (A) : 実験動物からヒトUF, H: ヒトでのばらつき, S: 投与期間の不十分さ, L: LOAELからNOAEL, Monte C:モンテカルロシミュレーションを用いた計算値
 食品健康影響評価技術研究報告書 (2010) より引用

カバーできる値をUFとして適用する手法が提案されており、各種不確実性因子の分布の中央値 (M) と幾何標準偏差 (GSD) を用いて概算できることが知られている²²⁾。詳細な解説は省くが、不確実係数100 (種差10と個体差10) の代替案として、マウスは150, ラットとハムスターは100, ウサギ, サル, イヌは40が妥当であるとしている。90日試験から2年間の慢性試験の補正についても、中央値が1.7, 幾何平均が3.3という解析結果になり単一のUFとしては設定していないが、上記の種差と個体差を合わせた不確実係数に追加する場合は、見かけ上約4倍の追加係数を適用した値と同等になることが示されている (表1)。

この研究では、LOAELしか得られなかった場合の外挿係数についても統計分布解析を行い、表1に示す様に概ね4倍の追加係数を適用することが妥当であるという結果が得られているが、このケースの場合はベンチマークドース (BMD) 手法が適用できれば、NOAELの代用となる値を個別に算出できるので、BMD法を優先するのが妥当であるとしている。尤もBMD法も広義には確率論的アプローチとして捉えることができる。

ベンチマークドース法は、LOAELしか得られていない実験でもNOAELに相当するBMDLを求めて、許容摂取量等を求める際の出発点となる参照用量であるPOD (Point of departure) を実験データの数理モデルへのフィッティングにより算出する方法として開発された (図2)²³⁾。伝統的には、上述したようにPODとしてはNOAEL (あるいはLOAEL) を用いるのが通常の手順であるが、NOAELもLOAELも動物実験を計画した際に実験責任者が予備試験などの情報を基に本試験用に設定した人為的な用量に依存する値であり、理論的に想定されている有害影響が現れないと考えられる閾値を示した用量ではない (図3参照)。その為、近年、欧州のリスク評価機関やWHO/FAO合同専門家会議ではNOAELが設定できるような実験結果であっても、データを数理モデル化することが可能な場合は、NOAEL/LOAEL法よりベンチマークドース法を優先的に適用する方向になって

きている。BMD法では、特定の健康影響のリスク発生率又は特定の生物学的反応の変化 (ベンチマーク反応: BMR) に関連する用量に対する95%信頼限界の用量下限値をBMDL (benchmark dose lower confidence limit) として算出しPODとして用いることになる (図2)。しかし、理想的なPODと考えられる真の有害性反応の閾値を求めることは理論的に不可能なので、経験的にNOAELに近いBMDLが算出されるようにBMRの条件を設定することとなり、動物実験における有害性の誘発率の有無を示す2値データについては、BMRとして10%の動物に有害反応を誘発する用量に対応するBMDL₁₀がPODとして妥当であると考えられた。BMDLの計算には、一通りの標準的な統計モデル (Gamma, Logistic, Probit, Weibull, Hill等) を利用できるソフトウェアとしてEPAが開発したBMDSとオランダ公衆環境衛生研究所 (RIVM: National Institute for Public Health and the Environment in the Netherlands) が開発したPROASTが国際的に標準的なソフトウェアとして使用されているが、最適なBMDLを求めるためのポリシーとしてのモデル選択規準や各モデルのパラメータ制限の取扱いについて、国際的に統一された基準はない²⁴⁻²⁷⁾。そこで、我々は平成23-24年度の食品健康影響評価技術研究において、モデル選択規準や各モデルのパラメータ制限に関して実データを用いた検証を行い、独自のBMD

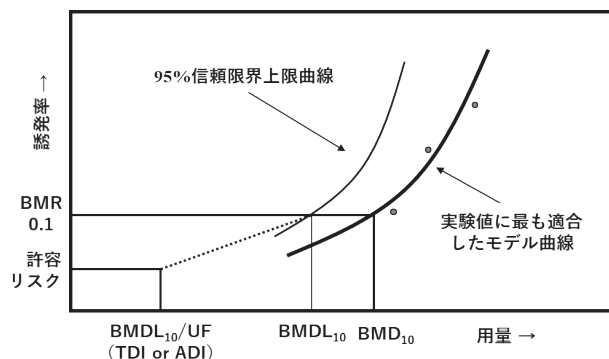


図2 ベンチマークドースの概念図

• NOAEL is dependent on study design

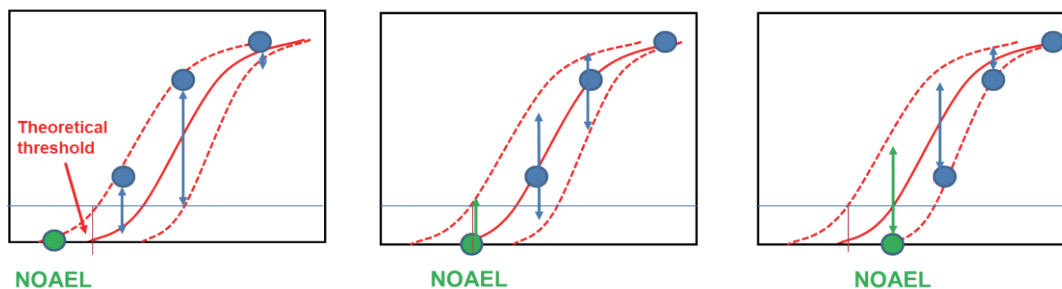


図3 真の用量相関性 (赤線) に対して実験用量を変えたときのNOAELの違い

法の適用基準を確立した^{28,29)}。しかし、この適用基準は単一の適切な統計モデルを選択してBMDLを算定する手法として最適化を試みたものであったが、データによってはAkaike's Information Criterion (AIC) により適合性の高いモデル (AICの幅が3以内) であっても選択したモデルに依存してBMDLの値が大きく異なるというモデル不確実性を内在することが指摘されており (図4)、この不確実性に対処するための方法としてモデル平均化手法がより適切であると考えられるようになってきている。最新のIPCSのガイダンス³⁰⁾や我々の最新の研究^{31,32)}では、モデル平均化手法をBMD法のデフォルト手法として位置づけることが妥当であるとしている³⁰⁾。さらに観測データから固定値を推定するという頻度論的アプローチよりもベイズ推定法を用いた区間推定によりBMDLを算出する手法が推奨されている。尤もこのベイズ手法にも課題のあることが指摘されており、食品健康影響評価技術研究ではさらなる研究が行われているところである。このようにBMD法を取り巻く状況は新たな局面を迎えつつあり、上記の経緯やモデル適用基準に関する課題等の詳細は総説⁵⁾を参照されたい。

毒性の重篤性に対する不確実係数

TDIを算出するためのNOAEL/LOAELの根拠とした毒性影響が神経影響など重大な影響であり、かつ回復性がないような影響である場合には、毒性の重篤性に対する追加の係数の適用が検討される^{1,2)}。例えば、発がん性物質を評価する際にその発現メカニズムに遺伝毒性による関与がないと考えられる場合は、閾値のある毒性評価としてTDIを算出するが、この場合に毒性指標としての発がんの誘発率や重篤な前がん病変の誘発率をNOAELの根拠として採用した場合、ヒトへの外挿性等を総合的に評価して1-10の追加の係数を検討する。実施例としては、WHOの飲料水ガイドラインやJMPRで約20化合物の評価において発がん性の懸念を理由として不確実係数10が採用されている。また、発がん性以外の影響でも、ICHのQ3C及びQ3Dの不純物ガイドラインで

は器質の変化を伴う神経毒性や母毒性の現れない用量での催奇形性などの場合に適用を検討するとされている^{17,18)}。しかし、評価機関や評価会議毎に一定の傾向やルールが設定されているものの、この種の係数の適用については専門家による高度な毒性学的判断に委ねられることとなり、客観性のある標準的な基準は設定できずケースバイケースの対応が行われているのが現状である。さらに、その他の係数が定量的な観点でその適用が議論されているのに対して、重篤性という定性的な評価に対して適用していることもあり、定量的にはNOAELが求められているのに更に追加の係数を適用することは、全ての専門家や評価機関にその適用が一律に受け入れられているわけではない。そこで、この定性的な評価に対して定量的な不確実係数をどう捉えれば良いかについての説明として、通常の実験手法におけるエンドポイントの検出感度に伴う不確実性 (毒性兆候の検出感度の限界) や統計学的分散性を考慮して以下の様に考察してみた。

図5には、個体毎の重篤度と有害性を示した個体の頻度の用量相関性を同じグラフ上で比較した例を示している。上段のグラフも下段のグラフも、有害性を示した個体数の頻度 (太い実線) は、同じ用量相関性を示しているが、上段の図は毒性試験における各個体にとってはそれほど有害性の強くない (例えば回復する可能性のある病理学的変化や血液学的マーカー) 指標が有意になる個体数を反映した結果であるのに対して、下段の図は、重篤度が強い場合に初めて検出できるエンドポイントの個体数を反映した結果の頻度グラフを表している。下段の図では、有害性の検出レベルが (例えば発がんという) 最終段階である場合に、通常の毒性試験では検出できないレベルの有害反応が、各動物個体レベルより低い用量で起きている可能性を評価できていない可能性があることを示している。尤も各個体の用量反応曲線がもっと急峻なものである場合には、追加のマージンはそれ程必要ないかも知れないが、個体レベルの有害反応は評価するエンドポイントの特性によって異なると考えられ、最終的な追加の係数の大きさは専門家の高度な専門性に依存

• Model uncertainty (even if the range of AICs < 3)

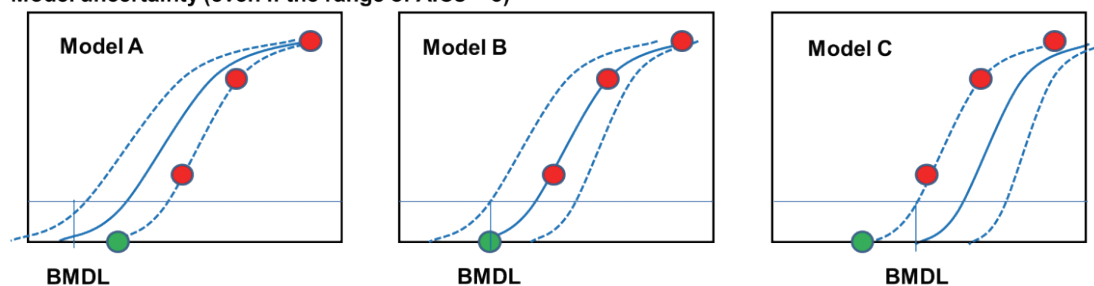


図4 実験データから予想される数理モデルの違い

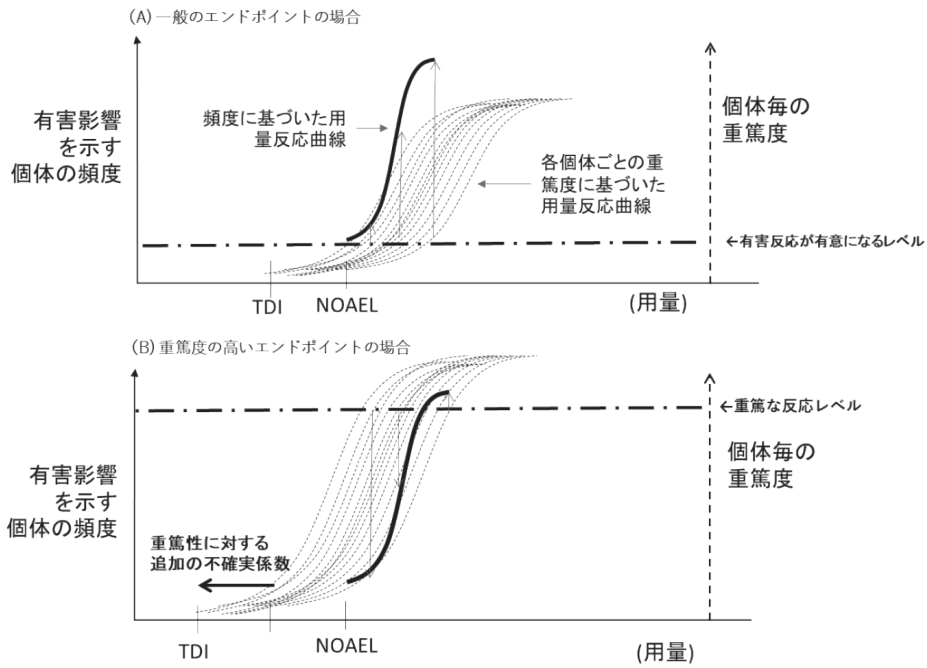
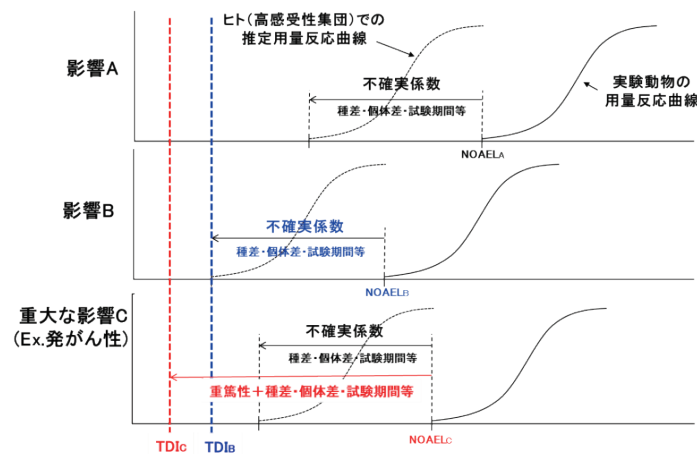


図5 個体ごとの重篤度と有害性を示した個体頻度の用量相関性の比較

・ NOAEL_CがNOAEL_Bよりも僅かに高い場合



・ NOAEL_CがNOAEL_Bよりも十分に高い場合

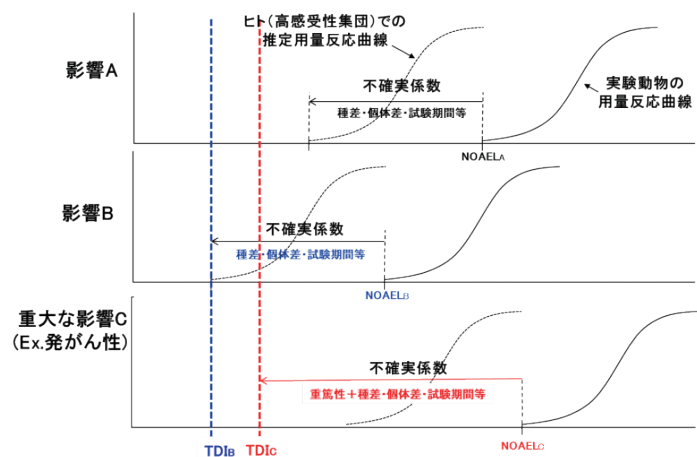


図6 エンドポイント毎の用量反応曲線と不確実係数 (UF) の設定

することになると考えられる。主観的要素の大きな重篤性に対する不確実の評価の一部は、この様な考え方を導入することにより定量的に扱うことが可能になるかもしれない。また、この考え方に基づけば、重篤性に対する不確実係数は上述した不確実係数適用の原則に従い、エンドポイント特異的に適用した方が論理的に妥当であることを示すこともできる。図6では、ある物質の毒性試験において得られた3つのエンドポイントに対するNOAELが求められたときに、各々のエンドポイントに基づいてTDIを算出する過程を図示したものである。エンドポイントCは重篤な毒性影響の、AとBは一般的な毒性影響の用量相関性を示しており、エンドポイントBがもっとも低いNOAELを示した場合となっている。上段の図では、もっとも低いNOAELに基づいて許容値を設定した場合には、 TDI_B が得られるが、エンドポイントBより少し高いエンドポイントCのNOAELから許容値を設定すると、重篤性に基づく追加の係数のために、 TDI_B より低い TDI_C がより安全側の評価となる可能性を示しており、許容値の選定基準は必ずしももっとも感受性の高いNOAELを選ぶという基準だけでなく、各々のエンドポイントの不確実性を考慮して選定すべきであることを説明している。一方、下段の図のように、もしエンドポイントBによる $NOAEL_B$ が $NOAEL_C$ に比べて十分に低い値であった場合、あるいは $NOAEL_C$ が $NOAEL_B$ よりも十分に高用量であった場合には、重篤性の不確実係数を加味した TDI_C よりも TDI_B の方が安全側の許容値を導き出す可能性がある。このような場合は、 $NOAEL_B$ に対してエンドポイントCに対応する重篤性に基づく追加の係数を適用する必要はないと考えることができる。

曝露期間が短い場合の不確実係数と亜急性許容量

TDI設定の根拠となった毒性試験の曝露（投与）期間がエンドポイントの用量依存性を評価するのに不十分な場合には、調整するための不確実係数を適用することがある^{1,2)}。一般的に短期曝露NOAELから長期曝露NOAELへの外挿係数として最大10を用いるとされており、慢性影響を評価するための反復投与毒性試験の十分な期間はげっ歯類では2年とされており、3ヶ月の亜慢性試験からの評価では通常10を用いている。生殖発生毒性については、世代試験を除いて曝露期間は短期間であるが影響を検出するには十分な期間がガイドライン等で設定されていることもあり、これらの試験のNOAELを許容値等の設定根拠となる場合には曝露期間の短いことによる不確実係数は通常適用しない。慢性試験と亜慢性試験とのNOAELの比に関して、同じ物質で両方の試験結果がある例を解析した結果では、90%程度の物質において10倍以内に分布していることで妥当性が担保されて

いるものの、平均的な比としては2～3倍程度であることも示されている³³⁾。このような解析結果をもとに欧州のREACH登録の際のDNEL（TDIに相当する許容値）の設定のガイダンス³⁴⁾では、げっ歯類の試験において90日試験と28日間試験の係数はそれぞれ2と6にすることが示されている。日本の化審法のスクリーニング評価においても同様の考え方が導入されている³⁵⁾。一方、前述したICHのガイドライン^{17,18)}ではげっ歯類の3ヶ月間試験には5、より短期間の試験には10とされており、このように評価機関によって異なる値が採用されている。しかし、これらの値は、曝露期間の違いによるエンドポイントの感受性の違いを説明する知見が不足している場合やスクリーニング評価のように一律的な評価手法が必要な場合のデフォルト値であり、特定の物質について専門家による詳細に評価が行われる場合には、化学物質の体内からの消失が早いことが示唆されるかどうか、慢性曝露では重篤化しないと考えられるような毒性影響であるかどうか等についての検討も考慮されることとなり、場合によっては不確実係数を3あるいは追加の係数なしと判断する場合もある。

一方、TDIなどの許容一日摂取量はその曝露量で生涯曝露しても有害な健康影響を引き起こさない曝露量を前提として設定されているが、短期間に許容量を多少超えた曝露が生じたとしても通常は有害影響が認められることはない。行政側が許容値越えに関する安全性の説明を行う際に、安全性の根拠としてNOAELに対して不確実係数が適用されていることで保証されているということを使う場合があるが、理論的には不確実係数は動物からヒトへの外挿性と感受性の高い集団へのリスクの可能性を不確実係数として担保するものであり、許容摂取量を超えた曝露のリスクを担保しているわけではないので、論理的な理由であるとは言い難い。一方で、曝露期間が短い場合のNOAELは一般的に慢性曝露のNOAELより高い値となるが、そのようなエンドポイントを許容摂取量の根拠としている場合は、慢性影響に基づく基準値より高い曝露による短期間の安全性を説明できる可能性がある。一般に急性毒性の現れる用量は、反復投与毒性の現れる用量より高いことが知られており、単回曝露に対して急性参照用量という許容量が農薬の管理値として設定されている。急性参照用量は急性毒性に認められる影響のNOAELを基に設定されており、同様の概念を用いれば短期間の反復曝露に対するNOAEL等を用いれば、亜急性曝露に対する参照用量あるいは許容摂取量を設定することも可能であると考えられる。平成24年に利根川水系の水道水においてホルムアルデヒドが高いところで基準値（0.08 mg/L）の3倍程度まで上回る値が検出されたという水質事故が発生し、配水地域一帯に配水

表2 亜急性参照用量とその設定根拠

項目	saRfD	試験法(動物種)	エンドポイント	Point of Departure	UF
ホウ素及びその化合物	96 µg/kg/day	発生毒性試験(ラット)	胎児重量低下, 骨格変異増加	NOAEL 9.6 mg/kg/day	100
四塩化炭素	7.1 µg/kg/day	12週間強制経口投与試験(ラット)	肝臓: 小葉中心性空胞変性等	NOAEL 0.71 mg/kg/day	100
1,4-ジオキサン	22 µg/kg/day*	2年間飲水投与試験(ラット)	肝細胞腫瘍	-	-
シス-1,2-ジクロロエチレン及びトランス-1,2-ジクロロエチレン	170 µg/kg/day	90日間飲水投与試験(マウス)	血清中ALP上昇	NOAEL 17 mg/kg/day	100
ジクロロメタン	60 µg/kg/day	104週間飲水投与試験(ラット)	変異肝細胞巣	NOAEL 6 mg/kg/day	100
テトラクロロエチレン**	4 µg/kg/day*	78週間強制経口投与試験(マウス)	肝細胞癌	-	-
トリクロロエチレン	12 µg/kg/day	生殖発生毒性試験(ラット)	胎児の心臓異常	BMDL ₁₀ 0.146 mg/kg/day	100
ベンゼン	4 µg/kg/day*	職業暴露における疫学研究	白血病	-	-
塩素酸	300 µg/kg/day	90日間飲水投与試験(ラット)	甲状腺のコロイド枯渇	NOAEL 30 mg/kg/day	100
クロロ酢酸	40 µg/kg/day	90日間強制経口投与試験(ラット)	血中クレアチニン, ALT, BUN増加	LOAEL 12 mg/kg/day	300
クロロホルム	71 µg/kg/day	3週間経口投与試験(マウス)	肝臓: 肝細胞空胞変性・好酸性増加	NOAEL 7.1 mg/kg/day	100
ジクロロ酢酸	13 µg/kg/day*	90~100週間飲水投与試験(マウス)	肝細胞癌及び肝細胞腺腫	BMDL ₁₀ 12.5 mg/kg/day	1000
		90日間経口投与試験(イヌ)	肝臓の肝細胞空胞変性, 精巣変性等	LOAEL 12.9 mg/kg/day	
ジプロモクロロメタン	170 µg/kg/day	多世代生殖毒性試験(マウス)	肝臓の変化, 胎児数の減少など	NOAEL 17 mg/kg/day	100
臭素酸	3.6 µg/kg/day*	100週間飲水投与試験(ラット)	精巣の中皮腫	-	-
トリクロロ酢酸	6 µg/kg/day	104週間飲水投与試験(マウス)	肝臓: 変異細胞巣の増加	LOAEL 6 mg/kg/day	1000
プロモジクロロメタン	41 µg/kg/day	2世代生殖試験(ラット, 飲水投与)	飲水量低下, 体重低下, 児の脳重量低下, 性成熟遅延	NOAEL 4.1 mg/kg/day	100
プロモホルム	180 µg/kg/day	13週間強制経口投与試験(ラット)	肝細胞空胞形成	NOAEL 17.9 mg/kg/day	100
ホルムアルデヒド	500 µg/kg/day	90日間飲水投与試験(ラット)	体重増加抑制	NOAEL 50 mg/kg/day	100

停止措置がとられた。原因は短期間のうち特定されこともあり、事故発生後1-2日程度で断水から復旧することとなったものの、そもそも基準を超過したから即座に断水という管理措置をする必要性があったかどうかについての議論がおきた。飲料には適しなくても生活用水としての利用は可能であったとも考えられる他、そもそも慢性影響を基にした基準値をごく短期間ある程度の範囲

において超えた場合に健康影響を引き起こす可能性は低いことが想定され、時に短期間で原因特定と対策が講じられて場合は配水を継続することは可能であったかもしれない。しかし、基準超過の許容できるレベルや、配水を継続可能な許容期間についての基準や考え方についてはケースバイケースの対応が必要となり、事例に応じた専門家への相談などが必要となってくると思われる。こ

ういった一時的な飲料水汚染の際に参考とすべき値として、米国では、数多くの水道汚染物質について急性/亜急性評価値が設定されている³⁶⁾。専門家の判断を待つ余裕がなく緊急に対応の判断を要する場合に有用な値であると考えられる。そこで、我々はこの考え方に基づき、ヒトがおよそ1ヶ月間曝露した場合を想定して許容できる評価値として亜急性参照用量 (Subacute Reference dose: saRfD) を設定し、短期間の異常値に対応できる許容値の根拠とできることを提案した (表2)³⁷⁾。非発がん影響に関しては、げっ歯類に対する90日間曝露試験などから短期間曝露のNOAELを求め、曝露期間が短い場合の不確実係数を適用せず、通常は不確実係数100を適用してsaRfDを求めた。90日間曝露試験を用いたのは、ICH反復投与毒性試験に係るガイドライン (M3 (R2))³⁸⁾において、1ヶ月の臨床適用の医薬品に対する非臨床的安全性毒性試験の投与期間として3ヶ月が推奨されていることを参考とした。因みに発がん影響に関しては 10^{-4} リスクに相当する値をsaRfDとして提案した。この基準もICHの「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理ガイドライン」(M7)³⁹⁾において、臨床適用期間が1ヶ月から12ヶ月までの場合の不純物の許容摂取量として、生涯曝露の許容摂取量の13倍高い値が提案されていることを参考として設定した。この考え方でsaRfDを設定すると慢性影響にもとづくTDIまたは実質安全量 (VSD) の数倍から10倍程度高い許容値の導出が可能となった。しかし、TDIが生殖発生毒性に基づく場合や適切な亜急性曝露試験情報が得られないときは、基準値の根拠となったNOAELと同じ値を変更せずにsaRfDとして用いることとした。また、短期間曝露の影響でも回復性が見込めない毒性に対しては、そのNOAELをsaRfDの根拠としない方針とした。

毒性学的懸念の閾値 (TTC) の概念と微量不純物や微量曝露物質の許容値の考え方

TDIを設定するには少なくとも短期間の反復投与毒性試験のデータが必要であるが、製品中に含まれる微量の不純物や、微量の曝露しか想定されないような少量生産の工業用化学物質などのほとんどは毒性情報が得られない。類似物質を利用したカテゴリー評価や構造活性相関を利用したアプローチや*in vitro*のデータを利用できたとしてもその数には限界があり、毒性データの収集に当てるリソース (予算や時間) も限られている中では、包括的なリスク管理を行う為のアプローチが必要であり、そのためにTTCを用いた管理アプローチが開発された³⁾。TTCの基本的概念として、TTCの値は過去の毒性試験データの統計学的解析により発展し

てきたものである。この手法は、香料や食品包装材料物質のような多くの物質で毒性学的情報は極めて限られているが、曝露量が極めて低く、かつ多くの機能的に同類の物質を含む化学物質群を包括的に評価するのに有用であると考えられている。しかし、TTCの根本的な課題は、導き出された値は統計学的データに基づく値であり生物学的な論理から検証された値でないため、その適用にあたってはある程度の割り切りを前提とする必要性があると共に、TTCを補完するシステムがリスク管理上必要となってくる。規制当局による最初の適用例としては、FDAの食品包装材料物質に対する閾値規制として知られており、最も感受性の高い毒性エンドポイントである発がん性についてGoldらのcarcinogenic potency database (CPDB) データベースをもとにTD₅₀値を直線外挿によりVSD変換した値の度数分布を統計学的に解析することで、食品への溶出濃度閾値: 0.5 ppb (摂取量として1.5µg/human/day) が規制閾値 (Threshold of Regulation, TOR) として設定された。Munroら⁴⁰⁾の解析からの推定によると、化学物質群の20%が発がん性物質であると仮定すると、0.5 ppbという食事の閾値濃度を設定することにより、93%以上の化合物が 10^{-6} 以下のリスクとなり、97%以上の化学物質が 10^{-5} 以下のリスクとなることが示されている。しかし、強い発がんリスクの可能性を伴う変異原性発がん物質グループとしてアフラトキシン様化合物、N-ニトロソ化合物及びアルキルアゾキシ化合物で構成される「cohort of concern」と呼ばれる一連の化学物質はTTCよりも低い曝露で 10^{-5} 以上のリスクのあることが知られておりTTCの除外規定となっているが、もしこの様な化合物が検出された場合は独自のリスク評価を行う必要があることも意味している。最近の話題では、高血圧薬の中に含有していることが明らかとなったN-ニトロソ化合物であるN-ニトロソジメチルアミン (NDMA) やN-ニトロソジエチルアミン (NDEA) はICH M7のTTCより2桁低い許容値が設定され、製品回収などの問題にまで拡大した。さらにN-ニトロソ化合物は他の医薬品中にも検出されるという事態にも拡がっているほか、毒性データの無いN-ニトロソ化合物の存在も明らかとなり、一連のN-ニトロソ化合物の管理方法は国際的な課題となっている。非発がん影響に対するTTCも香料物質や食品器具・容器包装の溶出評価に適用されているが、Cramer分類による3つの化合物群に対するTTCはそれぞれ化合物群のNOAELの分布の95パーセンタイル値を閾値として設定しており、潜在的に5%の例外化合物が存在するというリスクとして上記と同様の課題をはらんでいる。例外となる物質には、有機塩素系や有機リン系農薬類や金属化合物が殆どであり、例外物質の管理は類似構造による検索が有

用であるように思われたが、このアプローチを医薬品製剤の溶出物評価に適用する段になって、最もリスクの高い製品が吸入・点眼・注射剤として直接体循環に取り込まれるという観点から経口や経皮曝露とは異なった感作性物質の評価法を開発するという必要性が顕在化することとなった。一般に、アレルギー有症患者の惹起反応においては、感作性物質には閾値が設定できないと考えられており、より厳しい管理閾値が必要となるため感作性物質をどのように検出し、評価すべきかについて大きな課題となっている。いずれも本稿の執筆時点では課題解決には至っていないが、厳しく評価し過ぎれば際限の無いリスク管理が必要となるという可能性もあり、単に生物学的な理論に基づく毒性学の観点からだけでは解決はできない。現実的な解決法を模索する為には利害関係者の間で許容できるリスクの大きさを（可能であれば国際的に）共有し、許容できるリスクを合意することが重要となってきている。

おわりに

本稿では、リスク評価における様々な不確実性の適用法や、十分情報が得られない場面で利用できる評価手法において、教科書レベルでは詳しく書かれていない課題や問題について焦点を当て解説したところであるが、論理的な原則を採用できず専門家のケースバイケースの判断に依存する評価手法は、リスク管理のポリシーにも大きく依存することが浮き彫りになってきたと考えられる。毒性学的な評価に必要な知識がもし十分に利用可能（有害性の定義や生理学的モデルが確立すること）になれば、理論的にはNOAELやBMDLは同じ実験結果を使う限りにおいて常に一定になると考えられるが、たとえば同じ症状を根拠にNOAELを設定したとしても、慢性曝露試験で得られたNOAELと短期曝露試験のNOAELではリスク評価上の意義付けが変わることがあり、NOAELは必ずしも毒性学的な観点だけで定義できない可能性がある。このことは、亜急性参照用量の設定時において考慮する必要があった。また、例えば短期曝露の情報しか得られずに慢性影響が不明な場合において、長期間曝露で認められる可能性がある毒性影響の有害性を短期曝露の結果だけから評価することはできないために、通常は有害性とするまでもないような影響について、リスク管理上の観点から、短期曝露試験では有害性有り判断する必要が出てくるかもしれない。あるいは長期影響を見据えた短期試験の結果からPODを設定する場合においてはNOAELよりNOELが適切である場合も考えられる。一方、回復性のある毒性はしばしば医薬品の評価においては適用性の変化として有害影響と評価しない場合もあるが、リスクベネフィットの評価

を別にしても、症状が改善すれば摂取を止めることができる医薬品とは異なり、一生涯曝露する可能性のある食品や環境化学物質に関しては曝露が生涯にわたって続く可能性を考慮すると、回復する可能性のある症状であっても長期曝露によって有害影響とならないかについて検討する必要がある。さらに、BMD法において適切なBMDLを算出する場合の数理モデルの選択基準に関しても、予防原則的にモデルを選択するか、あるいはより確率的に確からしいモデルを選択するかについての選択規準はリスク管理戦略の影響を受けられると思われる。つまり、NOAELやBMDLの選択規準は、単に毒性学的な判断だけではなくリスク評価ポリシーに依存することは明らかである。また、一律的な管理に必要な基準値を設定する必要性はなくても、行政政策上の優先順位付け等が目的である場合には、確率論的アプローチを用いれば許容レベルを確率的な分布として表現することが可能となり、同時に曝露情報も確率論的に扱うことが可能である点を考慮すると、リスクの大きさを有害性と曝露の両方の観点から確率として評価することができると考えられる。さらに、毒性情報が得られない場合の包括的なリスク評価法も、毒性学的に閾値が設定できるわけではなく、例外として検出される可能性のある懸念のある毒性物質がどの程度まで管理施策として許容できるかに応じてTTCのレベルを決めることが重要であることが明らかとなった。以上の考察から言えることは、リスク評価でもっとも重要なことは、リスク評価を行う前にProblem formulation（問題の定式化）を行い、リスク評価のゴールを設定することが最も重要なことであることが明らかとなった。Problem formulationでは、まずリスクを評価できる情報レベルはどの程度まで詳細な情報が利用できるかについて、事前に調査しておく必要がある。リスク管理の目的や目標に対して定量評価の精度はどの程度まで必要かについても設定しておく必要がある。さらにリスク評価の精度のレベルに応じて使用できる資源（労力と時間等）を予め見積もっておき、適切な資源の配分を行っておくことも現実的に重要な観点となっている。今後は、許容量等の設定手法に関する技術的なガイダンス作成による国際調和に加えて、リスク管理が必要な課題に応じてどの程度までのリスク評価を行うべきであるかという、Problem formulationに関するガイダンスを整備することが必要になってくると考えられる。

謝辞

本稿で紹介したこれまでの研究に対し多大なご指導およびご助言を頂いた江馬眞・元総合評価室長、長谷川隆一・元医薬安全科学部長にこの場を借りて深く感謝します。また、総合評価室から安全性予測評価部の期間に

わたって、データ解析や議論を共に行うことで研究の達成にご協力頂いた小野敦，井上薫，山田隆志，松本真理子，平田睦子，川村智子，鎌田栄一，櫻谷佐和子，高橋美加の元及び現職員の皆様に感謝致します。

参考文献

- 1) 日本毒性学会教育委員会 編 トキシコロジー (第三版) 朝倉書店 (東京), 2018, pp.404.
- 2) 広瀬明彦: 許容一日曝露量の基本的な考え方. 製剤機械技術学会誌 2019; 28: 365-370.
- 3) Barlow S: Threshold of Toxicological Concern (TTC), ILSI Europe (Belgium), 2015, pp. 30.
- 4) 広瀬明彦, E&L不純物の安全性評価の考え方. 医薬品不純物における評価及び管理戦略・運用の実際. サイエンス&テクノロジー (東京), 2020, pp.165-179.
- 5) 広瀬明彦, ベンチマークドース手法の適用の現状と課題-動物実験データへの適用を中心に, 産業医学レビュー, 2021, 34巻1号, 1-16.
- 6) Lehman AJ, Fitzhugh OG. 100-Fold margin of safety. *Assoc Food Drug Officials US Q Bull.* 1954; 18: 33-35.
- 7) Dourson ML, Felter SP, Robinson D. Evolution of science-based uncertainty factors in noncancer risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1996; 24: 108-120.
- 8) Vermeire T, Stevenson H, Peiters MN, Rennen M, Slob W, Hakkert BC. Assessment factors for human health risk assessment: a discussion paper. *Crit Rev Toxicol.* 1999; 29: 439-490.
- 9) WHO, Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. *Environmental Health Criteria.* 1987, 70, 174 pp., International Programme on Chemical Safety, World Health Organisation, Geneva.
- 10) WHO. International Programme on Chemical Safety: Assessing human health risks of chemicals: Derivation of Guidance values for health-based exposure limits. *Environmental Health Criteria,* 1994. 170, 73 pp., International Programme on Chemical Safety, World Health Organisation, Geneva.
- 11) WHO/IPCS (World Health Organization/International Programme on Chemical Safety). 2005. Chemical-Specific Adjustment Factors (CSAF) for interspecies differences and human variability: guidance document for the use of data in dose/concentration-response assessment. (IPCS harmonization project document no. 2). WHO/IPCS/01.4, 1-96. Geneva, Switzerland. available at <http://www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj2.pdf> (July, 2021)
- 12) Renwick, A. G.. Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants. *Food Addit. Contam.* 1993; 10: 275-305.
- 13) Bhat VS, Meek MEB, Valcke M, English C, Boobis A, Brown R. Evolution of chemical-specific adjustment factors (CSAF) based on recent international experience; increasing utility and facilitating regulatory acceptance. *Crit Rev Toxicol.* 2017 Oct; 47(9): 729-749.
- 14) Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the tolerable daily intake (TDI). Geneva, Switzerland, 25-29 May 1998. *Food Addit Contam.* 2000 Apr; 17(4): 223-369. PMID: 10960271.
- 15) 環境省中央環境審議会環境保健部会, 厚生省生活環境審議会, 厚生省食品衛生調査会, ダイオキシンの耐容一日摂取量 (TDI) について (平成11年6月), 1999, (Available from: https://www.mhlw.go.jp/www1/houdou/1106/h0621-3_13.html)
- 16) Brown JB, Conder JM, Arblaster JA, Higgins CP. Assessing Human Health Risks from Per- and Polyfluoroalkyl Substance (PFAS)-Impacted Vegetable Consumption: A Tiered Modeling Approach. *Environ Sci Technol.* 2020 Dec 1; 54(23): 15202-15214.
- 17) ICH HARMONISED GUIDELINE, IMPURITIES: GUIDELINE FOR RESIDUAL SOLVENTS Q3C(R8) (Current Step 4 version dated 22 April 2021) available at https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q3C-R8_Guideline_Step4_2021_0422_1.pdf (July, 2021)
- 18) ICH HARMONISED GUIDELINE, GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES Q3D(R1) (Final Version Adopted on 19 March 2019) available at https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R1EWG_Document_Step4_Guideline_2019_0322.pdf (July, 2021)
- 19) U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Recommended Use of Body Weight^{3/4} as the Default Method in Derivation of the Oral Reference Dose, EPA/100/R-11/0001, 2011, Washington, DC. 39 pp. available at <https://>

- www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/recommended-use-of-bw34.pdf (July, 2021)
- 20) 長谷川隆一. 食品健康影響評価技術研究研究成果報告書「毒性データの不確実性とヒトへの外挿法に関する研究 (研究課題番号0704) (研究期間:平成19年度～平成20年度)」2009.
 - 21) Hasegawa R, Hirata-Koizumi M, Dourson ML, Parker A, Sweeney LM, Nishikawa A, Yoshida M, Ono A, Hirose A. Proposal of new uncertainty factor application to derive tolerable daily intake. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2010 Nov; 58(2): 237-42.
 - 22) Kodell RL, Gaylor DW. Combining uncertainty factors in deriving human exposure levels of noncarcinogenic toxicants. *Ann N Y Acad Sci.* 1999; 895: 188-95.
 - 23) Crump K. A new method for determining allowable daily intakes. *Fundament Appl Toxicol.* 1984; 4(5): 854-71.
 - 24) U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Benchmark Dose Technical Guidance. Washington DC: United States Environment Protection Agency; 2012. pp. 99.
 - 25) U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Benchmark Dose Software (BMDS) 3.2 - User Guide. Washington DC: United States Environment Protection Agency; 2020. pp.118.
 - 26) European Food Safety Authority (EFSA). Guidance of the scientific committee on a request from EFSA on the use of benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA J.* 2009; 1150: 1-72.
 - 27) European Food Safety Authority (EFSA). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA J.* 2017; 15(1): 4658.
 - 28) 広瀬明彦. 食品健康影響評価技術研究研究成果報告書「用量反応性評価におけるベンチマークドース法の適用に関する研究 (課題番号:1007) (研究期間:平成22年度～平成24年度)」2013.
 - 29) Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Kawamura T, Sakuratani S, Ono A, Hirose A. Validation of the statistical parameters and model selection criteria of the benchmark dose methods for the evaluation of various endpoints in repeated-dose toxicity studies. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2019; 6(4): 125-136.
 - 30) International Programme on Chemical Safety (IPCS). Chapter 5 “Dose-response assessment and derivation of health-based guidance values (second edition)” in Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food (Environmental Health Criteria (EHC) 240). Geneva: World Health Organization; 2020. pp. 115.
 - 31) 広瀬明彦. 食品健康影響評価技術研究研究成果報告書「用量反応性評価におけるベンチマークドース法の適用に関する研究 (課題番号:1007) (研究期間:平成22年度～平成24年度)」2013.
 - 32) Yoshii K, Nishiura H, Inoue K, Yamaguchi T, Hirose A. Simulation-based assessment of model selection criteria during the application of benchmark dose method to quantal response data. *Theor Biol Med Model.* 2020 Aug 5; 17(1): 13.
 - 33) Dourson ML, Stara JF, Regulatory history and experimental support of uncertainty (safety) factors. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1983; 3: 224-238.
 - 34) European Chemical Agency (ECHA), Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health, 2012, available at <https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-reach> (July, 2021)
 - 35) 厚生労働省・経済産業省・環境省, 化審法における優先評価化学物質に関するリスク評価の技術ガイダンス II. 人健康影響に関する有害性評価 Ver. 1.1 (平成30年1月) 2018, available at https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/ra_1406_tech_guidance.html (July, 2021)
 - 36) U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Drinking Water Standards and Advisory Tables. 2018 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories Tables, 2018, available at <https://www.epa.gov/sdwa/2018-drinking-water-standards-and-advisory-tables1> (July, 2021)
 - 37) 国立医薬品食品衛生研究所, 平成28年度第1回水質基準逐次改正検討会 資料2「亜急性参照値について」(2016) available at <https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000136174.pdf> (July, 2021)
 - 38) ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE, GUIDANCE ON NONCLINICAL SAFETY STUDIES FOR THE CONDUCT OF HUMAN CLINICAL TRIALS AND MARKETING AUTHORIZATION FOR PHARMACEUTICALS M3(R2) (Current Step 4 version dated 11 June

- 2009) available at https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Guideline.pdf (July, 2021)
- 39) ICHM7 ICH HARMONISED GUIDELINE, ASSESSMENT AND CONTROL OF DNA REACTIVE (MUTAGENIC) IMPURITIES IN PHARMACEUTICALS TO LIMIT POTENTIAL CARCINOGENIC RISK M7(R1) (Current Step 4 version dated 31 March 2017) available at https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf (July, 2021)
- 40) Munro I. C. Safety assessment procedures for indirect food additives: An overview. Report of a workshop. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1990; 12: 2-12.
- 41) Munro, I.C., Ford, R.A., Kennepohl, E. and Sprenger, J.G. Correlation of a structural class with noobserved-effect levels: a proposal for establishing a threshold of concern. *Food Chem Toxicol.* 1996; 34: 829-867.