

化学物質の有害性がなぜCRMで 評価できるのか

- CRM流有害性評価法 -

平成18年1月
健康リスク評価チーム
川崎 一

有害性評価研究の状況

- 有害性の特定: 新しい試験法、既存試験法の修正

神経毒性TG424は1997年に改訂、免疫毒性は1995年にTG407に追加、
生殖発生毒性(内分泌毒性)の改訂などは現在検証中、
将来、ナノ粒子特有の試験法？

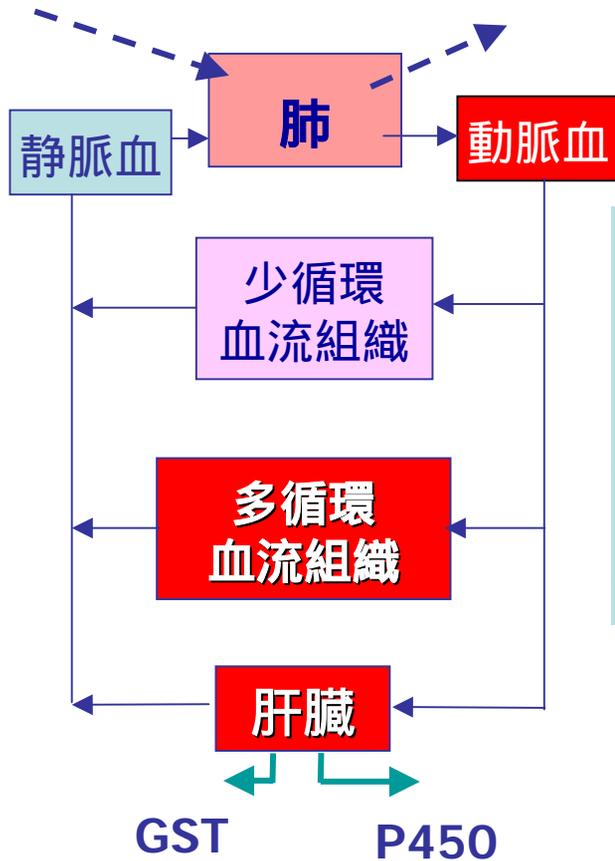
- 用量反応性の解析: PBPKモデルの活用増加

標的臓器内活性代謝体濃度の推計

- 有害性のメカニズム: ライフサイエンス研究成果

PBPKモデルによる体内活性代謝体の同定
細胞障害性に起因する発癌プロモーター作用
分子疫学(遺伝子多型、DNA付加体) など

PBPKモデルの重要性



Ramsey & Andersen モデル(1984)

$$C_{art} = (Q_{alv} \cdot C_{inh} + Q_t \cdot C_{vein}) / (Q_t + Q_{alv} / P_N)$$

$$C_{vein} = \left\{ \sum_i \left(Q_i \cdot C_i / P_i \right) \right\} / Q_t$$

$$dA_i / dt = Q_i \cdot \left(C_{art} - C_i / P_i \right)$$

$$dA_l / dt = Q_l \cdot \left(C_{art} - C_l / P_l \right) - V_{max} \cdot (C_l / P_l) / (K_m + C_l / P_l)$$

Q_{alv} = 肺換気量、 C_{inh} = 吸気中濃度、 Q_t = 心拍出量、
 P_N = 血液・空気間分配係数、 P_i = 臓器・血液間分配係数、
 Q_i = 臓器内血液流入速度、 V_{max} = 最大反応速度、
 K_m = Mickaelis-Menten定数、 l = 肝臓

PBPKモデルの重要性

◆ 化学物質のリスク評価での活用増加

– 標的臓器内濃度の推計

- 高用量から低用量へ
- 実験動物からヒトへ
- 異なる暴露経路へ
- 高感受性集団へ

– 発癌メカニズムの推定

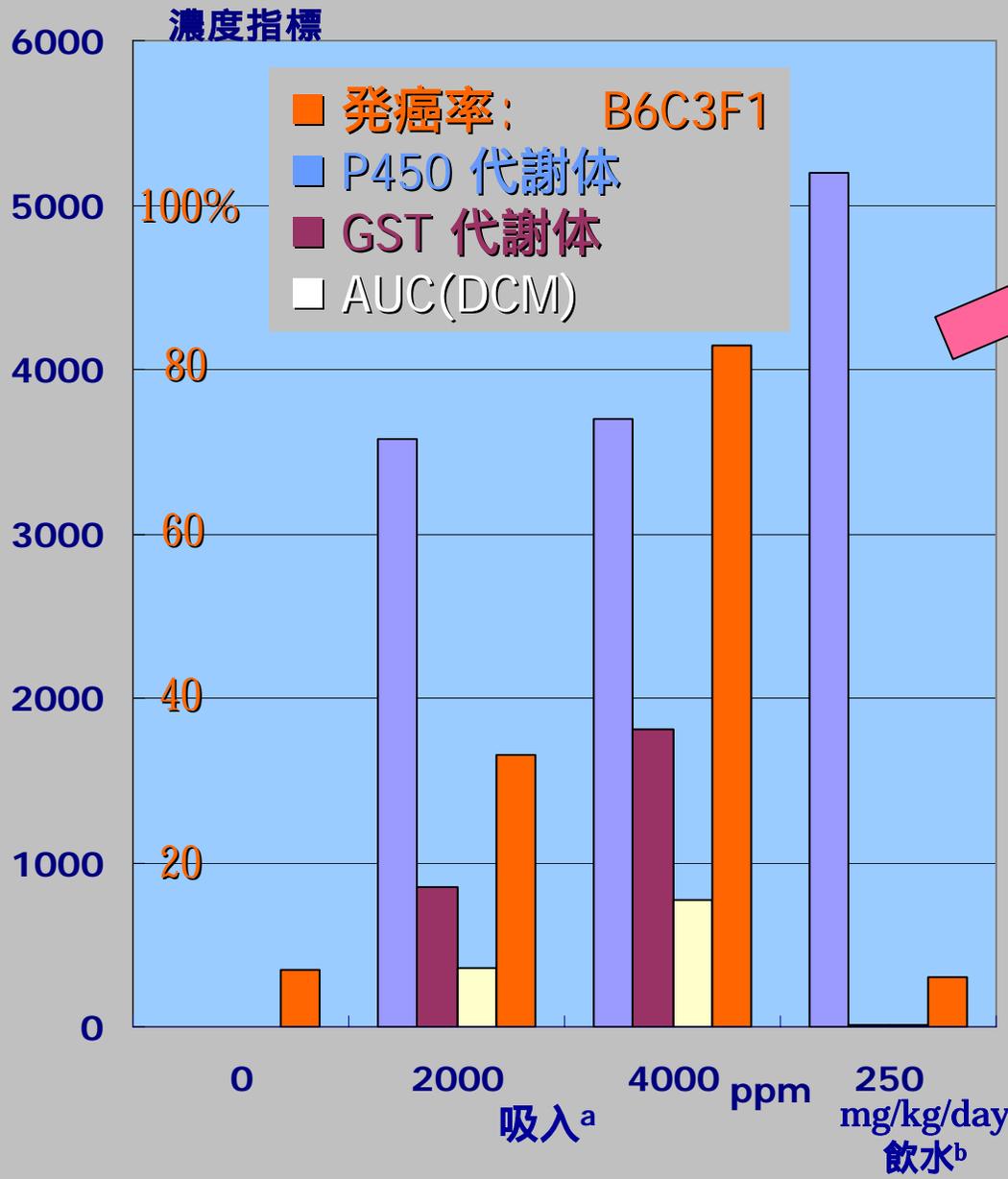
- 標的臓器、活性代謝体の特定
- ピーク濃度、AUC、その他(積分など)

参考: *Approaches for the Application of PBPK Models and Supporting Data in Risk Assessment* (EPA/600/R-05/43A, June 2005, External Review Draft)

<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=135427>

DCM:肝臓中代謝体濃度と発癌性

(Andersen et al., 1987)



発癌率

GST代謝体、
AUC(DCM)

DCMの反応性は低い

GST代謝体が発癌性の原因物質

濃度指標	単位
P450代謝体	mg DCM/liter tissue
GST代謝体	mg DCM/liter tissue
AUC(DCM)	(mg/liter) x hr

^a NTP, 1986

^b National Coffee Association, 1983

発癌性リスク評価とPBPKモデル

化学物質	腫瘍	内部暴露指標
ジクロロメタン	肝臓腫瘍	GST代謝体生成速度
1,4-ジオキサン	肝臓腫瘍	未変化体の肝臓中濃度
アクリロニトリル	脳腫瘍	標的臓器における代謝体ピーク濃度
クロホルム	肝臓腫瘍	肝臓における代謝体の高分子付加体
ホルムアルデヒド	鼻腔腫瘍	DNA-蛋白との結合体
トリクロエチレン	多臓器発癌	代謝速度、代謝体AUC
塩ビモノマー	血管肉腫	肝臓における代謝速度

有害性評価研究の状況

- 有害性の特定: 新しい試験法、既存試験法の修正

神経毒性TG424は1997年に改訂、免疫毒性は1995年にTG407に追加、
生殖発生毒性(内分泌毒性)などは現在検証中、
将来、ナノ粒子特有の試験法？

- 用量反応性の解析: PBPKモデルの活用増加

標的臓器内活性代謝体濃度

- 有害性のメカニズム: ライフサイエンス研究成果

PBPKモデルによる体内活性代謝体の同定
細胞障害性に起因する発癌プロモーター作用
分子疫学(遺伝子多型、DNA付加体)

など

発癌性リスク評価とPBPKモデル

化学物質	腫瘍	内部暴露指標
ジクロロメタン	肝臓腫瘍	GST代謝体生成速度
1,4-ジオキサン	肝臓腫瘍	未変化体の肝臓中濃度*
アクリロニトリル	脳腫瘍	標的臓器における代謝体ピーク濃度*
クロホルム	肝臓腫瘍	肝臓における代謝体の高分子付加体*
ホルムアルデヒド	鼻腔腫瘍	DNA-蛋白との結合体*
トリクロエチレン	多臓器発癌	代謝速度、代謝体AUC
塩ビモノマー	血管肉腫	肝臓における代謝速度

*細胞障害性に対する代償性の細胞増殖メカニズムが提案されている

ベンゼンの有害性

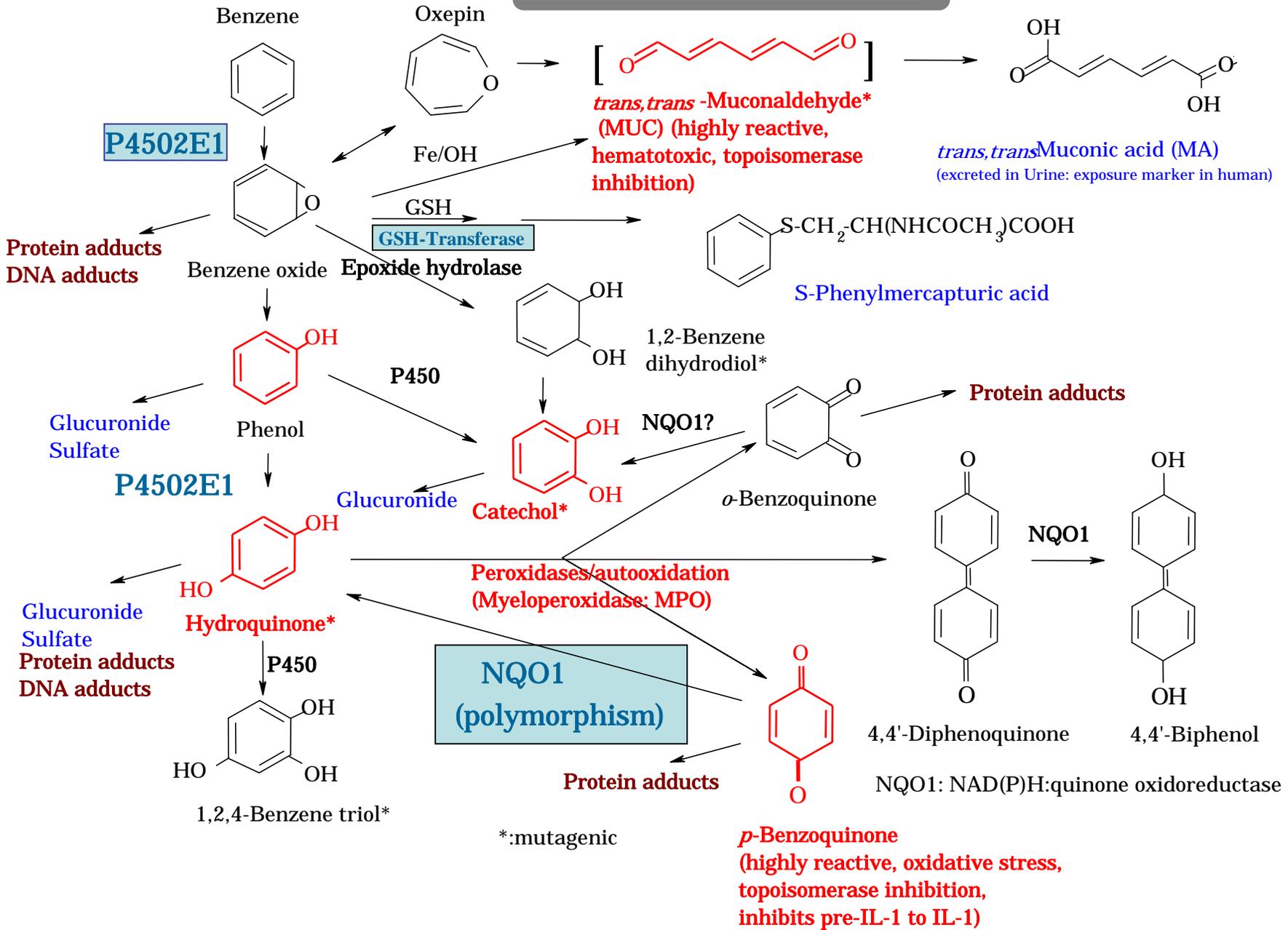
◆ ヒト

- 再生不良性貧血(Aplastic anemia),
- 骨髄性白血病(acute myelogenous leukemia,AML)
- リンパ性悪性腫瘍(lymphoid malignancies)
 - リンパ球数(Absolute lymphocyte count):高感度指標
 - 閾値濃度: 5-19 ppm

◆ 実験動物(主として、マウス)

- 重篤なリンパ球減少症、軽度の貧血
- 骨髄マクロファージ機能の低下
- 慢性血球減少症---> 骨髄異形性症候群？
(骨髄性白血病の前がん状態)
- マウスでは骨髄性白血病の発症無し
 - ただし、Ha-ras gene移入マウスでは+
- 造血系腫瘍と胸腺リンパ腫

ベンゼンの毒性と代謝



ベンゼンの血液毒性高感受性集団

(U.S.EPA, 2002)

- ◆ CYP2E1 : 飲酒による変動
- ◆ GSH transferases: 肝臓 >> 骨髄 (標的臓器)
- ◆ NAD(P)H:quinone oxidoreductase: 遺伝的多型あり

(CYP2E1活性の強さ) x (NQO1遺伝子型の違い)
とベンゼン吸入による血液毒性の強さの差 (中国人労働者)

CYP2E1 活性	NQO1 遺伝子型	例数	オッズ比 (95% CI) ベンゼンによる血液毒性
低い	野生型	8	1.0
低い	変異型	6	2.4 (0.6 – 9.7)
高い	野生型	21	2.9 (1.0 – 8.2)
高い	変異型	13	7.6 (1.8 – 31.2)

化学物質の有害性評価の流れ(既存評価機関)

個別の有害性情報の収集・整理



総合評価

有害性プロファイル
メカニズム
用量反応性
外挿モデル

有害性評価書

毒性学実務経験者

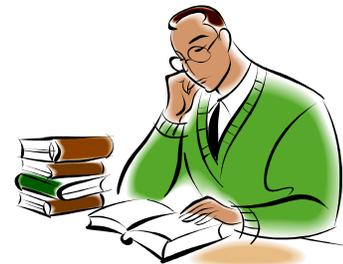
毒性概念、用語、常識など



>



>



既存のアクリロニトリルの有害性評価書(1)

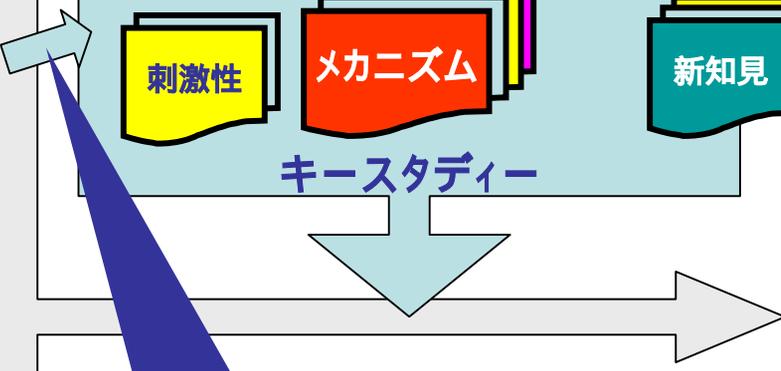
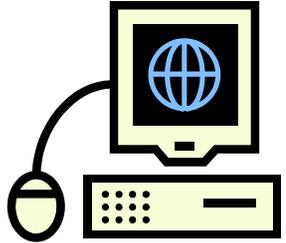
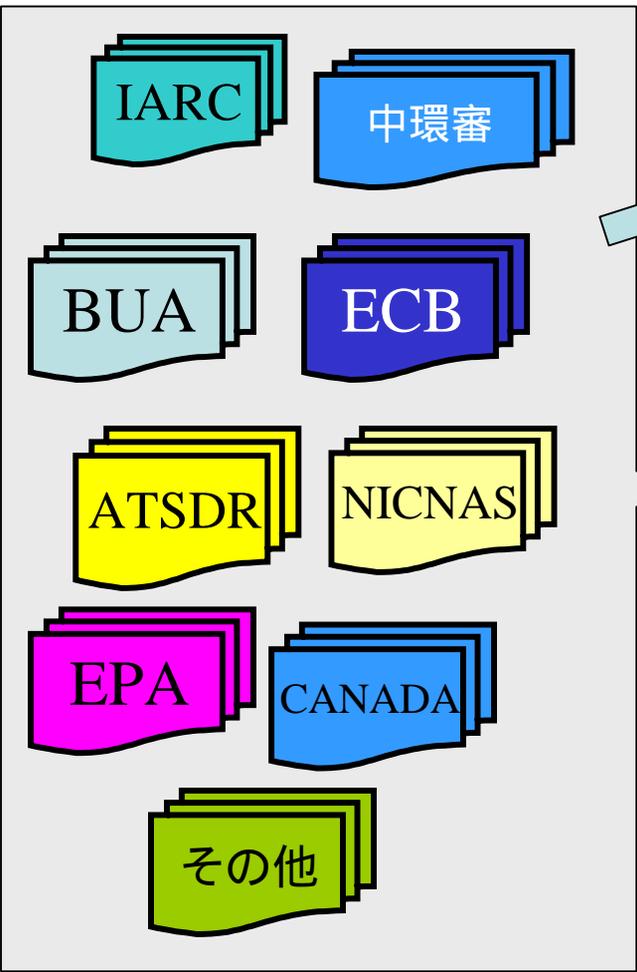
国/機関	文書名	頁数	文献数
EU	European Risk Assessment Report, ACRYLONITRILE (Final Report, 2004)	257	484
WHO-IPCS	Environmental Health Criteria 28, Acrylonitrile (1983)	64	365
The Sapphire Group	Toxicological Review of Acrylonitrile (Final Draft, 2004)	195	347
U.S. EPA	TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ACRYLONITRILE, 1990	93	324
WHO	Concise International Chemical Assessment Document 39, ACRYLONITRILE (2002)	32	262
Canada	Priority Substances List Assessment Report Acrylonitrile (2000)	55	243
TERA	Acrylonitrile: Inhalation Cancer Risk Assessment (1997)	41	113

既存のアクロニトリルの有害性評価書(2)

国/機関	文書名	頁数	文献数
U.S. EPA	Ambient Water Quality Criteria for the Protection of Human Health: Acrylonitrile (1998)	26	71
NICNAS	Acrylonitrile Priority Existing Chemical Assessment Report No. 10 (2000)	64	62
WHO	Air quality Guidelines for Europe, Second Edition, Chapter 5.1 Acrylonitrile (2000)	9	19
米国カリフォルニア州	Chronic Toxicity Summary, ACRYLONITRILE(2001)	6	14

CRM流有害性評価法

既存有害性評価書



情報のまとめに関する方針の策定
(企画書の作成)
全体像とケーススタディー、有害性プロフィール、基準値の根拠、調査期間などの設定

有害性プロフィール
メカニズム
用量反応性
低用量外挿モデル

CRM有害性評価書と既存評価書との違い

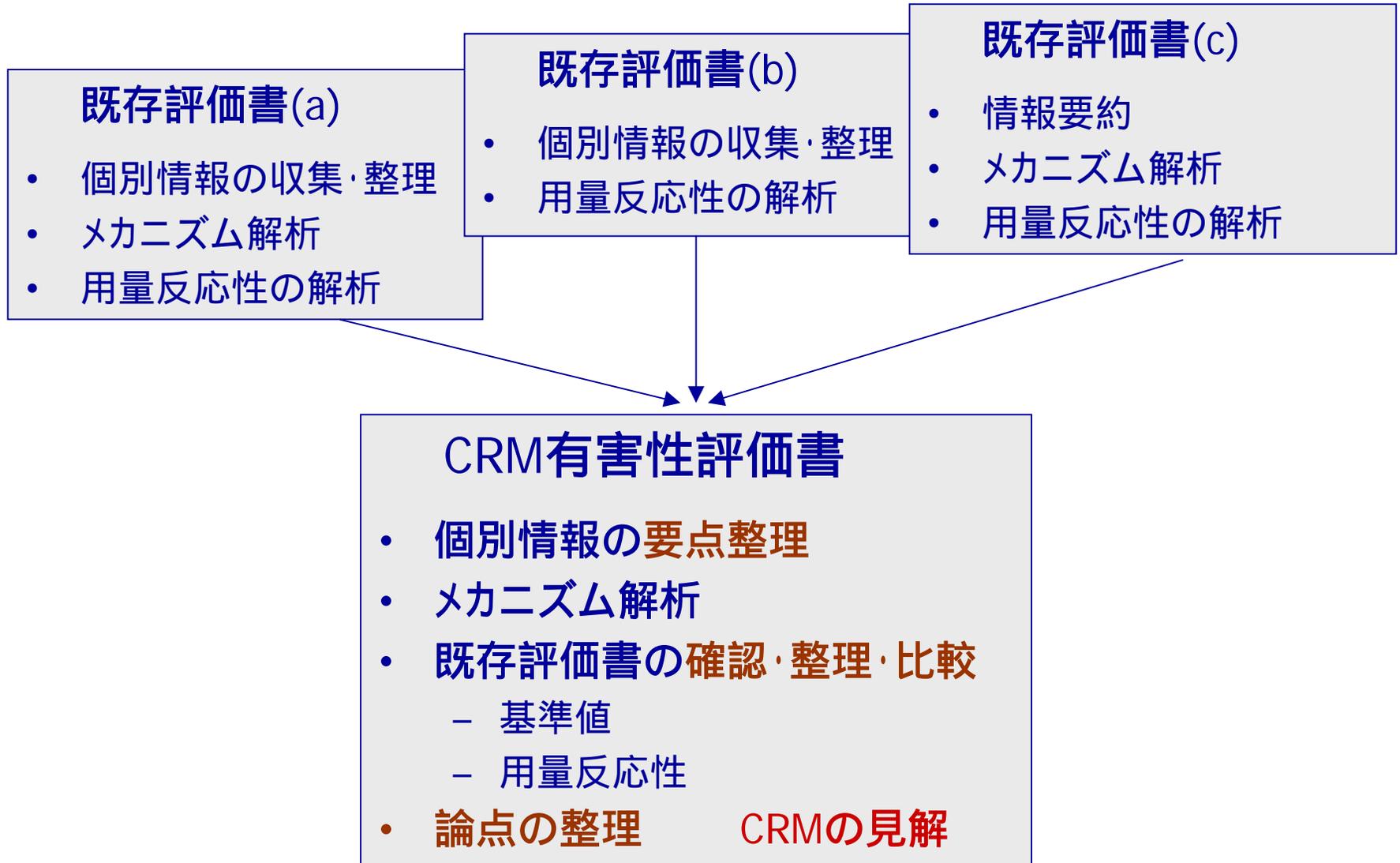


表6 アクリロニトリルのリスク評価（非発癌影響）

評価機関	評価年	暴露経路	基準値等	NOAEL等	評価に用いた試験	エンドポイント	備考
中央環境審議会	2004	吸入	一般環境における 指針値 $2 \times 10^{-3} \text{ mg/m}^3$ (UF=500)	NOEL（職業暴露）： 1 mg/m^3	職業暴露を対象とした疫学調査 (Muto et al., 1992)	ヒト健康診断	発癌性に関しては、疫学的見地からはアクリロニトリルがヒトに発癌性を有するという適切な証拠があるとは言えず、またヒトに対する遺伝子障害性についてはin vivoの成績が不明確である。しかし、動物実験ではラットとマウスに対して発癌性を有する十分な証拠があることからヒトに対する発癌性の可能性を完全に除外はできないもののその可能性は小さいと判断する。

表7 アクリロニトリルのリスク評価（発癌影響）

評価機関	評価年	暴露経路	基準値等	評価に用いた試験	エンドポイント	基準値算出方法	備考
The Saophire Group, Inc.	2004	吸入	Cancer Value = 0.1 mg/m^3	ラット吸入および飲水投与発癌性試験 (Maltoni et al., 1977,1987; Toxicology Research Laboratory, 1980; Johannsen and Levinskas, 2002a; 2002b; Quast, 2002)	神経膠星状細胞腫	ラット脳内CEOピーク濃度を用いてBMD法にて5%増分リスク(LE _{D05})を算出(0.014 mg/L)、これがPoint of Departure (POD)として妥当であることを確認した後、ヒトでの吸入暴露でのPODをPBPKモデルを用いて算出(21.3 mg/m^3)した。これをUF=220で除した。	脳内CEOのピーク濃度をKedderis et al. (1996)によるPBPKモデルにて算出。 Cancer Value：この値以下であればヒトに発癌リスクを生じない濃度と定義。
		経口	Cancer Value = 0.009 mg/kg/日			ラット脳内CEOピーク濃度を用いてMD法にて5%増分リスク(LE _{D05})を算出(0.014 mg/L)、これがPoint of Departure (POD)として妥当であることを確認した後、ヒトでの経口暴露でのPODをPBPKモデルを用いて算出(1.7 mg/kg/日)した。これをUF=200で除した。	
簡潔化学物質評価書 (WHO)	2002	吸入	ヒトTC ₀₅ = 6.0 mg/m^3 (95%LCL = 4.5 mg/m^3) エトリック相当値： $1.1 \times 10^{-2} /$ (mg/m^3)	ラット間吸入発癌性試験 (Toxicology Research Laboratory, 1980)	神経膠星状細胞腫	線形多段階モデル（6ヶ月以内の死亡例を除外）でラットTC ₀₅ を算出し、これを暴露条件、種差等で補正	ラットTC ₀₅ = 35 mg/m^3 (雌), 52 mg/m^3 (雄)。これを、24時間連続暴露の値に補正： [(6hr/日)/(24hr/日)] x [(5日/週)/(7日/週)] この補正ラットTC ₀₅ をヒトTC ₀₅ に補正：
		経口	ヒトTD ₀₅ = 2.3 mg/kg/日 (95%LCL = 1.4 mg/kg/日) AD-ブファクター相当値： $2.2 \times 10^{-2} /$ (mg/kg/日)	ラット飲水発癌性試験 (Johannsen and Levinskas, 2002b)	神経膠星状細胞腫		ラットTD ₀₅ = 2.0 mg/kg/日 (雌), 1.8 mg/kg/日 (雄) 雌雄で投与期間が異なるので以下の式で補正：TD ₀₅ (雄) x (26/24) x (26/24) ² アクリロニトリルによる発癌は代謝体によると考えられるのでラットからヒトへの外挿に際して体表面積の補正などはしなかった。

アクリロニトリルの基準値（非発癌、経口）

	基準値	NOAEL等	評価対象試験	備考
米国一般環境水質基準(U.S. EPA, 1998)	RfD= 1 μg/kg/日	1 mg/kg/日	マウスの精巣影響 (Tandon et al. 1988)	UF=1,000、精巣影響は長期毒性試験では認められず、疫学調査でも関連する所見なし
EU (2004)	-	0.25 mg/kg/日	ラット飲水発がん性試験 (Johannsen and Levinskas, 2002)	腫瘍性変化多数 非腫瘍性変化と発癌影響との関連性が不明確
The Sappaire Group, Inc. (2004)	RfD=200 μg/kg/日	32 mg/kg/日	ラット神経毒性試験 (Gagnaire et al., 1998)	PBPKモデルからNOAELを算出、UF=180、現在TERAでレビュー中

既存の評価書による経口暴露による非発がん影響に関する定量的評価は、妥当性を欠く / PBPKモデルの妥当性の検証中

神経毒性は動物にもヒトにも認められており、アクリロニトリルによる神経毒性のメカニズムも良く解析されており、ヒトでの非発がん影響評価に用いるエンドポイントとしては妥当性がある

Gagnaire et al.(1998)らのラット知覚神経活動電位の増幅(ASAP)をエンドポイントとして選択し、BMD法によりNOAELを算出する

アクリロニトリル経口暴露によるラット知覚神経活動電位の増幅(ASAP)

経口投与量 (5日/週) mg/kg/ 日	経口投与量 (7日/週) mg/kg/ 日	ASAP (μ V) Mean \pm S.D.
0	0	167 \pm 32 (n=10)
12.5	8.9	157 \pm 31 (n=12)
25	17.9	158 \pm 31 (n=12)
50	35.7	126 \pm 42 (n=12)



標準偏差値を反応レベルとしたBMD法による解析結果

モデル	BMD (mg/kg/日)	BMDL (mg/kg/日)	ρ 値
Linear	29.6	18.8	0.588
Polynomial	33.1	17.6	0.503
Power	34.1	19.7	0.510
Hill	適合せず		
, , の平均	32.3	18.7	-

(BMD: ベンチマークドーズ、 BMDL: BMDの95%信頼下限値)

不確実性計数: 1, 000

種差: 10、個体差: 10、短期毒性から慢性毒性への外挿: 10 (評価に用いた試験データが12週間であるため)

RfD = 20 μ g/kg/日

アクリロニトリルの基準値（非発癌、経口）

	基準値	NOAEL等	評価対象試験	備考
米国一般環境 水質基準(U.S. EPA, 1998)	RfD=1 μg/kg/日	1 mg/kg/日	マウスの精巣影響 (Tandon et al. 1988)	UF=1,000、精巣影響は 長期毒性試験では認め られず、疫学調査でも 関連する所見なし
EU (2004)	-	0.25 mg/kg/日	ラット飲水発がん性試験 (Johannsen and Levinskas, 2002)	腫瘍性変化多数 非腫 瘍性変化と発癌影響と の関連性が不明確
The Sapphire Group, Inc. (2004)	RfD=200 μg/kg/日	32 mg/kg/日	ラット神経毒性試験 (Gagnaire et al., 1998)	PBPKモデルからNOAEL を算出、UF=180、現 在TERAでレビュー中
CRM	RfD =20 μg/kg/日	20 mg/kg/日	ラット神経毒性試験 (Gagnaire et al., 1998)	BMD法にてNOAEL相当 値を算出、UF=1,000

CRM有害性評価書と他の評価書との比較

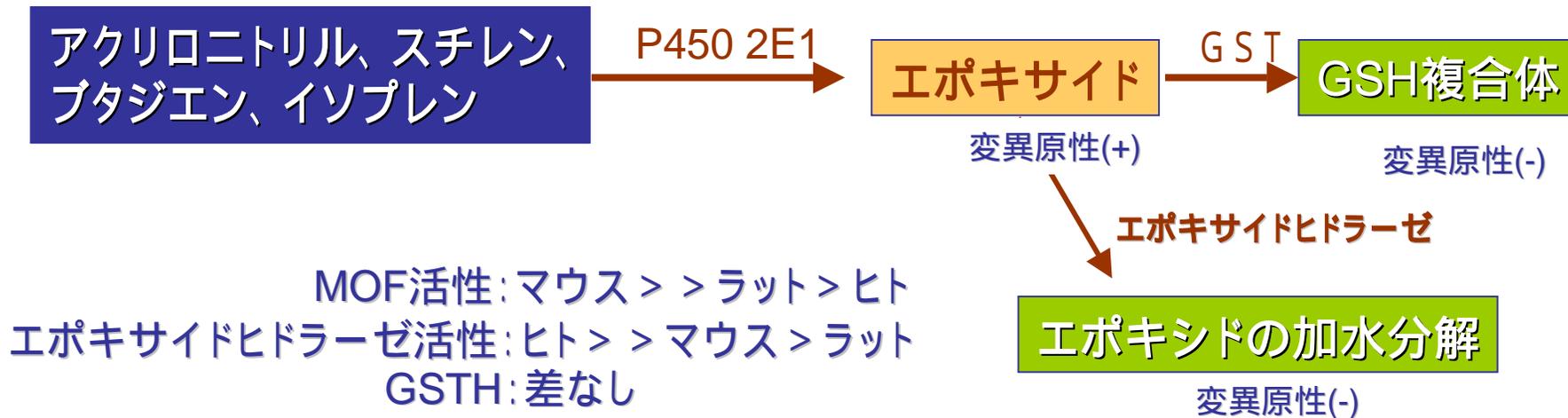
国/機関	文書名	頁数	文献数
EU	European Risk Assessment Report (2004)	257	484
WHO-IPCS	Environmental Health Criteria 28 (1983)	64	365
The Sapphire Group	Toxicological Review (Final Draft, 2004)	195	347
U.S. EPA	Toxicological Profile (1990)	93	324
WHO	Concise International Chemical Assessment Document 39 (2002)	32	262
Canada	Priority Substances List Assessment Report (2000)	55	243
CRM	アクリロニトリルの有害性評価(案)(2005)	72	123
NICNAS(オーストラリア)	Priority Existing Chemical Assessment Report No. 10 (2000)	64	62

課題

- PBPKモデルの活用体制の確立
- 新規リスクへの対応(ナノ材料)
- ライフサイエンス研究成果の取り込み
- 有害性評価体制の強化
 - 有害性基礎教育体制の確立
 - 有害性評価プロの育成
 - 外部委託先の活用
 - 海外評価機関との連携
 - 安定的な業務レベルの確保

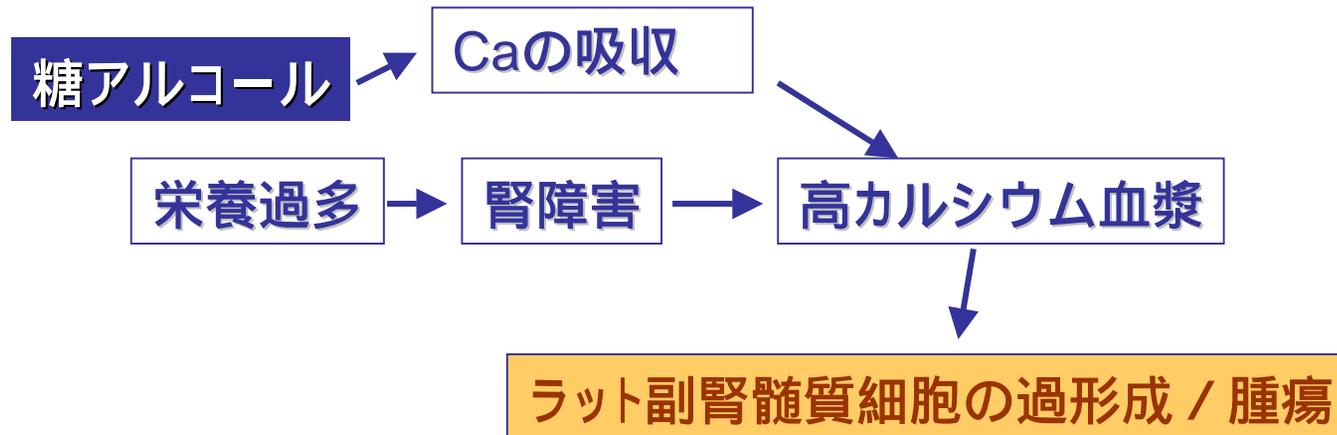
ご清聴ありがとうございました

オレフィン類の発がん性とエポキサイド中間体



	活性化 / 解毒化
スチレン	ラット = マウス >> ヒト (0.25, 0.2, 0.02)
ブタジエン	マウス >> ラット、ヒト (75, 5, 5)

ラット副腎髄質細胞の過形成/腫瘍のメカニズム



- ホルモンは自然発生腫瘍や外来の発癌因子に対する反応性に影響する
- ラットはマウスよりもホルモン変調に対して遙かに感受性が高い
- ヒトでのリスクは低い
 - 副腎髄質細胞の増殖反応性が遺伝的に低い、
 - 小腸におけるカルシウム吸収の増加が少ない、
 - カルシウムのホメオスタシス変化に対する副腎の反応性が低い

アクリロニトリルのリスク評価に関わる調査研究企画書 有害性情報調査

	頁
． 調査研究の目的	1
． 有害性評価の状況	1
． 有害性情報調査のポイント	4
． 有害性情報調査の内容	4
． 調査期間	5
． 報告書	5
． その他	5
添付 ． アクリロニトリルのリスク評価関連情報	6
添付 ． リスク評価書構成および分担(案)	15

PBPKモデルからの個体差の解析

