

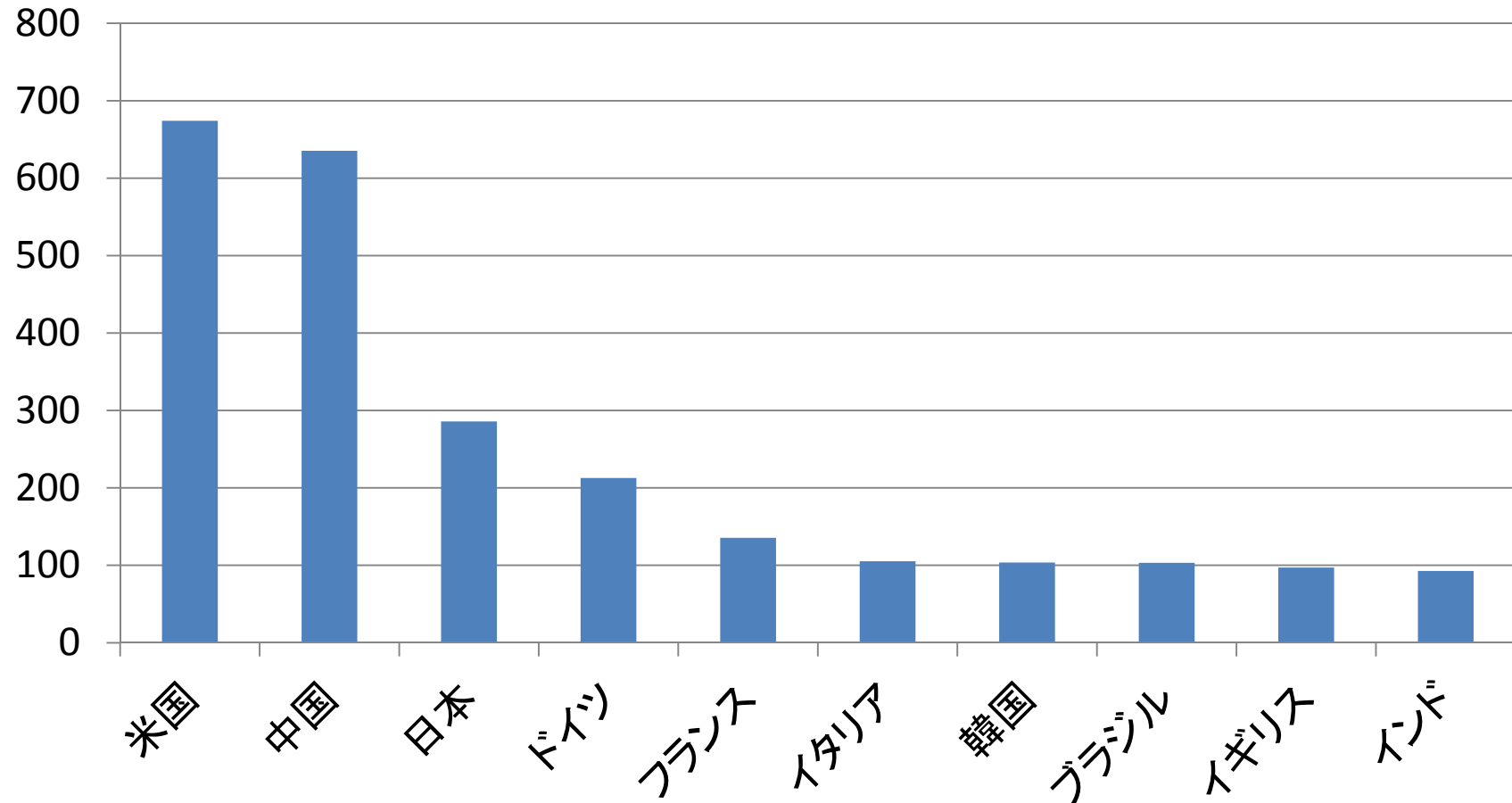
# 化学物質のリスク評価における 現状と新たな流れ

国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター  
西川秋佳

新LRI第2回研究報告会（2013年8月30日）

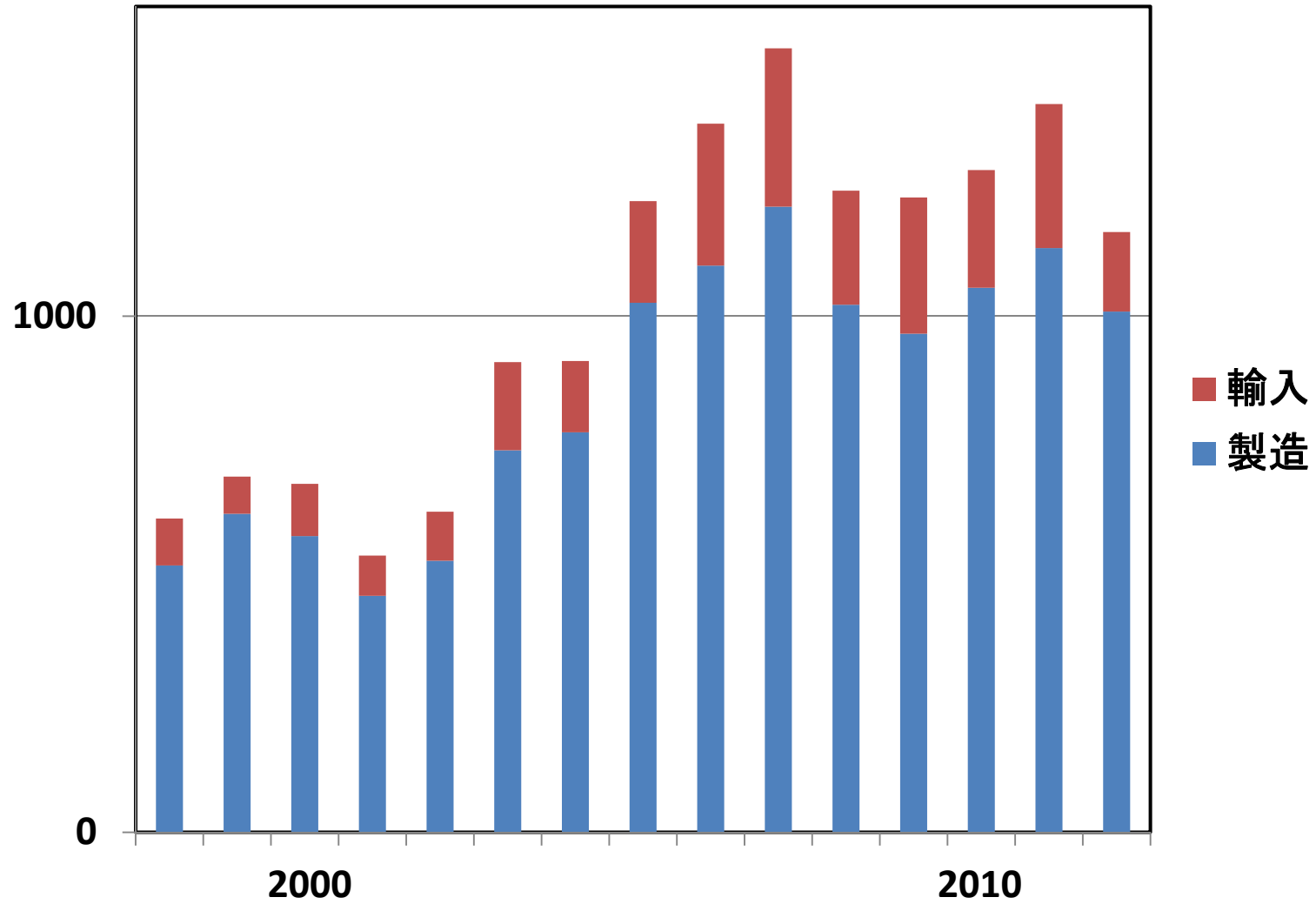
# 化学工業製品の出荷額(2009年)

(10億米ドル)

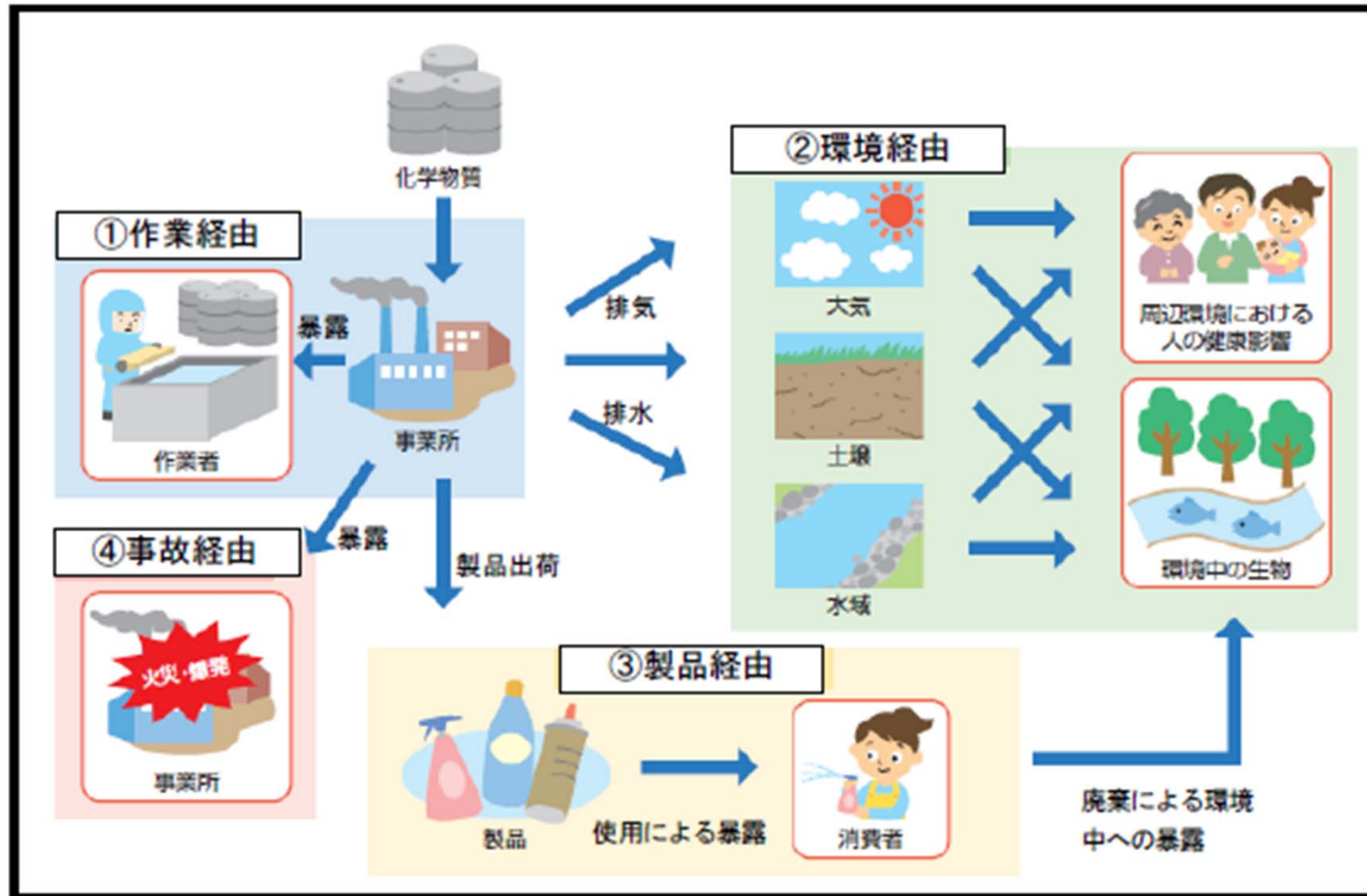


日本化学工業協会「グラフでみる日本の化学工業2011」

# 新規化学物質製造・輸入届出状況(年別届出件数)



# 化学物質の曝露経路



経済産業省「化学物質のリスク評価のためのガイドブック 2007年」

## 我が国における主な公害・労働災害

西暦	主な公害・労働災害	原因物質
1878	足尾銅山鉱毒事件	銅化合物など
1922	神通川イタイイタイ病	カドミウム
1955	森永ヒ素ミルク事件	ヒ素
1956	水俣病	メチル水銀
1961	四日市喘息	硫黄酸化物
1962	サリドマイド薬害事件	サリドマイド
1964	第2水俣病	メチル水銀
1968	カネミ油症事件	PCB
1970	スモン病薬害事件	キノホルム
1973	六価クロム汚染問題	六価クロム
1973	アスベストによる肺がん・中皮腫発症	アスベスト
2012	印刷労働者における胆管がん発症	1,2-ジクロロプロパン？

## シックハウス症候群に係る揮発性有機化合物の指針値

揮発性有機化合物	室内濃度指針値	毒性指標
ホルムアルデヒド	100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.08 ppm)	ヒト鼻咽頭の刺激
アセトアルデヒド	48 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.03 ppm)	ラット鼻腔嗅上皮への影響
トルエン	260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.07 ppm)	ヒト神経・生殖への影響
キシレン	870 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.20 ppm)	ラット胎児神経系への影響
エチルベンゼン	3800 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.88 ppm)	げっ歯類肝・腎への影響
スチレン	220 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.05 ppm)	ラット脳・肝への影響
パラジクロロベンゼン	240 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.04 ppm)	イヌ肝・腎への影響
テトラデカン	330 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.04 ppm)	ラット肝への影響
クロルピリホス	1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.07 ppb) 小児 0.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	ラット新生児神経発達への影響
フェノブカルブ	33 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (3.8 ppb)	ラットChEへの影響
ダイアジノン	0.29 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.02 ppb)	ラットChEへの影響
フタル酸ジ- <i>n</i> -ブチル	220 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.02 ppm)	ラット新生児生殖器への影響
フタル酸ジ-2-エチル ヘキシル	120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (7.6 ppb)	ラット精巣への影響

## 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センターの歴史

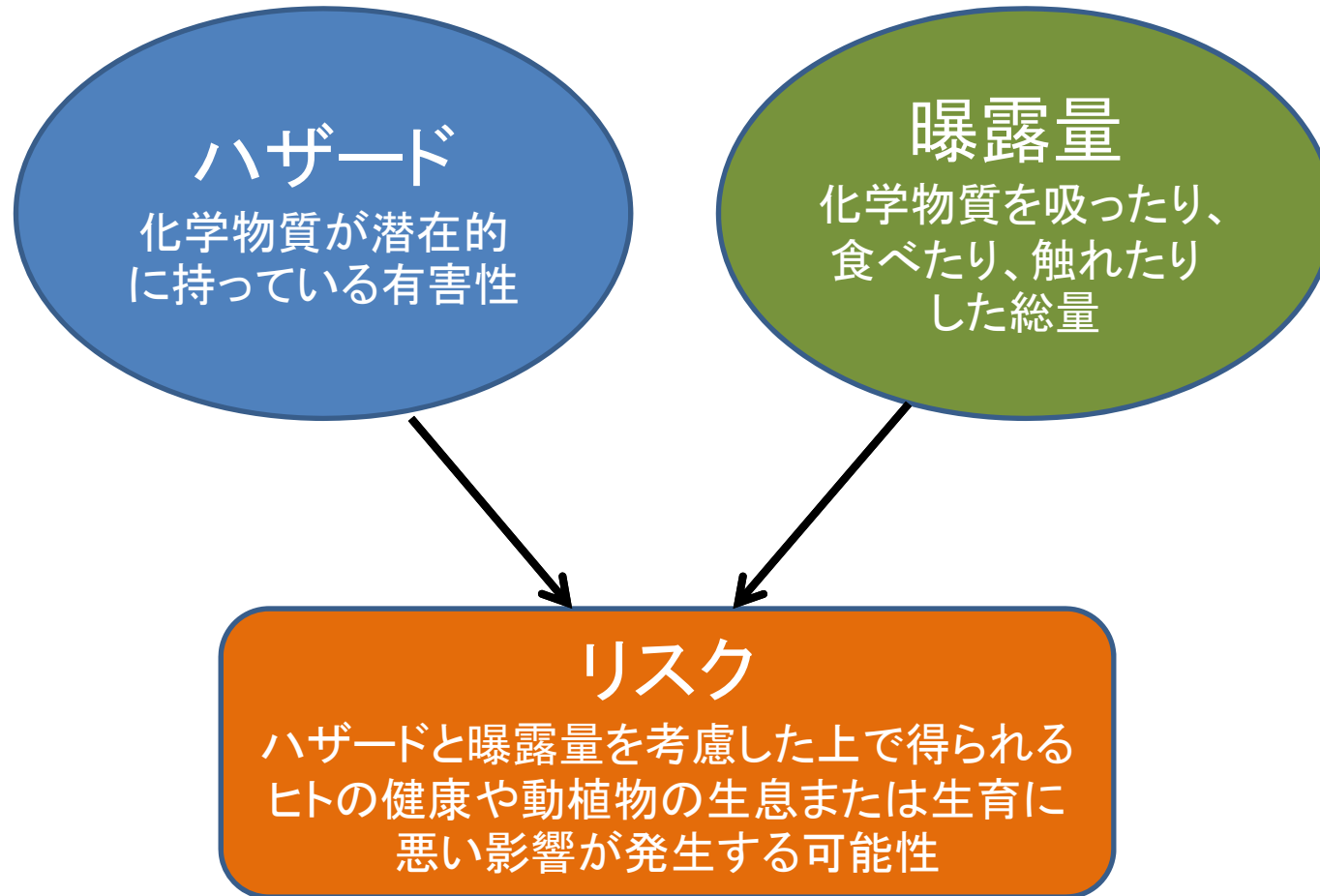
西暦	出来事
1874	東京司薬場として発足
1877	東京衛生試験所に改称
1938	厚生省の所管
1946	用賀に移転
1949	国立衛生試験所に改称
1978	安全性生物試験研究センターの設置
1997	国立医薬品食品衛生研究所に改称

## 国内法規制において求められる安全性試験

試験/法令等	化審法	安衛法	農取法	薬事法	食衛法
分解度	○				
濃縮度	○				
局所刺激性			○	○	
急性毒性			○	○	
反復投与毒性	○		○	○	○
遺伝毒性	○	○	○	○	○
がん原性		○	○	○	○
生殖発生毒性	△		○	○	○
神経毒性			△		
生態毒性	○				



## ハザードとリスクの関係



## ヒト健康に係る有害性クラス

毒性試験	クラス1	クラス2	クラス3	クラス4	クラス外
一般毒性	-	D<0.005	0.005<D<0.05	0.05<D<0.5	D>0.5
生殖発生毒性	-	D<0.005	0.005<D<0.05	0.05<D<0.5	D>0.5
変異原性	GHS 1A	GHS 1B, 2 強い陽性	いずれも陽性	いずれかで 陽性	GHS区分外 いずれも陰性
発がん性	GHS 1A	GHS 1B, 2	-	-	GHS区分外

有害性評価値D (mg/kg/day) = 無毒性量 / 不確実係数

# スクリーニング評価における優先マトリックス

## 有害性クラス

曝露クラス

	1	2	3	4	外
1	高	高	高	高	
2	高	高	高	中	
3	高	高	中	中	
4	高	中	中	低	
5	中	中	低	低	
外					



毒性病理学(1930年代)

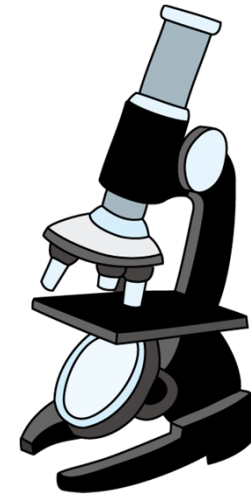
ウィルヒョウ・細胞病理学(1800年代)

ヴェサリウス・固体病理学(1500年代)

ヒポクラテス・体液病理学(BC400年代)

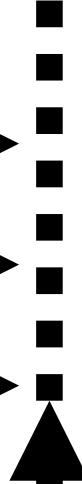
電子顕微鏡の開発

光学顕微鏡の開発





?



安全センター30周年(2008)

GLP検討委員会(1978)

NTP Technical report (1976)

国立衛試安全センター(1978)

## 毒性データに基づく現行の主なリスク評価手法

略称	評価指標	根拠	適用
ADI	一日摂取許容量	無毒性量 最小毒性量	食品添加物・ 農薬等
TDI	耐用一日摂取量	無毒性量 最小毒性量	食品中汚染物 質等
MOE	曝露マージン	無毒性量 ベンチマークドーズ	食品中汚染物 質等
VSD	実質安全量	スロープファクター ユニットリスク	食品中汚染物 質等

## 有害性評価・リスク評価に用いられる新しい手法・概念

新しい概念・手法	
<i>In silico</i> 法	(定量的)構造活性相関 (Q)SAR
	リードアクロス
	カテゴリーアプローチ
Adverse outcome pathway (AOP)	アドバースアウトカムパスウェー
Toxicogenomics	トキシコゲノミクス
Integrated testing strategy (ITS)	統合的試験戦略
Threshold of toxicological concern (TTC)	毒性学的懸念の閾値

試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

## 構造活性相関 (SAR)

- 化学構造上の特徴または物理化学定数と生物学的活性の相関関係
- 化学物質の生物学的活性を化学構造から予測するモデル
- 定量的構造活性相関 (QSAR)・定性的構造活性相関 (SAR)
  
- 試行段階のQSARモデル

試験	モデル
分解性	BIOWIN5/ BIOWIN6/ CATABOL
蓄積性	BCFWIN/ CERIモデル/ Baselineモデル
AMES	DEREK/ Multi-Case/ ADMETWorks
生態毒性	TIMES/ ECOSAR/ KATE



## 発がん性・遺伝毒性に関する構造活性相関モデル

タイプ	モデル	長所	短所
エキスパート・ルール	<b>DEREK</b> HazardExpert ToxTree OECD Toolbox	多くの文献等にサポートされたメカニズムに基づく	適用範囲が制限され、統計アプローチよりも精度が低くなるクラスが存在
統計的QSAR	<b>Multi-CASE</b> TOPKAT LAZAR CASER	メカニズム不明な初期段階では精度が高い傾向	メカニズムに基づく説明が提供されないため、解析結果の透明性が低くなる
ハイブリッド	OASIS TIMES	上記のタイプの長所を併せ持つので総じて精度は高い	適用範囲が制限される

## カテゴリーアプローチ

- 化学物質をグループ化するための手法
- グループを形成する物質数が限定的な場合、類縁物質アプローチと呼ぶ
- カテゴリーの論理的根拠となる主要な類似性

類似性	例
共通官能基	アルデヒド・エポキシド・エステル・ 特殊な金属イオン
共通の部分構造・化学クラス・ 炭素数範囲	側鎖長カテゴリー
共通の前駆体・分解生成物	エステル・酸・塩などの関連化合物

## HPVプログラムにおけるカテゴリーアプローチの手順

ステップ	手順
1	カテゴリーの同定と物質選定
2	物質のデータの収集
3	データの信頼性評価
4	データマトリックスの作成
5	カテゴリー仮説の内挿検証
6	試験計画の作成
7	必要な試験の実施
8	カテゴリー仮説の外挿検証及びデータギャップの補完

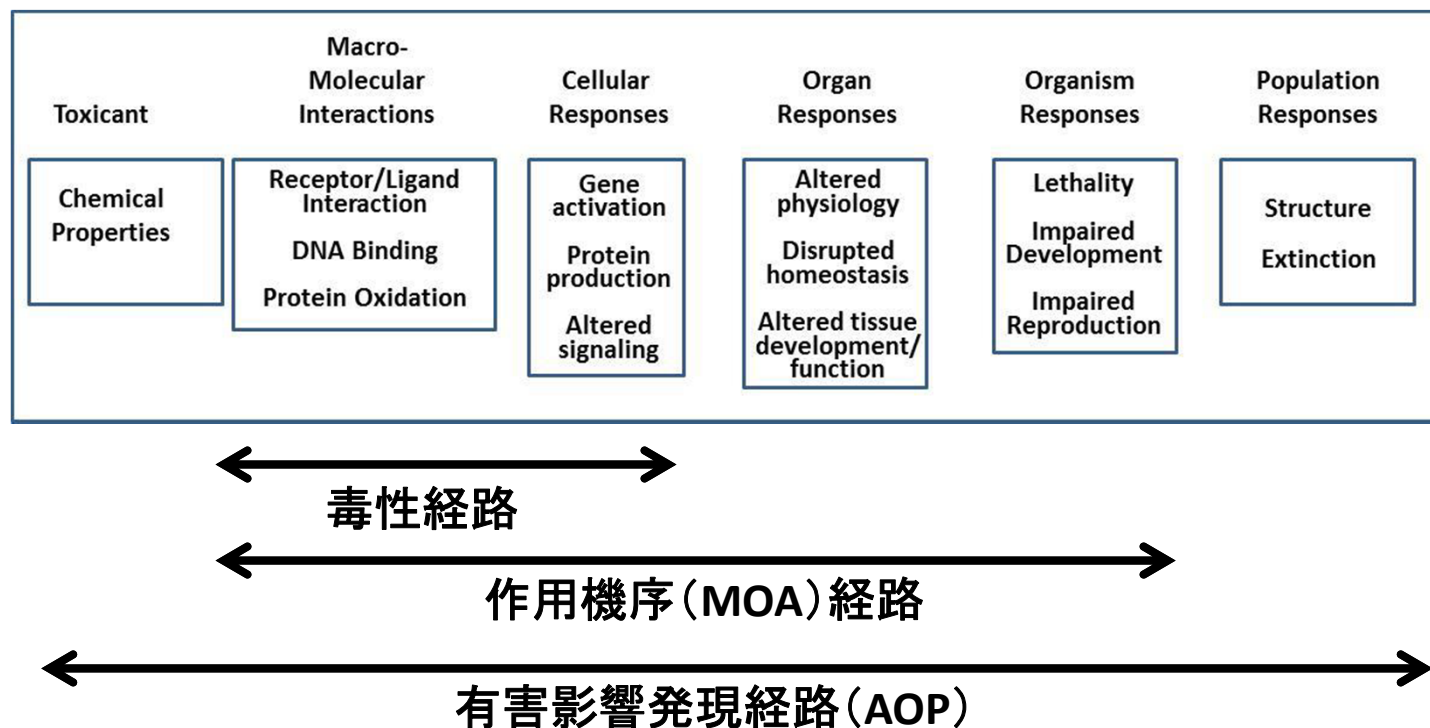
## リードアクロス

- カテゴリーアプローチ等におけるデータギャップを満たす手法
  - 類似していると考えられる他の物質のエンドポイントの予測
  - アナログアプローチ・カテゴリーアプローチの両者に用いることが可能
  - 物理化学的性質・環境中運命・ヒト健康影響・生態毒性の特性付けに適用可能
  - 定性的・定量的に実施可能
- 
- 4つのアプローチ

アプローチ	
一対一	1つの化学物質の予測に1つの類縁物質を用いる
多対一	1つの化学物質の予測に複数の類縁物質を用いる
一対多	複数の化学物質の予測に1つの類縁物質を用いる
多対多	複数の化学物質の予測に複数の類縁物質を用いる

## Adverse outcome pathway (AOP)

- 有害影響発現に至る経路
  - 毒性経路と作用機序の概念を組み込んだもの
  - 分子レベル開始事象とリスク評価に資する有害影響を関連付ける概念的枠組み
- 
- AOPを説明するシエーマ



# トキシコゲノミクス (Toxicogenomics)

- 毒性学(toxicology) + ゲノム学(genomics)
  - 遺伝子発現解析により、毒性の発現メカニズム解明や予測を行う
  - 広義には、プロテオミクスやメタボノミクス含む
  - ファーマコゲノミクスとは毒性作用か薬理活性かの違い
- TG-GATEs (Toxicogenomics Project-Genomics Assisted Toxicity Evaluation system)

## Compound list



## Pathology list

## Digital Pathology Viewer System

- Toxicogenomics in carcinogenicity hazard assessment (RIVM)

## 毒性学的懸念の閾値 (Threshold of toxicological concern)

- 毒性未知の化学物質を試験を行うことなしに評価するアプローチ
  - 元来、食品中の低レベルで存在する未知の毒性物質の評価ツール
  - ヒト曝露量と構造により設定されたTTC値との比較による初期評価
  - がんおよび非がんのエンドポイントに関する広範な試験データに基づく
  - 遺伝毒性の構造アラートに拘わらず適用可能
  - JECFA、EFSAおよびFDAの香料評価で使用されている
  - 物質の構造・用途等により種々の値が提案されている
- 
- 適用できない物質群
    - ✓ 高発がん性物質(アフラトキシン類縁物質、アゾキシまたはN-ニトロソ)
    - ✓ 化合物、ベンジジン、ヒドラジン)
    - ✓ 無機化合物
    - ✓ 金属・有機金属
    - ✓ タンパク
    - ✓ ステロイド
    - ✓ 生物蓄積性物質
    - ✓ ナノマテリアル
    - ✓ 放射性物質
    - ✓ 未知の化学構造を含む物質の混合

## 提案されているTTC値

エンドポイント	曝露経路/期間	TTC値(μg/ヒト/日)	化学品の種類/用途	文献
遺伝毒性	経口	1.5	食品包装、香料	Rulis, 1986; 1989 Cheeseman <i>et al.</i> , 1999 Munro <i>et al.</i> , 1999
遺伝毒性	経口(1生涯) 経口(1年未満) 経口(1生涯)	0.15 1.5 1.5 (Ames陰性)	意図しない 食品中化学物質	Felter <i>et al.</i> , 2009
遺伝毒性	経口(10年以上) 経口(10年未満) 経口(1年未満) 経口(1月未満)	1.5 10 20 120	医薬品不純物	Muller <i>et al.</i> , 2006
非遺伝毒性/ 発がん性	経口	1(高発がん性) 10(強い毒性) 100(低発がん性)	医薬品不純物	Dolan <i>et al.</i> , 2005
非発がん性	経口	1800 (Cramer class I) 540 (Cramer class II) 90 (Cramer class III)	広範囲の 有機化学物質	Munro <i>et al.</i> , 1996



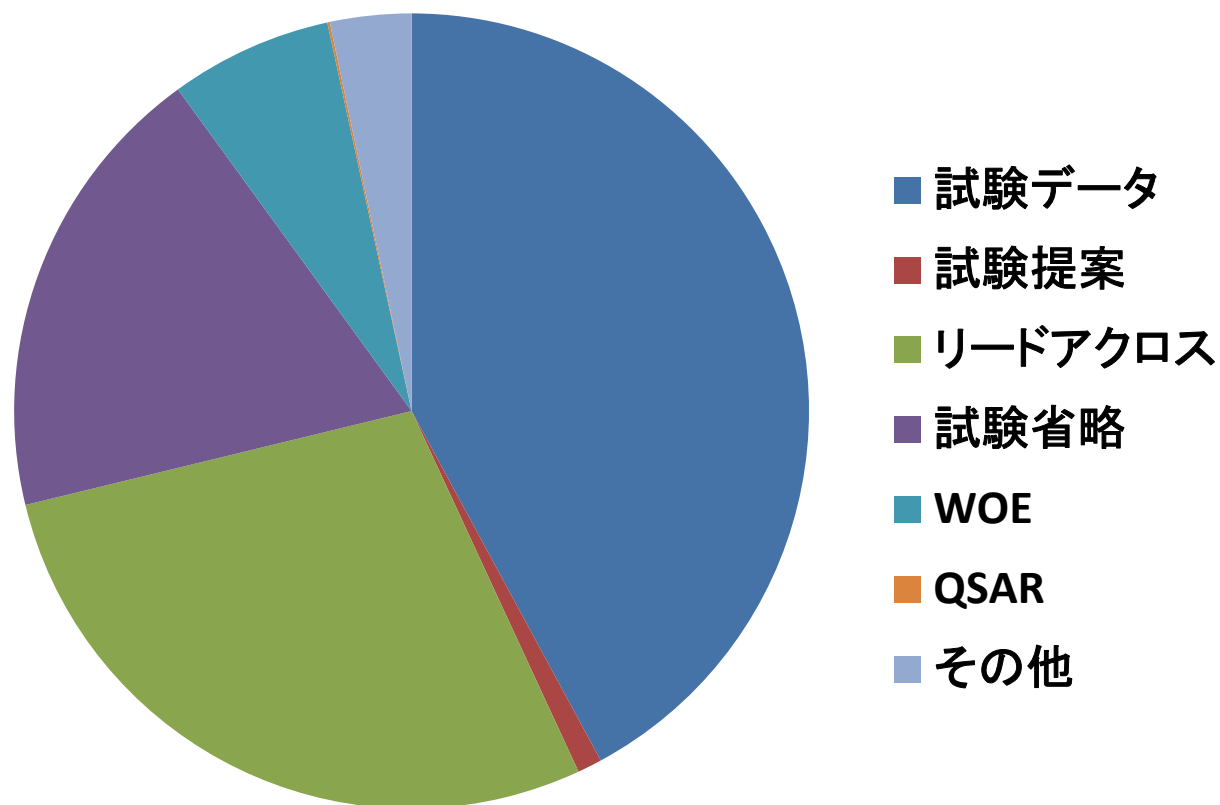
## 統合的試験戦略 (Integrated testing strategy)

- 既存の動物試験の削減・改善・代替に寄与し、以下の手法を複数用いることを基本としたハザード評価へのアプローチ
  - ✓ 物理化学データ
  - ✓ *In vitro*データ
  - ✓ ヒトでのデータ(疫学、臨床症例など)
  - ✓ 動物でのデータ(回避できない場合)
  - ✓ コンピュータによる手法(QSAR、体内動態モデルなど)
- ITSのステップ

ステップ	手順
1	評価対象物質に関する全ての情報の収集
2	統計学的手法や専門家判断による情報の重みづけ
3	収集情報が評価の目的に十分か判断
4	カテゴリーアプローチ等に供する類似物質の情報収集
5	曝露やTTCによる試験免除が適用できるか判断
6	最後の手段として動物実験の実施(REACH規則25条)

# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

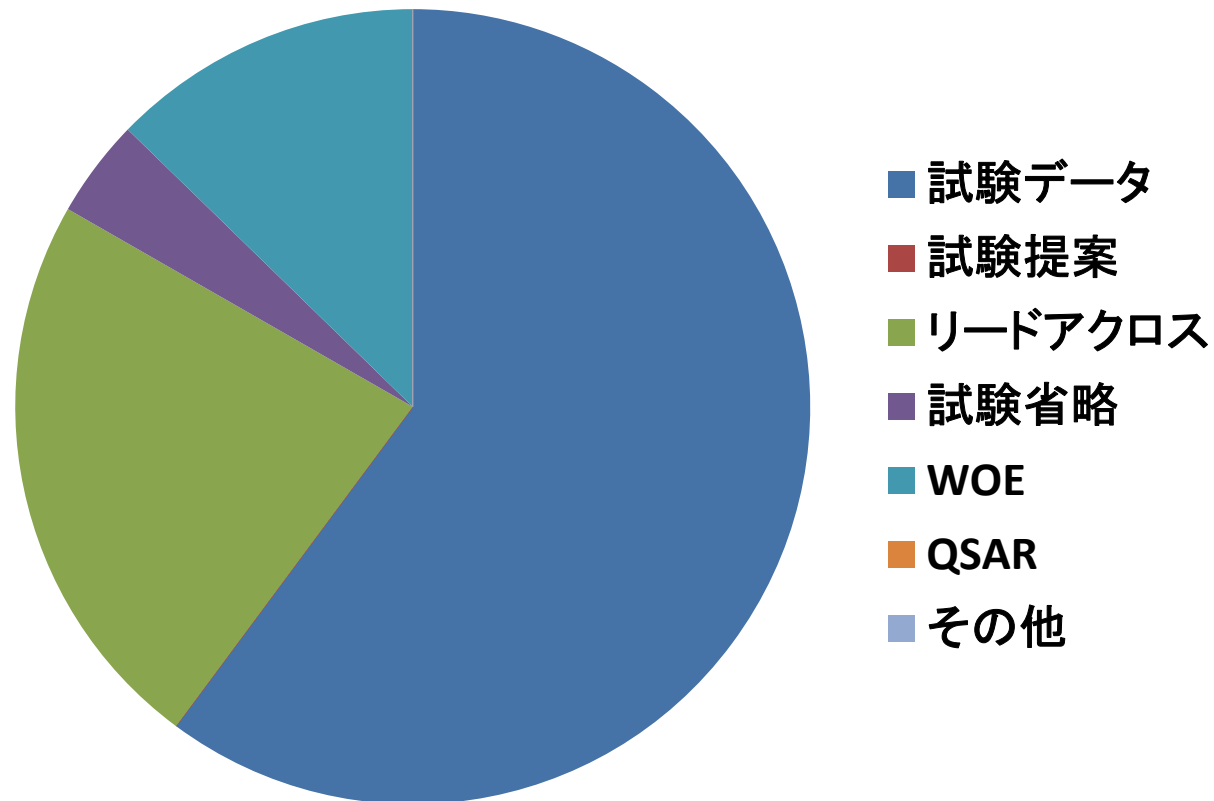
## 反復投与毒性



試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

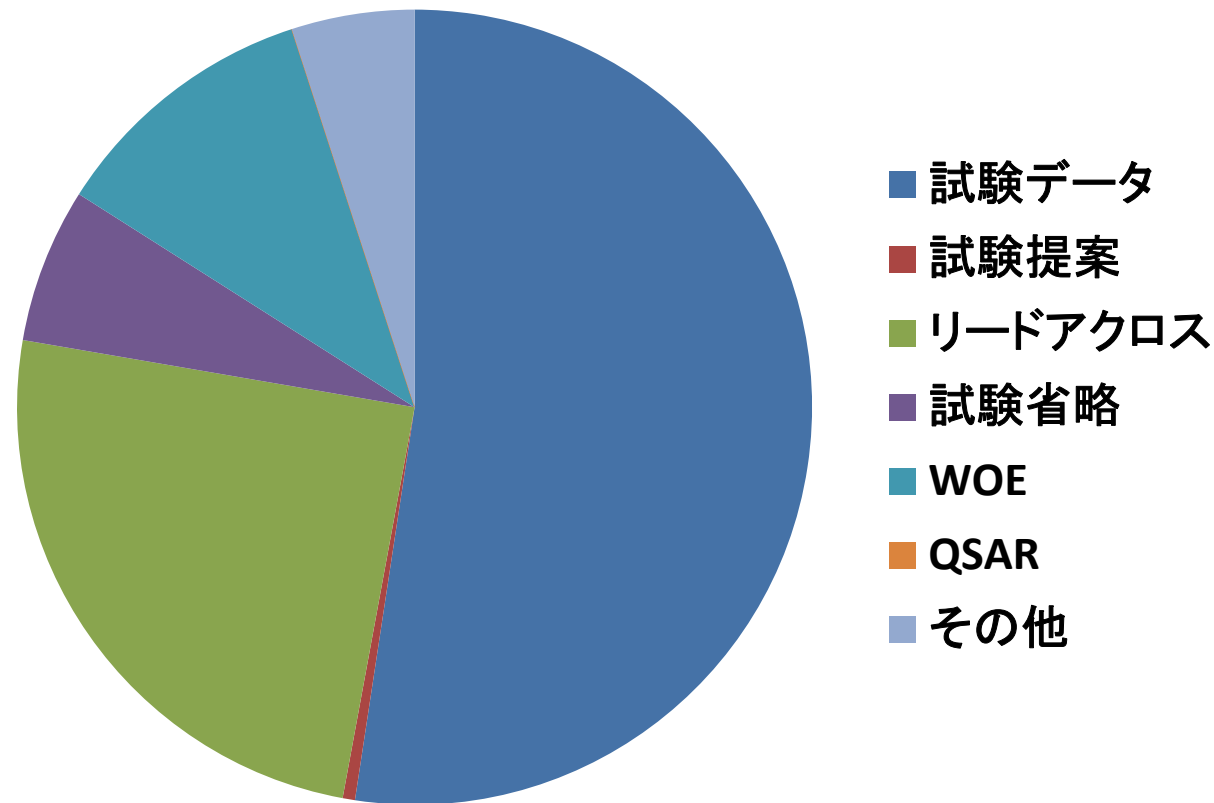
## 変異原性 (*in vitro*)



試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

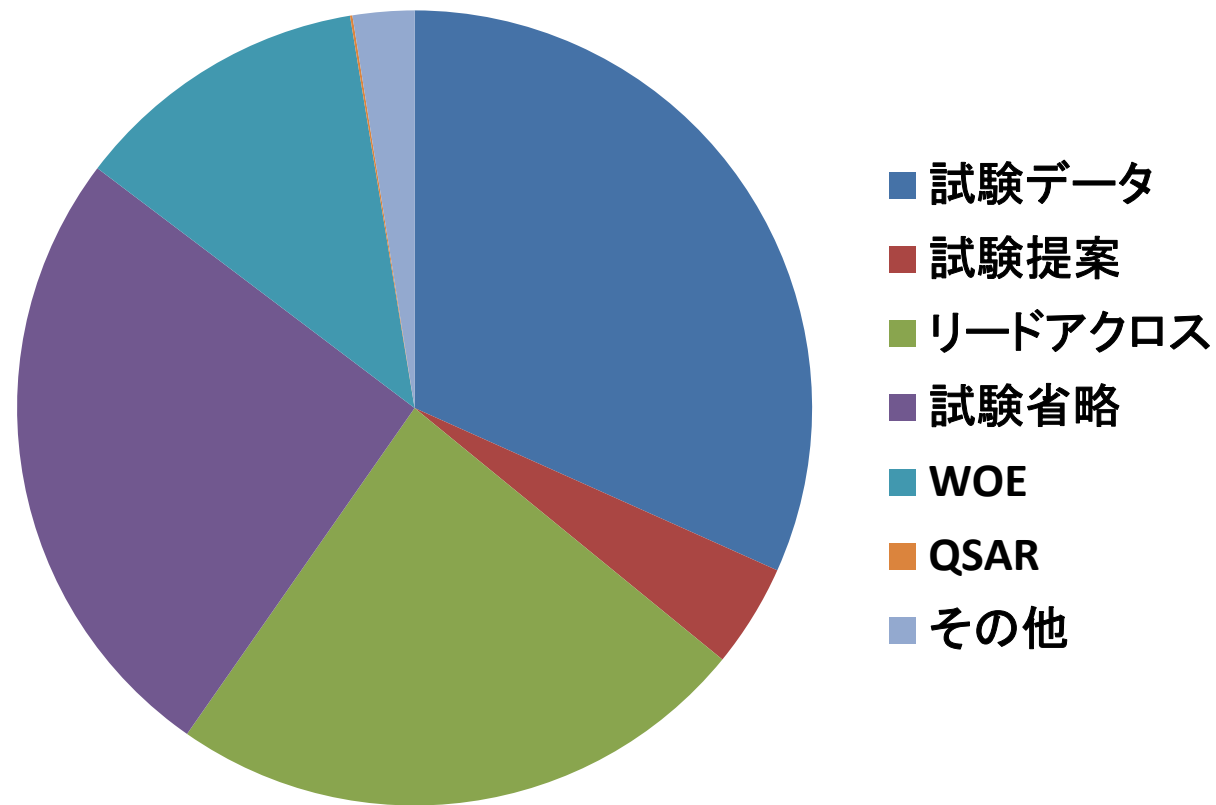
## 変異原性 (*in vivo*)



試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

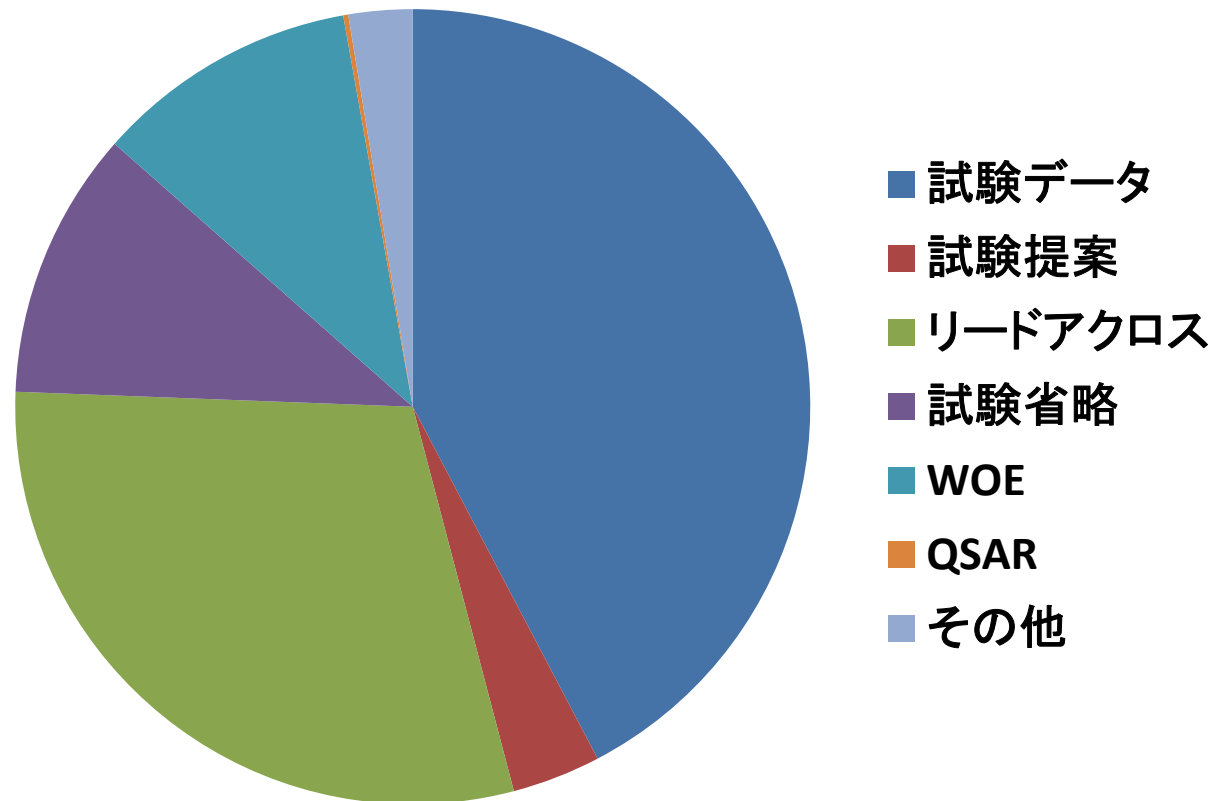
## 生殖毒性



試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

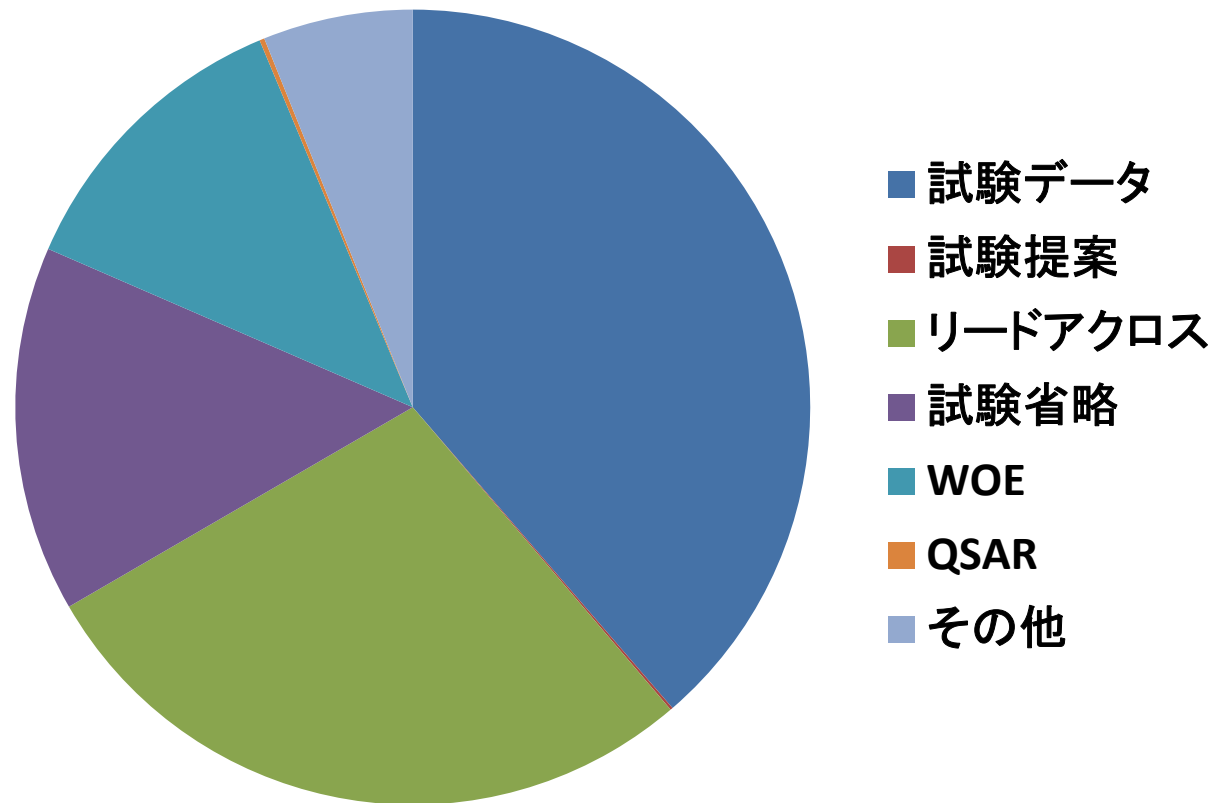
## 発生毒性



試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

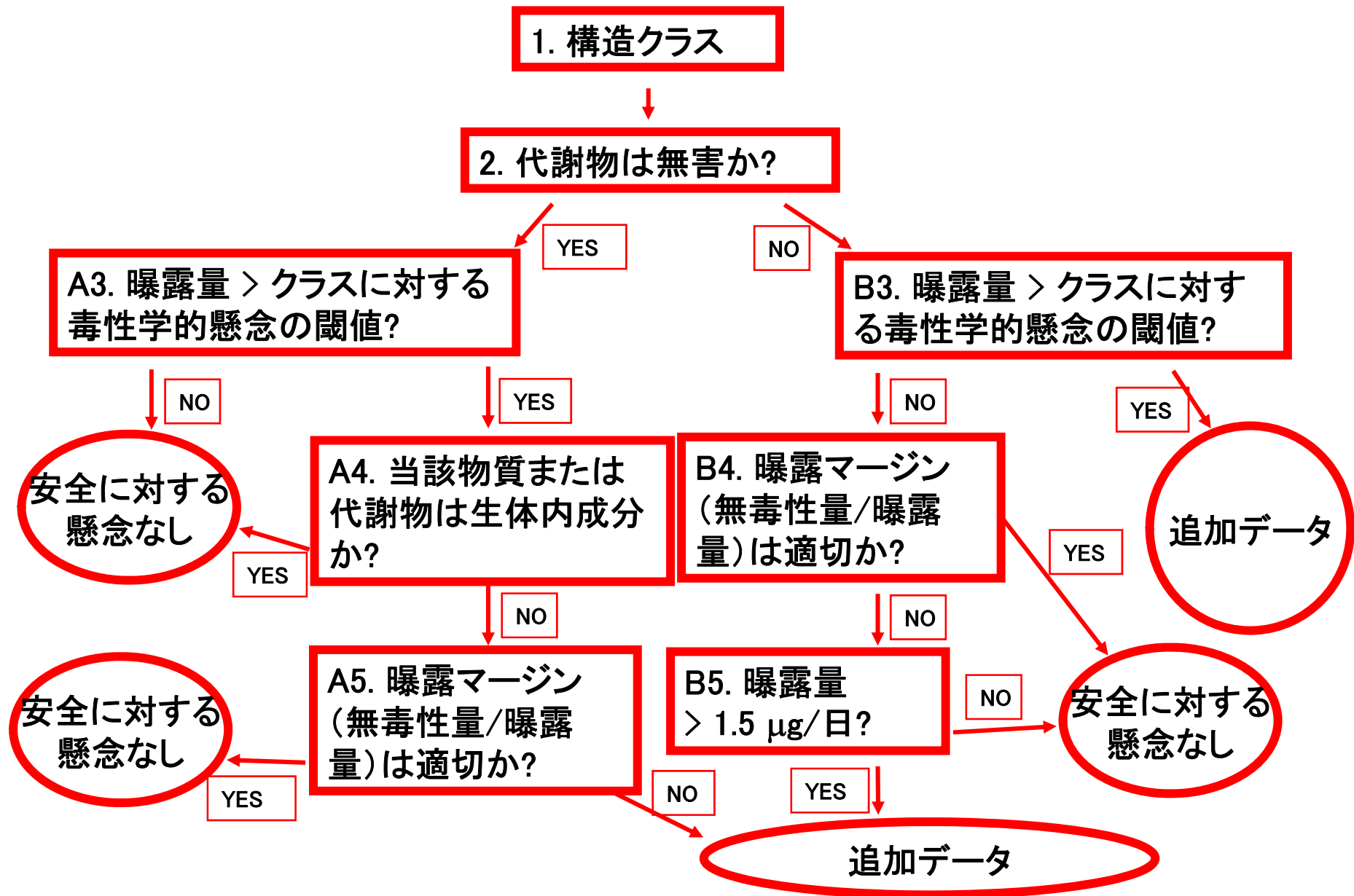
# REACH規則登録申請における代替法の使用頻度 (1000トン以上、2008年6月～2011年2月)

## 発がん性

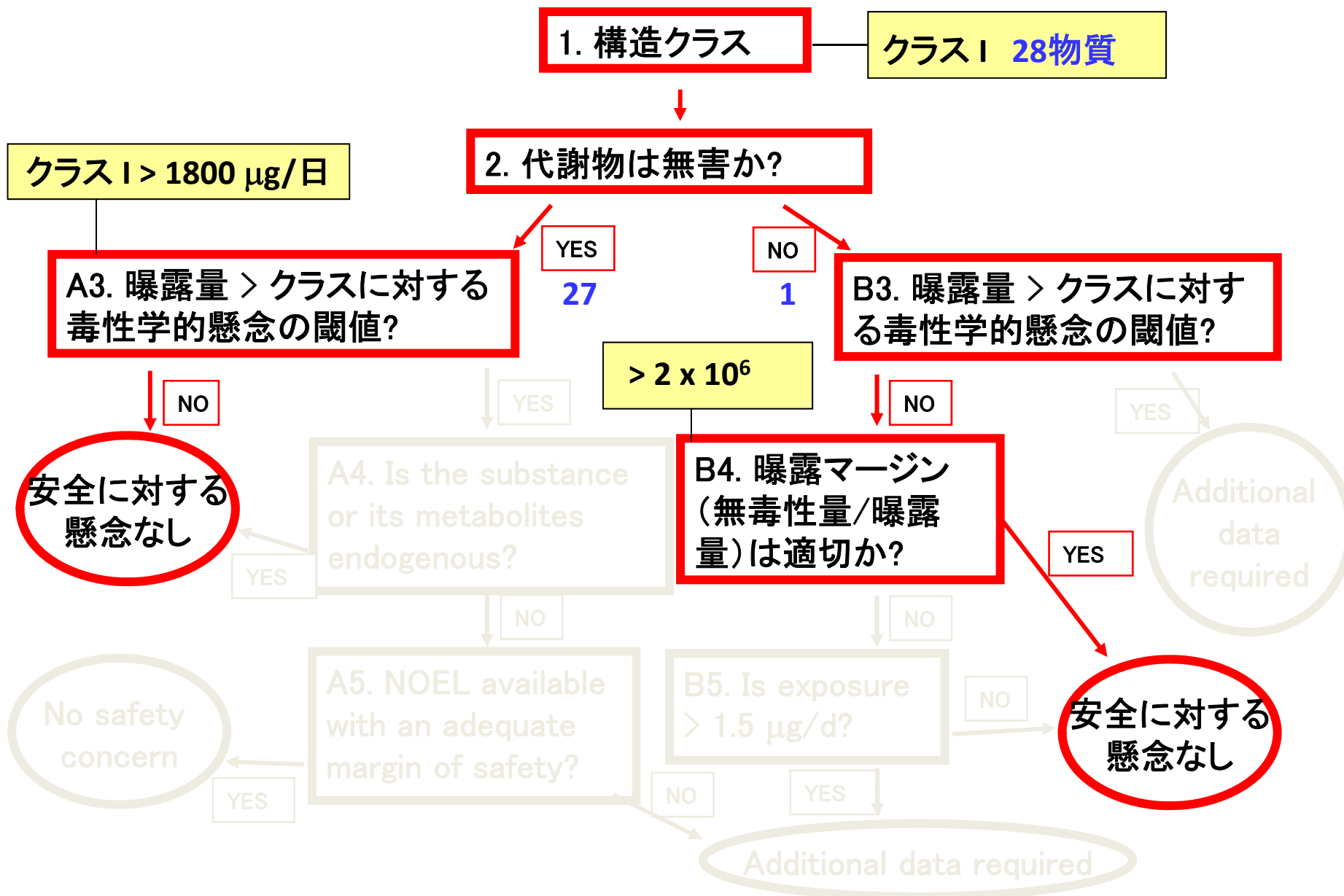


試験法ガイドライン等の化学物質安全対策関連規制での採用  
(regulatory acceptance)を検討するための予備調査報告書(2013.3)

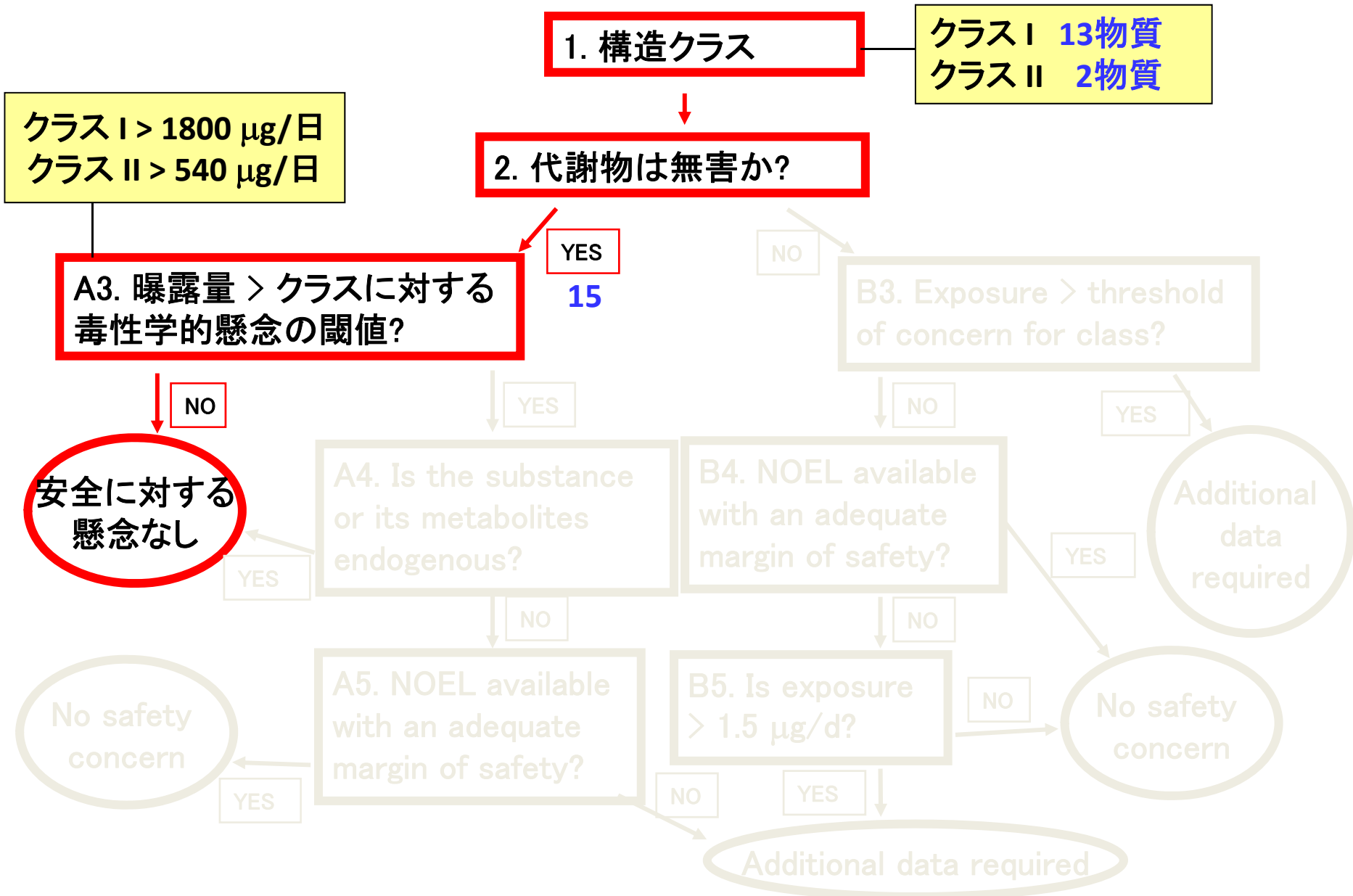
# JECFA (FAO/WHO 合同専門家委員会) の香料安全性評価手順



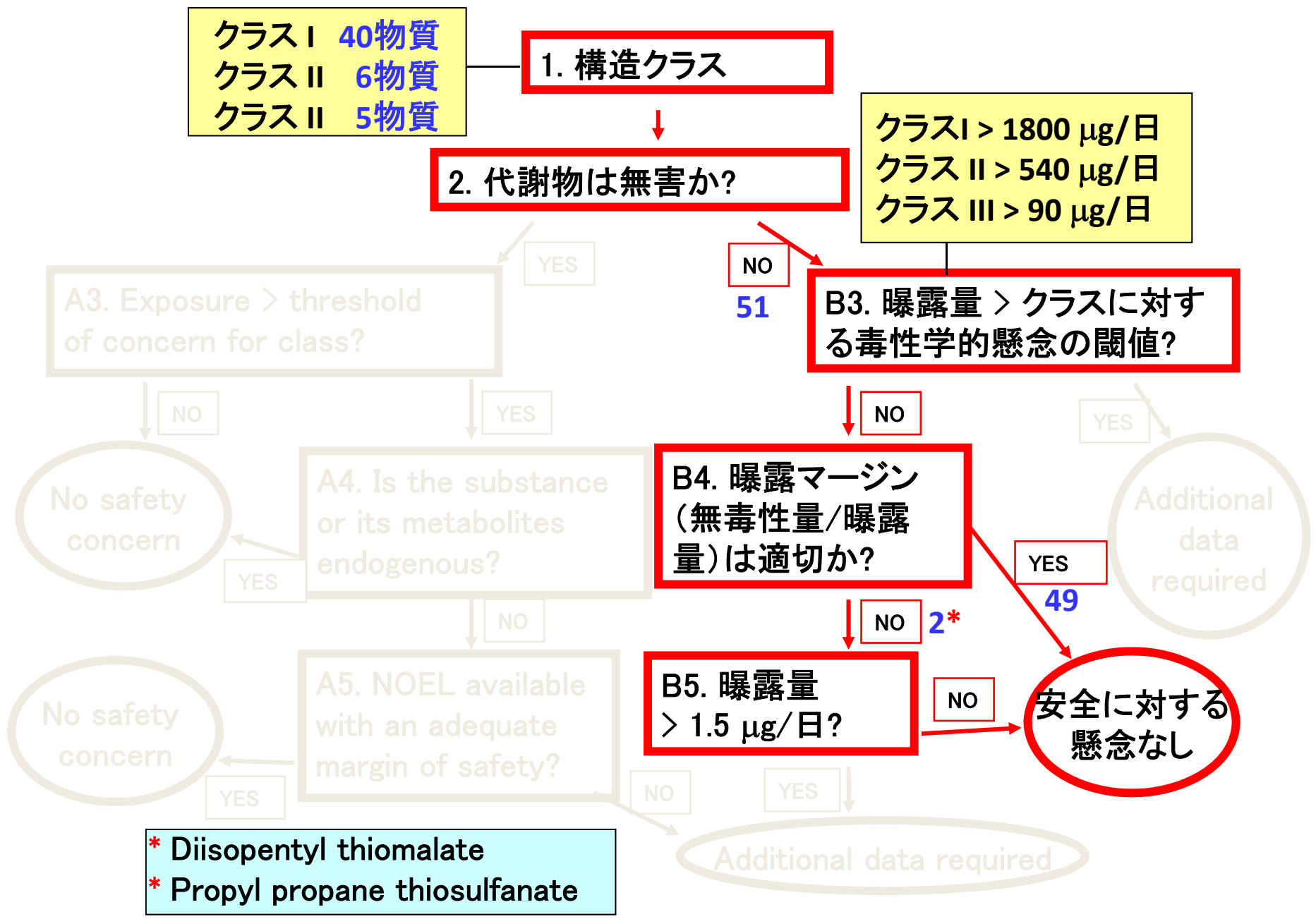




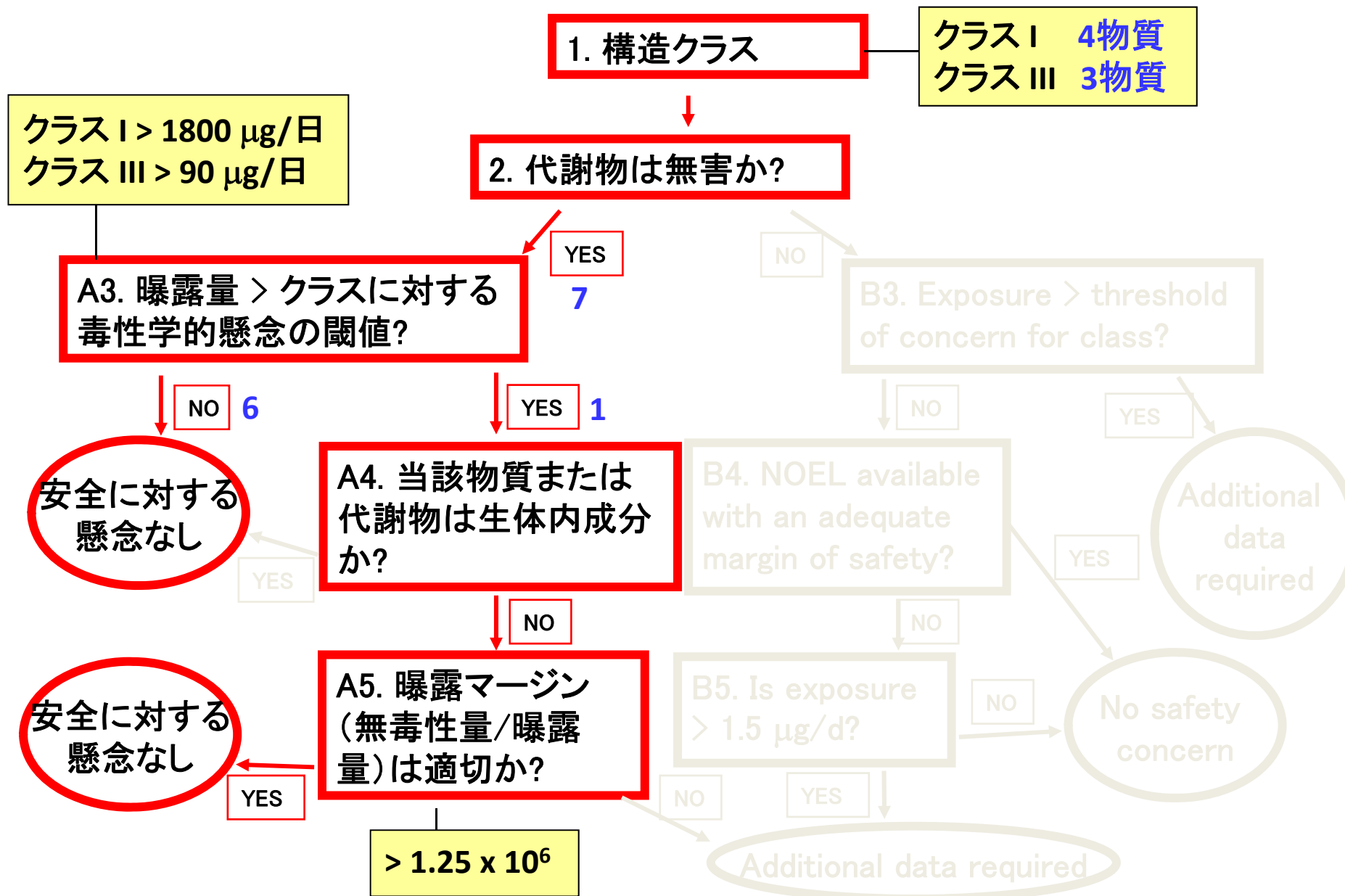
Linear and branched-chain aliphatic, unsaturated, unconjugated alcohols, aldehydes, acids and related esters (Group 1)



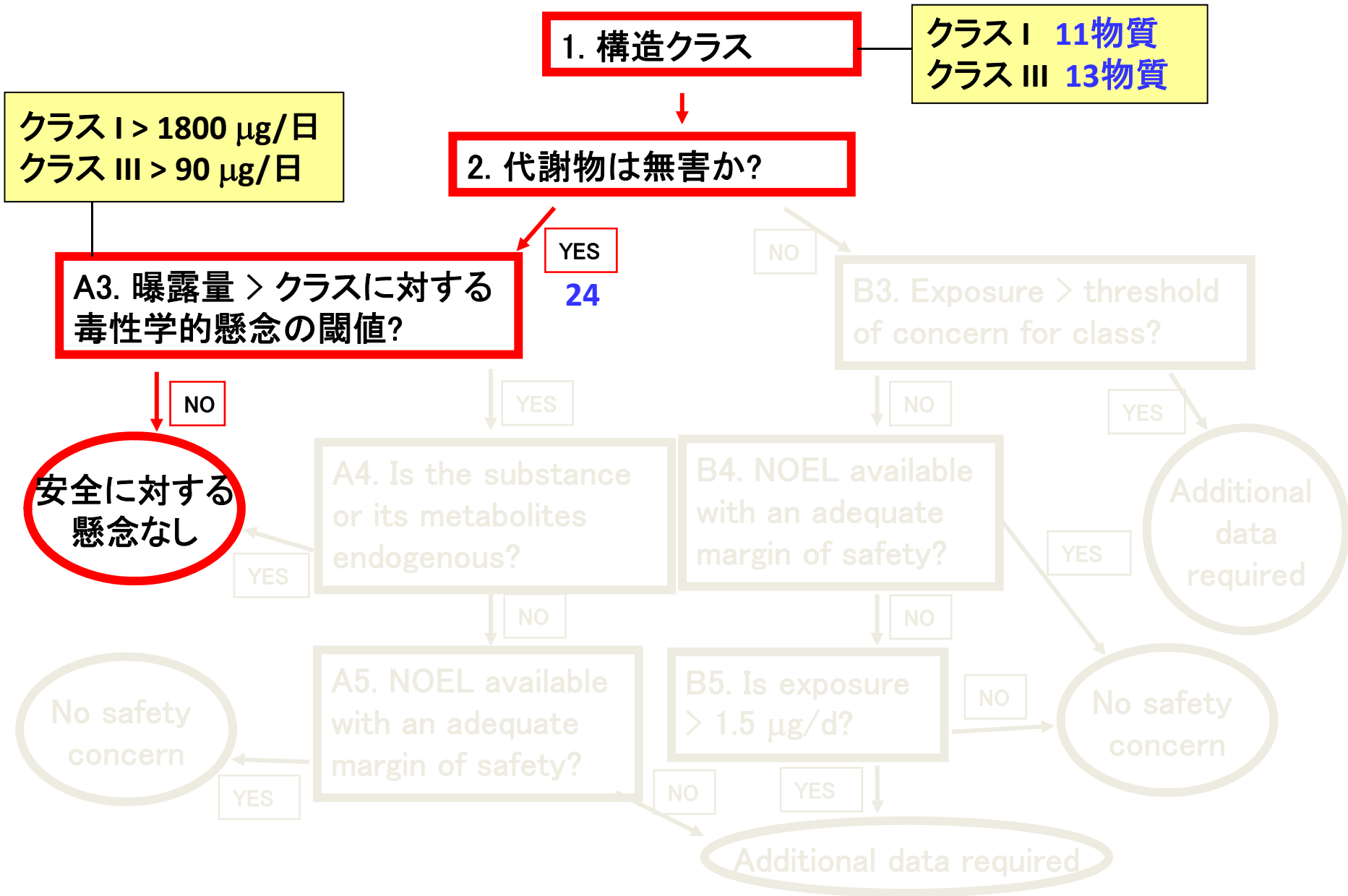
**Aliphatic acyclic and alicyclic terpenoid tertiary alcohols and structurally related substances (Group 2)**



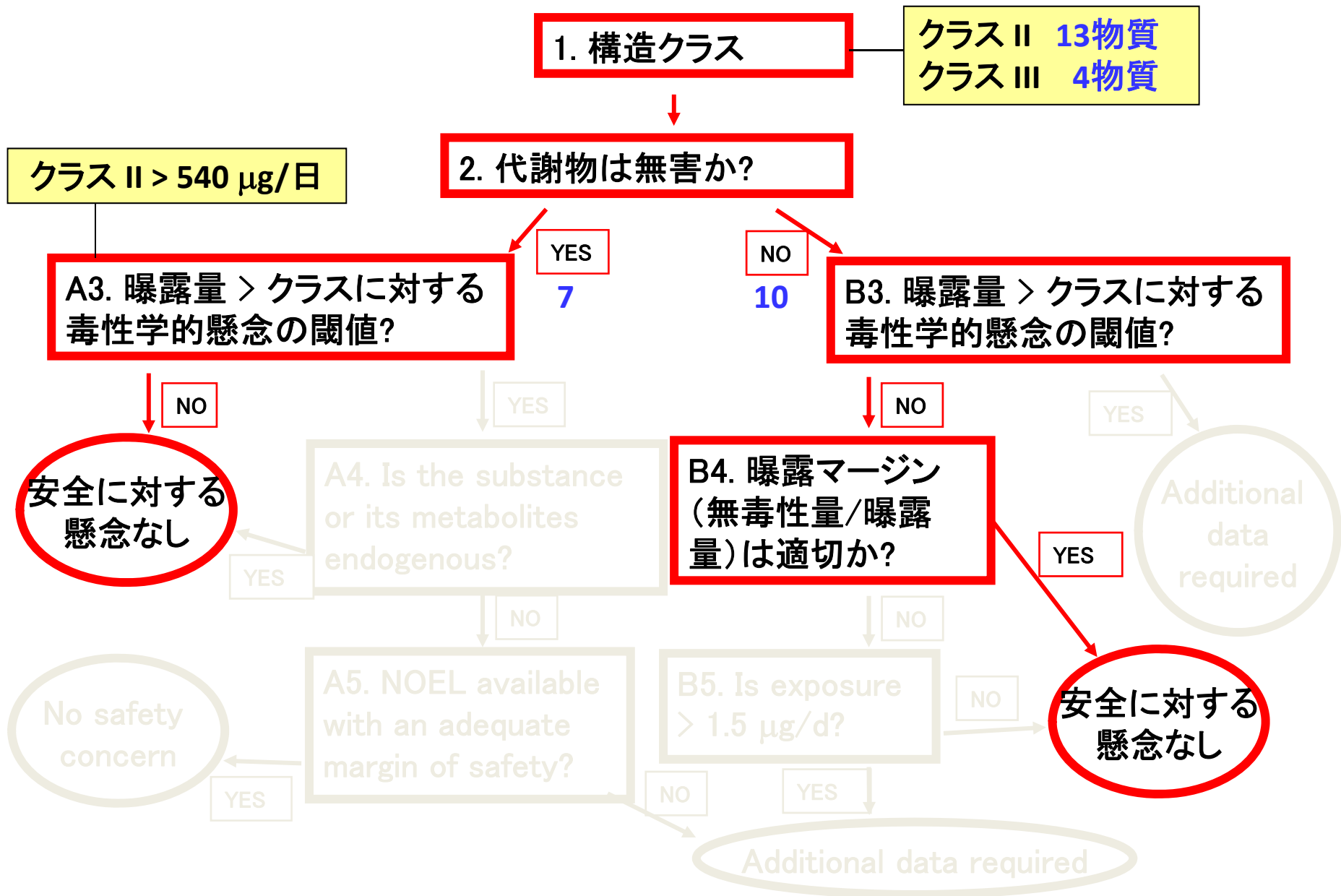
Simple aliphatic and aromatic sulfides and thiols (Group 3)



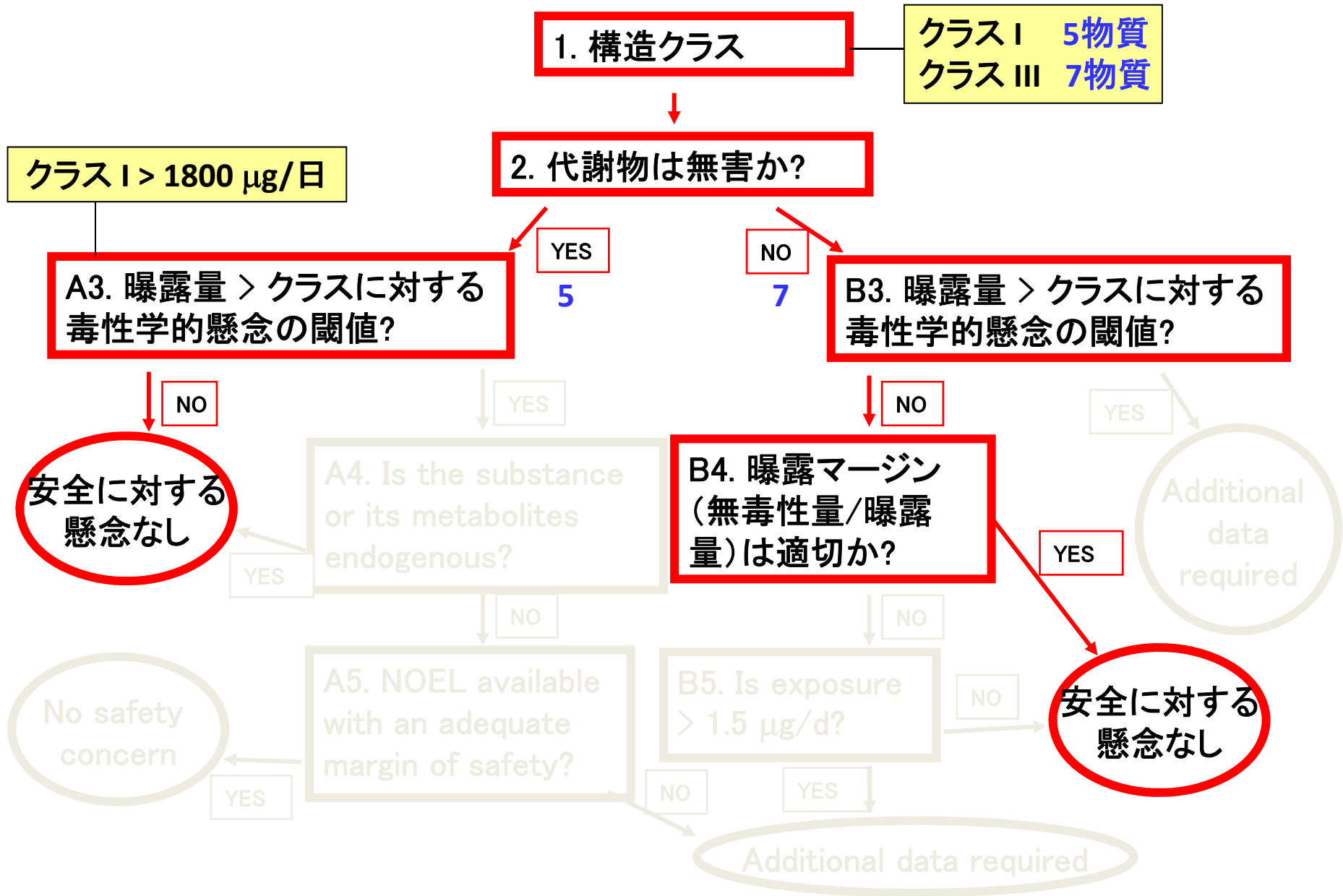
Aliphatic acyclic diols, triols, and related substances (Group 4)



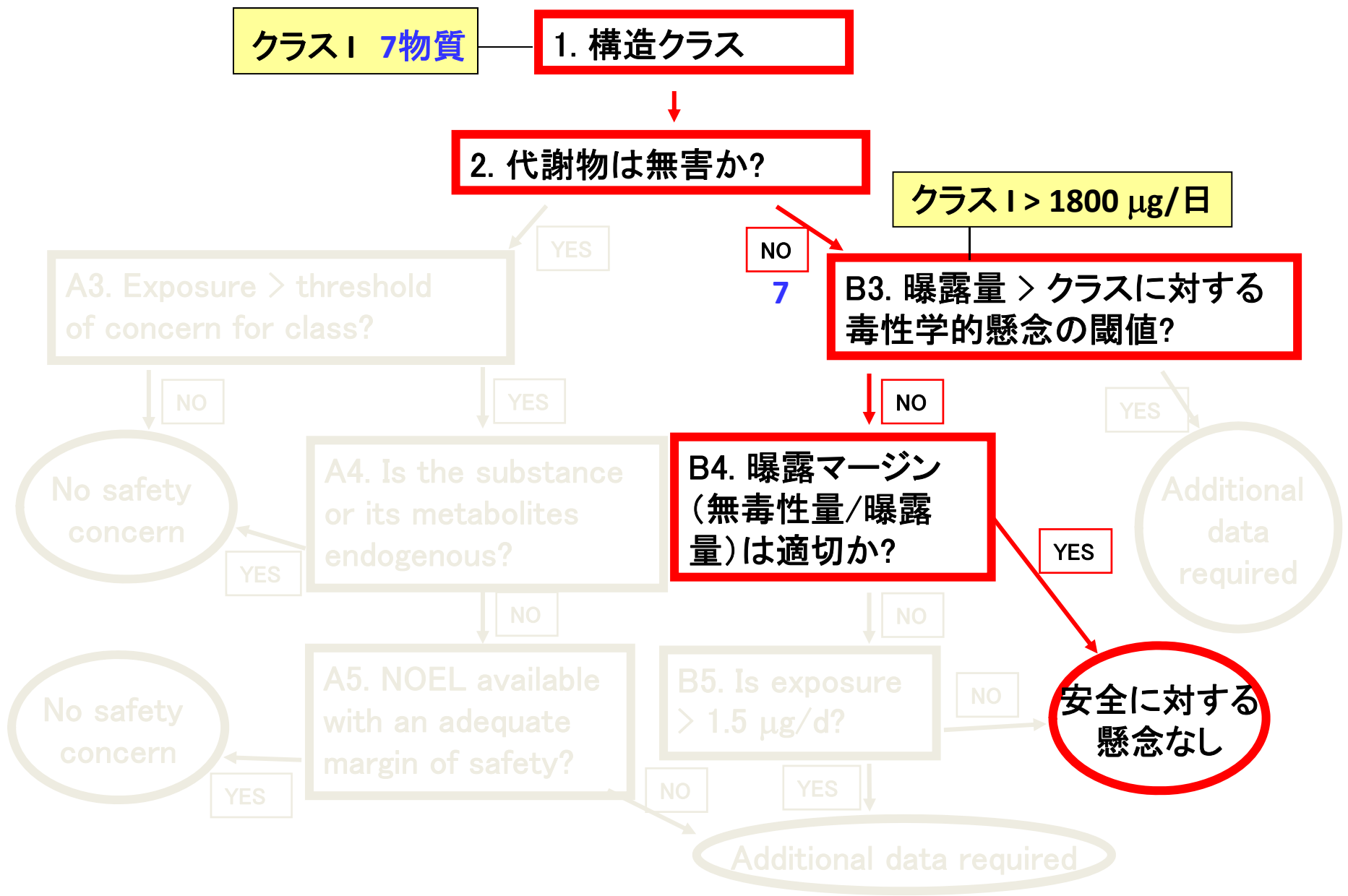
### Aliphatic acetals (Group 5)



## Sulfur-containing heterocyclic compounds (Group 6)



**Aliphatic and aromatic amines and amides (Group 7)**



**Aliphatic alicyclic linear  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated di- and trienals and related alcohols, acids and esters (Group 8)**



## 発がん物質のリスク評価手法

手法	長所	短所
ALARA	ハザード同定のみ	リスクの優先評価には使えない
ベンチマークドース	定量的リスク評価	少なくとも3用量段階が必要
曝露マージン	リスクの予測	定量的データが必要
無毒性量	単純に適用できる	用量相関性を無視
構造活性相関	実験データが不要	適用に限界
T25	単純に適用できる	実験デザインに影響される
毒性学的懸念の閾値	単純に適用できる	最悪のシナリオを仮定

# いわゆる非遺伝毒性発がん物質

## 遺伝毒性試験

Ames試験  
染色体異常試験  
マウス小核試験

## がん原性試験

ラット2年間試験  
マウス1.5年間試験

遺伝毒性なし

閾値あり

ADI / TDI

発がん性あり

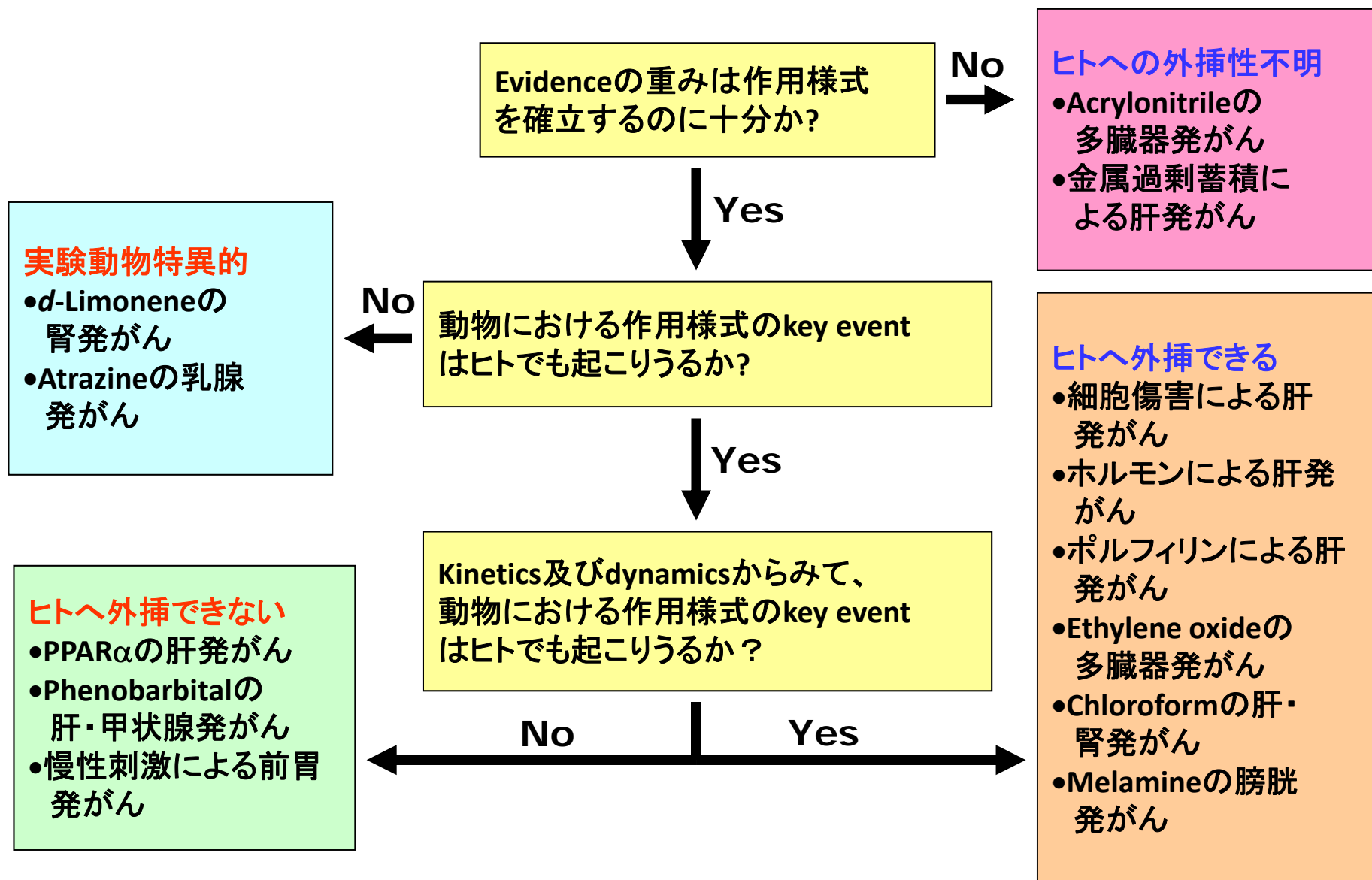
種特異性の可能性

WOE / MOA

遺伝毒性試験と発がん性試験は別の試験

発がん臓器での遺伝毒性は不明

# IPCSの概念の枠組みによる発がん作用様式のヒトへの外挿



## 実験動物に特異性の高い腫瘍

動物	臓器	腫瘍
雄ラット	腎臓	腎細胞腺腫・がん
ラット	心内膜	神経鞘腫
Fischerラット	造血器	LGL白血病
雄ラット	精巣	間細胞腫
げっ歯類	肝臓	肝細胞腺腫・がん
げっ歯類	甲状腺	腺腫・腺癌
ラット	膀胱	乳頭腫・移行上皮癌
ラット	膵臓	腺房細胞腫瘍
ラット	副腎	髓質腫瘍
ラット	卵巣	間質腫瘍
ラット	胃	カルチノイド
ラット	乳腺	腺腫・がん

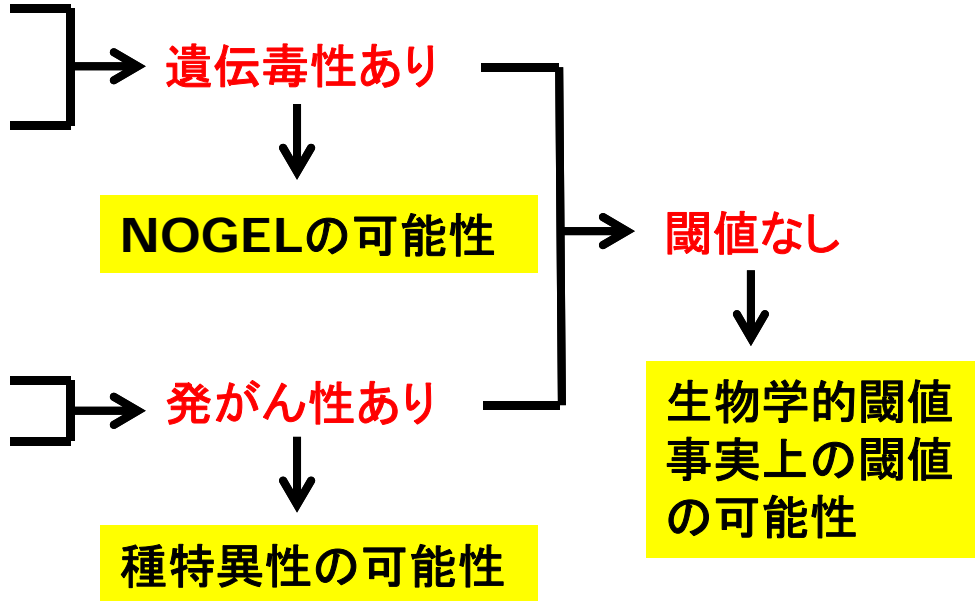
# いわゆる遺伝毒性発がん物質

遺伝毒性試験

Ames試験  
染色体異常試験  
マウス小核試験

がん原性試験

ラット2年間試験  
マウス1.5年間試験



遺伝毒性試験と発がん性試験は別の試験

発がん臓器での遺伝毒性は不明

## 食品中の既知遺伝毒性発がん物質

化学物質	起原・由来	げっ歯類がん原性試験	IARC
アフラトキシンB <sub>1</sub>	カビ	肝臓	1
アクリルアミド	調理	甲状腺, 乳腺 等	2A
ヘテロサイクリックアミン類	調理	肝臓, 大腸 等	2A-2B
ニトロサミン類	2級アミン + 亜硝酸塩	肝臓, 腎臓 等	2A-2B
サフロール	シナモン 等	肝臓	2B
ヒドラジン	キノコ	肺, 肝臓 等	2B
オクラトキシンA	カビ	腎臓	2B
臭素酸カリウム	製パン過程	腎臓 等	2B
アカネ色素	アカネ	肝臓, 腎臓	3

## EC SCOEL の発がん性分類(2011)

分類	閾値	作用機序
A	なし	明らかにDNA反応性かつイニシエーター活性
B	不明	DNA反応性で変異を起こすもので、A、C以外
C	實際上可能性大	弱い遺伝毒性で二次的機序が重要
D	あり	非遺伝毒性又は染色体レベルのみの遺伝毒性

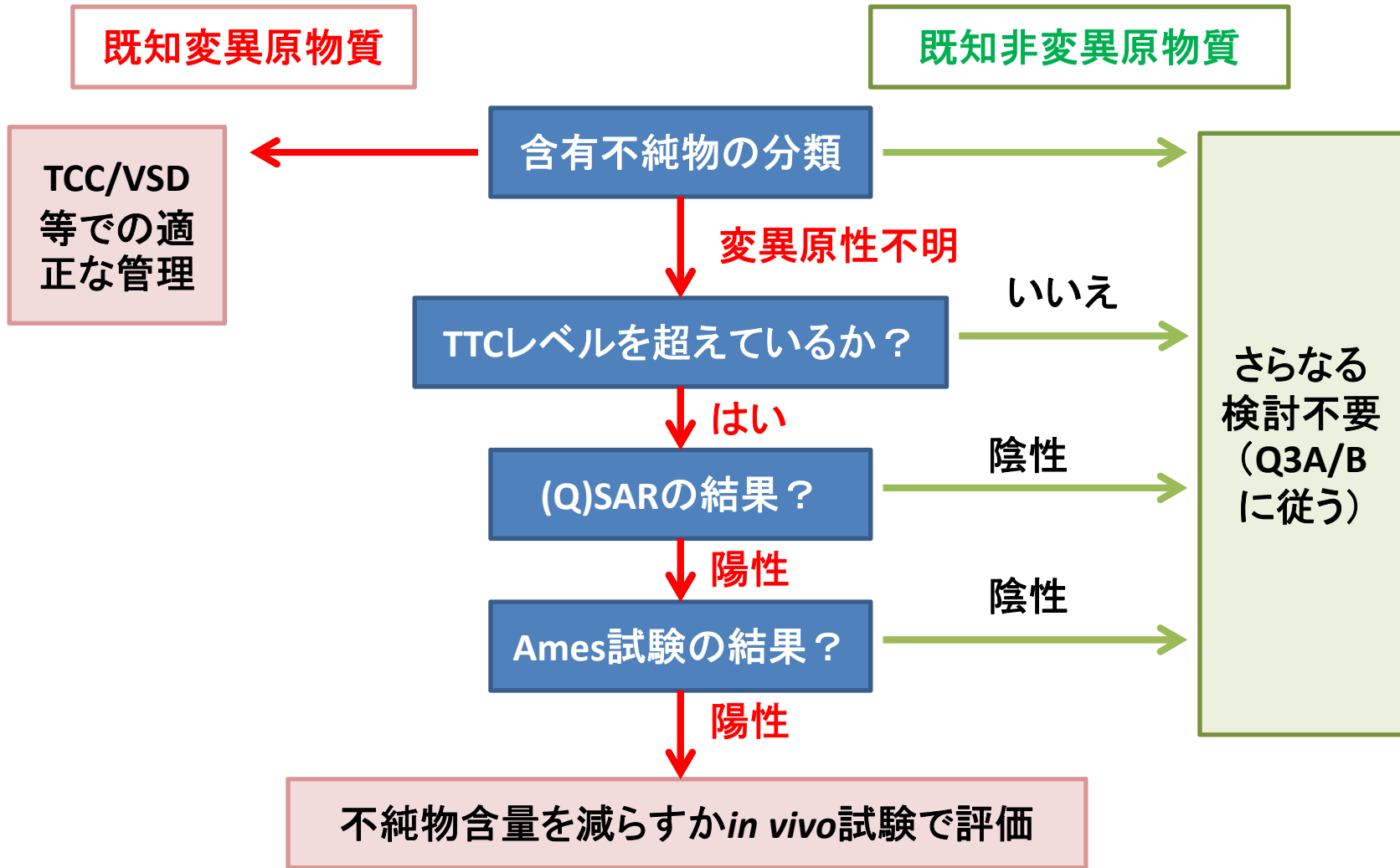
(欧州委員会職業ばく露限界に関する科学委員会)

## 現在進行中の安全性関連ICHガイドライン

コード	内容	ステップ
S1	医薬品のがん原性試験(見直し)	1
Q3D	金属不純物の品質	2
S10	光安全性の評価	3
M7	潜在性がんリスクを低減するための医薬品 中DNA反応不純物の評価および管理	3



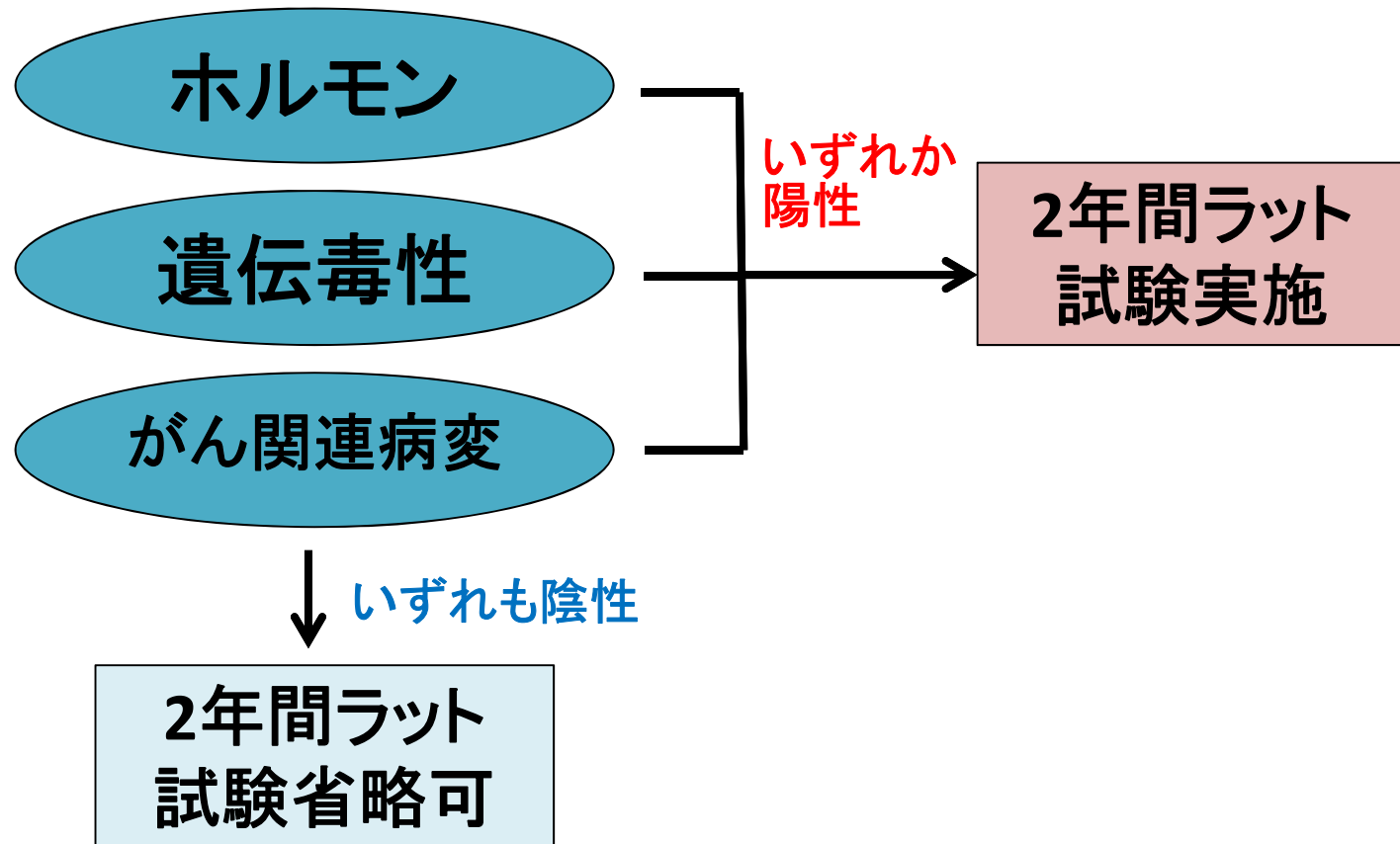
# DNA反応性不純物の安全性確認フローチャート



## 主な金属不純物の1日曝露許容量(PDE)

金属	クラス	PDE (μg/日)		
		経口	注射	吸入
As	1	15	15	15
Pb	1	5	5	5
Cd	1	5	5	5
Hg	1	50	5	5
Au	2	10	10	5
Co	2	100	10	5
Pt	2	500	50	5
Se	2	200	100	100
Sn	3	6000	500	50
Ba	3	10000	1000	500
Li	3	1000	500	25
Cu	3	1000	100	15

## ICHHS1で検討中のがん原性試験省略の基本理念



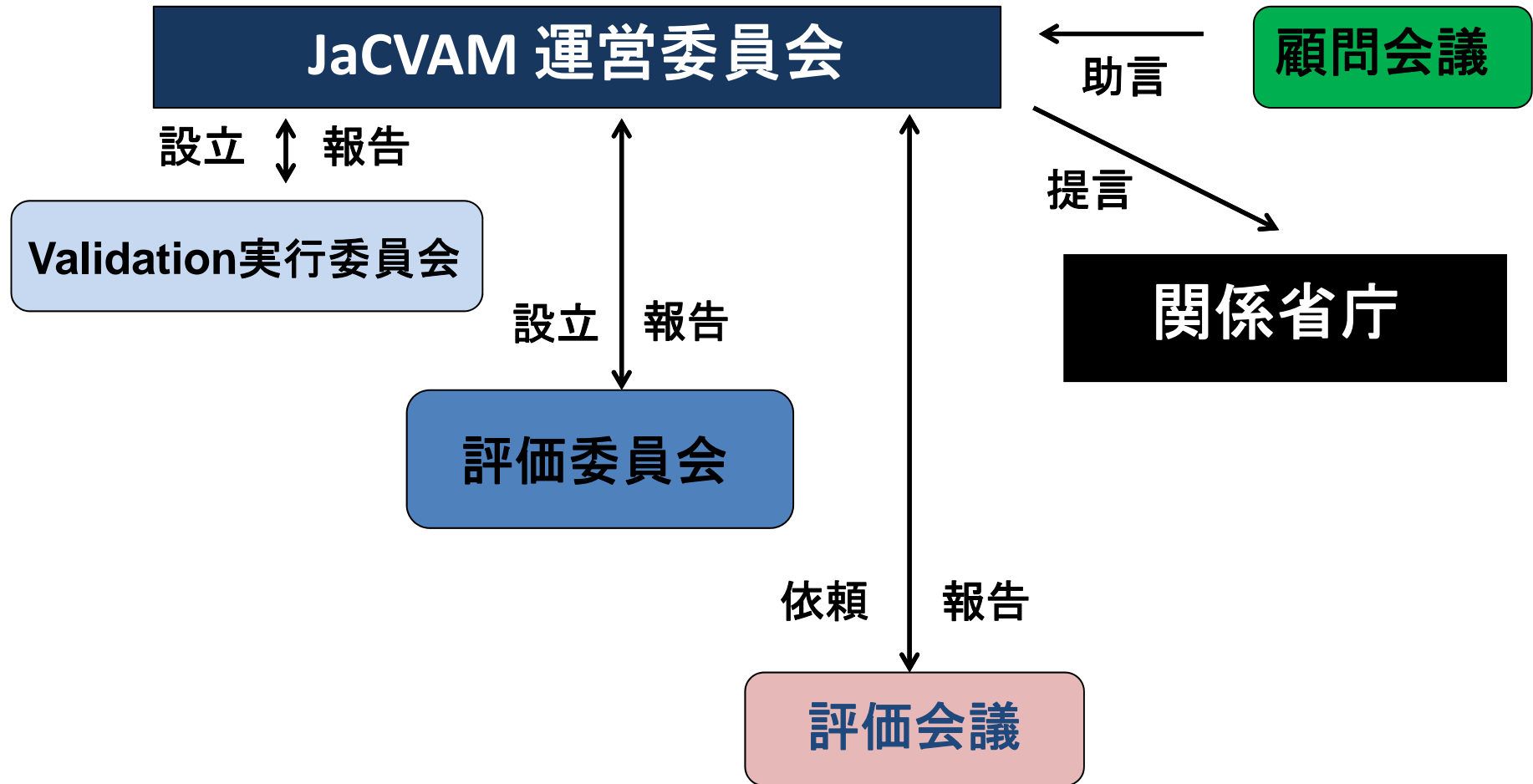
## がん原性の有無を予測するweight of evidence (WOE)

- 当該医薬品の標的及び経路の薬理作用、二次的及び標的外の薬理作用、標的分布に関するラット及びヒトにおける知見
- 遺伝毒性試験の成績
- ラット反復投与毒性試験の病理組織学的評価
- ラット慢性毒性試験における曝露マージン
- ホルモンかく乱作用の証拠
- 免疫抑制作用
- 特殊な試験及びエンドポイント
- 非げっ歯類毒性試験の成績
- 遺伝子改変マウス試験

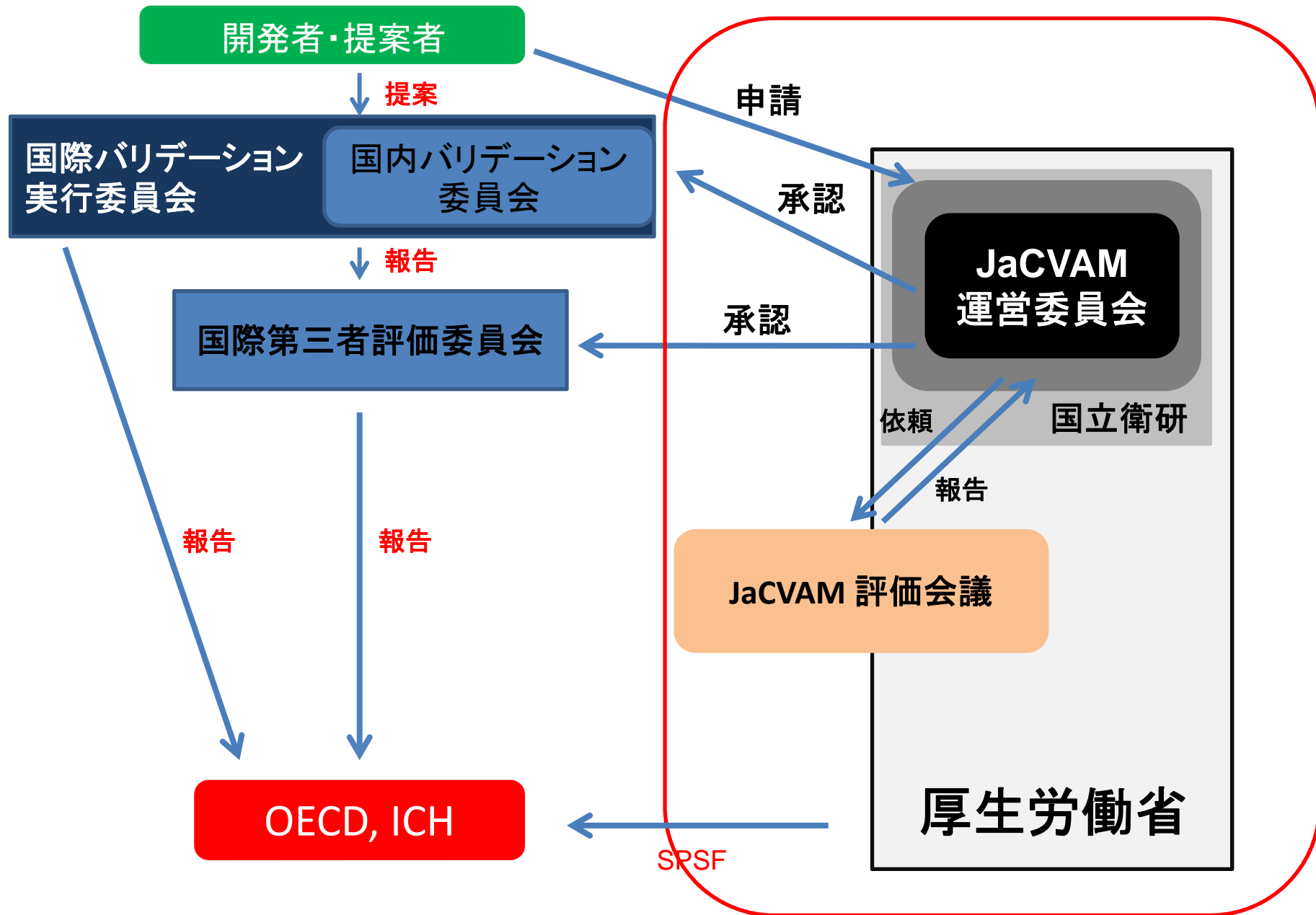
## ICHS1で検討中のがん原性予測のカテゴリー分類

カテゴリー	条件	がん原性試験
1	ヒトに対する発がん性ありと予測される場合	ラベルにより省略可
2	ヒトに対する発がん性不明と予測される場合	実施する価値あり
3a	ラットに発がん性ありでも、ヒトに外挿できないと予測される場合	実施する価値なし
3b	ラット及びヒトに発がん性なしと予測される場合	省略可

# 日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM)



# 新規試験法に対するJaCVAMのシステム



## JaCVAM評価会議が認証した試験法

No.	試験法	OECD TG
1	<i>In vitro</i> skin corrosion testing (EpiDerm)	431
2	Bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method	437
3	Isolated chicken eye (ICE)	438
4	Skin sensitization assay (LLNA/DA)	442A
5	Skin sensitization assay (LLNA/BrdU-ELISA)	442B
6	<i>In vitro</i> skin irritation testing (EpiDerm)	439
7	Cytotoxicity test for acute oral toxicity testing	129
8	Skin sensitization assay (rLLNA)	429
9	<i>In vitro</i> skin irritation testing (EPISKIN, SkinEthics)	439
10	Fluorescein leakage (FL) test method	460



## JaCVAMの問題点

---

1. 厚生労働省に属する  
⇒ 他の省庁の協力を得る必要
  2. 欧米と比較して小規模  
⇒ 学会、企業、諸外国の協力を得る必要
  3. 研究の中心が化粧品、医薬部外品である  
⇒ 医薬品や農薬、一般化学物質にも拡大する必要
- 

(大野前所長退官記念講演資料より)

## 現行の化学物質リスク評価の課題

- リスク評価の迅速化
  - ⇒ 代替法の開発、*in silico*の活用など
- 安全性試験の高度化
  - ⇒ 遺伝子改変動物、トキシコゲノミクス、iPS細胞などの活用
- リスク評価手法の改良
  - ⇒ ベンチマークドーズ、曝露マージン、毒性学的閾値などの導入