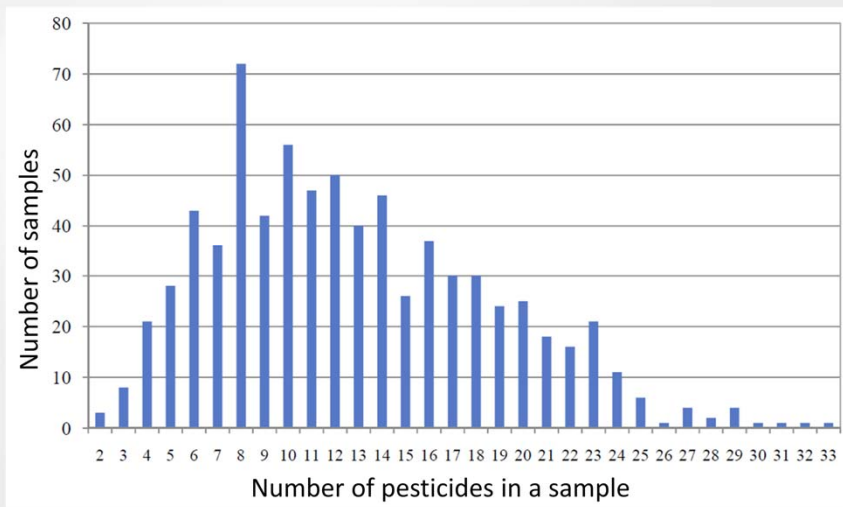




皆さん、こんにちは。まずお話を始める前に、このたびのご招へいにお礼を申し上げますと思います。「ヨーロッパの混合物毒性評価：最新動向と今後の課題」について、お話を申し上げます。このように日本に来ることができ、大変うれしく思います。

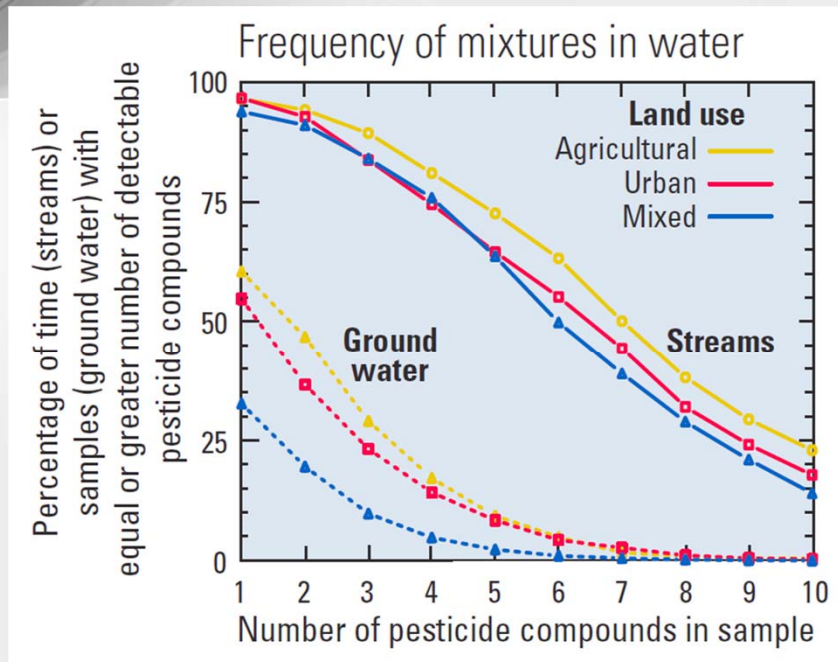


## River Monitoring Data Sweden



Adielsson et al. (2009) Monitoring of pesticides in Swedish rivers. ISSN 0347-9307. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

なぜ、混合物の毒性が重要なのかということですが、川、水質のモニタリングのデータをここでご紹介します。これはスウェーデンで行われているものです。殺虫剤が、このスウェーデンの河川にどれだけ含まれているのかを見たものです。このように、1つのサンプルの中に、殺虫剤の数が種類としてどのくらい入っているのかを見ております。非常に典型的な例として、9~10種類くらいの殺虫剤が1つのサンプルに入っているということが分かります。ですから、1種類ではないということでもあります。30を超えるような数の殺虫剤が、サンプルの中で発見されることもあります。



US Department of the Interior, US Geological Survey (2006) Pesticides in the Nation's Streams and Ground Water, 1992-2001, Circular 1291

これが非常に典型的なパターンです。環境中に行って、水のサンプル、土壌サンプルなどを測ってみますと、化学物質がこのようにいくつも入っているということがよくあるわけであります。アメリカのこの地質調査所が行った調査でも、同じような結果が出ていることが分かります。

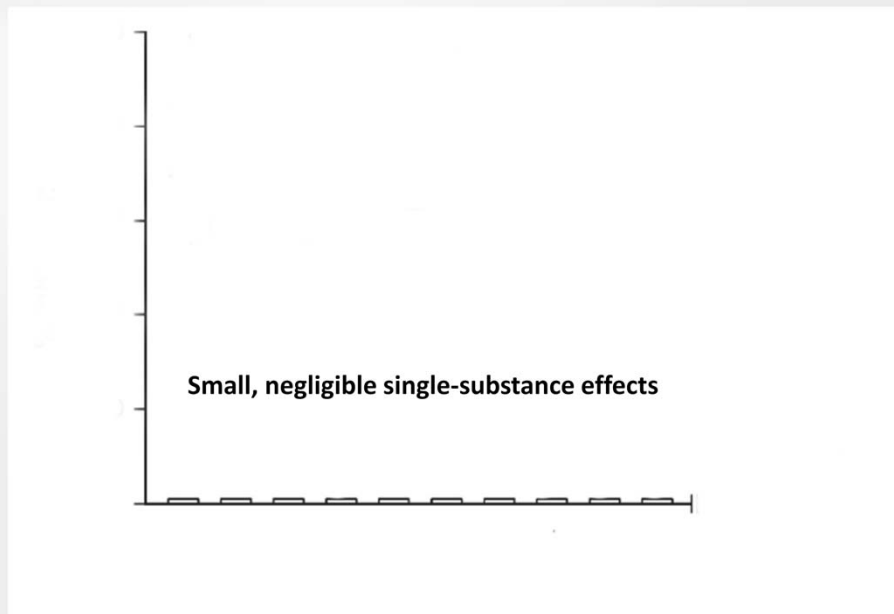
これは、やはり殺虫剤がどのくらい入ってるのかを見たものです。そして、サンプル中のどのくらいに入っているのか。分析したサンプルのうち何パーセントに入っていたかですけれども、サンプルのうち50パーセントでだいたい7種類ぐらいの殺虫剤化合物が入っていたということが、典型的な例として分かります。

これは農地、あるいは都市、あるいは混合的な土地利用のところといろいろありますけれども、だいたいサンプルの半分ぐらいで、7種類くらい入っているということが分かります。あるいは、もっと多く入ってるようなサンプルも、もちろん発見されております。それはモニタリングの場所によって、やり方によっていろいろであります。

ということで、化学物質が混合された形でわれわれが暴露されているというのが通常なわけであります。では、この影響を見てみたいと思います。



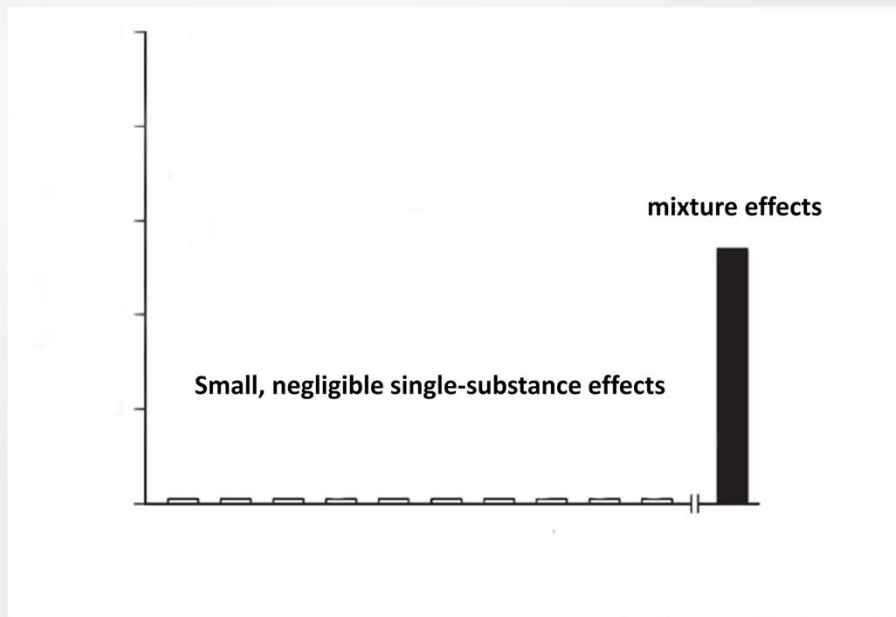
## Why are mixtures of specific concern?



混合物があったとしましょう。一つ一つの成分で見ますと、非常に濃度は小さい。安全域に入っている。ですから、何かこの生物体が暴露したとしても、影響がほとんど出ないということが分かります。



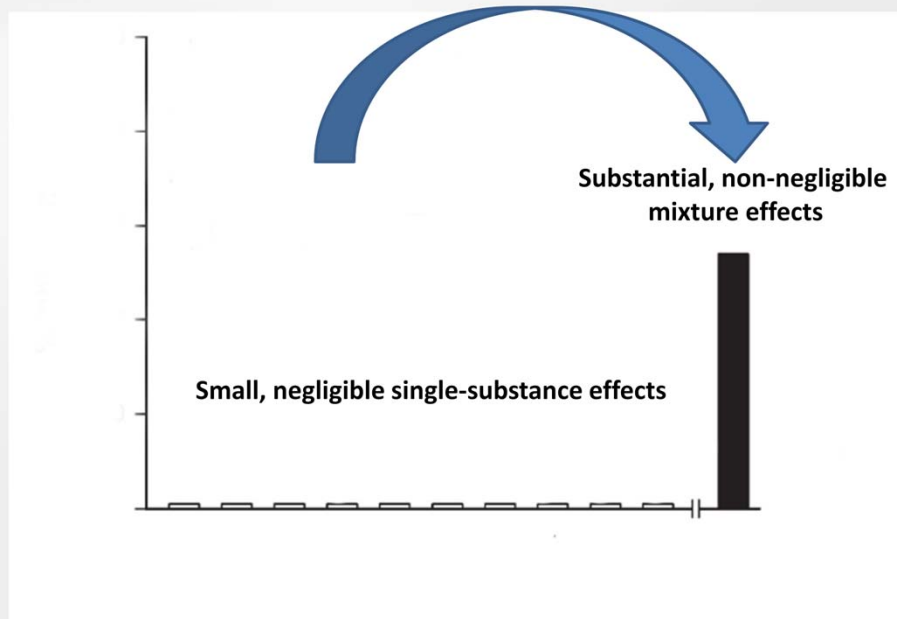
## Why are mixtures of specific concern?



しかし、混合物の場合問題があります。これを加えて足し算していくと、もしかするとこれだけ大きな影響が出てくるかもしれないわけです。



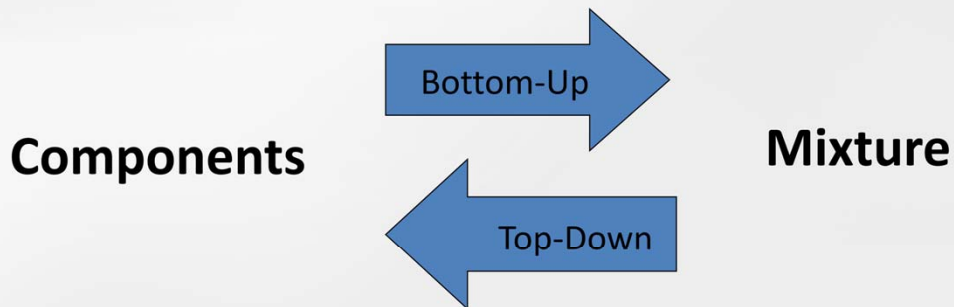
## Why are mixtures of specific concern?



ですから典型的な例といたしまして、複数の主成分から成る混合物の場合、一つ一つとしては小さな影響であったとしても、実質的に無視できないような大きな影響が出てくるかもしれない、これが問題です。これがやはり、化学物質を生態環境毒性として評価するときの懸念事項なわけです。



## Linking single substance to mixture toxicity



### **Needed:**

Scientifically sound and pragmatically useful link between single substance (eco)toxicology and mixture (eco)toxicology

ということで、何が必要なのか。すなわち、管理のやり方、モデリングをするときに必要なことはこれです。すなわち、単独物質と混合物毒性の相互関係です。そして成分から出た情報を取って、混合物の影響をどれだけ知ることができるか。それから、また別の反対の方向によって知る。そのときにどちらがどちらにとって原因となっているのか、管理するためにどちらがより重要なのかということを知ることが重要であります。



## Mixture (Eco)Toxicology

Loewe, 1923: **Concentration Addition**

Bliss, 1939: **Independent Action**

単独物質の環境毒性学と混合物の環境毒性、両方を知ることが重要であります。これについては随分前から検討されてまいりました。非常にシンプルなコンセプトがまず1つあります。濃度加算という考え方。Dose additionとも言います。それからもう一つ、独立作用という考え方があります。この考え方によりまして、単独物質の毒性と混合物の毒性の関係を知ろうというわけです。





## Mixture toxicity concepts

### Similarly acting substances: Concentration Addition

$$ECx_{(Mix)} = \left( \sum_{i=1}^n \frac{P_i}{ECx_i} \right)^{-1}$$

- $c_i$  = Concentration of component  $i$  in the mixture ( $i = 1 \dots n$ )
- $ECx_i$  = Concentration of substance  $i$  provoking a certain effect  $x$  when applied alone
- $ECx_{(Mix)}$  = Predicted total concentration of the mixture, that provokes  $x\%$  effect.
- $p_i$  = relative fraction of component  $i$  in the mixture

### Dissimilarly acting substances: Independent Action

$$E_{Mix} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - E_i)$$

- $E_{Mix}$  = Effect of the mixture of  $n$  compounds
- $E_i$  = Effect of substance  $i$ , when applied singly

詳しく数式の中に書いています。これについては触れませんが、濃度加算という考え方の根拠にあるのは、それぞれの特性が類似作用を持つという考え方に基づいています。しかし、独立作用のほうは、異なる作用を持つ物質同士が混合物を構成しているという考え方が根底にあります。ですから、混合物がどのように作用し合うかということに関する2つの重要な概念がこの2つであります。



## Some critical assumptions

- ❑ Mixture composition is known
- ❑ Quantitative toxicological information available for all mixture components
  - Toxicological information refers to an identical endpoint and species
- ❑ Compounds do not interact, neither during their chemically nor during their toxikokinetic and toxikodynamic phases

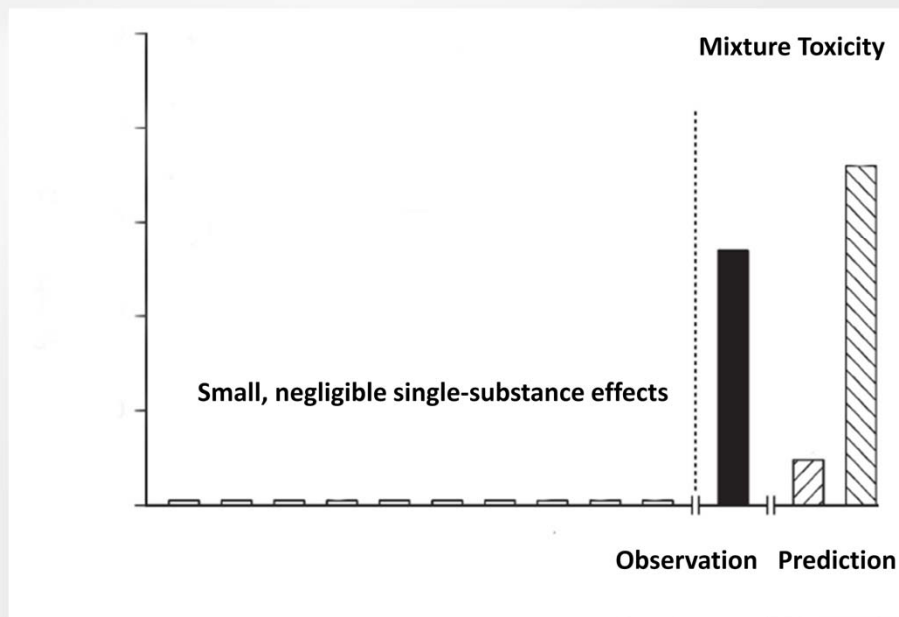
重要な前提がここにあります。まず第一に、いずれの考え方にいたしましても、混合物の成分が分かっているというのが前提であります。この混合物があったとして、その中に何が入っているのか分かっている。そして、それらによって合わさった作用が表れているということです。

それからもう一つ、全混合物特性の定量的な毒性学的な情報が入手可能であるということが前提であります。毒性学情報というのは、同一のエンドポイントと、同一種に対する情報があるということです。例えば魚にしても、それからまた魚類にしても、またミジンコにしても、であります。それから、いずれの概念にしてもお互いに相互作用しないということが前提にあります。化学相でも、毒物動態相においても、毒物力学相においてもということです。

これを重要な前提として念頭に置いた上で、これらの概念を適応していく必要があります。その場合に、このように単独物質の影響がある。そしてリソースがあれば、それを合わせて混合毒性を知ろうとするわけです。



## Why are mixtures of specific concern?



そして、この濃度加算と独立作用と両方の概念に基づいて予測を立てまして、実際の実測はどうだったかということを知ることによって、どちらの概念がよりあてはまるのかということを知ることができます。



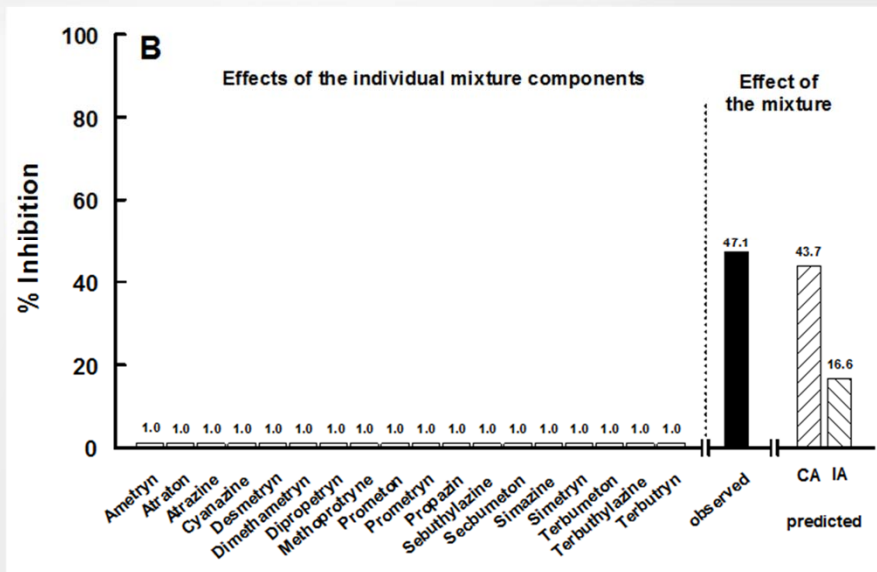
## Why are mixtures of specific concern?

- Mixture toxicity is higher than the toxicity of each compound at the concentration present in the mixture
- Compliance with individual threshold values (EQS, ADI, TDI, TTC) does not necessarily safeguard against unwanted mixture effects

繰り返しになりますけれども、まずこの混合物に関しては非常に重要な特徴、前提についてまず申しました。まず一つは、複合毒性というのは、それぞれの各成分の毒性よりも高いということです。それからまたもう一つ、一つ一つの単独の成分が、例えば、それぞれは安全性の範囲内にあったとする。例えば、1日許容摂取量、あるいは耐容1日摂取量、あるいは毒性概念閾値など、これらの閾値の中に収まったとしても、混合物になった場合には、安全とは限らないということでもあります。ですから、それぞれが閾値の中に収まっているからといって、では、混合物に対するセーフガードになっていると自動的に考えることはできません。



## It adds up...



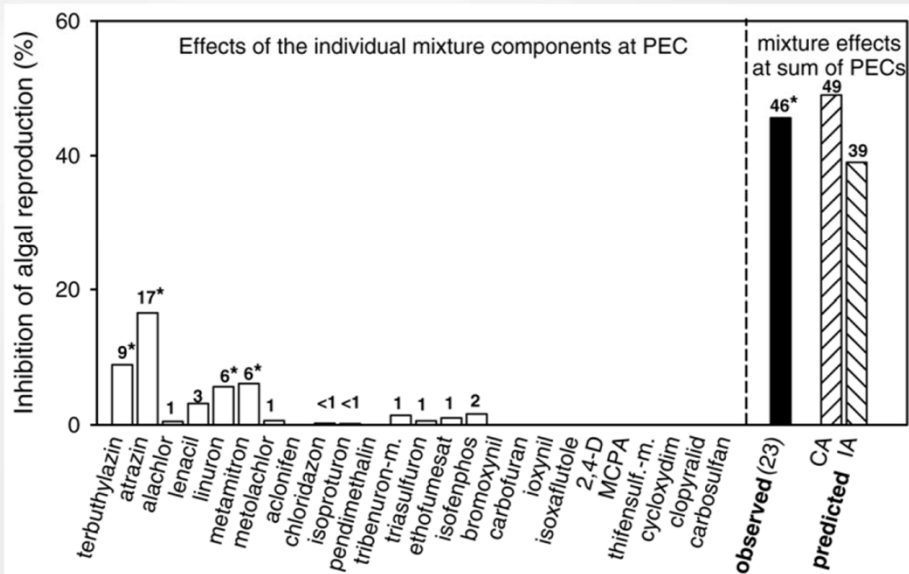
Faust, M., et al. "Predicting the joint algal toxicity of multi-component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants." *Aquatic Toxicology* 56, no. 1 (2001): 13-32.

これは藻を用いたものであります。そして、それぞれの殺虫剤、除草剤を当てはめてみました。どのような影響が出るか、一つ一つは非常に小さい作用であるということが分かります。それぞれ安全な濃度であると考えられます。しかし、これらの除草剤を全部合わせますと、ほとんど50パーセントくらいの影響が出ている、阻害率につながっているということが分かります。ですから、これは無視し得ない影響が既に出ている濃度であるということが分かります。

このような成分についての毒性情報を集めまして、濃度加算による結果のほうが、実測値と予測がより合っているということが分かります。独立作用の概念を適応いたしますと、過小評価につながってしまうということが分かります。ということは、予防原則の概念からは使えない概念だということが分かります。なるべく実際の実測値に近い形で予測できるような手法のほうが望ましいということになります。



## Realistic pesticide mixture



Junghans, et al. (2006) Application and validation of approaches for the predictive hazard assessment of realistic pesticide mixtures. *Aquatic Toxicology* 76, 2006

ほとんど同じような結果ですけれども、これはいろいろな殺虫剤の混合物で、それぞれの作用機序もいろいろであります。だいたい、中央ヨーロッパでよくあるような例を前提にしております。ある特定の穀物に対して特定の殺虫剤を、よくあるような形で使った場合にどのような影響が出るかということを条件にしております。全部合わせますと、このように複合影響は単独の影響と比べてはるかに高いということが分かります。もちろん単独の影響でも高いところもありますが、混合物の影響のほうがはるかに高いということが分かります。それから、ここでもやはり独立作用よりも濃度加算のほうが近いという結果が出ております。

独立作用のこちらの左側のほうは、この近い結果になっております。この2つの差は、より少ないということが分かります。ですから、こちらは同じような作用機序、こちらのほうが違う作用機序というふうに見ておりますけれども、定量的な作用は、ほとんど濃度加算も独立作用も、この場合には非常に近い結果が出ているということが分かります。



## Perspective of a regulator

While REACH considers the effects of single substances, the fact is that we are most commonly exposed to a cocktail of many different substances. This is an area in which important gaps remain in terms of knowledge and assessment. These gaps need to be closed in the coming years.

*(Stavros Dimas, EU Commissioner for the Environment, 2009)*

こういうデータ、例えば藻や魚類、それからミジンコ、細胞アッセイなどにも適用しております。そして、欧州の政策に反映されるに至りました。これは、欧州の環境担当の委員が2009年に理事会で述べたものであります。REACHは、これは工業用化学物質に対する主たる規制であります。単独物質の影響はここで考慮されているけれども、実際にはさまざまな物質のカクテルに、われわれは暴露されているのであると。

そのところで「知識と評価に関して重要なギャップがあり、これを数年のうちに埋めなければいけない」というふうに、政治的な声明として、欧州の環境委員がブリュッセルの理事会で述べました。



## Conclusion of the Council of the European Union

- ❑ [...] take into account combined exposure of chemicals in risk assessments;
- ❑ [...] further action in the field of chemicals policy, research and assessment methods to address combination effects of chemicals is required, [...]
- ❑ [...] pay appropriate attention to the precautionary principle and the potential risks of chemical combination effects when drawing up future proposals, [...]

*(2988<sup>th</sup> Council Meeting Brussels, 22. Dec 2009)*

この欧州の閣僚理事会の場でこれが述べられまして、この理事会が欧州委員会に対してある指示を出しました。それは、「化学物質の複合影響を考慮しなければならない。何らかの対策が必要である」と。そして、「化学物質政策に反映させるために、この研究評価の方法が編み出されなければならない」と。「そして予防原則を、必要に応じて適応しなければならない」ということを、指示として出しました。これは欧州の理事会の、欧州委員会に対する指示であります。





## Three Reports

- ❑ Kortenkamp, Backhaus, Faust (2009): State of the Art Report on Mixture Toxicity (DG Environment, EU Commission)
- ❑ Backhaus, Faust, Blanck (2010): Hazard and Risk Assessment of Chemical Mixtures under REACH: State of the Art, Gaps and Options for Improvement (Swedish Chemicals Inspectorate, KemI)
- ❑ Altenburger, Arrhenius, Backhaus, Coors, Faust, Zitzkat: Relevance and adequate consideration in environmental risk assessment of plant protection products and biocides (German Federal Environmental Agency, 2014)

現状をまとめてくれないかという訴えをしたわけであります。そこで出てきたのが、この報告書であります。欧州委員会の委託によってわれわれが出したもので、2009年、2010年の初めに出したのが一番最初。さらに2つ出ました。もう一つは、スウェーデンの化学物質検査局という国の機関が出したもの。それから3番目は、ドイツ連邦の環境局が出したものであります。詳しいところはここについては述べませんが、これらの報告書の主たるところを述べてみたいと思います。



## State of the art report for the EU Commission

### Scientific state of the art

- Concentration Addition works rather well
- Difference to Independent Action often negligible
- Most data from aquatic ecosystems
- 2-3 compound mixtures
- “Reference” mixtures

科学的な現状について何が言われているのかですけれども、経験的な根拠に基づいて、まず濃度加算は、予測性が非常に良いアプローチであるということが指摘されました。まあまあいいということは、いろいろな化学物質、いろいろな生物体に対して、いろいろな環境において予測性がかなり良好であるということが分かったからであります。

独立作用の差は、ごくわずかである場合が多いということが分かりました。ただ、これも濃度加算ほどではないけれども、うまくいっている。ただ、必要なデータの要求度が高いということが分かりました。ですから、とりあえずは、独立作用のほうは後回しにしようということになったわけであります。

ほとんどのデータは、水棲生態系のデータであります。特に淡水系のデータがほとんどであります。ということで、海洋系については、また陸域、土壌域に関しては、知見がほとんどないということであります。

また、今のところ分析されたのは2つか3つの化合物の混合物であります。4種類か5種類の場合もたまにはありますけれども、ただ、より多くの数の成分が入った混合物の場合には、まだまだ分析が足りない。それから、われわれが分析したものはほとんどいわゆる基準混合物あるいは参照混合物、Referenceと言われるようなものであります。それは、ここの川にあるからこの物質を選んだというわけではなくて、これらの化学物質については挙動が分かっている、性状が分かっている。また、それらに対する殺菌性のあるものが何かということが分かっているのを選んでというだけに過ぎないということです。



## State of the art report for the EU Commission

- Similar approaches can be used for assessing mixtures for their environmental and human health impacts

それからもう一つ興味深いことといたしまして、人間に対する毒性と生態毒性をまとめたわけですが、だいたい環境と人間の健康に対して与える影響の評価については、混合物に関してですが、同様のアプローチをほぼ用いることができるということが分かっております。



## State of the art report for EU Commission

### Main conclusions / recommendations

- A European guideline that cuts across sectorial guidelines
- Strengthen the legal mandate for mixture toxicity assessments
- Use CA as a first approach
- Documentation and storage of single substance data in way that allows later mixture studies

ということで、われわれの作業は相当やりやすくなったとは言えます。これまでの現状報告書に関して、結論はどういうものかですが、まずヨーロッパでこの部門別のガイドラインを横断するような、傘となるような大きなガイドラインが必要である。これは農薬、これは殺虫剤、これは産業化合物というようなガイドラインではなく、横断するようなものが必要であるということが指摘されました。今あるものは部門別になっているわけでありませう。

それから、混合物毒性の評価のための法的な権限を強化することが必要だということも、結論として出てきました。いろんなガイドラインの中にあるもの、それを強化する必要があります。今、これは進行中でありませう。また、最初のアプローチとしては濃度加算を使用すべきだということも指摘されておられます。

混合物の検討を後日可能とするように、単独物質データを情報として管理、保管しようということになりました。というのは、現状ですと十分に情報の管理、保管がされていないような場合がよくあります。ですから、単独物質に関して情報の記録保持、管理をより充実させて、そして混合物になったときにどういう影響が出るかということ、後からよりよく分析ができるようにしていく必要がある。Documentationがまだ不十分であるということも、この報告書で指摘されました。



## Central Documents on Mixture Assessment

- ❑ ECETOC Report “Development of guidance for assessing the impact of mixtures of chemicals in the aquatic environment” (October 2011)
- ❑ Meek et al. (2011) Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework, *Reg Tox Pharm*
- ❑ SCHER, SCENIHR, SCCS (2012): Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures
- ❑ EU Commission COM(2012) 252 final “The combination effects of chemicals”

もちろん、政策の結果といたしまして、さまざまな活動というのが行われております。例えばヨーロッパの化学業界におきましても、環境毒性に関して、特に海洋における水の生態系における影響、そして、人間の健康についての評価というのもされています。それだけではなくて、3つの科学委員会がEUにありますが、こちらでの研究も行われ、文書が出てきております。そして、化学物質の複合的な影響が、閣僚会議の場でも検討されるようになっていきます。

こうした文書というのは、お互いに整合性が取れているものであります。つまり、その中身に関しましては、あまり対立するようなところがないということです。混合物の影響については、もちろん詳細は、そのレベルはさまざまではあります、大筋のところでは内容は整合性がとれています。



## Opinion of the EU's Scientific Committees

“It is the opinion of the SCHER that the CA approach may be assumed as a temporary interim method for deriving EQs for mixtures.”

SCHER, Opinion on the Chemicals and the Water Framework Directive: Technical Guidance for Deriving Environmental Quality Standards (2010)

また、今後の方向性については、欧州の科学委員会の見解として出されているものがあります。これはSCHER Committeeという諮問委員会の見解であります。これによりますと、濃度加算、CAIによるアプローチが、混合物による影響を表す指標とするための暫定的な方法として考えることができるというものであります。

ただ、あくまでも暫定的な手法にしたいということで、非常に慎重なアプローチは取っているのですが、少なくとも過去100年にわたってその影響が懸念されている中で、暫定的な手法であるとはいいましても、ある程度の結果は出ております。