

ホルモン様活性を有する化学物質 (HAA) に関する 化学工業界のリーサーチプログラム

ジュディス A. グラハム

米国 化学工業協会

要約

世界中の産業界、規制当局、および学術機関の科学者らは、内分泌攪乱という仮説が提起した多くの疑問について探究しています。環境中のホルモン様活性を持つ化学物質類 (HAAs) とヒトおよび野生生物の健康との関係についての我々の理解を深めるためには、継続的な研究を行うことが必要です。国際化学工業協会協議会は、化学物質による健康および環境へのリスクの可能性をよりよく理解するための研究プログラムを立ち上げました。米国内の化学物質製造業者を代表する米国化学工業協会 (ACC) は、この世界的規模のプログラムに対して最大の資金提供をしています。このプログラムを通じて ACC は、化学工業毒性学研究所 (CIIT) の健康調査センターのような複数の学術機関および連邦研究機関が実行する研究活動および、米国国立環境保健科学研究所 (NIEHS) との共同研究助成金プログラムに資金を提供しています。ACC の研究プログラムは次の 2 点に焦点を当てています。(1) 内分泌に関するスクリーニングと試験の開発、標準化、検証および(2) HAA 類の作用機序と発生・生殖生物学に関する研究です。

序論

本稿では、ホルモン様活性物質 (HAA) に関する化学工業研究プログラムについて述べます。世界中で産業界が、標準的なプロトコルを使用して化学物質に特化した試験を自らの製品に対して実施しています。実際、この内分泌攪乱化学物質国際シンポジウム 2001 の中でも、内分泌系に影響を与える物質を評価するためのプロトコルが開発中であることを述べる演題がいくつか含まれています。本稿は、化学工業界の HAA に関連した研究活動に焦点を当てることとし、標準化試験の活動については触れません。

工業界の研究プログラムは、環境中の HAA 類と、ヒトおよび野生生物の健康との間に存在する可能性のある関係性を幅広く理解することを目標にしています。その作業の多くは、国際化学工業協会協議会 (ICCA) の賛助の下で行われています。ICCA に属する 3 つの化学工業協会が、化学物質の安全性に関する長期的研究 (LRI: Long-Range Research Initiative) という内容の多い研究プログラムを開始しました。その 3 つの協会とは、米国化学工業協会 (ACC)、日本化学工業協会 (JCIA)、欧州化学工業連盟 (CEFIC) です。ドイツ化学工業協会 (VCI) および各化学工業企業の一部も、試験だけでなく研究プログラムに寄与しています。化学工業界が助成する内分泌関連の研究をまとめたものが現在ウェブで公開されています (www.endocrinescience.org)。ウェブには、数百のプロジェクトの説明と、出版物の一覧およびその他さらに詳しい情報源が掲載されています。

本稿では、ACC のプログラムを中心に述べます。特に(1) 内分泌関係のスクリーニングと試験の開発、標準化、検証、および(2) HAA 類の作用メカニズムおよび発生・生殖生物学に関する研究、に焦点を当てます。

内分泌関係のスクリーニングと試験の開発、標準化、検証

世界の化学工業界は、製品安全性プログラムに含まれるルーチンの構成部分のひとつとして、標準的プロトコルを使用して化学物質に特化した試験を実施しています。現行の毒性試験プロトコルは、潜在的な内分泌毒性に関して多くの情報を提供します。内分泌攪乱化学物質スクリーニングおよび試験諮問委員会 (EDSTAC) が言うように、例えば哺乳類多世代生殖試験の現行のプロトコルには、内分泌系が応答するエンドポイントが多数含まれています。しかし、内分泌系にさらに特化した新たなエンドポイントが、正しく標準化かつ検証が可能であり、現在要求されているエンドポイントの評価を妨げるものでなければ、これらのエンドポイントをこのように国際的にハーモナイゼーションされたプロトコルは、追加したことによって拡張される可能性があります。

ACC が資金提供する HAA 研究の構成部分のひとつは、存在の可能性のある内分泌活性に関する物質の優先順位付け、スクリーニング、試験のために、毒性学的評価方法を改良し、新技術を開発することです。ACC は米

国環境保護庁(EPA)と経済協力開発機構(OECD)とともに、階層的・段階的な「スクリーニング」と「試験」の手法に関して、国際的に標準化された方法の開発と検証の作業を行っています。

本シンポジウムにおいてトン博士が講演の中で述べられたように、ACC はかれこれ 5 年以上にわたって、共同研究及び開発の合意のもと、米国食品医薬品局の米国国立毒性研究センターとともに、ホルモン受容体に対する化学物質の結合能を予測する定量的構造活性相関(QSAR)モデルの開発と検証に携わっています。その作業の最終的な目標は、科学的な優先順位設定のツールの構成部分としてそのモデルを採用し、ホルモン受容体結合親和性の予測値に基づいて、受容体結合親和性が無視できる程度の物質と、より詳しい評価が必要となる物質とを区別することです。

ACC は、日常的な製品安全性試験のための国際的統一手法の標準化と検証の作業にあたっている OECD の「内分泌攪乱化学物質の試験と評価」タスクフォースとも一緒に作業しています。初期には、子宮肥大スクリーニングアッセイとハーシュバーガースクリーニングアッセイを作業対象にしていました。本シンポジウムではティム博士が講演の中で OECD の活動について述べています。子宮肥大アッセイは、物質のエストロゲン様のアゴニストやアンタゴニスト活性のスクリーニングに役立つものですし、ハーシュバーガーアッセイは、アンドロゲン様のアゴニストやアンタゴニスト活性のスクリーニングを意図したものです。

ACC は、スクリーニング法の新規開発や改良の研究にも資金援助をしています。健常オスアッセイは、内分泌系作用の様式を同定できる短期間 *in vivo* スクリーニング法の開発に取り組んだデュポンのハスケル研究所における 11 年におよぶ研究の上に完成されたものです。健常オスアッセイは、短期間の高感度、高特異度である「多様式」メカニズムアッセイ法であり、内分泌系を修飾する物質の同定に能力があることが実証されています。同定できる物質としては、(1) エストロゲン、アンドロゲン、プロゲステロン、ドーパミン受容体に対するアゴニストおよびアンタゴニスト、(2) 5α -還元酵素インヒビター、(3) ステロイド生合成インヒビター(アロマターゼとテストステロンの生合成)、(4) 甲状腺機能を変化させる物質です。最近、このアッセイが OECD によって、内分泌攪乱の可能性のある物質のスクリーニング法に適切とされる手法の枠組みの中に含まれました。健常オスアッセイは、広範囲の HAA 類を同定することが可能であり、化学物質の作用様式に関する情報を得ることができるものです。

HAA 類および発生・生殖毒性の作用機序

この副題に示されていますように、研究プログラムのこの部分自体が、HAA 類にとどまらない広いものです。ACC は、発生・生殖毒性について、そのメカニズムにホルモンなどのメディエーターや作用物質が関与しているのかどうかを、より科学的に理解しようとしています。そのメカニズムの理解が進めば、より費用効果の高い手法の開発が可能になり、健康への有害影響について、こうしたエンドポイントの測定値がどの程度相関しているのか、そしてどの程度予測できるのか、という面での既存の実験データの解釈をより一層進めることができます。特に相関と予測は、現在というゲノム科学の革新時代において重要です。

次にお話する研究は、ACC の LRI が管理しているものです。1999 年 1 月に、化学工業界は LRI に、社会と同時に化学工業界にとっても最優先事項であるとされる公衆衛生と環境の問題の研究に対する資金提供を始めさせました。LRI の最終目標は、化学物質が人の健康や野生動物の個体数、環境に対して及ぼす可能性のある影響についての知識を増やすことです。この目標を達成するためには LRI は、リスク方程式(有害性×曝露量=リスク)への入力において、健全な科学的根拠を呈示する必要があります。

ACC の加盟企業は LRI を通じて、第三者による独立した研究への資金提供に加わっています。工業界、学術界、行政を代表する専門家たちによって作成されたガイドラインを通じてこの研究は、行政が化学物質の健康や環境への影響のリスク評価の判断をしたり、公衆やそれら化学物質の製造業者に対してそれら物質の影響についてさらに確実を期する際の有用な助けとなります。この目標は広大すぎて、ひとつの組織が単独で取り組むことは無理です。従って、LRI としてはその他のプログラムを補完したり相補しあえるようなプログラムを求めています。ACC の LRI プログラム全体の予算は、年間 2500 万ドル規模になり、たくさんのプログラムが中に含まれています。その中で最大の部分は、内分泌および生殖への影響に関するもので、2001 年は約 700 万ドルです。

LRI の研究プログラムは、ノースカロライナ州リサーチ・トライアングル・パーク内の CIIT 健康調査センター (CIIT)、いくつかの大学、その他の研究機関において独立的に運営されています。一般的には、その他の連邦機関と間で競合研究契約を結んで協力しあう関係にあります。LRI の研究契約は、計画案 (LRI のウェブサイトや適切なその他のウェブサイトに掲載) にある要求項目から発したものです。計画案は、独立した外部の専門家委員会で審査を受けます。科学的有益性の点で最良もしくは良にランクされているこれら計画案の審査は、化学工業界にとっての妥当性と LRI の目的に鑑みて行われます。それから予算が決定されます。LRI は、プロセスは公開するという伝統的な研究原則に従っています。中心となる研究者自身がデータを保有し、自分たちが得た結果の公開について決定を下します。LRI は公表に関する承認権を有していません。研究者には、自分たちが得た結果を学会で公表し、専門家の審査がある学術誌に発表することが奨励されています。何らかの理由で研究者が自分の結果を公表しないと決めた場合には、その研究者自らが著した最終レポートを LRI が公表することができます。

世界規模の LRI 内分泌プログラムは、最先端科学の資料 (STOTS) を用いて開始されました。この資料は 8 つあります。その 1 つは、内分泌に関する問題です。学术界、産業界、行政からの専門家集団を国際的に招聘し、内分泌攪乱仮説を理解するために必要となる主な研究について話し合いました。内分泌問題に関する STOTS は最近改訂されました。その改訂版は CEFIC のウェブサイトで見ることができます。内分泌攪乱問題よりは、生殖・発生毒性学の方が多くのことのことが解ってきています。そこで、生殖・発生毒性学について必要となる研究を明らかにするために、科学の全分野からの専門家からなるワークショップが 2000 年に開催されました。このワークショップの成果もこのプログラムの指針になっています。

ACC の HAA 類に関する LRI プログラムの目標は、人だけでなく野生動物も含めた生殖・発生に対する化学物質のありうる作用について、内分泌系に関わるものも関わらないものも、その性質をより詳しく明らかにできる手法を改良することにあります。このプログラムから派生する重要な疑問がいくつかあります。ホルモン介在性の作用をもたらすメカニズムとは何か？ HAA 類の有害性の評価はどうやればいいのか？ そうしたデータをリスク評価においてどのように利用すればいいのか？ 一般的な環境における HAA 類のレベルにどの程度曝露したら、そうした影響が現われるのか？ 具体的なリスクもしくは潜在的なリスクはどの程度広がっているのか？ このプログラムでは、人や野生動物の受容体に応じて、以下のように分類して議論を進めています。

人の健康プログラム

LRI プログラムでは、化学物質が生殖や発生に干渉するメカニズムの理解に重点を置いています。LRI は、ゲノム科学、モデル生物、トランスジェニック動物などの、より高度なツールを用いて発生毒性物質の作用メカニズムを探索的に研究することを求めた適用申請を、米国国立環境保健科学研究所とともに共同で出しました。その申請は、より基礎的な生物学の専門家が毒性エンドポイントに関する仕事に携わることを促し、自然科学それ自体を拡張させることを目的のひとつにしています。2002 年には共同で少なくとも 12 個の助成金が出されました。

このプログラムでは、動物における作用を人に外挿する方法に関する科学的理解を深めていこう、というのがもう一つ大きな部分を占めています。一部のプロジェクトでは、モデル物質としてフィトエストロゲンやゲニステインを利用しています。ゲニステインは、人 (および実験動物) は食物を介して自然に曝露しているので、独特の利点があります。またゲニステインは、比較的弱いエストロゲンである多くの合成 HAA 類に類似しています。LRI が資金援助している研究では、妊娠・非妊娠ラットによる薬物動態モデルに基づき、経乳移行の評価などを含めた生理学的な発生を研究しています。その他にも、LRI が資金援助する研究として、ゲニステインの作用に関与すると考えられる分子メカニズム (遺伝子発現や受容体活性など) の研究もあります。また、実験動物用飼料に普通に含まれるゲニステインと、合成エストロゲン類との相互作用についても研究しています。この研究の成果は、内分泌機能の一般的な実験動物試験における飼料中の背景エストロゲン類の影響に関して、多くの知見をもたらしてくれると思われます。

LRI プログラムには、雄の生殖器官の発生に対して起こりうる化学物質の影響のメカニズムを調べる研究もあります。この研究では、フタル酸類、ビスフェノール A など多数の物質が対象になっています。この研究の目標は、新生児や成人における健康上の転帰 (例えば、発達指標における変化) に関連づけられる分子作用ある

いは早期マーカー(例えば、遺伝子発現)なりが存在するかどうか、そうした分子レベルの事象が機能の転帰の観点から解釈可能かどうかを解明することです。曝露時期と作用との関連に関する知見をさらに増やすことも、研究目標になっています。

メカニズムを解明するだけでも、科学的に高度な健康リスク評価モデルにデータを組み込む際に大きな影響があります。この目標に向けて LRI が資金提供している研究では、コンピュータ分析などの計測値に基づいて、生物学に基礎を置いた用量反応モデルを開発し、エストロゲン物質への曝露と健康上の転帰との間の関係を明らかにしようとしています。分析対象となっている健康上の転帰は、新生児期における雌の脳の分化です。別のプロジェクトでは、エストロゲンの薬物動態をラットと人の中で比較し、理解が進んでいる用量測定の見識と結びつけながら、動物から人への外挿に関する知見をやはり得ようとしています。

新しく申請された計画案では、母体 - 胎児間および母体 - 子個体間の薬物動態の研究を求めています。文献を検索したところ、妊娠後期と授乳期における薬物動態に関する情報が大きく不足していることが分かりました。発生の動物モデルに対する関心が強まってきていますので、薬物動態の理解が、人の健康リスク評価において発生毒性データを利用する基礎になります。

人や野生生物は、化学物質の混合物に曝露することも少なくありませんが、混合物の研究は、大変に難しいために、あまり行われていません。本シンポジウムのザカロフスキー先生が講演の中でご自身の混合物の研究についてお話しになりましたが、その研究の一部は LRI が支援しているものです。また LRI は、混合物への環境レベルでの曝露の評価に特化して改変した新しい手法の開発研究にも資金提供しています。歴史的には、化学物質混合物の研究は薬物相互作用の文献にある手法を借用して行われてきました。そうした手法では、少数の化学物質を高い薬理学的活性用量段階で曝露させます。それに対して、環境内化学物質への曝露は、より多くの化学物質に低濃度(閾値未満であることもしばしば)で曝露するところに特徴があります。理想的な試験法、特に統計的試験デザインを明らかにすることが、この研究の重要な部分を占めます。

野生生物プログラム

LRI の野生生物プログラムの主要目標のひとつが、室内研究と野外研究の知見の間の関係をより詳しく解明することです。評価する人間が室内のデータしか保有していない場合に典型的に持ち上がる疑問は、「実世界では何が起きているのか?」というものです。野外のデータが存在する場合に典型的に持ち上がる疑問は、「複雑な観察データの生物学的意味合いと因果関係要因は何か? こうした作用は実験室でも再現できるのか?」というものです。評価法の質を高めていくには、この両方向からの推定が必要なのです。

LRI は、EPA の研究者たちによる遺伝子アレイ技術の開発と応用の研究にも部分的に資金提供しています。彼らは、自然環境の個体群であるカエルと魚類をモデルとして用いて、これら動物種における遺伝子アレイの変化と機能の変化とを比較しています。

カナダの研究者は、自分たちの内分泌関係の研究を生態系全体に拡張しようとしています。小さな実験湖に合成エストロゲンを投与し、水生動物(魚類、動物性プランクトン、一部の底生無脊椎動物)における変化を、個体レベルおよび個体群レベルでの反応と関連づけながら調べています。

あるグループの研究者は、爬虫類における HAA 類の評価モデルにしようと、カキネハリトカゲの飼育群の開発を行っています。このグループは、成体への曝露だけでなく卵への曝露についても研究して、理想的なモデルを見つけようとしています。別のグループは、鳥類の交配と生殖行動における変化を、野外で測定する手法の開発をしながら、繁殖の成功率を指標とするホルモン類と、HAA 類の体内負荷量との関連づけを行っています。また LRI は、混合物の研究に有用であると考えられるアリゲーター、魚類、ムラサキガイの室内実験モデル開発も支援しています。

まとめ

ACC の LRI の最終目標は、国際的パートナーとして、HAA 類を始めとする生殖毒性物質のリスク評価と管理の基礎となる科学を向上させることにあります。ACC の LRI の研究作業は、近年は数多くの行政組織や権威ある科学組織による審査を受け、それに対応しています。これらの審査では HAA 類の分野でさらに研究が必要であることが指摘されています。環境内での低レベルの合成および天然化学物質への曝露は人や野生生物にとって

リスクになりうるという懸念を受けて、ACC の LRI は、健全で有効な製品管理と公序の基礎とすべく、さらなる研究と科学的意見の交換を促進することに専念しています。

LRI のウェブサイトは www.uslri.org です。そこで今まとめました研究のより詳しい説明を見ることができます。JCIA のウェブサイトは www.nikkakyo.org で、CEFIC のウェブサイトは www.cefic.be です。そこでは、HAA 類に関する研究プログラムの詳しい情報を見ることができます。

質疑応答

武井：グラハム先生、ありがとうございます。何か質問かコメントはありませんか？

グラハム：36秒早かったですね！30秒ありますよ。

質問：一つ質問があります。ICCAは、米国などにおいて高生産量化学物質に関する仕事にもたいへん熱心であることは、よく知られていると思います。あなたの組織ではこれら2つの活動の間に、高生産量化学物質は内分泌攪乱物質の観点からも調べるべき物質であるとするといった具合に、何らかの連動があるのでしょうか？

現在利用可能なものや、開発段階にあるアッセイ法のうち、ICCAの高生産量化学物質スクリーニングの中にも含めることをICCAが検討しているものがありますか？

グラハム：高生産量化学物質の背景について少し説明させてください。世界中の政府の協力の下に、すでに承認済みの試験方法とスケジュールに従ってそうした物質を試験しようという巨大な産業プログラムがあります。問題は、そうした試験にこれら新しい手法のいくつかを組み入れることです。

簡潔な回答は、私にはわかりません。試験方法や合議内容によって立つ要因は数多くあります。その一部は、この先1年か2年のうちでしょう。化学物質によって影響を受ける可能性のあるエンドポイントは広範囲であることを理解しておくことが重要です。議論が起きるだろうことは確実でしょうが、私は研究畑の人間ですので、これ以上のコメントはできません。

質問：もう少し話を続けると、試験バッテリーの一部は、そうした高生産量化学物質を念頭に置いたものだという事は知っています。それは通常、スクリーニング情報データセット(SIDS)と呼ばれ、現在は、生殖に関するスクリーニング試験を含めています。

この試験は、世界のさまざまな関係者間で議論する余地が若干あります。この試験は、日本ではその評価が非常に高く、米国でも相当程度には評価されていますが、ヨーロッパでの評価はずっと低いものです。高生産量化学物質に基づいたスクリーニングセットをどんな風に考えるにせよ、その一部は生殖

関連ですから、この特定の要因にどうやって迫っていくべきかを、あなたの組織内部で話し合っておく必要があると、思います。

グラハム：その種のことはしっかり行われているのではないのでしょうか。私は高生産量化学物質プログラムに関わっていません。私が関わっているのは、内部での研究部門ですので、よく分かりません。

武井：はい、ありがとうございます。

グラハム：どうも。

安達：環境庁の安達と申します。本日は来ていただいてまことにありがとうございます。2つ質問させていただきます。

ACCプロジェクトの特徴として、プロセスがオープンであることと、それから結果がどうであろうと、そのインベスティゲーターが承認すればオープンにすることを挙げられていたかと思うのです。

まず1つ目の質問は、そのプロセスがオープンというのは、もう少し具体的に言うとどういうかたちでオープンにしておられるのか。

それから2つ目の質問は、インベスティゲーターの人がノーと言えば、リザルトがオープンにされないということなのですが、どういうインベスティゲーションが行われたということはオープンにされているのか。

2つとっておいて3つ目を聞きますが、ではインベスティゲーションの結果、リザルトが公表されなかったものにはどんなものがあるのかについては、何らかのアクセスする方法があるのでしょうか。よろしくお願ひします。

グラハム：プロセスの最初から最後までについて、簡単に説明します。我々は提案要求を請けて仕事をします。ウェブサイトをご覧になれば、その提案要求を説明付きで、どうなっているのかまで含めて閲覧することができます。我々は誰からの提案も受け付けていますし、資金援助は国際的に行っています。提案に携わろうとする研究者には、米国に限らず援助しています。

仕事は、独立した第三者によって競合的に審査されます。産業界の人間は、この仕事の専門的審査委

員にはなれません。提案内容については極秘扱いです。つまり、ここにいらっしゃる研究者のどなたかが我々に提案を送り、我々がそれを審査委員のところに送りますが、その提案内容を世間に公表することはしません。

それが完全に守られ、素晴らしい内容の提案が集まったならば、我々は適切性の審査を行い、我々が保有する財源額や助成できる額を検討し、助成の可否を決定します。

助成は、研究契約に基づいて行います。その契約は、法的強制力のある契約であり、研究者自身がデータを保有することと、研究者はその仕事を公表するまで我々に論文写しを提出する必要があることが定められています。論文の雑誌掲載の承認が得られた時点で、我々はその仕事の内容を知るために写しを要求します。

我々には審査権がありません。ですので、研究者は言いたいことを言い、載せたいものを雑誌に載せることができます。雑誌の専門家審査システムが何らかのコメントをします。そのシステムは独立しています。

研究者が公表を望まない場合には、何が起きたのかを研究者に質問します。我々の契約の中では、総説集で公表することを望む旨が述べられています。ページ使用料は我々が払います。我々はプロジェクトの一部として関与していきます。

しかし研究者がいやだと言った場合、我々はそれを公表しません。代わりに、最終報告書を受け取る権利と、その最終報告書を出版する権利が我々にはあることを伝えます。我々は最終報告書をウェブサイトに乗せています。その際には、一言一句も変更は加えませんが、最終報告書を要求します。最終支払は最終報告書に付随するからです。研究者が公開の総説集に発表する場合と我々がウェブサイトに掲載する場合のどちらもありえますが、我々としては公開の総説集に掲載の方が好ましく思っています。

武井：ありがとうございました。