

30．環境中の複合化学物質による次世代影響リスクの評価とリスク対応支援に関する研究

担当機関 厚生労働省 国立医薬品食品衛生研究所（徳島大）関澤 純

研究分野 リスク

研究期間 平成12年 平成14年度

研究予算総額 211,829千円

研究の背景と目的

環境中の生理活性物質への胚、胎児期または小児期の曝露による人および野生生物の次世代への影響リスクについては、影響の懸念が大でありながら、複合的な要因が関係し情報が未整理、かつメカニズムに未解明な点が多い。本研究は、従来のリスク評価に新しい視点を取り入れつつ、影響と曝露の定量的な指標を参考にしてリスク評価を行う。これまでリスク評価の対象は、大量生産物質、残留性物質、合成物質が中心であったが、本研究の対象物質としては、影響の特性からいって微量であっても強い生理活性を持つ物質や、天然の物質にも着目し検討する。本研究では、これまでのように環境中の特定の物質を分析し検出する、あるいはインビトロアッセイ系で特定の活性を検出するというだけでなく、作用メカニズムを踏まえつつ曝露と影響のデータを総合的に検討し、いくつかの物質（群）について、新たに検討したリスク評価のスキームに沿い、本テーマに関連した分野の全般的な研究の進歩を背景に次世代影響リスク評価の結果を提示する。

研究の成果

アウトプットを箇条書きに整理して示す。

- (1) 次世代リスク評価の新たな枠組みを提出した。
- (2) PCBを含むダイオキシン類、天然のホルモン物質と合成のホルモン物質、医薬品など非意図的に環境中に排出される生理活性物質のそれぞれについて、次世代リスク評価に必要な実証データを得た。
- (3) 実証データを基にリスク評価を行った。
- (4) 環境中の複合化学物質による次世代影響リスク関連情報についてデータベースを作成した。
- (5) 関連研究発表のうち主な報告だけでも、78の誌上発表と72の学会発表がなされた。

次世代影響リスク評価のために、特定の感受性の高い集団や、特定の時期（臨界期）における曝露、複合的な影響の可能性に注意を払った新しい評価の枠組みを提案し、実証のための研究を行った。すなわち、(A) 胚、胎児、小児など曝露と影響の感受性における臨界期と、生体反応の調節制御を考慮し、(B) 野生生物と人の曝露および影響における共通点の違いや、(C) 複数物質への曝露による問題を検討しつつ、(D) 証拠の確からしさと、生物学的な妥当性を考慮し、総合的に判断を加えた（図1）。研究遂行に際しては本研究の学際的な性格を踏まえ、専門分野横断的に研究者を組織し、協力体制を築き進めた（謝辞の項を参照）。まず、人の健康と野生生物への影響の情報、物質情報、発生源情報を整理し、問題となる物質の抽出を行い、並行して本研究に適用すべき試験系について検討した。第2年度には、次世代影響リスク評価のおよその枠組みを提示するとともに、実証的なデータを蓄積し、スクリーニング的なリスクの評価を試みた。最終年度は、以下のようにリスク評価の対象を絞り、また複合化学物質の影響を考慮して3年間の研究成果を総合して、次世代影響リスクの評価を行った。リスク評価の対象としては以下の3グループを対象として、リスク評価をとりまとめた。

- (A) 有機スズ、医薬品など非意図的に環境中に排出される生理活性物質

有機スズ類による野生生物のみでなく哺乳動物への有害リスクの可能性を総合的に検討した。またトランス

ポーター阻害活性や薬物代謝酵素誘導活性を持つ薬剤に複合的に曝露した場合の他の物質の吸収、排泄に及ぼす影響などについて基礎的に解析した。人畜用の医薬品の環境中への排出による人の健康と野生生物への影響については、これまでほとんど注目されてこなかったが、たとえ微量でも強力な生理活性を持つ物質が常時環境中に排出されていることは、實際上大量生産物質と同じ効果をもたらすものとして注目し検討を加えた(図2)。

(B) PCBを含むダイオキシン類

ダイオキシン類についてこれまで曝露データが不足していた小児期について、本格的な曝露調査を行った。新たに見いだしたアリルヒドロカーボンレセプターの内因性リガンドとの相互作用など作用メカニズム(図3)も考慮し、人と野生生物への影響およびリスクの蓋然性を示した。

(C) 天然と合成のホルモン様活性物質

人畜による天然のエストロゲン排出とその環境中挙動を中心に解明を進め、これまで主として問題とされてきた工業化学物質と対比させつつ、野生生物への影響および乳肉などを経由した人への影響の可能性を定量的に検討した。

他方、複合化学物質による影響については、次の2点から効果を検討した。

(A) 影響の種類と作用点において共通な物質

有機スズ類、フタル酸エステル類のよう作用だけでなく、生体における代謝、分布、排泄において共通性が高いと思われる物質群、人畜が排泄する天然のエストロゲン物質と合成のエストロゲン物質など、影響の面からグループとして考察可能な物質群。

(B) それ自身は毒性がなくても他の物質の代謝、排泄、活性化、分解や蓄積に影響を及ぼす物質

例えば、薬物代謝酵素を誘導また阻害する物質や、物質の細胞内外の出入りを制御する分子である薬物トランスポーターの阻害剤など。

次世代影響リスクの評価においてキーと考えられる要素について具体的に検討を加え実証データを得たがその一部を以下に紹介する(以下の文中で、
については図1を参照)。

(1) 有機スズについては巻貝におけるインボセックスが喧伝され注目されているが、影響メカニズムは必ずしもよく解明されておらず、哺乳類におけるリスクの評価が必要とされていた。有機スズについて人における有害性の確認とメカニズムの検討を以下のように行った。トリフェニルスズの妊娠ラットへの投与においては、妊娠0-3日の4.7 mg/kg体重曝露による着床阻害がクリティカルな影響と考えられた(表1)。わが国では食品経路でトリフェニル錫とトリブチル錫に複合的に曝露される状況にある。他方、両者の哺乳動物における共通のエンドポイントとして免疫系抑制と生殖・発達毒性がクリティカルな影響と考えられる。

これまで両化合物は個別にその影響リスクを評価されてきたが、両者への曝露を統合的に検討し、かつ地域や摂食パターンによる変動の幅を考えると、これまでよりもやや高いリスクが推定された(図4)。細胞レベルでは有機錫とPCBの相互作用も観察され今後生体レベルでの検討が必要であった。環境中曝露による影響として、野生の無脊椎生物と哺乳類とでは影響が質的に異なる良い例と考えられた(表2)。

(2) 妊娠の時期特異的な曝露による影響の違いと用量 反応関係 については、一例としてフタル酸ジブチルの生殖・発生毒性発現の時期特異性とメカニズムを調べた結果、ラットの妊娠0-8日の750 mg/kg以上曝露で、胚死亡の増加、妊娠7-15日の750mg/kg以上曝露では奇形胎児発現頻度の上昇、妊娠15-17日の500 mg/kg以上の曝露で肛門生殖器官距離短縮と精巣下降不全の頻度の上昇が見られ、曝露時期と用量に依存した顕著な影響の違いが観察された。フタル酸エステル類はプラスチックの可塑剤として広く使用されているためさまざまな経路からの曝露が考えられるが、これまで知られた影響は比較的高用量でのみ発現されるものであった。しか

しその作用メカニズムについてはまだ十分解明されておらず、今後注意深く検討を続ける必要があると思われる。

- (3) 小児期のダイオキシン類への曝露について、初めて定量的な評価を行い、現行のダイオキシン耐容摂取量1-4 pgTEQ/kg体重に対して、離乳期乳児では1.54, 2.20 pgTEQ/kg、3歳児では1.45 pgTEQ/kgであり、いずれの時期も耐容摂取量の範囲内であることが示された（表3）。この時期は想定されたよりも比較的少ない曝露レベルにあることがわかった。
- (4) ダイオキシン類の毒性発現に関与することが知られているアリルヒドロカーボンレセプターの内因性リガンドとして新たに見いだしたインディルピンと、ダイオキシンの相互作用について検討を進めた。ダイオキシンのリスクについては国際的な専門家グループにより一定の結論が出されているが、有害作用の基礎的なメカニズムの解明が十分になされていない。今回の発見は、アリルヒドロカーボンレセプターが細胞内で本来生理的に果たしている役割の解明と、そのプロセスをいかにダイオキシンがかく乱するかを検討する糸口を与えるものである。インディルピンがダイオキシンよりも高い濃度で体内に存在し、かつダイオキシンよりもアリルヒドロカーボンレセプターへの親和性が高いと推定されることから、生体が両者の共存条件下におかれていることを前提とするならば、これまで推定されたダイオキシンによる人へのリスクは低い可能性が推定された。現在このことを検証する研究を進めている。
- (5) 野生生物の各種臓器中の有機塩素化合物の種間、成長段階、雌雄別の蓄積特性と、生体影響の可能性について検討した。
- (6) 複合曝露による作用については、環境中に排出される医薬品など生理活性物質による他の物質の細胞外排出阻害による蓄積と有害影響の可能性について検討した。セファレキシムでは未変化体の体外排泄率が90%以上で、使用量が大であるプロプラノロールではほとんどが抱合体としての排泄であった。都市下水や汚泥抽出物による細胞の薬物トランスポーター機能阻害の可能性を示す報告が見られたが、どの薬剤によるものが不明である（表4）。
- (7) 体内よりの天然のエストロゲン排出から推定すると、多摩川などにおける排出レベルとその活性はあるいは河川に住む魚類はノニルフェノールなどに比べても有意に高いエストロゲン活性に曝露されていると推定された。
- (8) 次世代影響リスクをどのように扱うべきか国際的にも視点が明確でなかったが、本研究をとおして新たな枠組みを提示できた。成果の一部は関澤も一員として推進する国際化学物質安全性計画(IPCS: International Programme on Chemical Safety)の関連の国際共同研究プロジェクトに反映させ、研究論文として公表した。
- (9) ターゲットとした3グループの物質群につき関連課題について具体的な回答を示すことができた。
- (10) 研究遂行過程で、数百物質についての関連情報を整理したデータベースを作成した。

（謝辞）本研究は以下の方々の協力によってなされたものであり、お名前を記して感謝を表明する。

江馬 眞、伊豆津 健一、手島 玲子(国立医薬品食品衛生研究所総合評価室)、松井 三郎、松田 知成(京都大学地球環境学大学院地球環境学堂)、田辺 信介(愛媛大学沿岸環境科学研究センター)、内山 巖雄(京都大学大学院工学研究科環境工学専攻)、堤 治(東京大学医学部産科婦人科)、吉岡 義正(大分大学教育福祉科学学部)、吉田喜久雄、東海明宏(独立行政法人産業技術総合研究所)、安田 峯生(広島国際大学保健医療学部)、有園 幸司(熊本県立大学環境共生学部)、浜田 知久馬(東京理科大学工学部)、松木 容彦(財団法人食品薬品安全センター・秦野研究所)、武田 量雄(三菱化学安全科学研究所)、長尾 美奈子(東京農業大学応用生物科学部)、高尾雄二(長崎大学環境科学部):順不同

「証拠の確からしめ」と「生物学的妥当性」

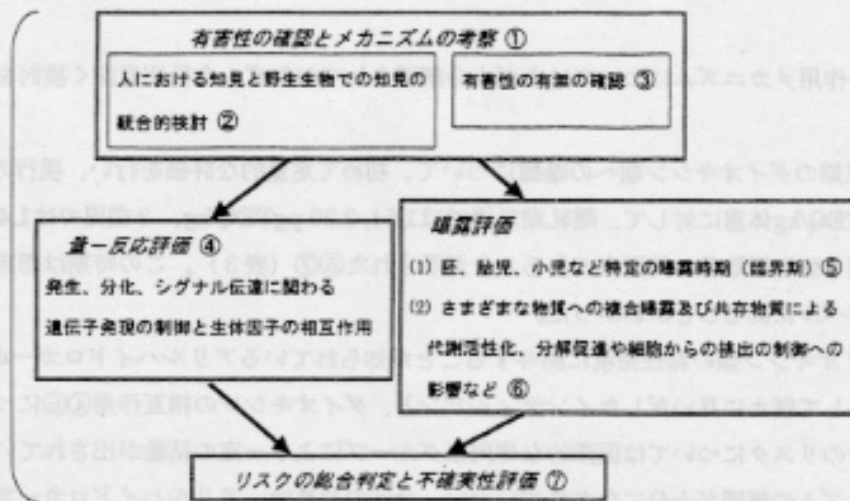


図1 次世代影響リスク評価の枠組みの提案と次世代影響評価の要点 (①～⑦)

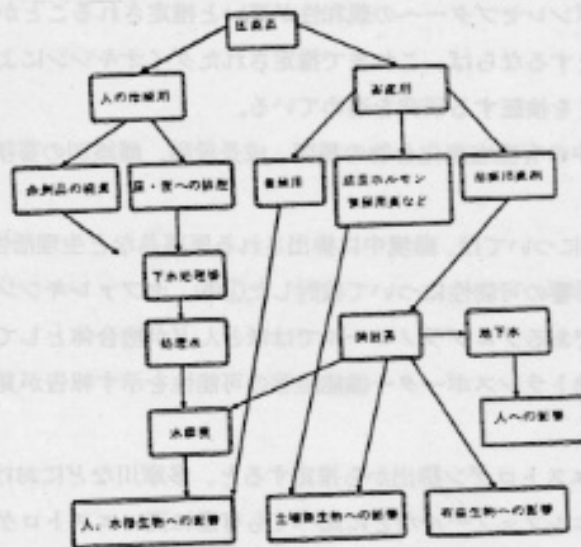


図2 非常因的に環境中に放出される生物活性物質

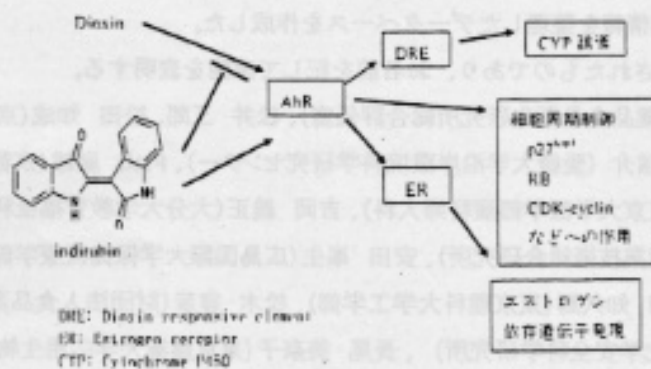


図3 インディルビン作用点の相関図

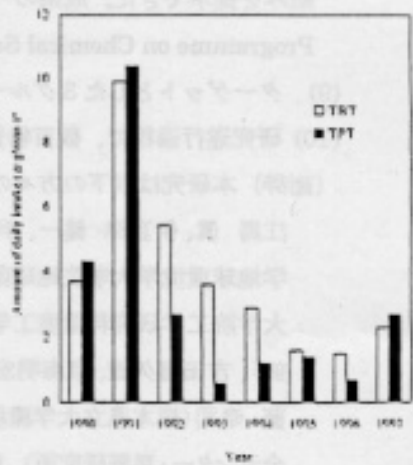


図4 日本人の食品経由トリブチル錫とトリフェニル錫一日摂取量の年次変化

表	表	表	表
---	---	---	---

表1. 有機錫のリスク評価の事例

有害影響の種類とメカニズム

着床障害: ラットの妊娠0-3日に4.7, 6.3 mg/kg体重曝露によるプロゲステロン低下

リンパ球増殖障害: イルカのリンパ球に300nM(100ppb)で、

PCB共存下では1オーダー低い濃度で影響あり

免疫影響の無毒性量: 25 μg/kg (TBTO)

巻貝のインボセックス誘起濃度: 10pM(1-2 ng/L)以上

曝露評価: 人と水棲生物臓器への蓄積、臓器別体内負荷量

ヒトの食品経路摂取量および臓器負荷量の評価と影響の関係

リスク判定: 一日許容摂取量(0.3 μg/kg: TBTO)との関係

不確実性評価: 摂取量分布による不確実性

表2. トリブチル錫とトリフェニル錫の環境中濃度、摂取量と体内負荷量

	TBT	TPT
環境濃度	淡水 7.1 μg/L まで 海水 1.58 μg/L まで	内海 マリーナでは 200 ng/L
生物蓄積係数	100-20,000 (藻類, 細菌) 2000-180,427 (軟体動物) 24-1976 (魚)	22,500 (淡水性巻貝の貝) 7000 (牡蠣) 257-4100 (魚)
日本国民平均一日摂取量 (マーケットバスケット調査)	2.3 μg/人 (as chloride) 1997 年	2.7 μg/人 (as chloride) 1997 年
体内負荷量 (ヒト計算)	84 ng 全ブチル錫/2 週量、 うち 75%はジブチル錫 (魚) 又 11,346 ng/g	動物学的に 0.16 μg/kg 体重に曝露するがトリブチル錫とトリフェニル錫の両方に同時に曝露する

表3. 時期特異的な影響の可能性の検証

幼児期のダイオキシン類摂取量の推計

離乳期乳児のダイオキシン類摂取量: (市販ベビーフードと一般向けレトルト食品、粉ミルクの分析)	0.67-1.36 pgTEQ/day
3歳児のダイオキシン類摂取量 (神奈川県・沖縄における自記食物摂取量調査結果2000, 2001年冬)	1.54-2.20 pgTEQ/day
成人のダイオキシン類摂取量 (厚生省調査、年)	1.45 pgTEQ/day

ダイオキシン類耐容摂取量 4 pgTEQ/day

表4. 複合作用のイメージ

複合医薬品の代謝と環境中への排出評価

医薬品や生活関連化学物質の環境中への排出による複合的な生体影響の可能性

- (1) 排出量に対する代謝の影響
セファレキシムでは未変化体排泄率90%以上
使用量大のプロプラノロールはほとんどが抱合体排泄
- (2) 薬物トランスポーター機能阻害を介した作用
ペラミルなどトランスポーターモデュレーターによる
脂溶性物質の細胞外排泄阻害による他物質蓄積の可能性
- (3) 都市下水や汚泥抽出物による薬物トランスポーター(MDR1, MXR)機能阻害の報告

研究発表

発表題名	掲載誌 / 学会等	発表年月	発表者
(誌上発表) ・Integrated Human and Ecological Risk Assessment : A Case Study of Tributyltin and Triphenyltin Compounds	J. Human and Ecological Risk Assessment 9(1): 25-342	2003	Sekizawa J, Suter G. and Birnbaum L
・An Example of Integrated Approach for Health and Environmental Risk Assessment: Case of Organotin Compounds	Water Science & Technology, 41, 305-313	2000	Sekizawa J., Suter, G., Vermeire T. and Munns W.
・化学物質のリスク評価における不確実性	日本リスク研究学会誌、12(2),4-9		関澤 純
・Toxic effects of butyltin trichloride during early pregnancy in rats.	Toxicol. Lett., 125, 99-106.	2000	Ema, M. and Harazono, A.
・Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given di-n-butyl phthalate during late pregnancy.	Toxicol. Lett. 111, 271-278	2001	Ema, M., Miyawaki, E. and Kawashima, K.
・ヒト尿中に存在する強力なAhRリガンド、インディルピン	医学の歩み、Vol.201 No.2, 157-158	2000	松田知成、松井三郎
・Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds.	Marine Pollution Bulletin, 45(1-12), 69-77.		Tanabe,S.
(口頭発表) ・次世代リスク評価におけるバイオアッセイの役割	第8回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性研究会合同シンポジウム(東京)	2002	関澤 純
・医薬品その他の生理活性物質の環境中運命と環境中生物に及ぼす影響の評価	第14回日本動物実験代替法学会研究発表会(市川)	2002	
・ラットにおける雄胎児の性分化に及ぼすモノブチルフタレートの影響	第41回日本先天異常学会	2002	関澤 純、今井 清 松木容彦、吉岡義正
・環境を經由した化学物質による次世代影響リスクの総合的な評価	第13回日本リスク研究学会		江馬 眞、宮脇英美子
		2000	関澤 純、内山巖雄 松井三郎
		2001	
		2000	