

NDMA の評価値について(案)

＜毒性評価＞

NDMA (N-ニトロソジメチルアミン) は経口あるいは吸入暴露による急性毒性は強く、LD50 は 23-40 mg/kg (ラット)、4 時間吸入暴露による LC50 は、240mg/m³ (ラット) 176 mg/m³ (マウス) であり、イヌでも 49mg/m³ の 4 時間暴露で死亡が認められる。これらの致死的な暴露では、肝臓に出血性の壊死を引き起こす。イヌでは、血液凝固時間の延長も報告されている。

一ヶ月程度までの NDMA 0.32-5mg/kg/day の反復経口投与では、様々な実験動物 (マウス、ラット、モルモット、サル、イヌ、ミンク) に肝障害 (肝細胞空胞変性、門脈性の静脈症、壊死/出血) が、死亡率の増加と共に認められる。その他に、肝臓、肺、脾臓、心筋などの臓器のうっ血や消化管の出血が報告されている。慢性影響に関しては、すべての動物実験で発がん性が認められていることから、発がん性以外の慢性影響に関する知見や評価はほとんど行われていない。生殖発生毒性に関する情報も限られており、胎児毒性や胎児死亡増加が母動物に対して毒性が認められる用量 (1.4~30mg/kg/day) の経口投与により報告されている。一世代試験では、0.02mg/kg/day 投与群において死産児や新生児死亡率の増加が認められたが、高用量群では有意でなく、その他の生殖発生毒性パラメータや胎児死亡に関連する病理学的影響も認められていない。

発がん性は、用量反応関係が最もよく解析されているエンドポイントであり、概して他の非発がん影響が認められる用量より低い用量で腫瘍の発生が認められ、ラットでは、0.01mg/kg/day の暴露量から肝腫瘍誘発率の増加が認められている。ほとんど試験では、標準的な発がん性試験に比較すると (動物数や群数が少ない、限定的な病理検索などの) 限定された情報しか報告されていないが、げっ歯類への暴露 (経口、吸入、気管内投与) で一貫して催腫瘍性が認められる。ラットへの飲水あるいは混餌投与では、肝臓と精巢ライディッヒ細胞の腫瘍発生率が増加し、マウスへの吸入、気管内投与あるいは飲水投与では肝臓、肺および腎臓の腫瘍発生率が増加することが報告されている。ラットへの単回の経口および腹腔内投与 (30-60mg/kg) によっても腎臓腫瘍が増加することが報告されている。さらに、妊娠ラット (腹腔内投与) 又は妊娠マウスに NDMA を投与することによって、児動物の肝臓及び腎臓における腫瘍発生率の増加を引き起こすことも報告されている。

NDMA は細菌および哺乳類細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験で一貫して変異原性と染色体異常誘発作用を示す他、*in vivo* 試験においても (発がん性試験で催腫瘍性が

認められた臓器や生殖細胞を含む) 様々な臓器において明かに遺伝子傷害性を示すことが報告されている。NDMA の遺伝毒性はその代謝過程で生成するメチルジアゾニウムイオンにより形成される DNA 付加体 (特に O6-メチルグアニン) が重要な役割をになっていると考えられ、推定代謝経路は、げっ歯類とヒトで類似していると考えられている。NDMA 暴露による O6-メチルグアニンの形成はヒトの組織においても報告されている。

限られた情報 (記憶による食事調査やアルコール摂取などの交絡因子) ではあるが、NDMA 暴露と消化器系及び肺腫瘍との関連性を示唆する疫学調査がいくつか報告されている。しかし、用量反応関係を評価可能な調査は報告されていない。

<評価値の設定>

以上の知見より、最も用量反応関係を評価するに適した研究としては、4080 匹 (雌雄各々 16 群) のラットを用いた大規模な飲水投与発がん性試験 (Brantom (1983); Pet et al., (1984); Peto et al. (1991a,b)) の結果を用いて行うことが適切であると考えられる。

しかし、この実験を用いて、EPA の IRIS (Integrated Risk Information Service) では、1993 年時点の評価で、 10^{-5} 過剰発がんリスクに相当する飲料水中濃度として $0.007 \mu\text{g/L}$ (7 ng/L) を算出し、一方 WHO の飲料水ガイドライン第 3 版の第 2 次追補では、 10^{-5} 過剰発がんリスクの 95%信頼限界上限リスクに相当する値として NDMA の GV 値を $0.1 \mu\text{g/L}$ と設定している。

この実験は、標準的な慢性試験のように 2 年間の投与後に生存しているすべての動物を検査するのではなく、腫瘍性あるいは寿命により全動物が死亡する (約 3 年) まで飼育する実験となっている。また、 0.1 mg/kg/day 以上の投与群 (ほぼ中間の投与濃度) では、ほとんどの動物が肝腫瘍 (肝細胞がんまたは胆管囊腺腫) により死亡することが判明している。従って、たとえば 2 年目の発がん率について用量相関関係を調べようとすると高用量群のほとんどは飽和状態となる。しかし、高用量群における催腫瘍性の用量相関性は、平均腫瘍誘発時間と逆相関することが判明しており、用量が高いほど早く腫瘍ができて死亡するという関係を記述することができる。

EPA の IRIS の評価では、Peto らの解析に従って、この結果を、一つの関数で記述するためのモデルとしてはワイブルモデルが適していると考えた。解析の結果は、雌動物の総肝腫瘍の累積発生頻度 (CI) を用量と時間を変数とした以下の式で記述することが最も適切であるとされた。

$$CI=51.34 * (D+0.1)^6 * t^7 \quad D: \text{dose (mg/kg/day)} ; t: \text{time (year)}$$

EPA の IRIS の評価では、この関係式を用いて、投与 3 年年後の $1 \mu\text{g/kg/day}$ (0.001mg/kg/day) の腫瘍発生リスクを計算 (0.1194) し、3 年後に自然発生する頻度で補正することにより、発がんリスクを 0.0078 になると算定した。従って 1mg/kg/day あたりのスロープファクター (ユニットリスク) は $7.8 (\text{mg/kg/day})^{-1}$ となった。この時点の EPA では、種差の補正に体表面積法を用いており、(補正係数: 6.54 により) ヒトのスロープファクターは $51 (\text{mg/kg/day})^{-1}$ と換算された。この値は、 10^{-5} 過剰発がんリスクに相当する一日摂取量は、 0.196 ng/kg/day となり、体重 70kg のヒトが一日 2L の飲料水を摂取する場合には、評価値として $6.86 (\div 7) \text{ ng/L}$ が算定されることとなった。[(参考) 体重 50kg の場合は、 4.9 ng/L となる。(さらに体表面積法を使用しない場合は、 32 ng/L となる)]

一方、WHO の飲料水ガイドラインでは、評価値の算定の根拠となるユニットリスクは、IPCS の CICADVol.38 の評価文書 (WHO 2002) を根拠にしており、この文書はカナダの評価文書を基に作成されている。基本的には、Peto らの解析結果をもちいて、マルチステージモデルを用いたモデル化による解析を行っている。ただし、全投与群での結果を用いてのフィッティングでは、良好なモデルを作成できず、低用量から 10 用量群までの低用量群のみを用いて検討を行うと、雄の肝細胞がん、血管肉腫、胆管嚢腺腫と雌の肝細胞がん、胆管嚢腺腫で良好なフィッティングの結果をえることができた。その中で、雌の胆管嚢腺腫が最も感受性が高く、 0.5% 腫瘍発現率では $34 \mu\text{g/kg/day}$ (95% 信頼下限値としては、 $18 \mu\text{g/kg/day}$) という用量を算出することができ、 95% 信頼下限値を基に、直線外挿した場合のユニットリスクは、 $0.05 \div 18 = 2.77 \times 10^{-3} (\mu\text{g/kg/day})^{-1} (=2.77 (\text{mg/kg/day})^{-1})$ となった。WHO の飲料水ガイドラインでは、種間の補正のため体表面積補正は使用しないので、これは、そのままヒトのユニットリスクとなり、体重 60kg のヒトが一日 2L の飲料水を摂取する場合には、評価値として $0.1 (\div 0.108) \mu\text{g/L}$ が算定されることとなった。[(参考) 体重 50kg の場合は、 $0.093 \mu\text{g/L}$ となる]

また、食品安全委員会における、ヒトに対する経口発がんリスク評価に関する手引(平成 20 年 7 月 18 日 清涼飲料水部会了承)においては、発がん性のリスク計算に関しては、新しいデータが得られた場合、または明確に考え方を要するべき根拠が生じた場合を除き、算出方法が公開/公認されている場合は原則として既存のリスク評価値を継承するとされている。

この観点に立てば、EPA の評価と WHO の評価が既存のリスク評価値として継承することになるが、その値は、10 倍以上の開きがあり、どちらが適切であるかを評価する必要がある。両者の手法の違いには、まず使用したモデルの違いが挙げられるが、これは全投与群の結果をモデル化に用いたか、低用量域の用量反応性だけに着目したかの違いと関連している。EPA のワイブルモデルを使った解析では、肝臓腫瘍の種類別による解析が行われたが、結果として総肝腫瘍数を使用した高用量群も含めた最適モデルを設定している。また、WHO 飲料水ガイドラインに採用されたマルチステージモデル法では、各々の腫瘍のしかも低用量域の反応のみを使用した場合に良好なフィッティングを得ている。一方、近年の手法（EPA の新ガイドラインや JECFA 等）のベンチマークドース法においては、最適なモデルを選択する際に、ベンチマーク反応（10%誘発率）付近におけるフィッティングを重要視している。以上の点を考慮し、より新しい評価手法の考え方に近く、さらに低用量外挿に適したモデルの選択という観点からすると、WHO 飲料水ガイドライン第 3 版で評価された手法がより適切であると考えられた。この場合、我が国の評価値の算定法に従って、体重 50kg のヒトが一日 2L の飲料水を摂取することを前提として評価値は 0.1 (≈ 0.093) $\mu\text{g/L}$ と算定されることになる。

ところで、我が国の水道水質基準の策定（2003 年）に関しては、遺伝毒性発がん物質に関しては、線形マルチステージモデルを用いて 10⁻⁵ 過剰発がんリスクに相当する VSD を用いて作成することになっている。しかし、2005 年の EPA の発がん性評価のガイドラインの改定や近年の JECFA や EFSA での遺伝毒性物質の評価において、10% 腫瘍発生率のベンチマークドース値を用いてユニットリスクや MOE (margin of exposure) を求めて評価する事例が増加してきており、今回の評価値の提案にもこの手法を用いることが国際的整合性の観点からも望ましいとも考えられた。そこで、CICADVol.38 の評価文書（WHO 2002）で TD05 を算定するのに使用されたデータを EPA の BMDS Ver.2 プログラムに適用して、最も良好なフィッティングを示したマルチステージ法による BMDL10 を算出すると、 $38 \mu\text{g/kg/day}$ (0.038 mg/kg/day) となり、ユニットリスクは、 $0.1 \div 0.038 = 2.62 (\text{mg/kg/day})^{-1}$ と算出された。したがって、この算定方法を用いた場合の評価値も、体重 50kg 一日 2L の飲料水を摂取する場合には 0.1 (≈ 0.0953) $\mu\text{g/L}$ が算定される。

以上の検証結果を総合的に判断すると、我が国の水道水中の NDMA に関する健康影響評価値は $0.1 \mu\text{g/L}$ とし、当面、引き続き要検討項目として、その存在状況や生成機構等について知見の集積を図ることが 適当であると結論される。

<参考文献>

- Brantom PG (1983) Dose-response relationships in nitrosamine carcinogenesis. Ph.D. thesis, University of Surrey, Guildford. Carshalton, Surrey, British Industrial Biological Research Association (BIBRA), 158 pp. (未入手)
- Peto, R., R. Gray, P. Brantom and P. Grasso. 1984. Nitrosamine carcinogenesis in 5120 rodents: Chronic administration of sixteen different concentrations of NDEA, NDMA, NPYR and NPIP in the water of 4440 inbred rats, with parallel studies on NDEA alone of the effect of age of starting (3, 6 or 20 weeks) and of species (rats, mice, hamsters). IARC Sci. Publ. 57: 627-665.
- Peto R, Gray R, Brantom P, Grasso P (1991a) Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study. Cancer research, 51:6415- 6451.
- Peto R, Gray R, Brantom P, Grasso P (1991b) Dose and time relationships for tumor induction in the liver and esophagus of 4080 inbred rats by chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine. Cancer research, 51:6452-6469.
- U.S. EPA 1980. Ambient Water Quality Criteria for Nitrosamines. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Water Regulations and Standards, Washington, DC. EPA 440/5-80-064. NTIS PB 81-117756.
- WHO (2002) N-Nitrosodimethylamine. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Concise International Chemical Assessment Document 38).
- 食品安全委員会 (2008) 「ヒトに対する経口発がんリスク評価に関する手引(平成 20 年 7 月 18 日 清涼飲料水部会了承)」