変異原性（イニシエーター）から見たリスク評価

鈴木 孝昌*

国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

Risk assessment by mutagenesis (initiators)

Takayoshi Suzuki

Division of Cellular and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

Summary

Has mutation research contributed sufficiently to the genetic risk assessment of chemicals? The answer may be "No". Although it has contributed much to predict carcinogenicity, how much benefit has exposure prevention of those mutagens brought to public health? It is suggested that the proportion of human carcinogenesis related to environmental chemicals is less than 10%. The main causes for cancer are tobacco smoking, diet, and aging. As genetic toxicologists, we have become too satisfied with a qualitative evaluation of mutation assay results and try to detect as many "carcinogens" as possible. This approach ignores the quantitative evaluation, which is more important in risk assessment. Many "carcinogens", especially so-called non-genotoxic carcinogens, do not cause cancer at the human exposure level. The "genotoxic non-carcinogens", if they exist, may be more important because cancer is not the only toxicological outcome of genotoxicity. We should pay more attention to heritable genetic effects of chemicals. An increasing incidence of smoking among young women alerts us to investigate the genetic effects of smoking in their progeny.

The paradigm shift from hazard identification to risk assessment is important in mutation research. In this regard, quantitative, mechanism-based, and humanized mutation assays are required.

Keywords: risk assessment, mutagenicity

緒 言

日本人の平均寿命は、男性78歳、女性85歳と世界の長寿国となり、まさに老人国家となる一途をたどっている。そのなかで、癌による死亡数は1950年以降直線的に増加している。その増加には、環境発ガン物質の増加が起因していると考えたいところであるが、おそらく最も寄与しているのは寿命の延長であろう。その証拠に、年齢調整死亡率は近年ではむしろ減少傾向を示してい

る。では、変異原性試験により、発ガン性の疑われる物質を事前に予測し、排除してきたことは、この減少傾向にどれだけ寄与していただろうか？ 変異原性試験が発ガン性の疑いのある物質を排除した最初の例が、ソーセージ等の防腐剤として使われたAF-2であった。この使用中止によりどれだけの人が癌にならずに済んだのであろうか？ エームス試験での強い活性を見るとその危険性は高いと考えられ、実際に発ガン性も確認されたわけであるが、本当に使われていた量で人に対するリスクはあったのであろうか？ こうした疑問を持ちつつ、変異原性から見たリスク評価のこれまでの問題点と今後の方向性に関して検討してみたい。

* E-mail: suzuki@nihs.go.jp

受付：2003年10月3日 受理：2003年10月3日

© 日本環境変異原学会

本稿は日本環境変異原学会第14回公開シンポジウム「生活環境中の化学物質のリスクをどう評価するか」で発表された。This paper was presented at the 14th JEMS Annual Symposium at the Nagai Memorial Hall, Tokyo, May 31st, 2003. The symposium entitled "Risk Analysis of Environmental Chemicals", was organized by Naohide Kinae and Masamitsu Honma and sponsored by the Japanese Environmental Mutagen Society.

1. hazard identification から risk evaluation へ

まず最初に、変異原性試験はこれまで化学物質のリスク評価にどの程度貢献してきたかを考えてみたい。おそらく、動物に対する発ガン性の予測に関してはそれなりの成績は上げているであろう。医薬品等の開発において、発ガン性試験でドロップアウトする化合物を事前に予測できた意義は大きいはずだ。しかし、実際にヒトに対するリスクの評価に対して正確な情報を提供してきたかといえは、残念ながら答えは「ノー」である。むしろ、ともすると必要以上の危険性をあおっていた点を、謙虚に反省しなければいけないかもしれない。科学の進歩に伴い、リスク評価の考え方も変わってきている。従来は少しでも危険性があればそれを排除するという「ゼロリスク」という姿勢をとってきたが、近年我々が日常生活において摂取せざるをえない食品や環境のなかには、少なからず危険性を持つものがあり、ゼロリスクを目指すのは限界があることがわかってきた。これからは、ヒトに対してどの程度の危険性があり、それをどこまで避けなければいけないかという、いわば「許容リスク」の考え方が重要になると思われる。バクテリアで突然変異が起こるから、ヒトでも起こりうるので禁止しようというのがゼロリスクの考え方であったが、これからは、ヒトでどれくらい危険性があるのかを何らかの方法で予測することが必要になると思う。こういった流れのなかで、hazard identification に偏っていた変異原研究から、risk evaluation を重視した試験へと転換する必要がある。

こうしたリスク評価を目指すうえで、キーポイントとなるのは、

- 1) 定量性
- 2) メカニズム研究
- 3) ヒトでの評価

であると考え。

「定量性」に関しては、すでにエームス試験では動物での発ガン性との間にあまりよい相関が得られない点を指摘し、トランスジェニックマウスを用いた試験では、比較的その相関がよいことを紹介した（鈴木，2002）。従来は、hazard identification と「ゼロリスク」という観点から、より高感度な試験が好まれたこともあり、定量性は犠牲にされてきた感もある。これまでの試験結果はどちらかというと定性的な評価に偏り、発ガン性との比較をする場合においても、たとえば陽性率が何%であるとかいう数字が議論された。いったん陽性という範疇に入ってしまうと、ようやく陽性になる物質も、強力な発ガン物質も同等に扱われてしまう。正しい評価のためには、より定量的な評価をめざすとともに、個々の試験自体の持つ意味をよく考え、どういう物質が過剰評価され、どういう物質を検出しづらいかということを考慮する必

Fig. 1 エンドポイントの持つ意義の重要性

要がある。たとえば、芳香族アミンやニトロ化合物は微生物で過剰に評価されがちで、大きな欠点を伴う変異は、トランスジェニックマウスの試験で検出されにくい。小核試験は一般に骨髄での毒性しか評価できないし、染色体異常試験は死にゆく細胞での毒性を評価している。運動をすればコメットができるし、何も処理していないマウスにもいっぱいアダクトはできている。現存の試験系に関しては、その試験系の持つ意味、および特徴をよく理解し、結果の解釈のうえでそれを反映させることが必要となるであろう（Fig. 1）。

「メカニズム研究」は、実験動物等でのデータをヒトに当てはめる際に重要となる。たとえば peroxisome 増殖剤による発ガンはヒトでは起こりえず、ダイオキシンは Ah レセプターを介した作用がヒトでも起こりうるとされる。また、今後個人の SNP 情報等をもとに、個人レベルでのリスク評価ということが可能になると予想されるが、その物質が代謝を含めどのようなメカニズムで作用を発揮するかということを理解することは、どのような遺伝子の働きが毒性発現に関与するかを理解することにつながり、個人ごとのリスクを評価できる材料を与える。こうした観点から、現在検討が始まっている遺伝子発現解析やプロテオミクス等、新しい技術を導入した試験法の利用に期待がかかる。これまでの、副作用のため製品化できなかった医薬品も、副作用のリスクがある集団を特定できれば、使用が可能になると期待できる。医薬品開発等の場面においても、リスクがあればやめるのではなく、どのようにリスクを回避して使用するかを考える時代になるのであろう。変異原性の分野でも、たとえば「除去修復の欠損株のみで変異原性が出るので、色素性乾皮症以外の人には適用可能である」等とする場面も出てくるかもしれない。

「ヒトでの評価」に関しては、これまで一番見過ごされてきた部分であろう。適当な試験法がなかったことがその要因ではあるが、環境暴露を受けているヒトや、たとえば新薬の前臨床試験の場において、ヒトのサンプル

Fig. 2 変異原研究における「発ガン」以外の事象の重要性

を直接使って変異原性の評価ができることが望ましい。動物愛護の観点から、近年動物実験が行いにくい状況にもなっているが、*in vitro* 代替法への方向性だけでなく、むしろ実際のヒトへと向かう方向性も重要である。当然実験動物とは違い高用量での作用は見られないため、検出が難しいという問題はあるが、実際に暴露される量において、“ヒト”でどの程度の作用が見られるかというデータは、リスク評価のうえでは絶対的な答えとなる。食品の安全性の評価についていえば、ヒトは実験動物の役割を果たせるであろう。また、既存の試験をよりヒト型に近づけていくという工夫も大事である。すでに、エームス試験において、ヒトのS9の利用 (Hakura et al., 1999) や、ヒトの代謝酵素遺伝子を導入した菌株 (Kamataki and Fujita, 2002) の利用が検討されているし、培養細胞を用いた試験においても、マウスやハムスターの細胞からヒトの培養細胞への転換が試みられている。今後変異原研究において、こうしたリスク評価を指向したヒト型の研究が盛んになることを期待したい。

2. 変異原性と発ガン性

さてここでもう一つの問題点として、「従来の変異原研究では発ガン性との相関を重視しすぎていた」という問題を提起してみたい。これまでは、発ガン性のデータを変異原性試験の絶対的な答えと考えがちであった。そして、試験系の高感度化や、複数の試験の組み合わせにより、少しでも多くの発ガン性物質を検出しようとしてきたわけであるが、これは明らかに間違ったアプローチであったと考える。陰性になったから変異原性試験が悪いのではなく、変異原性の結果にあわない発ガン物質こそ見直しが必要である。我々にとっては、「非変異原性発ガン物質」よりも、「非発ガン性変異原物質」の方が重要である。ホルモン等の例外を除き、「非変異原性発ガン物質」には比較的高用量を投与したときにのみ作用を表す物質が多く、ヒトが摂取するレベルとはかけ離れている場合が多い。「非発ガン性変異原物質」に関しては、突然変異が起こっても発ガンに至らなければ安全という考えもあるが、変異が起こっていればそれだけで危

険である。発ガンだけが毒性ではなく、老化を含め他のいろいろな疾病にも遺伝子傷害が関与している可能性はある (Fig. 2)。今話題のクローン動物の脆弱性との関連性も、興味深い問題である。

「非変異原性発ガン物質」の問題に関連して、シンポジウムの際にも議論があったので、ここで閾値の問題に関してもふれてみたい。一般に化学物質の発ガン性評価の場面においては、遺伝毒性発ガン物質に関しては、用量作用曲線に閾値がないとされ、非遺伝毒性発ガン物質とは異なった評価がなされている。実際に、DNAアダクトの解析結果等で、低用量まで直線性が得られていることから、低用量領域でのリスクの推定には、直線的な外挿が用いられる。しかし、突然変異の誘発および発ガン性も閾値がないだろうか？ 少なくとも、DNA repair が機能する以上、遺伝毒性物質に関しても閾値があると考えの方が自然だと思う。実験的に低用量での効果を正しく判定するのはしんどいが、最近のデータでは、X線におけるホルミシス効果と同様、化学物質においても低濃度の暴露がむしろプロテクティブに働くという可能性も示唆されている。しかし、一方では、フローサイトメーターを使った小核試験により、アクリルアミドの低用量での効果を詳細に調べた結果、きれいな直線性が得られたという報告 (Abramsson-Zetterberg, 2003) もある。低用量でのリスク評価は、複合暴露の影響を考えるうえでも重要である。たとえ個別の物質が小さなリスクであっても、総和としては大きなリスクになりうる。しかし、低用量でむしろ逆の効果が期待できるのであれば、それほど怖がる必要はないのかもしれない。難しい問題ではあるが、正しいリスク評価のためには、解決しなければいけない課題である。動物実験等では、膨大な可能性のある複合作用に関して検討するのは難しいので、可能なアプローチとしては、実際に暴露されているヒトをモニタリングすることで、直接リスクを評価するという手法を取らざるをえないであろう。その評価に耐えうる試験法の開発が、将来に向けて重要である。

3. リスクコミュニケーションと許容リスク

変異原性からのリスク評価という立場から、これまでの変異原性研究の問題点と今後の課題を述べてきたが、一方で、定量的なリスク評価に向けて我々が情報を提供する場面においては、危険性をわかりやすく大衆に伝えるという努力も必要である。ダイオキシンの例のように、発ガン性ありとされると（疫学的証拠はないのだが）、過剰にそれを避けようとする傾向にあり、どの程度のリスクなのかには関心は払われない。ヘビースモーカーが、汚染の危険性のあるほうれん草を怖がって食べなくなるというのも滑稽である。もう少し大衆にわかりやすい定量的な評価基準を与えるため、何かわかりやすい指標を用いたらどうだろうか。たとえば、このほうれん草1束

に含まれるダイオキシンの発ガン性は、たばこ0.00001本分とか（根拠はないがこれくらいではないだろうか？）、これではわかりにくいかもしれないので、Fig. 3のように、たばこ1本分の発ガンリスクに相当する量はこれくらいというように表現すると視覚的にもわかりやすい。「たばこ係数」がよいかどうかはわからないが、こうしたリスクコミュニケーションに関する努力も今後必要であろう。

これと関連して、新聞雑誌等では、危険性を強調するあまり、よく次のような表現を見かける。

“基準値を遙かに超える10000ピコグラムのダイオキシンを検出！”

ピコグラムという一般人にはなじみのない単位を使うのではなく、もう少し正確な判断をするためには、たとえば以下のようにすべきである。

“基準量の3倍の0.00001ミリグラムのダイオキシンを検出”

こうすると、むしろいかに基準値が低く設定されているかということが伝わりやすい。そして、さらにわかりやすい形で伝えるには、次のように付け加えるのがよい。

“その発ガンリスクはたばこ1/100本分？に相当する”
非喫煙者にとってあまり実感がないかもしれないが、

Fig. 3 たばこ係数による定量化（ヒトに対する発ガンリスク）

喫煙者にとっては身近なリスクとして評価できるであろう。

定量的なリスク評価が可能となって初めて、リスクとベネフィットのバランスから、許容すべきリスクを選択できる。我々は、もともと食生活においてある程度のリスクは許容していた。毎年確実に何人かは死者が出るにもかかわらず、ふぐを食べ続けるし、多くの人が食中毒にかかるにもかかわらず、生ガキを食べ続けている。ゼロリスクの観点からはこれらは禁止すべきであるが、ある程度の危険を冒してまで食べている魅力がそこにはあるのであろう。リスクとベネフィットを秤にかけするためには、リスクの大きさがわからなければ、正確な判断はできない。リスクを許容するためには、リスクの程度をある程度定量的に判断できる材料を提供することが必要であろう。さらに、その判断のためには、わかりやすい尺度で大衆に伝える必要がある。前述の、“たばこ係数”は、そのための一案である。多少変異原性があっても、優れた薬効を持つ新薬であれば、患者にとってはベネフィットとなる。今後行政の側においても、安全性の評価に関してこれまでの概念を変換していく必要があるであろう。依然古典的なhazard identificationを思考した変異原性試験を基本的な試験として要求し続けるのではなく（必ずしもそれだけが要求されているわけではないが）、今後はよりrisk assessmentを思考した試験の採用を検討すべきではないだろうか？これが、企業等における新しい試験法の開発と評価への取り組みにつながれば、変異原学会自体の活性化をももたらすのではないだろうか。

4. 今後の課題

最後に、変異原性試験が、ヒトに対する発ガン物質の排除にどれだけ寄与したかという点について、考えてみ

Table 1 平成14年度 日本における人口動態（人口動態統計特殊報告）

母の年齢	1995 平成7年	1996 8年	1997 9年	1998 10年	1999 11年	2000 12年	2001 13年
自然死産総数	15.3	15.1	14.6	14	14.1	13.6	13.4
～14歳	155.6	285.7	159.1	265.3	169.5	254.2	245.9
15～19	44	46.2	40.8	42.8	41.8	38.2	35.5
20～24	16.3	15.9	15.1	14.7	14.6	14.3	13.2
25～29	12.3	12.2	12	11.1	11.6	11.1	11
30～34	14.1	14	13.5	13	13.1	12.3	12.5
35～39	22	21.8	21.2	20.5	18.8	18.6	18
40～44	50.8	46.7	42.6	39.7	40.7	36.1	34.5
45～49	147.8	139.8	91.3	97.1	92.8	74.5	64.1
50歳～	—	1000	428.6	285.7	333.3	—	181.8

死産率（出産千対）、母の年齢（5歳階級）・自然一年次別—平成7～13年—
「妊娠中に喫煙する母親は10%で、10年前に比べて倍増した。特に、15歳から19歳の妊婦は、喫煙率が34%にものぼる。また、喫煙する母親から生まれた赤ちゃんは、たばこを吸わない母親から生まれた赤ちゃんに比べ、出生時の平均身長や体重が小さかった。」（神戸新聞社説より）

たい。これを考えるうえで、エームス試験の開発者でもあるAmes博士の主張が大変参考になる（詳しくはすでに本誌のLetter to Editorとして紹介したのでそちらを参照していただきたい（鈴木，2002））。たとえば輸入オレンジの安全性を考える場合、とかく残留農薬や防かび剤といった化学物質に目がいきがちであるが、存在量を考慮した場合の発ガン性は、むしろオレンジ中のリモネン等の天然成分やかびによるマイコトキシンの方が高い。「合成物質を怖がりすぎ、天然物質を怖がらなさすぎる」というのが主な主張である。我々が一生懸命避けようとしてきた合成化学物質による発ガン性への寄与は、職業暴露と喫煙を除くと、ほとんどわずかであるという指摘もある。その意味では、実質的にヒトの発ガンリスクの低減には、あまり役に立っていなかったのではないかと考えられる。最近、アクリルアミドの問題等、食品の安全性が見直されようとしているが、食品を含めて身近な物質のなかには、避けられない多くの変異原物質が存在することはすでにAmes博士らにより指摘されており、これらが正しく認識された時、リスク評価に関する考え方も大きく転換することが予想される。それに備えて、従来型の試験から脱却した、新たな変異原性の評価法の確立が本学会としても急務になると考える。さらに、発ガン性の陰に隠れてしまった真の意味での遺伝毒性に関しても、もう一度見直しを行い、疫学的研究も含めた適切なリスク評価法の研究を行うことが重要な課題である。最近、若い女性の喫煙率が増加していることが目につくが、本人の発ガンリスクもさることながら、次世代への影響が懸念される。たとえ妊娠中に喫煙していなくとも卵母細胞は常に暴露を受けていたわけであり、精子のようにセレクションはかからないわけであるから、影響は蓄積しているはずである。幸い、Table 1を見るとまだ死産率の増加という影響は出ていないようだが、体

重の減少という影響はあるようだし、子供の肥満への影響も報告されている（von Kries et al., 2003）。そういえば、最近肥満な子供が増えている気もする。今後、喫煙の遺伝的なリスクを正しく伝えるための努力は必要である。

結 語

以上、「変異原性から見たリスク評価」という問題に関して、やや批判的な見地から意見を述べさせていただいたが、今後「変異原性試験」が生き残っていくためには、何らかの方向転換が必要であると感じている。従来、本シンポジウムでは、比較的基礎研究を指向したテーマが選ばれてきたと思うが、今回新しい試みとして“リスク評価”という問題が取り上げられたことは、大変意義深いものであったと思う。このような発表の場を与えてくださった関係者の皆様にあらためて感謝させていただくとともに、これを機会に今後リスク評価に対する議論が本学会において盛り上がっていくことを期待している。

参考文献

- Abramsson-Zetterberg, L. (2003) The dose-response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer-based mouse micronucleus assay, *Mutat. Res.*, 535, 215-222.
- Hakura, A., S. Suzuki, T. Satoh (1999) Advantage of the use of human liver S9 in the Ames test, *Mutat. Res.*, 438, 29-36.
- Kamataki, T., K. Fujita (2002) Mutagenesis testing based on bacterial expression of human P450s, *Methods Enzymol.*, 357, 301-310.
- 鈴木孝昌 (2002) 環境変異原研究の光と陰：これから進むべき道, *環境変異原研究*, 24, 179-184.
- von Kries, R., A.M. Toschke, B. Koletzko, W. Slikker Jr. (2003) Maternal smoking during pregnancy and childhood obesity, *Am. J. Epidemiol.*, 156, 954-961.