総説

食品中に含まれる化学物質についての安全性評価

三 森 国 敏*

Safety Assessment on Chemical Substances Containing in Foods

Kunitoshi MITSUMORI

(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan)

はじめに

食品中には、植物由来のものには農薬が、動物由来のものには動物用医薬品（動物薬）が、また、それらの加工品には食品添加物が、微量ではあるが、残留基準値以下の濃度で含まれている。これらの化学物質は、植物や水畜産動物の疾病予防・治療や成長促進、それらの加工品の殺菌や防腐などのために使用されているものであり、残留基準値以下であれば食品中にこれらが含まれていてもヒトへの安全性は担保できるとの考えに基づき、微量の残留が許容されている。この規制は我が国のみならず、世界各国で既に実施されているものであり、国際連合（国連）の食品規格委員会（Codex Alimentarius Commission: CAC）では、各国の残留基準値の違いによる食品の輸出入時における貿易摩擦を防止するため、コーデックス規格という世界共通の残留許容基準値を設けている。本総説では、これらの食品中に含まれる種々の化学物質についてどのような安全性評価がなされた上で、許容基準値が設定されているかについて紹介する。

1. 一日摂取許容量（ADI）の設定

国連の食糧農業機関（FAO）/世界保健機構（WHO）では、食品添加物、汚染物質、動物薬の安全性評価をFAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）¹⁾が、農薬の安全性評価をFAO/WHO 合同残留農薬専門家委員会（JMPR）²⁾がそれぞれ行っている。ADIは、現時点で収集可能な毒性学的情報から考えた場合、ヒトが生涯にわたって摂取しても有害作用が発現しないと考えられる化学物質の食品中残留の一日当たりの最大摂取量と定義されている。ADI設定に必要な毒性試験としては、吸収・分布・代謝・排泄に関する試験、単回及び反復投与毒性試験、生殖毒性試験、変異原性試験、発がん

性試験などが挙げられる。その他、抗生物質・抗菌剤などの動物薬に対しては、これらの試験に加えて腸内細菌についての微生物抑制試験が、また、アレルギーを誘発する動物薬に対してはヒトでの臨床データなども要求される。

1.1 ADI 設定のための毒性試験法

1.1.1 反復投与毒性試験

この試験法は28日から3か月の短期毒性試験と1から2年間の長期毒性試験からなり、被験物質を所定の期間ラット、マウスやイヌなどに反復投与する試験である（図1）。試験期間中に体重、死亡率、摂餌・水量などを測定し、各投与終了時眼検査、尿検査、血液、生化学、臓器重量、病理学的検査などを実施する。その結果から、確実に毒性が発現する用量、毒性が発現する最低用量、及び無毒性量（NOAEL）が算定され、その中で最も低いNOAELに安全係数が乗じられADIが算定される。

1.1.2 二世世代繁殖毒性試験

ラットやウサギを用いて交配、着床、器官形成、胎児期、授乳期など生殖過程全般に対する被験物質の影響を検査する試験である（図2）。通常、離乳した動物（F0

図1. 反復投与毒性試験法の概要

* 国立医薬品食品衛生研究所：〒158-8501 東京都世田谷区上野賀 1-18-1

図2. 二世代繁殖毒性試験法の概要

図3. 催奇形性試験法の概要

世代)に160日間被験物質を投与し、その間に交配、出産させる。出生した次の世代(F1世代)に離乳後150日間又被験物質を投与し、その間に交配、出産させ、次々世代(F2世代)を出生させる。以上の投与試験から、F1世代の親動物の生殖能、F1とF2の新生児への影響、F0とF1世代親動物についての病理検査を実施し、それらの成績からNOAELを求める。このNOAELが最も低い場合はこの値から1ADIが算定されることもある。

1.1.3 催奇形性試験

化学物質が先天異常の原因になるか否かを検査する試験法である(図3)。被験物質を妊娠ラットやウサギに妊娠6から15日の間投与し妊娠21日目に帝王切開し、胎児の骨格検査や内臓検査を行い、胎児の奇形発現が見られない用量からNOAELを求める。

1.1.4 変異原性試験

化学物質が遺伝子の構成成分のDNAを損傷するか否かを検査する試験法である(図4)。この試験法には、*in vitro*と*in vivo*試験法があり、*in vitro*試験にはサルモネラなどを用いた野外株への復帰変異を検出するAmes試験と哺乳動物培養細胞を用いた染色体異常を検出する染色体異常試験がある。*in vivo*試験には、哺乳動物の骨髓赤血球中の染色分断片を調べる小核試験がある。これらの試験で陽性結果が得られた場合には、この化学物質は遺伝毒性物質とみなされる。一方、陰性の場合には非遺伝毒性物質であり、ADIを算定でき得る。

図4. 変異原性試験法の概要

図5. 発がん性試験法の概要

1.1.5 発がん性試験

ラットやマウスに被験物質を1.5から2年間反復投与し、その発がん性の有無を検査する試験である(図5)。すべての動物について病理組織学的検査を実施し、発現した腫瘍の頻度や発生個数が対照群より投与群で高い場合は発がん性ありと判定される。一方、低い場合は発がん性なしと判定され、その他の毒性試験のNOAELからADIが算定される。

これらの毒性試験の結果次第で、ADIが設定できる場合とできない場合がある。

1.2 ADIが設定できない場合

ADIが設定できない場合とは、被験物質が変異原性陽性かつ発がん性陽性の遺伝毒性発がん物質とみなされた場合である。これは、生体の遺伝子に被験物質が直接作用し、遺伝子に突然変異を引き起こし、その結果として発がんや催奇形などが誘発されるものであり、このような物質には閾値がないと考えられていることから、ヒトにも同様な作用が起こる危険性があり、ADIは設定されない。

1.3 ADIが設定できる場合

一方、ADIが設定できる場合とは、変異原性が陰性の非遺伝毒性物質の場合である。その場合には、各種の毒性試験成績を総合的に評価して、実験動物に対するNOAELないし無影響量(NOEL)を求め、安全係数で除して、ADIが算出される(図6)。NOAEL/NOELとは、最も感受性の高い動物種において、最も感受性の高い毒性指標において毒性徴候を生じない最大用量である。この用量は長期反復毒性試験から推定されることが多い。安全係数とは、動物種とヒトとの感受性の差及びヒト集団での感受性の個体差を考慮したもので、多くの

図6. JECFA/JMPRにおけるADI/MRL設定のための決定プロセス

全残留物が抽出され得る場合:

図7. 残留動物薬についてのJECFAのMRL設定方法

場合係数100が用いられる。不十分な毒性データを補うために安全係数として200, 500, 1,000, 2,000などが用いられている。小さな数値は可逆性のある軽微な毒性変化が見られた場合に、大きな数値は不十分な毒性データを補うために用いられる。しかし、抗生物質などの場合には、ヒトの腸内細菌における50%細菌抑制率から算定した微生物学的ADIの方が実験動物を用いた毒性試験データからの毒性学的ADIより著しく低いことから、このような抗菌剤については、微生物学的ADIが設定されることが多い。更に、アレルギーを誘発する可能性のあるペニシリンのような薬剤については、毒性及び微生物学的ADIを設定せず、ヒトでの臨床データから直接一日当たりのアレルギー誘発の危険性がない摂取量を算定する場合もある。発がん性であっても遺伝毒性がないものについては、ADIが算定される。これについては、第4項で後述する。

2. 最大残留基準値(MRL)の設定

最大残留基準値(MRL)は、植物由来食品中の農薬ないし畜産食品中の動物薬における許容できる最大残留濃度である。農薬についてのMRLは、適正農業規範(GAP)に基づいて農薬を使用した場合に、結果として

図8. 食品中の動物薬の残留物

残留するレベルを超えない量として設定されている。動物薬については、残留物がすべて抽出可能な場合は、適正動物薬使用規範(GVP)に従って使用された動物薬の食品中残留濃度、ADIの濃度及び分析限界値を考慮してMRLが設定される^{3), 4)}。一方、親化合物と同様の方法では抽出が不可能な結合型残留物が多く含まれ、それが親化合物よりも強い毒性を示す場合には、その結合型残留物中で体内に吸収される可能性のある(bioavailable)な残留物の毒性が大きな問題となる。FAO/WHOでは、このような場合、当該動物薬の毒性に対する結合型残留物の関与を評価した上で、食品内残留値(抽出可能な残留物と非抽出性のbioavailableな結合型残留物の加算値)を算定している。

2.1 残留物がすべて抽出可能な場合

動物薬使用規範にしたがって使用された動物薬の残留濃度がADIの濃度よりも低い場合は、MRLは、それに応じて低く設定される。しかし、ある動物薬において、その使用条件下で通常の分析法を用いてもその残留濃度が測定できない場合は、分析が可能なレベルにまでMRLは引き上げられる。ただし、毒性データの評価を基にして設定されたMRLを明らかに越えるような濃度のMRLが勧告されることはない。図7にそのMRL決定プロセスを示した。

2.2 結合型残留物が多い場合

結合型残留物とは、動物薬の親化合物ないしその代謝物と細胞内の可溶性ないし不溶性高分子との共有結合によって生じた残留物であり、これらは種々の抽出法や溶解化方法によってもそれらの高分子化合物から抽出できないものである。畜産物中における動物薬の総残留物(total residue)は、抽出性(extractable)と非抽出性(non-extractable)残留物から成り、非抽出性残留物は更に薬物が生体内の構成成分に取り込まれる内因性化合物と結合型残留物に分けられる(図8)。毒性上問題となるのは、この結合型残留物であり、特にその中の吸収される可能性のある残留物(bioavailable residue)は消費者がそれを含有する食物を摂取した場合、体内に吸収される可能性が高い。このbioavailableな残留物が畜

図9. 残留農薬についてのADIとTMDIの関係

産食品中に多い場合には、この残留物についての毒性評価が必要であり、また、このような化学物質の食品内残留量は抽出性残留物と結合型残留物中の bioavailable な残留物濃度を加算することにより得られる。特に、結合型残留物がADIを設定した親化合物よりも強い毒性を示す場合は、その結合型残留物中で生体内に吸収される可能性のある残留物の毒性が大きな問題となる。FAO/WHOでは、このような場合、当該動物薬の毒性に対する結合型残留物の関与を評価し、食品内残留量を算定した上で、既述のMRL決定プロセスに基づきMRLを設定している^{3), 4)}。

3. 理論的最大一日摂取量 (TMDI) の算定

設定されたMRLが公衆衛生上受け入れられるか否かを決定するために、TMDIを用いた暴露評価が必要となる。農薬の場合、ある食品中の残留農薬の摂取量は、その食品中の残留レベルにその食品の消費量を乗じ、その残留物を含有するすべての食品由来の摂取量を合計して残留農薬の食品に由来する全摂取量が算定される（図9）。このTMDIとADIを比較し、TMDIがADIより少ない場合、これらの農薬や動物薬の食品中への使用が許可される。我が国では、この方法により、これらの薬物の安全性確認を行っているところであるが、TMDI方式による試算は、実際の暴露量をあまりにも過大に見積もっているため、残留農薬については、基準設定における安全性評価をより科学的なものとするため、より精密な暴露量推定方式である推定一日摂取量 (EDI) 試算方式を取り入れた指針がWHOから公表されている⁵⁾。この新しい指針では、その試算に作物残留試験成績、可食部の残留農薬に関する試験成績、加工調理の残留農薬への影響に関する試験成績などにに基づく暴露量試算方式が採用されている。更に、国民平均に加え、幼小児、妊婦、高齢者ごとの暴露評価も実施されることになり、また、基準設定農作物以外の食品、水、空気などを介した農薬の暴露も考慮されている。我が国においても、現在、この新しい方式を導入するための検討が進められており、近い将来この方式が導入されるようである。

図10. 遺伝毒性発癌物質

以上のような暴露評価過程を経て食品中の化学物質についての安全性評価がなされており、ADIの設定に十分な毒性データがない場合には暫定ADIが、安全性が担保できない場合にはADIを設定しない規制が各国でとられている。最近の科学の急速な進歩に伴い、食生活における安全性を更に高めるための各種試験法の改良やTMDIより精密なEDI試算方式の導入などが検討されており、消費者への安全性を更に担保する努力が推し進められている。

しかし、このような安全性評価が行われているにもかかわらず、最近、農薬の発がん性や内分泌攪乱物質の毒性が世論をにぎわしている。以下に、その発がん性についての基本的考え方及び内分泌攪乱物質の毒性についての問題点について触れてみたい。

4. 発がん物質についての基本的な考え方

発がんのメカニズムには不明点が多い。しかし、動物に長期間投与することによりがんの発生率を高め、あるいは発がん時期を早めるような作用をもつ物質は、大別して、標的細胞の遺伝子を障害する遺伝毒性発がん物質 genotoxic carcinogen（一次発がん物質）と遺伝子を障害しない非遺伝毒性発がん物質 non-genotoxic carcinogen の二つに、更に後者は二次発がん物質と発がんプロモーターの二つに分けることができる。WHOの定義に従えば、一次発がん物質、二次発がん物質、発がんプロモーターのいずれも発がん性があると判定されるが、その生物学的意義は全く異なる。すなわち、一次発がん物質の作用は非可逆的であるが、他の二つの作用は本質的には可逆的と言うことである。したがって、これら三者は、安全性の立場からみても、それぞれ別々の評価の仕方を取り扱われるべきである。

遺伝毒性発がん物質とは、既述のように、被験物質もしくはその代謝物自身が標的細胞の遺伝子に直接作用して突然変異を誘発後、がん化させるもので、N-ニトロソ化合物、多環芳香族炭化水素、アルキル化剤などの強力な発がん物質はすべて一次発がん物質に含まれる（図10）。これらについては、発がん性に閾値がないことから、食品中に含んではならないとの厳しい規制が課せられている。

非遺伝毒性発がん物質の中の二次発がん物質とは、被験物質の作用により生体のいずれかに細胞ががん化しやすい条件が作られるような場合で、ホルモン作用を有する物質、生体の内分泌環境を乱すような物質及び被験物質投与により生体内に産生される活性酸素のような物質が標的細胞の遺伝子を二次的に障害する物質などがこれに含まれる（図 11）。発がんプロモーターとは、発がん二段階説のイニシエーション及びプロモーションと呼ばれる二つの過程のうち、プロモーション作用を有する物質の総称である。プロモーターには、「(1) プロモーターは少量の initiating agent の投与後に与えるとがんの形成が促進され、腫瘍発生までの潜伏期間を短縮し、また腫瘍数の増加を来す。(2) プロモーターは、本来それ自体では発がん性を有しない。(3) プロモーターは initiating agent の投与前でなく、投与後に与えなければその作用（プロモーター作用）を発揮しない。(4) プロモーター作用には、プロモーターの長期間の投与が必要であり、通常、投与初期の変化は可逆的である。」などの作用がある。これらには閾値が存在することから、食品中の暴露量を危険濃度以下に設定することにより

ADI が算定可能である。したがって、このような非遺伝毒性発がん物質は発がん性があっても ADI が算定されている。

5. 内分泌攪乱物質の毒性についての問題点

内分泌攪乱作用物質 (EDC) は、生体の恒常性、生殖発生あるいは行動に関与する種々の生体内ホルモンの合成、貯蔵、分泌、体内輸送、結合あるいはそのクリアランスなどの諸過程を阻害する性質をもつ外来性の物質と定義されており、性ホルモンや甲状腺ホルモンなど種々のホルモンの不均衡を誘発する化学物質すべてがこの範疇に含まれる。この EDC は、最近頻繁に使用されている言葉であるが、種々の化学物質がこのような作用を有することは、世界各国で現在勧告されている毒性試験ガイドラインが策定される以前から既に知られている。したがって、医薬品、農業、動物薬、食品添加物や一般産業化学物質として使用が認可されている物質の中にはこの EDC に含まれるものが既に存在している。これらの EDC の内分泌臓器攪乱メカニズムは、図 12 に示すように、多岐にわたり、EDC の種類によりそのメカニズムはさまざまである。その中でも、エストロゲン類似作用をもつ化学物質の微量投与により試験管内培養細胞の増殖が促進されるとの研究結果が近年報告されたことから、これらの EDC のうちエストロゲン作用を有する化学物質がそのヒトへの健康影響上特に懸念される物質として最近注目をあびている。その理由として、これらの化学物質では、そのエストロゲン作用には閾値がないとみなすべきであるとの議論がなされていること、また、これらの物質は生体内の性ホルモン結合グロブリンと結合しないため、エストロゲン作用の不活化がおこらないことから、胎児への EDC による直接エストロゲン作用が懸念されるがその影響については十分明らかにされていないことなどがあげられる。

図 11. 非遺伝毒性発癌物質

図 12. 内分泌攪乱物質とその障害部位

ジェチルスチルベストロール (DES) を 0.01, 1, 2.5, 5, 10 ないし 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ラットに経胎盤投与すると, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群の出生仔の雄に陰嚢, 精巣の低形成, 精子の質の低下, 精巣網の腺癌や間質細胞性腫瘍など, ヒトの DES 暴露例でみられる所見と同様の変化が誘発されるが, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の群ではこれらの変化は認められていない⁶⁾. 同様の次世代の生殖機能への有害作用は, メトキシクロール, ビンクロゾリンやミレックスなどの農薬やダイオキシンなどが投与された妊娠ラットやマウスの仔動物に発現することが報告されているが, これらの報告では実験に用いた最低用量までその有害作用が認められており, その発現閾値がどのくらいなのかについてはさらなる実験が必要である.

一方, ビスフェノール A, フタル酸エステル, アラクロールやケボンなどの弱いエストロゲン作用を有する EDC では, 細胞培養などの *in vitro* 試験では微量投与でもエストロゲン作用が発現するが, 種々の *in vivo* 毒性試験では高用量投与しても実験動物の内分泌や生殖器系にエストロゲン作用に起因する明らかな毒性変化が発現することは少ない. しかし, 例外として, 妊娠マウスに 0.02 ppm (慢性毒性試験における最小影響量 1,000 ppm の 1/50,000) のビスフェノール A を経胎盤投与して生まれた仔動物において性成熟後に精子の一日産生量が半減したとの報告があり⁷⁾, 微量の EDC 暴露により次世代の生殖能に影響を及ぼす可能性があることを示唆する実験成績も得られている.

以上のように, 現在の毒性試験では, 検査項目が内分泌攪乱作用を検知するには必ずしも十分でないことから, 弱いエストロゲン作用を有する EDC を見逃している可能性が推察される. また, エストロゲンないし抗アンドロゲン作用を検出するための *in vitro* の試験系は毒性試験ガイドラインとして未だ国際的に策定されていないことから, これらの作用の有無について明確にされていない化学物質が未だたくさん残されていると思われる. 現在, 農薬として登録されているものについては次世代試験や発がん性試験を含む種々の毒性試験が実施されていることから, これらを食品から摂取する消費者に対してさしあたり安全性に何ら大きな問題はないと

思われる. しかし, EDC のヒトへの影響についての曖昧さの原因となっている弱いエストロゲン作用を有する EDC の微量投与による生体, 胎児及び次世代への影響の有無を明確にするための研究の即時実施が強く望まれており, 現在, 米国や我が国においてはこの種の毒性試験が政府の予算で実施されている.

文 献

- 1) WHO Environmental Health Criteria, No. 70: Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. World Health Organization, Geneva, 1987.
- 2) WHO Environmental Health Criteria, No. 104: Principles for the toxicological assessment of pesticide residues in food. World Health Organization, Geneva, 1990.
- 3) WHO Technical Report Series No. 788: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Thirty-fourth report of JECFA. World Health Organization, Geneva, 1989.
- 4) WHO Technical Report Series No. 799: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Thirty-sixth report of JECFA. World Health Organization, Geneva, 1990.
- 5) FAO/WHO: Food consumption and exposure assessment to chemicals in food. Report of Joint FAO/WHO Consultation. 10-14 February 1997. Geneva, WHO/FNU/FOS, 1997.
- 6) McLachlan, J. A.: Rodent models for perinatal exposure to diethylstilbestrol and their relation to human disease in the male, cited in: Herbst, A. L. and Bern, H. A. eds., Developmental Effects of Diethylstilbestrol in Pregnancy. Thieme-Stratton, New York, 1981, p. 148.
- 7) Vom Saal, F. S., Cooke, P., Buchanan, D. L., Palanza, P., Thayer, K. A., Nagel, S. C., Parmigiani, S., Welshons, W.: A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. Toxicol. Indust. Hlth. 14, 239~260 (1998).