

化学物質の発がん性評価について

中央労働災害防止協会 (JISHA)
日本バイオアッセイ研究センター (JBRC)
福島 昭治

JBRC

JISHA

発がん物質

✓ 生体に腫瘍、特に悪性腫瘍を発生させる物質

✓ ヒトがんの原因

80%は化学物質(Doll, 1983)

20%はウイルス、細菌など

最近、占めるパーセントが上昇

S. Fukushima et al.

✓発がん物質の同定

疫学

実験: 発がん性試験

ラットないしマウス、雌雄

50匹/群、高用量、1年半～2年

✓発がん物質の種類

遺伝毒性発がん物質: DNAを損傷

非遺伝毒性発がん物質: 細胞増殖に関与

✓発がんのプロセス

二段階説あるいは多段階説

S. Fukushima et al.

新しい発がん性試験法

- すべての化学物質の発がん性を、腫瘍を指標とする長期発がん性試験で検討することは時間的、経済的、技術的等の観点より困難
- ICH(日米EU医薬品規制調和国際会議、1997)では、「従来からの2種の長期発がん性試験の実施の代わりに1種の長期試験(通常はラット)に加え、他の1種は短期・中期の代替試験を用いる」を策定

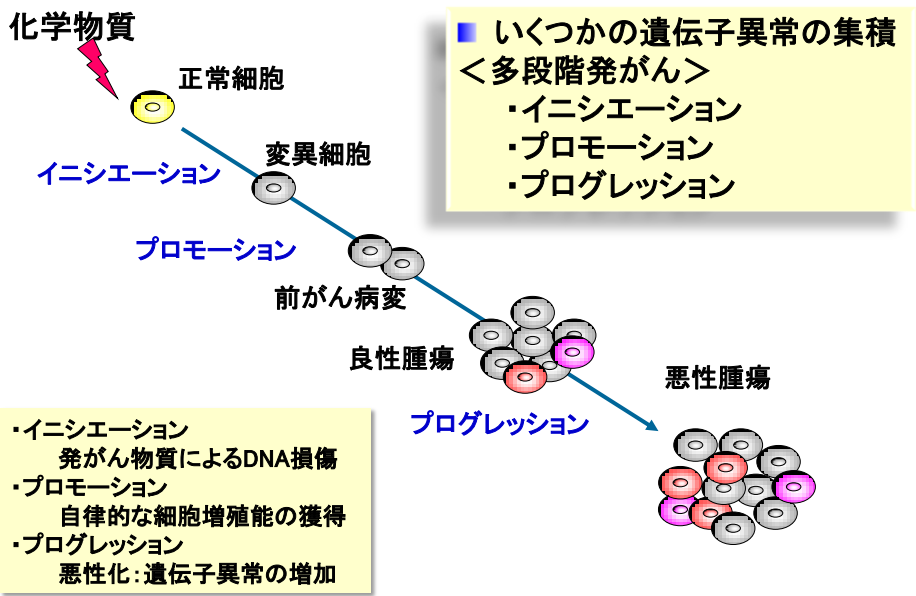
短期・中期の代替試験

- イニシエーション・プロモーションモデル(2段階試験法)
- 遺伝子改変動物を用いる発がん性試験
- 新生仔動物モデル

JBRC

JISHA

化学物質による発がんプロセス



S. Fukushima et al.

2段階発がん試験法(8-30週間) 前がん病変/腫瘍を指標とする

既知発がん物質 被験物質

	イニシエーション	プロモーション
遺伝毒性発がん物質	+	+
非遺伝毒性発がん物質	-	+

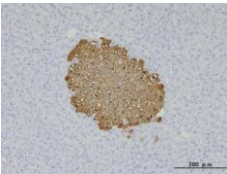
- プロモーション期に被験物質を投与し、前がん病変あるいは腫瘍発生を対照群のそれと比較することにより、化学物質の発がんプロモーション作用、ひいては発がん性を検討する試験法
- 単一臓器2段階発がん試験法、例えばラット中期肝発がん性試験法(伊東法)とラット中期多臓器発がん性試験法が医薬品の開発で承認

JBRC

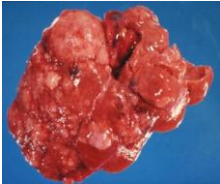
JISHA

正常 → 前がん病変 → 良性腫瘍 → がん

肝臓

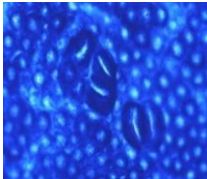


GST-P 陽性細胞巢

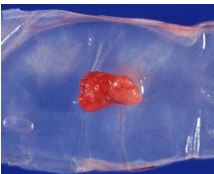


肝臓がん

大腸



変異クリプト巢 (ACF)



大腸がん

GST-P 陽性細胞巢: Glutathione S-transferase placental (GST-P) positive foci
変異クリプト巢: Aberrant crypt foci (ACF)

JBRC

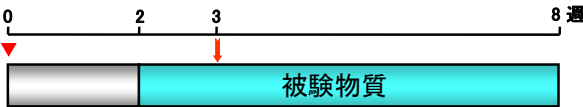
JISHA

肝臓を標的とする発がん物質数

出典	検索 化合物質	発がん物質	
		総数	肝臓標の数
IARC	587	147	87 (59%)
NCI/NTP	224	149	80 (54%)

IARC Monographs, Supplement 7, 1987
E. Zeiger, Cancer Res., 1987

ラット中期肝発がん性試験法(伊東法)



動物: F344雄ラット 6週齢

▼: DEN 200 mg/kg, 腹腔内投与. ↓: 2/3部分肝切除

肝GST-P陽性細胞巢
v.s. 対照群: 増加→促進作用あり
v.s. 対照群: 減少→抑制作用あり

JBRC

JISHA

327種類の化学物質のラット中期肝発がん性試験
(伊東法)における陽性率

被験物質の発がん性	陽性率 (%)			
	遺伝毒性 (Ames 試験等)			合計
	陽性	陰性	未知	
肝発がん物質	31/32(97) ^a	29/ 33(88) ^b	1 /1(100)	61/ 66(92)
非肝発がん物質	7/26(27)	2/ 15(13)	1/ 2(50)	10/ 43(23) ^d
非発がん物質	0/ 6(0)	1/ 42(2) ^c	0/ 2(0)	1/ 50(2) ^d
未知	4/14(29)	32/ 90(36)	15/64(23)	51/168(30)
合計	42/78(54)	64/180(36)	17/69(25)	123/327(38)

a, 陰性の1物質; 4,4-diaminodiphenylmethane
b, 陰性の4物質; ペルオキシゾーム増生作用をもつ物質: clofibrate, di(2-ethylhexyl)adipate,
di(2-ethylhexyl)phthalate, trichloroacetic acid
c, 陰性の 1物質; malathione
d, 合計11物質; 陽性だが、肝発がん性はみられない

JBRC

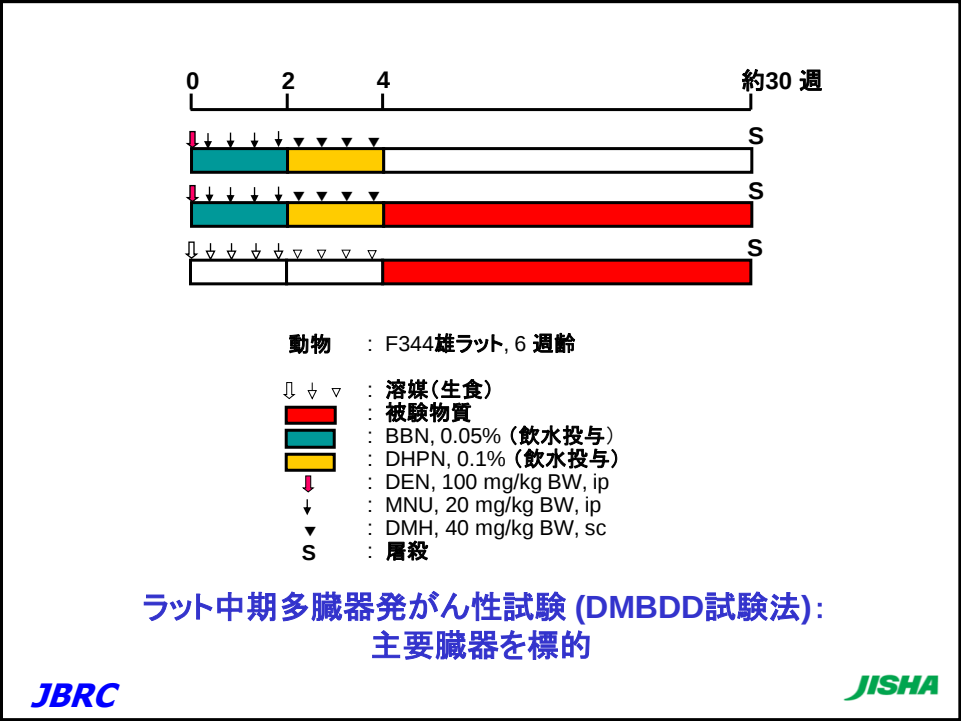
JISHA

中期多臓器発がん性試験法の必要性

- すべての臓器についてそれぞれの2段階
発がん性試験を実施することは不可能
- 時間、コスト等の軽減が必要
- 主要臓器についてのスクリーニングが重要

JBRC

JISHA



65 種類の化学物質のラット中期多臓器発がん性試験 における陽性率 (DMBDD/DMD 試験法)

被験物質の 発がん性	陽性率 (%)			合計	
	遺伝毒性 (Ames 試験等)				
	陽性	陰性	未知		
肝発がん物質	12/12(100)	5/ 5(100)	0/0(0)	17/17(100)	
非肝発がん物質	10/11(91) ^a	8/10(80) ^b	1/1(100)	19/22(86)	
非発がん物質	0/ 1(0)	0/ 4(0)	0/0(0)	0/ 5(0)	
未知	0/ 1(0)	8/13(62)	3/7(43)	11/21(52)	
合計	22/25(88)	21/32(66)	4/8(50)	47/65(72)	

^a, 陰性の1物質; B[a]P

^b, 陰性の2物質; sesamol, diaminozide

JBRC

JISHA

まとめ

1. 中期肝発がん性試験法(伊東法)では、肝臓発がん物質をほぼ100%の確率で検出でき、しかも偽陽性や偽陰性になる確率が極めて低く、信頼性の高い試験法である
2. 中期多臓器発がん性試験法では、全身諸臓器における発がん性を1個体で総合的に検索し、臓器標的性を明らかにできる極めて有用な試験法である
3. 化学物質の発がんリスクを評価するには、用量反応性など様々な角度からの検討が必要であり、中期発がん性試験法は発がんリスクの評価上、重要な試験法となる

JBRC

JISHA

遺伝子改変マウス

ras H₂ マウス

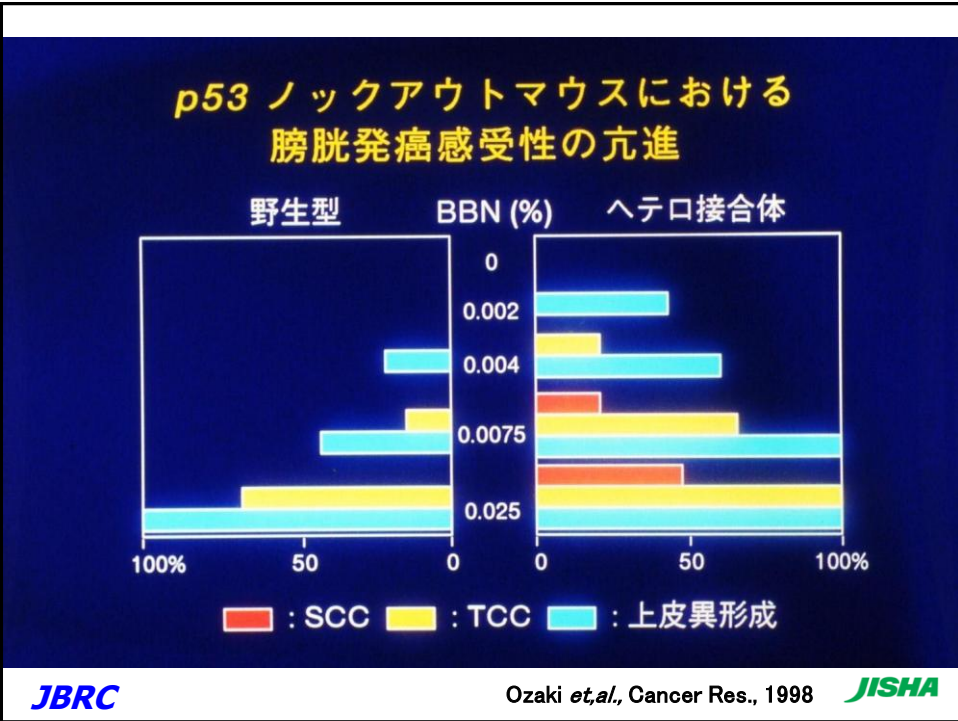
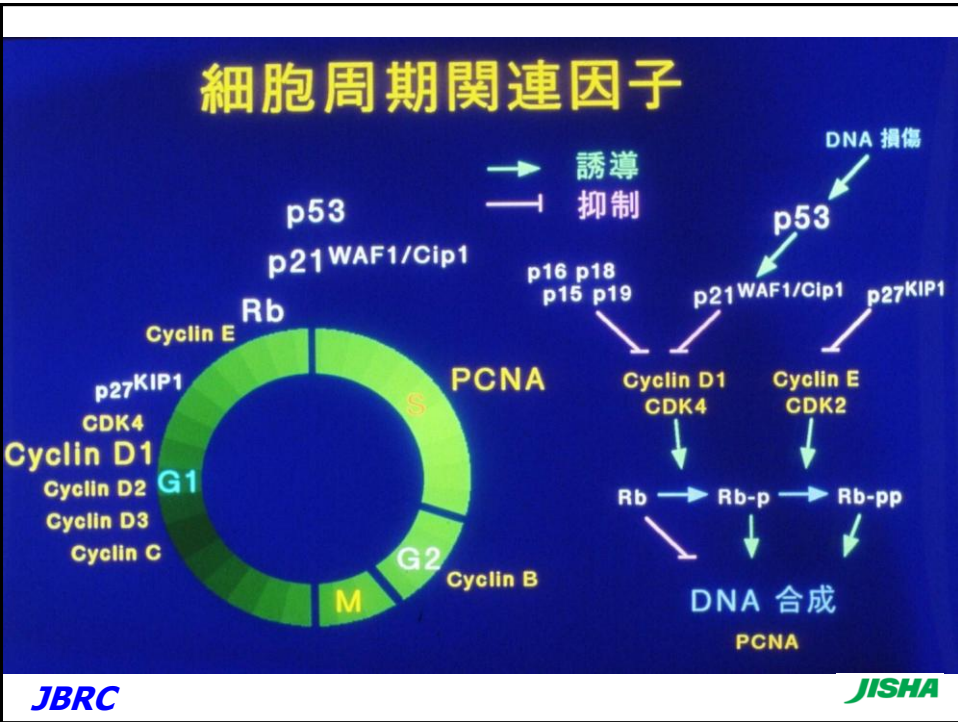
- ヒトプロト型c-Ha-rasがん遺伝子を挿入した遺伝子改変マウス
- 発がん物質に対する感受性が高い。しかし、鎮静剤のphenobarbitalは陰性

*p53*ノックアウトマウス

- p53がん抑制遺伝子をノックアウト(*p53*^{+/-})したマウス
- 発がん物質、特に遺伝毒性発がん物質に感受性が高い。しかし、鎮痛剤のphenacetinは陰性

JBRC

JISHA



化学物質の発がん性評価の加速化

S. Fukushima et al.

化学物質の発がん性評価の加速化の検討

広く労働者の安心を確保するため、職場で使用される化学物質の発がん性評価を迅速に進めることが必要

長期発がん性試験の効率化

国の委託事業で行っている長期動物試験(2年間)の効率化

化学物質の発がん性スクリーニングによる迅速化

長期試験を行う前に発がん性の可能性を判定



「化学物質のリスク評価検討会」 有害性評価小検討会における検討

平成24年9月～12月

有害性評価小検討会

(座長) 大前 和幸 慶應義塾大学医学部教授

池田 敏彦	横浜薬科大学臨床薬学科教授
江馬 眞	独立行政法人産業技術総合研究所安全科学研究部門 招聘研究員
小野寺 博志	独立行政法人医薬品医療機器総合機構上級スペシャリスト(※)
櫻井 治彦	中災防・労働衛生調査分析センター技術顧問(※)
清水 英佑	中災防・労働衛生調査分析センター所長
高田 礼子	聖マリアンナ医科大学医学部予防医学教室教授
津田 洋幸	名古屋市立大学特任教授
西川 秋佳	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
福島 昭治	中災防・日本バイオアッセイ研究センター所長(※)
宮川 宗之	独立行政法人労働安全衛生総合研究所研究企画調整部 主席研究員
吉田 緑	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター 病理部 室長(※)

(※)は今回の検討のための特別参集者

長期発がん性試験の効率化

現行

労働安全衛生法第57条の5に基づき、国が試験機関に委託して実施
(実施機関：日本バイオアッセイ研究センター)

- ◎ 2種のげっ歯類(ラット、マウス)を使用
- ◎ 2年間の吸入ばく露試験
- ◎ OECDテストガイドラインに準拠

長期発がん性試験の効率化

今後

医薬品製造販売の承認制度を参考とし、以下の方法を試験的に導入

- ◎ 長期試験に使用する実験動物
 - ・ 2種 → 1種(原則としてラット)
- ◎ 長期試験に加えて、短期・中期試験を実施
 - ・ 短期・中期試験としては、以下の①、②のいずれか
 - ① 2段階発がんモデルによる試験
 - ② 遺伝子組み換え実験動物を使用する試験

化学物質の発がん性スクリーニングによる迅速化

製造輸入量等による絞り込み

↓
遺伝毒性の有無の判断(既存の試験結果、構造活性相関により判断)

遺伝毒性あり

判断不可

遺伝毒性なし

↓
遺伝毒性の強さの判断

強い

弱い

判断不可

↓
*in vitro*形質転換試験、
遺伝子の発現量測定による
発がん性予測試験等

↓
ヒトへの発がん性の
可能性あり

↓
遺伝毒性試験の実施
↓
遺伝毒性強い

↓
短期・中期発がん性試験

2段階発がんモデルによる肝発がん性試験を優先的に実施

↓
長期発がん性試験の実施

JBRC

(厚生労働省有害性評価小検討会資料を改変)

JISHA

短期・中期発がん性試験の実施によるスクリーニング

◎ 試験期間のより短いラット肝発がん性試験（伊東法）を優先的に実施

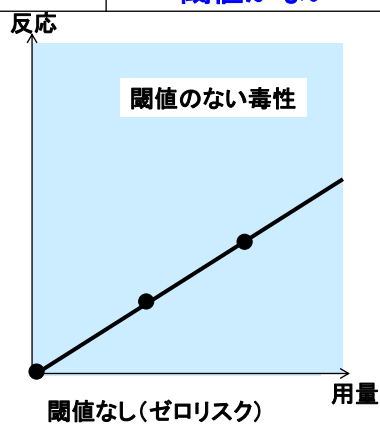
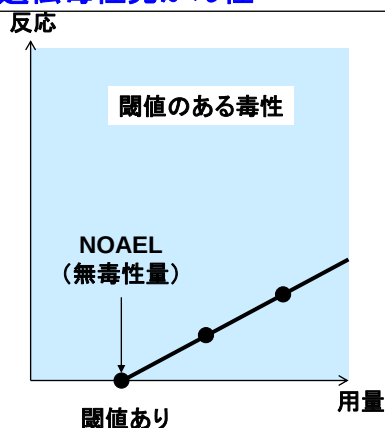
（本試験：8週間）

- 陽性の結果の得られた物質
 - 健康障害防止措置の指針による事業者の指導
 - 原則として、順次、長期発がん性試験を実施
- 陰性の結果の得られた物質
 - 必要に応じて、その他の2段階発がんモデルによる試験等を実施（多臓器発がん性試験等）

遺伝毒性発がん物質の低用量発がん性

高用量域から低用量域の外挿: 閾値は？

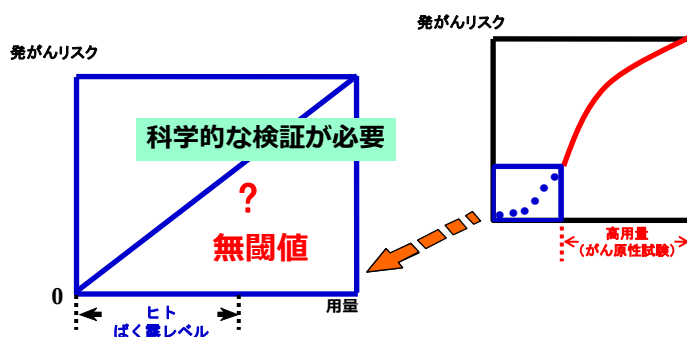
■ 肝臓障害、腎臓障害など一般的な毒性 ■ 非遺伝毒性発がん性	閾値がある
■ 遺伝毒性発がん性	閾値がない



S. Fukushima et al.

低用量域での遺伝毒性発がん性の仮説

高用量域から低用量域への外挿



遺伝毒性発がん物質

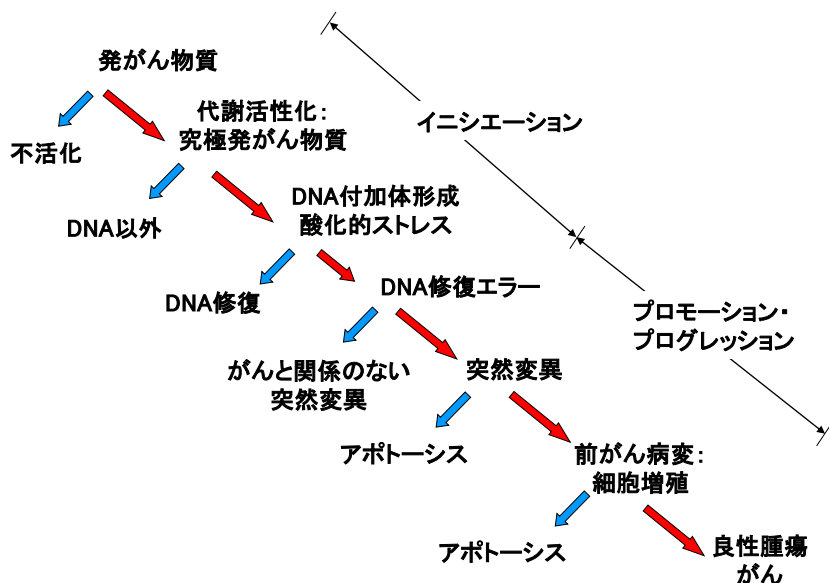
1. 低用量: 自然発生と同じ頻度の発がん性、発がん性の証明は困難
2. DNAと付加体形成→不可逆的な損傷(古典的な考え)



閾値がないとの仮説に基づいて発がんリスクを評価

S. Fukushima et al.

化学発がんのプロセスとメカニズム

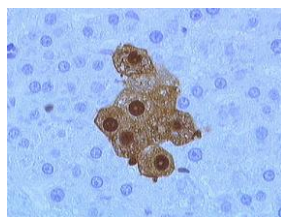


S. Fukushima et al.

中期発がん試験法の有用性

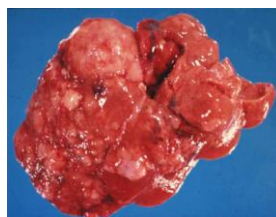
正常 → 前がん病変 → 良性腫瘍 → がん

中期発がん検索法



個数・面積 / 単位面積
胎盤型のGlutathione S-transferase
(GST-P) 陽性細胞巢

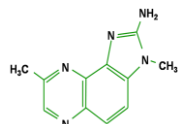
発がん性試験



発生頻度
肝がん

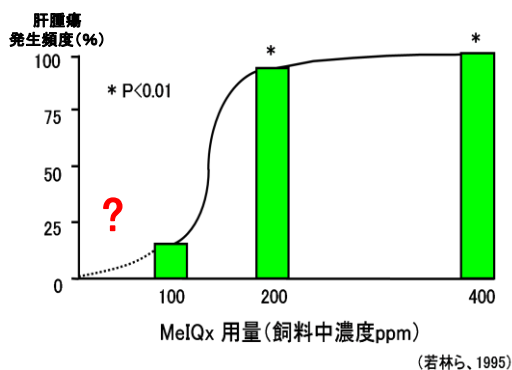
S. Fukushima et al.

MeIQx



- 焼けこげ中に存在する
ヘテロサイクリックアミンの一種
- 変異原性陽性
- 肝発がん物質
- ヒトの摂取量: 0.2~2.6 μ g/日

ラットにおける肝発がん性



S. Fukushima et al.

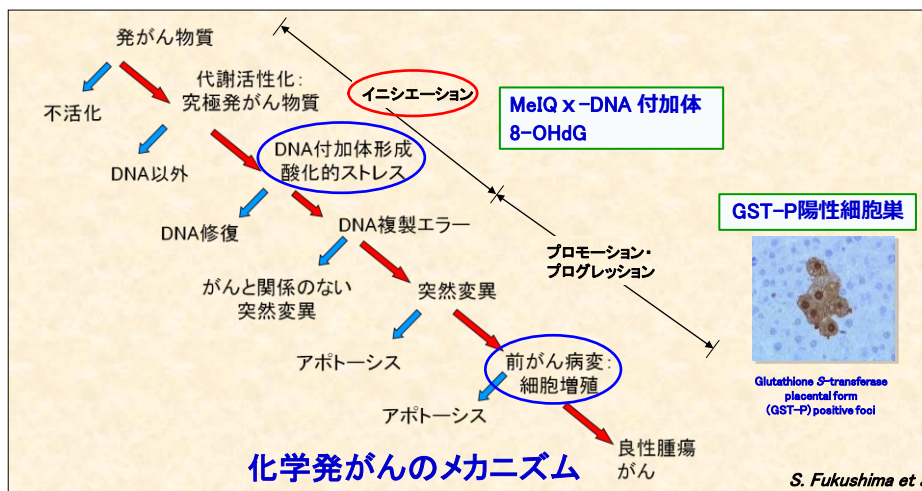
MeIQxの低用量域における肝発がんの検討

0 4 16 32 週

MeIQx

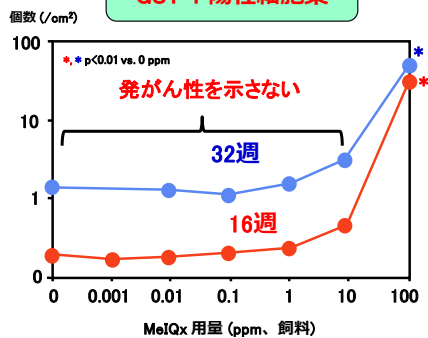
動物: 3週齢、雄性F344ラット、1,180匹

MeIQx: 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 ppm (飼料中用量)

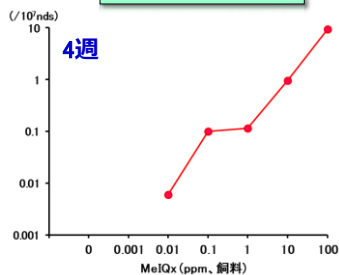


MeIQx投与ラット肝における各種マーカーの出現

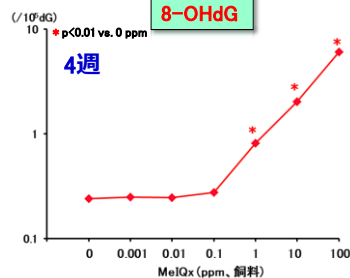
GST-P陽性細胞巢



MeIQx-DNA 付加体



8-OHdG



S. Fukushima et al.

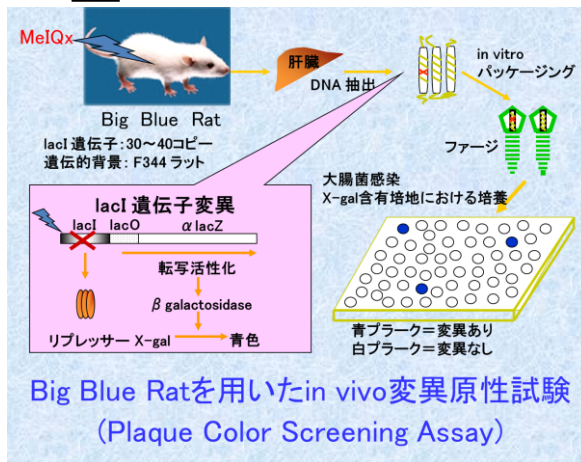
MeIQxのBig Blueラット肝における変異原性および発がん性の検討

0 16 週

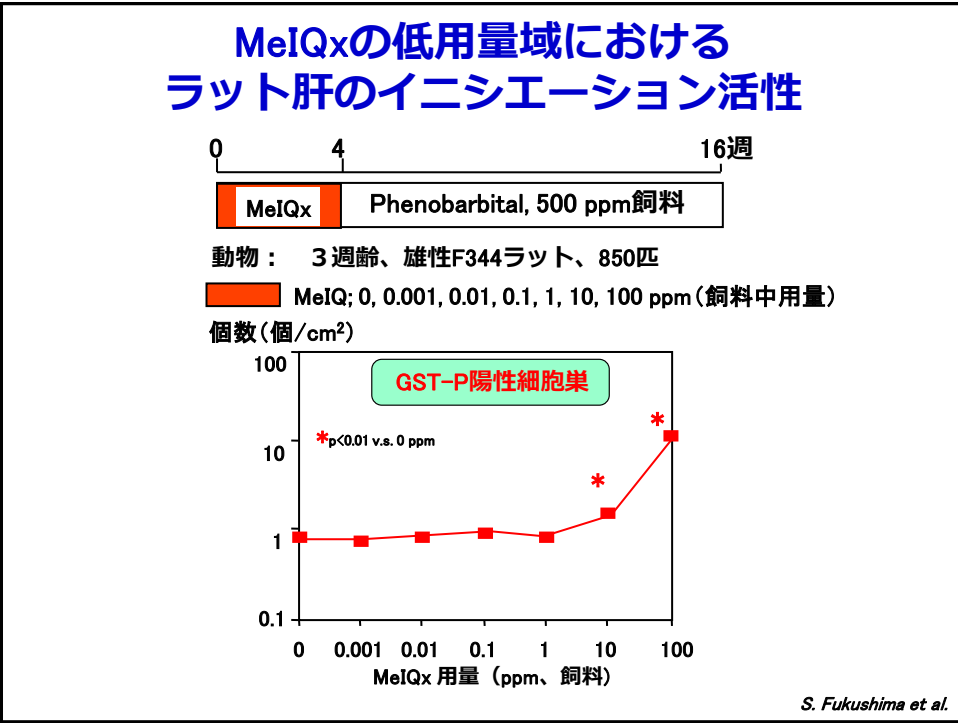
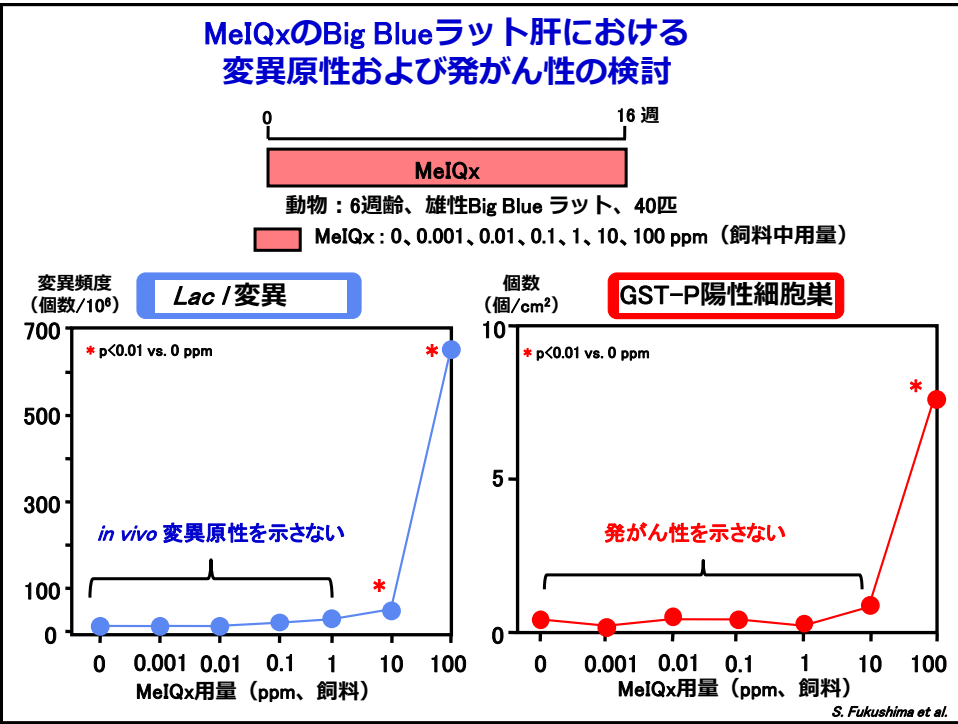
MeIQx

動物：6週齢、雄性Big Blue ラット、40匹

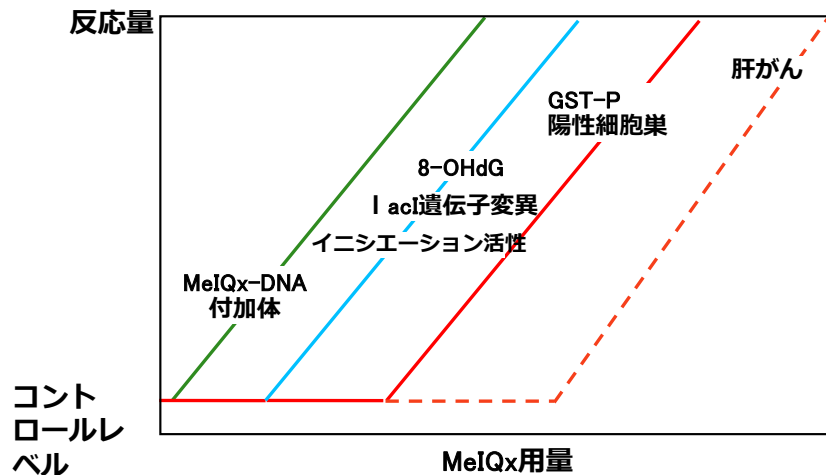
MeIQx：0、0.001、0.01、0.1、1、10、100 ppm（飼料中用量）



S. Fukushima et al.



**肝発がんリスク：
MeIQx低用量域における各種発がんマーカーの反応**



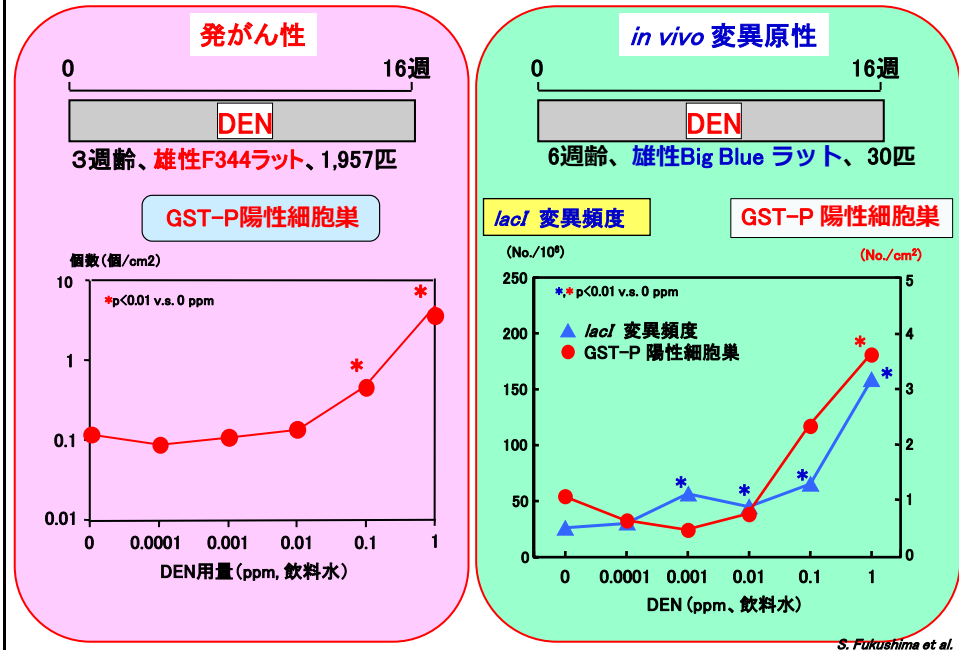
S. Fukushima et al.

**Diethylnitrosamine
(DEN)**

- 空気、水、食品などに存在するN-ニトロソ化合物
- 体内で亜硝酸塩と二級アミンとの反応で生成される
- 変異原性陽性
- 肝発がん物質
- ヒトの摂取量：数μ g/日

S. Fukushima et al.

DENの低用量域におけるラット肝発がん性および変異原性の検討



低用量発がん性の結論

1. 遺伝毒性発がん物質には、種々のマーカーの反応曲線から閾値、少なくとも実質的な閾値が存在する
2. 発がん物質の生体における吸収、代謝活性化、DNA付加体等に対する修復、アポトーシス、免疫能、修飾等の反応を考慮すべきである
3. 閾値の存在という事実はリスクアセスメント、ならびにマネジメントに大きく貢献する
4. 閾値問題について、世界共通の認識を築くことが重要である

S. Fukushima et al.

終わりに

化学物質への依存度が今後、益々高まることは確実である。それとともに化学物質へのばく露による健康影響、特にがん罹患への懸念を人々は大きく抱く。したがって、より多くの化学物質の発がん性を見出し、それをリスク評価し、それに対するリスク低減策をより早くとることが良好な職場環境作りに望まれる。また、安全かつ信頼に足る職場環境作りには情報伝達が果たす役割は大きい。ここにリスクコミュニケーションの重要性がある。

JBRC

JISHA

共同研究者

津田洋幸	元国立がんセンター研究所化学療法部
白井智之	元名古屋市立大学医学部第一病理
立松正衛	元愛知県がんセンター研究所腫瘍病理
小西陽一	元奈良県立医科大学附属がんセンター腫瘍病理
中江 大	元佐々木研究所病理
高橋道人	元国立医薬品食品衛生研究所病理部
広瀬雅雄	元国立医薬品食品衛生研究所病理部
若林敬二	元国立がんセンター研究所がん予防研究部

S. Fukushima et al.

