



発がん物質と化学物質の人に対するリスク評価

— 過去と現状の諸問題 —

元国立がんセンター研究所 所長 明治製菓株式会社 創業研究部門
 高山 昭三 安福 一恵

1. はじめに

山極勝三郎・市川厚一や佐々木隆興・吉田富三らによって化学物質を動物に与え実験がんの発生に成功して以来、各種の発がん物質が発見され、これらの化学物質を用い人に発生する各種のがんを実験動物に作るができるようになった。実験動物も過去30年程で種、系ともに改良され、発がん実験に有用な動物種も開発された。実験が進展するにつれ動物に化学物質を与えた場合に見られる作用機作が果たして人に当てはまるものか否かを検討することも問題になってきた。アメリカを中心に議論されつつある。この総説には発がん研究の歴史と現状の問題の幾つかを例に解説した。

2. 発がん研究の歴史

がんが医学書に初めて記載されたのは1775年で、イギリスのポット卿による職業がんとしての煙突掃除人陰囊皮膚がんであった。1800年代に各種の化学工業が発展し、その結果、アニリン、ベンチジンなどの曝露をうけた人に膀胱がんが発生した。このような背景もあってドイツのウイルヒョーは、がんは「慢性の刺激により発生する」という有名な発がん刺激説を提唱した。ウイルヒョーのもとに留学した山極勝三郎は市川厚一と共に腫瘍が自然発生することのない兎の耳の内側にコール・タールを年余にわたり連続塗布し、1915年、初めて動物にがんを発生させることに成功した。残念なことに山極の偉大な研究はそれから先に進展しなかった。山極の研究はその後イギリスに渡り、ロンドン王立がん研のケナウエーらによってコール・タールの中から発がん性のジベンゾアントラセンを、次いで1932年にはベン

ゾピレンが分離された。

3. 発がん性の定義と発がん実験

この物質に発がん性があると言えば人々は物質に対して恐怖感を持つであろう。しかし、発がん性という言葉は定義が曖昧で、何に対してあるのかははっきりしない。発がん性があるという言葉の意味は、ある種の物を動物に与えた場合、対照群に比して腫瘍が高率に、多数、しかも早く発生した場合に用いられる。1958年アメリカ下院議員デラニーは、発がん性のあるものを食品に加えてはならないという条項を議会に提案し可決された。世界中の人々から「アメリカの良心」とまで言われたものである。一連の動きもあって各国で医薬品、食品添加物などについて、ラット、マウスで発がん実験が行われ、各種化合物の発がん性が証明された。しかし、標準的な発がん実験には、3年近い歳月と多額な費用、多数の動物が必要である。動物種は2種、雌雄それぞれ50匹ずつ、投与量は2用量、観察期間は2～2.5年、全例剖検し組織診断を必要とするもので、対照群を含めると一化合物のテストに600匹のげっ歯動物が必要となる。1970年代には年間約300の化学物質の発がん実験が行われたが、世界中でこの種の試験ができる機関は多くない。加えて毎年新規テスト化合物が加わるので、検査はとても追いつかない。日本でも当時の厚生省が研究組織を設け添加物、医薬品を含めラット、マウスで発がん実験を行った。その結果、優れた食品防腐剤であったAF-2や、当時うどん、しらす干の漂白に使った過酸化水素などに突然変異原性、発がん性が証明され、社会問題になった。残念なことに、当時は動物実験室の設備が貧弱で、かなりの化学物質が長期発がん実験にかけられたにもかかわらず、

国際的評価に耐えられた数は少なかった。

4. 動物実験に代わる簡便テスト法

動物実験を行う前に当該化学物質を *in vitro* で細胞に加え染色体異常を誘起させ、その結果、陽性のものだけをげっ歯類で発がん実験する方法が考えられた。AF-2、過酸化水素など多くの化合物がこの篩^{ふるい}にかけられ動物実験された。染色体異常とは、姉妹染色体交換を顕微鏡下でみるもので、一組のペアに分かれた染色体分体がその一部を交換する現象である。正常細胞にも少数認められるが、発がん性のある化学物質を加えたものでは正常の数十倍も異常が観察できる。

一方、突然変異原性の陽性、陰性で発がん物質であるか否かの判断が出来ないかという発想で開発されたものにエームズ法がある。エームズは長年細菌のヒスチジンの生合成について研究してきた。彼はサルモネラ菌の一種でヒスチジンを生合成できない菌をまず分離した。復帰突然変異が起こるとヒスチジンが合成できるようになるので、この変異を指標に数を調べ突然変異の強さを知る方法である。エームズ法のもう一つの特徴は、サルモネラ菌に、調べる化学物質とラット肝のS-9分画を加え、S-9ミックスとして用いたことである。その結果化学物質がS-9ミックスの中の酵素で代謝され活性体になり、突然変異原性が容易に検出できるようになった。エームズ法は *in vivo* 発がん実験に比べ数日で結果が出、一検体当たりの費用も安価、技術的にも難しくないため、迅速簡便なテスト法として実用化された。エームズは変異原物質の約90%に発がん性があり、非変異原性物質の約90%は非発がん性であったと報告した（後にこの数値は多くの実験結果から、それほど高いものでないことも報告された）。

5. げっ歯類による発がん実験についてのエームズの見解

エームズ法や、*in vitro* での細胞染色体異常のテストは、げっ歯類による発がん実験に比べはるかに簡便で、多数の発がん性化学物質のスクリーニングが可能である。反面、*in vitro* のテストのみで、当該化学物質が人の発がん物質として（高いリスク因子として）評価できるかといった疑問もある。アメリカでは、これら簡便テストが開発される以前の1962年から、環境発がん因子、医薬品などについて霊長類を用いて発がん実験が開始された（高山昭三、本誌49巻10号、2003年参照）。1997年エームズらは、げっ歯類に化学物質を、特に合成された化学物質の発がん実験についていくつかの疑問点を投げかけた（FASEB J 11: 1041-1052, 1997）。1）第1は、自然界にあるもの、合成された化合物を問わず、げっ歯類に最大耐量（MTD）を与えれば、約50%に発がん性が証明される。2）規制は合成化学物質に焦点を合わせているが、実は人が毎日食べている化学物質の約99%は自然界にあるものである。3）例えば、コーヒー中には約1000種の化学物質が存在する。内、28種類についてげっ歯類に最大耐量を与えたところ、19種に発がん性が証明された。しかし、コーヒーを飲んだ人々の間にある特定臓器のがん発生は報告されていない。4）野菜、果物には“natural pesticides”が多数含まれている。これらの化学物質は自分自身を昆虫などから食べられないように防衛するためにある。Natural pesticides 63種類をげっ歯類に与え発がん性を調べたところ、35種が陽性であった。5）化学物質の低用量曝露による人の発がんリスク評価の方法は確立されていない。6）1970年、NAS（National Academy of Sciences）



は DDT の使用で 500 万人以上の人々がマラリア死亡から免れたにもかかわらず、マウスに DDT を与え肝がんができたという理由だけで使用を禁止した。疫学研究で DDT 暴露で人にがんが発生したという報告もない。以上の事柄は、最大耐量をげっ歯動物に与えて得た結果であって、人のがんを発生させたかどうかについて検討を加えたものではないと述べた。

コールドらは 1999 年 NTP (National Toxicology Program) や NCI (National Cancer Institute) の私共の霊長類発がん実験を含めて、げっ歯類によるものと比較検討した (Environmental Health Perspect 107 (suppl 4): 527-600, 1999)。論文には化学物質の発がん性は、動物種が異なると同じ化合物によっても発がん性に顕著な差のあることが報告された。例えば、25 種の化学発がん物質中、げっ歯類に陽性、霊長類に陰性とでたものが 11 種、げっ歯類、霊長類とも陽性だったものが 11 種あった。この差異についてゴールドは、1) 実験頭数が霊長類実験では少ない。2) 霊長類では毒性が出現すると、その時点で一度投与を中止し、回復をまって再投与した。従って継続実験でなかったケースのあること、3) 霊長類には最大耐量投与でなく、低い用量が設定されていたなどの理由をあげている。

6. 医薬品に関する ICH ガイドライン

1989 年 11 月 1 日厚生省は日、米、EU 間でとり決めた医薬品のがん原性試験 (ICH ガイドライン) を定めた。それは、人に安全な医薬品を提供するための試験方法で大変に重要である。内容は、1) 遺伝毒性試験の結果、がん原性が疑われる化学物質、2) 製品レベルの曝露で人にがん原性をひき起こす懸念のあるもの、3) 構造活性相関から遺伝毒性、がん原性が懸念されるもの、4) 反復投与実験で、前腫瘍性病変が発生した化合物、5) 親化合物又は代謝物が長期間局所に停留し、腫瘍様病的変化を形成するもの、6)

投与期間が 6 カ月以上にわたるものなどについて発がん性テストを行うといった骨子である。その方法は、1) 1 群雌雄それぞれ 50 匹、1 種類の動物種に加えて短・中期実験を加える。2) ラットは 24 ~ 30 カ月、マウス、ハムスターは 18 カ月で 24 カ月観察する。3) 投与は臨床適用経路、4) 腫瘍以外の原因による死亡率が 18 カ月で 50% 以内、5) 剖検を全例について行い、組織学的検査も行うという内容である。安全性を確保するために必要欠くべからざる試験であるが、この実験を遂行できる機関に限りがある。また剖検を含め診断の精度管理にも問題があるだろう。

7. 動物の作用機作(MOA)は人に当てはまるのか

2003 年アメリカのコーエンらは、EPA (Environmental Protection Agency) や IPCS (International Program on Chemical Safety) らの専門家とある物質を動物に与えた場合、動物にみとめられた作用機作 (Mode Of Action, 略して MOA) が人に当てはめられるか、また、根拠は何かなどについて討議し、その一部の結果を報告した (Critical Reviews in Toxicology 33: Issue 6, 2003)。

問題の第一は、動物の MOA に関する情報は、MOA の根拠として十分か、第 2 は動物の MOA が人に当てはまる可能性の質的な検討、第 3 は kinetic 及び dynamic factors が果たして人に当てはめられるのか、というものである。もし、MOA が動物種に固有なものであれば、それについて評価する理由は無くなる。具体例として Phenobarbital によるラットの甲状腺がん発生、chloroform のラットと人の toxic kinetic な比較、melamine の人に対する潜在的危険性などについて解説した。

8. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α -Agonist (PPAR α -Agonist) と発がん性の問題

2004 年、Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α -Agonist (PPAR α -Agonist) の MOA が、人のがん発生との関連性について問題を提起し

た。除草剤、一部の薬品、Clofibrateなどはラットの肝、脾、睾丸などの細胞の peroxisome 増殖を促す作用がある。Peroxisome 増殖を促進する化学物質の中には、DNA と直接に反応しないものもあり、医薬品や他の化学物質による腫瘍性増殖反応を考える上で重要な課題となるであろう。

9. 人に対する化学物質の安全性評価

化学物質が人に発がん性を有するかどうかについての評価は、動物実験の発がん性試験結果だけでは不十分で、定量的な評価をする必要がある。人の生活環境下には除くことのできない多くの化学物質が存在する。例えば魚や肉の焼け焦げ中にあるヘテロサイクリックアミン、代替品のない医薬品などである。人は各種の化学物質を極めて低用量でとっている。残念ながら現在低用量による人の発がんリスク評価の方法は確立されていない。さらに問題となるのは、化学物質の複合要因による人への影響である。職業がんの例でみられたように、発がん物質を避ければ発がんが抑制されるものなら問題は少ない。人のがんは多数因子と外的的要因を含めた総合作用の結果発生すると考えられている。多数の化学物質が複合して作用すれば、物質同志の相加、相乗、あるいは抑制などの作用が複雑に絡みあう。この問題は今後の大変重要な研究テーマである（参考、高山昭三他、Jpn J Cancer Res 80: 732-736, 1989）。

10. 安全性評価、動物種とその選択

人に対する各種の化学物質の安全性試験を行う場合、種を選択は重要である。砂原茂一は著書「薬・その安全性 岩波新書 1986 年」にスミスの言葉を引用し、“系統発生上、人に近い動物種が薬に対して人により近い反応を示すであろうが、

薬というものは極めて個別性の高いものであるので、できあいの便利な動物種は無い。10種類の薬について人と反応が良く一致したのがサルで5種類あった。また犬で4種類あった。やや一致した薬はサルで4種類、犬では1種類のみであった”とのべている。このように試験に用いる動物の選択は難しい。医薬品も含めて生活環境下には多数の化学物質が存在する。そして、毎年新規な化学物質が加わってゆく。これらの物質の人に対するリスク評価について知識、技術、考え方はここ30年間で格段に進歩した。しかし、低用量作用、複合因子による作用を含め、多くの課題が残されたままである。

11. おわりに

げっ歯動物を使って化学物質の発がん性を検出する実験があまりに手間、年月、経費などを必要としたので、エームズらによる簡便な突然変異原性を調べる方法や、in vitro での染色体異常の検出法などが進み、これらの実験結果から細胞DNA障害をおこす物質と発がん性との相関が高いことが分かってきた。しかし、よく調べてみると、動物による in vivo 実験も含め両者の関係が明確でない部分も同時に明らかになってきた。従って、発がん性化学物質を特定したり規制したりすることも出来ないのが現状である。ましてや化学物質の低用量作用、複合作用などの問題は発がんに関していえば未解決のままである。近年、動物で得られた MOA が人のがん発生に果たす役割なども論議されつつある。これとてがん発生に関する要因の一部を説明することだけに過ぎないのかも知れない。もっと明解な成果が出ないことには、化学物質によるがん発生問題には疑問が残るのみで一層の研究が望まれる。