

内閣府食品安全委員会
平成18年度食品安全確保総合調査

農薬の複合影響評価法に関する文献調査
報告書

平成19年3月

株式会社三菱化学安全科学研究所

はじめに

本報告書は、内閣府食品安全委員会事務局から株式会社三菱化学安全科学研究所への委託事業「農薬の複合影響評価法に関する文献調査」の結果を取りまとめたものである。

近年、国民の健康への関心、特に食の安全への関心は高まっている。農薬については、食品への残留とヒト健康への影響、特に最近では農薬の複合影響に関して、行政と国民との接触を持つ場（官公庁のホームページや公開会議、懇談会等）において、一般からの質問が多く出されるという。農薬の複合影響という分野は多岐に渡り、複合影響という問題そのものが存在するかどうかの議論をはじめとして世界的にも研究段階にあり、現状では一般からの質問等に対して正しく回答し得る材料としてまとめた情報が不足している。これらの状況から、最新情報の収集及び整理を行うことが必要とされている。

本調査では複合影響、特に複数の農薬間で及ぼし合う毒性影響に係る資料を収集・整理し、今後の農薬毒性評価に資することを目的とし、取りまとめた。

なお、適切な情報の収集・整理及び解析・考察等を行うため、別紙に示す有識者から構成される検討会を開催した。取りまとめにあたり、貴重なご意見・ご協力をいただいた検討会委員の方々に深甚なる感謝の意を表する次第である。

平成 19 年 3 月

株式会社三菱化学安全科学研究所
リスク評価研究センター

農薬の複合影響評価法に関する検討会 委員（五十音順）：

- 小澤 正吾 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
薬理部・第三室長
- 鈴木 勝士 日本獣医生命科学大学獣医学部 教授
- 吉田 緑 独立行政法人放射線医学総合研究所 放射線防護研究センター
発達期被ばく影響研究グループ実験病理チーム研究員

○：座長

目 次

はじめに

1. 緒言	1
2. 農薬の複合影響評価法に関する国際動向	2
2. 1 概要	2
2. 2 EU	4
2. 3 FAO/WHO	13
2. 4 米国	15
2. 5 英国	28
2. 6 デンマーク	40
2. 7 オランダ	44
3. 農薬混合物の毒性学	47
3. 1 複合影響の概念	47
3. 2 英国	50
3. 3 デンマーク	55
3. 4 本報告書における文献検索	62
4. 農薬の複合影響評価法	78
4. 1 概要	78
4. 2 米国EPAの手引き	86
4. 3 リスク評価の実例	110
5. まとめ	138
5. 1 農薬の複合影響評価法	138
5. 2 農薬の複合影響の可能性	140
6. 参考文献	142

添付資料 1 各国文書の要約

- 1-1 EFSA : ヒトの健康に対する農薬の累積リスク評価：新しい方法、2006年
- 1-2 米国 1 : 共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き、2002年
- 1-3 米国 2 : 共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き、1999年
- 1-4 米国 3 : 有機リン系農薬の累積リスク評価－2006年更新版、2006年
- 1-5 英国 : 農薬及び類似物質の混合物のリスク評価、2002年
- 1-6 デンマーク : 食品中の農薬の複合作用、2002年

添付資料 2 代表的な用語の翻訳

添付資料 3 文献検索結果

- 3-1 Toxline Core on PubMed
- 3-2 Toxline Special
- 3-3 JDream II

別添資料 (CD-ROM) : 収集文献 PDF ファイル

1. 緒言

食品安全委員会で農薬の食品健康影響評価を行うにあたり、毎日一生食べ続けても健康に悪影響が出ない量として、無毒性量 (NOAEL) を安全係数で除した一日許容摂取量 (ADI) を設定している。

しかし近年、農薬を含めた化学物質について、個別には安全性評価がなされていても、それらが同時に摂取された場合のヒトへの健康影響については、化学物質の組合せが無量大であり、それらの毒性を調べることは現実的でないことから、方法論を含め、更なる研究成果を待つところである。一方で、農薬同士についてはその相互影響を調べることは、全く異種の化学物質同士の相互影響を調べるよりは比較的簡単であり、かつ、実際摂取する可能性としては高いと考えられる。

複合影響を調べるための第一歩として、複数の農薬間で、それらの急性及び慢性毒性を加算する可能性があるのか等について、最新の研究成果を調べることは安全性を担保する上で必要である。

本調査では複合影響、特に複数の農薬間で及ぼし合う毒性影響に係る資料を収集・整理した。

2. 農薬の複合影響評価法に関する国際動向

2. 1 概要

農薬の複合影響評価法に関する各国の動向、及び刊行された主な文書を表-2.1 に示す。一般に、国際的な動きとしては、農薬混合物のリスク評価について総合的に研究・検討した基本的な文書が作成され公表されている（EU、米国、英国、デンマーク）。このうち米国では、さらに研究を推進し、農薬の累積リスク評価に関する手引きが策定された。

表-2.1 農薬の複合影響評価法に関する国際動向

	動 向
	農薬の複合影響評価法に関する主な刊行文書 (上から順に、・作成機関 / ・「標題」; 発表年月 / ・性格)
EU	2006年2月に改正された欧州議会/理事会規則には、欧州食品安全局と協議し、活性な物質の混合物の累積及び相乗作用を考慮して、農薬の最大残留基準(MRL)を設定しなければならないことが規定されている。
	<ul style="list-style-type: none"> ・ 欧州食品安全局 (EFSA) ・ 「ヒトの健康に対する農薬の累積リスク評価:新しい方法」; 2006年11月 (EFSA 2006¹⁸⁾) ・ 農薬の累積リスク評価法に関する EFSA の科学討論集会の成果をまとめた文書
FAO/WHO	FAO/WHO 残留農薬合同会合 (JMPR) は、1981年に残留農薬の相互作用について考察した。
	—
米国	EPA は、1986年9月のガイドラインの補足を目的として、2000年8月に「化学物質混合物の健康リスク評価を実施するための補足手引き」を発表した。その後2002年1月、1996年の食品品質保護法 (FQPA) の規定に対応するため、EPA は農薬の累積リスク評価に関する手引きを策定した。また、EPA は1999年、長期にわたる EPA 全体の累積リスク評価の手引きの策定を開始し、2003年5月には枠組みとなる文書を発表した。
	<ul style="list-style-type: none"> ・ 環境保護庁 農薬計画部 (EPA, OPP) ・ 「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」; 2002年1月 (U.S. EPA 2002⁶⁸⁾) ・ FQPA の規定に対応するための農薬の累積リスク評価法に関する手引き
英国	食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性委員会 (COT) は2000年、農薬・動物薬の混合物のリスク評価に関する作業部会 (WiGRAMP) を設立し、農薬混合物のリスク評価に関する文書を発表した。COT 報告書の公表後、食品基準庁 (FSA) は、COT の勧告を推進するため委員会を設立した。
	<ul style="list-style-type: none"> ・ 食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性委員会 (COT)

	<ul style="list-style-type: none"> ・「農薬及び類似物質の混合物のリスク評価」；2002年9月（COT 2002¹¹⁾） ・農薬混合物のリスク評価について総合的に研究した基礎となる報告書
デンマーク	<p>デンマーク動物食品局は2002年、農薬混合物のリスク評価に関する文書を発表した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・デンマーク動物食品局 ・「食品中の農薬の複合作用」；2002年7月（Reffstrup 2002⁵⁵⁾） ・農薬混合物のリスク評価について総合的に研究した基礎となる報告書
オランダ	<p>国立公衆衛生・環境研究所（RIVM）は2005年、農薬の累積暴露や累積リスク評価の方法を評価した。オランダの研究所（RIVM、RIKILT、TNO）、省庁（公衆衛生、農業）、食品・非食品局（VWA）が参加したワークショップが開催された。</p> <p style="text-align: center;">—</p>

2. 2 EU

2. 2. 1 背景

(1) MRL 設定の法的な枠組み

2006年2月1日付けの委員会規則(EC) No 178/2006 (OJ L29, 2.2.2006, p.3)によって改正された下記規則

「植物及び動物由来の食品〔農産物、畜産物〕及び飼料中／飼料上の農薬の最大残留基準〔MRL〕に関する、同時に理事会指令 91/414/EEC を改正する、2005年2月23日付け欧州議会及び理事会規則(EC) No 396/2005」(OJ L 70, 16.3.2005, p.1) (EC 2005¹⁶)

の前文第6項には、以下のような記述がある。

(6) 累積及び相乗作用を考慮するための方法論を開発するために、さらなる研究を実施することもまた重要である。食品立法の一般的な原則と要件を規定し、食品の安全性に係る手続きを規定した、2002年1月28日付け、欧州議会及び理事会の規則(EC) No 178/2002により設立された欧州食品安全機関(European Food Safety Authority, EFSA)との協議の後、活性物質の混合物に対するヒト暴露、及びヒトの健康に及ぼすそれらの累積及び総合、また相乗作用を考慮して、MRLを設定するものとする。

また、第10条には、以下のような規定がある。

第10条 MRLの申請に係る当局の意見

1. 当局(EFSA)は、申請書と評価報告書を評定し、MRLの設定、改訂、又は削除に係る消費者及び適切な場合は動物に対する特にリスクについて、理由を付した意見を述べるものとする。その意見は、以下の事項を含むものとする：

- (a) 申請時に提案された定型的なモニタリングの解析方法が、意図した管理目的のために適切であるかどうかの評価
- (b) 農薬／製品の組み合わせについて予想される検出限界(LOD)
- (c) MRLの改訂の結果として、許容一日摂取量(ADI)又は急性参照用量(急性RfD)を超えたリスクの評価；MRLが要求された製品中の残留物による摂取量に対する寄与
- (d) リスク評価に関するその他の要素

2. 当局は、申請者、委員会及び加盟国に、理由を付した意見を送付するものとする。理由を付した意見は、到達した各々の結論に対する根拠を明確にするものとする。

3. 規則(EC) No 178/2002 の第 39 条を侵害することなく、当局は、理由を付した意見を公開するものとする。

(2) 欧州食品安全機関 (EFSA 2005¹⁷)

上記 MRL の設定において大きな役割を担う欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority, EFSA) は、次のような性格を持つ機関である。

任務

- 食品と飼料の安全性に対し直接的又は間接的なインパクトを持つあらゆる分野において、科学的な助言及び科学的技術的な支援を行うこと
- これら分野のあらゆる事項に係る独立した情報を提供すること
- リスクコミュニケーション
- ネットワーキング及び共同研究

科学的な活動 (研究テーマ)

- 質問に対して科学的な意見、手引きを提供し、助言すること
- 規制された物質のリスクを評価し、リスクに関連した要因について提案すること
- 特定のリスク要因及び疾病を監視すること
- 食品及び飼料の有害性やリスクの評価について、新規の、また調和した科学的な手法や方法論を開発、促進及び応用すること

組織

EFSA の組織を図-2.1 に示す。

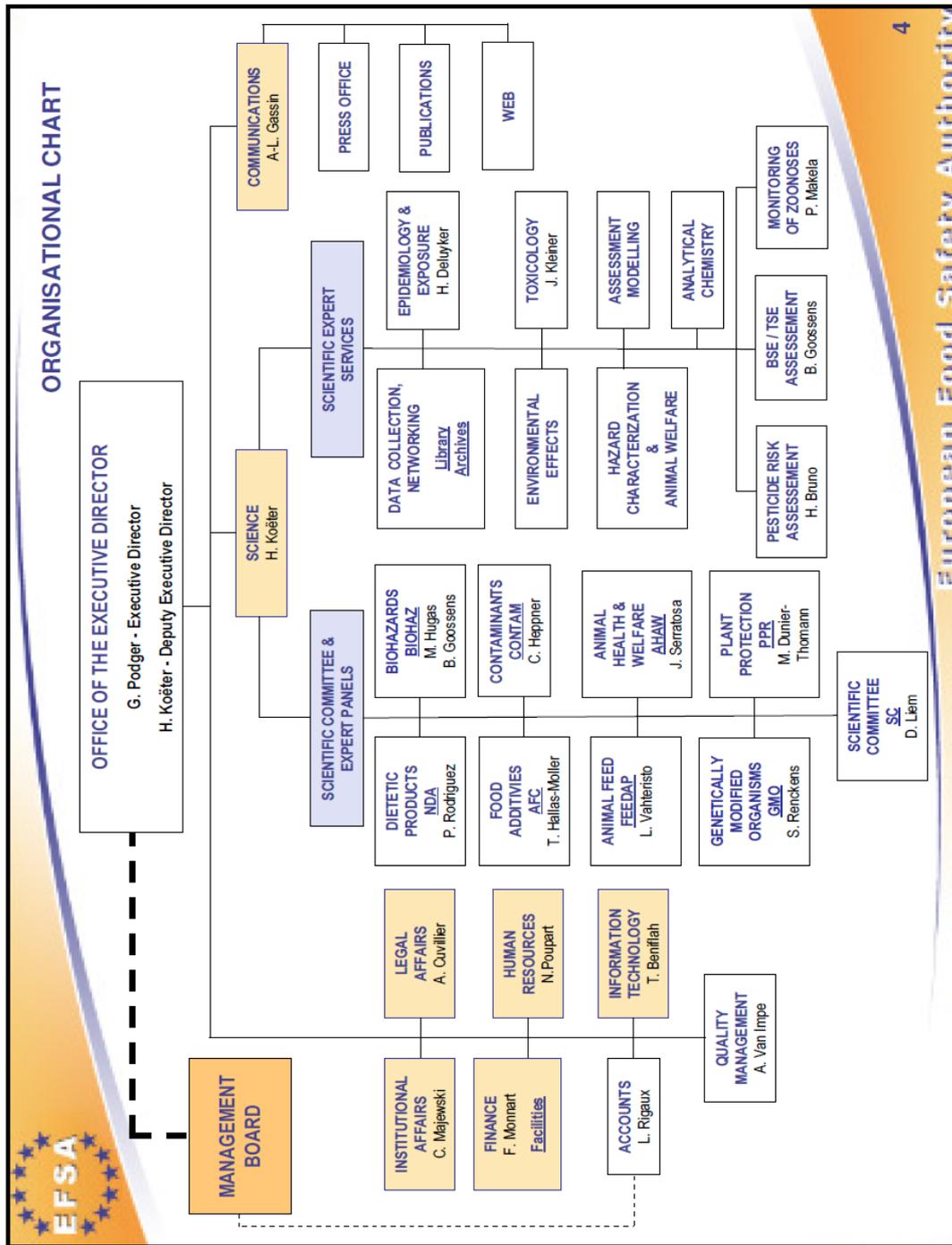


図-2.1 欧州食品安全機関 (European Food Safety Authority, EFSA) の組織図 (EFSA 2005¹⁷⁾)

2.2.2 ヒトの健康に対する農薬の累積リスク評価：新しい方法

2006年11月、農薬の累積リスク評価法に関するEFSAの科学討論集会在開催され、その成果が下記の文書にまとめられた。本文書の概要を以下に紹介する。

「ヒトの健康に対する農薬の累積リスク評価：新しい方法」(EFSA 2006¹⁸)

Summary Report, EFSA Scientific Colloquium, “Cumulative Risk Assessment of Pesticides to Human Health: The way forward”, 28-29 November 2006, Parma, Italy, Scientific Colloquium Series of the European Food Safety Authority, No.7 November 2006

EFSA 科学討論集会 (Science Colloquia) は、食品と飼料のリスク評価に関連した基本的な科学上の論点についてより良く理解することを目的としており、このため、専門家の意見を相互交換するための十分な機会を提供できるように組織化されている。そのために、科学討論集会は、必要であれば本質的な討論ができるように形式ばらないものになっている。しかし、同時に、これらは必要に応じて参加者が結論に達し、勧告を行うことができるように適切に組織化され、管理されている。「ヒトの健康に対する農薬の累積リスク評価：新しい方法」に関する本討論集会は、このシリーズの第7回であった。

植物及び動物由来の食品（農産物、畜産物）及び飼料中／飼料上の最大残留農薬濃度（MRL）に関する規則(EC) No.396/2005 は、ヒトの健康に対する農薬の累積作用や可能性のある相乗作用を考慮に入れる方法論を開発することが重要であることを強調している。欧州あるいは国際レベルの農薬の複合リスク評価については、全般的に合意した枠組み／手法はまだない。しかし、共通の作用機序を示す農薬の累積リスク評価に関する手法については、欧州や国際レベルでの活動が進行中である。これらの進展に照らして、EFSA は既存の方法論を評価し、また適切であれば、新しい手法を確認するために、科学討論集會を組織化することをタイムリーに検討した。この討論集會の結果は、EFSA PPR (Panel on plant protection products and their residues) パネルディスカッションに寄与するものと思われる。

本討論集會の目的は以下のとおりであった。

- (i) 共通の作用機序を持つ農薬（用量加算）の累積リスク評価を行う際に、利用できる科学的手法や手法の長所・短所及びそれらに必要なデータの長所・短所について、率直に科学的な討議を行うこと

- (ii) 有害性評価において、共通の作用機序を共有しない（反応－加算、相乗作用又は拮抗作用の可能性）数種類の農薬を組み合わせるための科学的根拠を検討すること
- (iii) 複合暴露評価のためのデータ及び方法論の選択について討議すること
- (iv) 農薬の複合リスク評価を行うための調和した手法の開発をさらに進めるために、EU加盟国、EFSA、さらにはできれば非EU加盟国や国際機関も含めて、それらの間で可能性のある共同研究について討議すること

会議は2006年11月28日及び29日にパルマ（イタリア）で開催され、ほぼ全加盟国、ブルガリア、ルーマニア、スイス、トルコ、米国、オーストラリアなどから100人以上の参加者が出席した。

本討論集会はいくつかの一般プレゼンテーションで始まり、これらによって論点の概要が示され、基礎となっている科学が説明されるとともに、既に実施されている農薬の累積リスク評価に関する情報が紹介された。これらのプレゼンテーションの重要点には以下のものが含まれていた。

- 累積リスク評価は、混乱を生じることがある用語である。現在の討議の枠組みでは、これは2種類以上の農薬の暴露によるリスク評価を指している。
- 残留農薬はEUの消費者にとって高い懸念材料であり、消費者に、農薬によって生じるリスクについて、より適切に知らせる必要がある。
- 混合試料（composite samples）を用いるEUモニタリングスキームでは、農薬の複合残留（multiple residues）がよく認められている。
- 消費、残留及び作用データに関しては、多くの方法論の選択肢がある。EU内で実用的なストラテジーを開発し、合意を得る必要がある。
- 基礎科学によると、類似の毒性機作を示す化合物は用量の加算によって作用することが示されている。
- 多くの作用はS字状の用量－反応を示すため、複合毒性を検討する場合には用量－反応曲線の諸相を考慮に入れる必要がある。
- 定型的な規制試験からは必要なデータを入手できないことが多いことから、どの化合物を共通の機作グループに入れるべきかを決定することは簡単ではない。
- 追加データ／研究が必要な場合、どの機関がこれを後援すべきであろうか？

- いつ、どれくらいの頻度で、また誰によって累積リスク評価が行われるべきであろうか、さらにどのように新規化合物や新規用途を組み込むべきであろうか？
- 累積リスク評価は、きわめて資源集約的になりうる。そのため、何らかのスクリーニング／優先順位付けの段階を考慮する必要がある。

その後、参加者は4つのディスカッショングループ (DG) に分かれ、農薬の累積リスク評価の種々の面を取り上げ、討議した。第3及び第4ディスカッショングループは、共通点について意見の一致を得るために簡単な合同セッションを開催した。ディスカッショングループは本会議に報告を上程し、全般的な討議を行った。ディスカッショングループが取り組んだテーマとトピックは以下のとおりであった。

DG1 : 累積有害性評価

- 共通機作グループに化合物を分類する場合の基準は何か？
- 毒性学的エンドポイント又は他の考慮事項に基づいて、たとえば、有機リン化合物 (OPs) 、ピレスロイドなど、どの群の農薬を優先すべきかについて助言を示すことができるか？
- たとえば TEF/PEF (毒性等価係数／効力等価係数) 又は複合 MOE (暴露マージン) など、どの方法を用いて累積有害性を推定すべきか？ これらの方法の相対的な長所及び短所は何か？
- 累積リスク評価を目的とした有害性の推定では、どの起点 (無毒性量 (NOAEL) 、ベンチマーク用量など) を用いるべきか？
- そのような評価に化合物を含める場合の最低限のデータ要件は何か？ これらが満たされない場合、どのデフォルトを用いるべきか、たとえば、逆に情報がない状態において、ある化合物を特定の共通機作を持つグループで考慮すべきであると考えられるような状況はあるか？

DG2 : 非用量加算的作用

- どんな複合影響が関係しているか、たとえば作用の加算か、相乗作用か？
- どんな毒性影響が複合暴露に関係しているか？ これらに優先順位を付けることができるか？

- そのような検討では、化合物群をどのように特定すべきか？
- そのような評価では、どんな標準的な仮定を用いるべきか？
- そのような評価ができるようにするには、すなわち複合影響の性質や大きさを決定できるようにするには、どんな研究計画が必要となるか？ 様々な様式の複合影響はどのようにして最も容易に、また実的に識別することができるか？
- たとえば TEF/PEF（毒性等価係数／効力等価係数）、複合 MOE（暴露マージン）など、どんな方法を用いて複合有害性を推定すべきか？ これらの方法の相対的な長所及び短所は何か？
- 複合リスク評価を目的とした有害性の推定では、どの起点（NOAEL、ベンチマーク用量など）を用いるべきか？
- そのような評価に化合物を含める場合の最低限のデータ要件は何か？ これらが満たされない場合、どのデフォルトを用いるべきか、たとえば、逆に情報がない状態において、ある化合物を特定の複合リスクグループで考慮すべきであると考えられるような状況はあるか？

DG3：複合暴露データの選択

シナリオ

- 実際の暴露評価と MRL の安全性の評価を識別する必要があるかどうかを検討する。
- 各種の評価に急性及び慢性暴露を考慮する必要があるか？
- あらゆるタイプの食品を一緒にして考えることは適切か？

消費（摂食）データ

- 情報源は何か、どのようにデータを収集するか？
- 一般集団や関連したサブグループについてのデータが入手可能か？
- 調査で得られた個別の記録を使用するか、あるいは調査によってモデル化した分布を使用するか？
- 季節的／地域的なパターンを含めるか？
- 「外れ値」の取り扱い方法は？
- 消費調査のスケジュールと頻度は？
- データの質、たとえば、一つの商品当たり何人分のデータか？
- 不確実性と変動性の取り扱い方法は？

- 摂食量の相互依存性はどのように考慮するか？

残留データ

- 情報源は何か、どのようにデータを収集するか？
- 入力値は、モニタリング試験や管理した野外試験で得られた残留データにすべきか、あるいは組み合わせにすべきか（たとえば、MRLを設定する場合、問題の商品に野外試験のデータを用い、「バックグラウンド」（他のすべての商品）にモニタリングデータを用いるべきか）？
- 季節的／地域的なパターンを含めるか？
- 「外れ値」の取り扱い方法は？
- 加工した商品（たとえば、ジュース）の取り扱い方法は？
- データの質、たとえば、適当な分析方法、関係物質の残留の評価等は？
- 不確実性と変動性の取り扱い方法は？
- 残留濃度の相互依存性はどのように考慮するか？

DG4：複合暴露の方法論

- 残留農薬に対する消費者暴露を評価するためには、どの方法論を選択すべきか—決定論的あるいは確率論的な方法のいずれを用いることができるか？
- 複合暴露を推定するモデルの判定基準は何か？
- モデルの要件は何か？
- 不確実性と変動性の取り扱い方法は？
- 結果の解釈で、いつ安全性の問題を提起すべきか？
- どのモデルを現在利用できるか、またそれらの開発で習得した教訓は何か？
- 適切なモデルはあるか、あるいは新規のモデルを開発すべきか？

最終的な討議

最終的な討議では、農薬の累積リスク評価の重要性と必要性について全般的な合意が得られたが、問題に取り組む最も適切な方法、特に暴露シナリオを取り扱う方法に関する見解は異なるときもあったことが示された。全般的な感触は、共通の作用機作を示す化合物の累積リスク評価は作用が異なる化合物のものより重要であるということであった。

会議では、累積リスク評価を行う場合の可能性について議論し、現在入手できるデータでは、EU 全体にわたる規模の意味のあるリスク評価は容易でないが、そのような評価を一部の加盟国の情報に基づいて行うことは確かに可能であると結論づけられた。以上のことから、累積リスク評価に必要な入手可能なデータの向上が、近い将来の重要な問題であると結論づけられた。

全体的な勧告

- 農薬の累積リスク評価の領域における科学的な協力は重要な問題であり、またリスク評価手順の調和を一層進めるための手法を開発することを提唱すべきである。EFSA、WHO 及び FAO の間の共同研究は、これの手助けになるかもしれない。
- 農薬の累積リスク評価では、EFSA と EU 加盟国との協力が必要である。
- 食事経由の経路に加えて、長期的には農薬に対する他の暴露源も含めるべきである。
- 残留モニタリング計画や食品消費調査は、累積リスク評価に用いることができるもっと適切なデータが得られるように修正する必要があるかもしれない。
- 累積リスク評価は一般的な問題であり、農薬単独による暴露より幅広いことから、EFSA は農薬単独以上にこの問題に取り組むことが望ましい。
- 相互作用する化合物に対する暴露の期間は重要な問題である。しかし、さまざまな化合物の動力学的挙動は異なることから、体内での化合物の相互作用は必ずしも同時暴露の結果ではないということを理解する必要がある。PB/PK モデリングは、この問題を明らかにするのに適切な方法論であるかもしれない。
- 累積リスク管理の枠組みを開発する必要がある。

PPR パネルは、本討論集会の結果に基づいて、近い将来に必要な特別措置に関する見解を準備する予定であり、このことが歓迎された。

2. 3 FAO/WHO¹⁹

FAO/WHO 残留農薬合同会合 (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, JMPR) は、1996 年の第 28 回 Codex 残留農薬委員会 (ALINORM 97/24, paragraph 97) において、農薬の複合影響の可能性を考慮するよう求められた。

過去には、農薬の相互作用の重要性は、1967 年の JMPR によってレビューされた。また、1981 年の JMPR (report, Section 3.6) では、残留農薬の間の相互作用についてさらに考察し、当時以下のように結論した。

- (1) 農薬が相互作用し得るのみでなく、ヒトが暴露されるあらゆる化合物（食品中のものを含む）も相互に作用し得る。これは限りない可能性につながり、残留農薬（非常に低いレベルで存在）の相互作用が、特に懸念されるものとして強調されるべき特別な理由はない。
- (2) これら相互作用に関するデータは、ごくわずかししか得られない。
- (3) 急性的な影響（potentiation）の研究から得られたデータから、ヒトの ADI を評価する価値はまずない。

今回（1996 年）の合同会合では、二種以上の農薬を実験動物に同時に投与した時、影響は増強されるだけでなく、時には軽減されることに注目した。この問題を取り扱う多数の研究が 1981 年以降実施されているが、非相加的作用を示す研究が「(単独でも) 影響を示す用量 (effect dose)」において行われており、これらは、影響レベルより数倍低いレベルで食品に存在する残留混合物については適切なものではない。

弱いエストロゲン活性を持つ多数の化合物を、ヒトエストロゲン受容体を持つ酵母エストロゲン系でスクリーニングした一つの報告書^aが 1996 年に出版された。この試験では、弱い環境エストロゲンを組み合わせると、単独のどの化学物質よりもヒトエストロゲン受容体介在の transactivation において最大 1,000 倍効力が高くなった。これらの結果は実験の初期段階のものであるが、その結果が確信できるものかどうかを見るために、またそうであれば、健全な生体組織におけるそれらの意義を確認するために、増強作用の可能性をさらに検討すべきである。供給される食品は、植物エストロゲンを含め、多くの薬理学的活性物質を含有することを心に留めておかなければならない。農薬の構造と活性からすると、

農薬が多く天然に存在する植物エストロゲンよりもエストロゲン活性が強いと結論する理由が見出せない。さらに、起こり得る相互作用はどれも、拮抗作用か相乗作用のいずれかを生じる可能性がある。

(注 a) Arnold SF, Klotz DM, Collins BM, Vonier PM, Guillette LJ Jr, McLachlan JA (1996). *Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals*. *Science* 272, 1489-1492.

JMPR は、残留農薬や他の食事成分、環境汚染物質の間に相互作用は起こり得ると結論した。そのような相互作用の結果は、物質の化学的・物理的性質、用量、暴露条件を含め、多くの要因に依存する。その結果は、高い信頼度では予測できないが、毒性を高めたり、低減したり、加算したりする可能性がある。ADI を設定するために用いられる安全係数は、相乗性の可能性を考慮して、十分な安全率を見込んだものでなければならない。(

2. 4 米国

2.4.1 背景

(1) 化学物質混合物のリスク評価 (U.S. EPA 2005⁶⁹)

EPA は 1986 年 9 月 24 日、「化学物質混合物の健康リスク評価のためのガイドライン」と題する文書を発表した (Federal Register, 51(185), 34014-34025)。1986 年のガイドラインは EPA の科学的な方針を表しており、化学物質混合物の暴露による健康リスクに関するデータを評価するための手順書となっている。用量-反応とリスク特性化に重点が置かれ、このガイドラインに記載された原則と概念は有効なままである。しかし、記述されている原則は大まかで、特定の手順はほとんど含まれていないため、EPA は 2000 年 8 月、これら原則と適用についてもっと詳細に記述することを目的として、下記の補足手引きを発表した。

「化学物質混合物の健康リスク評価を実施するための補足手引き」(U.S. EPA 2000⁶⁷)

“Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures”, EPA/630/R-00/002, Risk Assessment Forum, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, August 2000

この補足手引きは、背景と範囲を概観した後、混合物のリスク評価のパラダイムについて述べている。このパラダイムは問題の系統化で始まり、次いで有害性の確認、用量-反応評価、暴露評価、リスクの特性化について簡潔に議論している。この文書は、入手可能なデータの種類の従って構成されている (図-2.2 参照)。対象となる混合物のデータ、毒性学的に類似した混合物のデータ、混合物の成分のデータを用いる評価の手順が述べられているが、これら 3 つの手法に対する科学の現状は大きく異なる。混合物全体の手順は、主に、発がん効力を表すために長い間 *in vitro* 変異原性試験が利用されてきたため、発がんリスクを評価する目的で最も進んでいる。非発がんエンドポイントの *in vitro* 試験の手順はまだ開発段階にある。それとは対照的に、成分に基づいた手順、特に毒性学的相互作用に係る情報を組み入れるものは、非発がんの毒性について最も進んでいる。一つの手法が推奨されているわけではなく、データの性質と質に依存して、いくつかの手法を採用するための手引きが示されている。この文書の補遺には用語の定義、毒性学的相互作用や薬物動態モデルに関する議論が掲載され、また 1986 年のガイドラインが再掲されている。

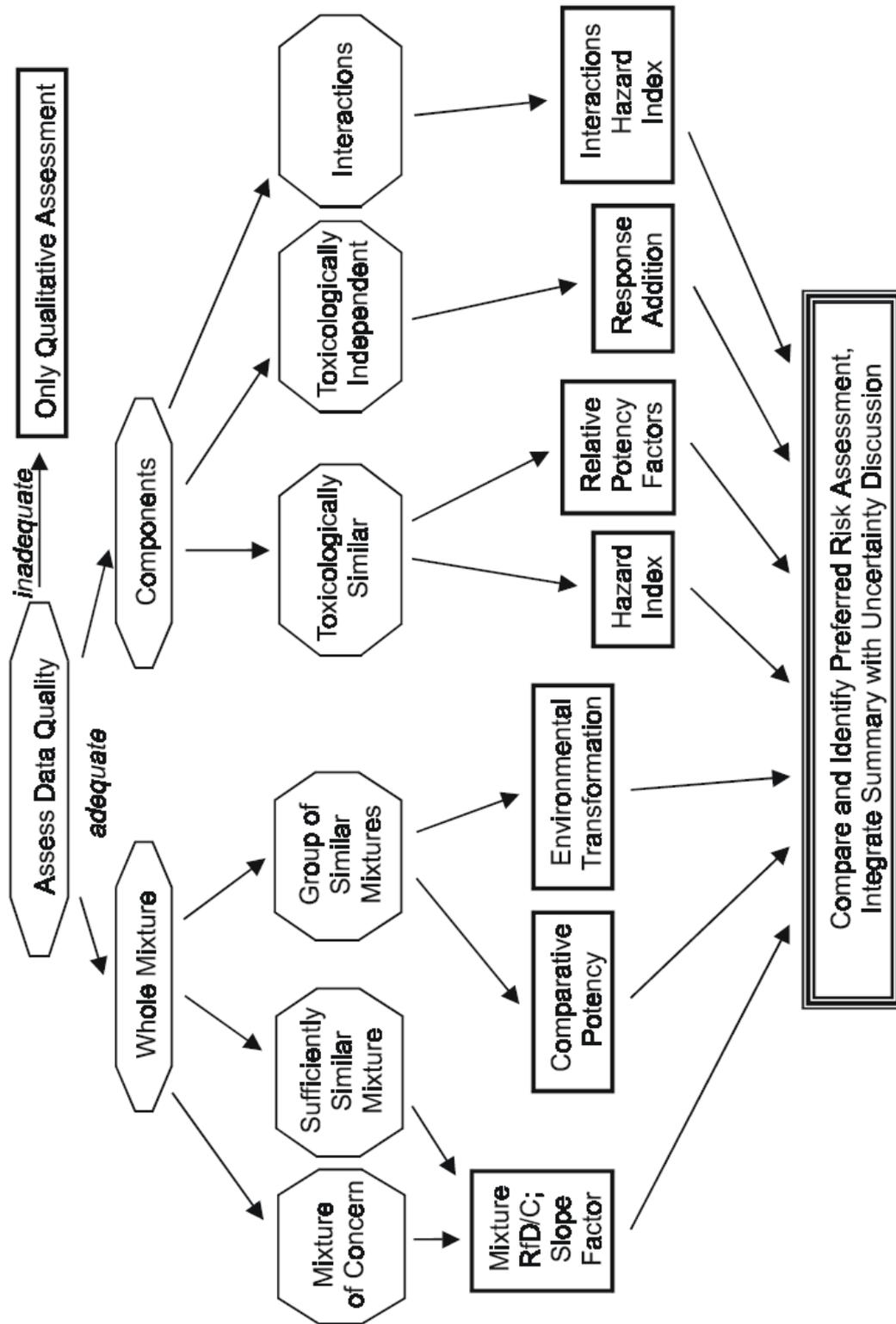


図-2.2 データの利用可能性及び質に基づき混合物評価の様々な方式 (U.S. EPA 2000⁶⁷⁾)

(2) 食品品質保護法 (FQPA) への対応

Clinton 大統領は 1996 年 8 月 3 日、食品品質保護法 (Food Quality Protection Act of 1996, FQPA²¹) (Public Law 104-170) に署名した。この FQPA は、連邦殺虫剤殺菌剤殺鼠剤法 (Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act, FIFRA) 及び連邦食品医薬品化粧品法 (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act, FDCA) の一部を改正することなどを目的として制定された。

FQPA は、残留農薬の基準値又は免除を設定、改訂、維持、又は取り消す時、EPA 長官は、いくつかの要因の中の一つとして、共通の毒性機作を持つ残留農薬及び他の物質の累積影響に関して得られる情報を考慮することを規定している。FQPA のこれらの規定を以下に抜粋する。

TITLE IV 連邦食品医薬品化粧品法 (FDCA) の改正

第 405 条 残留農薬基準及び免除

(中略)

(b) 残留農薬基準値の関係当局及び基準

(中略)

(2) 基準

((A) (B)略)

(C) 幼児と子供の暴露

残留農薬の基準値又は免除を設定、改訂、維持、又は取り消す時、EPA 長官は

(i) 下記の事項に基づいて当該残留農薬のリスク評価を行うものとする。

(I) 一般の人々に比較して、残留農薬を含有する食品を特に多く消費する可能性がある幼児と子供の消費パターンの情報

(II) 幼児や子供と成人の間での神経学的な相違、農薬に対する子宮内暴露の影響を含む、残留農薬に対する幼児と子供の独特の感受性に関して得られる情報

(III) 共通の毒性機作を持つ残留農薬及び他の物質の、幼児や子供に及ぼす累積影響に関して得られる情報

(ii) また、EPA 長官は、

(I) 当該残留農薬への総合暴露 (aggregate exposure) から幼児と子供に害が起こらないという正当な確かさがあることを保証するものとする。

(II) 幼児と子供に対する当該残留農薬の安全性に関して、特定の決定事項を公表するものとする。

保健福祉長官と農務長官は、EPA 長官と協議して、幼児と子供に対する食事からの農薬への暴露の調査を実施するものとする。作用に閾値がある場合、出生前と出生後の潜在的な毒性、及び幼児と子供に対する暴露と毒性についてのデータの完全さを考慮して、当該残留農薬と他の暴露源に対して追加の 10 倍の安全マージンが幼児と子供に適用されるものとする。かかる追加の安全マージンにかかわらず、EPA 長官が、信頼できるデータに基づいて幼児と子供に対し安全であると考えられる場合にのみ、異なる安全マージンを使用することができる。

(D) 要因

残留農薬の基準値又は免除を設定、改訂、維持、又は取り消す時、EPA 長官は、下記の他の関連する要因を考慮するものとする。

- (i) 農薬及び残留農薬の研究から得られるデータの有効性、完全性、信頼性
- (ii) そのような研究において農薬又は残留農薬により引き起こされることが示された毒性の性質
- (iii) そのような研究の結果とヒトのリスクとの関係に関する情報
- (iv) 消費者（及び消費者の個人を識別できるメジャーなサブグループ）の食事の摂取形態に関する情報
- (v) 共通の毒性機作を持つ残留農薬及び他の物質の累積影響に関する情報
- (vi) 残留農薬基準値に適合した食品からの暴露及び他の非職業暴露を含む、当該残留農薬及び他の関連物質に対する消費者（及び消費者の個人を識別できるメジャーなサブグループ）の総合暴露レベル（aggregate exposure level）に関する情報
- (vii) 消費者の個人を識別できるメジャーなサブグループの感受性の多様性に関する情報
- (viii) 当該農薬が、自然に現存するエストロゲン又は他の内分泌作用により起こる影響と類似したヒトへの影響を有するかどうかについて、EPA 長官が要求する情報
- (ix) 科学的な訓練や経験により食品添加物の安全性を評価するための資格を与えられた専門家が、一般に動物試験のデータを用いる際に適用する安全係数

(3) 農薬の累積リスク評価 (U.S. EPA 2002⁶⁸)

1996年の食品品質保護法(FQPA)は、農薬の安全性を決定する際、EPAは、農薬が引き起こすリスクの評価を農薬に対する複数の経路からの総合(aggregate)暴露(すなわち、食品、飲料水、住宅、その他の非職業暴露)を考慮して行うべきことを規定している。EPAはまた、共通の毒性機作を持つ化学物質に対する食事、住宅又はその他の非職業的な暴露から起こるヒトの健康への複合(combined)毒性影響に係る入手できる情報を考慮することが求められている。

EPAの農薬計画部(OPP)は2002年1月14日、下記の手引きを発表した。この手引きの内容は2.4.2に記述するが、ここで採用されている累積リスク評価法は、前述の図-2.2に示した様々な手法の中の「相対効力係数(Relative Potency Factors, RPF)」を用いるものである。

「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」(U.S. EPA 2002⁶⁸)

“Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity”, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, January 14, 2002

手引きの沿革

OPPは、FIFRA科学諮問パネル(SAP)による科学的なレビューを繰り返し求めてきた。1999年9月、OPPはまず、SAPによるレビューのため、累積手引き書の有害性と用量-反応の部分の部分を提示した。

1999年12月、OPPは手引きの暴露とリスク特性化の部分をSAPに提出し、意見を求めた。手引き書自身に関するSAPのレビューに加えて、OPPはまた、総合及び累積リスク評価を行うために開発中の各種の暴露モデルや手法についてSAPの意見を求めた。

さらに、リスク評価をする者が累積リスク評価を実施する際に考慮すべき概念や手法が、共通機作を持つ化学物質の実際のデータセットに適用された。有機リン系(OP)農薬24物質のパイロット分析において、OPPは、複数の暴露経路による共通機作の農薬に関係した累積リスクを推定する際に考慮すべき手法やパラメータを詳細に実証した。このパイロット分析の有害性と用量-反応評価、及び暴露解析の部分が、それぞれ2000年9月と12

月に SAP に提出され、意見が求められた。OPP は、2000 年 9 月の SAP レビューによる意見に基づいて、有機リン系農薬の用量－反応評価に対する手法を改訂した。2001 年 12 月、OPP は最終的に、有機リン系農薬に関する予備的なリスク評価を発表した。これは、本手引きに記述されている一般的な方法論に基づいている。

SAP のレビューに加えて、一般の人々も OPP が提案した手法や手法に対し意見を提出した。2000 年 6 月 30 日、共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価を実施するための手引き書の草案が、パブリックコメントのために発表された（65 FR 40644）。その後 2000 年 7 月、手引き書の中の手法を説明し、一般及び色々な関係者団体から質問や意見を聞くために、技術的なワークショップが開催された。また 2001 年 8 月には、有機リン系農薬に係る累積リスクを評価するための用量－反応手法について、関係者団体のための技術的な要点的説明も行われた。2001 年 9 月 OPP は、同じ課題について SAP にて会合を開いた。

2000 年 6 月の手引き書は、一般の人々、SAP、企業団体、その他の行政省庁から提出された意見を考慮して、累積リスク評価の決定論理や要素を明確に記述するために改訂された。この改訂手引き書は、2000 年 6 月の手引き書に提示された基本的な原則や手法を踏襲している。

手引きの適用範囲

本文書は、共通の毒性機作により作用する農薬（pesticide chemicals）のみの累積リスク評価を実施する際の手引きを提供することを目的としている。EPA は、共通の毒性機作を持つ「他の物質」について考慮するための手法は検討中である。EPA は、この「他の物質」の影響についての一般的な手引きを策定するまでは、この問題をケースバイケースで取り扱うつもりである。これまで解明されたほとんどの毒性機作は、非線型又は閾値のある生物学的な現象と一致すると思われる。本手引きに記載された用量－反応方法は、これらの状況によく適している。最後に、FFDCA は作業員への暴露又は非標的野生生物への影響を規制していないので、本文書も、これら分野の累積リスク評価を実施するための手引きを提供するものではない。

手引きの目的

この手引きの目的は、OPP のリスク評価者が累積リスク評価を実施する際、使用を推奨されている基本的な仮定や原則、解析の枠組みを示すことにある。また、農薬の累積リスク評価を実施する際に一般的に従う原則や手順を、意思決定者（規制当局）や一般の人々に知らせることも意図している。この手引きは、様々な共通機作やデータセットに適応するために柔軟性のあることを意図しており、特定のデータを詳細に議論することを目的としていない。さらに、OPP や他の当事者に拘束力のある規則を課すものではなく、OPP は累積リスク評価を行う上で、代替又は新規な手法を自由に考えてよいとされている。累積リスク評価の手法は開発の初期段階にあり、この手引きが発表された後も進化し続けることを強調する。毒性や暴露のデータベースが改善され、累積リスク評価に適用できるようになった時、さらに毒性の機作について、また共通の毒性機作を持つ化学物質がヒト暴露のレベルにおいて生物学的な標的組織とどのように相互反応するのか、EPA の知識が増大した時、EPA はこの手引きを改訂し、必要に応じて補足的な文書を作成するつもりである。

(4) その後の動き (U.S. EPA 2003⁶⁵)

EPA は 2003 年 5 月、「累積リスク評価の枠組み」と題する次の文書 (U.S. EPA 2003⁶⁵) を発表した。“Framework for Cumulative Risk Assessment”, EPA/630/P-02/001F, Risk Assessment Forum, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, May 2003. 概要を次に記載する。

国家研究評議会 (National Research Council, NRC) が 1994 年に発刊した本、「リスク評価における科学と判断」(Science and Judgment in Risk Assessment) を始めとして、リスク評価・リスク管理に関する大統領/議会委員会 (Presidential/Congressional Commission on Risk Assessment and Risk Management) が 1997 年に発表した報告書、「規制上の意思決定におけるリスク評価及びリスク管理」(Risk Assessment and Risk Management in Regulatory Decision-Making) などのいくつかの報告書は、複数の環境化学物質から生じる累積リスクを理解することの重要性を強調した。EPA は、これら報告書の他、FQPA のような法律によって、単一の化学物質だけの評価を越えること、また同時に起こる化学物質暴露の累積影響に焦点を当てることを求められた。EPA の Risk Assessment Forum は 1999 年、EPA 全体の累積リスク評価の手引きの策定を開始した。

本文書⁶⁵の初期の草案は、州や連邦などのピアグループによる合同審査の基礎となった。公開の外部合同審査は、2002 年 6 月に開催された。これら合同審査の過程を通して得られ

た意見、また一般からのコメントに基づいて、文書の草案が改訂された。

この「枠組み」文書は、EPA 全体の累積リスク評価の手引きを策定する長期にわたる作業の中で第一段階のものである。EPA は累積リスク評価の経験を積んだ上に立ち、EPA 内での累積リスク評価に対して一貫した手法を促進し、主要な問題点を明らかにし、これら評価で用いられる用語を定義することを「枠組み」の目的とした。「枠組み」では、累積リスク評価の過程の基本的な要素が明確にされ、累積リスク評価を実施し、累積リスクに係る科学的な問題に取り組むための柔軟な構造が示されている。この「枠組み」文書は、将来の手引きを作成するための基礎になるものの、EPA 内部での手続きの指針ではないし、規制要求でもなく、評価の経験を積んで少しずつ発展することが期待されている。「枠組み」文書は、累積リスクの様々な側面について記述することに重点を置いた情報文書である。

2.4.2 共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引きの概要

米国 EPA が 2002 年に発表した下記の文書に記述されているリスク評価法の概要を示す。

「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」(U.S. EPA 2002⁶⁸)

“Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity”, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, January 14, 2002

農薬への暴露に関連する潜在的な健康リスクを評価する際、従来は個々の農薬について一つの暴露経路 (pathways of exposure) (体外経路、例えば食品や飲料水、住宅/非職業使用における残留農薬からの暴露) に注目が置かれており、あらゆる暴露経路 (体外) により複数の農薬に対しでの潜在的な同時暴露については注目されているわけではなかった。1996 年、食品品質保護法 (FQPA) は農薬計画部 (OPP) に、共通の毒性機作を通して作用する一つ以上の農薬に対する、食事及び非食事経由の暴露のあらゆる過程から起こるヒトの健康リスクを考慮するよう要求した。本文書は、このような複数の農薬及び複数の暴露過程から起こるヒトへの潜在的なリスクを評価し予測する上で、OPP の科学者に対し手引きとなるものである。この方法は、累積リスク評価と称される。

現在の手引き書は、2000 年 6~9 月のパブリックコメントの期間中に以前の草案に対し

て一般の人々から寄せられた意見や、1999年9、12月のFIFRA科学諮問パネル（SAP）での審査に照らし合わせて、またSAP会合での他の外部機関からのコメントを反映して改訂されたものである。さらにOPPは、共通の毒性機作を持つ農薬の実際のデータを用いて手引き書の草案通りに評価を行った際、各種の経験を積むことができた。2000年9月には、有害性と用量-反応の手引きを例証した24の有機リン系農薬についての、また2000年12月には、暴露評価とリスク特性化についてのパイロット分析の結果がSAPに提出された。このパイロット分析に対するSAPのコメントにより、累積リスク評価手法はより精緻なものとなった。

累積リスク評価は、農薬が引き起こすリスクの評価において重要な役割を果たし、人々の健康、及び幼児と子供を含む感受性の高いサブグループをより十分に保護できる行政的措置をOPPが下せるようにするものである。複数の過程（食品、飲料水、大気・土壌・芝生・室内表面への住宅／非職業暴露を含む）による複数の化学物質への暴露によって引き起こされるリスクの累積評価は、OPPにとって大きな挑戦である。この手引き書は、累積リスクを評価するために現在入手可能な知識や手法を考慮に入れるとともに、様々な質や量のデータを取り扱う際に柔軟性を持たせている。この分野における手法や知識は今後増え続けることが予想されるため、OPPは特定の手順を見直し、必要に応じて合同審査を受けた補足的な技術文書を作成するつもりである。手引き書自身のさらなる改訂は、広範な変更が必要になった時、行われる予定である。

共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に着手する前に、OPPは通常、共通機作グループにある各々の化学物質について総合リスク評価（aggregate risk assessment）を実施する。総合リスク評価を行う際、OPPは、「総合的な暴露及びリスク評価を実施するための一般原則」（General Principles for Performing Aggregate Exposure and Risk Assessments）と題する文書に記述された手引きを利用する。総合リスク評価の手引き書では、リスク評価をする者は、一つの農薬について、食品、飲料水、住宅／非職業使用からの暴露を同時に考慮するよう勧告している。共通の毒性機作を持つ個々の化学物質について総合リスク評価が終了した時、OPPは、以下に要約したステップで累積リスク評価（cumulative risk assessment）を考慮する。

累積リスク評価は、共通の毒性機作により共通の毒性影響を誘発する一群の化学物質、すなわち、共通機作グループ（CMG）の確認から始まる。OPPは、そのグループに属する化学物質を確認するための一般的な枠組みを策定した（共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き、Guidance for Identifying Pesticide Chemicals and Other Substances That Have a Common Mechanism of Toxicity, 1999を参照）。いったんCMGが設定されると、次のステップは、考えうる暴露経路（体外経路、すなわち食品、飲料水、住宅）及び経路（体内ルート、すなわち経口、吸入、経皮）を明らかにするために、各々のCMG物質の登録・提案された用途を評価することである。有害性の特性化の段階においては、調べようとする化学物質の中で相対効力を決定するには統一されているべき、試験動物種／性の他、共通の毒性機作に関連した種々のエンドポイントについて確認が行われる。また、各々のCMG物質について、すべての暴露経路（体内）や期間を通して共通の影響は発現するのかどうかを評価する。共通機作毒性の時間的な側面（例えば、時間対最大影響、時間対回復）を特性化して、それが発現される重要な時間帯（critical window）を決める。

累積評価はすべてが同じ深さと範囲である必要はない。このため、累積評価の過程の初期では、広範囲のリスク評価が必要であるか、又はそれを実施できるかどうかを決定することが重要である。これは、関連する入手可能な残留値と結びつけて、暴露シナリオの数とタイプを考察することによってなされる。初期段階の毒性及び暴露情報が集められる。広範囲かつ精密な累積リスク評価を行うのではなく、もっと安全側に立った（conservative）手法が用いられているスクリーニングレベルの評価が行われる。例えば、暴露マージン（margins of exposure）は、各々の化学物質の用量－反応曲線モデルから、より精緻な相対効力や起点（points of departures）を導くのではなく、一般的な毒性影響の無毒性量（NOAEL）に基づくことになるかもしれない。食品への暴露については、全て（100%）の作物に対して農薬が施用され、作物への使用を登録されたCMG物質一つ一つに対して残留基準レベルの残留があるという仮定を用いるかもしれない。このような過大に暴露評価するようなスクリーニングレベルの分析でリスクの懸念がないことを示唆する場合、さらに詳細な評価は必要でないであろう。しかし、この安全側に立った手法で容認できないリスクの可能性を示唆する場合は、精密な評価が実施されるべきである。この場合、データを追加する必要性が生じる。

リスク評価をする者が累積評価を進める際、累積作用を起こす CMG から候補物質、及び用途、経路（体内、体外）を決定することが重要である。累積評価では、累積的な有害性に対し最小限の毒性寄与しかしない、又は取るに足りない暴露経路（体外と体内）、用途における共通機作物質から生じるリスクの定量化を試みるべきでない。

取るに足りない体外経路からの暴露は、定性的に考慮すべきである。このため、累積リスクの定量化に含めるべき共通機作物質のサブセットが、CMG から確認される必要がある。このサブグループは、累積評価グループ（CAG）と呼ばれる。各々の CAG 物質の有害性や暴露可能性を詳細に理解することが分析から持ち上がるため、CAG の確認は体外経路全体を通して行われる。ある化学物質をリスクの定量化から除外した場合、その理由が説明されなければならない。従って、共通の毒性機作によってグループ化された化学物質はすべて、最終評価において定性的又は定量的に説明されなければならない。

共通の毒性影響の毒性効力（toxic potency）を決定するために、各々の CAG 物質について用量－反応分析が行われる。毒性効力の決定は、得られるデータを用い実行可能な程度に、方法を統一して（すなわち、同じ測定基準、同じ影響について、同じ試験動物（性）を用いた、同様な試験方法で）行われなければならない。手引き書では、CAG の複合リスク（combined risk）を決定するのに、用量加算を推奨している。この手法は、毒性学的に類似し、共通の毒性影響を示す化学物質を含む複数物質の評価に対する EPA の手法と一致する。入手可能なデータから別の手法が支持される場合は、用量加算の手法を用いないことも妥当である。

いったん共通機作物質一つ一つの毒性効力が決定されると、CAG 物質の相対効力が求められる。相対効力を決定するためには、指標物質（index chemical）とすべく CAG から一物質が選ばれる。指標物質は、CAG 内の他の化学物質の共通毒性を標準化するための参照点として用いられる。いったん指標物質が選ばれると、相対効力係数（RPF）が計算される（すなわち、指標物質の毒性効力に対する当該物質の毒性効力の相対比）。RPF は、CAG 内のすべての化学物質の暴露を指標物質の暴露等量（exposure equivalents）に変換するために用いられる。RPF 法では、リスクを一つの化学物質（指標物質）に対する暴露等量とし

て表すことにすれば、指標物質は、(1)質の高い用量-反応データを有する；(2)共通の毒性影響を代表する毒性学的／生物学的プロファイルを有する；(3)共通の毒性機作が十分に特異化されていることが望ましい。用量-反応評価における最後のステップは、CAG のリスクが予想されるヒト暴露へ外挿できるように、指標物質について起点を計算することである。

CAG 内の各農薬の現存用途すべてについて、詳細な暴露シナリオが作成されなければならない。これには、共通の毒性影響による同じ累積リスクに寄与する（すなわち、体内用量の重なり（overlapping）か毒性影響の重なりかのいずれかにより）CAG 物質の中で、同時期の暴露か連続した暴露を起こすあらゆる体外経路、期間、体内の経路による潜在的なヒト暴露を決定することが含まれる。複合暴露（combined exposure）を推定するための枠組みは個人への暴露に基づいており、その個人とはシナリオの構築を通して暴露経路（体外／体内）とリンクした異なる特質（活動形態や居住地、年齢など）の母集団の代表である。ある与えられた共通の毒性影響に対する累積リスク値は、各々の暴露経路（吸収ルート）や期間について別々に計算され、その後合わせられる。個々の暴露を特徴づける多くの要素があるため、暴露の時間的・場所的つながりは、データの許容範囲内で維持されるべきである。シナリオの相対的重要性、及び定量的な評価においてはシナリオに含めるものの必要性について、さらにその定量評価において評価対象とする地域と母集団について決定がなされなければならない。起こり得る暴露シナリオが複数同時に起こる可能性も評価される。空間（場所）的、時間的、人口統計学的な考察は、同時暴露が起こるかどうかを決定する時には重要な要素となる。言い換えれば、同時暴露が起こるには、あらゆる暴露事象が特定の時間間隔で起こる必要があること；暴露事象は時間や場所、人口統計学的な特性が一致する必要があること；個人の取り込み量は経路や期間から見て関連した毒性値と合致する必要があるということである。

暴露の入力パラメータを確立するにあたり、すべての関連した暴露経路（体外・体内）の組み合わせについて、程度や頻度、期間が決定される。これらパラメータでは、用途／使用量の適切な情報源及びすべての適切な媒体（media）における残留性が考慮される。評価に含める必要のある修正係数も定められる。必要に応じて、化学物質特有の他のデータ、公表文献、一般的なデータから代用となる適切なデータセットが検討される。経路（体内）

／期間特有のリスク判定基準を割り当てることにより、定量的な累積リスク評価が試行的に実施される。この試行的な実施の結果が評価され、感度解析が行われる。母集団中の懸念される亜集団、又はライフステージ中のある段階が評価される。その後、最終的な定量的累積リスク評価の実施が可能になる。

評価手法の最終ステップは、リスクの特性化である。毒性や暴露のデータソース及びモデルへの入力における相対的な信頼性を含め、累積リスクの解析結果や結論が明確に記述される。リスクの特性化では、変動もまた記述される。不確実性の主な領域が定性的及び定量的に記述されなければならない。起こりそうなバイアスの大きさと方向及び最終評価に及ぼすインパクトが議論される。農薬、暴露経路（体外）、発生源、時期（季節）、強い影響を受ける亜集団（特に子供に注意して）に関して、リスクへの寄与因子が明らかにされる。グループ不確実性及び FQPA 安全係数の根拠が説明されなければならない。

規則としてではなく手引き文書であるので、本手引き書にある方針は EPA やいずれの外部関係者をも拘束するものではない。本手引き書は OPP のリスク評価の出発点となるが、OPP は、事実や状況に正当な理由があれば、この方針に従わないこともある。そのような場合、OPP は、なぜ違った道をたどったか説明する。同様に、外部関係者は、特定の農薬やグループ農薬に対してはこの方針が適切でないこと、又は特有のリスク評価をめぐる状況から、この方針を修正したり取りやめたりすべきことを実証し、主張することは自由である。累積リスク評価のプロセスは、この手引き書が発表された後も、引き続き発展するであろう。このため、EPA はこの手引き書を見直し、必要に応じて補足的な文書を提供することがあろう。

2. 5 英国

2.5.1 背景 (Marrs 2005⁴²⁾)

(1) COT 報告書

2000年、英国の食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性委員会 (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, COT) は、「農薬及び類似物質の混合物のリスク評価 (Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances)」と題する報告書草案を作成するために作業部会^aを設立した。本文はCOTの全会一致で賛同された後、COT報告書として出版された。これはCOTのウェブサイト上^bで入手できる。作業部会は、適切な専門知識を持ったCOTメンバーや選出された専門家 (オランダの医学統計学者 John Groton 他)、また以下の英国省庁の評価担当者から構成された。

- ・ 農薬安全局 (Pesticides Safety Directorate)
- ・ 動物用医薬品局 (Veterinary Medicines Directorate)
- ・ 安全衛生局 (Health and Safety Executive)
- ・ 食品基準庁 (Food Standards Agency)
- ・ 保健省 (Department of Health)

作業部会は、混合物の毒性学に係る詳細な研究に着手し、混合物の構成成分の複合影響を考慮するために、研究に関する勧告やリスク評価の変更の可能性に関する勧告をした。作業部会はまたデータ不足を明らかにしたが、累積リスク評価が可能になるよう埋める必要があった。これは、特に残留データに関係していた。

(注 a) 農薬・動物薬の混合物のリスク評価に関する作業部会 (Working Group on Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Veterinary Medicines, WiGRAMP)

(注 b) <http://www.food.gov.uk/science/ouradvisors/toxicity/>

研究途上にあるものを除いた勧告

- 1) 農薬に対するあらゆる暴露源を考慮すべきである。
- 2) いつ複合リスク評価を行うのが適切であるか決定するための枠組みを確立すべきである。
- 3) 複合暴露を考慮する際のデフォルト仮定は以下の通りとする。
 - ・ 定性的に同じ毒性作用を持つ化合物は、相加的に作用する (用量の加算)
 - ・ 定性的に異なる毒性作用を持つ農薬は、独立して作用する。

- 4) 作業部会は、用量加算の場合は毒性等価係数（TEF）法が適切であると提案した。
- 5) 作業部会は、確率論的な暴露評価が必要であるものの、これは残留監視の変更を条件とする。

考慮された証拠

作業部会は、混合物の毒性学に関する多量の科学的証拠を考慮した（例えば、Jonker ら(1990)^{注c}、Groten ら(1997)^{注d}、Chaturvedi (1993)^{注e}）。複合混合物の研究（しばしば、環境毒性学において採用される）からは、複合作用の性質に関する情報はまれにしか得られなかった。そのような情報を得るためには、混合物とその成分を研究することが必要であり、また、複合作用と相互作用を区別するため、混合物とその成分の用量反応関係全体が必要であると考えられた。作業部会は、これら証拠は残留用量では相互作用は起こらないという仮定と一致する、また、研究を実施するのは困難であるものの、定性的に異なる毒性作用を持つ農薬は独立して作用するという仮定とも一致すると考えた。定性的に同じ毒性作用を持つ農薬は相加的に作用すると考えられたが、急性毒性のエンドポイントを求めている多くの場合は、その作用は薬物動態的な理由のため相加より小さいと思われる。作業部会は混合物に関する一部の文献に対し非常に批判的であったが、これは、研究計画がしばしば複合作用のタイプを決定できないようなものであり、また頻繁に、線形の用量－反応関係を仮定し（対数用量／プロビット反応はしばしば線形になる）、統計学の基本が無視されているためであった。

(注c) Jonker et al. 4-week oral toxicity of a combination of eight chemicals in rats: comparison with the toxicity of the individual compounds. *Food Chem Toxicol* 1990; 28: 623-63.

(注d) Groten et al. Subacute toxicity of a mixture of nine chemicals in rats: detecting interactive effects with a fractionated two-level factorial design. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 36: 15-29.

(注e) Chaturvedi AK. Biochemical and toxicological studies on mixtures of three commonly-used herbicides in mice. *Arch Contam Toxicol* 1993; 24: 449-454.

(2) COT 報告書以降

COT 報告書の公表後、食品基準庁（Food Standards Agency）は、COT の勧告を推進するため官僚からなる委員会^fを設立した。この委員会は、初期の三つの問題を考慮した。

1. 共通の作用機作を持つ農薬のグループ（共通機作グループ、CMG）にいかに優先順

位を付けるか

2. CMG をいかに定義するか（共通の作用機作とは何であるか？）
3. 共通の作用機作を持つが、定量的に毒性が異なる農薬への暴露をいかに関連付けるか（すなわち、累積の仕方）

（注 f）食品基準庁、農薬安全局、動物用医薬品局、保健省のスタッフから構成

優先順位付け

委員会は、CMG の大きさや一般の人々における懸念、ヒトにおける有害影響の可能性に基づいて CMG に優先順位を付けるべきであると考えた。

累積

英国では、累積の最良の方法に関して合意がない。Wilkinson ら（2000 年）^g は、下記の 5 つの方法について議論した。

- 1) 有害性指標（Hazard Index, HI）
- 2) 起点指標（Point of Departure Index, PODI）
- 3) 毒性等価係数（Toxicity Equivalence Factor, TEF）
- 4) 複合暴露マージン（Combined Margin of Exposure, MOE_T）
- 5) 累積リスク指標（Cumulative Risk Index, CRI）

上記のすべてが長所と短所を持っている。HI と CRI は、用量設定の他、物質によって異なる不確実係数（UF）に依存するため、相対毒性をよく表わしていない。一方、数値の異なる適切な UF を持つデータ（例えば、UF が 10 のヒトのデータからの NOAEL、UF が 100 の動物データからの NOAEL）は、導入することができる。TEF 法は、データベースの良好な参照化合物を必要とする。すべての方法は、グループ UF 又は許容基準についての決定を要する。すべての方法は類似の結果を与える。議論の多くは、グループ UF の推定の回避を模索している。

（注 g）Wilkinson CF et al. Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: how to cumulate? Reg Toxicol Pharmacol 2000; 31: 30-43.

研究に係る勧告

COT は、多くの研究に係る勧告をした。それらは以下の通りである。

- 1) 暴露のバイオマーカーの開発
- 2) 影響のバイオマーカーの開発
- 3) 混合物に対するヒトの反応における変動の特性化
- 4) 農薬や動物薬、類似物質の複合作用の性質及び用量－反応関係の双方を特性化するために、適切な実験系において研究を実施すべきである。そのような研究は、ヒトが食事で摂取する可能性のある用量を含む用量において行うべきである。
- 5) 毒性作用の共通の標的を持つ農薬のグループを確認しなければならない。そのような研究には、単純な類似作用を示すことが予想される化合物群を明らかにするために、分子レベルの作用部位の確認が含まれるかもしれない。状況によっては、適切な系において最新のアレイ技術を用いた蛋白及び／又は RNA 発現の研究が妥当であるかもしれない。これら研究は必要に応じて、遺伝子発現及び／又は酵素やホルモン活性のもっと詳細な機作に係る研究により追跡される。

(3) 英国の他の活動

- 1) 英国では、二種の異なる TEF 法を用いて、有機リン系 (OP) 累積リスク評価を実施した；最初の草案は規制体系を通過した。古い残留情報と共に、オランダの食事データが用いられた。英国では過去に HI 法を採用した。
- 2) 新しい英国の食事データともっと最近の残留データを用いて、TEF 累積リスク評価を再度実施する計画がある。
- 3) CMG への農薬の分類方法を検討中であり、注目すべき CMG の優先順位付けを実施中である。

(4) まとめ

最適な累積方法はまだ明らかになっていないし、リスク評価全体の枠組みにおける累積リスク評価の位置付けも明確ではない。将来は、農薬の複合作用を調べるために、PBPK やプロテオミクス、ゲノミクスを含めもっと精巧な手法が採用される可能性がある。

2.5.2 農薬及び類似物質の混合物のリスク評価

英国の食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性委員会 (COT) が 2002 年に発表した下記の文書の概要を示す。

「農薬及び類似物質の混合物のリスク評価」(COT 2002¹⁾)

“Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances”, Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, September 2002

食品基準庁 (Food Standards Agency) の要請により作成された、食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性に関する委員会 (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment) の本報告書では、食品中の農薬及び動物薬の複合残留、及びこれら物質への複合暴露のリスク評価を検討している。特別に設立された作業部会が報告書の草案を作成した。委託事項は以下の通りである。

- 食品中の農薬及び動物薬の複合残留が、ヒトにおいて化学物質の個々の毒性を変える可能性を評価すること—いわゆる「カクテル作用」
- 農薬の複合的な毒性について、いかなる仮定がなされるか評価すること
- 異なる経路による農薬及び動物薬への複合暴露について、潜在的なインパクトを考察すること
- 上記の考察に照らし合わせて、個々の農薬及び動物薬の安全性評価に適用できる標準的なリスク評価の手順を数式化すること

作業部会は、混合物の複合作用に関して、Cassee らの用語を用いることを決定した。これは、複合作用の様々な起こり方を説明する上で、最も実際的な方法であると考えられたからである。ここでは、毒性物質の複合作用を「非相互作用」と「相互作用」に分け、二者をさらに細分化する (下記の Table 1.1)。すなわち、「非相互的」過程は、混合物の構成要素の毒性が同じである「単純な類似作用」、及び構成要素の毒性が異なる「単純な不同作用」に分けられる。「相互的」過程は、複合影響が相加より大きい「相乗」、及び複合影響が相加より小さい「拮抗」に分けられる。

Table 1.1 Nomenclature used in this report for combined actions of components of mixtures (after Cassee et al).¹

Concept	Term used in report	Synonym(s)	Effects observed
Non-interaction	Simple similar action	Simple joint action	Concentration/dose addition
	Simple dissimilar action	Simple independent action independent joint action	Effect/response addition
Interaction	Potentialion	Synergy, supra-additivity	Greater than additive effect
	Antagonism	Sub-additivity	Less than additive effect

(上記の文献 1) Cassee FR, Sühnel J, Groten P, Feron VJ. The toxicology of chemical mixtures. In: *General and Applied Toxicology* edited by Ballantyne B, Marrs TC, Syversen T. London, Macmillan Reference Limited, 1999, 303-320.

報告書の構成

報告書の緒言 (2 章) には、上記より詳細に、作業部会の設立理由やそのメンバー、専門分野及び作業の方法が記述されている。3 章では関係者の懸念、及び社会的な不安を起こす特定の物質群について議論している。4 章では、英国 (UK) における農薬の認可及び動物薬の上市許可のための現在の規制体系、及び欧州連合 (EU) がこれら体系に及ぼす影響について議論している。ヒトの医薬品の認可や動物の飼料添加剤の規制もまた、簡単に議論されている。報告書の付託事項の範囲外であるが、有毒物質に対する職業暴露が、混合物への職業暴露を適切に取り扱う方法という観点で簡単に議論されている。米国 (USA) における農薬、動物薬、ヒトの医薬品 (ごく簡単に) の規制もまた含まれている。5 章では暴露評価を、6 章では特殊なタイプの暴露評価である生物学的モニタリングを扱っている。7 章と 8 章では、混合物の毒性を扱っている。混合物成分の複合作用の基礎になる理論的な概念が、これら概念の基盤になる実験的な証拠と共に議論されている。9 章では、確率論的なリスク評価を扱っている。これは、リスク評価で、異なる農薬への複合暴露の他、あらゆる暴露源を考慮しなければならない場合に必要になる可能性のある暴露評価の手法である。

委員会の結論

一般的な事項

委員会は、食品中に検出される農薬及び動物薬の規制体系では、異なる物質の複合的な毒性影響を常に取り扱っているとは限らないことを認識した。

食品中の農薬や動物薬、他の化学品残留物への暴露は予期しない毒性を呈することが考えられ、本報告書ではこれらについて詳細に検討された。ヒトでは複合残留物への暴露が限られているという証拠があり、そのような暴露は低レベルで起こることが結論された。実験的な状況を除いて、そのような暴露に対する有害な反応は立証されていない。しかし、複合暴露の性質と程度は、あらゆる有害影響の可能性と合わせて、リスク評価を実施する

際には評価するべきであると結論された。

特に懸念のある物質群には、コリンエステラーゼ阻害農薬（有機リン系、カーバメート系）、特定の殺菌剤、広範囲の内分泌攪乱物質が含まれる。

委員会は、特定のタイプの複合作用についてはもちろんのこと、「カクテル作用」も懸念している。すなわち、必ずしも毒性学的な類似性を持たない多くの異なる農薬や類似物質の残留物に対する暴露から有害影響が生じる可能性である。ヒトでは、そのような複合作用の発生の証拠と重要性は限られている。

母集団の特定の群、特に妊婦や幼児は、成人より、これら影響（胎児や子供の発達中の脳や内分泌系は特に懸念が高い）からのリスクが高い可能性が示唆された。また、幼児は成人に比較して、体重あたりの食品の摂取量が多いため、彼らはしばしば、リスク評価の母集団では重要なグループになる。さらに、遺伝的な要因など、他の変動因子があるかもしれない。

公共団体はまた、ヒトにおける食品以外の農薬や動物薬への暴露源の多様性を強調した。これらには、農薬や動物薬の飲料水や家庭園芸用途での残留が含まれる。

農薬、動物薬、ヒトの医薬品の規制

委員会では、毒性学的に異なる、又は類似のいずれのグループであっても、複数の農薬に対する複合曝露の影響は、欧州の規制当局によりほんの稀にしか取り組まれていないこと、また、複合曝露はほんの最近になって米国で考慮されるようになったことが明らかになった。さらに、複数の曝露源の影響は、あまり検討されていない。農薬及び動物薬の規制手続きの多くは、EU や国際レベルで調和されている。これは、委員会の結論の多くが、EU レベルで発効するように議決されるべきことを意味する。

曝露の証拠

委員会は、農薬及び動物薬の監視体制の性格のため、法的に強制力のある最大残留基準 (MRL) 以下又は以上で起こる残留の頻度を評価することは非常に難しいと考えた。この問題は、多くの監視が残留の最も起こりそうな農産物に標的を置いていることにあり、複合残留を含む残留の頻度を評価するためには、無作為抽出の監視計画が必要であろう。さらに、飲食物以外の発生源からの曝露に関するデータは、非常に乏しいか無いと思われる。

生物学的モニタリング及び生物学的影響モニタリングは、双方とも、曝露モデルを検証し、体内用量や有効用量を確認する上で有用である。同じグループの化合物に共通な代謝物 (例えば、有機リン系 (OP) 農薬に対する曝露のバイオマーカーとしてのアルキルリン酸塩の尿中排泄) は、注意してのみ取り扱うことができる。これは、アルキルリン酸塩の排泄形態が同じであっても、親化合物の毒性は著しく異なる場合があるためである。有機塩素系 (OC) 農薬は、レベルは減少傾向にあるものの、ヒトの母乳に存在するというデータがある。

曝露モデル

現在の曝露評価の決定論的な (deterministic) 方法では、時にして慎重になり過ぎる (highly conservative) 傾向にあると考えられ、複合的な曝露源、食事等の曝露経路における通常の変動、複数の化合物への曝露について得られる情報をすべて利用しているわけではない。これに代わるものは、すべての曝露源からの摂取の割合を含むあらゆる入手可能な情報を利用する、確率論的な (probabilistic) 方法を用いることである。この方法は、総合リスク評価 (aggregate risk assessment) 及び相加性を仮定できる累積リスク評価 (cumulative risk

assessment) の双方に採用できる。

混合物の毒性

環境中に生じる化学物質の混合物は複雑で変化するため、混合物の毒性影響のリスク評価は非常に難しい。ほとんどの注目は、実験動物又は *in vitro* 系を用いた試験での相対的に高濃度の暴露における、生物学的な系に及ぼす複合作用による毒性影響に対し向けられてきた。

直接的な化学反応は、混合物の成分間で起こりうる：このような反応を検討したこれらの物質の研究は比較的少ない。

いくつかの試験では、混合物の相乗的な相互作用を確認したと報じている。しかし、大抵これらの研究は、試験デザインが不適切であり、包含された概念を完全に理解していない。少数のよくデザインされた試験が、おそらく実際の暴露用量を表していないような高濃度か、実験室における高濃度暴露において、混合物の相加性の他、相乗的及び拮抗的な相互作用の出現を実証した。

ゲノムの転写又は形質導入レベルで起こる作用のようないくつかの相互作用は、推測することが容易ではない。

明らかに毒性影響のあるレベルでみられる複合作用又は相互作用のタイプからは、毒性影響のないレベル（最小毒性量（LOAEL）よりほんのわずかに低いレベルを含む）において、何が起こるか予測できない。

複合残留物に対するヒトでの潜在的な暴露の事例に関連して、飲食物を通して起こるような低い暴露レベルにおいて、どのような影響が起こりそうか評価することが重要であろう。

農薬の混合物に暴露されるヒトの健康リスクを評価することの意味

同じ標的器官や同じ作用機作を示す化学物質を用いた *in vivo* 研究では、作用の類似した

毒物の混合物は、相加性（用量の加算）を示すことを示唆した。これは「単純な類似作用」の結果であり、用量の全範囲にわたって起こるケースである。

農薬、動物薬及び類似物質の混合物に暴露されるヒトの健康リスクを評価するために、LOAEL より少し低い暴露レベルを含む毒性影響のないレベルにおいて何が起こるか知ることは不可欠である。一般的に、混合物内の化学物質の暴露レベルが NOAEL の範囲にあり、混合物の成分が異なる毒性作用機序を持つ場合、相加性や相乗性はみられず、「単純な不同作用」の基礎概念が適用され、有害な反応はありそうにないことを示唆する。

いくつかの試験（急性及び亜急性毒性、遺伝毒性、発がん性）では、農薬の混合物の複合影響が取り扱われた。二、三の試験において、個々の化合物の有害影響を示す毒性物質レベルに暴露された動物に、明らかな相乗作用が観察された。しかし、それよりもずっと低い用量レベルにこれら所見を直接的に外挿することは有効ではない。ヒトが暴露される農薬の用量は、少なくとも食品を通しては、一般的に NOAEL よりずっと低いため、個々の化学物質の（低い）毒性のない用量での農薬混合物の相加性又は相乗性による健康影響の確率は小さいと思われる。

動物又は *in vitro* 系で試験されたいくつかのエンドポイントは、一般の人々よりリスクが高いと考えられる母集団に関係している。このようなエンドポイントには、発生毒性、内分泌作用、神経毒性、遺伝毒性が含まれる。限られた情報を基にすると、子供や妊婦、授乳中の母親における混合物に関連した仮定のデフォルト値は、母集団と同じであると思われる。

委員会の勧告

規制

我々は、作物に使用される農薬の認可、及び動物薬に使用される類似化合物の認可では、あらゆる暴露源を考慮すべきことを勧告する。

我々は、一つ以上の農薬及び／又は動物薬への暴露の複合リスク評価をいつ実施することが適切であるか決定するために、科学的・体系的な枠組みを構築すべきことを勧告する。

複合暴露のリスク評価を実施することが適切であると考えられる場合、デフォルトの仮定は、毒性作用の異なる化学物質は独立して作用し（単純な不同作用）、また毒性作用が同じ化学物質は相加的に作用する（単純な類似作用）とする。後者の状況においては、毒性等価法（toxic equivalency approach）を検討してもよい。特殊な例では、相互作用、特に相乗性の可能性を考慮しなければならないかもしれない。そのような場合は、食事摂取量や他のヒト暴露に関係した知見を解釈する上で、適切な用量－反応データが不可欠であろう。

我々は、農薬の認可や動物薬に使用される化合物の認可では、製剤への他物質の添加による複合作用や相互作用の可能性について、もっと正式な解析及び実験的な検討が含まれるべきことを勧告する。この検討には、農薬のタンク内混合物も含まれるべきである。

農薬へのあらゆる暴露源、及び一つ以上の農薬への同時暴露源の解析では、リスク評価に用いられる方法の変更、いくつかのケースでは、確率論的な暴露評価法の採用が要求されるであろう。これは、残留物の監視方法の変更を条件とする。

監視

英国における食事及び食品消費量の調査では、社会、年齢、民族に係るすべてのグループを継続して母集団の中に含めるべきである。追加のグループを範囲に含める必要があるかどうか検討すべきである。

総合暴露評価（aggregate exposure assessment）では、農薬及び動物薬へのあらゆる暴露経路（体外）についての、またそのような暴露の変動源についての確固としたデータの取得が求められる。

我々は、確率論的な暴露評価のための代表的なデータの必要性に照らし合わせて、残留物の監視プログラムが修正されるべきことを勧告する。食品加工や調理がバイオアベイラビリティに及ぼす影響、及び残留物の化学的な性質は、さらに検討されるべきである。

研究

我々は、農薬及び関係する動物薬の残留混合物への母集団暴露や全身負荷の、有効かつ

費用効果的なバイオマーカー又は他の確固たる指標を提供する方法を開発すべきことを勧告する。

我々は、そのような暴露から起こる全身性反応及び健康影響を初期に信頼性よく検出できる有効なマーカー（影響のバイオマーカー）を開発すべきことを勧告する。

この研究は、農薬及び動物薬の混合物に対するヒトの反応における変動の特性化にまで拡大すべきである。

我々は、農薬や動物薬、類似物質の複合作用の性質及び用量－反応関係の両方を特性化するために、適切な実験系でさらなる研究を実施すべきことを勧告する。そのような研究は、ヒトが食事で摂取するような用量を含む用量で実施されるべきである。毒性作用の共通の標的器官を持つ農薬のグループを同定しなければならない。そのような研究には、単純な類似作用を示すことが予想される化合物群を明らかにするために、分子レベルでの作用部位の確認が含まれるかもしれない。場合によっては、妥当な系において、最新のアレイ技術を用いた、蛋白及び／又は RNA 発現の研究が適切であるかもしれない。これらの後には、必要に応じて、遺伝子発現及び／又は酵素やホルモン活性のより詳細な機作の研究が行われるかもしれない。ある場合には、アレイ技術（RNA 及び蛋白）が適切であり、他の場合には、酵素やホルモン活性が適切であるかもしれない。

情報公開

農薬及び類似物質に対するあらゆる形態のヒト暴露についての、アクセス可能な中央情報センターを設立すべきである。

農薬及び動物薬の国内ユーザーが入手できる情報の範囲と妥当性については、理解の程度と容易さを審査することが要求される。

2. 6 デンマーク

デンマーク農業食品水産省（Danish Ministry of Agriculture, Food and Fisheries）の一部門にデンマーク動物食品局（Danish Veterinary and Food Administration）がある。デンマーク動物食品局は、「農場からフォークまでの」食品や動物関連の領域における管理、研究、統制の他、動物保護に係る実務的な事項（他に、司法省の管轄）の責任を負う。

規制や調整、研究開発は、Moerkhoejにある局センター（Administrations center）で行われる。11の地方局（Regional Authorities）が輸入／輸出等を含め、食品や動物に関連した事項の実際的な検査を行う。

デンマーク動物食品局の本部には約550名のフルタイム従業員がおり、また11の地方局にはさらに約1,600名のフルタイム従業員がいる。

デンマーク動物食品局が2002年7月に発表した下記の文書の概要を示す。

「食品中の農薬の複合作用」（Reffstrup 2002⁵⁵）

Trine Klein Reffstrup, “Combined actions of pesticides in food”, Institute of food safety and nutrition, Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri, Juli 2002

本報告書の目的は、農薬混合物のリスク評価において、一般的な標準方式を採用する科学的な根拠があるかどうか検討することである。これは、ヒトが食品経由で暴露される農薬混合物の現行の毒性学的なリスク評価を確かめ、改善するために行われる。

グループADIを持つ二、三の農薬グループ（例えば、ジチオカーバメート類として掲載されるもの）を除いて、作物中の農薬の複合残留に対する暴露の毒性学的な評価の国際的に容認された手順はない。ヒトは類似した、又は異なる毒性影響を有する一つ以上の農薬に同時に暴露されるものの、食品中の残留農薬のリスク評価は、単一化合物の毒性学的な評価に基づいている。これら化合物は相互に作用し、単一化合物から予想されるより高い、又は低い毒性影響を引き起こす。従って、農薬の潜在的な複合作用は、リスク評価の過程において取り扱う必要がある。

農薬混合物の毒性の評価では、混合物の組成や個々の化合物の作用機作に関する詳細な情報が要求される。リスク評価を行うためには、正しい暴露データもまた必要とされる。

大抵の場合、そのような詳細な情報は得られない。ヒトが食品経由で暴露される残留農薬の混合物は、組成や量が時間と共に変化する。組み合わせが多すぎ、また十分な数の用量レベルが実行可能でないため、あらゆる混合物の影響を検討することは可能ではない。さらに、農薬混合物の高用量レベルは、低用量レベルとは違ったタイプの影響を呈する可能性があり、高用量から低用量への外挿は意味がないかもしれない。

化学物質混合物の健康リスク評価のための二種類の異なる手法、すなわち、「混合物全体の手法」と「成分を基にした方法」が推奨された。混合物全体の評価は、懸念されるその混合物について、又は十分に類似した混合物や類似混合物のグループについて行われる。これら評価は食品中の残留農薬のリスク評価には理想的であるが、非常にデータ依存적であるため、ここでは適用できない。

このため、より現実的なものとして「単一化合物の手法」が残される。化合物が毒性学的に類似している（例えば、同じ作用機作の）混合物については、「Loeweの相加性」に基づいた4つの方法が提案された。

- 有害性指標 (hazard index)
- 相対効力係数 (relative potency factor)
- 毒性等価係数 (toxicity equivalency factor)
- 暴露マージン (margin of exposure)

これら方法では、毒性学的なプロセスにおいて要求されるデータが異なるが、すべての場合、暴露レベルは、毒性学的な効力の違いを説明する比例係数をかけた後、足し合わされる。独立して作用する（異なる作用機作の）化合物については、反応を足し合わせる手法 (response addition approach) が提案された。また、相互に作用する化合物については、相互作用有害性指標 (interaction hazard index) の使用が提案された。

いくつかの報告書では、農薬は NOAEL より十分に低いレベルでしか食品中に検出されないため、毒性学的に類似の機作（同じ作用機作）及び毒性学的に独立した機作（異なる作用機作）に基づく手法は残留農薬のリスク評価に用いられることを提唱している。事実、化合物が毒性学的に同じでない場合でさえも、ほとんどの場合、毒性学的に類似した化合物のための方法を用いることができると示唆された。

提唱されたリスク評価モデルの背景にある仮説を検証するため、科学文献に発表された、農薬（農薬製剤の有効成分）の混合物の複合毒性についての現在の知見が、本報告書に要約され評価されている。農薬混合物の *in vivo* 試験が、食品中に予想される残留農薬に比較して高い用量（NOAEL の 10 倍以上）で実施された。高用量を採用した試験では、相加性及び相互作用（相乗作用や coalism、拮抗作用のような）の双方を示した。文献に報告された試験はいずれも、通常検出される残留範囲の低用量の農薬を使用していなかった。さらに、理論的に可能な農薬混合物の数は、試験が行われ科学文献に発表された混合物の数に比較して膨大であり、全体的に試験データの質は、明白な結論に到達するには十分に良好でない。このため、食品中の農薬混合物をリスク評価するための一般的な標準方式を確立するには科学的な背景はないと結論される。しかしながら、他の化学物質混合物についての低用量における試験では、混合物中の単一化合物と異なるリスクを呈しないことが見出された。著者は、任意に選択した化学物質への複合暴露は、混合物中のすべての化学物質がそれぞれの個々の NOAEL で投与されたとき、相加性以上の作用を示さないと結論した。

当座は、作物中の農薬混合物の実行可能なリスク評価として、ケースバイケースの評価をすることが最良の提案であり、その場合は、農薬の入手できる化学的データ、毒性学的データを証拠の重み付けにより評価する。その際、分母の許容レベルとして許容一日摂取量（ADI）又は NOAEL を用い、有害性指標（hazard index）を採用すべきである。しかし、証拠の重み付けの過程で、混合物中の化合物が共通の機作を持つことが指摘された場合（例えば、有機リン系農薬）、可能であれば、毒性等価係数（toxicity equivalency factor, TEF）手法を採用すべきである。

デンマークで消費される特有の作物に検出された残留農薬のリスク評価が 10 例、本報告書に示されている。この評価では、実際の作物を食することによるリスクのみを考慮し、一般の食品や他の暴露源からの農薬暴露全体を考慮しなかった。リスク評価は、単一化合物の化学構造、毒性（毒性影響、標的器官、作用機序を含む）、代謝、代謝産物に係るデータに基づいている。かかるデータは、デンマークの小売店で入手できる食品（国内で生産され、消費される）に検出された約 80 農薬について提供された。この 10 例では、提唱されたリスク評価法は実際に使用可能であり、事例にある残留農薬の実際のレベルはヒトに

対しリスクを引き起こすとは予想されないことが示された。

農薬混合物のリスク評価の分野は比較的新しく、さらなる研究が必要である。実際、モデルの正しい役割や本報告書に記述された内容を明らかにするため、農薬の複合作用に関するさらなる実験研究が必要である。

2. 7 オランダ

2005年11月ドイツのベルリンで開催された、消費者保護のための第二回 BfR フォーラムにおいて、オランダの国立公衆衛生・環境研究所 (RIVM) の Marcel T.M. van Raaij 博士は、オランダの実情を含め、農薬の累積リスク評価について次のような発表をした。

(RIVM 2005⁵⁷)

様々な化合物に対する累積暴露は、注目が増している分野である。特に、食品中の残留農薬に対する累積暴露は、懸念される可能性のある分野である。この問題は、特に共通の毒性機作を持つ農薬（例えば、有機リン系）に関係している。非政府組織は、農薬のリスク評価手順に累積暴露を含める必要性を強調している。最近はまだ、適切な手法が入手できるようになれば、速やかに農薬に対する累積暴露をリスク評価に含めるべきであることを規定した新しい規則が制定された。2005年 RIVM は、農薬に対する累積暴露の入手可能な情報、また、特に適切な累積リスク評価にはどのような手法が入手可能であるかを評価した。この点で、暴露計算と毒性学的（有害性）問題の双方が考慮された。

各種の累積リスク評価の基本は、様々な物質を合算できる手法である。この点で二つの手法を用いることができる：有害性指標 (Hazard Index)、及び相対効力係数 (Relative Potency Factor, RPF) の使用。RPF 手法は最も適切な手法であるが、この手法は概念的には真の用量加算が成り立つときにのみ適用できる。あらゆる組み合わせの有機リン系農薬の作用が真に相加性であるかどうか、また RPF 手法が有効であるかどうかは明らかでない。有機リン系の用量加算の概念を支持するデータはあるものの、用量加算の概念と矛盾するデータもまた科学文献に見られる。この問題に関する情報をもっと求められている。

さらに、入手できる残留農薬データの問題も生じるかもしれない。農薬の累積リスク評価のための現在の手法では、モニタリングデータが使用されており、これは母集団の最も適切な摂取量を提供するものである。しかし、農薬の認可のための手続きの中では、野外試験が採用されている。例えば、これらのデータは確率論的な評価では、非現実的な最悪のケースの摂取量評価を来たすであろう。モニタリングデータが得られない新規農薬についても、概念的な問題が起こる：その場合、どのようなデータを使用すべきか？ 解決すべきさらなる問題に、欧州を通しての摂取量の地域的な相違がある。累積リスク評価は、あ

る地域では問題を含んだ結果になるかもしれないが、別の地域では必ずしもそうでないかもしれない。

農薬に対する累積暴露を含めると、認可や検査の手続きのためのリスク管理の決定にもまた影響を及ぼす；為政者はこの領域において選択しなければならないであろう。いくつかの事例が提示されている。例えば、一つの新しい有機リン系農薬が届け出られたとする。この単一物質のリスク評価では、いかなる健康リスクも見られない。しかし、新規物質の新規用途を追加すると、累積摂取量が健康をベースにした限界値を超える結果になるかもしれない。その場合どうするか？ 新規農薬の使用を認めないか？ あるいは、累積リスクに最も寄与する活性な物質か、最も毒性の強い物質を禁止するか？ 我々は禁止を活性物質のレベルで扱うべきか、それとも製品のレベルか？ 我々はまた、作業暴露や環境リスクのような他の側面も考慮すべきか？ リスク管理者は、このような決定を下さなければならない。そのような後続管理なしには、累積リスク評価の提示という科学的事項の投入も有用にはならない。一般的に RIVM は、次のような見解を持っている：累積リスク評価において用いられる科学的な手法の有効性は、リスク管理の方針と合致していなければならない。言い換えると、リスク管理の決定が大きな影響を持てば持つほど、その手法は精巧なものでなければならない。

最近のワークショップにおいて、RIVM はオランダの政策決定者とこれらの問題のいくつかを議論した。現時点でオランダの手法は、可能な場合に累積リスク評価を実行することである。しかし、累積リスク評価はどの物質群に適切であるかを決定するための明確で一貫した基準が必要である。一般に、RPF 法に基づいた有機リン系農薬の手法は支持されているが、この問題におけるさらなる情報が必要であると思われる。完全なリスク評価に必要な出力を供給するために、我々の摂取量計算を発展させる可能性をさらに探究する必要がある。

オランダの研究所（RIVM、RIKILT、TNO）、省庁（公衆衛生、農業）、食品・非食品局（VWA）が参加した最近のワークショップでは以下の事項が議論された。

- 累積リスク評価が適切な物質群を決定するための普遍的なクライテリアを提案すること

- 可能な場合は、累積リスク評価を実行し始めること — 例えば、OPについて作業実施
- 累積リスク評価は認可の他、検査の手続き双方における問題となること
- 累積が（農薬領域外で）関係する他の物質群にも注目すること
- 総合暴露の問題にも注目すること

3. 農薬混合物の毒性学

農薬混合物の毒性学について言及するに当たり、始めに複合影響の一般的な概念及び用語について述べる。次いで、農薬混合物の毒性分野における試験研究等の論文を収集整理し解析した英国とデンマークの事例を紹介する。また、我々自身で文献検索し、得られた研究論文をまとめた結果についても報告する。

3. 1 複合影響の概念

複合影響を表すためにいくつかの概念や用語が採用されている。ここでは、英国とデンマークの文書で用いられている用語を紹介する。

(1) 英国 (COT 2002¹¹)

複合影響の様々な起こり方を説明する上で、最も実際的な方法であると考えられた Cassee らの用語が採用されている。毒性物質の複合影響を非相互作用と相互作用に分け、二者をさらに細分化する (表-3.1)。すなわち、非相互的プロセスは、混合物の構成要素の毒性が同じである単純な類似作用、及び構成要素の毒性が異なる単純な不同作用に分けられる。相互的プロセスは、複合影響が加算より大きい増強作用、及び複合影響が加算より小さい拮抗作用に分けられる。

表-3.1 混合物成分の複合影響の用語 - Cassee ら(1999年)^aによる -

	1	2	3	4
1	概念	用語	同義語	観察される効果
2	非相互作用 (Non-interaction)	単純な類似作用 (Simple similar action)	単純な共同作用 (Simple joint action)	濃度/用量の加算 (Concentration/dose addition)
3		単純な不同作用 (Simple dissimilar action)	単純な独立作用 (Simple independent action) 独立した共同作用 (Independent joint action)	影響/反応の加算 (Effect/response addition)
4	相互作用 (Interaction)	増強作用 (Potentiation)	相乗性 (Synergy) 超相加性 (Supra-additivity)	加算より大きい (Greater than additive effect)
5		拮抗作用 (Antagonism)	低相加性 (Sub-additivity)	加算より小さい (Less than additive effect)

(注 a) Cassee FR, Sühnel J, Groten P, Feron VJ. The toxicology of chemical mixtures. In: General and Applied Toxicology edited by Ballantyne B, Marrs TC, Syversen T. London, Macmillan Reference Limited, 1999, 303-320.

(2) デンマーク (Reffstrup 2002⁵⁵)

二成分系混合物の複合影響について合意の得られた用語を表-3.2 に示す。

表-3.2 二成分系混合物の複合影響の用語 – Greco ら(1992 年)^bを改訂した表–

	1	2	3	4	5
1		双方の成分とも類似の機作で効力がある	双方の成分とも異なる機作で効力がある	一成分のみが単体で効力がある	どの成分も単体で効力がない
2	相乗作用：複合影響は予測より大きい	Loewe 相乗性 (Loewe synergism)	Bliss 相乗性 (Bliss synergism)	相乗性 (Synergism)	(Coalism)
3	相加性：複合影響は参照モデルからの予測に等しい	Loewe 相加性 (Loewe additivity)	Bliss 独立性 (Bliss independence)	不活性 (相互作用なし) (Inertism)	不活性 (相互作用なし) (Inertism)
4	拮抗作用：複合影響は予測より小さい	Loewe 拮抗性 (Loewe antagonism)	Bliss 拮抗性 (Bliss antagonism)	拮抗性 (Antagonism)	

(注 b) Greco WR, Unkelbach HD, Pösch G, Sühnel J, Kundi M, Bodeker W. Consensus on concepts and terminology for interaction assessment: the Saaresilkä agreement. Arch Complex Environ Stud 1992;4:65-69.

Loewe 相加性と Bliss 独立性は経験的な参照モデルとみなされ、相加性という用語は、Loewe 相加性と Bliss 独立性、不活性に共通な用語として用いられている。

二成分系混合物の複合影響は、その影響が参照モデルから予測されるより大きい場合、相乗的（例えば、Loewe 相乗性、Bliss 相乗性）と呼ばれる。逆に、複合影響が予測より小さい場合、その作用は拮抗的（例えば、Loewe 拮抗性、Bliss 拮抗性）と呼ばれる。

表-3.2 の第 2、第 3 列は、Loewe と Bliss によって述べられた二つの参照モデルを示し、混合物中の個々の化学物質が効力のある場合に用いられる。その右側の第 4、第 5 列は、混合物中の化学物質がただ一つ、又はどれも単独では効力がない状況を表している。

各々のモデルについて、相加性という用語は第 3 行に示され、相乗作用という用語はその上の第 2 行に、また拮抗作用という用語は下の第 4 行に示されている。

Greco ら (1992 年) は二成分を超える混合物の場合、これらの用語を用いることは有用でないと述べており、今まで毒性学の分野で農薬の複合影響を理解するために、これら二つのモデルを採用した科学者は少ない。

(注) 英国 (表-3.1) の「単純な類似作用(Simple similar action)」とデンマーク (表-3.2) の「Loewe 相加性(Loewe additivity)」が対応する。また、英国 (表-3.1) の「単純な不同作用

「(Simple dissimilar action)」とデンマーク（表-3.2）の「Bliss 独立性(Bliss independence)」が対応する。

3. 2 英国

英国の食品・消費者製品・環境中化学物質の毒性委員会（COT）が2002年に発表した下記の文書の概要（8章）を示す。

「農薬及び類似物質の混合物のリスク評価」（COT 2002¹¹）

“Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances”, Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, September 2002

8章 混合物の毒性学 — 試験による証拠

緒言

本章は、混合物毒性の分野における関連した実験データの要約からなる。一般的に、ここに記述された研究は、農薬を含む混合物の研究に限られている。しかし、例えば、混合物毒性の研究に対する有用な手法となる場合、他の混合物を含むいくつかの研究も含まれている。ここに記述されている研究の大部分は、同時複合暴露の急性、亜急性、慢性毒性を研究したもの、及び代謝やトキシコキネティックエンドポイントよりむしろ動力学的なエンドポイントの調査に限られている。前章で議論したように、混合物に関する多くの研究からは、どのような種類の複合作用が存在するのか結論を引き出せない。

概観

混合物の毒性を記述した論文は多い。しかし、比較的少数の研究しか、混合物内の構成成分の間で起こる相互作用の性質、及び相加性からのずれを十分に研究していない。

混合物の毒性の研究は、一般的に、はっきりと異なるタイプに分けられた。単一物として完全な混合物の毒性を研究する場合は、しばしば環境中で見られるようなもの（例えば、水質汚染物質）を代表する複雑な混合物が含まれていた。構成成分単独の作用が同時に研究されず、個々の成分間で起こる相互作用の性質に係る情報がわずかしか得られないため、いくつかの例外を除いて、これら混合物はこのレビューには含まれていない。しかし、個々の成分の濃度が個別に報告されたADI以下であると確信できる（従って、個々のNOAELより十分に低いと思われる）非常に低い用量で混合物の毒性を評価したいくつかの研究があった。これらの研究からは、毒性を高める可能性のある相互作用の性質に関して情報が得られないものの、毒性影響を示さない場合、この特定の混合物については、相互作用が

起こってもこの暴露レベルでは毒性が高められないという事実がある程度保証されるかもしれない。

複雑性の低い混合物を扱った多くの研究では、個々に、また様々な組み合わせで、化学物質の作用が研究された。いくつかの事例では、得られたデータは、単一成分の作用の単純な加算によっては予測できないような作用を示した。著者は、相加性からのずれ、すなわち相互作用の証拠を示すと主張した。しかし、様々な理由から、これら試験の多くは試験計画が十分でなく、彼らの主張を実証できなかった。主としてこれは、研究者が個々においても組み合わせにおいても、化学物質を単一用量でのみ試験したためである。用量-反応の形について知見がなければ、いかなる相互作用の性質も推測できない。例えば、単純な類似作用 (simple similar action) (単純な共同作用 (simple joint action) 又は濃度/用量加算 (concentration/dose addition)) については、NOAEL に近いかすぐ下の用量では、又は反応が飽和に近い高用量では、混合物の作用には相加性があるとは思われない。作用を加算できるという結論は、用量-反応が直線的である場合のみ成り立つ。さらに、高用量データの低用量暴露への外挿は、必ずしも有効であるとは限らない。

他の研究者は、混合物の構成成分の相互作用を調べるという特殊な目的のために、用量-反応、及び低用量における混合物の潜在的な作用に配慮しながら、試験計画に多くの考慮を払った。

いくつかの研究では、個々の成分について NOAEL 及び/又は LOAEL を予め決定し、次いで、NOAEL 及び/又は LOAEL、また NOAEL 以下の濃度において混合物を試験した。この種の試験では、一般に最大 10 の成分を含む混合物が調べられた。腎細胞毒素の混合物を含む Jonker らによる一連の研究は、同じ標的器官を持つが作用機序が異なる化学物質の混合物に対する単回又は反復暴露では、個々の化学物質に対する暴露レベルが毒性のないレベルであれば、有害性の明らかな増大が起こらないことを強く示唆した。同じ標的器官と同じ作用機序を持つ化学物質の混合物については、個々に毒性のないレベルで化学物質を同時投与した場合、誘発される作用は単純な相加性に基づいて予想される作用に対応している。しかし、混合物成分がそれぞれの NOAEL に等しいレベルで存在する場合、それら成分が毒性影響を呈する機作にかかわらず、軽微であってもいくらかの有害作用が起こ

るかもしれない。さらに、個々の LOAEL に等しいレベルで存在する混合物成分に対する同時暴露が起こる場合、ある程度の相互作用が起こる可能性がある。複数の標的器官を持つ毒素混合物（マイコトキシン、アルデヒド類等）を調べた類似企画の研究でも、同じ事象が示唆された（例えば、Groten ら）。

いくつかの研究では、混合物の相互作用や非相互作用を調べるため、様々な階乗的なレベルの用量群が用いられた。このような試験計画や精巧な数学モデルでは、研究対象となる化学物質の主な作用や相互作用のすべてを確認することができる。この種の研究データから、複合影響はエンドポイントに依存して、単純な相加性、及び相加性より小さいか大きい作用の両方を同時に含む場合のあることが実証された。しかし、データを解析するために用いられるモデルは、それらが例えば単調な用量-反応曲線を形成するという仮定によって制限される。個々の化学物質について用量-反応特性が分からない場合は、解釈も制限されるかもしれない。

他の研究では、まず用量-反応を特性化し、次いで、作用が等しい (isoeffective) と予想される濃度の混合物を用い、等興奮性分析 (isobolic analysis) により相互作用を決定した。化学物質が類似/共通の機作により作用すると思われる場合、観察される作用は直線的な用量加算モデルに従い予測できる。等興奮性手法 (isobolic methods) を用いて得られるデータの解釈は、各々の構成成分の等作用性用量 (equi-effective doses) が知られている精度によって制限される。

混合物毒性の研究は興味深い分野であることは明らかである。単純な混合物において起こる相互作用の性質を決定するために、精巧な研究計画が求められる。より複雑な混合物を取り扱う場合は、状況はもっと錯綜してくる。これらの研究から導かれたデータの有用性は、個々の化合物について用量-反応曲線がどの程度明らかになっているかによって決まってくる。低レベル暴露のリスク評価のため、高用量における作用や相互作用を外挿することは、いつも有効であるとは限らない。急性毒性の重要な標的は、特に長期間にわたると、低レベル暴露における場合と同じでない可能性があるため、急性作用の研究は役に立つと考えられていない。

混合物の構成成分の間に相互作用が起こっても、相互作用の詳細な機構はほとんどの場合分からないうちであろう。ある成分と第二成分との相互作用の性質は、第一成分と第三成分との間で起こるものと異なることはかなりありうることである。相互作用によっては、他の相互作用により抑止され、このためその存在が遮蔽されるかもしれない。しかし、我々の現在の知見に基づくと、より高次の相互作用の可能性は小さい。個々の成分の吸収、分布、代謝、排泄（ADME）及び薬理学的毒性学的作用が定量的なレベルで十分に判明している場合、単純な混合物内の相互作用の出現や程度を、純粋に機作を基にして、また例えば薬理学的薬物動態（pharmacologically-based pharmacokinetic, PBPK）モデルを用いて予測することが可能であるかもしれない。この知識がない場合、適切な実験が要求される。しかし、もっと複雑な混合物やカクテルを考慮する際は、二成分又は単純な混合物に係る研究データからは限られた情報しか得られない。

農薬混合物に暴露されるヒトについて潜在的な健康リスクを評価する意味

素性の明らかな化学物質混合物を用いた毒性研究は、明らかに毒性影響のあるレベルで観察される複合作用や相互作用からは、LOAEL よりほんのわずかに低いレベルを含む無毒性影響レベルにおいて何が起こるかを予測することはできないことを示した（レビューについては Cassee ら及び Groten らを参照）。たとえ化学物質の一つがわずかに毒性影響のあるレベルで存在していても、混合物の複合作用のタイプは、明らかに毒性影響のあるレベルで起こるものと異なるかもしれない。しかし、毒性影響のないレベル（LOAEL よりほんのわずかに低い暴露レベルを含む）において起こる事象は、これら化学物質の混合物に暴露されるヒトについて潜在的な健康リスクを評価する上でまさに重要である。一般に、混合物内の化学物質の暴露レベルが NOAEL の範囲にあれば、相加性及び相乗作用がみられず、独立した共同作用（independent joint action）の基礎概念の適用可能性を示す。

他方、同じ標的器官及び同じ作用機序を呈する化学物質（例えば、腎細胞毒素、感覚刺激物質、マイコトキシン、エストロゲン活性を持つ化合物）を用いた *in vivo* 研究では、類似作用のある毒物の混合物の毒性は、個々の化合物の LOAEL よりわずかに低いレベルにおいてさえも、相加性の仮定に基づいて予想される作用に対応することが明らかになった。これらの例では、用量加算モデルが有害性評価のために採用されるべき基礎概念を表す。このモデルは、無毒性レベルから LOAEL までの全範囲の暴露レベルにわたって適用可能

である。

いくつかの研究（急性毒性、亜慢性毒性、遺伝毒性、発がん性）で農薬混合物の複合影響を検討したところ、二三の研究において相乗作用の明らかな事例が、作用レベルの個々の化合物に暴露された動物に観察された。しかし、ずっと低い用量レベルへのこれら知見の外挿は有効でなく、またヒトが暴露される農薬の用量が一般に NOAEL よりずっと低いため、個々の化学物質の（低）無毒性用量における農薬混合物の相加性又は相乗作用による健康影響の増大の可能性は小さいと思われる。これらの法則に対する例外は、作用機序が類似した、又は物理化学的及び／又はトキシコキネティック相互作用の証拠が明白な農薬混合物、及び安全性の余地がないか非常に小さい農薬混合物であろう。

母集団の中のリスクの高いサブグループ

幼児は、体重ベースで食品の摂取量が多いため、暴露評価においてしばしば重要なグループであることを既に述べた。さらに、胎児、幼児や子供は農薬の特定の毒性影響、特に内分泌攪乱や神経毒性に対してより感受性が高いという仮説を立てた（レビューについては National Research Council 及び Aggett and Kuiper を参照）。本章に引用した動物試験からのこのような毒性学的エンドポイントに係るデータは、複合暴露に関して前節（農薬混合物に暴露されるヒトについて潜在的な健康リスクを評価する意味）で導かれた結論が、これらエンドポイントや母集団の中のサブグループについても当てはまることを示唆している。個人の間での遺伝学的な相違が農薬混合物に対する感受性に影響を及ぼす程度は知られていない。暴露マージンは相互作用が予想されないということであるが、これは、混合物のリスク評価のために重要ないかなる知見も適切に考慮されるよう、将来にわたって注意深く監視する必要のある問題である。

3. 3 デンマーク

デンマークの食品安全・栄養研究所が 2002 年に発表した「食品中の農薬の複合作用」(Reffstrup 2002⁵⁵) と題する報告書の 5 章には、次のような内容が記述されている。

文献検索に利用したデータベースは Medline、Silverplatter Medline、Toxline、Toxline Plus であり、1980 年から 2001 年半ばまでの文献を検索した。キーワードは次の通りである。

- Pesticide
- Toxicology
- Mixture
- Interaction/Chemical interaction
- Cumulative risk/effect
- Combined effect
- Additive/additivity
- Synergistic/synergism
- Antagonistic/antagonism
- Potentiation
- Loewe additivity/antagonism/synergism
- Bliss independence/antagonism/synergism
- Increase
- Enhancement
- Reduction

定量的及び定性的な解析の結果、最終的に、農薬混合物の複合作用に関する論文は 47 件、農薬と非農薬の混合物に関するものは 18 件抽出された。そのうち、農薬混合物について以下に記載する。

3. 3. 1 文献データの評価

収集した文献のデータの質により、定量的解析あるいは定性的解析を行った。解析にあたっては、2 化合物単体の影響と混合物としての影響の両方を把握しておく必要がある。この報告書では、原文における 2 章（本報告書添付資料 1-6 を参照）のモデルの 1 つが適用可能である場合に定量的解析とみなしている。

農薬の複合影響をテーマにした文献は 47 あり、1 文献で複数の実験を行っているものもあったため、試験数は全部で 50 (*in vitro* 試験 22 + *in vivo* 試験 28) であった。*in vivo* 試験

ではラットを用いた試験が最も多く（21 試験）、マウスは 5 試験、イヌは 2 試験のみであった。

定量的解析が可能であったデータは 50 試験中 21 で、そのうち 15 試験は混合物中の 1 化合物のみが単体として影響を起こす、あるいは単体として影響を起こす化合物が全く含まれていない混合物の試験であった。21 試験中 2 試験のデータのいくつかは定性的解析が可能であった。50 試験のうち残りの試験のデータは、複合影響を判断するには不十分であった。

定量的又は定性的解析が可能であったものについて、次に概要を示す。ただし、ここに示す内容は必ずしも文献の著者の解釈とは一致していない。

21 試験中のデータのいくつかは定量的又は定性的解析に適したデータであった。この試験内容抄録一覧は表-3.5 及び表-3.6 に示す。in vivo 及び in vitro 試験結果の分類と件数について次の（1）及び（2）に記載する。

（1） in vivo 試験

2 農薬の組み合わせで実施している in vivo の 10 試験において、28 件の混合物データで定量的解析が可能であった。そのうち 12 件が加算的作用 (Bliss independence 又は inertism) を示した。9 件では加算的作用を下回る複合作用 (Bliss/Loewe antagonism や antagonism) を示し、異なる組み合わせの 3 件については相乗作用 (Bliss synergism や synergism) を示し、4 件は in vivo では coalism (単剤ずつでは影響を起こさないが複合投与によって影響が起きる) を示した。

表-3.3 デンマークで評価した in vivo 試験結果の分類と件数

	単体では 2 剤とも類似の機作で影響を起こす	単体では 2 剤とも類似でない機作で影響を起こす	単体では 1 剤のみ影響を起こす	単体では 2 剤とも影響を起こさない
相乗作用 (Synergism): 予測よりも複合影響が大きい場合	Loewe 相乗作用 (Loewe synergism): 0 件	Bliss 相乗作用 (Bliss synergism): 0 件	相乗作用 (Synergism): 2+1? 件 (Kunts et al. 1990, Williams et al. 1958)	(Coalism): 4 件 (Selmanoglu et al. 2001, Akay et al. 1999)
相加作用 (Additivity): モデルでの予測と複合影響が同等の場合	Loewe 相加作用 (Loewe additivity): 0 件	Bliss 独立作用 (Bliss independence): 1 件 (Sedrowicz et al. 1996)	相互作用なし (Inertism): 10 件 (Chaturvedi et al. 1991, Selmanoglu et al. 2001, Kuntz et al. 1990, Akay et al. 1999, Krechniak et al. 1994)	相互作用なし (Inertism): 1 件 (Chaturvedi et al. 1991)
拮抗作用 (Antagonism): 予測よりも複	Loewe 拮抗作用 (Loewe antagonism): 1 件 (Lodovoci et al.	Bliss 拮抗作用 (Bliss antagonism): 2 件 (Raizada et al. 2001,	拮抗作用 (Antagonism): 6 件 (Krechniak et al. 1994,	

合影響が小さい場合	1997)	Kuntz et al. 1990)	Selmanoglu et al. 2001, Akay et al. 1999, Boyd et al. 1990)
-----------	-------	--------------------	---

1? : 相互作用が定性的評価である 1 件

(2) *in vitro* 試験

2 農薬の組み合わせで実施している *in vitro* の 11 試験において、26 件の混合物データで定量的解析が可能であり、1 件の混合物データについては定性的解析が可能であった。相乗作用 (Loewe synergism や synergism) が *in vivo* 試験よりも多く認められ、実際には 12 件が該当した。さらに、2 件については「coalism」を示した。9 件の混合物データが相加作用 (Loewe additivity や Bliss independence や inertism) を示し、4 件は拮抗作用 (Bliss antagonism や antagonism) を示した。試験した農薬の大多数は、単剤では 1 剤のみが作用を示す農薬か、あるいは両方とも作用を示さない農薬であった。

表-3.4 デンマークで評価した *in vitro* 試験結果の分類と件数

	単体では 2 剤とも類似の機作で影響を起こす	単体では 2 剤とも類似でない機作で影響を起こす	単体では 1 剤のみ影響を起こす	単体では 2 剤とも影響を起こさない
相乗作用 (Synergism): 予測よりも複合影響が大きい場合	Loewe 相乗作用 (Loewe synergism): 1 件 (Iyaniwra 1989)	Bliss 相乗作用 (Bliss synergism): 0 件	相乗作用 (Synergism): 11 件 (Marinovich et al. 1996, Segal & Fedoroff 1989, Gilot-Delhalle et al. 1983, Marinovich et al. 1994, Arnold et al. 1997)	(Coalism): 2 件 (Arnold et al. 1997, Dolara et al. 1992)
相加作用 (Additivity): モデルでの予測と複合影響が同等の場合	Loewe 相加作用 (Loewe additivity): 2 件 (Richardson et al. 2001, Iyaniwra 1989)	Bliss 独立作用 (Bliss independence): 1 件 (Aylsworth et al. 1989)	相互作用なし (Inertism): 6 件 (Segal & Fedoroff 1989, Arcaro et al. 1998, Arnold et al. 1997, Marinovich et al. 1994)	相互作用なし (Inertism): 0 件
拮抗作用 (Antagonism): 予測よりも複合影響が小さい場合	Loewe 拮抗作用 (Loewe antagonism): 0 件	Bliss 拮抗作用 (Bliss antagonism): 1 件 (Aylsworth et al. 1989)	拮抗作用 (Antagonism): 2+1?件 (Marinovich et al. 1994, Wang et al. 1987, Segal & Fedoroff 1989)	

1? : 相互作用が定性的評価である 1 件

表-3.5 デンマークで評価した *in vivo* 試験抄録

	著者, 年	国/ 機関*	農薬 ()内はその行での略号	農薬の組み合 わせ理由	試験系	用量, NOAEL [mg/kg/day] 等	投与方法	エンドポイント又は測定 項目	相互作用 (デンマーク評価定義)	備考
1	Sedrowicz et al. 1996 ⁵⁸	Po	Clorfenvinphos (CF) + Cypermethrin (CM)	汎用 (単独又は混合)	ラット	CF: 0.75 (NOAEL=0.05) CM: 18.0 (NOAEL=5)	2週間強制経口投与 (溶媒:大豆油)	灌流肝でのロイシン 吸収・保持	Bliss independence	CFは高用量
2	Chaturvedi et al. 1991 ⁹	US	Toxaphene + Parathion /+ 2,4-D	汎用農薬	マウス	T: 50 (NOAEL=0.4) P: 5 (NOAEL=0.4) 2,4-D: 50 (NOAEL=1)	7日間強制経口投与	肝シトクロム P450 量	Inertism (3剤混合時)	高用量 T投与群のみ影響あり
3	Chaturvedi et al. 1991 ⁹	US	Parathion + 2,4-D	汎用農薬	マウス	P: 5 (NOAEL=0.4), 2,4-D: 50 (NOAEL=1)	7日間強制経口投与	肝シトクロム P450 量	Inertism	高用量 単独剤投与群では影響なし
4	Selmanoglu et al. 2001 ⁶⁰	Tur	Dimethoate + Endosulfan / Carbaryl	汎用 (トルコ)	ラット	D: 20.4 (NOAEL=1.2) E: 6.12 (NOAEL=0.6) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与 (溶媒:ヒマ ツリ油)	血清中 AST の変化	Inertism (2剤混合時)	D, Eは高用量 Dのみ影響あり
5	Kuntz et al. 1990 ³⁴	US	Parathion + Toxaphene	汎用. 異系統 の農薬	マウス	P: 5 (NOAEL=0.4) T: 50 (NOAEL=0.35)	14日間経口投与 (溶媒:コーン油)	AC h E 阻害 (脳)	Inertism	高用量 Pのみ影響あり
6	Akay et al. 1999 ¹	Tur	Endosulfan + Dimethoate, Carbaryl	汎用	ラット	E: 6.12 (NOAEL=0.6) D: 20.4 (NOAEL=1) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与	免疫測定値 IgG	Inertism (2剤混合時)	E, Dは高用量 Eのみ影響あり
7	Akay et al. 1999 ¹	Tur	Dimethoate + Endosulfan / Carbaryl	汎用	ラット	E: 6.12 (NOAEL=0.6) D: 20.4 (NOAEL=1) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与	単球類	Inertism (2剤混合時)	E, Dは高用量 Eのみ影響あり
8	Lodovici et al. 1997 ³⁹	It	Thiabendazole + Fenarimol + Diphenylamine + Chlorothalonil	中央イタリア の食品で一般 に検出	ラット	0.02-0.149 (NOAEL T=10, F=1.2, D=7.5 C=3)	10日間 (溶媒:コーン 油)	肝 DNA の酸化的損 傷 (DNA 中の 8-OH-2-デオキシグアノシ ンの 2-デオキシグアノシ ンに対する相対レベル)	Loewe antagonism	高用量 D, Cのみ影響あり イタリアでの食品経 由ヒ暴露推定量の 1/100
9	Raizada et al. 2001 ⁵⁴	Ind	Hexachlorocyclohexane (HCH) + Isoproturon	汎用. HCHは 食品や作業 者の体組織で検	ラット	H: 12.5 (NOAEL=0.5) I: 22.5 (NOAEL=3)	90日間強制経口投与 (溶媒:ヒ ーナツ油)	白血球数増加	Bliss antagonism	高用量

* 著者の国名又は研究機関 Po:ポーランド、US:米国、FDA:米国 FDA、Tur:トルコ、It:イタリア、Ind:インド

				出						
10	Kuntz et al. 1990 ³⁴	US	Parathion + 2,4-D	汎用. 異系統の農薬	マウス	P: 5 (NAEL=0.4) 2,4-D: 50 (NOAEL=1)	14日間経口投与 (溶媒:コーン油)	AChE阻害(脳)	Bliss antagonism	高用量
11	Krechniak et al. 1994 ³³	Po	Lindane + Carbaryl	食品や飼料で頻繁に検出	ラット	L:C= 11:44, 22:150, 44:176 (NOAEL L=0.5, C=14.7)	3日間経口投与 (溶媒:大豆油)	ミクロソーム酵素誘導	最高用量で Antagonism 低用量で Inertism	高用量 Lのみ影響あり
12	Selmanoglu et al. 2001 ⁶⁰	Tur	Dimethoate + Endosulfan	汎用	ラット	D: 20.4 (NOAEL=1.2) E: 6.12 (NOAEL=0.6)	3.5か月間強制経口投与(溶媒:ヒマリ油)	血清中グルコース, 尿素窒素の変化	Antagonism	高用量 Dのみ影響あり
13	Akay et al. 1999 ¹	Tur	Endosulfan + Dimethoate (+ Carbaryl)	汎用	ラット	E: 6.12 (NOAEL=0.6) D: 20.4 (NOAEL=1) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与	免疫測定値 IgG, IgM	Antagonism (3剤混合時)	E, Dは高用量 Eのみ影響あり
14	Boyd et al. 1990 ⁷	US	Aldicarb + Metribuzin	—	ラット	A: 10 ppb M: 10000 ppb	90日間飲水投与 (自由摂取)	ACh/Ch比阻害(海馬)	Antagonism	ACh/Ch比はMのみ影響あり
15	Kuntz et al. 1990 ³⁴	US	Toxaphene + 2,4-D	汎用. 異系統の農薬	マウス	P: 5 (NAEL=0.4) 2,4-D: 50 (NOAEL=1)	14日間経口投与 (溶媒:コーン油)	SGPTへの影響	Synergism (投与開始15日に最大)	高用量 2,4-Dのみ影響あり
16	Williams et al. 1958 ⁷³	FDA	EPN + Malathion	有機リン系農薬	イヌ	EPN: 20 ppm (~0.5 mg/kg/day) M: 100 ppm (~2.5 mg/kg/day)	6週間(溶媒:コーン油) 餌・水自由摂取	AChE阻害(赤血球)	Synergism	用量:~高用量 NOAELは著者によって異なる Mのみ影響あり
17	Williams et al. 1958 ⁷³	FDA	EPN + Systox	有機リン系農薬	イヌ	EPN: 20 ppm (~0.5 mg/kg/day) S: 2 ppm (~0.05 mg/kg/day)	6週間(溶媒:コーン油) 餌・水自由摂取	AChE阻害(血漿)	Synergism?	用量:~高用量 NOAELは著者によって異なる 定性的解析のみ
18	Selmanoglu et al. 2001 ⁶⁰	Tur	Dimethoate + Endosulfan /+ Carbaryl	汎用(トルコ)	ラット	D: 20.4 (NOAEL=1.2) E: 6.12 (NOAEL=0.6) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与(溶媒:ヒマリ油)	血清中ALTの変化	Coalism (3剤混合時)	D, Eは高用量 単剤投与では何ら影響なし
19	Akay et al. 1999 ¹	Tur	Dimethoate + Carbaryl	汎用	ラット	D: 20.4 (NOAEL=1) C: 10.1 (NOAEL=14.7)	3.5か月間強制経口投与	単球類, 顆粒球類	Coalism	Dは高用量 単剤では影響無し

表-3.6 デンマークで評価した *in vitro* 試験抄録

	著者, 年	国/ 機関 *	農薬 ()内はその行での略号	農薬の組み合わせ理由	試験系	用量, NOAEL [mg/kg/day] 等	エンドポイント又は 測定項目	相互作用 (デンマーク評価定義)	備考
20	Richardson et al. 2001 ⁵⁶	US	Chlorpyrihos-oxon + Azinphos-methyl-oxon	同じ作用機作	ラット血液,脳	ChE 阻害が 10-90%となる 濃度設定	AChE 阻害 (脳)	Loewe additivity	—
21	Iyaniwura 1989 ²⁹	Ne	Aldicarb + Carbofuran + Oxamyl	カーハート系農薬	ラット血漿 ChE	10 ⁻¹⁰ ~ 10 ⁻⁵ M 混合比 1:1:1	AChE 阻害 (血漿)	Loewe additivity / weak Loewe synergism	1 混合パターンで複数濃度設定
22	Aylsworth et al. 1989 ⁴	US	DDT + Dieldrin	—	チャイニーズハムスター V79 細胞	DDT: 1.0 µg/mL Dieldrin: 4-7 µg/mL	代謝協調阻害	Bliss independence	—
23	Segal & Fedoroff, 1989 ⁵⁹	Ca	1) Malathion + Carbofuran 2) Triallate + Fenitrothion 3) Triallate + Carbofuran	同じ作用機作	ラット胎児脳の神経細胞	各農薬の 95%エタノール溶液を 10 µL ずつ培養基に添加 1) 400 µg/mL+2.0 µg/mL, 2) 840 µg/mL+80 µg/mL, 3) 840 µg/mL+2.0 µg/mL	AChE 阻害 (脳)	1) 2) 3)共 Inertism. 1)のみ+S9mix で Synergism	C と F のみ影響有り
24	Arcaro et al. 1998 ²	US	Endsulfan + Dieldrin	弱いエストロゲン作用ありと報告されている農薬	MCF-7 (乳がん細胞) focus アッセイ	0.001 ~ 10 µM	focus (細胞増殖阻害) 形成	Inertism	E の最高用量のみ影響有り
25	Arnold et al. 1997 ³	US	Toxaphene + Dieldrin	—	組み換えヒトエストロゲン受容体	T: 200 nM D: 630 nM	17β-estradiol 結合阻害	Inertism	D のみ影響有り
26	Aylsworth et al. 1989 ⁴	US	DDT + Dieldrin	—	チャイニーズハムスター V79 細胞	DDT: 1.0 µg/mL Dieldrin: 3 µg/mL	代謝協調阻害	Bliss antagonism	—
27	Marinovich et al. 1994 ⁴⁰	It	Pirimiphos methyl + Benomyl	地下水や食品で混合検出。汎用有機リン系農薬+Benomyl. 影響が既知.	ヒト白血病株化細胞 HL-60	7.5-30 µg/mL	³ H-ロイシンの HL-60 細胞蛋白への結合	1) 1:1(4 時間後) :Antagonism. 低用量 P 及び 24 時間後: Inertism	B のみ影響有り

*著者の国名又は研究機関 US:米国、Ne:オランダ、Ca:カナダ、It:イタリア、Tw:台湾、Be:ベルギー

28	Wang et al. 1987 ⁷²	Tw	Caotafol + Polyoxin	混合物が中国で販売登録申請されている	チャイニーズハムスター卵巣細胞	C: 0.05-3.10 µg/mL P: 0.0004-0.25 µg/mL	姉妹染色分体交換誘導, 染色体異常誘導	Antagonism	Cのみ影響有り
29	Segal & Fedoroff, 1989 ⁵⁹	Ca	Fenitrothion + Carbofuran	同じ作用機作	ラット胎児脳神経細胞	各農薬の95%エタノール溶液を10 µLずつ培養液に添加 40 µg/mL+1 µg/mL	AChE 阻害	weak Antagonism (+S9mixでも同様)	定性解析
30	Marinovich et al. 1996 ⁴¹	It	Dimethoate (D) + Azinphos-methyl (A) + Diazinon (DZ) + Promiphos methyl (P) + Benomyl (B)	地下水や食品で混合検出. 汎用有機リン系農薬+Benomyl	ヒト神経芽細胞腫株化細胞 SH-SY5Y	4-15 µg/mL (イタリアの食品中検出濃度から設定)	蛋白合成阻害	1) P+B, 2) D+DZ+A, 3) D+DZ+A+P+B: synergism	1 農薬 (1)及び3) 中の B) のみ影響あり
31	Segal & Fedoroff, 1989 ⁵⁹	Ca	Malathion + Fenitrothion	同じ作用機作	ラット胎児脳神経細胞	各農薬の95%エタノール溶液を10 µLずつ培養液に添加 400 µg/mL+80 µg/mL	AChE 阻害	Synergism (+S9mixではAntagonism)	Fのみ影響有り
32	Gilot-Delhalle et al. 1983 ²²	Be	Trichlorfon + Malathion + Parathion-methyl / Azinphos-methyl	有機リン系農薬	突然変異誘発 (酵母)	16-114 mM	突然変異頻度	Synergism (3 剤混合時)	混合剤中の T のみ影響有り
33	Marinovich et al. 1994 ⁴⁰	It	Dimethoate + Diazinon + Azinphos-methyl	地下水や食品で混合検出. 汎用有機リン系農薬. 影響が既知.	ヒト白血病株化細胞 HL-60	100:40:60 µg/mL	³ H-ロイシンの HL-60 細胞蛋白への結合	Synergism	Aのみ影響有り
34	Arnold et al. 1997 ³	US	1) Dieldrin + Chlordane 2) Dieldrin + Alachlor 3) Dieldrin + Chlordane + Toxaphene 4) Toxaphene + Chlordane	—	組み換えヒトエストロゲン受容体	200-630 nM A: 1 µM	17β-estradiol 結合阻害	1)-3): Synergism 4): Coalism	Dのみ影響有り
35	Dolara et al. 1992 ¹⁴	It	Dimethoate + Omethoate + Deltamethrin + Benomyl	一般的な農薬	ヒトリンパ球	混合物合計 41.5 µg/L	姉妹染色分体交換	Coalism	個別に影響のあった農薬はなし

3. 4 本報告書における文献検索

本報告書においては、次のような要領で文献検索を実施した。

3.4.1 データベース

(1) TOXNET (TOXFILE)

次の2つの検索ラインから、TOXFILE (Toxline Core+Toxline Special) にアクセスした。

- “Toxline Core” on PubMed (PubMed)
- “Toxline Special”

“Toxline Core” (PubMed) は、MEDLINE に収載されている論文の毒性関連分野を抽出したデータベースである。また、“Toxline Special”は MEDLINE に収載されていない特定の生命科学雑誌や政府出版物などから収載された毒性関連論文のデータベースである。

(Toxline Core+Toxline Special の総称ファイル名が TOXFILE であるが、重複がある。) 双方とも米国保健福祉省の下記の機関により開発・維持管理されており、PubMed では医学、看護、歯科学、獣医学、医療制度、前臨床科学の分野における文献の引用や要約を、1950年代にさかのぼって 1,600 万件以上収載している。

担当機関：National Center for Biotechnology Information (NCBI),
National Library of Medicine (NLM),
National Institutes of Health (NIH)

(2) JDream II

独立行政法人科学技術振興機構 (JST) が作成した科学技術や医学などのデータベース検索ができる文献情報検索システムで、JST の前身である日本科学技術情報センター (JICST) が 1976 年以降提供していた専門家向け検索システム「JOIS」と、JST が提供 (2003 年以降) していたエンドユーザ向け「JDream」を統合したシステム。JDream II は国内最大の科学技術文献情報データベースで、科学技術系のジャーナル、学会誌、協会誌等から 4,000 万件以上の記事が収録されている。

3.4.2 検索キーワード及び検索結果

検討委員の確認のうえ、複合影響を示すキーワードについては、デンマークの文書「食品中の農薬の複合作用」（2002年）に記載されている検索キーワードを参考にした。また、毒性試験や疫学研究についてのキーワードは従来当社が用いている用語を参考にした。

(1-1) Toxline Core on PubMed

#1	Search pesticide mixture / Limits: English	999
#2	Search interaction OR cumulative OR combined OR additiv* OR synergis* OR antagonis* OR potentiation / Limits: English	1,361,890
#3	Search #1 AND #2 / Limits: English	240
#4	#3 AND (human OR human* OR rat OR mouse OR hamster* OR rodent OR rodent* OR rabbit* OR dog OR pig OR pigs OR swine OR marmoset* OR (monkey OR monkey* OR haplorhini)).....	<u>103</u>

この103件の検索結果（添付資料3-1）のAbstractを確認し、選別した文献を入手した。

(1-2) Toxline Special

#1	Search pesticide mixture / Limits: (Year of Publication) 1970-2007, (Language) English, (TOXLINE Components) All	284
#2	Search pesticide mixture / Limits: 1980-2007, English, All	141
#3	Search interaction OR cumulative OR combined OR additiv* OR synergis* OR antagonis* OR potentiation / Limits: English, All Fields	417,995
#4	Search interaction OR cumulative OR combined OR additiv* OR synergis* OR antagonis* OR potentiation / Limits: English, Titles	235,984
#5	#1 AND #4	31
#6	Search (pesticide mixture / Limits: 1900-2007, English, All) AND #4.....	<u>51</u>

この51件の検索結果（添付資料3-2）のAbstractを確認し、選別した文献を入手した（Toxline Coreとの重複は除く）。

(2) JDream II

キーワード： 農薬 AND 複合 AND 哺乳類 AND 毒性

言語： 日本語 OR 英語

記事区分： 原著論文 (a1) OR 短報 (a2) OR 文献レビュー (b1) OR 解説 (b2)

発行国： 日本 OR アメリカ OR イギリス OR ドイツ OR フランス OR ロシア OR オランダ OR 中国 OR 韓国 OR スイス OR イタリア OR その他

以上の検索条件によるヒット件数：146

この 146 件の検索結果（添付資料 3-3）の書誌事項を確認し、選別した文献を入手した（Toxline Core 及び Toxline Special との重複は選別時に除いた）。

3.4.3 入手文献

上記文献検索に先立ち、デンマークの文書「食品中の農薬の複合作用」（2002 年）の評価に用いられている文献を入手した。次に、この文献との重複を除き、上記データベース検索と文献選択により候補とした文献を入手した。選択した文献数、最終的に内容を引用した文献数を次に示す。

表-3.7 検索文献の選択・最終引用文献数

出典／データベース	掲載数／ 最終絞り込み数	選択・入手文献数	最終引用文献数 () は重複除く数
デンマーク報告書「食品中の農薬の複合作用」（2002 年 ⁵⁵) Table 5.1, 5.2	21	21	21 (21)
Toxline Core on PubMed	103	58<	(33)
Toxline Special	51	23	11 (3)
JDream II	146	17	1 (0)
その他（二次引用等）	—	1	1 (1)
計（重複除く）			(58)

3.4.4 収集文献内容

収集した文献の内容を次の表-3.9 (*in vivo* 試験)、表-3.10 (*in vitro* 試験)、表-3.11 (疫学: 参考データ) に示す。表中の記載は、基本的に原著に基づき記載した。特に「相互作用」の判断については著者の解釈のとおりとした。

収載された文献データにおいて、*in vivo* 試験及び *in vitro* 試験で用いられている用量は高低さまざまであるが、特に *in vivo* 試験の低用量（ADI レベルなど）において、あるエンド

ポイントについての相乗的反応（相加を上回る反応）が認められたとする文献がいくつか認められた（表-3.8）。実験手法や結果の評価基準が現状では各国研究機関や研究者によるため、データの信頼性については個々に検証する必要があると考えられるが、例えば米国EPAにおいて実施されている実験（Moser et al. 2005⁴³, 2006⁴⁴）等、信頼性が高いと思われるデータも含まれている。ただし、相乗的反応ありとするデータにおいても、農薬の実際の暴露量等を考慮した上で、直ちに懸念されるリスクがあるとしているものはなかった。

疫学データにおいては、農薬混合物の影響についての文献そのものの数が非常に少なかった。

表-3.8 収集文献の農薬混合物の相互作用結果（各著者の判断に基づく）分類

	相加作用/ 相乗影響なし	相乗作用/ 相加を上回る反 応	拮抗作用/ 相加を下回る反 応	相互作用なし	その他 (判断なし)
<i>in vivo</i> 試験 (表-3.9)	3件： ③④⑨	5(6)件： ①②⑤⑥⑩(⑬)	6件： ③⑥⑦⑧⑬⑱	7件： ⑪⑫⑬⑮⑰⑱⑳	⑭
<i>in vitro</i> 試験 (表-3.10)	9件： ①④⑤⑦⑧⑨⑩ ⑪⑬	4件： ②③⑩⑬	1(2)件： ⑫(⑮)	4件： ③⑥⑭⑮	—
疫学研究 (表-3.11)	—	—	—	1件： ①	②③

○中数字は表-3.9～表-3.11 中の番号

表-3.9 収集文献 (*in vivo* 試験) 抄録

番号	著者, 年 文献コード*	国/ 機関*	農薬 ()内はその行での略号	農薬の組み 合わせ理由	試験系	用量, NOAEL [mg/kg/day]等	用量設定根拠	投与方法	エンドポイント又は測定 項目	相互作用 (主として著者の 解釈)	備考
vivo ①	Moser et al. 2005 ⁴³ PM-018, TN-06	EPA	chlorpyrifos (C), acephate (A), diazinon (DZ), dimethoate (DM), malathion (M)	有機リン系農薬	LE ラット 雄成獣	1) 5 剤混合物(full ray): 10-450 mg/kg 2) M 抜きの 4 剤 (reduced ray): 1.75-78.8 mg/kg	一般集団において食物暴露可能性のある混合比 (C:A:DZ:DM:M = 3.1:4.0:0.2:10.2:82.5)	単回経口投与	AChE 阻害 (脳, 血液), 行動検査 (運動活性, 歩行スコア, テールピンチ反応)	相加を上回る反応 (相乗作用) が 5 剤と 4 剤投与両方の低用量域で認められた。	相互作用における M の役割はエンドポイントによって変化
vivo ②	Moser et al. 2006 ⁴⁴ PM-008, TN-03	EPA	chlorpyrifos (C), acephate (A), diazinon (DZ), dimethoate (DM), malathion (M)	有機リン系農薬	LE ラット 雄 17 日齢 (離乳前)	1) 5 剤混合物(full ray): 10-165 mg/kg 2) M 抜きの 4 剤 (reduced ray): 1.75-28.9 mg/kg	USEPA の食物暴露評価モデル (DEEM) に基づく混合比 (C:A:DZ:DM:M = 3.1:4.0:0.2:10.2:82.5)	水溶性農薬 (A) の経口投与後直ちにコーン油/エタノール溶解の他の混合剤を経口投与	AChE 阻害 (脳, 血液), 行動検査 (運動活性, 歩行スコア, テールピンチ反応, 他)	相加を上回る反応 (相乗作用) が 5 剤と 4 剤投与両方で認められた。5 剤の反応と 4 剤の反応には有意差あり	M の影響のあるエンドポイントは一部分のみ
vivo ③	Gordon et al. 2006 ²³ PM-015	EPA	chlorpyrifos (CH:有機リン系殺虫剤), carbaryl (CA:カーバメート系殺虫剤)		LE ラット 雄 60 日	1) 7,14,21,28,35 mg/kg (2:1ray の混合物の用量) 2) 5,12,22,32,42 mg/kg (1:1ray の混合物の用量)	低体温症を誘発する閾値の周辺の濃度を選定	2 剤を無作為に連続経口投与 (溶媒: コーン油)	低体温 (12 時間の体内温度変化の集積), ChE 阻害 (脳, 血漿)	低体温: 1) antagonism, 2) additivity 脳 ChE 阻害: 1) additivity, 2) antagonism 血漿 ChE 阻害: 1) 2) 共 antagonism	CH と CA の相互作用は混合比やエンドポイントにより異なっていたが, 全体的には antagonism

*著者の国名又は研究機関 EPA:米国 EPA、US:米国、Ca:カナダ、Mex:メキシコ、D:デンマーク、Gr:ギリシャ、Po:ポーランド、A:オーストラリア、J:日本、Ind:インド

vivo ④	Timchalk et al. 2005 ⁶³ PM-017, TN-7	US	chlorpyrifos (C), diazinon (D)	同時暴露の可能性のある汎用有機リン系殺虫剤	SD ラット雄	C+D : 15+15, 30+30, 60+60 mg/kg	各化合物の急性毒性プロファイル	単回強制経口投与	ChE 阻害 (脳,赤血球,血漿)	薬物動態学的相互作用が見られない 低用量 15+15mg/kg での ChE 反応の比較は additive を示唆	C+D でも C 単独,D 単独でも用量依存的に ChE を阻害.
vivo ⑤	de la Rosa et al. 2003 ¹² PM-027	US	propanil (P:アミド除草剤), 2,4-D (D:塩化フェノキシ除草剤)	混合製剤で市販されている発芽後除草剤	C57Bl/6 マウス雌 6-8週	P+D : 50+50, 100+100, 150+150, 200+200 mg/kg		P (溶媒:ヒソッ油) と D (溶媒:PBS) を連続腹腔内注射	骨髄前 B 及び IgM ⁺ B 細胞数の減少	100+100 では有意な混合物の相互作用が見られた (greater than additive)	混合物は個々の除草剤より大きな有害影響を示した
vivo ⑥	de la Rosa et al. 2005 ¹³ PM-019	US	propanil (P), 2,4-D (D)	汎用除草剤. 混合製剤で市販されている	C57Bl/6 マウス雌 6-8週	P+D : 50+50, 100+100, 150+150, 200+200 mg/kg	予備試験で胸腺萎縮を引き起こした用量	P (溶媒:ヒソッ油) と D (溶媒:PBS) を連続腹腔内注射	胸腺萎縮, 胸腺細胞減少, グルコルチコイド誘導	CD4 ⁺ CD8 ⁺ 胸腺細胞減少が 150+150 で greater than additive, 200+200 で less than additive	P+D の影響は P と D の影響の相加から常に予想できるとは限らない. グルコルチコイドは除草剤による胸腺萎縮の一部の原因でしかない
vivo ⑦	Flipo et al. 1992 ²⁰ PM-086	Ca	dieldrin (D:有機塩素系), malathion (M:有機リン系), carbofran (C:カーバメート系)	異なる系統の殺虫剤 3 種	雌 C57Bl/6 マウス	各剤の LD ₅₀ (D: 70.0, M: 400.0, C: 1.2 mg/kg) の 1/4 又は 1/2	亜致死性用量 (sublethal dose)	殺虫剤: 単回腹腔内投与 (溶媒:コロン油:DMSO 9:1). SBRC: 静脈内投与(4 日後に抗体反応試験)	SRBC (ヒソッ赤血球細胞) 抗原への一次 IgM 抗体反応, マクロファージ食細胞活性	D+C で両エンドポイントに拮抗作用あり	相加/相乗作用なし

vivo ⑧	Ortiz et al. 1995 ⁵¹ PM-075	Mex	市販製剤 Ambush 50 (permethrin cis/trans 48.0%, xylene 46.0%, toluene 0.5%, naftalene 0.5%), Flash 50 (methylparathion 50%, xylene 47.0%, toluene 2.0%, nitrophenol 0.5%, nitrobenzene 0.5%)	有効成分以外を含む製剤の混合物としての実験	雄 Wistar ラット	MP=380 mg/kg のとき P=2981~13360 mg/kg, MP=464 mg/kg のとき P=2981~13360 mg/kg	MP の投与割合を変えたときの混合物の LD ₅₀ (LD ₁₀ , LD ₉₀) の変化	P: 皮下注射, MP: 皮膚塗布	LD ₅₀ , 脳 ChE 活性	MP が 464 mg/kg のとき P+MP の LD ₅₀ は P のみの 37%減 (MP が 380 のとき P+MP の LD ₅₀ は P のみの 9%減)	LD ₅₀ = P のみ: 7832, MP のみ: 566 P+MP(380mg/kg): 7146 P+MP(464mg/kg): 4981*
vivo ⑨	Nelleman et al. 2003 ⁴⁷ PM-035, KPM-30	D	vinclozolin (V), procymidone (P)	抗アンドロゲン作用を有する殺菌剤	去勢雄 Wistar ラット (Hershberger 試験 +α)	テストステロン ^β ロビ ^β オン酸エステル 0.5 mg/kg/day 皮下投与後 1) V のみ 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg [NOEL=12 mg/kg/day] 2) P のみ 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg [NOEL=12.5 mg/kg/day] 3) V+P(1:1) 10, 25, 50, 100, 200 mg/kg	(NOEL 等考慮)	7 日間経口投与(溶媒:ヒ ^β ナツ油)	重量(腹側前立腺, 精囊, 肛門/球海綿体挙筋, 尿道球腺, 下垂体, 肝, 腎, 脳), 血清 LH (黄体形成ホルモン), FSH(卵胞刺激ホルモン), 前立腺での遺伝子発現解析, 脳 AChE, 5-HT(5-ヒ ^β トリプトアミン), BuChE, NA(ノルアドレナリン), DA(ドーパミン)	生殖器重量, ホルモン濃度及び遺伝子発現に対して相加作用あり	測定項目全部について相加作用ではない
vivo ⑩	Birkhøj et al. 2004 ⁶ PM-023, TN-11	D	deltamethrin (D), methiocarb (M), prochloraz (P), simazine (S), tribenuron-methyl (T)	農業・園芸に汎用されている作用の異なる農薬	去勢雄 Wistar ラット 6 週間(テストステロン投与): <i>in vivo</i> Hershberger 試験	D+M+P+S+T : 2.5+2.5+25+25+25 mg/kg/day	全農薬の総用量が最大許容量に近づくように設定. 文献調査で D と M は高用量では毒性が強いと判断	1 日 1 回 7 日間経口投与(溶媒:ヒ ^β ナツ油)	肛門/球海綿体挙筋重量, 副腎重量, 腹側前立腺の遺伝子発現 (PBP C3 mRNA, ODC mRNA)	synergism (共通して見られたわけではなかった)	遺伝子発現の変化は前立腺重量の変化より感受性の高いエンドポイントであるが, アンドロゲン受容体の介在しない別の経路で起こっている可能性もある

vivo ⑪	Vinggaard et al. 2005 ⁷¹ KPM-11	D	prochloraz (P:ステロール生合成阻害殺菌剤), deltamethrin (D:ピレスロイド系殺虫剤), methiocarb (M:カーバメート系殺虫剤), simazine (S:トリアジン系除草剤), tribenuron-methyl (T:スルホニルウレア系除草剤)	P は <i>in vitro</i> で多くの作用機作を示し, <i>in vivo</i> Hershberger 試験で抗アンドロゲン作用を示す汎用殺菌剤	妊娠 Wistar ラット	1)P のみ投与群 : 30 mg/kg 2)5 成分混合物投与群 : 20 mg/kg/day (P:D:M:S:T=15.0:1.25:1.25:1.25:1.25)	<i>in vivo</i> Hershberger 試験により P が抗アンドロゲン作用や血清 LH レベル増加を示す用量が 50 mg/kg 以上	妊娠 7 日から出産後 17 日まで母動物への経口投与(溶媒:ビナツ油)	妊娠期間の延長, 形態(乳頭保有, 尿道球腺), 生化学的变化(血漿・精巣中テストステロン, 肝シトクロム P450 量), 行動検査(運動活性, 迷路学習, 甘味嗜好度)	P への他成分の影響なし	5 剤混合物中の比較的低用量の D,M,S,T は P による反応に明らかな影響なし
vivo ⑫	Goumenou & Machera 2004 ²⁴ PM-025	Gr	paraquat (P:ピピリジニウム除草剤), linuron (L:尿素系除草剤)	混合製剤が特にジャガイモ農園で使用されている	Wistar ラット雌雄成獣	P+L : 15+150, 30+300, 60+600 mg/kg	混合物の最高用量が各成分の LD ₅₀ 値の 40% を含むように設定	単回強制経口投与	骨髄小核形成		混合物の遺伝子毒性認められず. 相互作用の兆候なし.
vivo ⑬	Latuszyńska et al. 2001 ³⁸ KPM-22R	Po	chlorpyrifos (C:有機リン系殺虫剤), cypermethrin (CY:ピレスロイド系殺虫剤)	汎用	雌 Wistar ラット 3 か月齢	C+CY : 5.6+0.5, 27.8+2.7 mg/cm ²	多くの同成分製剤で C+CY の混合比が 10:1	1 日 4 時間×週 5 日×1 週間又は 4 週間経皮投与(尾の皮膚 9 cm ²)	AChE 阻害(脳), ChE 阻害(血液), 脳組織検査, 行動検査	AChE・ChE 阻害 : 相互作用なし 中枢神経系への影響 : (不同の機作の 2 剤による) 拮抗作用	CY は AChE・ChE 阻害作用なし. 中枢神経系への毒性は混合物の方が CY 単独より低い
vivo ⑭	Latuszyńska et al. 2003 ³⁷ KPM-22	Po	chlorpyrifos (C:有機リン系殺虫剤), cypermethrin (CY:ピレスロイド系殺虫剤)	汎用	雌 Wistar ラット 3 か月齢	C+CY : 27.8+2.7 mg/cm ²	多くの同成分製剤で C+CY の混合比が 10:1	1 日 4 時間×週 5 日×1 週間又は 4 週間経皮投与(尾の皮膚 9 cm ²)	AChE 阻害(脳), ChE 阻害(血液), 脳組織検査		複合作用の記載なし
vivo ⑮	Oakes et al. 2002 ⁴⁸ KPM-35	A	2,4-D (D), picloram (P)	除草剤製剤 Tordon75D 使用	雄 SD ラット 12 週齢	D+P : 37.5+9.375, 75+18.75, 150+37.5 mg/kg/day	除草剤製剤 Tordon75D	週 5 日×9 週間強制経口投与	雄による生殖毒性(投与期間中 6 回交配し各胎児の奇形や着床前/後消失胚, 一腹あたりの児数等を検査)	この試験条件で相互作用なし	雄生殖影響も認められなかった

vivo ⑩	Ito et al. 1995a ²⁸ PM-074, TN-42	J	20 農薬: acephate, butamifos, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, dichlorvos, dimethoate, edifenphos, endosulfan, etrimfos, fenitrothion, iprobenfos, isoxathion, malathion, methidathion, pirimiphos-methyl, prothiophos, pyraclofos, tolclofos-methyl, trichlorfon, vamidothion		雄 F344 ラ ット	群 1: DEN+ADI レベル(実 測値 ADI の 83%) 農薬 混餌, 群 2: DEN+ADI の 100 倍レベル(実測値 79 倍) 農 薬混餌, 群 3: DEN+対照飼料, 群 4: DEN なし+ADI レベ ル(実測値 ADI の 72%) 農薬混餌, 群 5: DEN なし+ADI の 100 倍(実測値 78 倍) 農 薬混餌	ADI レベル, ADI の 100 倍レベル	DEN 又は生 理食塩水 腹腔投与 2 週間後から 6 週間混餌 投与 (腹腔投与後 3 週目に部 分肝切除, 混餌投与終 了時に全例 剖検)	混合農薬投与による 肝がん発生の増加の 有無: GST-P(免疫組織 化学反応)陽性巢数・ 面積	高濃度 (ADI×100 倍レベル) で DEN に よる発がんの増強	DEN 非投与群 (4,5)で発がん なし. DEN 投 与群のうち ADI×100 倍群 (2)で有意差あ り(1,3 群は同 程度の発生)
vivo ⑰	Ito et al. 1995b ²⁷ PM-078	J	実験 2 (40 農薬) : 殺虫剤(17): acephate, chlorobenzilate, cypermethrin, permethrin, clofentezine, oxamyl, chlorpyrifos, cyhalothrin, diflubenzuron, pirimiphos-methyl, bendicarb, marathion, cyfluthrin, trichlorfon, fenvalerate, flucythrinate 植物成長調整剤(1): mepiquat chloride 除草剤(10): glyphosate, metolachlor, sethoxydin, thiobencarb, pendimethalin, metribuzin, quinclorac, chlorpropham, bensulide, bentazone 殺菌剤(12): propiconazole, maneb, triadimefon,	生産量が多 い農薬 40	雄 F344 ラ ット	群 1-a: DMBDD+ADI レ ベル 40 農薬混餌, 群 1-b: DMBDD+ADI レ ベル 20 農薬混餌, 群 1-c: DMBDD+1500 ppm captafol(陽性対照) 混餌, 群 2: DMBDD+対照飼 料, 群 3-a: イネシエーションなし +ADI レベル 40 農薬混餌, 群 3-b: イネシエーションなし +ADI レベル 20 農薬混餌, 群 3-c: イネシエーションなし +1500 ppm captafol(陽 性対照)混餌	ADI レベル (陽性対照 captafol の 1500 ppm は ADI の 約 2500 倍)	DMBDD 投 与: DEN(ip), MNU(ip), DMH(sc), BBN(飲水), DHPN(飲水) 投与終了後 から 24 週間 農薬混餌投 与	混合農薬投与による 肝がん発生の増加の 有無: GST-P(免疫組織 化学反応)陽性巢数・ 面積	ADI レベルでの影響 なし	陽性対照群の み有意な発が ん増加

			imazalil, zineb, vinclozolin, fenarimol, flutolanil, metalaxyl, chinomethionat, pyrifenoxy, myclobutanil								
vivo ⑱	Hazarika & Sakar 2001 ²⁵ PM-046	Ind	isoproturon, anilofos (除草剤)	重要な除草剤	雄 Wistar ラット	I 群: 溶媒×4 日 II 群: A 850 mg/kg×1 日 III 群: I 675 mg/kg×4 日 IV 群: I 675 mg/kg×3 日 + A 850 mg/kg×1 日	A:850 mg/kg は LD50 の 1/2, I: 675 mg/kg は LD50 の 1/6	経口投与	ChE 活性, 過酸化脂質, GSH, GST, ATPase, 蛋白レベル (血漿, 脳, 肝)	相互作用なし	
vivo ⑲	Chauhan et al. 2005 ¹⁰ PM-014	Ind	cypermethrin (C:ピレスロイド系殺虫剤), quinalphos (Q:有機リン系殺虫剤)	市販の混合製剤使用	マウス雄成獣	C+Q : 0.66+4.4, 1.32+8.8, 2+13.4 mg/kg	市販の混合製剤	単回強制経口投与	細胞遺伝学的影響 (染色体異常, 小核形成)	synergistic genotoxicity を示唆	C+Q 混合製剤は用量依存的に染色体異常, 小核形成を誘導
vivo ⑳	Nath et al. 1978 ⁴⁶ PM-102	Ind	endosulfan (E:殺虫剤), metepa (M:化学不妊剤)	殺虫剤と化学不妊剤の相互作用を調べた報告がないことと, この2剤はそれぞれ多目的で多く使用されているため	雄アルビノラット	対照: ヒーナツ油, E: 11.0 mg/kg/day, M: 13.60 mg/kg/day, E+M: 単剤投与と同濃度試料を2種類連続投与		30日間強制経口投与	DNase・RNase, コハク酸脱水素酵素・ATPase・ALP・ACP, 組織中濃度 (血漿, 脂肪, 肝, 腎, 精巣, 脳), 病理組織検査 (肝, 腎, 精巣, 精巣上体)	相互作用 (相加, 拮抗, 相乗) 影響なし	

表-3.10 収集文献抄録 (*in vitro* 試験)

番号	著者、年	国/機関*	農薬 ()内はその行での略号	農薬の組み合わせ理由	試験系	用量, NOAEL [mg/kg/day]等	用量設定根拠	エンドポイント又は測定項目	相互作用 (主として著者の解釈)	備考
vitro ①	Muntaz et al. 2002 ⁴⁵ PM-034	US, EPA	p,p'-DDT (DDT), p,p'-DDD (DDD), p,p'-DDE (DDE), aldrin (A), dieldrin (D), endrin (E) (DDT+DDD, DDT+DDE, DDD+DDE, A+D, A+E, D+E)	有機塩素系農薬	HeLa 細胞(エストロゲン受容体コードのベクターとエストロゲン反応性 CAT リポータープラスミドにより形質転換)	0.001~10 μM (2 剤の 1:1 混合)		エストロゲン活性 (CAT 蛋白: chloramphenicol acetyltransferase protein 測定による)	相乗作用なし	単剤でも 2 剤ずつの混合剤でもエストロゲン活性亢進作用なし
vitro ②	Olgun et al. 2004 ⁴⁹ PM-024, TN-13	US, EPA	1) lindane (L:有機塩素系農薬) + malathion (M:有機リン系殺虫剤) 2) lindane + permethrin (P:ピレスロイド系殺虫剤)	L,M,P 共に免疫反応抑制作用が知られている	C57BL/6 マウス胸腺細胞	L+M : 50+75 μM L+P : 50+150 μM		胸腺細胞のアポトーシス数, 壊死数(流動細胞分析, LDH 分析, DNA ラダー(ハシゴ状 DNA 断片)形成等により評価)	synergism	lindane の混合機能オキシダーゼ系の誘導が複合暴露での相乗作用に一部関与していることを証明
vitro ③	Olgun & Misra 2006 ⁵⁰ PM-005	US	1) lindane (L:有機塩素系農薬) + malathion (M:有機リン系殺虫剤) 2) lindane + permethrin (P:ピレスロイド系殺虫剤)	L,M,P 共に免疫反応抑制作用が知られている。汎用・安定性から公衆衛生リスクが高いとされる優先混合物	C57BL/6 マウス胸腺細胞	L+M : 50+75 μM L+P : 50+150 μM		O ₂ ⁻ 及び H ₂ O ₂ 生成, SOD 比活性, カタラーゼレベル, GSH ペルオキシダーゼ及び GSH レダクターゼ比活性	1) synergism 2)相互作用なし	L+M,L+P と L 単独, P 単独で O ₂ ⁻ 生成に相乗作用有り。 L+M 及び L+P は総 SOD を増加し, カタラーゼに影響せず, 2 つの GSH-酵素を阻害した

*著者の国名又は研究機関 US:米国、EPA:米国 EPA、NIHS:米国 NIHS、D:デンマーク、Ca:カナダ、UK:英国、Ger:ドイツ、Fr:フランス、It:イタリア、Tur:トルコ、Fi:フィンランド

vitro ④	Tully et al. 2000 ⁶⁴ TN-30	NIE HS	4,4'-DDT, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, aldrin (A), dieldrin (D), endrin (E) (DDT+DDD, DDT+DDE, DDD+DDE, A+D, A+E, D+E)	有機塩素系農薬	HeLa 細胞(エストロゲン受容体コードのベクターとエストロゲン-反応性 CAT リポータープラスミドにより形質転換)	0.001~10 μM		エストロゲン活性 CAT 蛋白 (chloramphenicol acetyltransferase protein)測定による	相乗作用なし	単剤でも 2 剤ずつの混合剤でもエストロゲン活性亢進作用なし
vitro ⑤	Charles et al. 2002 ⁸ PM-044	US	methoxychlor (MXC), o,p-DDT (DDT), dieldrin (D)	合成殺虫剤	MCF-7 細胞 (エストロゲン受容体-レポーター遺伝子アッセイ)	低濃度 (MXC,DDT: 50, 250, 500 nM + D: 100, 500, 1000 nM) 高濃度 (MXC,DDT,D: 100, 500, 1000 nM)	低濃度は単剤での閾値付近, 高濃度は低濃度の 2~10 倍かつ EC50 以下	エストロジェン活性	相加作用以上の作用 (相乗作用) は見られなかった	
vitro ⑥	Zhao et al. 1987 ⁷⁴ PM-093	US	2,4-D (D), 2,4,5-T (T)	ホルモン型除草剤	Swiss マウス 3T3 細胞	1) D:T=1:1 で各々 0.31-2.50 mM 2) 最終濃度 1.25 mM で D:T= 1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1		細胞骨格形態 (微小管, 微小繊維, DNA 合成, 細胞骨格蛋白の合成と組成)	なし	
vitro ⑦	Nellemann et al. 2003 ⁴⁷ PM-035, KPM-30	D	vinclozolin (V), procymidone (P)	抗アンドロゲン作用を有する殺菌剤	pSVARO 及び MMTV-LCU ベクターを導入した CHO 細胞	0.01-50 μM (V:P=1:1, 1:3, 3:1)	50%阻害濃度 (IC50)が V=0.1 μM, P=0.6 μM	アンドロゲン受容体活性	相加作用	
vitro ⑧	Birkhøj et al. 2004 ⁶ PM-082, TN-43	D	deltamethrin (D), methiocarb (M), prochloraz (P), simazine (S), tribenuron-methyl (T)	農業・園芸に汎用されている作用の異なる農薬	チャイニーズハムスター卵巣 (CHO)細胞	5 剤混合物濃度 0.025~50 μM D:M:P:S:T=1:1:1:1:1		アンドロゲン受容体 R1881 誘導転写活性阻害	additivity	isobole 係数が 0.94 と 1 に近いこと,また,相加を仮定した予想値と測定値の比較から,additive と評価.
vitro ⑨	Stelzer & Chan 1999 ⁶² PM-053	Ca	toxaphene (工業用 mixture:Tox), 及びそのコンジナー T2, T12 (Tox は 800 以上のコンジナーから成る)	T2, T12 はヒトで顕著に検出	MCF7-E3 ヒト乳がんエストロゲン感受性細胞	10 μM	エストロゲン反応を引き出す濃度として設定	エストロゲン活性, 増殖影響(PE)	相加的 (相乗影響なし)	PE:Tox > T2 > T12

vitr o ⑩	Payne et al. 2001 ⁵² PM-047	UK, Ger	o,p'-DDT, p,p'-DDE, β-HCH, p,p'-DDT (登録 失効)	ヒト組織中で検出 のある有機塩素 化合物	MCF-7 (乳がん 細胞) 増殖試験	o,p'-DDT:p,p'-DDE:β-HC H:p,p'-DDT=モル比 1:10:5:4 又は 1:1:1:1 NOEC=1:10:5:4 mix で 0.7 μM, 1:1:1:1 mix で 0.2 μM	1:10:5:4(nM) はヒト血清濃 度と同レベル	細胞増殖	4 種混合では相加 的(additive). 最も 強力な成分 o,p'-DDT 単独の影 響よりも混合物の 影響が強いことに ついては相乗的	
vitr o ⑪	Skandr ani et al. 2006 ⁶¹ PM-013	Fr	formetanate (F:カーハメト 系殺虫剤, 製剤名 Dicarzol), methomyl (M: カーハメト系殺虫剤, 製剤 名 Lannate), pyrimicarb (P:カーハメト系殺虫剤, 製 剤名 PirimorG), bifenthrin (B:ピレスロイド 系殺虫剤, 製剤名 Kiros EV)	殺虫剤 (カーハメト 系 3 + ピレスロイド 系 1)	ヒト肺がん由来 A549 細胞	F 製剤+M 製剤+P 製剤 +B 製剤 : 5+40+75+0.5 μg/mL	各製剤の細 胞増殖阻害 閾濃度	細胞成長率 (ス トレス蛋白質 HSP, GRP の発現 の変化)	additivity	製剤中の添加物 や溶剤も純粋な 有効成分の毒性 を倍加した
vitr o ⑫	Bianchi et al. 1994 ⁵ PM-082, TN-43	It	azinthos-methyl (A), diazinon (DA), dimethoate (DM), pirimiphos-methy (P), benomyl (B)	食品等に最も一 般的に検出され る. 別試験系で は恐らく遺伝毒 性ありとされて いる農薬.	突然変異誘発 (酵母 D7)	B + P (6:1): 5 + 0.83~ 500 + 83.3 μg/mL DM + DA + A (10:4:6): 500 + 200 + 300~10000 + 4000 + 6000 μg/mL	食品経由で のヒト推定 1 日 摂取量(EDI) に基づき設 定.	突然変異頻度 (convertants, revertants) (±S9)	antagonistic effect (3 剤混合時)	2 剤(B+P)混 合 : 相加/相乗影 響なし 3 剤 (DM+DA+A)混 合 : 拮抗作用
vitr o ⑬	Dolara et al. 1994 ¹⁵ TN-46	It	dithiocarbamates (Ds), benomyl (B), thiabendazole (T), diphenylamine (DP), chlorthalonil (C), procymidone (P), methidathion (M), chlorpyrifos-ethyl (CE), fenarimol (F), parathion-methyl (PM), chlorpropham (CP),	食品から最も一 般的に検出され る (イタリア中 央部)		混合剤として : 1~20 μg/mL mix (15 農薬混合比 Ds: 20.7%, B: 19.6%, T: 14.9%, DP: 14.4%, C: 13.1%, P: 8.0%, M: 2.3%, CE: 2%, F: 1.9%, PM:1%, CP/PT/V/CF/PE: 各<1%)	食物から検 出される平 均的な比率	遺伝子突然変異 頻度, 染色体数/ 形態異常 (ヒトリン パ球), SCE, 小 核形成, UDS	相互作用なし ヒトリンパ球での非同 調性着糸点 (紡錘 糸付着点) 分離 (5 μg/mL mix 以上で 有意) ただし, B を除いた 混合剤では認めら れず, 認められた 影響は B によるも の	B のみ影響有り

			parathion (PT), vinchlozolin (V), chlorfenvinphos (CF), pirimiphos-ethyl (PE)							
vitr o ⑭	Piatti et al. 1994 ⁵³ PM-081	It	benomyl + pirimiphos-methyl (有機 リン系殺虫剤)	食品から一般的 に検出される	ラット肝細胞 (小核試験)	B:P=6:1 B+P=25+4.2 µg/mL~	細胞毒性の ない濃度	小核形成	相互作用なし	Bのみ影響有り
vitr o ⑮	Kok & Hasirci 2004 ³² TN-15	Tur	aldicarb (A), carbofuran (CF), carbaryl (CL) A+CF, A+CL	ChE 活性阻害作 用の農薬	膜固定 AChE-ChO ハイ センサー	(A: 10/50 ppb) + (CL: 1/10/20 ppb), (A: 10/50 ppb) + (CF: 1/10/20 ppb)		AChE, ChO 活性 阻害	軽減?~相互作用 なし (相加予測影響よ りも混合剤影響実 験値が低下)	今後他の農薬の 組合せデータをと る必要あり
vitr o ⑯	Kakko et al. 2000 ³¹ PM-052	Fi	pyrethrins + piperonyl butoxide (PBO)	ピレスロインの共力剤 (相乗剤) として の PBO は既知	雄 SD ラット採 取大脳シフトローム	P: 0.1-1000 µM PBO: 0.4-4000 µM (P:PBO=1:4)		総 ATPase 活性, Mg ²⁺ 活性化 ATPase	相乗的 PBOのみでは 40 µM 以下の濃度で 影響なしだが混合 物 P:0.1,PBO0.4 µM 以上で影響あり	高濃度の組み合 わせで毒性が非 常に高い (100 µM+400 µM で 酵素活性 85% 減)

表-3.11 収集文献抄録（疫学：参考データ）

番号	著者, 年	国/ 機関*	農薬 ()内はその行での略号	農薬の組み 合わせ理由	試験系	用量, NOAEL [mg/kg/day]等	用量設 定根拠	投与方法	エンドポイント又は 測定項目	相互作用 (主として著者の 解釈)	備考
epi ①	He et al. 2002 ²⁶ PM-039	Chi	2 地域 (J, S) Ja:methamidophos (Md) Jb:methamidophos + deltamethrin (Md+D) Jc:無暴露対照 Sa:methyl-parahtion (Mp) Sb:methyl-parathion + deltamethrin (Mp+D) Sc:無暴露対照	有機リン系 殺虫剤+ピ レスロイト [®] (汎用)	ヒト(農業従事者 計 132 名, 対照 計 44 名) Ja:40, Jb:36, Jc:22, Sa:27, Sb:29, Sc:20	Md: 0.23±0.18%, Md+D: 0.29±0.14%, Mp: 0.35±0.07%, Mp+D: 0.28±0.04%	実散布 濃度	イネ(J 地域)又 は綿花(S 地 域)への散布 作業	2 時間の農薬 散布前後の赤 血球 AChE, 臨床症状	有機リン剤の AChE 阻害作用を ピレスロイドが 高めることはな かった	
epi ② 参 考 デ ータ	Lander et al. 2000 ³⁵ PM-050	D	殺虫剤: pirimicarb, methomyl, deltamethrin, endosulfan, clorpyrifos, buprofezin, dienochlor, fenoprophathrin, alfacypermethrin, amitraz 殺菌剤: benomyl, iprodion, chlorothalonil, carbendazim, vinclozolin, thiram 成長調整剤: chlormequat-chloride, daminozid, paclobutazol	実際に使用 している農 薬	温室内農薬散布 者(男)116 名(非 喫煙者 72+喫煙 者 44), 対照(男)29 名(全 て非喫煙者)			温室内での散 布による暴露	SCE 頻度(リ ンパ球)	(相互作用は考 慮していない) 夏季の散布後の 総 SCE 頻度上昇 (P=0.02). 染色体 ギャップ発生のリスク 高者は摘取, 剪定, 移植時に保護具 未着用で再暴露 される作業者で あった (リスク比 2.88, 95%CI= 1.63 ~ 5.11)	横断的疫学研 究(部分的: 前向き研究) 農薬散布シズ ン前の染色体 異常頻度に対 照と比べ有意 差なし.

*著者の国名又は研究機関 Chi:中国、D:デンマーク

epi ③ 参 考 デ ー タ	Lander & Ronne 1995 ³⁶ PM-077	D 有機リン: dichlorvos, mevinphos, aephate, azinphos-methyl, parathion, etrimphos, diazinon, phoxim, malathion, pyrazophos, heptenophos, oxydemeton-methyl カーハメート: pirimicarb, aldicarb, propamocarb, methomyl, oxamyl, carboduran, mercaptodimethur 有機塩素系殺虫剤: dienochlor, dicofol, endosulfan, lindan ピレスロイド系殺虫剤: permethrin, deltamethrin, cypermethrin, fenvalerat, pyrethrin 殺菌剤: benomyl, captan, estridiazol, mancozeb, vinclozolin, iprodion, furalaxyl, chlorothalonil, prochloraz, triforin, thiram, fenarim 成長調整剤: diaminoazid, chlormequat-chloride, ancymidol, dikegulac	実際に使 用してい る農薬	温室内農薬散布 者 134 名(男 118+ 女 16,非喫煙者 86+喫煙者 48), 対照 157 名(男 137+女 20,非喫煙 者 95,喫煙者 62)			温室内での散 布による暴露	SCE 頻度(リ ンパ球), 赤血 球数, 白血球 数, 血小板数	(相互作用は見 ていない)	横断的疫学研 究 非喫煙者にお いて対照と比 較して有意な SCE 頻度の増 加あり。 散布作業時の 保護具(衣服 含む)着用に よる防護の程 度(最良、中 程度、不相当) により SCE 頻 度に増加傾向 が認められ た。
-----------------------------------	--	--	---------------------	---	--	--	------------------	--	------------------	--

4. 農薬の複合影響評価法

4. 1 概要

一般に化学物質混合物のリスク評価法は多数提案されている。

化学物質混合物の健康リスク評価のための二種類の異なる手法、すなわち、「混合物全体の手法」と「成分を基にした方法」が推奨された。混合物全体の評価は、懸念されるその混合物について、又は十分に類似した混合物や類似混合物のグループについて行われる。これら評価は食品中の残留農薬のリスク評価には理想的であるが、非常にデータ依存的であるため、ここでは適用できない。(Reffstrup 2002⁵⁵)

このため、より現実的なものとして「単一物質の手法」が採用される。デンマークや英国、EUの欧州食品安全局(EFSA)等の情報を整理し、単一物質のデータに基づく混合物のリスク評価法をまとめた。デンマークの食品安全・栄養研究所が作成した総括表を基本にして、その他の情報を追加、整理した結果を表-4.1に示す。複合影響の特性によってリスク評価法を分類すると以下のようになった。

① 化学物質の間に相互作用がない場合 (非相互作用)

- 有害性指標 (Hazard Index, HI)
- 相対効力係数 (Relative Potency Factor, RPF)
- 毒性等価係数 (Toxicity Equivalence Factor, TEF)
- 起点指標 (Point of Departure Index, PODI)
- 累積リスク指標 (Cumulative Risk Index, CRI)
- 複合暴露マージン (Combined Margin of Exposure, MOE_T)
- 反応の加算 (Response Addition)

② 化学物質の間に相互作用がある場合 (相互作用)

- 相互作用有害性指標 (Interaction-based Hazard Index, IHI)

表-4.1 化学物質混合物のリスク評価法（単一物質のデータに基づく）

複合影響の分類		リスク評価法	必要なデータ	適用性	仮定条件	長所	短所	文献
非相互作用	*	有害性指標 Hazard Index (HI)	各々の物質の最大許容量（例えば RfD、ADI）。	低レベルにおける良質な用量-反応データ、暴露データ。類似の標的器官を持つ物質についても適用可能。	毒性学的な類似性。	透明で理解しやすい。許容リスクの基準（例えば RfD、ADI）に直接関係している。	RfDやADIは不確実係数を含むため、適切な起点ではない（主観的）。	55 18 42
			$HI = Exp_1/AL_1 + Exp_2/AL_2 + \dots + Exp_n/AL_n = \sum_i Exp_i/AL_i$ <p>Exp_n : 物質 n の暴露量 AL_n : 物質 n の最大許容量 (RfD、ADI)</p> <p>HI は 1 未満でなければならない (HI < 1)。</p>					55 42
	用量の加算*	相対効力係数 Relative Potency Factor (RPF)	各々の物質の毒性データ。指標物質の用量-反応データ。	一部のデータが入手可能。類似性の制限を受け、特定の条件に限定される。	特定の条件（エンドポイント、経路、暴露期間）について毒性学的な類似性。異なる作用機序を持つ混合物が含まれる場合がある。	透明で理解しやすい。実際の暴露や毒性データに直接関係している。	用いるのに複雑。指標物質の用量-反応データの入手可能性に依存する。	55

非 相 互 作 用		<p> $RPF = TP_1/TP_{1}, TP_1/TP_{2}, \dots TP_1/TP_{n}$ (指標物質 I の RPF は 1) TP_1 : 指標物質 I の毒性効力 (毒性効力は BMD、NOAEL) TP_n : 物質 n の毒性効力 $\sum_i Exp_i = Exp_1 \times 1 + Exp_2 \times RPF_2 + \dots + Exp_n \times RPF_n$ $\sum_i Exp_i$: 指標物質 I の等量として表わした (標準化した) 総暴露量 Exp_1 : 指標物質 I の暴露量 Exp_n : 物質 n の暴露量 RPF_n : 物質 n の相対効力係数 </p> <p>以降、米国 EPA の場合下記の通りリスク評価を行う。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 暴露経路毎の暴露マージンを計算 $MOE = POD_1 \div \sum_i Exp_i$ POD_1 : 指標物質 I の起点 ● 総合暴露として、 $MOE_T = \frac{1}{1/MOE_{経口} + 1/MOE_{経皮} + 1/MOE_{吸入}}$ ● MOE_T は整数でのみ表わし、UF や FQPA 安全係数と比較。 					68
	用 量 の 加 算 *	<p>毒性等価係数 Toxicity Equivalence Factor (TEF)</p>	<p>各々の物質の毒性データ。指標物質の用量-反応データ。</p>	<p>入手可能なデータはごくわずか。強い類似性の制限を受け、わずかな物質群にしか適用できない。すべてのエンドポイントに適用可能。</p>	<p>毒性学的な強い類似性。</p>	<p>透明で理解しやすい。実際の暴露や毒性データに直接関係している。</p>	<p>場合によっては用いるのに複雑。指標物質の用量-反応データの入手可能性に依存する。</p>

非 相 互 作 用		<p>TEF = $POD_1/POD_1, POD_1/POD_2, \dots, POD_1/POD_n$ (指標物質 I の TEF は 1) POD_1: 指標物質 I の起点 POD_n: 物質 n の起点 $\sum_i Exp_i = Exp_1 \times 1 + Exp_2 \times TEF_2 + \dots + Exp_n \times TEF_n$ $\sum_i Exp_i$: 指標物質 I の等量として表わした (標準化した) 総暴露量 Exp_1: 指標物質 I の暴露量 Exp_n: 物質 n の暴露量 TEF_n: 物質 n の毒性等価係数</p> <p>$\sum_i Exp_i$ を指標物質 I の POD、RfD と比較。</p>				42
	起点指標 Point of Departure Index (PODI)	グループ不確実係数 (しばしば 100)。				18 42
		<p>$PODI = Exp_1/POD_1 + Exp_2/POD_2 + \dots + Exp_n/POD_n = \sum_i Exp_i/POD_i$ Exp_n: 物質 n の暴露量 POD_n: 物質 n の起点</p> <p>PODI x UF は 1 未満でなければならない (PODI x UF < 1)。</p>				42
累積リスク指標 Cumulative Risk Index (CRI)				RfD は不確実係数や用量設定に依存し、毒性に直接比例しない。	18 42	

非 相 互 作 用		$RI = POD/(Exp \times UF) = RfD/Exp$ RI : リスク指標 $CRI = \frac{1}{1/RI_1 + 1/RI_2 + \dots + 1/RI_n} = \frac{1}{HI}$ RI _n : 物質 n のリスク指標					42
	* 複合暴露マージン Combined Margin of Exposure (MOE _T)	起点、グループ不確実 係数。		毒性学的な類似性。	実際の暴露や毒性デ ータに直接関係して いる。	許容できる MOE _T の大 きさを決める基準が ない。	55 18 42
		$MOE = POD/Exp$ MOE : 暴露マージン $MOE_T = \frac{1}{1/MOE_1 + 1/MOE_2 + \dots + 1/MOE_n}$ MOE _n : 物質 n の暴露マージン MOE _T は UF を超えていなければならない (MOE _T > UF)。					55 42
	反 応 の 加 算 **	可能性のある作用全 体の割合。	入手可能なデータは ごくわずか。	毒性学的な独立性。	数学的に容易。	データの適用性は低 い。	55

相 互 作 用		相互作用有害性指標 Interaction-based Hazard Index (IHI)	各々の物質の最大許 容量。多数の重み付け 係数。	相互作用についての 限られたデータ。	二成分系の相互作用 が最も重要。	相互作用（二成分系） を考慮する。	二成分系の証拠の重 みを決めるのに複雑。 重み付け係数は実験 データによって支持 されない。相互作用の 不確実係数を選ぶ手 引きがない。	55
------------------	--	--	--------------------------------	-----------------------	---------------------	----------------------	--	----

注*) デンマーク： Loewe additivity

英国： Simple similar action

注**) デンマーク： Bliss independence

英国： Simple dissimilar action

有害性指標（HI）法では、暴露用量は許容一日摂取量（ADI）のような健康基準値を用いて標準化される。この方法は相加性の仮定に基づいているため、相乗又は拮抗作用が起こる場合、誤った結果を導出することになる。（Reffstrup 2002⁵⁵）

HI が 1 を超えた場合、混合物が最大許容レベル（ADI、RfD）を超えたことになり、リスクがあることを意味する。しかし、HI がリスクを表すかどうか決定する際、1 と 100 の間の不確実係数を考慮しなければならないという指摘がある。不確実係数は、単一化合物の間の相互作用に関する情報の信頼性を反映していなければならない。さらに、相乗作用は高用量において、あるいは混合物中の化合物の数が多いときに起こる可能性が高いため、不確実係数はまた、混合物中の化合物の濃度や数を反映していなければならない。（Reffstrup 2002⁵⁵）

HI は特に、毒性学的に類似した、またすべてが用量-反応データを持つ化合物の混合物に推奨される。しかし、米国 EPA は、機作や薬物動態の情報が欠如しているため、実際には、HI 法は同じ標的器官を持つ化合物の混合物に適用されるものと考えている。（Reffstrup 2002⁵⁵）

相対効力係数（RPF）法では、化学物質混合物の相対効力は、特定のエンドポイントの毒性試験のために用いられる様々な生物検定において同じであると仮定される。複合混合物の短期試験は、長期の *in vivo* 試験が得られない場合、その代替として用いられる。RPF 法では、混合物中のすべての化合物の暴露用量を指標化合物の効力と比較して表し、率に応じて定めた暴露用量を合算する。RPF 法では、異なる作用機序を持つ混合物のデータも含まれる場合があり、また矛盾したデータや欠落データも含まれる場合がある。（Reffstrup 2002⁵⁵）

毒性等価係数（TEF）は、RPF の特別なケースである。TEF 法もまた、十分な *in vivo* 毒性データが入手可能でない場合、毒性学的又は構造的に関連した化合物の複合混合物の毒性を推定するために採用される。混合物中の一つの化合物が指標化合物として選ばれる。次いで、混合物中の化合物の暴露用量が効力に従い同じ尺度に標準化され、その後合算される。一組の複合影響のデータを評価するためには、指標化合物の用量-反応曲線が得ら

れ、混合物中の他の化合物の影響を知ることが必要である。(Reffstrup 2002⁵⁵)

TEF 法では、混合物中の化合物は同じ生物学的又は毒性学的な経路によって作用すると仮定される。他の仮定は、混合物中の各々の化合物の影響が暴露の準最大レベルにおいて本質的に相加的であり、用量-反応曲線が平行であるということである。(Reffstrup 2002⁵⁵)

TEF 法では、ほとんどの RPF で必要なデータより大きなデータセットが要求される。このため、毒性等価という用語は一般的なケースにおいて用いるべきではない。(Reffstrup 2002⁵⁵)

暴露マージン (MOE) 法は、しばしば単一化学物質の急性リスクが受容できるかどうか決定するために採用される。ヒト又は動物試験で得られた毒性データから MOE が導かれた場合、それぞれ 10 を超える、又は 100 を超える MOE は通常 受容できると考えられる。これらは、例えば NOAEL から参照用量を計算する際に用いられる典型的な不確実係数と数値が同じであるため、基準として選ばれる。100 より大きい複合暴露マージン (MOE_T) は、動物の毒性データから導かれた場合、通常 受容可能とみなされる。(Reffstrup 2002⁵⁵)

相互作用に基づいた有害性指標 (IHI) では、複数の化合物の相互作用を含むリスク評価の有害性指標に対し、定量的な修飾因子として証拠の重み付け手法を採用する。そこでは二成分系相互作用が最も重要であると仮定し、二成分系相互作用に関する情報が化学物質混合物のリスク評価を修正するために用いられる。また、混合物中の化合物は類似の機作により作用すると仮定される。(Reffstrup 2002⁵⁵)

IHI 法は非常に複雑であり、化合物の相互作用に関する多数の計算や仮定が必要である。(Reffstrup 2002⁵⁵)

4. 2 米国EPAの手引き

米国 EPA は 2002 年、農薬の複合影響評価法として下記の手引きを公表した。

「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」(U.S. EPA 2002⁶⁸)

“Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity”, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, January 14, 2002

この手引きではリスク評価法として、表-4.1 の相対効力係数 (RPF) 法を採用している。

(注) EPA がこの手引きの補助文書として 1999 年に発表した下記の手引きには、累積リスク評価の対象になる農薬の要件として、「共通の機作により共通の毒性影響を起こす」ことが厳格に規定されている。この確認のためには広範囲なデータベース等が必要とされることから、EPA の方法はむしろ毒性等価係数 (TEF) 法と称されるかもしれない。

「共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き」(U.S. EPA 1999⁶⁶)

“Guidance for Identifying Pesticide Chemicals and Other Substances That Have a Common Mechanism of Toxicity”, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, January 29, 1999

以下に、上記の二つの手引きの概要を紹介する。詳細は、添付資料 1-2、1-3 を参照されたい。

4.2.1 共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き (U.S. EPA 2002⁶⁸)

(1) 文書で使用される重要な用語

リスクに関係した用語：

- 総合リスク (Aggregate Risk)

一つの化学物質に対する暴露のすべての経路 (体外 pathways) ・体内 routes) に関係したリスクをいう。

- 共通機作による影響発現の感受性が高い特定時期 (クリティカル ウィンドウ) (Critical Window of Expression for the Common Mechanism Effect)

暴露から共通機作による影響の発現までの時間であり、その影響がなくなり、暴露された個人が事実上暴露前の状態に戻るまで続く。

- 累積リスク (Cumulative Risk)

共通の毒性機作を持つ一群の化学物質に対する直接関係するすべての暴露経路（体外及び体内）による同時暴露に関連した共通の毒性影響のリスクをいう。

（注）この手引き書（U.S. EPA 2002⁶⁸）に記述されている累積リスクの定義は、FQPAに規定されている共通の毒性機作を持つ化学物質に相当する。EPAは他の状況において、もっと広い方法で累積リスク評価を定義していることに注意すること。すなわち、「有害影響を引き起こすストレスや暴露の蓄積(*accumulation*)（時間、源、経路等）を検討すること、次いで、これらストレスや暴露が引き起こす影響を一つの推定値に統合(*integration*)すること、及び同時に作用する(*acting together*)ストレスにより個人や集団に引き起こされるリスクを特性化すること（2001）」

- 累積評価グループ（Cumulative Assessment Group, CAG）

精密で定量的なリスク推定を行うために、共通機作を持つ一つのグループから選別された化学物質の部分集合（サブセット）をいう。CAG内の化学物質はもちろん、それらの暴露経路（体外／体内）及び農薬としての使用は、累積リスクの発現という結果になりうる潜在的な有害性及び暴露を有すると判断される。このため、無視できる寄与因子は、リスクを定量化する際には使用されない。

- 用量の加算（Dose Additivity）

毒性学的に類似し、同じ標的部位で作用する化学物質のリスク総和（*joint risk*）を評価する際のEPAの仮定をいう。言い換えれば、各々の化学物質は、CAG（又は化学物質混合物）内の他の化学物質の濃縮物又は希釈物として振舞うことが仮定されている。この複合体の反応は、指標化学物質の等価用量から予想される。等価用量は、各々の化学物質の毒性効力を指標化学物質に対する比率に応じて定めた、構成成分の用量の和である。

- グループ不確実係数（Group Uncertainty Factor）

CAGのグループ不確実係数（一つ）は、全体としてそのグループに関係した科学的な不確実性のある領域（例えば、個人差及び種差）をカバーするために、そのグループの毒性を推定した後に適用される。データベースのほとんどの問題点は、個々の化学物質をベースに取り扱うべきであるが、そのグループに共通の毒性影響に関するデータベースの質や完全さは、全体として、グループ不確実係数を決定する際に考慮しなければならない。また、子供に対するFQPAの10倍の安全係数についての考察は、共通の毒性機作に関連して行われ、また通常、そのグループの個々の物質というよりむしろそのグループに基づいていなければならない。

- 指標化学物質 (Index Chemical)

CAG内の化学物質の共通毒性を標準化するため、参照点として用いられる化学物質である。指標化学物質は、明確に特性化された用量-反応関係をもち、共通の毒性機作が十分に明らかにされ、CAGを代表する共通毒性について毒性学的/生物学的プロファイルを持っていないなければならない。

- 起点 (Point of Departure, POD)

観察された反応の範囲内にあると考えられる、有意な外挿をしていない用量をいう。PODは、観察された用量-反応データから導かれるデータポイント又は推定ポイントである。PODは、環境に適合したヒトへのより低い暴露に関係したリスクを決定するために、外挿の始めを指定するために用いられる。

- 相対効力係数 (Relative Potency Factor, RPF)

当該化学物質の毒性効力の、CAG内の指標化学物質の毒性効力に対する比をいう。RPFは、CAG内のすべての化学物質の暴露を、指標化学物質の暴露等量に変換するために用いられる。

有害性に関する用語：

- 共通機作グループ (Common Mechanism Group, CMG)

共通の毒性機作により共通の毒性影響を引き起こすことが決定された一群の化学物質をいう。CMGは、以前(1999年)に発表された手引き書、「共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き (Guidance for Identifying Pesticide Chemicals and Other Substances That Have a Common Mechanism of Toxicity) を利用して明らかにされる。CMGの物質すべてを必ずしも、累積リスクのより精密で定量的な推定に含めるべきであるとは限らない。

- 共通の毒性機作 (Common Mechanism of Toxicity)

主要な生化学的事象(すなわち、作用機序)の同じ、又は本質的に同じ結果により共通の毒性影響を引き起こす二種類以上の農薬又は他の物質は、共通の毒性機作を持つと称される。

暴露に関する用語：

- 同時暴露 (Concurrent Exposure)

関係する全ての暴露媒体、期間及び経路によって起こり得るヒトへの暴露と解釈される。一つの化学物質の暴露が別の物質の暴露に加算され、トータルリスクは個々の物質に対する暴露の合計の推定値になる。。この concurrent exposure は、体内用量か毒性影響の重複のいずれかによって生じる同じリスク総和 (same joint risk) に寄与しうる、同時暴露 (simultaneous exposure) や連続暴露 (sequential exposure) がある。

- 暴露シナリオ (Exposure Scenario)

事実や仮定、推理の組み合わせであり、二種類以上の農薬に対する暴露が起こる可能性のある別々の状況や活動を明確に定める。複合暴露を推定するための累積暴露の枠組みは、シナリオの構築を通して暴露経路と結びつく異なる特質 (例えば、ヒトの活動形態や居住地、年齢) の母集団を代表する個人に対する暴露に基づいている。

- 暴露の (体外) 経路 (Pathway of Exposure)

化学物質が発生源から生体に至るまでたどる物理的な道筋 (食品や飲料水の摂取、又は家庭内での農薬の使用など) をいう。

- 暴露の (体内) 経路 (Route of Exposure)

化学物質が接触後、生体に入るまでの道 (経口、吸入、経皮吸収など) をいう。

- 総合暴露 (Aggregate Exposure) ^(注)

一つの化学物質 (又はストレス) に対する個人又は決められた集団の、直接関連する経路 (体内・体外)、発生源を経由した複合暴露をいう。

(注) 「総合暴露」の説明は下記の文献 (U.S. EPA 2003 ⁶⁵) より抜粋した。

Risk Assessment Forum, EPA, Framework for Cumulative Risk Assessment, EPA/630/P-02/001F, May 2003 (<http://cfpub.epa.gov/ncea/raf/recordisplay.cfm?deid=54944>)

(2) 累積リスク評価の手順

本手引きに記述された累積リスク評価を行う手順を図-4.1 に示す。EPA は、ステップ 1 からステップ 10 までの 10 段階よりなる、相対効力係数 (RPF) を用いる評価法を採用している。図-4.1 に続いて、ステップ 1 からステップ 10 の概要を紹介するが、詳細は添付資料 1-2 を参照されたい。

図-4.1 累積リスク評価の手順

- ステップ1： 共通機作を持つグループ（CMG）を確認すること
累積リスク評価は、共通の毒性機作により共通の毒性影響を誘発する一群の化学物質、すなわち共通機作グループ（CMG）の確認から始まる。
- ステップ2： 起こり得る暴露を確認すること
各々の CMG 物質について、起こり得る暴露の体外経路（食品、飲料水、住宅）及び体内経路（経口、吸入、経皮）を明確にするために、提案・登録された用途や使用形態を評価する。
- ステップ3： 共通機作のエンドポイントを特性化し、選択すること
各々の CMG 物質について、関係するすべての暴露経路（体内）と期間にわたって共通の毒性機作を通して起こる共通の作用を評価し、共通毒性の発現の時間枠を決定し、用量－反応データの質を評価する。相対効力を決定するための統一的な基礎となりうるエンドポイント／生物種／性を推奨する。
- ステップ4： 広範囲な累積リスク評価の必要性を決定すること
入手可能な残留値に関連した暴露シナリオの数とタイプを考える。共通の作用について集めた NOAEL と LOAEL に係る毒性情報を評価する。この評価により、CMG のスクリーニングレベルの評価からはこの化学物質群についてはリスクの懸念がなく、さらに詳細な評価は必要のないことが分かるかもしれない。またこの評価により、累積評価は現時点では全く適切でないことも分かるかもしれない。
- ステップ5： 候補となる累積評価グループ（CAG）を決定すること
累積リスクの定量的な推定に含めるべき、累積作用を起こすような潜在的な暴露や有害性を持つ農薬、農薬の用途、暴露の経路（体内・体外）を CMG から選ぶ。
- ステップ6： 用量－反応分析を行い、相対効力及び起点を決定すること
共通の機作による作用を評価するための適切な用量－反応手法を選択、適用し、各々の暴露経路（体内）と期間毎に CAG の相対毒性効力を決定する。CAG のリスクを外挿するための起点を決定する。
- ステップ7： すべての経路及び期間に対する詳細な暴露シナリオを作成すること
CAG 内の各々の農薬の現存用途すべてについて、起こり得る暴露の大きさを確立する上でそれらの役割を決定する。シナリオの相対的な重要性及び定量的評価に含める必要性を決める。評価の対象となる関係集団と場所を明らかにする。同時に起こる暴露シナリオ

を決定する。

- ステップ 8： 暴露の入力パラメータを確立すること

すべての関係した暴露経路（体外／体内）の組み合わせについて、大きさや頻度、期間を決定する。用途／使用量に係る適切な情報源、すべての適切な媒体における残留性、及び評価に含めるべき修正係数を明らかにする。必要に応じて、他の化学物質に特有なデータ、公表文献、一般的なデータから、代用となる適切なデータセットを明らかにする。必要な暴露パラメータをモデル化する。

- ステップ 9： 最終的な累積リスク評価を行うこと

経路／期間特有のリスク判定基準を当てはめる。試行的に実行し、結果を評価する。感度解析を行う。母集団中の懸念される亜集団を評価し、グループ不確実係数及び FQPA 安全係数を決定する。

- ステップ 10： 累積リスクの特性化を行うこと

毒性や暴露のデータ源及びモデルへの入力における相対的な信頼性を含め、累積リスクの解析結果や結論について記述する。不確実性の主な領域、起こりそうなバイアスの大きさと方向、最終評価に及ぼすインパクトについて議論する。各々の暴露経路（体外、体内）からのリスクへの寄与を、個別に、また組み合わせて評価する。農薬、暴露経路（体外）、発生源、時期（季節）、強い影響を受ける亜集団（特に子供に注意して）に関して、リスクへの寄与因子を明らかにする。リスクに強い影響を与える可能性が最も高い要因を決定するために感度解析を行う。不確実係数や安全係数の必要性を決定する。

1章 共通機作を持つグループ (CMG) を確認すること

ステップ 1: 累積リスク評価は、共通の毒性機作により共通の毒性影響を誘発する一群の化学物質、すなわち共通機作グループ (CMG) の確認から始まる。

共通の毒性機作の決定は、通常、下記の「共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き (1999 年)」に記述された証拠の重み付けによる手法に従う。EPA はまた、毒性機作を確立する上でさらなる方向付けとなる、化学物質の作用機序を評価するための枠組みを策定した (発がんリスク評価ガイドライン草案、1999 年)。共通の毒性機作を持つ一群の化学物質 (CMG) の確認は、累積リスク評価に先立って行われるため、CMG 確認の報告書は、通常、累積リスク評価の報告書と別に作成される。

U.S. Environmental Protection Agency. 1999. “Guidance for Identifying Pesticide Chemicals and Other Substances That Have a Common Mechanism of Toxicity;” January 29, 1999. Office of Pesticide Programs, Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances, Washington, D.C. Available: <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1999/February/Day-05/>

(注) FQPA では「毒性機作 (mechanism of toxicity)」又は「作用機作 (mechanism of action)」という用語が用いられており、これは上記の手引き (1999 年) に定義されている。一方、発がんリスク評価ガイドラインの草案 (1999 年) では、「作用機序 (mode of action)」という用語を、この用語が意味するよりもっと詳細な、分子的な事象の説明を意味する「機作 (mechanism)」という用語と区別しているが、本手引き及び上記の手引き (1999 年) で用いられている「毒性機作 (mechanism of toxicity)」の定義は、「作用機序 (mode of action)」の定義と同じである。

2章 潜在的な暴露を確認すること

ステップ 2: 各々の CMG 物質について、起こり得る暴露の体外経路 (食品、飲料水、住宅) 及び体内経路 (経口、吸入、経皮) を明確にするために、提案・登録された用途や使用形態を評価する。

一般に、累積評価の前に、総合暴露評価が CMG の各々の物質について行われる。総合評価では、個々の農薬について、暴露経路 (体外、体内) に係る重要な情報が確認される。総合評価からの暴露や使用のデータは、重大な暴露になり、また他の農薬と暴露が重なる

可能性のある用途を持つ農薬を確認するために評価されなければならない。同様に、使用が限られていたり、予想される暴露や影響が重なり合わないため、累積リスクを起こすと思われないような農薬も確認しなければならない。例えば、ある農薬の用途が、餌箱や裾板の背部に注入されるゲルのような施用方法に限定される場合、実質的に暴露が予想されないという決定がなされ、もしそうであれば、その農薬はリスク評価の範囲に含まれないであろう。

CMG 内の農薬の登録用途は、どの化学物質を有害性解析（3 章）で考慮しなければならないか、また累積評価で暴露シナリオの範囲をどうしなければならないかを決定する上で、最初の情報となる。予想される暴露の種類を理解することは、登録された用途と深く結び付いている。例えば、ある農薬の登録が食用作物への適用のみであれば、主として経口暴露（摂取される食物を経由して）の他、流去や浸出の結果として飲料水を経由する可能性がある。この場合、居住暴露（経皮及び吸入）は懸念されない。

トレランスもまた、予想される暴露の大きさに係る重要な詳細情報となる。例えば、ある農薬のトレランスが検出限界値である場合、食品に予想される残留物は非常に少ないことが分かり、その食品の暴露をリスク評価から除外することが正当化されるかもしれない。同様に、二つの農薬が同じ用途で互いに代替物であり、同時に同じ場所で使用されない場合、それらが共に存在することはなさそうである。このため、同時暴露の懸念は限定される。ある製品は組み合わせで使用されるかもしれないが、この場合は、少なくとも一部の暴露については共に考慮すべきことが示唆される（すなわち、暴露の重なり）。さらに、ある製品は互いに補足し合うものかもしれないが、この場合は、一方が使用されれば、他方が使用される可能性も増すであろう。

3 章 共通機作のエンドポイントを特性化し、選択すること

ステップ 3： 各々の CMG 物質について、関係するすべての暴露経路（体内）と期間にわたって共通の毒性機作を通して起こる共通の作用を評価し、共通毒性の発現の時間枠を決定し、用量-反応データの質を評価する。相対効力を決定するための統一的な基礎となりうるエンドポイント/生物種/性を推奨する。

いったん、共通の毒性機作を持つ一連の化学物質（すなわち、CMG）が確認されると、

累積リスク評価において考慮されるべき共通の毒性影響を特性化し選択するために、さらなる有害性解析が必要である。この有害性評価の重要な側面は、共通の機作に関係した共通の作用、共通の作用に係る最も広範囲なデータである試験種／性、及び共通の毒性影響が発現する暴露経路と期間を確認することである。データの定量的な初期評価は、リスクを定量化（6章）するため、化学物質間の相対毒性効力を決定するために、共通の毒性エンドポイントを最終的に選択し、用量－反応手法を選ぶ上で役に立つであろう。

4章 広範囲な累積リスク評価の必要性を決定すること

ステップ 4: 入手可能な残留値に関連した暴露シナリオの数とタイプを考える。共通の作用について集めた NOAEL と LOAEL に係る毒性情報を評価する。この評価により、CMG のスクリーニングレベルの評価からはこの化学物質群についてはリスクの懸念がなく、さらに詳細な評価は必要のないことが分かるかもしれない。またこの評価により、累積評価は現時点では全く適切でないことも分かるかもしれない。

5章 候補となる累積評価グループを決定すること

ステップ 5: 累積リスクの定量的な推定に含めるべき、累積作用を起こすような潜在的な暴露や有害性を持つ農薬、農薬の用途、暴露の経路（体内・体外）を共通機作グループ (CMG) から選ぶ。

共通機作の毒性により類型化された化学物質すべてが定量的な累積リスク評価に含まれるわけではないため、累積評価グループ (CAG) は CMG のサブセットになる。一般的に、初期段階の累積評価では、有害性の低い、又は取るに足りない暴露シナリオの化学物質から起こるリスクを定量化するよう試みるべきではなく、リスクの寄与因子であると考えられ、また軽減措置を要する化学物質や暴露シナリオに焦点を置くべきである。混合物中の少数の成分であっても不確実性や偏りが重大でありうるため、リスク寄与因子へ焦点を置くことは重要である。

初期段階の累積評価を検討する際、暴露シナリオを除外する決定に深い注意を払うべきである。暴露や有害性のデータは、CMG のどの物質、どの暴露経路や過程、農薬のどの用途が累積リスクを定量化するために保持されるべきか決定する上での基礎になる。ある化学物質、暴露経路・過程、特定の用途は最終的な定量的リスク評価には含まれないかもしれないが、すべての化学物質、経路・過程、用途が、少なくとも定性的に評価されるべきである。すべての CMG 物質及びそれらの暴露シナリオが累積リスク評価において説

明されることが重要である。このため、ある CMG 農薬、特定の農薬用途、又は経路／過程の組み合わせを含めない根拠が、累積リスク評価において明確に記述されなければならない。これらの決定は、有害性、用量－反応、暴露のデータの全体的な考察に基づいていなければならない。無視できる寄与因子の除外は賢明であるかもしれないが、それらはリスク全体の主要な部分を占めているのではないという留意が必要である。

6章 用量－反応分析を行い、相対効力及び起点を決定すること

ステップ 6: 共通の機作による作用を評価するための適切な用量－反応手法を選択、適用し、各々の暴露経路（体内）と期間毎に CAG の相対毒性効力を決定する。CAG のリスクを外挿するための起点を決定する。

累積評価グループ（CAG）の用量－反応分析の主な目的は下記の通りである。

- CAG 内の各々の化学物質の毒性効力を、一貫して統一した基盤に立って推定するために、共通のエンドポイントを選択する。
- 暴露データを標準化し、各々の暴露経路／期間について、リスク全体のどれだけの部分が各々の化学物質に由来するのか決定し、CAG の異なる毒性効力を説明するための、各々の化学物質の相対効力を推定する手法を選択する。
- CAG のリスクを外挿するために、各々の暴露経路／期間について起点を決定する。この起点は、質の高い用量－反応データに基づいており、バックグラウンドの反応に近くなければならない。
- 比例と用量加算の仮定に合致した類似の用量－反応曲線を示すかどうか決定するために、CAG の物質を評価する。

CAG について相対効力や起点を決定するための、共通機作を持つ複数の化学物質の用量－反応のモデル化は、開発の初期段階にあり、実績が限られている。この分野での経験がもっと多くなると、データや手法が発展し向上することが予想される。

7章 すべての経路及び期間に対する詳細な暴露シナリオを作成すること

ステップ 7: CAG 内の各々の農薬の現存用途すべてについて、起こり得る暴露の大きさを確立する上でのそれらの役割を決定する。シナリオの相対的な重要性及び定量的評価に含める必要性を決める。評価の対象となる関係集団と場所を明らかにする。同時に起こる暴露シナリオを決定する。

CAG 物質が確認されると、累積リスク評価の次のステップは、各々の CAG 物質の用途から生じる暴露シナリオを作成することである。この過程は、EPA の「総合暴露及びリスク評価を実施するための一般原則」(General Principles For Performing Aggregate Exposure And Risk Assessments, 2001) に詳細に述べられており、確認された暴露シナリオから暴露の重なるの可能性があるかどうか決定することができる。共通機作による作用が以前の CAG 暴露からなお効いている時間枠の中で、化学物質が複数の発生源や暴露過程から生じる可能性がある場合、暴露は重なることが考えられる。

正確で定量的な複数農薬の累積リスク評価は、単一農薬の総合評価を足し合わせるにより行うべきでない。累積リスク評価は、互いに補足し競合し合う農薬の同時使用やつながりを反映していなければならない。累積リスク評価は、既にある単一農薬の総合評価を再構成してはならず、基礎データから改めて始めなければならない。

累積リスク評価は、CAG 内の単一農薬の総合評価から得られたデータや結果を利用して、下記の質問を念頭において計画すべきである。

- 誰が暴露されるか？
- どの化学物質にどれだけの量 暴露されるか？
- 暴露の時機はどうか、また暴露は重なるか？
- 暴露は同じ場所で起こるか？
- 暴露が起こる過程、経路、期間はどうか？

例えば、南東部における蚊の処理は、南東部における春と夏の間の潜在的な他の暴露と合致していなければならない。累積暴露評価は、意味のない組み合わせ（例えば、夏季にミネソタ州でアザミウマの防除のために農薬散布し、かつ秋季にジョージア州でシロアリの防除のために農薬処理する結果、ある人に暴露が生じる）を避けるよう注意深く構築すべきである。

農薬に対する暴露の主な三つの過程は、食品及び飲料水の食事経由の過程、及び住居や他の非職業的な状況における暴露の非食事経由の過程である。化学物質の使用形態は、潜在的な暴露シナリオを大きく左右する。農薬の使用形態を評価することにより、CAG の各々の物質のプロファイルを作成し、潜在的な暴露経路、期間、頻度、大きさを確立する

ことができる。使用プロファイルの評価はまた、物質間で重なり、同時に起こる、又は異なるかもしれない暴露シナリオの確認を可能にする。

暴露が起こる時間枠は、関係するシナリオを定義するための主なクライテリアである。例えば、農薬の共通毒性影響の性質及び使用形態に応じて、評価では、ある食品が消費されるその日に焦点を置き、また家庭での農薬の使用では数日にわたって評価の時間を延長することになるかもしれない。時間枠は、異なる過程や経路からの暴露がいかに評価されるか決定するであろう。このステップは毒性データの調査に大きく依存するが、どのようなシナリオを表すのが適切であるか同時に決定することが求められる。有害作用の性質から、暴露を評価すべき時間の推移が決定される。毒性試験から時間枠を考察する際は、作用が発症するまでの時間や用量の発症時間に及ぼす影響、暴露終了後の作用の回復に必要な時間（作用が可逆的な場合）の評価を含めるべきである。暴露シナリオによっては、共通の毒性影響を引き起こすのに期間が不十分であることが分かった場合、それらシナリオのいくつかを評価から除外する注意深い配慮がなされてもよい。しかし、累積リスク評価で解析される最終的な暴露は多くの過程からの暴露の累積であるため、期間のみをリスク評価からの除外のクライテリアとして考えるべきでない。いくつかの短期間の暴露が重なり、許容レベルを超える累積暴露を生じるかもしれない。暴露評価の実施に有用な時間枠については、EPAの「暴露係数ハンドブック」(Exposure Factor Handbook, 1999)でさらに情報が得られる。

8章 暴露の入力パラメータを確立すること

ステップ 8: すべての関係した暴露経路（体外／体内）の組み合わせについて、大きさや頻度、期間を決定する。用途／使用量に係る適切な情報源、すべての適切な媒体における残留性、及び評価に含めるべき修正係数を明らかにする。必要に応じて、他の化学物質に特有なデータ、公表文献、一般的なデータから、代用となる適切なデータセットを明らかにする。必要な暴露パラメータをモデル化する。

単一化学物質の総合評価を行うために使用される三つの主な農薬暴露源（食品、飲料水、住宅又は他の非職業）のデータは、累積リスク評価を実施するのに要求されるデータの大多数を占める。個々の物質の評価におけるデータに固有な強弱は、累積評価に持ち越されるであろう。さらに、三つの暴露源について得られるデータは、量と質に大きな幅がある。

9章 最終的な累積リスク評価を行うこと

ステップ 9：経路／期間特有のリスク判定基準を当てはめる。試行的に実行し、結果を評価する。感度解析を行う。母集団中の懸念される亜集団を評価し、グループ不確実係数及び FQPA 安全係数を決定する。

累積リスク評価の設計では、CAG に特有な時間枠の妥当性、入力パラメータが地理的な場所や季節と共にいかに系統的に変動するか、リスク評価において懸念される母集団について考慮することが含まれていなければならない。評価を行うために集めたデータは、暴露される母集団が遭遇すると思われる潜在的なリスクの範囲と確率を首尾一貫して現実的に描けるように結び付けなければならない。不適切なデータの組み合わせは、不正確で誤解を生む無意味な結果を生じるかもしれない。

10章 累積リスクの特性化を行うこと

ステップ 10：毒性や暴露のデータ源及びモデルへの入力における相対的な信頼性を含め、累積リスクの解析結果や結論について記述する。不確実性の主な領域、起こりそうなバイアスの大きさと方向、最終評価に及ぼすインパクトについて議論する。各々の暴露経路（体外、体内）からのリスクへの寄与を、個別に、また組み合わせて評価する。農薬、暴露経路（体外）、発生源、時期（季節）、強い影響を受ける亜集団（特に子供に注意して）に関して、リスクへの寄与因子を明らかにする。リスクに強い影響を与える可能性が最も高い要因を決定するために感度解析を行う。不確実係数や安全係数の必要性を決定する。

リスクの特性化は、評価プロセスの解釈の段階である。この段階は、関係する暴露シナリオについてリスクの推定値を特性化するために、有害性や用量－反応、暴露の評価をまとめる統合的なプロセスであり、リスク評価の主な結果や結論の他、関連した不確実性を提示する。リスクの特性化では、多様な関係者のために、専門用語の使用を最小限にする議論の場が提供される。リスクの特性化に係る追加の手引きは、下記の EPA のハンドブックに見ることができる。

U.S. Environmental Protection Agency. 2000c. “Science Policy Council Handbook: Risk Characterization;” December 2000. EPA 100-B-00-002. Science Policy Council, Office of Research and Development. Washington, DC.

Available: <http://www.epa.gov/ORD/spc/pdfs/rchandbk.pdf>

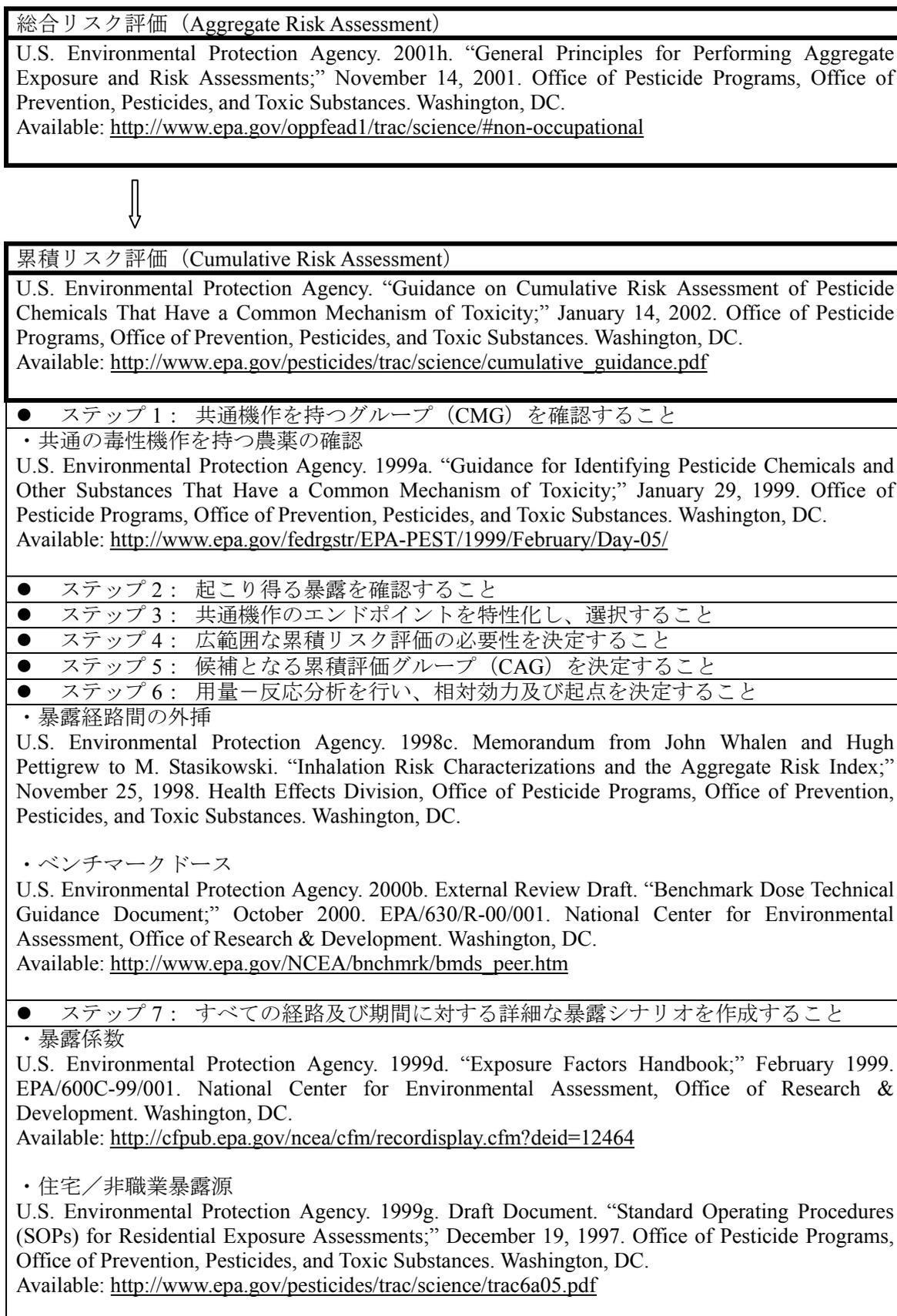
(3) 累積リスク評価に係る補助的な手引き

EPA は、累積リスク評価の各々のステップにおいて、補助的な役割を果たす手引きを作

成している。これらの手引きを図-4.2に示す。

このうち、ステップ1の「共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き」は重要なものである。

図-4.2 EPA の累積リスク評価に係る補助的な手引き



<ul style="list-style-type: none"> ● ステップ 8： 暴露の入力パラメータを確立すること
<ul style="list-style-type: none"> ・モンテカルロ解析 <p>U.S. Environmental Protection Agency. 1997a. “Guiding Principles for Monte Carlo Analysis;” March 1997. EPA/630/R-97/001. National Center for Environmental Assessment, Office of Research & Development. Washington, DC. Available: http://www.epa.gov/ncea/raf/montecar.pdf_</p>
<ul style="list-style-type: none"> ● ステップ 9： 最終的な累積リスク評価を行うこと
<ul style="list-style-type: none"> ● ステップ 10： 累積リスクの特性化を行うこと
<ul style="list-style-type: none"> ・リスクの特性化 <p>U.S. Environmental Protection Agency. 2000c. “Science Policy Council Handbook: Risk Characterization;” December 2000. EPA 100-B-00-002. Science Policy Council, Office of Research and Development. Washington, DC. Available: http://www.epa.gov/ORD/spc/pdfs/rhandbk.pdf</p>
<ul style="list-style-type: none"> ・FQPA 安全係数の考慮 <p>U.S. Environmental Protection Agency. 2001g. Draft Document. “Consideration of the FQPA Safety Factor and Other Uncertainty Factors in Cumulative Risk Assessment of Chemicals Sharing a Common Mechanism of Toxicity;” in preparation. Office of Pesticide Programs, Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances. Washington, DC. Will Be Available: http://www.epa.gov/oppfead1/trac/science/#10-fold</p>

4.2.2 共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手引き⁶⁶

要旨

1996年の食品品質保護法（FQPA）は、米国環境保護庁（EPA）に対して、共通の機作により毒性を示す農薬及び他の物質への暴露から起こるヒトの健康への累積リスクを評価するよう求めている。EPAは現在、この種の累積リスク評価を実施する手順を開発中である。このような評価は、農薬が引き起こすリスクの評価においてますます重要な役割を果たし、さらに人々の健康、また幼児や子供を含む感受性の高い亜集団を十分に保護できるような規制上の決定をEPAが下す能力を向上させるであろう。

共通の機作により共通の毒性影響を起こす農薬や他の物質を確認することは、累積リスク評価の過程の第一段階である。本文書は、共通の毒性機作により共通の毒性影響を引き起こす農薬及び他の物質を確認するためにEPAが採用する手法を述べたものである。特に、本文書は以下の事項について述べている。

- 安全性の決定をなすことに関する、共通毒性機作のEPAの解釈
- 共通の毒性影響を起こす農薬や他の物質の毒性機作を確認するために踏む特定のステップ
- 必要とされるデータとそれら収集源の種類
- 毒性機作の共通性に関して結論に到達する上で、これらデータはいかに利用すべきか
- 累積リスク評価の目的のため、EPAが農薬や他の物質を分類するために採用するクライテリア

累積リスク評価の他の側面についての詳細は、別の文書で議論されるであろう。

本文書は、1998年8月（FR 63 42031, FRL-5797-7）、パブリックコメントを求めるために発表された「農薬の累積毒性を評価する際に利用し、共通の毒性機作を持つ農薬を確認するための手引き（Guidance for Identifying Pesticide Chemicals that Have a Common Mechanism of Toxicity, for Use in Assessing the Cumulative Toxic Effects of Pesticides）」と題する草案から作成されたものである。EPAは、様々な機関から意見を受け取った。各々の論評者は、科学政策を改善するための勧告をした。意見はすべて、EPAにより広く評価され、考察され

た。この改訂版は、論評者の意見や勧告の多くを取り入れている。パブリックコメントの他、コメントに対する EPA の対応は、要約が **Federal Register** で見られるようになる。

II 章 用語の定義

本文書は、毒性影響、毒性機作、及び共通機作による共通の毒性影響を引き起こす物質の確認について議論するために必要な多数の用語を使用している。これらの用語は、FQPA では定義されていない（いくつかは記述されていない）。ここに記載されている定義は、FQPA の要求を履行する目的のための EPA の用語解釈を表している。

- 類似化合物 (Analog(s))

化学的に密接に関連する物質を表すために用いられる一般的な用語である。構造類似化合物は、類似の、又はほぼ同じ分子構造を持つ物質である。構造類似化合物は、類似の、又は一致した生物学的性質を持つ場合もあり、持たない場合もある。

- 毒性影響 (Toxic Effect)

ヒトに起こることが知られている（又は正当に予想される）影響を言い、化学物質への暴露から起こり、生命の質を脅かしたり、有害影響を与えることが正当に予想される。毒性影響の名称をほんの数例挙げれば、急性致死、聴覚損失、尿細管壊死、心筋症などである^(注 a)。

(注 a) 毒性影響は、毒性エンドポイントと同義語ではない。毒性エンドポイントは、所定の暴露レベルで起こる毒性影響の定量的な表現である。例えば、急性致死は毒性影響であり、一方 LD₅₀ 値 (半数致死用量) は、その影響に関係した毒性エンドポイントである。

- 毒性影響の部位 (Site of a Toxic Effect)

その影響が起こる特定の解剖学的又は生理学的な部位や位置（例えば、器官や組織）をいう。

- 共通の毒性影響 (Common Toxic Effect)

同じ解剖学的又は生理学的な部位や位置（例えば、同じ器官や組織）において、同じ毒性影響を起こすことが知られているある一つの農薬ともう一つの物質は、共通の毒性影響を起こすと呼ばれる。このため、一つの農薬に暴露された動物又はヒトを扱う研究で観察された毒性影響は、作用の部位と性質の両方が一致している場合、もう一つの化学物質により引き起こされた毒性影響と共通しているとみなされる。

- 累積毒性影響 (Cumulative Toxic Effect)

あらゆる物質に個別に暴露されることにより引き起こされる共通の毒性影響の大きさに相対して、共通の機作により共通の毒性影響を引き起こす二つ以上の物質の暴露から起こる共通の毒性影響の大きさに生じる正味の変化をいう。

- トキソフォア (Toxophore)

毒性影響を引き起こす物質は、毒性を起こす構造的な特徴 (feature) 又は部分 (moiety) を持っている。この構造的な特徴又は部分は、一般にトキソフォア (toxophore) あるいは毒性活性部分 (toxophoric moiety) 等と称される^(注 b)。毒物は、そのトキソフォア部分と、組織や器官の細胞にある生体分子の部位 (例えば、受容体)^(注 c) との相互作用を通して、正常な細胞生化学に変化を起こすことによりその毒性を呈する。これらの生化学的变化は、組織や器官が営む生理プロセスの攪乱につながり、最終的には毒性影響へと導く。しかし、多くの物質の毒性は、生体分子の部位との直接的な相互作用によるものではない。むしろ毒性は、構造置換体のトキソフォアへの代謝から起こる。毒性につながる代謝経路は、しばしば、生物活性経路 (bioactivation pathways) と呼ばれる。

(注 b) 毒物に関係したトキソフォア (toxophore) という用語は、医薬品に関係したファーマコフォア (pharmacophore) という用語と似ている：ファーマコフォアは、望ましい薬理的性質を与える医薬品の構造上の特徴をいう。

(注 c) 生体分子の部位とは、細胞内の特殊なタイプの生体分子 (例えば、DNA、RNA、ペプチド、蛋白、リポ蛋白、酵素等) における特定領域をいう。ある農薬のトキソフォアは、そのトキソフォアとその生体分子部位の反応性に依存して、可逆的又は不可逆的に生体分子の部位と相互作用する。

- 毒性機作 (Mechanism of Toxicity)^(注 d)

毒性機作は、農薬と生物学的な標的との相互作用の後、毒性影響へ至る主要な段階と定義される。影響へ至る段階は、すべてが明確に理解されている必要はない。むしろ、毒性機作について述べるために必要な事は、化学的な相互作用後の重要な事象の確認である。一般に、有害影響へ至る過程の様々な段階について多く理解されていなければいざいほど、毒性機作はより信頼性のあるものになる。例えば、毒性機作は、次のような影響の段階を知ることによって説明できるかもしれない：ある化学物質は、*in vitro* において、ある生物学的標的に結合し、受容体に関連した分子反応を引き起こす；*in vivo* でもまた、分子反応につながり、生物学的・形態学的な段階を干渉して有害影響に至る。他の例における毒性機作は、他のプロセスで説明できるかもしれない。

(注 d) 本文書の文脈においては、毒性機作とは、農薬がヒト又は実験動物に対して有毒であるメカニズムを指し、標的となる 又は意図した生物種に対して有毒であるメカニズム (すなわち、農薬作用のメカニズム) を指すのではない。しかし、農薬によっては、ヒト又は実験動物に対し毒性を引き起こすもととなるメカニズムは、農薬作用のメカニズムと類似している。

- 共通の毒性機作 (Common Mechanism of Toxicity)

共通の毒性機作は、同じ又は本質的に同じ連鎖の主要な生化学的事象により、ヒトの健康に共通の毒性影響を起こす二つ以上の農薬又は他の物質に関係する。従って、毒性の根底にある基礎的な部分は、各々の化学物質について同じか本質的に同じである。

- 毒性作用 (Toxic Action)

当該物質の毒性作用とは、毒性影響に至る生物学的標的との相互作用をいう。

- 毒性作用の部位 (Site of Toxic Action)

当該物質の毒性作用部位とは、当該物質と生物学的標的との相互作用が起こり、毒性影響に至る解剖学的又は生理学的な部位や位置をいう。

- 構造-活性相関 (Structure-Activity Relationships)

同じトキシフォア (toxophore) を含むか、同じトキシフォアに生物活性を得た物質は、共通の機作により共通の毒性影響を引き起こす。毒性影響を起こす力において、物質間の相対的な毒性効力 (toxic efficacy and potency) ^(注 e) は異なる。効力の相違は直接、次の事項に関係している：物質間に特有な構造の違い；これらの違いが、生体分子の作用部位に到達し相互作用するトキシフォアの能力に及ぼす影響；作用を起こす各物質の本質的な能力。二つ以上の構造的に関連した物質が共通の毒性影響を起こす能力、及びそれらの構造的な相違が毒性効力に及ぼす影響は、構造-活性 ^(注 f) 相関と称される。

(注 e) 毒性エフィカシー (毒性効力、toxic efficacy) は、ある物質が所定の毒性影響を引き起こすために本来備わっている能力をいう。最大毒性エフィカシー (maximal toxic efficacy) は、用量の増加がもはや作用の大きさ (強度) の増大を起こさない場合に到達する。毒性ポテンシー (毒性効力、toxic potency) は、ある暴露レベル (又は用量) から起こる毒性影響の大きさ、又は暴露レベルの範囲に対応した毒性影響の大きさの範囲をいう。相対毒性効力 (relative toxic potency) は、共通の毒性機作により、等価の大きさ (例えば、LD₅₀、ED₅₀) で表される共通の毒性影響を起こすための、個々の物質に要求される暴露レ

ベル又は用量と、他の物質に要求される暴露レベル又は用量との比較をいう。

(注 f) 本文書の文脈においては、活性 (activity) という用語は、毒性 (toxicity) と同義である。

- 証拠の重み付け (Weight-of-Evidence)

特定の目的のための、当該化学物質の定性的な科学的評価をいう。証拠の重み付けによる評価には、異なる毒性試験からのデータや薬物動態のデータ、化学的なデータのようないくつかのデータ要素の詳細な解析が含まれ、それに続いて、一つの仮定がなされるか、以前の仮定から選ばれるような結論が出される。

III章 共通の毒性機作を持つ農薬及び他の物質を確認するための手順

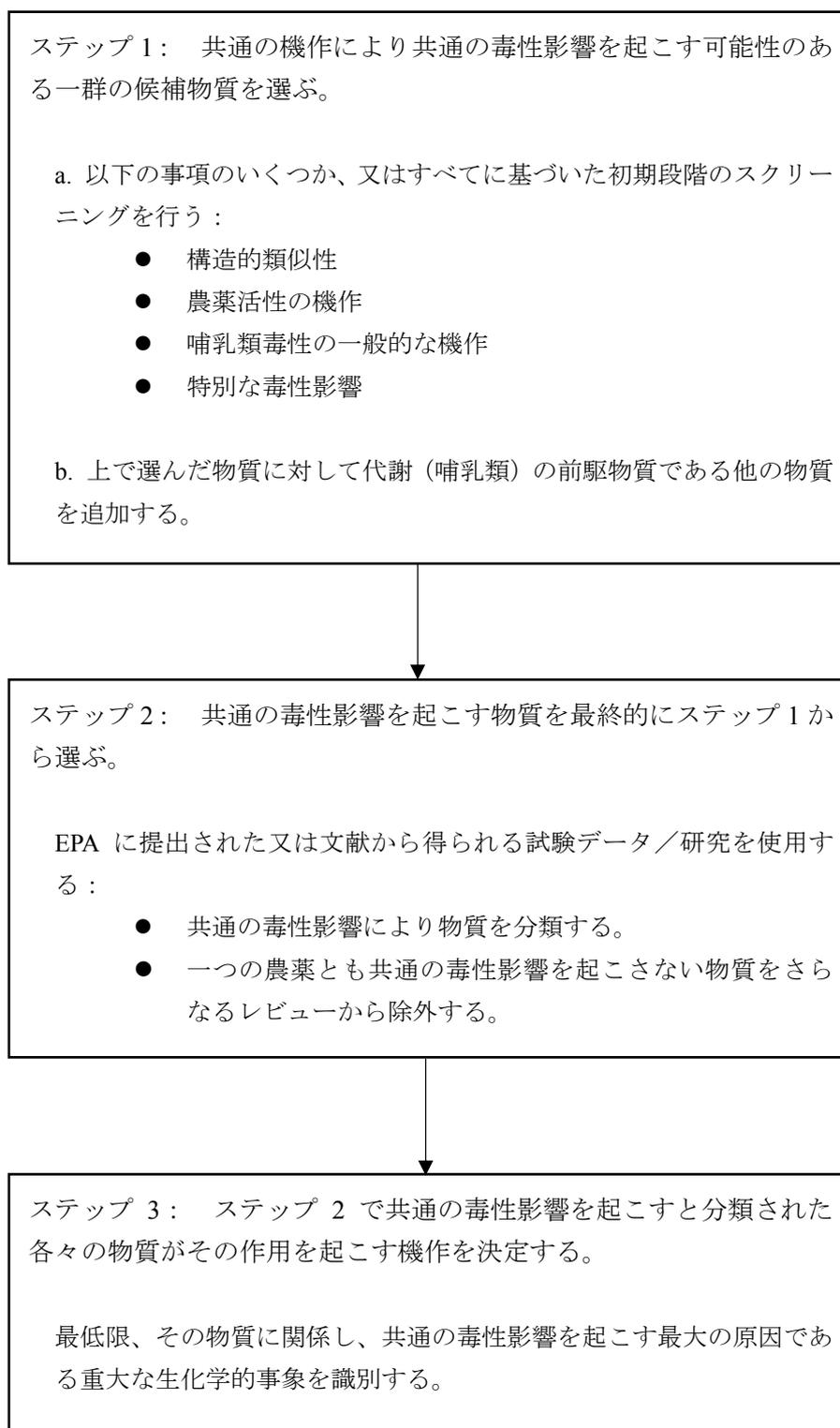
共通の機作により共通の毒性影響を起こす農薬や他の物質を確認するために、EPA が採用する方法の概念的な枠組みは図-4.3 に示されている。この方法は、共通機作により毒性のある農薬や他の物質を、EPA が時宜を得て資源効率的に、正確に確認し類別することができるように設計されている。

共通の毒性機作により共通の毒性影響を起こす物質を分類する目的のため、毒性影響や共通の毒性影響、毒性機作や共通の毒性機作を明らかにする際、「毒性機作 (mechanism of toxicity)」と「毒性作用の部位 (site of toxic action)」、又は「毒性作用の部位 (site of toxic action)」と「毒性影響 (toxic effect)」、「毒性影響の部位 (site of toxic effect)」を混同しないように注意しなければならない。(これらの用語はII章で定義されている。)多くの物質の場合、毒性影響の部位は、毒性作用の部位と同じである。しかし、他の多くの物質については、毒性影響の部位が毒性作用の部位と異なることも事実である。例えば、ある物質は、甲状腺内の過酸化酵素の触媒活性を阻害する。この酵素阻害はチロキシンやトリヨードチロニンの合成を妨げ、最終的には毒性影響である甲状腺機能の低下に至る。この場合は、毒性影響の部位は毒性作用の部位と同じ、すなわち甲状腺である。甲状腺機能低下を引き起こすことが知られている他の物質は、下垂体前葉での甲状腺刺激ホルモンの合成を妨げることによって甲状腺機能を低下させる。この場合、毒性影響の部位は甲状腺であるが、毒性作用の部位は下垂体前葉である。これら二物質は共通の毒性影響を起こすが、毒性機作が異なるため、累積リスク評価の対象とはみなされないであろう。

多くの物質は、暴露レベルに依存して、また異なる毒性作用の部位において異なる毒性機作により、一つ以上の毒性影響を起こしうる。しかし、ある毒性作用の部位で最初に変化した機能が離れた部位における他の機能を正常に制御するなら、その化学物質は、一つの毒性作用の部位で起こる一つの毒性機作から、複数の部位において複数の毒性影響を引き起こす可能性がある。例えば、副腎皮質におけるコレステロールのコルチコステロイドホルモンへの変換を妨げるある物質は、最終的には、部位や性質が異なる多くの作用を体全体で起こすであろう。EPA は、毒性作用の共通部位一つから、一つの共通機作により複数の毒性影響（例えば、ある内分泌攪乱物質により引き起こされる複合影響）を引き起こす物質を、少なくとも一つの毒性影響が物質間で共通している場合は、累積リスク評価の目的のためにグループ分けする。

図-4.3 共通の機作により共通の毒性影響を起こす農薬及び他の物質を識別するための証

拠の重み付けのプロセス



(次ページへ続く)

ステップ 3 (続き)

ステップ 3a: 毒性機作が以前に決定されたかどうか確認する。

- 過去に EPA に提出された機作に係る研究を知るため、EPA のデータベースを検索する。
- 機作に係る研究を知るため、文献を検索する。

機作が以前に決定されていた
場合、ステップ 4 に進む。

機作が以前に決定されていなかっ
た場合、ステップ 3b に進む。

ステップ 3b: 機作が以前に決定されなかった物質の毒性機作を決定する。以前に仮定されたか、又は部分的にのみ決定された機作を識別する (又は除外する)。これには、多様なデータの広範囲な解析 (すなわち、証拠の重み付けを決定する) を伴うであろう。

- 構造的なデータ

構造からトキシフォア及び機作を推測する。以下の事項を検索する:

- 毒性を引き起こすことが知られている置換基の存在; 例えば、生体高分子と反応し毒性を引き起こすことが知られている親電子的な官能基などの置換基を含有する物質。
- 毒性を誘発すると思われる置換基の存在; 例えば、生体高分子と反応し毒性を引き起こす可能性のある親電子物質、ラジカル等の断片に代謝されることが知られている置換基を含有する物質。

- 薬物動態データ

- その物質が受ける代謝変換の種類
- 代謝産物とそれらの動態、及び毒性 (既知であれば)
- 分布と排泄

- 毒性データ

- 構造類似化合物のデータ

農薬の構造類似化合物を確認する。また以下のデータのいくつかを入手する。

- 毒性データ
- 機作に係るデータ
- 薬物動態データ
- 構造-活性相関のデータ

ステップ 4: 共通毒性影響のグループ内の (ステップ 3 からの) 各々の物質について毒性機作を比較する。

ステップ 5: 農薬及び他の物質の精密な分類を行う。

- 共通機作により作用を起こす共通毒性影響のグループ内の農薬及び他の物質を識別し記憶する。
- 異なる機作により共通の毒性影響を起こす農薬及び他の物質を除外する。

4. 3 リスク評価の実例

4.3.1 米国 EPA による累積リスク評価

米国 EPA は、2002 年に発表した「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」に従い、有機リン系農薬の累積リスク評価を繰り返し実施してきた。2001 年の予備的な評価に始まり、2002 年にはその改訂版を作成した。その後、2002 年改訂版に対する変更や修正、改善を加えた下記の 2006 年更新版を発表した。現時点で最新のものである 2006 年更新版の概要を紹介する。

「有機リン系農薬の累積リスク評価－2006 年更新版」(U.S. EPA 2006⁷⁰)

“Organophosphorus Cumulative Risk Assessment – 2006 Update”, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, July 31, 2006

EPA は、食品品質保護法 (FQPA, 1996) によって義務付けられているように、2006 年 8 月 3 日までに、1996 年 8 月現在発効している既存のすべてのトレランス (食品に認可された最大残留値) の安全性を再審理しなければならない。その法律は EPA に対し、有機リン系農薬 (OP) を含め、最大のリスクを呈すると思われる農薬のトレランスの再評価に最も高いプライオリティを置くよう求めている。過去数年間にわたって、農薬計画部 (Office of Pesticide Programs, OPP) は、個々の OP 農薬のリスク評価を実施し、必要に応じて、これら農薬に対する暴露を減少するための低減措置を実行してきた。

EPA は、このプロセスの一環として、共通の毒性機作を持つ複数の化学物質への暴露から起こる、ヒトの健康への累積作用に係る入手可能な情報を考慮しなければならない。累積リスク評価では、共通の毒性機作を持つ化学物質に対し、複数の経路 (すなわち、食品、飲料水経由、さらに、大気中、土壌や芝生、室内の表面にある農薬の住宅/非職業暴露) からの暴露データを導入する。EPA は、FQPA の制定後まもなく、農薬の累積リスク評価を行うための新しい手段や手法を開発し始め、2001 年の「予備的な有機リン系累積評価 (Preliminary Organophosphorous Cumulative Assessment^{注 a)}」を出発として、OP 農薬の累積評価を様々に繰り返してきた。

(注 a) この文書の所在は、http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/pr_a_op_methods.htm である。

EPA は 2002 年 6 月、食品、飲料水、及び住宅使用における暴露からの OP に由来する累積リスクを含めた、OP 累積リスク評価 (OP CRA) 改訂版を発表した。OP CRA 改訂版は、<http://www.epa.gov/pesticides/cumulative/rra-op/> において入手できる。現在 (2006 年) の文書は、この 2002 年改訂版に対する更新であり、2002 年 OP CRA 改訂版に対する変更や修正、改善に重点を置いたものである。現在の更新版では、食品や飲料水、及び／又は住宅のリスク推定に影響を及ぼす、EPA が採用するリスク低減を導入している。有害性及び用量-反応評価への重要な追加事項には、種間種内外挿の評価や、幼児と子供を保護するための OP 特有の FQPA 係数の割り当てが含まれている。食品暴露の章では、EPA は食品中の残留農薬データを拡大し、USDA (米国農務省) の農薬データ計画 (Pesticide Data Program, PDP) のデータを 2004 年まで含めた。EPA はまた、飲料水処理の結果として、OP のオキソソ代謝物への変換がどの程度リスクに影響を及ぼすかも考慮した。本文書には、2002 年 OP CRA 改訂版の発表以来 EPA が行った活動のいくつか、及び 2002 年の文書とこの更新版との間の主な相違点を強調した簡潔な緒言；累積リスク評価の実施に関連した詳細な技術的問題と手法の要約；食品、飲料水、住宅、及び複数の過程の評価からの暴露とリスクの結果の提示；累積リスク全体の総合的な特性化が含まれている。技術的な手法とアプローチをもっと詳しく記述したのを見たい場合、2002 年 CRA 改訂版を参照すること。

この 2006 年更新版において採用されている方法論は、以前の 2002 年版で提示されたものと同じである。これらの方法は、過去に何回も FIFRA 科学諮問パネル (Scientific Advisory Panel, SAP) により審査され、複数の OP 農薬に対する暴露からのリスクを評価し、また予想される母集団暴露の範囲を評価するための、入念に記録され、透明であり、科学的に支持される方法になった。EPA が適切な方法や信頼できる科学を採用していることを確実なものとするために、EPA は、手引き書や方法、アプローチ、予備解析を合同審査することを FIFRA SAP に依頼した。SAP の審査に加えて、EPA は、これらの累積評価法を開発する際、これらアプローチについてパブリックコメントを求め配慮した。

累積リスク評価は、共通の毒性機作により共通の毒性影響を誘発する、共通機作グループと呼ばれる一群の化学物質の確認から始まる。農薬は、それらが生体内で同じように作用する場合、すなわち、本質的に同じ連続の主要な生化学的事象により、同じ毒性影響が同じ器官又は組織に起こる場合、「共通の毒性機作」を持つと決定される。OP は 1999 年、

EPA によって最初の共通機作グループとして確認された。OP は、中枢神経系（脳）及び末梢神経系の双方において、酵素であるアセチルコリンエステラーゼに結合しリン酸化する能力を共にする。アセチルコリンエステラーゼが阻害されるとアセチルコリンが蓄積し、生体内の事実上あらゆる器官に神経を分布する中枢及び末梢神経系を通して、コリン作用性受容体の連続的な刺激が起こるため、結果としてコリン作用性の毒性が生じる。

いったん共通機作グループが確認されると、そのグループのいかなる化学物質が累積リスクの定量化に含められるべきか決定することが重要である。累積リスク評価に含めるべき特定の OP 農薬を選定する際、EPA はリスク低減の決定と暴露の潜在性を考慮した。EPA は、これら農薬について、関係のある三種の暴露過程：食品、飲料水、及び住宅／非職業を確認した。初めは、これら過程の各々が個別に評価され、この段階の解析を行う際、EPA は、個々の過程において OP のどれを含めるのが適切か決定した。食品中 OP に対する潜在的暴露の累積評価には、米国において現在登録されている、又は輸入トレランスのある OP 農薬が含まれている。飲料水の暴露過程には、潜在的に水域に到達しうる、米国での登録用途（すなわち、屋外使用）を持つ OP 農薬が含まれている。住宅暴露過程の初期の OP 評価では、米国において家庭での使用が登録された 8 種類の OP（アセフェート、ベンスリド、DDVP、ジスルホトン、マラチオン、ナレド、テトラクロルピホス、トリクロルホン）が考えられた。現在の評価では、これら化学物質の最新の、又は最良の入手可能な住宅使用形態を反映している。

OP 農薬に係る潜在的なヒトへのリスクを定量的に評価する際に関係するステップは多い。複雑な一連の評価には、有害性及び用量－反応分析；食品、飲料水、住宅／非職業、及び累積暴露の評価；リスクの特性化が含まれる。これらのステップは、OPP の累積手引き（2002 年）及び OP 累積リスク評価 2002 年改訂版に、より十分に記述されている。これら要素の各々に対する手法とその結果を以下に簡潔に説明する。

- 各々の OP の毒性効力を標準化するために参照点として用いる指標化学物質の選択、各々の OP の相対的な毒性寄与の決定、及びそのグループの潜在的なリスクを推定するための数値の確立
- 種間種内外挿と変動性の評価、及び幼児と子供に対する感受性の考察
- 現実的な姿での、また暴露群の位置や時間、人口学的特性の違いによる変動性を反

映した形での、関係するすべての暴露過程（すなわち、食品、飲料水、住宅）に係る
リスクの推定

- リスクに対する重要な寄与因子の確認
- 結果の信頼性、及び評価において直面した不確実性の特性化

有害性及び用量－反応評価

EPA は、OP への暴露に関係した累積リスクを決定するために、相対効力係数（RPF）法を採用した。簡単に言えば、RPF 法では OP 農薬の毒性を比較するために、参照点として指標化学物質を用いる。相対効力係数（RPF）は、ある化学物質の毒性効力の、指標化学物質の毒性効力に対する比として計算される。RPF は、そのグループ内のすべての化学物質の暴露を、指標化学物質の暴露等量に変換するために用いられる。EPA は、各々の OP 農薬について毒性効力を標準化し、相対効力係数を計算するために、すべての暴露経路について用量－反応データの質が高いことから、指標化学物質としてメタミドホスを選定した。OP の毒性効力は、21 日以上の暴露後に測定した雌ラットの脳コリンエステラーゼ阻害を用いて決定された。OP に約 3～4 週間暴露後は、OP 暴露を継続してもコリンエステラーゼ阻害はもはや増加しない。ある用量でコリンエステラーゼ阻害がかなり一定になるこの点は定常状態と呼ばれる。EPA は、OP の予備的な CRA（累積リスク評価）において、定常状態にて推定したときは、効力の推定値に信頼性があり再現性のあることを示した。脳コリンエステラーゼ阻害は毒性機作の直接的な尺度であり、このため、末梢神経系におけるコリンエステラーゼ阻害の代用とされる血液測定によるコリンエステラーゼ阻害に伴う不確実性がなくなる。さらに、予備的な評価において、脳のデータから導かれた相対毒性効力は、一般的に赤血球のデータから導かれたものと類似していることが示され、変動性が小さく、不確実性も小さいことが分かった。

EPA は、経口経路の相対効力を推定し、また指標化学物質であるメタミドホスについて経口、経皮、吸入経路の起点（PoD）を求めるため、10%の脳コリンエステラーゼ阻害（雌）を生じると推定されるレベルのベンチマークドース推定値（すなわち、 BMD_{10} ）を導くために指数関数的な用量－反応モデルを採用した。PoD とは、ヒト母集団に予想される暴露レベルに関係したリスクが外挿される、指標化学物質の用量－反応曲線上の点推定値である。EPA は、暴露推定値と PoD 値を比較して、暴露マージン（MOE）を計算し、ヒトに

対する起こり得るリスクを推定する。

幼児と子供を保護するための適切な FQPA の安全係数 10 を割り当てる目的で、食品や飲料水、又は住宅経路から累積リスクへの起こり得る寄与因子と考えられる OP サブセットを確認するために、スクリーニングレベルの手法が採用された。EPA は、このスクリーニングの後、反復投与した幼若及び成熟ラットの脳 ChE 阻害を測定した毒性試験を調べるため、科学文献及び農薬登録データベースを検索した。EPA のより精密な FQPA 安全係数解析については、スクリーニングで選別し、さらに ChE を比較できる反復投与試験データがある 13 種の OP^(注 b) を用いた。その他の OP すべてについては、FQPA 係数 10 がそのまま維持された。FQPA 安全係数の精密解析において、EPA は、年齢に関連した感受性を評価するために、ベンチマークドース法及び／又は幼若、成熟ラットからのデータプロット法を用いた。

(注 b) ジメトエートの分析結果は、ジメトエートのオキソン代謝物であるオメトエートへの直接暴露に適用された。

各々の OP はそれ自身の FQPA 安全係数を割り当てられたため、EPA は各々の OP の RPF に対して直接、FQPA 安全係数の値を数学的に適用した。さらに、EPA はすべての OP に対し、種差及び個人差外挿について標準の係数 10 を採用した。従って、種差及び個人差外挿を説明するため、OP CRA の目標 MOE は 100 となる。

暴露評価

暴露解析の重要な側面は、各々の OP の使用から来る暴露シナリオを作成することである。OP 農薬に対する暴露の重要な三つの経路—食品、飲料水、住宅・他の非職業環境—がこの評価に含められた。EPA がこれら三つの経路毎に暴露解析において考慮した要因には、暴露の期間や頻度、季節性が含まれていた。化学物質の使用形態の評価から、化学物質間で重なり合い、同時に起こり、又は変動する暴露シナリオの確認の他、関係母集団の確認も可能になる。

一般大衆が場所的、時間的（季節的）に遭遇すると思われる暴露について、妥当で現実的に即した推定値を算定できるように、有害性データ、暴露データ、及び暴露シナリオのす

べてを組み合わせなければならない。2002年のOP評価改訂版で行われているように、EPAは、様々な経路を統合するために、一方で同時にデータの時間次元を導入しながら、Calendex™^(注c)ソフトウェアを用いた。Calendex™は、暦年を通して個人に対する潜在的な暴露の集中的で詳細なプロファイルを提供する。

(注c) このソフトウェアモデルは以下のサイトから得られる。

<http://www.exponent.com/practices/foodchemical/deem.html> (DEEM/Calendex)

我々は、N-メチルカーバメートの評価では、三つのモデル (DEEM/Calendex, LifeLine, CARES) が暴露を評価するために用いられたが、三つのモデルすべてが同じような結果を出したことに注目している。

住宅使用を経由した、また飲料水による暴露は、地域的な基盤に立って累積暴露評価に組み入れられた。EPAは、飲料水について7つの潜在的高暴露の地域評価を実施し、これらを、総体的に米国南部の地域を代表する一般的な住宅暴露シナリオと組み合わせた。これらの地域評価は、栽培上の異なる用途を考慮し、全米にわたる気候や土壌状態、害虫負荷の違いを反映することを意図している。これらの一般的な住宅暴露シナリオにおいて代表される暴露は、米国のどの地域においてもこれを超過するとは思われない。食品中のOP残留農薬に対する暴露は、全国を通して均一であると考えられる (すなわち、一年の時期又は地理的な場所による食品暴露の有意な相違がない)。食品暴露が全国的に均一であるという仮定は、食品は全国的に大規模に流通し、食品の消費は地域や季節と独立しているという解釈に基づいている。食品暴露の全国推定値一つは、潜在的な最高暴露を代表する3つの地域における住宅使用と飲料水からの地域特異的な暴露と組み合わせられた。

EPAは、OP CRAの以前の版(2001、2002年)において、暴露期間が一日、及び期間が7~21日の範囲にある経過平均(rolling average)に対応した暴露とリスクを提示した。2006年の更新版では、EPAは、食品については一日と21日経過平均の解析を、飲料水、住宅、複数経路については21日経過平均の解析を提示することを選択した。さらに、リスク特性化の章に詳細に記述されているように、またOPの住宅使用が広範囲に取り消されたため、一日、21日経過平均、又はそれら二つの組み合わせのどれがOPに対する累積リスクを最も良く表しているかを評価する際、食品暴露の大きさと形態は考慮すべき重要な事項となってくる。EPAは、21日経過平均手法がより適切な解析であると結論した。生物学的モニ

タリングの研究結果は、ヒトは常に OP に暴露されていることを示している。21 日経過平均と合わせた定常状態のコリンエステラーゼデータの適用は、共通機作グループに対する累積リスクを評価する時、現実のヒト暴露のより良い近似であると考えられる。さらに、CRA における安全側に立った仮定のため、21 日経過平均の手法は、OP 暴露間で起こりうる残留 ChE 阻害を過小評価するとは予想されず、このため OP に対する累積リスクの妥当な推定値を与える。定常状態のコリンエステラーゼデータと食品中の一日暴露を比較すると、このグループへの暴露からの累積リスクを過大評価するものと考えられる。

一日と 21 日経過平均の手法間の関係性を評価するために、また起こり得る急性ピーク暴露から導かれた OP に対するリスクは過小評価されていないことを保証するために、EPA は、食品評価の最大の寄与因子であると示された一群の OP について感度解析を行った。この解析には、ある集合の OP について急性の脳コリンエステラーゼ阻害データを収集し適切な PoD を決定すること、不確実係数及び外挿係数について安全側に立った（慎重な）仮定をすること、一日暴露から MOE を計算することが含まれていた。全体的にみて、この解析では、急性暴露からの累積リスクは問題でないことを示し、さらに CRA から健康は保護されることを支持した。

表-4.2 は、この評価で検討された農薬と、評価された暴露過程に係る情報をまとめたものである。各々の暴露経路についての手法及び OP 累積リスク評価の結果を以下に詳細に説明する。

食品

OP の累積リスク評価の食品部分は、非常に精密なものであり、全米にわたる暴露分布の妥当な推定値を提供するものと考えられる。食品の暴露推定値は、USDA の農薬データ計画（Pesticide Data Program）から得られる残留モニタリングデータに基づいており、食品医薬品局（FDA）の監視モニタリング計画（Surveillance Monitoring Program）とトータルダイエット研究（Total Diet Study）の情報により（定性的に）補足されている。PDP データは、主な子供向け食品における残留農薬の非常に信頼できる推定値を提供し、直接的又は代替品の使用を通して間接的に、子供の消費量の 90%~95%以上を説明する。これらデータはまた、同一サンプルに共存する OP 農薬の直接的な尺度になり、その計画で監視され

る食品中の共存に係る不確実性の多くを低減する。残留を検出できない PDP サンプルは、この評価では「ゼロ」値として扱われ、またコンポジットサンプルからの残留データのみがこの評価で用いられた。以前の解析では、これら手法のいずれも OP の高パーセンタイル（すなわち、規制上最も重要なパーセンタイル）における暴露を過小評価していないことが決定された。PDP で監視されていない食品については、PDP で測定されている類似の食品が代替のデータ源になった。この手法は、栽培方法や病害虫が類似する同族の食品は類似の農薬使用形態や残留レベルを持つという考え方に基づく場合、正当であり、一般的に信頼できると考えられる。

この評価の食品部分の信頼性はまた、USDA の個人食品摂取量継続調査（Continuing Survey of Food Intakes by Individuals, CSFII）、1994-1996/1998 年から得られる食品消費データの利用により支持される。CSFII では非連続な二日間にわたって二万人を超える個人を調査したが、あらゆる年齢集団、一年のあらゆる時期、50 州すべてにわたる、米国の一般の人々の食品消費形態を詳細に表している。このため、EPA は、食品のリスク推定値の分布はよく予測されており、米国民に対するリスクを正しく反映しているという自信を持っている。次の年齢集団が解析された：乳幼児（<1 歳の子供）；1 歳と 2 歳（1~<3 歳）；3~5 歳（3~<6 歳）；20~49 歳（20~<50 歳）；50 歳以上。これらの年齢集団は、潜在的な暴露を広く表しており、単一化学物質の評価において通常最も暴露が高いと示される年齢集団を含むため、選択された。

OPP は、食品経由の暴露評価において、食用作物への OP 農薬のいくつかの施用が、一般的に食品リスク評価の結果に大きな役割を果たすと結論している。これらには、インゲン豆、スイカ、トマトへのメタミドホス/アセフェートの施用；ジャガイモへのホレートの施用が含まれる。しかし、食品中 OP への暴露から起こる全リスクの評価から、OP に対する暴露からの累積 MOE は 21 日経過平均期間に関して懸念を生じないことが示された。特に、21 日経過平均手法からの MOE は、暴露の最も高いサブグループ（3~5 歳の子供）の 99 から、13~19 歳の若者の 300 までの範囲にある。これらの MOE は、入手可能なあらゆる PDP データ（すなわち、1994~2004 年）に基づいている。1~2 歳と 3~5 歳の子供を対象に、ごく最近の PDP データ（2000~2004 年）のみを用いて MOE を算出すると、それぞれ 111 と 103 に増大する。ごく最近の PDP データのみの使用は、現在の暴露レベルをよ

りよく反映していると考えられ、また食品中の農薬のごく最近の残留データのみを用いると、リスクはEPAの懸念レベル以下になるという確かさが加わる。

リスクを過大評価する傾向にあると考えられる21日定常状態コリンエステラーゼデータから導かれたRPF及びPoDと比較する際に、一日暴露を考慮したときでさえも、一日解析において暴露が最も高い年齢集団である1～2歳の子供については、MOEは99.3パーセンタイル暴露で目標MOEの100に達するということがOPPは注目している。前に議論したように、EPAはまた感度解析を実施して、一日と21日経過平均の手法間の関係性を評価し、起こり得る急性のピーク暴露から導かれたOPに対するリスクは過小評価されていないことを保証した。この安全側に立った急性解析の下では、暴露が最も高い年齢集団のMOEは、99.69パーセンタイルにおいて100に到達した。

飲料水

飲料水の評価では、OPの全使用量と飲料水源の汚染されやすさの結果として、全米にわたる7つの各々の地域内でOPの複合暴露が最も高いと思われる区域に焦点を置いている。この解析は、単発の高値を推定するのではなく、全範囲のデータを考慮する確率論的モデルに基づいている。個人に対する飲料水暴露は、地域及び原水に特異的な基盤に立って（すなわち、地下水及び表層水、地域ごとに）、累積暴露評価に導入される。地域的な飲料水の暴露評価は、OPの典型的な使用から生じる汚染されやすい飲料水源からの暴露を表すように、また作付けやOPの使用における地域的な相違の他、季節的な変動を反映するように意図されている。各々の地域評価では、相対効力のため調整されたOPの全使用量と、飲料水源の汚染されやすさの結果として、OPの複合暴露がその地域内で最も高いと思われる区域に焦点を置いている。地下水については、浸透性の高い土壌や通気帯にある私有の浅い井戸が最も汚染されやすいと予想される。表層水については、主に農業水域にある小さな飲料水用貯水池が最も汚染されやすいと思われる。

飲料水中に共存する残留OPは、主にモデルによって推定される。モニタリングデータは確実に入手可能であるとは限らず、評価のための唯一のものではない。しかし、モニタリングデータは、モデルの結果を確証するために利用され、また潜在的に汚染されやすい飲料水源の立地を確認するのに役立ってきた。特に、モデルによる推定値は、2002年の

OP CRA の入手可能な飲料水モニタリングデータとも比較され、一部の OP 農薬個々の推定濃度は報告された検出値より低かったものの、ほとんどはモニタリング試験で見られた値と同じオーダーであるか高かった。その後のリスク管理措置（取り消しや使用量の減少など）により、ほとんどの地域において累積 OP 濃度は低くなった。

OP 農薬の運命や輸送に係る性質、入手可能なモニタリングデータ、個々の化学物質の評価から、残留 OP は飲料水源の地下水においては、確実に測定できる濃度で存在するとは予想されないことがわかる。飲料水源の表層水については、残留 OP は、施用後の多量の表面流出（runoff）の期間中に 1 ppb ($\mu\text{g/L}$) ないしそれよりやや低いレベルに達すると予想される。これらのピーク濃度の期間は、一般に短期間（日から週単位）である。

この飲料水の暴露評価に基づくと、飲料水からの累積 OP 暴露は一般に懸念されるレベル以下であると予想され、複数の経路の累積暴露に実質的に寄与しないと思われるレベルにある。可能性のある例外の一つは地域 A（フロリダ州）であり、そこでは、サトウキビへの使用から生じた全残留ホレート（親化合物＋スルホキシド・スルホン変化物）のピーク濃度推定値が、1～2 歳の子供について短期間（16 日）、99.9 パーセントイル暴露において MOE が 80 近くになった。しかしながら、飲料水中残留ホレートの実際の暴露は、この文書の章 I.E に詳細に述べられている様々な理由により実質的にもっと低いと予想される。EPA は、実際の飲料水中濃度が懸念されるものではないことを確認するために、飲料水モニタリングを行うことを求めている。

住宅

家庭や学校、事務所、他の公共区域内やその周辺において OP 農薬を施用すると、経口（子供による指をなめる行動のため）、経皮、吸入経路を通して暴露を生じる可能性がある。現在住宅での使用が登録されている OP 農薬は 8 種類あり、これらは住宅／非職業暴露経路の評価において、OP 2006 年更新版の一部とみなされる。これら農薬は、芝生用、家庭園芸用、広域公衆衛生用、屋内用（エアロゾルスプレーや殺虫プレート）、ペット用に登録されている。農薬はどのようにして使用されるか、残留農薬はどのような速さで消失するか、人々はどのようにして農薬と接触するか（経皮又は吸入暴露等）、ある種の活動（散布された芝生上での遊び等）を通して人々はどれくらいの時間暴露されるか等を明らかにす

るために、いくつかの信頼できるデータ源が利用された。飲料水の評価と同じように、住宅暴露の評価では、地域的な違いの他、季節的な施用やタイミングを考慮する。OPP は、地域的な違いのある場合、OP の住宅用途すべてを含む一つの一般的な地域解析法を開発した。この「混成 (composite)」地域 (地域 X と呼ぶ) は、OP の住宅用途すべてのワーストケースでの組み合わせをつくり、扱う家庭の割合や施用頻度に関して最悪の仮定を用いている。従って、この更新版では安全側に立ったリスク評価を提示しており、暴露量は米国のどの一地域で見られるよりも高いものと予想される。

住宅リスク評価の結果は、DDVP を含有する殺虫プレートの例外はあるものの、住宅環境での OP の使用は、OP 農薬の累積リスクに対し、ごく小さな寄与しか予想されないことを示している。しかし、最近 DDVP 登録の改訂が申請され、認可されたことから、暴露推定量及び関連するリスクが十分に減少し、累積リスクに対する DDVP の寄与がかなり低下することが予想される。その結果、これら殺虫プレートに係るリスクは、ここの解析で発生したものの、今では OPP の懸念レベル以下であると考えられる。

複合経路 (累積) 評価

EPA はまた、同時に考慮した三つの経路すべて (食品+飲料水+住宅) についての全 MOE を評価した。複数の農薬の同時暴露を取り扱い、またデフォルト仮定や点推定値ではなく、調査やモニタリング試験のデータからの分布入力値を使用するときは、暴露の評価はかなり複雑になる。この OP 累積評価の詳細な出力値から、リスクの懸念を推定し、また暴露源を明らかにするための、データセットの相互作用の深い解析が可能になる。この作業から、各々のパラメータの値を全範囲で表すことができ、完全なリスク像を理解する能力が向上する。三つの暴露経路 (体外) 及びそれらに関連した経路 (体内) すべての同時評価に基づくと、99.9 パーセンタイルの MOE は、Calendex からの 21 日平均値について、すべての母集団に対し、約 100 かそれ以上である。唯一の例外は、サトウキビへのホレー
トの使用から起こる飲料水暴露が 1~2 歳の子供に対し MOE が 80 近くになる短期間 (約 2 週間) である。しかし、飲料水暴露経路の前記の章及び本文でより詳細に述べる理由により、飲料水を通しての実際の暴露はこの地域ではもっと低いと予想される。EPA は、実際の飲料水濃度は懸念されるものではないことを確認するために、飲料水モニタリングが実施されるべきことを要求している。一般的に、食品経由の暴露は MOE 全体において優位

を占め、一方、飲料水経由の暴露は一年のほとんどを通じて十分に小さい。住宅からの暴露については、この経路の優位を占めるのは DDVP の吸入暴露であるが、食品と飲料水の双方を経由する暴露より十分に小さい(あらゆるシナリオについて MOE が 150 を超える)。

オキシソンの生成

EPA は、多数の OP 農薬が環境中でオキシソンに変わりうることを認識している。またデータは限られているが、オキシソンは親化合物の OP より毒性が強い可能性のあることが示唆される。食品からの暴露推定に関しては、PDP は、OP 農薬の多くのオキシソン代謝物について試験を実施している。これらオキシソンの大多数は、採取された食品中には検出可能な量で見出されなかった。PDP サンプルに検出可能な量で一貫して見出された一つのオキシソン、すなわち、ジメトエートのオキシソンであるオメトエートについて、その化学物質に特有な毒性データが評価の中に織り込まれた。その他すべての残留 OP オキシソンの寄与量は、全体の食品暴露量に対して意味をなさない量である。

入手可能な研究データから、標準的な飲料水処理の結果として、10 種の OP が安定なオキシソンを形成する可能性が確認されている。また限られてはいるが、住宅で使用される 3 種類の OP 農薬もまたオキシソンに分解することを示す情報がある。これらの変換が OP CRA に及ぼす影響を評価するために、OPP は、本文書に記述されているような多数の感度解析を実施した。OPP は、住宅及び飲料水を経由したオキシソン暴露について実施した感度解析に基づいて、オキシソン生成の可能性はこの評価で提示されたリスク推定値を実質的に変えるものではないと結論している。EPA は、メチダチオンの推定値をさらに精密なものとするために、メチダチオンオキシソンの毒性データを求めるつもりである。EPA は、このオキシソンの特性化に対して感度解析で適用した仮定は安全側に立っており、また実際の暴露は推定したものより小さいと予想されることを確信しているが、この可能性につき定量的な決定を下し、我々のベースラインとなる評価の中に織り込むにはデータは不十分である。

結論

EPA は、OP のための高度に改良され複雑な累積リスク評価を開発した。このリスク評価は現存の有害性と暴露のデータ、使用モデルと手法に係る科学の現状を表している。この OP CRA 更新版に提示されたリスク推定値をどう解釈するかは、有害性と暴露に係る膨

大なる量のデータの合成と加工にかかっており、リスクの推定値や結果を独立して解釈するために評価の中の一つの値だけを採用してはならない。EPA は、この評価によって実証されたように、我々の食品供給の全体にわたる安全性に依然自信を持っており、果物や野菜に富んだ多種類の食事を摂る重要性を強調している。EPA は、単一化学物質の総合リスク評価を通して、過去数年間にわたり、多くの OP について広範なリスク低減やリスク低下措置を取ってきた。大部分はこれらの努力によって、OP の食品や飲料水、住宅暴露による累積リスクは、目標 MOE の 100 かそれ以上であり、このため EPA の懸念レベルを超えていない。

個々の化学物質に係る決定について、害がないという知見を正当で確かなものとする際、EPA は、消費者の個人を識別できるメジャーなサブグループすべてに対し保護が保証されるのはどのような母集団のパーセンタイルであるのか、又はどのような範囲のパーセンタイルであるのかについて詳細に考慮した。EPA は、急性リスクを推定する際、一般にある範囲の異なるパーセンタイルの母集団暴露を行ってきたが、その場合は主に暴露評価の入力値を安全側にするという事に頼っていた。残留農薬の非常に安全側に立った推定値に頼る暴露評価においては、一般に EPA は、95 パーセンタイルの母集団の暴露推算値に基づいて安全性を決定してきた。非常に精緻な暴露評価においては、EPA は安全性を評価する際、出発点として 99.9 パーセンタイルを採用した〔OPP, US EPA, 規制に関係した閾値として食事経由の急性暴露のパーセンタイル選択について (2000 年 3 月 16 日)〕。そのような母集団パーセンタイルに依存した方法でも、ある割合の母集団が保護を保証されないという EPA の結論となる例はなく、むしろ、母集団パーセンタイルを参照することは、個人を識別できるメジャーなサブグループの実際の暴露を正しく特性化し、又は少なくとも過小評価しないための手段である。

EPA は、OP の累積リスク評価に関して、3 つの母集団パーセンタイル、すなわち 95、99、99.9 パーセンタイルに基づいた MOE を推定した。累積評価に固有な特性があるかどうかの問題は別にして、一つの母集団パーセンタイルの選択につながる個別農薬の総合評価と比較して、EPA は、OP 累積評価を行うために採用される入力値やモデルのほとんどが非常に精密なリスク評価と一致していることから、主に 99.9 パーセンタイルの暴露に注意を注いだ。それにもかかわらず、精密な確率論的評価のために出発点として 99.9 パーセ

ンタイルを採用するという EPA の方針の勧告は、その方法が組み込まれている現行の評価の一部しか適用可能でなく、いくつかの例では飲料水中の残留濃度は概算値となっている。安全性の決定を下す際に母集団に基づいた暴露パーセンタイルを採用するという方針に立って、EPA は、以下の 2 つの要素を考慮に入れながらそのパーセンタイルの適切性を評価した。

- (1) EPA が暴露の推定において持つ確信の程度、及び、そのような推定が安全側に立った仮定を導入し、典型的でなく非現実的なデータに頼るため、起こり得る暴露を誇張する（又は、控えめに表す）可能性のある程度
- (2) 有害性評価の決定に織り込まれた人々の健康保護の程度

算出 MOE が目標 MOE の 100 を下回る母集団は二つあり、それは全国レベルの 3～5 歳の子供（MOE 99）、及びフロリダ州南部の 1～2 歳、3～5 歳の子供（MOE 61）である。OP CRA に係る安全性を決定する際に基になる適切なパーセンタイルを決めるに当たって、EPA が考慮した要素について以下に議論する。

暴露の推定における確信の程度

前に詳述したように、暴露の最大量を占める経路である食品部分が、ごくわずかな食品を除いて、すべての食品について食品中残留モニタリングデータに依存しているという意味で、この評価の大部分は非常に精緻なものとなっている。それにもかかわらず、全国レベルの子供とフロリダ州南部の子供の双方に関して、考慮すべき重要ないくつかの慎重な考え方があつた。第一に、暴露評価をより慎重にする傾向にある一つの一般的要因がリスク評価の中にあるということ。すなわち、食品による 21 日間の暴露を推定するのに、たった 2 日間の食品摂取量の報告値をモデルで使用していることである。実際には、各人は当該暴露期間中はどの日も、報告された二種類の食事のうちどちらか一方を食べるという暴露を仮定している。これは、報告された食事のうちただ一つだけを各人が取るという、我々の典型的な一日急性総合評価 (single-day acute aggregate assessments) と対照をなす。OP CRA で報告されたある人についての 2 日間の 1 日あるいは両方の日の食品摂取量で摂取した場合で、その食事にリスクの高い OP と関係ある大量の食品が含まれているという程度まで、その人が暴露分布の上端近くに位置する可能性が高くなるであろう。そのような推定は、実際の人のほとんど毎日の食事にリスクの高い OP 関連食品が大量に含まれる場合には、

その人のリスクを正しく特性化するであろう。我々の集合的な経験と常識に基づいて、EPA は、そのような食事形態は大部分の消費者にはありそうにないことであり、高値側末端の暴露パーセントイルの暴露を過大評価する傾向にあると考えている。ほとんどの人々では食事がもっと多様である。現実的な程度に、そのような人々はもっと低い OP の累積暴露を受け、真のリスクはこの評価の定量的計算で提示されたものよりも低いと考えられる。

第二に、フロリダ州の子供のサブグループについては、このサブグループの MOE が低くなるのは、一年の約 16 日間だけ突出している飲料水中の残留値によるということ。飲料水中の残留値が暴露をかなり過大に見積もる結果になっていると確信できる理由はいくつかある。第一に、これらの残留物は、主にサトウキビへのホレートの使用から生じるが、変換物であるホレートスルホキシドとスルホン含有し、それらのすべては半減期が比較的短く、このため、水保持層や排水路から飲料水に使用される表層水系へ移動する際に分解する。第二に、これら残留物を含有する水が飲料水目的で使用される大量の水と混合する際に、推定濃度の希釈が起こる可能性がある。第三に、濃度の決定に使用されたモデルへの入力値が、あらゆるホレートが同じ日にサトウキビに施用されるという、起こりそうもない仮定を用いていることである。第四に、実験室の試験から、ホレート及びその置換物のスルホンとスルホキシドは飲料水の処理プラントにおける塩素化の間に急速に（24 時間以内に）分解することが示されていることである。最後に、飲料水経由の潜在的な暴露を推定するための方法を述べた特性化の章において議論するように、これらの推定値を生じる手法全体において、暴露の過小評価を防ぐように意図した多数の慎重な仮定を導入しているということである。総括すると、これらの仮定は、フロリダ州南部のシナリオの一部と確認される 16 日間の飲料水消費から起こるリスク全体に対する寄与に意味があるように誇張している可能性が非常に高い。

有害性評価における公衆衛生（人々の健康）保護の程度

累積有害性評価には過剰保護の主な原因が二つある。EPA は、RPF と PoD を求めるための反応レベルとして、脳 ChE の 10%阻害を採用することを選択した。10%反応レベルは、成熟又は幼若動物において、このレベル以下では機能又は行動への影響が認められなかったという事実から、健康を保護するものである。従って、10%反応レベルは、機能又は行動に現れる神経毒性が予想されない点となる。第二に、急性毒性試験から導かれた BMD

は、ほとんどの OP について定常状態暴露のものより 2~10 倍高いため、食品リスク評価では、RPF を計算するために 21 日定常状態 BMD を用いると、一日暴露を評価する時には過度に安全側に立つことになる。

さらに、EPA は、99.9 パーセンタイルにおける MOE の計算が重要であることを決める際、99.9 パーセンタイルよりわずかに低い値において MOE を考察することが適切であると考えている。安全な用量を推定する際に 10 倍の安全係数を使用するのと同じように、安全な暴露量を評価する際に 95 と 99.9 パーセンタイルを使用することは、経験的なデータを基にした詳細な数学的計算から生まれた方法ではない。というよりむしろ、95 と 99.9 パーセンタイルは、10 倍の安全係数とちょうど同じように、複合暴露や一連の毒性データを用いて長年作業した経験に基づく経験則である。この起源に鑑み、EPA は、99.9 パーセンタイルを不変で正確な基準として取り扱うことに慎重であり、99.9 パーセンタイルにおいて目標 MOE である 100 を下回るサブグループは、推定暴露分布の何パーセンタイルにおいて容認できる MOE に到達するかを考慮する価値があると考えている。ここで問題になっている二つの母集団、すなわち 3~5 歳の全国の子供、及び 1~5 歳のフロリダ州の子供については、それぞれ 99.89 パーセンタイル以上、及び 99.5 と 99.75 パーセンタイルの間で目標 MOE に達する。

EPA は、これら要因のすべてを考慮に入れて、母集団の中で個人を識別できるメジャーなサブグループすべてに対し、OP の累積暴露による害はないという正当な確かさがあることを見出した。ほとんどすべてのサブグループが、99.9 パーセンタイル暴露で目標 MOE 100 に等しいか、それを超える。3~5 歳の子供については、たとえ 99 の MOE がリスク評価の目的からは 100 と異なっても、リスク懸念を示すと考えられない。暴露評価及び RPF の計算における安全側に立った考え方が、どの理論的な懸念をも相殺する。フロリダ州の子供のサブグループの MOE は、目標 MOE と単純に区別がつかないとして捨てることはできない。一方で、暴露と毒性の評価における一般的な安全側の考え方がこのグループにも当てはまるだけでなく、最も重要なことは、このグループのリスク計算を動かすものは、飲料水中残留物の非常に安全側に立った推定値であることである。母集団のパーセンタイルを選択する EPA の方針では、非常に精密な残留推定値を取り扱う場合（精密な推定値と粗い推定値の両方を含むような状況ではない）は、出発点として 99.9 パーセンタイ

ルの採用のみを推奨した。このようにして、EPA は、これらグループの双方とも、OP への累積暴露からの害はないという正当な確かさがあることを見出した。

以上の決定に鑑み、EPA は、OP CRA の結果は FQPA が要求するように、害はないという知見の正当な確かさを支持すると結論し、OP 残留値の再評価を完了した。

表-4.2 OPCRA の 2006 年更新版において考慮された OP 農薬

農薬	食品	飲料水	住宅
Acephate	X	X	X
Azinphos- methyl (AZM)	X	X	
Bensulide		X	X
Cadusafos			
Chlorethoxyphos	X	X	
Chlorfenvinphos			
Chlorpyrifos	X	X	
Chlorpyrifos-methyl	X		
Chlorthiophos			
Coumaphos			
DDVP	X	X	X
Dialifor			
Diazinon	X	X	
Dicrotophos		X	
Dimethoate	X	X	
Dioxathion			
Disulfoton	X	X	X
Ethion			
Ethoprop	X	X	
Ethyl Parathion			
Fenamiphos			
Fenitrothion			
Fenthion			
Fonofos			
Fosthiazate	X		
Isazophos			
Isofenphos			
Malathion	X	X	X
Methamidophos	X	X	
Methidathion	X	X	
Methyl Parathion	X	X	
Mevinphos	X		
Monocrotophos			

Naled		X	X
Oxydemeton-methyl (ODM)	X	X	
Phorate	X	X	
Phosalone	X		
Phosmet	X	X	
Phosphamidon			
Phostebupirim		X	
Pirimiphos-methyl	X		
Profenofos	X	X	
Propetamphos			
Sulfotepp			
Sulprofos			
Temephos			
Terbufos	X	X	
Tetrachlorvinphos	X		X
Tribufos (def)	X	X	
Trichlorfon			X

4.3.2 デンマークの食品中に検出される残留農薬のリスク評価への適用

デンマークでは、動物食品局が発表した「食品中の農薬の複合作用」（2002年7月）（Reffstrup 2002⁵⁵）において、デンマークで市販されている作物に検出された複数農薬10例について、リスク評価を試みている。次にその内容を示す。

1) 農薬の化学構造及び分類

プロジェクトにおいて、農薬の活性成分（有効成分）は化学構造及びHayes and Laws (1991)^aの基準に従って分類された（表-4.3）。

表-4.3 農薬の化学分類

Chemical groups 化学分類
カーバメート系殺虫剤 抗コリンエステラーゼ カーバメート及びプロカーバメート
有機リン系農薬, アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 カテゴリーIVのジメトキン化合物 カテゴリーIVのジエトキン化合物 カテゴリーIVの混合置換化合物
有機塩素系殺虫剤 DDT及びその類似物 DDTの代謝物 ベンゼンヘキサクロリド (BHC) 及びリンダン サイクロディエン及び関連化合物
植物又は生物由来の農薬 (Pesticides derived from plants and other organisms) 除虫菊及び関連化合物
除草剤 有機リン系除草剤 グリホサートの代謝物 カーバメート系除草剤
殺菌剤及び関連化合物 クロロアルキルチオ殺菌剤 Chloroalkyl thio fungicides 他の芳香族炭化水素類 Other aromatic hydrocarbons アニリノ及びニトロベンゾイド殺菌剤 Anilino and nitrobenzenoid fungicides ベンズイミダゾール Benzimidazole フェニルアミド (アシルアラニン型) Phenylamide (acylalanine type) ジカルボキシイミド Dicarboximide アゾール系殺菌剤 Azole fungicides その他の殺菌剤 Fungicides not otherwise classified
植物成長調整剤 Plant growth regulators 第四級アンモニウム化合物 Quaternary ammonium compounds
その他農薬 Miscellaneous pesticides 合成殺ダニ剤 Synthetic acaricides
フェノール類=代謝物 Phenols = metabolites

化学分類の名称は本報告書⁵⁵で使用している名称であり農薬の構造による分類である。リストはHayes and Laws (1991)^aの方法に基づく。

(注 a) Hayes W Jr., Laws, ER Jr., editors. Handbook of pesticide toxicology. Volume 1-3. Academic Press; 1991.

2) 単一化合物の毒性

農薬の有効成分の毒性データは原文の付表 5 及び 6 に示されている^{注※}。データの出典は主に Joint Meeting of Pesticide Residues (JMPR) であるが、JMPR で評価されていない化合物は他の出版物 (Moriya et al. 1983^{注 b}; The e-Pesticide Manual 1999^{注 c}; IRIS website^{注 d}; National Toxicology Program website^{注 e}; TERA website^{注 f}; International Labour Organization website^{注 g}) から得たデータである。付表 5 では、各農薬について最も重要な毒性試験の情報を掲載している。農薬の毒性影響、作用機作、標的臓器は影響の NOAEL 及び化合物の ADI と共に記載している。付表 6 は部分的に付表 5 を (証拠の重み付けにおいてデータの仕分けと評価が行いやすいように) まとめたものであり、一部はその農薬の吸収、分布、排泄、代謝及び主な代謝物のリストが記載されている。

(注※) 本報告書では別添資料として添付

(注 b) Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, Shirasu Y. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat Res* 1983;116(3/4):185-216.

(注 c) The e-Pesticide Manual, 11. ed., Version 1.1, 1999

(注 d) IRIS Integrated Risk Information System, U.S. EPA website:

www.epa.gov/iriswebp/iris/index.html

(注 e) National Toxicology Program. Chemical Health and Safety Data. Website:

(http://ntp-server.niehs.nih.gov/Main_Pages/Chem-HS.html)

(注 f) Toxicology Excellence For Risk Assessment, TERA, website: www.tera.org

(注 g) International Labour Organization, International Training Centre. International programme on chemical safety. Website: www.itcilo.it/english/actrav/telearn/osh/kemi/alpha2.htm

3) デンマークの食品中に検出される残留農薬のリスク評価

(1) 残留農薬の数が多いサンプル

1つの作物に最も多い数の農薬残留があった、表-4.4 の 5 例 (例 1~5) について、証拠の重み付け手法により次のように考察がなされている。

表-4.4 1つの作物に複数の農薬が検出 (最大数) された 5 例

作物 (産地) 摂取量	化合物 (農薬)	残留 濃度 (mg/kg)	暴露 = (残留濃度 × 摂取 量) / (体重) (mg/kg bw/day)		ADI (mg/kg bw)	有害性 指標(HI) 大人	有害性 指標(HI) 子ども
			大人	子ども			
1. オレンジ (スペイン産) 15g/person/day (マンダリン / クレメン ティンを含む)	Chlorpyrifos	0.04	10^{-5}	2×10^{-5}	0.01	9.7×10^{-2}	0.19
	Dicofol	0.14	3.5×10^{-5}	7×10^{-5}	0.002		
	Imazalil	3.8	9.5×10^{-4}	1.9×10^{-3}	0.03		
	Malathion	0.04	10^{-5}	2×10^{-5}	0.3		
	o-phenylphenol	1.5	3.8×10^{-4}	7.5×10^{-4}	0.4		
	Prothiofos	0.018	4.5×10^{-6}	9×10^{-6}	0.0001		
	Tetradifon	0.06	1.5×10^{-5}	3×10^{-5}	0.03		

2. オレンジ (スペイン産) 15 g/person/day (マンダリン / クレメン ティンを含む)	Chlorpyrifos	0.06	1.5×10^{-5}	3×10^{-5}	0.002	3.6×10^{-2}	7.3×10^{-2}
	Diazinon	0.04	10^{-5}	2.0×10^{-5}	0.007		
	Imazalil	2.4	6×10^{-4}	1.2×10^{-3}	0.03		
	Methidathion	0.08	2×10^{-5}	4×10^{-5}	0.4		
	Tetradifon	0.02	5×10^{-6}	10^{-5}	0.03		
	Thiabendazole	2.9	7.3×10^{-4}	1.45×10^{-3}	0.1		
3. オレンジ (スペイン産) 15 g/person/day (マンダリン / クレメン ティンを含む)	Diazinon	0.15	3.8×10^{-5}	7.5×10^{-5}	0.002	3.4×10^{-2}	6.9×10^{-2}
	Fenthion	0.02	5×10^{-6}	10^{-5}	0.007		
	Imazalil	1.2	3×10^{-4}	6×10^{-4}	0.03		
	o-phenylphenol	1.7	4.3×10^{-4}	8.6×10^{-4}	0.4		
	Tetradifon	0.013	3.3×10^{-6}	6.6×10^{-6}	0.03		
	Thiabendazole	1.5	3.8×10^{-4}	7.5×10^{-4}	0.1		
4. グレープフル ーツ (キプロス産) 1 g/person/day	Bromopropylate	0.34	5.7×10^{-6}	1.1×10^{-5}	0.03	1.9×10^{-3}	3.8×10^{-3}
	Carbendazim	0.05	8.3×10^{-7}	1.7×10^{-6}	0.03		
	Imazalil	0.97	1.6×10^{-5}	3.2×10^{-5}	0.03		
	Malathion	0.028	4.7×10^{-7}	9.3×10^{-7}	0.3		
	Phorate	0.015	2.5×10^{-7}	5×10^{-7}	0.0005		
	Thiabendazole	3.9	6.5×10^{-5}	1.3×10^{-4}	0.1		
5. マンダリン、 クレメンティン (スペイン産) 15 g/person/day (オレンジを含む)	Chlorpyrifos	0.02	5×10^{-6}	10^{-5}	0.01	4.5×10^{-2}	9.0×10^{-2}
	Dicofol	0.04	10^{-5}	2×10^{-5}	0.002		
	Imazalil	2.9	7.3×10^{-4}	1.45×10^{-3}	0.03		
	Malathion	0.01	2.5×10^{-6}	5×10^{-6}	0.3		
	Methidathion	0.06	1.5×10^{-5}	3×10^{-5}	0.001		
	Tetradifon	0.02	5×10^{-6}	10^{-5}	0.03		
	Thiabendazole	2.2	2.5×10^{-5}	5×10^{-5}	0.1		

最初の列の下部の数値は各作物についての大人1人あたりの1日平均摂取量を示す。子どもの摂取量は大人の50%としている。農薬の暴露量は実際の作物を摂取したとして算出し、有害性指標（HI）を算出した。大人の体重は60 kg、子ども（1～3歳）は15 kgとした。

【例1】 オレンジ（スペイン産）

● 残留農薬：chlorpyrifos、dicofol、imazalil、malathion、ortho-phenylphenol、prothiofos、tetradifon

● 毒性作用と標的臓器についての共通性：

- ・ dicofol、imazalil、malathion、ortho-phenylphenol、tetradifon は肝臓への影響があるが共通の作用機作はない
- ・ dicofol、malathion、ortho-phenylphenol は肝臓腺腫、dicofol は肝臓がんの要因となる可能性がある
- ・ chlorpyrifos、malathion、prothiofos はアセチルコリンエステラーゼ阻害により神経系に作用する
- ・ dicofol と malathion は甲状腺への影響がある
- ・ いくつかの化合物に類似性があるが、全ての化合物に共通の標的臓器と作用機作はない。化合物は毒性学的に独立しており、有害性指標（HI）がこの混合物のリスク評価に用いられる。

●HI の算出：

デンマークでのオレンジ摂取量が大人（体重 60 kg）15 g/person/day、子ども（体重 15 kg）7.5 g/person/day であるとし、次式に従い7つの農薬全てについての暴露量（E₁～E₇）を算出した後、HI を算出する。

$$\text{Exposure} = (\text{残留濃度 mg/kg} \times \text{摂取量 kg/person/day}) / \text{体重 kg}$$

$$\text{HI} = \frac{E_1}{\text{AL}_1} + \frac{E_2}{\text{AL}_2} + \dots + \frac{E_n}{\text{AL}_n} = \sum_{i=1}^n \frac{E_i}{\text{AL}_i}$$

$$\text{HI} = \frac{10^{-5}}{0.01} + \frac{3.5 \times 10^{-5}}{0.002} + \frac{9.5 \times 10^{-4}}{0.03} + \frac{10^{-5}}{0.3} + \frac{3.8 \times 10^{-4}}{0.4} + \frac{4.5 \times 10^{-6}}{0.0001} + \frac{1.5 \times 10^{-5}}{0.03} \cong 0.097$$

$$\text{HI} = \frac{2 \times 10^{-5}}{0.01} + \frac{7 \times 10^{-5}}{0.002} + \frac{1.9 \times 10^{-3}}{0.03} + \frac{2 \times 10^{-5}}{0.3} + \frac{7.5 \times 10^{-4}}{0.4} + \frac{9 \times 10^{-4}}{0.0001} + \frac{3 \times 10^{-5}}{0.03} \cong 0.19$$

●評価：大人と子どもの HI（それぞれ約 0.097、0.19）は 1 よりも十分小さいため、これらの残留物はリスクの要素とはならないであろうと結論される。

【例 2】 オレンジ（スペイン産）

●残留農薬：chlorpyrifos、diazinon、imazalil、methidathion、tetradifon、thiabendazole

●毒性作用と標的臓器についての共通性：

- ・ imazalil、methidathion、tetradifon、thiabendazole は肝臓に作用する
- ・ tetradifon と thiabendazole は腎臓に影響がある
- ・ chlorpyrifos、diazinon、methidathion はアセチルコリンエステラーゼ阻害により神経系に影響がある

●評価：混合物中の化合物すべてをカバーする作用機作又は標的臓器がないことを意味している。有害性指標（HI）は、例 1 と同じ方法で算出できる。その結果、HI は 1 よりも十分小さく、これらの残留物はおそらくリスクの要素とはならないであろう。

【例 3】 オレンジ（スペイン産）

●残留農薬：diazinon、fenthion、imazalil、ortho-phenylphenol、tetradifon、thiabendazole

●毒性作用と標的臓器についての共通性：

- ・ diazinon、fenthion、imazalil、ortho-phenylphenol は肝臓に作用する
- ・ tetradifon と thiabendazole は脳・赤血球中のアセチルコリンエステラーゼを阻害する

- 評価：混合物中の化合物は毒性学的に独立しており、全ての化合物に共通の標的臓器又は作用機作を持たない。有害性指標（HI）をリスク評価に使用し、その値は1よりも十分に小さいため、これらの残留物がリスクの要素とはならないであろう。

【例4】 グレープフルーツ（キプロス産）

- 残留農薬：bromopropylate、carbendazim、imazalil、malathion、phorate、thiabendazole

- 毒性作用と標的臓器についての共通性：

- ・ bromopropylate、carbendazim、imazalil、thiabendazoleは異なる作用機序で甲状腺に作用し得る
- ・ malathionとthiabendazoleは腎重量に影響し得る
- ・ malathionとphorateはアセチルコリンエステラーゼを阻害する

- 評価：混合物中の化合物全てに共通する作用機作又は標的臓器（肝臓以外）はなく、有害性指標（HI）がリスク評価に用いられるべきである。HIの計算値から、その値は大人でも子どもでも1よりも十分に小さいため、これらの残留物がリスクの要素とはならないであろう。

【例5】 マンダリン、クレメンタイン（スペイン産）

- 残留農薬：chlorpyrifos、dicofol、imazalil、malathion、methidathion、tetradifon、thiabendazole

- 毒性作用と標的臓器についての共通性：

- ・ dicofol、imazalil、malathion、methidathion、tetradifon、thiabendazoleは肝腫瘍を引き起こし得る
- ・ dicofol、malathion、thiabendazoleは異なる作用機序によって甲状腺に作用し得る
- ・ chlorpyrifos、malathion、methidathionはアセチルコリンエステラーゼ阻害により神経系に作用し得る

- 評価：混合物中の化合物は毒性学的に独立しており、HIがリスク評価に用いられるべきである。HIの計算値は1よりも十分に小さいため、これらの残留物がリスクの要素とはならないであろう。

(2) 残留農薬の濃度が高いサンプル

化合物1つずつとして残留濃度が最高濃度である、表-4.5の5例（例6～10）について、

証拠の重み付け手法により次のように考察がなされている。

表-4.5 1つの作物に複数の農薬が検出（最大濃度）された5例

作物 (産地) 摂取量	化合物 (農薬)	残留 濃度 (mg/kg)	暴露 = (残留濃度 × 摂取 量) / (体重) (mg/kg bw/day)		ADI (mg/kg bw)	有害性 指標(HI) 大人	有害性 指標(HI) 子ども
			大人	子ども			
6. タイム (デンマーク産) 0.05 g/person/day	Pirimicarb	5.6	4.7×10^{-6}	9.3×10^{-6}	0.02	2.7×10^{-3}	5.5×10^{-3}
	Vinclozolin	30	3.5×10^{-5}	7×10^{-5}	0.002		
7. ホウレンソウ (デンマーク産) 1.3 g/person/day	Dithiocarbamates	22	4.8×10^{-4}	9.5×10^{-4}	0.003 (ferbam, ziram)	0.16	0.32
	Metalaxyl	1.8	3.9×10^{-5}	7.8×10^{-5}	0.03		
8. マンダリン/ クレメンタイン (スペイン産) 15 g/person/day (オレンジを含む)	Imazalil	0.41	1.0×10^{-4}	2.0×10^{-4}	0.03	1.8×10^{-2}	3.7×10^{-2}
	Thiabendazole	6	1.5×10^{-3}	3×10^{-3}	0.1		
9. クロスグリ (デンマーク産) 0.2 g/person/day	Dithiocarbamates	4.6	1.5×10^{-5}	3.1×10^{-5}	0.003	5.1×10^{-3}	1.0×10^{-2}
	Tolyfluanid	0.96	3.2×10^{-6}	6.4×10^{-6}	0.1		
10. キウイ (イタリア産) 3 g/person/day	Iprodione	0.14	7×10^{-6}	1.4×10^{-5}	0.06	—	—
	Vinclozolin	5.7	2.9×10^{-4}	5.7×10^{-4}	0.01	—	—

最初の列の下部の数値は各作物についての大人1人あたりの1日平均摂取量を示す。子どもの摂取量は大人の50%としている。農薬の暴露量は実際の作物を摂取したとして算出し、有害性指標（HI）を算出した。大人の体重は60 kg、子ども（1~3歳）は15 kgとした。10番の例では、有害性指標（HI）でなく毒性等価係数（TEF）手法をリスク評価に用いている（本文参照）。

【例6】 タイム（デンマーク産）

●残留農薬： pirimicarb、 vinclozolin

●化学分類、毒性作用、標的臓器についての共通性：

- ・ 2化合物は異なる化学分類に属す
- ・ pirimicarb はアセチルコリンエステラーゼ阻害により神経系に作用する
- ・ vinclozolin は肝臓、脾臓、前立腺、精巣、副腎への影響がある

●評価：混合物中の化合物は毒性学的に独立しており、HI がリスク評価に用いられるべきである。HI の計算値は大人でも子どもでも1よりも十分に小さいため、これらの残留物がリスクの要素とはならないことを示している。

【例7】ホウレンソウ（デンマーク産）

- 残留農薬：dithiocarbamates（6化合物として分析される）、metalaxyl
- 化学分類、毒性作用、標的臓器についての共通性：
 - ・化学構造や毒性に共通性はない
 - ・dithiocarbamates は甲状腺への影響、発生毒性がある
 - ・metalaxyl は総白血球数の減少、血清中 ALP の上昇、副腎・肝臓重量の上昇を引き起こす
- 評価：dithiocarbamates の化合物中最も低い ADI（ferbam、ziram の ADI）を用いて HI を算出したところ、HI は大人も子どもも 1 より十分に小さく、残留物がリスクの要素とはならないであろう。

【例8】マンダリン／クレメンタイン（南アフリカ産）

- 残留農薬：imazalil、thiabendazole
- 化学分類、毒性作用、標的臓器についての共通性：
 - ・異なる化学分類に属すが両化合物とも肝臓重量に影響する
 - ・thiabendazole は肝臓でヘモジレリン沈着を引き起こすが imazalil によってどのように影響されるかは明らかでないため、リスク評価には HI 手法を用いる
- 評価：HI は大人も子どもも 1 より十分に小さく、残留物がリスクの要素とはならないであろう。

【例9】クロスグリ（デンマーク産）

- 残留農薬：dithiocarbamates（6化合物として分析される）、tolylfluanid
- 化学分類、毒性作用、標的臓器についての共通性：
 - ・dithiocarbamates は発生毒性（主として催奇形性）がある
 - ・tolylfluanid は母動物毒性及び胎児毒性がある
 - ・残留化合物が毒性学的に類似しているかどうか明らかにするための十分なデータがないため、リスク評価には HI を用いなければならない。
- 評価：dithiocarbamates の化合物中最も低い ADI（ferbam、ziram の ADI）を用いて HI を算出したところ、HI は 1 より十分に小さく、残留物がリスクの要素とはならないであろう。

【例 10】 キウイ（イタリア産）

●残留農薬：dicarboximides（2種類）、iprodione、vinclozolin

●化学分類、毒性作用、標的臓器についての共通性：

- ・両化合物とも肝臓及び副腎への影響がある
- ・iprodione は肝臓の非腫瘍性病変を引き起こし、vinclozolin は肝細胞がんを引き起こすという報告がある
- ・iprodione は副腎に病理組織学的変化を引き起こし、vinclozolin は（副腎に）腫瘍を引き起こす
- ・毒性データから、これらの化合物は毒性学的に類似していることを示しており、毒性等価係数（TEF）手法を用いるために適していると考えられる
- ・毒性データの質は両化合物について同等であり、どちらの化合物を指標化合物として選択するかは重要でない
- ・iprodione と vinclozolin の ADI（それぞれ 0.06 mg/kg、0.01 mg/kg）から、iprodione を指標物質として選ぶと vinclozolin の TEF は 6（0.06/0.01）である。

●TEQ の算出と評価：

$$\text{TEQ} = \sum C_i \times \text{TEF}_i$$

$$= (7 \times 10^{-6} \text{ mg/kg/day}) \times 1 + (2.9 \times 10^{-4} \text{ mg/kg/day}) \times 6 \doteq 1.7 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}$$

この TEQ の値は iprodione の ADI (0.06 mg/kg/day) の約 35 分の 1 であり、残留物がリスクの要素にならないと考えられる。

子どもについては

$$\text{TEQ} = (1.4 \times 10^{-5} \text{ mg/kg/day}) \times 1 + (5.7 \times 10^{-4} \text{ mg/kg/day}) \times 6 \doteq 3.4 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}$$

この TEQ の値は iprodione の ADI (0.06 mg/kg/day) の約 17.5 分の 1 であり、残留物がリスクの要素にならないと考えられる。

4) 結論

デンマークで消費される特定の作物で検出されている残留農薬についての、リスク評価例をこの章で示した。評価はその実際の作物を食したリスクのみを考慮して行い、他の食品目やその他の暴露源からのトータルの暴露は計算していない。そのような評価は非常に興味深い本報告書の目的外である。

影響の減少要因（洗浄、皮むき、乾燥、加熱など）は、情報が少ないため計算上考慮し

ていない。

このリスク評価に用いた各食品目の摂取量データとその食品による暴露データは、非常に不確かである。用いたデータは 1 日摂取量の平均値であり、果物と野菜の摂取量には非常に大きな違いがあることが隠れている。

提示例では農薬残留物が検出されていない作物もあるが、分析の検出下限が十分に低ければ検出されうる。提示例は一種のワーストケースシナリオであり、その農薬の総摂取量の推定に使用された場合は、実際の農薬摂取量に比べ過大評価をもたらすと考えられる。

用いた例は、提案されたリスク評価方法を実際の場合で使用することが妥当であることを示しており、この事例における残留農薬の実濃度がヒトへのリスクの構成要素となることは期待されない。

5. まとめ

農薬の複合影響評価法に関する各国の動向と評価の内容について調査した。また、農薬の複合影響についての文献検索を行い、適切な研究論文を選別し解析した。

5. 1 農薬の複合影響評価法

一般に化学物質混合物のリスク評価法は多数提案されている。しかし、現在のところ、その中で農薬の複合影響評価法として、国際的に合意の得られた標準的な手法はない。現時点での各国におけるレビューでは、共通に評価できる手法を策定するために必要な科学的バックグラウンドの乏しいことが示されている。

現在の各国における検討状況（下記参照）を勘案すると、先ず 迅速なスクリーニング手法として有害性指標（HI）手法が推奨される。累積リスク評価の対象になる農薬が共通の毒性機作をもち共通の毒性影響を示す場合、かつ 質の高い広範なデータベースが入手可能な場合は、毒性等価係数（TEF）法が採用可能であると考えられる。

米国 EPA が 2002 年に発表した「共通の毒性機作を持つ農薬の累積リスク評価に関する手引き」（U.S. EPA 2002⁶⁸）では、相対効力係数（RPF）法を採用している。この場合、リスク評価の対象になる農薬の要件として、「共通の機作により共通の毒性影響を起こす」ことが厳格に規定されており、この確認のためには質の高い広範なデータベースが必要とされることから、EPA の方法は TEF 法と同義と考えられる。実際、EPA は有機リン系農薬について、複雑で精密な累積リスク評価を実施した。

- 欧州食品安全局（EFSA 2006¹⁸）

共通の作用機作を示す化合物の場合と同様に、作用機序が異なる化合物についても、HI 又は起点指標（PODI）の手法を累積リスク評価に適用することができる。TEF の概念は関係する化合物の共通の作用機作に基づいていることから、用量の加算が当てはまる。したがって、TEF 手法は作用機序の異なる化合物の混合物の評価には適用できない。

- 英国（COT 2002¹¹）

複合暴露のリスク評価を実施することが適切であると考えられる場合、デフォルトの仮定は、毒性作用の異なる化学物質は独立して作用し（単純な不同作用）、また毒性作用が同じ化学物質は相加的に作用する（単純な類似作用）とする。後者の状況においては、TEF 法を検討してもよい。特殊な例では、相互作用、特に相乗性の可能性を考慮しなければな

らないかもしれない。そのような場合は、食事摂取量や他のヒト暴露に関係した知見を解釈する上で、適切な用量-反応データが不可欠であろう。

● デンマーク (Reffstrup 2002⁵⁵)

当座は、作物中の農薬混合物の実行可能なリスク評価として、ケースバイケースの評価をすることが最良の提案であり、その場合は、農薬の入手可能な化学的、毒性学的データを証拠の重み付けにより評価する。その際、分母の許容レベルとして許容一日摂取量 (ADI) 又は NOAEL を用い、HI を採用すべきである。しかし、証拠の重み付けの過程で、混合物中の化合物が共通の機作を持つことが指摘された場合 (例えば、有機リン系農薬)、可能であれば、TEF 手法を採用すべきである。

暴露データには地域性 (作物ごとの違いや暴露経路の違い) が含まれるが、適正な農薬単体の毒性データは共通である。したがって、①少なくとも一つのモデルの適用が可能である ②混合物中の単体の毒性データが揃っている ③対象とする作物の残留農薬濃度とその作物の摂取量がわかっている という最小の条件を満たしていれば、デンマークのような試算と評価は我が国の場面にも適用することが可能であろう。ただし、デンマーク報告書では、前置きされているように、残留農薬が検出されたその作物を摂取した場合の評価に限られ、すべての暴露経路を網羅した評価は考慮されていない。評価の結果として、検出例の残留農薬の種類と濃度におけるヒトへのリスクは想定されないという結論が出されている。

精密なリスク評価のためには、従来の決定論的な方法に代えて、確率論的な方法が不可欠であると見なされているが、これには広範囲のデータベースあるいは専門知識と精巧なソフトウェアを必要とする。これらの方法を日常的に実践できるようにするには、データ及び方法論に関する大きな欠点を克服する必要がある。最近の研究は、主として確率論的な方法を適用して総合暴露を推定することに向けられている。農薬へのあらゆる暴露源、及び複数の農薬への同時暴露の解析では、リスク評価に用いられる手法の変更、いくつかのケースでは、確率論的な暴露評価法 (例えば、モンテカルロ法) の採用が求められる。このためには、残留農薬の監視方法の変更が必要になるかもしれない (COT 2002¹¹)。米国 EPA の有機リン系農薬の累積リスク評価 (後記) で採用されている暴露モデルやデータベースを、そのまま我が国の環境に直接移すことは難しいが、精密な複合影響評価の実践

の可否を含め、多大な参考になるものと考えられる。

5. 2 農薬の複合影響の可能性

一般概念

総合的な知見及び各国のリスク評価の事例（下記参照）を考慮すると、我々の実生活において農薬の複合影響が起こり、ヒトの健康に害を及ぼす可能性は小さいものと考えられる。

● 英国（COT 2002¹¹）

食品中の農薬や動物薬、他の化学品残留物への暴露は予期しない毒性を呈することが考えられ、これらについて詳細に検討された。ヒトでは複合残留物への暴露が限られているという証拠があり、そのような暴露は低レベルで起こることが結論された。実験的な状況を除いて、そのような暴露に対する有害な反応は立証されていない。しかし、複合暴露の性質と程度は、あらゆる有害影響の可能性と合わせて、リスク評価を実施する際には評価すべきであると結論された。

農薬、動物薬及び類似物質の混合物に暴露されるヒトの健康リスクを評価するために、LOAEL より少し低い暴露のような毒性影響のないレベルにおいて何が起こるか知ることが不可欠である。一般的に、混合物内の化学物質の暴露レベルが NOAEL の範囲にあり、混合物の成分が異なる毒性作用機序を持つ場合、相加性や相乗性はみられず、「単純な不同作用」の基礎概念が適用され、有害な反応はありそうにないことを示唆する。

いくつかの研究（急性及び亜急性毒性、遺伝毒性、発がん性）では、農薬の混合物の複合影響が取り扱われた。二、三の研究において、個々の化合物の有害影響を示す毒物レベルに暴露された動物に、明らかな相乗作用が観察された。しかし、ずっと低い用量レベルへのこれら知見の直接的な外挿は有効ではない。ヒトが暴露される農薬の用量は、少なくとも食品を通しては、一般的に NOAEL よりずっと低いため、個々の化学物質の（低い）毒性のない用量での農薬混合物の相加性又は相乗性による健康影響の確率は小さいと思われる。

● デンマーク（Reffstrup 2002⁵⁵）

デンマークで消費される特定の作物に検出された残留農薬のリスク評価が 10 例示されている。この評価では、実際の作物を食することによるリスクのみを考慮し、一般の食品

や他の暴露源からの農薬暴露全体を考慮しなかった。リスク評価は、単一化合物の化学構造、毒性（毒性影響、標的器官、作用機序を含む）、代謝、代謝産物に係るデータに基づいている。かかるデータは、デンマークの小売店で入手できる食品（国内で生産され、消費される）に検出された約 80 農薬について提供された。この 10 例では、提唱されたリスク評価法は実際に使用可能であり、事例にある残留農薬の実際のレベルはヒトに対しリスクを引き起こすとは予想されないことが示された。

- 米国（U.S. EPA 2006⁷⁰）

EPA は、現存の有害性と暴露のデータに係る科学の現状、及び利用できるモデルと手法を代表した非常に精密で複雑な有機リン系（OP）農薬の累積リスク評価を行った。この OP 累積リスク評価更新版に提示されたリスク推定値をどう解釈するかは、有害性と暴露に係る膨大な量のデータの合成と加工にかかっており、リスクの推定値や結果を独立して解釈するために評価の中の一つの値だけを採用してはならない。EPA は、この評価によって実証されたように、我々の食品供給の全体にわたる安全性に依然自信を持っており、果物や野菜に富んだ多種類の食事を取る重要性を強調している。EPA は、単一化学物質の総合リスク評価を通して、過去数年間にわたり、多くの OP について広範なリスク低減やリスク低下措置を取ってきた。大部分はこれらの努力によって、OP に対する食品や飲料水、住宅暴露からの累積リスク評価の MOE は、目標 MOE の 100 かそれ以上にあり、このため EPA の懸念レベルを超えていない。

6. 参考文献

- 1 DE-1 Akay MT, Özmen G, Elcüman EA. Effects of combinations of endosulfan, dimethoate and carbaryl on immune and hematological parameters of rats. *Vet Hum Toxicol* 1999;41(5):296-299.
- 2 DE-5, TN-2 Arcaro KF, Vakharia DD, Yang Y, Gierthy JF. Lack of synergy by mixtures of weakly estrogenic hydroxylated polychlorinated biphenyls and pesticides. *Environ Health Perspect* 1998;106(Suppl. 4):1041-1046.
- 3 DE-7 Arnold SF, Vonier PM, Collins BM, Klotz DM, Guillette LJ Jr, McLachlan JA. In vitro synergistic interaction of alligator and human estrogen receptors with combinations of environmental chemicals. *Environ Health Perspect* 1997;105(Suppl 3):615-618.
- 4 DE-9 Aylsworth CF, Trosko JE, Chang CC, Benjamin K, Lockwood E. Synergistic inhibition of metabolic cooperation by oleic acid or 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and dichlorodiphenyltrichlorethane (DDT) in Chinese hamster V79 cells: Implication of a role for protein kinase C in the regulation of gap junctional intercellular communication. *Cell Biol Toxicol* 1989;5:27-37.
- 5 PM-82, TN-43 Bianchi L, Zannoli A, Pizzala R, Stivala LA, Chiesara E.. Genotoxicity assay of five pesticides and their mixtures in *Saccharomyces cerevisiae* D7. *Mutat Res* 1994 Jun;321(4):203-11
- 6 PM-23, TN-11 Birkhoj M, Nellemann C, Jarfelt K, Jacobsen H, Andersen HR, Dalgaard M, Vinggaard AM. The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004 Nov 15;201(1):10-20.
- 7 DE-15, PM-88, TN-48 Boyd CA, Weiler MH, Porter WP. Behavioral and neurochemical changes associated with chronic exposure to low-level concentration of pesticide mixtures. *J Toxicol Environ Health* 1990;30(3):209-21.
- 8 PM-44 Charles GD, Gennings C, Zacharewski TR, Gollapudi BB, Carney EW. Assessment of interactions of diverse ternary mixtures in an estrogen receptor-alpha reporter assay. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002 Apr 1;180(1):11-21.
- 9 DE-20 Chaturvedi AK, Kuntz DJ, Rao NGS. Metabolic aspects of the toxicology of mixtures of parathion, toxaphene and/or 2,4-D in mice. *J Appl Toxicol* 1991;11(4):245-251.
- 10 PM-14 Chauhan LK, Chandra S, Saxena PN, Gupta SK. In vivo cytogenetic effects of a commercially formulated mixture of cypermethrin and quinalphos in mice. *Mutat Res*. 2005 Nov 10;587(1-2):120-5. Epub 2005 Sep 26.
- 11 COT02 COT 2002. Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances, Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment.
- 12 PM-27 de la Rosa P, Barnett J, Schafer R. Loss of pre-B and IgM(+) B cells in the bone marrow after exposure to a mixture of herbicides. *J Toxicol Environ Health A*. 2003 Dec 26;66(24):2299-313.
- 13 PM-19 de la Rosa P, Barnett JB, Schafer R. Characterization of thymic atrophy and the mechanism of thymocyte depletion after *in vivo* exposure to a mixture of herbicides. *J Toxicol Environ Health A* 2005 Jan 22;68(2):81-98
- 14 DE-27 Dolara P, Salvadori M, Capobianco T, Torricelli F. Sister-chromatid exchanges in human lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their

mixture. *Mutat Res* 1992;283(2):113-118.

- 15 ^{TN-46} Dolaro P, Torricelli F, Antonelli N. Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutat Res* 1994 325 (1): 47-51
- 16 ^{ECReg05} EC 2005. REGULATION (EC) No 396/2005 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC (Text with EEA relevance) (OJ L 70, 16.3.2005, p.1)
- 17 ^{EFSA05} EFSA 2005. The European Food Safety Authority (EFSA): Experiences and approaches for the assessment of chemical mixtures in food, by Juliane Kleiner, European Food Safety Authority (EFSA), Palazzo Ducale, 43100, Parma, Italy, presented to: 2nd BfR Forum for Consumer Protection “Multiple Residues in Foods”, November 9-10, 2005, Berlin, Germany
- 18 ^{EFSA06} EFSA 2006. Cumulative Risk Assessment of Pesticides to Human Health: The way forward, Scientific Colloquium Series of the European Food Safety Authority, No.7, 2006
- 19 ^{FAO/WHO} FAO/WHO 1996. Pesticide Residues in Food - 1996. Report Sponsored Jointly by FAO and WHO. (FAO Plant Production and Protection Paper - 140). 2.General considerations, 2.7 Interactions of pesticides (<http://www.fao.org/docrep/W3727E/w3727e00.HTM>)
- 20 ^{PM-86} Flipo D, Bernier J, Girard D, Krzystyniak K, Fournier M. Combined effects of selected insecticides on humoral immune response in mice. *Int J Immunopharmacol* 1992 Jul;14(5):747-52
- 21 ^{FQPA96} FQPA 1996. Food Quality Protection Act of 1996, Public Law 104-170, August 3, 1996 (<http://www.epa.gov/pesticides/regulating/laws/fqpa/gpogate.pdf>)
- 22 ^{DE-39} Gilot-Delhalle J, Coluzzi A, Moutschen J, Moutschen-Dahmen M. Mutagenicity of some organophosphorous compounds at the ade-6 locus of *Schizosaccharomyces pombe*. *Mutat Res* 1983;117:139-148.
- 23 ^{PM-15} Gordon CJ, Herr DW, Gennings C, Graff JE, McMurray M, Stork L, Coffey T, Hamm A, Mack CM. Thermoregulatory response to an organophosphate and carbamate insecticide mixture: testing the assumption of dose-additivity. *Toxicology*. 2006 Jan 5;217(1):1-13. Epub 2005 Oct 21.
- 24 ^{PM-25} Goumenou M, Machera K. Mixture of paraquat and linuron formulations examined for genotoxicity in Wistar rats by the *in vivo* micronucleus test--evaluation by different statistical tests. *J Environ Sci Health B* 2004 Jan;39(1):75-87
- 25 ^{PM-46} Hazarika A, Sarkar SN. Effect of isoproteron pretreatment on the biochemical toxicodynamics of anilofos in male rats. *Toxicology*. 2001 Aug 28;165(2-3):87-95.
- 26 ^{PM-39} He F, Chen S, Tang X, Gan W, Tao B, Wen B. Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. *Toxicol Lett*. 2002 Aug 5;134(1-3):119-24.
- 27 ^{PM-74, TN-42} Ito N, Hagiwara A, Tamano S, Hasegawa R, Imaida K, Hirose M, Shirai T. Lack of carcinogenicity of pesticide mixtures administered in the diet at acceptable daily intake (ADI) dose levels in rats. *Toxicol Lett* 1995b Dec;82-83:513-20
- 28 ^{PM-78} Ito N, Hasegawa R, Imaida K, Kurata Y, Hagiwara A, Shirai T. Effect of ingestion of 20 pesticides in combination at acceptable daily intake levels on rat liver carcinogenesis. *Food Chem Toxicol* 1995a Feb;33(2):159-63

- 29 ^{DE-57} Iyaniwura TT. An *in vitro* evaluation of the potential toxicities and interactions of carbamate pesticides. *Toxicol In Vitro* 1989;3(2):91-93.
- 31 ^{PM-52} Kakko I, Toimela T, Tähti H. Piperonyl butoxide potentiates the synaptosome ATPase inhibiting effect of pyrethrin. *Chemosphere*. 2000 Feb;40(3):301-5.
- 32 ^{TN-15} Kok FN, Hasirci V. Determination of binary pesticide mixtures by an acetylcholinesterase-choline oxidase biosensor. *Biosens Bioelectron* 2004, Feb 15; 19(7):661-5
- 33 ^{DE-97} Krechniak J, Englot B, Wrzesniowska K, Hac E. Interaction of lindane and carbaryl on hepatic microsomal enzymes in rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 1994;52:927-934.
- 34 ^{DE-100} Kuntz DJ, Rao NGS, Berg IE, Khattree R, Chaturvedi AK. Toxicity of mixtures of parathion, toxaphene and/or 2,4-D in mice. *J Appl Toxicol* 1990;10(4):257-266.
- 35 ^{PM-50} Lander BF, Knudsen LE, Gamborg MO, Jarventaus H, Norppa H. Chromosome aberrations in pesticide-exposed greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health* 2000 Oct;26(5):436-42.
- 36 ^{PM-77} Lander F, Ronne M. Frequency of sister chromatid exchange and hematological effects in pesticide-exposed greenhouse sprayers. *Scand J Work Environ Health* 1995 Aug;21(4):283-8
- 37 ^{KPM-22} Latuszynska J, Luty S, Raszewski G, Przebirowska D, Tokarska-Rodak M. Neurotoxic effect of dermally applied chlorpyrifos and cypermethrin. Reversibility of changes. *Ann Agric Environ Med*. 2003;10(2):197-201.
- 38 ^{KPM-22R} Latuszynska J, Luty S, Raszewski G, Tokarska-Rodak M, Przebirowska D, Przylepa E, Haratym-Maj A. Neurotoxic effect of dermally-applied chlorpyrifos and cypermethrin in Wistar rats. *Ann Agric Environ Med*. 2001;8(2):163-70.
- 39 ^{DE-107, PM-67} Lodovici M, Casalini C, Briani C, Dolara P. Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology* 1997;117(1):55-60.
- 40 ^{DE-111} Marinovich M, Guizzetti M, Galli CL. Mixtures of benomyl, pirimiphos-methyl, dimethoate, diazinon and azinophos-methyl affect protein synthesis in HL-60 cells differently. *Toxicology* 1994;94(1-3):173-185.
- 41 ^{PM-72, TN-39, DE-110} Marinovich M, Ghilardi F, Galli CL. Effect of pesticide mixtures on *in vitro* nervous cells: comparison with single pesticides. *Toxicology* 1996;108(3):201-206.
- 42 ^{GW-uk} Marrs 2005. Cumulative Risk Assessment in the UK, by Timothy C Marrs, University of Central Lancashire and NPIS Birmingham, presented to: 2nd BfR Forum for Consumer Protection "Multiple Residues in Foods", November 9-10, 2005, Berlin, Germany
- 43 ^{PM-18, TN-06} Moser VC, Casey M, Hamm A, Carter WH Jr, Simmons JE, Gennings C. Neurotoxicological and statistical analyses of a mixture of five organophosphorus pesticides using a ray design. *Toxicol Sci*. 2005 Jul;86(1):101-15. Epub 2005 Mar 30.
- 44 ^{PM-08, TN-3} Moser VC, Simmons JE, Gennings C. Neurotoxicological interactions of a five-pesticide mixture in preweanling rats. *Toxicol Sci*. 2006 Jul;92(1):235-45. Epub 2006 Apr 11.
- 45 ^{PM-34} Mumtaz MM, Tully DB, El-Masri HA, De Rosa CT. Gene induction studies and toxicity of chemical mixtures. *Environ Health Perspect*. 2002 Dec;110 Suppl 6:947-56.

- 46 ^{PM-102} Nath G, Datta KK, Dikshith TS, Tandon SK, Pandya KP. Interaction of endosulfan and metepa in rats. *Toxicology* 1978 Dec;11(4):385-93
- 47 ^{PM-35,KPM-30} Nellemann C, Dalgaard M, Lam HR, Vinggaard AM. The combined effects of vinclozolin and procymidone do not deviate from expected additivity *in vitro* and *in vivo*. *Toxicol Sci.* 2003 Feb;71(2):251-62.
- 48 ^{KPM-35} Oakes DJ, Webster WS, Brown-Woodman PD, Ritchie HE. A study of the potential for a herbicide formulation containing 2,4-d and picloram to cause male-mediated developmental toxicity in rats. *Toxicol Sci.* 2002 Jul;68(1):200-6.
- 49 ^{PM-24, TN-13} Olgun S, Gogal RM Jr, Adeshina F, Choudhury H, Misra HP. Pesticide mixtures potentiate the toxicity in murine thymocytes. *Toxicology.* 2004 Mar 15;196(3):181-95.
- 50 ^{PM-05} Olgun S, Misra HP. Pesticides induced oxidative stress in thymocytes. *Mol Cell Biochem.* 2006 Oct;290(1-2):137-44. Epub 2006 May 23.
- 51 ^{PM-75} Ortiz D, Yanez L, Gomez H, Martinez-Salazar JA, Diaz-Barriga F. Acute toxicological effects in rats treated with a mixture of commercially formulated products containing methyl parathion and permethrin. *Ecotoxicol Environ Saf* 1995 Nov;32(2):154-8
- 52 ^{PM-47} Payne J, Scholze M, Kortenkamp A. Mixtures of four organochlorines enhance human breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect.* 2001 Apr;109(4):391-7.
- 53 ^{PM-81} Piatti E, Marabini L, Chiesara E.. Increase of micronucleus frequency in cultured rat hepatocytes treated *in vitro* with benomyl and pirimiphos-methyl separately and in mixture. *Mutat Res* 1994 Jun;324(1-2):59-64
- 54 ^{DE-135} Raizada RB, Scivastave MK, Kaushal RA, Singh RP, Gupta KP. Subchronic oral toxicity of a combination of insecticide (HCH) and herbicide (ISP) in male rats. *J Appl Toxicol* 2001;21(1):75-79.
- 55 ^{DE02} Reffstrup 2002. Trine Klein Reffstrup, Combined actions of pesticides in food, Institute of food safety and nutrition, Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri, 2002
- 56 ^{DE-136} Richardson JR, Chambers HW, Chambers JE. Analysis of the Additivity of *in vitro* Inhibition of Cholinesterase by Mixtures of Chlorpyrifos-oxon and Azinphosmethyl-oxon. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;172(2):128-139.
- 57 ^{RIVM05} RIVM 2005. Cumulative Risk Assessment: Science and Policy Issues, The Dutch Approach (with an example of pesticides), by Marcel T.M. van Raaij, National Institute of Public Health and Environment (RIVM), Centre of Substances and Integrated Risk Assessment (SIR), Bilthoven, The Netherlands, presented to: 2nd BfR Forum for Consumer Protection "Multiple Residues in Foods", November 9-10, 2005, Berlin, Germany
- 58 ^{DE-139, PM-70} Sedrowicz L, Witkowska D, Oledzka R. Effect of chlorfenvinphos, cypermethrin and their mixture on the intestinal transport of leucine and methionine. *J Appl Toxicol* 1996;16(6):483-489.
- 59 ^{TN-49, DE-141} Segal LM, Fedoroff S. Cholinesterase inhibition by organophosphorus and carbamate pesticides in aggregate cultures of neural cells from the foetal rat brain: the effects of metabolic activation and pesticide mixtures. *Toxicol In Vitro* 1989;3(2):123-128.
- 60 ^{DE-142} Selmanoglu G (Özmen), Akay MT. Biochemical study of the combined effects of endosulfan, dimethoate and carbaryl on albino rats. *Pesticides* 2001;16:77-84.
- 61 ^{PM-13} Skandrani D, Gaubin Y, Vincent C, Beau B, Claude Murat J, Soleilhavoup JP, Croute F. Relationship between toxicity of selected insecticides and expression of stress

- proteins (HSP, GRP) in cultured human cells: effects of commercial formulations versus pure active molecules. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Jan;1760(1):95-103.
- 62 ^{PM-53} Stelzer A, Chan HM. The relative estrogenic activity of technical toxaphene mixture and two individual congeners. *Toxicology*. 1999 Nov 5;138(2):69-80.
- 63 ^{PM-17, TN-07} Timchalk C, Poet TS, Hinman MN, Busby AL, Kousba AA. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction for a binary mixture of chlorpyrifos and diazinon in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005 May 15;205(1):31-42.
- 64 ^{TN-30} Tully DB, Cox VT, Mumtaz MM, Davis VL, Chapin RE.. Six high-priority organochlorine pesticides, either singly or in combination, are nonestrogenic in transfected HeLa cells. *Reprod Toxicol*. 2000 Mar-Apr; 14(2):95-102.
- 65 ^{EPA03} U.S. EPA 2003. Framework for Cumulative Risk Assessment, EPA/630/P-02/001F, Risk Assessment Forum, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, May 2003. (<http://cfpub.epa.gov/ncea/raf/recordisplay.cfm?deid=54944>)
- 66 ^{EPA99} U.S. EPA 1999. Guidance for Identifying Pesticide Chemicals and Other Substances That Have a Common Mechanism of Toxicity, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, 1999
- 67 ^{EPA00} U.S. EPA 2000. Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures, Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, 2000
- 68 ^{EPA02} U.S. EPA 2002. Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, 2002
- 69 ^{EPA05} U.S. EPA 2005. Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures, Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency, Last updated on October 25, 2005 (<http://cfpub.epa.gov/ncea/raf/recordisplay.cfm?deid=20533>)
- 70 ^{EPA06} U.S. EPA 2006. Organophosphorus Cumulative Risk Assessment – 2006 Update, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, 2006
- 71 ^{KPM-11} Vinggaard AM, Christiansen S, Laier P, Poulsen ME, Breinholt V, Jarfelt K, Jacobsen H, Dalgaard M, Nellemann C, Hass U. Perinatal exposure to the fungicide prochloraz feminizes the male rat offspring. *Toxicol Sci*. 2005 Jun;85(2):886-97. Epub 2005 Mar 23.
- 72 ^{DE-165} Wang TC, Wu CL, Lin JH, Tarn CY, Lin SY. Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations induced by pesticide combinations in Chinese hamster ovary cells. *Bull Inst Zool, Academia Sinica* 1987;26(4):317-29.
- 73 ^{DE-167} Williams MW, Fuyat HN, Frawley JP, Fitzhugh OG. In vivo effects of paired combinations of five organic phosphate insecticides. *Agric Food Chem* 1958;6(7):514-516.
- 74 ^{PM-93} Zhao Y, Li W, Chou IN. Cytoskeletal perturbation induced by herbicides, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T). *J Toxicol Environ Health* 1987;20(1-2):11-26