

&lt;別添&gt;

BMDL<sub>10</sub>の試算

## 1. 経緯

近年、JECFAでは、アクリルアミド（2010年）や、デオキシニバレノール（2011年）<sup>1</sup>を評価する際にベンチマークドーズ（Benchmark Dose）法<sup>2</sup>（BMD法）が用いられた他、フモニシンの再評価（2011、2016年）においてもBMD法による毒性評価が行われている。

現在までに、食品安全委員会において、BMD法による検討が行われた事例は、グリシドール（2015年）やアクリルアミド（2016年）等限られている。かび毒の毒性評価では、オクラトキシンA（2014年）の実験動物における発がん影響についてBMDL<sub>10</sub>の試算を行ったが、最終的に、発がん性についてはNOAELを基に算出し、BMD法による試算結果は用いなかった。

今般のフモニシンの評価においても、これらを踏まえてフモニシンの毒性についてBMDL<sub>10</sub>を用いて試算することとした。

## 2. 試算結果

## (1) 試算の対象

EFSAのBMDガイダンス（2009年）では、NOAELを同定することが難しいとき、遺伝毒性や発がん性を有する物質などでばく露マージンのための基準値を提供したいとき等に、BMD法が活用できるとされている。一方、毒性学的意義のある所見について用量反応相関が認められない場合には、BMD法が適用できないことに留意する必要がある。

このことを踏まえると、フモニシンのマウスを用いた26週間亜急性毒性試験（参照 1. G Bondy, et al. (2012) #144）は、NOAELが得られなかったこと、毒性所見のうち、肝細胞の傷害及び再生の過程で認められたマ

<sup>1</sup> JECFAは、デオキシレバニノールのARfD（Acute Reference Dose:急性参照用量）を求めるにあたり、ブタにおける嘔吐への影響についてベンチマークドーズ法を用いてBMDL<sub>10</sub>を推計し、この値よりデオキシニバレノール及びそのアセチル体のグループARfDを設定した。

<sup>2</sup> BMDL（Benchmark Dose Lower Confidence Limit）を算出する方法。動物実験から得られる用量-反応レベルのグラフにおいて、有意な影響があるとされる反応レベル（BMR：Benchmark Response、発生毒性で5%、一般毒性で10%）をもたらす用量をBMDという。この95%信頼区間の下限値がBMDLである。BMRを10%とした場合のBMDLはBMDL<sub>10</sub>と表される。BMDLはNOAELに相当するとされる。

1 ウスの巨大肝細胞の増加について (P) 毒性学的意義<sup>3</sup>及び用量相関性が  
2 認められた こと、本所見について JECFA (2011、2016 年) でも BMD が  
3 試算されていることから、今回、BMD 法を活用可能な事例として、本試験  
4 を用いて BMDL<sub>10</sub> を試算することとした。その際、JECFA (2011 年) (参  
5 照 2. JECFA (2011) #350) と同様に、p53+/-マウス及び野生型マウス  
6 (C57BL/6) の該当病変の発生頻度を合算して試算した。

7 なお、NOAEL が最少であった F344 ラットを用いた 13 週間亜急性毒  
8 性試験(参照 3. KA Voss, et al. (1995) #162)の腎毒性の所見について  
9 BMDL<sub>10</sub> の算出の検討を行った。しかし、発生頻度が 0%と 100%を示す  
10 以外の用量は一用量 (LOAEL) しかなく、その発生頻度は 90%であり、  
11 BMD 法で用量反応相関モデルを適切に算定できる用量反応を示す所見で  
12 はなかった。適切な用量反応を推定するためには、0%と 100%以外の発  
13 生頻度を示す用量が 2 用量以上必要であるため、この所見については  
14 BMD 法を適用できなかった。

## 15 (2) 設定した条件

16 ア：使用したソフト

17 EPA BMDS Ver.2.6.0.1 及び proast 38.9

18 イ：BMR

19 10%

20 ウ：Restriction<sup>4</sup>

21 ON と OFF の両方で試算

22 エ：適合モデルの選択 (棄却条件)

23 ・P 値<sup>5</sup>が 0.1 以下

24 ・BMD/BMDL 比が 10 以上 (NOAEL から外れている)

25 オ：BMDL<sub>10</sub> の選択方法

26 以下 (a) ~ (d) の 4 種類の考え方で BMDL<sub>10</sub> を検討

27 (a) アクリルアミドの毒性評価において採用した選択方法 (2016 年)

3 巨大肝細胞の増加に加え、肝細胞のアポトーシスについても毒性学的意義があると  
考えられたが、対照群を含む全群に同様の所見が認められ、発生頻度に用量相関性が  
認められなかったことから、BMDL<sub>10</sub> の試算の対象とはしなかった。

4 EPA BMDS では、実測データをモデルにフィッティングさせる段階で、パラメー  
タに制限 (Restriction) を設けるオプションを選択することが可能。生物学的に説  
明できない用量反応曲線にならないように、Restriction on と Restriction off の両  
方でフィッティングすることを推奨。

5 EPA BMDS では、統計モデルに基づく用量反応曲線と実測データとの適合度をカ  
イ二乗検定により評価している。p 値が小さい統計モデルは、実測データから有意に  
乖離していると考えられ、EPA BMDS では、p>0.1 となる (乖離しているとは言え  
ない) モデルについて、フィッティングが適合していると判断している。

- 1           ・ 最も低い BMD が得られたモデルを選択した。

2  
3           (b) JECFA (2011 年)

- 4           ・ Restriction が選択できるモデルは、ON のみ検討の対象とした。  
5           ・ 最も低い BMDL<sub>10</sub>を示すモデルを選択した。

6  
7           (c) EPA テクニカルガイダンス (2012 年)

- 8           ・ モデル依存性がある (BMDL の幅が広い) 場合は、最も低い BMDL  
9           値を選択した。  
10          ・ モデル依存性がない (BMDL の幅が狭い) 場合は、最も低い AIC<sup>6</sup>  
11          を示す統計モデルを選択した。

12  
13          (d) EFSA ガイダンス (2017 年)

- 14          ・ 最も低い AIC を示す統計モデルを選び、その AIC+2 までの範囲  
15          に入る統計モデルの中から、最も低い BMDL<sub>10</sub>を示すモデルを選  
16          択した。

17  
18          (3) 結果 (詳細は別紙の通り)

19

	選択したモデル	BMD <sub>10</sub>	BMDL <sub>10</sub>
(a)	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
(b) JECFA 法	Log logistic Restriction ON	0.254657	0.146
(c) EPA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430
(d) EFSA 法	Weibul Restriction OFF	0.255767	0.0430

20  
21  
22

<sup>6</sup> 赤池情報量基準 Akaike Information Criterion。異なる統計モデルの良さを比較するための指標であり、モデルの複雑さと、測定データとの適合度とのバランスを表している。 $-2 \log(L) + 2p$  (モデルの対数尤度とモデルのパラメータ数) で求められる。AIC が小さいモデルほど、バランスがよい統計モデルであるとされる。

## 1 3. 課題

2 今回、マウスの26週間亜急性毒性試験(参照 1. G Bondy, et al. (2012)  
3 #144)を対象に試算したところ、 $BMDL_{10}$ の選択方法(前述の2.(2).オ  
4 (a)～(d))の考え方の違いにより、2通りの $BMDL_{10}$ が得られた。こ  
5 のように、BMD法は、モデルの選択方法及び専門家の判断により、異な  
6 る $BMDL_{10}$ が選択される場合がある。

7 このことを解消するため、EFSAは「モデルの平均化」を重視すべきと  
8 するガイダンスを2017年に公表した。モデルの平均化とは、複数の統計  
9 モデルをそれぞれの適合度から加重平均する方法で、単一のBMD及び  
10  $BMDL_{10}$ が得られる。JECFA(2016年)においても、適切なモデルを選  
11 択する従来の方法のほか、モデルの平均化についても検討するよう議論が  
12 進められており、統計学的に最も適切な選択方法について海外の専門家  
13 の間で検討がなされている状況である。

14 さらに、今回試算を行ったマウスの26週間亜急性毒性試験(参照 1. G  
15 Bondy, et al. (2012) #144)の巨大肝細胞の増加については、その発生頻度  
16 に用量反応性が認められ、 $BMDL_{10}$ の算出が可能であったが、本試験の肝  
17 細胞のアポトーシスのように病変の程度にのみ用量反応相関がある病理  
18 所見に対してはBMD法を適用できなかった。

19 このように、BMD法を適用する際は、統計学的妥当性と生物学的妥当  
20 性の両面を勘案する必要があり、最終的なモデルの採用は専門家判断に依  
21 存している。このことについては、海外の評価機関の間でも具体的に統一  
22 化された考え方は示されていない。

23 以上の状況を鑑み、食品安全委員会では、今後、海外機関での議論を注  
24 視しつつ、評価技術企画ワーキンググループにおいて、定量的なリスク評  
25 価におけるBMD法の利点を生かすための適切な活用に向けた議論を開  
26 始する予定である。

27

## 1 &lt; 参照文献 &gt;

2

3 1 G. Bondy, R. Mehta, D. Caldwell, L. Coady, C. Armstrong, M. Savard, J. D.  
4 Miller, E. Chomyshyn, R. Bronson, N. Zitomer and R. T. Riley. Effects of long  
5 term exposure to the mycotoxin fumonisin B1 in p53 heterozygous and p53  
6 homozygous transgenic mice. Food Chem Toxicol. 2012; 50: 3604-3613 #144

7 2 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.  
8 Seventy fourth report of the joint FAO/WHO Expert Committee  
9 on Food Additives. . WHO Technical Report Series no 966. 2011; 70-94 #350

10 3 K. A. Voss, W. J. Chamberlain, C. W. Bacon, R. T. Riley and W. P. Norred.  
11 Subchronic toxicity of fumonisin B1 to male and female rats. Food Addit  
12 Contam. 1995; 12: 473-478 #162

13

雄マウスの巨大肝細胞の増加 WT+TG (#144 data)

No.	Model Name	EPA BMDS ver.2.6.0.1						(参考) proast ver.38.9		
		Rest- riect	AIC	P-value	BMD	BMDL	BMD/BMDL	Rest- riect	BMD	BMDL
1	Quantal-Linear	/	61.8864	0.1376	0.48368	0.337545	1.433	/	/	/
2	Probit	/	63.8037	0.1583	1.52028	1.11261	1.366	/	/	/
3	Logistic	/	63.7295	0.1629	1.55675	1.09775	1.418	/	1.56	1.1
4	Multistage	on	63.8488	0.0536	0.539364	0.338321	1.594	on	0.539	0.338
5	Multistage	off	63.8488	0.0536	0.539364	0.277286	1.945	off	0.539	0.338
6	Multistage-Cancer	/	63.8488	0.0536	0.539364	0.338321	1.594	/	/	/
7	Weibull	on	61.8864	0.1376	0.483679	0.337545	1.433	on	0.482	0.337
8	Weibull	off	61.0017	0.2556	0.255767	0.0430463	5.942	off	0.256	0.043
9	Gamma	on	61.8864	0.1376	0.48368	0.337545	1.433	on	0.483	0.337
10	Gamma	off	60.6172	0.3156	0.212168	0.0209155	10.144	off	0.212	0.0209
11	Log-Logistic	on	63.0504	0.1097	<b>0.254657</b>	<b>0.146404</b>	1.739	on	0.255	NA
12	Log-Logistic	off	63.0504	0.1097	0.254662	0.0512515	4.969	off	0.255	NA
13	Log-Probit	on	66.0195	0.0396	2.09555	0.715461	2.929	on	0.262	NA
14	Log-Probit	off	62.8986	0.1135	0.262082	0.0618832	4.235	off	0.262	NA

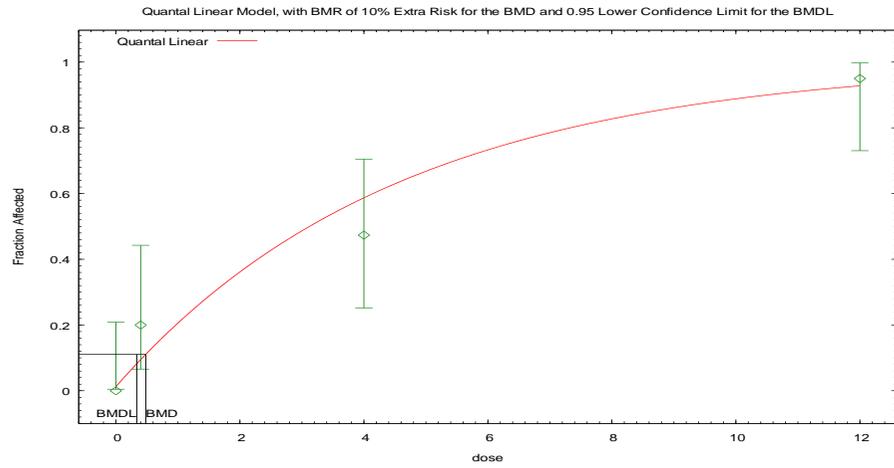
BMD 0.255-1.56

Data file for the EPA BMDS ( WT+TG)

mg/kg bw/day	n	effect
0	19	0
0.4	20	4
4	19	9
12	20	19

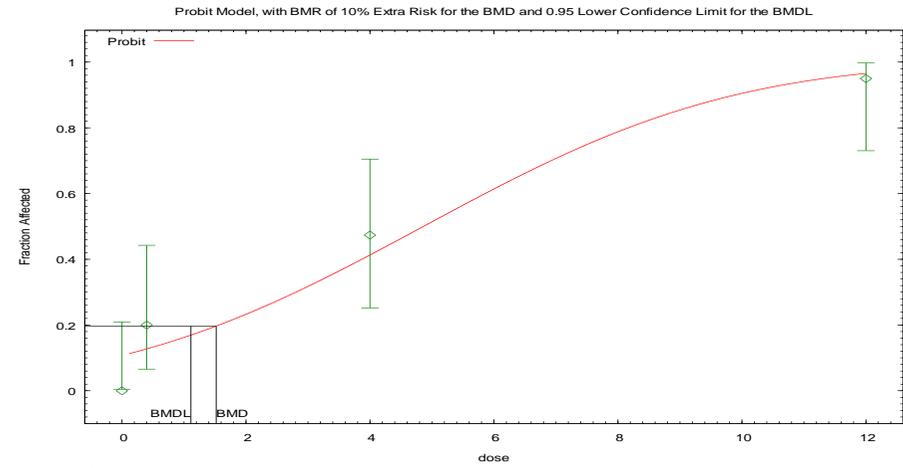
<EPA BMDSのモデル選択の考え方>  
 1. モデルの棄却(下記の①または②の場合)  
 ①p-valueが0.1以下を棄却  
 ②BMD/BMDLが10以上を棄却  
 2. 妥当なモデルの選択  
 棄却されなかったモデルのうち、よりBMD  
 が低いモデルを選択

### 1.Quantal-Linear



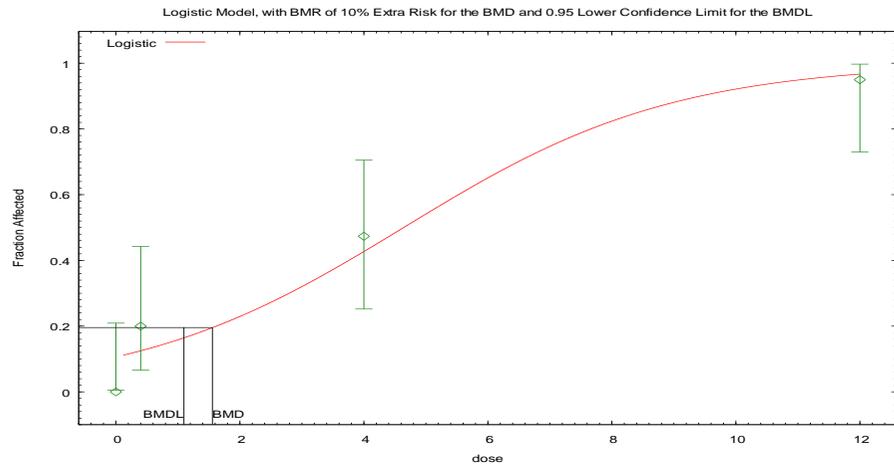
10:22 11/15 2016

### 2.Probit



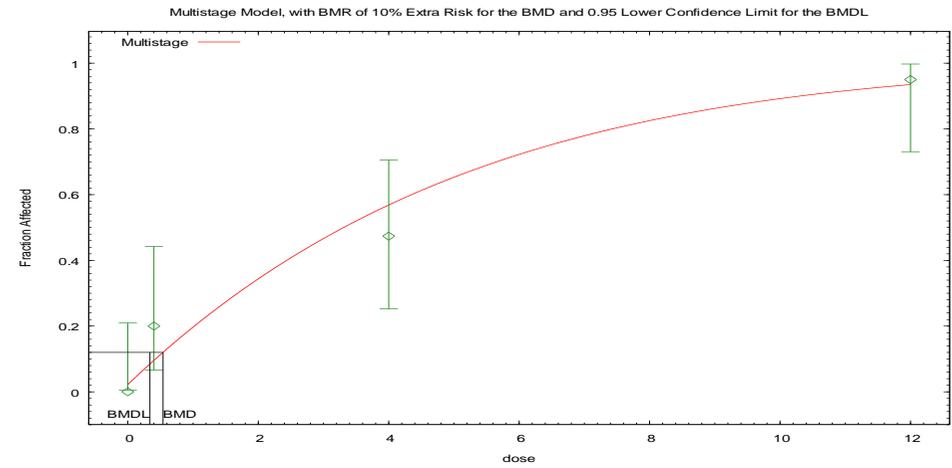
10:24 11/15 2016

### 3.Logistic



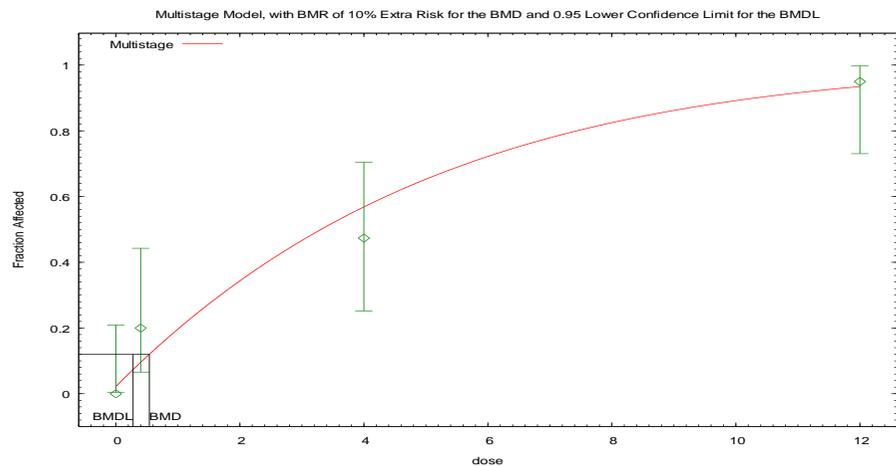
10:28 11/15 2016

### 4.Multistage (on)



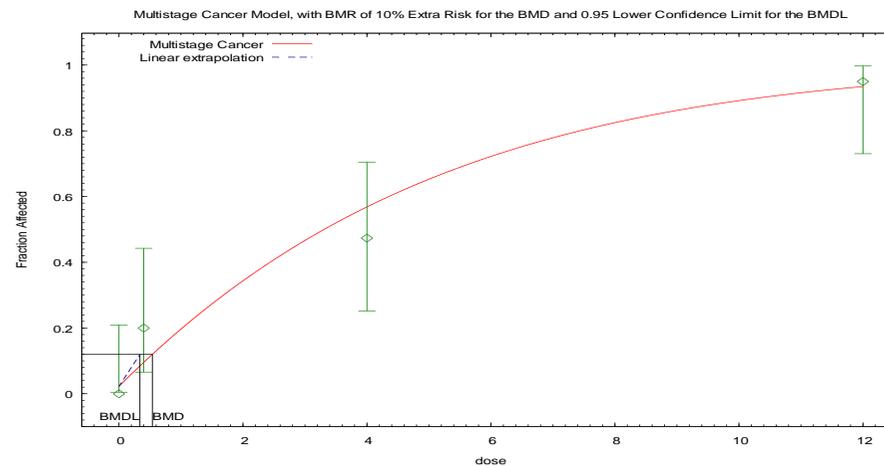
10:40 11/15 2016

### 5.Multistage (off)



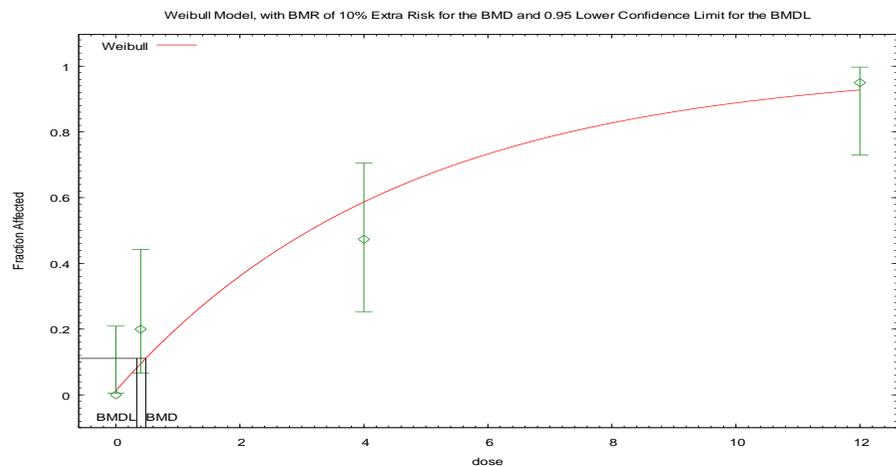
10:42 11/15 2016

### 6.Multistage Cancer



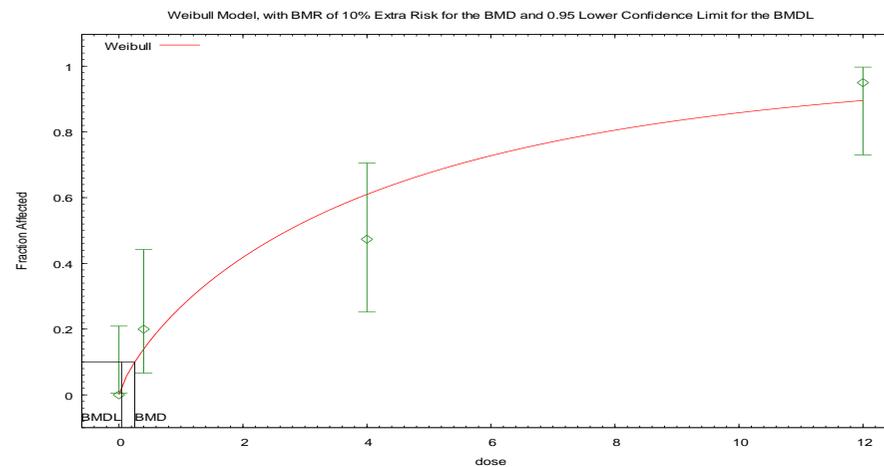
10:48 11/15 2016

### 7.Weibul I(on)



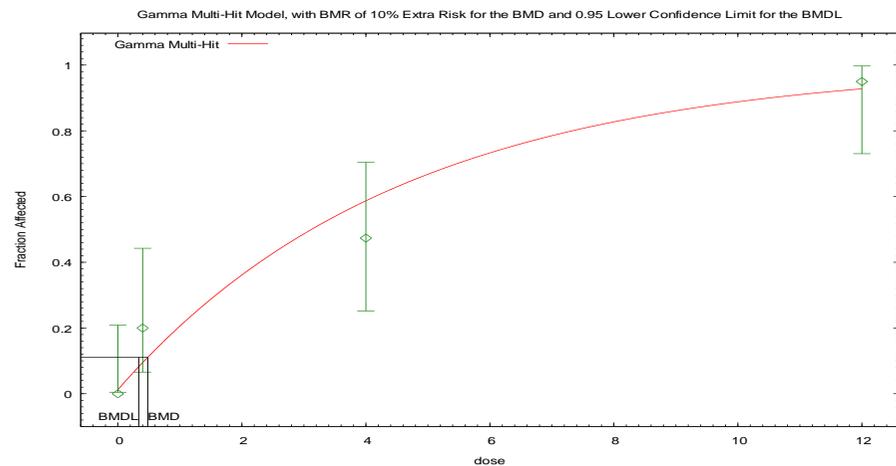
10:52 11/15 2016

### 8.Weibul I(off)



11:01 11/15 2016

9.Gamma (on)

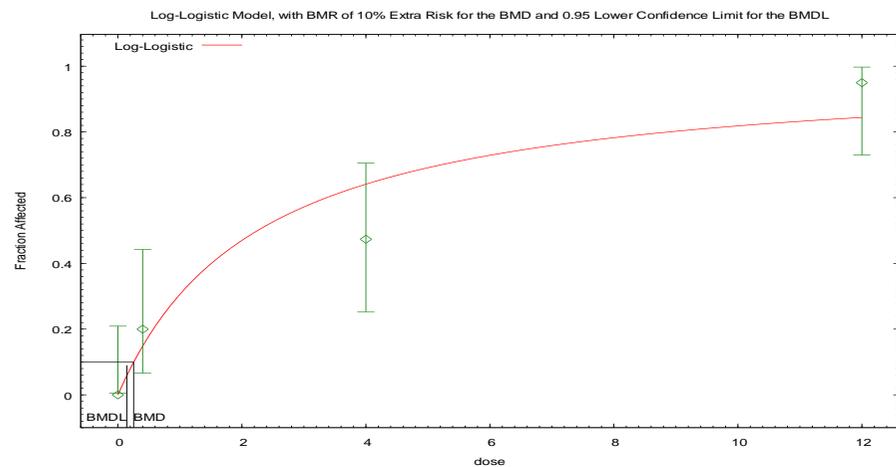


11:05 11/15 2016

10.Gamma (off)

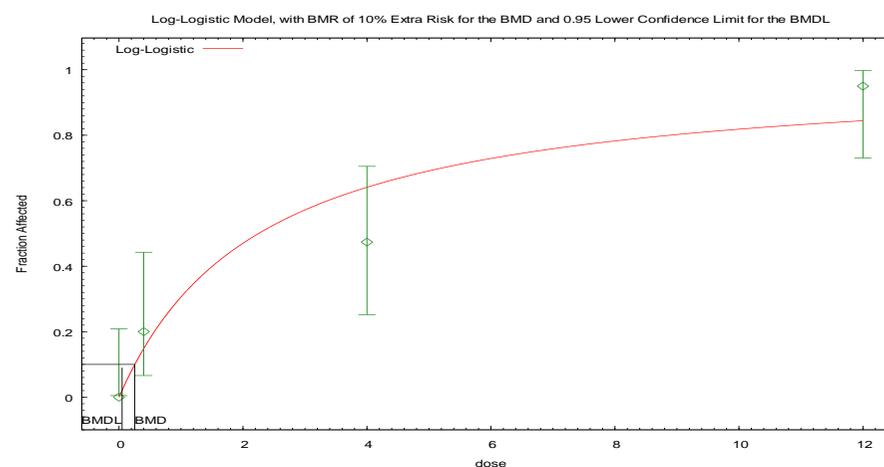
no graph

11.Log-Logistic (on)



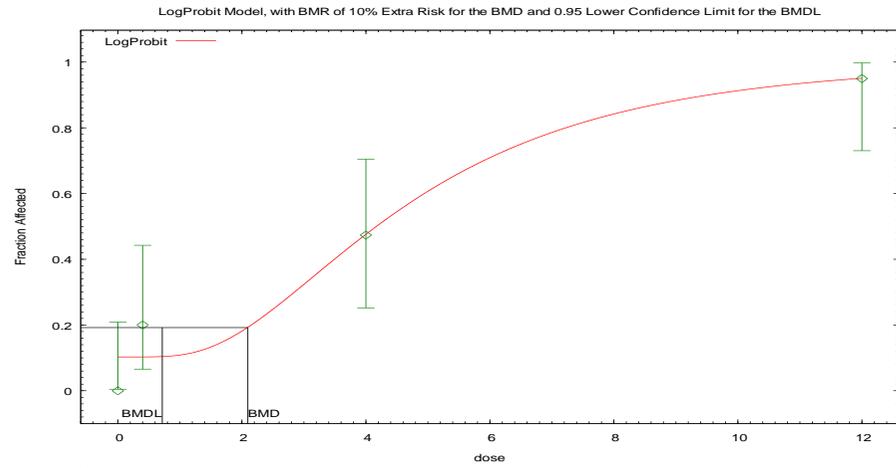
11:21 11/15 2016

12.Log-Logistic (off)

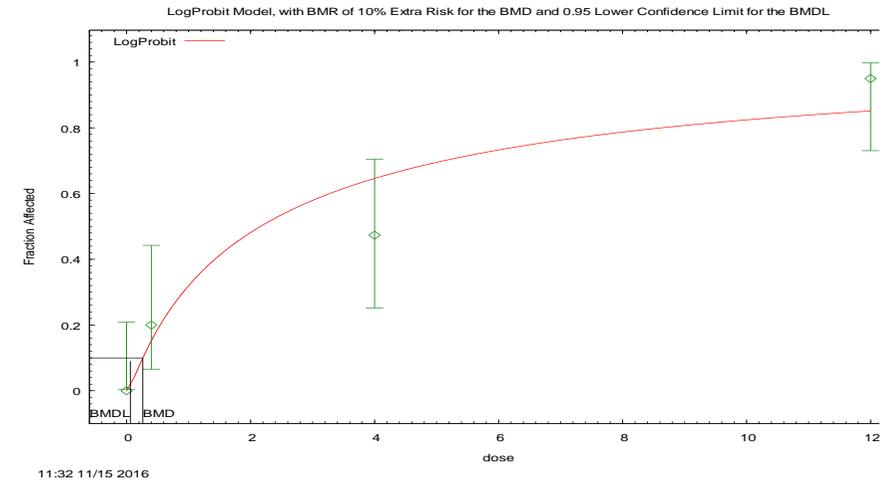


11:26 11/15 2016

13. Log-Probit (on)



14. Log-Probit (off)



雄マウスの巨大肝細胞の増加 WT (#144 data)

No.	Model Name	EPA BMDS ver.2.6.0.1						(参考) proast ver.38.9		
		Rest- -riect	AIC	P-value	BMD	BMDL	BMD/BMDL	Rest- -riect	BMD	BMDL
1	Quantal-Linear	/	26.2515	0.6158	0.354013	0.213935	1.655	/	/	/
2	Probit	/	28.6344	0.4406	1.11184	0.682185	1.630	/	/	/
3	Logistic	/	28.7463	0.4206	1.2082	0.716931	1.685	/	1.21	0.717
4	Multistage	on	30.1325	0.1757	0.418821	0.216277	1.937	on	0.405	0.216
5	Multistage	off	30.1325	0.1757	0.418821	0.193659	2.163	off	0.405	0.216
6	Multistage Cancer	/	30.1325	0.1757	0.418821	0.216277	1.937	/	/	/
7	Weibull	on	26.2515	0.6158	0.354013	0.213935	1.655	on	0.353	0.213
8	-Weibull	off	28.1348	0.4863	0.264692	0.0211547	12.512	off	0.265	0.0212
9	Gamma	on	26.2515	0.6158	0.354013	0.213935	1.655	on	0.353	0.214
10	-Gamma	off	27.9904	0.5356	0.218661	0.0065108	33.584	off	0.219	0.0065
11	Log-Logistic	on	29.5935	0.3057	<b>0.257377</b>	<b>0.0858822</b>	2.997	on	0.257	0.0917
12	Log-Logistic	off	29.5935	0.3057	0.257377	0.0274129	9.389	off	0.257	0.0371
13	Log-Probit	on	30.3979	0.2103	0.705308	0.320459	2.201	on	0.267	0.0355
14	Log-Probit	off	29.3628	0.3191	0.267348	0.0355457	7.521	off	0.267	0.0355

BMD 0.257-1.21

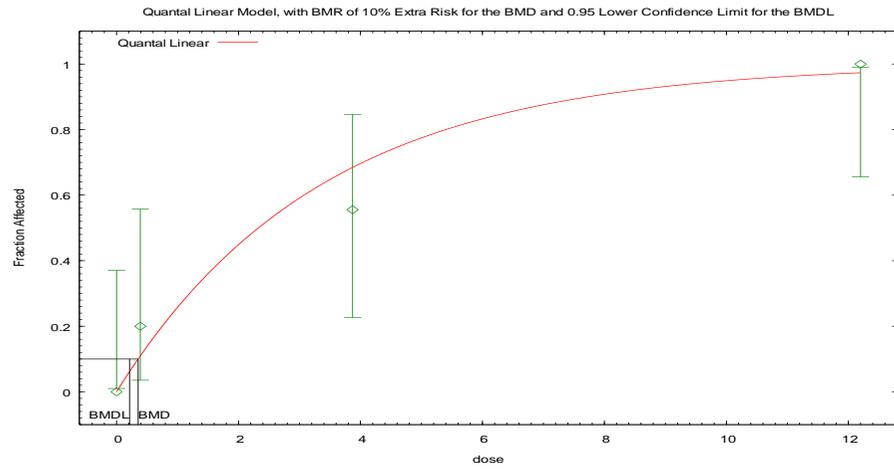
Data file for the EPA BMDS ( WT)

mg/kg bw/day	n	effect
0	9	0
0.39	10	2
3.87	9	5
12.2	10	10

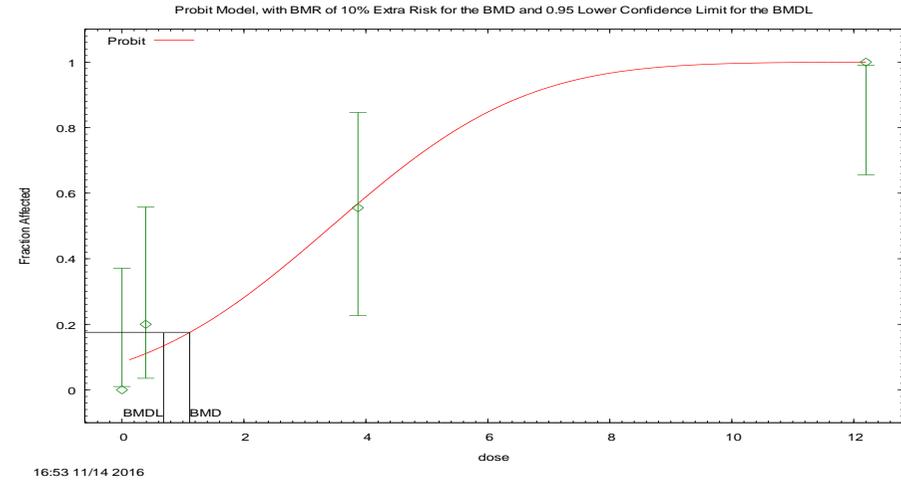
<EPA BMDSのモデル選択の考え方>

1. モデルの棄却(下記の①または②の場合)
  - ①p-valueが0.1以下を棄却
  - ②BMD/BMDLが10以上を棄却
2. 妥当なモデルの選択  
棄却されなかったモデルのうち、よりBMDが低いモデルを選択

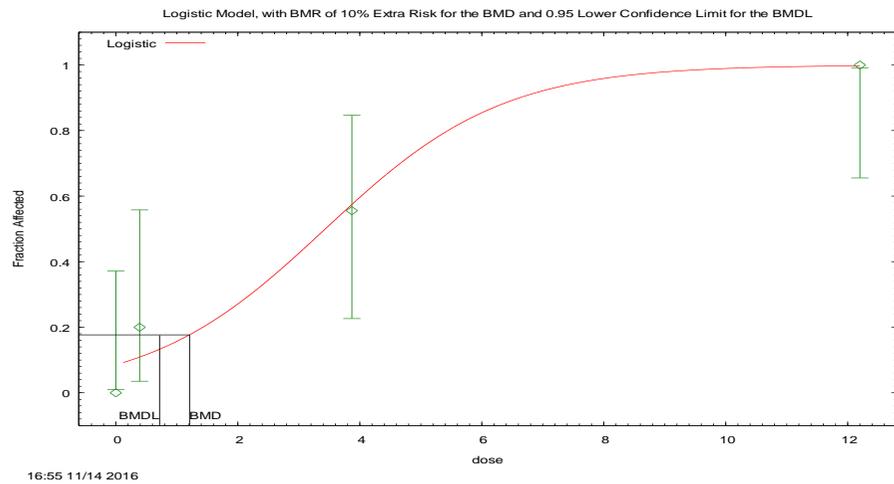
### 1. Quantal-Linear



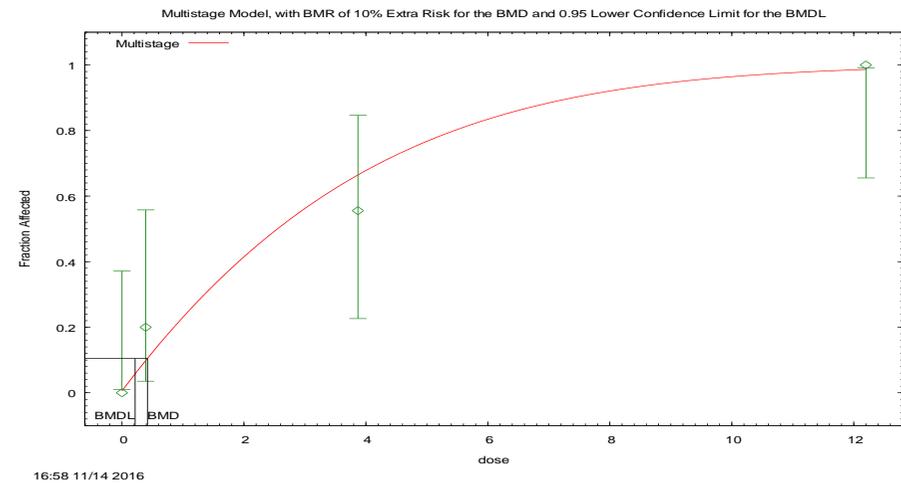
### 2. Probit



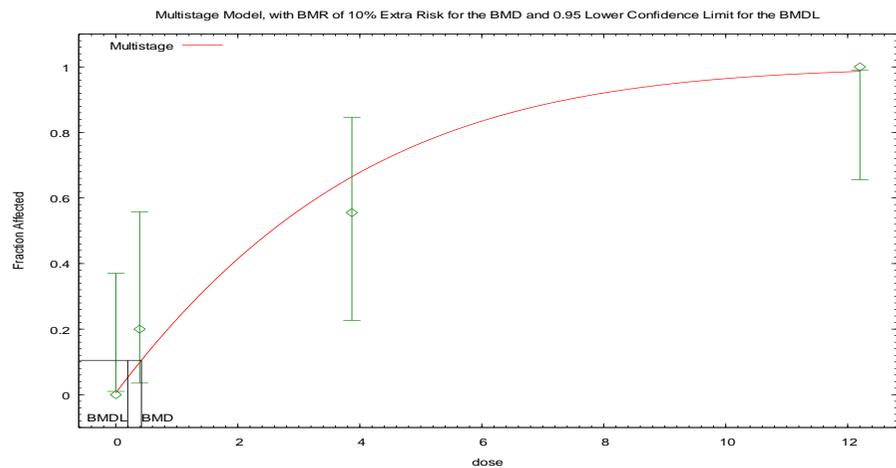
### 3. Logistic



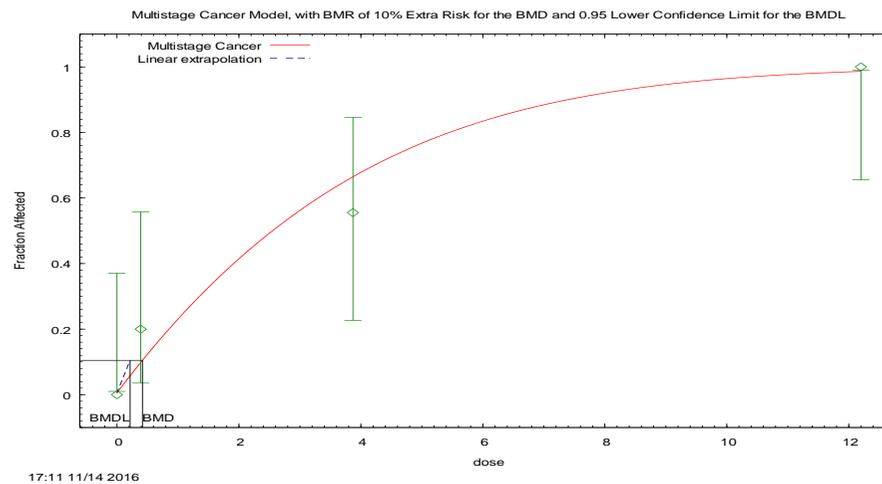
### 4. Multistage (on)



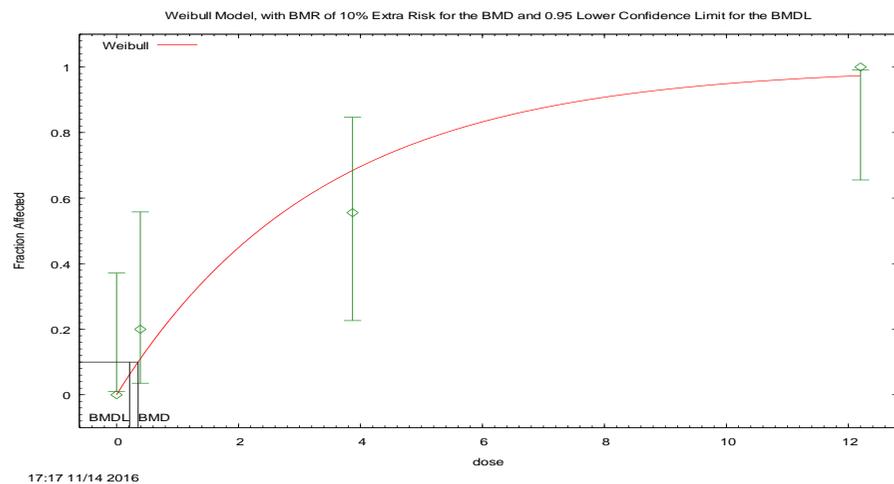
### 5.Multistage (off)



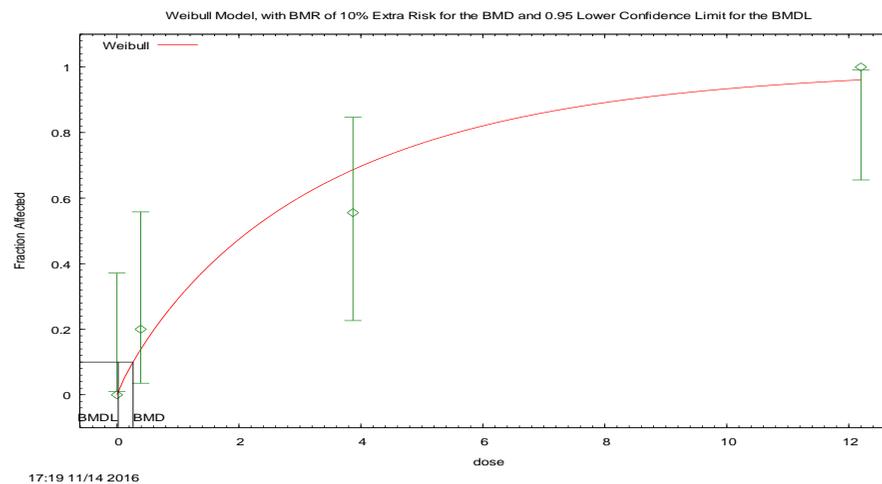
### 6.Multistage Cancer



### 7.Weibull I(on)



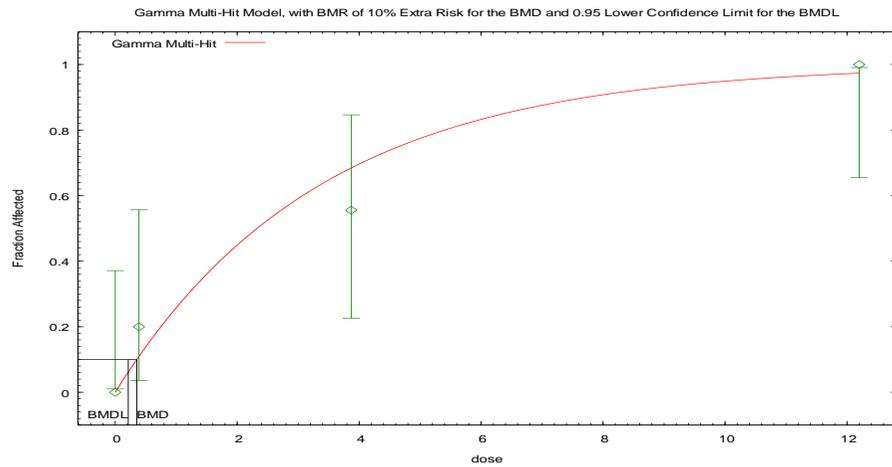
### 8.Weibull I(off)



### 9.Gamma (on)

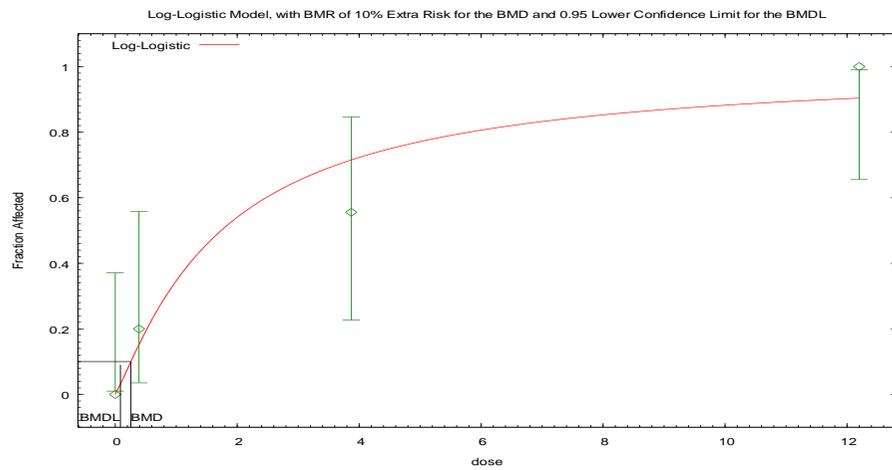
### 10.Gamma (off)

Value error?



17:21 11/14 2016

11.Log-Logistic (on)



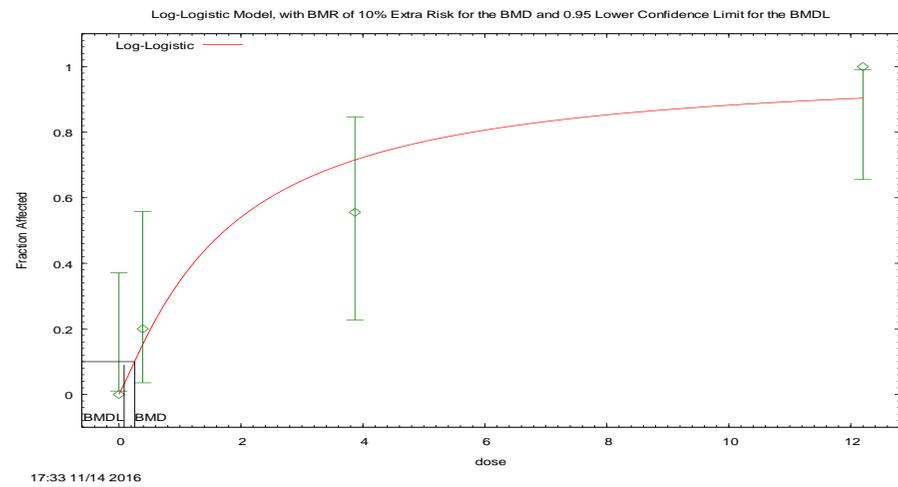
17:33 11/14 2016

13.Log-Probit (on)

LogProbit Model, with BMR of 10% Extra Risk for the BMD and 0.95 Lower Confidence Limit for the BMDL

no graph

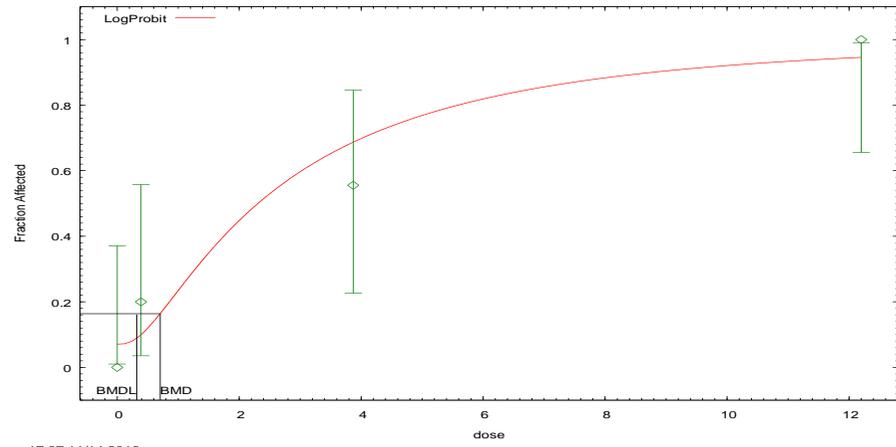
12.Log-Logistic (off)



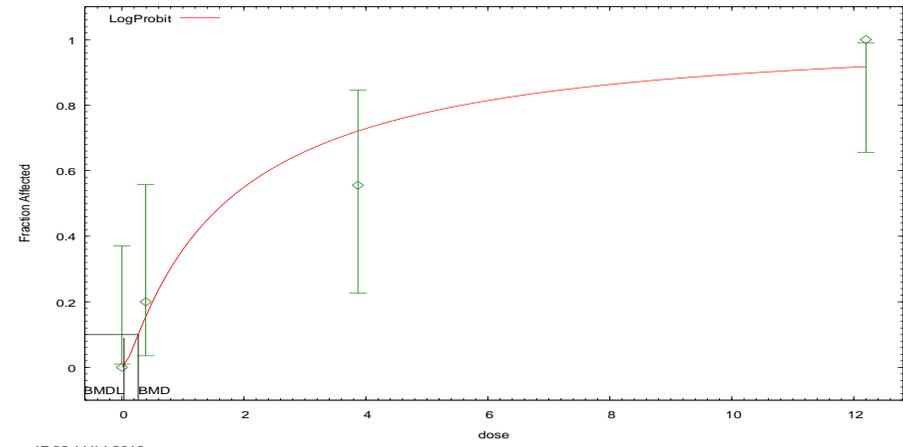
17:33 11/14 2016

14.Log-Probit (off)

LogProbit Model, with BMR of 10% Extra Risk for the BMD and 0.95 Lower Confidence Limit for the BMDL



17:37 11/14 2016



17:39 11/14 2016

雄マウスの巨大肝細胞の増加 TG (#144 data)

No.	Model Name	EPA BMDS ver.2.6.0.1						(参考) proast ver.38.9		
		Rest-riect	AIC	P-value	BMD	BMDL	BMD/BMDL	Rest-riect	BMD	BMDL
1	Quantal-Linear	<del>/</del>	36.1369	0.3465	0.63806	0.376668	1.694	<del>/</del>	<del>/</del>	<del>/</del>
2	Probit	<del>/</del>	36.9573	0.3722	1.83918	1.21164	1.518	<del>/</del>	<del>/</del>	<del>/</del>
3	Logistic	<del>/</del>	37.008	0.3712	1.90935	1.18311	1.614	<del>/</del>	1.91	1.18
4	Multistage	on	38.1163	0.1563	0.716787	0.377342	1.900	on	0.717	0.377
5	Multistage	off	38.1163	0.1563	0.716787	0.264991	2.705	off	0.717	0.377
6	Multistage Cancer		38.1163	0.1563	0.716787	0.377342	1.900	<del>/</del>	<del>/</del>	<del>/</del>
7	Weibull	on	36.1369	0.3465	0.63806	0.376668	1.694	on	0.636	0.376
8	<del>Weibull</del>	<del>off</del>	<del>35.429</del>	<del>0.4820</del>	<del>0.23347</del>	<del>0.00566512</del>	<del>41.212</del>	<del>off</del>	<del>0.233</del>	<del>0.0057</del>
9	Gamma	on	36.1369	0.3465	0.63806	0.376668	1.694	on	0.637	0.376
10	<del>Gamma</del>	<del>off</del>	<del>35.1926</del>	<del>0.5464</del>	<del>0.192243</del>	<del>0.00162693</del>	<del>118.163</del>	<del>off</del>	<del>0.192</del>	<del>0.0016</del>
11	Log-Logistic	on	34.3745	0.4821	<b>0.321138</b>	<b>0.151791</b>	2.116	on	0.32	0.151
12	<del>Log-Logistic</del>	<del>off</del>	<del>36.247</del>	<del>0.3371</del>	<del>0.231372</del>	<del>0.0066773</del>	<del>34.651</del>	<del>off</del>	<del>0.231</del>	<del>0.0067</del>
13	Log-Probit	on	38.9632	0.1360	2.10588	0.754202	2.792	on	0.235	0.0092
14	<del>Log-Probit</del>	<del>off</del>	<del>36.2592</del>	<del>0.3334</del>	<del>0.235152</del>	<del>0.00917888</del>	<del>25.619</del>	<del>off</del>	<del>0.235</del>	<del>0.0092</del>

BMD0.321-2.11

Data file for the EPA BMDS (TG)

mg/kg bw/day	n	effect
0	10	0
0.37	10	2
3.88	10	4
12.6	10	9

<EPA BMDSのモデル選択の考え方>

1. モデルの棄却(下記の①または②の場合)
  - ①p-valueが0.1以下を棄却
  - ②BMD/BMDLが10以上を棄却
2. 妥当なモデルの選択  
棄却されなかったモデルのうち、よりBMDが低いモデルを選択