

II. 食品健康影響評価

6. 用量反応評価 (BMD¹⁾ 法の適用) (案)

【※評価書案に転記予定】

六価クロムの飲水からのばく露については、マウス及びラットを用いた試験においてみられた腫瘍の発生メカニズムには遺伝毒性は関与しておらず、発がん性には閾値が存在すると考えられることから、評価にあたっては TDI を設定することが可能であると判断した。

TDI 設定の基準点については、非発がん影響において NOAEL を得ることができないこと、BMD 法は用量反応曲線を採用することで、設定された用量の間を補完し、データの信頼性の質を加味できる点など、従来の NOAEL を用いる方法に替わりうる評価手法であることから、用量反応評価に BMD 法を適用し、検討を行うこととした。

①適格な BMD 法を適用する田中先生修正毒性試験の選択

BMD 法を適用する毒性試験については、実験動物の種類及び匹数、投与方法、投与量の設定が適切であり、用量反応関係が成立している試験を選択した。

本評価では、2 年間慢性毒性及び発がん性試験が行われた NTP (2008) の試験を解析の対象とした。

なお、生殖・発生毒性試験については、認められた所見が高用量 (31 mg Cr(VI)/kg 体重/日以上) であること、また、低用量 (1.7 mg Cr(VI)/kg 体重/日) でみられた所見はあるが、単用量の試験や一般的な生殖・発生毒性の評価に用いるのは適切ではない試験でみられた所見であったことから、六価クロムの定量評価には用いないこととした。さらに、PBPK モデルについては、本モデルにおける六価クロムの小腸からの取り込み等の検討が不十分であると考えられたことから、六価クロムの定量評価には用いないこととした。

【田中先生コメント】

(20～24 行目について)

評価書本体の記載はこのままで良いと思うが、ここでは高用量や低用量の目安があった方が良い。

¹⁾ BMD (ベンチマークドーズ) Benchmark Dose : 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、通常発生毒性で 5%、一般毒性で 10%) をもたらす用量をベンチマークドーズ (BMD) という。この 95%信頼区間の下限值が BMDL (Benchmark Dose Lower Confidence Limit) である。BMR を 10%とした場合の BMDL は BMDL₁₀ と表される。BMDL は無毒性量 (NOAEL) に相当するとされる (食品安全委員会 2015)。

【事務局より】

ご指摘のとおり、追記いたしました。

②影響指標の選択

本評価では NTP（2008）の試験のエンドポイントの中から、六価クロム投与に関連した影響と考えられたマウスの小腸腫瘍、小腸びまん性上皮過形成及びラットの口腔腫瘍から得られた二値（Dichotomous）データを用いて解析した。

なお、雌雄のマウス及びラットにみられた十二指腸や腸間膜リンパ節等でみられた組織球浸潤、肝臓の炎症や脾臓の腺房細胞質変性等の所見は、軽微な影響であり、毒性学的意義が不明なため、いずれも BMD 及びベンチマークドーズ 95%信頼下限値（BMDL）算出の対象としなかった。さらに、マウス及びラットにみられた貧血等の血液学的な影響は、投与 12 か月目には影響が軽微であったことから、BMD 及び BMDL 算出の対象としなかった。

【事務局より】

NTP（2008）でみられた所見について、どの所見を BMD 算出の対象とすべきでしょうか。ご教授をお願いいたします。

【渋谷先生、高橋先生コメント】

雌雄のマウス及びラットにみられた十二指腸や腸間膜リンパ節等の組織球浸潤は、軽微から中等度の影響であり、毒性学的に意義のある組織障害等の変化を指し示すものではないと考えられることから、BMD 算出の対象から除外してよい。

肝臓の炎症や脾臓の腺房細胞質変性等の所見は、軽微な影響であり、毒性学的意義が不明であることから、BMD 算出の対象から除外してよい。

【長谷川先生コメント】

貧血等の血液学的な影響は、投与開始 22 日目が最大で、12 か月目には影響が軽微であったことから、BMD 算出は不要である。

【事務局より】

先生方からのコメントを踏まえ、BMD 算出の対象としない所見について記載いたしました。ご確認をお願いいたします。

③BMR の設定

EFSA (2016) では、 $BMDL_{10}$ が NOAEL に近いと報告されていること等から、動物実験における二値データについては、BMR として 10%を使用することを推奨している。また、平成 22～24 年度食品健康影響評価技術研究「用量反応性評価におけるベンチマークドース法の適用に関する研究」(広瀬 2013)において、二値データの BMDL を算出する際の BMR として、10%が適切であると報告している。本評価においては、統計学的に検出可能なレベルを考慮し、BMR として 10%を採用することとした。

④BMD 関連指標の算出

BMD 法による BMD 及び BMDL の算出は、EPA の BMDS ver 2.5 を使用し、Gamma、Logistic、Log-Logistic、Multistage、Probit、Log-Probit、Quantal-Linear 及び Weibull の各モデルを用いて解析した。

Gamma、Log-Logistic、Multistage、Log-Probit 及び Weibull の各モデルでは制限 (Restriction) の選択が可能なため、Restriction を選択するモデル (以下「Restriction ON」という。) 及び Restriction を選択しないモデル (以下「Restriction OFF」という。) それぞれについて、BMD 及び BMDL を算出した。

⑤モデルの適合性の評価

各エンドポイントについて、適合モデルを選択するために、動物実験で得られたデータがモデルから顕著に逸脱していないこと、算出した BMD 値の信頼区間が小さいこと、BMDL 値が動物実験の最低用量に近いこと等の条件を満たす以下の基準を適用した。

- 1) 適合度検定 P 値 > 0.1
- 2) $BMDL/BMD > 0.1$
- 3) $BMDL/\text{各試験の最低用量} > 0.1$

⑥基準点の決定

低い BMD_{10} 値及び $BMDL_{10}$ 値が得られたエンドポイントについて検討を行い、 BMD_{10} 値及び $BMDL_{10}$ 値が最も低いエンドポイントを選択し、サンプリングに伴う不確実性を考慮して信頼区間下限値である $BMDL_{10}$ 値を基準点とすることとした。

低い BMD_{10} 値及び $BMDL_{10}$ 値が得られたエンドポイントを表○に示す。

【事務局より】

EFSA (2014) では、発がん影響の BMD を算出する際、雌雄を combined しています。雌雄を combined した BMD を算出した方がよろしいでしょうか。ご教授をお願いいたします。

【広瀬先生コメント】

用量反応性やメカニズムに雌雄差があるかどうかが重要。今回は雄の方の感受性が高いことから combined する必要はない。

【事務局より】

コメントを踏まえ、雌雄の combined はしないことといたしました。

表○ 低い BMD₁₀ 値及び BMDL₁₀ 値が得られたエンドポイント

エンド ポイント	動物種 ／雌雄	モデル	Restriction	P 値	BMD ₁₀ mg/kg 体重/日	BMDL ₁₀ mg/kg 体重/日	BMDL ₁₀ /BMD ₁₀	BMDL ₁₀ /最低用量
十二指腸び まん性上皮 過形成	マウス ／雄	Multis tage3	OFF	0.12	0.14	0.11	0.80	0.29
小腸腺腫/ 癌	マウス ／雌	Multis tage3	OFF	0.10	1.08	0.70	0.64	1.83
小腸腺腫	マウス ／雌	Multis tage3	OFF	0.14	1.25	0.80	0.64	2.10
十二指腸腺 腫	マウス ／雌	Multis tage3	OFF	0.12	1.54	0.94	0.61	2.48

最も低い BMD₁₀ 値及び BMDL₁₀ 値が得られたエンドポイントは、雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成であった。

「ヒトに対する経口発がんリスク評価に関する手引き（清涼飲料水を対象）」では非発がん影響と発がん影響の評価は独立して実施するとしているが、上述の結果及び発がんメカニズムの考察から、マウスにみられた小腸のびまん性上皮過形成は小腸腫瘍の前がん病変であると考えられたため、非発がん影響と発がん影響を分けずに評価することが適切であると判断し、雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成に基づき算出した BMDL₁₀ の値 0.11 mg/kg 体重/日を基準点として選定した。選定したモデルを図○に示す。なお、雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成について、全てのモデルにお

ける $BMDL_{10}$ 等の算出結果を表○に示す。

【事務局より】

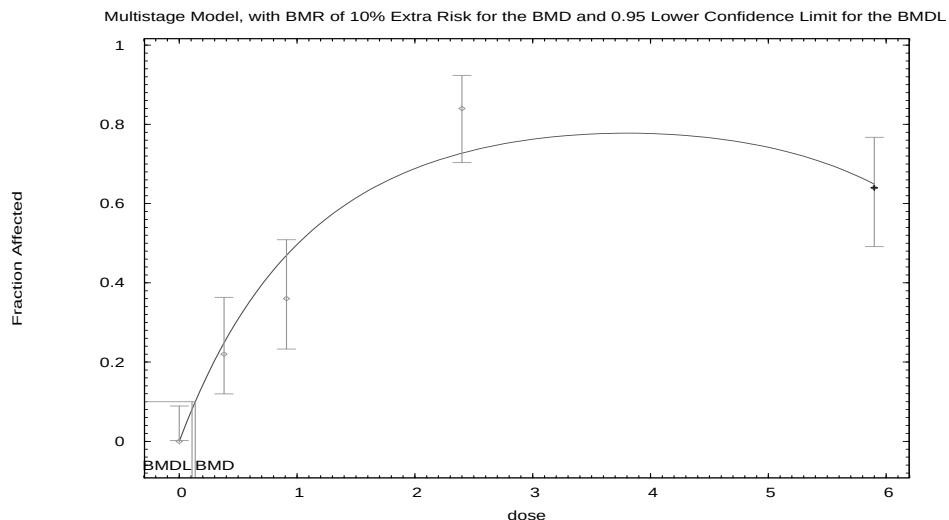
「ヒトに対する経口発がんリスク評価に関する手引き（清涼飲料水を対象）」では非発がん影響と発がん影響の評価は原則独立して実施するとされていますが、六価クロムの評価ではどのように評価したらよろしいでしょうか。ご教授をお願いいたします。

【広瀬先生コメント】

今回は、発がんメカニズムの考察において、最も低い BMD_{10} 値及び $BMDL_{10}$ 値が得られた雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成は小腸腫瘍の前がん病変であると考えられたことから、非発がん影響と発がん影響を独立して評価する必要はない。

【事務局より】

コメントを踏まえ、非発がん影響と発がん影響を分けずに評価する旨を記載いたしました。ご確認をお願いいたします。



図○ 雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成（NTP 2008）の Multistage3 モデル曲線

【事務局より】

ATSDR draft（2008）、ATSDR（2012）では、十二指腸のびまん性上皮過形成について、雄マウスは上から 1 用量、雌マウスは上から 2 用量を外して $BMDL_{10}$ を算出しています。最高用量を外した方がよろしいでしょうか。ご教授をお願いいたします。

【広瀬先生コメント】

高用量も含めてフィッティングをかけることについて、統計学的に外す理由はない。

【渋谷先生コメント】

MTD (Maximum Tolerated Dose) くらいの全身影響がみられている用量は外すなど、ルールを作った方がよいのではないかな。高用量が普遍的に下がる等、外す理由がない限り、外すべきではないのではないかな。

【事務局より】

先生方からのコメントを踏まえ、最高用量は外さないことといたしました。

表○ 雄マウスの十二指腸のびまん性上皮過形成 (NTP 2008)

Model Name	Restriction	AIC	P 値	BMD ₁₀ mg/kg 体重/日	BMDL ₁₀ mg/kg 体重/日	BMDL ₁₀ /BMD ₁₀	BMDL ₁₀ /最低用量 0.38 mg/kg 体重/日
Gamma	ON	270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65
Logistic		296.25	0	0.90	0.74	0.83	1.95
LogLogistic	ON	247.93	0.0008	0.15	0.12	0.77	0.31
LogLogistic	OFF	248.90	0.0008	0.10	0.03	0.29	0.08
LogProbit	ON	274.38	0	0.48	0.36	0.75	0.95
LogProbit	OFF	249.19	0.0008	0.11	0.03	0.32	0.09
Multistage2	ON	270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65
Multistage2	OFF	270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65
Multistage3	ON	270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65
Multistage3	OFF	237.59	0.12	0.14	0.11	0.80	0.29
Probit		296.18	0	0.90	0.76	0.84	1.99
Weibull	ON	270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65
Weibull	OFF	251.40	0.0003	0.04	0.01	0.18	0.02
Quantal-Linear		270.99	0	0.31	0.25	0.81	0.65

※Logistic、Probit、Quantal-Linear のモデルは、Restriction の有無が設定されていないモデルである。

