Rats and Mice Are Not Small Humans: Human Risk Assessment Based on Animal Studies

Samuel M. Cohen, M.D., Ph.D.

Department of Pathology and Microbiology

University of Nebraska Medical Center

Omaha, NE, USA

Presentation to the Food Safety Commission
July 25, 2008

ラットとマウスは『小さな人間』ではない
:動物実験に基づくリスク評価

サミュエル コーエン（医学博士）
病理・微生物学部
ネブラスカ大学 メディカルセンター
オマハ ネブラスカ, 米国

Presentation to the Food Safety Commission
July 25, 2008

All substance are poisons; there is none which is not a poison. The right dose differentiates poisons from a remedy

Paracelsus

"The poison is in the dose."

"The carcinogen is in the dose."

全ての物質は毒である
毒でないものはない
適正な用量が毒と薬を分ける

パラケルサス

“毒は用量しだい”

“発がん物質は用量しだい”

Does it Cause Cancer in Humans?

ヒトでのがんの原因となりますか？

Basic Assumptions Using Bioassays for Human Risk Assessment

- Carcinogenic effects at high dose will also occur at low dose (dose extrapolation)

- Chemicals that cause cancer in rodents will cause cancer in humans (species extrapolation)

ヒトのリスク評価にバイオアッセイを用いる際の基本的前提

- 高用量での発がん作用は、
  低用量でもまた起こるだろう　（用量間で外挿）

- げっ歯類でがんを引き起こす化学物質は
  ヒトにおいてもがんを引き起こすだろう
  （種間で外挿）

What We Know

- Genetic alterations are required for cancer formation
- More than one genetic alteration required
- DNA damage becomes permanent during replication
- DNA replication fidelity is not 100%

我々が知っていること

- がんの形成には遺伝子の変異が必要である
- 二ヶ所以上の遺伝子変異が必要である
- DNA損傷は複製によって恒久的なものとなる
- DNAは100%正確に複製されるわけではない

Endogenous Factors

- Replication errors (mismatch repair)
- Oxidative damage
- Depurination (depyrimidination)
- Deamination
- Inappropriate alkylation
- Nitric oxide
- Exocyclic adducts

内因性因子

- 複製の誤り（不適正塩基対の修復）
- 活性酸素による損傷
- 脱プリン反応（脱ピリミジン）
- 脱アミノ反応
- 不適切なアルキル化
- 一酸化窒素
- 環外付加体

Means of Increasing Risk of Cancer

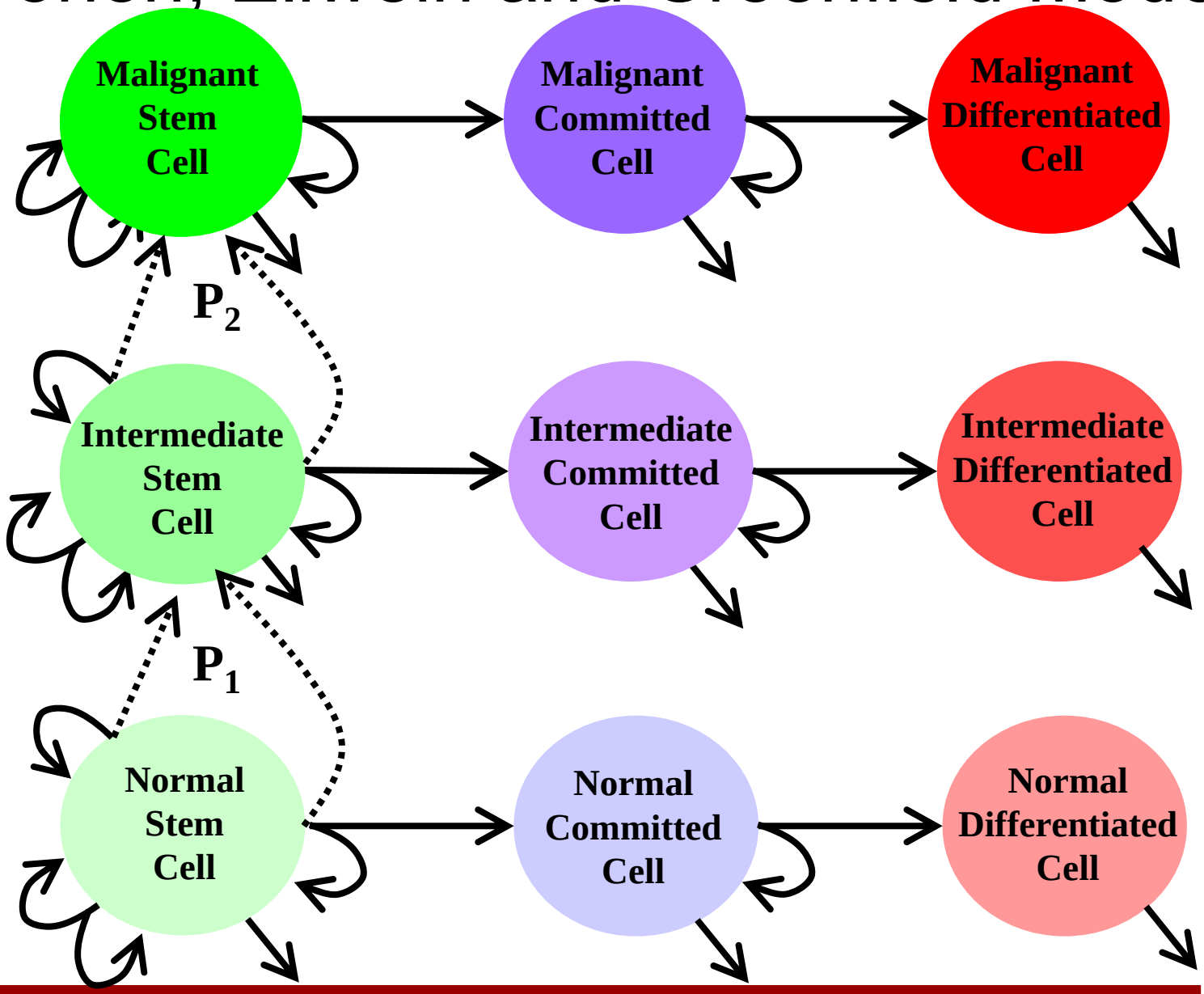
- Increase rate of DNA damage per cell division (DNA reactive carcinogens)
- Increase number of cell divisions (non-DNA reactive carcinogens)

発がんリスク増加の手段

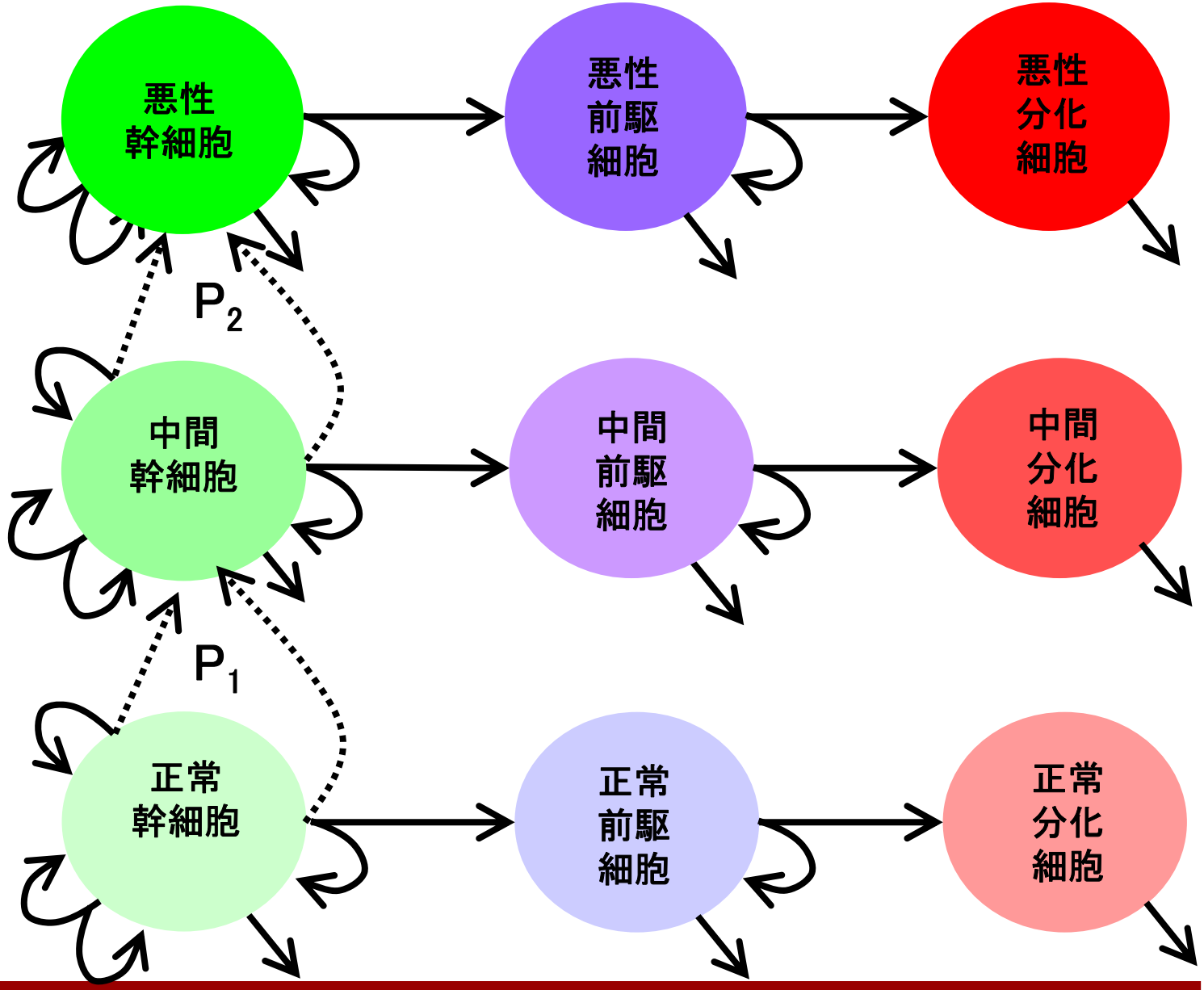
- 細胞分裂あたりのDNA損傷率の増加
  （DNA 反応性発がん物質）

- 細胞分裂回数の増加
  （DNA非反応性発がん物質）

Cohen, Ellwein and Greenfield Model



コーエン、エルバイン及びグリーンフィールドによるモデル



Human Relevance Framework

- IPCS-Mode of action of chemical carcinogenesis
  Sonich-Mullin et al., Regul. Toxicol. Pharmacol. 34:146-152-, 2001
- ILSI/RSI (EPA, Health Canada)- Human relevance framework for chemical carcinogens
  Meek et al., Crit. Rev. Toxicol. 33:591-653, 2003
- ILSI/EPA, Health Canada)- Human Relevance of mode of action and life stage information of animal toxicity data
  Seed et al., Crit. Rev. Toxicol, 35:663-672, 2005
- IPCS-Human relevance framework for chemical carcinogens
  Boobis et al., Crit. Rev. Toxicol. 36: 781-792, 2006
- IPCS- Human relevance framework for non-cancer toxicities
  Boobis et al., Crit. Rev. Toxicol. 38:87-96, 2008

ヒトでの関連性に関するフレームワーク

- 発がん性化学物質の作用機序を評価するIPCS（国際化学物質安全性計画）概念的枠組み
  Sonich-Mullin et al., Regul. Toxicol. Pharmacol. 34:146-152-, 2001
- 発がんの作用機序に関する情報のヒトでの関連性解析のためのILSI/RSI （EPA、Health Canada）の枠組み
  Meek et al., Crit. Rev. Toxicol. 33:591-653, 2003
- 概論：作用機序及びライフステージ情報を使って動物の毒性データのヒトでの関連性を評価する
  Seed et al., Crit. Rev. Toxicol, 35:663-672, 2005
- ヒトでの発がん作用機序の関連性解析のためのIPCS枠組み
  Boobis et al., Crit. Rev. Toxicol. 36: 781-792, 2006
- ヒトでの非-発がん機序への関連性解析のためのIPCS枠組み
- *Boobis et al., Crit. Rev. Toxicol. 38:87-96, 2008*

Human Relevance Framework

- Is the weight of evidence sufficient to establish mode of action (MOA) in animals?
  - Modified Hill criteria
  - Life stage consideration
- Can human relevance of the MOA be reasonably excluded on the basis of fundamental, qualitative differences in key events between experimental animals and humans?
- Can human relevance of the MOA be reasonably excluded on the basis of quantitative differences in either kinetic or dynamic factors between experimental animals and humans?
- Are there any quantitative differences in the key events such that default values for uncertainty factors for species or individual differences could be modified?
- Statement of confidence, analysis, and implications

ヒトでの関連性に関するフレームワーク

- 動物における作用機序（MOA）を確立するためのエビデンスの重みは十分であるか？
  - 変更されたヒルの基準
  - ライフステージの考慮

- 実験動物とヒトとの間には主要事象に基本的・定性的相違があるという理由で、その作用機序のヒトでの関連性を排除することはできるか？

- 実験動物とヒトとの間には、薬物動態学的もしくは薬物力学的諸要因に量的相違が存在することを理由に、その作用機序のヒトでの関連性を排除することはできるか？

- 種差や個体差に関する不確実係数の初期値が変わるような量的相違が主要事象に存在するのか？

- 信頼度、解析及び意味合いの記述

IPCS Conceptual Framework - Mode of Action in Animals

1. Introduction
   - ✓ Scope – which tumor? One at a time
2. Postulated Mode(s) of Action
   - ✓ Sequence of events on the path to cancer
3. Key Event
   - ✓ Measurable events critical to induction of toxicity consistent with hypothesized mode of action
   - ✓ Clear, repeatable

IPCSの概念的枠組み
ー動物における作用機序ー

1. イントロダクション
   - ✓ 範囲 – どの腫瘍? 一度に一つずつ

2. 仮定される作用機序
   - ✓ がんへ至る一連の現象

3. 主要事象
   - ✓ 仮定される作用機序と矛盾しない毒性誘導に重要な測定可能な各種事象
   - ✓ 明瞭、再現可能性

IPCS Conceptual Framework (cont'd)

4. Dose-Response Relationship

- ✓ Concordance of dose-response for key events with that for toxic endpoint

5. Temporal Association

- ✓ Requisite but not necessarily sufficient steps

6. Strength, Consistency, Specificity

- ✓ Association of tumors with key events

IPCS の概念的枠組み (続き)

4. 用量反応関係

- ✓ 毒性のエンドポイントの用量反応と主要事象の用量反応の一致

5. 時間的関連性

- ✓ 必要ではあるが、必ずしも十分なステップではない。

6. 強さ, 一貫性, 特異性

- ✓ 主要事象とがんの関連性

IPCS Conceptual Framework (cont'd)

7. Biological Plausibility and Coherence

- ✓ Consistent with current understanding of biology, toxicity, SAR, genotoxicity

• Other Modes of Action

- ✓ Framework analysis for other possibilities

7. Assessment

- ✓ Sufficiency of data, degree of confidence

8. Uncertainties

- ✓ Inconsistencies/data gaps
- ✓ Critical/supportive research

IPCS の概念的枠組み (続き)

7. 生物学的妥当性と整合性

- ✓ 生物学、毒性、安全性分析報告書、遺伝毒性に関して現時点で理解されていることとの一致

8. 他の作用機序

- ✓ 他の可能性を解析するフレームワーク

9. 評価

- ✓ 十分なデータ、信頼度

10. 不確実性

- ✓ 矛盾またはデータギャップ
- ✓ 否定または肯定する研究

Qualitative Relevance

- Mode of action specific
- Concordance analysis of key events in animal models and in humans
- Chemical specific and/or generic data from humans

質的関連性

- 作用機序の特異性
- 動物モデルと人間の主要事象の一致を解析
- ヒトから得られた化学物質に特異的な、
  または／あるいは一般的なデータ

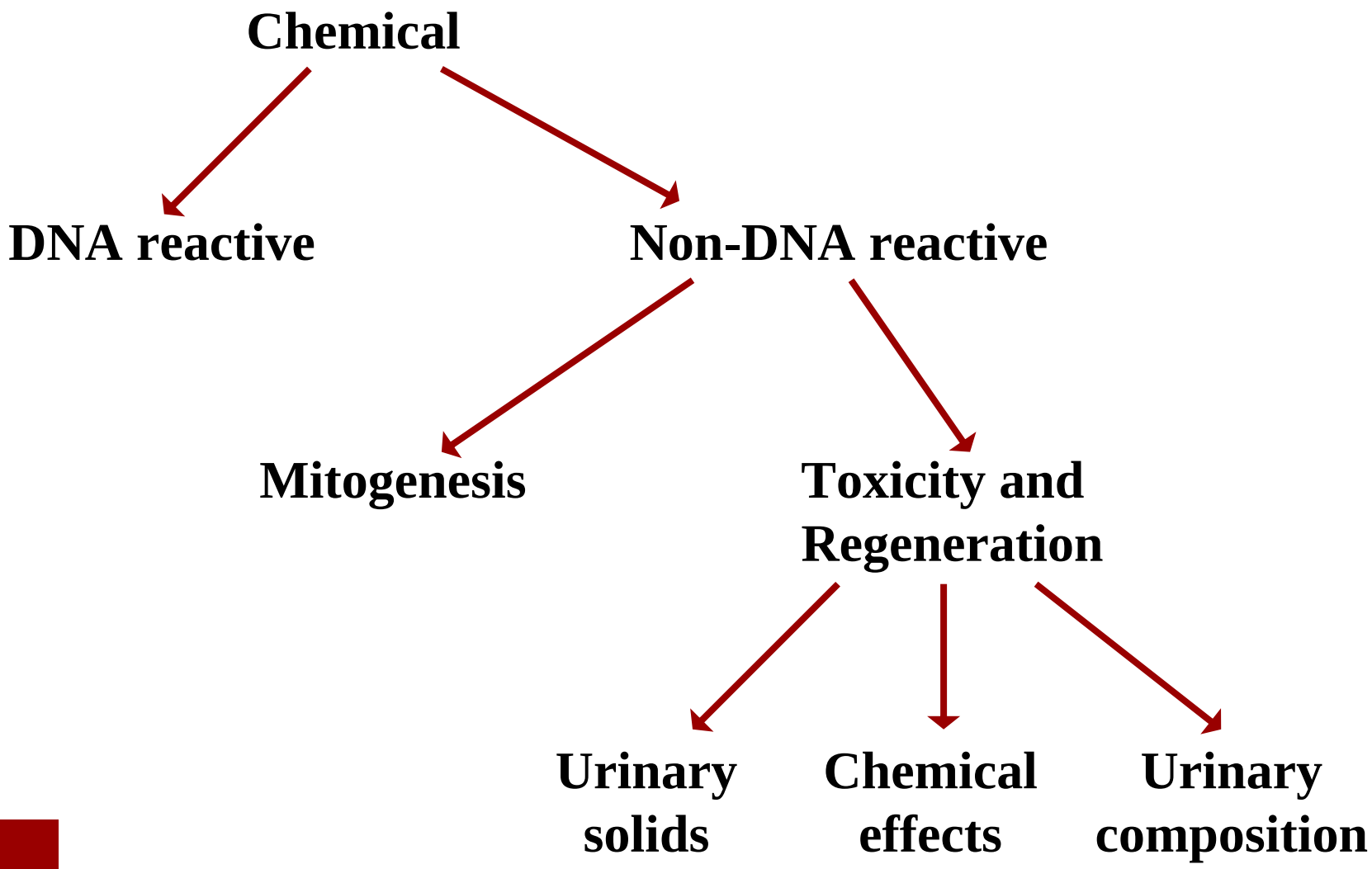
Quantitative Relevance

- Quantitative assessment
- Chemical specific and mode of action specific
- Chemical specific and/or generic data from humans

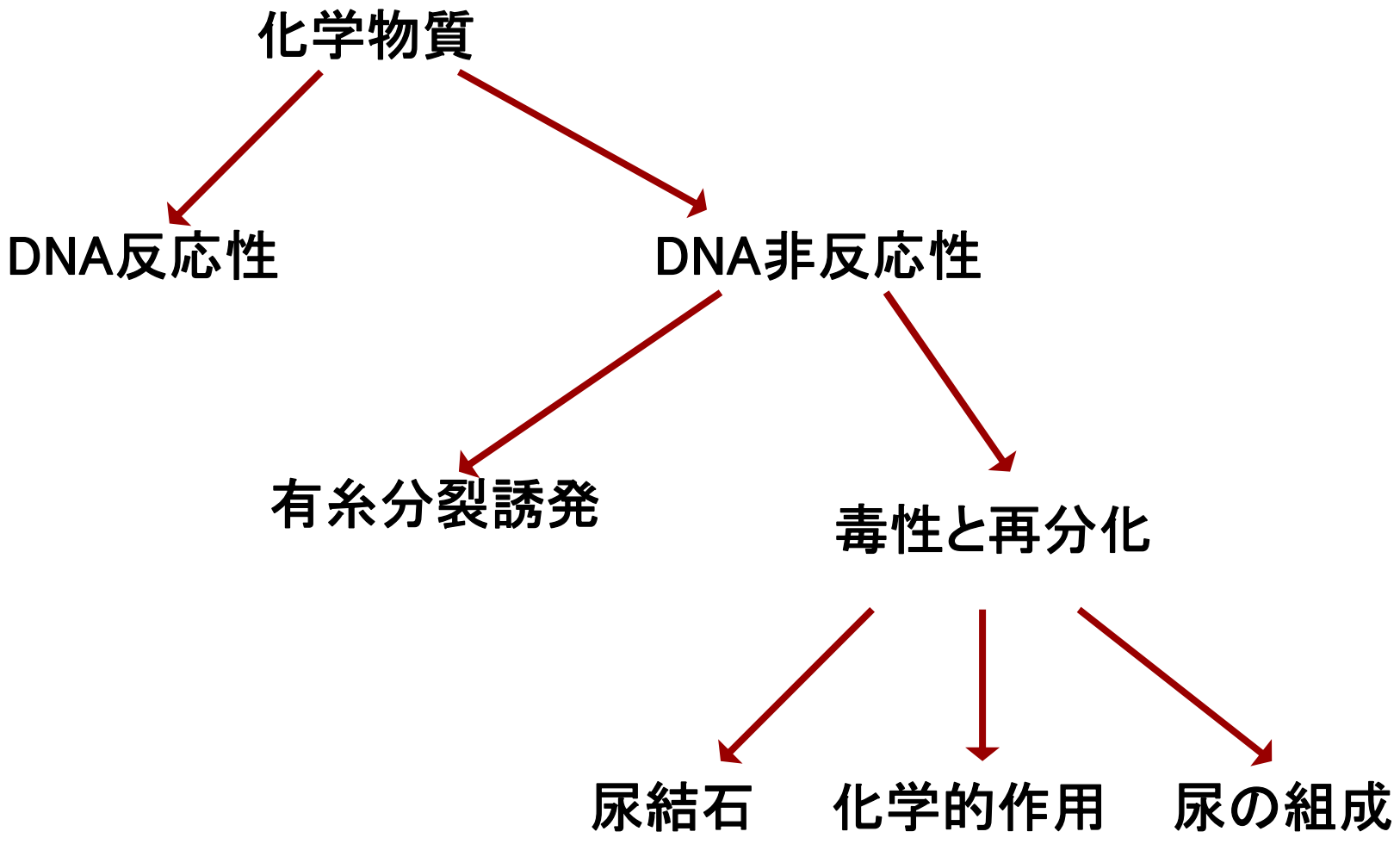
量的関連性

- 量的評価
- 化学物質に特異的または作用機序に特異的
- ヒトから得られた化学物質特異的または／あるいは一般的データ

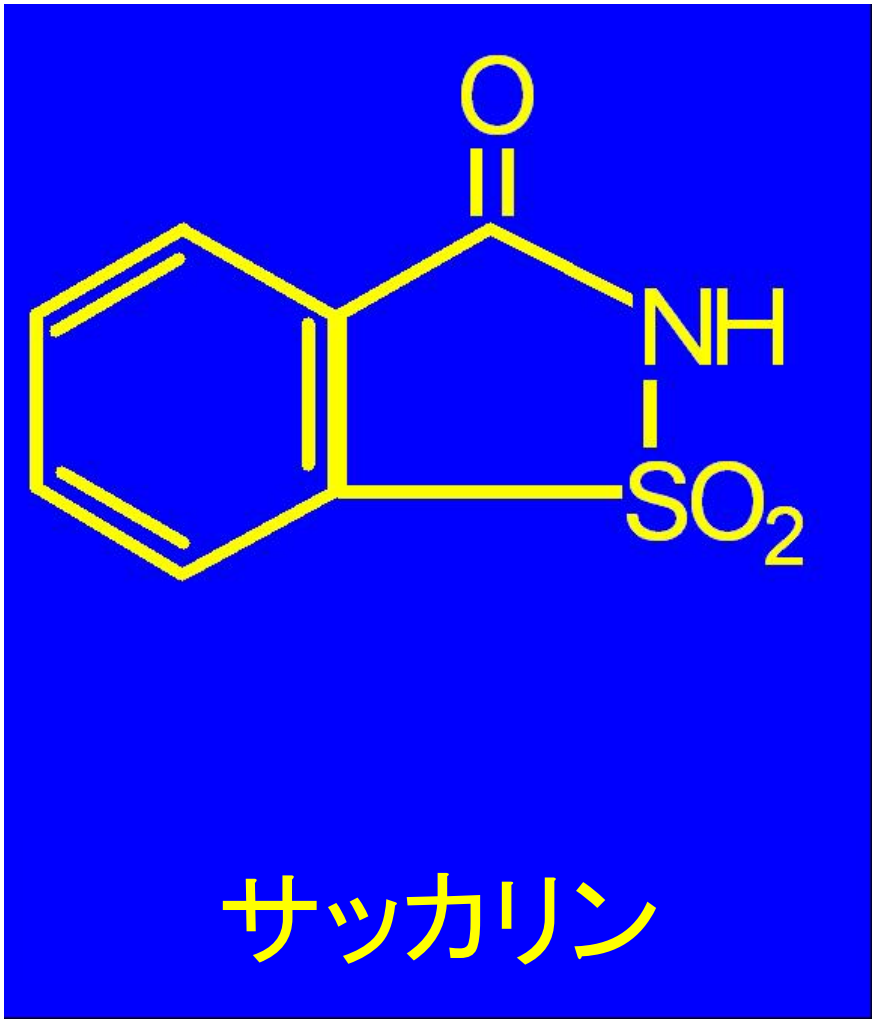
Bladder Carcinogenesis



膀胱がん発症

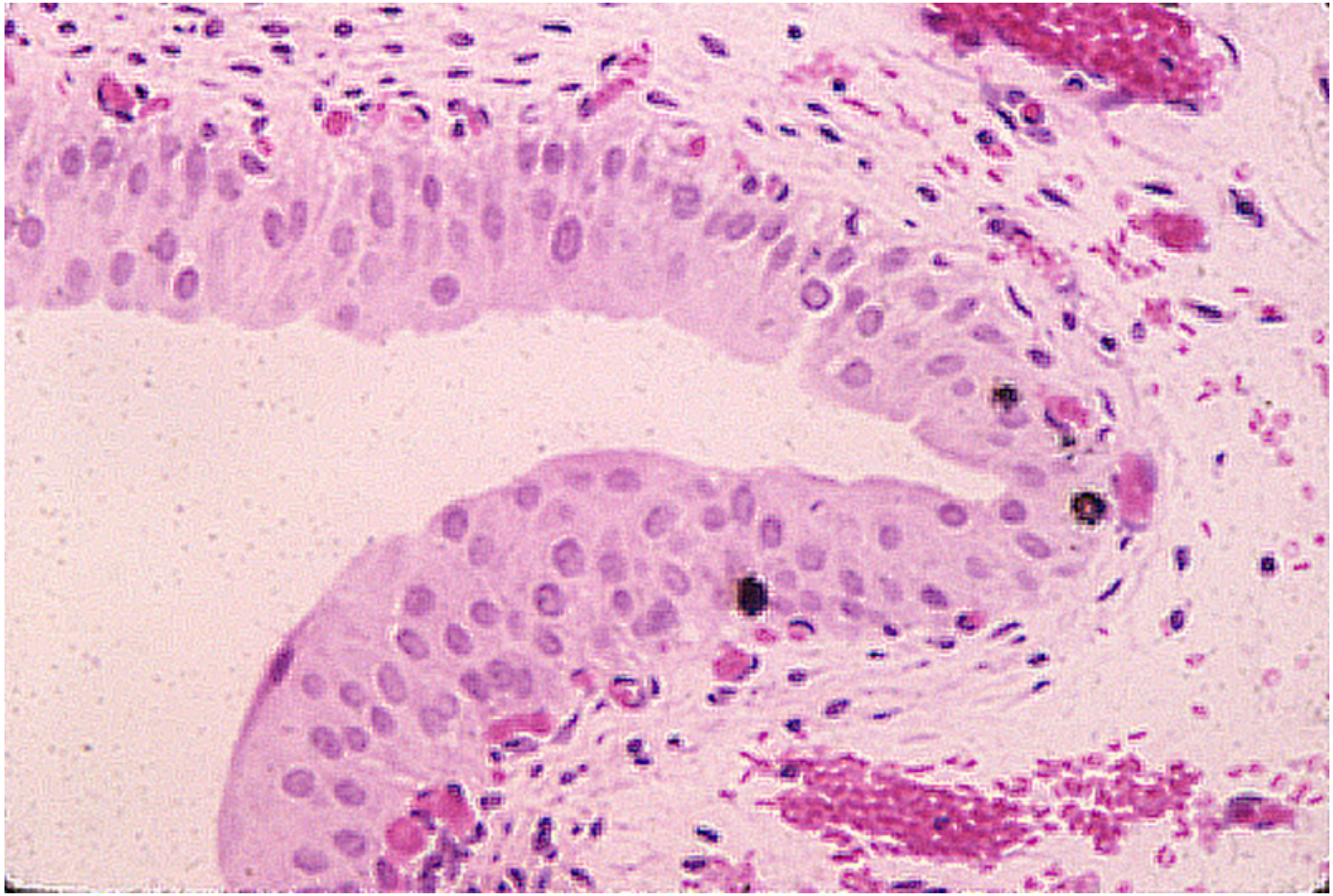


Induces Bladder Tumors in Rats in 2-Generation Assay

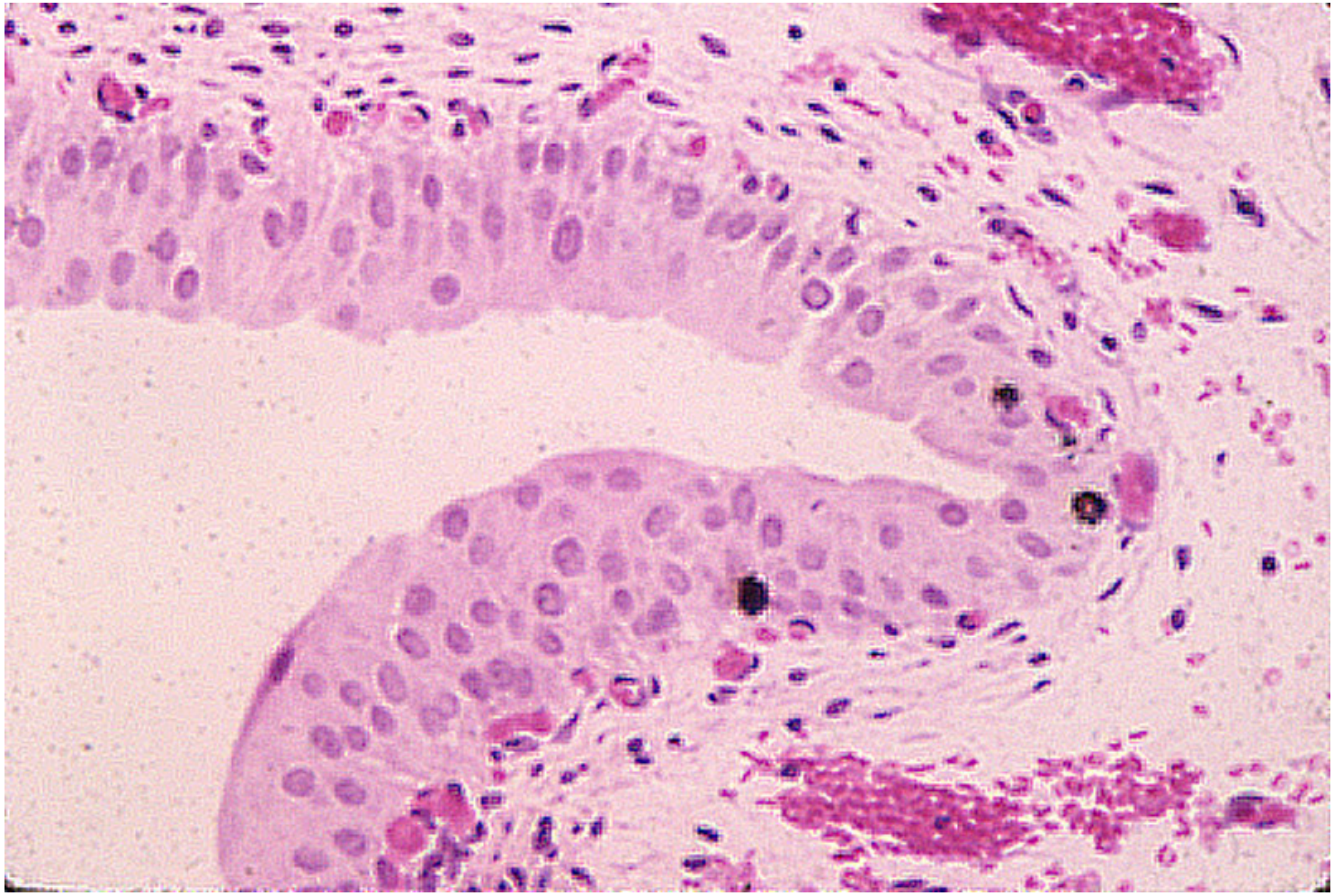


ラットの2世代繁殖試験において、
膀胱腫瘍を誘導

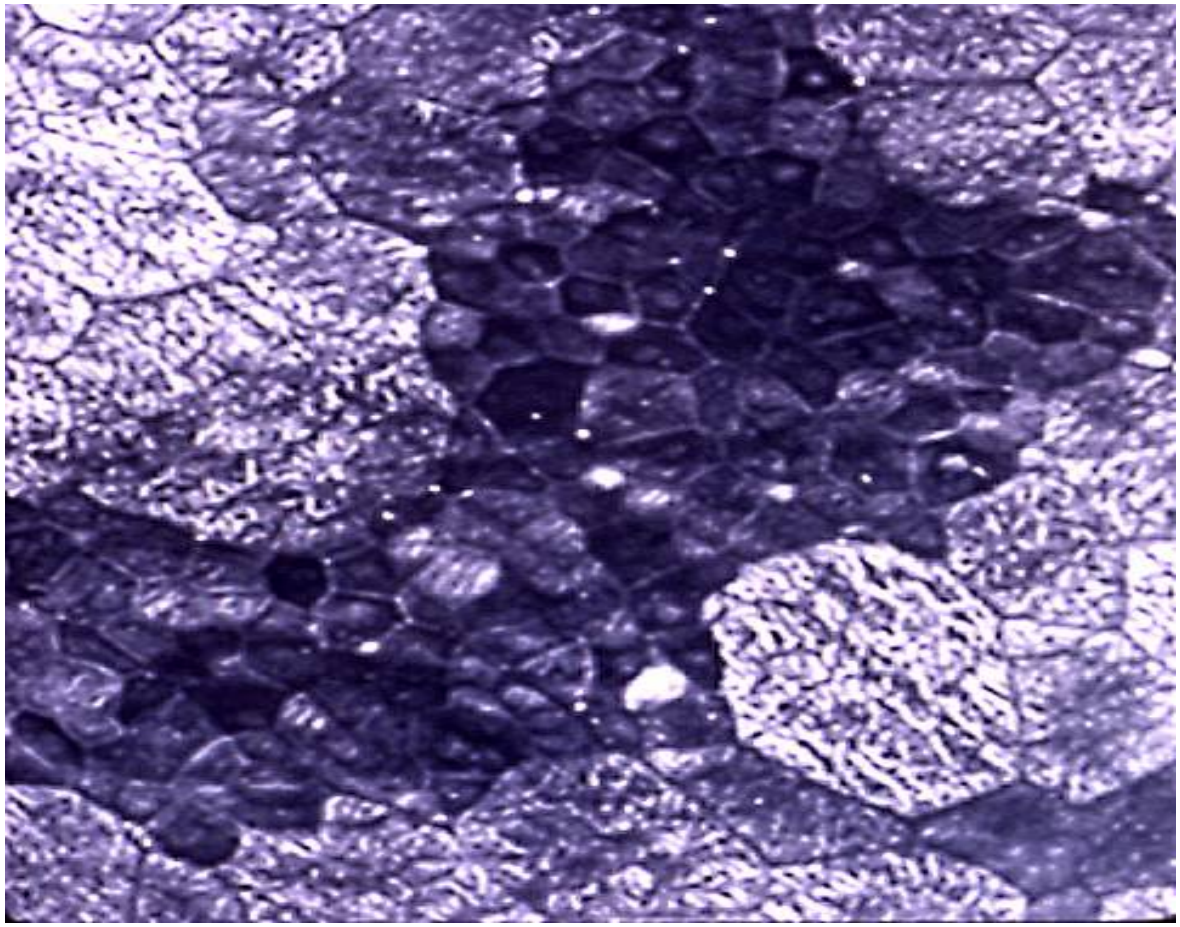
Increased Cell Proliferation of Bladder Mucosa in Rats Fed Sodium Saccharin



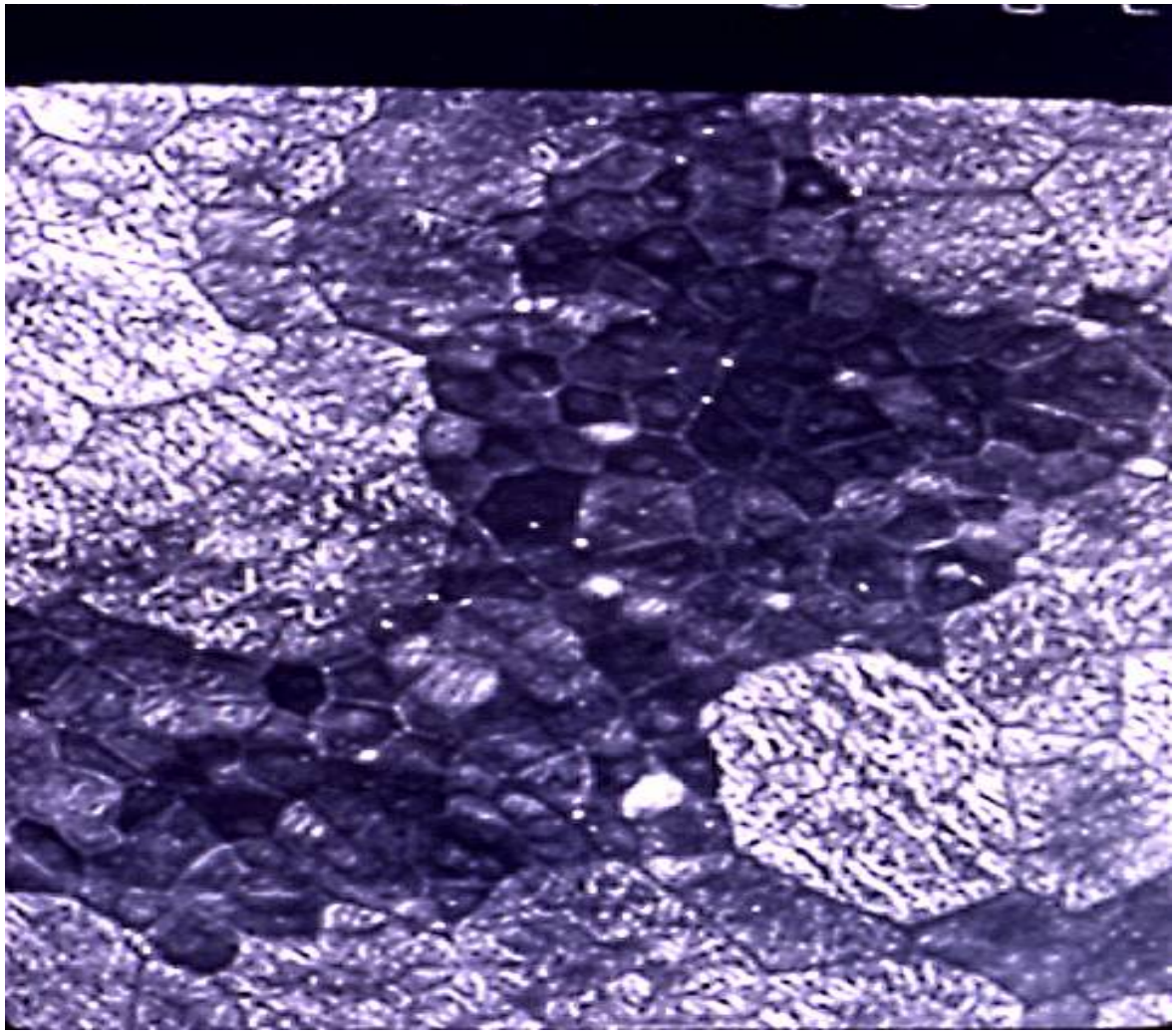
サッカリンナトリウムを与えたラットでの膀胱粘膜における細胞増殖の亢進



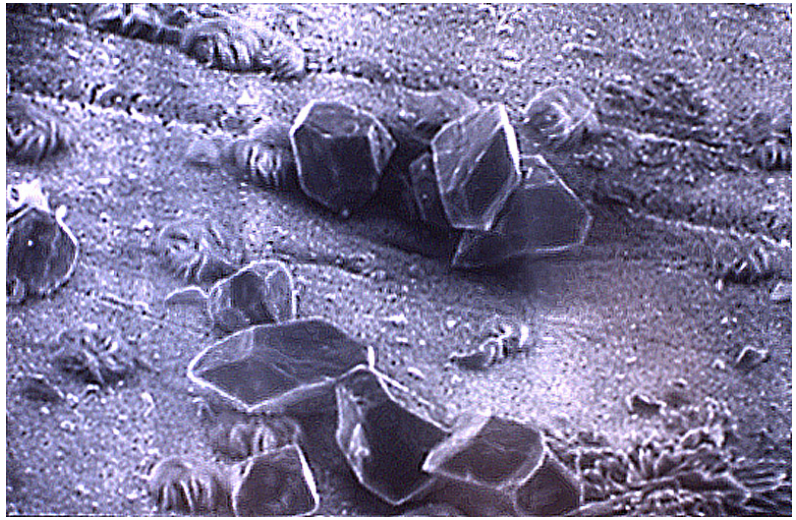
Focal Superficial Urothelial Erosion (Necrosis) Induced in Rats Fed Sodium Saccharin



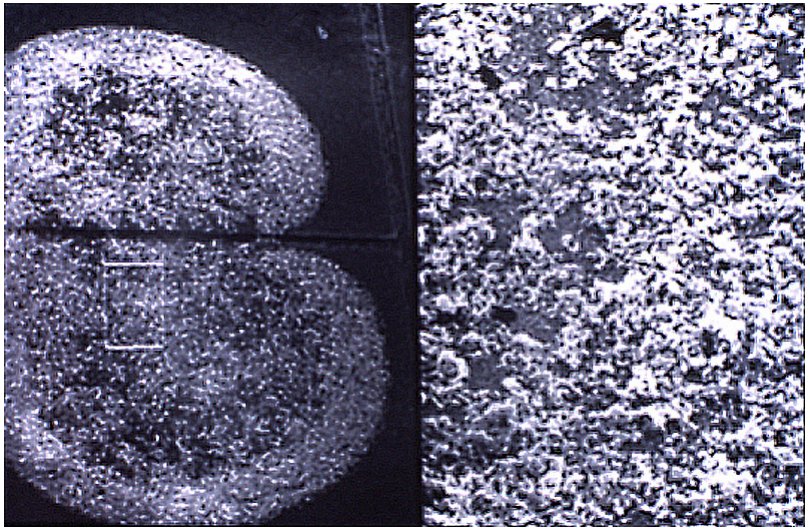
サッカリンナトリウムを与えたラットで誘導された限局性表層性尿路上皮びらん（壊死）



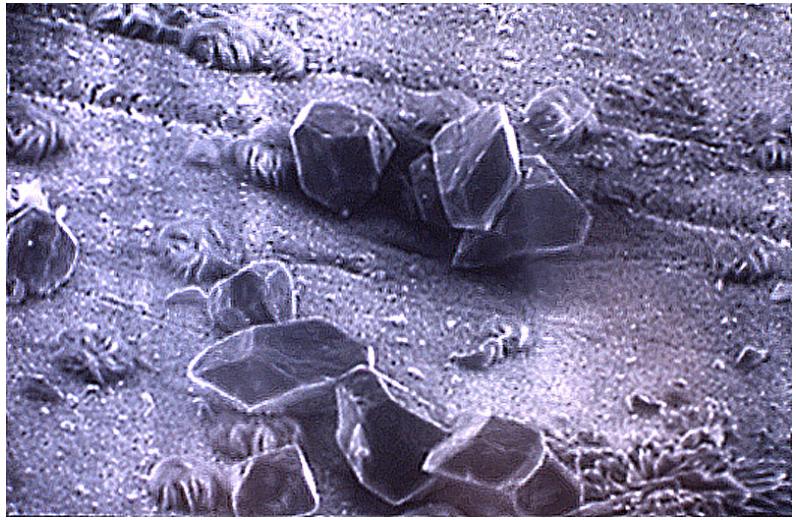
Magnesium Ammonium Phosphate Crystals in Control Rat Urine



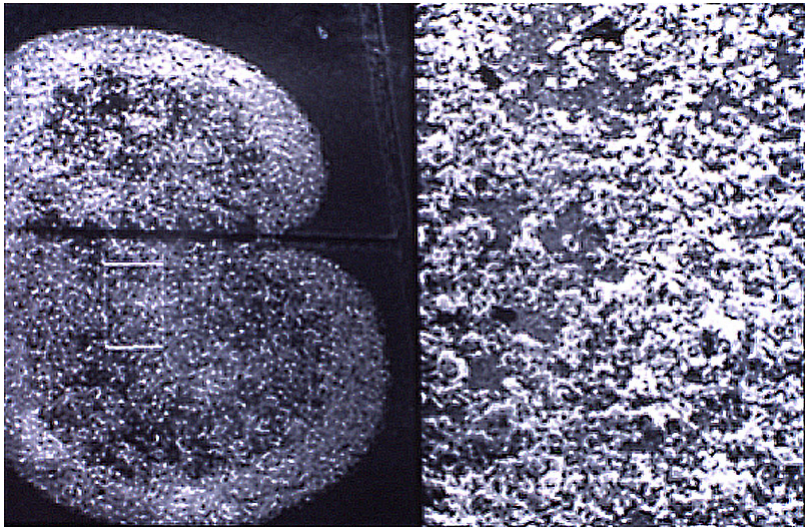
Calcium Phosphate-Containing Precipitate in Urine of Rats Fed Sodium Saccharin



対照ラット膀胱における
リン酸アンモニウムマグネシウム
結晶



サッカリンナトリウムを与えた
ラットにおけるリン酸カルシウム
を含む尿沈渣



Concordance Analysis of Saccharin

Key Event	Rats		Mice	Humans
	Sodium Saccharin	Acid Saccharin	Sodium Saccharin	Sodium Saccharin
Ingestion of large amounts of saccharin	+	+	+	+
- As Na salt	+	-	+	+
Alteration of urine composition	+	- (pH <6.5)	- (low Ca^{+2} and PO_4^{-3})	- (low protein, osmolality)
Calcium phosphate-containing urinary precipitate	+	-	-	-
Superficial urothelial necrosis	+	-	-	-
Regenerative proliferation	+	-	-	-
Bladder Tumors	+	-	-	-

サッカリンの一致分析

主要事象	ラット		マウス	ヒト
	サッカリンナトリウム	サッカリン	サッカリンナトリウム	サッカリンナトリウム
サッカリン大量摂取	+	+	+	+
- ナトリウム塩として	+	-	+	+
尿組成の変化	+	- （pH <6.5）	- （低 Ca^{+2}及び PO_4^{-3}）	- （低タンパク質、浸透圧）
リン酸カルシウムを含む尿沈渣	+	-	-	-
表層性尿路上皮びらん	+	-	-	-
再生増殖	+	-	-	-
膀胱腫瘍	+	-	-	-

TABLE 1

SUMMARY OF CASE-CONTROL STUDIES ON ARTIFICIAL SWEETENERS AND BLADDER CANCER

Reference	No. cases	Male RR (95%CI)	Female RR (95% CI)	Both sexes RR (95% CI)
Morgan and Jain (1974)	232	1.00 (0.6-1.8)	0.35 (0.2-0.8)	.069 (0.4-1.1)
Simon *et al.* (1975)	135	----	1.00 (0.5-1.7)	----
Wynder and Goldsmith (1977)	163	0.74 (0.5-2.1)	0.71 (0.2-4.2)	0.73 (0.2-1.4)
Connolly *et al.* (1978)	341	0.93 (0.6-1.4)	0.70 (0.4-1.3)	0.86 (0.6-1.2)
Howe *et al.* (1977)	632	1.60 (1.1-2.3)	0.60 (0.3-1.1)	1.19 (0.7-1.4)
Kessler and Clark (1978)	519	1.11 (0.8-1.6)	0.80 (0.5-1.4)	1.04 (0.8-1.4)
Hoover and Strasser (1980)	3000	0.99 (0.9-1.1)	1.07 (0.9-1.3)	1.01 (0.9-1.1)
Morrison and Buring (1980)	453	0.80 (0.5-1.1)	1.50 (0.9-2.6)	0.93 (0.7-1.2)
Wynder and Stellman (1980)	367	0.93 (0.7-1.3)	0.62 (0.3-1.4)	0.88 (0.6-1.2)
Cartwright *et al.* (1981)	328 (NS)	2.24 (1.3-3.8)	1.60 (0.8-3.2)	1.92 (1.2-2.9)
	513 (S)	0.90 (0.6-1.3)	1.20 (0.5-2.6)	0.92 (0.6-1.2)
Morrison *et al.* (1982)	524 (UK)	0.91 (0.7-1.2)	0.90 (0.6-1.4)	0.88 (0.7-1.1)
	289 (J)	0.70 (0.5-0.9)	0.50 (0.3-0.8)	0.61 (0.4-0.8)
Najem *et al.* (1982)	74	----	----	1.30 (0.6-2.8)
Mommsen *et al.* (1983)	47	----	6.73 (1.5-30.2)	----
Risch *et al.* (1988)	826	0.95 (0.7-1.2)	1.10 (0.7-1.8)	NA
Piper *et al.* (1986)	173	----	1.10 (0.7-1.7)	----

Note. RR, Relative risk; CI, 95% confidence interval; NS, nonsmokers; S, smokers; UK, United Kingdom; J, Japan; NA, not available.

Elcock & Morgan, Reg. Toxicol. Pharmacol., 17:35-43. 1993

TABLE 1

人工甘味料と膀胱がんの患者対照研究の概要

文献	症例数	男性RR (95%CI)	女性 RR (95% CI)	両性 RR (95% CI)
Morgan and Jain (1974)	232	1.00 (0.6–1.8)	0.35 (0.2–0.8)	.069 (0.4–1.1)
Simon*et al.* (1975)	135	----	1.00 (0.5–1.7)	----
Wynder and Goldsmith (1977)	163	0.74 (0.5–2.1)	0.71 (0.2–4.2)	0.73 (0.2–1.4)
Connolly*et al.* (1978)	341	0.93 (0.6–1.4)	0.70 (0.4–1.3)	0.86 (0.6–1.2)
Howe *et al.* (1977)	632	1.60 (1.1–2.3)	0.60 (0.3–1.1)	1.19 (0.7–1.4)
Kessler and Clark (1978)	519	1.11 (0.8–1.6)	0.80 (0.5–1.4)	1.04 (0.8–1.4)
Hoover and Strasser (1980)	3000	0.99 (0.9–1.1)	1.07 (0.9–1.3)	1.01 (0.9–1.1)
Morrison and Buring (1980)	453	0.80 (0.5–1.1)	1.50 (0.9–2.6)	0.93 (0.7–1.2)
Wynder and Stellman (1980)	367	0.93 (0.7–1.3)	0.62 (0.3–1.4)	0.88 (0.6–1.2)
Cartwright*et al.* (1981)	328 (NS)	2.24 (1.3–3.8)	1.60 (0.8–3.2)	1.92 (1.2–2.9)
	513 (S)	0.90 (0.6–1.3)	1.20 (0.5–2.6)	0.92 (0.6–1.2)
Morrison*et al.* (1982)	524 (UK)	0.91 (0.7–1.2)	0.90 (0.6–1.4)	0.88 (0.7–1.1)
	289 (J)	0.70 (0.5–0.9)	0.50 (0.3–0.8)	0.61 (0.4–0.8)
Najem *et al.* (1982)	74	----	----	1.30 (0.6–2.8)
Mommsen*et al.* (1983)	47	----	6.73 (1.5–30.2)	----
Risch*et al.* (1988)	826	0.95 (0.7–1.2)	1.10 (0.7–1.8)	NA
Piper*et al.* (1986)	173	----	1.10 (0.7–1.7)	----

註） PR:相対リスク、 CI:95%信頼区間、 NS:非喫煙者、 S:喫煙者、 UK:イギリス、 J:日本、 NA:利用不可

Elcock & Morgan, Reg. Toxicol. Pharmacol., 17:35–43. 1993

Sodium Saccharin Bladder Carcinogenicity Occurs Only At

HIGH DOSES

and is

SPECIES SPECIFIC TO RATS

サッカリンナトリウムの膀胱での発がん性は次の条件下でのみ認められる

高用量

で

ラットに対して種特異的に

Sodium Salts Affecting the Male Rat Bladder

Saccharin

Ascorbate

Glutamate

Erythorbate

Aspartate

Citrate

Succinate

Bicarbonate

Phosphate

Chloride

雄ラットの膀胱に影響するナトリウム塩

サッカリン
アスコルビン酸塩
グルタミン酸塩
エリソルビン酸塩
アスパラギン酸塩
クエン酸塩
コハク酸塩
重炭酸塩
リン酸塩
塩化物

Screen for Bladder Carcinogens and MOA Analysis

1. Initial screen for potential carcinogenic activity for the urinary bladder
   - ✓ $\leq$ 13 week administation to rats and mice at doses up to MTD
   - ✓ Effect on bladder (hyperplasia, $\uparrow$BrdU labeling, index)
2. Mode of Action analysis
   - ✓ DNA reactivity (Ames assay, SAR, DNA adducts)
   - ✓ Mitogenicity vs. cytoxicity and regeneration ($\leq$ 13 wks., SEM and light microscopy)
3. Detailed dose response for key events
4. Human relevance evaluation

膀胱での発がん性と作用機序解析のためのスクリーニング

1. 膀胱への発がん作用の可能性をみる初期スクリーニング
   - ✓ MTDまで用量を上げたラットマウスへの投与（最長13週まで）
   - ✓ 膀胱への作用（過形成、BrdU（ブロモデオキシウリジン）標識、指標）
2. 作用機序解析
   - ✓ DNA反応性（エームス試験、構造活性相関、DNA付加物）
   - ✓ 有糸分裂誘発性 対 細胞傷害及び再生（最長13 週まで、SEM と 光学顕微鏡）
3. 主要事象に関する詳細な用量反応
4. ヒトでの関連性を評価

Mode of Action for Hepatocellular Carcinogenesis

I. DNA Reactivity

Metabolic activation → DNA adducts → DNA damage

II. Increased cell proliferation

A. Receptor mediated

1. PPARα (peroxisome proliferation)
2. Enzyme induction (CAR, PXR, AHR)
3. Estrogen
4. HMG-CoA Reductase Inhibitors (Statins)
5. Other

B. Non-receptor mediated

1. Cytotoxicity
2. Viral
3. Iron overload
4. Increased apoptosis (e.g. fumonisin B1)
5. Other

肝細胞がん発症機序

I. DNA 反応性

代謝活性化 → DNA付加物 → DNA 損傷

II. 細胞増殖の亢進

A. 受容体介在性

1. PPARα（ペルオキシソーム増殖）
2. 酵素誘導（CAR、PXR、AHR）
3. エストロゲン
4. HMG-CoA還元酵素阻害剤（スタチン製剤）
5. 他

B. 受容体非介在性

1. 細胞傷害性
2. ウイルス
3. 鉄過剰
4. アポトーシスの増加（フモニシンB1など）
5. 他

Cytotoxicity - Chloroform

Key Event	*Rodent*	*Human*
Generation of phosgene/HCl by CYP2E1	Yes	No
Cytotoxicity	Yes	Yes
Regeneration/ Proliferaton	Yes	No data- possible
Tumors	Yes	Inadequate data- possible

細胞傷害 – クロロホルム

主要現象	*げっ歯類*	*ヒト*
CYP2E1によるホスゲン/塩酸の発生	Yes	No
細胞傷害	Yes	Yes
再生/増殖	Yes	データなし– 可能性
腫瘍	Yes	不十分なデータ– 可能性

Cytotoxicity - Chloroform

Implications for Risk Assessment

- ✓ **Mode of action possible in humans**
- ✓ **High dose phenomenon – threshold**
- ✓ **Sustained exposure required**

細胞傷害 – クロロホルム

リスクアセスメントの意味

- ✓ ヒトであり得る作用機序
- ✓ 高用量での現象 – 閾値（いきち）
- ✓ 持続的暴露の必要性

90 Day Screen for Rodent Hepatocarcinogens

- Hepatocellular necrosis
- Hepatocellular hypertrophy
- Hepatocellular cytomegaly
- Increased liver weight

Allen et al., 2004

げっ歯類での肝臓がんの誘発物質に用いる90日間スクリーニング試験

- 肝細胞壊死
- 肝細胞肥大
- 肝細胞の巨大化
- 肝重量の増大

Allen et al., 2004

Rodent Liver Carcinogenesis Screening and Implications for Humans

90 Day Screen – Allen et al., 2004 criteria

Yes

No → **Not Hepatocarcinogen**

DNA Reactivity

No → **Mechanistic Screen**

Yes → Metabolic activation Kinetics

1. Histopathology
2. Serum enzymes
3. Acyl Co-A oxidase (or TEM)
4. CYP induction
5. AHR binding
6. Estrogen receptor binding (or histologic indication of estrogenic activity in other tissues)
7. Iron stain
8. Reversibility

Follow-up detailed studies

1. CAR, PXR, AHR
2. Metabolic activation
3. Detailed dose response

げっ歯類肝臓での発がん スクリーニング と ヒトへの関わり

90日間スクリーニング – Allen *et al.*, 2004 基準

Yes → DNA 反応性

Yes → 代謝活性化動態

No → 機械的なスクリーニング

1. 組織病理学
2. 血清中の酵素
3. アシルCo-A酸化酵素（または、TEM）
4. CYP誘導
5. AHR結合性
6. エストロゲンレセプター結合（他組織におけるエストロゲン活性の組織学的な誘導）
7. 鉄染色
8. 可逆性

No → 非発がん

詳細な追跡研究

1. CAR、PXR、AHR
2. 代謝活性化
3. 詳細な用量反応

Mode of Action for Hepatocellular Carcinogenesis

I. DNA Reactivity

Metabolic activation → DNA adducts → DNA damage

II. Increased cell proliferation

A. Receptor mediated

1. PPARα (peroxisome proliferation)
2. Enzyme induction (CAR, PXR, AHR)
3. **Estrogen**
4. HMG-CoA Reductase Inhibitors (Statins)
5. Other

B. Non-receptor mediated

1. **Cytotoxicity**
2. **Viral**
3. **Iron overload**
4. Increased apoptosis (e.g. fumonisin B1)
5. Other

肝細胞がん発症機序

I. DNA 反応性

代謝活性化 → DNA付加物 → DNA 損傷

II. 細胞増殖の亢進

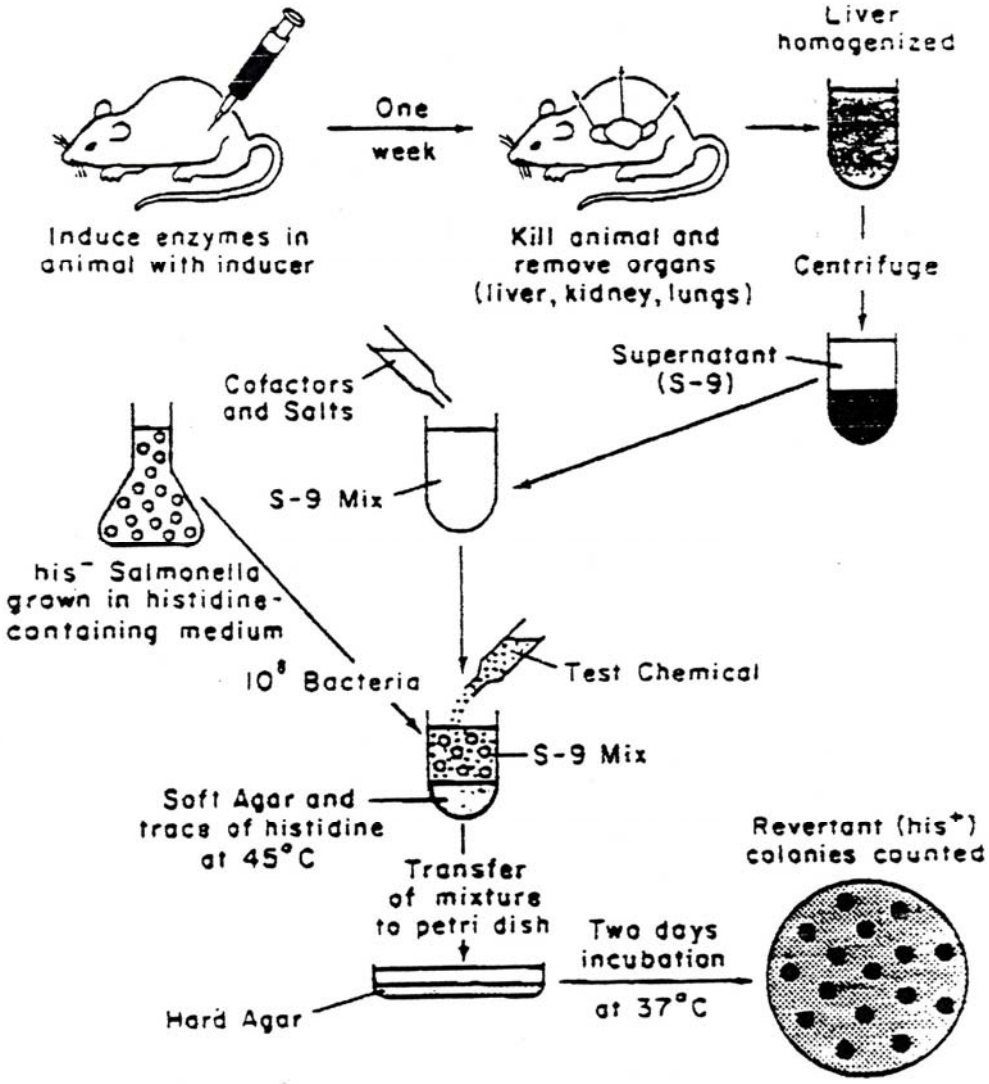
A. 受容体介在性

1. PPARα（ペルオキシソーム増殖）
2. 酵素誘導（CAR、PXR、AHR）
3. エストロゲン
4. HMG-CoA還元酵素阻害剤 （スタチン製剤）
5. 他

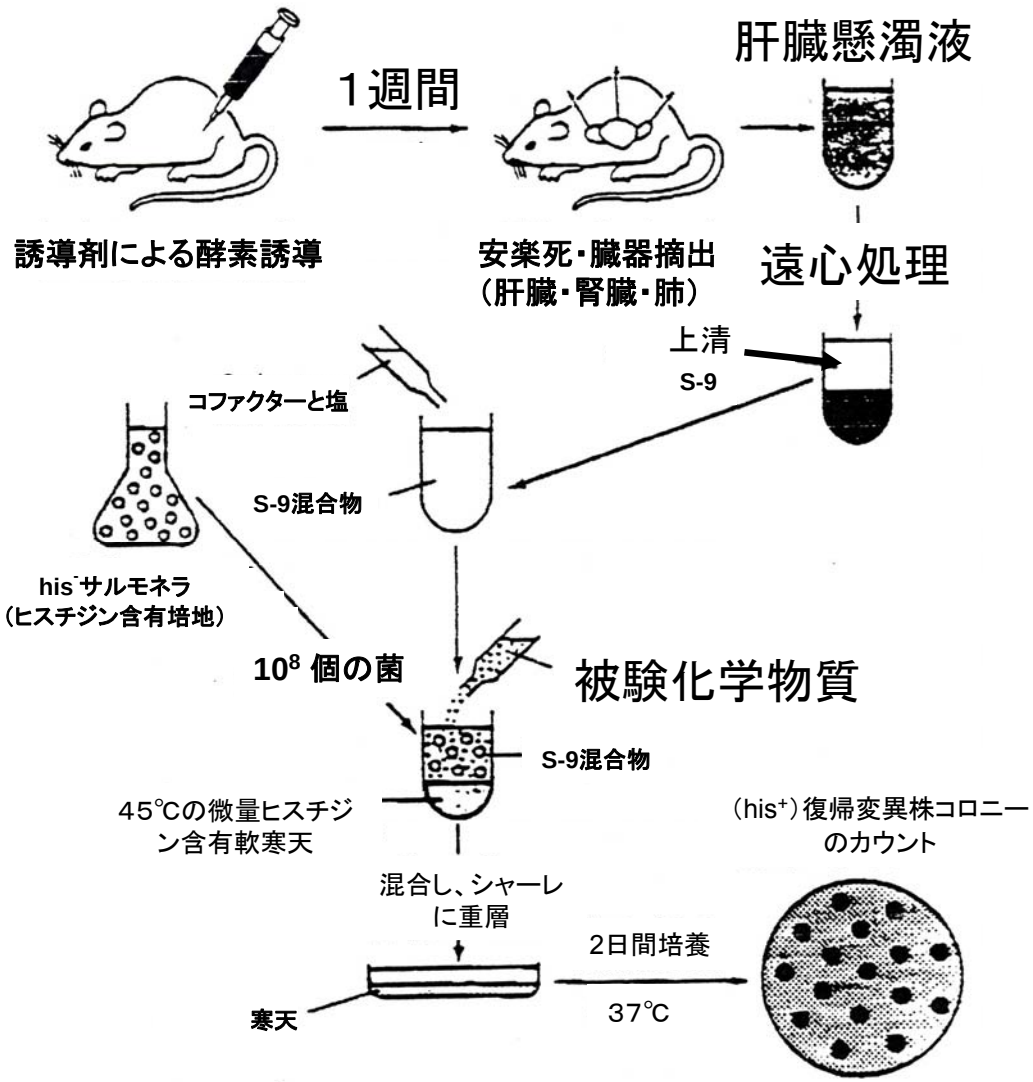
B. 受容体非介在性

1. 細胞傷害
2. ウイルス
3. 鉄過剰
4. アポトーシスの増加（フモニシンB1など）
5. 他

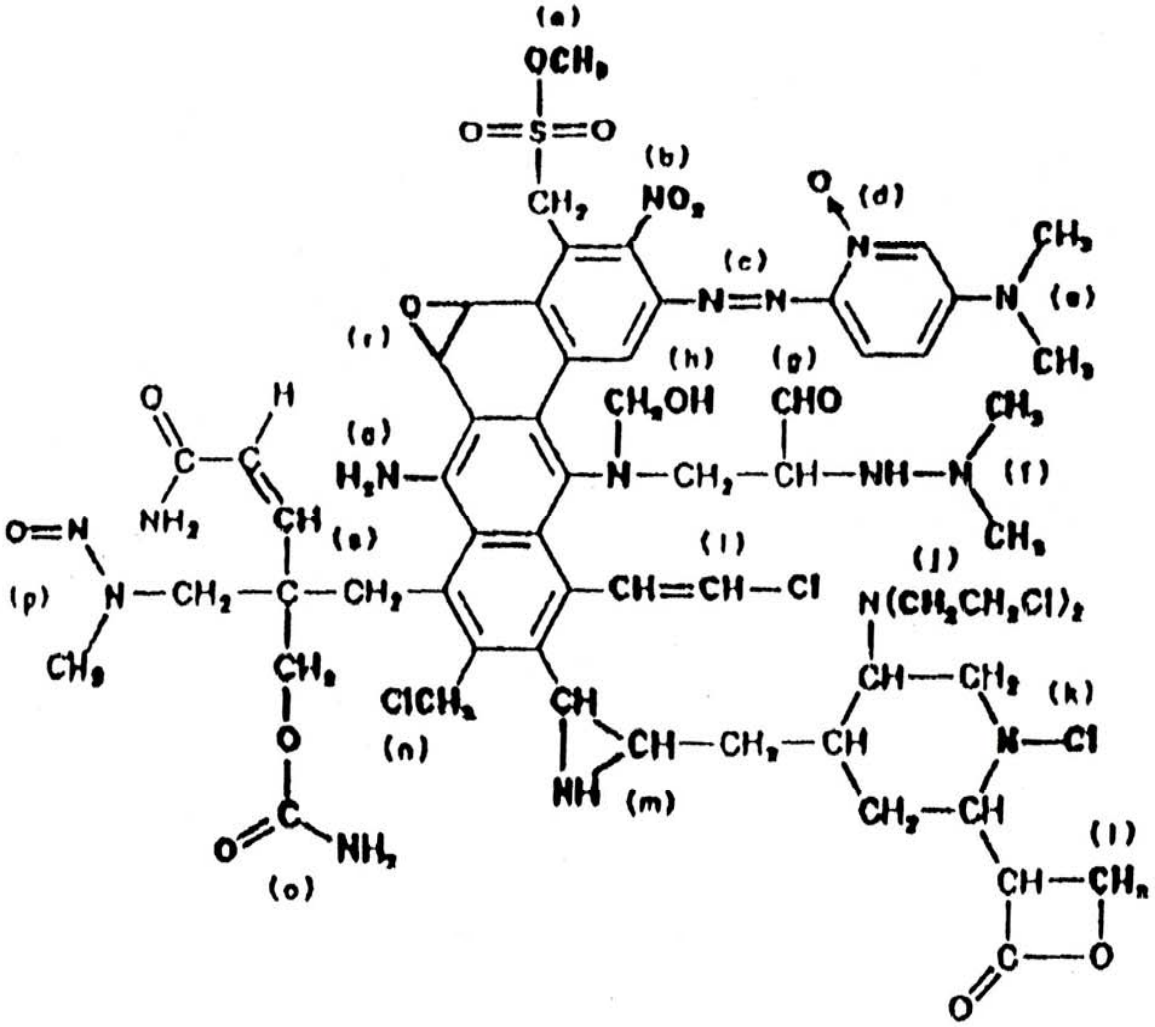
Genotoxicity Screens



遺伝毒性スクリーニング

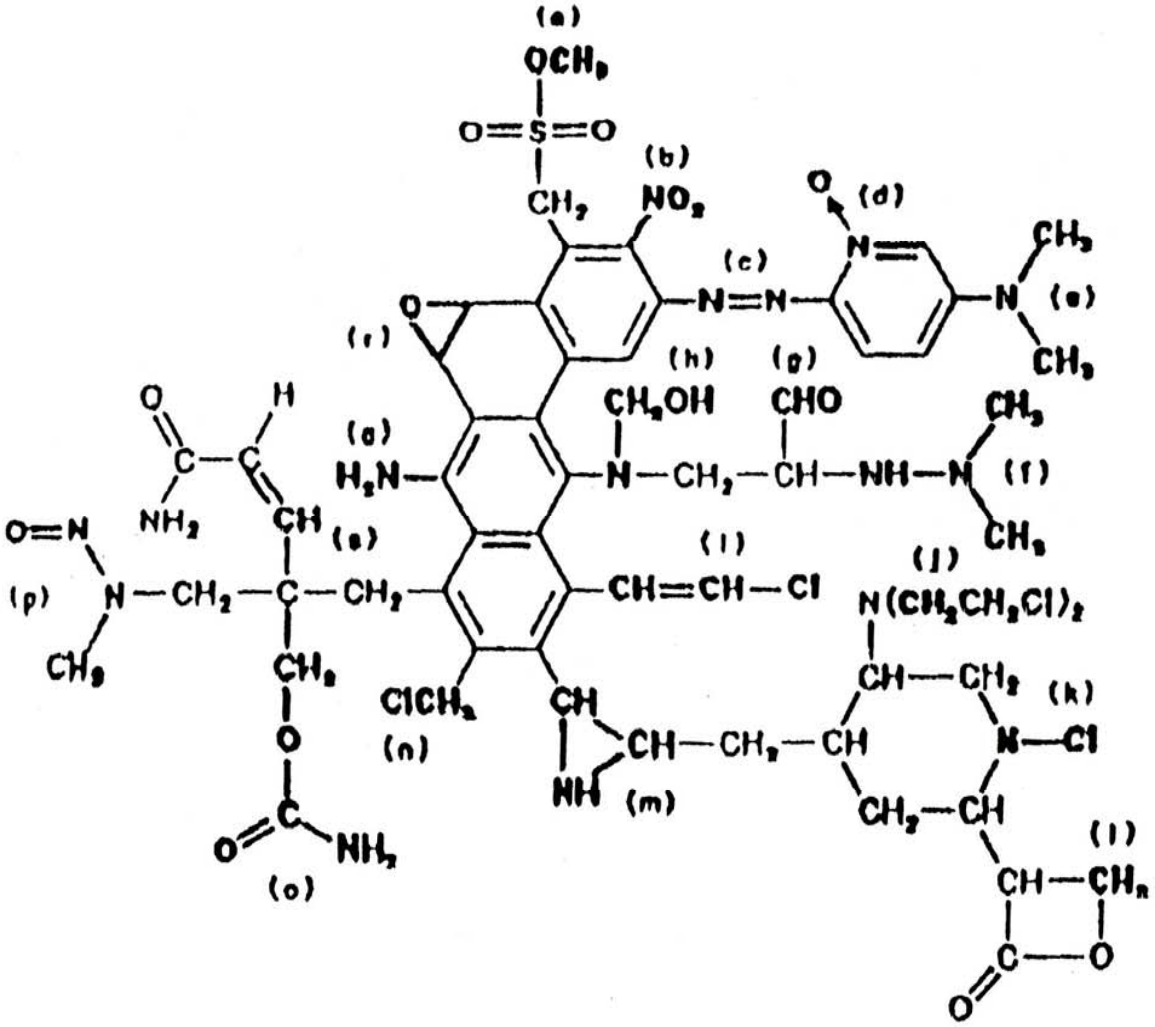


Structure Activity Relationships (SAR)



Halogenated methanes
C(X)
X = H,F,Cl, Br, I
In any combination

構造活性相関
（SAR）



（t）

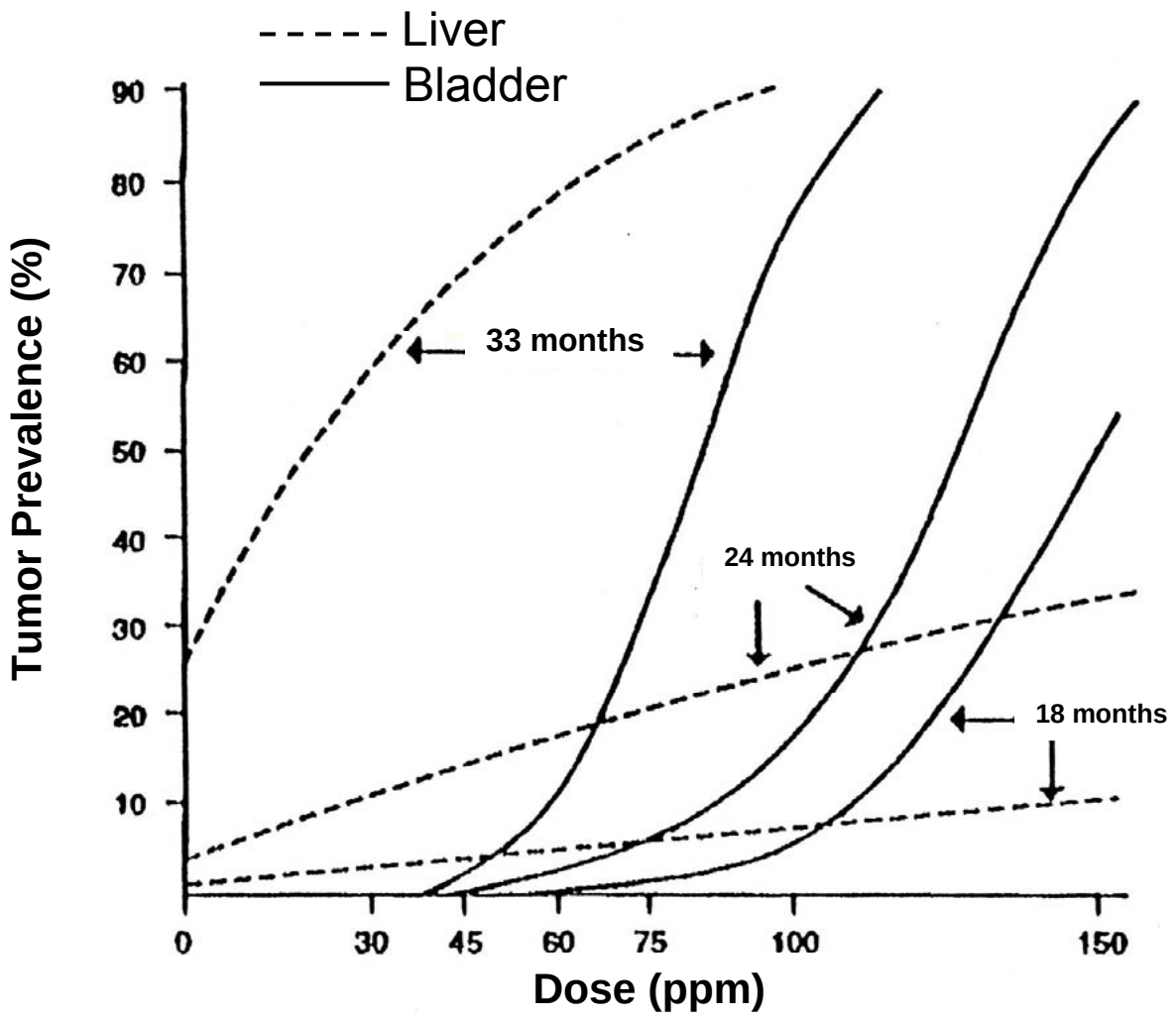
ハロゲン化メタン類

$C(X)_4$

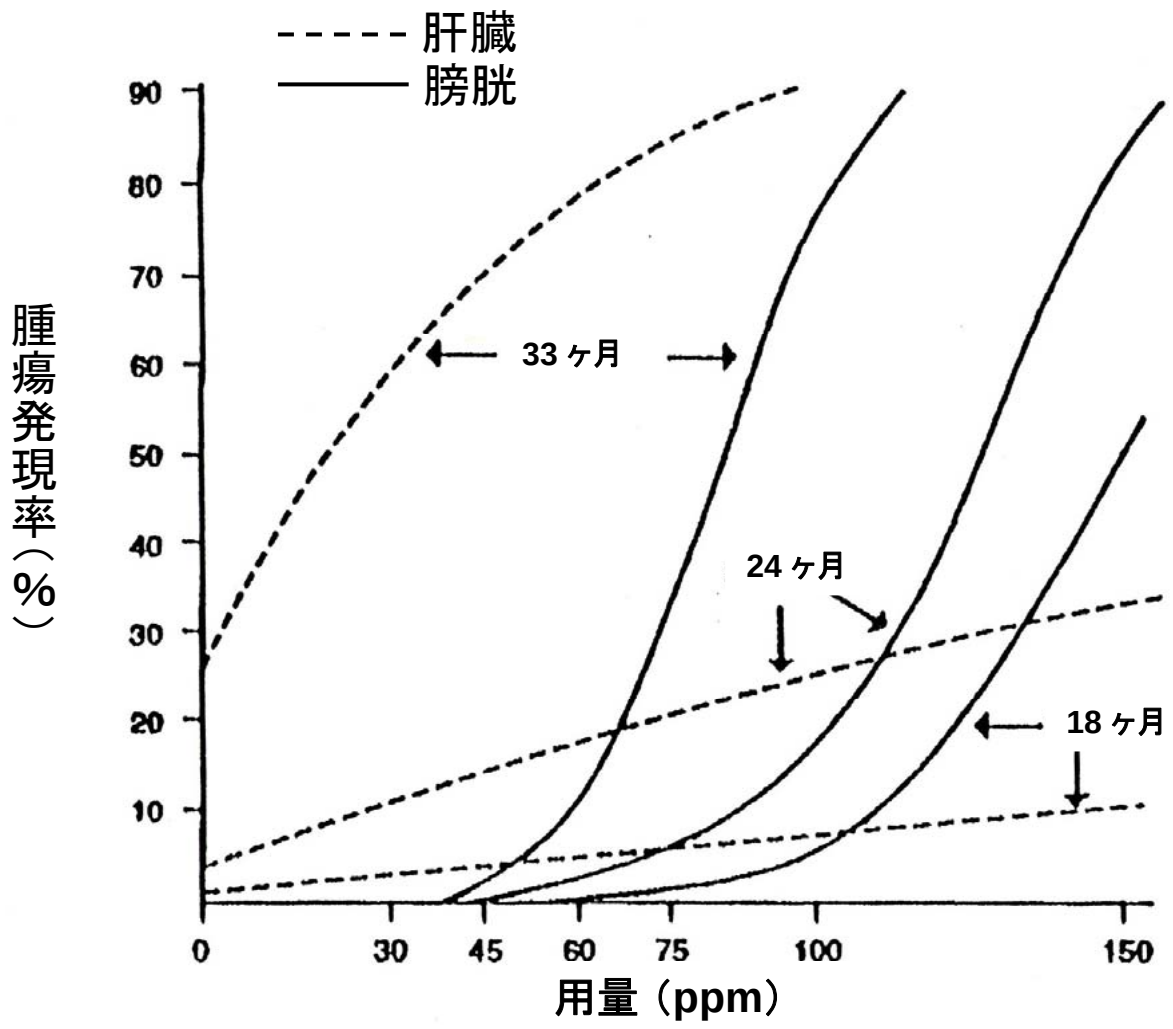
X = H,F,Cl, Br, I

いかなる組み合わせも可

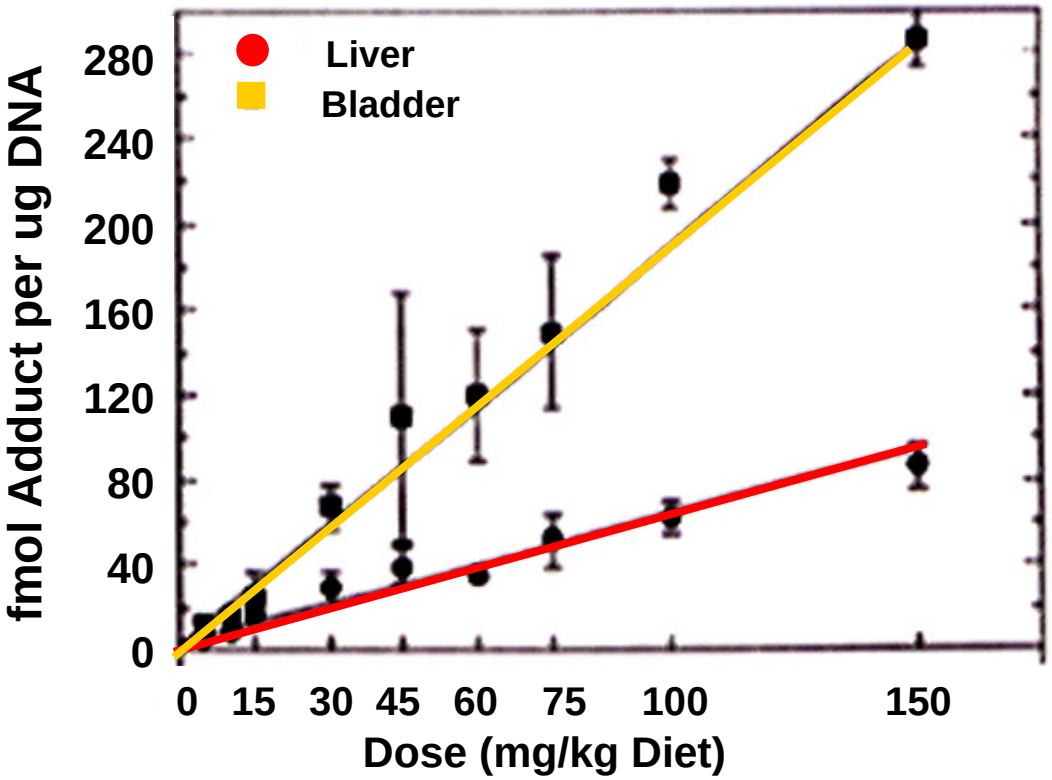
ED_{01} Megamouse Experiment (2-AAF)



ED_{01} メガマウス実験（2-AAF）



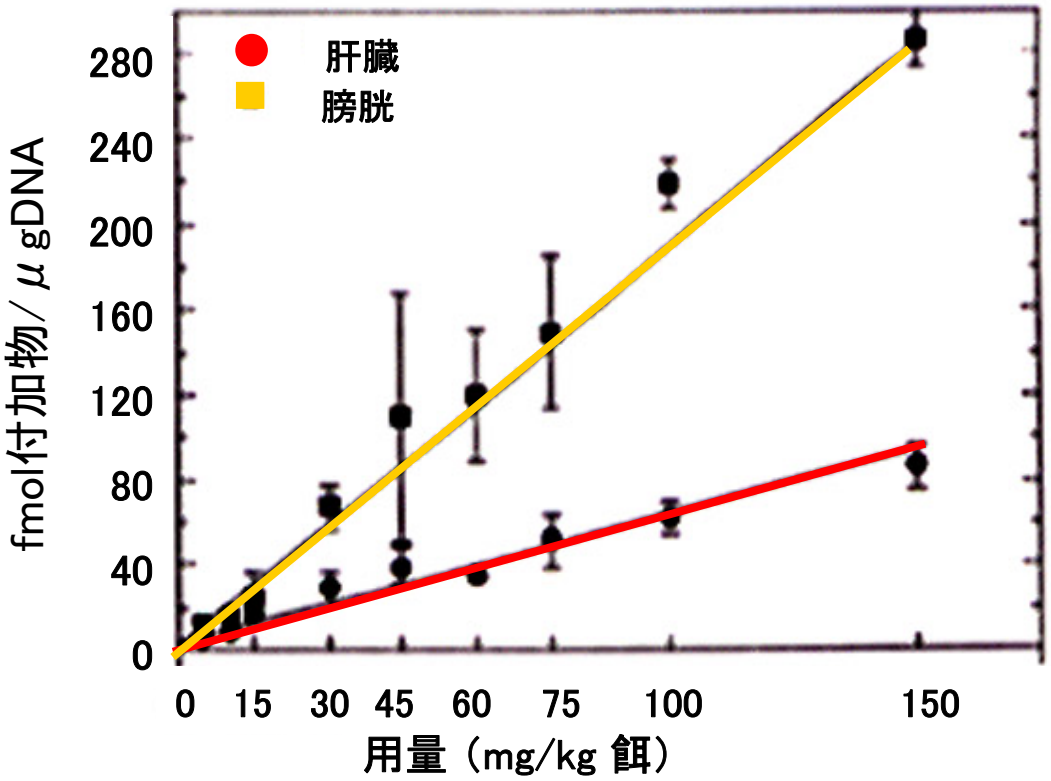
Dose Response for AAF DNA Adduct Formation



Relationship between the dose of 2-acetylaminofluorene fed to female BALB/c mice for 28 days and the concentration of N-deoxyguanosin-8-yl-2-aminofluorene in liver and bladder DNA (37). The data are expressed as the mean ± standard deviation for 4-5 mice.

Beland et al., 1988

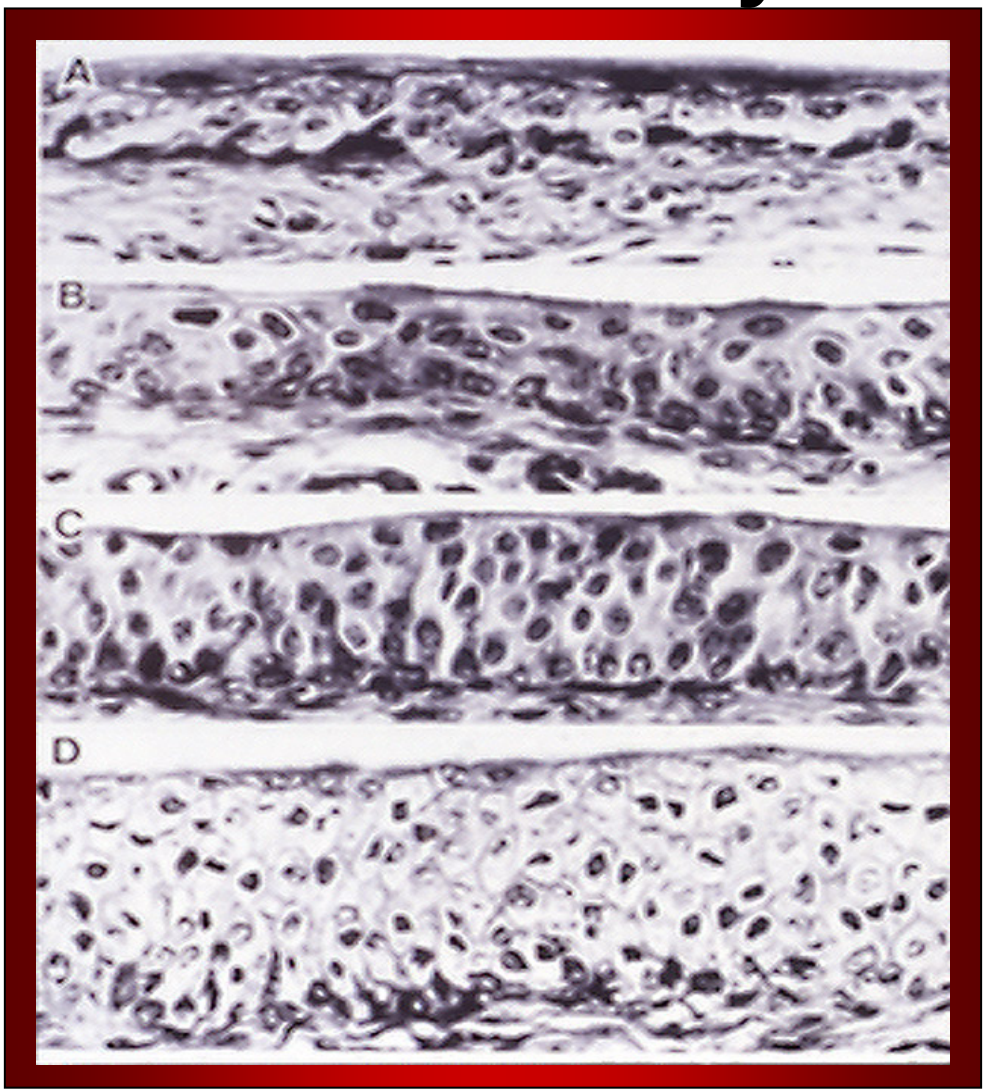
AAFによる用量反応性DNA付加形成



28日間雌のBALB/cマウスに与えられた2-acetylaminofluoreneの投与量と肝臓および膀胱のDNAにおけるN-deoxyguanosin-8-yl-2-aminofluorene濃度との関係。
データは4-5匹の ネズミの平均+標準偏差として表されている。

Beland et al., 1988

Urinary Bladder Hyperplasia Induced by AAF



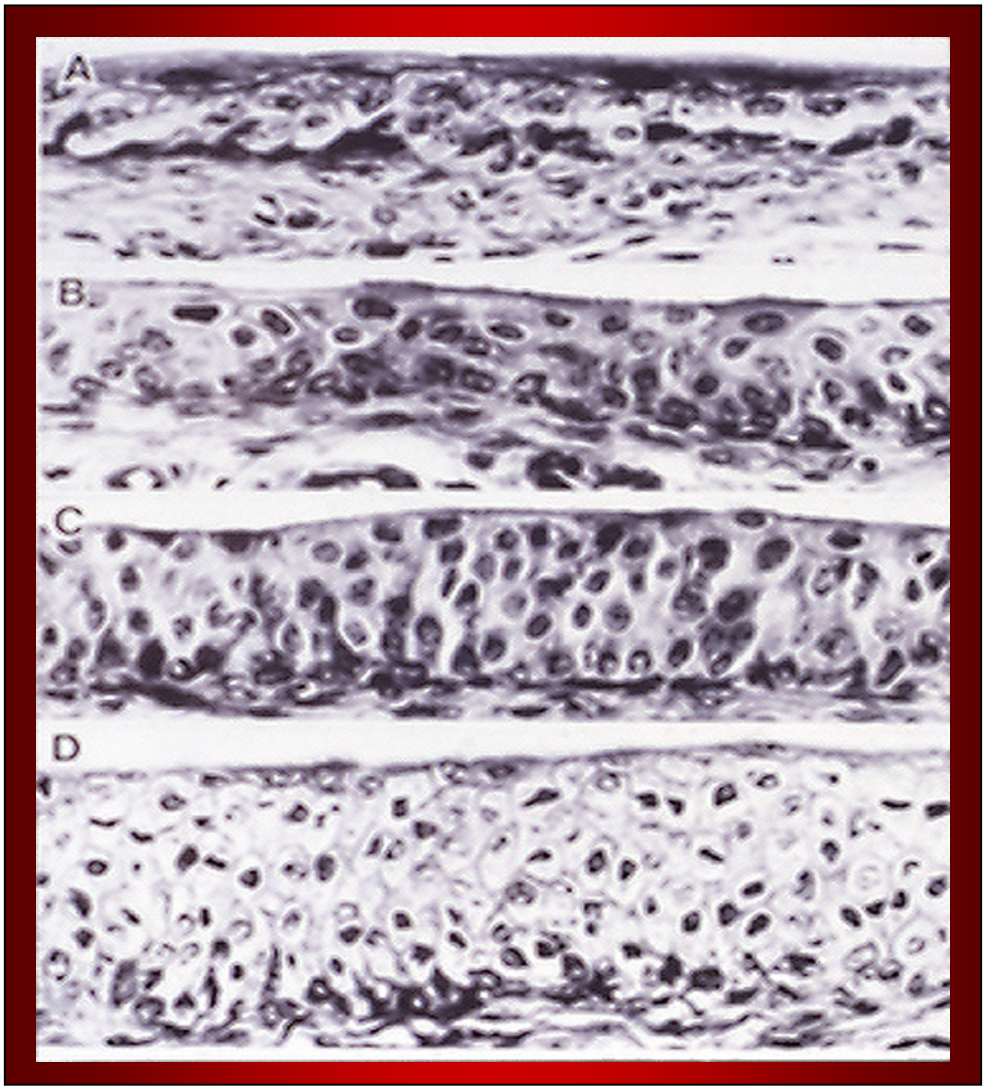
Control

Mild

Moderate

Severe

AAFによる膀胱過形成



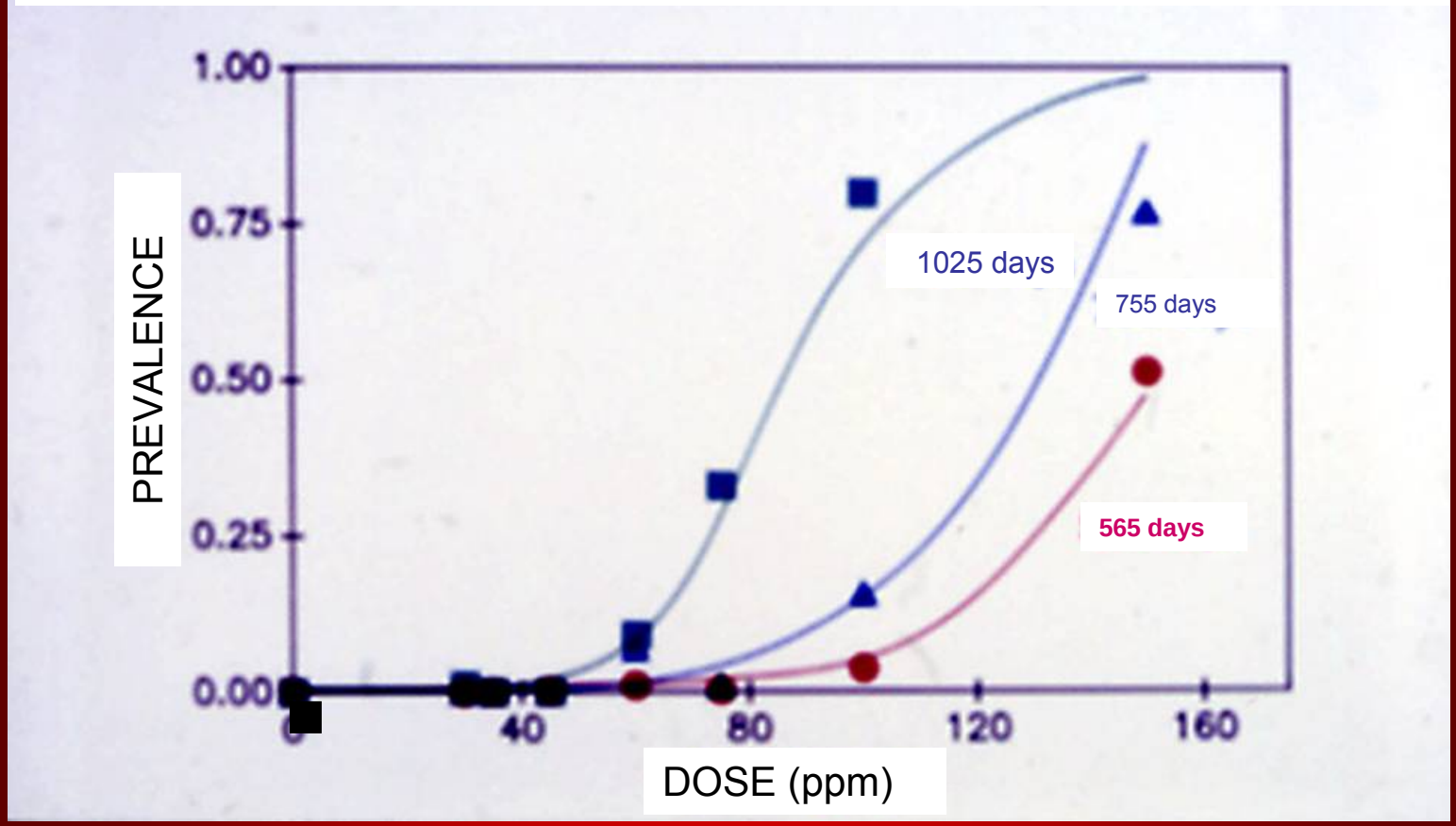
対照

軽度

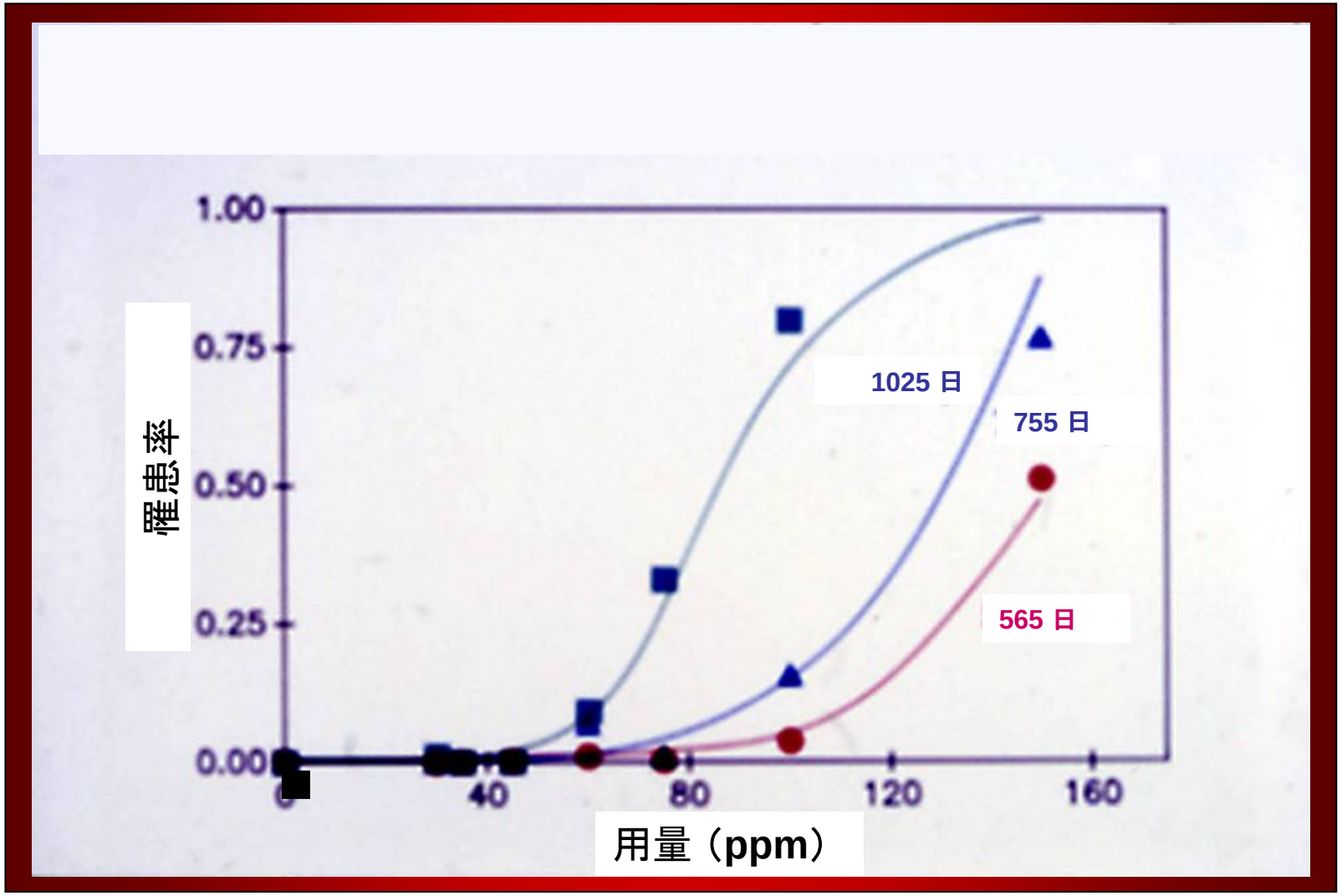
中等度

重度

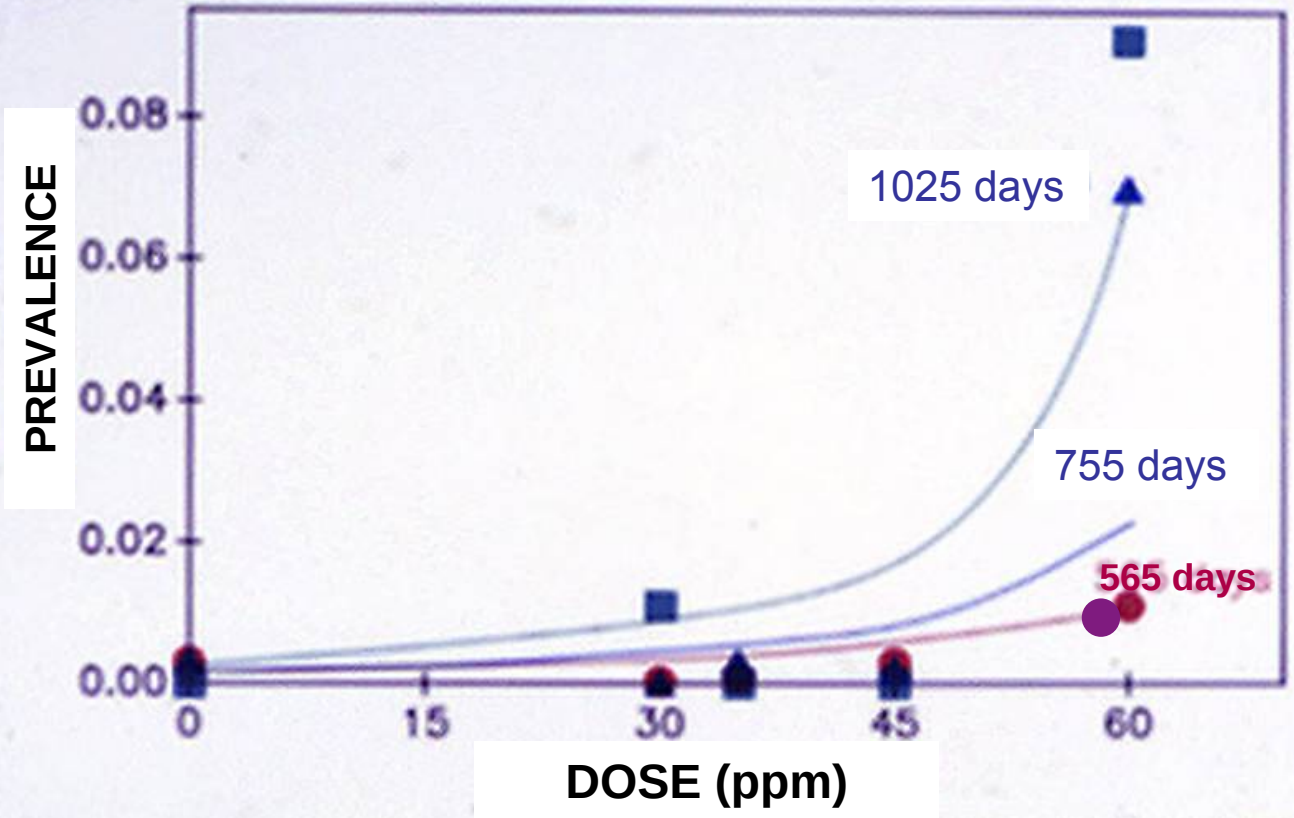
Dose Response for Bladder Tumors at Different Times



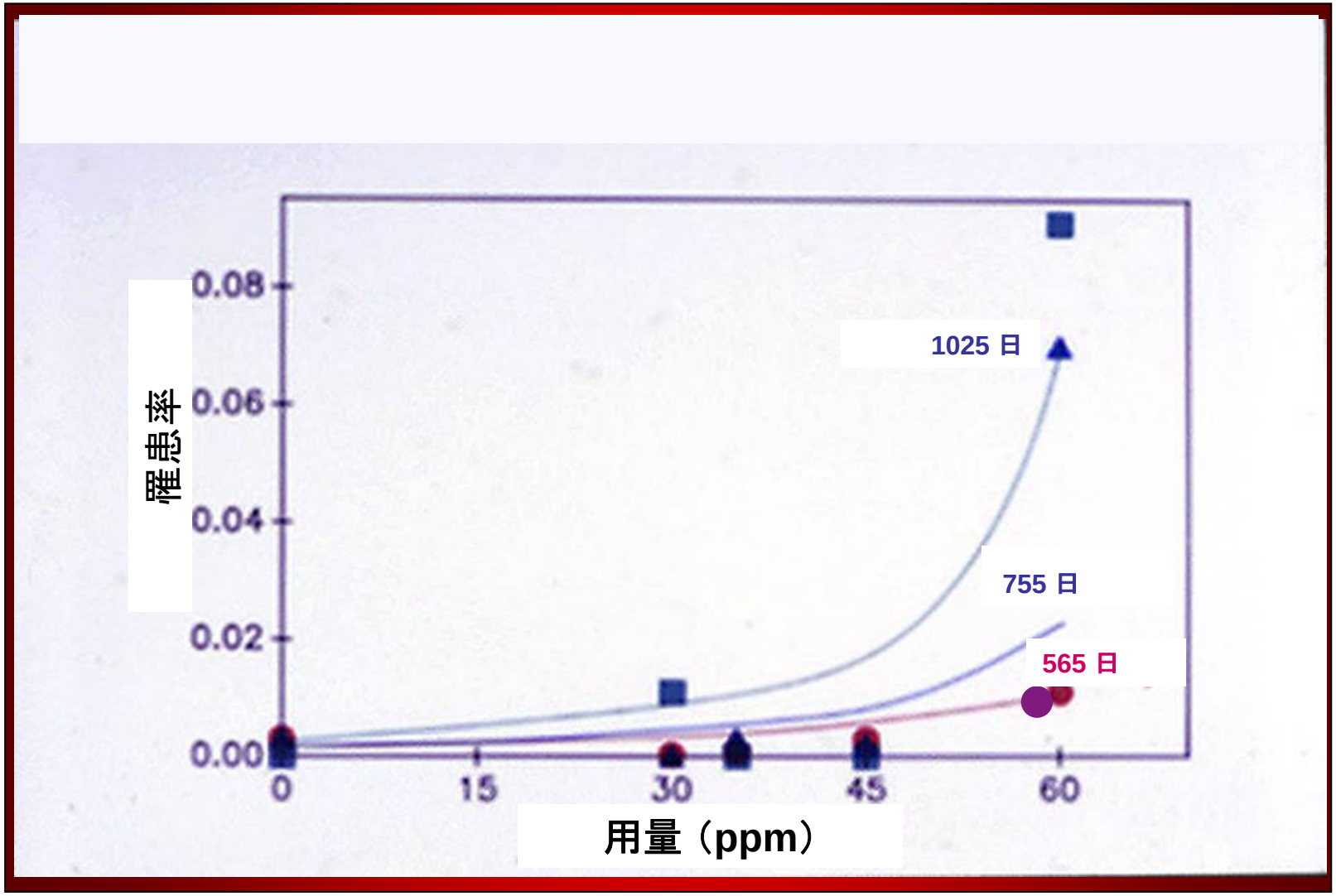
異なる時間での膀胱腫瘍の用量反応性



Dose Response for Bladder Tumors at Different Times



異なる時間での膀胱腫瘍の用量反応性



Synergy Between DNA Reactivity and Increased Cell Proliferation

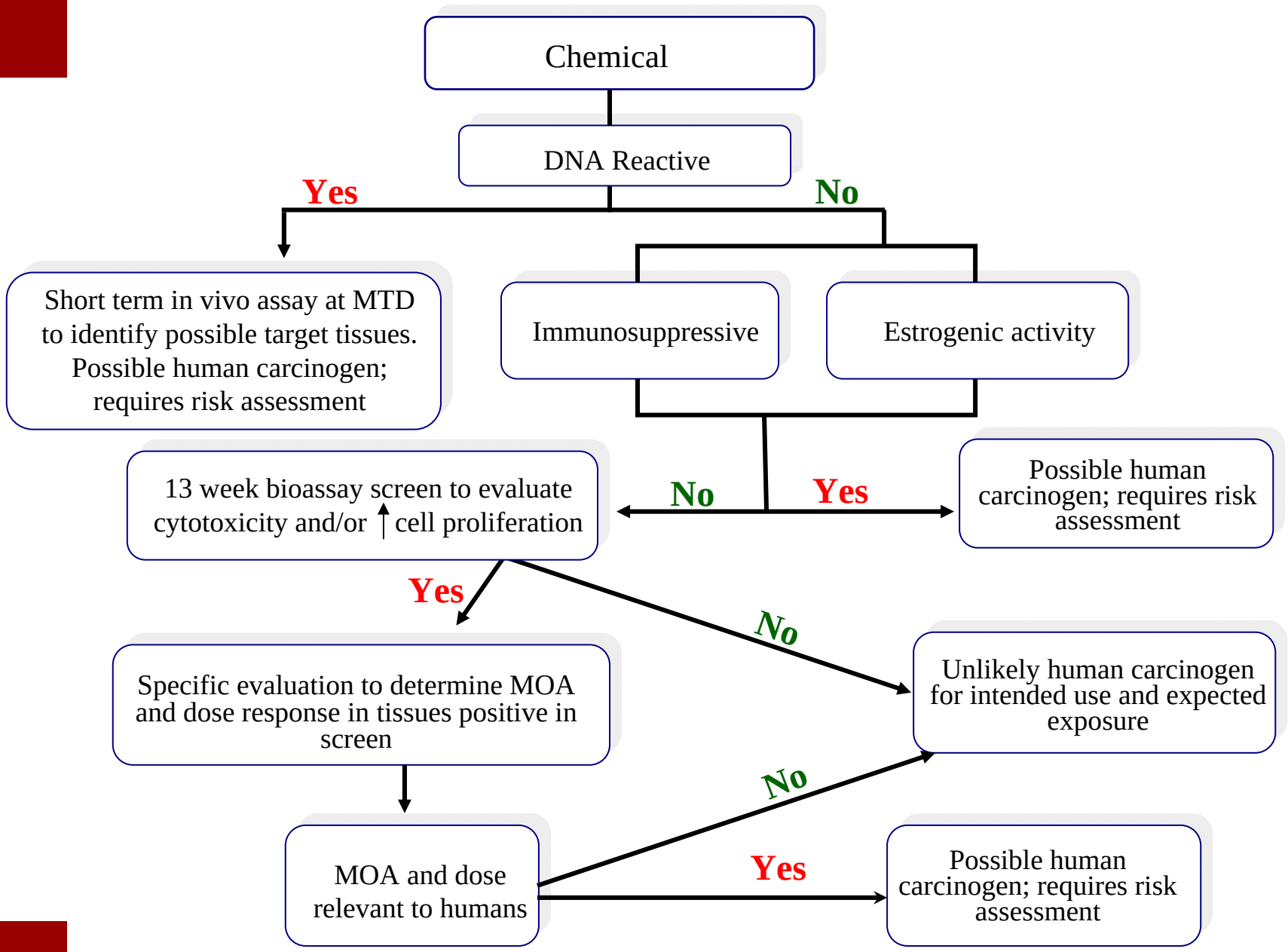
	Relative Risk
Aflatoxin exposure (DNA reactivity)	3.5 X
Hepatitis B virus (HBV)	12 X
Aflatoxin exposure + HBV	65 X

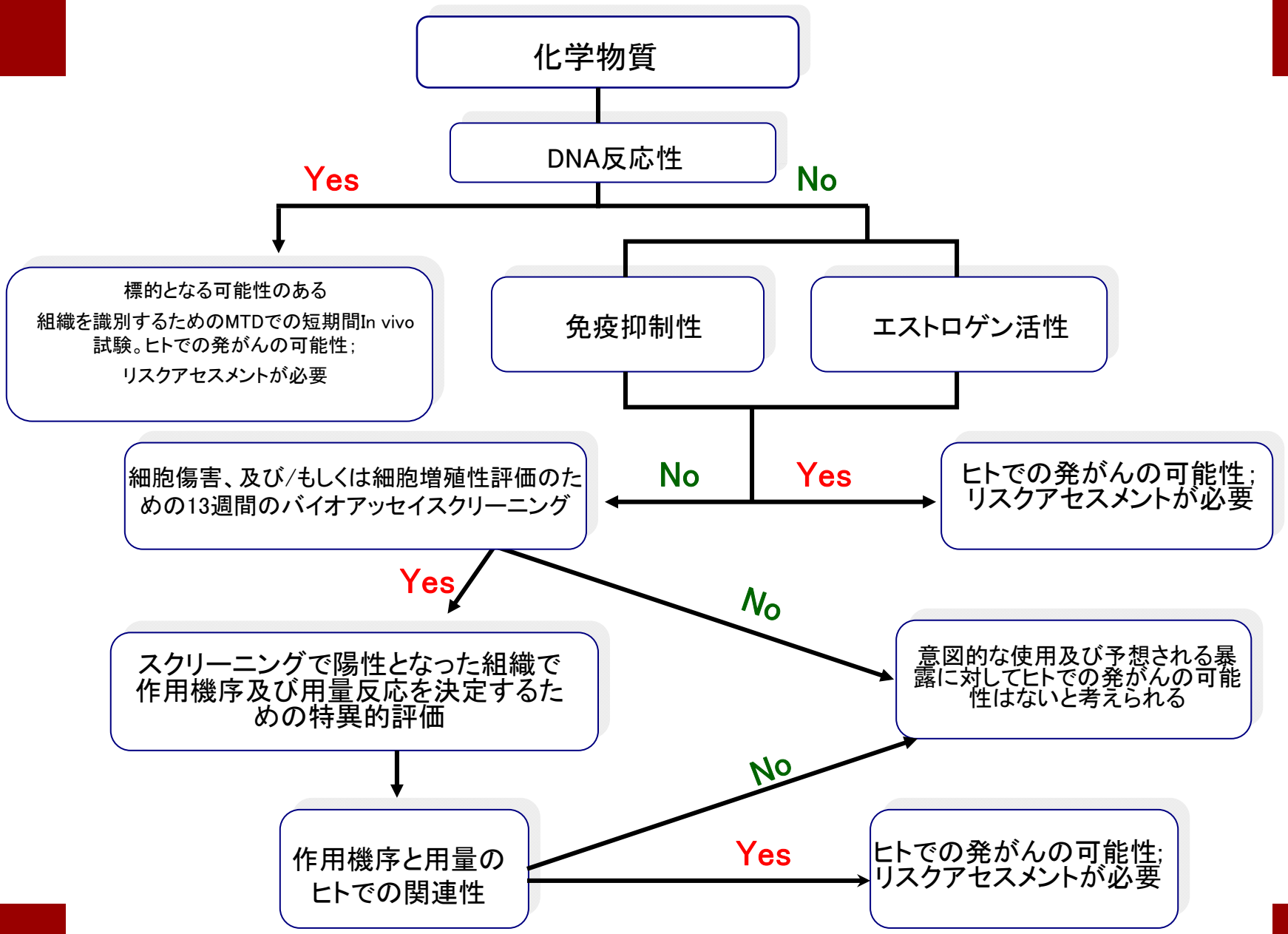
DNA反応性と細胞増殖の増加との相乗効果

	相対リスク
アフラトキシン暴露（DNA 反応性）	3.5 X
B型肝炎ウイルス（HBV）	12 X
アフラトキシン暴露 + HBV	65 X

Chemical	Human Daily Consumption (mg)	Carcinogenic Dose in Rodents (mg/kg/d)
Aflatoxin B_1 (nuts)	0.000018	0.0032
Chloroform (water)	0.017	90
d-Limonene (food)	15	200
Ethanol (1 beer)	13,000	9,100
Safrole (spices)	1.2	51
Saccharin (sweetner)	7	2140
BHA (antioxidant)	0.7	606

化学物質	人一日消費量（mg）	げっ歯類における発がん用量（mg/kg/d）
アフラトキシン B_1（ナッツ）	0.000018	0.0032
クロロホルム（水）	0.017	90
d-リモネン（食事）	15	200
エタノール（ビール1杯）	13,000	9,100
サフロール（スパイス）	1.2	51
サッカリン（甘味料）	7	2140
BHA（抗酸化剤）	0.7	606


Chemical
DNA Reactive
Yes
No
Short term in vivo assay at MTD to identify possible target tissues. Possible human carcinogen; requires risk assessment
Immunosuppressive
Estrogenic activity
13 week bioassay screen to evaluate cytotoxicity and/or ↑ cell proliferation
No
Yes
Possible human carcinogen; requires risk assessment
Yes
No
Specific evaluation to determine MOA and dose response in tissues positive in screen
Unlikely human carcinogen for intended use and expected exposure
No
MOA and dose relevant to humans
Yes
Possible human carcinogen; requires risk assessment


化学物質
DNA反応性
Yes
No
標的となる可能性のある
組織を識別するためのMTDでの短期間In vivo
試験。ヒトでの発がんの可能性;
リスクアセスメントが必要
免疫抑制性
エストロゲン活性
細胞傷害、及び/もしくは細胞増殖性評価のための13週間のバイオアッセイスクリーニング
No
Yes
ヒトでの発がんの可能性;
リスクアセスメントが必要
Yes
No
スクリーニングで陽性となった組織で
作用機序及び用量反応を決定するための特異的評価
意図的な使用及び予想される暴露に対してヒトでの発がんの可能性はないと考えられる
No
作用機序と用量の
ヒトでの関連性
Yes
ヒトでの発がんの可能性;
リスクアセスメントが必要

Basic Assumptions of Rodent Bioassays

Dose extrapolation:

Does an effect at high dose indicate an effect at low dose?

(Is there a threshold? What is it?)

Species extrapolation:

Does an effect in a rat or mouse indicate an effect in humans?

(Is the mode of action relevant to humans?)

げっ歯類を用いたバイオアッセイの基本前提

用量間で外挿:

高用量での影響は低用量での影響を示唆しているか?

（閾値はあるか？ それは何か？）

種間で外挿:

マウスやラットにおける影響はヒトにおける影響を示唆しているか？

（その作用機序はヒトで関連性を有しているか？）