

食品安全委員会新開発食品・添加物専門調査会 合同ワーキンググループ 第2回会合議事録

1．日時 平成17年12月2日(金) 16:00～17:58

2．場所 食品安全委員会中会議室

3．議事

(1) 座長代理の指名

(2) 高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性について

(3) その他

4．出席者

(専門委員)

福島座長、池上専門委員、上野川専門委員、長尾専門委員、山添専門委員、
吉田専門委員

(食品安全委員会委員)

寺田委員長、小泉委員、寺尾委員、見上委員

(参考人)

林 裕造参考人

(説明者)

厚生労働省 北島新開発食品保健対策室長

(事務局)

齊藤事務局長、一色事務局次長、國枝評価課長、福田評価調整官、丈達課長補佐

5．配布資料

資料1 第1回新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ
(11月2日)における主なご意見

資料2 - 1 高井参考人のご意見

- 資料 2 - 2 高井参考人への質問事項
- 資料 2 - 3 関連資料
- 資料 3 林参考人からの資料
- 資料 4 マウス皮膚二段階発がんにおける DAG のプロモーション作用の検討
- 参考資料 DAG の中期多臓器発がん性試験付属資料（「ジアシルグリセロール（DAG）の安全性資料」資料 No. 17 の付属資料）

6. 議事内容

福島座長 定刻となりましたので、ただいまから第 2 回「新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ」を開催いたします。

本日は、6 名の専門委員の先生が御出席で、菅野、立松、山本、三森の 4 名の先生は御欠席との連絡をいただいております。

また、本日の議題であります「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性について」の参考人といたしまして、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、元センター長の林裕造先生に御出席いただいております。林先生、よろしく願いいたします。

林先生からは、後ほどジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用に関する御意見と、発がんプロモーション作用を有する物質の規制と管理に関する御意見を、専門家の立場からお伺いする予定でございます。

また、厚生労働省から、医薬食品局食品安全部新開発食品保健対策室の北島室長に御出席いただいております。よろしく願いいたします。

それから「食品安全委員会」からは、寺田委員長、小泉委員、寺尾委員、見上委員に御出席いただいております。よろしく願いいたします。

それでは、本日の全体のスケジュールにつきまして、お手元の資料に「食品安全委員会新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ（第 2 回会合）議事次第」というものがございますので、御覧いただきたいと思います。

議題に入ります前に、事務局から資料の確認をお願いしたいと思います。お願いします。

丈達課長補佐 それでは、資料の確認をさせていただきます。

資料 1 は「第 1 回新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ（11 月 2 日）における主なご意見」、資料 2 - 1 は「高井参考人のご意見」、資料 2 - 2 は「高井参考人への質問事項」、資料 2 - 3 は、高井参考人の御意見に関する「関連資料」、資料 3 は

「林参考人からの資料」、資料4は「マウス皮膚二段階発がんにおけるDAGのプロモーション作用の検討」。

参考資料として、ジアシルグリセロールの安全性資料、資料No.17の詳細データでございます。

なお、参考資料につきましては、資料の量の関係から傍聴の方にはお配りしておりません。資料につきましては、調査会終了後事務局で閲覧できるようになっておりますので、必要な方は事務局までお申し出いただければと思います。

資料の不足等ございませんでしょうか。

福島座長 よろしいですか。

それでは、これから議題1に入らせていただきます。議題1は「座長代理の指名」ということですが、この座長の代理は、私、座長が指名することとなっております。前回は、上野川専門委員が御欠席でしたので指名いたしませんでした。本日は出席されておみえですので、「新開発食品専門調査会」の座長の上野川専門委員に、この「新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ」の座長代理をお願いしたいと思います。上野川先生、よろしく願いいたします。

もしよろしければ、簡単に結構ですので一言お願いします。

上野川専門委員 急なことなので、何とも用意してないので申し訳ないですが、一応「新開発食品専門調査会」の座長をやっているという立場から、先生の緊急のときの代理をさせていただきます。

福島座長 ありがとうございます。

それでは、次に議題2に入らせていただきます。「高濃度にジアシルグリセロールを含む食品の安全性について」でございます。

本日は、資料1から順に審議を進めたいと思いますので、よろしく願いいたします。それでは、事務局から御説明をお願いいたします。

丈達課長補佐 それでは、お手元の資料1を御覧いただけたらと思います。この資料は、前回11月2日に行われました本ワーキンググループにおきまして、御出席いただいた委員、それから御欠席ですが事前にいただいた委員の御意見をまとめたものということになっております。したがって、前回の復習もかねて御紹介したいと思っております。1ページ目を御覧いただきたいと思います。まず、座長の御意見としまして、4つございます。

1つ目「少なくとも提出されている資料のプロトコールの妥当性を含め、DAGに限局して評価をしっかりと行うべき」。

2つ目「飯郷先生の試験については、通常の試験とは異なっているが、イニシエーターとプロモーターに同時に暴露されることもあり得るのではないかということで、区別せずに DAG の発がんに対する作用が出るかどうかを見ようということで行われたものだと思う」。

3つ目「通常ラット及び Tg ラットを用いて、二段階発がん実験を実施するとともに、もう一度再現性をみるべき。また、リノール酸との比較は必要と思う」。

4つ目「追加実験のデザインについて、最終的には厚労省が決定すべきである」。

菅野委員の御意見は2つございます。

1つ目「ほ乳類レベルで、1,2 - ジアシルグリセロールがどのようなメカニズムで、がんを発生させるかという蓋然性を見るための実験（例えば、TPA の場合に行われた皮膚の二段階発がん試験）と、毒性学的に 1,2 - ジアシルグリセロールが人間にとって、どこまで危険か安全かを定めるための実験（ヒトへの外挿のための実験）とを整理して考えるべきである」。

2つ目「ジアシルグリセロールの安全性を確認するために、今、トランスジェニック・ラットのバリデーションまで行う必要については、疑問である。既にバリデーションの行われている実験動物・実験系を用いて、確認すれば十分ではないか」。

三森委員の御意見は3つございます。

1つ目「1,2 - ジアシルグリセロールと非常に構造の似ている TPA には、PKC を活性化作用があり、発がんプロモーション作用のメディエーターであると言われている。1,2 - ジアシルグリセロールについても、PKC を活性化作用があると考えられるので、TPA と同様に発がんプロモーション作用があるか否かを確認すべきである」。

2つ目「背景データの明らかでない実験動物（トランスジェニック・ラット）を用いるのではなく、既に確立している実験モデル（DMBA と TPA を用いたマウスの皮膚発がんモデル）を使って、1,2 - ジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用の有無を確認すべきである。具体的には、DMBA をイニシエーターに使い、1,2 - ジアシルグリセロールのプロモーター作用を見る皮膚の二段階発がん実験を行うべきである」。

3つ目「発がんプロモーション作用を持つ物質には、閾値が存在すると考える」。

長尾委員の御意見は5つございます。

1つ目「メーカーが行った実験では、イニシエーターのみの群でも一部の腫瘍・がんが多数（50～70%）発生しており、実験動物の数が少ない（20匹程度）ので、プロモーション作用の有無を見るためのプロトコールとしては不適當と考えられる。報告された実験結

果について評価の見直しが必要」。

2つ目「動物実験により示された発がんプロモーション作用について、ヒトの健康への影響評価（リスク評価）に際して、どのように反映させるのか、考える必要がある」。

3つ目「ラットにおける実験結果をヒトに外挿する場合には、総摂取カロリーに占める脂肪の割合として考えるのか、あるいは体重当たりの量として考えるのかによって、数値が大きく異なる。評価に際しては、この点も考慮する必要がある。例えば、ラットの場合、実験に用いられた5.5%の脂肪というのは、総カロリーの10数%にしかならないが、人間の場合、総カロリーの20~25%を脂肪により摂取している。一方、体重当たりの量として考えると、ラットにおける5.5%のDAGというのは、ヒトが通常摂取するDAGの量の10倍に相当することになる」。

4つ目「PKC活性による発がんプロモーション作用だけでなく、脂質代謝を介した影響についても、調べる必要がある」。

5つ目「ヒト大腸由来細胞Caco-2では、DAGによるPKCの活性化は認められなかったと報告されているが、扁平上皮細胞でも調べられたい」。

池上委員の御意見は3つございます。

1つ目「メーカーが行った実験は、脂肪酸の違いによる影響が見られるので、この点を精査した上で、実験の評価を行う必要がある」。

2つ目「ジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用を確認するための各実験の結果が異なる理由として、ジアシルグリセロールの脂質代謝に対する影響を介した間接的な影響が重なっている可能性も考えられる」。

3つ目「従来のジアシルグリセロールに関する研究では、炭素数8以下の中鎖・短鎖脂肪酸により構成されるジアシルグリセロールが対象となっている。今回、対象となっている長鎖脂肪酸（炭素数16~18）により構成されるジアシルグリセロールが細胞内に入っていくのかどうか、検証する必要がある」。

吉田委員の御意見は2つございます。

1つ目「トランスジェニック・ラットは今後、有用なツールとして利用されることになると思われるが、そのためには、まず、トランスジェニック・ラットが、どういうものに対して有効なのか、拡大した規模の計画で検証する必要がある」。

2つ目「ジアシルグリセロールがトランスジェニック・ラットの脂質代謝に与える影響、トランスジェニック・ラットにおける薬物動態、ジアシルグリセロールの体内動態についても、発がんプロモーション作用を見る以前に、検証する必要がある」。

立松委員の御意見は4つございます。

1つ目「発がんプロモーション作用については、通常の長期発がん試験だけでは見逃される可能性があり、今まで見逃されていた発がんプロモーション作用を検出するための鋭敏なツールとして、トランスジェニック・ラットは有用である」。

2つ目「トランスジェニック・ラットのような遺伝子改変動物で、発がんプロモーション作用が見られたとしても、通常の実験動物で同様の作用が確認できていないのに、いきなりヒトに外挿して、ヒトに対しても発がんプロモーション作用があると考えるのは、論理の飛躍である」。

3つ目「トランスジェニック・ラットなどの遺伝子改変動物で異常が見られたとしたら、それは警告と捉え、通常の実験動物で確認を行い、最終的な評価をすることが重要である」。

4つ目「トランスジェニック・ラットの実験により、具体的な危険性、対象となる臓器が提示されたならば、それについて、通常の実験動物で確認をして、安全性を判断すべきである」。

山添委員の御意見は3つございます。

1つ目「従来の実験動物とトランスジェニック・ラットとでは、ジアシルグリセロールについての実験結果が明らかに違うということになった場合、なぜ違ったのかということについて、はっきりとした理由、メカニズムを調べる必要がある」。

2つ目「長鎖脂肪酸がほとんどというジアシルグリセロールの脂肪酸の構成から考えて、細胞膜の透過性が低く、細胞内へ取り込まれることはないようにも思われるが、例えば、傷があったような場合、細胞膜の構成が通常とは異なっていた場合、細胞内へ取り込まれることがあるかも知れない」。

3つ目「ヒトへの暴露ルート、摂食のルートといったものも考慮した上で、どこに危険性があるかを評価すべきである」。

山本委員の御意見、山本委員は前回御欠席でございましたが、これは事前にいただいていたものでございます。4つございます。

1つ目「飯郷先生の実験をはじめ、各実験に用いられたジアシルグリセロールの由来、組成について、特定すること。併せて、A社の製品Bに含有されるジアシルグリセロールについて、その由来、組成を特定すること」。

2つ目「トランスジェニック・ラットを使った今回の動物試験の結果をヒトに外挿することができるか否かについて、参考となる情報を収集すること」。

3つ目「今回の実験により示唆された舌の扁平上皮癌の発がんプロモーション作用に関

して、再現性についての確認実験を行うこと」。

4つ目「ヒトへの健康影響の検討が、少数例に対する介入研究と、食経験のものしかないが、安全性の影響が検討できるような観察的な疫学研究の結果があれば提示してほしい」。

以上でございます。

福島座長 ありがとうございます。

ただいま説明していただきましたが、この意見につきまして、それぞれの先生方訂正、また、御意見もいただきたいと思います。追加意見でも結構でございます。

私から口火を切らせていただきますが、私の意見の最初のところですが、これは舌足らずのところがありますので、ちょっと御説明したいと思います。「少なくとも提出されている資料のプロトコールの妥当性を含め、DAGに限局して評価をしっかり行うべき」の「DAGに限局して」という意味なのですが、例えば、DAGにプロモーション作用が見られた場合に、この我々の合同ワーキンググループとしましては、それを全体的な意味のプロモーターとして評価するのではなく、あくまでDAGについて評価をしっかりとしたいということでございます。その点だけを私として追加させていただきます。

ほかにはございますでしょうか。よろしいですか。いま一度お目通しをいただきたいと思います。

ここの意見などを基にして、高井先生に御質問をさせていただいているということでございます。

ないようでしたら、資料2に移ります。DAGの発がんプロモーター作用については、大阪大学の大学院、先ほど申しました、高井先生に参考人として御意見をお願いいたしました。

高井先生は、細胞外から導入したジアシルグリセロール(DAG)が、プロテインキナーゼC(PKC)を活性化するということが既に明らかにされております。DAGが発がんプロモーターのメディエーターとして機能し得ることを示す研究をされた方々のお一人でございます。西塚先生の門下のお一人でございます。

本日は、この場にお招きしたかったのですが、日程の都合が付きませんでした。したがって、高井参考人にはあらかじめ質問をさせていただいて、そしてその質問事項について高井参考人から御意見をいただいておりますので、紹介したいと思います。

資料2-1を見ていただきたいのですが、事務局、御説明をお願いいたします。

福田評価調整官 説明をさせていただきます。資料2-1、2-2、2-3をお願いいたします。

資料 2 - 1 は、高井先生からいただいた回答、資料 2 - 2 は、高井先生にお送りした質問事項、資料 2 - 3 は、事務局の方で説明の都合上用意させていただいた関連の参考資料でございます。

資料 2 - 1 を見ていただきます。少し読ませていただきますと、最初にまず質問事項 1 でございます。

「1. 体外から摂取された sn-1,2-ジアシルグリセロールの細胞内への取り込みに関して、ジアシルグリセロールを構成する脂肪酸の種類による差異があるか否か(参考 1, 2, 3)。」

「(ア) 長鎖脂肪酸の場合、細胞膜を透過して細胞内へ取り込まれるか否か」。

「(イ) 中鎖、短鎖脂肪酸の場合、細胞膜を透過して細胞内へ取り込まれるか否か」。

「(ウ) 細胞膜に物理的な傷害等があって、膜の透過性に変化が生じているような場合、長鎖脂肪酸により構成されるジアシルグリセロールが細胞内へ取り込まれるか否か」。

この質問の、長鎖、中鎖、短鎖、これらの脂肪酸につきましては、資料 2 - 2 の高井先生の「質問事項」の「参考 1」で書いてございます。

短鎖脂肪酸：炭素数が 4~6 の飽和脂肪酸。

中鎖脂肪酸：炭素数が 8~10 の飽和脂肪酸。

長鎖脂肪酸：炭素数が 16~18 の飽和脂肪酸だけでなく 18 個の不飽和脂肪酸。

こういったものがございます。

これに対する御回答が次のとおりです。読ませていただきます。

「細胞膜に加えた DAG が細胞内に取り込まれたかどうかは、DAG がホスファチジン酸 (PA) に転換されたかどうかで測定しました。2 つとも長い脂肪酸をもった DAG は細胞内に取り込まれにくいと考え、1 つが長い脂肪酸、1 つが短い脂肪酸をもった DAG、具体的には 1 - オレオイル、2 - アセチル - グリセロール (OAG) を合成し、これを細胞に作用させましたところ、PA に転移されました(参考論文 5)。

この OAG は *in vitro* で PKC を活性化することができます(参考論文 3)。この実験は OAG が細胞レベルでも PKC を活性化することを示すために行ったものです。

したがって、ご質問の

(ア) につきましては、私は実験を行った記憶がありませんのでわかりません。

(イ) につきましては、私共の実験結果から少なくとも OAG は細胞内に取り込まれます。

(ウ) 取り込まれやすくなるとは推定できますが、私はその根拠は知りません」。

この質問に対する回答につきましては、高井先生に確認をさせていただきました点があり

ますので、補足で説明をさせていただきます。

資料 2 - 3、表裏ございますけれども、これを見ながらお願いいたします。

まず最初の回答の一番最初のところです。DAG がホスファチジン酸 (PA) に転換されたかどうかを測定しましたということでございますが、ジアシルグリセロールは細胞膜内にリン脂質の形で含まれております。この資料 2 - 3 の「ジアシルグリセロールの細胞内代謝」というところを見ていただきますと、おわかりの方はわかると思いますが、リン脂質の二重膜構造の部分、これが細胞膜でございます。丸があって、2 本足が出ている、それが向き合うような形になっている。生化学の基本でございます。

この細胞膜の中の PIP₂ というものがございまして、これが、フォスファチジルイノシトール 4:5 -二リン酸 (PIP₂) でございまして、これが細胞膜の中にありまして、PLC (ホスホリパーゼ C) によりまして、これは酵素でございますが、この酵素によりまして、もともと細胞膜の構成成分ですが、DG (ジアシルグリセロール) と、もう一つ IP₃ (イノシトール - 3 - リン酸) の 2 つに分かれるということでございます。

このできてきましたジアシルグリセロールが、その隣の DGK (ジアシルグリセロールキナーゼ)、これも細胞内にある酵素でございますが、これによって PA (ホスファチジン酸) に代謝される。

その辺りの化学物質の構造は、裏をめぐっていただきますと、先ほどの OAG のアセチルとオレオイルと、下にありますのがグリセロリン脂質。PA (ホスファチジン酸) というのは、ジアシルグリセロールに 2 本の脂肪酸が付いたところに、X のところにリン酸が付いて、Y のところに水素が付いている。これがホスファチジン酸でございますが、そういった形になる。これが自然の、ヒトも含めまして細胞内で起こっている。

高井先生の研究は、この DG を細胞の外から加えまして、この細胞内にあります DGK、(ジアシルグリセロールキナーゼ) によって代謝が行われて、PA が産成される。要するに、ジアシルグリセロールが細胞内に入れば、細胞の DGK で代謝を受けて PA が産生される。

この代謝の産生物である PA を計ろうということで、マーキングをした DG を加えまして、マーキングされた PA が産生されていれば、これはジアシルグリセロールが細胞内に取り込まれたというふうに判定して、結果をレポートとしてまとめておられます。

更に、高井先生は「私は実験を行った記憶はありません」と書かれていらっしゃるのですが、これについて確認をしましたら、高井先生からいただいております参考文献 5 というのがこの実験のレポートなのですが、論文の筆者に高井先生も入っておりますが、実際に実験をされたのは、高井先生ではなくて共同筆者になっております、貝淵先生である

と。その辺のことは、今、名古屋大学の教授をしておられる貝淵先生に聞いてくださいということで、高井先生自身が自分でやったことではないのでお答えできませんということでしたので、電話になりましたが、事務局から貝淵先生に御連絡をいたしまして、この辺少しお聞きしました。

そういたしますと、高井先生の資料 2 - 1 に付いております参考文献 5、下に書いてありますページ数で言うと 24 ページ、原著論文だと 6703 ページから始まる資料の 26 ページです。全部英文なのですが、該当部分だけを御指摘いたしますと、左側のカラムの下から 2 つ目の段落の一番最後の分になるのですが、下から 16 行目からその段落の最後までのごとくでございます。「Diacylglycerols possessing two long fatty acyl moieties such as diolein were practically ineffective to induce 40-kilodalton protein phosphorylation *in vivo*」、つまりこの 40 キロダルトンのプロテインというのが PA であります、2 つの長鎖脂肪酸で構成されるジオレイン、オレイン酸 2 本で構成されている DAG では、この 40 キロダルトンのプロテインが、*in vivo* の実験においては生成されなかったと。つまり 2 本とも長鎖脂肪酸の DAG は、ここは貝淵先生が行われた実験だそうですが、その実験によれば細胞内に取り込まれなかったということでございます。

その後書いてありますのが、文献 5、6、11 というのは、この高井先生が行われた *in vitro* の実験なのですが、このジオレインのジアシルグリセロールを *in vitro* で行った場合には「although this diacylglycerol was highly active to support enzymatic reaction」、PKC の活性化作用、これが *in vitro* で起こっていたと。つまり *in vitro* で起こるけれども、細胞内に取り込まれないということ、25 年ほど前ですが、貝淵先生がお示しになっております。

高井先生は、これは自分でやった実験ではないので、参考文献としては引用しておりますが、回答ではわかりませんとお答えいただいております。

それで、高井先生は貝淵先生から、2 本長鎖のものでは *in vivo* の実験ができませんと言われて、この 1 - オレオイル - 2 - アセチルグリセロール (OAG) を使ったと。これは、資料 2 - 3 の裏の「有機化合物の名称」というところを見ていただくとわかりますが、アセチルというのは $\text{CH}_3\text{-CO-}$ 、炭素数 2 という一番短いものでございます。オレオイルというのが、- 9 で不飽和結合を持ちます炭素数 18 の長鎖の脂肪酸でございます。ですから、私どもの質問の仕方がちょっと不十分だったのかもしれませんが、2 本とも長鎖脂肪酸を持つジアシルグリセロールは細胞内に入りません。しかし、一方が長鎖脂肪酸で、一方がアセチルのように非常に短い、短鎖脂肪酸の中でも特に短いもの、この OAG については

細胞内に入りますと、これが高井先生、貝淵先生からの御回答でございました。

3番目の(ウ)のところの「細胞膜に物理的な傷害等がある」ところは、実験等をしていないのでわかりませんということでございました。理論的には取り込まれやすくなると推定できますということです。

2番目の質問は「sn-1,2-ジアシルグリセロールを用いた皮膚塗布実験等、*in vivo*において、発がんプロモーション作用を確認した実験は行われているのか」。これについては、高井先生ともに、自分でもやっていないし、やった実験も知らないということで、わかりませんという回答でございます。

3番目の質問は「細胞内において、sn-1,2-ジアシルグリセロールはどのように代謝されるのか」。

「(ア)細胞内のジアシルグリセロールは速やかに分解されるか否か」。

「(イ)ジアシルグリセロールが細胞内に蓄積するか否か」。

これにつきまして、(ア)の方ですが「1.の(ア)でお答え致しましたように、細胞外から導入されたOAGは少なくともPAに代謝されます」と。

先ほどの資料2-3にございますが、通常の細胞内に本来ありますDGでありますと、イノシトールリン脂質代謝回転というのが、ぐるぐると回っておりまして、DGがPAになり、更にCDP、DGとなって、再びPIに戻ると、このホスファチジルイノシトールがリン酸化を更に受けて、元のPIP₂にまで戻るという回転(turn over)をやっておりますが、この点について細胞外から導入したOAGが、このとおり回っているかどうか、これは高井先生は確認はしていませんと、ただDGがそのまま残るのではなくて、速やかにPAに代謝されると、そこまで確認しております、ということでございます。

(イ)の方ですが「細胞外から導入されたDAGはPKCを活性化しますので、少しの間は、DAGのままで存在していると考えられますが、その後は少なくともPAに代謝されます。DAGがどのぐらいの間DAGとして存在しているかは知りません。DAGとTPAとの違いは、当時、TPAは代謝されにくいということでした」ということでございます。

この辺りのことは、参考文献4に記述がございます。ページ数で23ページ、原著論文で7851ページでございます。同じような話が、あと何か所も出てくるのですが、この辺が一番はっきり書いておりまして、7851ページの左上のパラグラフで3行目辺りからでございます。3行目の「In contrast, diacylglycerol, the natural activator of this enzyme, occurs transiently during the phosphatidylinositol turnover and disappears very quickly」ということで、DAGは本来非常に早く代謝されて消えると。TPAの方は、それと異なって、なかな

か分解されずに細胞内で残っているということでした。

4 番目で「すべての sn-1,2-ジアシルグリセロールが発がんプロモーション作用を有するのか否か。

細胞膜の構成成分であるリン脂質が分解して生成されるジアシルグリセロールと同様の発がんプロモーション作用が細胞外から投与されたジアシルグリセロールにもあるのか否か」。

これに対するお答えは「DAG が PKC を活性化するためには少なくとも 1 つの脂肪酸が不飽和であることが必要であることを報告しております（参考論文 1、2）」。

飽和脂肪酸では、PKC 活性が起こらなかったと。起こらなかったというか、非常に小さかったと。不飽和脂肪酸であると活性化が起こったというレポートでございます。

「発がんプロモーター活性のないホルボールエステルは PKC を活性化しないことも報告しております（参考論文 4）」。

22 ページの TABLE 1 でございます。発がんプロモーター作用があるということがわかっております、TPA と似たような構造を持つ物質でありますホルボールエステルにつきまして、幾つか調べられておまして、PKC の活性化が TPA は 100 %ということですが、81、88、100 という上 4 つはあるが、下 4 つのものは活性がないというレポートを示されております。

これがどう違うかということ、プロモーター作用があるものは PKC を活性化する。逆にプロモーター作用のないものは PKC を活性化しないということでした。

「従いまして、PKC を活性化することができない。DAG には発がんプロモーター活性があるとは考えにくいと思います」と慎重にお書きになっております。

「もちろん、PKC を活性化することができる DAG に発がんプロモーター作用があるかどうかは存じません」と、高井先生は確認をしていないということでした。

5 番目は「皮膚と舌とでは、sn-1,2-ジアシルグリセロールの細胞内取り込みに、どの程度の差があるのか」。

お答えは「DAG を投与するとき、DAG をどのような溶媒に溶かしているかによっても細胞内への取り込み方が違うと推定されます。また、皮膚の上皮と舌の上皮では組織学的な構造の違いもありますから、厳密に言えば、DAG の取り込みがこの両者の上皮で違っているとは思いますが、正確なことはわかりません」。

6 番目は「扁平上皮細胞に対して sn-1,2-ジアシルグリセロールは TPA と同様の作用をするメディエーターであるが、腺細胞に対しても、ジアシルグリセロールは同様の働きをす

るのか」。

これに対する御回答は「扁平上皮細胞と腺細胞に OAG を作用させると、両細胞において PKC は活性化されると考えられますが、この OAG による PKC の活性化が両細胞の発がんプロモーションに同じように関係しているかはわかりません」という御回答でありました。

高井先生からの御意見、御回答は以上でございます。

福島座長 ありがとうございます。高井先生から、このような回答をいただいております。残念ながら高井先生、今日お見えでないものですから、ここで高井先生に直接御質問ということができないわけなのですが、先生方で今の説明の中で、もう少しこのところをクリアーにしてもらいたいとか。こういうことも追加の質問としてお聞きしたいということがございましたら発言していただくとありがたいと思います。

長尾先生、どうぞ。

長尾専門委員 OAG の細胞への取り込みをされた実験は、プレートレットを使っておられるので、細胞の種類によって違うかどうかということは、一応留意しておいた方がいいと思います。

福島座長 それは、我々も留意すると同時に、一応高井先生にコメントを求めてよろしいですか。

長尾専門委員 はい。求めるのはいいのではないですか。

福島座長 それはお願いいたします。

ほかにございますでしょうか。どうぞ。

池上専門委員 前回見させていただいた資料の中で、やはりジアシルグリセロールを使って実験している論文がありました。その場合は両方炭素数 8 の脂肪酸のジアシルグリセロールを使っておられるんです。その論文の中には、西塚先生、高井先生たちがやられたアセチルとオレオイルを付けたものについて、自分はやったけれども、取り込みは低かったというふうに書いておられるんです。この違いがなぜ起こるのかということについて、高井先生がどういうふうな見解を持っておられるのか、実験者による結果の違いが気になるところです。

福島座長 その文献は、今すぐわかりますか。

池上専門委員 たしかいただいた中であつたのですが。

山添専門委員 ありましたね。米国の人だったと思います。

池上専門委員 この前のメモを私も置いてきてしまったものですから、論文名がわから

ないのですが。

福島座長 わかりました。そうしましたら、それは事務局の方で調べまして、また先生ももしわかりましたら連絡していただけますでしょうか。お願いいたします。

2点目、今の池上先生の御意見を高井先生にお聞きしたいと思います。

そのほか、どうでしょうか。

高井先生も言われていますし、これは高井先生への質問ではないですけども、舌と食道、同じ扁平上皮で、形態的には確かに微妙に差があると。それでは、細胞内への取り込みはどうかとなると、私自身も、うんと首をひねるしかないのですが、何かそのことについて御見解をお持ちの先生お見えでしょう。

例えば、吉田先生、どうでしょうか。

吉田専門委員 私も、むしろ舌ですとか、皮膚の方が、扁平でも上皮が重なっておりますので、より抵抗性が強いようにも思いますし、腺上皮の場合は一層ですから、非常に吸収される面積も広がりますので、上皮の種類によってかなり違うのかなという気はいたします。今回いただいた論文が80年代に行われた実験ですので、最近のところはどうかかなというところをもし伺えればと思います。

福島座長 私が聞きたいのは2点ありまして、1点は、同じ扁平上皮で舌と食道の吸収は。

吉田専門委員 その辺りはわかりませんが、ただ舌にしましても、前面と後面では、かなり組織系も変わっておりますので、むしろ舌はかなり上皮が厚いですから、どちらかという食道の方が薄いので、私は何か障害等があった場合は入りやすいのかなという、形態的にはそういう気がいたしますが、それはあくまで確認したことではありません。

福島座長 ありがとうございます。

もう一点は、むしろ最近の文献のデータがありますかということによろしいですか。

吉田専門委員 はい。

福島座長 それは、一度事務局自身でも調べていただけますでしょうか。高井先生にお聞きすると同時に、文献サーチのときに出てくると思いますので。

ほかにございますか。よろしいでしょうか。こういうような回答をいただいておりますことを我々頭に入れて、またディスカッションのときに生かしていきたいと思います。よろしいですか。

そうしましたら、そのほかこの件に関しまして御意見がないようでしたら、これから資料3に移りたいと思います。発がんプロモーション作用のレギュレーションに関しまして、

林裕造先生にお願いしております。

これから、林先生に御意見をお伺いしたいと思います。パソコンを使って説明していただけるということですが、その前に簡単に林先生の御略歴を述べさせていただきます。

林先生は、昭和 56 年、東京医科歯科大学医学部を御卒業されております。

そして、平成 2 年、国立衛生試験所、現在の国立医薬品食品衛生研究所ですが、その安全性生物試験研究センター長をされた後、平成 7 年に北里大学薬学部の客員教授になられ、平成 12 年に NPO 法人食品保健科学情報交流協議会の理事長になられ、現在もその職にあられるということでございます。

そうしましたら、林先生、よろしく願いいたします。

林参考人 現役を退きましてもう 10 年になるのですが、年に 1 度ずつ参考意見を求められるということでもありますので、今日はこれで 3 回目なんです。ちょうど 2 週間ほど前に事務局から、発がんプロモーション作用がある、もしくは疑われる物質の規制 / 評価に関して、3 つの質問をいただきました。

その 3 つの質問のパワーポイントをつくりまして発送しましたら、また 4 つの質問をいただいたものですから、パワーポイントでこの 3 つの御質問にお答えして、その後、口頭の説明のみで、4、5、6、7 の質問にお答えしたいと思います。

質問は 3 つなのですが、この Q1 と Q2、これは発がんプロモーションの一般的な問題で、これは私の 10 年前までの経験に基づいてお話ししたいと思います。

Q3 は、実は私の専門外のことも含まれますので、これは若い新しい研究者へのアドバイスという形でお話しさせていただきたいと思います。

(P P)

最初の質問は「発がんプロモーション作用が知られる食品関連物質にはどのようなものがあるか？」ということで、これはたくさんあって、一つひとつお答えしても時間を使うだけです。ただ、ここで問題になりますのは、この発がんプロモーション作用を議論する場合には、それぞれの研究者が発がんプロモーターという用語をどのように考えているかを理解する必要があります。研究者によってはオリジナルのプレンプラム・シュービックのプロモーターの概念を使っておられる方もあり、あるいは非遺伝子障害性発がん物質を全部含めておられる方、あるいは Co-カルシノジェンも含めておられる方もあります。飯郷先生のは、プロモーター作用と Co-カルシノジェン作用の両方を含めて、プロモーターの概念を非常に広くとらえた実験で、その点を理解すれば、それなりによろしい

と思います。

ですから、こういう議論をするときには、まず研究者が使っているプロモーターの考え方、定義を理解した上で話をしないとはっきりした結論が出ないということになります。

(P P)

第2の質問は「国際評価機関や欧米諸国では発がんプロモーション作用のある物質をどのように規制/評価しているか?」という御質問です。

まず、発がんプロモーターに特有な規制/評価の方式はないんです。ただ、一般的には個々の物質、もしくは物質群ごとに、ここにあります2つの事項、これを基盤にして通常の毒性評価と同様な考え方で安全係数の方式によってADIが算出されているということです。

第1番目は、遺伝毒性発がん物質ではないということを確認すること。

第2番目は、発がんプロモーションの背景となっている影響です。例えば、細胞の増殖とか、分化の亢進/抑制、あるいは壊死と再生の繰り返しというようなこと、これが標的細胞に起こさない摂取量を確認するということです。これは、それ以下の量の摂取ならばプロモーションは起きないという前提からこういうことを言っているわけです。

ですから、プロモーターについては安全係数の方式でADIを算出されるということになるので、安全係数をいかに決めるかが問題になります。

(P P)

では、医薬品とか食品添加物、農薬などの開発研究、基礎研究ではなくて開発研究において、発がんプロモーター試験がどういう状況で実施されているのかということを考えます。第一は、発がん性試験においてがんの発生が見られた。それが、被験物質の遺伝子障害性によるものなのか。あるいは発がんプロモーション作用によるものなのか識別したい場合です。

第2のケースは、反復投与毒性試験で、特定の細胞に細胞増殖の亢進とか、細胞増殖巣、あるいは組織の壊死と再生の繰り返しを示すような像が見られ、その変化が発がんプロモーションにつながるという懸念がある場合です。

(P P)

次に、動物実験で発がんプロモーター作用がみられた場合、それをヒトに対する発がんリスクの観点からどう評価したらいいかが問題になります。これは、大体スライドに示す手順で普通行われているのです。

1つは、遺伝毒性発がん物質でないことを確認するということです。ちょうど私が現役

の時代ですが、1984年に2-ニトロプロパンが発がんプロモーターか否かをJECFAで評価されましたが、すべての資料を検討した結果、これは遺伝毒性発がん物質であると判断され、この物質は食品生産の有機溶媒として使われるべきではないという結論になりました。

第2のステップ、これは動物実験で確かに発がんプロモーター作用が認められたが、その作用はある特定の動物種、あるいは特別の系統に特異的なのかどうか、ヒトにはあてはまるかどうかという問題を確認する段階です。プロモーターとか、非遺伝子障害性発がん物質の中には、特定の動物に特異的に働いて、ヒトではあまり影響がないというものもあることが知られているからです。これを第2番目に検討いたします。

典型例は、サッカリナトリウム、グルタミン酸ナトリウムのような、有機酸のナトリウム塩です。これを大量投与したときに膀胱がんが起こるのですが、この作用は雄のラットに特異的な現象であるということがわかっております。

この知見は、基礎研究としては1950年の後半から1960年に英国において行われた実験から得られたものです。この作用を安全性の評価という観点で非常に大きな実験をやらせて、それを体系づけられたのは、実はここの座長の福島先生なんです。現在では、サッカリナトリウム、グルタミン酸ナトリウムなどの有機酸のナトリウム塩を大量に投与した場合の膀胱がん、あるいは膀胱の中皮への影響というのは、これは雄ラットに特異的な現象であることが国際的に認められています。

第3の段階として、被験物質がどの種に対しても発がんプロモーター作用を示すことがわかり、ある程度の用量ならばヒトに対しても作用するかもしれないと考えられる場合、発がんプロモーター作用についての無影響量を求め、これに基づいてADIを算出するというような作用強度の立場からの評価が行われます。

これの1つのいい例がBHAなんです。BHAは、前胃に起こるからヒトに対する作用はないと言われており、WHOもそれも考慮に入れておりますけれども、実際には前胃での細胞の増殖の影響と用量との関係から無影響量を算出しています。

赤色素のエリスロシンについても同じような方法で無影響量を求めて、それに従ってADIが算出されています。この場合、安全係数をどのように設定するかということが重要です。

(P P)

その次の問題が「ジアシルグリセロールに発がんプロモーション作用があるとすればどのように規制すべきか？」ということです。

実は、この1,2-DAGの発がんプロモーションがあるのではないかという懸念は、先ほど

申しましたような発がん性試験でがんが見られたということではない。それから、反復投与毒性試験で何かプロモーションを示唆するような知見が見られたというものでもないんです。

1,2-DAG が発がんプロモーターではないかという懸念は、1,2-DAG が強力な発がんプロモーターであるフォルボールエステル（TPA）と同様にプロテインキナーゼC（PKC）を活性化させるという酵素化学的知見によるものだということです。はっきり申しますと、発がん性試験は陰性であり、反復投与毒性試験は特記すべき影響はみられていません。

そうしますと、通常の見方からすると、この2種類の試験で影響がなければ、これは発がんリスクにはつながらないのではないかと考えるのが普通です。ところが、この1,2-DAG の場合には本当にそれでいいのかという疑問をじざるを得ない理由もあるのです。

その1つは、通常の食生活に比べてはるかに大量の1,2-DAG を摂取するようになるということです。もう一つは、脂肪をたくさん食べると、大腸がんが増えるという疫学的な知見です。そういう知見は、カロリー摂取が多いからとか、あるいは胆汁酸の分泌が促進されるとか、そういうことになっておりますが、これには1,2-DAG が関与している可能性も否定できません。1,2-DAG の場合にはそういう事情があるので、やはり発がんプロモーター作用を検討すべきであるということになります。法規面でも、広く解釈するとプロモーター作用の検討が求められます。例えば、食品衛生法の第7条第2項には、何か懸念がある場合には、それがリスクにつながらないことを示すデータを提出すべきという意味の条文があります。

もう一つ、EUとかオーストラリア、ニュージーランドの新規食品の中にも同じようなことが求められています。それらの条文を広く解釈すると、やはり発がんプロモーター作用について考えなければいけないことになります。

（ P P ）

先ほど言いましたように、1,2-DAG に発がんプロモーター作用があるかもしれないという懸念は、TPA の比較から来ているわけです。これは1,2-DAG を使った実験でがんが見られたということではないわけです。常にTPA がそうだから1,2-DAG もそうではないかということです。そうすると、問題の解決には1,2-DAG とTPA を比較してみるということが大事という事になります。

1,2-DAG は、先ほど高井先生の御説明にもありましたように、これはPKC の生理的な活性因子なんです。厳密にはすべてのPKC に1,2-DAG が関与しているわけではないんです。サブファミリーで見ますと、通常型のPKC では、1,2-DAG とホスファチジルセリンとカル

シウム、この3つが活性因子です。新規型の PKC の場合には、1,2-DAG とホスファチジルセリン、非定型 PKC の場合には、ホスファチジルセリンだけが関与しています。

一方、TPA は、細胞膜を通過して細胞内に入り、生理的活性因子である 1,2-DAG にかわって PKC を活性化します。そういう違いがあるわけです。それで、TPA が発がんプロモーター作用があるから、1,2-DAG も同様の発がんプロモーター作用があるのではないかということになります。

(P P)

PKC が活性化するとがんが促進されるということですが、生理的な立場からみますと、PKC は細胞の増殖、分化、胚発生、生体防御など、生命の維持に不可欠な生理機能を持っている酵素です。私たちは PKC の活性化がなければ生きていくことはできません。我々の命を支えているのは、PKC が活性化されているからということなんです。

ただ、そういう重要な酵素であるが故に、PKC の活性が過剰に発現すると発がんプロモーションなどの病態を引き起こす可能性があります。

いろいろな実験で、例えば、ラット胎児線維芽細胞における PKC_β を過剰発現された条件では、腫瘍の発生が促進される。あるいはセルトランスフォーメーションが促進されるという実験があります。過剰発現が条件です。

それから、ラットの線維芽細胞における PKC_β、これをやはり過剰発現すると同じようなことが起こると。

そうしますと、PKC が過剰発現されるという状態でプロモーションが起こることになります。

(P P)

そうしますと、TPA の投与に伴う発がんプロモーションが、PKC の活性化によるものとなります。TPA は標的細胞の内部で PKC を過剰に活性化しているということになります。

では、1,2-DAG ではどうなのか。先ほど御説明にありましたように、1,2-DAG は、細胞内でホスホリパーゼの作用でホスファチジリンイノシトールビスホスフェート (PIP₂) からつくられますが、DAG キナーゼによって速やかにリン酸化されてホスファチジン酸 (PA) になるので、細胞内での寿命が短いです。

ですから、通常の生理的な状態で作られた 1,2-DAG というのは、細胞内寿命が短いために PKC を過剰発現させることはできません。だから、生理的状态では発がんのプロモーションにも通常はつながらないと考えられます。

(P P)

そういたしますと、1,2-DAG が発がんプロモーターとして作用するための必要条件というのは、外部から生体に投与された 1,2-DAG が標的細胞に到達して、細胞膜を通過して内部に入り、PKC を過剰に発現させることです。

では、標的細胞がどこかというのですが、これは難しいのですが、この場合には TPA と 1,2-DAG を比較するということですから、TPA の標的細胞としては、皮膚の実験で重層扁平上皮細胞、それからウレタンによるマウスの肺発がんモデルを TPA が促進するということがありますから、例えば、肺胞上皮細胞がその例に挙げられます。

それから、培養細胞の実験では、TPA は線維芽細胞、あるいは腸粘膜上皮細胞の PKC を活性化させるという実験もあるようですから、これらも標的細胞とみなしてもよいと思います。

(P P)

質問は 1,2-DAG に発がんプロモーター作用があるとした場合、それをどのように規制するかであります。やはり科学的な知見なしに判断するという事は、誤解を招く元になります。ですから、どう規制するかというよりも、やはりプロモーター作用を判断する場合に、どういう科学的知見が必要なのかという質問に置き換えてお話しします。やはり第 1 に必要な知見は TPA と 1,2-DAG の標的細胞内における PKC 活性化の程度、細胞内濃度の推移についての比較研究データだと思います。

先ほどの高井先生のお話だと、TPA は細胞内にかなりとどまることがある。1,2-DAG の方は非常にショートライフスパンであるということがありました。ですから、かなり違いがあるということです。

実験動物における発がんプロモーター作用については、TPA と 1,2-DAG の比較研究のデータが必要です。もう既に幾つかの実験がやられているようですが、例えば飯郷先生の実験、あるいは多臓器発がんモデルの実験がありますが、そのほかにもっとも古典的な、マウスの皮膚についての二段階発がん試験が重要です。

それから、これは経口投与ですから、あまり意味はないのかもしれないですが、ウレタンによる肺腫瘍の促進作用、これを見るということも 1 つだと思います。ですから、こういう実験データに基づいて評価することが大切だと思います。

以上が最初にお送りいただいた 3 つの質問のお答えです。この後、4、5、6、7 の御質問についてはパソコンなしでお答えします。

福島座長 ちょっとよろしいですか。今、PC を使って御質問を含めまして、林先生か

ら説明していただきました。これまでのところで、林先生にお聞きしたいことがありましたら、どうぞ発言をお願いしたいと思います。

どうぞ。

吉田専門委員 林先生に1つ確認したいのですが、今回の1,2-DAGの、なぜやはりプロモーション作用をきちんと確認しなければいけないかということは、スライドの7枚目の、TPAでそのようなことが明らかだからということによろしいわけですね。プロテインカイネースのところがあるからということによろしいですね。

林参考人 はい。プロモーター作用の懸念は、常にTPAの比較からきているものですから、TPAと同じような観点からの実験で解釈する必要があると思います。

吉田専門委員 ありがとうございます。

福島座長 そのほかございますか。

それから、最初の方で、プロモーターの定義をしっかりとする必要があるということをおっしゃいましたが、最初に行われております実験というのは、確かに先生が言われたように、全投与期間で高プロモーションと言っていいのか、要するに、きちっとしたイニシエーション、プロモーションでの実験ではないと。

やはりプロモーターの定義ということからすると、実験系としては、あくまでブレンブラムらが最初に定義したイニシエーション、プロモーション、そのときのプロモーションの定義を。

林参考人 いや、そうではなくて、現在用いられているプロモーションには様々な意味が含まれています。だから、それぞれの実験で使われているプロモーションの定義を理解した上で、評価委員の方がお話し合いをすることが大事だという事を申し上げたまでです。

例えば、ある研究者が自分のプロモーターの概念で実施した仕事を、別のプロモーションの定義でやり直すということは意味ないことであって、それぞれの実験でのプロモーションの概念を理解し、どういう概念でその実験をやられたかということを確認した上でディスカッションしていただけないかということです。

例えば、ブレンブラム・シュービックの場合には、プロモーションだけではがんできないんです。ところが、今、私たちが考えているプロモーションの中の多くは、先生のナトリウム塩の場合でも、これは単独でがんはできるんです。言うならば、ノンジェノトキシックカルシノジェンをプロモーターとして扱っています。

もう一つは、ブレンブラム・シュービックの場合には、最初にプロモーターを与えて、その後イニシエーターを与えても影響ないんです。ところが、ナトリウム塩の場合には、

やはり膀胱の炎症性の変化を伴うので、後で投与したイニシエーターにもある程度の影響を与える事になります。そういう意味の実験データをディスカスするときの、これはこういう概念でやったプロモーターだということを理解した上で先生方がお話し合いをしていただきたいということです。

ですから、飯郷先生の場合には、これはいわゆるプロモーターということと、Co-カルシノジェンの両方含めた実験である事を理解して評価すればよいわけです。私はその方法は決して悪いとは思いません。

福島座長 ありがとうございます。

そうしますと、実際問題として、この DAG の発がん性試験では陰性という結果が出ていて、この飯郷先生のやられた試験を基にして、今、厚生労働省の方で試験を、イニシエーション、プロモーションというブレンブラムの御説明に基づいた追加実験をやっているんですね。

林参考人 はい。

福島座長 その結果によって、今、先生が言われたように、もう少しクリアにして、我々は議論できるということになるんですね。

林参考人 そうですね。それに関する質問は、実は事務局からの次の質問なんです。

福島座長 ほかにございますでしょうか。

もう一つは、細胞増殖を見るということも重要になってくるのでしょうか。

林参考人 私は、飯郷先生の実験の結果によると思いますけれども、その結果によってはそういうことを見る必要もあるかもしれないと思います。

福島座長 ほかによろしいでしょうか。ありがとうございます。

そうしましたら、先生、続編で御発言をお願いいたします。

林参考人 もっと早く送っていただければスライドできたのですが、第4の質問はどういうときに実験動物にトランスジェニックマウスを用いることができるのかという御質問です。

福島座長 先生、済みません。今、トランスジェニックマウスとおっしゃいましたけれども、遺伝子改変動物でよろしいですか。

林参考人 そうですね。遺伝子改変動物ですね。遺伝子改変動物を使用する機会が、安全性評価、毒性評価の過程で使うことが非常に多くなってきたと思います。ただ、現段階では、使用する目的の多くは、作用メカニズムの解析、あるいは予想した作用メカニズムの妥当性を検証するためです。

例えば、ICHで医薬品の発がん性評価のためにP53のノックアウトマウスとか、ヒトプロトタイプのc-Ha-ras導入マウスを使用することを承認しているわけですが、これの目的は、その遺伝子改変動物が被験物質に遺伝子障害性による発がん性があるかどうかということを検証するためです。

そういう立場から見ますと、今回の1,2-DAGの発がん促進作用の判断に、このHras128ラットを用いたということについては、やはり1,2-DAGがTPAと同様にPKCの活性化を通じて発がん促進作用を起こすのではないかという仮説の検証のためといえます。

そうすると、1,2-DAGがPKCを活性化するだけでなく、TPAと同様にrasのGRPの活性化もします。更にHras128ラットがTPAに対する感受性が高いという点を考えるとこの系を用いたということは論理上間違っていないんです。だから、このHras128をこの1,2-DAGが本当に発がんプロモーター作用を持つかどうかということ、感受性の高い動物で検定してみようという飯郷先生のお考えは決して理論的には間違っていないということだと思います。

この次の事務局からの質問が、プロモーション作用に関する閾値の決定に、トランスジェニック動物を用いた実験データを用いることができるのかという事です。これは先ほどの福島先生の御説明にもあったと思います。安全性評価とか、毒性評価での遺伝子改変動物の使用は、先ほど述べたように作用機序についての仮説の検証ですね。言わば、科学的な判断の方向性を決めるためのものなんです。ですから、今回の場合には、飯郷先生の実験というのは、これは閾値を決定するという行政上の立場での考え方、あるいは判断の方向性を決めるための情報を提供するという事で、Hras128ラット実験そのものから閾値を決めるというものではありません。端的に言えば、こういう作用があり得るぞということを決めるための実験だということです。

言い換えると、行政の方向性を決めるための試験と行政上の判断、今の場合は閾値ですが、閾値を決めるための試験とは別なんです。行政判断に必要な情報を提供するための試験法には国際的な評価が必要です。

飯郷先生の実験は、行政上の取扱いの方向性を決めるためのものですから、もし実験データが明らかにポジティブだったならば、閾値はどうかということとは別にデータの意味づけを考える必要があります。ネガティブの結果ならば問題ないとみてよいと思います。

繰り返しになりますが、遺伝子改変動物の使用目的を考えると、この結果だけで最後の行政的な閾値を決定するのではなく、閾値を決定することの必要性があるかないかという方向性を決める情報を提供するものであると思います。

その次の質問が、ADIの設定に際して、プロモーション活性作用の臓器特異性についてどう考えますかということです。

具体的には、扁平上皮という共通な組織ということで、皮膚における実験データから求めた閾値を舌や食道の場合に外挿できるのでしょうかということ、これは先ほど座長が強調された問題です。

発がんプロモーション作用の検討では、臓器特異性は極めて重要です。実際問題として、発がんプロモーション作用は、イニシエーターとしての作用よりも臓器特異性ははっきりしているので、この場合もやはり臓器特異性は考える必要があります。

今回の1,2-DAGについて、皮膚の実験結果から、舌や食道に外挿してできるかということです。臓器特異性という点では、答えはイエスと言っていいと思うんです。なぜかと言いますと、この実験の目的は、TPAの作用と1,2-DAGとの作用の比較実験なのです。TPAは皮膚に対する発がん促進は知られております。それと同時に前胃についての発がん促進作用も知られています。

ですから、臓器特異性という面では、舌についてはあまりないのですが、上部消化管の重層扁平上皮と皮膚とは、共通であると考えてもいいと思います。

ただ、今回の1,2-DAGについては、臓器特異性の方にもう一つ考えなければいけない問題があります。

それは、実は標的となる組織、標的となる細胞に対する、1,2-DAGの作用時間、作用強度の問題です。舌とか口腔粘膜、あるいは前胃の場合には、これはえさに混ぜた1,2-DAGを摂取するというものですから、細胞、あるいは組織との接触時間は、皮膚に比べて長いんです。皮膚の場合には、大抵それを1回塗るだけですからそれ程長くはない。ですから、この影響による違いを補償する、あるいはコンペントするためには、皮膚の実験についても1日当たりのペインティングの回数を増すとか、あるいは皮膚に対して長く作用するという実験技術の工夫が必要ではないかと思います。これが、この御質問に対するお答えです。

もう一つの御質問は、実は1,2-DAGではないので、後ほどお答えします。

福島座長 4、5、6の事務局からの質問に対して、林先生に回答していただきました。林先生としては、事務局から何かありますかということなのですが、ほかの先生方も結構でございます。いろいろあると思います。

まず事務局の方で、林先生の今のお答えに確認したいことはありますでしょうか。ここははっきり理解できなかったから、もう一つ確認したいこととか。

丈達課長補佐 事務局的にはよくわかったのですが、あと先生方。

福島座長 わかりました。それでは、先生方から御意見、御質問をしていただきたいと思います。

林先生、先ほどプロモーション作用の閾値の検証ということで、遺伝子改変動物の使用の有無、その是非についての回答として、閾値を決める方向性は示すと。しかし、行政上の判断としては使えるが、その閾値を決めるところまではできないということなのですが、その場合、例えば、Hras のトランスジェニックラットで陽性に出たと。しかし、ワイルドを使ったときにはネガティブだったと、閾値はどうなるのでしょうか。

林参考人 はい。やはりその場合は、ここで聞いている遺伝子改変動物は、まだ使われてそれほど歴史がないです。閾値を決めるということは行政上の1つの重要な指標になるわけです。そうすると、こういう指標を決める場合の実験系というのは、やはり国際的にかなり認められているものでなければならぬわけです。

現在、トランスジェニックマウスについて、一応行政上の評価に使ってもいいというのは、医薬品についての P53 ノックアウトマウスと、ヒトのプロタイプの c-Ha-ras の導入マウスです。それとても決して十分ではないと思います。

ですから、発がん促進作用があるよとか、あるいは遺伝子障害性はないというような定性的な判断には使えるとしても、それから行政に使えるような数値としての知見を提供することは難しいと思います。やはりこの遺伝子改変動物では、方向性を示すためのデータにとどめ、その後で国際的に認められている実験系で必要があれば定量的な評価に持っていくというのが通常のやり方ではないかと思います。

福島座長 どうぞ。

長尾専門委員 具体的な話で、どんなふうにお考えなのかお伺いしてみたいのですが、例えば、ロイコプラキアなんか持っている人がいるとしますね。健康であれば何でもないので、そういう人は問題ですよと、そういう人にはプロモーター活性があるからやめた方がいいですよという表示になるのかと思うんです。

林参考人 実験データが出ないうちにプロモーター作用がある程度以上あるという前提を立てて議論するのは問題だと思うのですが、1,2-DAG ということを離れて、一般論としてはそういうことはあり得ます。

こういうものは、通常の方は使ってもいいけれども、ある特定の、例えば遺伝子素因を持っている方、あるいは病歴を持っている方には摂取なさないようにということは、これは普通の食品の場合にはあり得るわけですから、一般論としてはあると思います。

長尾専門委員 わかりました。

福島座長 どうぞ。

吉田専門委員 私もトランスジェニック動物をメカニズム研究に使うという先生の御意見には全く賛成です。トランスジェニックマウスについては、たしか最近 PPAR については、P53 ヘテロノックアウトマウスを使っても恐らく出ない。せっかくバリデーションをあれだけしたのにといいこともございますから、常に検証していくことが必要だと思います。これはコメントです。

あと1つ先生にお伺いしたいのは、この臓器特異性ということなのですが、今回変化が認められたのは舌だけで、例えば、前胃ですとか、食道にはこのラットでは出てこなかった。そうしたら、同じように暴露されていて、何らかの過形成なりも出てきてもよった臓器にも出てこず、舌のみだったということでも、それは恐らく皮膚とか重層扁平上皮全般をある程度予想することができるというのでしょうか。

林参考人 これの非常に難しい問題で、飯郷先生の実験データを拝見させていただきますと、影響がなかったということではないんです。食道にも前胃にも、対照群も含めて、4-ニトロキノリン-1-オキシドを使っていますから、変化は起こっているわけです。

ただその中で、トレンドテストで陽性であるかもしれないというような知見が得られたのは舌だけなんです。トレンドテストというのは、強陽性の場合には、それだけで判断は可能ですが、はっきりした結果が得られない場合には、通常はそれだけで判断しません。一般には関連のあるさまざまな情報を加味して、あるいは必要に応じて大規模な実験をやって、それで判断するというのがトレンドテストでわずかに陽性というときのやり方なんです。

ですから、この場合には、飯郷先生の実験ではトレンドテストで何か作用がありそうだといいことであって、プロモーター作用が明らかにあるという判断と少し違うのです。だからいいのではないかというふうに判断する人と、確かにトレンドがあるのだから、これは確かめなければいけないという判断をされる方と2つに分かれると思います。

福島座長 ありがとうございます。

そのほか御質問ございますか。よろしいでしょうか。

そうしましたら、続いて7のお答えをお願いします。

林参考人 質問7は、JECFA、WHO/FAOの合同の食品添加物合同会議では、カラギナンには高用量で大腸発がんを促進する作用があるにもかかわらず、5%飼料に混ぜた実験で促進作用がないということから、ADIを特定しないと評価しているが、これはどうなんだ

ということです。

これは考えようによっては、発がん促進作用があっても、その作用が用量の多いときだけなら問題ではないのではないかというふうにも取れますし、あるいは JECFA の評価が少し甘いのではないかというふうにも取れるわけです。

ところが、両方とも誤りなのです。カラギナンというのは、御承知のとおり海草から採った分子量が 10 万以上の多糖体の硫酸エステルです。JECFA で ADI を特定しないと評価しているのは、分子量 10 万以上の天然のカラギナンについてです。分子量が 10 万以上の天然のカラギナンの 5% 添加飼料を用いた実験で発がんのプロモーション作用がなかったというデータを評価に使っています。だけど、発がん促進作用があったという情報があったのではという疑問が残ります。

今回、事務局から送っていただいた資料は、2002 年の JECFA の資料なんです。2002 年の JECFA の資料だけ読むと、確かにこういう疑問を抱かれるのは当然だと思いますが、カラギナンの安全性評価には長い四半世紀にわたる歴史があるんです。

大腸発がんの促進作用があるという知見は、1970 年代の日本の研究なんです。この研究で用いられているのは、天然のカラギナンではないのです。カラギナンを化学的に分解して、カラギナンというのは 10 万以上の分子量ですが、それを小さく分解したもの、これを使った実験なんです。これは、degraded カラギナン(分解カラギナン)といわれています。degraded カラギナンについては、明らかに大腸の発がんプロモーター作用があるし、慢性潰瘍性大腸炎のモデルにも使われています。ですから、degraded カラギナンを大量に動物に食べさせると、発がん促進作用が現れる。しかし、天然の大きな分子のカラギナンについては、その作用はないという立場で ADI は特定しないと評価しているということなんです。

しかし、別の問題もあります。確かに 5% をえさに混ぜて食べさせても発がん促進作用がなかったということはよろしいのですが、飼料に混ぜた 10 万以上の分子量のものが消化管の中で特に腸内細菌によって低分子化する可能性があるのではないかという可能性、量は多くないでしょうが、それによる健康への懸念もあります。

ですから、カラギナンの安全性については 5% で大丈夫だということだけではなくて、カラギナンの中に低分子なものがどのくらい混入しているかということの規格が重要なんです。

2002 年の評価報告書を見ると、その点についてあまり書かれていないため、誤解を招いたものと思います。

ですから、実は十数年前に、やはり低分子化したカラギナンが有害だとすれば、分子量とそういう作用との間の関連性を調べるための実験でそれを実証したいということで厚生省を通じて某外国のメーカーに共同研究を提案しましたが、カラギナンの印象を悪くするからということで、丁重に断われました。

以上で、やはりカラギナンの場合には定量的な評価も大事だけれども、この場合にはやはり企画の問題であるということを御理解いただきたいと思います。

以上です。

福島座長 ありがとうございます。今のカラギナンと発がん性のことについて、どなたか御質問ございますか。

林先生、私から1つお聞きしたいのですが、そのディグレイデッドカラギナンで、これは慢性大腸炎のモデルとなっていると。その場合、慢性大腸炎というのは、潰瘍性大腸炎というふうに置き換えてよろしいですか。

林参考人 北里大学の岡安教授は、慢性潰瘍性大腸炎と言っておられますので、それでいいと思います。

それで、あらかじめ大腸発がん物質でイニシエートした動物に硫酸多糖体を食べさせて発がんプロモーター作用があるということを実験的に示しておられます。

福島座長 そうしますと、先ほど天然の分子量が10万以上のカラギナンを5%で使用する、使用しない、その場合には、別の見方をすると、潰瘍性大腸炎というものができてなかったという見方もしていいわけですか。

林参考人 はい。できてないんです。できてないというのは、もう初期の実験でも出ているんです。やはりディグレイデッドカラギナンの場合には、そういう変化があると。ナチュラルのカラギナンの場合にはそれが無いということで、その実験を最初にやられた先生は、先生も御存じの広野先生です。

福島座長 どうぞ。

山添専門委員 先生は、今、企画の問題だとおっしゃったのですが、これをジアシルグリセロールに置き換えますと、ジアシルグリセロールも脂肪差がかなり違うわけですね。長さとか不飽和度とか、いろんなことがあります。そうすると、これをDAGという全体でくくっていいのか。あるいは今回のものはもっと厳格にきちっと評価するべきなのか、その辺のところはいかがでしょうか。

林参考人 現時点では、DAGということと、1,2-DAGも書かれております。ですが、これが本当に発がんプロモーター作用があるということになって、しかも使いたいというこ

とになったら、先生のおっしゃるとおりだと思います。

でも、発がんプロモーター作用が問題にならない場合には、DAGの量、あるいは強いて言えば1,2-DAGの量ぐらいまででよろしいのかなと思います。ただ、これは参考人としての意見です。

福島座長 いや、大いに参考になります。ほかにございますか。

せっかく今日、林先生においでいただきましたので、もう1、2ございましたらお受けしたいと思います。

「食品安全委員会」の先生方、何かございますか。

寺田委員長 どうもありがとうございました。林先生とほとんど同じような感じを持っているのですが、先生方もそうだと思いますが、高井さんもお忙しい中よく書いてくれて、本当にありがたいと思っております。

ただ、私は普通のレギュレーションでやる発がん性があるかというところの実験はきちっとやっておられて、それは大丈夫だと思うんです。先生が言われた、これは前にも言ったのですが、唯一TPAとの関係で、しかもこれは日本で見つけたことだから、あまり違ったらいけないだろうと思っているのが1つのポイントで、そのところがなかったら、こういうところはオープンでやっておりますから、逆にそれで風評被害と言ったら悪いですけども、非常に難しいところで、もしアウトなら当然アウトですけども、そうでないのにあたかも既にこれはプロモーション作用があるということではないということは、よく理解してやらないと、ベネフィットの方はよく知らないのですが、ベネフィットがあってやるときのマイナス面だけ働いてしまうようであれば大変まずいという感じがしております。

全部のことについて、おっしゃるとおりだと思います。本当にありがとうございました。

福島座長 どうぞ。

池上専門委員 動物実験でプロモーター作用を証明するというのは、極めて難しいなということ、先生のお話を聞いてそういう印象を持ちました。1,2-DAGが実際には、先ほどの高井先生のお話などから見ると、本当に細胞内に入り得るかかどうかということが非常に大きなポイントではないかというふうに私自身は感じるんです。ですから、動物実験でプロモーター作用があるかないかということを実証するよりは、このものが本当に細胞の中に入り得るかかどうかということを確認して、もし入らないということであれば、もうこれはプロモーターとして見る必要はないのではないかという感じもするのですが、これはいけませんか。

林参考人 先ほど、私が 1,2-DAG が発がんプロモーターとして作用することを証明するための必要条件ということの中の 1 つが、今、先生がおっしゃった、外部から生体に投与された 1,2-DAG が標的細胞に到達して細胞膜を通過して内部に入り、PKC を過剰に発現させることです。この証明が一番大事だと思います。私は古典的なトキシコロジストですが、新しいトキシコロジストの方に考えていただきたいと言ったのは、実はこの点についての試験法の事です。

第 1 段階は、やはり標的細胞内部における、PKC に対する作用の動態です。これを見るということが一番最初だと思います。

先ほど、TPA は細胞内に残る。一方、1,2-DAG は非常に短命であるということですね。ただ、先ほど 1,2-DAG は DAG キナーゼでもってすぐホスファチジン酸になります。そのときに、もし DAG キナーゼが抑制されているという条件であれば、細胞内の 1,2-DAG は長続きするわけです。

ですから、先ほど少し痛めつけられた細胞についてどうかということは、細胞膜を通過するかということのほかに、細胞の内部での 1,2-DAG の寿命を決める問題にもなるので、やはりそういうものを含めた考え方を、生化学の方、細胞生物学の先生方に少し検証していただきたいと思っております。

福島座長 ありがとうございます。よろしいでしょうか。

林先生、長時間にわたりまして、どうもありがとうございました。

それでは、資料 4 に移りたいと思いますが、北島さん、これは時間がかかりますか。

北島新開発食品保健対策室長 いいえ、かかりません。

福島座長 そうですか。それでは、よろしく願いいたします。

北島新開発食品保健対策室長 それでは、資料 4 について御説明申し上げます。マウスの皮膚二段階発がんにおける DAG のプロモーション作用につきましては、国立がんセンター研究所におきまして、がん研究助成金により、本年 8 月から実施されております。この別紙の中間報告というところがございますように、11 月 24 日現在、DMBA 塗布によるイニシエーション後 12 週目でございますが、ここにありますとおり「陽性対象群（DMBA 塗布後 TPA 塗布群）では TPA 塗布 5 週目より、マウスの背部の皮膚に隆起状病変が発生し始め、12 週目現在 10 匹中 5 匹（50%）に発生しており、平均発生数は 4.8 ± 2.6 （平均 \pm SE）である。一方、他の全ての群では、このような隆起状病変の発生は観察されていない」という御報告です。

「なお体重については陰性対照群（DMBA 塗布後溶媒塗布）に比し全ての群で有意な変

化は見られなかった」という御報告です。

この試験スケジュールですが、当初設定した最短の試験終了日は、来年1月16日の週となっております。しかし、この時点で陽性対照群（DMBA塗布後TPA塗布群）のみに発がんが見られ、その他の群で異常が見られなかった場合には、引き続きマウスの状態を観察しながら試験を実施すると聞いております。

この場合の最終的な試験終了日は未定でございますが、長ければ来年の夏ごろまで継続する可能性もあるということでございます。

お時間がないところで、済みませんが、前回ワーキンググループ第1回の会合において御報告させていただきました追加試験のプロトコル（案）につきましては、本ワーキンググループの御意見を踏まえまして、すべて案1の考え方で実施することと決定いたしました。

なお、試験3につきましては、案1に加え研究者の御配慮で第2案の第10群、第11群を加えた形で拡大して実施することとしたことを併せて御報告させていただきます。

以上でございます。

福島座長 ありがとうございます。

今2点御報告いただきましたが、御質問ございますか。どうぞ。

寺田委員長 その第1案とか第2案というものを、年を取ったらすぐ忘れてしまったんですが、何でしたっけ。

北島新開発食品保健対策室長 前回の資料の試験1、試験2、試験3というものでございます。

寺田委員長 要するに、4NQOをラットのワイルドタイプでやるのとトランスジェニックでやるのと、それだけですか。

北島新開発食品保健対策室長 試験1、試験2がトランスジェニックラットで、試験3はノーマルラットでございます。

寺田委員長 もう一つ、そちらはいろいろ実験をやられておられるんですが、問題はDAGを100 μmol と決めた根拠は何ですか。

北島新開発食品保健対策室長 これにつきましては、研究者に聞きましたところ、前回のジアシルグリセロールの発がんプロモーション作用に関する研究、いわゆる舌の試験におきまして、総重量に対して最高5.5%のジアシルグリセロールを含む基礎資料を与えており、このときのラットの1日平均ジアシルグリセロール摂取量を、マウスの1回塗布量に換算したものが、約100 μmol であると聞いております。また、飼料の粘性が強いため、

そのままでは正確な量を塗布することが困難で、アセトンで希釈する必要があり、塗布できる量が限られているため、100 μmol くらいが上限であったということでございます。

寺田委員長 どうもありがとうございます。

福島座長 ほかに御質問ございますか。よろしいですか。

どうもありがとうございました。

そうしますと、ちょうど予定しておりました6時になりましたので、本日はここまでにしたいと思います。今日の林先生からいただきましたコメント、そのほかまとめまして一度事務局の方で次回の進行する内容として、いろんなポイントを一度出していただいて、それを事前に配布していただきまして考えておいていただくと、それでこの場でディスカッションするというふうにしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、そういうことでお願いしたいと思います。

あと事務局の方から何かございますか。

丈達課長補佐 特にございません。

福島座長 それでは、先生方、長時間にわたりましてありがとうございました。本日の「新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ」のすべての議事を終了いたします。次回の予定を、事務局の方からお願いできますか。

丈達課長補佐 次回は、今月13日火曜日、午前10時を予定しております。よろしくお願いたします。

福島座長 13日だとすぐですね。よろしいでしょうか。13日火曜日、午前10時ということでございます。

それでは、この「新開発食品・添加物専門調査会合同ワーキンググループ」を閉会いたします。どうもありがとうございました。また、林先生、どうもありがとうございました。