

1 1. 増村先生からのコメント

2
3 六価クロムの遺伝毒性（と発がん性）に関するコメント（増村）
4

まとめ：六価クロムは遺伝毒性物質であるが、NTP の 2 年間飲水投与発がん試験（マウス、ラット）で認められた口腔と小腸での発がんについては、非変異原性メカニズムによるものである可能性が高いと考えられる。

5
6 六価クロムは、*in vitro* 遺伝毒性試験において、細菌を用いた遺伝子突然変異試験を含む多くの試験で陽性であった。*in vivo* 遺伝毒性試験においては、マウス
7 及びラットに腹腔内投与した遺伝子突然変異試験、染色体異常試験、小核試験等
8 では陽性を示した。一方で、飲水投与した小核試験では陰性となる傾向があり、
9 飲水投与条件での遺伝毒性は十分に明らかではない。
10

11
12 F344 ラットに SDD を 2 年間飲水投与する発がん試験が行われ、雌雄で口腔腫瘍の発生が認められた（NTP 2008）。また、B6C3F1 マウスに SDD を 2 年間飲水投与した発がん性試験が行われ、雌雄で十二指腸および小腸において癌の発生が認められた（NTP 2008）。
15

16
17 これに対して、Thompson ら（2015c）（2017）は、NTP（2008）で行われた試験で口腔腫瘍がみられた用量の SDD（180 mg Cr(VI)/L）を雄 Big Blue® TgF344
18 ラットに 28 日間飲水投与し、口腔組織および十二指腸の *cII* 遺伝子突然変異試験を行い、結果は陰性であった。
20

21 また、平成 25 年度食品健康影響評価技術研究「酸化ストレスを誘導する遺伝毒性物質の低用量における量反応関係の解析」（青木ら）において、2 年間の投与によりマウス小腸に腫瘍が発生する用量である 85.7 mg/L 重クロム酸ナトリウムを雄 *gpt delta* マウス(C57BL/6)に 28 日間および 90 日間飲水投与し、小腸の *gpt* 遺伝子突然変異試験を行った結果、突然変異体頻度の増加は認められなかった。（論文未発表）
26

27
28 適切な *in vivo* 試験系（遺伝子突然変異試験）によって、発がん標的組織での遺伝子突然変異誘発性が認められない場合、非変異原性発がんメカニズムを推定
29 することには一定の妥当性があると考えられる。（注 1）（注 2）
30

31
32 従って、NTP の飲水投与による発がん試験において認められたラット口腔およ

1 びマウス小腸の発がんは、主に非変異原性メカニズム（標的組織における細胞傷
2 害性と細胞増殖亢進）によることが示唆される。（Thompson et al. 2011a）
3 （Thompson et al. 2012b）（Thompson et al. 2013）（Proctor et al. 2014）

4
5 この考えは、飲水投与による特定部位の発がんに適用できる。一方で、マウスお
6 よびラットに腹腔内投与した遺伝子突然変異試験、染色体異常試験、小核試験等
7 は陽性を示すことから、非経口投与条件および他の部位の発がんにおいては、変
8 異原性 MOA の関与を十分否定することはできないと考える。

9
10 総合的に、六価クロムを遺伝毒性発がん物質として評価することは妥当と考
11 えるが、その場合、NTP のラットおよびマウスの発がん試験データ（非変異原性
12 メカニズムが示唆される）を用いて、閾値なしを想定した評価値を求めることは
13 適切でないかもしれない。ただし、他に量的評価に使える発がんデータがない場
14 合は、非変異原性メカニズムが示唆されることを踏まえた上で、NTP の発がん
15 試験データに BMD 法を適用するのが現実的かもしれない。

16 飲料水に限定した場合は、閾値ありとして ADI の設定が可能かもしれないが、
17 発がん標的部位の特異性がヒトに外挿できるかどうかは疑問。

18
19 （注 1）平成 25 年度食品健康影響評価技術研究「遺伝毒性発がん物質のリスク
20 評価手法に関する研究」（小野ら）において提案された『食品中の遺伝毒性発がん
21 物質によるヒト経口発がんリスクの定量的評価指針案』のケース 3,4 に相当。

22
23 ケース 3：Ames 試験が陽性であり、*in vivo* 小核試験が陰性の場合、発がん標的臓器での他
24 の試験成績より判断を行う。

- 25 1. TG 突然変異試験成績が発がん標的部位で得られており、その結果が陰性であれば、
26 他の試験（例えば *in vivo* コメット試験や肝不定期 DNA 合成試験）で陽性であって
27 も原則として非変異原性発がん物質と評価する⁷。
- 28 2. TG 突然変異試験結果が得られていないが、他の試験が発がん標的部位で陰性を示し、
29 かつその結果の信頼性が高いものであれば、非遺伝毒性発がん物質と評価することが
30 できる。
- 31 3. 他のいずれかの試験で陽性あるいは他の試験成績が無い場合⁸、原則として閾値のな
32 い変異原性発がん物質として評価する。

33 ケース 4：3 種の試験全てが陽性、もしくは *in vitro* 染色体異常試験は陰性であるが他の 2
34 種の試験が陽性の場合、原則、変異原性発がん物質と評価する。ただし、発がん
35 標的臓器において TG 突然変異試験で陰性の結果が得られている場合、非変異原
36 性発がん物質と評価することもできる。

1 ⁷TG 突然変異試験で評価可能な標的臓器は限られている、また、試験結果が陰性であっても投与期間や投
2 与量から結果の妥当性についても評価する必要がある。

3 (指針案より (下線は増村))

4

5 (注 2) 食品安全委員会においては、過去に農薬キャプタンの例がある。*In vitro*
6 遺伝毒性試験の結果は陽性であり、混餌投与によるマウス発がん試験で十二指
7 腸において発がん性が認められたが、発がん性が認められた用量での 28 日間混
8 餌投与によるトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験 (TG 試験) が追加
9 で実施され、発がん標的組織の十二指腸で結果が陰性であったことから、『これ
10 らを総合的に判断し、キャプタンは、*in vitro* では遺伝毒性を示すが、発がん標
11 的臓器を含め、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。』(農薬評価
12 書より)

13

2. 長谷川先生からのコメント

毒性メカニズムの④の最初のカラムの記載に関して、マウス小腸における非遺伝毒性発がんメカニズムについて、例えば、以下のような直接的なデータの提示を含んだ要約にしてはいかがでしょうか。

マウスに重クロム酸ナトリウムを投与し、小腸発がんの生じる発がん標的臓器を直接解析し、その発がんのメカニズムを非遺伝毒性機序によることが示されている。

六価クロムを投与されたマウスの小腸では、DNA 酸化損傷の指標となる 8-OHdG の増加は見られなかったが、GSH/GSSG の低下等から酸化ストレスを受けており、絨毛の細胞毒性は明らかで、それに連動して生じる陰窩細胞過形成が発がんのメカニズムと推定されている [Thompson et al., 2011a]。DNA 損傷 (γ -H2AX 免疫染色により証明) は絨毛部位でのみ増加し、六価クロムの蓄積 (X-ray 蛍光顕微鏡で証明) も絨毛でのみ認められている [Thompson et al., 2015b] が、形質転換を示す異常巣は認められていない。さらに、絨毛の細胞毒性は酸化ストレスによりもたらされたことが全ゲノムマイクロアレーによる遺伝子発現変動解析によっても示された [Kopec et al., 2012a]。

一方で、小腸陰窩細胞には六価クロムによる K-Ras コドン 12GAT 変異頻度の増加はなく [O'Brien et al., 2013]、DNA 損傷 (γ -H2AX 免疫染色により証明) も認められず [Thompson et al., 2015a]、六価クロムの蓄積 (X-ray 蛍光顕微鏡で証明) も認められていない [Thompson et al., 2015a]。加えて、小腸陰窩細胞に小核の増加も認められていない [Thompson et al., 2015b]。さらに、重クロム酸カリウムの *Nrf2*-KO *gpt delta* マウス又は *gpt delta* マウスへの小腸腫瘍発生用量の投与で点突然変異頻度の増加は認められていない [Aoki, 2014]。以上から、小腸陰窩細胞に変異は生じていないと判断されている。