

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006 ～ 2009

課題番号：18206057

研究課題名（和文）放射線等価係数による化学物質誘発健康リスクの予見的リスク評価手法の開発

研究課題名（英文）Novel Risk assessment method for chemicals using Radiation Equivalent coefficients

研究代表者

森澤 眞輔（MORISAWA SHINSUKE）

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：50026340

研究成果の概要（和文）：

放射線等価係数を用いた新しいリスク評価法をベンゼン誘発白血病に適用した結果、1ppmの大気中ベンゼンに対して 3.5×10^{-4} – 8.5×10^{-4} 、 $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の大気中ベンゼンに対して 1.2×10^{-7} – 2.8×10^{-7} の白血病リスク推定値を得た。これらの推定値は表6に示した疫学情報に基づく報告値と比べて約30分の1から約20分の1程度の過小評価となった。白血病の標的臓器である骨髄の正常細胞を用いることでリスク推定値が改善されたと言え、エンドポイント毎に適切な細胞を用いるなど用量-反応評価の条件を整えることで、より正確な健康リスク評価が実現できると予想される。

本研究の成果により使用細胞等の実験条件を発症機構に即したものと近づけることで、より正確なリスク評価が実現できる可能性が示された。今後実験条件に更に改良を加えることで、信頼性を保った予見的な新しいリスク評価法の実現が期待できる。

研究成果の概要（英文）：

Risk assessment system for radiation has been well developed, so defining the radiation equivalent dose for chemical agents could place in the order of their risk. As well as the radiation, benzene causes leukemia to humans. Therefore, we evaluated the radiation equivalent dose for benzene based on its metabolites and low-dose rate radiation induced chromosome aberrations using CD34+ cells from human bone marrow, which is the target organ of benzene induced leukemia. As a result, the leukemia risk attributable to 1ppm of benzene inhalation was estimated 3.5×10^{-4} – 8.5×10^{-4} , and that to $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ of benzene inhalation was estimated 1.2×10^{-7} – 2.8×10^{-7} . These values were better estimates than those in a previous study using human peripheral blood lymphocytes. We can perform more reliable risk assessment by using the proper experimental condition depending on the end points.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	13,900,000	4,170,000	18,070,000
2007年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	8,300,000	2,490,000	10,790,000
総計	38,200,000	11,460,000	49,660,000

研究分野：土木

科研費の分科・細目：土木工学・土木環境システム

キーワード：放射線等価係数 健康リスク ベンゼン 放射線 白血病 DDT 肝臓癌

1. 研究開始当初の背景

近年の化学物質の増加は著しく、それらの危険性を確率的に評価することは、現代生活の利便性、安全性を守るために必要不可欠である。従来の健康リスク評価では、用量-反応関係を把握するのに疫学調査や動物実験が用いられてきた。しかし、疫学調査は悪影響が顕在化した後になって初めて結果が分かるため、新規化学物質の評価に対応できない。また、動物実験には多大なる時間と費用が必要であり、増え続ける化学物質への対応策としては現実的でない。すなわち、迅速かつ予見的な新しいリスク評価法の開発が強く望まれている。

2. 研究の目的

放射線等価係数を用いた新しいリスク評価法を提案する。ここで放射線等価係数を、化学物質の曝露量を等価な毒性を示す放射線量として表す変換係数と定義する。放射線については広島・長崎の被爆者調査をはじめとして、様々な健康影響について豊富な疫学情報が蓄積されている。従って、簡単な細胞実験により化学物質の曝露量を放射線量に変換できれば、放射線の疫学データを用いることで、動物実験に頼らずとも信頼性の高い予見的なリスク評価が実現できると考えられる。図1に放射線等価係数を用いたリスク評価法の概略を示す。まず、PBPKモデル(生理学的薬物動態モデル)を用いて化学物質の外部曝露量を内部曝露量(対象臓器に変換する。次に、同一の *in vitro* 毒性試験により得た化学物質、放射線それぞれの用量-反応関係を比較することで放射線等価係数を決定する。得られた内部曝露量と放射線等価係数から、対象臓器における放射線量が計算できる。これを臓器分配係数により全身に対する放射線量に変換し、放射線疫学データを用いて化学物質の健康リスクを算出する。実験条件等に起因して様々な不確定要素が存在するが、放射線を内標準として利用することで不確定性を緩和できる。

本研究では、上述の新しい健康リスク評価法の妥当性を検証するために、ヒトに関する疫学情報が比較的豊富に存在するベンゼンを対象化学物質として選定し、その白血病誘発リスクを評価した。ここで、ベンゼンは放射線と同様に白血病を誘発することが知ら

れており、その標的臓器は骨髄である。また、染色体異常は白血病発症機構と密接な関係があるとされている。従って本研究ではヒト正常骨髄由来造血幹細胞 CD34+を用いた染色体異常試験の結果により用量-反応評価を行った。更にベンゼンは生体内での代謝酵素によって様々な代謝生成物へと代謝され、これら代謝物の一部がベンゼン誘発がんの発症に寄与するとされている(Parke (1996)、Sammett (1979))。そのため染色体異常試験における細胞に対する曝露物質として、ベンゼンの他に、特に白血病発症に深く関与するとされるカテコール(CAT)及びヒドロキノン(HQ)を選定した。また、照射放射線としては、取扱いの簡便さからX線を選択した。すなわち、CD34+細胞にベンゼン、CAT、HQ、X線をそれぞれ曝露して染色体異常試験を行い、得られた用量-反応関係を比較することでベンゼン及び代謝物の放射線等価係数を決定し、放射線のリスク係数を用いてベンゼン誘発白血病リスクを推定した。

3. 研究の方法

- (1)ヒト造血関連細胞に化学物質並びに放射線を曝露し、誘発される染色体異常を指標に用いて用量-反応関係を実験的に把握する。この用量-反応関係を比較し、ヒト細胞レベルでの化学物質-放射線等価係数を同定する。
- (2)PBPKモデルを用いて、化学物質の内部曝露量を等価な放射線被曝量に換算する。
- (3)ICRPが算定した放射線による発がんリスク係数を用いて化学物質による発がんリスクを推定する。

4. 研究成果

(1)CD34+細胞(African American, 18歳男性)を、37°C、5%CO₂、湿度100%にて6日間培養後、細胞を回収し、5.0×10⁴ cells/mLにて24時間の前培養を行った。

ベンゼン及び代謝物が培養液中で所定の濃度となるようにBZのDMSO溶液、CAT(東京化学)、HQの水溶液及びCAT・HQの混合液を加えて32時間の処理を行った。曝露処理濃度は、BZについては0μM、1μM、2μM、5μM、10μM、20μM、50μM、100μM、CAT及びHQについては0mM、1μM、3μM、6μMとした。

X線の照射処理は、前培養後の培養液に対して照射線量が所定の線量となるように、

6Gy/min、250kV、15mA、Al 2mm filter にて照射時間を調節して処理を行った。用いた照射線量は、0Gy、0.5Gy、1.0Gy、1.5Gy の4条件である。照射後、32時間の培養を行い、ベンゼン及び代謝物の曝露と同じ処理時間とした。

染色体異常試験の結果得られた用量-反応関係を線形回帰し、以下の式を得た。

$$X \text{ 線: } y=0.34x+0.04 \quad (R^2=0.964)$$

$$\text{CAT: } y=0.031x+0.0776 \quad (R^2=0.856)$$

$$\text{HQ: } y=0.0662x+0.06 \quad (R^2=0.955)$$

$$\text{Benzene: } y=0.0021x+0.165 \quad (R^2=0.697)$$

ここで x は処理濃度 [mM] あるいは照射線量 [Gy]、 y は 1 細胞あたりの染色体異常数 [-] である。

上式より、ベンゼン及びベンゼン代謝物に関する一次係数の、X 線に関する一次係数に対する比を取ることで、それぞれの物質の放射線等価係数 (REC) を決定した。その結果放射線等価係数は、CAT では 0.091 [Gy/mM]、HQ で 0.195 [Gy/mM]、ベンゼンで 0.00618 [Gy/mM] となった。

(2) 人体を 6 つのコンパートメントに分けてコンパートメント間を動脈及び静脈で結び、ベンゼン及び代謝物の代謝反応は肝臓のみ起こると仮定した。それぞれのコンパートメント中の各物質に対して質量保存則を適用して収支式を作成した。また、代謝反応を想定する肝臓においては、各代謝反応に相当する代謝速度計算項を追加した。これらの代謝反応は Seaton (1994) の用いた計算式により表現した。以下に本モデルで用いた代表的な微分方程式を示す。また、表 1 に本モデルで用いたパラメータとその設定値を示す。パラメータの設定には文献値及びフィッティングを用いた。大気中ベンゼン濃度を入力値とし、それぞれの微分方程式をオイラー法により解くことで骨髄中のベンゼン及び代謝物濃度を算出した。

ベンゼンの大気中濃度 1mg/m³ を入力値としてベンゼン、CAT 及び HQ の骨髄中濃度を計算し、放射線等価係数を用いて骨髄中 Benzene 濃度、CAT、HQ 濃度に等価な放射線被曝量を換算したところ、 2.7×10^{-7} 、 1.6×10^{-6} 、 1.5×10^{-5} Gy と推定された。

(3) 骨髄中の等価放射線量は、骨髄の臓器分配係数で除することで全身に対する等価放射線量に換算できる。本研究では臓器分配係数として、本研究における照射条件と同等の条件における既存報告 (0.1-0.25MeV に対して 0.6-1.4) と同じ値を用いた。ICRP による赤色骨髄に対するリスク係数 0.5×10^{-2} [Sv⁻¹] を用いた (ICRP (2008))。X 線に関してはほ

ぼ 1Gy=1Sv である。本研究においては化学物質の曝露が低濃度長期間曝露であるのに対し、X 線照射は高線量一括照射である。一般に放射線については、合計線量が同じでも線量率が低くなる程生体影響が低下する線量率効果が知られている。従って線量率効果係数として ICRP による推奨値 2 を採用し、この値を乗じてベンゼン誘発白血病リスク値を推算したところ、 1.2×10^{-7} - 2.8×10^{-7} と求められた。

推定値は疫学情報に基づく報告値と比べて約 30 分の 1 から約 20 分の 1 程度の過小評価となった。

本研究による推定値は疫学情報に基づく評価値と比べて過小傾向にある。その原因として考えられる事項を以下に述べる。まず、ギムザ染色法では白血病発症に最も密接に関連するとされる染色体転座を検出できない。FISH 法等の染色体転座を検出可能な実験法を採用することで、より発症機構に即したリスク値が得られると考えられる。また、本研究では線量率効果の補正に ICRP による推奨値を用いたが、低線量率 g 線による長期間照射実験を行い線量率効果を実験的に把握することで実現象に即した値が得られると言える。最後に、本研究で用いた PBPK モデルにおいてはベンゼンの代謝経路として代謝酵素 CYP2E1 によるもののみを考慮したが、骨髄における Myeloperoxidase による代謝など、考慮していない代謝経路が存在する。従って PBPK モデルを様々な代謝経路を考慮した形に改良することで、ベンゼン及び代謝物の、より正確な骨髄中濃度が計算できると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Katsunori Sasaki, Yoshinori Nishida, Jun Adachi, Katsuya Okawa, Aki Nakayama, Minoru Yoneda, Shinsuke Morisawa, Proteomic Analysis for the Purpose of Understanding the Mechanisms of Benzene and X-ray Induced Leukemia Using Human Bone Marrow Cells, Journal of Proteomics & Bioinformatics, Vol.3, Issue 3, pp. 066-073, 2010 査読有
- ② Aki Nakayama, Tomomi Isono, Takuro Kikuchi, Ichiro Ohnishi, Junichiro Igarashi, Minoru Yoneda and Shinsuke Morisawa, Benzene Risk Estimation using Radiation Equivalent Coefficients, Risk Analysis, Vol/29,

- ③ 佐々木克典, 磯野友美, 中山亜紀, 米田稔, 森澤眞輔, 造血幹細胞 CD34+を用いたベンゼン誘発白血病リスク評価, 日本リスク研究学会第22回年次大会講演論文集, pp. 67-73, 2009. 11. 28, 東京 査読無
- ④ 中山亜紀, 磯野友美, 大西威一郎, 五十嵐淳一郎, 森澤眞輔, 放射線等価係数による健康リスク評価の試み, 日本リスク研究学会誌, 第17巻2号, pp. 19-25, 2007 査読無
- ⑤ Aki Nakayama, Tomomi Isono, Yusuke Sasamoto, Ichiro Onishi, Jyunichiro Igarashi and Shinsuke Morisawa: Development of Methodologies for Cancer Risk Estimation from the in vitro Genotoxicity Test, Second Seminar on Environmental Toxicity Evaluation and Risk management, JSPS-VCC, Vol.2, pp.12-19, 2006.11 査読無

[学会発表] (計9件)

- ① 佐々木克典, 磯野友美, 中山亜紀, 米田稔, 森澤眞輔, 造血幹細胞 CD34+を用いたベンゼン誘発白血病リスク評価, 日本リスク研究学会第22回年次大会講演論文集, pp. 67-73, 2009. 11. 28, 東京
- ② 中山亜紀, 磯野友美, 大西威一郎, 篠本祐介, 五十嵐淳一郎, 深見学史, 米田稔, 森澤眞輔, 放射線等価係数による発がんリスク評価方法の検討, 環境衛生工学研究, Vol.22, No.3, pp.132-135, 2008.8.1, 京都
- ③ Nakayama A., Sasamoto Y., Fukami Y., Yoneda M., Morisawa S., Cancer Risk Estimation from the in vitro genotoxicity Test, 2nd World Congress on Risk, Final Program., pp.10., Guadalajara, Mexico, 2008.6.9
- ④ Sasaki K., Isono T., Nakayama A., Yoneda M., Morisawa S., Cancer risk evaluation using radiation equivalent dose determined with the cell-level experiments, 2nd World Congress on Risk, Final Program, pp.10, Guadalajara, Mexico, 2008.6.9
- ⑤ Sasamoto Y., Nakayama A., Fukami T., Yoneda M., Morisawa S., An application of in vitro transformation assay for cancer risk assessment, 1st Asian Conference on Environmental Mutagens 36th Annual Meeting of the Japanese Environmental

- Mutagen Society, Program&Abstracts pp133, 29-30, 2007. 11. 29, Kitakyushu
- ⑥ Sasaki K., Nakayama A., Yoneda M., Morisawa S., A study on biomarkers for benzene induced leukemia using human bone marrow cells, 1st Asian Conference on Environmental Mutagens 36th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, pp. 77, 2007. 11. 29, Kitakyushu
- ⑦ Aki Nakayama, Tomomi Isono, Yusuke Sasamoto, Ichiro Onishi, Jyunichiro Igarashi and Shinsuke Morisawa: Development of Methodologies for Cancer Risk Estimation from the in vitro Genotoxicity Test, Second Seminar on Environmental Toxicity Evaluation and Risk management, JSPS-VCC, Vol.2, pp.12-19, 2006.11.22, Osaka
- ⑧ 中山亜紀, 磯野友美, 大西威一郎, 菊池卓郎, 五十嵐淳一郎, 森澤眞輔, ベンゼンによる白血病リスク評価における放射線等価係数の有効性, 環境変異原学会第35回大会要旨集, 2006.11.21, 大阪府堺市
- ⑨ 篠本祐介, 中山亜紀, 深見学史, 森澤眞輔, 代謝物の毒性を考慮した DDT の発がんリスク評価方法の検討, 環境変異原学会第35回大会要旨集, 2006.11.21, 大阪府堺市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森澤 眞輔 (MORISAWA SHINSUKE)
京都大学・工学研究科・教授

研究者番号: 50026340

(2) 研究分担者

米田 稔 (YONEDA MINORU)
京都大学・工学研究科・教授

研究者番号: 40182852

中山 亜紀 (NAKAYAMA AKI)
京都大学・工学研究科・助教
研究者番号: 10335200