

レビューアーの意見書と筆者らの対応

レビューアー：株式会社三菱化学安全科学研究所 リスク評価研究センター 技師長 加藤正信

Poon の実験に関しては、その解釈が一番の論点となりこの文書の鼎の軽重を問われますので、特に慎重に検討してください。

- 1．まず、図 -5 の中の観測値の位置が 5000 ppm でなくて 1000 ppm の所にドットされています。
- 2．作業の手順から考えると、ベンチマークの計算で、1000 ppm を使ったということなことはないでしょうか？

【対応】ご指摘のとおり、図 -5 の最高投与量のプロット位置が間違っていました。ベンチマーク用量の計算結果には影響はありません。

なお、ベンチマーク用量の計算に関する文章は削除しました。これは、ベンチマーク用量は参考程度の扱いをしており、リスク評価には直接関係しませんので紙面削減のため、削除しました。

これ以降は、計算の妥当性に関する意見です。

5000 ppm 群の 10 匹のうち 9 匹がセルトリ細胞の空胞化が見られ、9 匹が精細管萎縮を示しています。記述によると“完全な精子形成欠損を伴う精細管萎縮が認められた”との記述がありますので、残る 1 匹はセルトリ細胞には空胞が無かったわけですね。

すると、精子形成欠損を伴う空胞化は平均スコアが 2.4。多分軽度と中程度が混じっていたはずで、500 ppm 群では、7 匹の空胞化は平均スコアが 1.0 ならば軽度と軽微の混じりで、精子形成欠損を伴っていないわけです。著者は軽度以上のものを異常と判断したように見受けられますが。同じ軽度（原著では mild）でも 500ppm で観られたものは精子欠損を伴わず、5000 ppm で観られたものは精子欠損を伴っていたわけです。従って 500 ppm で見られた軽度の空胞変成と 5000 ppm で見られた変化は、同じ軽度の空胞変成と記述してあっても、性格が違う訳です。一緒にして前駆症状とするには、無理があります。精子欠損と関係ないか、又は違う変化です。このような理由で 500 ppm で見られた変化はその毒性的な有意性に疑問があります。

言い換えると、ベンチマーク計算は“性格の違う（伴うと伴わない）変化を比較した”か“空胞化は連続した変化で、不連続変化である精子欠損と関係が無い変化”であるかです。

（原著では While seminiferous tubule atrophy was apparent only at 5000 ppm, a high incidence of mild vacuolation of Sertoli cells was detected in males at 500 ppm.）

従って、セルトリ細胞の空胞変成は精巣毒性の早期指標との著者の判断は疑問があります。原著にも個別別データが無く、隔靴搔痒の感がありますが、それとは別に本文書のベ

ンチマークの計算で 500ppm での発生数を 7 とするのは、その中のかなりの数が、著者の無視した 50ppm での変化と同じ筈ですので、正しくありません。

このような異議は小生だけでなく EU のリスク評価の技術会議 TM でも取り上げられたと聞いております。いずれにしても投与量の公比が 10 で巾がありすぎることも含め、endpoint の key study とすることについては、研究の、或いは著者の見解に疑問を呈し“ 取り敢えず (tentative) ” のものであることを記載されることをお勧めします。その方が今後の updating に好都合でしょう。

【対応】重篤度で重み付けされたセルトリ細胞の空胞化を二項データとしてベンチマーク用量計算を行うことには、ご指摘のような無理があり、また、ベンチマーク用量を参考程度に扱い、リスク評価には使用しませんので、該当文章は削除しました。精巣毒性のリスクを判定する際に使用する Poon らの結果については、“ 現時点 ” の暫定的なものであることを記載しました。

毒性の機構 特に生殖毒性と精巣毒性に関しては、原案でもいくつかの推定があるように、定説となるものはありません。この評価書の作成者の評価として、そのことを明記すべきでしょう。生殖発生毒性 (3.3.3) -24 ページに関しては、特に抗アンドロジェン作用に関しては、「もしそうであれば証明出来るはずであるが、証明できていない」訳ですから、慎重な表現が必要だと思います。些細なことですが Parks の実験が rat で行われたことを入れてください。Moore の実験の紹介で変化のあった用量の記述があればと思います。

【対応】ご指摘に基づいて、文章を改訂しました。

小生が見つけられないせいかもしれませんが、評価文書のどこかに医療用の用途からの暴露とリスク評価はしないことを理由を付けて記載されたく思います。今後、ECMO 等で異常に高濃度で暴露された新生児の追跡調査などが出てくる（すでに出ている）可能性があるからです。

【対応】「第 章 序論」にヒト健康リスクの評価対象範囲を明示しました。

バイオマーカーについて -10 で Koch の文献が引用されているが。彼らは -4 ページの図 -2 の代謝物 と の役割に重点を置いており、この点が Kohn の MEHP から割り戻す手法と対比されながら、今後重視されると思われる。一言引用中に触れておいた方がいい。

【対応】ご指摘のとおり訂正しました。

精巣毒性のメカニズムに関し

Ishihara, M., Itoh, M., Miyamoto, K., Suna, S., Takeuchi, Y., Takenaka, I., Jitsunari, F. (2000). Spermatogenic disturbance induced by di-(2-ethylhexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in

the rat. Int J Androl 23(2):85-94.

の文献は、引用するに足る価値があると思います。FDA の評価文書では

Ishihara et al. (2000) recently reported that DEHP-induced testicular atrophy can be prevented in rats by administration of ascorbic acid (Vitamin C) and alpha-tocopherol (Vitamin E). If testicular atrophy can be prevented by antioxidant administration, it is interesting to speculate that testicular atrophy may be worsened in antioxidant-deficient animals. This issue may be clinically important since patients undergoing hemodialysis typically have low plasma levels of ascorbate (e.g., Wang et al., 1999; Pereira et al., 2000; Metnitz et al., 2000) and other antioxidants. In addition, patients with ARDS (and, therefore, potentially may be treated with ECMO) have reduced levels of ascorbate and alpha-tocopherol (Metcalf et al., 1999).

今後の重要な研究課題のひとつとして

As discussed above, vitamin deficiency potentiates DEHP-induced aspermatogenesis (Ishihara et al., 2000).

の様に評価しており、分子レベルのことではないものの、精巣毒性の機構を推察する材料となる重要な実験事実です。この FDA の指摘は正しいと思います。なお引用に際しては投与経路（経口）についても、触れてください。

【対応】ご紹介いただいた論文ですが、精巣毒性の発現機構にどのように抗酸化剤が関与するのか明確でなく、またヒトにおいてもラットと同様な抗酸化性ビタミンの精巣毒性低減効果があるのかも不明です。ヒトにおいて同様であるとすれば、FDA の指摘も妥当であると思いますが、人工透析等の医療行為に伴う患者の DEHP 暴露に伴うリスクは本評価書の対象外です。したがって、ご指摘があったことのみを紹介させていただくに留めたいと思います。

表 -12 に引用された David らの文献は 104 週でほとんど老齢で生殖機能がない年齢での知見であり、無精子が始まっている（コントロールで 58%）。その割合が上昇した（5.8, 29, 147, 789 mg/kg bw/day で 64, 78, 74, 97%）ことは、78 週目で 789 mg/kg bw/day 群の 10/10 が無精子で 147/kg bw/day 群で無影響であったことと併せて、104 週の変化が加齢性変化の進行への影響のためである可能性が強く、精巣毒性そのものではないと考えられるので、感受性のリストからは除いた方がよいと思われます。そのことに関しては、-26 ページ 15 行目で触れればよいと思います。尚些末なことです、この表には単位を。

【対応】ATSDR の評価書にも、ご指摘の加齢性変化の可能性が示唆されると記載されています。しかし、一方で明確な用量依存性も認められており、加齢性変化としてリストから完全に除けないと考えます。現に、NTP の CERHR の Expert Panel は、5.8 mg/kg/日を NOAEL としていますし、ATSDR も 5.8 mg/kg/日の NOAEL を基に慢性影響の Minimal Risk Level (MRL) を決定しています。このため、本評価書では、

削除せず，記載しています。

また，表 -12 には単位を追加しました。

ヒト健康への影響に関する key study である Poon の研究も、Lamb の研究も、用量の公比が 10 であり、初期評価のための warning としての意味はあるが、詳細リスク評価のためには荒すぎるくらいがある。このことは記載する方がよい。

【対応】ご指摘に基づいて，文章を改訂しました。

Peters の論文 -25 ページで PPAR ノックアウトマウスの実験について、亜鉛の欠如が原因で PPAR の寄与ではないとする著者の意見に対し、“他の PPAR 異性体がラットの胎児にあり、PPAR の寄与を直ちに否定は出来ない”とする説（CERHR）もある。

【対応】ご指摘に基づいて，文章を改訂しました。