

第 10 章

遺伝毒性と発ガン性

本章では、1993 年に NRC(全米研究評議会)から出された報告書(以下、NRC 報告書)の後に
出された研究報告と関連するレビュー報告を主に検討し、同時に、その NRC 報告書に含
まれなかった研究や、それより古いが重要と考えられる研究報告についても検討した。発
ガン性の強さと実際的な危険性の評価は、ヒトの疫学研究、実験動物を用いた長期発ガン
実験、より短期間にできる遺伝毒性試験、代謝および薬物動態学的データ、および作用メ
カニズム的な情報などに基づいてなされる。フッ化物の遺伝毒性試験とは、突然変異性、
染色体や他の遺伝物質を含む構造上の変化、DNA の複製・修復や細胞周期への影響、およ
び培養細胞が宿主動物に腫物を形成する形質転換を起こす(transform)性質などである。そ
れぞれの実験的研究に相互に矛盾する結果が存在する場合には、フッ化物の種類と濃度、
暴露の期間とそのルート、溶媒や投与形式、用量依存性の存在、それにガン化のどの段階
に作用させたのかについて検討した。そして遺伝毒性が疫学調査や動物実験の結果とどの
程度一致すかを検討した。

遺伝毒性

遺伝毒性試験とは、インビトロ(試験管内)試験とインビボ(生体内)試験からなり、DNA
および染色体の構造と機能に対する影響を検討するものである。これらの試験結果は、化
学物質が遺伝物質へどの程度の潜在的影響力を持つかの指標となる。染色体あるいは DNA
の構造や機能が変化することは発ガン過程の一つのステップと考えられる。それらは多く
の場合、細胞の正常な分裂や遺伝子の正常な複製の機能および制御に対して試験物質が干
渉作用を持つことを示し、前ガン状態や悪性化の初期段階に関係するであろう。遺伝毒性
はまた、胚細胞と体細胞の突然変異を通じて奇形や病気や他の健康障害を引き起こす原因
となる。

様々な生物に由来する多数の細胞システムが、多くの化学物質の遺伝毒性試験に使われ
てきた。これらの遺伝毒性試験の結果を、ヒトのフッ化物摂取による危険性と結びつける
には、いくつかのパラメーターを考慮する必要がある。即ち、試験に用いたフッ化物の濃
度と生体内濃度との比較、試験に用いたフッ化物の化学構造や溶媒、それから様々な実験
系で得られた既存のすべての試験データとヒトにおける実際的な危険性との関連性である。
Tennant(1987 年)と Tennant ら(1987 年)は、サルモネラ菌を用いた復帰突然変異分析法
(reverse mutation assay)が、哺乳動物における遺伝毒性試験の、短期にできる最良の方
法であると結論した。しかし Parodi ら(1991 年)は、様々な遺伝毒性試験の結果を動物実
験による発ガン試験の結果とつき合わせて再検討し、インビトロ試験、特に姉妹染色分体
交換(sister chromatid exchange; 以下 SLE)テストが、サルモネラ菌を用いた復帰突然変
異分析法よりも発ガン性を推定する上で優れた方法であることを見いだした。Tice ら
(1996 年)は続いて、齧歯類動物(rodents; 以下ラットかマウス、あるいは総称としてはネ

ズミと記す)とヒトの遺伝毒性物質に対する感受性について過去のデータベースを用いて検討し、ヒトはネズミより感受性が一桁高いと結論づけた。

フッ化物の遺伝毒性についての新しい研究報告を表 10-1(以下に説明していくので省略)にまとめた。1993 年以降のフッ化物の遺伝毒性に関する研究で最も重要な知見は、小規模のヒト集団のインビボ試験、次いで、ヒトおよびネズミの細胞株を用いたインビトロ試験である。これらの研究報告について以下に論述する。

遺伝子の突然変異

突然変異(誘発)性とは、特定化学物質の DNA に対する直接的作用である。DNA の変化は遺伝的变化を起こすだけでなく、その化学物質に発ガン性があることを示唆する。1993 年の時点では、フッ化物が突然変異を起こす危険性があることを示す研究報告はなかった。それらの報告には、サルモネラ菌を用いたもの(事実上すべて否定的な結果)も、様々な哺乳動物の細胞株を用いたもの(事実上すべて陰性)、および培養ヒトリンパ球を用いた報告があった。突然変異性が陽性であるとの結果は、ヒトリンパ球を用いたものがあつたが、フッ化物濃度が $65 \mu\text{g/mL}$ (ppm)以上で、主に $200 \mu\text{g/mL}$ (インビボでヒト細胞が実際的に暴露されるだろう濃度よりはるかに高い濃度)で認められている。1993 年の NRC 報告書が出されて以来、突然変異性をはっきりと示す報告はない。当委員会は、ネズミにおける研究結果から推定して、ヒトにおけるフッ化物の突然変異性は実際的には非常に低いと見なしている。

染色体の変化と DNA の損傷

ここでは、染色体と染色分体(chromatids)、微小核(micronuclei)形成および DNA 損傷へのフッ化物の影響について記す。染色体の変化とは、染色体の数の異常(aneuploidy)、染色体の変形(DNA 合成前)と染色分体の変形(DNA 合成後)などをいう。(ダウン症候群を起こす 21 番目の染色体の不分離あるいは転位については、第 6 章「生殖と分化への影響」で議論した。)染色体と染色分体の異常については、その分類法が近年標準化された。あるタイプの異常(例えば染色分体の割れ目; chromatid gaps)は、他の主な異常(例えば破裂や転位)よりも染色体に対する影響においてそれほど重要でないと考えられている。姉妹染色分体交換(SCE)はいかなる健康障害の原因になるとは考えられていないが、それでも一般的には細胞が染色体の構造に影響を与える物質(その多くは発ガン物質であるが)にさらされたということを示す。姉妹染色分体交換テストは、感度が高いため低い濃度でも検査でき、染色体異常検査に比べ、より広く使われている。しかも姉妹染色分体交換の増加の有無は、より少数の細胞でより確実に判定できる。

微小核は、有糸分裂の後に残される染色体物質に由来する DNA を含む小体である。不完全な有糸分裂のプロセスあるいは染色体損傷のいずれかがこの現象を引き起こす。微小核は非分裂細胞の中に観察できる。コメット分析とは、比較的新しい方法で microgel 電気泳動を用いて、個々の細胞の一重鎖 DNA の損傷を見いだすことができる。細胞の生存

(cytotoxicity)に対する影響と細胞分裂に対する影響は、インビトロの細胞遺伝学的研究の中で記載されていることが普通で、それらは下記の要約の中で述べる。

インビトロのヒト由来細胞システム

培養ヒト細胞で観察された遺伝毒性が、実際に健康上の問題を起こすか否かについては、化学物質の濃度、細胞周期への作用タイミング、および培養細胞のタイプなどを考慮する必要がある。1993年のNRC報告書の時点では、この分野の既存のデータからは、フッ化物に遺伝毒性があるかないかに関して一致した結論を出すことは出来なかった。その後、筒井ら(1995年)は、フッ素化水道水に等しいかそれに近い濃度(1~10ppmのNaF=0.45~4.5ppmのフッ素イオン濃度に相当)で、3週間以下の処理で、二倍体繊維芽細胞に染色体構造異常(clastogenicity)を認めなかった。同じ細胞実験系で、Aardemaおよび筒井(1995年)は、50ppm以上の処理でのみ異常を認めた。異常が認められた細胞の分裂サイクルから推定されることは、染色体異常の背後にあるメカニズムは、フッ化物がDNA合成および修復に障害を与えることを示唆した。Oguroら(1995年)は、ヒト二倍体IMR90細胞で、NaFの短期および長期の、5ppm以上の処理でのみ染色体構造異常を観察した。GadhiaとJoseph(1997年)は、NaFが10ppmでは異常を起こさず、20および30ppmで異常を起こすと報告した。彼らの実験系では姉妹染色分体交換テストで影響は認められていない。最近、Wangら(2004年)は、ヒトの胎児肝臓細胞をNaFで処理し、コメット分析をした。そして40、80および160mg/Lの濃度で、DNA単鎖への損傷について用量依存的な増加を認めた。

インビトロの他のほ乳動物細胞システム

近年、フッ化物の細胞遺伝学的影響が、すべてのテストシステムではないが、いくつかのテストシステムで証明された(NRC 1993年; WHO 2002年; ATSDR 2003年)。

インビトロのネズミの細胞システムによる研究には、KhalilとDa'dara(1994年)、およびKhalil(1995年)の報告がある。彼らは、Sprague-Dawleyラットの骨髄細胞を12~36時間、0.1 μ Mから0.1mM(2ppm以下のフッ素イオン濃度に相当)のNaFあるいはKFで処理し、その効果を検討した。その結果、用量依存的な細胞毒性はあったものの、どの濃度でも姉妹染色分体交換の増加は認められなかった。そしてNaFあるいはKFは1~100 μ Mの濃度で、用量依存的に染色体異常を引き起こした。MihashiとTutui(1996年)は、F344/Nラットの骨髄培養細胞に対する1~3日間、9~18ppmのNaF処理の影響を検討し、時間と濃度に依存的に染色体異常の増加を認めた。KishiとIshida(1993年)は、ネズミ、猿、類人猿およびヒトの細胞株で、NaFの染色体への影響を調べた。42~252ppmのNaFによる染色体構造異常は、大型類人猿およびヒトの細胞株でのみ認められた。それらの報告は、ネズミの細胞よりヒトの細胞の方がフッ化物への感受性が高いことを示している。NRC報告書(1993年)には含まれていない古い研究であるが、JagielloとLin(1974年)は、メス羊とメス牛の卵母細胞の減数分裂後期をNaFが中断するが、マウスではそのような影響を認めなかったと報告した。作用濃度は、1993年のNRC報告書にある他の報告の、ヒトリンパ球細胞に

染色体異常を引き起こす濃度と同じである。マウスで行なわれたインビボ試験では、フッ化物は高用量でも遺伝毒性を示さない。Ribeiro ら(2004 年 b)は、チャイニーズハムスターの卵巣細胞に対する NaF の影響を、インビトロで評価するためにコメット分析を行った。100 μ g/mL 以下の濃度では障害は観察されなかったと報告した。

ネズミのインビボシステム

Zeiger ら(1994 年)は、B6C3F1 マウスに NaF を含む飲料水を 6 週間投与し、微小核および染色体異常を調べた。その結果、対照群に比して異常頻度の増加を認めなかった。Dunipace ら(1996 年)は同様に、糖尿病と非糖尿病のオス Zucker マウスに 6 か月間、フッ化物を 50mg/L 含む飲料水を与えた。そしてどの処理グループでも姉妹染色分体交換の増加を認めなかった。

Ribeiro ら(2004 年 a)は、Wistar ラットに 6 週間、NaF を 7 および 100mg/L の濃度で飲料水に加えて与えた。末梢血と口腔粘膜および脳細胞のコメットを調べ、単一鎖 DNA 損傷の増加を認めなかった。

哺乳類以外のインビボシステム

近年の哺乳動物以外のインビボシステムを用いた研究は数が少なく、一定した細胞遺伝学的な影響は報告されていない。新しい重要な研究報告はない。

ヒト細胞のインビボ研究

NRC 報告書(1993 年)は、ヒトのインビボにおける遺伝毒性の研究がないことを指摘している。しかし 1993 年以来、種々のルートで様々なフッ化物に暴露されたヒト集団に関する細胞遺伝学的研究が行われ、フッ化物の遺伝毒性研究について重要な進展があった。ヒト集団に関する研究は、他の要因の多くが制御できないという制限はあるものの、生理学的に適切な濃度での評価が可能であるという長所がある。摂取ルートの違いによって、以下の二つにまとめた。

経口摂取ルート

最もよく記載されたヒトのインビボ研究は Y. Li ら(1995 年)のもので、彼らは 700 人以上について、飲み水、血漿および尿のフッ化物濃度を分析した。様々な場所に住む 120 人からなる 6 つのグループが、0.2~5mg/L の異なる濃度の天然フッ化物を摂取していた。そして、血漿と尿のフッ化物濃度は飲料水中の濃度に比例していたが、より高いフッ化物濃度の地方に住んでいるグループが、細胞当たりでより少ない姉妹染色分体交換を示した。この研究では栄養状態の差異も考慮している。続いて Jackson ら(1997 年)は、飲料水のフッ化物濃度が 0.2、1 および 4mg/L の地域における居住者のリンパ球細胞中の姉妹染色分体交換の頻度を比較した。4mg/L のフッ化物濃度で、平均姉妹染色分体交換の平均頻度はより高かったと報告している。その後の継続的な観察では、4mg/L の水道水を使用する居住

者の平均姉妹染色分体交換の頻度と、0.3mg/L の井戸水を使用する居住者の頻度の間に差はなくなった。

次の3つの研究はあまり記載が詳しいものではないが、細胞遺伝毒性と飲料水中の高い天然フッ化物濃度の関連を報告している。Shethら(1994年)は、インドのグジャラート地方でフッ素症を示す居住者100人と非フッ素症対照群21人の姉妹染色分体交換について、予備的研究を報告した。そしてフッ素症群と共に、より高濃度のフッ化物摂取群にも、姉妹染色分体交換の頻度が高かったと報告した。この研究のデザインは非常に不十分で、特に対象者の選択バイアスが存在した可能性があり、症例と対照群が異なる地域(症例は飲料水中フッ化物濃度がより高い地域に住む)から選ばれている可能性がある。さらに、症例の臨床診断基準が十分に記載されていない。WuとWu(1995年)は、内蒙古の高い天然フッ化物濃度(4~15mg/L)地域の少数の居住者53人と、低いフッ化物濃度の地域(<1mg/L)の居住者30人の対照群について、末梢リンパ球細胞を分析した。姉妹染色分体交換と微小核は、フッ素症を示す群でのみ頻度が高く、高濃度でもフッ素症を示さなかった群では高くなかったと報告した。その研究では、対象者の選択についての潜在的な交絡因子の調整についての情報が不十分である。その後、JosephとGadhia(2000年)は、1.6~3.5mg/Lのフッ化物濃度の飲料水を用いる3つの村の居住者とグジャラート(フッ化物濃度は0.7mg/L)の居住者とを比較追跡した。染色体異常は、3つの村すべての居住者でかなり高く、姉妹染色分体交換の頻度は1つの村の居住者でのみ高かった。またその村の居住者は、マイトマイシンCで処理したリンパ球細胞により高い染色体異常を認めた。しかし14人が各村から選ばれて分析されただけで、彼らの選択の基準は記載されていない。

Van Astenら(1998年)は、1~4年間、骨粗鬆症の治療のためにフッ化物(22.6~33.9mg/日)を投与された女性について、培養リンパ球細胞を用いて検討し、細胞遺伝学的影響(形態異常、微小核あるいは細胞周期の延長)を認めなかった。

吸入(and/or 経皮)ルート

Mengら(1995年)とMengとZhang(1997年)による、リン酸肥料製造所の労働者を対象とした細胞遺伝学的研究が二つ報告されている。フッ化物の摂取はこれらの工場では吸入によるルートが主である。空気中のフッ化物濃度は、この研究がなされた時、0.5~0.8mg/m³であった。染色体異常、微小核および姉妹染色分体交換はすべて暴露した労働者群が高い値を示した。暴露期間は、これらの細胞遺伝学的な変化の程度と用量依存的関係を示さなかった。つまり、5~10年間、工場で働いた労働者が、10年以上あるいは5年未満働いた労働者の2群と比較して、より高い値を示した。しかしこのコホート研究では、細胞毒性的研究において、雇用の長さが適切な指標であるかは不明である。

細胞の形質転換

細胞の形質転換とは、インビトロにおける細胞の悪性新生物への変化現象である。1993年のNRC報告書では、フッ化物の形質転換については陽性であるとされた。大部分の報告は、ゴールデンハムスターの胎児(SHE)細胞による研究で、ヒトの細胞システムあるいは他

の動物の細胞システム(NRC 1993 年)でも同様に陽性であるかどうかは不明であった。しかし、BALB/3T3 マウス細胞(Lasne ら、1988 年)を用いて補足的に行われた実験で、形質転換が観察された。それは既知の発ガン物質をイニシエーター(initiator)として用い、フッ化物のプロモーター作用を調べた発ガン性試験で、25~50ppm の濃度で NaF に発ガン性(プロモーター作用)が認められた。その後に報告された唯一の実験報告は、Matthews ら(1993)によるもので、彼らは BALB/3T3 のシステムの感度を増加させた分析法で、1.2~4.6mM NaF(19~193ppm)を含む多数の化学物質をテストした。その結果、NaF に形質転換は認められなかったと報告した。

DNA の合成と修復

インドの報告(Ramesh ら、2001 年)は、20 人の骨肉腫患者についてのもので、そのうち二人の腫瘍組織に最も高い濃度のフッ化物が認められ、それらはガン抑制遺伝子 p53 の突然変異を伴い、他の症例にはそれを認めなかった。正常な p53 対立遺伝子は、DNA 修復メカニズムの増強によって、突然変異を起こし得るいくつかの化学物質の暴露から細胞を保護すると考えられている。また、軟組織組織および骨肉腫組織では、しばしば種々の程度の突然変異が認められる(Wadayama ら 1993; Hung と Anderson 1997 年; Semenza と Weasel 1997 年)。しかしながら、p53 の突然変異を認めた腫瘍の中でフッ化物濃度が高く(64,000 および 89,000mg/kg に対して、他の腫瘍組織では 1,000-27,000mg/kg)、骨組織(3 章を参照)の理論的な最大フッ化物濃度である 37,700mg/kg を越えていた点は注目に値する。ただ、飲料水中の濃度、あるいは他のルートによるフッ化物摂取の可能性に関しては記述されていない。少ない症例報告ではあるもののこの観察は、フッ化物による p53 の突然変異とその骨肉腫発生における役割を示唆するものである。しかし 1993 年の NRC 報告書が出て以来、DNA 合成あるいは修復に関する研究は他に見つからない。今までの研究結果には一貫性がなく、フッ化物の遺伝毒性は、タンパク質か DNA 合成(NRC 1993 年)の阻害よりも二次的なメカニズムによることが示唆されていた。

遺伝毒性の結論と NRC 報告書(1993 年)の推定についての最新情報

結局、ここまで記したようにインビトロの研究結果には一般性がなく、フッ化物の遺伝毒性の有無をそれぞれ強く証明するものはない。1993 年の NRC 報告書は、既存の遺伝毒性データに基づき、フッ化物は「恐らく遺伝的には重要な物質ではない」と結論を下した。ヒトインビボにおける遺伝毒性についてはデータが少なく、1993 年の NRC 報告書は、ヒトインビボにおける遺伝毒性に関して何らの推定を述べていない。インビトロの最近の研究は、先行する研究報告の不一致性を解決していない。

最近 10 年間に報告されたヒト集団のインビボ研究が、フッ化物の遺伝毒性についての新しい評価材料である。これらヒト集団の研究が、薬物動態学的なデータと、飲料水あるいは他の環境的ルートによる外部暴露に起因する実際の細胞環境要因を統合的に表現するはずである。しかしながら、これらのインビボ研究の結果にも不一致があり、結局、フッ化

物のヒトにおける遺伝毒性については結論的な評価はできない。

発ガン性

動物の癌についての研究

1993年のNRC報告書の中で、動物において発ガン性があるという根拠を考える上で2つの研究が適切なものと判断された。一つは、F344/N ラットおよび B6C3F1 マウスを用いたNTPの研究(NTP 1990年)、もう一つはSprague-Dawley ラット(Maurerら、1990年)とCD-1 マウス(Maurerら 1993年)を用いた研究である。CD-1 マウスを用いた研究は、NRC報告書を出した時(1993年)には印刷中であった。NRC報告書では、二種の悪性新生物についてその証拠の確実性が議論されている。

1. 飲料水による暴露で、オスのF344/N ラットに骨肉腫が発生し、用量に依存した発生の増加傾向($P=0.027$)があった(NTP 1990年)。
2. 飼料による暴露で、オスとメスのCD-1 マウスに骨腫の増加傾向が見られた(Maurerら、1993年)。

NRCは結論として、「ネズミを用いた毒性学的研究からは、フッ化物と骨癌の増加の間には、確実な証拠がない」とした(NRC報告書 1993年)。

1993年のNRC報告書におけるレビュー以来、実験動物における発ガン性の不確実性と証拠の重さについての議論はさらに大きくなった(WHO 2002年; ATSDR 2003年)。その不確実性は、NTP研究の中で既に強調されていた。しかしながら、既存のデータの不確実性は、逆にヒトにおいて発ガン性のリスクを警戒する必要性を示しているとも言える。そのカギになる文献をこの章の中で示す。さらに委員会は、フッ化物に関するデータベースに加えるべき別のNTP研究を見いだした。

NTPの研究

NTP(1990年)による慢性毒性の生物検定において、F344/NのラットとB6C3F1マウスが、NaFを25、100、そして175 mg/L含む飲料水を、2年間毎日投与された。観察された悪性新生物は表10-2にまとめられている。骨にできた骨肉腫はオスのラット(中等度用量で50匹中1匹、高用量で80匹中3匹)に認められ、メスのラットまたはマウスでは認められなかった。175 mg/Lのグループで、他の1匹のオスラットに皮下組織に骨肉腫が認められた。ラットおよびマウスの歯は脱色し、オスのラットの歯には変形と摩耗が認められた。

化学物質の発ガン性を正しく調べるには、実験で使用される用量の範囲が、最大耐量から最小中毒量までを十分にカバーすることが重要である。上記のF344/Nラットおよび

B6C3F1 マウスに投与された NaF の用量では明らかな毒性効果は出ておらず、動物がさらに高い用量に耐えられた可能性がある (NTP 1990 年)。従って、それは飲料水のフッ化物の発ガン性について、この実験では不十分であるという議論の余地があった。しかしこれはマウスの実験のことであり、ラットでは様々な歯の異常を示したこと、より高用量の投与では飼料の摂取量に影響を与えた可能性がある (NTP 1990 年)。

骨肉腫の発生は高用量のオスのラットで認められた (表 10-2)。椎骨および上腕骨に認められた骨肉腫に、骨組織以外に発生した骨肉腫の 1 匹を加えることの妥当性については意見が異なった (NTP 1990 年; PHS 1991 年; ATSDR 2003 年)。すべての部位からの発ガン率は、骨からだけの発ガン率より統計的な有意差は高く、用量依存性について P 値は 0.027 から 0.01 に低くなり (ロジスティック回帰分析)、対照群との対比較 (pair-wise comparison) では、P 値は 0.099 から 0.057 へと低くなる (NTP 1990 年)。また過去の同じ動物の自然発ガン率との照合はなされているが、過去の研究における標準の飼料に含まれるフッ化物はこの実験の対照群より高濃度であり、また飲料水へフッ化物を加えた研究では、骨のレントゲン写真が定期的に撮影されなかったため、この実験結果の評価ははっきりしないものとなった (NTP 1990 年)。骨肉腫はラットの稀な腫瘍である。飲料水にフッ化物を添加した研究において参考にされた Haseman ら (1985 年) の自然発癌の研究のあと、Haseman ら (1998 年) によってより新しい自然発癌のデータがまとめられた。1985 に報告されたデータは 1979 年から 1984 年の間に行われた観察からなり、一方、1998 年に報告されたデータは、1997 年 1 月まで 7 年間に行われた観察からなる。1990 から 1997 年のデータは、それぞれ 0.1% (0% から 2% の範囲) の骨と皮膚からの比較的低い発ガン率を示した (Haseman ら 1998 年)。理想的には、相互に近い時期に行われたデータ比較が適切である。1990-1997 のデータに基づくと、高用量フッ化物の投与による骨肉腫の発生率は過去の対照データのそれを超過している。しかしながら、先にも述べたように、対照とされた動物ではフッ化物を減らした飼料は与えられなかったし、骨はレントゲン写真で恐らく検査されていない。

NTP の研究で追加的に強調されたのは、オスとメスのラット (表 10-2) の口腔にできた扁平上皮由来の乳頭腫 (squamous papillomas) と扁平上皮癌 (口頭粘膜、舌、咽頭)、および高用量を投与されたオスのラットにできた甲状腺の嚢胞腺種および癌腫である。両方とも用量に応じた発生率の増加を示した。高用量での発生は過去のこの動物での平均発生率を超過したが、その上限程度であり、統計的に有意でなかった。これら悪性新生物の僅かの増加は、フッ化物の発ガン性についての証拠に付加的な意義を提供しないかもしれないが、疫学的調査のためには参考になるかも知れない。

他の部位と他の種類の腫瘍について NTP 研究で強調されたものは、統計学的、生物学的に意味がないが、オスおよびメスのマウスの肝細胞癌 (腺腫、癌腫、肝細胞芽腫、および肝胆管癌) がある (NTP 1990 年)。これらの悪性新生物の中で、フッ化物処理群 (詳細は記されていない) のオスの 5 匹とメスの 4 匹が共同で行われた研究室によって肝胆管癌 (NTP 1990 年) と診断された。しかしメス 1 匹を除いてすべては NTP の病理学者グループ (NTP 1990 年) によって肝細胞芽腫と診断された。これらの稀な新生物 (過去の肝細胞芽腫は、オスのマウスでの発生は 0/2, 197 およびメスのマウスでのそれは 1/2, 202) の発生は、より多く見られる肝細胞腺種と癌腫と再分類された時ほどには意味のあることとは見なされ

なかった。

NTP (1992 年、2005 年に発表) によって行なわれたもう一つのフッ化物の発ガン性についての研究には、電離放射線とフッ化物の相互作用によって引き起こされた骨肉腫の研究がある。委員会が採用したデータは、放射線非照射のオスの F344 ラットに 2 年間、飲料水に NaF を 250 mg/L 添加したものである。NaF を投与された 1 群 49 匹のラットについて、骨の骨肉腫が、非照射 (NaF 非投与) の 2 群と比較された。結果として NaF は骨肉腫の発生の増加を示さなかった。しかし、このデータは低用量の効果を検出する為には統計的に意義がないとして、NTP (1990 年) の生物検定に加えられなかった。しかしこの実験で、照射された動物に骨肉腫が発生しなかったという予想外の結果は注目すべきであった。

Maurer らの研究

Maurer ら (1990、1993 年) は、Sprague-Dawley ラットと、CD-1 マウスを、4、10 および 25mg/kg/日の NaF を含む飼料を与え、99 週 (ラット) あるいは 97 週 (マウス) の期間、観察した。NaF の毒性は、高用量で体重増加が遅く、非悪性新生物以外の毒性として、歯 (ラットとマウス)、骨 (ラットとマウス)、関節 (マウス) および胃 (ラット) に影響が見られた。ラットでは、前癌状態あるいは癌の発生率は、コントロール群と差がなかった。マウスでは、骨腫 (非癌の骨腫瘍) の発生率が増加した (表 10-2)。

NRC 報告書 (1993 年) は、ラットとマウスの研究について、多くの不備を指摘している。即ち、骨格の組織病理学的検査は、すべての試験動物には行なわれていない (PHS 1991; WHO 2002 年; ATSDR 2003 年)。また悪性新生物のデータは骨と胃についてのみで記載されていた。さらに、「発ガン性評価委員会」、「薬物の評価と研究センター」および「食品医薬品局」の合同調査委員会は、組織病理学の検査 (PHS 1991 年) の妥当性に問題があることを指摘した。オリジナルの論文では、繊維芽細胞肉腫 (部分的に類骨形成を伴う) や脊索腫や軟骨腫は、オスで見つかった。また、骨肉腫と軟骨腫はメスで見つかった。しかしながら、合同調査委員会のレビューでは、オスとメスに骨肉腫を追加的に発見したと述べた。総合的にこれらの不一致は、証拠の信頼性について疑いをさしはさんだ (PHS 1991 年)。

CD-1 マウスを用いた研究では、高用量 (Maurer ら、1993 年) で骨腫の増加がオスとメスのマウスで報告された。著者らは、用いたマウスのすべてのグループで、レトロウイルス感染が骨腫の発生に影響したかもしれないと述べている。NRC 報告書 (1993 年) では、感染の影響は考慮したが、フッ化物が骨腫の増加の最大の明白な原因であると結論を下した。しかしながら骨腫が過形成に類似しているという陸軍病理学研究所 (AFIP) の見解に基づいて、NRC 報告書 (1993 年) は、ヒトの場合にそれが当てはまるかどうかについては疑問があると結論を下した。

ヒトにおける癌の研究

一般的なこと

フッ化物および飲料水の発ガン性についての疫学調査には、環境中の化学物質の疫学調査につきまとうのと同様の難しさがある。癌の発生率や、特に癌の死亡率に関する比較的少ない影響を調査するには限界がある。特に、普通 10 年、あるいは多くの場合、30 年に及ぶ原因物質への暴露の後、癌を診断しなくてはならないという問題がある。個々の住民の居住歴が不明な場合、水道水フッ素化地域への転入やその地域からの転出は、暴露歴の誤謬の原因となる。癌は一つの病気ではなく多くの種類の病気の集合であり、癌全体の評価よりも、各タイプの癌について評価しなければならない。また環境中の特定の化学物質が地域の人々や暴露された人々の全体に影響して発生する特定の癌はほとんどない。

研究の基本的な条件は、適正な方法論、グループの選択および情報のバイアス、真の因果関係を探するための統計的手法、暴露とその影響を観察する適切な期間の設定、および社会人口統計学的な因子などの混入を除くか調整することである。さらに、十分な数のエンドポイント(癌のタイプによる)、および適切な暴露期間の設定は、フッ化物と癌についてのあらゆる疫学調査に必要なだと、委員会は考える。次の目標は、すでになされた生理学的、疫学的な研究に基づいて、感度の高い小さな人口集団について観察である。最終的に、発ガンの原因として捉えるかどうかについては、生物学的妥当性の規準を設け、証拠の重さを考慮する必要がある。

1993 年の NRC 報告書の以前、あるいは以後に報告された多数の研究は「生態学的研究」である。これらの研究デザインでは、個人よりも人口集団が観察の単位である。典型的な生態学的な研究は、平均暴露に対して異なった区域の病気の発生率を比較するものである。このような研究は、すでに利用できるデータがあり、少ない費用で短い期間ですむ。疾病発生率のデータは良質の登録と人口一斉調査があれば、多くの場合非常に信頼できる。ただし、生態学的調査はその調査方法の特徴として、小さな暴露効果には鋭敏でない。有毒物質および疾病登録の機関(ATSDR 2003 年)は、フッ化物と癌について今までに行われた生態学的調査では癌の危険性の 10% から 20% 以下の増加については検出する感受性がなかったと推定している。また生態学的調査には多くのバイアスが存在しうる。混合する要因やさまざまな要因を調整するための制限が発生し、研究が深刻な困難に陥る場合もある(生態学的バイアスのより詳しい議論は付録 C に掲載)。

準個人的(準生態学的)研究デザインでは、個人レベルの情報として、病的状態や重要な個別的情報が集められるが、暴露はグループレベルで考慮される(例えば居住とか職場レベルで)。このような調査は生態学的研究の特徴であるが、要因の混合を避ける上でより良い機能を持つ(付録 c)。

個人に基づいた調査は以下の三種からなる。(1) 症例・対照研究(病気を有するグループとそのグループを含むより大きい集団とが、診断時期より以前の暴露について比較される)、(2) コホート研究(暴露グループと非暴露グループが比較される)、(3) 両者をミックスした研究。

環境疫学では、特定の暴露が病気のリスクを 2 倍以下で増加させることを証明するのに一般的に数百人の人数が必要である。環境中の化学物質が弱い発ガン物質で、影響を受ける人が 100 万分の 1 から 10 万分の 1 と低いならば、標準的な疫学調査では影響を検出

することは非常に困難である。これはコホート研究で、リスクが低い時、暴露群と非暴露群に多数の人数を必要とし、特に問題になる。

フッ化物の発ガン性についての疫学的データ

1993年のNTP研究で調査された疫学的研究では、フッ化物への暴露がヒトにおいて発ガン性を示すという証拠に確実性を認めなかった。しかし用いられた多くの方法が、特に生態学的研究で個人個人の暴露履歴が集められなかったことと、混合した変動因子が調整されていなかったため、弱いフッ化物の影響があったことは否定できない。いくつかの研究はフッ化物と発ガンに関連ありとし、いくつかの研究はないとした。しかし多くの研究は潜在的な社会人口統計学的な要因を調整してないため、無効な研究とされた。

1990年代初期以降に発表された疫学的研究と他の適切な研究で、1993年のNRC報告書に含まれなかったものを表10-3(以下に説明するので、略)にまとめた。フッ化物が関連する部位ごとに1つ以上の数の研究があるものについて、以下そのデータを検討する。

骨および関節の癌、特に骨肉腫

骨にフッ化物が集積し、NTP研究において実験動物に骨肉腫がオスのラットでやや増加したこと、および培養骨細胞への有糸分裂促進効果が知られていることから(第5章)、骨肉腫が発生することは最も可能性が高い。細胞生物学の原則は、急速な細胞分裂を起こす刺激は、ランダムな形質転換を引き起こしたり、分裂しないでいた癌細胞を分裂させたりすることによって、細胞が悪性化するリスクを高める。骨肉腫は米国人100,000人につき年間およそ0.3人の発生率を示す稀な病気である(SchottenfeldおよびFraumeni 1996年)。診断される年齢は20歳前と50歳の後であり、2峰性の分布を示す。

1993年にNRC報告書が、骨肉腫の発生率と死亡率について、生態学的、準生態学的デザインで行われた研究報告について調査した。結果は矛盾し、決定的な結論はでなかった。国立癌研究所のフーバーら(1991年)は、若い男性の骨肉腫の発生率が、水道水フッ素化地域で非フッ素化地域である2カ所のSEER登録区域(アイオワおよびシアトル)の発生率より高いことを認めた。しかし、著者らはフッ素化水道水を飲んだ期間と骨肉腫の発生率との間に直線的な関係がなかったため、フッ化物と骨肉腫の関連性はデータによって支持されるものではないと結論づけた。Hrudeyら(1990年)のカナダのアルバータにおける骨肉腫の発生率の調査、FreniとGaylor(1992年)の世界各国の40の癌登録における骨肉腫の死亡率の調査では、フッ化物との関連の証拠は認められなかった。

Cohn(1992年)はニュージャージー州における公共水道のフッ化物が若い男性の骨肉腫を増加させたという示唆的な調査結果を得た。Cohnの分析では、骨肉腫は年齢20歳以下の男性でその発生率比は3.4だった(95%信頼区間=1.8~6)。Mahoneyら(1991年)は、1975~1987年における、骨癌と骨肉腫の発生率比を、ニューヨーク州のフッ素化地域と非フッ素化地域(ニューヨーク市を除く)で比較した。著者らは男女とも、30歳以下を含めて、骨肉腫の発生率比に差を認めなかった。

すでに論じたように、生態学的調査の強みは、特定人口における癌登録が、診断が確定された多くの症例を含んでいることである。しかし限界は多数のバイアスが介入し、その調整が難しいことである。

1993年のNRC報告書が出て以降、Yangら(2000年)は、台湾の20の自治体(その半数は測定可能な天然のフッ化物を含有)における癌の死亡率の生態学的分析を行った。彼らは都会化および社会人口統計学的な要因も考慮した。骨癌(骨肉腫だけでなく)は男性で有意ではないが増加(発生率比 rate ratio は 1.6、95%信頼区間=0.92~2.17)していたが、女性(発生率比は 0.87、95%信頼区間=0.52~1.44)では減少していた。フッ化物の濃度の範囲は記されていないが、中央値と平均値は約 0.25mg/Lであった。

また1993年以来、個人に基づく研究が4つ報告された。Gelberg(1994年)およびGelbergら(1995年)は、ニューヨーク州の年齢25歳未満の骨肉腫の症例・対照研究を行なった。それは130人の骨肉腫の患者の症例で、1人の患者当たり1人の対照がつけられた。対照例は出生証明書に基づき別の地域から選ばれた。親あるいは症例・対照の子供は、居住歴、飲料水からのフッ化物への暴露、歯科用商品、歯科サプリメント、およびフッ化物による歯科処置に関してインタビューされた。そしてそれぞれのルートからの暴露量、総合的な暴露量がミリグラム単位で推定計算された。そしてすべての分析が行われた結果、フッ化物の総暴露量は骨肉腫の発生と逆の関連性を示した。フッ化物ゲルの使用と骨肉腫の発生との関連は強く否定的であった。親へのインタビュー(97%について行われた)のみで、著者らは推定総フッ化物摂取量と骨肉腫の発生は関連がなく、特に練り歯磨きからの摂取については、関連性が全くないことを認めた。オッズ比(ORs)は、すべてのルートからのフッ化物摂取を、飲料水フッ素化地域と、非フッ素化フッ化地域で比較して、特に女性では1.0以上であった(訳注;オッズ比は疾患が稀な時の近似的相対危険度で、骨肉腫がわずかに多かったということ)。この結果は、Gelbergらが、総摂取量に対して、水道水からよりも練り歯磨きからの摂取の寄与を、第2章(図2-1参照)に記載されているより大きく推定しているため、重要である。練り歯磨きからのフッ化物摂取の推定の根拠は示されていないが、摂取量の推定は2~6歳で図2-1に示されているデータとほぼ同一である。もし練り歯磨きの影響が誇張されたものであれば、水道水のフッ化物についての評価はより大きいものとなろう。フッ化物への年平均暴露は、今まで蓄積されたデータから、診断時の年齢を考えてもそれほど変化はない。

症例とその対照の数を減らした59対の比較(即ち代理人を除いた場合)では、フッ素化水道水と総フッ化物摂取(例数が少ないので、男女合同で分析)の両方で、発ガンとの間に、信頼区間は広いが、有意の関連が認められた。ガンの潜伏期間を推定するために、実際の暴露時期と癌の診断時期とのずれについての分析はないので、発癌に関与しない暴露が関与する暴露に余計に加わっている可能性がある。

結局、Gelbergらは骨肉腫とフッ化物暴露との間に関連がないと結論した。今のところ、この研究が、1993年のNRC報告書が、骨肉腫とフッ化物との関連について、一つ以上の要因の分析的研究をする場合の勧告を最もよく満たす研究である。しかし骨サンプルのフッ化物濃度については調べられていない。

Mossら(1995年)は公共の記録だけの使用によってウィスコンシン州の骨肉腫の症

例・対照研究を(インタビューなし)で行った。167 の症例に、989 例の州の癌の登録から選ばれた他の種類の癌の患者の対照を置いた(脳、消化器系癌)。この研究では、町の大きさ、診断時の年齢、飲料水のラジウム濃度については考慮したが、骨肉腫と診断された時の水道水フッ素化の有無は考慮していない。暴露の様態がインタビューなしで行われ、居住や飲料水の種類の調査なしで行われたので、準生態学的研究である。著者らは若い年齢層に限って研究した。

McGuire ら(1991 年)は、病院に関連した 40 歳以下の患者と対照の試験的研究を報告し、骨肉腫とフッ化物との間には有意の関連がないとした(それぞれ 34 人の症例と対照)。このグループ(Douglass 2004 年)による研究は今進行中である。その研究設計はこの問題へ将来、重要な貢献をする可能性があるので、後に詳述する。

Grandjean ら(1992 年)および Grandjean と Olsen(2004 年)は、骨フッ素症の高い発生率に苦しむデンマークの氷晶石の生産工場の労働者について、過去のデータを用いたコホート研究を行なった。氷晶石は約 50% のフッ化物を含み、労働者は仕事による他、どの発ガン物質にもさらされていない。ただ著者は喫煙歴については考慮していない。骨のフッ化物の測定もない。しかし、雇用時のこれらの労働者へのフッ化物の毎日の摂取量は約 30 mg/日と推定できる。多年にわたる労働者の暴露は、フッ化物摂取で現在の最大汚染許容基準(MCL)である 4mg/L をかなり超過していた。骨肉腫の稀な発生率を考慮しても著者らは労働者が受けた暴露から、この病気の相対的な危険率の上限は 18 倍であると推定したが、522 人の労働者に骨肉腫の発生または死亡は観察されなかった。

フッ化物と骨肉腫に関する Bassin (2001 年)の未発表の研究の中心的部分が入手可能となった(訳注;後に Cancer Causes Control. 2006 May; 17(4); 421-8. に掲載された。)著者はまだ研究が進行中であると述べている。研究には部分的に重要な部分と大きな欠陥がある。それらについて以下に述べる。

研究デザインは、米国の 11 の教育病院からの 20 歳以下の人々についての症例・対照研究である。症例(人数 91 人)は過去にさかのぼって選択・調査され、対照は 188 人で、同じ整形外科への入院患者である。対照患者は病院から自宅までの距離が症例と同じである患者が選ばれた。しかし病院への入院患者を対照に選んだことは重大な選択バイアスである。教育病院で治療された骨肉腫は、周辺人口に生じるすべての骨肉腫の代表であり、一方、骨折や他のありふれた病気のために治療された患者は、その地域を代表としていない可能性がある。フッ化物への暴露が危険因子であるか、あるいは入院した対照患者(例えば、骨折患者)に対して保護的因子であるか、それぞれ相対的危険が上昇するか下降するか、いずれにせよバイアスとなりうる。例えば研究報告は、対照患者に骨折患者がどれほど含まれているかを述べていない。

すべての患者、あるいはその代理人は、居住履歴、関連要因の強さについてインタビューを受けた。しかしながら、教育と収入のような重要な社会経済的な個人情報収集されていない。Zip 番号に基づいた平均所得レベルは用いられたが、個々人の社会経済的レベルを反映していないかも知れない。そのような情報の不足は、社会経済的な要因(それは患者の代理人の要因)が隠れた問題としてバイアスとなっているかもしれない。

飲料水からのフッ化物暴露量の推定値は、疾病管理予防センター、州レベル、町レベル

のデータや、推奨されたフッ化物ガイドラインに記載された年度毎の水道水フッ化物濃度のデータの組み合わせによっている。フッ化物への暴露の程度は 100%、30~99%、および 30%以下と 3つの区分に分けられた。これまでの公表されたこの研究のユニークな特徴は、年齢ごとのオッズ比の予備的分析である。Bassin は、6~8歳で、最も低い暴露区分と比較して、最も高い暴露区分は、高いオッズ比を認めた。7歳では、オッズ比(95%信頼区間)は、それぞれ男性で 7.2(1.7~30.0)、女性で 2.0(1.7~30.0)であった。図示された結果によれば、男性の最も高い暴露区分と、中間の暴露区分では共に、0~15歳で相対危険度は徐々に増加し、7歳でピークを示し、そして減少を示した。最も低い暴露区分ではすべての年齢について安定した低い値を示した。女性では、中間および最も高い暴露区分の両方で、年齢に関わらず比較的不变の相対危険度を示した。

フッ化物暴露の累積的な分析はない。従って累積的な暴露だけを問題にした Gelberg の研究を Bassin の研究と比較するのは難しい。この学位論文は、結果の部分でデータが少なく、その解釈を妨げている。例えば、この報告は最終的に分析された要因の数を示していない。また研究の過程で拒否や連絡不通で脱落した個人に関するバイアスになりえた要因についての記載がない。

しかしながら、女性と比較して 6~8歳の男性の最も高いオッズ比を、著者が言うように「少年期の中期が男児の急成長期」で、いくつかの従来 of 生態学的、準生態学の研究(Hoover ら 1991; Cohn 1992 年)、およびこの時期に作用するフッ化物の骨肉腫発生への危険因子説と一致している。Bassin の学位論文に基づいた論文は、2006年の春/夏に予定されている(E. Bassin からの個人的情報、2006年1月5日。訳注、前述)。この論文が適切な内容と分析を提供するか、調査結果が別の研究によって確認されるかした場合、フッ化物がヒトにおける発ガン性物質として確認されるであろう。

骨肉腫とフッ化物暴露についての病院に関連した症例・対照研究の比較的大規模なものは進行中で(Douglass 2004年)、2006年の夏に報告される予定である(2006年1月3日付けハーバード大学歯学部 C. Douglass の個人的情報)。ほとんどの症例は、カリフォルニア、コロンビア特別区、フロリダ、イリノイ、マサチューセッツ、ネブラスカおよびオハイオの 8つの医療センターで診断された症例である。研究は、骨肉腫患者 189例と病院に関連した対照 289例からなる。対照は骨肉腫患者と同じ病院の整形外科の患者で、骨肉腫以外の良性腫瘍の患者、外傷および炎症性疾患のために入院した患者である。症例と対照との一致条件は、性、年齢、および地理的な特性を含んでいる。居住歴と水道水の使用歴に関する詳しいインタビューとともに、すべての患者について骨と足指の爪のフッ化物測定が行われた。最終的な分析とこの研究の妥当性は、対照群の人々が人工的なフッ化物への暴露が増えたり、減ったりするバイアスが除外されるかにかかっている。

居住歴および食事からのフッ化物摂取についての評価のために、電話インタビューによって予備的に分析した結果からは、統計的にオッズ比は 1.2~1.4 で有意でなかった(ダグラス 2004年)。ただ信頼区間は示されていない。ダグラスの研究の、フッ化物暴露による骨肉腫発生の危険性の小さな増加を検知するための統計的検出力は限定的かもしれない。しかし、病院に基づいた症例・対照研究についての Bassin の学位論文のところで述べたような、いくつかの制限や問題があるにしても、委員会は、いずれ出版されるこの研究報告

が、フッ化物の発ガン性の確認とその強さの程度について、証拠の重さを知る上で、有用な追加的研究になるだろうと期待している。

腎臓および膀胱の癌

生理学的にありうる酸性の尿の中で、フッ化物がフッ化水素酸を形成することで、膀胱がその発ガン性の標的臓器になりうるのではないかという懸念がある。フッ化水素酸は遺伝毒性を含む細胞障害性の原因物質となりうる。フーバーら(1991)は、アイオワおよびシアトルにおける癌の登録で、水道水フッ素化の期間に一致した腎臓癌の発生頻度について、統計学的には有意ではないが、増加傾向を認めた。同じような傾向は他に報告されていないが、ただ一つYangら(2000年)が、台湾の男性の調整された腎臓癌の死亡率が1.55(95%信頼区間=0.84~2.84)だったことを報告したが、注目されなかった。女性では1.37であった(95%信頼区間=0.51~3.70)。Yangらは膀胱癌の女性のオッズ比が統計的に有意に高いことを認めた(オッズ比2.79、95%信頼区間=1.41~5.55; 男性では1.27、95%信頼区間=0.75~2.15)。

Grandjeanら(1992年)およびGrandjeanとOlsenら(2004年)が、デンマークにおいて氷晶石を扱っている労働者についてのコホート研究(骨および結合織の癌の章で先に記述した)を1941年から2002年まで続けたが、膀胱癌の標準化罹患比(SIR; standardized incidence ratio=1.67、95%信頼区間=1.02~2.59)の増加を認めた。標準化罹患比(SIR)とは一般集団に観察された病気発生率の、予測される病気発生率に対する比率である。高い標準化罹患比は、男性で調査開始時に35歳以下で10年以上働いた労働者と、男性で30年以上観察した労働者で認められた(GrandjeanとOlsen 2004年)。喫煙についてのデータがないことについて、著者は肺癌の発生率より高い膀胱癌の発生率は、喫煙が膀胱癌の発生の主要な原因ではないと考えられるとしている。著者らはフッ化物の混合物の尿への排泄が、泌尿器関連臓器を発ガンの標的臓器となっていることを示唆した(2002年)。その論文によれば、氷晶石の労働者は、4 mg/LのMCLのフッ素を含む水を飲む場合の4倍の暴露であると推定した。それらの労働者は寿命より数年短い期間の暴露を受けている。

Romundstadら(2000年)は多環式芳香属炭化水素およびフッ化物に暴露されたノルウェーのアルミニウム工場の労働者の癌について報告した。膀胱および肺癌の標準化罹患比率(SIR)は暴露された労働者で高かった。しかし、2種類の物質について、それぞれ別個のデータは明かにされていない。更に、著者らはそれまで報告された文献から、多環式芳香属炭化水素が膀胱癌の発生に関連している可能性を示している。喫煙は膀胱癌または肺癌の発生について混合する原因因子ではなかったということは注目すべきことかもしれない。しかし、著者らはデータを示していないが、フッ化物の暴露と膀胱癌の発生に弱い関連性があり、暴露と発ガンに20年弱の隔たりがあると述べている。

口腔・咽頭の癌

NCI の分析 (Hoover ら 1991 年) は口腔癌に第一の関心を寄せている。アイオワでは、2つの癌登録の1つを分析して、水道水フッ素化の持続期間に応じた口腔咽頭癌の発生率の男性における増加を観察したが、死亡率は水道水フッ素化とは関連性を示さなかった。しかし、イギリスの以前の調査では、1.0 mg/L 以上のフッ化物を天然に含む飲料水の地域では、女性の口腔咽頭癌はイギリスの通常の死亡率を有意に上回っていることが報告されている。その報告では男女別々に 24 の身体部位が 67 の小さい地域で比較された (Chilvers および Conway 1985 年)。

子宮癌

沖縄に於ける子宮癌(頸部および体部)と水道水フッ素化との関連について Tohyama (1996 年)が報告しているが、著者らは社会人口統計学的調整した上で、水道水フッ素化の前後を比較した。この報告はそれ以前に行われた集合的調査で関連ありとした予備的研究のフォローアップしたものである。他に子宮癌についての研究は、その死亡率を観察した Yang ら (2000 年) の最近の報告があるだけで、相対的な死亡率比は 1.25 (95%信頼区間 = 0.98~1.60)であったという。

他の特定の癌

呼吸器系の癌は、デンマークの氷晶石鉱夫の集団で、吸入による暴露 (Grandjean ら、1992 年; Grandjean と Olsen 2004 年、前述のコホート研究についての討論部分を参照)について、コホート研究でその増加が報告された。標準化罹患比 (SIR) は全体的に 1.51 (95%信頼区間 = 1.11~2.01) で、30 年間の暴露で、35 歳以下の男性で、より高い標準化罹患比が観察された。集団の喫煙データは集められていない。さらに、台湾 (Yang ら、2000 年) の女性の死亡率上昇を除いて、呼吸器系の癌の増加を支持する他の報告はない。

肺癌と、多環式芳香族炭化水素やフッ化物への暴露との間の関連は、ノルウェーのアルミ産業 (Romundstad ら、2000 年) に関する研究では認められなかった。フーバーらによって行われた NCI の分析 (1991 年) では、軟線維組織肉腫、非ホジキン性リンパ腫、結腸直腸癌および口唇癌などいくつかのサブグループで、発生率と死亡率の示唆的な増加を観察した。しかし委員会によって、これらの癌はフッ化物暴露に関連した生物学的妥当性に基づく優先性がないとされた。

すべてのガンと重複ガン

ガンの死亡率の分析が多数報告され、重複ガンについても記載されており、レビュー論文も出ている (NRC 1993 年; McDonagh ら 2000 年 a)。それらの報告のほとんどは、重複ガンとフッ素化水道水との関連を示していない。典型的には、ガンの死亡率との関連を報告したいくつかの研究は、環境暴露と特定の発ガン (特に発生頻度が低い癌) との間の関連に

ついて、情報に有益性がなく、従って委員会は、その評価の一部としてこれらのタイプの研究を採用しなかった。

他に評価された研究

次の3つの研究がレビューされたが、委員会によって次に要約された理由のため、フッ化物の発ガン性の証拠の評価には含まれなかった。Takahashi ら(2001年)は、水道水フッ素化と関連した米国の9都市の1978-1992の5年間隔の3セットづつのデータについての生態学的分析を行なった。その分析とはフッ素化水道水を給水されている居住者の癌の発生率の対数転換の回帰分析である。この論文は分析の方法が新しいために、他の調査研究との比較が難しい。特殊な部位の癌が含まれ、癌の発生率の研究でよく使われる一般的な癌の解剖学的分類(例えば、リンパ球性白血病、乳癌、子宮癌)が除外されている。結果の報告は、特殊な部位の癌についてのデータのために不完全であり、他の複数の研究との比較や選択的な提示がなされたことに問題がある。別の問題は、生態学的な暴露の変動は、水道水フッ素化がなされたそれぞれの地域で人口の%比率(または自然に含まれるフッ化物濃度が0.7 mg/L またはそれ以上と)によって起こる。これは個々のレベルで二つに分かれた変異を集合したものに相当し、「無」からバイアスによる結果を引き出しうる。矛盾した標準化(年齢の標準化)や、暴露の程度の変動(それはないことになっていて)がありうるし、それによって結果も変わり得る。大きな差異がある地理的、産業的、人口統計学的特徴や人口の違いなど、9都市間の都会化の違いや社会地理学的な相違について調整されていない。最終的に、生態学的バイアスのため、直線的または対数的な回帰があることの解釈を難しくしている。

Steiner (2002年)は世界49都市の緯度、温度、および水道水フッ素化の生態学的分析を行なった。フッ化物の濃度が不明な場合、彼は近隣区域のデータを代用した。平均気温と緯度も参考にされたが、全体的には参考にはされていない。著者は癌一般を問題にして分析し、癌の発生と水道水フッ素化の関連性について否定的な結論を得た。

Yiamouyiannis (1993年)はフッ化物の発ガン性について、米国とニュージャージー州の男性の癌発生率から女性のそれを引いて検討した。この報告では、因果関係の結論に達するのに「円の推論」(訳注;結論が決まっている問題提起)を使用している。すなわち、男性のより高い発ガン率はフッ化物の男性における発ガン性を示すと結論した。一般的にはほとんどの癌が両性で同じ発生率ではないので、委員会は男性の骨肉腫の発ガン性を検討するのに、全体の発生率から女性の発生率を引くことは不適當であるとした。

ケニアの各地域で認められた骨肉腫の発生率の差異が、フッ化物暴露の差異に関連性があることが示唆されている(C. Neurath, Fluoride Action Network、出版されていないデータ、2005年6月17日)。ケニアの8つの地域で、NeurathはChibole(1987年)が報告した歯のエナメル質のフッ素症の分布と、Bovill ら(1985年)が報告した骨肉腫の発生率とを検討し、両者に強い関連性を見出した。このタイプの生態学的分析は特有の利点がある代わりに、限界もある(付録c)。しかしこの報告の場合、観察された骨肉腫の数と予測される骨肉腫の数に違いがあり、信頼できない。なぜなら、Bovill らは地方によって、

人口の年齢構成の相違を調整したことを述べていない。一方、彼はケニアの地域間に、民族や他の人口統計学的な差異があることを述べている。各地方の概要は、検査された子供の加重的平均は示されているが、各地方の総人口では補正されていない。Chibole は、歯のフッ素症の頻度について、正確に地域の人口構成を反映しているか、あるいはケニアの学校および病院でどのようにして子供らが選ばれて検査されたかを述べていない。すなわち、Chibole の詳しい表は、多数の地域のフッ素症の中の広い分布を示しただけである(例えば、Rift Valley 地方において 3.7 から 69.5%)。

癌の疫学的研究で明らかになった成績の要約

上記の様々な研究報告は、フッ化物がヒトに発ガン性があるか、ないかについて明瞭には示していない。環境疫学上の典型的な課題として、フッ化物が骨肉腫の危険因子かどうかの評価が重大になっている。これについては以下のような問題がある。つまり、危険性について比較的低い検知法であること、標的組織を対象とする暴露量の正確な分類・推定が難しく、また特定の事象に他に複数の原因がありうることである。フッ化物が骨肉腫の危険因子であるかどうか評価することは複雑である。(1) 疾病が稀であること、その結果、集団的あるいは半生態学の研究が多くの症例に基づいて研究できないこと、(2) フッ化物への集団的被曝は平等でなく、そのためにフッ化物の生物学的暴露量を決めることが難しく、また影響を受けなかった人から骨組織のサンプルを得ることには難しさがある。

1993 年の NRC 報告書が求めた個人に基づく癌研究で、不完全ではあるが少しの進歩があった。それは骨肉腫の分析的研究が公表されたことである。しかし骨組織のサンプルは採取されていなかった。この問題を扱う上で、ハーバード・グループによる、骨組織の分析を含む、新たな(病院レベルの)研究デザインによる研究はこの問題について有用なものになるだろう。

発ガン性物質について MCLG を設定する上での EPA のガイドライン

EPA(環境保護庁)の水道部門は、飲料水中の既知の汚染物質あるいはヒトに発ガン性があるかその可能性が高い(probably carcinogenic)物質の MCLG(究極的最大汚染許容基準)を 0 と定めている。発ガン性がない物質については参照服用量(RfD)を適用して規制している(第 11 章を参照)。「人間の健康保護のための水質基準を引き出すための方法論(2000 年)」ば、発ガン性を有するかもしれない不確実性因子に対して、癌以外の健康障害から案出された「1 と 10」の安全係数と参照服用量を適用する EPA の補足的方法を再調査した(EPA 2000 年 d)。この方法はヒトにおいて、「ことによると発ガン性がある(possibly carcinogenic)」と判断された物質に適応されている。 10^{-6} ~ 10^{-5} の超過発ガン性を有する濃度でも参照濃度の方法によって規定されるべきであるとしている。

2005 年 4 月に、EPA は新しい「発ガン物質危険査定用ガイドライン」を決定し、それは 1986 年の発ガン性についての証拠の重さを改訂し、各カテゴリーがどのように評価されたかを本文の考察および説明で述べている。さらにガイドラインは、作用機序と、その作

用をより敏感に受ける集団(特に子供(EPA 2005年 a, b))について考慮している。作用機序に加えて、ヒトの疫学研究および動物の生存期間による試験結果を参考にし、さらにそれ以外に考慮すべき要因として、バイオマーカー(遺伝毒性、および暴露、感受性)と薬物動態学的な毒性データなどを挙げている。従って、癌についての飲料水用の究極的最大汚染許容基準の決定は、最近の疫学的、実験動物による検定、その他のデータにより、究極的最大汚染許容基準をゼロにすることが必要かつ適切かどうかの判断にかかっている。また、ゼロでなければ EPA は、腫瘍に対する前兆的な反応に基づく参照濃度に、1.0 以上 10.0 までの不確実性(安全)係数を適用しなければならなくなる。

1999年7月の癌に関するガイドラインに基づいて、EPAが「ことによると発ガン性がある」として参照濃度に追加の安全係数を適応したいくつかの最近の例のうちの一つとして、消毒副産物(EPA 2003c)用の究極的最大汚染許容基準がある。Dibromochloromethane(DBCM)は、1985年にNTPによって行われた研究で、オスとメスのマウスにおいて肝臓腫瘍の増加が認められ、ラット(オス、メスともに)においては増加が認められなかった。EPAは10の補足的な不確実性(安全)係数を適用し、より厳しい基準にした(訳注:規制濃度を1/10にしたということと考えられる)。トリクロロ酢酸(TCA)についても、参照濃度から導かれた究極的最大汚染許容基準に10の補足的な不確実性(安全)係数を適用した。ちなみにTCAは、マウスで肝臓腫瘍が発生し、ラットでは発生していない。規制対象になっているすべての化学物質で「ことによると発ガン性がある」物質は、究極的最大汚染許容基準を決めるのに、10の安全係数が参照濃度に適用されている(J. Donohue、EPA、個人的情報、2004年)。

新たな知見

1993年のNRC報告書は下記を推奨した。

実験動物の研究データと、疫学研究の報告から示唆された情報に基づき高度に特定のな焦点を1つ、あるいはそれ以上にしぼり、注意深く計画された分析的な研究(症例・対照研究またはコホート研究)を、最も疑いのある癌について行うこと。そのような研究は、個人に基づく研究についての情報を集めるためにデザインされるべきで、潜在的な混合要因を調整できるようにするべきである。飲料水以外のフッ化物暴露についても情報は集められるべきで、飲料水からの暴露の評価はできるだけ正確であるべきである。さらに、患者とコントロールからの骨のサンプル中のフッ化物の分析は、フッ化物への生涯にわたる暴露の合計を推定する上で価値があると考えられる。生じる病気の中で、骨格および結合組織由来の骨肉腫と副鼻腔、腎臓の癌に対する個別の研究が今後、最もなされるべきである。

その後、その方角にそった研究の進歩があり、同時に包括的な研究(ダグラス 2004年)も進行中である。

フッ化物は、特に骨に対して発ガンのイニシエーターあるいはプロモーターであることが示唆された。しかしその証拠は現在まで一貫せず、否定と肯定が入り交じっている(表10-4および10-5:略)。上記のように、フッ化物の暴露と骨肉腫の発生の危険性は特に注目されるが、その理由として、(1)骨へのフッ化物の集積、(2)骨細胞に対するフッ化物の細胞分裂促進性、(3)前述したような動物実験結果、および(4)1993年以前の肯定的あるいは否定的な疫学的研究がある。

1993年のNRC報告書以来、少なくとも一つ、あるいは二つ以上のタイプの癌とフッ化物との関連を認める研究が公表された。限られてはいるものの、遺伝毒性のいくつかのヒトにおける研究は、フッ化物が染色体を破損する可能性を示唆している。人間の疫学研究は全体としてまだあいまいで結論的なことはいえない。Hrudeyら(1990年)によって指摘されるように、骨肉腫のような稀な疾病については統計的検出力が弱い。

動物を用いた研究では、オスのラットの骨肉腫の発生はフッ化物と関連がある傾向を示した。NTP研究が行われた頃に調査された実験動物の自然発ガン率(Hasemanら、1998年)を対照とすると、4~5%のガンの発生率は高用量暴露による発ガンが自然発生の癌の発生率を超過していたかもしれない。ラットの骨肉腫がヒトのそれと同じであるかは問題になる。なぜならヒトの骨肉腫は長骨に発生し(NTP1990年)、ヒトの長骨の骨化は18歳までに完成する。しかし、ラットでは(PHS1991年)その寿命の1年を通じて継続する。またオスのラットで見つかったほとんどの骨肉腫の発生部位は、長骨ではなかった。別の研究(NTP1992年)(それはラットで同じ暴露および性別を使用した)では、ラットは前述の研究におけるよりもフッ化物の高い暴露でも骨肉腫の増加は認められなかった。しかしながら、NTP(1992年)研究の主要な目的は、電離放射線が骨肉腫のイニシエーターで、フッ化物はプロモーターではないかという仮説をテストすることだった。また、照射された動物には骨肉腫が発生しなかったに委員会は注目した。

1993年のNRC報告書は、オスおよびメスのマウス(Maurerら1993年)に於ける骨腫の増加がフッ化物暴露と関係があると結論を下した。陸軍病理学研究所(AFIP)による再調査は、骨腫は新生物というより過形成に近いが、骨腫を悪性新生物の一つとみなせば、骨腫が増加するという証拠は重要である。NTP研究の高用量のメスのネズミに認められた重症な骨硬化症は、フッ化物の骨芽細胞への細胞分裂促進性と類骨組織の形成(NTP1990年)を刺激することを実証している(第5章を参照)。

遺伝毒性の研究結果(特にヒトにおけるインビボの研究)は結果が矛盾している。経口摂取のルート(Shethら1994; WuとWu1995; JosephとGadhia2000年)3つの研究では遺伝毒性が陽性であったが、すべて研究デザインまたは報告に重大な欠陥がある。つまり、対象人口がどのように選択されたか、つまり暴露群と非暴露群が同等だったかどうか不明である。2つの研究(Mengら1995; MengとZhang1997年)が、リン酸肥料工場の労働者の吸入による暴露では、関連が陽性であった。しかし他に発ガンに影響がある他の要因が不明である。他の調査者(Liら1995; Jacksonら1997; VanAstenら1998年)による陰性の結果も考慮する必要がある。

勸告

発ガン性

●ダグラスらの複数医療機関における骨肉腫の研究(2006年の夏に発表予定)は、症例と対照が骨フッ化物濃度のデータを含んでいるので、骨肉腫についてのフッ化物の影響について重要なデータを加えることができるかも知れない。この研究が公表されれば、今後どのような研究が必要か明らかになる。

●膀胱癌の発生に対するフッ化物の影響について、より進んだ研究が行なわれるべきである。膀胱癌が比較的一般的な癌(骨肉腫と比較して)なので、集団のおよび症例・対照研究によってこの問題に取り組むことが可能になるであろう。例えば、集団の間の癌の発生率の分析と共に、骨折のような他の健康障害についての価値ある研究結果が導かれるかも知れない(第5章を参照)。

遺伝毒性

●インドおよび中国におけるインビボの遺伝毒性の研究が行なわれた(ここで飲料水中のフッ化物濃度は多くの場合米国におけるより高い)。しかしこれらの研究は、対象人口が少なく、その選択についての情報が不足している。従って、米国あるいは他の国の人口集団で栄養上あるいは社会生態学的な要因も含めてインビボにおける遺伝毒性の研究が行なわれるべきである。米国における飲料水の遺伝毒性を検討する上で、様々なフッ化物濃度についての研究が必要である。