

化学物質の複合曝露による健康影響の新しい評価方法とその課題

今井 秀樹¹, 水野 佑紀², Cindy Rahman AISYAH², 増田 桃佳², 小西 祥子²

¹ 石川県立看護大学健康科学講座

² 東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻人類生態学教室

New Methods of Evaluating Health Effects of Combined Exposures to Chemicals and Their Problems to Be Solved

Hideki IMAI¹, Yuki MIZUNO², Cindy Rahman AISYAH², Momoka MASUDA² and Shoko KONISHI²

¹Department of Health Sciences, Ishikawa Prefectural Nursing University

²Department of Human Ecology, School of International Health, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

Abstract There are several basic prerequisites for the risk assessment of combined exposures to pesticides and dioxins using human health effects as the endpoint. First, all the target chemical substances exert the same toxicity to humans through the same mechanisms. Second, there is a linear dose–response relationship between the toxicity and effects of individual chemicals. With these two prerequisites, the effects of combined exposures are estimated as the sum of the toxicities of individual chemicals. For example, the toxicities of dioxins are calculated using their toxic equivalent quantities (TEQ) by considering the assigned toxic equivalent factor (TEF) of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD) set individually from their isomers and homologs. In conventional epidemiological studies, when the impact of each of multiple chemical substances is examined, methods such as multiple regression analysis or using a generalized linear model (GLM) have been used on the basis of the same prerequisites. However, in practice, some of the chemicals exhibit collinearity in their effects or do not show a linear dose–response relationship. In recent years, there have been several methods developed in the field of machine learning being applied to epidemiological research. Typical examples were methods using Bayesian kernel machine regression (BKMR) and weighted quantile sum (WQS), and the shrinkage method, i.e., using the least absolute shrinkage and selection operator (Lasso) and elastic network model (ENM). In the future, while taking into account the findings of experimental studies in biology, epidemiology, and other fields, it is expected that various methods will be applied and selected.

Key words: chemicals (化学物質), combined exposures (複合曝露), epidemiology (疫学), health effects (健康影響), statistical methods (統計手法)

1. はじめに

人間の健康と生存には、持って生まれた遺伝要因と私たちを取り巻く環境要因の両方が重要な役割を担う。genome (ゲノム) とは gene (遺伝子) と chromosome (染色体), あるいは gene と -ome (総体を意味する) が合わさった造語であり, 各生物種または個体が持つ遺伝情

報の総体をさす (1)。1990 年に開始したヒトゲノム計画は, 2003 年までの 13 年間でヒトゲノムに含まれる全ての塩基対を解読することに成功した (2) が, この計画に象徴されるように, 20 世紀おわりから 21 世紀にかけて遺伝情報と健康の関連についての研究が爆発的に進展した。このような背景のもと, Wild (3) は, ゲノム研究の発展に対して環境要因の研究がまだ発展途上にあることをシオマネキの爪 (図 1) に例えた。つまり大きな爪が遺伝要因に関する研究で, 小さな爪が環境要因に関する研究ということになる。彼はゲノムに対する exposome (エクスポゾーム) という概念を提唱するとともに, 環境要因の健康影響に関する研究の重要性を述べた。エクスポゾームは人間の全人生における環境曝露の総体を意

受付 2022 年 10 月 17 日, 受理 2023 年 3 月 31 日

Reprint requests to: Hideki IMAI

Department of Health Sciences, Ishikawa Prefectural Nursing University, 1-1 Gakuendai, Kahoku city, Ishikawa 929-1210, Japan

FAX: +81(76)281-8319

E-mail: imahide@ishikawa-nu.ac.jp

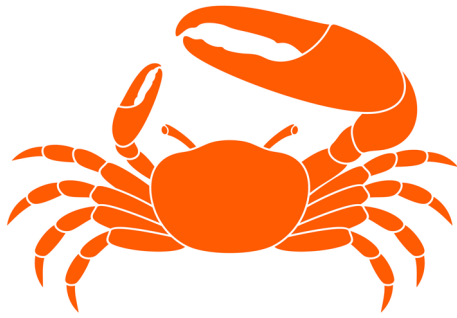


図 1 Wild (3) はシオマネキの大きな爪を遺伝要因に関する研究、小さな爪を環境要因に関する研究の蓄積に例えた。

味し、生活習慣から環境中の化学物質の曝露まで幅広く含む。ゲノムは持って生まれたものが生涯にわたって持続するのに対して、その時々々の環境曝露の総体であるエクスポゾームは母親の胎内から乳児期、幼児期、子ども、成人後と常にダイナミックに変化する。

疾患や健康に関連する遺伝要因の研究に対して環境要因の研究が相対的に少ない理由の一つに、特定の曝露にともなう健康影響の評価の難しさがあると思われる。Wild はエクスポゾームの構成要素を、内的要因（代謝、内因性ホルモン、体型、活動量、腸内細菌叢など）、特定の外的要因（化学物質、放射線、感染、食事、生活習慣など）および社会・経済・心理的要因（社会資本、教育、経済状態、心理的・精神的ストレスなど）の 3 つに整理した (4)。理論的にはエクスポゾームの構成要素全てが人の健康状態に影響している可能性がある。しかしながらエクスポゾームの全ての構成要素を定量し、さらにこれらの構成要素が健康に及ぼす影響を分析することは現在の技術・知識では不可能である。環境要因への曝露の把握と定量にはバイオマーカーや質問票を用いる方法があり、数々の優れた総説がある (例: Angerer ら (5), Esteban と Castanõ (6))。例えば個人あるいは集団の化学物質曝露の総量をすべて定量できたとしても、多種多様な曝露が組み合わさることによってどのような健康影響（複合影響）が生じるのかを調べることは方法論的に非常に難しい。さらに複数の要因が組み合わさることによって、その影響が個々の影響の和よりも大きくなったり小さくなったりする可能性もある。このような化学物質の相乗効果あるいは拮抗作用は毒性学や薬理学の分野で研究が蓄積されてきた。また疫学の分野においても、統計手法の発展とともに複合曝露の健康影響に関する研究が進展してきた。おおまかな言い方をすれば、この場合の疫学研究の目的はあるヒト健康影響をエンドポイントとして、個々の要因の寄与度を求める事である。一方、リスク管理・評価の立場では、あるヒト健康影響に関わる複数の要因の寄与の総体を単純化した関数から求めることが目的となる。本論文はまず化学物質単独のあるいは複合的な曝露のリスク評価法についてまとめ、さらに近年新たに導入された化学物質複合曝露のヒトの健康

に及ぼす影響を評価するいくつかの方法とそれらの課題について、レビューしながらまとめることを目的とする。なお遺伝と環境の交互作用も非常に重要な問題であり多数の論文が報告されているが (例: Tirt (7), Kraft と Hunter (8))、この総説では複数の化学物質への複合的な曝露による健康影響の評価を対象を絞って述べる。

2. 単独の化学物質のリスク評価

ある化学物質のヒトあるいは他の生物へのリスクは「有害性」と「曝露量」という 2 つの量的指標の積で決まる。なおこの総説で述べるリスクとはすなわち健康リスクのことである。動物実験を実施してある化学物質の曝露量 (level of exposure) と有害影響の程度 (level of concern) との関係が明らかになった例を図 2 に示す。これは用量-反応関係を示すが、必ずしも原点は通らない。動物実験の結果から得られた有害な影響の現れない最大の曝露量を無毒性量 (No Observed Adverse Effect Level : NOAEL)、有害な影響が認められた最小の曝露量を最小毒性量 (Lowest Observed Adverse Effect Level : LOAEL) とよぶ。実際の動物実験では曝露量の設定は連続的な数値とはならない。したがって NOAEL と LOAEL との間に、有害影響を呈する最小曝露量である閾値 (threshold of toxicological concern) が存在することになる。NOAEL および LOAEL が化学物質ごとに明らかになることは、化学物質曝露による健康影響を減らすことが目的であるリスク評価・管理の上で重要である。

動物実験等のデータは実際にはばらつくことが多く、そのデータから明確な NOAEL が得られないことも多い。このような場合に Benchmark Dose (BMD) 法が用いられる (9)。これは解析対象とする実験系で有意な影響を検出できる反応レベル (benchmark response : BMR) の用量に対する信頼限界の用量と重なっている下限値を BMDL (benchmark dose lower confidence limit) として算出する手法である。通常、BMR としては一般毒性で 10% が用いられ、この用量-反応曲線における曝露量

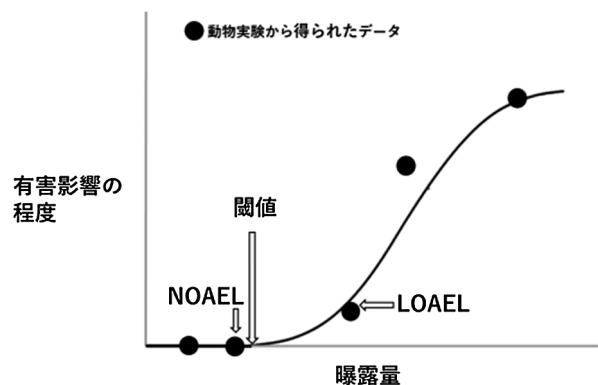


図 2 曝露量と有害影響の程度の間を関係を示した模式図。太線は得られたデータから推計した用量-反応関係を表す。

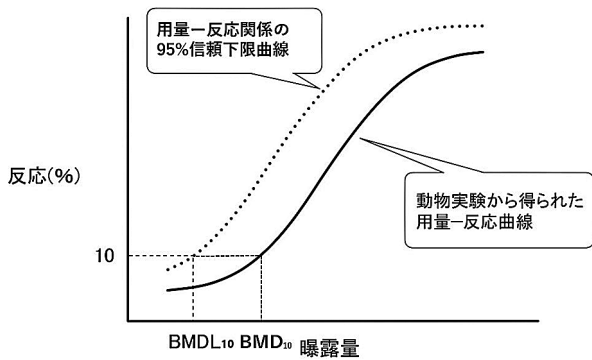


図3 Benchmark Dose 法による BMDL₁₀ の算出

を BMD₁₀, 信頼限界上限 95% における曝露量を BMDL₁₀ としてそれぞれ求める (図 3)。NOAEL を同定するのが困難である場合, BMDL を NOAEL とみなすことができる (9)。

ヒトを対象とした化学物質のリスク評価・管理を行う場合, 動物実験で得られた無毒性量 (体重あたり) をそのまま適用するのではなく, 不確実係数 (Uncertainty Factor: UF) で割る。一般的には, 動物とヒトの違いである種差 (×10, ただし労働環境については×3 が用いられることが多い) と, ヒトにおける感受性の違いである個人差 (×10) とを考慮した 100 を UF の基本とする。種差および個人差以外の要素 (表 1 参照) を加味する場合はさらに係数をかけ合わせた不確実係数積 (UFs) を用いる (10)。

化学物質は排出源から経口, 吸入あるいは経皮によりヒトの体内に入る。これらをすべて考慮して化学物質のヒトへの曝露量を計算することになるのだが, 呼吸する空気の量, 食事の量および体重がすべての人で一律であると仮定したうえで, 環境中の化学物質濃度の測定値を用いて計算した曝露量をヒトへの推定曝露量 (Estimated Human Exposure: EHE) とよぶ。

NOAEL (無毒性量) と EHE (ヒトへの推定曝露量) の比を MOE (曝露マージン) とよび, 以下の式で計算する。

$$MOE \text{ (曝露マージン)} = \frac{NOAEL \text{ (無毒性量)}}{EHE \text{ (ヒトへの推定曝露量)}}$$

NOAEL は動物試験などで求められたものであるため, そのままヒトに応用する訳にはいかない。そこで MOE を UFs と比較し, それと同等か小さい場合は「リスクの懸念あり」, 大きい場合は「リスクの懸念なし」と評価するものとする (表 2)。

3. 複数の化学物質のリスク評価

単独の化学物質の健康影響 (エンドポイント) が明らかである場合, リスク評価・管理の立場から次に進むべ

表 1 おもな不確実性係数 (10)

	不確実性係数
種差	10
個人差	10
試験期間	1 か月
	3 か月
	6 か月
	6 か月以上

表 2 MOE (曝露マージン) を用いたリスク評価 (10)

MOE (曝露マージン) ≤ UFs (不確実係数積) の場合	→ リスクの懸念あり
MOE (曝露マージン) > UFs (不確実係数積) の場合	→ リスクの懸念なし

きは複数の化学物質への同時曝露 (複合曝露) の総体としての評価である。しかし化学物質の複合曝露には膨大な組み合わせがあることや, 複合曝露が起こった際の閾値が個々の化学物質の閾値と同等かどうかの検討がなされていないなど, 解決すべき問題点があり (11), 手法が確立されている例は一部の農薬とダイオキシン類のみである。これらの物質の複合曝露評価の方法を記す。

(1) 一部の農薬

U.S. EPA Office of Pesticide Program (OPP) では, 1996 年の食品品質保護法 (FQPA) において, 共通の作用機序を有する複数の農薬について, 食事及び食事以外の複数の曝露経路を考慮した健康リスクの可能性を考慮すべきことが示された (12)。以下に有機リン系農薬の累積リスク評価 (Cumulative Risk Assessment) に関する評価の例を記載する。

ここでは RPF (Relative Potency Factor) 法が採用されている。RPF 法では, 試験ガイドラインに従った動物実験により得られた指標化合物 (メタミドホス) の毒性効力に対する化合物 *k* の毒性効力の比 (RPF) を求めた上で, 評価対象物質に含まれる複数の農薬への曝露量をメタミドホスの曝露等量に変換する。農薬共通の毒性メカニズム (中枢神経及び末梢神経におけるアセチルコリンエステラーゼのリン酸化による神経毒性) に着目し, 脳中コリンエステラーゼ阻害を評価エンドポイントとしている。

$$C_m = \sum_{k=1}^n C_k \times RPF_k$$

C_m: メタミドホスに換算した混合物の濃度

C_k: 混合物中の化合物 *k* の濃度

RPF_k: 化合物 *k* の指標化合物 (メタミドホス) に対する相対毒性効力

(2) ダイオキシン類

ダイオキシン類は塩素化ジベンゾパラジオキシン類 (PCDDs), 塩素化ジベンゾフラン類 (PCDFs) およびポ

リ塩化ビフェニール類 (PCBs) の総称である。環境試料 (土壌など) に含まれるダイオキシン類の毒性を評価する場合、複数の異性体・同族体が含まれるため単純にそれらの濃度と和が毒性を反映しない。そこでダイオキシン類のうち毒性を有する 29 の異性体・同族体に、一番毒性の強い 2,3,7,8 四塩化ジベンゾ-パラジオキシン (2,3,7,8-TCDD) の毒性を 1 とした際の相対的毒性である毒性等価係数 (Toxic Equivalent Factor: TEF) が、WHO (World Health Organization) によって定められている (13)。農薬同様、ダイオキシン類の曝露評価を行う対象物質は複数のダイオキシン類が含まれることが多い。そこで、TEF を用いて強さの異なるダイオキシン類を 2,3,7,8-TCDD の毒性等量値 (Toxic Equivalent Quantity: TEQ) に換算する。

$$TEQ = \sum_{i=1}^n (C_i \times TEF_i)$$

C_i : 各ダイオキシン類の濃度

TEF: 毒性等価係数

TEQ および TEF の概念は、生体内におけるダイオキシン類の毒性がアリルヒドロカーボン受容体 (AhR) を介して発現し、複数のダイオキシン類の影響は個々の物質の影響の総和であるとの前提に基づいている (13, 14)。

4. 複数の化学物質の交互作用とその評価方法

(1) 薬理学分野における交互作用

上記 3. で述べたのは、ヒトに対して共通のメカニズムによる毒性影響 (adverse effect) を有する物質が対象で、ヒトが曝露した個々の化学物質の毒性の総体は、相加的に発現すると仮定している。しかし実際には複合曝露が相加作用 (additive effect) のみを示すとは限らない。薬理学の分野には、一定の作用を発現するのに必要な 2 つの薬物の投与量 (用量) から交互作用の様相を判別する方法として isobologram 法がある (図 4) (15)。共通の薬理作用を有する 2 つの薬物を A, B とする。それぞれ単独で一定の作用を示す用量を A, B とする。両薬物を併用して単独投与時と同等の作用が示される用量が直線 AB 上にあるならば相加作用、直線 AB の左下にくるならば相乗作用 (synergistic effect)、また直線 AB の右上の領域に入れば拮抗作用 (antagonistic effect) と判別される。isobologram は薬物の作用を模式図に表したものであるが、化学物質の曝露による健康影響についても同様に、相加、相乗、拮抗の 3 種類の交互作用がありうる (表 3)。

(2) 疫学研究における化学物質 (2 つ, 線形) の交互作用評価の例

先に述べたように、リスク評価の目的は、化学物質曝

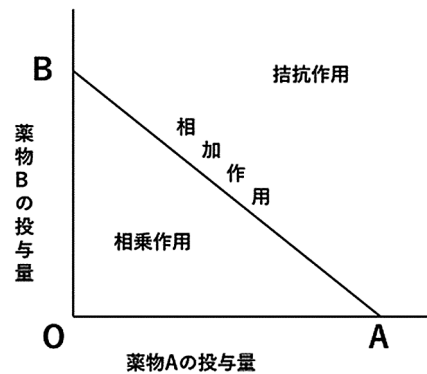


図 4 isobologram 法 の概念図 (15)。グラフ中両軸とも 0 より大きい量の投与量でも作用は等しい。

表 3 複合曝露の交互作用の 3 つの種類

効果の種類	説明
相加作用 Additive effect	複数の化学物質が組み合わさることによって、個々の化学物質の影響の和が全体の影響になる。
相乗作用 Synergistic effect	複数の化学物質が組み合わさることによって、個々の化学物質の影響の和よりも全体の影響が大きくなる。
拮抗作用 Antagonistic effect	複数の化学物質に同時に曝露した場合、個々の化学物質の影響の和よりも全体の影響が小さくなる。

露による健康影響の総体を定量化することである。一方疫学研究の目的は健康影響への個々の化学物質の曝露の寄与を検討することである。2 つ以上の曝露因子と健康アウトカムの関係を考える際には、交互作用が重要となる。交互作用には統計学的交互作用と生物学的交互作用の 2 つの考え方があり (16)。Rothman (16) によれば「生物学的交互作用は機械論的な相互作用であり、あるかないかのどちらかしかない。それは消し去ることもできないし、効果指標や統計的モデルの選択によるものでもない」。これに対して統計学的交互作用はどのような統計的モデルを用いるかによって、観察されたりされなかったりする。しかも交互作用を相加的なモデルで評価するのか、あるいは相乗的なモデルを用いるのかによっても、統計学的な交互作用の有無は違ってくる。言い換えれば用いる統計モデルによって、統計学的交互作用の有無が変わりうるが、それは必ずしも生物学的交互作用の有無とは対応しないのである。2 つの化学物質の相互作用の評価 (前述 isobologram 法の例など) を含めた化学物質のリスク評価・管理および動物実験で注目するのは生物学的交互作用であり、疫学研究は統計学的交互作用に視点を置く。

複数の化学物質曝露に関する相加作用あるいは相乗作用について検討した疫学研究あるいは複数の疫学研究をプールして検討したメタ解析では、個々の化学物質の影響の関係は“antagonistic (拮抗的)”と表記されているものを除くと“additive (相加的)”と表記しているもの

もあるが、おおむね“synergistic (相乗的)”と表記されている。疫学について言えば、2つ (以上) の因子のリスクを同等な独立したものと捉えて統計学的交互作用を検討している研究は多い。Yadav と Lowenfels は総説 (17) の中で、酒とたばこは肺がんの独立したリスクであり相乗的に作用していると述べている。Wang らは彼の総説 (18) の中で塩分摂取とピロリ菌 (*H. Pylori*) の感染は相乗的に胃がんの進行を促進する因子であったとしている。毒性が既知である2つの化学物質に同時に曝露した場合の毒性を予測するモデルとして Loewe 相加性モデル (19) と Bliss 独立性モデル (20) がある。2つの化学物質が同じメカニズムで毒性を発現する場合は前者が、毒性発現のメカニズムが独立している場合は後者が適用される (21)。しかし生体内での化学物質の毒性発現メカニズムの詳細は未知であることが多く、適用できる場面は少ないのが現状である (22)。化学物質の毒性発現について、化学物質以外の要因も相加・相乗作用を呈することがある。岸らは、湿度の上昇がシックハウス症候群発症のオッズ比を上昇させたことを報告している (23)。Wolkoff らによれば、リモネンやオゾン曝露による目の刺激は湿度の上昇によりその影響が大きくなるが、これは当該物質と水の反応生成物によるものであると推察している (24)。

ある化学物質が有する毒性を他の化学物質への曝露が減弱させることもある (拮抗作用)。ヒトを対象とした疫学研究でも、飲酒は食道がんのリスクとなるが、肉類、かんきつ類あるいは油脂の摂取がこれを低減させることが示されている (25)。また水銀の毒性を必須微量元素であるセレンが減弱させることは多くの動物実験の結果として報告されている (26)。仲井らは、新生児を対象とした疫学研究で、運動機能指標が妊娠中の母親の魚の摂取量が増えると良好になり、メチル水銀の摂取量が増えると低下することを示した (27)。

(3) 疫学研究における化学物質 (3つ以上 or 非線形) の交互作用評価の例

ヒト集団を対象とした疫学研究では、これまでに複数の環境因子の個々の影響を評価する統計解析手法として、重回帰分析あるいは一般化線形モデル (Generalized Linear Model : GLM) などが用いられてきた。しかし、これら従来法を化学物質の複合影響を対象とする研究に応用する場合、主に4つの問題点が生じることが指摘されている (28)。1点目は、データの高次元性である。対象となる化学物質やバイオマーカーが多くなるほど、すなわちデータ構造が高次元化するほど、「標本数 > データの次元数」を前提としている従来法は不向きとなる。2点目は、多重共線性である。環境中の化学物質の中には曝露源、曝露経路あるいは代謝経路が共通のものが多く、これにより生じる多重共線性により解析結果の信頼性が低下することとなる。3点目は、化学物質同士の交互作用である。化学物質の交互作用には相加作用、相乗

作用および拮抗作用があることは既に述べた。従来法では、複数の曝露変数同士の積項をモデルに投入する手法が用いられることもあったが、これは検出力の低下なども伴い、課題が残る。最後の4点目は、非線形性である。これまでに広く用いられてきた重回帰分析などは曝露と影響との関連について直線性を仮定している。しかし環境因子の曝露量と生体の反応は必ずしも直線的な関係にならない。例えば胎生期にジエチルstilbestrol (DES) に曝露した雄マウスの生後の前立腺重量は、DES 低用量群と DES 高用量群で低く、中用量群で高くなる逆U字型の反応を示した (29)。また疫学研究でもアルコール摂取量と2型糖尿病発症のリスクとの関係はU字型を示したものがある (30)。このような非線形関係の検討には非線形回帰 (多項式回帰や平滑化スプラインなど) の適用が試みられる (31, 32) など、それぞれの問題の解決を目指した手法が検討されてきたが、より多くの問題への解決を可能にし、複合曝露による影響の総計を検討する解析手法の確立が進められている。

機械学習の分野で開発され、データの高次元性と化学物質曝露変数間の多重共線性という2つの課題の解決を目指した統計解析手法が近年疫学の分野に紹介されつつある (表4)。代表的なものは、重み付き分位数合計 (Weighted Quantile Sum : WQS) 法とベイジアンカーネルマシン回帰 (Bayesian Kernel Machine Regression : BKMR) 法である。WQS 法は Carrico らによって (33)、BKMR 法は Bobb らによって (34)、2015年に疫学研究への応用が提案された統計解析手法であり、数学的な手法は異なるがどちらも多数の化学物質による影響の総計およびその総計の中での各物質の寄与の程度を検討できる。加えて、BKMR 法は化学物質曝露レベルと健康影響との非線形関係および化学物質間の交互作用についても検討できる。Madaniyazi らは、日本の出生コホートを対象とした研究で WQS 法により、1歳6か月時と3歳時で測定した室内空気汚染物質と質問票で得られた精神神経発達指数 (ASQ-3 スコア) との関連について解析した。その結果、3歳時点での室内汚染物質濃度が高いことと ASQ-3 スコアが低いこととの間に関連があることが示された (35)。Valeri らはバングラデシュの20-40か月齢の乳幼児を対象とした前向きコホート研究で、BKMR 法を用いて、ヒ素とマンガンへの同時曝露による子供の神経発達への影響は、それぞれの単独曝露による効果の和より大きかった (multiplicative : 「増加しがちな、増殖力のある」の意) ことを報告している (36)。ただし BKMR 法は、対象の化学物質群に健康影響と正の関連を示す物質と、負の関連を示す物質が混在し、その関連の強さが同程度である場合に、複合曝露と健康影響との関連はなしという結果を示す可能性がある (37)。したがって、複合曝露による健康影響の総体的な解釈にはこの可能性を考慮する必要がある。

一方、説明変数 (曝露変数) の数を減らすことでデー

表 4 疫学研究において化学物質複合曝露の健康影響評価に用いられる統計解析手法

手法	概要	強み	限界
重回帰	従来法。目的変数と複数の説明変数との直線関係を表す回帰式を求める。	<ul style="list-style-type: none"> 解析および結果の解釈が容易。 交互作用 (例: 曝露変数間の積項)。 	<ul style="list-style-type: none"> 複合曝露による影響の総計は算出不可。 高次元データへの応用は不適切。 多重共線性。 曝露と影響の直線関係を仮定。
一般化線形回帰	従来法。残差の正規性を前提とした重回帰などの一般線形回帰と比べて、残差を任意の分布とすることでより柔軟な回帰モデルを検討できる解析手法 (ロジスティック回帰など)。	<ul style="list-style-type: none"> 解析および結果の解釈が容易。 非線形関係。 交互作用 (例: 曝露変数間の積項)。 	<ul style="list-style-type: none"> 複合曝露による影響の総計は算出不可。 高次元データへの応用は不適切。 多重共線性。
WQS(33)	複合曝露による影響評価を目的とした手法。曝露変数を分位数を用いて順序変数に変換し、健康影響との関連に基づいて化学物質ごとに重み付けを行い、複合曝露による健康影響の総計を算出する。	<ul style="list-style-type: none"> 複合曝露による影響の総計を算出。 複合曝露による影響の中での各曝露変数の寄与の大小を評価可能。 データの次元数の削減。 多重共線性の解決。 	<ul style="list-style-type: none"> 分位数を用いるため、データの持つ情報量が減る。 健康影響との相関の方向を全対象化学物質で統一する必要がある (正の相関を示す物質と負の相関を示す物質を同時に検討できない)。(* この WQS の限界点を解決するために、Grouped WQS (GWQS) regression モデルが 2021 年 Wheeler らによって開発された (44)) 交互作用の考慮不可。
BKMR(34)	複合曝露による影響評価を目的とした手法。多数の説明変数 (高次元データ) と 1 つの健康影響との関連に対して、柔軟なモデルを構築することが可能なガウス過程回帰を応用している。	<ul style="list-style-type: none"> 複合曝露による影響の総計を算出。 複合曝露による影響の中での各曝露変数の寄与の大小を評価可能。 データの次元数の削減。 多重共線性の解決。 非線形関係。 交互作用。 ノンパラメトリック法。 	<ul style="list-style-type: none"> 対象の化学物質群に健康影響と正の関連を示す物質と、負の関連を示す物質が混在し、その関連の強さが同程度である場合に、複合曝露による全体の影響はなし (null) という結果を示す可能性がある。
縮小推定	多数の曝露変数 (説明変数) の中から、健康影響との関連において主要な変数を抽出すること目的とした手法。リッジ回帰 (30) や Lasso 回帰 (31)、およびそれらを元にした ENM (32) とその改良版の AENM (33) などが用いられている。説明変数を削減する方法としては、主成分分析が広く用いられてきた。	<ul style="list-style-type: none"> 多数の曝露変数から主要な変数の抽出。 データの次元数の削減。 多重共線性の解決。 	<ul style="list-style-type: none"> 複合曝露による影響の総計は算出不可。 非線形関係の考慮不可。 交互作用の考慮不可。

AENM, adaptive elastic network regression model; BKMR, Bayesian kernel machine regression; ENM, elastic network model; Lasso, least absolute shrinkage and selection operator; WQS, weighted quantile sum.

タの次元削減を行う方法として、これまで主成分分析法が広く用いられてきた。近年、機械学習において説明変数の取捨選択などを目的として用いられてきた縮小推定法が疫学研究に应用されるようになってきた。多数の説明変数がある場合に解析に用いたデータへの当てはまりがよくなる一方で、未知のデータに対しての当てはまり (予測) が悪くなる過学習という問題が生じる。過学習が生じると標準偏回帰係数の絶対値が非常に大きくなるが、標準偏回帰係数の大きさを表す正則化項をモデルに入れることで過学習を防ぐ解析手法が確立され、用いられるようになってきた。この統計解析手法は Hoerl と Kennard (38) によって提案されたリッジ回帰および Tibshirani (39) によって提案された変数選択としての意味も持つ Lasso (Least shrinkage and selection operator) 回

帰を基本としており、ENM (Elastic Network Model) (40) あるいは AENM (Adaptive Elastic Network Model) (41) などの応用手法が存在する。これらは曝露変数を要約・抽出する縮小推定法である。Park ら (42) は NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) のデータを BKMR 法および AENM 法を用いて解析し、複数の環境汚染物質曝露の循環器疾患発症リスクに対する解析には AENM 法が適していたと報告している。

5. おわりに

これまで述べてきたように、疫学分野において健康影響をエンドポイントとした化学物質への複合曝露を評価する統計解析手法がいくつか新たに導入されてきた。こ

これらの手法は複数の化学物質による健康影響発現の複雑な構造を解き明かす助けになり得る。また、既に解析の済んでいる過去のデータを新しい統計解析手法で見直すことにより、新たな知見が得られる可能性もある。しかし、現状はそれぞれの手法に課題が多く存在するなど、いまだ発展途上であるものも多いと言える。したがって化学物質の複合曝露による健康影響を評価するためには、最適な手法がどれであるかを見極めるのは現状では困難であると思われる。さらに、統計的有意性と生物学的有意性とは重なる部分のある概念ではあるが、後者を確実なものにするためには生物学的論理により説明がなされなければならない(43)ことは自明である。今後は実験生物学などによる検証も補完しながら、研究者が研究の目的によって適切な手法を選択できるほどの知見の蓄積が期待される。

謝 辞

本総説の執筆にあたり姫野誠一郎先生(昭和大学)、吉永淳先生(東洋大学)、中澤港先生(神戸大学)からは貴重なアドバイスを頂きました。著者一同深く感謝いたします。

利益相反なし

文 献

- (1) 徳永勝士(編). 人類遺伝学ノート:ゲノム医学・疾患遺伝子探索研究の基礎. 東京:南山堂, 2007.
- (2) Green ED, Watson JD, Collins FS. Twenty-five years of big biology. *Nature* 2015;526:29-31.
- (3) Wild CP. Complementing the Genome with an "Exposome": The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(8):1847-1850.
- (4) Wild CP. The exposome: from concept to utility. *Int J Epidemiol* 2012;41:24-32.
- (5) Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: State of the art. *Int J Hygiene Environ Health* 2007;210: 201-228.
- (6) Esteban M, Castaño A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. *Environ Int* 2009;35:438-449.
- (7) Tiret L. Gene-environment interaction: a central concept in multifactorial diseases. *Proc Nutr Soc* 2002;61:457-463.
- (8) Kraft P, Hunter D. Integrating epidemiology and genetic association: The challenge of gene-environment interaction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2005;360:1609-1616.
- (9) Hardy A, Benford D, Halldorsson T, Jeger MJ, Knutsen KH, More S, et al. Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA J* 2017;15:4658. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4658.
- (10) 独立行政法人製品評価技術基盤機構. 化学物質のリスク評価について. 2017. <https://www.nite.go.jp/data/000084932.pdf> (2022.10.06)
- (11) 菅野 純. 化学物質の複合曝露による健康リスク評価に関する分子毒性的研究 平成 24 年度環境研究総合推進費終了成果報告書 (C-1007). 2013. https://www.env.go.jp/policy/kenkyu/suishin/kadai/syuryo_report/pdf/C-1007.pdf (2022.10.06)
- (12) U.S. EPA. Organophosphorus Cumulative Risk Assessment – 2006 Update. 2006. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2006-0618-0002> (2022.10.06)
- (13) van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, de Vito M, Farland W, Feeley M, et al. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006;93:223-241.
- (14) Safe SH. Development validation and problems with the toxic equivalency factor approach for risk assessment of dioxins and related compounds. *J Anim Sci* 1995;76:134-141.
- (15) 安原 一. 2. 医薬品の適正使用:薬物相互作用. *臨床薬理* 2001;32:167-171.
- (16) Rothman K. ロスマンの疫学. 矢野英二, 橋本英樹(訳), 東京:篠原出版新社, 2004.
- (17) Yadav D, Lowenfels AB. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterol* 2013;144:1252-1261.
- (18) Wang XQ, Terry PD, Yan H. Review of salt consumption and stomach cancer risk: Epidemiological and biological evidence. *World J Gastroenterol* 2009;15:2204-2213.
- (19) Loewe S. Uber Kombinationswirkungen. *Eingegangen.* 1926;17:313-326.
- (20) Greco WR, Bravo G, Parsons JC. The search for synergy: a critical review from a response surface perspective. *Pharmacol Rev* 1995;47:331-385.
- (21) Roell KR, Reif DM, Motsinger-Reif AA. An introduction to terminology and methodology of chemical synergy-perspectives from across disciplines. *Front Pharmacol* 2017;8:1-11.
- (22) 加茂将史, 横溝浩行. 環境化学物質 3 学会合同大会要旨集. 2022;341.
- (23) Kishi R, Saijo Y, Kanazawa A, Tanaka M, Yoshimura T, Chikara H, et al. Regional differences in residential environments and the association of dwellings and residential factors with the sick house syndrome: a nationwide cross-sectional questionnaire study in Japan. *Indoor Air* 2009; 19:243-254.
- (24) Wolkoff P, Wilkins CK, Clausen PA, Nielsen CD. Organic compounds in office environments-sensory irritation, odor, measurements and the role of reactive chemistry. *Indoor Air* 2006;16:7-19.
- (25) Thomas DB. Alcohol as a cause of cancer. *Environ Health Perspect* 1995;103(Suppl 8):153-160.
- (26) 苅田香苗, 坂本峰至, 吉田 稔, 龍田 希, 仲井邦彦, 岩井美幸, 他. メチル水銀, 水銀およびセレンに関する研究動向-疫学研究を中心に-. *日本衛生学雑誌* 2016;71:236-251.
- (27) 仲井邦彦, 中村朋之, 村田勝敬, 佐藤 洋. 東北コーホート調査とばく露評価. *日本衛生学雑誌* 2009;64: 749-758.
- (28) Yu L, Liu W, Wang X, Ye Z, Tan Q, Qiu W, et al. A review

- of practical statistical methods used in epidemiological studies to estimate the health effects of multi-pollutant mixture. *Environ Pollution* 2022;306:119356. doi: 10.1016/j.envpol.2022.119356
- (29) vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, et al. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:2056–2061.
- (30) Carlsson S, Hammar N, Grill V. Alcohol consumption and type 2 diabetes meta-analysis of epidemiological studies indicates a u-shaped relationship. *Diabetologia* 2005;48:1051–1054.
- (31) Maclure M, Greenland S. Tests for trend and dose response: misinterpretations and alternatives. *Am J Epidemiol* 1992; 135:96–104.
- (32) Rachet B, Siemiatycki J, Abrahamowicz M, Leffondré K. A flexible modeling approach to estimating the component effects of smoking behavior on lung cancer. *J Clin Epidemiol* 2004;57:1076–1085.
- (33) Carrico C, Gennings C, Wheeler DC, Factor-Litvak P. Characterization of weighted quantile sum regression for highly correlated data in a risk analysis setting. *J Agric Biol Environ Stat* 2015;20:100–120.
- (34) Bobb JF, Valeri L, Henn BC, Christiani DC, Wright RO, Mazumdar M, et al. Bayesian kernel machine regression for estimating the health effects of multi-pollutant mixtures. *Biostatistics* 2015;16:493–508.
- (35) Madaniyazi L, Jung CR, Fook Sheng Ng C, Seposo X, Hashizume M, Nakayama SF. Early life exposure to indoor air pollutants and the risk of neurodevelopmental delays: the Japan Environment and Children's Study. *Environ Int* 2022;158:107004. doi: 10.1016/j.envint.2021.107004.
- (36) Valeri L, Mazumdar MM, Bobb JF, Henn BC, Rodrigues E, Sharif OIA, et al. The joint effect of prenatal exposure to metal mixtures on neurodevelopmental outcomes at 20–40 months of age: Evidence from rural Bangladesh. *Environ Health Perspect* 2017;125:067015. doi: 10.1289/EHP614.
- (37) Bobb JF, Claus Henn B, Valeri L, Coull BA. Statistical software for analyzing the health effects of multiple concurrent exposures via Bayesian kernel machine regression. *Environ Health* 2018;17:67. doi: 10.1093/biostatistics/kxu058.
- (38) Hoerl AE, Kennard RW. Ridge Regression: Biased estimation for nonorthogonal problems. *Technometrics* 197;12: 55–67.
- (39) Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the Lasso. *J R Stat Soc Series B* 1996;58:267–288.
- (40) Zou H, Hastie T. Regularization and variable selection via the elastic net. *J R Stat Soc Series B* 2005;67:301–320.
- (41) Zou H, Zhang HH. On the adaptive elastic-net with a diverging number of parameters. *Annal Stat* 2009;37:1733–1751.
- (42) Park SK, Zhao Z, Mukherjee B. Construction of environmental risk score beyond standard linear models using machine learning methods: application to metal mixtures, oxidative stress and cardiovascular disease in NHANES. *Environ Health* 2017;16:102.
- (43) Zhan X, Long Y, Zhan X, Mu Y. Consideration of statistical vs. biological significances for omics data-based pathway network analysis. *Med One* 2017;2:e170002. doi: 10.20900/mo.20170002.
- (44) Wheeler DC, Rustom S, Carli M, Whitehead TP, Ward MH, Metayer C. Assessment of grouped Weighted Quantile Sum regression for modeling chemical mixtures and cancer risk. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:504. doi: 10.3390/ijerph.