

る。しかし、分子量 3000 以上になると 7/194 物質(3.6%)のみが陽性結果を示し、その 7 物質のうち 4 物質の末端にエポキサイドを有していることから、末端にエポキサイドを有していない分子量 3000 の化合物については概ね AMES 試験陰性と判断が出来ると推測された。

上記の結果から、既存化学物質安全性点検作業の品目選定用の選択システムのフローを図 2 に示す。

第一段階として、分子量 3000 か否かで分け、3000 以上の場合で末端にエポキサイドを有していない場合は「陰性」と判断し、それ以外の化合物については、SAR モデルで安全性を判断する事とする。

次に 3 つの SAR モデル (MultiCase、DEREK、AdomeWorks) の比較において、実験結果「陰性」を計算結果「陰性」と示す場合では、MultiCase、DEREK、AdomeWorks の順で信頼性が高かった。また、実験結果「陽性」を計算結果「陽性」と示す場合では差は見られなかった。

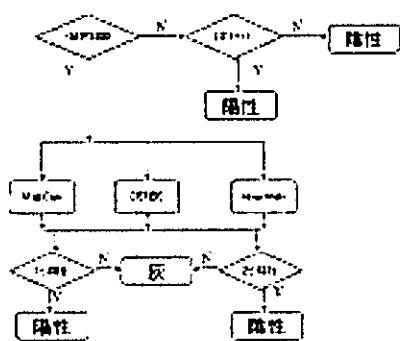


図2 AMES試験判定フローチャート

安全性評価において、本来は AMES 試験結果「陽性」を示しているが、SAR モデルでは「陰性」を示す場合が問題となることから、モデル間での「陰性」を示した化合物について検討したが共通性は見られなかったことから、今後、類似物質の AMES 試験結果を収集し、各モデルの DB にその情

報を追加して、より精度の向上を測る必要があると考えられた。

選択システムのフローの第二段階として、3 つの SAR モデルに分子構造を INPUT し、3 つのうち 1 つでも「陽性」結果がみられた場合は「陽性」と判断し、2 つ以上に「陰性」結果がみられた場合には「陰性」と判断する事で、90%以上の信頼性ある SAR 判断システムとなる。

今回の検討で AdomeWorks が「陰性」での信頼性が悪かったことから、3 次元構造活性相関モデル式を考慮した予測エンジンの改良を検討する必要があると示唆され、現在、その改良中である。

また、AMES 試験に関する(Q)SAR 式の文献を収集したので、今後のモデル改良の資料とした。

- 置換 *o*-フェニルジアミン-塩化プラチナ錯体とサルモネラ菌 TA92 株との関係

Hansch, C.ら, J. Med.

Chem., 23,459-461(1980)

- 芳香族及びヘテロ環アミン類とサルモネラ菌 TA98・TA100 株との関係

Debnath, Ak ら, Environ. Mol. Mutagen., 19,37-52(1

- ヘテロ環及び芳香族アミン類とサルモネラ菌 TA1538・TA98 株との関係

Hatch, F.T.ら, Mutat. Res., 271,

269-287(1992)

- 芳香族及び複素環アミン類とサルモネラ菌 TA98・TA1538 株との関係

Hatch, F.T.ら, Mutat. Res., 376, 87-96(1997)

- o*-置換ベンジジン誘導体とサルモネラ菌 TA98・TA98/1・TA100 株との関係

You, Z.ら, Mutat. Res., 319, 19-30(1993)

- 芳香族アミン及びアセトアミド類とサルモネラ菌 TA98・TA100 株との関係

Trieff, N.M.ら, J. Mol. Toxicol., 2,

53-65(1989)

- 1-メキシ-2-アミノベンゾイミダゾール誘導体とサルモネラ菌 TA98 株との関係

- Shusterman, A.J. ら, CHEMTECH, Oct., 624-627 (1991)
- ・ ヘテロ環アミン類とサルモネラ菌 TA98・TA100・TA1538 株との関係  
Ford, G.P. ら, Chem-Bio. Interactions, 81, 19-33 (1992)
  - ・ 芳香族ニトロ化合物とサルモネラ菌 TA98・TA100 株との関係  
Lopez de Compadre, R.L. ら, Environ. Mutagen., 15, 44-45 (1990)
  - ・ 芳香族及びヘテロ芳香族ニトロ化合物とサルモネラ菌 TA98 株との関係  
Debnath, A.K. ら, J. Med. Chem., 34, 786-797 (1991)
  - ・ 芳香族及びヘテロ芳香族ニトロ化合物とサルモネラ菌 TA98 株との関係  
Debnath, A.K. ら, Environ. Mol. Mutagen, 19, 53-70 (1992)
  - ・ トリアルン(多環芳香族)類とサルモネラ菌 TA98・TA1538 株との関係  
Klopman, G. ら, Mutat. Res., 126, 139-144 (1984)
  - ・ ニトリアルン類とサルモネラ菌 TA98・TA100・TA1537・TA1538 株との関係  
Maynard, A.T. ら, Mol. Pharmacol., 29, 629-636 (1986)
  - ・ ニトロピリノ誘導体とサルモネラ菌 TA98・TA100・TA102 株との関係  
McCoy, E.C. ら, Mutat. Res., 149, 311-319 (1985)
  - ・ 多環ニトロ化合物とサルモネラ菌 TA98・TA100 株との関係  
Lopez de Compadre, R.L. ら, Int. J. Quant. Chem., 34, 91-101 (1988)
  - ・ 多環芳香族ニトロ化合物と SOS 誘導ポテンシャルとの関係  
Debnath, A.K. ら, Environ. Mol. Mutagen, 20, 140-144 (1992)
  - ・ 5-ニトロイミダゾール類とサルモネラ菌 TA100 株との関係  
Biagi, G.L. ら, Terat. Carcin. Mutagen., 3, 429-438 (1983)
  - ・ 5-ニトロ-2-フリルエチレン類とサルモネラ菌 TA98 株との関係  
Sturdik, E., ら, Chem. Biol. Interactions, 23, 145-153 (1985)
  - ・ 3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル酸 N-置換アミドとサルモネラ菌 TA100rfa<sup>+</sup>・rfa 株との関係  
Balaz, S. ら, Chem. Biol. Interactions, 55, 93-108 (1985)
  - ・ ニトロフラン誘導体と大腸菌 PQ37 株との関係  
Debnath, A.K. ら, J. Med. Chem., 36, 1007-1016 (1993)
  - ・ ニトロイミダゾール [2,1b]チアゾール誘導体  
Biagi, G.L. ら, Arch. Toxicol., Suppl. 9, 425-429 (1986)
  - ・ ニトロアミン, ニトログアニジン, ニトロ尿素類とサルモネラ菌変異株との関係  
Kier, L.B. ら, J. Pharm. Sci., 67, 725-726 (1978)
  - ・ ニトロアミン類とサルモネラ菌 TA 株との関係  
Basak, S.C. ら, IRCS Med. Sci., 14, 848-849 (1986)
  - ・ N-ニトロメチルアミン類とサルモネラ菌 TA100 株との関係  
Jinno, K., Mutat. Res., 141, 141-143 (1984)
  - ・ N-ニトロ-N-ベンジルメチルアミン類とサルモネラ菌 TA1535 株との関係  
Singer, G.M. ら, Med. Chem., 29, 40-44 (1986)
  - ・ N-ニトロ-N-置換ベンジルメチルアミン類とサルモネラ菌 TA1535 株との関係  
Debnath, A.K. ら, Environ. Mol. Mutagen., 19, 53-70 (1992)
  - ・ 1-(置換フェニル)-3,3-ジアルキルリアゼン類とサルモネラ菌 TA92 株との関係  
Hopfinger, A.J. ら, Mol. Pharmacol., 21, 187-195 (1982)
  - ・ 1,1-ジメチル-3-置換フェニルリアゼン誘導体とサルモネラ菌 TA92 株との関係

## 細菌 TA92 株との関係

- Shusterman, A.J.ら, *Mol. Pharmacol.*, 36,940-943(1989)
- ・1,1,ジメチル-3-(X-フェニル)-トリアゼン誘導体とサルモネラ菌 TA92 株との関係
- Shusterman, A.J.ら, *Int. J. Quant. Chem.*, 36,19-33(1989)
- ・3,3,ジメチルフェニル及びヘテロ環トリアゼン誘導体とサルモネラ菌 TA92 株との関係
- Shusterman, A.J.ら, *Mol. Pharmacol.*, 36,939-944(1989);
- ・アリルトリアゼン誘導体とサルモネラ菌 TA92 株との関係
- Gombar, v.K.ら, *Quant. Struct. Act. Relation.*, 9,321-325(1990)
- ・スチレンオキシド誘導体とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Sugiura, K.ら, *Mutat. Res.*, 58,159-165(1978)
- ・カルコン及びカルコンオキシド誘導体とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Rashid, K.A.ら, *Mutat. Res.*, 247,71-79(1986)
- ・塩素化フラン類とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Tuppurainen, K.ら, *Mutat. Res.*, 247,97-102(1991)
- ・クロフラン類とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Tuppurainen, K.ら, *Mutat. Res.*, 266,181-188(1992)
- ・塩素化オキソフラン誘導体とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Tuppurainen, K.ら, *Kemia-Kemi*, 19,724-726(1992)
- ・フラン誘導体とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Tuppurainen, K.ら, *J. Mol. Str. (Theochem)*, 306,49-56(1994)
- ・キノリン類とサルモネラ菌 TA100 株との関係
- Debnath, A.K.ら, *Mutat. Res.*, 280,55-65(1992)

- ・4'-(9-アクリゾニルアミン)メタンスルホン酸アニド誘導体とサルモネラ菌 TA1537 株との関係
- Ferguson, L.R.ら, *J. Med. Chem.*, 23,269-274(1980)

## E. 結論

分子量と AMES 試験結果との関係について検討からは、末端にエポキシドを有していない分子量 3000 の化合物については概ね AMES 試験陰性と判断が出来ると推測された。3つの SAR モデル(MultiCase, DEREK, AdomeWorks)の比較において、実験結果「陰性」を計算結果「陰性」と示す場合では、信頼性が高い順に MultiCase, DEREK, AdomeWorks となった。また、実験結果「陽性」を計算結果「陽性」と示す場合では約 70%前後で大きな差は認められなかった。今後、類似物質の AMES 試験結果を収集し、各モデルの DB にその情報を追加して、より精度の向上を測る必要があると考えられたが、陽性物質のうち3つの SAR モデル中少なくとも1つに「陽性」結果を示した場合の信頼性は 92.9%となり、陰性物質において2つ以上の SAR モデルに「陰性」を示した場合における信頼性は 91.8%であったことより、3つの SAR モデルを組み合わせて使用することは有用であることが示された。

## F. 健康危機情報

特になし

## G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他

表1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

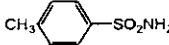
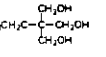

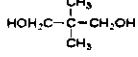
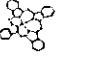
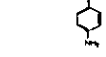
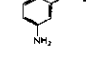
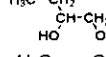
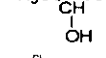
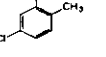
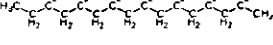
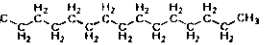
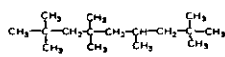
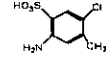
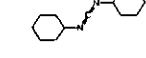
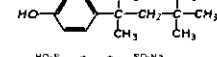
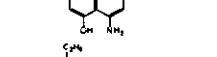
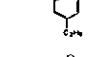
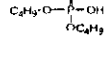
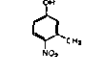
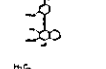
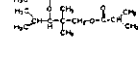
物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	DEREK Result	AdoneWorks Result
					AMES	比活性値			
199199301A	70-55-3	4-アミノベンゼンスルホンアミド	171.21		-		-	-	-
199199302A	77-99-6	2-ヒドロキシ-2-ヒドロキシエチル-1,3-プロパンジオール	134.17		-		-	-	-
199199303A	99-09-2	3-アミノベンゼン	138.12		+	512	+	+	+
199199304A	126-50-7	2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール	104.14		-		-	-	-
199199305A	147-14-8	6679071	576.06		-		-	-	+
199199306A	156-43-4	4-アミノベンゼン	137.17		-		-	-	+
199199307A	636-90-3	3-メトキシベンゼン	123.15		+	250	+	-	-
199199308A	584-03-2	1,2-ブタンジオール	90.12		-		+	-	-
199199310A	78-97-7	2-ヒドロキシプロパニトリル	90.12		-		-	-	+
199199311A	95-73-8	2,4-ジクロロベンゼン	161.02		-		-	-	-
199199412A	544-76-3	ノナザン	226.44		-		-	-	-
199199413A	629-62-9	デカザン	212.41		-		-	-	-
199199414A	4390-04-9	2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルヘプタン	226.44		-		-	-	-
199199415A	88-53-9	2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸	221.66		-		-	-	-
199199416A	538-75-0	ジシロキサン	206.32		-		-	-	+
199199417A	140-66-9	p-tert-ブチルフェノール	206.32		-		-	-	-
199199418A	5460-09-3	4-アミノ-5-ヒドロキシ-2,7-ジアリルジスルホン酸	341.29		-		+	-	-
199299301A	105-05-5	1,4-ジエチルベンゼン	134.21		-		inc	-	+
199299302A	107-66-4	ジブチルホスフェート	210.20		-		-	+	-
199299303A	109-69-3	1-クロロブタン	92.56	$CH_3CH_2CH_2CH_2Cl$	-		inc	+	+
199299304A	2581-34-2	3-メチル-4-ニトロフェノール	153.13		-		inc	+	+
199299305A	4461-52-3	メタノール	62.06	$H_3C-O-CH_2OH$	+	3174.5	-	+	+
199299306A	5281-04-9	3-ヒドロキシ-4-[[4-アミノ-2-スルホフェニル]メチル]-2-ブチルヘキサノール	386.37		-		inc	+	-
199299307A	6846-50-0	2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタジオール	286.40		-		-	-	-
199299308A	24800-44-0	トリブチルリン酸	192.25	$HO-CH_2-CH(O-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)-CH_2-CH(O-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)-CH_2-CH(O-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3)-OH$	-		-	-	-

表1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	GEREK Result	AdooeWorks Result
					AMES	比活性値			
199299309A	26444-49-5	ジフェニルメタン	326.28		-		-	-	-
199299310A	623-91-6	アセチルサリチル酸	172.17		-		-	-	-
199299311A	108-44-1	アニリン	107.15		-		-	-	+
199299412A	99-71-8	4-(1-ヒドロキシエチル)フェノール	150.21		+		-	-	-
199299413A	7756-94-7	トリブチルメチルアンモニウム塩	168.31		-		-	-	-
199299414A	1806-54-8	トリス(2-メチルプロピル)アミン	434.63		-		-	+	-
199299415A	14832-14-5	ビス(2-メチルプロピル)アミン	1127.19		-		-	-	-
199299416A	526-78-3	2,3-ジブロモアミノ酸	275.88	$\text{Br}-\text{CH}-\text{COOH}$ $\text{Br}-\text{CH}-\text{COOH}$	-		inc	+	+
199299417A	26967-76-0	トリブチルアミン	452.52		-		-	-	-
199299418A	86-87-3	1-アミノシクロヘキサン	186.20		-		-	-	-
199299419A	121-47-1	3-アミノベンゼン	173.18		-		-	-	-
199299420A	106-37-6	1,4-ジブロモベンゼン	235.90		-		-	-	-
199399302A	82-45-1	1-アミノシクロヘキサン	223.22		+	96	+	+	+
199399303A	89-61-2	1,4-ジブロモベンゼン	191.99		+	1663.8	inc	+	+
199399304A	105-99-7	ジブチルアミン	153.13		-		-	+	+
199399305A	118-69-4	2,6-ジクロロベンゼン	161.02		-		-	-	-
199399308A	1879-09-0	6-tert-ブチル-2,4-ジシロノール	178.27		+		-	-	-
199399309A	4979-32-5	N,N'-ジシクロヘキシル-2-ヘンツォグ-アミン	346.55		-		(+)	-	+
199399412A	81-16-3	2-アミノ-1-ナフトール	223.24		+	18.4	-	-	-
199399413A	98-83-9	1-アミノシクロヘキサン	118.17		-		-	-	-
199399414A	115-77-5	ペンタエリトール	136.14		-		-	-	-
199399416A	100-61-8	N-エチルアミン	107.15		-		-	-	+
199399417A	103-09-5	N-エチルアミン	121.17		-		-	-	+
199399418A	583-39-1	2-アミノ-1-ナフトール	150.20		-		-	-	+
199399419A	623-26-7	1,4-ジブロモベンゼン	128.13		-		-	-	+

表 1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	分子量	構造式	試験結果		MultiCase Result	ICERK Result	AdomeWorks Result
					AMES	比活性値			
199499420A	1477-55-0	1,3-ビス(7メチルヘンテン)	136.19		-		-	-	+
199499301A	110-63-4	1,4-ブタンジオール	90.12		-		-	-	-
199499502A	89-83-8	ブタノール	150.21		-		-	-	-
199499303A	90-02-8	2-ヒドロキシベンゾアジピン酸	122.12		-		-	-	-
199499304A	98-08-8	1,1,1-トリフルオロエタン	146.10		-		-	-	-
199499305A	98-54-4	p-tert-ブチルフェノール	150.21		-		-	-	-
199499306A	110-02-1	チオフェン	84.13		-		-	-	+
199499307A	111-82-0	1-ドデカン	214.34		-		-	-	-
199499308A	760-23-6	3,4-ジクロロ-1-ブタン	124.99		+	62.5	(+)	+	+
199499309A	27813-02-1	3-ヒドロキシブチル酸 (2-ヒドロキシブチル酸) エステル	144.16		-		-	-	-
199499310A	1120-21-4	ドデカン	156.30		-		-	-	-
199499314A	3319-31-1	1,2,4-ベンゼントリカルボキシル酸 (2-ヒドロキシベンゾ酸) エステル	546.77		-		-	-	-
199499416A	87-84-3	クオアセチン	513.08		-		-	+	-
199499417A	88-44-8	2,7,8-トリヒドロクワセチン	187.21		-		+	-	-
199499418A	95-63-0	1,2,4-トリヒドロクワセチン	120.19		-		-	-	-
199499419A	96-29-7	エチルアセトアミド	88.12		-		inc	+	+
199499420A	96-69-5	4,4'-ジヒドロキシ-1,1'-ビス(4-tert-ブチルフェニル)エタン	358.53		-		-	-	-
199499421A	119-47-1	2,2'-ジヒドロキシ-1,1'-ビス(4-tert-ブチルフェニル)エタン	340.49		-		-	-	-
199499422A	126-33-0	ジエチルジシロキサン-1,1-ジエチル	120.17		-		-	-	+
199499423A	2216-69-5	1-メチルナフタレン	158.19		-		+	-	-
199499424A	626-17-5	1,3-ジシアノベンゼン	128.13		-		-	-	+
199499425A	1570-64-5	4-tert-ブチルフェノール	142.58		-		-	-	-
199499426A	1843-06-6	2-ヒドロキシ-4-(4-tert-ブチルフェニル)フェノール	326.42		-		-	-	-
199499427A	555-07-9	3-ヒドロキシ-tert-ブチル酸	142.19		-		-	-	-
199499428A	3648-21-3	7-ヒドロキシ-2-ナフトール	362.50		-		-	-	-

表 1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	DEREK Result	Alopecurus Result
					AMES	比活性値			
199499429A	526-73-9	1,2,3-トリメチルベンゼン	120.19		-		-	-	-
199499430A	56-93-9	ベンゼンジメチルジクロロメチルエーテル	185.69		-		-	-	-
199499431A	25154-52-3	ノニフェノール	220.35		-		-	-	-
199499432A	87-02-9	7-アミノ-4-ヒドロキシ-2-ナフトール	239.24		+	497.4	+	+	-
199599301A	78-67-1	2,2'-アザビス(2-メチルプロピオニトリル)	164.20		-		-	-	+
199599302A	95-31-0	N-tert-ブチル-2-ベンゾチアゾール-スルフィド	238.37		-		(+)	-	+
199599303A	95-33-0	N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾール-スルフィド	264.40		-		(+)	-	+
199599304A	99-96-7	4-ヒドロキシ安息香酸	138.12		-		-	-	-
199599308A	123-30-8	4-アミノフェノール	109.12		-		inc	-	+
199599309A	123-42-2	アセト酢酸	116.15		-		-	-	-
199599310A	840-65-3	2,6-ナフトリン酸ジメチルエステル	244.24		-		-	-	+
199599311A	868-77-9	アセト酢酸2-ヒドロキシエチルエステル	130.14		-		-	-	-
199599312A	2439-35-2	アセト酢酸2-(ジメチルアミノ)エチルエステル	143.18		+	10.7	-	-	+
199599313A	3048-65-5	3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-インダノール	120.19		-		-	-	-
199599314A	3452-97-9	3,5,5-トリメチル-1-ブタノール (tert-ブタノール)	144.25		-		-	-	-
199599315A	4457-71-0	3-アミノ-1,5-ペンタジオール	118.17		-		-	-	-
199599316A	11070-44-3	1,3-イソプロピルフランジオン, テトラヒドロ	152.14		-		-	-	-
199599417A	78-51-3	9-ノルボルネン	398.47		-		-	+	-
199599418A	83-32-9	フルフェレン	154.20		-		-	-	-
199599419A	87-59-2	2,3,3-トリメチルアミン	121.17		+	341.8	inc	+	+
199599420A	97-52-9	4-ニトロフェノール	168.15		+	20608	+	+	+
199599421A	100-54-9	3-アミノピリジン	104.10		-		-	-	+
199599422A	100-69-6	2-ピリジンメチル	105.13		+	10.7	-	-	-
199599423A	103-85-3	N,N-ジメチルベンジジン	135.20		-		-	-	+
199599425A	1241-94-7	(2-メチルアミノ)ジフェニルエーテル	362.39		-		-	+	-

表 1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	I6REK Result	AdcooWorks Result
					AMES	比活性値			
199599426A	3586-14-9	3-フェニルプロパン	184.23		-		-	-	-
199699301A	77-85-0	1,1,1-トリメチルエチレングリコール	120.14		-		-	-	-
199699303A	97-88-1	アセチルアセトフェン	128.16		-		-	-	-
199699304A	120-76-1	アセトフェン	218.20		-		-	-	-
199699305A	105-16-8	2-(2-エチルヘキシル)アセトフェン	185.26		-		-	-	+
199699306A	105-45-3	アセトフェン	116.11		-		-	-	-
199699307A	108-65-6	1-(1-ヒドロキシ-2-プロパノール)アセトフェン	132.15		-		-	-	-
199699308A	112-85-6	ステアリン酸	340.58		-		-	-	-
199699309A	119-06-2	ジステアリン酸	530.82		-		-	-	-
199699310A	121-03-9	2-(2,4,6-トリメチルフェニル)アセトフェン	217.19		+	41.6	+	+	-
199699311A	461-58-5	アセトフェン	84.07		-		inc	-	+
199699312A	688-84-6	2-(2-エチルヘキシル)アセトフェン	270.91		-		-	-	-
199699313A	1321-74-0	ジフェニルアセトフェン	146.22		-		-	-	-
199699314A	2403-88-5	2,2,6,6-テトラメチル-4-ピペリジン	157.25		-		-	-	-
199699315A	2867-47-2	2-(2-エチルヘキシル)アセトフェン	157.21		-		-	-	+
199699316A	3319-31-1	1,1,1-(2-エチルヘキシル)-1,2,4-トリメチルアセトフェン	546.77		-		-	-	-
199699401A	101-83-7	シクロヘキサン	181.31		-		-	-	+
199699402A	127-68-4	ニコチン酸	225.15		-		+	+	-
199699403A	130-13-2	4-アミノ-1-ナフトール	245.23		-		(+)	-	-
199699404A	135-51-3	2-アミノ-3,6-ジヒドロナフトール	348.25		-		-	-	-
199699405A	842-18-2	7-ヒドロキシ-1,3-ナフトール	380.47		-		-	-	-
199699406A	1066-40-6	1,1,1-トリメチルエチレングリコール	90.19		-		-	-	-
199699407A	16219-75-3	シクロヘキサン	120.19		-		-	-	-
199699408A	25321-09-9	ジフェニルアセトフェン	163.27		-		-	-	-
199799302A	65-41-6	アセトフェン	147.13		-		inc	-	+



表1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果


























物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	DECREEK Result	AdomeWorks Result
					AMES	比活性値			
199799303A	88-19-7	o-トリスチルベンジール	171.21		-		-	-	-
199799305A	88-60-8	6-tert-ブチル-3-m-クロロフェノール	164.24		-		-	-	-
199799306A	89-72-5	o-sec-ブチルフェノール	150.21		-		-	-	-
199799307A	91-76-9	2,4-ジアミノ-6-フェニル-5-トリアジン	187.20		-		-	+	+
199799308A	93-68-5	o-アセチルトルエン	191.22		-		-	-	-
199799309A	99-04-7	o-トリスチル酸	136.14		-		-	-	-
199799310A	99-88-7	4-(1-チルフェニル)ピロリン	135.20		+	3454.2	-	-	+
199799312A	118-79-6	2,4,6-トリブチルフェノール	330.79		-		-	-	-
199799315A	611-19-8	1-クロロ-2-(クロロメチル)ベンゼン	161.02		±	1208.3	inc	+	-
199799316A	4189-44-0	チオウレイ S,S-ジ'オキシド' [二酸化チオウレイ]	109.12		+	34.4	-	-	+
199799401A	79-39-0	2-チル-2-ブチルベンジール	85.10		-		-	-	+
199799402A	80-09-1	4,4'-スルホニルフェノール	250.27		-		-	-	-
199799405A	121-45-9	トリメチルリン酸	124.07		-		inc	-	+
199799404A	793-24-8	N-(1,3-ジ'チルフェニル)-N'-フェニル-1,4-ベンゼンジ'アミン	263.38		-		-	-	-
199799405A	38640-62-9	ビス(1-チルフェニル)エタナール	212.33		-		-	-	-
199799406A	5707-44-8	4-ニチル-1,1'-ビフェニル	182.26		-		inc	+	-
199799407A	2416-94-6	2,3,6-トリブチルフェノール	136.19		-		-	-	-
199899301A	75-50-3	トリメチルアミン	59.11		-		-	-	+
199899304A	123-11-5	4-メチルベンジ'アミン' [別名: p-トリスチル'アミン']	136.14		-		-	-	-
199899305A	91-15-6	1,2-ベンジ'アミン' [別名: m-トリスチル'アミン']	128.13		-		(+)	-	+
199899306A	126-98-7	2-チル-2-ブチルベンジール	67.08		-		-	+	+
199899308A	839-90-7	1,3,5-トリメチル-2,4,6-トリヒドロキシ-1,3,5-トリアジン	261.23		-		-	-	+
199899309A	941-69-5	1-フェニル-1H-ヒモロ-2,5-ジオン	173.16		+	4635	-	-	+
199899401A	75-59-2	トリメチルアミンオキシド [N,N,N-トリメチルアミンオキシド]	91.15		-		-	-	+
199899402A	84-51-5	2-チルアントラキノン	236.26		-		-	-	-

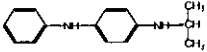


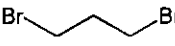

表1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果 AMES 比活性値	MultiCase Result	DEREK Result	AdomeWorks Result
199899403A	109-70-6	Propane, 1-bromo-3-chloro-	157.43		+	485	+	+
199899404A	6505-28-8	ビダメントロンジ16	620.65		-		-	+
199899405A	95-50-1	ロジクホペンテン	147.00		-		-	-
199899406A	5039-78-1	別名: [2-(メタクロイロシ)エチル]リソチアミンニコチン酸塩 別名: メタクロ酸 別名: 2-(メタクロイロシ)エチルニコチン酸塩	207.69		-		-	+
199899407A	6731-36-8	1,1-ビス(1-オクトール)チルホキシ- 3,3,5-トリメチルシロキサン	302.44		-		+	-
199899408A	102-06-7	1,3-ジフェニルイソチアジン	211.26		-		-	+
199899409A	110-30-5	N,N'-(1,2-エタンジール)ビスチラミン	593.02		-		+	-
199899410A	26471-62-5	ジイソブチルキノン	174.15		+	730	+	+
199899411A	1328-53-6	ビダメントクローン7	1127.19		-		-	-
199899412A	657-84-1	p-トリス(メチル)ベンゼン硫酸ナトリウム	194.18		-		-	-
199899413A	80-43-3	ジタリメチルエーテル	270.36		-		+	-
199899414A	CASなし	ジシクロペンチルジシロキサン	200.35		-		-	+
199899501A	51-28-5	2,4-ジニトロフェノール	184.10		±	46.4	+	+
199899502A	79-94-7	トリクロロメチルフェノール	543.87		-		-	-
199899503A	88-18-6	2-tert-ブチルフェノール	150.21		-		-	-
199899504A	95-57-8	2-クロロフェノール	128.55		-		-	-
199899505A	96-76-4	2,4-ジ-tert-ブチルフェノール	206.32		-		-	-
199899506A	108-59-4	5-メチルフェノール (メチルグー)	108.13		-		-	-
199899507A	123-07-9	4-エチルフェノール	122.16		-	inc	-	-
199899508A	591-27-5	3-アミノフェノール	109.12		-		+	+
199899509A	599-64-4	p-(α, α'-ジメチルベンジル)フェノール	212.28		-		-	-
199899510A	620-17-7	m-エチルフェノール	122.16		-		-	-
199899511A	106-48-9	4-クロロフェノール	128.55		-		-	-
199899512A	824-78-2	p-ニトロフェノールナトリウム[試験には二水和物]	161.09		-		+	-
199899513A	1333-16-0	(1'-オキシフェニル)メチルフェノール [1'-オキシフェノール-D]	168.23		-		-	-

表1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	DEREK Result	AdomeWorks Result
					AMES	比活性値			
199999514A	88-89-1	ヒノリン酸	229.10		+	209	+	+	+
199999301A	88-09-5	2-エチル酪酸	116.15		-		-	-	-
199999302A	89-04-3	1,2,4-ベンゼントリカルボン酸 トリオクチル	546.77		-		-	-	-
199999303A	110-83-8	シクロヘキセン	82.14		-		-	-	-
199999304A	6106-21-4	コハク酸二ナトリウム六水和物	162.05	$\text{CH}_2\text{-COONa}$ $\text{CH}_2\text{-COONa}$ • 6H <sub>2</sub> O	-		-	-	+
199999305A	4016-24-4	1-メトキシカルボニルペンタデ カンスルホン酸ナトリウム	372.49	$\text{H}_3\text{C-O-C(=O)-CH(SO}_3\text{Na)-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-CH}_3$	-		-	-	-
199999306A	6165-51-1	1,4-ジメチル-2-(1-フェニル エチル)ベンゼン	210.31		-		-	-	-
199999307A	6448-95-9	C. I. ピグメントレッド 2 2	426.42		+	1715.7	+	+	+
199999308A	7580-85-0	2-tert-ブトキシエタノール	118.17	$\text{H}_3\text{C-C(CH}_3\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	-		-	-	-
199999309A	8007-18-9	C. I. ピグメントイエロー 5 3	488.63		-		-	-	+
199999310A	10022-68-1	硝酸カドミウム四水和物	236.42	$\text{NO}_3\text{-Cd-NO}_3$ • 4H <sub>2</sub> O	-		-	-	+
199999401A	5124-25-4	ディスパーズイエロー 4 2	369.39		-		inc	+	+
199999402A	6099-57-6	1-ナフトール-4-スルホン酸ナ トリウム	247.22		-		-	-	-
199999403A	26630-87-5	ディスパーズレッド 2 0 6	580.05		+	162.9	inc	+	+
199999501A	76-83-5	トリチルニクロリド	278.77		-		+	-	-
199999502A	108-73-6	1,3,5-トリヒドロキシベンゼン	126.11		-		-	-	-
200099301A	109-59-1	2-(1-メチルエチル)エタノール	104.14		-		-	-	-
200099302A	4286-23-1	4-(1-メチルエチル)フェノール	134.17		-		-	-	-
200099303A	7550-35-8	臭化リチウム	86.84	$\text{Br-Li}$	-		-	-	+
200099304A	7803-57-8	ヒドラジン、一水和物	32.04	$\text{H}_2\text{N-NH}_2$ • H <sub>2</sub> O	+	23155.7	+	+	+
200099305A	13939-25-8	リン酸、7水化ナ塩	257.95	$\text{H}_2\text{O}_7\text{P}_2\text{-O-PO}_3\text{H}_2$	-		-	-	-
200099306A	56539-66-3	3-メチル-5-ヒドロキシフェノール [3-メチル- 3-ヒドロキシフェノール]	118.17		-		-	-	-
200099307A	7789-12-0	二酸化チタン、二水和物	218.00	$\text{HO-Ti-O-Ti-OH}$ • 2H <sub>2</sub> O	+	11666.7	+	+	-
200099308A	12033-89-5	窒化ケイ素	146.33	$\text{Si}_3\text{N}_4$	-		-	-	-
200099309A	7782-63-0	硫酸第一鉄、七水和物	280.03	$\text{HO-SO}_3\text{-OH}$ • Fe(II) • 7H <sub>2</sub> O	-		inc	-	+

表 1. SARモデルの比較に使用した既存化学物質と計算結果

物質番号	CAS No.	化学物質名	M.W.	構造式	試験結果		MultiCase Result	DEREK Result	ArdomeWorks Result
					AMES	比活性値			
200099401A	101-72-4	N-フェニル-N'-イソプロピル-α-フェニルエチルアミン	226.31		-		-	-	+
200099402A	3846-71-7	2-(2'-ヒドロキシ-3',5'-ジ-tert-ブチルフェニル)ベンゾ[1,9]グアネン	323.43		-		-	-	-
200099403A	1552-42-7	3,3'-ビス(p-ジチチルアミノフェニル)-6-ジチチルアミノ	415.52		-		-	+	+
200099501A	109-64-8	1,3-ジブromoエタン	201.88		+	1485.2	+	+	+
200099502A	79-27-6	四臭化エタン	345.65		-		-	+	-

inc:inconclusive

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

化学物質リスク評価における定量的構造活性相関に関する研究

分担研究者 青木 康展 独立行政法人国立環境研究所 化学物質環境リスク研究センター 室長

協力研究者 本島 清人 明治薬科大学 教授

協力研究者 小松 英司 独立行政法人国立環境研究所 NIES フェロー

**研究要旨：** 化学物質の毒性予測手法開発のモデル化合物としてフッ素化合物を用い、構造活性相関の解明を進めた。本研究は 2 部より構成される。第 1 に、Perfluoro-octanoic acid (CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>COOH) および類縁高フッ素化合物の PPAR (Peroxisome Proliferator-activated Receptor) 結合活性を特異的な遺伝子発現を指標としてレポーターアッセイ等を活用して解析した。試験化合物の PPAR リガンド活性はその毒性と結びつけられる可能性を見出したが、どのような系で何を指標にリガンド活性を測定するかを検討が重要と考えられた。第 2 に、フッ素化合物の毒性発現に関係する構造情報を抽出するために、毒性試験の結果の情報が得られた化合物について、化合物の特徴を自己組織化マップによってクラスター分類し、さらに、各々のクラスターについて、重相関解析による定量的構造活性相関の解析を行った。

①高フッ素化合物の PPAR 結合活性解析

(明治薬科大学本島清人教授との共同研究)

リガンド活性測定方法を試み、これらの研究方法の確立を中心に研究を進めた。

A. 研究目的

生体へ毒性を示す化合物の少なからぬ種類が、生体の脂質代謝の攪乱することによってその毒性を発現していることが予想される。そのため、脂質代謝の中心的な調節因子として知られるペルオキシソーム増殖薬活性化受容体 (PPAR, Peroxisome Proliferator-activated Receptor) のリガンド活性 (アゴニストあるいはアンタゴニストとしての活性) を指標に、試験化合物の毒性を評価する系を検討することとした。しかし、PPAR をはじめとする核内受容体の場合、単純な *in vitro* の系で観察されるリガンド活性は、必ずしも転写活性や生理活性と結びつかないことが予想されるため、毒性と結びつくリガンド活性の測定方法には一工夫必要である。そこで研究期間初年度に当たる本年度は、代表的な試験化合物を用いて、直接あるいは間接的な PPAR

B. 研究方法

試験化合物の PPAR のリガンド活性と脂質代謝攪乱による毒性との結びつきを検討する解析方法として、以下の 4 方法を選んだ。

1. マウス個体を用いた解析

マウスに試験化合物を投与し、一定期間後マウスの各組織や血中成分の脂質代謝に関連する因子の変化を解析する。本年度はその中から、試験化合物を 0.05 % (wt/wt) の混餌で与え、PPAR の標的遺伝子の発現変動を、肝臓から抽出精製した全 RNA を用いて、ノーザンブロット法で解析した。

2. 培養細胞を用いた解析

試験化合物が生体個体レベルに及ぼす影響を、培養細胞レベルで再現できれば、その機構解析が容易となり、PPAR リガンド活性との対応も明確にしやすくなる。そのため、本年度は、ヒトとラット肝細胞

胞と、マウスの脂肪細胞と骨格筋細胞の PPAR リガンド応答能について、リガンド処理後に全 RNA を抽出し、PPAR 標的遺伝子の発現変動をノーザンブロットによって解析した。

3. レポーター遺伝子を用いた PPAR transactivation 解析  
レポータープラスミドには、ホタルルシフェラーゼをレポーター遺伝子とし、転写調節シス因子として GAL4 結合部位をもつプラスミドを用いた。PPAR としては、ヒトの  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  3 種類のサブタイプのリガンド結合部位(LBD)を、GAL4 タンパク質に融合させたキメラ受容体を用意した。さらに、動物実験との対応を考慮し、マウスの PPAR 3 サブタイプについても解析した。本年度はマウスについては full length の発現ベクターで解析を開始したが、現在までにそのヒトクローンに対応するリガンド結合部位を GAL4 タンパク質に融合させた発現プラスミドを新たに構築した。これら、レポータープラスミドとキメラ PPAR 発現プラスミドを CV1 細胞に共導入し、PPAR 各サブタイプの代表的リガンドをコントロールとし、試験化合物を濃度を変えて添加し、48 時間後のレポーター活性を Dual luciferase 法で測定した。

#### 4. PPAR リガンド結合部位への結合活性解析

試験化合物の PPAR への結合を直接的に解析するために、ヒト PPAR 各タイプのリガンド結合部位を、GST 融合タンパク質として大腸菌で発現させたリコンビナント PPAR を用意することとした。試験化合物の結合は、放射能標識した代表的な PPAR リガンドとの競合実験を予定している。

用いた試験化合物と、代表的な PPAR リガンド

試験化合物：CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>4</sub>COOH (PFHA-C6),  
CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>6</sub>COOH (PFOA-C8), CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>10</sub>COOH  
(PFDA-C12), CF<sub>3</sub>(CF<sub>2</sub>)<sub>7</sub>SO<sub>3</sub>H (PFOS)

代表的 PPAR リガンド：Wy14,643 ( $\alpha$ ),  
Bezafibrate ( $\alpha$ ), GW501516 ( $\beta$ ), Troglitazone ( $\gamma$ )

動物と細胞

マウス：C57BL6 (約 2 ヶ月令、オス)

細胞：Fao (ラット肝がん由来), HepG2 (ヒト

肝がん由来), 3T3L1 (マウス脂肪細胞モデル),  
C2C12 (マウス骨格筋モデル)

### C. 研究結果

#### 1. マウス個体を用いた解析

試験化合物を 0.05 % (wt/wt) の混餌で与えたが、摂取量に顕著な差は見られなかった。

PPAR  $\alpha$  標的遺伝子の発現レベルをノーザンブロットで解析した結果の一例は図表 1-1 のとおりである。PPAR  $\alpha$  標的遺伝子 HD の発現は各試験化合物で誘導され、代表的な PPAR  $\alpha$  リガンドである Wy14,643 や Bezafibrate と比較しても劣らないほどの活性をもつ化合物 (C8) もあった。

#### 2. 培養細胞を用いた解析

PPAR リガンドによって、標的遺伝子の発現変動がもっとも顕著に観察されたのは、Fao 細胞であったが、個体肝臓のレベルと比較すると、10 分の 1 程度であった。つづいて、分化させた 3T3L1 細胞と C2C12 細胞で、ごく限られた応答が見られた。ヒト肝細胞として期待される HepG2 は、ほとんど応答が観察されなかった。

#### 3. レポーター遺伝子を用いた PPAR transactivation 解析

PFDA-C12 以外の 3 種類の試験化合物には、PPAR transactivation 活性が見られた。とくに PPAR  $\alpha$  に対して顕著であった。以下のまとめ参照。

#### 4. PPAR リガンド結合部位への結合活性解析

現在までに、リコンビナント用プラスミドを構築した段階で、今後塩基配列の確認し、大腸菌での発現を試みる。

以上の結果をまとめると、図表 1-2 のようになる。

### D. 考察

一連の化合物には、PPAR の標的遺伝子の発現レベルを変化させる活性がありそうである。その強度は、化合物によって、さらに解析の方法によって差がみられる。まず、ヒト LBD を用いたレポーターアッセイでの化合物ごとの比較では、いずれにも PPAR  $\alpha$  サブタイプに対する活性が見られ、C 数(分

子の長さ)との関連がありそうである。C8とC12の間に顕著な差が見られたことから、新たにC10化合物についても検討しているが、現在までのところ、C12化合物に似た活性であると考えられる。また、C10、C12化合物は、10 $\mu$ M程度から非選択的な細胞毒性が見られ、細胞を用いたリガンド活性が正確には測定できていない。PPAR $\beta$ と $\gamma$ に対しては、PFOSの $\beta$ に対する活性と、C10の $\gamma$ に対する弱い活性が見られる程度で、一連の化合物はPPAR $\alpha$ に選択性がありそうである。PPAR $\alpha$ のLBDの構造と、各化合物の結合様式の構造解析の結果と合わせ考察することが重要である。

一方、解析方法による相違としては、C6化合物の場合に見られる、同じマウスの系で細胞を用いたレポーターアッセイとマウス個体を用いた肝臓での応答の差が顕著である。細胞を用いたリガンド活性でも単純には生物活性に結びつかないことを示しており、リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* アッセイでは、さらにその乖離は著しいものと予想される。

PPARリガンド活性と毒性の観点からは、強い肝がん誘発活性を持つことが知られ、対照として用いたWy14,643に近いリガンド活性を細胞系で示したC6とC8化合物の今後の解析が重要と思われる。個体レベルでの応答が同様なWy14,643とC8、これらとは顕著な差がみられるC6の発肝がん性や応答遺伝子の網羅的比較により、PPARリガンド活性と毒性との関連に関する手がかりが得られることが期待される。

#### E. 結論

各種化合物のPPARリガンド活性はその毒性と結びつけられる可能性があるが、どのような系で何を指標にリガンド活性を測定するかを検討が重要である。本年度研究を開始した、リコンビナントタンパク質を用いた *in vitro* の系、細胞系、個体レベル、いずれも定量的解析をする見通しが立った。今後は、これらの解析結果と、毒性に関するデータや

構造解析の結果と合わせ、PPARのリガンド活性を各種化合物の毒性の指標にする基礎条件を確立していくことが可能であると思われる。

## ②毒性既知のフッ素化化合物のクラスタリングと重相関解析による定量的構造活性相関(QSAR)

(研究協力者： 国立環境研究所・小松英司 NIES フェロー)

### A. 研究目的

フッ素化化合物の毒性発現に関係する構造情報を抽出するために、28日間反復投与試験の結果の情報が得られた化合物について、化合物の特徴を自己組織化マップによってクラスター分類した。さらに、各々のクラスターについて、重相関解析による定量的構造活性相関の解析を行った。

### B. 研究方法と研究結果

#### i) フッ素化化合物系のクラスタリング

毒性データがある34個のフッ素化化合物について、標的臓器を28日間反復投与試験の病理学・生化学試験の結果から推定した。また、各化合物のNOELは28日間反復投与試験の結果をそのまま採用した(図表2-1)。

これら化合物の置換基の種類および物理化学的パラメータ(Kow、分子量、VDW力、双極子モーメント、HOMO、LUMO、HOMO-LUMO)で化合物の特徴を自己組織化マップ(SOM)によってクラスター分類した。自己組織化マップとは、未分類の状態から高次元の入力ベクトルを用いて、2次元空間にマッピングする手法である。SOMの学習アルゴリズムは、競争に勝ち残ったニューロンだけでなく、その近傍に位置するニューロンを含めて集団で学習が行われることが特徴である。

クラスター解析をした結果、図表2-1に示す通り、フッ素化化合物は10クラスターに分類された。図表2-2に、分類された各クラスターの物理化学的パ

ラメータの平均値および偏差（最大値－最小値）を示す。

クラスター6 から 10 は、物理化学的パラメータおよび置換基パラメータの特有性から単体で存在している。クラスター7に属している化合物 5-6414 は、甲状腺に症状が現れている。また、クラスター8に属している 4-1687 は、腎臓で毒性が現れている。構造に特徴がある 2-3839、H15-99 等は、どのクラスターにも属さず高毒性を有していることが示される。本解析で行った分類法により、エンドポイントの違いや特異的な毒性を物理化学的パラメータおよび置換基パラメータで分類することが出来ることを示した。

本解析は、化合物を最低エネルギーにおける Rigid として自由度の小さいものとして扱った。実際の生体内での反応では、化合物は立体配座が大きい flexible なものであるため、最低エネルギーの状態では活性が最大になるとはいえなく、溶媒中かつ作用部位に接近したときの相互作用している状態のコンフォマーを考慮する必要があると考えられる。この検討については、詳細な作用機序の解明とともに今後の課題である。

以下に本解析で行ったクラスター分類で重要である記述子について記す。

#### 物理化学的パラメータ

クラスター分類で用いた記述子の中で、フッ素化合物を分類している主要な要因として、

- ① LOMO
- ② HOMO
- ③ Kow

の 3 項目が考えられる。特にフッ素化合物で HOMO が高いものや LUMO が低いものについては毒性が高い傾向にある。HOMO が高いものについては、求電子反応、LUMO が低いものについては、求核反応を起こすと考えられることから反応性化合物と考えられることから、特異的な毒性を有すると考えられる。

立体効果の記述子については、立体配座の自由度

から考慮すると自由度を反映した記述子を使用する必要があるが、記述子にはある程度の相関性があると考えられるため、分子量およびVDWの立体構造的なパラメータは、重要な記述子であると考えられる。毒性に関しては、化合物分子の立体的かさ高さが、反応部位への接近や反応、結合に影響していると考えられる。特に、分子量の大きいものやVDWの大きいものについては、化合物の生体への取り込み膜通過などに大きく影響を与えるため、特異的なものについてはスクリーニングに使用できる。

#### 置換基パラメータ

図表 2-3 にフッ素化合物で毒性に対し特徴がある置換基がどの化合物に含まれているかを示す。特にフッ素化合物でエンドポイントが異なり、あるいは高毒性を示す置換基類を以下に示す。これらの他の置換基を持つフッ素化合物は、置換基による毒性の特徴を示さず、ほとんどが腎臓もしくは血液に異常が見られた。

- ①-SO<sub>2</sub>-N [aliphatic attach]
- ②-C#N [cyano, aromatic attach]
- ③-S(=O)- [sulfoxide, aromatic attach]
- ④-NO<sub>2</sub> [nitro, aromatic attach]
- ⑤-C#N [cyano, aliphatic attach]

-SO<sub>2</sub>-N を持つ 2-3839 は、NOEL が 0.5mg/L と毒性が高くなっている。ベンゼン環に置換している -C#N、-S(=O)- を持つ 5-6416 は、同じく毒性が 0.5mg/L と高く、甲状腺に異常が見られる。直鎖に置換している -C#N を持つ 4-1687 についても、腎臓に毒性が異なり、他の物質とは異なる毒性が見られた。これらの物質は、クラスター解析では、単体で存在し、分類においても他の物質と違う特性を示している。

#### ii) 重相関解析による QSAR

ここでは、上記によって分類された化学物質群を重回帰モデルによってフッ素化合物の NOEL の定量的構造活性相関について検討を行う。クラスター分類で使用した記述子を説明変数とする重回帰式は以下のようなになる。



$$\text{NOEL} = \alpha_1 \cdot \text{Kow} + \alpha_2 \cdot \text{分子量} + \alpha_3 \cdot \text{VDW 力} + \alpha_4 \cdot \text{Dipole} + \alpha_5 \cdot \text{HOMO} + \alpha_6 \cdot \text{LUMO} + \alpha_7 \cdot \text{HOMO} \cdot \text{LUMO} + \beta \quad (1)$$

但し、 $\alpha_i$ 、 $\beta$  は回帰係数であり、 $\alpha_i$  はそれぞれの説明変数にかかる重み（回帰係数）である。これらの係数は、各変数と NOEL の実測値を用いて最小二乗法によって決定した。

対象としたすべてのフッ素化化合物の重相関解析を行った結果を図 2-4a に示す。Y 軸は式(1)で予測した NOEL 値、X 軸は NOEL の実測値である。すべての化合物で解析すると  $R^2$  値が 0.2394 であり、重回帰で NOEL を説明することが不可能である。

次に、物理化学的パラメータと置換基パラメータで分類したクラスターごとに重相関解析を行った。クラスター 1 の相関解析結果を図 2-4b、クラスター 2 を図 2-4c に示す。そのほかのクラスターについては、サンプル数が説明変数の数より少なく重相関解析を行うことが出来なかった。クラスター 1 の重回帰解析では、12 物質属しており、予測値と実測値の  $R^2$  値が 0.78 であった。クラスター 2 では、9 物質属しており、 $R^2$  値が 0.8 であった。

## C. 考察

クラスター 1 および 2 ともに良好な相関を示しており、これらのクラスターに属する化学物質については、重回帰モデルによる NOEL の予測が可能であることを示している。

## E. 結論

今後、化合物の例数を増やした検証が必要である。また、*in vitro* アッセイの結果とも対比し、予測結果と作用機序との関連を明らかにする必要がある。

## F. 健康危機情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

### 2. 学会発表

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

### 1. 特許取得

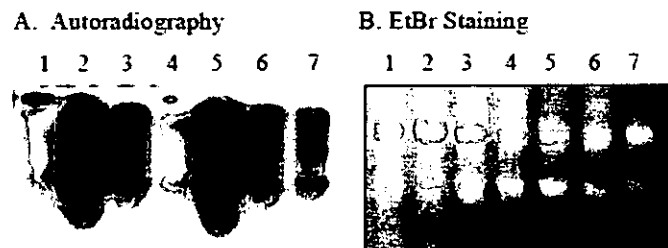
なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

図表 1-1. PPAR $\alpha$  標的遺伝子HD (ペルオキシソーム酵素) の発現量変化



レーン 1 : 正常食、 2 : Wy14,643、 3 : Bezafibrate、 (以上対照)  
 4 : PFHA-C6、 5 : PFOA-C8、 6 : PFDA-C12、 7 : PFOS

図表 1-2. PPAR リガンド活性の測定方法ごとの比較

	PFHA-C6	PFOA-C8	PFDA-C12	PFOS
ヒト $\alpha$ LBD	+	++	+/-	+
ヒト $\beta$ LBD	-	-	-	+
ヒト $\gamma$ LBD	-	-	-	-
マウス $\alpha$ full	++	++	+	-
マウス肝臓	-	+++	+	+

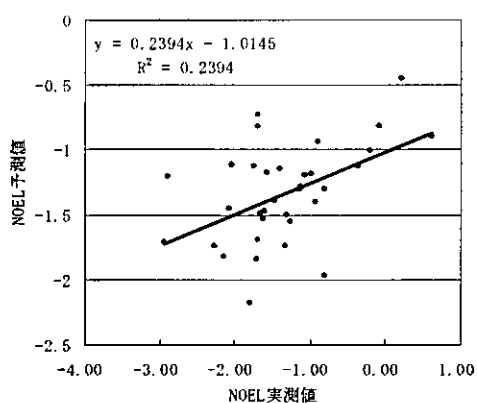
図表 2-1 高フッ素含有化合物の毒性と分類

Mol_ID	Activity	Mol weight	NOEL	Cluster
17	liver/blood	278.0332	5	1
12	liver	385.4315	60	1
7	blood	446.1065	25	1
16	liver	258.1902	20	1
34		245.9185	5	1
23	liver	334.9179	40	1
27		180.1016	150	1
33	liver	243.1514	5	1
28	liver/blood	194.0764	25	1
31	liver	222.1665	100	1
30	liver	196.0675	8	1
29	liver/blood	192.9905	20	1
11	liver	381.1602	0	10
13	liver/blood	368.4815	8	2
21	liver	324.4285	8	2
15	liver	498.4554	10	2
24	liver	338.4553	8	2
25	liver	354.4547	3	2
4	blood	680.243	5	2
10	liver/blood	410.159	8	2
18	liver/blood	292.368	8	2
19	liver/blood	306.438	15	2
5		422.8738	2	3
9	liver/kidney	422.8738	20	3
22	liver	330.3216	12	3
26	liver	360.3478	26	3
3	blood	645.6563	100	4
2		604.5076	1000	4
8	liver	464.1217	40	5
20	liver	320.0531	200	5
32		236.4921	1000	6
6	thyroid	437.1462	0	7
1	kidney	541.446	5	8
14	liver	495.2578	8	9

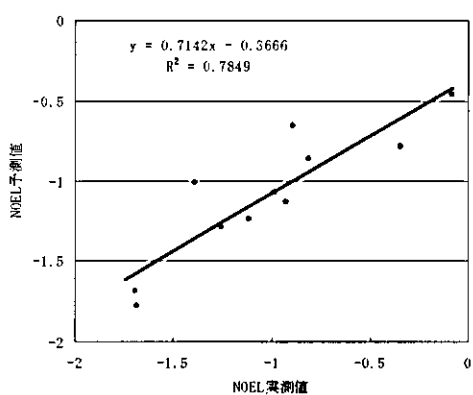
図表 2-2 各クラスターの物理化学的パラメータ

クラスターID	母数		Kow	Mol Weight	VDW	Dipole	Homo	Lumo	Homo-Lumo
						Debye	eV	eV	eV
1	12	平均値	3.77	264.76	4.40	3.02	-10.02	0.00	12.14
		偏差	7.28	266.00	10.88	4.77	3.25	5.03	29.23
2	9	平均値	8.60	397.05	19.92	2.78	-11.66	-0.34	11.31
		偏差	7.07	387.88	17.22	5.25	2.80	2.99	2.95
3	4	平均値	7.03	384.10	13.68	2.10	-10.52	-1.32	9.20
		偏差	2.63	92.55	4.12	2.81	0.15	1.51	1.67
4	2	平均値	7.28	625.08	13.97	5.04	-10.19	-2.78	7.41
		偏差	5.26	41.15	7.08	9.13	1.34	0.23	1.11
5	2	平均値	6.47	392.09	3.73	2.06	-8.99	28.58	37.57
		偏差	2.12	144.07	3.39	0.72	0.25	5.83	6.08
6	1		3.79	236.49	1.20	1.79	-9.29	31.90	41.19
7	1		6.64	437.15	4.65	5.52	-5.79	-0.27	5.52
8	1		5.17	541.45	20.28	4.63	-11.60	-3.76	7.84
9	1		5.56	495.26	16.10	4.75	-4.74	-2.45	2.29
10	1		3.52	381.16	-0.76	0.43	-7.17	30.62	37.79

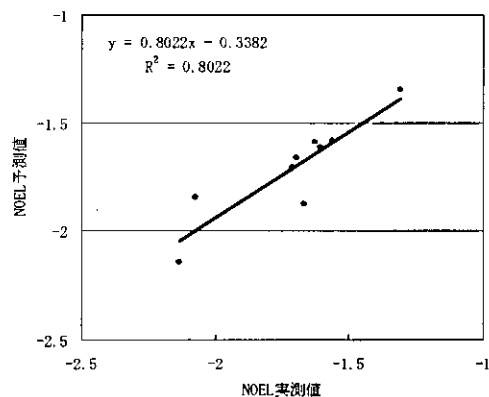
図表 2-4a 全高フッ素化合物の NOEL (単位 (mmol/L))



図表 2-4b クラスター 1 の NOEL



図表 2-4c クラスター 2 の NOEL



(単位 (mmol/L))