

201032007A

厚生労働科学研究費補助金
労働安全衛生総合研究事業

化学物質の国際調和分類基準（GHS）に対応した感作性化学物質のリスト作りとその応用による化学物質の安全使用

平成22年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 日下幸則

平成23（2011）年3月

目次

I. 総括研究報告

- 化学物質の国際調和分類基準(GHS)に対応した感作性化学物質
のリスト作りとその応用による化学物質の安全使用 1
(資料) 許容濃度の提案(2010年度)
産衛誌 52(5): 230-232, 259-266, 2010, J Occup Health 52(5): 318, 2010

II. 分担研究報告書

1. 新感作性物質分類の提案 9
佐藤一博他
2. 皮膚感作性構造相関活性 (QSAR) ソフトの改良 15
佐藤一博他
3. ドイツにおける職業性接触皮膚炎の保障システムとその予防対策 20
皆本景子他
4. ヨーロッパにおける消費者製品の感作性物質の規制、動物実験代替法の
in vitro 試験、及び、QSAR ソフトの EU 最新情報 23
亀尾聡美他
5. 気道感作性構造相関活性 (QSAR) ソフトの改良 27
佐藤一博他

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 33

IV. 研究成果の刊行物・別刷 34

1. Sato K, Umemura T, Tamura T, Ido T, Kusaka Y, Aoyama K, Ueda A, Harada K, Minamoto K, Otsuki T, Yamashita K, Takeshita T, Shibata E, Dobashi K, Kame S, Miyagawa M, Kaniwa M, Yoshida T, Fukushima T, Yuta K. A respiratory Skin study by a new Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR). AATEX 15: in press, 2010.
2. Sato K. Validation study of the new criteria for sensitizer using german sensitizers of deutsche forschungsgemeinschaft (DFG). Int J Immunopathol Pharmacol 24(1): 17-21, 2011.

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）

総括研究報告

化学物質の国際調和分類基準(GHS)に対応した感作性化学物質のリスト作りとその応用による化学物質の安全使用

主任研究者：日下幸則（福井大学医学部環境保健学）

研究要旨：

化学物質の危険・有害性の絵表示や化学物質安全性データシート(MSDS)の交付が、2008 年度から Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS、国際調和分類基準)により世界的に統一された。政府 GHS 省庁連絡会議が行なった絵表示や MSDS を交付すべき 1500 の化学物質の分類作業で、気道感作性分類基準については我々の作成した感作性物質リスト（職業・環境アレルギー誌：12(1):95-97,2004）が和文英文とも判定基準に採用された。

我国の日本産業衛生学会による感作性物質の分類基準では、その根拠としてヒトの報告（症例、疫学、検査）のみを採用して、動物実験の結果を根拠として採用していなかった。ヨーロッパ共同体(EU)や GHS の基準は動物実験の結果も採用している。そこで、調査検討を重ね、動物実験結果を根拠として取り入れた皮膚・気道感作性分類基準を新たに独自に作成し既存の感作性物質リストを再分類し提案し、日本産業衛生学会に暫定案として承認された（資料）。

ヨーロッパ共同体(EU)では、動物実験を行った原料を使用した化粧品の製造輸入が 2013 年には全面的に禁止される。化学物質の登録、評価、認可及び制限(REACH)でも *in vitro* やコンピューターを使用した定量的構造活性相関(QSAR)ソフトによる代替法が推奨されている。QSAR ソフトに関しては、富士通九州システムズ(FJQS)との共同開発で、我国初の皮膚感作性 QSAR モデル及び世界的にも稀有な気道感作性 QSAR モデルを作成した。

ドイツ学術振興協会(DFG)の許容濃度 (MAK) 委員会のハイデルベルグ大学の感作性委員を訪問し感作性分類基準について情報収集し、オランダ国立公衆衛生環境研究所を訪問し EU における化学物質評価の代替法について調査した。

<分担研究者>

青山公治 鹿児島大学医学部衛生学
上田 厚 熊本大学名誉教授
原田幸一 熊本大学医学部保健学科
大槻剛己 川崎医科大学医学部衛生学
柴田英治 愛知医科大学医学部衛生学
竹下達也 和歌山県立大学医学部衛生学

山下邦彦 ダイセル化学工業(株)評価解析センター
土橋邦生 群馬大学医学部保健学科
佐藤一博 福井大学医学部環境保健学
皆本景子 熊本大学医学部衛生学
梅村朋弘 福井大学医学部環境保健学
田村太郎 福井大学医学部環境保健学

亀尾聡美 群馬大学医学部公衆衛生学
井戸敏子 福井大学医学部皮膚科
吉田貴彦 旭川医科大学医学部健康科学
福島哲仁 福島県立医科大学医学部衛生学
<研究協力者>
宮川宗之 労働安全衛生総合研究所
鹿庭正昭 国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

化学物質の危険・有害性の絵表示やMSDSの交付が、2008年度からGHS（国際調和分類基準）により世界的に統一された。GHS省庁連絡会議がいった政府分類で（独）製品評価技術基盤機構(NITE)のホームページにある絵表示やMSDSを交付すべき1500の化学物質の分類作業のうち、気道感作性については我々の作成した感作性物質リスト（職業・環境アレルギー誌：12(1):95-97,2004）が和文英文とも判定基準に採用された。

我国の感作性物質の分類基準では、その根拠としてヒトの報告（症例、疫学、検査）のみを採用しており、動物実験の結果を根拠として採用しておらず検討が必要である。ヨーロッパの基準は動物実験の結果も採用しており、調査が必要である。

従来分類では、ヒトにおける疫学研究および症例報告の情報を基に化学物質を二群に分類してきた。これは、ヒトへの感作性を問題にした場合に極めて直接的な分類根拠であり、動物実験の結果の取り扱いにおいて常に問題となるヒトへの外挿の不確実性を考慮する必要がなく、簡便で合理的な分類基準である。しかしながら、一方で近年の動物を用いる試験手法は大きな進歩をとげた。たとえば皮膚感作性に関しては、Local Lymph Node Assay(LLNA)法が独立した皮膚感作性試験手法として

OECD(OECD No.429)に採択された。

また、それにより明らかになってきたヒトでの試験結果との相関に関する報告をみた場合、限られた物質のデータではある定性的相関に加え、定量的相関もあることが示唆されている。更に、原理の異なる複数の試験手法が確立されたことにより、ひとつの化学物質に対して、多面的な考察を行うことも可能となった。一方、呼吸器感作性に関しては、皮膚感作性試験と比較して、評価された物質の種類が少なく、比較するヒトでの情報も少ないことから、現時点で評価に値する試験手法を限定することはできないが、逆にすべてを棄却することも適当ではないと判断した。即ち、皮膚感作性および呼吸器感作性のいずれにおいても、化学物質のヒトに対する感作性を、動物実験の結果をもとに予測することは、科学的にみて十分根拠があり労働災害の予防の立場からも望ましいと思われ、動物試験を取り入れた呼吸器及び皮膚感作性分類基準を作成し既感作性物質を再分類し、2010年5月日本産業衛生学会に提案し暫定案として承認された(資料)。一連の研究をまとめた分担研究者の佐藤一博が2011年日本産業衛生学会奨励賞を受賞した。

ヨーロッパ共同体(EU)では、2007年より化学物質の登録、評価、認可及び制限(REACH)が導入され、EUで年間1トン以上生産または持ち込まれる化学物質はヒトに対する健康影響と環境影響を調べなければならなくなった。REACHは、*in vitro*やコンピューターを用いた代替法を推奨している。しかし現在感作性に関しては、確立した*in vitro*検査はなくコンピューターを用いた定量的構造活性相関(QSAR)ソフトしかない。更に、EUでは動物実験により安全性（主に皮膚感作性試験）が確認され化粧品

品の販売が禁止された (EU化粧品指令居第7次改正)。皮膚感作性に関しては、QSAR ソフトの開発が急務である。また、環境意識の高まりにより有害物質そのもの

以上の事からコンピューターを用いた化学物質の2次3次構造から定量的構造活性相関 QSAR (quantitative structure-activity relationships)により毒性を立体構造式より知る (予測) 分野が急速に注目を集めている。昨年作成した皮膚感作性及び呼吸器感作性物質の QSAR ソフトを改良した。皮膚感作性 QSAR ソフト開発をまとめた論文が2010年日本動物実験代替法学会論文賞を受賞した。

B. 研究方法

1. 新感作性分類基準の提案

我国の感作性分類基準は根拠として、動物実験の結果を取り入れていなかった。そこで化学物質管理の専門家による班会議を重ね、気道皮膚感作とも動物実験の結果を取り入れた分類基準を作成し、現在ある感作性分類リストを再分類し日本産業衛生学会に提案し暫定案として承認された(資料)。

2. 皮膚感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

皮膚感作性物質としてドイツの接触皮膚炎の教科書 (Frosch PJ, Menne T, Lepoittevin JP ed. Contact Dermatitis 4th ed.)の Contact allergen 435 物質を GHS 省庁連絡会議が分類し製品評価技術基盤機構(NITE)のホームページにある非皮膚感作性 186 物質をコントロールとして ADMEWORKS/ModelBuilder (富士通九州システムズ) の最新の ver.6 を用いて改良し将来的に互換性のある我国は初の皮膚感作性 QSAR モデルを作成した。最小二乗アルゴリズムによる判別分析法を用い、解析は K step Yard sampling method(KY)

を作らないという「生産前対策」を究極の目標とする「グリーンケミストリー」が注目を集めている。

法により3段階のステップを用いた。

分類率 100%、予測率は今後新たな化合物を用いて調査する。

3. ドイツ、オランダ訪問

ドイツ学術振興協会(DFG)の許容濃度(MAK)委員会の感作性メンバーであるハイデルベルグ大学皮膚科 Thomas L Diepgen 教授とオランダ国立公衆衛生環境研究所(RIVM)の免疫毒性学の Henk van Loveren 教授を訪問し、ドイツの感作性物質の分類基準の動向及び RIVM では EU における代替法の現状について調査する。

4. 気道感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

呼吸器感作性物質に関しては公表されている数が最も多いと思われるEUの欧州化学品庁(ECB)のR42とR42/43を呼吸器感作性物質に GHS 省庁連絡会議が分類し製品評価技術基盤機構(NITE)のホームページにある非皮膚感作性物質(かつ呼吸器感作性物質とは分類不能)をコントロールとして昨年度 ADMEWORKS/ModelBuilder (富士通九州システムズ) で作成した気道感作性 QSAR ソフトを最新の ver.6 を用いて作成し将来的にも互換性のある世界的にも稀有な呼吸器感作性 QSAR モデルを作成した。

C. 研究結果

1. 新感作性分類基準の提案

ヒトにおける皮膚感作性及び呼吸器感作性の予測における動物実験の情報の利用について、以下に案を示す。今回は、あくまで

ヒトに対する感作性の分類という観点から、呼吸器感作性、皮膚感作性とも第一群はヒトの疫学的データがある場合、第二群はヒトの症例報告がある場合、第三群は動物実験結果のみの場合とした。我国の感作性物質リストを上記の新しい感作性分類基準で再分類し、日本産業衛生学会に提案し暫定案として承認された（資料）。

2. 皮膚感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

皮膚感作性 419 物質及びコントロール 174 物質の計 593 物質の二次元三次元構造から ADMEWORKS により約 800 のパラメーターを創出し、特徴抽出により 81、69、28 パラメーターセットを作成し step1, step2, step3 の 3 段階による KY(K step Yard sampling method) 法を行なった。Step3 では分類率は 100%となった。予測率は今後新たな化合物を用いて調査する。

3. ドイツ、オランダ訪問

ハイデルベルグにおいては・・・

4. 気道感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

40 の呼吸器感作性物質と 150 のコントロール物質の計 190 物質の二次元三次元構造から ADMEWORKS により約 800 のパラメーターを創出し特徴抽出により 17 のパラメーターセットとした。この 17 のパラメーターセットを用いて種々の判別分析（線形最小二乗アルゴリズム(TILSQ)と AdaBoost）を行い、分類率・予測率 (Leave10 out cross validation) を計算した。線形最小二乗アルゴリズム(TILSQ)と AdaBoost とも分類率 100%で、予測率は 92.6%と 94.7%であった。

D. 考察

1. 新感作性分類基準の提案

我国の感作性分類も動物実験の結果を取り入れた基準ができた。新しい分類基準で

再分類した感作性物質リストとともに、日本産業衛生学会に提案し暫定案として承認された（資料）（産衛誌 52(5), 2010）。また感作性物質リストはドイツ MAK や EU の ECB のようにリストの拡大も必要と思われる。

2. 皮膚感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

我国初の皮膚感作性ソフトを最新の物にバージョンアップが出来た。将来的にも互換性があり、化粧品に限らず新規化学物質の初期分析に充分実用可能であると思われた。昨年度の結果の論文(Sato K et al. AATEX 2009; 14 (3): 940-6)は2010年日本動物実験代替法学会論文賞を受賞した。

3. ドイツ、オランダ訪問

ハイデルベルグにおいて・・・

4. 気道感作性定量的構造活性相関 (QSAR) ソフトの改良

呼吸器感作は皮膚感作に比べて重篤となることがあるが、頻度は皮膚感作に比べて少ない。呼吸器感作性物質の数も少なく、特にコントロールとしての非呼吸器感作性物質は皆無に等しい。昨年度作成した呼吸器感作性 QSAR ソフトは論文として掲載された（刊行物別刷 1）。今回、最新の物にバージョンアップし改良した。将来的にも下位互換性があり呼吸器感作性物質の初期診断に実用可能で有用なソフトと思われた。

E. 結論

項目 1, 2, 3, 4 は平成 22 年度の研究計画を達成できた。

表Ⅲ-1. (つづき)

トリバンブルー	1,3-プロパンスルホン
トルエンジイソシアネート類	β -プロピオラクトン
ナイトロジェンマスタード-N-オキシド	プロピレンオキシド
鉛および鉛化合物 (無機)*	ヘキサクロロシクロヘキサン類
ニッケル (金属)	ヘキサメチルホスホルアミド
ニトリロトリ酢酸とその塩	ヘプタクロル
5-ニトロアセナフテン	ベンジルバイオレット4B
2-ニトロアニソール	(2-ホルミルヒドラジン)-4 (5-ニトロ-2-フリル) チアゾール
N-ニトロソジエタノールアミン	ポリクロロフェノール類 (工業用)
N-ニトロソモルホリン	ポリ臭化ビフェニル類
2-ニトロプロパン	ボンソー-3R
ニトロベンゼン	ボンソー-MX
ニトロメタン	マイレックス
2,2-ビス (プロモメチル) プロパン-1,3-ジオール	マゼンタ (CIベイスシクレッド9含有製品)
ピチューメン (ピツメン; 瀝青質)	メタンスルホン酸エチル
ヒドラジン	2-メチルアジリジン (プロピレンイミン)
4-ビニルシクロヘキセン	メチル水銀化合物
4-ビニルシクロヘキセンジエポキシド	2-メチル-1-ニトロアントラキノン
フェニルグリシジルエーテル	N-メチル-N-ニトロソウレタン
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	4,4'-メチレンジアニリン
β -ブチロラクトン	4,4'-メチレンビス (2-メチルアニリン)
フラン	硫酸ジニプロピル
プロモジクロロメタン	

* 発がんに関する物質のすべてが同定されているわけではない。

† 暫定物質。

表Ⅲ-2. 過剰発がん生涯リスクレベルと対応する評価値

物質名	過剰発がん 生涯リスクレベル	評価値	評価方法	評価年度
石綿				
クリソタイルのみの時	10^{-3}	0.15 繊維/ml	平均相対リスクモデル	'00
	10^{-4}	0.015 繊維/ml		
クリソタイル以外の石綿繊維を含むとき	10^{-3}	0.03 繊維/ml		
	10^{-4}	0.003 繊維/ml		
ニッケル化合物 (製錬粉塵)†	10^{-3}	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	平均相対リスクモデル	'09
	10^{-4}	1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
ヒ素およびヒ素化合物 (Asとして)	10^{-3}	3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	平均相対リスクモデル	'00
	10^{-4}	0.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
ベンゼン	10^{-3}	1 ppm	平均相対リスクモデル	'97
	10^{-4}	0.1 ppm		

† 過剰発がん生涯リスクレベルと対応する評価値暫定物質。

IV. 感作性物質 (暫定)

〔感作性物質の定義〕

気道感作性物質とは、その物質によりアレルギー性呼吸器疾患*を誘発する物質とする。

皮膚感作性物質とは、その物質によりアレルギー性皮膚反応を誘発する物質とする。

*鼻炎, 喘息, 過敏性肺臓炎, 好酸球性肺炎等, アレルギーの関与が考えられる疾患。

〔許容濃度〕

感作性のある物質の許容濃度の数値を勧告するにあ

たっては、労働者の感作の予防, または感作成立後の感作反応の発生予防が、必ずしも考慮されていないことに注意すること。

人間への健康影響の重篤度は、気道において高い場合がある。

〔感作性物質リスト〕

本分類で感作性ありと分類されないことは、感作性がないということと同義ではない。

〔感作性物質の分類〕

感作性物質を、反応の場としての気道と皮膚に分けて基準を設け、

「人間に対して明らかに感作性がある物質(第1群)」

「人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質(第2群)」

「動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質(第3群)」

第1群、第2群、第3群の分類の基準は、以下のごとくである。

1. 気道感作性物質

第1群 人間に対して明らかに感作性がある物質
(判断基準)

呼吸器症状と曝露歴(職歴)が密接な関連性があると同時に、抗原特異的誘発試験(環境誘発試験)による陽性反応、血清学的陽性反応、または皮膚試験の陽性反応のうち、いずれかひとつを満たす症例報告が、異なる機関からなされている。かつ、呼吸器症状と曝露歴(職歴)との関連性を明確に示した適切な疫学研究があること。

第2群 人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質

(判断基準)

上記に準ずるものであるが、疫学研究では必ずしも明確にされていない物質。

第3群 動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質

(判断基準)

(1) 異なる機関から以下の条件をすべて満たす気道感作性の動物実験において陽性の報告があること。

(i) 感作および惹起方法は、吸入、鼻投与、気管投与のうちのいずれかであること。

(ii) 惹起反応の検出項目は、気管支肺胞洗浄またはそれに代わる手法による細胞分画および病理組織学的検索を実施しており、さらに呼吸機能、抗体産生あるいはサイトカイン解析のうちのいずれかひとつを実施して

いること。

(iii) 陰性対照として、少なくとも惹起のみ群と感作のみ群の両群を設定していること。

(iv) 明らかな陽性対照を実験に組み入れていること。

<または>

(2) 単独の機関による上記試験((i)～(iv))につき陽性の報告があり、本条件((i)～(iv))に該当しないが適切な感作性試験法による感作性の陽性の報告があること。

2. 皮膚感作性物質

第1群 人間に対して明らかに感作性がある物質
(判断基準)

皮膚炎症状とパッチテストとの関係を検討した症例報告が異なる機関から2つ以上なされていること。かつ、曝露状況、接触皮膚炎症状およびパッチテスト(皮膚貼付試験)との関連性を明確に示した疫学研究があること。実施されたパッチテストは、対照を設けた適切な方法のものであること。

第2群 人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質

(判断基準)

上記に準ずるものであるが、疫学研究は必ずしも明確にされていない物質。

第3群 動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質

(判断基準)

適切な皮膚感作性の動物実験による陽性の報告がある場合。

参考

*例えば OECD Guideline 406ではモルモットを用いた Magnusson と Kligman の Guinea-Pig Maximization test (GPMT) で陽性率が30%以上、Buehler testで陽性率が15%以上、もしくは OECD Guideline 429: マウスを用いた Local Lymph Node Assay (LLNA) の試験結果に濃度依存性があり、Stimulation Index (SI) 値が3以上であるとしている。

表IV-1. 感作性物質¹

気道	
第1群	
グルタルアルデヒド	ヘキサシアン-1, 6-ジイソシアネート
コバルト*	ベリリウム*
コロホニウム (ロジン)*	無水トリメリット酸
ジフェニルメタン-4, 4'-ジイソシアネート (MDI)	無水フタル酸
トルエンジイソシアネート (TDI) 類	メチルテトラヒドロ無水フタル酸
白金*	
第2群	
エチレンジアミン	ホルムアルデヒド
クロム*	無水マレイン酸
ニッケル*	メタクリル酸メチル
ピペラジン	
皮膚	
第1群	
過酸化ジベンゾイル	テレピン油*
グルタルアルデヒド	ニッケル*
クロム*	白金*
コバルト*	ヒドラジン
コロホニウム (ロジン)*	p-フェニレンジアミン
水銀*	ホルムアルデヒド
チウラム	レゾルシノール
第2群	
アクリル酸ブチル	ヒドロキノン
アクリル酸メチル	フタル酸ジブチル
ウスニック酸	ベリリウム*
エチレンオキシド	ポリ塩化ビニル可塑性 ²
エチレンジアミン	無水マレイン酸
ジクロロプロパン*	メタクリル酸メチル
銅*	ヨウ素*
トルエンジイソシアネート (TDI) 類	ロジウム*
第3群	
o-フェニレンジアミン	m-フェニレンジアミン

1 表IV-1は、1998年に提案された感作性物質と、それ以降に提案された感作性物質を新分類基準で見直したものであり、全物質を見直したリストではない。なお、全ての物質に許容濃度が勧告されているわけではない。

2 全ての可塑性剤が同定されているわけではない。

*当該物質自体ないしその化合物を示すが、感作性に関与するすべての物質が同定されているわけではない。

V. 騒音の許容基準

常習的な曝露に対する騒音の許容基準を、聴力保護の立場から次のように定める。

1. 許容基準

図V-1あるいは表V-1に示す値を許容基準とする。この基準以下であれば、1日8時間以内の曝露が常習的に10年以上続いた場合にも、騒音性永久閾値移動 (NIPTS; noise-induced permanent threshold shift) を1 kHz以下の周波数で10 dB以下、2 kHz以下で15 dB

以下、3 kHz以上の周波数で20 dB以下にとどめることが期待できる。

2. 適用する騒音

広帯域騒音および狭帯域騒音 (帯域幅が1/3オクターブ以下の騒音) に対して適用する。ただし、純音は狭帯域騒音とみなして暫定的にこの基準を適用する。また、衝撃騒音に対しては除外する。

Table III-2. Reference values corresponding to an individual excess lifetime risk of cancer

Substance	Individual excess lifetime risk of cancer	Reference value	Method of estimation	Year of estimation
Arsenic and compounds (as As)	10 ⁻³	3 µg/m ³	Average relative risk model	'00
	10 ⁻⁴	0.3 µg/m ³		
Asbestos	10 ⁻³	0.15 fibers/ml	Average relative risk model	'00
		0.015 fibers/ml		
	10 ⁻⁴	0.03 fibers/ml		
		0.003 fibers/ml		
Benzene	10 ⁻³	1 ppm	Average relative risk model	'97
	10 ⁻⁴	0.1 ppm		
Nickel smelting dusts (as Ni) [†]	10 ⁻³	10 µg/m ³	Average relative risk model	'09
	10 ⁻⁴	1 µg/m ³		

[†]Provisional.

IV. Occupational Sensitizers (Provisional)¹

This table is the list of occupational sensitizers to the airway and skin (Table IV-1). The sensitizers are classified into Group 1 substances which induce allergic reactions in humans, Group 2 substances which probably induce allergic reactions in humans, and Group 3 substances which are considered possibly to induce allergic reactions in humans based on animal

experiments.

Recommendation of occupational exposure limits for the occupational sensitizers does not necessarily consider either prevention of sensitization or allergic reaction. Any substance which is not included in the list does not indicate that the substance is not a sensitizer.

Table IV-1. Occupational sensitizers

Airway

Group 1

Beryllium*, Cobalt*, Colophony (Rosin)*, Diphenylmethane-4,4'-diisocyanate (MDI), Glutaraldehyde, Hexane-1,6-diisocyanate, Methyltetrahydrophthalic anhydride, Phthalic anhydride, Platinum*, Toluene diisocyanates, Trimellitic anhydride

Group 2

Chromium*, Ethylenediamine, Formaldehyde, Maleic anhydride, Methyl methacrylate, Nickel*, Piperazine

Skin

Group 1

Benzoyl peroxide, Chromium*, Cobalt*, Colophony (Rosin)*, Formaldehyde, Glutaraldehyde, Hydrazine, Mercury*, Nickel*, *p*-Phenylenediamine, Platinum*, Resorcinol, Thiuram, Turpentine*

Group 2

Beryllium*, Butyl acrylate, Copper*, Dibutyl phthalate, Dichloropropane, Ethylene oxide, Ethylenediamine, Hydroquinone, Iodine*, Maleic anhydride, Methyl acrylate, Methylmethacrylate, Polyvinyl chloride plasticizers², Rhodium, Toluene diisocyanates, Usnic acid

Group 3

o-Phenylenediamine, *m*-Phenylenediamine

1. The list above reflects the results of re-examination by the newly proposed classification on the substances previously proposed as the sensitizers and it is not the results of examination on all substances. 2. All the sensitizing plasticizers are not identified. *: Evaluation does not necessarily apply to all individual chemicals within the group.

V. Occupational Exposure Limits for Continuous or Intermittent Noise

Occupational exposure limits (OELs) for continuous or intermittent noise exposure are recommended as follows to protect against noise-induced hearing loss.

1. OELs for continuous or intermittent noise

Values in Fig. V-1 or Table V-1 show OELs, at or below which noise-induced permanent threshold shift (NIPTS) is expected to be below 10 dB at or below a frequency of 1 kHz, below 15 dB at 2 kHz, and below

20 dB at or more than 3 kHz after more than 10 years of continuous or intermittent noise exposure for 8 hours a day in most workers.

2. Applicable noise

OELs can be applied to wide- and narrow-band noise with band width below 1/3 octave. OELs are temporarily applicable to pure tones regarded as narrow-band noise. Impulsive or impact noise is excluded from the

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
分担研究報告1

新感作性物質分類の提案

分担研究者	佐藤一博（福井大学医学部環境保健学）
主任研究者	日下幸則（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	青山公治（鹿児島大学医学部衛生学）
分担研究者	上田 厚（熊本大学名誉教授）
分担研究者	原田幸一（熊本大学医学部保健学科）
分担研究者	大槻剛己（川崎医科大学医学部衛生学）
分担研究者	柴田英治（愛知医科大学医学部衛生学）
分担研究者	竹下達也（和歌山県立大学医学部公衆衛生学）
分担研究者	山下邦彦（ダイセル化学工業(株)評価解析センター）
分担研究者	土橋邦生（群馬大学医学部保健学科）
分担研究者	皆本景子（熊本大学医学部衛生学）
分担研究者	梅村朋弘（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	田村太朗（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	亀尾聡美（群馬大学医学部公衆衛生学）
分担研究者	井戸敏子（福井大学医学部皮膚科）
分担研究者	吉田貴彦（旭川医科大学医学部健康科学）
分担研究者	福島哲仁（福島県立医科大学医学部衛生学）
研究協力者	宮川宗之（労働安全衛生総合研究所）
研究協力者	鹿庭正昭（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨：

我国の感作性物質の分類基準は、人間における疫学研究及び症例報告の情報を基に皮膚・気道感作性物質とも分類しており動物実験の結果を考慮していない。しかし、感作性についての動物実験の信頼性は高くなっており、人間の感作性との間に定性的だけでなく定量的にも相関が見られるようになってきた。

そこで、昨年度に続き米国産業衛生専門家会議(ACGIH)・ドイツ学術振興協会(DFG)の許容濃度委員会(MAK)委員会・ヨーロッパ共同体(EU)の欧州化学庁(ECB)・ドイツの皮膚科医等が作成した分類基準等を検討し班会議を重ね、我国に適合した動物実験の結果を考慮した感作性物質分類基準をまとめた。これを用いて既に公表されている感作性物質リストの物質を再分類した。

要約すると、人間に感作を起こす確からしさに基づいて1群（人間に対して明らかに感作性がある物質）、2群（人間に対しておそらく感作性がある物質）、3群（動物試験など

により人間に対して感作性が懸念される物質)に分類される。気道皮膚感作も第3群の根拠にも動物実験法の基準を示す形で取り入れている。

この分類基準と感作性物質リストは日本産業衛生学会に提案し暫定案として承認された。

A. 研究目的

我国の感作性物質の分類基準は、皮膚気道感作性物質とも動物実験の結果を考慮していない。しかし、感作性についての動物実験の精度は高くなっており、世界的にも人間の感作性の分類基準に取り入れられるようになってきた。

従来、人間における疫学研究および症例報告の情報を基に化学物質を二群に分類してきた。これは、人間への感作性を問題にした場合に極めて直接的な分類根拠であり、動物実験の結果の取り扱いにおいて常に問題となる、人間への外挿の不確実性を考慮する必要がなく、簡便で合理的な分類基準である。しかしながら、一方で近年の動物を用いる試験手法は大きな進歩をとげた。たとえば皮膚感作性に関しては、Local Lymph Node Assay(LLNA)法が独立した皮膚感作性試験手法として OECD(OECD No.429)に採択された。また、それにより明らかになってきた人間での試験結果との相関に関する報告をみた場合、限られた物質のデータではあるが、動物実験の結果と人間の結果に、従来の定性的相関に加え、定量的相関もあることが示唆されている。更に、原理の異なる複数の試験手法が確立されたことにより、ひとつの化学物質に対して、多面的な考察を行うことも可能となった。一方、呼吸器感作性に関しては、これまでのところ公的に認められた、確立した試験手法はない。しかしながら、過去に報告された論文を調査した結果、卵白アルブ

ミン(OVA)を用いたモデルが多い中で、人間において呼吸器感作性が報告されている無水トリメリット酸(TMA)やトルエンジイソシアネート(TDI)等を用いた検討も多くなされており、動物においてもそれらの呼吸器アレルギー反応が検出されている。皮

膚感作性試験と比較して、評価された物質の種類が少なく、比較しうる人間での情報も少ないことから、現時点で評価に値する試験手法を限定することはできないが、逆にすべてを棄却することも適当ではないと判断した。即ち、皮膚感作性および呼吸器感作性のいずれにおいても、化学物質の人間に対する感作性を、動物実験の結果をもとに予測することは、科学的にみて十分根拠があり、労働災害の予防の立場からも望ましいと判断した。

感作性物質分類基準及び分類リストを改訂することにした。

B. 研究方法

2009 年度版国際調和分類基準 (GHS) の感作性の分類基準、ドイツ学術振興協会 (DFG) の MAK(許容濃度委員会)の分類基準、ヨーロッパ共同体(EU)の ECB の基準、ドイツの皮膚科医等による基準、アメリカ ACGIH (米国産業衛生専門官会議) によるそれぞれ感作性の分類基準を考察し、班会議により、我国に適応した感作性の分類基準を作成し、感作性物質リストの物質も再分類することにした。

1. 現行の日本産業衛生学会(OEL)の分類基準

・リスト

一日本産業衛生学会許容濃度等委員会の感作性分類基準

IV. 感作性物質

感作性物質を、反応の場としての気道と皮膚に分けて基準を設け、「人間に対して明らかに感作性がある物質 (第1群)」と、「人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質 (第2群)」に分類する。第1群及び第2群の分類の基準は、以下のごとくである。

なお、感作性のある物質の許容濃度の勧告にあたっては、労働者の感作の予防、ま

たは感作成立後の感作反応の発生予防が、必ずしも考慮されていないことに注意すること。

1. 気道感作性物質

第1群

- ① 曝露状況、呼吸器症状、特異抗体およびアレルギー素因との関連を明確に示した疫学的研究があるとともに、
- ② 呼吸器症状の有症者としての下記の条件のいずれかを満たす症例研究が、異なる研究機関から報告されていること。

1. 曝露と呼吸器症状との間に関連性があると同時に、同物質に対する特異抗体が検出されるか、皮内試験が陽性反応を示すこと。
2. 曝露と呼吸器症状との間に関連性があると同時に、特異的吸入誘発試験で陽性反応を呈すること。但し、それが非アレルギー反応でないことを間接的にでも支持する証拠があること。

第2群

上記に準ずるものであるが、疫学的研究では、必ずしも明確にされていない物質。

2. 皮膚感作性物質

第1群

- ① 曝露状況、接触皮膚炎症状およびパッチテスト（皮膚貼付試験）との関連性を明確に示した疫学的研究があり、かつ、
- ② 皮膚炎症状とパッチテストとの関係を検討した症例研究が異なる研究機関から報告されていること。実施されたパッチテストは、対照を設けた適切な方法のものであること。

第2群

上記に準ずるものであるが、疫学的研究は、必ずしも明確にされていない物質。

—現在の我国の感作性物質リスト—

気道

第1群 (11)

グルタルアルデヒド、ヘキサン-1,6-ジイソシアネート、コバルト、ベリリウム、コロホニウム（ロジン）、無水トリメット酸、ジフェニルメタン-4,4'-ジイソシアネート(MDI)、無水フタル酸、トルエンジイソシアネート(TDI)、メチルテトラヒドロ無水フタル酸、白金

第2群(7)

エチレンジアミン、ホルムアルデヒド、クロム、メタクリル酸メチル、ニッケル、無水マレイン酸、ピペラジン

皮膚

第1群(14)

エチレンジアミン、ニッケル、クロム、白金、グルタルアルデヒド、*o*-, *m*-, *p*-フェニレンジアミン、コバルト、ホルムアルデヒド、コロホニウム(ロジン)、水銀、ロジウム、チウラム#

第2群(18)

アクリル酸ブチル、アクリル酸メチル、エチレンオキシド、過酸化ジベンゾイル、ジクロロプロパン、テレピン油、トルエンジイソシアネート(TDI)、銅、ヒドラジン、ヒドロキノン、フタル酸ジブチル、ベリリウム、ベンゾフラン、ポリ塩化ビニル、レゾルシノール、メタクリル酸メチル、無水マレイン酸、ヨウ素

2. 国際調和分類基準 (GHS) の感作性分類基準²⁾

2009年第3版の国際調和分類基準の感作性分類は、Category 1をSub-category 1A(strong sensitizer)とSub-category 1B(other sensitizer)に細分類している。感作性物質の分類基準に動物実験の結果を取り入れており、皮膚感作性に関しては、ヒトの報告よりも、扱いやすさと再現性か動物実験の報告の方が優れているとしている。但し、気道感作性に関しては確立した(OECDで承認された)動物実験が無いためそのみでは気道感作性物質には挙げられていない。そのため、Categoryの細分類には動物実験の定量的なデータが必要となるため皮膚感作のみ細分類が適応となる。

2. ドイツ MAK (許容濃度委員会) の分類基準³⁾

感作性物質を Sufficient, 2. Probable, 3. Not sufficient の3つのカテゴリーに分類していて 1,2 を感作性物質に挙げているが、3.も必ずしも除外せず考慮するとしている。

1. Sufficient

- ①曝露と感作症状の明確な多機関により多数の症例疫学的報告があること。
- ②皮膚感作の場合、適切なガイドラインに基づく動物実験による場合であること。adjuvant を使用しない複数の適切な動物実験の陽性結果のみで 'Sufficient evidence' としている。皮膚感作の評価は動物実験が優れている、としている。

2. Probable

- ①曝露と感作症状の明確な複数の症例報告や疫学的報告が、一機関だけによる場合。
- ②皮膚感作の場合、adjuvant を使用した複数の適切な動物実験の陽性結果のみの場合。

3. Not sufficiently, but also not excluded

一方、気道感作の動物実験のみの報告は、承認されたガイドラインに基づく動物実験がないので、原則感作性物質 (1 と 2) には挙げていない。一例の症例報告も感作性物質に挙げていない。

3. ヨーロッパ共同体(EU)の欧州化学庁(ECB)の基準⁴⁾

ECB (European Chemical Bureau, Ispra, Italy, EU)は、ヒトでの報告・疫学データ以外にも、適切な動物実験陽性結果のみでも、気道感作 R42 や皮膚感作 R43 や気道感作かつ皮膚感作 R42/43 を付けている。適切な気道感作の動物実験として、IgE 測定やモルモットにおける特異的気道反応の動物実験とある。

4. ドイツの皮膚科医等による基準⁵⁾

ドイツの皮膚科医等 34 人の専門家が 16 年間 34 回の委員会を開催し、皮膚感作性の分類基準とともに 244 皮膚感作性物質を報告している (Schlede E et. al, Toxicology 193, 219-239, 2003)。

Category A: significant contact allergen

しばしばヒトにおいて、陽性報告のある皮膚感作性物質で、集団において 1%以上が陽性反応を示す物質。動物実験も考慮する。

Category B: solid-based indications for contact allergen

比較的まれに、ヒトにおいて陽性報告のある皮膚感作性物質で、集団において陽性報告が 1%未満の物質。動物実験も考慮する。

Category C: insignificant or questionable contact allergen

ヒトでの報告がほとんどない場合や、単に動物実験の陽性結果のみの場合、Category C に分類している。

A, B, C とも感作性物質として挙げている。

5. アメリカの ACGIH の基準⁶⁾

ACGIH (米国産業衛生専門官会議) の感作性物質の符号である 'SEN' は、①皮膚か気道か、あるいはヒトか動物かによる報告の区別を明記していないし、②根拠論文は元の Documentation まで辿ればあるが個別に根拠論文は挙げられていない。

以上の世界の分類基準を踏まえ、我国に適合した動物実験の結果を取り入れた感作性物質の分類基準を作成した。

C. 研究結果

新感作性分類基準(暫定案)⁷⁾

感作性物質

〔感作性物質の定義〕

気道感作性物質とは、その物質によりアレルギー性呼吸器疾患*を誘発する物質とする。

皮膚感作性物質とは、その物質によりアレルギー性皮膚反応を誘発する物質とする。

*鼻炎、喘息、過敏性肺臓炎、好酸球性肺炎等、アレルギーの関与が考えられる疾患。

〔許容濃度〕

感作性のある物質の許容濃度の数値を勧

告するにあたっては、労働者の感作の予防、または感作成立後の感作反応の発症予防が、必ずしも考慮されていないことに注意すること。

人間への健康重篤度は、気道において高い場合がある。

〔感作性物質リスト〕

本分類で感作性ありと分類されないことは、感作性がないということと同義ではない。

〔感作性物質の分類〕

感作性物質を、反応の場としての気道と皮膚に分けて基準を設け、

「人間に対して明らかに感作性がある物質（第1群）、

「人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質（第2群）」

「動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質（第3群）」

第1群、第2群、第3群の分類の基準は、以下のごとくである。

1. 気道感作性物質

第1群 人間に対して明らかに感作性がある物質

（判断基準）

呼吸器症状と曝露歴（職歴）が密接な関連性があると同時に、抗原特異的誘発試験（環境誘発試験）による陽性反応、血清学的陽性反応、または皮膚試験の陽性反応のうち、いずれかひとつを満たす症例報告が、異なる機関からなされている。かつ、呼吸器症状と曝露歴（職歴）との関連性を明確に示した適切な疫学研究があること。

第2群 人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質

（判断基準）

上記に準ずるものであるが、疫学研究では必ずしも明確にされていない物質。

第3群 動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質

（判断基準）

（1）異なる機関から以下の条件をすべて満たす気道感作性の動物実験において陽性の報告があること。

（i）感作および惹起方法は、吸入、鼻投与、気管投与のうちのいずれかであること。

（ii）惹起反応の検出項目は、気管支肺胞洗浄またはそれに代わる手法による細胞分画および病理組織学的検索を実施しており、さらに呼吸機能、抗体産生あるいはサイトカイン解析のうちのいずれかひとつを実施していること。

（iii）陰性対照として、少なくとも惹起のみ群と感作のみ群の両群を設定していること。

（iv）陽性対照として、トルエンジイソシアネートまたは無水トリメリット酸などを実験に組み入れていること。

＜または＞

（2）単独の機関による上記試験（（i）～（iv））につき陽性の報告があり、本条件（（i）～（iv））に該当しないが適切な感作性試験法による感作性の陽性の報告があること。

2. 皮膚感作性物質

第1群 人間に対して明らかに感作性がある物質

（判断基準）

皮膚炎症状とパッチテストとの関係を検討した症例報告が異なる機関から2つ以上なされていること。かつ、曝露状況、接触皮膚炎症状およびパッチテスト（皮膚貼付試験）との関連性を明確に示した疫学研究があること。実施されたパッチテストは、対照を設けた適切な方法のものであること。

第2群 人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質

（判断基準）

上記に準ずるものであるが、疫学研究は必ずしも明確にされていない物質。

第3群 動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質

（判断基準）

適切な皮膚感作性の動物実験による陽性の報告*がある場合。

脚注

* OECD Guideline 406: モルモットを用いた Magnusson と Kligman の Guinea-Pig Maximization test (GPMT) で陽性率が30%以上、Buehler test で陽性率が15%以上。もしくは OECD Guideline 429: マウスを用いた Local

Lymph Node Assay(LLNA)の試験結果に濃度依存性があり、Stimulation Index(SI)値が3以上であること。

以上の分類基準に基づいて我国の感作性物質リストを再分類した。

感作性物質リストの改訂(案)¹

気道

第1群

グルタルアルデヒド、コバルト*、コロホニウム(ロジン)、ジフェニルメタン・4・4'-ジイソシアネート(MDI)、トルエンジイソシアネート類(TDI)、白金*、ヘキサン・1,6-ジアオシアネート、ベリリウム*、無水トリメット酸、無水フタル酸、メチルテトラヒドロ無水フタル酸

第2群

エチレンジアミン、クロム*、ニッケル*、ピペラジン、ホルムアルデヒド、無水マレイン酸、メタクリル酸メチル皮膚

第1群

過酸化ジベンゾイル、グルタルアルデヒド、クロム*、コバルト*、コロホニウム(ロジン)、水銀*、チウラム、テレピン油、ニッケル*、白金*、ヒドラジン*、*p*-フェニレンジアミン、ホルムアルデヒド、レゾルシノール

第2群

アクリル酸ブチル、アクリル酸メチル、ウスニク酸、エチレンオキシド、エチレンジアミン、ジクロロプロパン、銅*、トルエンジイソシアネート類(TDI)、ヒドロキノン、フタル酸ジブチル、ベリリウム*、ポリ塩化ビニル可塑剤²、無水マレイン酸、メタクリル酸メチル、ヨウ素*、ロジウム*

第3群

o-フェニレンジアミン、*m*-フェニレンジアミン

1 1998年に提案された感作性物質と、それ以降に提案された感作性物質を上記の分類基準で見直したものであり、全物質を見直したリストではない。

2 全ての可塑剤が同定されているわけではない。

*当該物質自体ないしその化合物を示すが、感作性に関与するすべての物質が同定さ

れているわけではない。

D. 考察

以上の感作性分類基準は、皮膚感作性物質・呼吸器感作性物質の分類基準とも根拠として動物実験の結果を取り入れており、世界的に見ても進んだ分類基準となっている。

E. 結論

以上の我国の新しい感作性分類基準と分類リストが暫定案として承認された。

F. 引用文献

- 1) 日本産業衛生学会許容濃度等委員会:許容濃度の勧告(2009). 産衛誌 51(5):98-123, 2009
- 2) Globally harmonized system of classification and labeling of chemicals (GHS). 3rd rev. UN, New York and Geneva, 2009
- 3) List of MAK and BAT Values 2008. Report No.44 Weinheim: Willey-VCH, 2010
- 4) <http://ecb.jrc.it/classification-labelling/>
- 5) Schleder E, Aberer W, Fuchs T, Gerner I et al. Chemical substances and contact allergy-244 substances ranked according to allergenic potency. Toxology 193: 219-259, 2003
- 6) American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2009 TLV[®] and BEI[®]. Cincinnati, ACGIH, 2010
- 7) 日本産業衛生学会許容濃度等委員会:許容濃度の勧告(2010). 産衛誌 52(5):221-47, 2010

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
分担研究報告2

皮膚感作性構造相関活性（QSAR）ソフトの改良作業

分担研究者	佐藤一博（福井大学医学部環境保健学）
主任研究者	日下幸則（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	青山公治（鹿児島大学医学部衛生学）
分担研究者	上田 厚（熊本大学名誉教授）
分担研究者	原田幸一（熊本大学医学部保健学科）
分担研究者	大槻剛己（川崎医科大学医学部衛生学）
分担研究者	柴田英治（愛知医科大学医学部衛生学）
分担研究者	竹下達也（和歌山県立大学医学部公衆衛生学）
分担研究者	山下邦彦（ダイセル化学工業(株)評価解析センター）
分担研究者	土橋邦生（群馬大学医学部保健学科）
分担研究者	皆本景子（熊本大学医学部衛生学）
分担研究者	梅村朋弘（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	田村太朗（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	亀尾聡美（群馬大学医学部公衆衛生学）
分担研究者	井戸敏子（福井大学医学部皮膚科）
分担研究者	吉田貴彦（旭川医科大学医学部健康科学）
分担研究者	福島哲仁（福島県立医科大学医学部衛生学）
研究協力者	宮川宗之（労働安全衛生総合研究所）
研究協力者	鹿庭正昭（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨：

我々は、定量的構造活性相関(QSAR)技術を用いて皮膚感作性の陽性・陰性を判別関数により予測するモデルを作成した。皮膚感作性物質は、ドイツ学術振興協会(DFG)の“Maximale Arbeitsplatz-Konzentration” (MAK) and “Biologischer Arbeitsstoff-Toleranz-Wert” (BAT) values 2008から122物質とドイツの接触皮膚炎の教科書(Frosch PJ, Menne T, Lepoittevin JP ed. Contact Dermatitis 4th ed.)のContact allergen から297物質の計419物質、コントロール物質として製品評価技術基盤機構（NITE）のサイトにある化学物質の分類及び表示に関する世界調和分類（GHS）省庁連絡会議作成の非皮膚感作

性物質174物質である(計593物質)。最新のADMEWORKS/ModelBuider software(富士通九州システムズFJQS) ver.6を用いて、この593物質の二次元三次元構造から約800のパラメーターを創出し、特徴抽出により81、69、28パラメーターセットを作成し step1, step2, step3のK step Yard sampling method (KY)法を行なった。全ての予測モデルは最小二乗アルゴリズムによる判別分析法を用いた。分類率はstep3では100%となった。予測率は今後新たな化合物を用いて調査する予定である。これは、我国初の最新のバージョンの皮膚QSARモデルであり、皮膚感作性物質の初期予測に適応可能と思われる。

A. 研究目的

職業性皮膚疾患は接触皮膚炎、湿疹、皮膚がんなどがあり非外傷性の職業性疾患として最も頻度が高い(Fedorowicz et al., 2005)。その中でも接触皮膚炎が頻度が高い。米国では全職業性疾患のうち22%が皮膚疾患であり内、80%が接触皮膚炎である(Cherry et al., 2000)。接触皮膚炎は日本における医師の職業性アレルギーの中でも最も多く見られた(Sato et al., 2004)。

2003年国連は、化学物質の分類表示の国際調和基準(GHS)を出版し、2008年には世界中で実施が可能となっている(United Nations, 3rd rev. 2009)。GHSの皮膚感作物質の分類基準には動物実験の結果が取り込まれている。例えば、OECDガイドライン406であるモルモットによるmaximization testやBuhler testやOECDガイドライン429であるマウスを使ったlocal lymph node assay (LLNA)である。ドイツのDFGやEUの欧州化学庁(ECB)でも皮膚感作性の分実験の結果を取り入れている。しかし、日本産業衛生学会(JSOH)の皮膚感作性分類基準は動物実験の結果を考慮していない(Japan Society for Occupational Health, 2008)。現在、改訂中である。

EUにおける化学物質の登録、評価、認可及び制限(REACH)下では、年間1トンに以上、EUで生産または持ち込まれる全ての化学物質は、環境影響や発がん性や感作性などの健康影響を評価しなければならない事になっている。REACHは

動物実験に代わる *in vitro* のテストやQSARによる評価を推奨している。現在、感作性に関しては承認された *in vitro* のテストがないため、QSARによる皮膚感作性の評価が注目を集めている(Patlewicz et al., 2008)。更に、EUでは化粧品指令第7次改訂により、動物実験をした原料を用いた化粧品の販売が禁止された(Carrera et al., 2009)。新規化学物質に対する皮膚感作性のテストとしてOECDガイドラインなど妥当性のテストがあるが、時間と経費が掛かることが問題である(Golla et al., 2009)。この規制や動物愛護のため、QSARソフトなどコンピューターを用いて発がん性や感作性を評価する方法が近年開発されてきた。

今回、我々は皮膚感作性物質と非皮膚感作のコントロールの物質を用いてADMEWORKS/ModelBuider(富士通九州システムズ)ver.6により、この皮膚感作性物質419物質、コントロール174物質の計593物質二次元三次元構造から約800のパラメーターを創出し、特徴抽出により81、69、28パラメーターセットを作成し step1, step2, step3のK step Yard sampling method (KY)法を行なった。全ての予測モデルは最小二乗アルゴリズムによる判別分析法を用いた。分類率はstep3では100%となった。予測率は今後新たな化合物を用いて調査する予定である。

B. 研究方法

皮膚感作性物質は、ドイツ MAK の感

作性物質リストの Sah と Sh(Deutschen

Forschungsgemeinschaft, DFG, 2008)とドイツの接触皮膚炎の教科書 (Coz CJL, 2006)(Frosch PJ, Menne T, Lepoittevin JP ed. Contact Dermatitis 4th ed.)の Contact allergen の皮膚感作性物質である。分類基準になっているのは、疫学研究、症例報告と妥当性の検証された動物実験 (モルモットの maximization テスト、Buhler テスト やマウスの LLNA) である。一方、コントロールは製品評価技術基盤機構(NITE)のホームページにある GHS 省庁連絡会議が行なった皮膚感作性物質でないとの報告がある 'not ckasified' の 218 物質である(The Japanese GHS Inter-ministerial Committee)。しかし、コンピューター化学では、無機物質・有機無機の金属化合物やポリマーは一般の有機化合物と一緒に扱えない。これらを除いた皮膚感作性 419 物質とコントロール 174 物質の計 593 物質を評価した。

計 593 物質の二次元三次元構造から約 800 のパラメーターを創出し、特徴抽出 (頻度の低いパラメーター、多重共線性やノイズパラメーターを除去) より 86 パラメータセット、69 パラメーターセット、28 パラメーターセットを作成した。このら 3 つのパラメーターセットを step1, step2, step3 として、最小二乗アルゴリズム (TILSQ) の判別分析法により K step Yard sampling method (KY) 法を行なった。これらの解析は ADMEWORKS/ModelBuilder(富士通九州システムズ, FJQS) ver.6 で行なった。

C. 研究結果

KY法は多数の物質があっても、最終的に分類率100%となる優れた方法である。予測率は今後新たな化合物を用いて調査する予定である。

D. 考察

1986年に動物愛護ガイドラインである 86/609/EC が実施されて以来、EU では化学物質のテスト において動物実験を置換・精練・削減(3R)する事代替法を支援することが政策となった。(Lillenblum et al., 2008)。しかし、現在皮膚感作性をテストする REACH に適合した *in vitro* の方法は無い (Grindon et al., 2007, Patlewicz et al., 2008)。

そのため幾つもの皮膚感作性の QSAR ソフトが開発された。例えば Toxicity Prediction Komputer-Assisted Technology, (Accelrys Inc., San Diego, CA, USA; TOPKAT) や Multi Computer-Automated Structure Evolution (MultiCASE Inc., Cleveland, Ohio, USA; M-CASE)これらは統計を基本とした QSAR である。Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge (Derek) for Windows (DfW. LHASA Ltd., Leeds, UK)は人工知能による QSAR で Times Metabolism Simulator for Skin Sensitization (LMC, University of Bourgas, Bulgaria; TIMES-SS)は両者のハイブリッドである (Patlewicz et al., 2007a, Patlewicz et al., 2007b)。今回の解析は ADMEWORKS/ModelBuilder (富士通九州システムズ) で行なったが、これは統計を基本とする QSAR である。これらの QSAR ソフトの中で皮膚感作性に関して最も良く使用されているのは Derek である (Grindon et al., 2007)。TOPKAT と Derek を用いたモルモットのデータとの一致率は 73.3%と 82.9%で、Derek の LLNA との一致率は 73%だった (Fedrowicz et al., 2005)。我々の予測率は 73.88%から 81.44%でありほぼ同じである。QSAR システムは発展段階であり十分な信頼性は無いが、新規化学物質の皮膚感作性の初期予測にコンピューターを用いた方法が推奨されている (Grindon et al., 2007)。我々が作成した

QSAR システムも実用可能と思われる。

我々は、皮膚透過性が化学物質の皮膚感作に重要で QSAR モデルにおいて Log P が重要な因子となると予測した。Barratt (1994)は分子量とオクタノール/水分配係数(Log P)が皮膚透過性に重要であると報告している。今回の解析では、水溶性は Log P と相関性が高く (多重共線性)、水溶性のパラメーターを除いて解析した。Log P の重みは小さく、分子量は 32 パラメーターセットでは抽出されなかった。実験データが限られていて透過性に関するパラメーターが創出されなかったのかもしれない(Golla et al., 2009)。今回のモデルでは、オクタノール/水分配係数が他の重要なパラメーターと置き換わったか、幾つかのパラメーターが相互に作用した可能性もある。多くの化学物質が溶剤に溶けて人間の皮膚に曝露するが、溶剤の皮膚透過性が化学物質の LogP よりも皮膚感作性に大きな影響を及ぼしているのかも知れない。更なる考察と追加研究が必要である。

今回の KY 法では分類率は step3 で 100%となった。予測率は今後新たな化合物を用いて調査する予定である。

E. 結論

昨年度作成した皮膚感作性 QSAR ソフトを将来的にも下位互換性のある最新の物にバージョンアップした。新規化学物質の初期予測に実用可能なソフトと思われる。

F. 研究成果発表

昨年度作成しまとめた論文 (日本実験動物代替法学会誌 *Alternatives to Animal Testing and Experimentation (AATEX)* 14(3): 940-946, 2009) は 2010 年度日本動物実験代替法学会論文賞を受賞した。

G. 引用文献

Barratt, M.D. (2000) Prediction of toxicity from chemical structure. *Cell Biol Toxicol*, **16**, 1-13.

- Carrera G.V.S.M., Gupta S. and Aires-de-Sousa J. (2009) Machine learning of chemical reactivity from databases of organic reactions. *J Comput Aided Mol Des*, **23**, 419-429.
- Cherry, N., Meyer, J.D., Adishes, A., Brooks, R., Owen-Smith, Y. and Beck, M.H. (2000) Surveillance of occupational skin disease: EPIDERM and OPRA. *Br J Dermatol*, **142**, 1128-1134.
- Coz CJL, Lepottevin JP. (2006) Dictionary of contact allergens: chemical structures, sources and references. In Frosch PJ, Menne T, Lepoittevin JP editors. *Contact Dermatitis 4th ed.* Springer-Verlag; 2006. pp943-1105, Berlin
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). List of MAK and BAT Values 2008. p129-136. Weinheim Wiley-VCH, Weinheim
- ECB (European Chemical Beuro ;<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/>) accessed on Feb 21st, 2011.
- Fedorowicz, A., Singh, H., Soderholm, S. and Demchuk, E. (2005) Structure-activity models for contact sensitization. *Chem Res Toxicol*, **18**, 954-969.
- Golla, S., Madihally, S., Robinson R.L., and Gasem K.A.M. (2009) Quantitative structure-property relationship modeling of skin sensitization: a quantitative prediction. *Toxicol in Vitro*, **23**, 454-465.
- Grindon C., Combes R., Cronin M., Roberts D.W. and Garrod J.F. (2007) An integrated decision-tree testing strategy for skin sensitization with respect to the requirements of the EU REACH Legislation. *Altern*