

整理した。LogKow と化学物質感受性の相関関係についてはすでに多くの知見があり、実践的にも QSAR (量的構造活性相関) 式が LogKow をパラメータとして開発・利用されてきている。

一方、アミノフェノールが属する 1) 芳香族アミンは、ミジンコへに高い毒性を有するなど、一般的に生理活性が高いこと、2) 同じく芳香族アミンは急性-慢性毒性比が例外的に高い化学物質が見られること (繁殖影響が著しい) の特徴を有することが知られている。さらに 3) フェノール類は、魚類の初期生活段階 (胚期、仔魚期) に濃度依存性が弱いものの致死的な影響が見られるという特徴がある。

さらに、アミノフェノールは、試験環境中で高分子化すると報告があり、このことは、ばく露濃度の高い濃度区の方が高分子化率が高くなることから毒性に関与する単分子 (場合によってはオリゴマー) の濃度が、高濃度区と低濃度区が同程度もしくは逆転することもあり得る。この事は、ばく露方式の選択にとっても重要である。具体的には流水式ばく露方式を選択した場合に高濃度の保存溶液を準備するが、この保存溶液の中で高分子化が進むことがなかったか確認する必要がある。今回入手した試験結果においては、流水式試験のすべては被験物質濃度を実測し、その実測濃度に基づいて毒性値を算出しているか、もしくは十分に低い濃度での試験であったために試験の信頼性に疑問のある試験はなかった。止水、半止水式ばく露試験をおこなった試験においても、設定濃度に基づいて毒性値を算出している場合には、常に高分子化に伴う毒性緩和が起きていないか疑問が残る。既存情報の場合にはその確認ができないため、試験結果をどのように受け入れるべきか判断が難しい。

このように、アミノフェノール類の試験結果は通常の物質に較べて試験手順による試験結果の

変動が大きいという特徴がある。その場合、試験手順が十分に吟味されており、またその詳細が記述されている試験結果だけを用いて毒性を評価することが必要である。その点では、今回は信頼性の確認の段階で多分に広めに利用できるものとして整理した。

集約した試験結果は、用いた生物種、成長段階によって異なる毒性傾向がみられている。種によるターゲット部位が異なるための違いであるのか、代謝酵素系の有無による差なのか、毒性メカニズムそのものの検討は行っていないためここでは解明できなかった。今後はそのような方向からの検討が必要である。

2.3 ジメチルアニリンの構造異性体における環境運命及び環境毒性の情報収集に関する調査

研究方法

ジメチルアニリンの構造異性体における物理化学的性状、環境運命及び環境毒性に関し、文献調査を行うとともに、データギャップの部分については、必要に応じて構造活性相関手法を用いて補完した。これらの結果を基に、SIAP、SIAR 及び IUCLID Dossier を作成した。

調査対象物質

今回の調査における対象物質を以下に示す。

CAS No. 87-59-2 2,3- Dimethylaniline

CAS No. 95-68-1 2,4- Dimethylaniline

CAS No. 95-78-3 2,5- Dimethylaniline

CAS No. 87-62-7 2,6- Dimethylaniline

CAS No. 95-64-7 3,4-Dimethylaniline

CAS No. 108-69-0 3,5-Dimethylaniline

研究結果

上記 6 物質は、3,4-ジメチルアニリンを除いて、常温で液体であり、互いに非常に近い物理化学的

性状を示していた。また、アニリンに二つのメチル基が連結すると云う、互いに類似した構造を示している。これらのことより、6物質をカテゴリーとして評価することは妥当であると考えられた。

環境運命については、いずれも難分解性かつ低濃縮性であり加水分解性も示さない。環境に放出された場合は主に土壌及び水に分布する。また、いずれの物質も環境省が実施している化学物質環境実態調査の結果があり、環境への放出は低いと考えられた。

環境毒性については、水生生物の藻類、甲殻類(オオミジンコ)及び魚類の試験結果が得られたが、2,4-ジメチルアニリンのみ藻類及び魚類の試験結果が得られず、構造活性相関手法を用いて推定を行った。ジメチルアニリン異性体 6 物質は、魚類及び藻類に比べてオオミジンコに対してより強い毒性を示した。魚類では、3,5-ジメチルアニリンを除く 5 物質は LC50 がおおよそ 100mg/L 超であったが、3,5-ジメチルアニリンは LC50 の値が 17-33.9mg/L であり他の 5 物質よりやや強い毒性を示した。オオミジンコでは、3,4-ジメチルアニリン及び 3,5-ジメチルアニリンの EC50 倍が他の物質よりも僅かに小さい値を示した。また、オオミジンコに対する NOEC は 2,6-ジメチルアニリンを除き 0.1mg/L 以下であり、強い毒性を示した。藻類では、EC50 倍は 8.59-100mg/L 超の範囲にあり、3,4-ジメチルアニリンが他の物質よりもやや強い毒性を示した。

調査により得られた結果を経済協力開発機構の高生産量既存化学物質点検プログラムにおける SIAP、SIAR 及び IUCLID Dossier としてまとめた。

研究発表

1. 論文発表

- 1) Hasegawa R, Hirata-Koizumi M, Dourson ML, Parker A, Sweeney LM, Nishikawa A, Yoshida M, Ono A, Hirose A. "Proposal of new uncertainty factor application to derive tolerable daily intake." *Regul Toxicol Pharmacol.* 58(2):237-42.(2010)
- 2) 広瀬明彦;レギュラトリーサイエンスにおけるコンピューターを用いた構造活性相関予測研究の現状と展望 国立医薬品食品衛生研究所報告, 128, 27-28 (2010)
- 3) Matsumoto M, Fujii S, Hirose A. and Ema M. (2010) Prenatal developmental toxicity of gavage or feeding doses of 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol in rats. *Reprod Toxicol*, 29, 292-297.
- 4) 江馬 眞、小林憲弘、納屋聖人、花井莊輔、中西準子 (2010) 二酸化チタンの発がん性評価、環境毒性学会誌、13, 15-26.
- 5) Ema M, Kobayashi N, Naya M, Hanai S. and Nakanishi J. (2010) Reproductive and developmental toxicity studies of manufactured nanomaterials. *Reprod Toxicol*, 30, 343-352.
- 6) Kobayashi N, Naya M, Ema M, Endoh S, Maru J, Mizuno K, Nakanishi J. (2010) Biological response and morphological assessment of individually dispersed multi-wall carbon nanotubes in the lung after intratracheal instillation in rats. *Toxicology*, 276, 143-153.
- 7) 高橋美加、松本真理子、宮地繁樹、菅野誠一郎、菅谷芳雄、平田睦子、鎌田栄一、江馬 眞、広瀬明彦 (2010)、OECD 化学物質対策の動向 (第 16 報) - 第 27 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2008 年オタワ)、化学生物総合管理学会誌, 6, 180-188.
- 8) 江馬 眞、納屋聖人、吉田喜久雄、永翁龍一 (2010) 次世代の冷媒の候補とされてい

- る 2,3,3,3-Tetrafluoroprop-1-ene (HFO-1234yf) の毒性評価、環境毒性学会誌、13 (2), 73-84.
- 9) 江馬 眞、小林憲弘、納屋聖人、花井荘輔、中西準子 (2010) 種々の暴露経路による二酸化チタンの体内分布及び毒性、環境毒性学会誌、13 (2), 85-103.
- 10) Matsumoto M, Hirose A, Ema M. (2011) Developmental toxicity of nitrophenolic herbicide dinoseb, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol. *Herbicides and Environment*, Edited by Kortekamp A, InTech, ISBN 978-953-307-476-4 <http://www.intechopen.com/articles/show/title/developmental-toxicity-of-nitrophenolic-herbicide-dinoseb-2-sec-butyl-4-6-dinitrophenol>
- 11) Hirata-Koizumi M, Fujii S, Ono A, Hirose A, Imai T, Ogawa K, Ema M. and Nishikawa A. (2011) Two-generation reproductive toxicity study of aluminium sulfate in rats. *Reprod Toxicol*, 31, 219-230.
- 12) Matsumoto M, Harada T, Shibuya T, Hamada S, Honma M, and Hirose A. ;A chemical category approach of genotoxicity studies for branched alkylphenols. *Bull, Natl. Inst. Health Sci.*, 129,68-75,(2011)
- 13) Ono, A., Takahashi, M., Hirose, A., Kamata, E., Kawamura, T., Yamazaki, T., Sato, K., Yamada, M., Fukumoto, T., Okamura, H., Mirokuji, Y. and Honma, M. ;Validation of the (Q)SAR combination approach for mutagenicity prediction of flavor chemicals. *Food Chem Toxicol* , 50,1538-1546,(2012)
- 14) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Furukawa, M., Ono, A. and Hirose, A. ;Two-generation reproductive toxicity study of aluminium sulfate in rats. *Reprod Toxicol* , 31,219-230,(2011)
- 15) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Ono, A., Hirose, A., Imai, T., Ogawa, K., Ema, M. and Nishikawa, A. ;Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorooctadecanoic acid in rats. *J Toxicol Sci* , 37,63-79,(2012)
- 16) 高橋 美加, 松本 真理子, 宮地 繁樹, 菅野 誠一郎, 菅谷 芳雄, 平田 睦子, 小野 敦, 鎌田 栄一, 広瀬 明彦 ;OECD 化学物質対策の動向 (第 17 報) - 第 28 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2009 年パリ) 化学生物総合管理学会誌, 7,47-54,(2011)
- 17) Heddle JA, Fenech M, Hayashi M, Macgregor JT (2011), Reflections on the development of micronucleus assays, *Mutagenesis*, 26(1), 3-10.
- 18) Morita, T., JT MacGregor and M. Hayashi (2011), Micronucleus assays in redent tissues other than bone marrow, *Mutagenesis*, 26(1), 223-230.
- 19) Dertinger, SD, DK Torous, M Hayashi and JT MacGregor (2011), Flow cytometric scoring of micronucleated erythrocytes: An efficient platform for assessing in vivo cytogenetic damage; *Mutagenesis*, 26(1), 139-145.
- 20) Bolognesi, C and M Hayashi (2011), Micronucleus assay in aquatic animals, *Mutagenesis*, 26(1), 205-213.
- 21) Kirkland, D.J., Hayashi, M., Jacobson-Kram, D., Kasper, P., Gollapudi, B., Mueller, L. and Uno, Y.(2011), Summary of major conclusions from the 5th IWGT, Basel, Switzerland, 17-19 August 2009, *Mutat. Res.*, 723, 73-76.
- 22) Aardema, MJ, S Galloway, E Zeiger, MC Cimino and M Hayashi (2011), Guidance for understanding solubility as a limiting factor for selecting the upper test concentration in the

- OECD In Vitro Micronucleus Assay Test Guideline No. 487, *Mutat. Res.*, 722, 89-90.
- 23) Thybaud, V, JT MacGregor, L Müller, R Crebelli, K Dearfield, G Douglas, PB Farmer, E Gocke, M Hayashi, DP Lovell, WK Lutz, D Marzin, M Moore, T Nohmi, DH Phillips, J Van Benthemo (2011), Strategies in case of positive in vivo results in genotoxicity testing, *Mutat. Res.*, 723, 121-128.
- 24) Hayashi, M, K Dearfield, P Kasper, D Lovell, H-J Martus and V Thybaud (2011), Compilation and use of genetic toxicity historical control data, *Mutat. Res.*, 723, 87-90.
- 25) Honma, M and M Hayashi (2011), Comparison of in vitro micronucleus and gene mutation assay results for p53-competent versus p-53-deficient human lymphoblastoid cells, *Environ. Mol. Mutagen.*, 52, 373-384.
- 26) Makenyan, O. G., P. I. Petkov, S.V. Kotov, S. Stoeva, V. B. Kamenska, S. D. Dimitrov, M. Honma, M. Hayashi, R. Benigni, E. M. Donner and G. Patlewicz (2011), Investigating the Relationship between in Vitro-in Vivo Genotoxicity : Derivation of Mechanistic QSAR Models for in Vivo Liver Genotoxicity and in Vivo Bone Marrow Micronucleus Formation Which Encompass Metabolism, *Chem. Res. Toxicol.* (in press)
- 27) Hayashi, M., Y. Sakuratani (2011), Development of an Evaluation of Evaluation Support System for Estimating Repeated-Dose Toxicity of Chemicals Based on Chemical, *New Horizons in Predictive Toxicology*. Wilson, A.G.E., Royal Society of Chemistry: Chap.3.
- 28) Hayashi, M., Y. Sakuratani (2011), Report of the Workshop on Using Mechanistic Information in Forming Chemical Categories: Annex 8 , OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No.138
- 29) Hartung, T., B.J. Blaauboer, S. Bosgra, E. Carney, J. Coenen, R.B. Conolly, E. Corsini, S. Green, E.M. Faustman, A. Gaspari, M. Hayashi, A.W. Hayes, J.G. Hengstler, L.E. Knudsen, T.B. Knudsen, J.M. McKim, W. Pfaller and E.L. Roggen (2011), An Expert Consortium Review of the EC-commissioned Report “Alternative (Non-Animal) Methods for Cosmetics Testing: Current Status and Future Prospects-2010”- a t4 Report, *Galley Proofs, ALTEX*. 28, 3/11
- 30) Hayashi, M. (2011), A challenge to the ultimate 3R's, -In silico approach to evaluate chemical safety for human-, *ALTEX*, 29, special issue (in press)
- 31) Kobayashi, K., Y. Sakuratani, T. Abe, K. Yamazaki, S. Nishikawa, J. Yamada, A. Hirose, E. Kamata and M. Hayashi (2011), Influence of coefficient of variation in determining significant of quantitative value obtained from 28-day repeated-dose toxicity studies in rats, *J. Toxicol. Sci.*, 36(1), 63-71.
- 32) 林 真、櫻谷祐企 (2011) , 化学物質の安全性 —in silico 評価への挑戦、構造活性フォーラム 2011, pp.29-42
2. 学会発表
- 1) Ono A, Hirose A, Hirata-Koizumi M, Matsumoto K, Kawabata M, Yajima K, Matsuyama T, Kamata E, Ema M. (2010) Gender-related differences of the hepatic enzyme activities in relation to the toxicity of benzotriazole ultraviolet absorber in rats. The

- 12th International Congress of Toxicology, July 20-22, Barcelona, Spain
- 2) Ema M, Naya M, Yoshida K, Nagaosa R. (2010) Developmental toxicity of hydrofluorocarbons used as refrigerants. The 12th International Congress of Toxicology, July 20-22, Barcelona, Spain
 - 3) Hirata-Koizumi M, Fujii S, Ono A, Hirose A, Hasegawa R, Imai T, Ogawa K, Ema M, Nishikawa A. (2011) Two-generation reproductive toxicity study of aluminium sulfate administered via drinking water to rats. The 50th Annual Meeting of the Society of Toxicology. March 6-10, 2011, Washington, DC, USA
 - 4) Naya M, Kobayashi N, Endoh S, Mizuno K, Nagaosa R, Ema M, Nakanishi J. (2011) Pulmonary toxicity of crystalline silica after a single intratracheal instillation in rats. The 50th Annual Meeting of the Society of Toxicology. March 6-10, 2011, Washington, DC, USA
 - 5) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Furukawa, M., Kawamura, T., Takahashi, M., Matsumoto, M., Kato, H., Ono, A. and Hirose, A. , A combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening study of perfluorododecanoic acid in rats. *Society of Toxicology 51th Annual meeting*, San Francisco, USA.2012
 - 6) Hirose, A., Ono, A., Hirata-Koizumi, M., Serizawa, H., Sunaga, M., Furukawa, M., Kamata, E. and Nishimura, T. , Repeated dose 28-day oral toxicity studies of single- and multi-walled carbon nanotubes in rats. *The 47th EUROTOX2011*, France, Paris.2011
 - 7) Ono, A., Takahashi, M., Kawamura, T., Kamata, E., Hirata-Koizumi, M. and Hirose, A. , An evaluation of structure-based toxicity classification and TTC approach for assessing safety of existing industrial chemicals with JECDB. *The 47th EUROTOX2011*, France, Paris.2011
 - 8) Hirose, A., Fujii, S., Furukawa, M., Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Yamamoto, M., Usami, M., Ono, A. and Umemura, T. , A combined repeated dose and reproductive/ developmental toxicity screening study of perfluorooctadecanoic acid in rats. *The 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*, Belgium, Brussels.2011
 - 9) Naya, M., N. Kobayashi, M. Ema, S. Kasamoto, M. Fukumuro, S. Takami, M. Nakajima, M. Hayashi and J. Nakanishi “In vivo genotoxicity study of nanosized titanium dioxide particles using comet assay following intratracheal instillation in rats” *.Society of Toxicology 50th Annual meeting*, San Francisco DC, USA.2012
 - 10) Aoshima, T., Y. Ueda, M. Tsuboi, Y. Ota, M. Makita, M. Nakajima and M. Hayashi “Orally-dosed polyethylene glycol 400 induced gastric mucosal changes in rats” *Society of Toxicology 50th Annual meeting*, San Francisco DC, USA.2012
 - 11) Tateno, C., Y. Ishida, M. Kakuni, M. Fukumuro, J. Tanaka, S. Masumori, M. Nakajima and M. Hayashi “Comet assay and micronucleus test using chimeric mice with humanized liver(PXB MICE)” *Society of Toxicology 50th Annual meeting*, San Francisco DC, USA.2012

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

総合研究報告書（H21-23）

化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相関((Q)SAR)および
カテゴリーアプローチの実用化に関する研究（H21-化学-一般-002）

構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究

研究分担者 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究官
研究協力者 スイロイ ホセ (株)富士通九州システムエンジニアリング

要旨

本研究では、これまでにスクリーニング毒性評価のうち、特に反復投与毒性試験結果をもとに、化学構造から *in vivo* 毒性を推定評価する手法の信頼性について検討を進めてきた。肝障害予測については、AMES 試験予測において有用性が示された MultiCase を用いて新たに予測モデル構築を行うとともに、ADMEWORKS を用いた肝毒性予測モデルについて、学習データおよびモデル化パラメータ見直しによる精度向上の検討を実施した。さらに、肝毒性予測モデルのうち、構造記述子による判別分析型の ADMEworks を用いて、偽陰性判定される化合物から特徴部分構造を抽出してモデルの再構築を行うことで全体の一致率 76.8% のモデル構築に成功したことから、特徴部分構造と構造から計算可能な記述子の両社を組み合わせることで予測精度向上が可能であることが示された。腎毒性についても同様に構造記述子に加え化合物の特徴部分構造を組み合わせ定性的モデルの検討に併せて定量的モデルについての検討を行った結果、定量モデルでは、外部検証の結果から実用的な評価モデルを得ることは出来なかったが、定性モデルでは、外部検証における特異度 75% を得ることに成功した。一方、*in vivo* 反復毒性評価における *in silico* 評価のため OECD で開発が進められている OECD QSAR ツールボックスの開発動向について調査するとともに、OECD QSAR ツールボックスに登録されている、Cramer の毒性分類モデルについて既存点検試験結果をもとに毒性分類規則の拡張について検討を行い、分離精度向上に成功した。これまでの結果から、反復毒性に関しては毒性の種類を判定する定性的モデルと、毒性の強さを判定する（半）定量的モデルを組み合わせることで実用的な毒性推定が可能となると考察された。

研究目的

本研究では、反復投与毒性に関して有用性が期待される手法による評価モデル構築を実施して、手法間の比較を行うとともに

複数の手法の組み合わせによる信頼性向上や予測精度向上の検討を進めるとともに、得られたモデルの化学物質安全評価における実用化について検討して、*in vivo* 反復投

与による肝毒性に関しては、DEREK による毒性アラートの抽出及び MultiCase、ADMEworks による予測モデルの構築を実施したが、あまり精度の良い評価結果が得られなかったため、3 種の予測手法のうち最大で 70%を超える一致率のモデルの構築に成功した ADMEworks を用いて、偽陰性判定される化合物から特徴部分構造を抽出してモデルの再構築を行うことによる精度向上について検討を行った。また、腎毒性について肝毒性と同様、特徴部分構造と構造記述子の組合せによる定性的 (2 値) モデルの精度向上について検討を行うとともに、毒性発現用量を定量的に評価するための定量化モデルの構築を実施して、それぞれ得られたモデルについて安全性評価における適用について検証した。経済開発協力機構 (OECD) では、加盟各国における化学物質規制の加速化・効率化のため既存情報の活用と *in silico* ツールの利用の推進に向けて、加盟各国から提供されたガイドライン試験結果や *in silico* ツールを統合した、OECD QSAR Application Toolbox (OECD ツールボックス) の構築を進めていることから、*in vivo* 毒性評価に関連するツールボックス開発動向並びに *in silico* ツールの化学物質安全性評価への適用の国際動向について調査を行うと主に OECD ツールボックスを利用して実用性や有用性について検証を行うことを目的として OECD QSAR toolbox に登録されている Cramer の毒性分類モデルについて、既存点検試験結果をもとに毒性分類規則の信頼性について検証を行うとともに、構造規則拡張による分類精度向上について検討を行った。

研究方法

DEREK による肝毒性アラートの構築:

Lhasa 社と共同により約 800 化合物の構造情報と化審法における反復毒性試験成績をもとに、(i)化合物構造クラスタリング、(ii)視覚的解析、(iii)関連する毒性に対しての DEREK の既存アラートとの比較により新規肝毒性アラートの構築を行った。

ADMEWorks による肝毒性判別モデルの構築:

化審法で実施された 28 日間試験報告書等からモデル構築用にデータ整理が終了した 794 物質から構造の重複や不正な 168 物質を除外した 626 物質をランダムに学習セット:検証セット=8:2 に分割し、モデルビルダーを用いて肝毒性予測モデルを構築し検証を行った。

MultiCASE による肝毒性予測モデルの構築:

新規化学物質 1231 個のデータを学習セットとして 28 日間試験における肝毒性 LOAEL 値をターゲットとしてモデル構築を行い、既存化学物質 251 個のデータを検証セットとして予測を行った。

特徴部分構造と構造記述子の組合せによる予測モデルの信頼性向上に関する検討:

化審法で実施された 28 日間試験成績における肝毒性・腎毒性の LOAEL 値をもとに、構造記述子と特徴部分構造を組み合わせによる、定性的評価を行う判別分析モデルを構築して予測精度及び実用性について検討を行った。また、腎毒性については定量的評価を行うための重相関回帰モデルを構築

して、同様に予測精度及び実用性について検討を行った。

毒性強度のクラス分類手法の検証及び構造規則の追加による拡張：

OECD QSAR Toolbox にプロファイラーとして搭載されている in vivo 反復投与毒性の強さ（無毒性量：NOAEL）の分類を行う Cramer の毒性分類を用いて既存点検試験実施済み化合物の分類を実施して有用性について検証を行うとともに、得られた分類結果が妥当でない化学物質の共通構造から分類規則の拡張を行った。

化学物質安全性評価における構造活性相関利用の海外動向：

OECD QSAR Toolbox 管理会議及び OECD 化学物質カテゴリー構築のためのメカニズム情報利用ワークショップ等において、米国 EPA 及び欧州加盟各国代表と各国における化学物質安全性評価における構造活性相関の実用化について情報交換を行った。

研究結果

DEREK による肝毒性アラートの構築

新たに 34 個の新規肝毒性 Rapid Prototype アラートの構築に成功した。共同研究を始めた当初、DEREK には 40 種の肝毒性アラートが搭載されていたが、新規アラートの追加により、アラート構築に用いた学習セット（化審法データ）に対する予測精度は、感度が 23% から 61% に上昇し、全体の一致率も 61% から 80% に上昇した。しかし、独立した外部データセットによる検証の結果は、感度 31%、一致率 58% であった。

ADMEWorks による肝毒性判別モデルの構築

量子力学的パラメータを含む計 1631 パラメータを発生させ、ADA 等によりモデル作成に最適なパラメータの組み合わせを検証し、肝毒性予測に有効な 40 パラメータを選定した後、SVM、KNN および ADA の 3 つの手法によりモデル構築を行った。学習セットではいずれの手法でも 80% 以上の予測精度が得られたが、検証セットに対する予測では、最も精度のよかった ADA モデルで、一死率 70.3% であった。

MultiCASE による肝毒性予測モデルの構築

既存化学物質 251 個のデータを検証セットとして予測を行った結果、ほとんどの化合物が陰性と予測される結果となったことから、新規化学物質 1231 個のみを分子量等を基準として学習セット、検証セットに分割し、さらに陰性陽性の判定基準数パターンについてモデル構築を試みた。しかし、あまり一致率の高い結果を得ることは出来ず、一致率は最大で 62% であった。

特徴部分構造と構造記述子の組合せによる予測モデルの信頼性向上に関する検討：

構造記述子による判別分析型の ADMEworks モデルについて、化合物部分構造を加味した改良の結果、肝毒性予測モデルについては、偽陰性判定される化合物から特徴部分構造を抽出してモデルの再構築を行うことで全体の一致率 76.8% のモデル構築に成功した。

腎毒性評価モデルの構築においては、定性モデルにおいては、外部検証における特異

度 75%を得ることに成功した。一方、定量モデルでは、構築したモデルは最大で予測精度 50%程度であり実用的な結果を得ることは出来なかった。

毒性強度のクラス分類手法の検証及び構造規則の追加による拡張：

OECD QSAR ツールボックスのプロファイラーとして搭載されている Cramer の毒性分類により既存化学物質安全性点検化合物の分類を実施した結果、毒性の強さ (NOEL) の分離はあまり良くないことが示された。Cramer の毒性分類モデルの拡張においては、既存化学物質について分類されたクラスが毒性試験結果に対して妥当ではない物質が多く含まれるサブクラスに分類された化学物質における共通構造の解析により、構造ルールの拡張を行い無毒性量の平均値の比は、2.97 倍から 5.98 倍に拡大し分離精度向上に成功した。

化学物質安全性評価における構造活性相関利用の海外動向：

OECD では、毒性データベースと各種の予測ツールを統合した OECD QSAR ツールボックスの開発を進めており、in vivo 反復毒性に関しては、毒性メカニズムごとに構造推定を行う AOP 型のアラートやモデルの整備を進めることによる毒性評価の検討が進められている。しかし、ヒト健康影響分野における構造活性相関やカテゴリーアプローチの利用に関しては、各国ともまだ検討段階であり、今後とも国際協調のもとでの研究推進、情報交換が必要である。

考察

Ames 試験予測における有用性が示されている 3 種の毒性予測システムを用いて、in vivo 肝毒性予測の検討を実施したが、いずれのシステムにおいても構築されたアラートもしくは評価モデルの予測精度は、最大で 70%程度であった。

そこで、予測システムの一つである ADMEworks を用いて、偽陰性判定となった化合物に共通する部分構造を抽出し毒性判定への寄与が高い部分構造を構造記述子と組み合わせることでモデルの再構築を行うことで、一致率 76.8%と若干ではあるが精度向上が得られたことから、分子の物理化学的特性値である構造記述子と毒性化合物に特異的な部分構造の評価を組み合わせることで予測精度向上が得られることが示された。一方、腎毒性に関しても部分構造と構造記述子を組み合わせることにより最終的に学習セットにおける一致率 93%のモデルを得た。しかし、外部検証による一致率は 61%の留まり、昨年度構築した肝毒性モデルに比べ予測精度は低かった。また、定量モデルの構築では、実用的な精度のモデルを構築することは出来なかった。

予測精度があまり向上しない原因として、本研究における検討では化学構造の選別を行っていないため予測適応外の構造が含まれている可能性や学習セットと検証セットに含まれる化学構造の偏りが考えられる。また、毒性のフェノタイプやメカニズムごとに分類して予測を行うほうが精度の高い結果が得られる可能性がある。しかし、反復投与毒性試験は、費用も期間もかかることから評価モデル構築に使用可能な信頼出来る試験結果が得られている化合物には限界があり、毒性の種類によっては陽性化合

物数が少ないことが解析のネックとなると考えられる。

一方、既存化学物質の毒性試験における無毒性量と化学構造の解析から Cramer の毒性分類モデルの分離精度向上に成功した。構造特異性の少ない毒性については、毒性の細分類を行わずに評価を行うほうが効率的であると考えられることから実施の評価においては、適用可能な化学構造や毒性の種類は限定されるが、精度の高い予測モデルを構築し、これまでに構築したモデルと組み合わせて評価することにより、*in silico* 毒性推定の信頼性を向上し、実際のリスク評価に適用可能な評価スキームを構築可能であると考察された。

加盟各国における化学物質安全性評価における構造活性相関やカテゴリーアプローチの利用状況について情報収集を行った結果、カテゴリーアプローチに関しては、OECD SIAM 等で実際の評価に一部利用されつつあるが、構造活性相関の利用は、物理化学的性状や環境有害性において限定的ではあるが利用されているものの、ヒト健康影響分野での利用は、各国とも検討段階であり、特に *in vivo* 反復毒性に関しては、現時点では利用可能な手法が無いとの認識であった。これに対し OECD では、反復投与毒性に関しては、毒性予測のための AOP（毒性パスウェイ）の構築・整備について活発な議論がされており、引き続き情報収集及び検討の必要があると考察された。

結論

本研究では、構築された評価モデルの適用範囲をなるべく広げるため化学構造の細分化や毒性の種類を細分化を行わない評価

モデルの検討を進めた。*in vivo* での毒性発現は多様なメカニズムによるため、予測精度の向上のためには、化学構造や毒性の種類を絞り込む必要があるとも考えられる。*in vivo* での多様なメカニズムによる毒性評価のため OECD では、毒性の分子メカニズムにおける AOP を明確化して、その初期分子反応について構造アラートを構築することで生体における毒性のポテンシャルを評価する手法の開発を進めている。しかし、そのようなモデルでは精度は高いものの適用出来る化合物構造が非常に限定される可能性がある。

本研究の結果は毒性や構造の細分化を行わない状態においても毒性によっては 75%以上の予測が可能であることを示している。さらに、本研究で検討した評価手法はいずれも、広い範囲の化合物に適用可能であり、今後は AOP のような特定の毒性や構造に特化して信頼性の高い評価が可能なモデルの構築を進め、構築されたモデルと組み合わせて利用することで *in silico* データからのエキスパートジャッジメントにおける、有用な手段と成り得るであろう。

研究発表

1. 論文発表
 - 1) Hasegawa R, Hirata-Koizumi M, Dourson ML, Parker A, Sweeney LM, Nishikawa A, Yoshida M, Ono A, Hirose A. "Proposal of new uncertainty factor application to derive tolerable daily intake." Regul Toxicol Pharmacol. 58(2):237-42.(2010)
 - 2) 小野 敦 ; *in vivo* 反復投与毒性の構造活性相関による予測評価の展望 国立医薬品食品衛生研究所報告, 128, 44-49

- (2010)
- 3) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Furukawa, M., Ono, A. and Hirose, A. ;Two-generation reproductive toxicity study of aluminium sulfate in rats. *Reprod Toxicol* , 31,219-230,(2011)
 - 4) 高橋 美加, 松本 真理子, 宮地 繁樹, 菅野 誠一郎, 菅谷 芳雄, 平田 睦子, 小野 敦, 鎌田 栄一, 広瀬 明彦 ;OECD 化学物質対策の動向 (第 17 報) - 第 28 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2009 年パリ) 化学生物総合管理学会誌, 7,47-54,(2011)
 - 5) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Ono, A., Hirose, A., Imai, T., Ogawa, K., Ema, M. and Nishikawa, A. ;Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorooctadecanoic acid in rats. *J Toxicol Sci* , 37,63-79,(2012)
 - 6) Ono, A., Takahashi, M., Hirose, A., Kamata, E., Kawamura, T., Yamazaki, T., Sato, K., Yamada, M., Fukumoto, T., Okamura, H., Mirokuji, Y. and Honma, M. ;Validation of the (Q)SAR combination approach for mutagenicity prediction of flavor chemicals. *Food Chem Toxicol* , 50,1538-1546,(2012)
2. 学会発表
- 1) 小野 敦 ”in vitro 内分泌かく乱試験法の OECD ガイドライン受け入れ (パネルディスカッション - In vitro トキシコロジー試験法の行政的な受け入れ) ” 第 37 回 日本トキシコロジー学会学術年会 (沖縄) 2010.6
 - 2) A. Ono, A. Hirose, M. Hirata-Koizumi, K. Matsuno*1, M. Kawabata, K. Yajima, T. Matsuyama, E. Kamata, M. Ema. "Gender-related differences of the hepatic enzyme activities in relation to the toxicity of benzotriazole ultraviolet absorber in rats" XII International congress of toxicology (Barcelona. Spain) 2010.7
 - 3) F.Deal, W.Casey, P.Ceger, D.Allen, C.Yang, M.Nakamura, H.Kojima, A.Ono, H.Yoon, S.Han, W.Stokes "International Validation Study of an in vitro Cell Proliferation Test Method for Screening Potential Estrogenic Agonists and Antagonists in MCF - 7 cell" 50th Annual Meeting of Society of Toxicology (Washington DC, USA) 2011.3
 - 4) Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Furukawa, M., Kawamura, T., Takahashi, M., Matsumoto, M., Kato, H., Ono, A. and Hirose, A. ; A combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening study of perfluorododecanoic acid in rats. *Society of Toxicology 51th Annual meeting*, Sun Francisco, USA.2012
 - 5) Hirose, A., Ono, A., Hirata-Koizumi, M., Serizawa, H., Sunaga, M., Furukawa, M., Kamata, E. and Nishimura, T. , .Repeated dose 28-day oral toxicity studies of single- and multi-walled carbon nanotubes in rats. *The 47th.EUROTOX2011*, France, Paris.2011
 - 6) Ono, A., Takahashi, M., Kawamura, T., Kamata, E., Hirata-Koizumi, M. and Hirose, A. , An evaluation of structure-based toxicity classification and

TTC approach for assessing safety of
existing industrial chemicals with JECDB.
The 47th EUROTOX2011, France,
Paris.2011

- 7) Hirose, A., Fujii, S., Furukawa, M.,
Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M.,
Yamamoto, M., Usami, M., Ono, A. and
Umemura, T..A combined repeated dose
and reproductive/developmental toxicity
screening study of perfluorooctadecanoic
acid in rats. *The 31th International
Symposium on Halogenated Persistent
Organic Pollutants*, Belgium,
Brussels.2011

知的所有権の取得状況

(該当なし)

化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相関((Q)SAR)およびカテゴリーアプローチ
の実用化に関する研究 (H21-化学-一般-002)

平成 21~23 年度分担研究報告書

類似化合物のカテゴリー化による毒性評価に関する研究

研究分担者 吉田 緑

国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部第二室 室長

研究要旨

既存化学物質 234 試験、新規化学物質(1989 年~2003 年)776 試験のラットを用いた短期反復投与毒性試験で認められた、投与に関連した病理組織学的所見を抜粋し、シソーラスを構築した。投与に関連して発現した病理組織学的所見は、既存化学物質では 493 所見、新規化学物質では 1622 所見(平成 22 年度)、1364 所見(平成 23 年度)であった。これらを 12 の臓器系(全身を含むと 13 系統)に分け、さらにこれらを類似病変ごとに既存化学物質では 184、新規化学物質では 392(平成 22 年度)および 714(平成 23 年度)のシソーラスに分類することができた。投与による病理組織学的所見が最も観察された臓器系は消化器系であり、泌尿器がこれに続いた。臓器としては、肝臓および腎臓の所見が多く、胃・脾臓と続いた。投与による所見が多かった臓器およびその種類は、既存化学物質および新規化学物質ともほぼ同様であった。肝臓・腎臓についてはこれらの臓器が代謝排泄の主要臓器であること、胃については投与物質が刺激性を有することを反映している結果と考えられた。

序論

反復投与毒性を指標にした構造活性相関モデルに関する研究および反復投与毒性予測モデル構築のための毒性情報の評価と数値化に関する研究として、これまでに構築した反復投与による肝毒性・腎毒性に関する予測モデルの予測性の向上に努めることが必要である。そのため、それぞれの毒性指標としてモデル構築に用いるエンドポイントやエンドポイントの数値化の手法について再検討を行い、その結果をもとに毒性情報を精査し、予測モデル構築にむけた毒性情報の収集を行う。昨年度は既存化学物質の病理学的所見の分類およびシソーラス

の構築を行い、今年度は、昨年度に引き続き新規化学物質のラットを用いた短期反復投与毒性試験より得られた病理組織学的所見を抜粋し、臓器ごとのシソーラスを構築し、解析を行うことを目的とした。ラットを用いた短期反復投与毒性試験として平成 21 年度は既存化学物質 234 試験、平成 22 年度は 386 試験、平成 23 年度は新規化学物質(1997 年~2003 年)390 試験について、投与に関連した病理組織学的所見についてシソーラスを構築して、その結果を解析した。

方法

1. シソーラスの構築および解析

1) 解析対象試験

- 平成 21 年度 既存化学物質(1991 年から 2004 年。公表されたもの)
- 平成 22 年度 新規化学物質(1997 年から 2003 年 386 試験)
- 平成 23 年度 新規化学物質(1989 年から 1997 年 390 試験)

2) 解析方法

既存化学物質、新規化学物質ともに投与による病理組織学的所見が認められ物質の短期反復投与毒性試験より得られた全ての病理組織学的所見について、臓器系毎、臓器ごとに分類し、その後類似病変ごとに分類してのシソーラスを構築した。

2. 小葉中心性肝細胞肥大の意義に関する解析(新規化学物質 38 試験 平成 22 年度のみ)

肝臓の小葉中心性肝細胞肥大については、肝重量の増加のみ伴っているものと、血液生化学検査のうち肝機能検査値(ALT、ビリルビン、GGT、コレステロール)の増加や病理組織学的検査において肝細胞壊死、肝細胞脂肪化、炎症細胞浸潤等肝毒性に関連する所見を伴ったものに分けて解析した。

結果

1. シソーラスの構築および解析

1) 平成 21 年度 既存化学物質

病理組織学所見をまず消化器系、肝臓、内分泌系、神経性、リンパ系、造血器系、循環器系、泌尿器系、生殖器系、呼吸器系、感覚器系、皮膚・骨格系の 12 系統に分類した。493 の病理組織学的所見が観察され、これらを 184 のシソーラスに分類された(表 1)。

化合物投与によって病理組織学的所見が最も多く観察される臓器は、腎臓、肝臓、胃であり、脾臓および精巣と続いた。最も多かった所見順に肝臓小葉中心性肝細胞肥大、腎臓好塩基性尿細管、脾臓褐色色素沈着、腎臓硝子滴沈着、脾臓髓外造血、胸腺萎縮、腎臓好酸性小体、肝細胞脂肪化/空胞化、腎臓尿細管空胞化、腎臓尿細管拡張、前胃粘膜過形成であり、肝臓小葉中心性肝細胞肥大は他の約 2 倍と圧倒的に高い数字を示した。また神経、眼球などにも投与に関連した所見が認められた。

2) 平成 22 年度 新規化学物質(1997～2003 年)

386 試験より昨年同様、投与に関連した 1622 の病理組織学的所見が認められ、12 系統の臓器系、339 種類のシソーラスにまとめることができた(表 2)。化合物投与により高い頻度の所見が認められた臓器は、肝臓、腎臓、胃であった。肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が 157 化合物に観察され、検索した化学物質の約半数近くで認められた。また肝細胞空胞化(脂肪化を含む)が 50 近くの化合物で観察された。腎臓では、好酸性小体および硝子滴沈着がとも約 50 の化合物で観察され、好塩基性尿細管(再生尿細管)も 40 を越す化合物で認められた。前胃における扁平上皮過形成も 50 を越す化合物で観察された。その他、20 以上の化合物に観察された所見として、胃境界縁扁平上皮過形成、腺胃粘膜壊死、肝細胞肥大、肝細胞壊死、精巣精上皮の変性、脾臓の褐色色素沈着、脾臓の髓外造血亢進(表 1)。

3) 平成 23 年度 新規化学物質(1989～1997 年)

今回使用した 390 試験において、投与の影響として記載された病理組織学所見 1463 を、12 系統+全身の 13 系統に分類し、さらに類似用語を 714 に分類してシソーラスを構築した。これらはさらに 374 の主な病理用語に細分類した(表 3)。臓器別に分類すると、化合物投与により高い頻度で所見が認められたのは、平成 22 年度と同様肝臓および腎臓であった。所見としては、肝肥大が最も多く、肝細胞空胞化(脂肪化含む)、壊死であった。腎臓では尿細管の再生を示す好塩基性尿細管、尿細管内好酸性小体および尿細管硝子滴沈着が多く認められた。肝腎に続いて、胃(前胃、腺胃、胃を合計)、脾臓に所見が多く、前胃はびらん、潰瘍、炎症、浮腫、角化亢進、扁平上皮過形成等の所見が、腺胃では壊死性の所見が多かった。脾臓では髓外造血および褐色色素沈着が多く認められた。生殖器系では精巣の所見が主で、精細管萎縮、精子形成低下や精細管変性などであった。また低頻度ながら特異的なあるいは、重篤な毒性を示す所見も認められた。

2. 小葉中心性肝細胞肥大の意義に関する解析(新規化学物質 38 試験 平成 22 年度のみ)

肝臓における小葉中心性肝細胞肥大は最も頻度の高い所見であったが、このうち、42 化合物については、肝重量増加を除き、肝毒性を示唆するその他の所見は認められなかった。

考察

1. シソーラスの構築および解析

ラットを用いた短期投与毒性試験の結果では、既存化学物質および新規化学物質と

もにシソーラス構築では、化学物質の違いはあっても、ほぼ同様の解析結果であった。すなわち、投与により多くの種類の病理組織学的所見が観察された臓器は、肝臓、腎臓、胃であった。肝臓では、肝細胞肥大、肝細胞空胞化が多く代謝に関わる組織学的変化であった。腎臓の好酸性・硝子滴沈着の高い頻度についても、これらの臓器が代謝・排泄の主要臓器であることを反映していると考えられた。胃に認められた変化は、投与物質の刺激性を示唆する所見が多く、強制経口投与で増強している可能性も示唆された。脾臓の所見の多くは貧血による二次的影響を示すものが多かった。精巣に認められた所見は精子形成障害、すなわち精巣毒性の可能性を示すものであった。しかし評価にあたり注意すべき点として、供試動物の週齢が精子形成期であることから投与による顕著な体重減少によって精子形成が二次的に正常に発育しない場合もあることから、精巣毒性と判定するには、高い専門性と注意深いハザード評価が必要であると考えられた。

2. 小葉中心性肝細胞肥大の意義に関する解析(新規化学物質 38 試験 平成 22 年度のみ)

今回検索した試験のうち肝障害を伴わない小葉中心性肝細胞肥大については、毒性所見ではなく薬物代謝酵素誘導による適応性変化である可能性が高いと考えられた。

結論

ラットを用いた短期反復投与毒性試験による既存化学物質の 234 試験、新規化学物質(1989 年~2003 年)の 776 試験のにて認められた投与に関連した病理組織学的所見を抜

粹し、シソーラスを構築した。投与に関連して発現した病理組織学的所見は、既存化学物質では 493 所見、新規化学物質では 1622 所見(平成 22 年度)および 1364 所見(平成 23 年度)であった。これらを 12 の臓器系(全身入れると 13 系統)に分け、さらに類似病変ごとに既存化学物質では 184、新規化学物質では 3392(平成 22 年度)714(平成 23 年度)のシソーラスに分類することができた。投与による病理組織学的所見が最も観察された臓器系は消化器系であり、泌尿器がこれに続いた。臓器としては、肝臓および腎臓の所見が多く、胃・脾臓と続いた。投与による所見が多かった臓器およびその種類は、既存化学物質および新規化学物質ともほぼ同様であった。肝臓・腎臓についてはこれらの臓器が代謝排泄の主要臓器であること、胃については投与物質が刺激性を有することを反映している結果と考えられた。

健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

①吉田緑 ②フタル酸エステル類 ③食品安全ハンドブック編集委員会編④食品安全ハンドブック ⑤丸善 ⑥東京 ⑦2010 ⑧pp.145-147.

2) 雑誌

①Inoue K, Yoshida M, Takahashi M, Fujimoto H, Shibutani M, Hirose M, Nishikawa A.

②Carcinogenic potential of alizarin and rubiadin, components of madder color, in a rat medium-term multi-organ bioassay. ③Cancer Sci.④100 ⑤2261-2267⑥2009

①Takahashi M, Yoshida M, Inoue K, Morikawa T, Nishikawa A.

② A ninety-day toxicity study of semicarbazide hydrochloride in Wistar Hannover GALAS rats.

③Food Chem Toxicol. ④47(10) ⑤2490-8. ⑥2009

①Yoshida M, Sanbuissyo A, Hisada S, Takahashi M, Ohno Y, Nishikawa A.

②Morphological characterization of the ovary under normal cycling in rats and its viewpoints of ovarian toxicity detection.

③J Toxicol Sci. ④34 Suppl 1 ⑤SP189-97 ⑥2009.

①Yoshida M, Watanabe G, Suzuki T, Inoue K, Takahashi M, Maekawa A, Taya K, Nishikawa A.

② Long-term treatment with bromocriptine inhibits endometrial adenocarcinoma development in rats.

③ J Reprod Dev. ④ ;55(2) ⑤ 105-9 ⑥ 2009 .

①Takahashi M, Inoue K, Yoshida M, Morikawa T, Shibutani M, Nishikawa A.

② Lack of chronic toxicity or carcinogenicity of dietary N-acetylglucosamine in F344 rats.

- ③Food Chem Toxicol. 2009; ④47(2): ⑤ 462-71.
- ①Inoue K, Yoshida M, Takahashi M, Shibutani M, Takagi H, Hirose M, Nishikawa A.
- ②Induction of kidney and liver cancers by the natural food additive madder color in a two-year rat carcinogenicity study.
- ③Food Chem Toxicol. ④47(1) ⑤184-91 ⑥ 2009.
- ①Sato I, Kawamoto K, Nishikawa Y, Tsuda S, Yoshida M, Yaegashi K, Saito N, Liu W, Jin Y.
- ② Neurotoxicity of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in rats and mice after single oral exposure.
- ③J Toxicol Sci.④34(5) ⑤569-74⑥2009 .
- ①Takahashi M, Yoshida M, Inoue K, Morikawa T, Nishikawa A.
- ② Age-related susceptibility to induction of osteochondral and vascular lesions by semicarbazide hydrochloride in rats. ③ Toxicol Pathol. ④ 38 ⑤ 598-605 ⑥ 2010
- ①Yahia D, El-Nasser MA, Abedel-Latif M, Tsukuba C, Yoshida M, Sato I, Tsuda S.
- ② Effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) exposure to pregnant mice on reproduction.
- ③J Toxicol Sci. ④35 ⑤ 527-33 ⑥ 2010.
- ①Kawanoto K, Sato I, Yoshida M, Tsuda S
- ② Air purifiers that diffuse reactive oxygen species potentially cause DNA damage in the lung.
- ③J Toxicol Sci ④35 ⑤ 929-933⑥ 2010.
- ①Kawanoto K, Sato I, Tsuda S, Yoshida M, Yaegashi K, Saito N, Liu W, Jin Y.
- ②Ultrasonic-induced tonic convulsion in rats after subchronic exposure to perfluorooctane sulfate (PFOS).
- ③J. Toxicol Sci④36 ⑤ 55-62⑥2011 .
- ①Takahashi M, Inoue K, Koyama N, Yoshida M, Irie K, Morikawa T, Shibutani M, Honma M, Nishikawa A.
- ② Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity
- ③Arch Toxicol.④⑤.In press. ⑥2011.
- ① Taketa Y, Yoshida M, Inoue K, Takahashi M, Sakamoto Y, Watanabe G, Taya K, Yamate J, Nishikawa A.
- ② The newly formed corpora lutea of normal cycling rats exhibit drastic changes in steroidogenic and luteolytic gene expressions. ③Exp. Toxicol. Pathol, ④⑤In press⑥2011.
- ① Yoshida M, Takahashi M, Inoue K, Nakae D, Nishikawa A.
- ② Lack of chronic toxicity and carcinogenicity of dietary administrated

catechin mixture in Wistar Hannover GALAS rats. ③J Toxicol Sci.④36: ⑤297-311 ⑥ 2011

2. 学会発表

Midori Yoshida, Naoki Koyama, , Kaoru Inoue, Miwa Takahashi, Youhei Sakamoto, Yoshikazu Taketa, Yoshiya Shimada, Akiyoshi Nishikawa
Early depletion of ovarian follicles by prepubertal exposure to gamma ray promotes rat uterine cancer development
第 68 日本癌学会学術総会(横浜)2009 年 10 月

Midori Yoshida, Atsushi Sanbuissho, Shigeru Hisada, Michihito Takahashi, Yasuo Ohno, Akiyoshi Nishikawa
Collaborative work to evaluate ovarian toxicity by repeated dose and female fertility studies in rats: Morphological characteristics of normal cycling ovary in rats and their viewpoints for ovarian toxicity detection
49th Annual Meeting & ToxExpo (Baltimore, US)2009 年 3 月

吉田緑

生殖発性毒性の評価法: 現状と問題点
第 10 回日本トキシコロジー学会生涯教育講習会

2009 年 7 月(岩手)

吉田緑

通常の反復投与の動物試験による化学物質の雌性生殖器系への影響評価

第 3 回 In vivo 実験医学シンポジウム(東京)2009 年 12 月

吉田緑、武田賢和、島田義也、井上薫、森川朋美、高橋美和、坂本洋平、渡辺元、田谷一善、西川秋佳

未成熟期の放射線照射による小卵胞の経時的変化

第 26 回日本毒性病理学会講演要旨集(金沢)2010 年 2 月

吉田緑、河部真弓、古川文夫、井上薫、高橋美和、広瀬明彦、西川秋佳:

酸化チタン曝露ラットの肺の経時的変化とチタンの局在.

第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会要旨集 S128、2010 年、

知的財産所有権の出願・登録状況

特許取得・ 実用新案登録 なし

表 1 既存化学物質

ラットにおける既存化学物質の短期間反復投与毒性試験から得られた臓器・器官ごとの病理組織学的所見シソーラスのまとめ

臓器・器官	所見数	使用された用語数	使用された用語数/所見数	化合物数
胃	35	80	2.29	150
腸・その他消化器系	22	26	1.18	25
眼球	2	2	1.00	2
肝臓	32	88	2.75	190
胸腺	5	8	1.60	32
リンパ節	4	4	1.00	4
骨髄	3	12	4.00	19
脾臓	10	29	2.90	99
心臓	6	17	2.83	22
腎臓	27	126	4.67	221
膀胱尿道	10	21	2.10	23
精巣	3	32	10.67	47
精巣上体	6	23	3.83	25
前立腺	2	2	1.00	2
卵巣	2	2	1.00	2
子宮腔	2	2	1.00	2
気管肺	10	16	1.60	20
皮膚骨格系	3	3	1.00	3
計	184	493		

表2 新規化学物質(1997年～2003年)

臓器・器官ごとの病理組織学的所見の分類

項目	所見数	項目	所見数
1. 消化器系		5. 内分泌系	
切歯	19	下垂体	3
食道	2	甲状腺	5
前胃	16	副腎	12
腺胃	26	内分泌所見分類	20
胃	7	6. リンパ・造血器系	
十二指腸	7	胸腺	2
空腸	6	脾臓	10
回腸	7	骨髄	2
小腸	3	リンパ節	5
盲腸	11	リンパ・造血器系所見分類	19
結腸	8	7. 循環器系	
大腸	1	心臓	3
直腸	6	循環器所見分類	3
唾液腺	4	8. 骨格系	
顎下腺	1	骨格筋	2
舌下腺	1	足根関節	2
肝臓	32	大腿骨	11
消化器系所見分類	157	骨格系所見分類	15
2. 呼吸器系		10. 感覚器系	
鼻甲介	1	眼球	2
鼻腔	3	ハーダー腺	2
気管	3	涙腺	1
肺	10	感覚器所見分類	5
呼吸器系所見分類	17	11. 皮膚・皮下・乳腺・腹腔	
3. 泌尿器系		口唇	4
腎臓	35	皮膚	5
尿管	1	乳腺	3
膀胱	9	腹腔脂肪組織	1
泌尿器系所見分類	45	皮膚・皮下・乳腺・腹腔所見分類	13
4. 生殖器系		12. 神経系	
精巣	12	脳	3
精巣上体	6	脊髄	3
精囊	3	末梢神経	7
前立腺	2	神経系所見分類	13
卵巣	5	所見分類の合計	
子宮	2	339	
膣	2		
生殖器系所見分類	32		