

ートの陽性予測度が若干低下した（70%から 66.7%まで）が、新規のアラートの PP

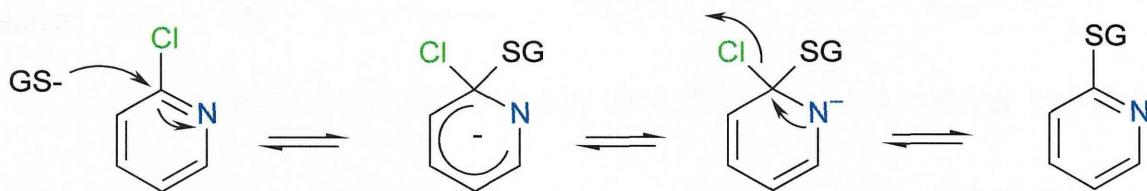


図 1. グルタチオンによる芳香族塩素の SN2 置換のメカニズム (Ionoue et al.より)

表 4. 新規の知識ベース内の反復投与毒性試験データセットに対するアラート RP001 および新規のアラート 802 の陽性予測度、TP・真の陽性、FP - 偽陽性、PP - 陽性予測度

Alert	TP	FP	PP, %
RP001 (old)	14	6	70
RP001 (new)	6	3	66.7
Alert 802	9	3	75

RP002 “Aliphatic nitrile”

反復投与毒性試験データセット内のこのクラスに属する化合物の大多数は陰性と報告されている。さらに、いくつかの陽性化合物は肝毒性の他のアラートをアクティブにした。正確な意味で、これらの化合物の活性は他の官能基の存在に起因する別の生物学的メカニズムの結果であると思われる。公表されている文献の解析によれば、多くの単純な脂肪族ニトリルが重篤な肝の損傷を引き起こすことは示されていない。例えば、シアン化水素 [Zimmerman]、アジポニトリル [ECHA 1983] および 3-ペンテンニトリル [ECHA 1970] に関して陰性の結果が報告されている。アセトニトリルの蒸気をラットに吸入投与した動物試験で肝毒性が誘発されているが [Pozzani et al]、この化合物が引き起こす肝損傷はごく軽度の

ものであることも報告されている [Zimmerman]。

脂肪族ニトリルの肝毒性に関する説得力のあるデータはないにも関わらず、これらの化合物が急性毒性を示すことが知られている [Johannsen and Levinskas, Bhattacharya et al]。この毒性はおそらく肝臓内の酸化代謝により引き起こされ、シアン化物が放出され (図 3)、シアン化物が電子伝達系の複合体 IV を阻害する可能性があることが示唆されている [Johannsen and Levinskas]。脂肪族ニトリルを投与された動物の肝臓内でシアン化物が検出されているが [Bhattacharya et al]、この組織には多量のミトコンドリア内酵素ローダネーゼが含まれており、この酵素がシアン化物をチオシアン酸塩に転換して不活性化する可能性がある [Sousa et al]。この不活性化が起こることがこれらの化合物の肝毒性が弱いことの説明となると思われる。

エビデンスの重みから脂肪族ニトリルの官能基が重大な肝毒性傷害の原因ではないことが示唆されており、その結果として RP アラート 002 は非アクティブ化され、完全なアラートはインプリメントされなかった。

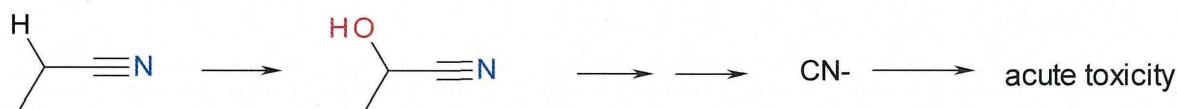


図 2. 脂肪族ニトリルから反応性シアン化イオンを生じる生体内活性化

RP010: “Aromatic sulphonamide”

この RP アラートは反復投与毒性試験データセットに対する陽性予測度が 40%であり、比較的低い。しかし、パブリックドメインから得られた Fourches データセット内のかなりの数の陽性化合物 (10 化合物) がこの RP アラートをアクティブにした。また、Derek の結果を解析中に、反復投与毒性試験データセットから得られた 2 化合物によるこの RP アラートと完全な肝毒性アラート 691 のアクティブ化が認められた。アラート 691 と RP010 のトレーニングセット間で重複があるかどうかを調査することに決定した。

公表論文から反復投与毒性試験データセット内の化合物の毒性データは得られなかった。しかし、この RP をアクティブにする Fourches データセットの陽性化合物はアラート 691 内のスルホンアミド系利尿薬の例と構造が類似しており、薬理学的プロファイルが同一であった。この構造的類似性と生物学的類似性から、反復投与毒性試験および Fourches のデータセットから得られた RP010 をアクティブにする芳香族スルホンアミドをアラート 691 の範囲内に含めることに決定した。これらの化合物の肝毒性に関する明確なメカニズムは特定できなかった。これらの化合物の肝毒性に関する大多数の症例報告で、皮膚の発疹や発熱などの症状を伴う過敏反応が報告さ

れた [Drerup et al, Krivoy et al]。しかし、これらの所見から実験動物で認められた肝損傷は説明できない。多数のスルホンアミド系利尿薬 (アセタゾラミド、ethoxzolamide、chlorothiazide) によって、単離されたラットの灌流肝臓内ミトコンドリアの炭酸脱水素酵素が阻害され [Haussinger et al]、尿素生成や糖新生などの肝機能に対してその影響がみられることが明らかにされた [Bode et al]。しかしこれらの作用は、スルホンアミド含有薬を用いた治療と関連がある肝毒性を有する患者で認められる過敏反応とは一致しない。

アラート 691 および RP アラート 010 を修正した結果として、「芳香族スルホンアミド」は非アクティブ化された。旧肝毒性アラートと修正された肝毒性アラートの陽性予測度を表 5 に示す。これらのアラートの陽性予測度は高くないが、このクラスの化合物の多くが過敏反応を介してヒトで肝毒性を引き起こすと考えられる。この反応は動物試験には反映されない。

表 5. アラート RP010、旧アラート 691 および修正アラート 691 の陽性予測度。TP - 真の陽性、FP - 偽陽性、PP - 陽性予測度

Alert	TP	FP	PP, %
RP010	4	6	40
691 (old)	2	5	28.57
691 (new)	4	5	44.44

RP014: “O-Allyl compound”

この RP アラートは高い陽性予測度を有する。この RP アラートをアクティブにする 4 個の陽性化合物のうち、2 化合物がそれぞれ 1 つの完全な肝毒性アラートをアクティブにした。アクティブ化されたアラートの 1 つは O-アリル化合物とアクロレインの肝毒性を適用範囲に含むアラート 669 であった。公表論文中に反復投与毒性試験データセットの化合物の肝毒性に関するデータは認められなかった。アリル化合物の肝損傷のメカニズムには、代謝されてアリルアルコールに変換された後に生体内で活性化されてアクロレインになる経路が関与していると考えられる [Burcham and Fontaine] (図 4)。このメカニズムの裏付けとなるいくつかのアリルエステル(酢酸アリル [NTP 2006]、カプロン酸アリル [Clode et al]、イソ吉草酸アリル [Walker] およびフタル酸ジアリル [Kluwe]) の毒性と代謝に関するデータがある。炭酸アリルや脂肪族エーテルの代謝に関するデータは認められないにも関わらず、反復投与毒性試験データセット内のこれらの化合物は陽性であった。

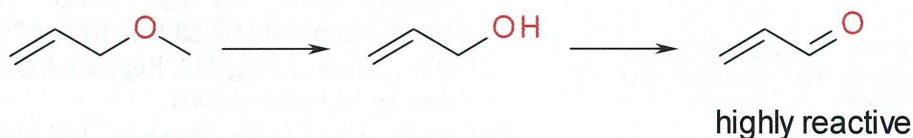


図 3. O-アリル化合物からアクロレインへの生体内活性化

RP026: “1,2,4-Triazole-1-ethanol or derivative”

RP アラートの優先順位付けに関する我々の研究において、RP026 をアクティブ

これらの化合物は代謝されてアリルアルコールになるので、肝損傷を引き起こすと想定した。

この代謝の可能性とアリルアルコールからアクロレインへの生体内活性化が知られていることに基づき、既存のアラート 669 の範囲を拡張し、炭酸アリルや脂肪族エーテルなどの O-アリル誘導体を含めた。この修正の結果、アラート 669 を適正にアクティブ化する陽性化合物の数が 1 から 4 に増加した。現在、このクラスの化合物がアラート 669 の範囲に含まれているので、RP アラート 014 は非アクティブ化された。旧肝毒性アラートと修正された肝毒性アラートの陽性予測度を表 6 に示す。

表 6. RP104、旧アラート 669 および修正アラート 669 の陽性予測度。TP - 真の陽性、FP - 偽陽性、PP - 陽性予測度

Alert	TP	FP	PP, %
RP014	4	1	80
669 (old)	1	0	100
669 (new)	4	0	100

にする陽性化合物 4 個中 2 個が肝毒性アラート 547 「2,4-ジハロフェネチル-1-イミダゾールまたは類似化合物」をもアクティブにすることが見出された。反復投与毒性試

験データセット内のこのクラスの毒性データの検索により、これらの化合物が抗真菌薬や殺虫剤であり、ヒトで肝酵素の軽度な、一過性の上昇を引き起こし [Gearhart, Gothard and Rogers, Zimmerman]、また実験動物で肝毒性を引き起こすと報告されている [Lewis et al, Zimmerman, Ma et al] ことが確認された。肝損傷のメカニズムにはこれらの化学物質の CYP 酵素阻害能が関与している可能性がある。この CYP 酵素阻害能は、チトクローム P450 依存酵素 14-アルファ-メチル基分解酵素を阻害して真菌細胞膜の完全性に必須なエルゴステロールの枯渇を招くことを介するこれらの抗真菌剤の対象とする用途に関連がある [Vanden Bossche et al]。

これらの所見に基づきアラート 547 の範囲を拡張し、ベンゼン環とアゾール環との間のリンカーが長い化合物と短い化合物を最初のアラート内に含めた。これらの種類の化合物はすでにその適用範囲に含まれる化合物と同じ薬理活性を有し、また RP026 の適用範囲に含まれる化合物を含んでいた。対応する RP アラート 026 は非アクティブ化された。旧肝毒性アラートと修正された肝毒性アラートの陽性予測度を表 7 に示す。

表 7. RP026、旧アラート 547 および修正アラート 547 の陽性予測度。TP - 真の陽性、FP - 偽陽性、PP - 陽性予測度

Alert	TP	FP	PP, %
RP026	4	0	100
547 (old)	3	0	100
547 (new)	5	0	100

< 参照文献 >

Bhattacharya R, Satpute RM, Hariharakrishnan J, Tripathi H and

Saxena PB. Acute toxicity of some synthetic cyanogens in rats and their response to oral treatment with alpha-ketoglutarate. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47, 2314-2320, doi: 10.1016/j.fct.2009.06.020.

Bode AM, Foster JD and Nordlie RC. Glycogenesis from glucose and ureagenesis in isolated perfused rat livers: influence of ammonium ion, norvaline, and ethoxzolamide. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269, 7879-7886.

Burcham PC and Fontaine F. Extensive protein carbonylation precedes acrolein-mediated cell death in mouse hepatocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2001, 15, 309-316, doi: 10.1002/jbt.10007.

Clode SA, Butterworth KR, Gaunt IF, Grasso P and Gangolli SD. Short-term toxicity study of allyl caproate in rats. Short-term toxicity study of allyl caproate in rats. 1978, 16, 197-201, doi: 10.1016/S0015-6264(76)80514-7.

Drerup AL, Alexander WA, Lumb GD, Cummins AJ and Clark GM. Jaundice occurring in a patient treated with chlorothiazide. *New England Journal of Medicine*, 1958, 259, 534-536, doi: 10.1056/NEJM195809112591108.

European Chemicals Agency (ECHA). Repeat dose toxicity study for pent-3-enitrile (CAS No. 4635-87-4). 1970, dossier: Exp NS Repeated dose toxicity: inhalation.001.

European Chemicals Agency (ECHA). Repeat dose toxicity study for adiponitrile (CAS No. 111-69-3). 1983, dossier ID: Exp Key Repeated dose toxicity: inhalation.001.

Fourches D, Barnes JC, Day NC, Bradley P, Reed JZ and Tropsha A. Cheminformatics analysis of assertions mined from literature that describe drug-induced liver injury in different species. *Chemical Research*

- in Toxicology, 2010, 23, 171-83, doi: 10.1021/tx900326k.
- Gearhart MO. Worsening of liver function with fluconazole and review of azole antifungal hepatotoxicity. *Annals of Pharmacotherapy*, 1994, 28, 1177-1181.
- Gehring PJ, Torkelson TR and Oyen F. A comparison of the lethality of chlorinated pyridines and a study of the acute toxicity of 2-chloropyridine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1967, 11, 361-371, doi: 10.1016/0041-008X(67)90079-8.
- Gothard P and Rogers TR. Voriconazole for serious fungal infections. *International Journal of Clinical Practice*, 2004, 58, 74-80, doi: 10.1111/j.1368-5031.2004.0099.x.
- Haussinger D, Kaiser S, Stehle T and Gerok W. Liver carbonic anhydrase and urea synthesis: the effect of diuretics. *Biochemical Pharmacology*, 1986, 35, 3317-3322, doi: 10.1016/0006-2952(86)90429-6.
- Johannsen FR, Levinskas GJ. Relationships between toxicity and structure of aliphatic nitriles. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1986, 7, 690-697, doi: 10.1016/0272-0590(86)90119-3.
- Kluwe WM. Carcinogenic potential of phthalic acid esters and related compounds: structure-activity relationships. *Environmental Health Perspectives*, 1986, 65, 271-278.
- Krivoy N, Ben-Arieh Y, Carter A and Alroy G. Methazolamide-induced hepatitis and pure RBC aplasia. *Archives of Internal Medicine*, 1981, 141, 1229-1230, doi: 10.1001/archinte.1981.00340090125029.
- Lewis JH, Zimmerman HJ, Benson GD and Ishak KG. Hepatic injury associated with ketoconazole therapy. Analysis of 33 cases. *Gastroenterology*, 1984, 86, 503-513.
- Ma YM, Ma ZQ, Gui CQ, Yao JS and Sun RY. Hepatotoxicity and toxicokinetics of ketoconazole in rabbits. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2003, 24, 778-782.
- National Toxicology Program (NTP). Toxicity studies of allyl acetate, allyl alcohol, and acrolein administered by gavage to F344/N rats and B6C3F1 mice. National Toxicology Program Report, 2006, TOX-48.
- Pozzani UC, Carpenter CP, Palm PE, Weil CS and Nair JH. An investigation of the mammalian toxicity of acetonitrile. *Journal of Occupational Medicine*, 1959, 1, 634-642.
- Sousa AB, Soto-Blanco B, Guerra JL, Kimura ET and Gorniak SL. Does prolonged oral exposure to cyanide promote hepatotoxicity and nephrotoxicity? *Toxicology*, 2002, 174, 87-95, doi: 10.1016/S0300-483X(02)00041-0.
- Vanden Bossche H, Marichal P, Gorrens J, Geerts H and Janssen PAJ. Mode of action studies. Basis for the search of new antifungal drugs. *Annals of the New York Academy of Science*, 1988, 544, 191-207, doi: 10.1111/j.1749-6632.1988.tb40404.x.
- Walker R. Allyl esters (allyl hexanoate, allyl heptanoate and allyl isovalerate). Allyl esters (allyl hexanoate, allyl heptanoate and allyl isovalerate). 1991, 716.
- Zimmerman HJ. *Hepatotoxicity: The Adverse Effects of Drugs and other Chemicals on the Liver*, 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Sarah によるモデル構築

フラグメンテーションの間の骨格／環系
／官能基の保持の予測度に対する影響

フラグメンテーションの間の骨格／環系
／官能基の保持のモデルの性能に対する影響を
検討した。使用したその他の設定は Sarah の規定値の設定も用いて。得られた

モデルの予測性能を比較した結果、3つのフラグメンテーションのオプションをすべて併合したときに最も高い **balanced accuracy (B-accuracy)** (62.5%)、精度 (57.3%) および感度 (45.5%) が得られたが、しかし、これによって適用範囲の比較的大きな (10%前後の) 減少が生じた。環系のみを保持したときのオプションに最も大きな適用範囲 (95.6%) が得られた。骨格と環系のみを保持したオプションに対して最も高い特異性 (82.2%) が得られた。官能基を保持しない場合の感度の低下が顕著であったので、フラグメンテーションにおいて官能基と環系の保持が重要であると考えられた。オプション 2 では適用範囲が有意に低下した。オプション 27 と比較して良好な感度を得られるので、肝毒性の最終モデルでは設定をデフォルトとすることにした。

モデルの予測度に対するフラグメンテーションのデプス変更の影響

いくつかのモデルを構築し、フラグメンテーション・パラメータのデプス (フラグメント内の構造的単位をつなぐ結合の最大数) を、骨格がある場合とない場合とで 2 (デフォルト) から 8 (最大) まで変えた。

フラグメントのデプスを 3 に設定したとき、骨格を含めずに構築したモデルの予測性能に若干の向上がみられた。さまざまなデプスを用いて骨格を保持したモデルを構築したとき、フラグメンテーションのデプスを 7 に設定した場合に予測度の最大値が得られた。しかし、骨格を含めずに構築したモデルと比較して適用範囲の増加はみられず、約 10%低いままであった。以上理由

で、骨格を含まず、デプスを 3 に設定したフラグメンテーションのオプションを使用して、肝毒性の最終モデルを構築した。

ミニマム陽性および陰性シグナル、ミニマムサポートの影響

「ミニマム陽性シグナル (%)」(構造的特徴の仮説を立てるのに必要な陽性結果を超える陽性結果が得られた化合物の割合) の%増加の 5%から 12%の変動は、このモデルの感度および特異性の顕著な変化を生じなかったが、**balanced accuracy** と精度の軽度な低下が認められた。

「ミニマム陰性シグナル (%)」(構造的特徴の仮説を立てるのに必要な陽性の結果が得られた化合物数を超える陰性の結果が得られた化合物の割合) の変動により、5%の「規定値」設定において概して良好な性能係数が得られた。但し、「ミニマム陰性シグナル」を-10%に設定したときに、特異性が 79.4 (-5%で) から 80.4 (-10%で) にやや増加した。しかし、規定値と比較して感度は低下した。

ミニマムサポート (仮説を立てるために必要な最小限の数の化合物) が 3 から 6 まで変動したとき、規定値の条件 (すなわち「4」の設定) におけるすべてのパラメータの性能を含むモデルの予測性能は最良であった

以上の結果として、検証および検討のためのその後のモデル構築では、(1) 骨格を保持する = False、(2) 環系を保持する = True、(3) 官能基を保持する = True、(4) フラグメンテーションのデプス 3、(5) ミニマム陽性シグナル 5%、(6) ミニマム陰性シグナル-5%、(7) ミニマムサポート 4、(8)

セットに保持されるフラグメントの数
1000

肝毒性モデルの構築

反復投与毒性試験データセットをトレーニングセットと試験セットに分割して、モデルの構築検証を行った。データセットをランダムに 80%の化合物（トレーニングセット）と 20%の化合物（試験セット）を含む 2 つのセットに分割した。トレーニングセットを用いて上記の条件で SARAH のプロトタイプモデルを構築し、試験セットに関する肝毒性モデルの予測精度計算した結果を表 8 に示す。

表 8. 試験セットの Sarah 肝毒性モデルによる予測精度

	Sarah - test set
B-Accuracy(BAC)*	62.4
Precision**	57.1
Sensitivity	47.1
Specificity	77.8
Coverage	90.1

*BAC = (sensitivity + specificity) / 2

** Precision = TP / (TP + FP) : < positive predictivity >

D. 考察

RP の優先順位付け

RP の優先順位付けでは、検討に利用できる公表データの量を評価することが重要であった。Vitic、すなわち Lhasa データベースは多様な毒性学的エンドポイントの多量なデータを含み、それは一般的に文献とほぼ同じであるが、各クラスの公表された毒性データの量と関連性に関する専門家主導の評価を伴う追加ステップは、完全なアラ

ートを開発できるクラスや既存のアラートを修正するクラスを特定するうえで有益であると判断した。各クラスの活性の理論的根拠が得られるかどうか、また、後に考察するように、優先されるクラスほど完全なアラートが開発される機会が大きいことを保証するように働くかどうかを確認するために、この手段が重要であると考えられた。

今年度の結果として 5 つの RP アラートが検討され、既存の 3 つの肝毒性アラートを修正し、1 つの新規のアラートをインプリメントした。1 つのクラスが検討され、これらの化合物が肝損傷を生じる前に急性毒性を引き起こす可能性があるというエビデンスが得られたため非アクティブ化した。

感度の大きな上昇は認められていないが、本年度のプロジェクトの結果として各化合物クラスに関する知識は著しく発展している。以前は裏付けデータ、活性の理論的根拠および類似の活性を有する例証などに関する情報が少ない Rapid Prototypes の適用範囲に含まれるだけであった化合物について、現在はより多くの情報が得られた。

既存のアラートの拡張と、類似の生物学的活性（アラート 547 および 691）および／または共通のメカニズムを呼び出すことができたアラート（アラート 547 および 669）を有するクラスに基づき実施する外挿に関して、本年度の詳細な病理学的データは有用であった。

Sarah で作成したモデルによる予測と Derek による予測が相互にどのように関連する、あるいは、これらを併合した場合、に何か利点を示すかどうかを確認するため、Sarah と Derek Nexus との間で検証結果を比較した（表 9）。両システムが検証セット

に対して類似した性能を示したが、表 10 に示すように、これらのシステムは両システムにおける個々の化合物予測結果が不一致である割合が比較的高い (37%)。両システムにおいて予測された真の陽性化合物の約 50%は各システムで陽性と予測された。このことは、これらのシステムを併合することによって感度の向上が得られることを示唆している。事実、鋭敏なコンセンサスマデルで両システムから得られた予測を併合することによって (いずれかのシステムから得られた陽性の予測を全体としての陽性予測として採用し、また Sarah モデルでドメイン外とされた化合物については Derek Nexus の予測を採用した)、感度の改善が得られた (63%)。しかし予想どおり、これによって特異性が低下した (59%) (表 11)。今後、特異性を低下させずにこの感度を維持すると思われる 2 つのシステムから得ら

れた予測を併合する方法をさらに検討することが必要である。

表 9. Sarah および Derek により予測したトレーニングセットの化合物数: TP - 真の陽性、TN - 真の陰性、FP - 偽陽性、FN - 偽陰性、OUT - ドメイン外

	TP	TN	FP	FN	OUT
Sarah	48	126	36	54	29
Derek	46	135	46	66	n/a

表 10. トレーニングセット: Sarah および Derek 間の予測度の一致/不一致

		Derek			
		FN	FP	TN	TP
Sarah	FN	34	-	-	20
	FP	-	8	28	-
	TN	-	35	91	-
	TP	24	-	-	24

表 11. DX と SX の結果を併合して得られた「鋭敏な」コンセンサスマデルにより作成した性能測定基準 (いずれかのシステムから得られた陽性の結果=全体として陽性)。B-accuracy = Balanced accuracy、sens. = 感度、spec. = 特異性、PPV = 陽性予測度の値、NPV = 陰性予測度の値、TP = 真の陽性、TN = 真の陰性、FP = 偽陽性、FN = 偽陰性

	B-Accuracy	Sens.	Spec.	PPV	NPV	TP	TN	FP	FN
DX-SX Consensus model	61%	63%	59%	49%	72%	70	107	74	42

E. 結論

本年度は、肝毒性の Rapid Prototypes アラートを正式な肝毒性アラートとするための検討の一環として、昨年度検討されなかったアラートに対して、前年度開発した方法に、さらにもう Fourches らのデータセットを加えて優先順位付けを行った。その

後、詳細な病理組織学的データや HESS データベースならびに公表論文の調査から得られた情報を用いて、選定されたアラートを詳細に検討した。その結果、トレーニングセット化合物群に対する肝毒性の予測精度は、感度が 45.4%、特異性が 75.4%となり、昨年比べて若干の予測精度の向上が

認められた。さらに今年度は、統計的モデリング・ソフトウェア Sarah を用いた肝毒性予測モデルの構築を試みた。Sarah で構築したモデルは Derek NEXUS とほぼ類似した予測精度を示したが、両システムにおける個々の化合物予測結果の不一致である割合が比較的高かった。このことは、これらのシステムを併合することによって感度の向上が得られることを示唆した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Matsumoto, M., Yamaguchi, M., Yoshida, Y., Senuma, M., Takashima, H., Kawamura, T., Kato, H., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Yokoyama, K., Hirose, A., 2013. An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), affects labor and delivery in rats: A 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test. *Food Chem Toxicol.* 56, 290-296.

Takahashi, M., Ishida, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Hirose, A., 2014. Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluoroundecanoic acid in rats. *J Toxicol Sci.* 39, 97-108.

高橋美加, 松本真理子, 宮地繁樹, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 平田睦子, 小野 敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質対策の動向 (第23報) - 第2回 OECD化学物質共同評価会議 (2012年パリ) 化学生物総合管理. 9, 241-247.

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, 中嶋徳弥, 小野 敦, 鎌田栄一, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質対策の動向 (第22報) - 第1回 OECD化学物質共同評価会議 (2011年パリ) 化学生物総合管理. 9, 112-118.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共同評価プログラム: 第1回化学物質共同評価会議概要 化学物質総合管理. 9, 92-99.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共同評価プログラム: 第2回化学物質共同評価会議概要 化学物質総合管理. 9, 100-111.

松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 小野 敦, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共同評価プログラム: 第3回化学物質共同評価会議概要 化学物質総合管理. 9, 222-231.

松本真理子, 大久保貴之, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦, 2013. OECD化学物質共同評価プログラム: 第4回化学物質共同評価会議概要 化学物質総合管理. 9, 232-240.

2. 学会発表

Hirose, A., 2013. Risk assessment methodology for chemicals and contaminants in foods. ILSI HESI Workshop: Risk Assessment in the 21st Century, Tokyo, 2013.7.

Hirose, A., Fujii, S., Suzuki, T., Kato, H., Kawamura, T., Matsumoto, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M.,

- Nishimura, T., Ema, M., and Ono, A. 2014. Combined Repeated-Dose Toxicity Studies with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Tests for Perfluorotetradecanoic Acid and Perfluorohexadecanoic Acid in Rats. 第53回米国トキシコロジー学会 (2014.3)(Phoenix, Arizona, USA).
- Ono, A., Hirata-Koizumi, M., Ise, R., Kato, H., Matsuyama, T., Ema, M., Hirose, A., 2013. Gender-related difference in the toxic susceptibility of rats to an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazole: a role of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha. The 49th EUROTOX2013 (2013.9) (Switzerland, Interlaken).
- Ono, A., Takahashi, M., Yabe, K., Kato, H., Kawamura, T., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., 2013. The Japanese Existing Chemical Safety Survey Program: Reproductive Toxicity of 3-Cyanopyridine In Rats. XIII International Congress of Toxicology, COEX (韓国ソウル市)、2013.7.
- Ono, A., Honma, M., Masumori, S., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A. 2014. An In Vivo Mutagenicity Test of Hydroquinone Using the lacZ Transgenic Mice. 第53回米国トキシコロジー学会 (2014.3)(Phoenix, Arizona, USA).
- Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Sakuratani, Y., Yamada, J., Yoshinari, K., Yamazoe, Y., Ono, A., Hirose, A., Hayashi, M., 2014. Hazard Evaluation Support System (HESS) -Proposal of in vitro assays useful for predicting repeated-dose toxicity of chemical substances. FutureTox II: In Vitro Data and In Silico Models for Predictive Toxicology (2014.1) (Chapel Hill, North Carolina, USA).
- 広瀬明彦, 2013. 食品等に含まれる化学物質のリスク評価の経験とそこから見えてきた課題. 日本リスク研究学会 第26回シンポジウム (2013.6.14 東京).
- 広瀬明彦, 2013. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) を利用した食品中化学物質のリスク評価 <ワークショップ 3 食品中の化学物質についてのリスク評価法の現状と問題点>、第40回日本毒性学会学術年会 (2013.6 千葉)
- 小野敦, 平田睦子, 加藤寛人, 伊勢良太, 広瀬明彦, 2013. 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole による肝毒性メカニズムのトランスクリプトーム解析. 第40回日本毒性学会学術年会 (2013.6 千葉)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得: 該当なし
 2. 実用新案登録: 該当なし
 3. その他: 該当なし

平成 25 年度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

化学物質のヒト健康リスク評価における（定量的）構造活性相関および
カテゴリーアプローチの実用化に関する研究(H24-化学-指定-010)

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

研究要旨

本研究では、化学物質の構造や物性の類似性から化学物質をグループ化して、グループの化学物質に類似する毒性を解析し、特定の化学構造にひもづけられる毒性変化の解析、および毒性試験で認められた毒性フェノタイプからの評価モデル構築について検討を進めている。本年度は、化審法既存点検により反復投与毒性試験実施済みの化合物について昨年度実施した構造プロファイリング結果より毒性の強さとの関連が示された特徴部分構造を選択して決定木型の毒性強度評価モデルを構築するとともに外部データセットの判定を行うことにより、構築したモデルの評価を行った。昨年度の検討から無毒性量と分子量に相関が認められたことから、評価基準として無毒性量を分子量で除した値を用い、内部検証で 90%以上の精度（一致率）を得た。同モデルを用いて外部データセットとして Munro らによる Cramer rules の検証に用いられた化学物質データセットを用いて外部検証を行った結果、最大で 72.5%の一致率を得た。構築したモデルでの判定結果について Cramer rules による判定結果と比較した結果、構築したモデルでは疑陽性率が高いものの毒性物質の抽出における有用性が示唆された。毒性フェノタイプからの評価モデル構築においては、既存点検結果で報告された様々な病理変化が発現した投与量について解析を行った結果、これまでモデル構築の対象としてきた肝・腎毒性に加えて、脾臓及び消化管における病理変化が比較的低用量で多くの化合物で報告されていることが明らかとなった。そこで脾臓における病理変化の判別分析評価について検討を行った。

A. 研究目的

現在、世の中には数万種に及ぶ既存化学物質が安全性評価未実施のまま流通しており、それら化学物質のリスク管理は、世界

的な課題となっている。さらに、我が国の化学物質審査規制法では、良分解性物質や 10t 未満の物質(低生産量物質)については、ヒト健康影響に関するスクリーニング毒性

試験の実施は不要とされているが、そうした物質であってもヒト健康リスクを把握し適切な管理を行うことが望まれる。

化学物質のヒト健康影響評価は、従来、動物を用いた安全性試験により行われているが、評価の効率化や動物愛護の観点から、動物試験の削減が求められている。そうした背景から、特に構造が類似する化学物質群については、既に安全性評価が実施済みの、構造類似物質の評価結果をもとに類推評価するカテゴリーアプローチによる評価が検討されており、既に一部、実用化されている。しかし、カテゴリーアプローチによる化学物質の類似性評価には、合意された客観的な手法が存在するわけではなく、評価を行うエキスパートによりケースバイケースで妥当性が判断されるのが実情である。

本研究では、特に *in vivo* 反復投与毒性の評価における化学構造からの *in silico* 評価の実用化に向けて、有用性が期待される幾つかのアプローチによる評価モデル構築を行い、信頼性や適用範囲等についての検証を行い、化学物質の規制管理における実用的な利用法を検討することを目的としている。

本年度は、本年度は、化審法既存点検により反復投与毒性試験実施済みの化合物について昨年度実施した構造プロファイリング結果より毒性の強さとの関連が示された特徴部分構造を選択して決定木型の毒性強度評価モデルを構築して、独立した外部データセットによる外部検証を行った。また、既存点検結果で報告された病理変化の発現投与量の解析を行い、比較的低用量で多くの化合物で報告されている毒性のうち、脾

臓における病理変化の判別分析評価について検討を行った。

B. 研究方法

1. 毒性部分構造を指標とした毒性強度判別手法の検討

1. 1 部分構造クラスタリングによる毒性部分構造の選択

昨年度、データベース化した既存化学物質点検による 28 日間反復投与試験 (OECD TG407 相当) 及び反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG422 相当) の部分構造プロファイリングにより得られた部分構造情報をもとに階層クラスタリングにより無毒性量 (NOEL) の低い化学物質が含まれる部分構造クラスターより毒性の強い物質に共通する特徴的な部分構造を抽出した。

1. 2 毒性関連部分構造を指標とした毒性強度判別モデルの作成

昨年度の解析より、化学物質の無毒性量と分子量及び脂溶性 (LogP) との関連が示されたことから、1. 1 で抽出した部分構造セットと分子量及び LogP 計算値をもとに決定木型の分類ルールを作成した。評価対象としては、予備検討の結果から無毒性量を分子量で除した値を用い、幾つかの閾値を設定して化学物質を 2 クラス (陽性・陰性) に分ける分類ルールを構築した。決定木の作成は、KNIME を用いた。

1. 3 毒性強度判別モデルの外部検証

構築したモデルの検証のため、Munro らが Cramer rules の検証に用いた化合物セット及びその無毒性量を Munro らの文献

(Munro, I.C., et. al.: *Food Chem. Toxicol.* 34, 829-67 (1996)) より整理して外部データセットとして用いた。Munro らの化合物セットの構造式データを準備し、モデル構築に用いたデータと同様に部分構造プロファイリングを行い、モデル適用範囲 (いずれかの部分構造を有する化学物質) の 394 構造について構築したモデルで分類を行い、無毒性量及び Cramer rules による分類結果との比較を行いモデルの有用性について検討した。

2. In vivo 反復毒性試験における臓器毒性の発現プロファイル解析

反復毒性の予測評価に有用な構造活性相関モデル構築のターゲット臓器を選択する目的で、毒性試験における毒性変化の発現臓器と発現した用量の関係について、これまでの研究で整理した既存化学物質点検による試験結果データベースの解析を行った。

3. 脾臓毒性をターゲットとした判別分析評価法の検討

上記の臓器毒性発現プロファイル解析で、比較的低用量でかつ多くの化学物質で病理学的変化が認められていることが明らかとなった臓器である脾臓毒性をターゲットとして化学構造から計算される記述子を用いた判別分析型の評価モデルを構築して予測精度の検証を行い、毒性評価における有用性について検討を行った。

3. 1 モデル構築のための脾臓毒性所見の整理

モデル構築のため肝臓で認められた病理所見を整理して、壊死、脂肪化、肥大、髓

外造血及びその他の病理所見を対象として、各所見が認められた化合物を各所見に対するモデル構築における陽性化合物、肝臓に病理所見の認められていない化合物をいずれのモデルにおいても陰性化合物として、所見ごとに独立した評価モデルの構築を行った。

3. 2 パラメータの生成と抽出

解析ソフト ADMEWORKS/ModelBuilder を用いて、722 件のパラメータを発生し、ModelBuilder によるパラメータ絞込みを行い、有効なパラメータのみをモデル作成に利用した。

3. 3 モデル作成

抽出されたパラメータをもとに ModelBuilder を用い、各病理所見ごとに、ADA 法、KNN 法、SVM 法の 3 手法によりモデル構築を行い、トレーニング化合物の評価精度が最も高いモデルを採用した。

3. 4 脾臓毒性評価精度の検討

構築した脾臓毒性評価モデルの検証のため、化審法新規化合物申請された 983 化学構造セットの判別予測を行い、予測結果と実際の試験結果における脾臓毒性発現の有無を比較した。

C. 研究結果

1. 毒性部分構造を指標とした毒性強度判別手法の検討

1. 1 部分構造クラスタリングによる毒性部分構造の選択

既存物質点検データベース 233 物質の部分構造プロファイリング結果を階層化クラス

タリングして得られた結果より毒性関連部分構造の抽出を行った。図 1 にクラスター解析の結果の一部を示す。化学物質と部分構造のクラスターのうち NOEL の低い (毒性の強い) 化学物質が多く含まれるクラスター及び NOEL の高い (毒性の弱い) 化学物質が多く含まれるクラスターを構成する部分構造を毒性関連部分構造として抽出した。複数回の検討の結果、41 部分構造を毒性関連部分構造として抽出して判別モデル構築の検討に用いた。

1. 2 毒性関連部分構造を指標とした毒性強度判別モデルの作成

構造プロファイリングを実施した初期データセット 233 物質のうち 41 部分構造のいずれかを含む物質は 156 物質であった。図 2A に 156 物質の無毒性量の頻度分布を示す。156 物質のうち 6 割以上 (95 物質) は、無毒性量が 50mg/kg 以下であり 41 部分構造が毒性の強い物質の選択に有用であることが示された。さらに、この 156 物質をトレーニングセットとして用い、決定木型の分類モデルを作成した。モデル構築においては、昨年度の解析から、分子量及び脂溶性が無毒性量と関連することが明らかであることから、41 部分構造と分子量及び logP 値 (計算値) を判別指標とし、無毒性量そのものではなく無毒性量を分子量で除した値 (モル数換算値) を評価基準値とした。評価基準閾値を 0.2、0.4、0.8 としたいずれのモデルでも一致率 90% 以上のモデルを得ることが出来た。得られたモデルによるトレーニングセットでの判別成績を表 1 に示した。

1. 3 毒性強度判別モデルの外部検証

Munro データセットについて部分構造プロファイリングを行った結果、判別指標とした 41 部分構造のいずれかを含む化学物質は 394 物質であった。図 2B に示した無毒性量の頻度分布から Munro データセットにおいても 41 部分構造を有する物質の 50% 以上 (219 物質) は無毒性量が 50mg/kg 以下であった。この 394 物質の構造を外部評価セットとして上記、1. 2 で作成した分類モデルを用いて外部検証を実施した。外部検証の結果を表 2 に示した。外部検証の結果の一致率は最大 (閾値 0.8 モデル) で 72.6% であったが、データセットが毒性の強い (無毒性量の低い) 物質に偏っていたこともあり特異度 (Specificity) は 24~51% であった。モデルの有用性についてさらに検討するため、トレーニングセット及び外部評価セットについて Cramer rules による毒性分類を行い、本研究で構築した評価モデル (閾値 0.8 モデル) での判別結果との比較を行った結果を図 3 に示した。トレーニングセット (図 3A) の結果では、無毒性量が低いにも関わらず Cramer rules では毒性の低いクラス (Class1) に分類されてしまう物質が、今回、構築した評価モデルであれば毒性の強いクラスに分類されることが示された。しかし、一方で外部評価セットの結果 (図 3B) では、無毒性量が 100 以上であるにも関わらず本研究で構築した評価モデルでは、毒性の強いクラスに分類される物質が多く認められた。ただし、それらの物質の半数以上は Cramer rules でも毒性の強いクラス (Class3) に分類された。

2. In vivo 反復毒性試験における臓器毒性の発現プロファイル解析

本研究で整理を行った、既存物質点検データベースをもとに各種臓器で臓器重量変化を含む病理学的変化が認められた被験物質投与量を臓器ごとにプロットした結果を図4に示した。臓器毒性の予測モデル構築のターゲットとして、これまで本研究及び先立つ検討対象としてきた肝臓、腎臓の他に脾臓及び消化管（胃、腺胃、前胃）における障害が比較的低い用量（10mg/kg以下）である程度の物質数で認められることが明らかとなった。この結果から本年度は、脾臓毒性の評価モデル構築について検討を行った。

3. 脾臓毒性をターゲットとした判別分析評価法の検討

3. 1 病理所見及び血液学的データの整理

既存化学物質点検における28日間試験もしくは生殖発生毒性併合試験結果をもとに本研究で構築した病理所見及び血液学的データベースを用いて、脾臓の臓器重量増加もしくは病理組織学的変化の認められた化学物質を抽出した。また、脾臓の組織所見は貧血症状を伴うことが多く認められることから血液学的検査でHgb, Hct, Htの低下が認められる化合物を抽出し、臓器所見が認められた物質を陽性例とした場合と、臓器所見もしくは血液学的所見のいずれかが認められた物質全てを陽性例とし場合の2タイプの学習母集団について判別モデル構築を行った。学習母集団に含まれる化合物数を表2に示した。

3. 2 パラメータの生成とモデル構築

解析ソフト ADMEWORKS/ModelBuilder (MB) を用いて、表3に示す合計722件のパラメータを発生させ、表4に示した手順でModelBuilderによるパラメータの絞込みを行い、2種類の学習母集団 (M1とM2) に対し、それぞれ21個と20個のパラメータが有効と判定された。有効判定されたパラメータを初期パラメータとして、各学習母集団 M1 (210件) と M2 (246件) に対し、それぞれ学習母集団の100%、80%及び60%を利用した場合のモデルを作成した。異なった学習手法3種類で、分類率が一番高かったモデルのサンプル数及びパラメータ数を表5に示した。

3. 3 脾臓毒性評価モデルの内部・外部検証

各学習母集団 (M1とM2) を用いて、各モデルの内部検証を行った。学習母集団 M1を利用したモデルの内部検証結果は表6Aに、学習母集団 M2を利用したモデルの内部検証結果は表6Bに示した。網掛け部分が学習母集団 (脾臓毒性) に対し、最も高かった一致率を示すモデルでありいずれの場合も100% (1.0) であった。一方、新規982物質を用いた外部検証の結果 (表7) では、一致率は最大で0.62 (spleen-M1_CL_ADA_203) であり、感度については最大で0.33 (spleen-M2_CL_SVM_656) であった。

D. 考察

本研究では、化審法におけるヒト健康影響評価で要求されるスクリーニング毒性試験のうち、特に反復投与毒性試験により評

価される *in vivo* 毒性について化学構造から推定評価するための構造活性相関手法のリスク評価における実用化に向けて、有用性が期待されるアプローチについて検証を行い、有効な利用法について検討を進めている。

本研究に先立つ研究においては、既存化学物質点検で得られた毒性試験結果をもとに、多くの物質の毒性標的臓器である肝毒性や腎毒性など臓器ごとの毒性発現の有無を評価対象として評価モデルを構築して予測精度の検証を進めてきた。

化学物質の毒性評価において毒性標的臓器や毒性プロファイルを明らかにすることは重要ではあるが、リスク評価における *in vivo* 反復毒性試験の目的はむしろ毒性の起さない用量である無毒性量を明らかにし、毒性の強さに応じた化学物質の管理を行うことによりヒト健康被害を防止することにある。

そこで本研究では、既存点検で実施された反復毒性試験結果について無毒性量や発現した毒性変化について化学構造とともにデータベース化を行い、昨年度は無毒性量と基本的な物性との関係や無毒性量と部分構造との関連について検討した結果、化学物質の無毒性量が分子量や脂溶性と関係が認められること、また、一部の部分構造が毒性の強さの指標となり得ることを見出した。その一方、共通部分構造を有する化合物群であっても全ての物質の毒性が強い（弱い）という単純な分類は困難であり、複数の部分構造を組み合わせた判別分析による評価は有用であることが示唆された。信頼できる判別分析モデルの構築には、モデル構築に用いる部分構造の選択が重要で

あることから、本年度は、まずクラスタリング解析による毒性関連部分構造の抽出について検討を行った。クラスタリング解析により無毒性量の低い（もしくは高い）化学物質が多く含まれるクラスターを構成する 41 部分構造を抽出した。判別分析モデルの構築及び外部検証のため、既存化学物質点検及び Munro らのデータベースから、この 41 部分構造を含む化学物質を抽出したところ、いずれにおいても 50%以上の化学物質が無毒性量 50mg/kg 以下であったことは、抽出された部分構造の毒性強度判定における有用性を示す結果である考察された。一方、構築された判別分析モデルは、内部検証では非常に精度の良い判別結果を得たが外部検証では、データセットが毒性の強い（無毒性量の低い）物質に偏っていたこともあり特異度（Specificity）が 24~51%に留まり、疑陽性率が高い結果となった。しかし、全体の一致率は最大（閾値 0.8 モデル）で 72.6%を示し、さらには、部分構造からの毒性分類手法として用いられている Cramer rules との比較により、Cramer rules では低毒性と評価される無毒性量の低い物質を検出可能であることが示された。部分構造を利用した評価では、評価指標となる部分構造を有しない化学物質は評価対象外となることや、評価指標が部分構造の有無のため定量的モデルの構築が出来ない等の欠点はあるものの、結果から本研究で抽出した 41 部分構造そのもの及びそれらを用いた判別評価法は毒性強度の簡易評価法として有用であると考察された。今後は、現在のモデルの評価精度の向上にあわせて適用範囲外となる化学物質の評価法についても検討を進める予定である。

化学構造からの毒性強度評価モデルは、様々なメカニズムで惹起される毒性の種類や様々な化学構造を分類することなく評価を行う、あくまでも簡易評価手法と位置付けられる。本研究では、個々の毒性フェノタイプを評価対象とした評価モデルを構築して、その評価精度や有用性についても検討を進めている。精度の高い評価モデルを構築するためには、ある程度の数の陽性・陰性物質に関する知見が入手可能である必要がある。また、リスク評価における利用を考えた場合、評価対象は、無毒性量の根拠となる可能性がある、すなわち比較的低用量で発現するフェノタイプであることが有用である。そこで、本年度はこれまでに構築した既存点検データベースにおける毒性フェノタイプの発現した投与量分布について解析を行った。その結果、これまでにモデル構築の検討を行ってきた肝臓・腎臓以外に脾臓及び消化管における障害が低用量で比較的多くの物質に認められることが明らかとなった。この結果から、本年度は脾臓毒性に対する評価モデルを構築して検証を実施した。しかし、内部検証では、一致率 100%のモデルを得ることに成功したものの、外部検証における一致率は最大で 0.62 であり、特に感度については最大で 0.33 であり、偽陰性判定される物質が多いことが明らかとなった。一方、特異度はいずれのモデルでも 80%前後であった。本モデルの外部検証には、新規化学物質データセットを用いたことから本研究でモデル構築に用いた既存化学物質セットでは、脾臓毒性を惹起する化学構造の一部のみしか含まれていない可能性が示唆された。今後は、外部検証セットで偽陰性判定される化学構

造について検討を行う予定である。構造活性相関は、経験的評価手法であるため評価モデル構築のためには、ある程度の数の化学物質に関する知見が得られている必要がある。今回の結果から、特定のフェノタイプ（少なくとも脾臓毒性）を対象とした評価モデル構築においては、より広範な化学構造を含むデータセットが必要であると考察された。

E. 結 論

本研究班では、化学物質のヒト健康リスク評価の効率化や動物愛護の観点から(定量的)構造活性相関((Q)SAR)手法やカテゴリーアプローチの化学物質リスク評価における実用化を目的として、それぞれについてレギュレーションへ適用可能な手法を構築および改良を行うとともに、最終的に得られた成果をもとにした評価ストラテジーの提案を行うことを特色としている。反復毒性については、これまでのところカテゴリーアプローチによる評価例はあるものの、国際的に認められる信頼性の高い構造活性相関による評価手法は提案されていない。反復毒性の評価においては、被験物質の毒性プロファイルを明らかにすることも重要ではあるが、リスク評価においては対象とする化学物質の無毒性量を明らかにすることが求められる。しかし、*in vivo*における毒性変化は様々なメカニズムにより引き起こされるためそれら全てを単一の評価モデルで評価を行うことは困難と考えられる。そのため本研究においても、これまでは、臓器ごとの毒性を対象とした検討を進めてきている。

しかし、本研究における毒性関連部分構

造を用いた無毒性量の判別評価法では、毒性の種類を問わず、毒性試験でもっとも重要な評価指標である無毒性量の簡易的な判定が可能であることから、specific な作用により発現する毒性を除けば、標的臓器に関わらず、ある程度の評価が可能であることを示している。本研究で構築した評価手法は、その評価精度について、さらに検証は必要と考えられるものの構造活性相関の利用目的が優先順位付けやスクリーニング目的であれば、十分、有用であると考えられる。

一方、臓器ごとの評価モデルでは、評価対象とする毒性変化について、ある程度の数の化学物質について知見が得られていなければ、評価モデルを構築することは困難である。本研究では、比較的多くの化学物質で毒性が認められた脾臓を対象としたモデル構築について検討を行ったが、外部検証において十分な予測精度を得ることは出来なかった。このことから、その他の臓器では、さらに陽性対象となる化学物質が少ないため信頼性の高い評価モデルの構築は困難であると考えられる。一方、昨年度実施した肝毒性の病理変化ごとの評価モデル構築の検討においては、限られた数の化学物質データから比較的精度の高いモデル構築が可能であったことから、毒性の種類(メカニズム)に立脚した評価アプローチは少ない物質数であっても有用である可能性が考えられ、その点で、近年、OECD で検討されている毒性パスウェイ (AOP) を用いた評価などが有望な手法と期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- M. Matsumoto, M. Yamaguchi, Y. Yoshida, M. Senuma, H. Takashima, T. Kawamura, H. Kato, M. Takahashi, M. Hirata-Koizumi, A. Ono, K. Yokoyama & A. Hirose ; An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD), affects labor and delivery in rats: a 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test.; *Food Chem Toxicol*, 56,290–296 (2013)
- Y. Mirokuji, H. Abe, H. Okamura, K. Saito, F. Sekiya, S. Hayashi, S. Maruyama, A. Ono, M. Nakajima, M. Degawa, S. Ozawa, M. Shibusaki & T. Maitani ; The JFFMA assessment of flavoring substances structurally related to menthol and uniquely used in Japan.; *Food Chem Toxicol*, 64,314–321 (2013)
- T. Yamada, R. Hasegawa, S. Nishikawa, Y. Sakuratani, J. Yamada, T. Yamashita, K. Yoshinari, Y. Yamazoe, E. Kamata, A. Ono, A. Hirose & M. Hayashi ; A new parameter that supports speculation on the possible mechanism of hypothyroidism induced by chemical substances in repeated-dose toxicity studies.; *J Toxicol Sci*, 38,(2) 291–299 (2013)
- 小野 敦 ; 化学物質の安全性評価における in silico評価手法の利用について; *ILSI Japan*, 115,8-14 (2013)

2. 学会発表

- A. Ono, M. Honma, S. Masumori, M.

- Matsumoto, M. Hirata-Koizumi & A. Hirose :An In Vivo Mutagenicity Test of Hydroquinone Using the lacZ Transgenic Mice. *Society of Toxicology 53rd Annual meeting* (2014.3, Phoenix, Arizona, USA)
- A. Ono, M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, M. Ema & A. Hirose :Gender-related difference in the toxic susceptibility of rats to an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazole: a role of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha. *49th Congress of the European Societies of Toxicology* (2013.8, Interlaken, Switzerland)
- A. Ono, M. Takahashi, K. Yabe, H. Kato, T. Kawamura, M. Matsumoto, M. Hirata-Koizumi & A. Hirose :The Japanese existing chemical safety survey program : Reproductive toxicity of 3-cyanopyridine in rats.. *XIII International Congress of Toxicology (ICT2013)* (2013.7, Seoul, Korea)
- 小野 敦, 平田 睦子, 加藤 寛人, 伊勢 良太 & 広瀬 明彦 :2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazoleによる肝毒性メカニズムのトランスクリプトーム解析. 第40回日本毒性学会学術年会 (2013.6, 千葉)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得: 該当なし
 2. 実用新案登録: 該当なし
 3. その他: 該当なし

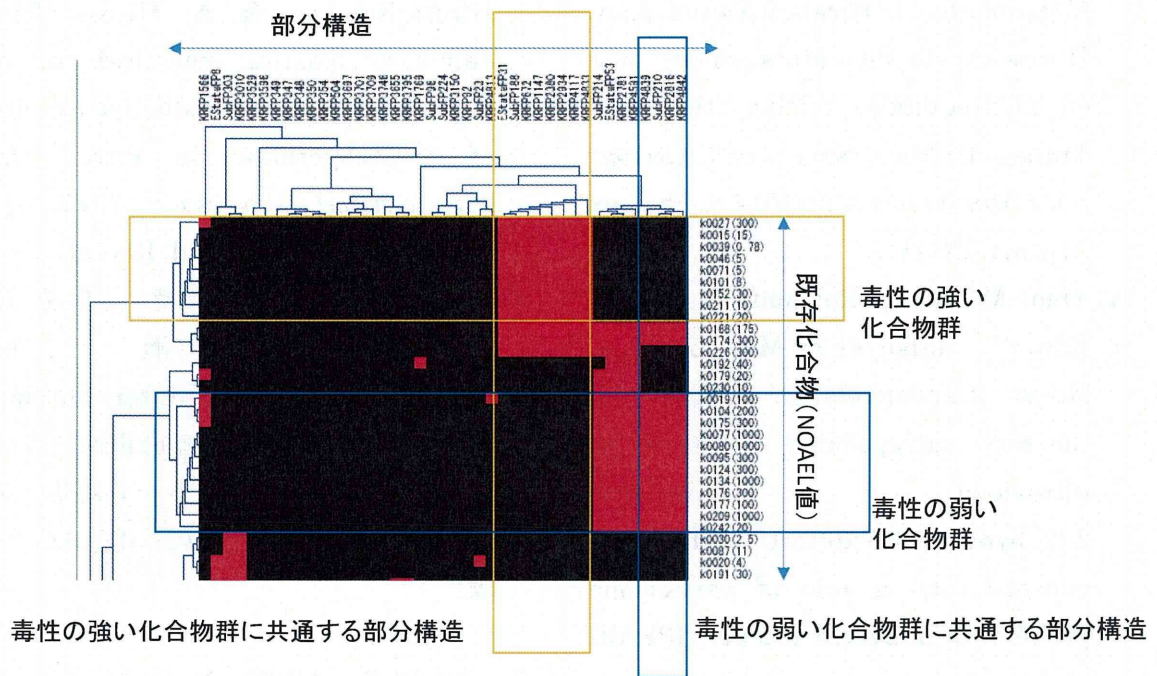
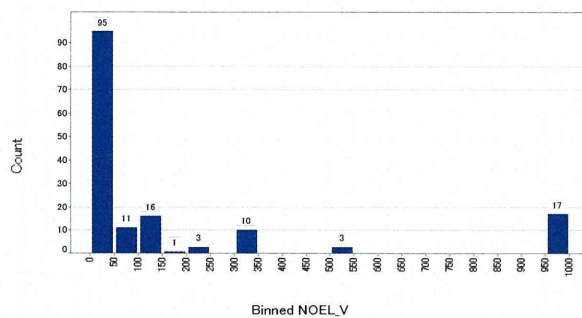


図 1 既存物質点検データベースの部分構造プロファイルのクラスタリング解析の例

A: training set



B: test set

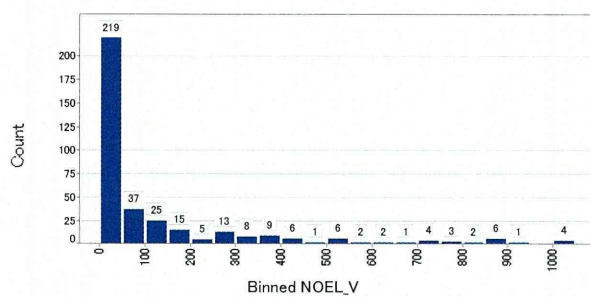


図 2 毒性関連部分構造を有する化学物質の無毒性量分布