

Table 2. Incidences of hypertrophy/hyperplasia/swelling of thyroidal follicular cells and hepatocytes, the relative organ weights of the thyroid gland and liver, and body weight in the repeated-dose toxicity studies of chemicals that induced hypothyroidism.

Chemical	Hypertrophy/hyperplasia/swelling				Relative organ weight								Body weight		
	Male		Female		Male				Female				Male	Female	
	Thyroid	Liver	Thyroid	Liver	Thyroid	sig.	Liver	sig.	Thyroid	sig.	Liver	sig.	sig.	sig.	
Dose	Positive No./Examined No.				mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	g	g	
mg/kg/day															
Propylthiouracil	0	0/10	0/10	-	-	6.4		3.59		-	-	-	-	496	-
	0.01	0/10	0/10	-	-	6.0		3.59		-	-	-	-	473	-
	1	10/10	0/10	-	-	17.7	**	3.09	**	-	-	-	-	417	**
2-Mercaptobenzimidazole (1)	0	0/5	0/5	0/5	0/5	4.2		2.85		5.7		2.92		224	155
	2	0/5	0/5	0/5	0/5	5.2		3.01		5.9	*	2.84		223	150
	10	5/5	0/5	5/5	0/5	17.9	*	3.71	**	18.9	*	3.27	**	218	155
	50	5/5	0/5	5/5	0/5	53.0	**	4.25	**	63.9	**	4.35	**	153	**
2-Mercaptobenzimidazole (2)	0	0/10	0/10	0/10	0/10	6.89		3.12		8.91		2.97		332	207
	1.2	5/10	0/10	4/10	0/10	7.59		3.23		8.81		2.91		347	205
	4	10/10	0/10	9/10	0/10	14.4	*	3.27		14.0		3.08		338	201
	12	10/10	0/10	10/10	0/10	22.4	**	3.34	**	28.6	**	3.31*	**	263	**
	40	10/10	0/10	9/9	0/10	43.4	**	4.28	**	51.8	**	4.10*	**	228	**
Ethylenethiourea	0	0/5	0/5	0/5	0/5	8.02		3.21		11.46		3.12		326	204
	1	0/5	0/5	0/5	0/5	7.34		3.36		11.4		3.27		323	195
	6	4/5	0/5	0/5	0/5	10		3.47		11.5		3.23		326	202
	30	5/5	5/5	5/5	5/5	14.9	*	3.51		18.4	**	3.54	**	273	**
Phenobarbital sodium	0	-	-	-	-	6.8		2.60		8.4		2.54		-	-
	0.8	-	-	-	-	6.3		2.69	**	7.8		2.54		-	-
	8	-	10/10	-	10/10	7.2		2.93	**	8.4		2.91	**	-	-
	80	10/10	10/10	10/10	10/10	8.0		4.06	**	9.1		4.13	**	-	-
3,5-Xylidine	0	0/6	0/6	0/6	0/6	5.1		3.16		6.5		3.03		397	218
	10	0/6	0/6	0/6	0/6	5.3		3.04		6.4		2.98		394	210
	60	1/6	3/6	0/6	0/6	5.5		3.45		7.6		3.17		414	227
	360	6/6	6/6	6/6	6/6	7.6	**	4.09	**	9.1	**	4.14	**	353	214
2-Ethylhexan-1-yl diphenyl phosphate	0	0/6	0/6	0/6	0/6	6.40		4.00		8.80		3.97		407	254
	4	0/6	0/6	0/6	0/6	6.40		4.09		7.80		4.13		408	249
	20	0/6	0/6	0/6	0/6	5.60		4.08		8.30		3.87		406	252
	100	2/6	2/6	2/6	4/6	6.40		4.68	**	9.00	**	4.33	**	405	242
	500	6/6	6/6	5/6	6/6	7.70		5.58	**	10.20		5.76	*	372	242
1,1,2,2-Tetrabromoethane	0	0/5	0/5	0/5	0/5	7.4		3.00		10.8		3.05		314	195
	6	0/5	0/5	0/5	0/5	8.1		3.17		11.1		3.18		315	193
	20	0/5	3/5	0/5	3/5	8.3		3.53	*	11		3.4		326	206
	60	1/5	4/5	2/5	5/5	8.5		3.97	**	11.3		3.82	*	322	207
	200	4/5	5/5	5/5	5/5	9.30		4.88	**	12.50		4.75	**	307	193
Dicyclopentan-1-ylsilanediol	0	0/10	0/10	0/10	0/10	6.33		2.51		8.91		2.36		565	307
	40	0/10	0/10	0/10	0/10	6.74		2.55		8.37		2.32		541	306
	200	0/10	0/10	0/10	2/10	7.02		2.71	*	8.73		2.57		540	300
	1000	3/10	8/10	7/10	10/10	7.61		2.94	**	9.49		3.17	**	524	282
2-Benzotriazol-2-yl-4,6-di-tert-butylphenol	0	0/5	0/5	0/5	0/5	5		2.91		9		3.05		323	209
	0.5	0/5	3/5	0/5	0/5	5		3.53	*	7		3.15		328	217
	2.5	0/5	5/5	0/5	0/5	6		5.05	*	8		3.11		338	216
	12.5	0/5	5/5	0/5	5/5	6		6.51	*	8		3.89	**	332	222
	62.5	2/5	5/5	2/5	5/5	7		7.41	*	9		5.50	**	329	226
4-Methyl-2,4-diphenylpent-1-ene	0	2/6	0/6	-	-	4.5		2.67		-		-		496	-
	45	1/6	1/6	-	-	4.8		3.07	*	-		-		494	-
	180	3/6	6/6	-	-	5.1		3.64	**	-		-		474	-
	720	6/6	6/6	-	-	6.6	**	4.49	**	-		-		446	*

sig.: significant change, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Antithyroid response to chemical substances

Table 3. Relative organ weight increase of the thyroid gland and liver at two high doses compared to the control and ratio of increase of thyroid gland versus that of liver.

	ReWI rate				TLR ratio	
	Male		Female		Male	Female
	Thyroid	Liver	Thyroid	Liver		
Thioamide						
Propylthiouracil						
0.01 mg/Control	0.94	1.00	-	-	0.94	-
1 mg/Control	2.77	0.86	-	-	3.21	-
2-Mercaptobenzimidazole (1)						
12 mg/Control	3.25	1.07	3.21	1.11	3.04	2.88
40 mg/Control	6.30	1.37	5.81	1.38	4.59	4.21
2-Mercaptobenzimidazole (2)						
10 mg/Control	4.26	1.30	3.32	1.12	3.27	2.96
50 mg/Control	12.60	1.49	11.20	1.49	8.46	7.53
Ethylenethiourea						
6 mg/Control	1.25	1.08	1.00	1.04	1.15	0.97
30 mg/Control	1.86	1.09	1.61	1.13	1.70	1.42
Non-thioamide						
Phenobarbital sodium						
8 mg/Control	1.06	1.13	1.00	1.15	0.94	0.87
80 mg/Control	1.18	1.56	1.08	1.63	0.75	0.67
3,5-Xylidine						
60 mg/Control	1.08	1.09	1.17	1.05	0.99	1.12
360 mg/Control	1.49	1.29	1.40	1.37	1.15	1.02
2-Ethylhexan-1-yl diphenyl phosphate						
100 mg/Control	1.00	1.17	1.02	1.09	0.85	0.94
500 mg/Control	1.20	1.40	1.16	1.45	0.86	0.80
1,1,2,2-Tetrabromoethane						
60 mg/Control	1.15	1.32	1.05	1.25	0.87	0.84
200 mg/Control	1.26	1.63	1.16	1.56	0.77	0.74
Dicyclopentan-1-ylsilanediol						
200 mg/Control	1.11	1.08	0.98	1.09	1.03	0.90
1000 mg/Control	1.20	1.17	1.07	1.34	1.03	0.79
2-Benzotriazol-2-yl-4,6-di-tert-butylphenol						
12.5 mg/Control	1.20	2.24	0.89	1.28	0.54	0.70
62.5 mg/Control	1.40	2.55	1.00	1.80	0.55	0.55
4-Methyl-2,4-diphenylpent-1-ene						
180 mg/Control	1.13	1.36	-	-	0.83	-
720 mg/Control	1.47	1.68	-	-	0.87	-

ReWI was calculated as rate of weight increase of the relative organ weight at the administered dose in comparison with the control, based on the corresponding data presented in Table 2.

ter might be useful to support speculation as to possible mechanisms.

Hood *et al.* (1999) administered three substances to rats for 90 days and obtained the time course of relative weights of the liver and thyroid gland. On the basis of the data at 60 days, we calculated the ReWI of thyroid gland and liver, and TLR ratio (Table 4). The ratio of propylthiouracil was 6.48. The ratio of non-thioamide derivatives was found to be 1.01 for phenobarbital and 1.14 for

pregnenolone-16 α -carbonitrile, both of which are inducers of drug-metabolizing enzymes in the rat liver. These results are consistent with our results, thus corroborating the usefulness of this value in predicting the possible mechanism of hypothyroidism, primarily when new toxicity test data becomes available.

In conclusion, we quantified the differences in response of the thyroid gland versus liver for chemicals that produce hypothyroidism. There was a clear difference in

Table 4. Rate of relative weight increase of the thyroid gland and liver at a specified dose in comparison with the control, and the ratio of the thyroid weight increase versus that of liver.

		ReWI rate		TLR ratio
		Thyroid	Liver	
Propylthiouracil				
	50 ppm	5.46	0.84	6.48
Phenobarbital				
	1200 ppm	1.44	1.42	1.01
Pregnenolone-16 α -carbonitrile				
	500 ppm	1.53	1.34	1.14

The relative weights of the liver and thyroid gland at 60 days were determined based on Figs. 1 and 4 in Hood *et al.* (1999).

TLR ratio between the thioamides and non-thioamides analyzed in this study. Because of this clear distinction, we believe this parameter to be of potential use for speculating on the possible mechanism of thyroid hyperplasia/hypertrophy found in repeated-dose toxicity studies of chemical substances.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants from the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) (2007 - 2010) and the Ministry of Economy, Trade and Industry (METI) (2011) for the "Development of Hazard Assessment Techniques Using Structure-activity Relationship Methods."

REFERENCES

- Abe, T., Kobayashi, K., Nishikawa, S., Yamada, T., Hasegawa, R., Sakuratani, Y., Yamada, J., Hirose, A., Kamata, E., Yoshida, M., Sunouchi, M., Honma, M., Yamashita, T., Sakai, K., Yamazoe, Y. and Hayashi, M. (2012): Development of Hazard Evaluation Support System Database (HESS DB). *Pharm stage*, **12**, 39-47.
- Astwood, E.B., Bissell, A. and Huges, A.M.C. (1945): Further studies on the chemical nature of compounds which inhibit the function of the thyroid gland. *Endocrinology*, **37**, 456-481.
- Capen, C.C. (2008): Toxic Responses of the Endocrine System. *In: Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons 7th edition* (Curtis D, Klaassen ed.), pp.807-879. McGraw Hill Medical, New York.
- Doerge, D.R. (1986): Mechanism-based inhibition of lactoperoxidase by thiocarbamide goitrogens. *Biochemistry*, **25**, 4724-4728.
- Doerge, D.R. (1988): Mechanism-based inhibition of lactoperoxidase by thiocarbamate goitrogens. Identification of turnover and inactivation pathways. *Biochemistry*, **27**, 3697-3700.
- Doerge, D.R. and Takazawa, R.S. (1990): Mechanism of thyroid peroxidase inhibition by ethylenethiourea. *Chem. Res. Toxicol.*, **3**, 98-101.
- Finch, J.M., Osimitz, T.G., Gabriel, K.L., Martin, T., Henderson, W.J., Capen, C.C., Butler, W.H. and Lake, B.G. (2006): A mode of action for induction of thyroid gland tumors by Pyrethrins in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **214**, 253-262.
- Freyberger, A. and Ahr, H.J. (2006): Studies on the goitrogenic mechanism of action of N,N,N',N'-tetramethylthiourea. *Toxicology*, **217**, 169-175.
- Hayashi, M. and Sakuratani, Y. (2011): Development of an evaluation support system for estimating repeated-dose toxicity of chemicals based on chemical structure. *In New Horizons in Predictive Toxicology: Current Status and Application (Rsc Drug Discovery)* (Wilson, A.G.E., ed.), Chap. 3, Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Hood, A., Liu, J. and Klaassen, C.D. (1999): Effects of phenobarbital, pregnenolone-16 α -carbonitrile, and propylthiouracil on thyroid follicular cell proliferation. *Toxicol. Sci.*, **50**, 45-53.
- Hood, A. and Klaassen, C.D. (2000): Differential effects of microsomal enzyme inducers on *in vitro* thyroxine (T(4)) and triiodothyronine (T(3)) glucuronidation. *Toxicol. Sci.*, **55**, 78-84.
- Kawasaki, Y., Umemura, T., Saito, M., Momma, J., Matsushima, Y., Sekiguchi, H., Matsumoto, M., Sakemi, K., Isama, K., Inoue, T., Kurokawa, Y. and Tsuda, M. (1998): Toxicity study of a rubber antioxidant, 2-mercaptobenzimidazole, by repeated oral administration to rats. *J. Toxicol. Sci.*, **23**, 53-68.
- Klaassen, C.D. and Hood, A.M. (2001): Effects of microsomal enzyme inducers on thyroid follicular cell proliferation and thyroid hormone metabolism. *Toxicol. Pathol.*, **29**, 34-40. Review.
- Kojima, S., Sasaki, J., Tomita, M., Saka, M., Ishizuka, K., Kawakatsu, H., Yoshida, T., Kosaka, T., Enomoto, A., Nakashima, N. and Harada, T. (2009): Multiple organ toxicity, including hypochromic anemia, following repeated dose oral administration of phenobarbital (PB) in rats. *J. Toxicol. Sci.*, **34**, 527-39.
- Magnusson, G., Majeed, S.K., Down, W.H., Sacharin, R.M. and Jorgeson, W. (1979): Hepatic effects of xylydine isomers in rats. *Toxicology*, **12**, 63-74.
- McGinty, D.A. and Bywater, W.G. (1945): Antithyroid studies I. The goitrogenic activity of some thioureas, pyrimidines and miscellaneous compounds. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **84**, 342-357.
- MHLW (1996): 2-Mercaptobenzimidazole (583-39-1). *In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals* (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 3, pp.305-331, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (1997a): 3,5-Dimethylaniline (108-69-0). *In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals* (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 5, pp.387-409, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (1997b): Diphenyl 2-ethylhexyl phosphate (1241-94-7). *In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals* (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 5, pp.553-577, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (2001): Dicyclopentylsilanediol (211495-85-1). *In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals* (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 8, pp.1151-1182, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (2003a): Tetrabromoethane (79-27-6). *In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals* (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 10, pp.41-65, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (2003b): 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole (3846-71-7). *In Toxicity Testing Reports of Environmental*

Antithyroid response to chemical substances

- Chemicals (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 10, pp.215-247, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (2005): 2-Imidazolidinethione (96-45-7). In Toxicity Testing Reports of Environmental Chemicals (Ministry of Health, Labor and Welfare ed.), Vol. 12, pp.149-178, Chemicals Investigation Promoting Council, Tokyo.
- MHLW (2007): Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 2,4-diphenyl-4-methyl-1-pentene by oral administration in rats. http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF6362-80-7d.pdf
- Nishikawa, S., Yamashita, T., Imai, T., Yoshida, M., Sakuratani, Y., Yamada, J., Maekawa, A. and Hayashi, M. (2010): Erratum : Thesaurus for histopathological findings in publically available reports of repeated-dose oral toxicity studies in rats for 156 chemicals. *J. Toxicol. Sci.*, **35**, E1-8.
- OECD (1996): OECD Guideline For Testing of Chemicals, No. 422, Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (Original Guideline, adopted 22 March 1996).
- Price, R.J., Walters, D.G., Finch, J.M., Gabriel, K.L., Capen, C.C., Osimitz, T.G. and Lake, B.G. (2007): A mode of action for induction of liver tumors by Pyrethrins in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **218**, 186-195.
- Yamasaki, K., Tago, Y., Nagai, K., Sawaki, M., Noda, S. and Takatsuki, M. (2002): Comparison of toxicity studies based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline no. 407' and the research protocol of 'Pubertal Development and Thyroid Function in Immature Male Rats' with 6-n-propyl-2-thiouracil. *Arch. Toxicol.*, **76**, 495-501.

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

国立医薬品食品衛生研究所
総合評価研究室

小野 敦



要旨

我々の生活は、様々な化学物質により支えられている。化学物質を安全に利用するためには、それぞれの化学物質により懸念される毒性の強さや種類を的確に把握すること、すなわち安全性評価が重要である。化学物質の安全性評価は動物試験を含む様々な試験により行われているが、時間やコストがかかることや動物愛護の観点から、より効率的かつ信頼できる新たな評価手法の開発が求められている。構造活性相関を始めとした *in silico* 評価手法は解決策の一つとして期待され、世界各国で実用化に向けた検討が進められているとともに、米国を始めとした規制当局等において、限られた範囲ではあるが既にリスク評価に用いられている。本稿では、化学物質リスク評価における *in silico* 手法の状況と、我々の研究室における研究を含む、ヒト健康影響分野における評価手法開発の動向を紹介する。

<Summary>

Chemicals provide humans with many conveniences and improve our lives in many ways. Safety information on chemicals is necessary for the proper use and management of chemical substances or the products containing them. Many types of toxicity tests, including animal tests, are necessary for safety assessment of chemicals. However, due to animal welfare concerns, cost and long times necessary for testing, the development of new, reliable and efficient methods is badly needed. The *in silico* approach, which involves structure-activity relationships, is considered to be one promising method and is currently being studied for possible future practical applications. Although in limited scope, *in silico* methods are already used for safety assessment for risk assessment by authorities, such as the EPA in the United States. In this paper, the current state of the use of *in silico* methods in chemical safety assessment will be introduced and will include studies from our laboratory on human health risk assessment.

1. はじめに

我々の生活は、工業用化学物質を始め農薬、食品添加物、化粧品および医薬品など多くの化学物質により支えられている。それら化学物質は、私たちに多くの利便性

を与えてくれる一方で、これまで時に重大な健康被害を引き起こしてきた。そうした過去の教訓から、今日では新たに上市される化学物質については、その用途に応じた安全性評価のための様々な試験が義務付けられている。その一方で今日のような安全性試験が行われる以前

Uses of *in silico* Methods for
Chemical Safety Assessment

ATSUSHI ONO, Ph.D.
Division of Risk Assessment,
National Institute of Health Sciences

から使用されている化学物質の多くについては、安全性評価は行われていない。それらの化学物質については、これまでの使用実績から安全であるかのごとく使用され続けているが、使用量の増大や、新たな用途や使用形態での使用により、これまで報告されていない健康被害が顕在化する可能性は否定できない。化学物質による新たな健康被害の防止のためには早急な安全性評価の実施が望まれるが、安全性未評価のまま流通している化学物質は数万種ともいわれており、それら全てについて動物試験を含む安全性評価のための試験を実施するのは必要となる費用や期間の面から現実的ではない。さらには、動物試験については、動物愛護の観点からもなるべく最小限に留めることが求められており、既存化学物質のみならず新規化学物質の安全性評価においても、より効率的かつ信頼性の高い新たな安全性評価手法の確立が望まれている。近年、これまでに蓄積された試験情報をもとに化学物質の安全性を *in silico* で予測評価する手法が解決策の一つとして期待されており、世界各国で実用化に向けた検討が進められている。

2. 安全性評価に用いられる *in silico* 評価手法

生物活性の *in silico* 予測は、化学物質の生物学的活性がその物質固有の性質によって説明可能であり、したがって化学構造からの予測や既知の類似化合物の活性からの推定が可能であるとの前提に立っている¹⁾。

安全性評価に用いられる *in silico* 手法は、構造活性相関とカテゴリーアプローチに大別される。カテゴリーアプローチでは、化学物質をグループ(カテゴリー)化してカテゴリーに属する物質のデータギャップ(データの無い部分)を他のカテゴリー物質のデータから予測する²⁾。カテゴリーとは、物理化学的性質とヒト健康もしくは環境への有害性や環境中での消失挙動(生分解性や蓄積性)の類似が予想され、これらの性質が化学構造の類似性の結果として規則的なパターンに従うと予想される化学物質グループのことで、グループ化の根拠となる類似性としては、共通の官能基や部分構造、共通の前駆体や分解生成物等が用いられる。カテゴリーに含まれる化学物質の毒性エンドポイントを、構造や作用機序等の類似するカテゴリーメンバーの同じ毒性エンドポイントの実験データより予測して、データ補完する手法をリード

アクロースと呼ぶ。カテゴリー物質の構造や性質からエンドポイントを定性的、定量的に予測する。場合によっては、トレンド解析や外部の構造活性相関モデルを用いてデータギャップを補完する。カテゴリーアプローチの最大の難関は、カテゴリーの定義にある。一般的には、なるべく多くの類似物質を含むカテゴリーは、少数の物質に限定されたカテゴリーよりも信頼性が高い。予測したい毒性エンドポイントについてデータが入手可能な類似物質が存在しなければ、カテゴリーアプローチを行うことはできない。カテゴリーの形成、リードアクロースの妥当性の評価には専門家の判断が必要である。

一方、構造活性相関には、活性に関与すると思われる複数の分子構造既述子や物理的パラメータとの関係を統計的に比較検討し、相関式や判別モデルを構築して定量的もしくは定性的判定を行う(定量的)構造活性相関((Q)SAR)、既知データから評価しようとする生物活性をもたらし特徴的な部分構造を定義し、部分構造の有無もしくは組み合わせた経験則ルールから判定を行うエキスパートシステムなどの手法がある。いずれの手法も既知情報を基にした経験的な判断に基づくものであり、予測の信頼性や適用性は予測モデルやアラート構築に用いられた化学構造の数と生物活性の情報の質に依存する。さらには、十分な情報の無いエンドポイントにはモデル構築そのものができない。構造活性相関解析には、市販・フリーを含む様々なソフトウェアが利用可能である。化学物質の安全性評価に有用なソフトウェアについて、欧州委員会共同研究センター(JRC: Joint Research Centre)より詳細なレビューが公表されているのでそちらを参照するとよい³⁾。

3. 化学物質規制における *in silico* 評価手法利用の現状

in silico 評価手法は、限られた範囲ではあるが既に米国を始めとしたリスク評価機関等で用いられている。以下では各国における利用状況について概説する。

米国の化学物質規制法である Toxic Substances Control Act (TSCA) では、新規化学物質の届出において事業者が特定の試験データの提出を義務付けていない。そのため届出される新規化学物質の多くについては安全性試験データが欠如しており、米国環境保護局(EPA)で

は安全性評価のため様々な *in silico* ソフトウェアを独自に開発して評価に用いている。EPA では、それらのソフトウェアを公開⁹⁾するとともに、企業独自の化学物質スクリーニング評価における *in silico* 評価を推進するため The Sustainable Futures (SF) Initiative を組織してそれらのソフトウェアを用いた化学物質 *in silico* 評価トレーニングを実施している。

欧州の化学物質規制法である REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) では、新規化学物質と既存化学物質の区別なく全化学物質 (1 トン/年 以上) について製造輸入量に応じた安全性試験データの登録を事業者に要求しているが、動物愛護の観点から、試験データの無い化学物質について、登録に必要な情報を得るために代替法の活用と並び、QSAR 等 *in silico* 手法の活用を推奨している⁹⁾。現状では、ヒト健康影響評価に関しては、主に類似物質からのカテゴリアプローチによる登録が主であり、いわゆる QSAR モデルの使用数は少ないが、EU では REACH の施行にあわせて様々な *in silico* 安全性評価に関する研究プロジェクトが進められており、RAECH の本格運用に伴い情報公開が進むことで、新たなモデル開発などの進展が期待される。

一方、我が国の新規化学物質の事前審査制度である化学物質審査規制法 (化審法) では、濃縮性評価について QSAR の活用を一部認めている。また、さらには、平成 23 年度改正により始められた優先評価化学物質のリスク評価において遺伝毒性等の QSAR ツールの活用が検討されている。

OECD では、高生産量化学物質点検プログラム (High Production Volume Chemical (HPV) Programme) により、加盟各国の政府と企業で分担してハザードデータ、ばく露データを収集し、初期リスク評価のための SIDS (スクリーニング用データセット) を作成するプログラム (SIAM: SIDS Initial Assessment Meeting、現在は CoCAM: Cooperative Chemicals Assessment Meeting⁶⁾) を進めており、我が国で評価を担当したジメチルアニリン類⁷⁾を始めとした類縁物質の評価においては、カテゴリアプローチによる一括評価が行われている。また、OECD では、加盟各国における安全性評価における *in silico* 手法の活用を推進するため、規制機関や関係者が共通に利用可能な *in silico* 安全性評価プラットフォームとして OECD QSAR Toolbox (OECD TB)⁸⁾ の開発を進

めている。OECD TB には、各国から提供された化学物質の化学構造情報や毒性情報とともに、加盟各国からの専門家で作成される OECD TB マネジメントグループにより、化学物質の安全性評価に有用であると判断された各種ツールが搭載されており、無償で利用可能である。また、規制目的で用いられる構造活性相関手法の満たすべき条件を OECD 原則⁹⁾として公表している。

EFSA (European Food Safety Authority) や JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) では、食品香料のリスク評価において、毒性学的懸念閾値を包括評価する TTC (Threshold of Toxicological Concern) アプローチが用いられている。TTC 自体は構造活性相関ではないが、EFSA や JECFA の TTC 評価スキームにおける化学物質分類のため Cramer rule と呼ばれる化学構造からの毒性分類法が用いられている。Cramer rule は、1972 年に Cramer により発表された化学構造から懸念される毒性レベルを 3 クラスに分類する手法であり、その後、Munro により拡張が行われた¹⁰⁾。EFSA の scientific committee (科学委員会) では、Cramer rule は、30 年以上前に構築された分類ルールであるが、その後の研究から現在でも有用であると結論している¹¹⁾。

医薬品規制の国際基準を検討する日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) で検討されている遺伝毒性不純物評価のガイドライン (ICH M7) 案¹²⁾においては、遺伝毒性試験結果が無い不純物について、*in silico* 評価を認めている。遺伝毒性の *in silico* 評価のためには、OECD 原則に従う 2 種類の (Q) SAR を用いて行い、そのうち 1 種類はルールベースのエキスパートシステムを、もう 1 種類は統計ベースの手法を用いることとされている。

4. 遺伝毒性の *in silico* 評価

化学物質の発がん性は、ヒトの健康にとって最も重要な毒性の一つである。発がん性物質に関する構造活性相関研究の歴史は長く、1930 年頃には既にベンツピレンの物性と発がん性との関連を明らかにするための研究が行われている。1970 年代になって James & Elizabeth

Miller らは、多くの発がん性化学物質は、求電子性誘導体か、もしくは生体内でそれらに代謝されて、発がん標的組織において DNA やタンパク質などの求核性基と結合し、がんを引き起こすという理論を唱えた¹³⁾。その後、発がん性化学物質 (アルキル化剤、インターカレーターなど) に感受性をもつサルモネラ変異株を用いた Ames 試験¹⁴⁾が開発され、Ames 試験で陽性を示す化学物質の作用は、ほとんど Millers 仮説の範疇で妥当と考えられた。現在では、発がん性物質は作用機序の観点から DNA に直接損傷を与える遺伝毒性発がん物質と、直接的に DNA 損傷を起こすことは無い非遺伝毒性発がん物質に分類され、遺伝毒性発がん物質は Miller 仮説に従った特徴を持ち、それ自体が求電子性であるか、その代謝産物や代謝中間体が求電子性を持つことが示されている。Miller の求電子理論に続いて、Ashby と Tennant は米国 National Toxicology Program の 222 の化学物質の中からげっ歯類発がん性試験陽性と強い相関性を示す 18 種類の構造アラート (SA: Structural Alert) を同定し、発がん性予測モデルを開発した¹⁵⁾。その後の検証で、Ashby の SAR モデルは、発がん性試験結果とは 65% の一致に留まったのに対して、Ames 試験結果とは 78% が一致し¹⁶⁾、遺伝毒性物質に対する予測性が高いことが示された。

Ames 試験に関しては、これまでに多くの *in silico* 予測モデルが開発されている。国立医薬品食品衛生研究所では、国際的に評価の高い幾つかの構造活性相関モデルを用いて Ames 試験予測における有用性について検証を進めている。Hayashi らは、予測アルゴリズムがそれぞれ異なる 3 種の市販ソフトウェア (DEREK、ADMEWORKS、MultiCASE) による SAR モデルの予測結果を組み合わせることにより、各個別モデルの欠点を相補し、Ames 試験の予測精度の向上が可能であることを報告した¹⁷⁾。

3 種のソフトウェアのうち、DEREK は、既知データから陽性を示す特徴的な部分構造が SA として知識ベースとともにデータベース化されており、SA を指標として定性的に予測を行うエキスパートシステム¹⁸⁾である。一方、ADMEWORKS は、化学物質の構造から計算される構造既述子から Ames 試験結果と相関性の高いパラメータを抽出して、多変量解析、パターン認識等により試験結果を予測する¹⁹⁾、さらに、MultiCASE はその中間型であり、統計処理により有意に活性と相関している

部分構造 (BIOPHORE) を検出し、同じ BIOPHORE を持つ化合物セット内における活性の違いを記述子 (MODULATOR) により記述して活性予測を行う²⁰⁾。エキスパートシステムでは、高度な定量予測を行うのは難しいが、予測の根拠 (知識ベース) が容易に確認できることやモデル全体の構造を変えることなく知識ベースの追加拡張を行うことができる等の利点がある。しかし、既知の陽性物質の SA とのマッチングにより予測を行うため、全ての SA とマッチングしなくともその化合物が陰性であるとは判定できない。MultiCASE や ADMEWorks のように数学的手法や統計学的手法を用いる手法では、定量値をもとにモデル構築を行うことで定量的なモデル構築も可能であり、かつ人為的なバイアスは排除されるが、経験的な毒性専門家の知見を反映することは難しい。また、膨大な数の記述子を機械的に生成して選別を行うため学習の過程で偶然の相関によるモデルが構築される可能性がある。

Hayashi らはこれまでの経験から、分子量が 3,000 以上の高分子化合物の大部分は一般に Ames 試験陰性であることなどを考慮した決定樹を構築し、3 つの SAR モデル全てにおいて陽性もしくは陰性の場合に判定を行うことで、単一モデルによる予測に比べ予測率は劇的に向上し、感度 87%、特異性 95%、一致率 94% と非常に高い予測結果を示した。ただし、この決定樹で予測可能な化学物質の割合 (Applicability) は約半分程度 (55%) であった。著者らは、Hayashi らの用いた 3 種の SAR モデルを用いて食品香料 367 物質の Ames 試験データによる検証を行った¹⁷⁾。その結果、感度 47%、特異性 81%、一致率 78% と、特に感度が低い結果となった。感度が低い原因として判定を行ったデータセットの陽性物質が 36 物質と少ないため、数化合物の誤判定により大きく感度が低下したことが挙げられる。一方で、Ames 試験で陽性結果が得られているにもかかわらず 3 種のソフトウェア全てで陰性判定された物質について調査した結果、陽性・陰性の結果が混在する複数の Ames 試験結果が報告されている物質や、メカニズムが酸化的障害によると報告されている物質が含まれており、むしろ妥当な判定結果であろうと考察された。

染色体異常試験は Ames 試験と同様に重要な *in vitro* 遺伝毒性試験項目の一つである。著者らは染色体異常試験についても Ames 試験同様のアプローチによる予測を試みたが、感度、特異性、一致性とも全て Ames 試験に

劣る結果であった。染色体異常試験結果自体が、げっ歯類発がん性試験結果と相関性が低いことも指摘されており、一部の染色体異常陽性結果は遺伝毒性と無関係である可能性がある。染色体異常試験の予測性の向上には、SAR モデルの改良だけでなく染色体異常試験自体の改良も必要と考えられる。

5. *in vivo* 反復毒性の *in silico* 評価

動物試験は安全性評価において非常に重要である。一方で安全性評価における様々な試験のうち最も時間やコストのかかる試験であり、さらには動物愛護の観点から、それを代替するかもしくは少しでも減らすことが可能な手法として *in silico* 手法への期待は高い。しかしながら、これまでのところ類似構造の化学物質の情報をもとにしたカテゴリアプローチによる評価例はあるが、構造活性相関では、TTC 評価における Cramer rule の適用を除いて国際的に認められる *in vivo* 反復毒性についての *in silico* 評価手法は開発されていない。

化学物質が *in vivo* で作用 (毒性) を発現するには、刺激性のような接触部位における反応による場合を除いて、生体に取り込まれる必要がある。創薬研究において、体内吸収性の良くない薬物を判定するための経験則であ

るリビンスキー則²⁰⁾は有名である。具体的には水素結合ドナー (OH と NH) が 5 個以上、水素結合アクセプター (N と O など) が 10 個以上、分子量が 500 以上、分配係数 (LogP) が 5 以上、のいずれかにあてはまる薬物は経口吸収性が良くないとされる。経口アベラリティーの向上は、医薬品であれば、より低用量での薬効発現が期待されるが、化学物質であればより低用量で毒性の発現する可能性がある。さらに、近年の脂溶性と化合物の性質との関係についてのレビュー²¹⁾では、経口吸収性は膜透過性と溶解度、代謝安定性に影響を受け、logP は 0~3 が望ましく、一方で一般毒性については、脂溶性の増加により Promiscuity (いろんなタンパク質に非特異的に結合する性質) が増大し、logP > 3 もしくは logP > 2 で Promiscuity が劇的に増大し、さらに塩基性化合物は酸性や中性化合物に比べて Promiscuity が高く、logP > 3、PSA* < 75 Å² の化合物は毒性リスクが 2.5 倍高まること示されている。

我が国の既存化学物質点検プログラムで反復投与毒性試験 (28 日間試験もしくは生殖発生併合試験) が実施された 233 化合物について、LogP 値 (計算値) と毒性試験における無影響量 (NOEL 値) の関係を解析した結果 (図 1)、LogP 値 = 2~4 の範囲に NOEL 値の低い物質が集中しており、LogP 値の区間ごとに化学物質の NOEL 平均値を計算すると LogP 値 = 2~4 の物質の

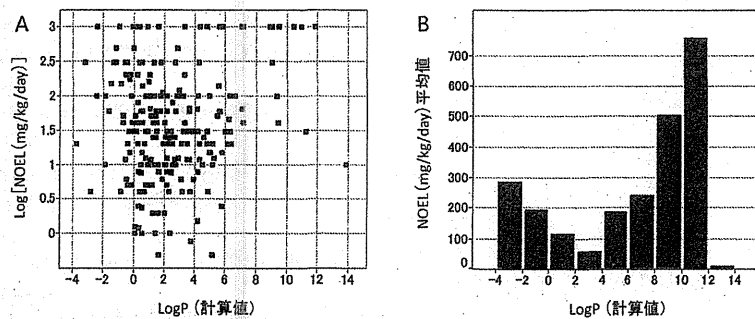


図1 化学物質の脂溶性 (LogP) と毒性 (NOEL) の関係
Figure 1 Relationship of chemical Lipophilicity (LogP) and toxicity (NOEL).

A: logP (計算値) に対する無影響量 (対数値) の分布、B: logP (計算値) 区間ごとに含まれる化学物質の無影響量平均値

* Polar Surface Area: 分子の窒素・酸素原子およびそれらと結合した水素原子の van der Waals 表面積

平均 NOEL 値を谷として LogP が高いもしくは低い化合物群では、LogP 値に従って平均 NOEL 値が高くなる傾向が明らかである。この結果は、化学物質の *in vivo* 毒性評価においても脂溶性が重要な指標となることを示すと同時に、LogP 値 = 2~4 の物質であっても NOEL 値の高い物質は多く、それだけでは不十分であることも示している。

毒性と一口に言っても *in vivo* で発現する毒性変化は多種多様である。さらには、同じ臓器における毒性変化であっても *in vivo* の毒性発現は多様なメカニズムによって引き起こされ、毒性メカニズムごとに特異的な化学構造が関与する可能性が考えられる。構造活性相関による評価のためには、毒性メカニズムごとにモデル構築を行う必要がある。しかし、通常の毒性試験結果から毒性メカニズムを判断することは困難であり、さらに同じメカニズムで毒性発現する相当数の化学物質がなければモデル構築ができないことが、*in vivo* 毒性の予測を困難にしている。著者らは、肝毒性についてメカニズムが異なると想定される主要な病理変化について個別に予測モデルを構築して、それらを組み合わせることで予測精度が向上する予備的な結果を得ており、現在、検証を進めている。しかし、様々な臓器における多様な毒性変化それぞれについて予測モデルを構築するためには、それぞれの毒性変化について解析に適したデータセットの充実が今後の課題としてあげられる。

現在、OECD を中心として毒性発現の分子メカニズムに立脚した複数の評価モデルを用いた評価手法の検討が進められている。すなわち、様々な *in vivo* 毒性について毒性発現に繋がる分子メカニズムである AOP (Adverse Outcome Pathway)²⁰⁾ を明らかにしてそれぞれについて評価モデルを構築して、それらを組み合わせることで *in vivo* 毒性の評価を行おうとするものである。AOP に対する *in silico* 評価系の構築には、毒性反応のきっかけとなる分子イベントである molecular initiating event (MIE) が明確化されており、MIE を評価可能な *in vitro* 評価系が利用可能で、モデル (アラート) 構築のための化合物スクリーニングデータが得られている必要がある。現在、OECD では各国からの提案により様々な毒性についての AOP 開発が進められており、近い将来、主要な *in vivo* 毒性については、*in silico* 評価が可能となるかもしれない。

6. おわりに

全ての化学物質の動物試験を含む安全性試験を *in silico* のみもしくは *in vitro* のみで完全に代替することは、残念ながら不可能であろう。しかし、*in silico* と *in vitro* 系を組み合わせた評価ストラテジーを構築し、それにより評価が難しい新規構造物質や毒性エンドポイントについてのみ必要最小限の毒性試験を実施することで、信頼性を損なうことなく効率的な安全性評価を行うストラテジーの構築は十分可能と考えられる。その実現のためには、毒性だけでなく有機化学や分子生物学、情報科学など様々な分野の専門家の協力が重要である。

<参考文献>

- 1) Johnson, M. and Maggiora, G.M.: Concepts and Applications of Molecular Similarity, Wiley, New York (1990)
- 2) ECETOC Technical Report No.116, Brussels (2012)
- 3) M. Fuat Gatnik and A. Worth: Review of Software Tools for Toxicity Prediction, JRC Scientific and Technical Reports (2010)
- 4) <http://www.epa.gov/oppt/sf/tools/methods.htm>
- 5) ECHA : The use of alternatives to testing on animals for the REACH Regulation (2011)
- 6) OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme: <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/oecd-cooperativechemicalsassessmentprogramme.htm>
- 7) SIDS initial assessment profile for Dimethylaniline Category (COCAM 3, 16-18 October 2012) : <http://webnet.oecd.org/hpy/ui/handler.axd?id=1b502fa5-f992-41d5-adff-d77cd617739d>
- 8) OECD QSAR Toolbox: <http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/theoecdqsartoolbox.htm>
- 9) OECD : Guidance document on the validation of (quantitative) structure-activity relationships [(Q) SAR] models : OECD Series on Testing and Assessment No.69 (2007)
- 10) Munro, I.C., Ford, R.A., Kennepohl, E., and Sprenger, J.G.: Food Chem. Toxicol., 34, 829-67 (1996)
- 11) EFSA Scientific Committee: EFSA Journal 10 (7):2750 (2012)

- 12) M7 Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM347725.pdf>
- 13) Miller, J.A. and Miller, E.C.: *Cancer*, 47, 2327-2345 (1981)
- 14) Ames, B.N., *Cancer* 53, 2030 (1984)
- 15) Ashby, J. and Tennant, R.W.: *Mutat. Res.*, 204, 17-115 (1988)
- 16) Benigni, R. and Bossa, C.: *Mutat. Res.*, 659, 248-61 (2008)
- 17) Hayashi, M., Kamata, E., Hirose, A., Takahashi, M., Morita, T., and Ema, M.: *Mutat. Res.*, 588, 129-35 (2005)
- 18) Greene, N., Judson, P.N., Langowski, J.J., and Marchant, C. A.: *SAR QSAR Environ. Res.*, 10, 299-314 (1999)
- 19) Stuper, A.J., and Jurs, P.C.: *J. Chem. Inf. Model*, 16, 99-105 (1976)
- 20) Klopman, G.: *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 38, 78-81 (1998)
- 21) 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.: *Food. Chem. Toxicol.*, 50, 1538-46 (2012)
- 22) Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., and Feeney, P.J.: *Adv. Drug Delivery Rev.*, 46, 3-26 (2001)
- 23) Waring MJ.: *Expert Opin. Drug Discov.*, 5, 235-48 (2010)
- 24) OECD Adverse Outcome Pathway Programme : <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/molecularscreeningandtoxicogenomics.htm>

略歴

小野 敦(おの あつし) 博士(薬学)

- 1992年 北海道大学大学院薬学研究科修士課程 修了
- 1992年 国立衛生試験所 (現・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 毒性部 研究員
- 2000年 薬学博士号取得 (昭和大学薬学部)
- 2003年 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 毒性部主任 研究官
- 2005年 医薬基盤研究所 トキシコゲノミクスプロジェクト 主任 研究員
- 2007年 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 毒性部主任 研究官
- 2008年 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 総合評価研究室 主任 研究官

食品中化学物質のリスク評価について

— 自社製品についてリスクプロファイルを作成しよう

国立医薬品食品衛生研究所
安全情報部 第三室長

畝山 智香子



要旨

食品は化学的には無数の化合物のかたまりであり、その中には構造や性質がわかっているものから全く不明のものまで多数存在する。私たちはその全てについて知っているわけではないが、それでも製品を安全だとして販売したり、購入して調理して食べたりしている。加工食品の場合、製造業者は食品をゼロから合成するわけではなく原材料を購入し、加工して販売しているのが、消費者にとってはその製品の安全性については製造・販売業者に全責任があると考えられるだろう。実際に商品の原材料や加工工程について最も多くの情報をもっているのは製造業者であろう。従ってその製品にとって何がリスクになりうるのか、どういった注意が必要なのかについては事業者自らが評価しておくことが望ましい。カラメル色素の不純物を例に、リスクプロファイルの作成を薦める。

<Summary>

Food consists of many chemical components which properties are known or unknown. We don't know them exactly, though we are selling, buying, cooking and consuming them as deemed safe. Food manufacturers produce prepackaged foods from many ingredients bought from other companies or farmers. They do not synthesize food from pure chemical, but it is manufacturers' responsibility for safety and quality of the products from consumer's point of view. Actually, it is the manufacture that knows best about the products, for example, how they are processed, what ingredients are used and so on. It is the reason why manufactures are recommended to assess the risk and provide risk management procedure ahead. This paper presents an example, 4-methylimidazole, a contaminants in caramel colors.

1. はじめに

食品には意図的に加えられたものも、そうでないものもあわせて無数の化合物が含まれているが、その全てを知ることは不可能である。現代の日本でも食中毒はそれなりの頻度で発生しているのだが、消費者の間には食べることが時に命の危険を伴うものだという認識はほとんど

どなく、食品は「安全で安心」なのが当然だという感覚が広がっているようだ。そして近年の分析技術の進歩もあって、時に思いがけないものが食品から検出されたということがニュースになる。問題なのはそれがどの程度の量でどの範囲の食品に入っているか、なのであるが、検出されただけで危険だ、許されない、といった論調が相変わらず多い。食品中に含まれる化学物質のリスク

Risk Assessment of Chemicals in
Food - Recommendation of Voluntary
Assessment of Your Own Products

CHIKAKO UNEYAMA Ph.D.
Division of Safety Information on Drug, Food and Chemicals
National Institute of Health Sciences
Ministry of Health and Welfare

【特集】

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)

Progress on OECD Chemicals Programme (23) — CoCAM-2 in Paris, 2012

高橋美加¹、松本真理子¹、宮地繁樹²、菅野誠一郎³、菅谷芳雄⁴、長谷川隆一¹、
平田睦子¹、小野 敦¹、鎌田栄一¹、広瀬明彦¹

- 1) 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総合評価研究室、
2) 一般財団法人化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所、3) 独立行政法人労働安全衛生
総合研究所、4) 独立行政法人国立環境研究所環境リスク研究センター

Mika Takahashi¹, Mariko Matsumoto¹, Shigeki Miyachi², Seiichiro Kanno³,
Yoshio Sugaya⁴, Ryuichi Hasegawa¹, Mutsuko Hirata-Koizumi¹, Atsushi Ono¹,
Eiichi Kamata¹, and Akihiko Hirose¹

- 1) Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of
Health Sciences, Japan, 2) Chemicals Assessment and Research Center, Chemicals
Evaluation and Research Institute, Japan, 3) National Institute of Occupational Safety
and Health, Japan, and 4) Research Center for Environmental Risk,
National Institute for Environmental Studies, Japan.

要旨: 第 2 回 OECD 化学物質共同評価会議 (CoCAM-2) が 2012 年 4 月にフランス
のパリで開催され、日本が担当した 2 物質の初期評価プロファイル (SIAP) (2-*sec*-
ブチルフェノール: CAS 番号 89-72-5、2-ビニルピリジン: CAS 番号 100-69-6) およ
び 2 物質の選択的初期評価プロファイル (ITAP) (2,3-ジブromocoハク酸: CAS 番号
526-78-3、トリイソブチレン: CAS 番号 7756-94-7) について合意が得られた。本稿
では本会議で合意の得られたこれら 4 物質の初期評価文書について紹介する。

キーワード: OECD、SIDS 初期評価会議、化学物質共同評価会議

Abstract: The 2nd Cooperative Chemicals Assessment Meeting (CoCAM-2) was
held in Paris, France. The initial assessment documents of four substances,
2-*sec*-butylphenol (CAS number: 89-72-5), 2-vinylpyridine (CAS number: 100-69-6),
2,3-dibromosuccinic acid (CAS number: 526-78-3), triisobutylene (CAS number:
7756-94-7) were submitted by the Japanese Government. SIDS Initial Assessment
Profile (SIAP) of two substances (CAS numbers: 89-72-5, 100-69-6) or Initial
Targeted Assessment Profile (ITAP) of two substances (CAS numbers: 526-78-3,
7756-94-7) were agreed at the meeting. In this report, the documents of these
substances are introduced.

Keywords: OECD, SIAM, CoCAM

1 はじめに

OECD 加盟各国では高生産量化学物質点検プログラム (High Production Volume Chemical (HPV) Programme) に従い、高生産量化学物質の安全性評価を行ってきた (長谷川ら 1999、江馬 2006)。第 32 回までの初期評価会議 (Screening Information Data Set (SIDS) Initial Assessment Meeting : SIAM) で日本政府が担当した化学物質の評価文書については前報までに紹介しており (高橋ら 2011a、2011b、2012a、2012b、2012c など)、また、SIAM 32 までの各会議内容については松本ら (2009、2010、2011、2012a、2012b など) が報告した。

SIAM 29 から、初期評価プロフィール (SIAP: SIDS Initial Assessment Profile) に加え、選択的初期評価プロフィール (ITAP: Initial Targeted Assessment Profile) についても合意に向けて論議されている。選択的評価は、環境影響またはヒト健康影響に最も関連の強いエンドポイント (評価項目) に焦点を絞って評価する手法として 2009 年に導入された (松本ら 2009)。実際には、国や地域の評価文書を編集したものが選択的評価文書として受け入れられており、必ずしも最も関連の強い評価項目を含むわけではない。日本は 2010 年より「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法) における有害性調査結果を選択的評価として提出している。選択的評価による結論は限定的ではあるものの、国際的に合意された有害性評価文書を増やすという点において有用である。現在、OECD は重要課題として審議物質数を増やすことに取り組んでいる。

SIAM という名称は 2011 年の第 32 回で終了し、現在の名称は化学物質共同評価会議 (CoCAM) である (松本ら 2012c)。プログラム名も HPV 点検プログラムから化学物質共同評価プログラム (CCAP: Cooperative Chemicals Assessment Programme) に変更され、高生産量化学物質以外の物質も取り扱うようになった。第 1 回 CoCAM (CoCAM-1) の日本政府担当物質の評価文書については高橋ら (2013) が紹介し、これまでの会議内容については松本ら (2013a、2013b) が報告している。

本稿では CoCAM-2 で合意に至った日本担当物質の評価文書の概要を紹介する。なお、OECD ガイドラインに則した毒性試験については、そのガイドライン番号を示した。

2 CoCAM-2 で合意された日本担当物質の初期評価内容

2012 年 4 月にパリ (フランス) で開催された CoCAM-2 において、我が国は 2 物質の初期評価および 2 物質の選択的初期評価、計 4 物質について評価文書を提出し、それらの結果は全て合意された。以下、CAS 番号の小さい順に紹介する。

(1) 2-*sec* ブチルフェノール

英名 2-*sec*-Butylphenol (CAS 番号 89-72-5)

1) 曝露状況

本物質の融点は 16°C、沸点は 228°C であり、淡黄色の透明な液体である。樹脂や可塑剤、界面活性剤の中間物である他、日本では農業や液晶の原料として使用される。本物質には蒸気の吸入や皮膚接触による職業曝露の可能性があり、取扱いの際には作業保護の対策が必要である。本物質は中間体や原料であり、消費者製品に含まれないため、本質的に消費者曝露はない。本物質の日本における製造/輸入量の年間総量は、2007 年は 421 トン、2008 年は 265 トンである。

2) 環境影響

媒体別分配割合の予測の結果、本物質が大気・水域・土壌域に等量が連続して放出された場合は、主に水域 (20.7%) と土壌域 (77.4%) に分布し、本物質が水域だけに放出された場合は

主に水域に残留する。本物質の生分解性については、容易に生分解するという結果と生分解性は低いという結果が得られていたが、高濃度の実験条件下における微生物毒性による影響の可能性を考慮して、通常低濃度の環境中では容易に生分解されると判定された。また、魚類の生物濃縮性も低い (BCF: 101.5 [計算値、BCFBFAFWIN ver. 3.01])。

水生生物に対する急性毒性試験について、魚類の半数致死濃度 (LC₅₀) は 6.0 mg/L (96 時間: OECD TG 203)、ミジンコの半数影響濃度 (EC₅₀) は 3.7 mg/L (48 時間、遊泳阻害: OECD TG 202)、エビの LC₅₀ は 1.3 mg/L (96 時間)、藻類の EC₅₀ (72 時間、生長阻害 (速度法): OECD TG 201) は 6.9 mg/L (設定値) または 10 mg/L (実測値)、および微生物の EC₅₀ は 100 mg/L より小 (3 時間、呼吸阻害: OECD TG 209) であった。慢性毒性については、ミジンコの最大無影響濃度 (NOEC) は 0.32 mg/L (21 日間、繁殖阻害: OECD TG 211)、藻類の NOEC は 0.82 mg/L (72 時間、生長阻害 (速度法): OECD TG 201) であった。

<結論>本物質は環境に有害性 (魚類・ミジンコ・藻類の急性毒性値が 1~10 mg/L、ミジンコの慢性毒性値が 1 mg/L 未満) を示す特性を持つ。また、本物質は易生分解性・低生物濃縮性である。

3) 健康影響

ほ乳類を用いた薬物動態試験の情報は得られなかったが、次に示す経口/経皮投与による急性試験で死亡が認められたことから、本物質は消化管/皮膚から吸収されると考えられた。

経口 LD₅₀ は、雌雄 Crj:CD(SD)ラットで 500~1,000 mg/kg bw (溶媒: コーン油。OECD TG 401)、雌雄 SD ラットで 200~2,000 mg/kg bw (溶媒: ラッカセイ油。OECD TG 401)、雌雄 CD ラットで 340 mg/kg bw (原液)、モルモットでは 600~2,400 mg/kg bw であった。ラットにおいて、姿勢・行動・呼吸への影響、消化器官や呼吸器官に病変が認められた。経皮 LD₅₀ はウサギで 5,560 mg/kg bw、モルモットでは 1,500~3,000 mg/kg bw であった。吸入 LD₅₀ はラットで 1.78 mg/L (蒸気。4 時間曝露) であった。

ウサギの皮膚に対して腐食性が認められ (4 試験のうち 1 つは OECD TG 404 試験)、眼に対しては不可逆的な刺激性が認められた (ドレイズ法)。皮膚感作性に関する動物試験のデータやヒトの症例報告は得られなかった。また、OECD QSAR ツールボックスを用いた皮膚感作性プロファイリングでは陰性であった。

ラットに交配前 2 週間および交配期間を含め、雄では計 42 日間、雌では分娩後哺育 3 日まで (計 49 日間)、0、12、60 または 300 mg/kg bw/day を強制経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422) において、死亡例はみられなかった。300 mg/kg bw/day の雌雄で投与後の一時的流涎、自発運動の低下、腹側臥位、歩行失調、半眼がみられ、60 mg/kg bw/day の雄では投与後の一時的流涎、自発運動の低下がみられた。300 mg/kg bw/day の雌雄で相対肝重量の増加が認められ、雄では小葉中心性肝細胞肥大がみられた。これらから **反復投与毒性の NOAEL は、雄で 12 mg/kg bw/day、雌では 60 mg/kg bw/day とされた。**また、生殖発生への毒性影響は認められなかったことから、**生殖発生毒性の NOAEL は 300 mg/kg bw/day とされた。**

細菌を用いる復帰突然変異試験 (OECD TG 471 および 472) は S9mix の存在/非存在下で陰性、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (OECD TG 473) は S9mix の存在/非存在下で陽性であった。In vivo 小核試験 (OECD TG 474) の結果は陰性であった。これらの結果から、本物質は in vivo での遺伝毒性はないとされた。

<結論>本物質はヒトの健康に有害性 (眼および皮膚刺激性、反復投与毒性) を示す特性を持つ可能性がある。

(2) 2-ビニルピリジン

英名 2-Vinylpyridine (CAS 番号 100-69-6)

1) 曝露状況

本物質の融点は-100°Cより低く、沸点は 161.7°Cであり、常温で刺激臭を伴う無色の液体である。ポリビニルピリジンポリマー製造用のモノマーとして使用され、合成ゴム、写真フィルム、およびイオン交換樹脂、並びに医薬品にも用いられる。日本では主に自動車タイヤコード接着剤用樹脂、医薬品および界面活性剤の合成原料として使用される。

本物質には蒸気の吸入や皮膚接触による職業曝露の可能性があり、取扱いの際には作業員保護の対策が必要である。本物質は中間体や原料であり、消費者製品に含まれないため、本質的に消費者曝露はない。本物質の日本における製造/輸入量の年間総量は、673~958 トン (2005~2007 年) であり、米国では 2006 年に百万~千万ポンド (454~4,540 トン) の間であった。

2) 環境影響

媒体別分配割合の予測の結果、本物質が大気・土壌域・水域に等量が連続して放出された場合は主に土壌域 (73.7%) と水域 (25.6%) に分布する。また、本物質は容易に生分解されないが、魚類の生物濃縮性は低い (BCF: 4.82 [計算値])。

水生生物に対する急性毒性試験について、魚類の LC₅₀ は 6.5 mg/L (96 時間: OECD TG 203)、ミジンコの EC₅₀ は 9.5 mg/L (48 時間、遊泳障害: OECD TG 202)、藻類の EC₅₀ (72 時間、生長障害 (速度法): OECD TG 201) は 62 mg/L であった。慢性毒性については、ミジンコの NOEC は 0.90 mg/L (21 日間、繁殖障害: OECD TG 211。試験終了時に生きている親の数あたりの若齢ミジンコの総数に基づく)、<0.22 mg/L (21 日間、繁殖障害: OECD TG 211。試験開始時の親の数あたりの若齢ミジンコの総数に基づく)、藻類の NOEC は 27 mg/L (72 時間、生長障害 (速度法): OECD TG 201) であった。

<結論>本物質は環境に有害性 (魚類・ミジンコ・藻類の急性毒性値が 1~100 mg/L、ミジンコの慢性毒性値が 1 mg/L 未満) を示す特性を持つ。また、本物質は易生分解性ではないが、低生物濃縮性である。

3) 健康影響

ほ乳類を用いた薬物動態試験の情報は得られなかったが、次に示す経口/経皮投与による急性試験で死亡が認められたことから、本物質は消化管/皮膚から吸収されると考えられた。

経皮 LD₅₀ はウサギで 640 mg/kg bw、モルモットでは 160 mg/kg bw であった。経口 LD₅₀ はラットで 50~300 mg/kg bw (OECD TG 423) であり、毒性徴候として流涎、軟便、口周囲や肛門周囲の汚れ、頻呼吸、衰弱、脱力感、震え、血管拡張、食欲不振、および脚と耳介の発赤がみられた。ヒトにおける吸入曝露により、頭痛、吐き気、神経過敏、食欲不振などの全身症状を引き起こした (二次資料による情報)。

原液への曝露でウサギの眼に対して重度の刺激性、ウサギの皮膚に対しては腐食性が認められた。また、モルモットの皮膚に対して重度の刺激性が認められた。ヒトの皮膚、眼、気道に対して刺激性を引き起こした (二次資料による情報)。

ラットを用いた反復経口投与試験には、信頼性のあるものとして 4 つの試験があり、以下の 2 試験 (28 日間・92 日間反復投与試験) が主要な情報である。

ラットに 0、12.5、50 または 200 mg/kg bw/day の本物質を強制経口投与した 28 日間反復経口投与毒性試験において、死亡例は認められなかった。200 mg/kg bw/day の雄雌で流涎、雄で体重と摂餌量の低値が認められた。200 mg/kg bw/day で、精巢の相対重量の高値、雌に脾臓の絶対・相対重量の低値と肝臓の相対重量の高値が認められた。50 mg/kg bw/day 以上で、雄雌の胃に扁平上皮過形成と粘膜下浮腫、雌の腺胃に粘膜下浮腫やびらんが認められた。胃への毒性影響に基づいて、局所および全身影響に関する本試験における反復投与毒性の NOAEL は雌

雄ともに 12.5 mg/kg bw/day とされた。

92 日間 (週 5 日)、ラットに 0、20、60 または 180 mg/kg bw/day の本物質を強制経口投与した反復経口投与毒性試験において、死亡例は認められなかった。60 mg/kg bw/day 以上で AST の低値および肝臓の相対重量の高値、20 mg/kg bw/day 以上の雄、180 mg/kg bw/day の雌に腎臓の相対重量の高値が認められた。また、20 mg/kg bw/day 以上で胃上皮の角化亢進および表皮肥厚が認められた。これらから局所および全身影響に関する本試験における 反復投与毒性の LOAEL は 20 mg/kg bw/day とされた。

その他の 2 試験を含め、局所および全身影響に関する 反復投与毒性の NOAEL は雌雄ともに 12.5 mg/kg bw/day とされた。

雌雄ラットに交配前 2 週間から交配期間を含み、雄では計 42 日間、雌では分娩後哺育 3 日まで (最大 47 日間)、0、20、50 及び 125 mg/kg bw/day を強制経口投与した簡易生殖毒性試験 (OECD TG 421) において、20 mg/kg bw/day 以上で雄雌の親動物に一般毒性 (胃の扁平上皮過形成および過角化) がみられた。125 mg/kg bw/day において、雌の妊娠末期から分娩終了までの間に 3 例が死亡し、2 例は難産のため安楽死させられた。さらに哺育 0~1 日に 4 例が死亡し、残りの 3 例も哺育 1~4 日に全児が死亡したことから安楽死させられた。また、妊娠期間の体重増加量の低値および哺育 0 日の体重の低値が認められた。雌 2 例に連続非発情、雌 1 例に性周期異常がみられ、さらに、哺育行動の異常および喰殺が認められた。さらに、精巢の精子形成サイクルの変化がみられたが、受胎率に影響は認められなかった。50 mg/kg bw/day では、雌の 1 例ずつが難産 (全て死産) と哺育 0 日の全児死亡から安楽死させられた。哺育 0~4 日に 50 mg/kg bw/day 以上で児の死亡がみられたことから本物質の発生影響が示唆された。また、20 mg/kg bw/day と 50 mg/kg bw/day で哺育 1 日と 4 日に児体重の低値が認められた。いずれの児においても本物質投与に関連した形態異常は認められなかった。50 mg/kg bw/day での難産に基づき、生殖毒性の NOAEL は 20 mg/kg bw/day とされ、また、最低用量 20 mg/kg bw/day での児体重の低値に基づき、発生毒性の LOAEL は 20 mg/kg bw/day とされた。

複数の、細菌を用いる復帰突然変異試験 (OECD TG 471、472 試験を含む) で陽性結果が得られており、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (OECD TG 473) でも陽性であった。これらの結果から、本物質は *in vitro* で遺伝毒性を示すとされた。

<結論> 本物質はヒトの健康に有害性 (急性経口/経皮毒性、皮膚/眼/呼吸器官への刺激性、皮膚感作性、反復投与毒性、*in vitro* 遺伝毒性、生殖/発生毒性) を示す特性を持つ可能性がある。

(3) 2,3-ジブロモコハク酸

英名 2,3-Dibromosuccinic acid (CAS 番号 526-78-3)

化審法既存化学物質の評価結果に基づき選択的初期評価が行われた。評価項目は健康影響 (急性毒性、反復投与毒性、*in vitro* 遺伝毒性) である。

1) 曝露状況 [参考情報]

本物質は標準状態で結晶性の固体である。本物質は日本では医薬品、防腐剤、殺菌剤の原料として使用されるが、日本での製造または輸入量については公表されていない。本物質にはその立体構造から D 体、L 体、DL 体、メソ体があるが、以下の試験では区別されていない。

2) 健康影響

ラットの単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) において、最高用量の 2,000 mg/kg bw でも死亡や毒性徴候は認められず、経口 LD₅₀ は 2,000 mg/kg bw より大きい。

ラットに 0、20、140 または 1,000 mg/kg bw/day の本物質を強制経口投与した 28 日間反復経口投与毒性試験において、最高用量の 1,000 mg/kg bw でも死亡や毒性徴候は認められず、反

復投与毒性の NOAEL は雄雌ともに **1,000 mg/kg bw/day** とされた。

細菌を用いる復帰突然変異試験およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験は共に S9mix の存在/非存在下で陰性であった。これらの結果から、本物質は *in vitro* での遺伝毒性はないとされた。

<結論> 今回の評価項目に関する限り、本物質はヒトの健康への有害性が低い。

(4) トリイソブチレン

英名 Triisobutylene (CAS 番号 7756-94-7)

化審法既存化学物質の評価結果に基づき選択的初期評価が行われた。評価項目は健康影響（急性毒性、反復投与毒性、*in vitro* 遺伝毒性）である。

1) 曝露状況 [参考情報]

本物質は分枝鎖異性体の混合物である。融点は -76°C、沸点は 180°C であり、標準状態で無色の液体である。本物質は潤滑油の添加材や界面活性剤の原料として、また、ゴム製品やオイル添加剤、モーター燃料の製造に使用されることから、皮膚接触や吸入による職業曝露の可能性がある。本物質を含むアルケン類 (C=10~50) の日本での製造または輸入量は年間 10,000~100,000 トン (2007 年) である。

2) 健康影響

ラットの単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) において、最高用量の 2,000 mg/kg bw でも死亡は認められず、経口 LD₅₀ は 2,000 mg/kg bw より大きい。毒性徴候として雌雄で自発運動の低下と下痢が認められた。

ラットに 0、30、150、または 750 mg/kg bw/day の本物質を強制経口投与した 28 日間反復経口投与毒性試験において、150 mg/kg bw/day 以上の雌に赤血球数の低値が認められた。750 mg/kg bw/day において、雄雌に血中アルブミンの高値、雄に血中クレアチニンの高値、雄雌に尿量の高値・比重の低値が認められた。150 mg/kg bw/day 以上の雄と 750 mg/kg bw/day の雌に肝臓の相対重量の高値、150 mg/kg bw/day 以上の雄に腎臓の相対重量の高値が認められた。150 mg/kg bw/day 以上において、雄雌に肝細胞腫脹、雄の尿細管に好酸性小体 (α -2u グロブリン腎症の可能性はあるが免疫染色による確認は行われていない) が認められた。これらから、**反復投与毒性の NOAEL** は雌雄ともに **30 mg/kg bw/day** とされた。

細菌を用いる復帰突然変異試験およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験は共に S9mix の存在/非存在下で陰性であった。

<結論> 今回の評価項目に関して、本物質はヒトの健康に有害性（反復投与毒性）を示す特性を持つ可能性がある。

参考文献：

1. 江馬 眞 (2006) : OECD の高生産量化学物質安全性点検プログラムとその実施手順. 化学生物総合管理, 2, 83-103.
2. 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 (2011a) : 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, 7, 47-45.
3. 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 (2011b) : OECD 化学物質対策の動向 (第 18 報) — 第 29 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2009 年ハーグ). 化学生物総合管理, 7, 86-91.

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 (2012a): OECD 化学物質対策の動向 (第 19 報) —第 30 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2010 年パリ). 化学生物総合管理, 8, 47-53.
5. 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 (2012b): OECD 化学物質対策の動向 (第 20 報) —第 31 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2010 年オックスフォード). 化学生物総合管理, 8, 54-60.
6. 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 (2012c): OECD 化学物質対策の動向 (第 21 報) —第 32 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2011 年パリ). 化学生物総合管理, 8, 116-172.
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, 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.
8. 長谷川隆一, 中館正弘, 黒川雄二 (1999): OECD 化学物質対策の動向. J. Toxicol. Sci., 24, app. 11-19.
9. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2009): OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 28 回初期評価会議概要. 化学生物総合管理, 5, 201-209.
10. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2010): OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 29 回初期評価会議概要. 化学生物総合管理, 6, 189-198.
11. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2011): OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 30 回初期評価会議概要. 化学生物総合管理, 7, 92-98.
12. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2012a): OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 31 回初期評価会議概要. 化学生物総合管理, 8, 28-36.
13. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2012b): OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 32 回初期評価会議概要. 化学生物総合管理, 8, 37-46.
14. 松本真理子, 高橋美加, 平田睦子, 小野敦, 広瀬明彦 (2012c): OECD 高生産量化学物質点検プログラムから OECD 化学物質共同評価プログラムへ. 化学生物総合管理, 8, 173-233.
15. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦 (2013a): 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. 化学生物総合管理, 9, 92-99.
16. 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 長谷川隆一, 広瀬明彦 (2013b): 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. 化学生物総合管理, 9, 100-111.

【特集】

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)

Progress on OECD Chemicals Programme (22) — CoCAM-1 in Paris, 2011

高橋美加¹、松本真理子¹、宮地繁樹²、菅野誠一郎³、菅谷芳雄⁴、平田睦子¹、
中嶋徳弥¹、小野 敦¹、鎌田栄一¹、広瀬明彦¹

1) 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総合評価研究室、
2) 一般財団法人 化学物質評価研究機構安全性評価技術研究所、3) 独立行政法人
労働安全衛生総合研究所、4) 独立行政法人 国立環境研究所環境リスク研究センター

Mika Takahashi¹, Mariko Matsumoto¹, Shigeki Miyachi², Seiichiro Kanno³,
Yoshio Sugaya⁴, Mutsuko Hirata-Koizumi¹, Noriya Nakajima¹, Atsushi Ono¹,
Eiichi Kamata¹, and Akihiko Hirose¹

1) Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Japan, 2) Chemicals Assessment and Research Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan, 3) National Institute of Occupational Safety and Health, Japan, and 4) Research Center for Environmental Risk, National Institute for Environmental Studies, Japan.

要旨: 第 1 回 OECD 化学物質共同評価会議 (CoCAM-1) が 2011 年 10 月にフランスのパリで開催され、日本が担当した 2 物質の初期評価プロファイル (SIAP) (1,1,1-トリス(ヒドロキシメチル)エタン: CAS 番号 77-85-0、チオフェン: CAS 番号 110-02-1) および 2 物質の選択的初期評価プロファイル (ITAP) (1,2-ビス(ステアロイルアミノ)エタン: CAS 番号 110-30-5、3-ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウム: CAS 番号 127-68-4) について合意が得られた。本稿では本会議で合意の得られたこれら 4 物質の初期評価文書について紹介する。

キーワード: OECD、SIDS 初期評価会議、化学物質共同評価会議

Abstract: The 1st Cooperative Chemicals Assessment Meeting (CoCAM-1) was held in Paris, France. The initial assessment documents of four substances, 1,1,1-tris(hydroxymethyl)ethane (CAS number: 77-85-0), thiophene (CAS number: 110-02-1), 1,2-bis(stearoylamino)ethane (CAS number: 110-30-5), sodium 3-nitrobenzenesulfonate (CAS number: 127-68-4) were submitted by the Japanese Government. SIDS Initial Assessment Profile (SIAP) of two substances (CAS numbers: 77-85-0, 110-02-1) and Initial Targeted Assessment Profile (ITAP) of two substances (CAS numbers: 110-30-5, 127-68-4) were agreed at the meeting. In this report, the documents of these substances are introduced.

Keywords: OECD, SIAM, CoCAM

1 はじめに

OECD 加盟各国では高生産量化学物質点検プログラム (High Production Volume Chemical (HPV) Programme) に従い、高生産量化学物質の安全性評価を行ってきた (長谷川ら 1999、江馬 2006)。第 32 回までの初期評価会議 (Screening Information Data Set (SIDS) Initial Assessment Meeting : SIAM) で日本政府が担当した化学物質の評価文書については前報までに紹介しており (高橋ら 2011a、2011b、2012a、2012b、2012c など)、また、SIAM 32 までの各会議内容については松本ら (2009、2010、2011、2012a、2012b など) が報告した。

SIAM 29 から、初期評価結果 (SIAP: SIDS Initial Assessment Profile) に加え、選択的初期評価結果 (ITAP: Initial Targeted Assessment Profile) についても合意に向けて論議されている。選択的評価は、環境影響またはヒト健康影響に最も関連の強いエンドポイント (評価項目) に焦点を絞って評価する手法として 2009 年に導入された (松本ら 2009)。実際には、国や地域の評価文書を最小限に編集したものが選択的評価文書として受け入れられており、必ずしも最も関連の強い評価項目を含むわけではない。日本は 2010 年より「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法) における有害性調査結果を選択的評価として提出している。選択的評価による結論は限定的ではあるものの、国際的に合意された有害性評価文書を増やすという点において有用である。現在、OECD は重要課題として審議物質数を増やすことに取り組んでいる。SIAM という名称は第 32 回で終了し、今回からは化学物質共同評価会議 (CoCAM) に変更されたが、会議の内容や進め方は SIAM を引き継いでいる。変更の詳細は松本らの報告 (2012c) に詳しく記載されている。プログラム名も HPV 点検プログラムから化学物質共同評価プログラム (CCAP: Cooperative Chemicals Assessment Programme) に変更され、高生産量化学物質以外の物質も取り扱うようになったことが改称の主な理由の一つである。

本稿では第 1 回 CoCAM (CoCAM-1) で合意に至った日本担当物質の評価文書の概要を紹介する。なお、OECD ガイドラインに則した毒性試験については、そのガイドライン番号を示した。

2 CoCAM-1 で合意された日本担当物質の初期評価内容

2011 年 10 月にパリ (フランス) で開催された CoCAM-1 において、我が国は 2 物質の初期評価および 2 物質の選択的初期評価、計 4 物質について評価文書を提出し、それらの結果は全て合意された。以下、CAS 番号の小さい順に紹介する。

(1) 1,1,1-トリス(ヒドロキシメチル)エタン

英名 1,1,1-Tris(hydroxymethyl)ethane (CAS 番号 77-85-0)

1) 曝露状況

本物質の融点は 204°C、沸点は 286.7°C であり、標準状態で無臭の白色粉末である。品質改良剤、ニス、の製造、アルキド樹脂、ポリエステル樹脂、合成乾性油として使用され、二酸化チタン色素のコーティング剤としても使用される。本物質はミストの吸入や皮膚接触による職業曝露の可能性があり、また、本物質を含む製品の使用による皮膚接触による消費者曝露の可能性もある。現在、日本において本物質の製造はほとんど行われていないが、輸入量は年間 100~1,000 トンである。

2) 環境影響

媒体別分配割合の予測の結果、本物質が大気相・土壌相・水相に等量が連続して放出された場合は、主に土壌相 (61.0%) と水相 (38.7%) に分布する。本物質は容易に生分解されないが、

魚類への生物濃縮性は低い (BCF : 3.2 [計算値])。

水生生物に対する急性毒性試験および延長毒性試験について、魚類の半数致死濃度 (LC₅₀) は 100 mg/L より大 (96 時間 : OECD TG 203)、魚類延長毒性試験の LC₅₀ および最大無影響濃度 (NOEC) はともに 99.8 mg/L より大 (14 日間 : OECD TG 204)、ミジンコの 48 時間半数影響濃度 (EC₅₀) (48 時間、遊泳阻害 : OECD TG 202) および藻類の EC₅₀ (72 時間、生長阻害 (速度法) : OECD TG 201) は、ともに 1,000 mg/L より大であった。慢性毒性については、ミジンコの NOEC は 88.5 mg/L より大 (21 日間、繁殖阻害 : OECD TG 211)、藻類の NOEC は 1,000 mg/L より大 (72 時間、生長阻害 (速度法) : OECD TG 201) であった。

<結論> 本物質は環境に有害性を示さない。また、本物質は易生分解性ではないが、低生物濃縮性である。

3) 健康影響

ラットの単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) において、最高用量の 2,000 mg/kg bw でも死亡や毒性徴候は認められず、経口 LD₅₀ は 2,000 mg/kg bw より大きい。

ラットに交配前 2 週間および交配期間を含め、雄では計 42 日間、雌では分娩後哺育 3 日まで (計 49 日間)、0、100、300 または 1,000 mg/kg bw/day を強制経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422 : ただし血液学検査と血液生化学検査は雄のみに実施) において、本物質投与の影響は最高用量の 1,000 mg/kg bw/day でも認められなかったことから、反復投与毒性の NOAEL は雄雌ともに 1,000 mg/kg bw/day とされた。また、親動物の生殖機能や生殖器への毒性影響も認められず、児の発生に関する毒性影響も認められなかったことから、生殖毒性の NOAEL は雄雌ともに 1,000 mg/kg bw/day、発生毒性の NOAEL も 1,000 mg/kg bw/day とされた。

細菌を用いる復帰突然変異試験 (OECD TG 471 および 472) は S9mix の存在/非存在下で陰性、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (OECD TG 473) は S9mix の存在/非存在下で陰性であった。

<結論> 本物質はヒトの健康への有害性が低い。

(2) チオフェン

英名 Thiophene (CAS 番号 110-02-1)

1) 曝露状況

本物質の融点は -38.3°C、沸点は 84.4°C であり、標準状態で無色の液体である。ベンゼン同様の溶剤として、また、樹脂用原料として用いられ、染料や医薬品の原料としても使用される。日本では医薬品や殺虫剤や染料の中間体として、また、化学試薬として使用される。

本物質には蒸気の吸入や皮膚吸収による職業曝露の可能性があるが、本物質は消費者製品に含まれないため、本質的に消費者曝露はない。本物質の産業利用時に環境への排出が考えられるが、環境省化学物質の環境実態調査結果 (1985 年度) は底質で 0.0002~0.0015 µg/g (乾燥重量。検出限界 0.0001 µg/g)、水質では検出限界 0.005 µg/L 未満であったことから、環境曝露はほとんどないと考えられる。本物質の日本での製造または輸入量は、おそらく年間 100 トン未満 (2009 年) である。

2) 環境影響

媒体別分配割合の予測の結果、本物質が大気相・土壌相・水相に等量が連続して放出された場合は主に水相と土壌相に分布し、本物質が水相だけに放出された場合は主に水相に残留する。また、本物質は容易に生分解されないが、魚類への生物濃縮性は低い (BCF : 7.27 [計算値])。

水生生物に対する急性毒性試験および延長毒性試験について、魚類の LC₅₀ は 31 mg/L (96 時間: OECD TG 203)、魚類延長毒性試験の LC₅₀ は 30 mg/L より大、NOEC は 12 mg/L (14 日間: OECD TG 204)、ミジンコの EC₅₀ は 21 mg/L (48 時間、遊泳阻害: OECD TG 202)、藻類の EC₅₀ (72 時間、生長阻害 (速度法): OECD TG 201) は 113 mg/L であった。慢性毒性については、ミジンコの NOEC は 2.8 mg/L (21 日間、繁殖阻害: OECD TG 211)、藻類の NOEC は 12 mg/L (72 時間、生長阻害 (速度法): OECD TG 201) であった。

＜結論＞本物質は環境に有害性 (魚類・ミジンコの急性毒性値: 10~100 mg/L) を示す。また、本物質は易生分解性ではないが、低生物濃縮性である。

3) 健康影響

ラットに本物質の放射性標識体 8,000 ppm を 1 時間鼻から吸入させたところ、少なくとも 16.3% が呼吸器系から吸収され、曝露 72 時間後には、血球 > 肝臓 > 腎臓、心臓および肺 > 脳、脂肪および骨格筋の順の濃度で分布した。吸収量の 73.9% が呼気に、24.8% が尿に、0.6% が糞便に排泄された。主な排泄は最初の 8 時間以内で生じた。

ラットに本物質を 240~300 mg/kg bw 単回経口投与したところ、6 時間以内に呼気 (32%) と糞便 (1% 未満) には未変化体のまま、尿中 (40%) には 2 種類のメルカプツール酸として排泄された。ウサギに本物質を 150~225 mg/kg bw 単回経口投与したところ、その 38% が尿中に 2 種類のメルカプツール酸 (ラットの場合と同じ物質) として排泄された。ラットに本物質を腹腔内投与した試験において、尿中に排泄された主な代謝産物 (投与量の 30%) はジヒドロチオフェンスルホキシドメルカプツレートであり、本物質は S-酸化やグルタチオン抱合を受けたことが示された。

雌ラットに 300 または 2,000 mg/kg bw の本物質を強制経口投与した単回経口投与毒性試験 (毒性クラス分け法、OECD TG 423) では、2,000 mg/kg bw でも死亡例が認められず、LD₅₀ は 2,000 mg/kg bw より大きい。また、剖検で異常は認められなかったが、300 mg/kg bw で眼瞼下垂、流涎、下腹部の汚れがみられ、2,000 mg/kg bw では加えて自発運動の低下、口や鼻周囲の汚れ、粗毛、一時的な体重減少が認められた。吸入 LC₅₀ (ラット、6 時間) は 4,525 ppm (15.6 mg/L) と報告されており、経皮の最小致死量 (ウサギ) は 3,160 mg/kg (原液) より大きかった。

ウサギの皮膚と眼に対して軽度~中程度の刺激性が認められた。モルモットの皮膚に対して高度の刺激性が認められた。信頼性の低いデータであるが、モルモットにおいて皮膚感作性は認められなかった。

ラットに交配前 2 週間および交配期間を含め、雄では計 42 日間、雌では分娩後哺育 3 日まで (計 53 日間)、0、25、100 または 400 mg/kg bw/day を強制経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験 (OECD TG 422: ただし血液学検査と血液生化学検査は雄のみに実施) において、死亡例はみられなかった。100 mg/kg bw/day 以上の雄と 400 mg/kg bw/day の雌で半眼、不整呼吸、自発運動の低下、腹臥位、寄り掛かり姿勢がみられた。400 mg/kg bw/day で授乳期の雌に運動失調や緊張性痙攣がみられた。400 mg/kg bw/day の雄雌で摂餌量の低下と体重増加の抑制が認められた。肝臓の病理組織学検査では、100 mg/kg bw/day 以上の雄雌で小葉中心性肝細胞肥大がみられ、400 mg/kg bw/day の雄ではマクロファージの浸潤、小葉中心性肝細胞壊死、小葉中心部の肝細胞細胞質の均質化および小空胞化が認められた。小脳では、100 mg/kg bw/day 以上の雌と 400 mg/kg bw/day の雄雌で顆粒細胞の核濃縮あるいは壊死、400 mg/kg bw/day の雌で白質板の壊死が認められた。100 mg/kg bw/day 以上の雄と 400 mg/kg bw/day の雌で肝臓の相対重量の増加が認められた。100 mg/kg bw/day 以上の雄で血中グルコース濃度と ALP 活性の低値、血中無機リン濃度の高値が認められた。100 mg/kg bw/day 以上の雌で腎臓の尿細管上皮空胞変性が認められた。これらの所見から反復投与毒性の NOAEL は雄雌とも

に 25 mg/kg bw/day とされた。生殖発生毒性に関して、最高用量の 400 mg/kg bw/day まで、交尾、排卵、受胎および分娩に本物質の投与に関する影響は認められなかったが、25 mg/kg bw/day 以上で 1 例以上の雌に哺育行動の低下や乳汁分泌の異常が認められたことから、雄の 生殖毒性の NOAEL は 400 mg/kg bw/day (最高用量)、雌の 生殖毒性の LOAEL は 25 mg/kg bw/day とされた。400 mg/kg bw/day で出生日と生後 4 日の児体重及び生存率に低値傾向が認められたが、母体毒性の二次影響と考えられた。死産数、新生児数、出産率、出生率、性比、哺育 4 日の外表および剖検に本物質の投与による毒性影響は認められず、発生毒性の NOAEL は 400 mg/kg bw/day とされた。

本物質を消炎鎮痛用の座薬としてヒトに使用したいくつかの症例報告では、3~10 日間の反復投与後に黄疸と痒みを伴う肝臓障害が認められた。

雄ラットに 0、1,600、または 3,200 ppm (それぞれ 0、5.52 または 11.04 mg/L 相当) を 15 日間にわたって 12 回、1 日 6 時間吸入曝露した亜急性吸入毒性試験において、本物質の標的臓器は肝臓、腎臓、胸腺、鼻腔および中枢神経系であった。

In vitro 試験において、細菌を用いる復帰突然変異試験 (OECD TG 471) およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (OECD TG 473) とともに、S9mix の存在/非存在下で陰性であった。マウスリンフォーマ試験では、S9mix の存在/非存在下で陽性であったが、細胞毒性の見られる濃度のみであった。これらの結果から、本物質は *in vitro* での遺伝毒性はないとされた。

<結論>本物質はヒトの健康に有害性 (眼および皮膚刺激性、反復投与毒性、生殖毒性[乳汁分泌の異常、哺育行動の低下]) を持つ可能性がある。

(3) 1,2-ビス(ステアロイルアミノ)エタン

英名 1,2-Bis(stearoylamino)ethane (CAS 番号 110-30-5)

本物質は化審法に基づく既存化学物質評価を受けたことから選択的初期評価の対象に相応しく、その評価項目に関する点検結果に基づき選択的初期評価が行われた。評価項目は健康影響 (急性毒性、反復投与毒性、*in vitro* 遺伝毒性) である。

1) 曝露状況 [参考情報]

本物質の融点は 149°C、沸点は 260°C であり、標準状態で乾燥粉末である。本物質はプラスチック製品、潤滑剤、ニス、ラッカー、消泡剤およびブロッキング防止剤に使用され、皮膚接触や吸入による職業/消費者曝露の可能性がある。本物質の日本での製造または輸入量は年間 1,000~10,000 トン (2007 年) である。

2) 健康影響

ラットの単回経口投与毒性試験 (OECD TG 401) において、最高用量の 2,000 mg/kg bw でも死亡や毒性徴候は認められず、経口 LD₅₀ は 2,000 mg/kg bw より大きい。

ラットに 0、100、300 または 1,000 mg/kg bw/day の本物質を強制経口投与した 28 日間反復経口投与毒性試験において、最高用量の 1,000 mg/kg bw でも死亡や毒性徴候は認められず、反復投与毒性の NOAEL は雄雌ともに 1,000 mg/kg bw/day とされた。

In vitro 試験において、細菌を用いる復帰突然変異試験 (OECD TG 471) およびチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (OECD TG 473) は共に S9mix の存在/非存在下で陰性であった。これらの結果から、本物質は *in vitro* での遺伝毒性はないとされた。

<結論>今回の評価項目に関する限り、本物質はヒトの健康に有害性を示さない。