

平成 26 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）

**分担研究課題：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**

研究分担者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室
研究分担者	長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所	客員研究員
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所	研究員
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所	研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所	研究員

**研究要旨**

本研究では肝毒性について、これまでに開発した Rapid Prototypes (RP) アラートのうち更に調査すべきアラートの優先順位付けを行い、必要に応じて正式な肝毒性アラートとするための検討を行ってきた。昨年度までは、病理組織学的データや公知のデータセット、公表論文の調査結果から優先選定を行い、各アラートの活性とその根拠を詳細に検討してきたが、今年度は、残された 21 種の RP のすべてについて専門家による簡易評価を行った。その結果、フルアラートへの変更の可能性の高い 2 アラートをフルアラートとして作成した。一方、8 つの RP は活性の理論的根拠を確立することができないか、同定された toxicophore と活性とに関連性がないと判断されこれらのアラートを無効化した。これにより、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、肝毒性の予測において感度 39.5%、特異性は 77.9%となった。昨年に比べて感度が落ちているが、特異性は向上しており、根拠の低いアラートを無効とした結果であると考えられた。本年度の検討により、既存の構造アラートを効果的に利用して関連する毒性メカニズムに基づいた新たなエンドポイントに関するアラートの構築を迅速化できることが実証された。また、RP を正確に優先順位付けすることがフルアラート構築の効果的な出発点となることが示された。

**A. 目的**

本研究に先立つ研究において、反復投与毒性試験結果をもとに肝毒性評価のための Rapid prototype (RP) アラートの構築を

進めてきた。本研究班では、これらの RP をさらに検討すること、どちらとも云えないと推論される RP や Derek 知識ベース内の限られた文献とメカニズム的裏付けの数

を減らすこと、また可能性として、裏付けとなる参考資料、例証、メカニズ的な根拠などを有する完全なアラートの数を増加させることである。前年度までの研究においては、病理組織学的データや公知のデータセット、公表論文の調査結果から優先選定を行い、各アラートの活性とその根拠を詳細に検討し、適切であると判断された場合にはフルアラートへと変更した。ただし、この方法はフルアラートに変更できる可能性のある RP アラートを特定するために有用であることが証明されたが、優先順位の低いアラートも含めてすべての RP アラートを検証するには時間がかかることが想定された。そこで、今年度は、残りの肝毒性に関する 21 種の RP アラートのすべてについて簡易評価を行い、検討すべき RP アラートの分類を行うこととした。

## B. 方法

### データセット

昨年度と同様の反復投与毒性試験結果データのうち、より詳細な病理組織学データを含む 197 化合物のデータセットを使用した。

### RP の優先順位付け

RP の優先順位付けには、昨年度と同様に、データセットに含まれているアラートの裏付けとなる化合物数および Vitic に収録されているアラートをアクティブ化する肝毒性データを含む化合物数を考慮した。追加的な手順として、残されている RP のそれぞれについて簡易評価を行った。この分析には、残されている 22 種の RP アラートの各クラスに関する公開毒性データおよびメカニズムデータの解釈を含めた。これ

をもとに RP アラートの最終的なスプレッドシートを作成し、検討結果に基づいて各 RP アラートを以下のように分類した。

クラス 1 – フルアラート構築の可能性のあるアラート

クラス 2 – 保留 (有効な toxicophore、フルアラート構築に利用できる公開データはあるが不十分、またはメカニズムに基づいた根拠が不十分) するアラート

クラス 3 – 無効化すべきアラート (公開文献中にデータなし、および/または活性に当該 toxicophore との関連なし)

### 肝毒性アラートの開発

上記 RP アラートの分類後、まず、フルアラートへの変更に適していると考えられるクラス 1 のアラートから検討を始め、NIHS より入手した肝毒性の詳細データを分析した。続いて、原型となる RP アラート作成の根拠となった化合物に関する肝毒性データを ChemIDPlus、PubMed および Google を用いて検索した。ChemIDPlus ではサブストラクチャーによる検索で見つかった化合物に関する肝毒性データを収集した。さらに、公開データセットである Liver Toxicity Knowledge base (FDA)、Fourches のデータセット (Fourches et al.) および NITE が作成した HESS DB でも毒性データを検索した。

## C. 結果

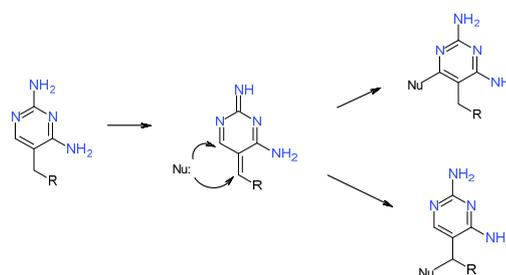
簡易評価によるクラス分類の結果、クラス 1 には 9 アラート、クラス 2 は 5 アラート、クラス 3 には 8 アラートに分類することができた。

今年度は、クラス 1 のうち 2 つのアラート(「2-アミノピリミジン」, 「スチレンまたはその誘導体」)についてフルアラートへの変更を行うことができた。さらに、フルアラートに変更することができないと思われるクラス 3 の 8 種の RP すべてを無効化することができた。以下にこれらの解析の概要を記す。

## 新たなフルアラート

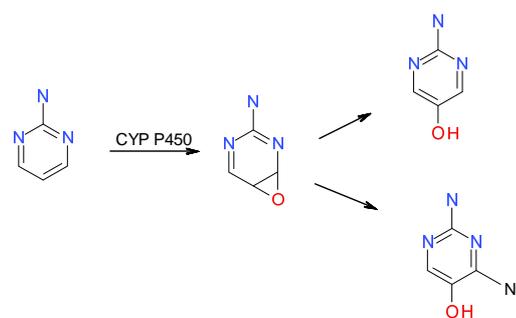
### RP008 「2-アミノピリミジン」

この RP はデータセット内の 2 種の陽性化合物を捕捉したものであり、陽性予測率は 50%である。また、Vitic 内の陽性化合物 1 種および Fourches のデータセット内の陽性化合物 4 種が、このアラートをアクティブ化した。公開されている毒性データの綿密な分析においては、RP アラートの対象となる化合物に起因する肝毒性には異なるメカニズムが関与している可能性が示された。**図 1** に示すように、トリメトプリムが代謝活性化を受けると、ピリミジンパライミノキノンメチドが生成される可能性がある。分離した肝ミクロソーム中でトリメトプリムをインキュベートした場合に、これがタンパク質付加体を形成することが明らかにされている (Lai et al.)



**図 1.** Mechanism of bioactivation of trimethoprim (adopted from Damsten et al.).

イサキシソニンの場合も、ミクロソームタンパク質付加体の形成が認められていることから、代謝過程で共有結合付加体を形成し得る反応種が生成されることが示唆された (Letteron et al., Martinat et al.)。このとき形成される付加体の正確な構造は同定されていないが、イサキシソニンの主要な代謝物は 5-ヒドロキシイサキシソニン (5-hydroxyisaxsonine) であることから、この化合物に起因する肝障害には 4,5-エポキシド (**図 2**) が関与していることが示唆される (Martinat et al.)



**図 2.** Activation of isaxsonine

イサキシソニンに起因する肝障害の症例報告は多数発表されており、肝毒性は広範な肝細胞壊死および肝機能酵素の顕著な上昇として現れることが示されている (Baud et al., Alcabes et al., Zarski et al., Espinoza et al., Mallet et al.)。特異体質性の免疫応答がイサキシソニンによる肝毒性のメカニズ

ムであることが示唆されているが、肝障害は1日用量 750 mg ~ 2.25 g にて治療を受けた患者で観察されている点に注意が必要である ( Baud et al., Alcabes et al., Zarski et al., Espinoza et al., Mallet et al. )

本検討の結果として、2-アミノピリミジンの肝毒性を記述した新たなフルアラートが追加された ( これに伴い、対応する RP アラートを無効化 )。イサキシニン ( 図 2 ) は肝毒性に関するエビデンスが最も多い化合物クラスであることから、このアラートの適用範囲はイサキシニンによる毒性に關与するメカニズムに基づいて定義した。トリメトプリム ( 図 1 ) の生体内活性化によっても肝毒性が生じるが、このメカニズムは NIHS の陽性化合物には該当しないと考えられるため、本共同研究プロジェクトではこのクラスを検討対象にしないこととする。この新たなアラートが対象とする主な部分構造は、1) 無置換のピリミジン環 5 位、および 2) 環外窒素上に少なくとも 1 個以上の水素をもつことである。このアラートの適用範囲を定義するメカニズムに基づいた根拠は単一の化合物 ( イサキシニン ) の代謝データのみを基にしたものであり、データセット中の陽性化合物を含めるためにはさらに推量が必要であることから、このアラートの推論レベルは「不確か」とした。この変更により、この新たなアラートでは NIHS データセットに対する陽性予測率が RP アラートに比べて向上した。

#### **RP024 「スチレンまたはその誘導体」**

この RP アラートの NIHS データセットに対する陽性予測率は、80% と極めて高い。

このクラスに関して公開されている肝毒性データを検索した結果、スチレンは生体内活性化によりスチレン-7,8-オキシドを生成することが確認された ( Sumner and Fennell )。この反応種は、細胞高分子と反応して付加体を形成することが明らかにされている ( Yuan et al. )。このアラートの適用範囲も、他の共役アルケン、1,3-ブタジエンおよびその類似体を含めるよう拡張した。この拡張は、それぞれエポキシブテン ( Kirman et al. ) ( 1-クロロエテニル ) オキシラン ( Munter et al. ) およびイソプレンオキシド / 2-イソプロペニルオキシラン ( Hurst ) に変換されることが明らかにされている。1,3-ブタジエン、クロロブレンおよびイソプレンが同様の代謝活性を示すことに基づいたものである。スチレンおよび 1,3-ブタジエンの生体内活性化を 図 3 に示す。

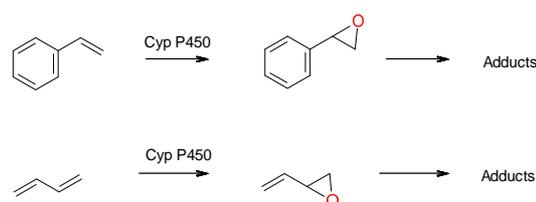


図 3. Metabolic activation of styrene and 1,3-butadiene.

実験動物 ( ラットおよびマウス ) において、数多くの共役アルケンが出血性小葉中心性肝細胞壊死および肝酵素の上昇を引き起こす ( Vainio et al., Morgan et al 1993, NTP 1984, NTP 1998 )。また、ヒトにおいては、スチレンへの職業暴露により肝機能酵素に変化が生じることが複数の研究で報告されている ( Harkonen et al. )。動物種間で、求電子性エポキシドへの活性化の速度および解毒作用に有意差が認められて

いる (Cruzan et al.)

このアラートに必須の主な部分構造の基本となるのはエポキシ化部位であり、1) 無置換の末端炭素、および 2) 2 番目のアリル炭素のみに限定された置換を含む。ハロゲンで置換された化合物の生体内活性化はスチレンと同様であることが示されていることから (Chung et al.) このアラートでは原型となる RP アラートと異なり、スチレンのベンゼン環上の置換にハロゲン (F, Cl, Br) を含めるよう拡張されている。新規のフルアラート 819 では化学的空間の適用範囲を拡大したため、原型である RP アラート 024 に比べて陽性予測率が低下した。また、このアラートは NIHS データセット中の 1 種の陰性化合物によってもアクティブ化されたが、真の陽性化合物が陰性とみなされることはなかった。

#### **無効化した RP アラート**

##### **RP003 : ヒダントインまたはその誘導体**

データセットにおける陽性予測率が 50% である。フェニルヒダントインの肝毒性に対するアラートはあるが、このアラートが対象とする部分構造はフェニル環 (アレンオキシドの生成を介して生体内活性化に関与すると考えられる) の存在のみである。フェニル環をもたない化合物の肝毒性のメカニズムは同定できなかった。データセットの陽性化合物数が少ないこと、公開されている肝毒性データの不足、およびメカニズムデータの欠如により、この RP アラートを無効化した。

##### **RP004 : チオテトラゾールまたはその誘導体**

データセットにおける陽性予測率が 25%

である。データセット中に陽性化合物は 1 種のみ。陽性化合物と構造的に類似する陰性化合物が 1 種みられる。公開データセット (Fourches および Vitic) 中でこの RP アラートをアクティブ化した陽性化合物はチオテトラゾール部分を有する  $\beta$ -ラクタム系抗生物質であり、これらの陽性化合物の肝毒性は  $\beta$ -ラクタム環によるものであることが示唆される。陽性予測率が低いこと、データセットの陽性化合物数が少ないこと、およびメカニズムデータの欠如により、この RP アラートを無効化した。

##### **RP006 : チアゾリジノンまたはその誘導体**

データセット中 1 種の化合物のみがこのアラートをアクティブ化。公開文献中に、類似化合物に関する肝毒性データなし。データセットの陽性化合物数が少ないこと、公開されている肝毒性データの不足、およびメカニズムデータの欠如により、この RP アラートを無効化した。

##### **RP009 : 硫化ジフェニル、スルホキシドまたはスルホン**

データセットにおける陽性予測率が 57% である。この toxicophore の肝毒性メカニズムは不明。明確なメカニズムは同定できなかったが、いくつかの陽性化合物は、活性に関与する可能性のある他の官能基を有している。公開されている肝毒性データの不足、およびメカニズムデータの欠如により、この RP アラートを無効化した。

##### **RP018 : ピロリジンまたはその誘導体**

データセットにおける陽性予測率が 57% である。公開データセット (Fourches および Vitic) 中でこの RP アラートをアクティブ化する陽性化合物は、N-アシルピロリジ

ン、ピペリジンおよび類似体」に対する肝毒性アラート 614 もアクティブ化する。その他の陽性化合物については、肝毒性のメカニズムは不明である。メカニズムデータの不足により、この RP アラートを無効化した。

**RP022：フルオロキノロン-3-カルボン酸**

データ中 1 種の化合物のみがこのアラートをアクティブ化。この化合物は、肝毒性アラート 471「キノロン-3-カルボン酸およびナフチリジン類似体」もアクティブ化する。このような化合物による肝障害は既存の知識ベースにおいてカバーされているため、この RP アラートを無効化した。

**RP028：第三級アルコールまたはエーテル**

データセットにおける陽性予測率が 57.9%である。毒性データに一貫性なし。Vitic および データセットの双方で単純な例証化合物(t-ブタノールなど)が不活性である。このクラスではメカニズムが不明。肝障害に關与する可能性がある他の官能基をもつ化合物が含まれる。公開されている肝毒性データの不足、およびメカニズムデータの欠如により、この RP アラートを無効化した。

**RP031：O-tert-ブチルエステルまたはカルバメート**

データセットにおける陽性予測率は 100%であり、データセット化合物 5 種がこのアラートをアクティブ化するが、このうち 2 種は「カルバメート」に対する既存の肝毒性アラート 692 もアクティブ化する。この化合物によって引き起こされる肝障害に「O-tert-ブチルエステル (O-Tertiary butyl ester) またはカルバメート」部分が

關与していることを示すメカニズムに基づいたエビデンスはない。メカニズムデータの不足により、この RP アラートを無効化した。

以上、10 種の RP アラートを検討した結果、2 種の新規アラートを実行し、10 種の RP アラートを無効化した結果、データセットにおける Derek の肝毒性エンドポイント予測性能の変化を表 1 に示す。

表 1. 予測性能比較

	Hepatotoxicity		
	感度%	特異性%	一致率%
<b>昨年度</b>	45.4	75.5	64.3
<b>今年度</b>	39.5	77.9	63.6

< 参照文献 >

Alcabes G, Vankeerberghen L, Opolon P, Hecketsweiler P and Levy VG. Fatal hepatitis caused by isaxonine. Presse Medicale, 1983, 12, 2696-2697, pmid: 6228823.

Baud F, Bernuau J, Benmami N, Pariente EA, Bouygues M, Guillan J, Roche-Sicot J, Degott C, Rueff B, Pessayre D and Benhamou JP. Acute hepatitis caused by isaxonine phosphate ( Nerfactor ) . Gastroenterologie Clinique et Biologique, 1983, 7, 352-354, pmid: 6307799.

Cruzan G, Cushman JR, Andrews LS, Granville GC, Miller RR, Hardy CJ, Coombs DW and Mullins PA. Subchronic inhalation studies of styrene in CD rats and CD-1 mice.

- Fundamental and Applied Toxicology, 1997, 35, 152-165, doi: 10.1006/faat.1996.2273.
- Chung JK, Shen S, Jiang Z, Yuan W and Zheng J. Structure-toxicity relationship study of para-halogenated styrene analogues in CYP2E1 transgenic cells. *Toxicology Letters*, 2012, 210, 353-359, doi: 10.1016/j.toxlet.2012.02.008.
- Damsten MC1, de Vlieger JS, Niessen WM, Irth H, Vermeulen NP and Commandeur JN. Trimethoprim: novel reactive intermediates and bioactivation pathways by cytochrome p450s. *Chemical Research in Toxicology*, 2008, 21, 2181-2187, doi: 10.1021/tx8002593.
- Espinoza P, Pelletier G, Attali P, Sinico M and Ladouch A. Acute hepatitis caused by isaxonine phosphate. 2 cases. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 1983, 7, 936-937, pmid: 6689158.
- 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.
- Hurst HE. Toxicology of 1,3-butadiene, chloroprene, and isoprene. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 189, 131-179, doi: 10.1007/978-0-387-35368-5\_6.
- Kirman CR, Albertini RJ, Sweeney LM and Gargas ML. 1,3-Butadiene: I. Review of metabolism and the implications to human health risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 2010, 40 ( Suppl 1 ), 1-11, doi: 10.3109/10408444.2010.507181.
- Lai WG, Zahid N and Utrecht JP. Metabolism of trimethoprim to a reactive iminoquinone methide by activated human neutrophils and hepatic microsomes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1999, 291 ( 1 ) , 292-299, pmid: 10490916.
- Letteron P, Fouin-Fortunet H, Tinel M, Danan G, Belghiti J and Pessayre D. Mechanism for isaxonine hepatitis. I. Metabolic activation by mouse and human cytochrome P-450. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1984, 229 ( 3 ) , 845-850, pmid: 6547179.
- Mallet L, Priollet P, Renaudin JM, Petite JP, Vayssairat M and Camilleri JP. Hepatotoxicity caused by isaxonine phosphate. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 1983, 7, 429-430, pmid: 6307801.
- Martinat C, Amar C, Dansette PM,

Leclaire J, Lopez-Garcia P, Cao TD, N'Guyen HN and Mansuy D. *In vitro* metabolism of isaxonine phosphate: formation of two metabolites, 5-hydroxyisaxonine and 2-aminopyrimidine, and covalent binding to microsomal proteins. *European Journal of Pharmacology*, 1992, 228 ( 1 ) , 63-71, doi: 10.1016/0926-6917 ( 92 ) 90013-3.

Munter T, Cottrell L, Ghai R, Golding BT and Watson WP. The metabolism and molecular toxicology of chloroprene. *Chemico-Biological Interactions*, 2007, 166, 323-331, doi: 10.1016/j.cbi.2006.05.017.

National Toxicology Program ( NTP ) . Toxicology and carcinogenesis studies of chloroprene ( CAS No. 126-99-8 ) in F344/N rats and B6C3F1 mice ( inhalation studies ) . National Toxicology Program Report, 1998, available at "[http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr467.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr467.pdf)".

National Toxicology Program ( NTP ) . Toxicology and carcinogenesis studies of 1,3-butadiene ( CAS No. 106-99-0 ) in B6C3F1 mice ( inhalation studies ) . National Toxicology Program Report, 1984, available at "[http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr288.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr288.pdf)".

Sumner SJ and Fennell TR. Review of the

metabolic fate of styrene. *Critical Reviews in Toxicology*, 1994, 24 ( Suppl 1 ) , 11-33, doi: 10.3109/10408449409020138.

Yuan W, Jin H, Chung JK and Zheng J. Evidence for cellular protein covalent binding derived from styrene metabolite. *Chemico-Biological Interactions*, 2010, 186, 323-330, doi: 10.1016/j.cbi.2010.05.004.

Zarski JP, Dentant L, Grauer JL, Piton JL, Cabanel G and Rachail M. Acute hepatitis caused by isaxonine: a case report with reintroduction. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 1983, 7, 430, pmid: 6688231.

#### D. 考察

前年度までの検討ではデータセットに対する Derek の知識ベースの感度は上昇または変化なしであったのに対し、今年度の更新後、予測の感度および一致度が低下した。一見これらの予測精度の低下は望ましくない傾向であると思われたが、今年度は、公開文献から得られる利用可能な肝毒性データおよびメカニズムデータが限られているために多くの RP アラートを無効化したことを考慮すると、それほど不良な結果であるとは考えられない。例示化合物またはメカニズムが明らかにされていない等の裏付け情報のないアラートは、対象としている化合物と毒性の関連性が評価できないことから、あまり有用ではないと考えられる。

このため、フルアラートに変更することができない RP アラートを無効化することとは今年度の成果の一部であると考えられる。このようなアラートは、多くの場合、同定された官能基は偶然一致した可能性があり、活性への関与を示すものではないかもしれない。したがって、このような RP は、トレーニングデータセットがカバーしている化学的ドメインの外では良好に機能しないと考えられる。

今後の研究課題において、既存の Derek 知識ベースのみならず、より幅広い文献から得た知識情報も用いて、肝毒性のエンドポイントに対するこのようなモデルを作成する。最初に作成するモデルは、肝毒性のエンドポイントの詳細な予測ではなく、この毒性を生じる可能性のある官能基を当該化合物が有するか否かの警告を与えるに留まる可能性がある（したがって、特異度が低下するかわりに感度が非常に高くなると考えられる）。しかし、このような高感度の粗雑なモデルを構築することができれば、別のモデルを用い、*in vivo* での活性を減弱させる可能性がある物理化学的特性に基づいたフィルタリングを行うことにより、将来的には特異度を改善することができるであろう。*in vitro* 染色体損傷のエンドポイントについては、比較的良好に機能するモデルおよびこれに用いるために開発された複数の MIE モデルが既に構築されている他、Lhasa でもこのような研究の基盤ともなる別の共同プロジェクトが既に進行中であり、今後の肝毒性モデルの構築時に役立つと考えられる。

## E. 結論

本研究では肝毒性について、これまでに開発した RP アラートのうち更に調査すべきアラートの優先順位付けを行い、必要に応じて正式な肝毒性アラートとするための検討を行ってきている。今年度は、未解析 22 種の RP アラートのすべてについて専門家による簡易評価を行った。その結果、フルアラートへの変更の可能性の高い 2 アラートをフルアラートとして作成した一方、8 つの RP は活性の理論的根拠を確立することができないか、同定された toxicophore と活性とに関連性がないと判断してアラートを無効化した。これにより、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、肝毒性の予測において感度 39.5%、特異性は 77.9%となった。昨年に比べて感度が落ちているが、特異性は向上しており、根拠の低いアラートを無効とした結果であると考えられた。本年度の検討により、既存の構造アラートを効果的に利用して関連する毒性メカニズムに基づいた新たなエンドポイントに関するアラートの構築を迅速化できることが実証された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ema, M., Endoh, K., Fukushima, R., Fujii, S., Hara, H., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A., Hojo, H., Horimoto, M., Hoshino, N., Hosokawa, Y., Imai, Y., Inada, H., Inawaka, K., Itoh, K., Katsumata, Y., Izumi, H., Kato, H.,

- Maeda, M., Matsumoto, K., Matsuo, S., Matsuoka, T., Matsuura, I., Mineshima, H., Miwa, Y., Nakano, N., Naya, M., Noyori, H., Ohta, T., Oku, H., Ono, A., Shimizu, T., Shimomura, K., Takakura, I., Tanaka, R., Tateishi, T., Tominaga, Y., Uesugi, T., Urakawa, C., Yabe, K., Yamashita, A., Yamauchi, T. and Yokoi, R., Historical control data on developmental toxicity studies in rodents. *Congenit. Anom.* (Kyoto) . 54, 150-161, 2014.
- 2) Kato, H., Fujii, S., Takahashi, M., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A. and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats. *Environ Toxicol* doi: 10.1002/tox.21996. [Epub ahead of print]
- 3) Matsumoto, M., Masumori, S., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Honma, M., Yokoyama, K. and Hirose, A., Evaluation of *in vivo* mutagenicity of hydroquinone in Muta<sup>TM</sup>mice. *Mutat Res*, 775-776, 94-98, 2014.
- 4) Yamada T, Tanaka Y, Hasegawa R, Sakuratani Y, Yamazoe Y, Ono A, Hirose A, Hayashi M. Development of a category approach to predict the testicular toxicity of chemical substances structurally related to ethylene glycol methyl ether. *Regul Toxicol Pharmacol.* 70, 711-719, 2014.
- 5) 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, OECD 化学物質対策の動向 (第 24 報) - 第 3 回 OECD 化学物質共同評価会議 (2012 年ルツェルン), 化学生物総合管理, 10, 25-36, 2014.
- 6) 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, 小林克己, 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 25 報) - 第 4、5 回 OECD 化学物質共同評価会議 (2013 年パリ、ワシントン DC), 化学生物総合管理, 10, 46-57, 2014.
- 7) 松本真理子, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 広瀬明彦, OECD 化学物質共同評価プログラム : 第 5 回化学物質共同評価会議概要, 化学生物総合管理, 10, 37-45, 2014.

## 2.学会発表

- 1) Hirose, A. Fujii, S., Suzuki, T., Kato, H., Kawamura, T., Takahashi, M., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A., Nishimaki-Mogami, T.,

- Nishimura, T. and Ema, M.  
Combined repeated dose toxicity studies with the reproduction/developmental toxicity screening tests for long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats. The 50th EUROTOX2014 (2014.9, 英国, エジンバラ)
- 2) Hirose, A., Kosugi, Y., Suzuki, T., Fujii, S., Kato, H., Takahashi, M., Kawamura, T., Matsumoto, M., Ono, A. and Hirata-Koizumi, M. Chain length-dependent difference in the toxic potency of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCA) in rats: Determination of the serum pfca concentrations. DIOXIN2014 (2014.8, スペイン, マドリード)
- 3) Hirose, A., Kosugi, Y., Suzuki, T., Fujii, S., Ema, M., Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Ono, A. Analysis of the serum perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) levels for repeated-dose toxicity studies conducted for long-chain PFCAs in rats, 第54回米国トキシコロジ学会 (2015.3) (San Diego, California, USA)
- 4) Ono, A., Kobayashi K., Matsumoto, M., Ema, M., Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Hirose, A. Initial risk assessment of  $\beta$ -bromostyrene, 第54回米国トキシコロジ学会 (2015.3) (San Diego, California, USA)
- 5) Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Sakuratani, Y., Yamazoe, Y., Ono, A., Hirose, A. and Hayashi, M. Hazard evaluation support system (Hess): Category approach to screen chemicals which are metabolized to methoxy- or ethoxyacetic acid responsible for testicular toxicity. The 50th EUROTOX2014 (2014.9, 英国, エジンバラ)
- 6) 広瀬 明彦, 藤井 咲子, 鈴木 俊也, 加藤 日奈, 川村 智子, 松本 真理子, 高橋 美加, 平田 睦子, 西村 哲治, 江馬 眞, 小野 敦 : パーフルオロアルキル (C14, C16) カルボン酸の反復投与および生殖・発生毒性. 第41回日本毒性学会学術年会 (2014.7, 神戸)
- 7) 山田 隆志, 長谷川 隆一, 三浦 稔, 櫻谷 祐企, 山添 康, 小野 敦, 広瀬 明彦, 林 真 : 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) - 精巣毒性に係わるアルコキシ酢酸を生成する化学物質のスクリーニング -. 第41回日本毒性学会学術年会 (2014.7, 神戸)

## **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