

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究
分担研究報告書

気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定のための情報収集

研究分担者 小野 敦 岡山大学・医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報及び関連情報の網羅的スクリーニング調査を目的としている。網羅的情報収集を目的として平成27年度に構築した JP-GHS データベースからの情報収集の結果、気道障害性に関しては、ガイドライン化された評価法がないため主にヒトにおける障害の報告から区分がされており、ヒトでの報告がない物質については、障害性がないと確認されている物質は無いことが明らかとなった。そこで、平成28年度は、これまでの研究で構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性に関する区分がなされている物質のうち特に気道感作性を対象として、関連する有害作用である皮膚感作性等との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性に関して知見の無い物質について優先順位付けにおける予測評価の適用性について検討を行った結果、気道感作性について情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングの可能性が示された。

A. 研究目的

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集、及び気道障害性に関するハザード情報が得られていない物質について関連情報による補完を目的とした経気道曝露によるハザードのスクリーニング調査による化学物質の優先順位付けを進めている。これまでの研究で構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性に関する区分がなされ

ている物質のうち特に気道感作性を対象として、詳細評価の優先順位付のため気道障害性分類の根拠となった知見の解析を進めるとともに、皮膚感作性等の関連する有害作用との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性に関して知見の無い物質について優先順位付けにおける関連情報からの予測評価の適用性について検討を行った。

B. 研究方法

これまでの研究で構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性（気道感作性、気

道刺激性)に関する情報とともに、気道感作性、気道刺激性それぞれとの関連がある可能性のある健康影響エンドポイントとして、皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)の情報を検索し、物質ごとに整理を行った。また、皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)については、陽性のみでなく陰性情報についても GHS 情報から得られるため、陰性・陽性・情報なしの3クラスに分類した。一方、気道障害性(気道感作性、気道刺激性)については、ヒトにおける報告によりラベルされており陰性の情報が得られている物質はないため、陽性・情報なしの2クラスに分類し、以下の解析に用いた。

1, 化学物質の健康影響ラベルを用いたクラスタリング解析;

上記で整理した JP-GHS 全物質についての感作性、刺激性情報をもとに階層化クラスタリングを実施して、各障害性を有する物質の共通性について解析した。階層化クラスタリングにおいては、各障害性エンドポイントを“情報なし: 0、陰性: 1、陽性: 2”に数値化したデータを用い、Manhattan 距離を用いて Average linkage により、化学物質、障害性エンドポイント両方の階層化クラスタリングを実施した。

2, 皮膚感作性情報のある化学物質の化学構造解析からの呼吸器感作性の予測評価の検討;

気道障害性のうち特に感作性に着目して、JP-GHS 全物質のうち皮膚感作性について陰性もしくは陽性の情報が得られている 707 物質について化学構造分類を行い、化学構造群ごとに皮膚感作性と呼吸器感作性との関連につ

いて解析を行った。化学構造分類は、OECD QSAR Toolbox に搭載の US-EPA New Chemical Categories スキームによる分類を行った後、分類結果を一部マニュアルで整理して解析に用いた。

C. 研究結果

1, 化学物質の健康影響ラベルを用いたクラスタリング解析;

気道感作性、気道刺激性及び関連があると想定される健康影響エンドポイントである皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)の5項目の JP-GHS 分類結果を指標とした階層化クラスタリング解析結果を図1にヒートマップで示した。刺激性3項目(皮膚、目、呼吸器)、感作性2項目(皮膚と呼吸器)それぞれの共通性が高いことが示された。一方で、部位が同じであっても刺激性と感作性の共通性は高く無いことが示された。刺激性については、3部位全てで陽性となる複数のクラスター(クラスター1, 4)が得られており、呼吸器刺激性について情報がないものの、皮膚及び目で刺激性が陽性であるクラスター2, 3に含まれる物質群についても呼吸器刺激性を有する可能性が高いと考えられる。

一方、感作性については呼吸器感作性と皮膚感作性を共通に有する物質群としてクラスター5が得られた。クラスター5に含まれる物質について刺激性の各エンドポイントについては、約半数で陽性であったが、残りの物質についてはいずれの刺激性に関しても情報が得られておらず、クラスター2に含まれる皮膚感作性が陽性だが呼吸器感作性の情報が無い物質の呼吸器感作性の可能性については、本解析結果のみでは判断出来ない。

呼吸器感作性、皮膚感作性、呼吸器刺激性の

重なり(図2)を見てみると呼吸器感作性の報告のある物質の9割は皮膚感作性の区分がなされており、呼吸器刺激性との重なりよりもカバー率が高い。さらに、呼吸器感作性が陽性であるにも関わらず皮膚感作性が陰性もしくは不明の物質(表1)については、呼吸器刺激性もしくは皮膚腐食性(刺激性)などの障害性が示されており、これらの結果から、皮膚感作性が陽性の物質はもとより、呼吸器を始めとした組織への刺激性報告のある物質についても、呼吸器感作性の懸念があると考察された。

2, 皮膚感作性情報のある化学物質の化学構造解析からの呼吸器感作性の予測評価の検討;

上述のクラスタリング解析結果から、呼吸器感作性陽性物質は、その殆どが皮膚感作性陽性物質に含まれた。一方、皮膚感作性が陽性であるが、呼吸器感作性について情報のない多くの物質について、関連する他の障害性エンドポイント(刺激性情報)からの優先順位付けは難しいと考えられたことから、化学構造分類との関連性について評価を行った。JP-GHS 全物質のうち皮膚感作性について陰性もしくは陽性の情報が得られている707物質のうち、化学構造分類が可能であった373物質について構造群ごとの分類結果を図3に示した。構造分類を行うにあたって、金属元素はアレルギー誘発性が知られているため、まず金属元素を含む化学物質について金属元素ごとに分類し、その他の物質については基本構造から分類を行った。なお、天然物由来成分など、分類が難しい物質については、今回の解析対象から除外した。

化学構造に金属元素を含む化学物質のうち、I型アレルギー誘発が知られるクロム、コバ

ルト、ニッケル及び白金を含む物質では、JP-GHSに登録されているほぼ全ての物質が皮膚、呼吸器いずれとも感作性陽性であった。一方、同様に金属アレルギーが知られる水銀を含有物質では、JP-GHS登録全物質が皮膚感作性陽性であったのに対して、呼吸器感作性が報告されている物質はなかった。

金属元素非含有物質では、カルボン酸無水物、ジイソシアナートに分類された物質群では、皮膚感作性について情報が得られている物質は全て陽性であり、また呼吸器感作性については各群2物質について情報がないものの、その他の物質については陽性であった。さらに表2に示すとおりジイソシアナート群で呼吸器感作性情報の得られていない物質のうち1物質(26447-40-5)は、呼吸器感作性陽性の物質(101-68-8)とCAS番号の異なる同一物質であり、他の1物質も構造類似物質であった。また、表3に示したとおり、カルボン酸無水物群で呼吸器感作性について情報が得られていない物質についても呼吸器感作性陽性の情報がある他の物質との構造類似であり、これらについても呼吸器感作性の蓋然性が高いと判断された。さらに、アクリル酸、アニリン、エポキシド、フェノールに分類された物質の多くは、皮膚感作性陽性であったが、呼吸器感作性について情報(陽性)の得られている物質は限られていた。これらの物質群については、呼吸器刺激性の報告がある物質も多く(data not shown)、現時点では呼吸器感作性を惹起する可能性を否定出来ないことから注意が必要であろう。一方、脂肪族アミン類、エステル類に分類された化学物質では、皮膚感作性陽性・陰性が半々程度であったことから、これらの化学構造分類は感作性の評価指標としては適切ではないと考えられた。これらの

物質群に分類された感作性物質については、今後、今回実施した構造分類とは異なる化学構造的特徴からの分類について検討が必要と考察された。

D. 考察

これまでの研究により、GHS や ACGIH 等のデータベースにおける気道障害性物質の分類根拠の解析から、気道障害性はヒトでの障害発現の報告に基づいて分類されており、それらの物質のヒトでの気道障害性は、ほぼ明らかである一方、気道感作性、気道刺激性については、評価のためのガイドライン試験法が無いため、ヒトでの報告の無い物質の障害性の有無については全く不明であることが明らかとなった。そこで、本年度は関連する障害として皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性についての情報検索を行い、それぞれの障害性の発現の関連について解析を行うとともに、特に感作性を対象として化学構造との関連性について解析を行った。

クラスタリング解析の結果から、刺激性 3 項目、感作性 2 項目の発現には共通性が高いことが示された。特に刺激性については、共通性が高いことから呼吸器刺激性について情報がない物質であっても、皮膚及び目で刺激性が陽性である物質については呼吸器刺激性の蓋然性が高いと考察された。一方、感作性については呼吸器感作性の報告のある物質の 9 割は皮膚感作性の区分がなされており、皮膚感作性陽性の物質については、呼吸器感作性の懸念を考慮する必要があると考えられた。また、呼吸器感作性陽性であるが、皮膚感作性が陰性もしくは不明の物質について確認した結果、呼吸器刺激性もしくは皮膚腐食性（刺激性）などの障害性が示されており、刺激性と感

作性の共通性はあまり高く無いものの呼吸器を始めとした組織への刺激性報告のある物質についても、呼吸器感作性を考慮する必要性があると考察された。

感作性については、さらに化学構造と皮膚感作性・気道感作性との関連について解析を行った結果、いくつかの化学構造群で、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれることが明らかとなった。よって呼吸器感作性の情報が無い物質であっても、これらの化学構造群に含まれる皮膚感作性が報告されている物質については、呼吸器感作性を有する蓋然性が特に高いと考察された。これまでの本研究の結果から、呼吸器感作性について情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から呼吸器感作性評価のための優先順位付けスクリーニングが可能であると考察された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための Adverse Outcome Pathway (AOP) 及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されており、また OECD QSAR Toolbox には *in silico* 評価を行うためのプロファイラー機能が搭載されており、それらを用いた迅速評価についてガイダンスが示されている。本研究の結果は、呼吸器感作性についても皮膚感作性と同様に AOP に基づく評価の可能性を示すものと考察されることから、今後は呼吸器感作性スクリーニング評価への適用性について検討を進める目的で、OECD QSAR Toolbox の皮膚感作性関連の化学構造プロファイラーや、皮膚感作性 AOP 評価のためのガイドライン試験法の呼吸器感作性物質の詳細評価のための優先順位付けにおける有用性について検討を行い、呼吸器感作性評価に向けた AOP の構築が重要

であると考察された。

E. 結論

室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集のため、本年度は、我が国の GHS 分類 (JP-GHS) 評価結果をもとに、呼吸器感作性・刺激性に関連すると想定されるエンドポイントである皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性について網羅的検索を行い、それぞれの障害性を有する化学物質の共通性について検討を行った結果、特に刺激性については、共通性が高く、皮膚及び目で刺激性が陽性である物質については呼吸器刺激性の蓋然性が高くリスク評価の優先度が高いと結論された。一方、感作性については、ヒトで呼吸器感作性が報告されているおおよそ全ての物質が皮膚感作性物質であることが明らかとなり、さらに化学構造との関連性について解析した結果、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれる化学構造的な特徴が明らかとなり、それらの構造に含まれる皮膚感作性を有する物質群では、呼吸器感作性の蓋然性が高く、特にスクリーニング評価の優先順位が高いと結論された。

本年度の解析結果から、メカニズム的に関連する他の障害性エンドポイントの情報や化学構造的な特徴が、経気道曝露による障害性のスクリーニング評価における補完情報として有用であることが示された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための Adverse Outcome Pathway (AOP) 及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されている。本研究結果は呼吸器感作性についても皮膚感作

性と同様に AOP に基づく評価が可能であることを示唆しており、今後、AOP を適用した迅速なスクリーニング評価手法の検討が重要である。一方、本研究でリスク評価の優先順位が高い物質としてリストアップした物質について実際のリスク評価を行うには、暴露情報が必要であるが、実際の生活環境における測定結果が得られている物質は、限られていると考えられる。化学物質の用途や使用量に関する情報等からヒト曝露の可能性のある物質については、生活環境中での暴露実態の測定と詳細なリスク評価の実施が望まれる。

F. 研究発表

F-1. 論文発表

M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; *Regul Toxicol Pharmacol*, 81,128–135 (2016)

M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences.; *J Toxicol Sci*, 41,(5) 693–700 (2016)

F-2. 学会発表

A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi,

- T. Kawamura and A. Hirose :Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. *17th International Conference on QSAR in enviromental and health sciences* (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 52nd Eurotox2016* (2016.9, Sevilla, Spain)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. *The 14th International Congress of Toxicology* (2016.10, Merida, Mexico)

G. 知的所有権の取得状況

G-1. 特許取得

特になし

G-2. 実用新案登録

特になし

G-3. その他

特になし

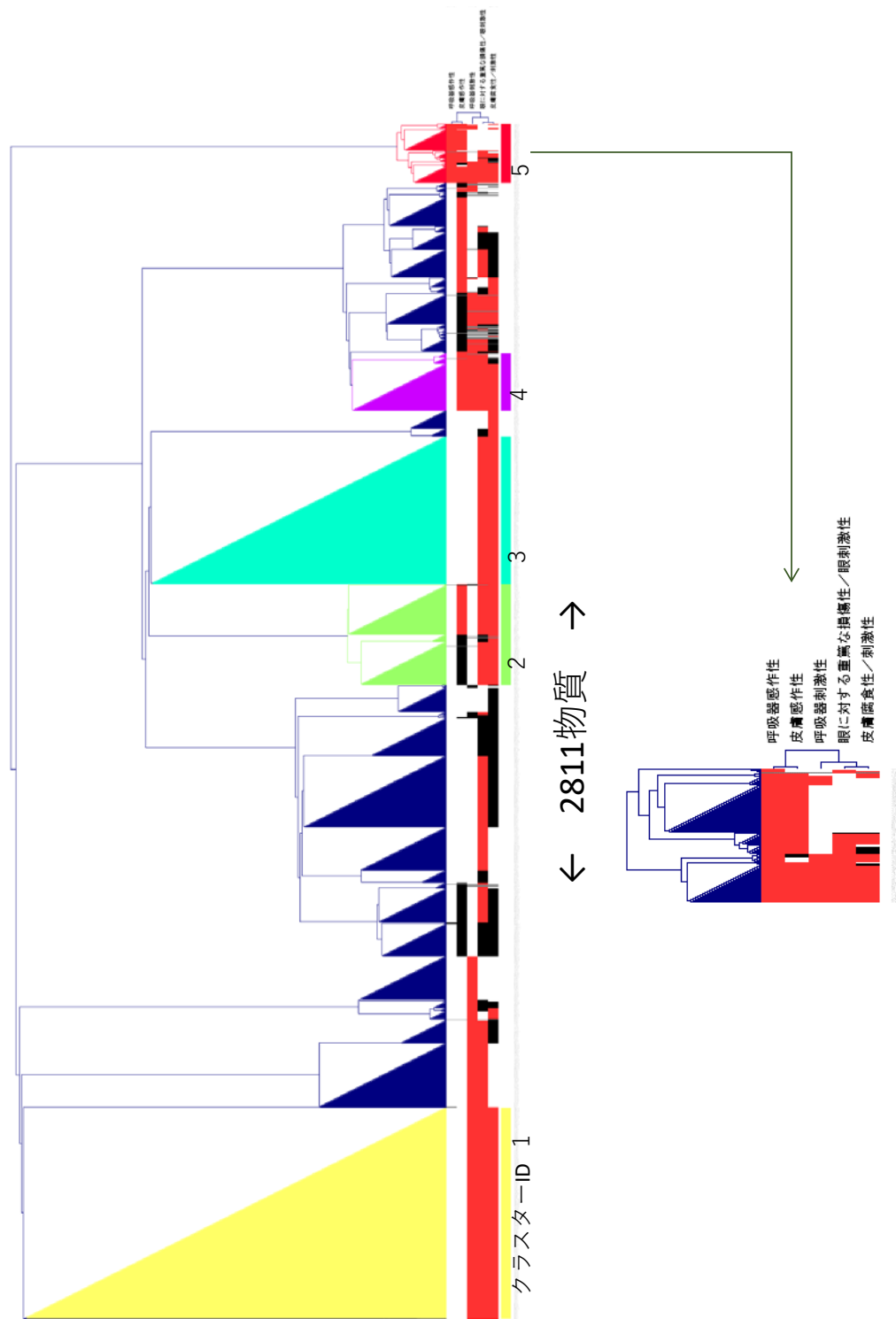


図1 化学物質による感作性、刺激性エンドポイントのクラスターリング解析
(ヒートマップは、赤：陽性、黒：陰性、白：データなし)

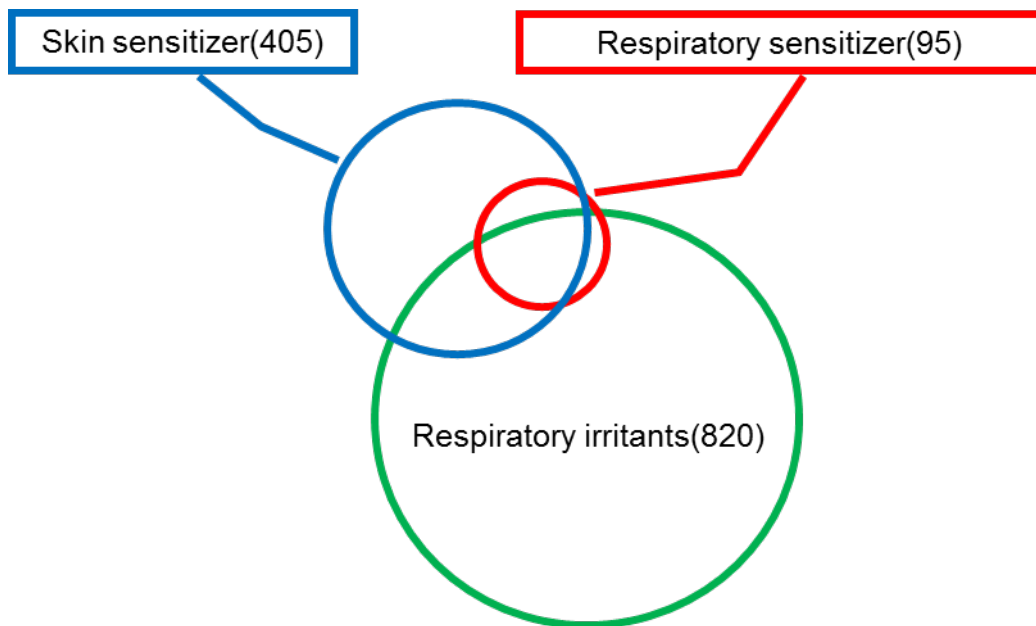
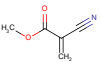
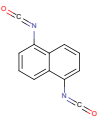
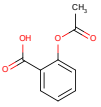
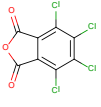
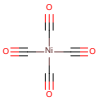


図2 皮膚感作性、呼吸器感作性、呼吸器刺激性物質の共通性

表1 呼吸器感作性が陽性で、皮膚感作性については陰性もしくは区分外の物質

Chemical Structure	CAS RN. Chemical Name	JP GHS Classification			
		Skin sensitization	Skin Corrosion/irritation	Respiratory sensitization	Respiratory Irritation
	137-05-3 methyl 2-cyanoacrylate	-	+	+	+
	3173-72-6 1,5-naphthylene diisocyanate	NC	+	+	+
	50-78-2 acetylsalicylic acid; aspirin acetoxybenzoic acid	NC	+	+	NC
NH ₃	7664-41-7 ammonium nitrate	NC	+	+	+
	117-08-8 tetrachlorophthalic anhydride	NC	NC	+	NC
HCl	7647-01-0 hydrochloride	-	+	+	+
	13463-39-3 nickel carbonyl	NC	+	+	+
Pt	7440-06-4 platinum	-	+	+	+
Rh	7440-16-6 rhodium	NC	NC	+	NC

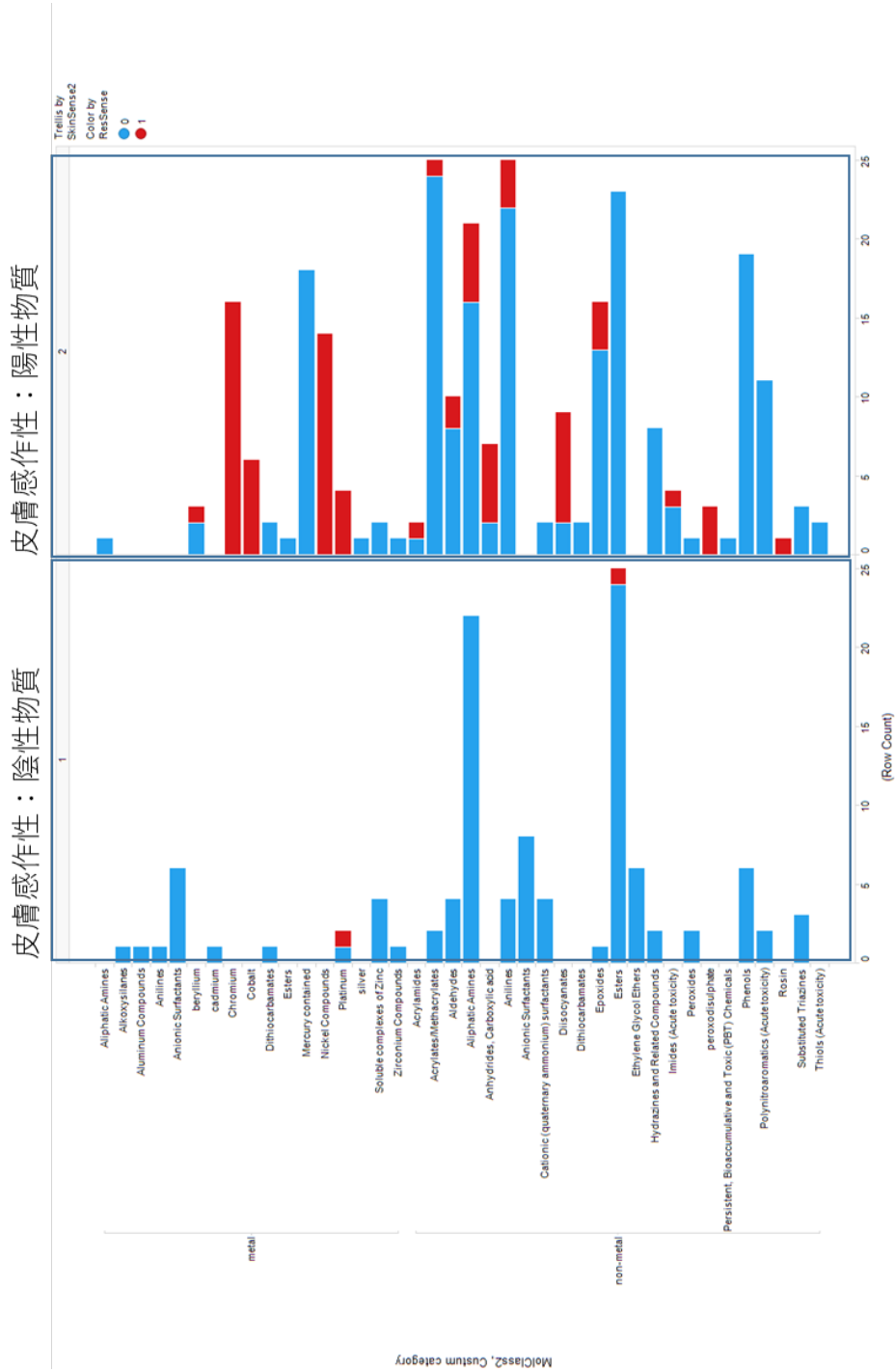


図3 皮膚感作性物質と呼吸器感作性物質の化学構造解析

表2 ジイソシアナート群で呼吸器感作性情報の得られていない物質とその類似物質

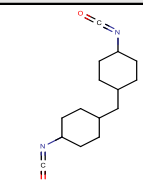
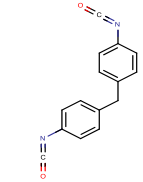
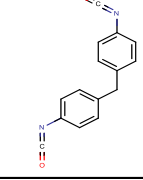
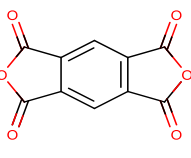
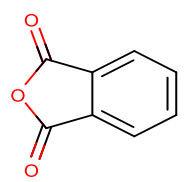
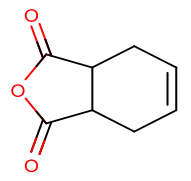
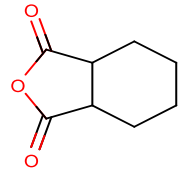
CdId	Structure	Mol Weight	CAS	Mannhold LogP	Custum category	res_sense	skin_sense
991		262.35	5124-30-1	2.67	Diisocyanates	ND	+
832		250.26	26447-40-5	2.67	Diisocyanates	ND	+
66		250.26	101-68-8	2.67	Diisocyanates	+	+

表3 カルボン酸無水物群で呼吸器感作性について情報が得られていない物質とその類似物質

CdId	Structure	Mol Weight	CAS	Mannhold LogP	Custum category	res_sense	skin_sense
1,655		218.12	89-32-7	1.90	Anhydrides, Carboxylic acid	ND	+
1,617		148.12	85-44-9	2.01	Anhydrides, Carboxylic acid	+	+
1,616		152.15	85-43-8	2.01	Anhydrides, Carboxylic acid	ND	+
1,615		154.17	85-42-7	2.45	Anhydrides, Carboxylic acid	+	+