

平成 29 年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

研究課題名：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

分担研究課題名：反復投与毒性のカテゴリーアプローチモデルの開発

分担研究者 山田 隆志 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 室長

研究要旨

カテゴリーアプローチは、反復投与毒性を予測する手法のひとつとして認識されている。OECD で 2015 年より開始された Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) Case Studies Project は、行政的利用に適したグルーピング手法の評価事例をメンバー国で共有し、IATA の国際的なガイダンスを作成することを目指している。そこで、我々はベンゾトリアゾールの肝毒性を対象に IATA ケーススタディの文書を作成し、メンバー国の専門家によるレビューを受けた。このケーススタディは、化審法のスクリーニング評価に適用することを想定して作成された。肝トランスクリプトーム情報をカテゴリーの評価のために統合したこと、予測の不確実性についての説明が透明性のある方法で提供されていることが評価された。同時にレビューされた他の反復投与毒性のケーススタディを合わせて得られた教訓として、リードアクロスの結果の受入れには、リードアクロスのデータの質と量、類似性の仮説に対する信頼性、*in vitro* 試験法のデータを含むサポート情報と証拠量などを考慮することが必要とされた。また、類似性やリードアクロスに関連する不確実性についての説明、トキシコキネティクスデータの不足が課題として挙げられた。

A. 研究目的

カテゴリーアプローチは、エンドポイントの試験データがない評価対象物質を試験済みの類似物質とともにグループ化し、そのデータギャップを類似物質のデータを用いて補完する方法である。反復投与毒性のような複雑な毒性エンドポイントを予測する手法のひとつとして期待されている。しかし、反復投与毒性に対し本手法は、行政的受け入れは十分に進んでいない。検証の不

足、成功事例の不足、国際的なガイドラインがないこと、本手法を理解する評価者が不足していることが理由として挙げられる。このような状況で、OECD は 2015 年より IATA Case Studies Project を立ち上げた。国際的に認められる規制利用に適した IATA による予測の実例を提示し、その経験をメンバー国で共有し、国際的なガイダンスを作成することを目指している。そこで本研究では、カテゴリーアプローチによる

反復投与毒性の予測事例を本プロジェクトへ提案し、専門家レビューを受けることにより、本手法開発促進のため国際貢献を果たすと共に、化審法スクリーニング評価や将来のリスク評価へ本手法を適用するときの課題を整理することを目的とする。

B. 研究方法

これまでに我々はカテゴリーアプローチによる反復投与毒性の評価事例を継続的に提案しており、本研究ではベンゾトリアゾール類の反復投与による肝毒性エンドポイントを対象に、以下の OECD の IATA テンプレートに従って、IATA ケーススタディの文書を作成し、メンバー国の専門家によるレビューを受けた。

B-1 OECD IATA テンプレートの構成：

テンプレートは以下の章から構成される。

- ・ 目的
- ・ カテゴリーアプローチの仮説
- ・ カテゴリーメンバー
- ・ データギャップ補完の正当化
- ・ データギャップ補完の戦略と結論
- ・ 引用文献
- ・ Annex

[目的] 3つの項目から構成される。“IATA を用いる目的”では、評価の目的を特定する（ハザードの同定、ハザードのキャラクターゼーション、リスク評価、スクリーニングなど）、規制当局の場合、行政的必要性を述べる。“評価対象物質/カテゴリーの定義”では、カテゴリーアプローチの場合、カテゴリーメンバーの共通の特徴、カテゴリー領域、許容される構造的差異を説明する。“エンドポイント”では、カテゴリーアプローチを適用するエンドポイントを特定する。

[カテゴリーアプローチの仮説] なぜそのカ

テゴリーが構築できるか、なぜそのカテゴリー内ではリードアクロスを適用できるかを説明する。以下の要素によって論じられる。化学物質の同定と組成、物理化学的性状及びその他分子記述子、吸収・分布・代謝・排泄 (ADME)、Mode of Action (MOA) /Adverse Outcome Pathway (AOP)、化学/生物学的相互作用、代替法で検出される応答、生物種、環境中での運命、想定される暴露の経路と期間、など。

[カテゴリーメンバー] 2つの項目から構成される。“カテゴリーメンバーの同定”では、カテゴリーメンバーを同定した時に用いた選抜のクライテリアを明示する。そしてその根拠を明示する。その際、選抜のバイアスにも考慮すると共に、カテゴリーメンバーを同定する方法(インベントリやツール)を表記する。“カテゴリーメンバーのリスト”では、カテゴリーメンバーの CAS 番号、名称、組成、化学構造を提示する。

[データギャップ補完の正当化] 3つの項目から構成される。“データ収集”では、ターゲット物質とカテゴリーメンバーのデータ収集に使われた方法を明記する。QSAR の計算結果を用いる時には、ツールの名称、バージョン、モデルの所有者、QMRF インベントリのレファレンス番号を掲載する。“データマトリックス”では、データのマトリックスを掲載するとともに、詳細なデータは Annex に掲載する。“正当化”では、データマトリックスに基づき、これらのデータが、仮説をどのようにサポートするかを述べる。データマトリックス中の物質のエンドポイントの実測データにおける類似性や傾向を同定する。そして、どの要素が毒性/エンドポイントを駆動するのかを特定する。カテゴリーアプローチでは、信頼性のある予測

が可能な範囲について述べるとともに、メカニズムの情報や、コンピュータ手法、*in vitro* 試験によるプロファイリングなどについても考慮する。カテゴリーの領域を明示するとともに、カテゴリーに入らない物質を同定する。QSAR や代替法等の適用範囲も論じる。

[データギャップ補完の戦略と結論] “不確実性”では、結論の不確実性を論じる。カテゴリーメンバーの類似性の理論的根拠と、ソース物質からリードアクロスするために使用されるデータに関連する不確実性と信頼性および仮定に関連する不確実性が含まれる。“結論”では、不確実性を考慮しつつデータギャップ補完の戦略とその結論を述べる。カテゴリーアプローチの場合には、結論とデータギャップ補完により得られた予測値を提示する。

B-2 専門家レビュー：

査読者は、ケーススタディの査読時に、以下の質問に回答することが求められた。

- ・ ケーススタディの目的は明瞭か？
- ・ それぞれのセクションの説明は妥当性があるか(仮説、類似物質の選択、データギャップ補完の正当化、結論、不確実性の議論など)？
- ・ そのケーススタディには、IATA の活用のためのガイダンスの開発の恩恵を受ける特定のトピック領域があるか？
- ・ そのケーススタディの最も強い側面は何か？
- ・ そのケーススタディを強化するものは何か？
- ・ 不確実性の支配的な領域は何か？どのように低減できると考えられるか？その低減によってケーススタディの異なる

結論につながる可能性があるか？

オリジナルの IATA 文書は査読者のコメントに従って適宜修正した。さらに、ケーススタディ作成者、査読者、OECD 事務局による対面会議によって、ケーススタディのレビュー結果について議論が深められた。

C. 研究結果

C-1 本ケーススタディの概要

本ケーススタディは、化審法の化学物質のスクリーニング評価におけるハザード同定に適用するために作成された。

ベンゾトリアゾールは、UV 分解から保護するために様々なポリマー製品に添加される UV 吸収剤である。このグループのいくつかの物質は、環境およびヒト健康に懸念を有する新たな汚染物質として認識されている。ベンゾトリアゾールのカテゴリーは、2009 年の米国 EPA 高生産量チャレンジプログラムと 2011 年の NTP Chemical Information Review によって評価されている。データが乏しい特定の物質の環境影響を評価するために、Weight of Evidence (WoE) アプローチが用いられたが、ヒト健康エンドポイントに対してデータが乏しい物質を含めた評価は試みられていない。ベンゾトリアゾール類の反復投与毒性の試験結果は、肝毒性がこれらの化合物の主要な標的臓器であることを示しているが、毒性レベルは置換基の種類および数によって著しく変化することが示されている。そこで、本研究では、肝臓のトキシコゲノムプロファイルを 5 つのカテゴリー物質について分析し、カテゴリー評価に統合した。試験データを持たない 3 物質の標的臓器と NOAEL 値を、毒性試験データが利用できるカテゴリー中の 9 物質に基づいたリード

アクロスによって予測し、化審法有害性クラスに従って分類した(表1)。

すべての転写プロファイルは、核内受容体経路の活性化および/または酸化ストレスの誘導が、ベンゾトリアゾールの肝毒性影響と関連している可能性があることが示された。さらに、構造的な置換基の差がわずかであっても、転写プロファイルに影響を与えた。これらの結果は、転写物データが類似の作用様式をもつアナログ物質の選択をサポートできることを示唆している。しかしながら、現段階では転写物データは全てのカテゴリー物質で利用可能ではなく、肝毒性のAOPは、試験およびデータ分析のためのリソースの制約のために十分に整理できなかった。毒性試験データがないターゲット物質と毒性試験データが利用できるソース物質の間で橋渡しする遺伝子発現に関する情報と体内動態に関する情報を強化することが、リードアクロス評価における不確実性を低減するために有用であると考えられた。

C-2 本ケーススタディのレビューの結果

OECDメンバー国の専門家によって、本ケーススタディの最も強い側面は次のように特定された。

- ・ 試験目的が明確に説明されている。
- ・ トランスクリプトーム情報をカテゴリーの正当化のため組み入れている。
- ・ 公開文献、QSAR、及びトランスクリプトームからの全ての利用可能な情報を統合し、反復投与毒性及び代謝データに基づく標的物質に関する予測を提供している。
- ・ 予測の不確実性についての説明が透明性のある方法で提供されている。

ケーススタディを改訂するために議論された主なポイントとそれに対する対応は次のとおりである。

- ・ ケーススタディのオリジナルバージョンにおいて、化合物12の影響レベルは、最も近い構造類似体ではあるが non-GLP データのみがある、化合物7から評価された。non-GLP データの報告は考慮されるべき全ての影響を網羅しておらず、影響レベル評価が過小評価される可能性を指摘された。代わりに化合物12の影響レベルは、GLP データがあり、スクリーニングにより保守的な評価を引き出す化合物6から評価すべきであると示唆された。コメントに基づきこの点を改訂した。
- ・ なぜ肝毒性のみが考慮され、腎毒性については考慮されなかったかについて説明が求められた。腎毒性がカテゴリー中の3化合物でのみ観察され、これら全ての腎臓の変化が肝毒性の出現と同用量、あるいは高用量で出現したことを理由に、肝毒性がベンゾトリアゾール類のハザード評価にはより重要であると説明した。
- ・ トランスクリプトーム試験の記述を拡大することが求められた(例えば肝毒性のメカニズムと各試験の関連性、トランスクリプトーム試験を実施した特定の物質の選択理由)。コメントに基づきこの点を改訂した。

本ケーススタディでは以下の不確実性の領域が特定された。

- ・ ケーススタディでの3つのリードアクロス評価のうち、2つについてはターゲット物質とソース物質との類似性における不確実性が高いとされた。カテ

ゴリーについて、ソース物質のわずかな構造変化が異なる毒性レベルをもたらすことが観察されているため、サブカテゴリーの構造境界を定義することは困難であった。さらに、機序的類似性（例えば ADME データ、トランスクリプトームデータ）をサポートするデータがこれら 2 つのリードアクロス評価には不足していた。

- ・ トランスクリプトームデータが、ベンゾトリアゾールの想定メカニズムに基づき、サブカテゴリー形成をサポートしうることを実証したが、サブカテゴリー形成のための不確実性は、MOA/AOP が十分記述されていない理由のため中程度のレベルとされた。

本ケーススタディは、スクリーニング評価、優先順位付け、分類などの加盟国の規制目的のために使用することができるであろうと考えられた。一方、本ケーススタディの結果は、REACH 登録のための情報要件を満たさない可能性が高いので、REACH の登録目的には使用できない。しかし、近い将来、そのようなケーススタディの結果は、日本の化審法のもとで使用されうると考えられる。

本ケーススタディのレビュー経験に基づき、可能性のあるガイダンス開発のために以下の範囲が特定された：

- ・ トランスクリプトームデータ及び解釈と関連の不確実性の記述の報告法
- ・ ゲノムデータの使用を含むカテゴリー形成の仮説の構築
- ・ 不確実性解析：統合された結論に影響を与えることなく許容され得る不確実性レベルが明確にされていない

本ケーススタディの修正版は対面会議で

了承され、対面会議の議論の結果とともに OECD の HP より公開された(OECD, 2017, <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/iata-integrated-approaches-to-testing-and-assessment.htm#case-studies>)。

D. 考 察

2016 年度の OECD IATA Case Studies Project (第 2 サイクル) では、本ケーススタディを含めて以下の計 5 つのケーススタディが提出され、レビューが行われた。

- ・ 2016-1: Repeated-Dose Toxicity of Phenolic Benzotriazoles [Japan]
- ・ 2016-2: Pesticide Cumulative Risk Assessment & Assessment of Lifestage Susceptibility [the United States]
- ・ 2016-3: 90-Day Rat Oral Repeated-Dose Toxicity for Selected n-Alkanols: Read-Across [ICAPO]
- ・ 2016-4: 90-Day Rat Oral Repeated-Dose Toxicity for Selected 2-Alkyl-1-alkanols: ReadAcross [ICAPO]
- ・ 2016-5: Chemical Safety Assessment Workflow Based on Exposure Considerations and Non-Animal Methods [JRC/BIAC]

表 2 には第 1 回と第 2 回のレビューサイクルでレビューされた 9 件のケーススタディの概要を示す。

ケーススタディで示された評価手法は、化学物質のグルーピング(7 件のケーススタディ)に基づくリードアクロスによるデータギャップ補完、リードアクロスではなく累積リスクアセスメントのための化学物質のグループ分け(ケーススタディ 2016-

2) 安全性評価ワークフロー(ケーススタディ 2016-5)であった。このワークフローにはリードアクロス評価が含まれているが、ケーススタディの焦点はワークフローのコンセプトであった。

ケーススタディの対象となるエンドポイントは、反復投与毒性(6件のケーススタディ)、神経毒性(1件)、遺伝毒性(1件)および生物濃縮(1件)であった。9件のケーススタディのうち5件が反復投与毒性のリードアクロスであった。

すべてのケーススタディは、MOA/AOP(4ケーススタディ)の使用、不確実性の把握とコミュニケーション(5ケーススタディ)、新しいアプローチ手法(NAM)の使用(5ケーススタディ)、低毒性/無毒性予測(ケーススタディ)を検討していた。

2015年の最初のレビューサイクルでは、リードアクロスのケーススタディ(OECD, 2016a)から、ガイダンスを発展させるための以下の6つの分野が特定された。

1. リードアクロスの範囲と文脈の記述
2. MOA/AOPに基づく仮説の構築
3. アナログ/カテゴリーの領域の定義
4. データギャップ補完の正当化
5. 不確実性の分析とレポートング
6. 総合的な結論

2016年の2回目のレビューサイクルで確認された、ガイダンスをさらに発展させるための主な追加的側面は次のとおりであった。

MOA/AOPに基づく仮説の構築: この領域は、2015年の第1回レビューサイクルのリードアクロスケーススタディから特定された。この領域に関する別の側面が、第2回レビューサイクルのリードアクロスを使用

しない2つのケーススタディから得られた。

- ・ リスク評価のためにカテゴリーアプローチを適用する方法。すなわち、同じAOPを介して作用する物質の累積リスクアセスメントへ使用する方法(ケーススタディ 2016-2)
- ・ グループ化における類似性以外の問題に対処するためにIATAにAOP情報を組み込む方法(例: ケーススタディ 2016-5のAOPに基づくインビトロ試験の適用)

低毒性/無毒性予測の決定論理: 陽性の予測(例えば標的毒性を引き起こす分子開始イベントに基づくグループ分け)のためのリードアクロスアプローチが開発されている。一方、低毒性/無毒性のリードアクロスのための有望な調和の取れたアプローチは、その本質的な困難さ故に開発されていない。しかし、将来の規制上の決定において、低毒性/無毒性予測は重要である。ケーススタディ 2016-3および2016-4はこのような予測を成功裏に実証した。低毒性/無毒性予測のための決定論理は、今後のガイダンスの発展のための領域の1つになると考えられる。New Approach Methodologies (NAM)の導入: 第2回レビューサイクルの5つのケーススタディでは、IATAにおけるNAMデータの使用例が異なっていた。レビューの経験に基づいて、この分野におけるさらなるガイダンスのために、以下の点が確認された。

- ・ NAMの記述方法: 非ガイドラインのインビトロ試験方法を記述するためのOECDガイダンス文書(OECD, 2014)は、背景情報として使用することができる。IATA(OECD, 2016b)で使用されるDefined Approachの報告に関

する OECD ガイダンス文書の個々の情報源を報告するためのテンプレートは、NAM またはキネティクスモデルの報告に使用することができる。しかし、プロジェクトでレビューされた IATA ケーススタディのタイプに適用するには、テンプレートの一部の変更が必要である。

- ・ ケーススタディにおいて NAM の結果とデータを報告する方法
- ・ NAM データの使用方法
- ・ NAM の不確実性の問題に対処する方法

不確実性分析と報告: この領域は、最初のレビューサイクルで、さらなるガイダンスの開発のための最も重要な分野の 1 つとして特定された。第 2 回レビューサイクルのケーススタディにおいても、不確実性を把握して伝達することの重要性が実証された。リードアクロスに対する不確実性の指針は、化学物質のグループ化に関する OECD ガイダンスの一部であるべきであるとされた。ケーススタディ 2016-3, 2016-4, 2015-1, 2015-2 で使用されている既存の不確実性テンプレート (Wu et al., 2010; Blackburn & Stuard, 2014; Schultz et al., 2015) は、ガイダンス開発の出発点となりうる。

E. 結論

このプロジェクトの 2 回目のレビューサイクルでは、5 件のケーススタディがレビューされた。そのうちの 3 つは、リードアクロスのケーススタディ、1 つは化学物質のグループ化による累積リスク評価のケーススタディ、もう 1 つは、動物試験に依存しない曝露ベースの化学物質安全性評価ワークフローに関するケーススタディであっ

た。プロジェクトチームによるケーススタディのレビューでは、5 つのケーススタディのすべてが、IATA 内の代替アプローチをさまざまなアプローチで実用的に使用していることを示し、IATA の使用を促進するために加盟国が共有すべき多くの貴重な知識を含んでいることが明らかになった。

5 つのケーススタディのレビュー結果に基づいて、IATA のさらなるガイダンス開発のために必要な分野が更新された。特に、2 つの新しい領域が優先度の高い領域として識別された。1 つは、NAM の使用である。5 つのケーススタディはすべて、IATA の機序的な妥当性を高めるための新しいアプローチ手法の使用例を示していた。もう一つは、低毒性/無毒性の領域である。低毒性/無毒性のためのリードアクロスの調和の取れたアプローチは、その本質的な困難さのために開発されていない。このレビューサイクルの 2 つのケーススタディは、このような予測を成功裏に実証した。不確実性の分析/報告は、第 2 回レビューサイクルにおいても依然として優先度の高い分野として識別された。

反復投与毒性のリードアクロスから得られた教訓としては、以下の点が挙げられる。

1. リードアクロスの結果の受入れは、基本的に次の 3 つの側面によって推進される。
 - ・ リードアクロスのデータの質と量。
 - ・ 類似性の仮説に関連する信頼性。
 - ・ インビトロ試験法のデータを含むサポート情報と WoE。
2. リードアクロス予測の信頼性は、以下の観点から不確実性を減少させることによって高めることができる。
 - ・ 透明性：リードアクロス予測を受け入

れるための基本となるものである。予測がどのように導出されたのか、またそれが意図された目的のために正当化された理由を科学的に説明することによって予測を正当化する必要がある。細部のレベルは目的に合っていないなければならない。

- ・ 機序的な蓋然性：リードアクロス予測を受け入れるために重要である。毒性学的関連性を示す必要がある。*in vitro*の影響を目的の *in vivo* エンドポイントに結びつける手段を提供する。AOPは、先端のエンドポイントへリンクするキーイベントを示唆することができる。
 - ・ WoE：WoEの増加は、類似性の正当性とリードアクロスの議論の完全性の両方の不確実性を低減する。Many to oneの予測は、one to oneの予測よりも優れている。*In vitro* および代替アプローチのデータは、WoEを改善し得る。
 - ・ 仮説の検証：*in vitro*法を *in silico*法に組み込むことにより、比較的迅速かつ安価な仮説に基づく試験および評価が可能になる。より高いレベルの確実性が要求される可能性が高い場合に、トキシコダイナミクスの不確実性を減少させ、“低毒性/無毒性”予測の受容を増加させることができる。
3. 不確実性の原因を明らかにする必要がある。識別するだけでは不十分である。不確実性には、主に2つの主要な問題に分かれるさまざまな要素が含まれる。一つは類似性の正当化(例えば、異なる試験条件からのデータの使用)に関連する不確実性であり、もうひとつはリードアクロスの議論の完全性に関連す

る不確実性(例えば、機序的妥当性)である。

4. MoAを明確に記載することは必ずしも可能ではないが、不確実性が少ないことは強いメカニズムの妥当性に直結する。毒性学的に関連する *in vitro* または代替方法のデータによってトキシコダイナミクスをサポートすることにより、機序的な妥当性の信頼性を高めることができる。
5. リードアクロスを定量化する際の制限事項として以下が挙げられる。
- ・ 適切な *in vivo* データの入手可能性。
 - ・ トキシコダイナミクスをサポートする毒性学的に関連する *in vitro* または代替方法のデータの不足。
 - ・ しかし、反復投与エンドポイントでのリードアクロスの主な制約は、トキシコキネティクスのデータと理解の欠如である。

IATA Case Studies Project において我々が提案した反復投与毒性のケーススタディ並びに他のケーススタディも含めたレビューの経験と議論の共有により得られた、リードアクロスの信頼性と結果の受け入れ性の向上へ向けた教訓と課題は、化審法のスクリーニング評価や将来のリスク評価へカテゴリーアプローチ手法を適用するとき有用となると考えられる。

F. 参考文献

- Blackburn, K. and S.B. Stuard (2014) A framework to facilitate consistent characterization of read across uncertainty. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **68**, 353-362.
- OECD (2014), Guidance document for

describing non-guideline *in vitro* test methods, Series on Testing & Assessment No. 211.

OECD (2016a), Report on considerations from case studies on Integrated Approaches for Testing and Assessment (IATA), First review cycle (2015); Case studies on grouping methods as a part of IATA, Series on Testing and Assessment No. 250.

OECD (2016b), Guidance document on the reporting of defined approaches to be used within Integrated Approaches to Testing and Assessment, Series on Testing and Assessment No. 255.

OECD (2017), Report on considerations from case studies on Integrated Approaches for Testing and Assessment (IATA), Second review cycle (2016); Case studies on grouping methods as a part of IATA, Series on Testing and Assessment No. 270.

Schultz, T.W., Amcoff, P., Berggren, E., Gautier, F., Klaric, M., Knight, D.J., Mahony, C., Schwarz, M., White A., Cronin, M.T.D. (2015), A strategy for structuring and reporting a read-across prediction of toxicity. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **72**, 586-601.

Wu, S., Blackburn, K., Amburgey, J., Jaworska, J., Federle, T. (2010) A framework for using structural, reactivity, metabolic and physico-chemical similarity to evaluate the

suitability of analogs for SAR-based toxicological assessments. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **56**, 67-81.

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanabe, S., Kobayashi, K., Matsumoto, M., Serizawa, H., Igarashi, T., Yamada, T., Hirose, A. Toxicity of repeated 28-day oral administration of acenaphthylene in rats, (2017) *Fundam. Toxicol. Sci.*, **4**, 247-259.

Matsumoto, M., Iso, T., Yamaguchi, H., Igarashi, T., Yamada, T., Hirose, A. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (III), *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, **135**, 39-44, 2017.

Yamada, T and Hirose, A. Case study on the use of an integrated approach to testing and assessment for the repeated-dose toxicity of phenolic benzotriazoles, Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Series on Testing & Assessment No. 271. 1-44, 2017.

Matsumoto, M., Furukawa, M., Kobayashi, K., Iso, T., Igarashi, T., Yamada, T., Hirose, A. A 28-day repeated oral-dose toxicity study of insecticide synergist N-(2-ethylhexyl)-1-isopropyl-4-methylbicyclo [2.2.2] oct-5-ene-2,3-dicarboximide in rats, (2018) *Fundam. Toxicol. Sci.*, **5**, 1-11.

Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Igarashi, T., Hirose, A. Male-specific

prolongation of prothombin time by industrial chemicals, (2018) *Fundam. Toxicol. Sci.*, 5, 75-82.

山田 隆志. OECD における QSAR、AOP の開発状況 (2018). 皮膚. 技術情報協会. *In press*

2. 学会発表

山田 隆志, 全身毒性の予測へ向けた毒性データベース - 透明性・データの共有・国際動向 - , 第 44 回日本毒性学会大会シンポジウムシンポジウム: インビトロ・インシリコ手法による全身毒性予測評価の現状と課題.(2017 年 7 月、横浜).

Yamada, T., Hirose, A., Honma, M. Our recent experiences for development of read-across approach for chemical safety assessment, 10th World Congress of Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (August 2017, Seattle, Washington, USA).

Yamada, T., Hayahshi, M., Honma, M. Toxicity Databases of Chemical Substances in Japan to Improve *in Silico* Approaches for Regulatory Safety Assessment. 53rd European Congress of the European Societies of Toxicology, (September 2017, Bratislava, Slovak).

Yamada, T., Hirose, A., Yang, C., Rathman, J. Development of a new database of non-cancer toxicity endpoints of industrial chemicals for improving TTC approach. 53rd European Congress of the European Societies of Toxicology, (September 2017, Bratislava, Slovak).

Matsumoto, M., Miura, M., Kawamura, T., Yamada, T., Kobayashi, N., Suzuki, T., Nishimura, T., Hirose, A. Derivation of health advisory values for sub-acute exposure of contaminants in drinking water. 53rd European Congress of the European Societies of Toxicology, (September 2017, Bratislava, Slovak).

Yamada, T. Toxicity Databases of Chemical Substances in Japan to Improve *in Silico* Approaches for Regulatory Safety Assessment. 12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens, (November 2017, Incheon, Korea).

Yamada, T., Hirose, A., Yang, C., Rathman, J. Evaluation of Genotoxicity and Carcinogenicity Profile for the TTC Database Used to Develop Safety Thresholds of Industrial Chemicals. Society of Toxicology Society, 57th Annual Meeting and ToxExpo (March 2018, San Antonio, USA).

Hirose, A., Kawamura, T., Igarashi, T., Yamada, T., Inoue, K., Nishimura, T., Matsumoto, M. Expansion of the sub-acute reference doses for non-quality-standard chemicals in drinking water. Society of Toxicology Society, 57th Annual Meeting and ToxExpo (March 2018, San Antonio, USA).

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

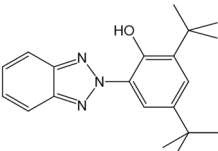
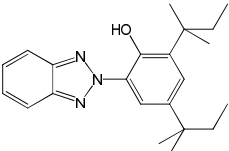
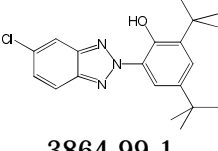
2. 実用新案特許

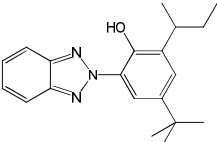
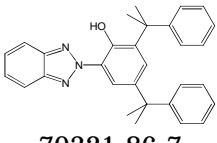
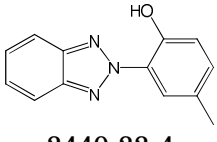
なし

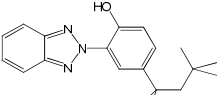
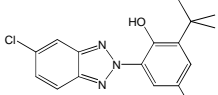
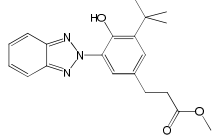
3. その他

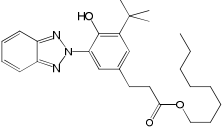
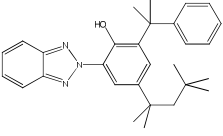
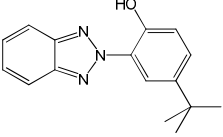
なし

表1. ベンゾトリアゾールカテゴリーのIATAによる評価結果のサマリー

No.	Chemical structure Chemical name CAS No.	Sub Category	Transcriptomic profile	Repeated-dose toxicity		
				Experimental results (GLP/non-GLP)	Integrated conclusion (read-across)	D value (hazard assessment value)*
1	 3846-71-7	1	CAR PXR PPAR Nrf2	Species: rats Dosing: 0, 0.1, 0.5, 2.5 mg/kg bw/day (male), 0, 0.5, 2.5, 12.5 mg/kg bw/day (female), 52 weeks by gavage NO(A)EL: 0.1 mg/kg bw/day (0.0003 mmol/kg bw/day) Liver effects: weight increase, hypertrophy of hepatocytes (0.5 mg/kg bw/day in male 12.5 mg/kg bw/day in female), altered hepatocellular foci (0.5 mg/kg bw/day in male) (Hirata-Koizumi <i>et al.</i> , 2008) GLP study		0.001 mg/kg bw/day
2	 25973-55-1	1	Not tested	Species: rats Dosing: 0, 100, 200, 400, 800, 1600 ppm, 90-day feeding NO(A)EL: 100 ppm (ca. 20 mg/kg bw/day, 0.057 mmol/kg bw/day) Liver effects: focal necrosis, bile duct proliferation, parenchymal cells enlarged (200 ppm in male and female) Kidney effect: tubular necrosis (200 ppm in male), Hematological effects (200 ppm in male), (Til <i>et al.</i> , 1968) Non-GLP study		0.010 mg bw/kg/day
3	 3864-99-1	1	CAR PXR PPAR Nrf2	Species: rats Dosing: 0, 2.5, 25, 250 mg/kg bw/day, 56-57 days for male, 55-69 days for female by gavage		0.004 mg/kg bw/day

				<p>NOEL: 2.5 mg/kg bw/day (0.007 mmol/kg bw/day) Liver effect: weight increase (25 mg/kg bw/day in male) non-adverse (Ema <i>et al.</i>, 2008) GLP study</p>	
4	 36437-37-3	1	Not tested	<p>Species: rats Dosing: 0, 0.5, 2.5, 12.5 mg/kg bw/days, 42 days (male), 41–55 days (female) by gavage NO(A)EL: 2.5 mg/kg bw/day (0.008 mmol/kg bw/day) Liver effect: weight increase (12.5 mg/kg bw/day) Kidney effect: weight increase (12.5 mg/kg bw/day) (METI, 2011) GLP study</p>	0.004 mg/kg bw/day
5	 70321-86-7	(2)	PPAR	<p>Species: rats Dosing: 0, 50, 300, 2000, 10000 ppm, 90 days by feeding NO(A)EL: 50 ppm (ca. 2.5 mg/kg bw/day (0.0056 mmol/kg bw/day) Liver effects: weight increase, hypertrophy, and/or cytoplasmic vacuolation of hepatocytes (2000 ppm in male, 300 ppm in female), (Basler, Phil II W. and Gfeller, W., 1987) GLP study</p>	0.0125 mg/kg bw/day
6	 2440-22-4	(3)	Nrf2	<p>Species: rats, Dosing: 0, 30, 100, 300 mg/kg bw/day, 42 days (male), 42–53 days (female) by gavage NOEL: < 30 mg/kg bw/day (< 0.133 mmol/kg bw/day) Liver effects: weight increase (30 mg/kg bw/day in male, 100</p>	0.005 mg/kg bw/day

				mg/kg bw/day in female), hypertrophy of hepatocytes (300 mg/kg bw/day in male, 100 mg/kg bw/day in female), Kidney effects: degeneration and regeneration in proximal tubules (100 mg/kg bw/day in female), (METI, 2007) GLP study		
7	 3147-75-9	(4)	CAR PPAR	Species: rats Dosing: 0, 12500, 25000, 50000 ppm, 30 days of feeding NO(A)EL: 5658 mg/kg bw/day (17.49 mmol/kg bw/day) No effects, (American Cyanamid Company, 1968) Non-GLP study		9.43 mg/kg bw/day
8	 3896-11-5	Not defined	Not tested	Species: rats Dosing: 0, 62.5, 250, 1000 mg/kg bw/day, 42 days for male, 44-56 days for female by gavage NO(A)EL: 1000 mg/kg bw/day (3.167 mmol/kg bw/day) No effects (MHLW., 2007) GLP study		5 mg/kg bw/day
9	 84268-33-7	Not defined	Not tested	Species: rats Dosing: 0, 50, 200, 1000 mg/kg bw/day, 28 days by gavage NO(A)EL: < 50 mg/kg bw/day (< 0.141 mmol/kg bw/day) Liver effects: weight increase, necrosis, hypertrophy of hepatocytes (50 mg/kg bw/day in male), diffuse hypertrophy of hepatocytes (50 mg/kg bw/day in female) (Ciba-Gaigy, 1986) GLP study		0.008 mg/kg bw/day

10	 127519-17-9	Not defined	Not tested		NO(A)EL : <64 mg/kg bw/day (< 0.141 mmol/kg bw/day) Hepatotoxic effects	0.011 mg/kg bw/day
11	 73936-91-1	(2)	Not tested		NO(A)EL : 2.5 mg/kg bw/day (0.0056 mmol/kg bw/day) Hepatotoxic effects	0.004 mg/kg bw/day
12	 3147-76-0	Not defined	Not tested		NO(A)EL : < 35 mg/kg bw/day (< 0.133 mmol/kg bw/day) Hepatotoxic effects	0.006 mg/kg bw/day

*D (mg/kg bw/day) = NOEL (mg/kg bw/day) /uncertainty factor.

If NOEL was not available, D = LOEL (mg/kg bw/day)/uncertainty factor.

表2 . 第1回および第2回レビューサイクルでレビューされたケーススタディの概要

Year-No.	Assessment approach	Endpoint	IATA topics			
			AOP*1	UR*2	NAM*3	L/N*4
2016-1 (Japan)	Read-across	Repeated dose toxicity		X	X	
2016-2 (US)	Grouping for cumulative risk assessment	Neurotoxicity	X		X	
2016-3 (ICAPO)	Read-across	Repeated dose toxicity		X	X	X
2016-4 (ICAPO)	Read-across	Repeated dose toxicity		X	X	X
2016-5 (JRC/BIAC)	Safety assessment workflow	Repeated dose toxicity	X		X	
2015-1 (Canada/US)	Read-across	Mutagenicity	X	X		
2015-2 (Canada)	Read-across	Repeated dose toxicity		X	X	
2015-3 (Japan)	Read-across	Repeated dose toxicity	X	X		
2015-4 (Japan)	Read-across	Bioaccumulation		X		X

- *1: AOP: MoA/AOP の使用
- *2: UR: 不確実性のレポートイング
- *3: NAM: 新規アプローチ手法の使用
- *4: L/N: 低毒性/無毒性予測