

研究課題名：インシリコ予測技術の高度化・実用化に基づく化学物質の  
ヒト健康リスクの評価ストラテジーの開発  
(H30-化学-指定-005)

研究代表者 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

本研究では、数万種に及ぶ既存化学物質のヒト健康リスクを効率的に評価するために、インシリコ手法の高度化と実用化に基づく評価のストラテジーを開発する。

Ames試験QSARに関しては、構築した大規模データベースを利用して予測精度の向上を目指す国際チャレンジプロジェクトを実施した。Phase IIIトライアルには11社のQSARベンダーが提供する16のQSARモデルが挑戦した。各モデルの予測性はPhase IIに比べて大きな向上は見られなかった。Phase III化合物はユニークな構造をもち、また分子量800以上の化合物を多く含むためと考えられる。本プロジェクトは終了したが、さらに予測性の向上を目指すため、Ames試験報告書の電子化と詳細データベース化に取り組んだ。

遺伝毒性試験結果の相違を*in vitro/in vivo*における代謝の比較解析から検討する前提として、利用データの妥当性を評価した。*In vitro*染色体異常試験（CA）陰性で*in vivo* 小核試験（MN）陽性物質およびAmes試験陰性でげっ歯類トランスジェニック突然変異試験（TGR）陽性物質を対象とした結果、前者では21物質中11物質が、後者では13物質中3物質が陰性/陽性で妥当と判断された。また、一部のAmes陰性・TGR陽性物質については、その代謝様式の違い、ならびに想定される警告構造について調査し、暫定的な結果を得た。

反復投与毒性については、カテゴリーアプローチモデルの適用範囲の拡大・高度化を図るため、国内外の公開反復投与毒性試験データを統合し世界最大規模のデータベースの構築を行っており、これまでに約 2500 物質の試験データを統合した。統合データベースの利用として、まず血液毒性について、共通する化学構造とそれらの毒性機序に関する情報収集と解析を行い、新規カテゴリーの候補を見出し、既存カテゴリーの精緻化に対しても統合データベースが有効に利用できる可能性が示唆された。

さらに、化学物質の主要な標的臓器である肝臓に対して、従来の化学構造情報のみを基にした肝毒性構造アラート作成に代わる新たなアプローチとして、AOP の一部である分子開始キーイベント（Molecular Initiating Event; MIE）情報に基づいた *in vitro* 試験データを用いた肝毒性予測モデルの作成を試みた。作成した予測モデルは、既存の知識ベース毒性予測モデル（Derek Nexus）と比較して幅広いケミカルスペースをカバーしており、高い予測性能（感度）を有していることが示された。

化学物質の体内動態予測システムの基盤整備では、生理学的薬物動態モデル（PBPK）に

関する文献を収集して、カテゴリーごとに分配係数と代謝パラメータのデータベース化を進めている。さらに、化学構造から推計した組織/血液間分配係数の妥当性について、15種の炭化水素類のラットの脳、肝臓、腎臓、脂肪および血中濃度実測値との比較することにより確認でき、化学物質の体内動態の推計に有用であると考えられた。

#### 研究分担者

本間 正充

国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

部長

森田 健

国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部

室長

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

広瀬 明彦

国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部

部長

石田 誠一

国立医薬品食品衛生研究所・薬理部

室長

の情報を組み合わせて化学物質の安全性を評価する統合的アプローチ（IATA）のコンセプトが整理されつつある。2020年以降は動物実験への依存度を軽減しつつ、化学物質が発現しうるヒトへの毒性を高精度で予測する*in silico*評価技術を確立し、IATAに基づいてヒト健康リスク評価のストラテジーを進化させる動きが加速すると考えられる。本研究では、有害性評価の長年の経験を有する専門家が選別した信頼性が高い試験データセットを用いて、QSAR並びにカテゴリーアプローチ手法の精度を向上させ、得られた成果を基に、国際的な調和の動向を取り入れた*in silico*予測評価ストラテジーを開発する。

Ames変異原性に関しては、これまで我が国で行われた労働安全衛生法（以下、「安衛法」という）Ames試験データを収集し、大規模データベースを構築した。その数は約1万3千物質になる。このデータをベンチマークデータセットとして、世界中のQSARベンダーに提供し、全てのQSARツールの予測率の向上を目指した国際チャレンジプロジェクトを実施中である。本年度は4,409化学物質を対象としたPhase IIIトライアルを実施した。（本間）

*In vitro*（肝S9画分）と*in vivo*（生物個体）間の代謝の違いは、異なる遺伝毒性試験結果を引き起こす可能性があり、この代謝の相違を考慮した*in silico*遺伝毒性予測モデル

#### A. 研究目的

WSSD2020年目標の達成に向けて、膨大な数の試験データのない化学物質の安全性評価が大きな課題となっている。さらに、動物福祉の観点から動物実験の削減の流れも着実に進んでいる。こうした動向に対応するため、現状の*in silico*評価の技術レベルの向上、適用範囲の拡大、安全性評価での実運用が強く求められている。近年OECDではAOP（毒性発現経路）の開発が精力的に進められており、QSARの適用が困難と考えられる複雑な毒性エンドポイントについて、AOPに基づいて*in silico*、*in vitro*、*in vivo*

が構築できれば、予測性の向上につながると期待される。*In vivo*特異的陽性の要因を*in vitro/in vivo*における代謝の比較解析等から検討するための前段階として、利用する実データの妥当性を評価する。(森田)

反復投与毒性については、化学構造から効果的に毒性を予測する手法の実用化に向けて、化学物質に関する既知毒性情報を網羅的に検索・解析可能なデータベースを構築(国内外の公開データベースを統合)する。それを有効に活用し、さらに代謝や毒性機序に関する情報を体系的に整理・集約して、カテゴリーアプローチにより未試験化学物質を評価するスキームを確立することを目指す。(山田)

反復投与毒性の毒性予測モデル開発の一環として、肝毒性に焦点を当ててきたが、従来の構造情報と毒性情報との相関性だけを基にした肝毒性アラート法に代えて、肝毒性エンドポイントに関連するkey event情報を収集し、毒性試験結果で得られた肝毒性物質の毒性プロファイルと組み合わせることによる新たなアプローチを用いた予測モデルの作成を目指した。(広瀬)

化学物質の体内動態予測システムの基盤整備では、文献等から代謝関連パラメータと分配係数のデータを収集・統合し、データベース化する。取得した代謝関連パラメータと化学構造から推計した組織/血液間分配係数を用いて体内動態を推定し、既存体内動態予測モデルをOECDのPBPKガイドランスに留意しつつ検証する。(石田)

## B. 研究方法

### B.1. Ames/QSAR予測性の向上と運用可能なAmes変異原性予測のスキームの確立に関する研究(本間)

Ames/QSARツールの予測性の向上を目指す国際チャレンジプロジェクト(Phase III)を継続した。4,409化合物を11社のQSARベンダーに提供し、合計で16のQSARツールが挑戦した。これらAmes試験の結果以下の3つに分類される。

- A判定: Ames試験における比活性値が1,000 rev/mg以上の強い陽性と判定される物質
  - B判定: Ames試験における比活性値が1,000 rev/mg未満の陽性判定物質
  - C判定: Ames試験における陰性判定物質
- 国際チャレンジプロジェクトでは上記のA, B, Cの試験データしか提供していないが、詳細データの提供が予測率の向上に重要と考え、Ames試験報告書の電子化とデータベース化に着手した。1986年~2015年までの安衛法Ames試験報告書を厚生労働省から入手し、電子化と、詳細データの抽出を行った。

### B.2. 代謝予測モデルの改良によるMoAに基づいた*in vivo*遺伝毒性予測性の向上に関する研究(森田)

既存の各種データベースから*in vitro* CA陰性で*in vivo* MN陽性と報告されている物質、およびAmes陰性でTGR陽性と報告されている物質を抽出し、原著論文等の精査により当該試験結果の妥当性を評価し、今後の研究に活用すべきデータか否かを検証した。また、一部のAmes陰性・TGR陽性物質については、暫定的にその代謝様式の違い、ならびに想定される警告構造について調査した。なお、当初の研究計画である初年度に*in vitro* CA陰性・*in vivo* MN陽性物質の抽出とそのデータの妥当性評価ならびに*in vitro/in vivo*代謝比較解析、次年度に

同様に Ames 陰性・TGR 陽性物質についての検討を、作業効率の観点から、初年度に *in vitro/in vivo* データの妥当性評価、次年度以降に、*in vitro/in vivo* 代謝比較解析を重点的に実施することとした。

### B.3. 反復毒性のカテゴリーアプローチモデルの高度化に関する研究 (山田)

国内外で公開されている化学物質の反復投与毒性試験データベース (HESS、COSMOS、ToxRef、RepDose、食品健康影響評価書等、総計約2500物質) の構成を調査し、共通・類似のデータ項目を選択して、一部修正を加えつつ、それらのデータを統合することにより、新たなデータベースを構築した。統合データベースを利用して、NO(A)ELの推定根拠となることが多い血液毒性を対象に、300 mg/kg/day以下で毒性を引き起こした物質を収集し、共通する化学構造をカテゴリーの候補として抽出した。代謝と毒性機序に関する情報を別途収集して解析することにより、構造と毒性の因果関係を明確化し、エビデンスに基づく化学物質のカテゴリーの構築を行った。さらに、構造類似で毒性が現われない物質の構造を収集・精査することにより、カテゴリーアプローチの適用範囲を検討・評価した。

### B.4. 反復投与毒性のAOPキーイベントリードアクロスモデルの精度向上に関する研究 (広瀬)

肝毒性予測モデル構築のためのMIE情報を検索するための化学構造を持つ化学物質の *in vivo* データと、外部検証に用いるための *in vivo* データを収集した。MIE 検索用データは内部検証としても用いた。MIE 検索用データは、HESS (Hazard Evaluation

Support System)と医薬基盤・健康・栄養研究所が提供する Open TG-GATEs (Toxicogenomics Project-Genomics Assisted Toxicity Evaluation System)の反復投与毒性試験情報 (HESS : 約 700 試験、Open TG-GATEs : 約 150 試験)から収集した。外部検証用データセットとしては USEPA が提供する ToxRefDB (Toxicity Reference Database)に収載された反復投与毒性試験 (約 500 試験)の情報から、上記の基準に従い肝毒性陽性物質 : 128 物質、陰性物質 : 72 物質を収集した。また、肝毒性と関連するMIE 情報を収集するため、PubChem BioAssay から、*in vitro* 試験のデータを収集した。その際、IPA (Ingenuity Pathway Analysis)に収載されている肝毒性に関連したターゲットタンパク質が記載されている *in vitro* 試験データに絞り込みを行った。

### B.5. 化学物質の体内動態予測システムの基盤整備とIATAへの適用に関する研究 (石田)

Ramsey and AndersenタイプのPBPKモデルにより体内動態を推定する際に必要な分配係数 (血液/空気, 組織/血液等) と代謝パラメータ ( $V_{max}$ ,  $K_m$ ) をデータベース化するため、主に一般化学物質関連の約1050文献をリスト化した。これらについてタイトルや要旨等からデータベース化に有用性か否かを判定し、選定した文献を収集し、得られる情報について精査した。また、一般化学物質の場合、既報値がある物質に限られるため、収集と並行して、分配係数の推定法 (Jongeneelen & ten Berge (2011) と Béliveau, Tardif and Krishnan (2003)) の妥当性についても、15種の炭化水素類のラットの脳、肝臓、腎臓、脂肪および血中濃度実測値 (Zalsen *et al.*, 1990) と比較することに

より確認した。

(倫理面への配慮) 本研究は動物を用いた研究を行わないため対象外である。

## C. 結果

### C.1. Ames/QSAR予測性の向上と運用可能なAmes変異原性予測のスキームの確立に関する研究 (本間)

Phase IIIトライアルに参加した11機関に、4,409化学物質の以下の情報を送付した。情報は、管理番号、CAS#、化学物質名、SMILESである。2017年3月末までに参加機関のQSARツールによるAmes試験判定予測結果を回収し、試験結果 (A, B, C) の予測精度を評価した。基本的な能力評価はSensitivity (A)、Sensitivity (A, B)、Specificity (C)、Accuracy (A, B, C) を用いた。全ての評価項目はPhase IIに比べて概して低く、予測率の顕著な向上は求められなかった。Accuracyに関してはCase-ULTRAの統計ベースモデル (87.3%) が最も高く、LeadScopeのルールベース (82.8%) がそれに次いだ。当初予定した国際チャレンジプロジェクトは全て終了し、研究成果を論文化した (Honma *et al.*, 2018)。

予測率の向上には試験結果のA, B, Cだけでなく、陽性を示す試験菌株の情報、代謝活性化の有無、溶媒、被験物質の純度等が重要と考え、これら詳細データのデータベース化を開始した。1986年~2015年までの安衛法Ames試験報告書 (約20,000) を厚生労働省から入手し、電子化作業を行った。H30年度は約2/3が終了する見込みである。このうち、国際チャレンジプロジェクトに利用した、12,140化合物に関して詳細データのデータベース化に着手した。

### C.2. 代謝予測モデルの改良によるMoAに基づいたin vivo遺伝毒性予測性の向上に関する研究 (森田)

*In vitro* CA陰性で*in vivo* MN陽性の21物質中11物質、およびAmes陰性でTGR陽性の13物質中3物質が当初の評価通り陰性/陽性で妥当と判断された。Ames陰性・TGR陽性物質のTamoxifenおよびCyproterone acetateについては、第1相アリル水酸化を受けた後、第2相硫酸抱合されることにより代謝活性化され、これは、*in vivo*個体においてのみ生じ、*in vitro*のS9系では、特別な補酵素を添加しない限り生じないことが、また、Oxazepamについては、環収縮代謝反応による酸化的脱炭酸と脱水素環化で生ずる第1相代謝産物がDNA反応性代謝物と考えられているが、当該物質は*in vitro*では認められないことが判明した。

### C.3. 反復毒性のカテゴリーアプローチモデルの高度化に関する研究 (山田)

国内外で公開されている毒性試験データベース (HESS、COSMOS、ToxRef、RepDose、食品健康影響評価書等、総計約2500物質) について共通するデータ項目を整理し、化学構造式の修正を行い、データベースを統合した。その結果、部分化学構造、毒性影響、試験条件などを指標に、カテゴリーアプローチの高度化に寄与するデータの検索・抽出・解析を効率的に行う基盤を構築することができた。統合データベースの反復毒性データを利用して化学物質の血液毒性を評価・検討し、異なる化学構造を有するカテゴリー (アニリン類、ニトロベンゼン類、オキシム類、ヒドラジン類) が、直接的あるいは代謝活性化を介してヘモグロビンを酸化し、活性酸素に起因する血液毒

性を発現しうる可能性を見いだした。  
Ethylene glycol alkyl ether類については、機序の詳細に不明な部分も残るが、血球膜に作用し構造・機能変化を促進すること、aryl-X-aryl構造を有する物質群については、ヘモグロビンの4つのサブユニットで形成される中央部分の空洞内壁部分やヘム結合サイト近傍の疎水ポケット等に複数の分子が非特異的に結合することで、ヘモグロビンのアロステリーに影響を及ぼしその酸素運搬機能の一部を阻害することで血液毒性を発現する可能性が示唆された。

#### C.4. 反復投与毒性のAOPキーイベントリードアクロスモデルの精度向上に関する研究 (広瀬)

収集した47の *in vitro* 試験データを用いて肝毒性予測モデルを構築した。予測プロセスの原則としては、クエリー（予測対象）物質あるいは類似構造を持つ物質についてそれぞれの *in vitro* 試験データに含まれていた場合にその試験結果（Active or Inactive）をそれぞれ陽性/陰性の判定とする2つのモデル（クエリー物質そのものを予測する Model A と類似構造もクエリーに含める Model B）を作成した。

感度は Model A で 0.49 となった。Model B では Model A よりも真陽性が4物質増えたために、感度は上昇し、0.52 であった。特異度は Model A で 0.84 となった。Model B では、偽陽性が Model A よりも10物質増加したため、特異度は 0.79 に減少した。そのほか陽性的中率、F 値、正確度については Model B が Model A を下回った。Derek Nexus との比較では、Model A, Model B とともに Derek Nexus より高い感度となった。Model A では全ての評価指標で Derek Nexus より

も高い数値が得られた。

また、外部検証データとして ToxRefDB で評価した結果では、Model A は感度が 0.69、特異度が 0.74 となり、HESS-TGP データセットを用いた時より感度が高くなった一方で特異度が減少した。また Model B では Model A と比較して特異度の減少に対する感度の上昇が大きく、陽性的中率、F 値、正確度のいずれにおいても Model A を上回った。Model A, Model B とともに Derek Nexus と比較して特異度は下回った。一方で Derek Nexus の感度は 0.5 以下であったことに対して、Model A および Model B は 0.7 前後の感度が得られた。

#### C.5. 化学物質の体内動態予測システムの基盤整備とIATAへの適用に関する研究(石田)

約1050文献の中から、約500を有用文献と選定し、収集した。収集文献の精査の結果、約140物質の情報が得られ、文献のそれぞれ約4割、3割および2割が、炭化水素類、ハロゲン化炭化水素類、アルコール・ケトン・エステル・エーテル類に関するもので、また約8割の文献からヒトとラットでの分配係数と代謝パラメータの両方の情報を入手できた。これらをデータベース化している。

15種の炭化水素類のラットの組織および血中濃度を、分配係数測定値 (Gargas *et al.*, 1989) および分配係数推定値 (logPから推定するJongeneelen & ten Bergeの方法、構造から推定するBéliveauらの方法) を用いてPBPKモデルで計算し、Zalsenらの実測値と比較した結果、実測濃度とPBPKモデル計算濃度間の相関係数はそれぞれ、0.81 (測定値)、0.78 (Jongeneelen & ten Bergeの方法)、0.67 (Béliveauらの方法) で、実測値との差異は平均で4.4倍 [0.2~34] (測定値)、5.6倍

[0.02~95] (Jongeneelen & ten Bergeの方法)、4.6倍 [0.06~44] (Béliveauらの方法)であった。これらの比較結果から、Jongeneelen & ten Bergeの方法、Béliveauらの方法による分配係数推定法がデータ補完に有用であると判断された。

## D. 考察

### D.1. Ames/QSAR予測性の向上と運用可能なAmes変異原性予測のスキームの確立に関する研究 (本間)

今回の Phase III の 4,409 化合物の予測精度に関しては、Phase II に比べて大きな向上は見られなかった。理由として、Phase III の化合物の多くはCAS番号を持たないユニークな構造をもち、また分子量 800 以上の高分子化合物を多く含むため、予測が困難であったことが考えられる。それでも全ての QSAR ツールは、チャレンジプロジェクト前の予測精度を大きく超え、共同研究は成功裡に終了した。いくつかの QSAR ツールの予測精度は 80-85%を示し、この数字は Ames 試験自体の試験機関間の再現性に匹敵する。Ames 試験に限らず生物学的試験にはばらつきや、生物学的不安定は常に存在し、100%結果が再現できることは少ない。むしろ、80-85%の再現性は他の毒性試験よりも高いかもしれない。従って、予測率の向上には QSAR モデルの改良だけでなく、毒性試験の改良や試験結果の再評価が重要である。Ames 試験の問題点はその結果が陽性、陰性の 2 元性(binary)であるため、弱い陽性反応が、場合によっては陰性と判定されることがある。また、複数のデータが有り、一つでも陽性を示した場合、安全性を考慮して保守的に陽性と判断し、データベースに収載されることがある。これらのデ

ータの結果が、科学的妥当性を欠く場合、それらデータはノイズとなって、正確な予測モデルの開発の障害となる。生物学的試験を学習データとする限り、そのデータの信頼性は予測率向上の最も重要な要素である。信頼できるデータのみからなるベンチマークデータセットを学習データとし、モデルを開発することが重要である。

### D.2. 代謝予測モデルの改良によるMoAに基づいたin vivo遺伝毒性予測性の向上に関する研究 (森田)

既存の各種データベース等に基づく試験結果は必ずしも正確ではないことが示された。その要因は、データベース収載時の単純な記載間違い、原著論文の読み込み不足、間違った二次資料からの引用などが想定されるが、明らかではない。また、類似の試験結果が存在する場合には、試験の信頼性・妥当性など証拠の重みづけ (WOE) による専門家判断に基づき、結果が異なってくることもある。TGR陽性物質について抽出された警告構造については、さらに検討する必要がある。

### D.3. 反復毒性のカテゴリーアプローチモデルの高度化に関する研究 (山田)

昨年度までにOECDのIATA Case Studies Projectにカテゴリーアプローチによる反復投与毒性の予測のケーススタディを3つ提出し、メンバー国の専門家による詳細なレビューを受けた。その結果として、利用できる毒性情報は可能な限り収集して信頼性評価を行い、目的に応じて適切に使い分けること、カテゴリーの標的とする臓器毒性エンドポイントは、他の臓器毒性エンドポイントより感受性が高いことを確認するこ

と、毒性予測は機序に基づいたものであること、ヒトへの外挿性についてできるだけ情報を提供することなどが毒性予測結果をリスク評価に用いる時の重要ポイントとして挙げられた。本研究において信頼性が高い毒性試験データを基にして構築した血液毒性カテゴリーの多くは、血液毒性が他の毒性より低用量から発現している。カテゴリーを構成する物質数、ならびに代謝や毒性機序に関する情報は肝臓を除く臓器毒性と比較して多く、信頼性の高いカテゴリーアプローチの適用が可能と考えられる。統合したデータベースを利用して反復投与による血液毒性の発現について、カテゴリーアプローチの適用範囲を拡大できる可能性が示唆されたが、同カテゴリーに分類される物質で当該毒性を発現しない事例については検討が不十分で不明な点も残っている。今後も統合データベースを利用した詳細な検討が必要であると考えられる。

#### D.4. 反復投与毒性のAOPキーイベントリードアクロスモデルの精度向上に関する研究(広瀬)

本研究で作成したModel Aの予測性能については、内部検証用のHESS-TGPデータセットに対する全ての評価指標（感度、特異度、陽性的中率、F値、正確度）と外部検証用のToxRefDBデータセットに対する特異度以外の評価指標はDerek Nexusを上回った。このことから、本研究で用意したデータセットに対して、Model AはDerek Nexusよりも高い予測性能を有していることが明らかになった。Derek Nexusの構造アラートによるアプローチと比べて、Model Aによってカバーされる肝毒性陽性物質のケミカルスペースが幅広いことが要因の一つである

と考えられた。一方、知識ベースのDerek Nexusより感度は上がったとは言え、未だ相当数の偽陰性物質が存在する。これは、未だ肝毒性に関するMIE情報が不足していることを示すものであるが、経口アベイラビリティや排泄などADME情報を加えることで予測性能が高くなる可能性のあることも示唆された。

#### D.5. 化学物質の体内動態予測システムの基盤整備とIATAへの適用に関する研究(石田)

収集・整理中の炭化水素類、ハロゲン化炭化水素類、アルコール・ケトン・エステル・エーテル類などの分配係数と代謝パラメータの比較解析により、カテゴリー物質の各パラメータがどの程度類似しているかについて知見を得ることが可能となる。また、炭化水素類の組織血中濃度の実測値と分配係数推定値を用いたPBPKモデルによる推計値と実測値の差異は4-6倍程度であり、スクリーニングレベルで活用できる可能性が示された。今後は、異なるカテゴリーへの適用を検討するとともに、代謝パラメータの推計法と推計値の妥当性の検証が必要である。

## E. 結論

遺伝毒性については、Ames試験予測QSARモデルの向上を目指した国際チャレンジプロジェクトは成功裡に終了した。さらなる予測性の向上を目指し、詳細データからなるベンチマークデータセットの開発を行う。また、平成31年度は新規の国際チャレンジプロジェクトを開始する。In vitro CA陰性・in vivo MN陽性の21物質中11物質、ならびにAmes陰性・TGR陽性の13物質中3物質が当該結果通りで妥当と判断され、以



降の代謝様式あるいは警告構造の検討に利用すべきと考えられた。

反復投与毒性については、国内外の公開反復投与毒性試験データを統合した世界最大規模のデータベースの構築を開始し、これまでに約2500物質の反復投与毒性試験データを統合した。血液毒性を対象に、機序に基づく信頼性が高いカテゴリーを構築できた。さらに、肝毒性のAOPの一部であるMIE情報に基づいた*in vitro*試験データを用いた肝毒性予測モデルの作成を行い、知識ベースのツールより高い感度を持つ予測モデルの作成に成功した。

体内動態予測システムの基盤整備では、取得した分配係数と代謝パラメータのデータベース化を進めるとともに、化学構造から推計した組織/血液間分配係数を用いて精度の高い体内動態を推定することに成功した。

以上のことから本研究は順調に推移している。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 誌上発表

1. Honma M, Kitazawa A, Cayley A, Williams RV, Barber C, Hanser T, Saiakhov R, Chakravarti S, Myatt GJ, Cross KP, Benfenati E, Raitano G, Mekenyan O, Petkov P, Bossa C, Benigni R, Battistelli CL, Giuliani A, Tcheremenskaia O, DeMeo C, Norinder U, Koga H, Jose C, Jeliaskova N, Kochev N, Paskaleva V, Yang C, Daga PR, Clark RD, Rathman J. Improvement of quantitative structure-activity relationship (QSAR) tools for predicting Ames mutagenicity: outcomes of the Ames/QSAR International Challenge Project. *Mutagenesis*, **34**, 3-16, 2019.
2. Petkov PI, Schultz TW, Honma M, Yamada T, Kaloyanova E, Mekenyan OG. Validation of the performance of TIMES genotoxicity models with EFSA pesticide data. *Mutagenesis*, **34**, 83-90, 2019.
3. Amberg A, Andaya RV, Anger LT, Barber C, Beilke L, Bercu J, Bower D, Brigo A, Cammerer Z, Cross KP, Custer L, Dobo K, Gerets H, Gervais V, Glowienke S, Gomez, S, Van Gompel J, Harvey J, Hasselgren C, Honma M, Johnson C, Jolly R, Kemper R, Kenyon M, Kruhlak N, Leavitt P, Miller S, Muster W, Naven R, Nicolette J, Parenty A, Powley M, Quigley DP, Reddy MV, Sasaki JC, Stavitskaya L, Teasdale A, Trejo-Martin A, Weiner S, Welch DS, White A, Wichard J, Woolley D, Myatt GJ. Principles and procedures for handling out-of-domain and indeterminate results as part of ICH M7 recommended (Q)SAR analyses. *Regul Toxicol Pharmacol.*, **102**, 59-64, 2019.
4. Mishima M, Hashizume T, Haranosono Y, Nagato Y, Takeshita K, Fukuchi J, and Homma M. Meeting report, ICH M7 relevant workshop: use of (Q)SAR systems and expert judgment. *Genes and Environment*, **40**, 19-25, 2018.
5. Tennant RE, Guesné SJ, Canipa S, Cayley A, Drewe WC, Honma M, Masumura K, Morita T, Stalford SA, Williams RV. Extrapolation of *in vitro* structural alerts

- for mutagenicity to the *in vivo* endpoint. *Mutagenesis*, **34**, 111-121, 2019.
6. Amberg A, Anger LT, Bercu J, Bower D, Cross KP, Custer L, Harvey JS, Hasselgren C, Honma M, Johnson C, Jolly R, Kenyon MO, Kruhlak NL, Leavitt P, Quigley DP, Miller S, Snodin D, Stavitskaya L, Teasdale A, Trejo-Martin A, White AT, Wichard J, Myatt GJ. Extending (Q)SARs to incorporate proprietary knowledge for regulatory purposes: is aromatic N-oxide a structural alert for predicting DNA-reactive mutagenicity? *Mutagenesis*, **34**, 67-82, 2019b.
  7. Morita T, Shigeta Y, Kawamura T, Fujita Y, Honda H, Honma M. *In silico* prediction of chromosome damage: comparison of three (Q)SAR models. *Mutagenesis*, **34**, 91-100, 2019.
  8. Benfenati E, Golbamaki A, Raitano G, Roncaglioni A, Manganelli S, Lemke F, Norinder U, Lo Piparo E, Honma M, Manganaro A, Gini G. A large comparison of integrated SAR/QSAR models of the Ames test for mutagenicity. *SAR QSAR Environ Res.*, **29**, 591-611, 2018.
  9. Myatt GJ, Ahlberg E, Akahori Y, Allen D, Amberg A, Anger LT, Aptula A, Auerbach S, Beilke L, Bellion P, Benigni R, Bercu J, Booth ED, Bower D, Brigo A, Burden N, Cammerer Z, Cronin MTD, Cross KP, Custer L, Dettwiler M, Dobo K, Ford KA, Fortin MC, Gad-McDonald SE, Gellatly N, Gervais V, Glover KP, Glowienke S, Van Gompel J, Gutsell S, Hardy B, Harvey JS, Hillegass J, Honma M, Hsieh JH, Hsu CW, Hughes K, Johnson C, Jolly R, Jones D, Kemper R, Kenyon MO, Kim MT, Kruhlak NL, Kulkarni SA, Kümmerer K, Leavitt P, Majer B, Masten S, Miller S, Moser J, Mumtaz M, Muster W, Neilson L, Oprea TI, Patlewicz G, Paulino A, Lo Piparo E, Powley M, Quigley DP, Reddy MV, Richarz AN, Ruiz P, Schilter B, Serafimova R, Simpson W, Stavitskaya L, Stidl R, Suarez-Rodriguez D, Szabo DT, Teasdale A, Trejo-Martin A, Valentin JP, Vuorinen A, Wall BA, Watts P, White AT, Wichard J, Witt KL, Woolley A, Woolley D, Zwickl C, Hasselgren C. *In silico* toxicology protocols. *Regul Toxicol Pharmacol.*, **96**, 1-17, 2018.
  10. Fujita Y, Honda H, Matsumura S, Yamane M, Morita T, Matsuda T, Morita O. A decision tree-based integrated testing strategy for the tailor-made carcinogenicity evaluation of test substances using genotoxicity test results and chemical spaces. *Mutagenesis*, **34**, 101-109, 2019.
  11. Igarashi T, Takashima H, Takabe M, Suzuki H, Ushida K, Kawamura T, Matsumoto M, Iso T, Tanabe S, Inoue K, Ono A, Yamada T, Hirose A. Initial hazard assessment of benzyl salicylate: *In vitro* genotoxicity test and combined repeated-dose and reproductive /developmental toxicity screening test in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **100**, 105-117, 2018.
  12. Chesnut M, Yamada T, Adams T, Knight, D, Kleinstreuer N, Kass G, Luechtefeld T,

- Hartung T. Regulatory acceptance of read-across. *ALTEX*, **35**, 413-419. 2018.
13. Igarashi T, Serizawa H, Kobayashi K, Suzuki H, Matsumoto M, Iso T, Kawamura T, Inoue K, Ono A, Yamada T, Hirose A. Initial hazard assessment of 4-benzylphenol, a structural analog of bisphenol F: Genotoxicity tests *in vitro* and a 28-day repeated-dose toxicity study in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **96**, 64-75, 2018.
  14. 山田隆志. OECDにおけるQSAR、AOPの開発状況, 4-3, 151-157, 皮膚の安全性・有用性評価法. 技術情報協会. 2018.
  15. Yamada T, Tanaka Y, Hasegawa R, Igarashi T, Hirose A. Male-specific prolongation of prothombin time by industrial chemicals, *Fundam. Toxicol. Sci.*, **5**, 75-82, 2018.
  16. 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-ethyl-hexyl)-1-isopropyl-4-methylbicyclo[2.2.2]oct-5-ene-2,3-dicarboximide in rats, *Fundam. Toxicol. Sci.*, **5**, 1-11, 2018.
  17. Yamada T, Matsumoto M, Miura M, Hirose A. Case study on the use of integrated approaches to testing and assessment for testicular toxicity of ethylene glycol methyl ether (EGME)-related chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), in press, 2019.
  18. Matsumoto M, Iso T, Igarashi T, Tanabe S, Inoue K, Hirose A. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (IV). *Bull. Natl Inst. Health Sci.*, **136**, 108-113, 2018.
  19. Kohara A, Matsumoto M, Hirose A, Hayashi M, Honma M, Suzuki T. Mutagenic properties of dimethylaniline isomers in mice as evaluated by comet, micronucleus and transgenic mutation assays. *Genes Environ*, **40**, 18-27, 2018.
- 学会発表
1. Honma M. AMES/QSAR International Collaborative Study. QSAR2018 (June 2018, Bled, Slovenia)
  2. 森田健：遺伝毒性評価のための*in vivo*試験実施戦略、日本毒性学会シンポジウム：動き始めた遺伝毒性評価の新たな潮流、第45回日本毒性学会学術年会（2018年7月 大阪）
  3. Morita T, Shigeta Y, Kawamura T, Fujita Y, Honda H, Honma M. Current Situation of *in silico* Prediction of chromosome aberration, Environmental Mutagenesis & Genomics Society, 49th Annual Meeting (September 2018, San Antonio, USA)
  4. Fujita Y, Honda H, Yamane M, Morita T, Matsuda T, Morita O. Integrated testing strategy for carcinogenicity evaluation of chemicals using genotoxicity tests and chemical properties, 20th International Congress on *In Vitro* Toxicology (October 2018, Berlin, Germany)
  5. Yamada T, Kurimoto M, Shiraiishi H, Yamamoto H, Tatarazako N, Nishimura T, Hirose A. Evaluation of QSAR models

- for daphnia and fish chronic toxicities of human pharmaceuticals. SETAC Europe 28<sup>th</sup> Annual Meeting (May 2018, Rome, Italy)
6. 山田隆志：毒性関連大規模データベースの利用とリードアクロスによる安全性評価. 第 45 回日本毒性学会学術大会 (2018 年 7 月 大阪)
  7. 田邊思帆里、広瀬明彦、山田隆志：Adverse Outcome Pathway(AOP)の構築～ヒストン脱アセチル化酵素阻害による精巢毒性に関する AOP を例に～. 第 45 回日本毒性学会学術大会 (2018 年 7 月 大阪)
  8. 五十嵐智女、高部道仁、高島宏昌、鈴木洋、牛田和夫、松本真理子、磯貴子、川村智子、井上薫、小野敦、山田隆志、広瀬明彦：サリチル酸ベンジルの遺伝毒性、反復投与毒性及び生殖発生毒性のスクリーニング. 第 45 回日本毒性学会学術大会 (2018 年 7 月 大阪)
  9. Yamada T, Matsumoto M, Kitajima S, Aisaki K, Kanno J, Hirose A, Category assessment of repeated-dose hepatotoxicity of phenolic benzotriazoles for OECD IATA Case Studies Project in 2016. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (September 2018, Brussels, Belgium)
  10. Matsumoto M, Kawamura T, Inoue K, Yamada T, Kobayashi N, Hirose A. Updates and overview of derivation of subacute guidance values for contaminants in drinking water in Japan. 54th Congress of the European Societies of Toxicology (September 2018, Brussels, Belgium)
  11. 山田隆志、栗本 雅之、広瀬明彦、Chihae Yang, James F Rathman：非発がんエンドポイントの TTC アプローチを改良するための新しいデータベースの開発. 日本動物実験代替法学会第 31 回大会 (2018 年 11 月 熊本)
  12. 城島光司、山田隆志、広瀬明彦：分子キーイベントのインビトロ試験データを用いた肝毒性予測モデルの開発. 日本動物実験代替法学会第 31 回大会 (2018 年 11 月 熊本)
  13. 城島光司、山田隆志、広瀬明彦：インビトロ試験データを用いた分子レベルのイベントによる肝毒性予測. 第 46 回構造活性相関シンポジウム (2018 年 12 月 大阪)
  14. Yamada T, Kurimoto M, Miura M, Kawamura T, Jojima K, Taira N, Ohata H, Tsujii S, Ohno A, Hirose A. Establishing mechanistic key event information of repeated dose toxicity to support category-based read-across assessment. 58<sup>th</sup> Annual Meeting of Society of Toxicology (March 2019, Baltimore, USA)
  15. 山田隆志、足利太可雄、小島肇、広瀬明彦：AOP (Adverse Outcome Pathway; 有害性発現経路) に基いた化学物質の安全性評価へ向けたチャレンジ. 日本薬学会第 139 年会 (2019 年 3 月 千葉)
  16. Hirose A, Matsumoto M, Kawamura T, Yamada T, Inoue K, Setting of the subacute guidance value for risk management of emerging issues at the drinking water quality, ASAITOX 2018 (June 2018, Pattaya, Thailand)
  17. 松本真理子、田邊思帆里、芹沢英樹、

高部道仁、川村智子、五十嵐智女、磯貴子、井上薫、山田隆志、広瀬明彦：  
アセナフチレンの人健康影響に係る  
安全性試験結果：28日間反復投与毒性  
試験及び遺伝毒性試験。第45回日本  
毒性学会学術大会（2018年7月 大阪）

18. Inoue K, Otsuki N, Hirose A. Assessment of Reproductive and Repeated Dose Toxicity for Cyclopentyl Methyl Ether (CPME) as a Residual Solvent in Pharmaceuticals. 39th Annual Meeting, American College of Toxicology (November 2018, West Palm Beach, Florida, USA)
19. 田邊思帆里, 山田隆志, 広瀬明彦：ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤(HDI)によるシグナルパスウェイ～OECDにおける有害性発現パスウェイ (Adverse Outcome Pathway) の取り組みについて～. 第41回日本分子生物学会年会（2018年11月横浜）
20. 田邊思帆里, 山田隆志, 広瀬明彦：遺伝子ネットワーク解析による分子パスウェイ解明及び AOP 開発状況について. 日本薬学会第139年会（2019年3月 千葉）

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし