

神経毒性のインシリコ予測・評価手法開発

研究分担者 吉成 浩一 静岡県立大学薬学部 教授

研究要旨

本研究の最終目的は、既存の動物実験データを収集し、それらを利用して神経毒性・発達神経毒性を誘発する化学物質の構造的・物理化学的特徴を同定すること、並びに毒性判別モデルを構築することである。本年度はまず、文献情報等から発達神経毒性を示す物質と示さない陰性物質を抽出し、両物質群間における物理化学的特徴の差を分子記述子データを基に比較解析した結果、陽性物質では塩素原子等のハロゲン数が多く、脂溶性や不飽和度が高いことなどが明らかになり、発達神経毒性と組織・胎児への移行性との関連が示唆された。他方、食品安全委員会で開催されている農薬評価書からラットの繁殖毒性試験及び発生毒性試験の情報を抽出して整理した。今後、毒性所見の整理を進めてデータベースを完成させることで、神経毒性・発達神経毒性を示す化学物質の物理化学的特徴の解明、陽性物質のグループ化並びに神経毒性・発達神経毒性判別モデルの構築が可能になると期待される。

研究分担者
吉成 浩一 静岡県立大学薬学部 教授

A. 研究目的

近年、インシリコ手法による化学物質の毒性予測・評価が行われているが、反復投与毒性、発がん性、神経毒性・発達神経毒性など、毒性発現機序が複雑な毒性については、公的に利用可能な動物試験結果データベースがないことなどの理由から研究が遅れている。そこで本研究では、既存の動物実験データを収集してデータベースを構築し、それらを利用して神経毒性・発達神経毒性を誘発する化学物質の構造的特徴を明らかにすること、さらには毒性判別モデルを構築することを最終目標とした。

B. 研究方法

化学構造的特徴の解析

文献情報等から発達神経毒性を示すと考えられる175物質並びに発達神経毒性を示さないと考えられる44物質の情報を抽出した。これら219物質について、化学名やCAS番号から二次元化学構造をChem Draw Professional (PerkinElmer)により描画した。次いで、Chem3D (PerkinElmer)のMM2コマンドにより構造最適化を行い、三次元(3D)構造を取得した。得られた3D構造に基づき分子記述子計算ソフトウェアであるDragon 7 (Talete)により分子記述子を計算した。統計的解析にはMicrosoft Excel及びJMP Pro 14 (SAS Institute)を使用した。

毒性試験データの収集

食品安全委員会で開催されている農薬評価書をダウンロードし、ラットの二世(又は三世)繁殖毒性試験及び発生毒性試験の情報を抽出した。得られた情報はMicrosoft Excelを利用して整理した。

(倫理面の配慮)

本研究では動物実験データを利用した解析を行うため、倫理的配慮を必要とする情報は含まれない。

C. 研究結果

1. 発達神経毒性と関連する構造的特徴

Dragon 7で計算された5270種の分子記述子について、175種の発達神経毒性陽性物質及び44種の陰性物質間でWelchのt検定を行った。その結果、517記述子の平均値が有意($P < 0.05$)に異なることが明らかになった。このうち、 $P < 0.01$ であったのが303記述子、 $P < 0.001$ であったのが172記述子であった。P値が小さいものから上位30種類を表1に示した。塩素等のハロゲン原子や脂溶性に関連するものが多かった。一方で、構造的特徴が分かりにくい記述子も多く認められた。

Dragon 7では各記述子をいくつかのグループに分けていることから、比較的化学構造的な理解をしやすい基本記述子群「Constitutional indices」と官能基数「Functional group counts」のグループにおいて有意差($P < 0.05$)が認められた記述子をそれぞれ表2及び表3に示した。

分子量に両群で有意な差は認められなかったが、ハロゲン関連記述子に加え、AMW(平均分子量:分子量を原子数で除した値)、nHM(重原子数:原子量が酸素より大きい原子数)、nCsp2(Sp2:炭素間結合数)、nAB(芳香族性結合数)、nMB(多重結合数)が陽性物質で多く、H%(水素原子数の割合)、O%(酸素原子数の割合)、nO(酸素原子数)が陽性物質で有意に小さかった(表2)。これらの結果は、陽性物質では脂溶性が高いことを示しており、組織・胎児移行性と関連しているのかもしれない。

官能基では、nHDon(水素結合ドナー数)、nROH(脂肪族ヒドロキシ基数)、nRCOOH(脂肪族カルボン酸数)、nRCONR2(脂肪族アミド数)、nHBonds(分子内水素結合数)、nRNR2(3級アミン数)、nRNH2(2級アミン数)、nOHs(2級アルコール数)、nOHp(1級アミン数)が陽性物質に比べて陰性物質で大きかったのに対し、nCb-(ベンゼン環における置換基数)やnArX(芳香環における置換基数)、nCar(芳香族/sp2炭素の数)が陽性物質で大きい値を示した。陰性物質では水溶性が高い官能基が多く、解毒排泄されやすいことを示唆する結果と考えられる。

2. 発達神経毒性判別モデル構築の予備検討
「Functional group counts」グループの記述子は構造的な特徴を理解する上で有用であること、また上記の統計解析で発達神経毒性陽性物質ではハロゲン関連

記述子の値が大きかったことから、「Functional group counts」グループに含まれる 101 種の記述子に nX（ハロゲン原子数）、nCL（塩素原子数）及び nF（フッ素原子数）の 3 記述子を加えた 104 記述子を説明変数として、JMP Pro を利用して決定木解析を行った。

バギング法（ブートストラップ法）により複数の木を作成し、高い頻度で利用され、発達神経毒性判別に重要と考えられる記述子を探索した結果、nROH（脂肪族ヒドロキシ基数）、nHDon（水素結合ドナー数）、nX（ハロゲン原子数）及び nCbH（ベンゼン環における未置換水素数）の 4 記述子を選出された。これらはいずれも発達神経毒性陽性群と陰性群で有意に異なる記述子として同定されたものであった（表 1~3）。各物質について 4 記述子の分布を調べてみると、表 1~3 に示した通り、nHDon や nROH では陰性物質で高い傾向が、nX や nCbH では陽性物質で高い傾向が認められた（図 1）。

次に、これら 4 記述子のうち 1 つが第 1 分岐となる決定木をそれぞれ作成し、誤判別率が 10%以下であった判別条件（記述子単独又は組合せ）を抽出した結果、上述の 4 記述子に加えて、nRCONR2（アミド結合数）、nHBonds（分子内水素結合数）並びに nCar（芳香族/sp2 炭素の数）と nROH の組合せが同定された。

そこで、これら記述子を用いて全 219 物質を最もよく判別できるモデルの構築を試みた。得られたモデルを図 2 に示した。このモデルの一致率は 0.890（219 物質中 195 物質一致）、陽性物質を陽性と判定する感度は 0.954（175 物質中 167 物質一致）、陰性物質を陰性と判定する特異度は 0.636（44 物質中 28 物質一致）であり、非常に高い精度でデータセットの物質を分類できることが示された。

3. 毒性試験データの収集

食品安全委員会で開催されている農薬評価書について、ラット二世世代又は三世世代繁殖試験結果の記載内容を確認し、使用動物数が不明確な試験等を除いた 359 物質、418 試験の結果を入手できた。得られた情報は Microsoft Excel を利用して整理した。

具体的には、親（二世世代試験では P 及び F1）シートと仔（二世世代試験では F1 及び F2）シートに分け、系統や投与量などの試験情報、無毒性量や繁殖能への影響などの試験結果概要、ならびに認められた個別の所見とその投与量の情報を、世代、雌雄別に整理した（図 3）。

最終的には親で 1100 所見、仔で 492 所見が得られた。これら所見のうち、当研究室で以前に作成したラット反復投与毒性試験データベース（Masuda et al, *Yakugaku Zasshi*, 137: 611-622, 2017）に基づいて作成した類義語集（シソーラス）に掲載されているものにはそのコード番号を付与した。妊娠、出産など繁殖に関連する所見は本類義語集にはないことから、現在これらの所見の整理を進めている。

発生毒性試験についても同様の作業を進めて試験情報・毒性所見の抽出を行い、270 物質、341 試験の情報を収集した。所見数は親で 550、仔で 490 であった。

D. 考察

発達神経毒性物質の化学構造的特徴

発達神経毒性を生じる化学物質の構造的な特徴を明らかにするために、既知の情報をもとに発達神経毒性陽性物質並びに陰性物質を選出し、物理化学及び構造的特徴量の指標である分子記述子を掲載して両群物質間での差異を解析した。その結果、陽性物質は、ハロゲン原子を多く含み、脂溶性が高いことが示唆された。これらの結果は、例外物質はあるものの、発達神経

毒性を示す物質は組織移行性が高く、陰性物質群に比べて脳血液関門や胎盤血液関門などを通過しやすいことを示している。

さらに、発達神経毒性を化学構造から予測可能なモデルの構築を最終的なゴールとし、本年度は比較的解析しやすい官能基数や原子数などの限られた分子記述子を利用して決定木解析による判別分類モデルの作成を試みた。その結果、7 つの記述子により一致率 0.890 のモデルを構築することができた。

作成した決定木の感度（陽性物質の的中率）は 0.954 と高かったが、特異度（陰性物質の的中率）は 0.636 と低かった。これは用いたデータセットが、陽性物質 175 種、陰性物質 44 種と物質数に偏りがあったことによるものと考えられる。実験バイアスや報告バイアスのため、一般的に毒性物質に比べて、非毒性物質の情報は限られている。本研究では生殖発生毒性試験の情報を収集しデータベース化を進めていることから、本データベースにより得られた陰性物質を今後追加して解析データのインバランスを解消することで、感度と特異度のバランスが取れたモデルの構築が可能になると考えている。

また、通常の機械学習においては、データセットを学習用データと検証用データに分割して、学習用データで作成したモデルを検証用データで検証する、いわゆる外部検証が行われる。しかしながら本研究では、入手できた物質情報が少なかったため、外部検証を行っていない。このため、作成したモデルの適応範囲が、用いた化学物質に限定される可能性は否定できない。今後本研究で作成しているデータベースを利用するなど、物質数を拡充して外部検証を行いながら発達神経毒性予測モデルの構築を進める予定である。

ラット毒性試験データの収集

発達神経毒性や神経毒性に関する公開データベースはなく、機械学習等を用いた解析は困難である。実際、本研究でも既知見から収集できた物質数は非常に限られていた。それらを踏まえて本研究では、公開されているラット生殖発生毒性試験のデータベース化も併せて進めている。現時点で、食品安全委員会で開催されている農薬評価書から入手可能な繁殖毒性試験データについてはほぼすべてのデータ収集が終了した。前述の通り、ラット反復投与毒性試験で認められる所見に関しては当研究室で作成した類義語集に基づいて所見名の整理を行っているが、繁殖試験では妊娠、出産に関する未登録の所見が非常に多く認められた。そこで、これら所見のシソーラスの作成を始めた。所見整理が終了次第、入力データのダブルチェックを行い、データベースを完成させる予定である。

本研究では、繁殖毒性試験に加えて発生毒性試験に関してもデータベース化を進めている。これら生殖発生毒性試験のデータベースは世界的にも珍しく、データベース自体としても非常に貴重なものになると思われる。さらに、全所見の中から、神経毒性・発達神経毒性と考えられる所見を定義することで、統計学解析による発達神経毒性と関連する化学構造的な特徴の同定や、機械学習を利用した発達神経毒性予測モデルの構築に関する研究が飛躍的に進むものと期待している。

さらに、本毒性試験データは、共同研究者が実施している発達神経毒性インビトロ評価系で使用される被験物質の選択にも非常に有用であると考えている。一般的に評価系の構築には典型的な毒性物質、非毒性物質が用いられるが、その陽性・陰性の判定は、各物質で個別に行われており、体系的に評価されているわけではな

い。そこで、本毒性試験データベースを利用して陽性及び陰性検証物質を選択して試験系の構築を進めることで、インビボ試験（毒性）とインビトロ試験の関連性が明確になり、評価系の信頼性向上につながることを期待される。

E. 結論

既存の発達神経毒性情報を利用して、発達神経毒性を示す物質の物理化学的・構造的特徴の一端を明らかにした。また、既存の情報が非常に限られていることから、機械学習への応用を目的としたラット毒性試験データベースの構築を進め、繁殖毒性試験データベースのプロトタイプを構築した。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1 発達神経毒性陽性物質及び陰性物質間で有意差が認められた分子記述子（上位30種）

記述子	P 値	平均値		中央値		最大値		最小値	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
P_VSA_ppp_hal	1.12E-10	44.883	2.669	0.000	0.000	391.486	78.297	0.000	0.000
nX	5.95E-10	1.474	0.068	0.000	0.000	17.000	2.000	0.000	0.000
ALOGP2	7.43E-10	16.080	5.211	10.700	2.250	111.674	30.424	0.000	0.000
MLOGP2	1.26E-08	11.723	4.628	6.972	2.811	51.296	22.991	0.000	0.007
X%	3.90E-08	5.318	0.327	0.000	0.000	57.692	11.765	0.000	0.000
H0p	4.08E-08	1.444	1.046	1.210	1.088	5.677	1.618	0.412	0.603
ALOGP	8.22E-08	3.172	1.018	3.271	1.223	10.568	5.516	-2.484	-2.974
P_VSA_v_3	1.40E-07	127.119	75.369	111.272	75.793	396.620	154.260	0.000	0.000
R3p+	1.59E-07	0.039	0.024	0.026	0.023	0.243	0.047	0.000	0.011
Eta_alpha_A	2.01E-07	0.494	0.464	0.487	0.471	0.754	0.501	0.358	0.417
R2p+	2.61E-07	0.049	0.035	0.038	0.034	0.179	0.066	0.012	0.015
P_VSA_p_3	3.39E-07	125.180	75.341	110.923	75.793	396.620	154.260	0.000	0.000
HATS2p	5.10E-07	0.159	0.115	0.131	0.113	0.575	0.225	0.041	0.048
R4p+	5.92E-07	0.030	0.019	0.020	0.017	0.149	0.039	0.000	0.012
SpPosA_B(m)	6.94E-07	1.518	1.398	1.414	1.380	3.053	1.679	1.166	1.308
BIC3	7.84E-07	0.735	0.817	0.773	0.824	0.938	0.947	0.000	0.541
P_VSA_ppp_L	9.68E-07	99.286	56.433	82.181	52.821	391.486	129.577	0.000	0.000
BIC4	1.04E-06	0.747	0.830	0.776	0.839	0.951	0.966	0.000	0.541
HATSp	1.27E-06	3.325	2.479	2.880	2.594	14.376	3.743	0.771	1.066
nCL	1.74E-06	0.743	0.068	0.000	0.000	10.000	2.000	0.000	0.000
H0v	2.07E-06	1.261	1.017	1.160	1.022	3.504	1.481	0.386	0.526
P_VSA_e_4	2.12E-06	28.858	2.669	0.000	0.000	391.486	78.297	0.000	0.000
NsCl	2.12E-06	0.960	2.386	0.000	2.000	8.000	6.000	0.000	0.000
F01[C-Cl]	2.12E-06	0.737	0.068	0.000	0.000	10.000	2.000	0.000	0.000
Mp	2.15E-06	0.693	0.638	0.674	0.648	1.119	0.760	0.496	0.529
HATS0p	2.21E-06	0.194	0.102	0.112	0.088	1.802	0.256	0.025	0.031
H2m	2.33E-06	1.516	0.899	1.130	0.837	7.437	2.360	0.003	0.052
T(O..Cl)	2.54E-06	7.434	0.409	0.000	0.000	108.000	18.000	0.000	0.000
X0Av	2.73E-06	0.634	0.586	0.612	0.592	0.977	0.646	0.421	0.497
SsCl	2.75E-06	4.386	0.389	0.000	0.000	65.668	11.160	0.000	0.000

ハロゲン原子又は脂溶性に関わる記述子を太字で示した。

P_VSA_ppp_hal, P_VSA-like on potential pharmacophore points, hal - halogen atoms; nX, number of halogen atoms; ALOGP2, squared Ghose-Crippen octanol-water partition coeff. ($\log P^2$); MLOGP2, squared Moriguchi octanol-water partition coeff. ($\log P^2$); X%, percentage of halogen atoms; H0p, H autocorrelation of lag 0 / weighted by polarizability; ALOGP, Ghose-Crippen octanol-water partition coeff. ($\log P$); P_VSA_v_3, P_VSA-like on van der Waals volume, bin 3; R3p+, R maximal autocorrelation of lag 3 / weighted by polarizability; Eta_alpha_A, eta average core count; R2p+, R maximal autocorrelation of lag 2 / weighted by polarizability; P_VSA_p_3, P_VSA-like on polarizability, bin 3; HATS2p, leverage-weighted autocorrelation of lag 2 / weighted by polarizability; R4p+, R maximal autocorrelation of lag 4 / weighted by polarizability; SpPosA_B(m), normalized spectral positive sum from Burden matrix weighted by mass; BIC3, Bond Information Content index (neighborhood symmetry of 3-order); P_VSA_ppp_L, P_VSA-like on potential pharmacophore points, L - lipophilic; BIC4, Bond Information Content index (neighborhood symmetry of 4-order); HATSp, leverage-weighted total index / weighted by polarizability; nCL, number of Chlorine atoms; H0v, H autocorrelation of lag 0 / weighted by van der Waals volume; P_VSA_e_4, P_VSA-like on Sanderson electronegativity, bin 4; NsCl, Number of atoms of type sCl; F01[C-Cl], Frequency of C - Cl at topological distance 1; Mp, mean atomic polarizability (scaled on Carbon atom); HATS0p, leverage-weighted autocorrelation of lag 0 / weighted by polarizability; H2m, H autocorrelation of lag 2 / weighted by mass; T(O..Cl), sum of topological distances between O..Cl; X0Av, average valence connectivity index of order 0; SsCl, Sum of sCl E-states.

表2 発達神経毒性陽性物質及び陰性物質間で有意差が認められたConstitutional indicesの分子記述子

記述子	P 値	平均値		中央値		最大値		最小値	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
nX	5.95E-10	1.474	0.068	0.000	0.000	17.000	2.000	0.000	0.000
X%	3.90E-08	5.318	0.327	0.000	0.000	57.692	11.765	0.000	0.000
nCL	1.74E-06	0.743	0.068	0.000	0.000	10.000	2.000	0.000	0.000
Mp	2.15E-06	0.693	0.638	0.674	0.648	1.119	0.760	0.496	0.529
AMW	1.09E-05	9.237	7.664	7.986	7.351	27.981	12.119	4.760	5.774
nHM	1.22E-05	1.354	0.477	1.000	0.000	10.000	3.000	0.000	0.000
Mv	3.62E-05	0.657	0.612	0.642	0.618	1.045	0.746	0.461	0.516
nP	7.40E-04	0.143	0.023	0.000	0.000	1.000	1.000	0.000	0.000
H%	2.29E-03	42.551	47.124	44.444	47.018	66.667	58.824	0.000	29.412
nCsp2	6.87E-03	8.806	6.591	8.000	7.000	26.000	16.000	0.000	0.000
O%	7.50E-03	7.416	10.872	6.667	10.000	80.000	30.000	0.000	0.000
nAB	9.29E-03	7.760	5.500	6.000	6.000	27.000	16.000	0.000	0.000
nBM	1.86E-02	9.480	7.341	9.000	7.000	27.000	17.000	0.000	0.000
C%	2.17E-02	39.066	35.423	38.710	37.232	64.706	58.333	0.000	16.667
nO	2.52E-02	2.571	3.500	2.000	3.000	18.000	13.000	0.000	0.000
MW	0.125	310.227	274.065	294.340	258.830	1111.500	734.050	32.050	92.110

nX, number of halogen atoms

X%, percentage of halogen atoms

nCL, number of Chlorine atoms

Mp, mean atomic polarizability (scaled on Carbon atom)

AMW, average molecular weight

nHM, number of heavy atoms

Mv, mean atomic van der Waals volume (scaled on Carbon atom)

nP, number of Phosphorous atoms

H%, percentage of H atoms

nCsp2, number of sp2 hybridized Carbon atoms

O%, percentage of O atoms

nAB, number of aromatic bonds

nBM, number of multiple bonds

C%, percentage of C atoms

nO, number of Oxygen atoms

MW, molecular weight

表3 発達神経毒性陽性物質及び陰性物質間で有意差が認められたFunctional group countsの分子記述子

記述子	P 値	平均値		中央値		最大値		最小値	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
nHDon	1.90E-05	1.051	2.682	0.00	2.00	17.000	2.000	0.000	0.000
nROH	4.71E-05	0.280	1.409	0.00	1.00	57.692	11.765	0.000	0.000
nCb-	8.52E-05	2.560	1.318	2.00	1.00	10.000	2.000	0.000	0.000
nArX	1.64E-04	0.480	0.068	0.00	0.00	1.119	0.760	0.496	0.529
nCar	2.63E-03	7.160	4.841	6.00	6.00	27.981	12.119	4.760	5.774
nRCOOH	4.39E-03	0.074	0.341	0.00	0.00	10.000	3.000	0.000	0.000
nCbH	7.49E-03	3.943	2.545	3.00	3.00	1.045	0.746	0.461	0.516
nRCONR2	8.28E-03	0.017	0.182	0.00	0.00	1.000	1.000	0.000	0.000
nHBonds	1.42E-02	0.230	0.568	0.00	0.00	66.667	58.824	0.000	29.412
nRNR2	1.44E-02	0.074	0.250	0.00	0.00	26.000	16.000	0.000	0.000
nOHp	3.02E-02	0.040	0.250	0.00	0.00	80.000	30.000	0.000	0.000
nRSR	3.43E-02	0.034	0.205	0.00	0.00	27.000	16.000	0.000	0.000
nOHs	4.25E-02	0.091	0.432	0.00	0.00	27.000	17.000	0.000	0.000
nRNH2	4.44E-02	0.040	0.159	0.00	0.00	64.706	58.333	0.000	16.667
nR=Cs	4.91E-02	0.434	0.205	0.00	0.00	18.000	13.000	0.000	0.000
nHDon	1.90E-05	1.051	2.682	0.00	2.00	1111.500	734.050	32.050	92.110

nHDon, number of donor atoms for H-bonds (N and O)

nROH, number of hydroxyl groups

nCb-, number of substituted benzene C(sp²)

nArX, number of X on aromatic ring

nCar, number of aromatic C(sp²)

nRCOOH, number of carboxylic acids (aliphatic)

nCbH, number of unsubstituted benzene C(sp²)

nRCONR₂, number of tertiary amides (aliphatic)

nHBonds, number of intramolecular H-bonds (with N,O,F)

nRNR₂, number of tertiary amines (aliphatic)

nOHp, number of primary alcohols

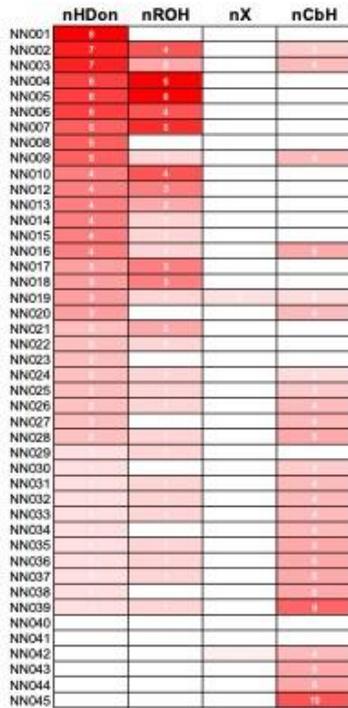
nRSR, number of sulfides

nOHs, number of secondary alcohols

nRNH₂, number of primary amines (aliphatic)

nR=C_s, number of aliphatic secondary C(sp²)

陰性物質



最大値

記述子	陰性物質	陽性物質
nHDon	8	8
nROH	6	4
nX	2	17
nCbH	10	15

平均値 ± 標準偏差

記述子	陰性物質	陽性物質
nHDon	2.68 ± 2.15	1.05 ± 1.52
nROH	1.41 ± 1.61	0.28 ± 0.71
nX	0.07 ± 0.33	1.47 ± 2.76
nCbH	2.55 ± 2.57	3.94 ± 4.36

陽性物質

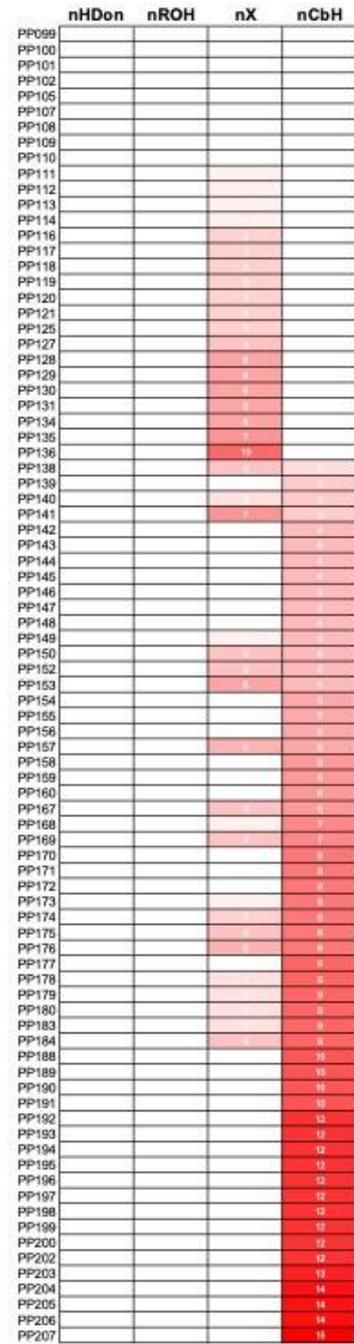
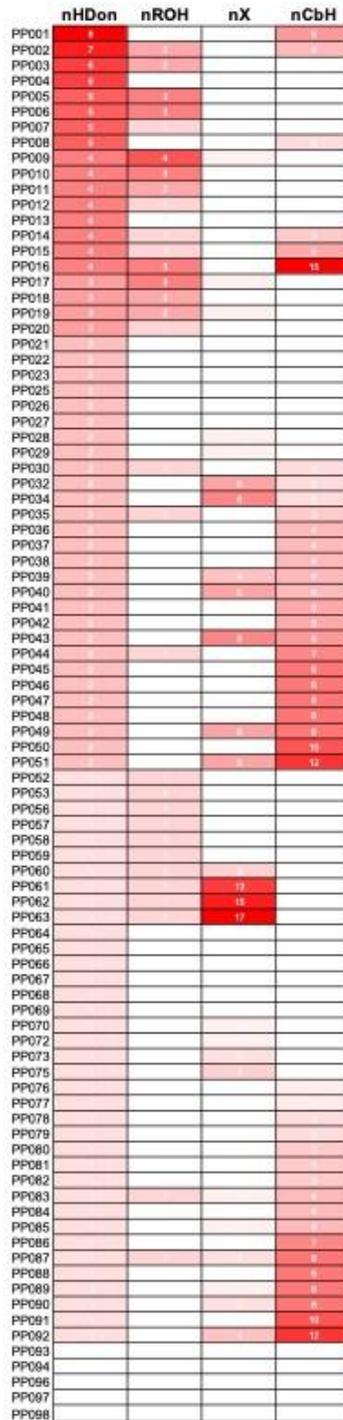


図1 同定した重要変数の分布

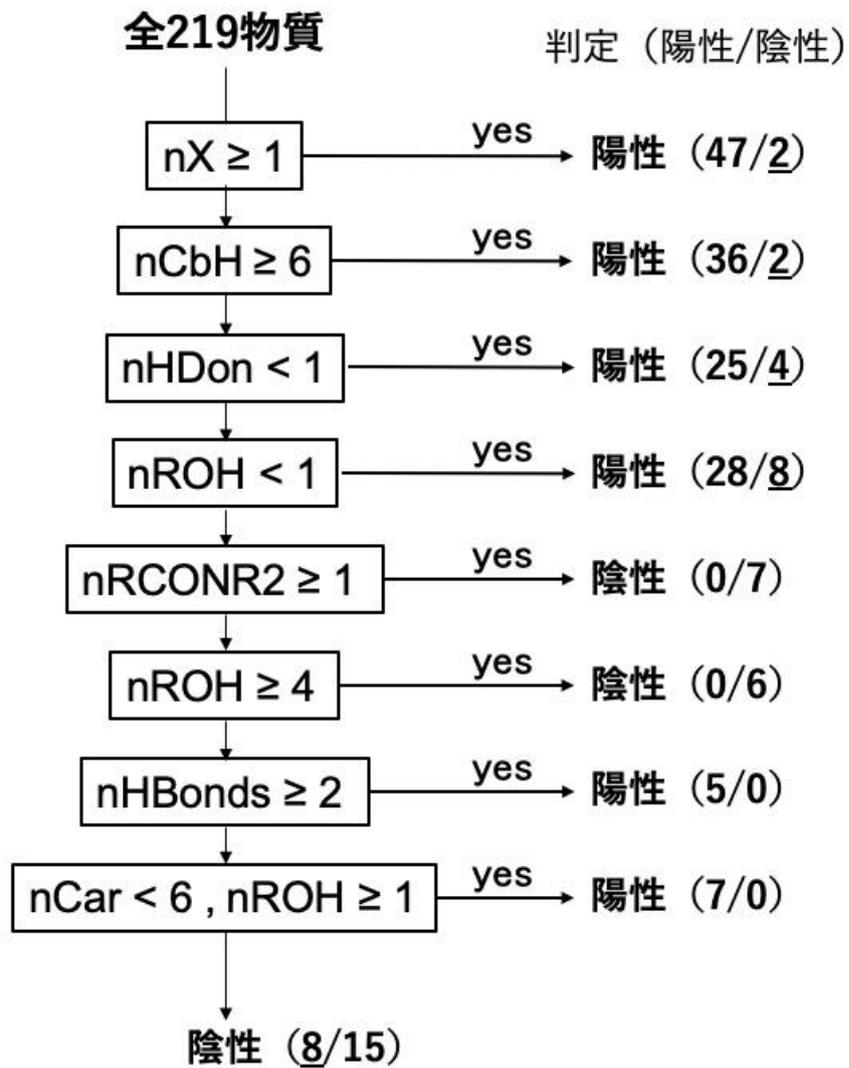


図2 本研究で作成した発達神経毒性判別モデル
 カッコ内の下線を付した数字は誤判別となった物質数を表す。

①	所見コード	該当数	146				147				148																							
			ジフルベンズロン				ジフルベンズロン 3世代試験より				シフルメトフェン				シプロロジニル																			
②	農薬 試験備考 試験番号 系統	418	SD				SD				Wistar				SD																			
②	投与方法																																	
②	投与量 1		50000				160				1500				4000																			
②	投与量 2		5000				40				500				1000																			
②	投与量 3		500				20				150				100																			
②	投与量 4						10								10																			
②	投与量 5																																	
③	無毒性量		500未3500未3500未3500未3				160 160 160 160				500 150 500 150				100 100 100 100																			
	無毒性量 (mg/kg体重/日)		-				39.1~				41.2~				11.8 12.6 11.8 13.1 30.6 13.8 33.2 14.0 6.73 8.21 7.53 8.78																			
	無毒性量(繁殖能) 無毒性量 (mg/kg体重/日) 繁殖能認められなかった:1 (雄/雌)	332	1				1				1				1																			
	単位		ppm				ppm				ppm				ppm																			
④	動物数 (一群につき)		32		32		32		20		20		24		24		30		30		30		30											
	世代・雄雌		P雄		F1雄		P雄		F1雄		P雄		F1雄		P雄		F1雄		P雄		F1雄		F1雄											
	確認用所見数合計	1672	14		15		14		13		1		1		1		1		4		9		2		11		7		4		4		3	
	投与量1実落されず		10																															
	所見なし	-1																																
	肝絶対重量増加	1010110	313																															
	肝比重量増加	1010120	364		12		12																											
	肝矯正重量増加	1010190	31																															
	肝対脳重量比増加	1010190	4																															
	肝絶対重量減少	1010210	14																															
	肝絶対重量低下	1010210	1																															
	肝比重量減少	1010220	15																															
	肝腫大	1010310	17																															
	肝腫脹	1010310	1																															
	肝肥大	1010310	1																															
	小葉中心性肝細胞肥大	1010410	196		1		12		1		12																							
	小葉中心性肝細胞肥大 (軽度)	1010410	4																															
	小葉中心性肝細胞肥大 (好酸性)	1010410	2																															
	小葉中間帯肝細胞肥大	1010420	2																															
	小葉周辺性肝細胞肥大	1010430	10																															
	門脈周辺性肝細胞肥大	1010430	7																															
	びまん性肝細胞肥大	1010440	22																															
	肝細胞肥大	1010440	66																															
	小葉中心性肝細胞空胞化	1010510	15		1																													
	小葉中心性肝細胞脂肪化	1010510	5																															
	小葉中心性肝細胞脂肪酸性	1010510	1																															
	小葉中心性肝細胞脂肪増加	1010510	2																															
	小葉中心性肝脂肪酸性	1010510	1																															
	小葉中心性肝脂肪空胞化	1010510	2																															
	小葉中心性脂肪化	1010510	2																															
	小葉中間帯肝細胞空胞化	1010520	8																															
	小葉中間帯肝細胞脂肪化	1010520	2																															
	小葉周辺性肝細胞脂肪酸性増加	1010530	1																															
	門脈周辺性肝細胞空胞化	1010530	3																															
	びまん性肝細胞脂肪化	1010540	2																															
	肝細胞脂肪沈着	1010590	2																															
	肝細胞脂肪酸性	1010590	6																															
	肝細胞脂肪化	1010590	10																															
	肝細胞空胞化	1010590	14																															
	肝細胞空胞酸性	1010590	1																															
	肝細胞単細胞壊死	1010610	2																															
	肝単細胞壊死	1010610	4																															
	小葉中心性肝細胞壊死	1010620																																
	小葉中心性肝細胞壊死重	1010620																																
	葉状肝細胞壊死	1010630																																
	多葉性肝細胞壊死	1010630																																
	肝細胞壊死	1010690																																
	局局性肝細胞壊死	1010690																																
	肝有糸分裂	1010710																																
	肝胆管増生	1010730																																
	胆管増生	1010730																																
	胆管増生	1010730																																
	胆管過形成	1010730	11																															
	胆管上皮過形成	1010730	2																															
	肝細胞酸性	1010890	2																															

- ① 農薬名・番号、試験種別
- ② 試験情報：系統、投与方法、投与量
- ③ 試験結果概要：無毒性量、繁殖能への影響等
- ④ 毒性所見：所見名、所見コード、投与量

以下省略

図3 繁殖毒性試験情報の整理

作成した繁殖毒性試験情報ファイルのうち、親世代のデータシートの一部を示す。④の欄にある数字はその投与量で所見が認められたことを表している。